

Cnm 陽性ミュータンス菌関連の脳内出血病態解明

殿村修一^{1,3)}, 服部頼都²⁾, 猪原匡史²⁾, 仲野和彦³⁾, 中岡良和¹⁾

- 1) 国立循環器病研究センター研究所 血管生理学部
- 2) 国立循環器病研究センター病院 脳神経内科
- 3) 大阪大学大学院歯学研究科 小児歯科学教室

【研究の背景】

本邦において脳卒中による死亡数は年間 12 万人にのぼり国民の全死因の第 3 位、寝たきりの原因疾患の第 1 位である。我々は、脳卒中のうち特に重篤な病型である脳内出血において、口腔内に齧蝕原性細菌のうち、コラーゲン結合蛋白を発現する株を保有する率が高く、縦断的観察では微小な脳内出血病変の増加とも関連することが明らかになった。

【目 的】

本研究では脳卒中を自然発症する高血圧モデルラットを用いて Cnm 陽性および陰性のミュータンス菌による菌血症を誘導し経時的に脳および全身の血管系に及ぼす影響を調査することで病態を再現し病態解明を進める。

【方 法】

本研究では、易脳卒中発症自然高血圧ラットを使用して、感染性心内膜炎患者の血液培養より分離された Cnm 陽性ミュータンス菌株である TW295 およびその Cnm ノックアウト細菌株である TW295CND を用いて、経静脈的に生菌投与を行うことで、(1)脳内出血の再現性を確認するとともに、(2)脳血管・血液脳関門への生菌の到達および、細菌の局在を検討した。さらに、(3)不死化ヒト脳血管内皮細胞を用いて、In vitro 実験で細菌と細胞の共培養実験を行い、細菌による細胞内寄生の有無や浸潤をうけた脳血管内皮細胞への毒性を検討することで、病態の解明を目指した。

【結 果】

TW295 を投与した脳卒中易発症性自然高血圧ラットでは、成人期より繰り返しの細菌投与を行った複数投与モデル、および、成人期に細菌の単回投与を行ったモデルの両者において、脳内での肉眼的・顕微鏡的な脳内出血が、TW295CND を投与したモデルと比較して優位に増加することが分かった。さらに単回投与モデルでは、経時的な、細菌の局在を検討する実験では、尾静脈から投与した細菌が、TW295 の投与群では 30 分から 72 時間にわたるまで検出され続けるのに比較して、TW295CND の投与群では 24 時間以降検出されなかったことから脳実質内に TW295 が寄生する可能性が示唆された。さらに、血液培養では 24 時間の時点で TW295 および TW295CND の両菌株ともに検出されない状態となること、網内系の組織である脾臓では 24 時間および 72 時間後においても生菌は検出されるものの TW295・TW295CND での差が認められなかったことから、Cnm 陽性ミュータンス菌が脳組織に集積する可能性が示唆された。さらに、凍結脳組織切片を用いた二重免疫染色にて Cnm 陽性ミュータンス菌が脳血管内皮内に浸潤し、脳実質内の Iba1 強陽性のミクログリアが増加していた。次に、脳毛細血管内皮細胞に対するミュータンス菌の細胞内寄生における Cnm の毒性を TW295・TW295CND、さらには TW295CND に Cnm を相補した株である TW295Comp 株を使用して評価した結果、Cnm を発現する TW295 および TW295Comp でのみ細胞内寄生が確認でき、さらには同細菌株による共培養によって宿主の脳血管内皮細胞で早期アポト

ーシスが進行することが分かった。

【考 察】

In vivo実験・In vitro実験の結果から Cnm 陽性ミュータンス菌が菌血症を介して血液脳関門に至った場合、まず脳血管内皮細胞への寄生や組織マクロファージであるミクログリアの活性化を介して、脳内出血に至る可能性が示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

一般的には生活習慣病とされている脳内出血において、口内細菌の関連性を臨床・基礎分野の両者において研究をすすめており、将来的な新規治療・予防方法の開発において、重要な成果を得た。生物種間で宿主における血液脳関門の構造や機能には相違があるため、よりヒトの病態を反映するヒト由来の細胞を用いたオルガノイドや生体機能チップの構築が必要と考える。

【参考・引用文献】

論文作成をすすめ、投稿準備中。