

口腔内細菌に起因する新たな脳卒中の病態機序の解明

猪原匡史

国立循環器病研究センター 脳神経内科

【研究の背景】

脳卒中の我が国の直接コストは、「脳梗塞」が1兆225億円、「その他の脳血管疾患」が6495億円と年間1.6兆を超える。さらに、脳卒中は寝たきりの筆頭疾患であることから、その医療経済に及ぼす影響は甚大であり、先制医療の確立が強く望まれている。発症4.5時間以内の血栓溶解療法の恩恵に浴する患者は脳卒中患者全体の数%であり、また2次予防として使用されるアスピリンなどの抗血小板薬の予防効果は脳梗塞の2割程度であり出血性合併症の問題もあることから、その新規予防法の開発が切望されている。本申請課題は、これまで希薄であった歯科と医科のコラボレーション研究を行い、脳卒中の新たな発症メカニズムを明らかにし、Precision Medicineとしての新たな脳卒中医療の確立へとつなげる臨床研究である。

【目 的】

脳卒中予防は健康寿命延伸の根幹をなす。昨今、齲蝕の主要な病原細菌である *Streptococcus mutans* (齲蝕原性細菌)の菌体表層のコラーゲン結合タンパク(Cnm タンパク)が、脳出血の悪化に関与することが共同研究者の仲野らにより示され(*Nat Commun* 2011)、申請者らの研究でも Cnm 陽性の齲蝕原性細菌が脳出血と相関することを確認した。よって本臨床研究では、脳卒中患者の齲蝕原性細菌に加えて口腔内メタゲノム解析を行い、慢性感染症としての脳卒中の発症機序の解明と脳卒中の先制医療の確立を目指すことを目的とする。

【方 法】

【研究手法】臨床観察研究:「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則り施行される。

【対象患者】国立循環器病研究センターに入院した急性期脳卒中(脳梗塞・脳出血)患者200例。

【具体的な方法】

(ア) デンタルプラークおよび唾液の採取:

うがい等にて食渣を除いた後、スワブにより唾液を採取し検体を4℃で保存する。大阪大学歯学部附属病院にて、齲蝕原性細菌をはじめとした口腔内レンサ球菌の生菌を分離した後、細菌DNAを抽出しPCR法にてコラーゲン結合タンパク質をコードする *cnm* 遺伝子の有無を解析する。

(イ) CT、MRIによる急性期脳卒中の評価:

発症7日以内の脳卒中病巣の部位とサイズを評価する。脳梗塞ではTOAST分類による病型評価を実施する。MRIでは拡散強調画像により急性期梗塞を、T2*画像によりBOMBSスコア(Cordonnier et al. *Stroke* 2009)により微小出血を定量評価し、FLAIR画像におけるFazekasスコアを用いて虚血性白質病変の程度を半定量評価する。

(ウ) 神経学的所見:

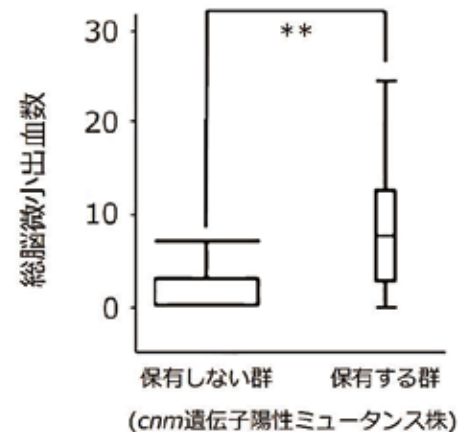
- ① 来院時、退院時のNIH stroke scale (NIHSS)を評価し、脳卒中の重症度を評価する。
- ② 入院前、3ヶ月後のmodified Rankin scale (mRS)を比較し、脳卒中の予後評価を行う。

(エ) 解析手法:

齧蝕原性細菌の *cnm* 遺伝子の有無が、来院時の重症度の指標としての NIHSS や 3 ヶ月後の予後の指標としての mRS、および CT、MRI 上の病巣サイズ、微小出血数に与える影響を統計学的に検定する。

【結 果】

齧蝕原性菌と脳出血の関連: 申請者らが行った 100 例の脳卒中患者に対する研究では、齧蝕原性細菌の陽性率はおよそ半数であり、そのうちの約 2 割がコラーゲン結合タンパク(Cnm タンパク)陽性であることが判明している。Cnm 陽性の脳卒中患者と陰性の脳卒中患者を比較すると、Cnm 陽性例では脳卒中病型として、梗塞より出血が有意に多く(オッズ比 3.8 倍; 95%信頼区間 1.06–13.8)、Cnm と出血性機転との関係が示唆された。その背景を探るために頭部 MRI 上の総微小出血数を計数したところ、Cnm 陽性の脳卒中患者では Cnm 陰性患者より有意に微小出血が多いことが明らかとなった(右図; 平均 0.5 個 vs. 8 個; $p=0.002$)。頭部 MRI 上、微小出血を有する患者では、Cnm タンパクが脳出血の予測因子の一つとなり得るといえる。昨今 MRI で検出が容易になった微小出血と齧蝕原性細菌との関連は、新たなコンセプト「脳-口連関」確立の糸口となり得る。



【考 察】

齧蝕原性菌のような培養可能な菌以外にも、細菌の 99%は単独では培養できない菌種と推察されており、今後の研究では、次世代シーケンサーを用いてメタゲノム解析を行い、その細菌叢をスクリーニングにより一網打尽にする。

上述した 100 例の脳卒中患者からなるコホートに引き続き、次の 100 例のコホートを作成した。前コホートと同様に、頭部 MRI 評価に加えて、全例で詳細な歯科的評価と認知機能評価を行っている。Cnm タンパクが如何に認知機能に影響を与えるのか、血管性認知症の要因となり得るのかの評価が可能となる見込みである。

今後、日常の口腔清掃や歯科治療によって齧蝕原性細菌を含む口の中の細菌の量を減少させることや、医療の現場で病原性の高い細菌を選択的になくすような方法を確立することで、脳卒中を中心とする循環器疾患を予防できないか広く検討していく。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

歯科と医科のコラボレーションはこれまであまり注目されず、専門領域がかけ離れていると考えられてきた。これは、歯周病や齧蝕と脳疾患との関連性は薄いと信じられてきたことに起因する。しかし、ヒトを宿主とする細菌の遺伝子情報を解析し、環境に住む細菌の多様性や役割を分析・集積するメタゲノム解析が盛んとなり、口腔内常在菌と脳疾患の関連が注目される時代が到来した。本研究を通して、「脳口連関」の重要性を見出したことから、その連関を断つ手法の開発へとつなげる。

【参考・引用文献】

- 1) Tonomura S, Ihara M, Kawano T, Tanaka T, Okuno Y, Saito S, Friedland RP, Kuriyama N, Nomura R, Watanabe Y, Nakano K, Toyoda K, Nagatsuka K. Intracerebral hemorrhage and deep microbleeds associated with *cnm*-positive *Streptococcus mutans*: a hospital cohort study. *Sci Rep* 2016;6:20074.
(*) 謝辞の欄に、本財団の支援によって行われたことを記載した。
- 2) Ihara M, Yamamoto Y. Emerging evidence for pathogenesis of sporadic cerebral small vessel disease. *Stroke* 2016;47(2):554-560.