

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17072

研究課題名（和文）発達早期の腸内細菌叢による認知特性への影響の解明

研究課題名（英文）Elucidation of influence of gut microbiota in early development on cognitive characteristics

研究代表者

渡邊 己弦（Watanabe, Natsuru）

東海大学・医学部・助教

研究者番号：60794120

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、腸内細菌叢の精神・行動特性への影響について、認知機能に焦点を当て検証した。BALB/cマウスを、無菌（GF）マウス、および無菌マウスに病原体を保有していないマウスの常在腸内細菌叢を経口投与した（EX-GF）マウス群の2群に分類した。無菌条件下で、Y字迷路課題を使用し、自発的交替行動を測定し、短期記憶（空間的ワーキングメモリ）を観察した。GFマウスと、Ex-GFマウスでは明らかな短期記憶の差が得られなかった。以上の結果から、腸内細菌叢が、衝動性や攻撃性に影響を及ぼす一方で、認知機能への影響は少ない可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、腸内細菌叢による精神活動や行動への影響を、飼育や繁殖が容易ではない無菌マウスを使用して明らかにしたところに、学術的意義がある。我々の研究では、腸内細菌叢が宿主の不安や攻撃性に影響を与えることを解明した。本研究では、腸内細菌叢が影響する精神活動、行動特性、認知機能特性の細かなプロファイルを示唆した。この点は、腸内細菌叢の重要性を示唆し、重要な社会的意義を有する。

研究成果の概要（英文）：The present study investigated the impact of gut microbiota on mental and behavioral attributes, specifically focusing on cognitive function. BALB/c mice were stratified into two cohorts: the sterile group consisting of germ-free (GF) mice, and the experimental group comprising GF mice receiving oral administration of gut microbiota derived from pathogen-free mice (Ex-GF). Within a sterile environment, spontaneous alternation behavior was measured using a Y-maze task to assess short-term memory (i.e., spatial working memory). Our findings revealed no substantial disparities in short-term memory performance between GF and Ex-GF mice. These outcomes imply that while the gut microbiota may exert influence on impulsivity and aggression, its impact on cognitive function appears to be limited.

研究分野：精神医学

キーワード：無菌マウス 腸内細菌叢 腸内細菌叢－腸管－脳軸 認知機能 行動特性 行動解析 発達特性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腸と脳機能の相互関係に関心が高まっている。近年、この脳腸相関において、腸内細菌叢の重要性が認識され、「腸内細菌叢-腸管-脳軸」の概念が提唱されている。我々は、腸内細菌叢の脳機能への影響を早くから仮説として立て、腸内細菌叢が宿主のストレス反応に影響を及ぼすことを明らかにした。さらに、発達早期の腸内細菌叢がストレス反応だけでなく、宿主の精神活動や行動に影響を及ぼすと考え、無菌(germ-free、以下 GF) マウスを用いて行動解析を行い、GF マウスでは、常在菌叢マウスとの比較において、活動性と不安症状が高まることを解明した。さらに攻撃行動特性においても腸内細菌叢の影響が示唆され、発達早期の健全な腸内細菌叢の維持が、宿主の攻撃性の減弱に寄与する可能性が示唆された。多動性や不安症状などの行動特性は、発達特性に特徴的な所見であり、腸内細菌叢と発達特性との関係が示唆された。以上の点を踏まえ、行動特性だけでなく、発達特性のもう1つの特徴である認知特性でも、発達早期の腸内細菌叢が影響を及ぼすという仮説を立てた。

### 2. 研究の目的

本研究では、行動特性だけでなく認知特性にも腸内細菌叢が影響しているかについて無菌マウスを用いて解明する点にあった。宿主の認知機能に焦点を当て、当該行動への腸内細菌叢の影響について、アイソレーター内で飼育した GF マウスを用いた行動解析によって解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

無菌状態を維持した環境下で、認知機能特性の観察の報告はほとんどない。したがって我々は、認知機能特性評価について、無菌環境下のアイソレーター内で行う実験系の確立に、まず取り組むこととした。アイソレーター内での無菌を維持するための飼育や繁殖、その中で行動観察を行うための器具の製作を精緻に行った。

次に、BALB/c の GF マウスの雄と雌を選択し、その仔マウス(2代目)をアイソレーター内で繁殖した。当該2代目のマウスを、GF マウス群、および GF マウスに病原体を保有していないマウスの常在腸内細菌叢を経口投与した(Ex-GF)マウス群の2群に分類し、各マウス群をアイソレーター内で飼育した。そして、各群で繁殖を行い、雄の仔マウス(3代目)を作出した。生後4週齢以降に母子の分離を行い、生後8週齢時に、各群15匹を、認知機能特性評価のため、Y字迷路課題を使用し、自発的交替行動を測定し、短期記憶(空間的ワーキングメモリ)を観察した。それぞれの群で、無菌環境下で8分間、Y字迷路課題を行った。その様子をビデオ観察し自発的交替行動率を測定した。

さらに、GF マウスに、単一好気性菌を定着させることで、認知機能への影響を解明するため、無菌マウスへの単一好気性菌定着の選定を行った。アイソレーター内での単一好気性菌細菌の培養、定着したのちにY字迷路課題をさせる報告はなく、実験系の確立に、取り組むこととした。

### 4. 研究成果

本研究は、マウスの腸内細菌叢の精神活動への影響について、宿主の認知機能特性に焦点を当て検証した。GF マウスと Ex-GF マウスでは、自発的交替行動率の明らかな差は見られなかった。以上の結果から、常在腸内細菌叢が、短期記憶に影響を及ぼす可能性が低いことが示唆された。本研究は、腸内細菌叢による精神活動や行動への影響を、飼育や繁殖が容易ではない無菌マウスを使用して明らかにしたところに、学術的意義がある。我々の研究では、腸内細菌叢が宿主の不安や攻撃性に影響を与えることを解明した。本研究では、腸内細菌叢が影響する精神活動、行動特性、認知機能特性の細かなプロファイルを示唆した。この点は、腸内細菌叢の重要性を示唆し、重要な社会的意義を有する。

さらに、GF マウスに、単一好気性菌を定着させる実験系では、アイソレーター内で菌を投与し、安定した定着群の獲得を目指した。GF マウスに、単一好気性菌を定着させ、その仔マウス(2代目)にも投与した単一好気性菌のみの定着が認められた。単一好気性菌投与マウスで Y 字迷路課題を行うと、GF マウスや Ex-GF マウスと比較し、自発的交替行動率が高い傾向にあった。今後の課題は、当該装置を使用して、単一好気性菌投与 GF の認知機能、行動解析の比較により、認知機能への影響や発達早期の腸内細菌叢の影響が、宿主の認知機能への影響を解明することである。

### 引用文献

1. Watanabe N, Mikami K, Hata T, Kimoto K, Nishino R, Akama F, Yamamoto K, Sudo N, Koga Y, Matsumoto H. Effect of gut microbiota early in life on aggressive behavior in mice. *Neuroscience Research*. 2021;168: 95-99.
2. 木本啓太郎、三上克央、渡邊己弦. 腸内細菌叢による発達早期の精神活動と行動への影響. 児



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Watanabe Natsuru, Mikami Katsunaka, Hata Tomokazu, Kimoto Keitaro, Nishino Ryo, Akama Fumiaki, Yamamoto Kenji, Sudo Nobuyuki, Koga Yasuhiro, Matsumoto Hideo	4. 巻 168
2. 論文標題 Effect of gut microbiota early in life on aggressive behavior in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 95 ~ 99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2021.01.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hata Tomokazu, Miyata Noriyuki, Takakura Shu, Yoshihara Kazufumi, Asano Yasunari, Kimura-Todani Tae, Yamashita Makoto, Zhang Xue-Ting, Watanabe Natsuru, Mikami Katsunaka, Koga Yasuhiro, Sudo Nobuyuki	4. 巻 160
2. 論文標題 The Gut Microbiome Derived From Anorexia Nervosa Patients Impairs Weight Gain and Behavioral Performance in Female Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 2441 ~ 2452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2019-00408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 三上克央、渡邊己弦、木本啓太郎	4. 巻 34
2. 論文標題 腸内細菌-腸管-脳軸の観点から考察した神経発達症	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ストレス科学	6. 最初と最後の頁 144-152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊己弦
2. 発表標題 腸内細菌叢の相違による宿主行動特性への影響：神経発達症を見据えて
3. 学会等名 日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Natsuru Watanabe
2. 発表標題 Influence of commensal microbiota on aggressive behaviors
3. 学会等名 World Psychiatric Association
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木本啓太郎、三上克央、渡邊己弦
2. 発表標題 腸内細菌 - 腸管 - 脳軸と児童青年の精神活動
3. 学会等名 児童青年精神医学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------