

令和 4 年 9 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22812

研究課題名(和文)腸内細菌叢は運動と成体海馬神経新生をつなぐミッシングリンクか?

研究課題名(英文)Analysis of microbiota as a missing link between exercise and adult hippocampal neurogenesis

研究代表者

神野 尚三 (Jinno, Shozo)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：10325524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で我々は、運動量が多い若齢マウスと、運動量が減少している加齢マウスを比較し、腸内細菌叢の脳機能への作用機序を検討した。プロバイオティクス製剤(Lactobacillus casei)の投与は、加齢マウスの成体海馬神経新生を促進し、認知機能を改善するが、若齢マウスの成体海馬神経新生や認知機能には影響しないことを確認した。また、プロバイオティクス製剤によって、糞便中の酢酸やn-酪酸などの短鎖脂肪酸が増加し、短鎖脂肪酸の投与によって成体海馬神経新生が増加することを明らかにした。さらに、PLX3397を投与し、脳内のミクログリアを除去すると、腸内細菌叢の改変の効果が失われることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動機能が低下する高齢者にみられるロコモティブシンドロームは、認知機能の低下や要介護に至るリスクを高めると考えられている。本研究で我々は、プロバイオティクスによる腸内細菌叢の改変は、運動量の多い若齢マウスの認知機能には影響を与えないが、運動量が減少している加齢マウスの認知機能を改善し、脳の免疫細胞であるミクログリアを介して成体海馬神経新生を促進することを発見した。本研究の意義は、加齢による筋力の低下や関節の痛みのため、適切な運動をすることが困難な高齢者にとり、腸内細菌叢の改善は認知機能低下を予防する可能性があることを明らかにした点にある。

研究成果の概要(英文)：We aimed to understand the potential role of microbiota and voluntary exercise in brain function. To this end, we analyzed young adult mice that exhibited higher locomotor activity and middle-aged mice that showed reduced locomotor activity. Interestingly, alterations in microbiota by probiotics (Lactobacillus casei) promoted the adult hippocampal neurogenesis and improved memory performance in middle-aged mice. By contrast, the administration of microbiota did not affect the results in young adult mice. The concentrations of short-chain fatty acid in feces were increased by probiotics, and administration of short-chain fatty acid promoted adult hippocampal neurogenesis in middle-aged mice. Pharmacological depletion of microglia by PLX3397 inhibited the effects of probiotics on memory performance and adult hippocampal neurogenesis. These findings suggest that microbiota may affect brain function via modulation of microglial activity in middle aged mice.

研究分野：神経科学

キーワード：腸内細菌叢 認知機能 成体海馬神経新生 短鎖脂肪酸 運動 加齢 ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

近年、腸内細菌叢と脳機能の連関についての研究が増加している。これまでに、乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクス製剤やオリゴ糖などプレバイオティクス製剤の投与による腸内細菌叢の改変が、記憶や学習などの脳機能を改善する可能性があることなどが報告されている。興味深いことに、腸内細菌叢と運動には密接な関係があることが示されている。動物実験では、運動によって腸内細菌叢の構成が変化することや、糞便に含まれる短鎖脂肪酸の濃度が変動することが明らかにされている。また、10週間の運動療法に取り組んだ肥満症の患者では腸内細菌叢が変化していることや、腸内細菌叢の改変によって精神症状が改善することも報告されている。一方で最近、高齢者の運動機能の低下に伴うロコモティブシンドロームが注目を集めている。筋肉量の減少や関節痛などにより、運動量が減少した高齢者は認知症のリスクが高まることが示唆されているが、腸内細菌叢に注目した研究は少ない。

2. 研究の目的

運動による成体海馬神経新生促進の分子メカニズムは、骨格筋から放出されるイリシンなどのホルモンによる直接的な神経作用によるものと考えられてきたが、詳細は分かっていない。本研究で我々は、脳内の免疫細胞であるミクログリアに着目し、運動量が多い若齢マウスと運動量が低下している加齢マウスを用いて、プロバイオティクス製剤の投与を組み合わせる実験に取り組む。本研究の目的は、腸内細菌叢の改変が運動量の低下を伴う加齢による認知機能の低下や成体海馬神経新生に与える影響を明らかにすることである。

3. 研究の方法

実験 1: 若齢群として 8-12 週齢、加齢群として 52-60 週齢の C57BL/6J オスマウスを使用し、プロバイオティクスとして *Lactobacillus casei* を飲料水に混ぜて 4 週間投与した後、オープンフィールド試験と新規物体認知試験による認知・情動機能の評価を行った。

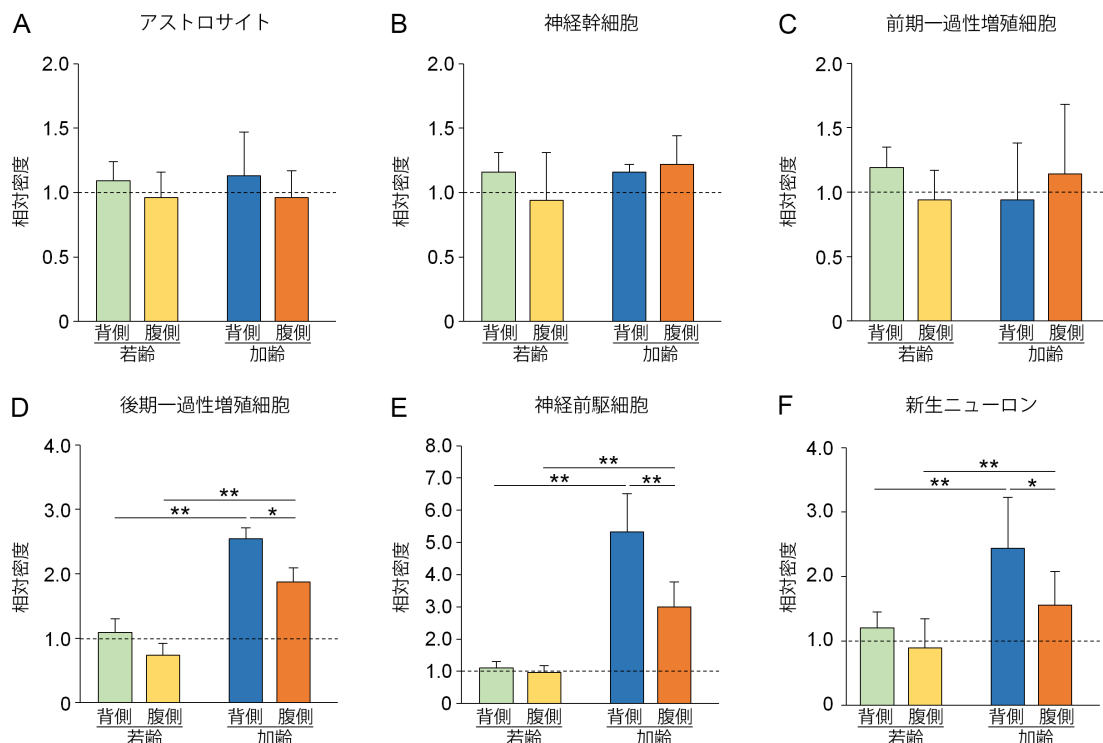
実験 2: 灌流固定後に 40 ミクロンの冠状段切片を作成し、免疫蛍光多重染色を行い、成体海馬神経新生関連細胞を可視化し、Optical disector 法による空間分布密度の計測と、NeuroLucida による新生ニューロンの樹状突起の再構築を行った。

実験 3: プロバイオティクス製剤投与の前後で、糞便に含まれる短鎖脂肪酸について HPLC による定量解析を行った。さらに、変動が認められた短鎖脂肪酸の投与実験を行った。

実験 4: 腸内細菌叢の改変と成体海馬神経新生のリンクとして機能している可能性があるミクログリアを薬理的に除去するために、colony stimulating factor-1 受容体拮抗薬 PLX5622 を投与し、プロバイオティクスが神経新生に与える影響の変化を解析した。

4. 研究成果

結果 1: プロバイオティクス製剤 (*Lactobacillus casei*) の投与により、加齢マウスの海馬歯状回の神経前駆細胞と新生ニューロンの分布密度が増加した。増加率は記憶に関わる背側海馬の方が情動に関わる腹側海馬より大きかった。ただし、神経幹細胞の密度に変化は認められなかった。一方で、若齢マウスに対する同製剤の投与では、神経前駆細胞、新生ニューロン、神経幹細胞の分布密度のいずれに対しても変化は認められなかった。

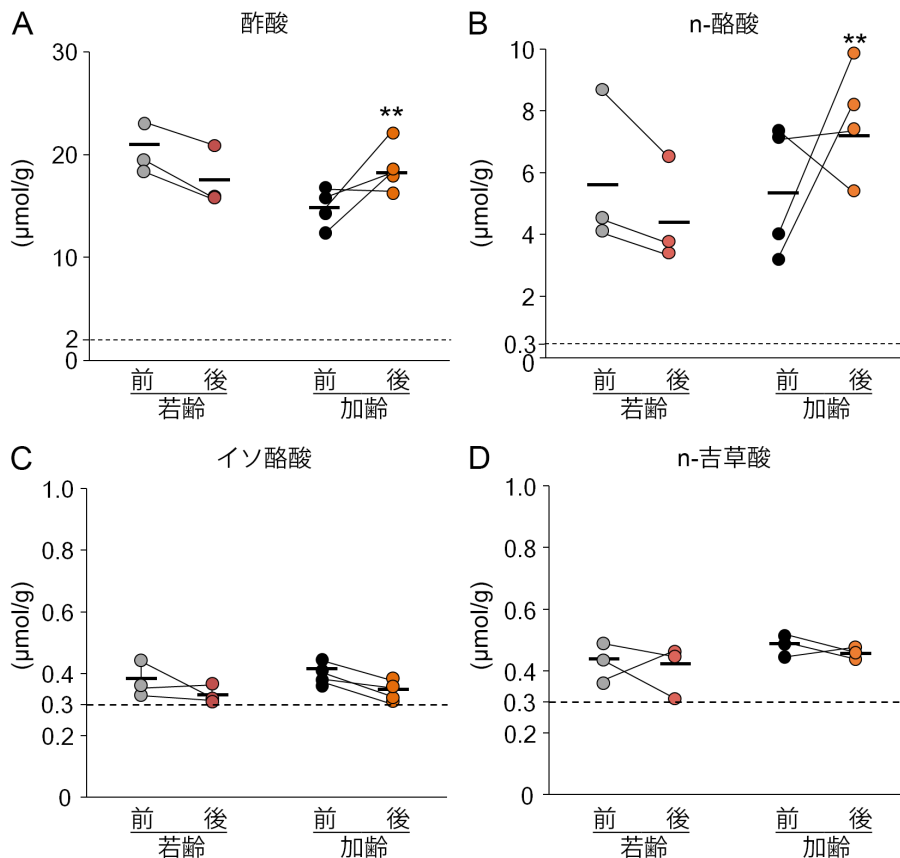


【図 1】プロバイオティクス製剤を投与した若齢マウスと加齢マウスの成体海馬神経新生関連細胞の空間分布密度。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

結果 2：プロバイオティクス製剤の投与を受けた若齢マウスと加齢マウスの新生ニューロンの樹状突起の再構築を行ったところ、加齢マウスにおいて樹状突起の分岐数の増加、全長の増加などが認められた。

結果 3：オープンフィールド試験では、加齢マウスと若齢マウスのいずれにおいても、自発運動量や不安関連行動に対してプロバイオティクス製剤は影響を与えなかった。一方で、新規物体認知試験では、加齢マウスの記憶機能に改善が認められた。

結果 4：HPLC による糞便中に含まれる短鎖脂肪酸の定量を行ったところ、加齢マウスの糞便に含まれる酢酸と n-酪酸がプロバイオティクス製剤の投与後に増加することが示唆された。一方で、若齢マウスにおいては、プロバイオティクス製剤の投与前後で短鎖脂肪酸の量に変化は認められなかった。



【図 2】プロバイオティクス製剤の投与前後における、若齢マウスと加齢マウスの糞便中に含まれる短鎖脂肪酸の比較。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

結果 5：腸内細菌叢の改変による短鎖脂肪酸の増加が成体海馬神経新生に与える影響を確認するため、短鎖脂肪酸のカクテル（酢酸と n-酪酸を含む飲料水）を若齢マウスと加齢マウスに 4 週間投与した。その結果、加齢マウスの神経前駆細胞と新生ニューロンの密度が増加することが確認された。一方で、若齢マウスに短鎖脂肪酸カクテルを投与した場合、神経前駆細胞や新生ニューロンの密度に変化は認められなかった。

結果 6：最近の報告により、海馬のミクログリアは成体海馬神経新生の制御に深く関わっていることが示されている。このため、PLX5622 を加齢マウスに投与することでミクログリアを除去し、腸内細菌叢の改変による成体海馬神経新生の作用に与える影響を検討した。その結果、ミクログリアの除去によって、プロバイオティクス製剤による成体海馬神経新生の促進作用が阻害されるという知見を得た。

考察：本研究で我々は、プロバイオティクスによる腸内細菌叢の改変は、運動量の多い若齢マウスの認知機能には影響を与えないが、運動量が減少している加齢マウスの認知機能を改善し、成体海馬神経新生を促進することを発見した。さらに、腸内細菌叢の改変はミクログリアを介して成体海馬神経新生現象に作用している可能性を明らかにした。これらの結果は、腸内細菌叢は高齢者における運動の減少と認知機能障害のリンクであることを示唆している。高齢化が進む現代社会では、運動量が減少し、ロコモティブシンドロームに陥る高齢者が増加している。本研究の成果から、腸内細菌叢の改変はロコモティブシンドロームによる認知機能低下を予防することが期待されるが、その機序についてはさらなる研究が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fujikawa Risako, Yamada Jun, Iinuma Kyoko M., Jinno Shozo	4. 巻 206
2. 論文標題 Phytoestrogen genistein modulates neuron/microglia signaling in a mouse model of chronic social defeat stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 108941 ~ 108941
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2021.108941	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 Ohgomori Tomohiro, Jinno Shozo	4. 巻 472
2. 論文標題 Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Activation in Hippocampal Neural Stem Cells and Cognitive Deficits in Mice Following Short-term Cuprizone Exposure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 90 ~ 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2021.07.031	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 Ohgomori Tomohiro, Iinuma Kyoko, Yamada Jun, Jinno Shozo	4. 巻 54
2. 論文標題 A unique subtype of ramified microglia associated with synapses in the rat hippocampus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4740 ~ 4754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.15330	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 Fujikawa Risako, Yamada Jun, Jinno Shozo	4. 巻 229
2. 論文標題 Subclass imbalance of parvalbumin-expressing GABAergic neurons in the hippocampus of a mouse ketamine model for schizophrenia, with reference to perineuronal nets	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Schizophrenia Research	6. 最初と最後の頁 80 ~ 93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.schres.2020.11.016	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 Ohgomori Tomohiro, Jinno Shozo	4. 巻 176
2. 論文標題 Modulation of neuropathology and cognitive deficits by lipopolysaccharide preconditioning in a mouse pilocarpine model of status epilepticus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 108227 ~ 108227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2020.108227	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 Yamada Jun, Jinno Shozo	4. 巻 7
2. 論文標題 Promotion of synaptogenesis and neural circuit development by exosomes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 S323 ~ S323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/atm.2019.09.154	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Jun, Sato Chihiro, Konno Kohtarou, Watanabe Masahiko, Jinno Shozo	4. 巻 40
2. 論文標題 PSA-NCAM Colocalized with Cholecystokinin-Expressing Cells in the Hippocampus Is Involved in Mediating Antidepressant Efficacy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 825 ~ 842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1779-19.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Jun, Jinno Shozo	4. 巻 158
2. 論文標題 Potential link between antidepressant-like effects of ketamine and promotion of adult neurogenesis in the ventral hippocampus of mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 107710 ~ 107710
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2019.107710	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 Ohgomori Tomohiro, Jinno Shozo	4. 巻 528
2. 論文標題 The expression of keratan sulfate reveals a unique subset of microglia in the mouse hippocampus after pilocarpine induced status epileptics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 18 ~ 35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.24734	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 Ohgomori Tomohiro, Jinno Shozo	4. 巻 363
2. 論文標題 Cuprizone-induced demyelination in the mouse hippocampus is alleviated by phytoestrogen genistein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Toxicology and Applied Pharmacology	6. 最初と最後の頁 98 ~ 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.taap.2018.11.009	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 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Tomohiro Ohgomori, Shozo Jinno
2. 発表標題 Olig2-positive astrocyte in the hippocampus of a mouse model of temporal lobe epilepsy
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jun Yamada, Shozo Jinno
2. 発表標題 Potential therapeutic effects of ketamine for cocaine addiction via promotion of adult hippocampal neurogenesis
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Risako Fujikawa, Jun Yamada, and Shozo Jinno
2. 発表標題 Neuroinflammation in the hippocampus of female mice exposed to social defeat stress
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jun Yamada, Shouichiro Maeda, Kyoko Inuma, Shozo Jinno
2. 発表標題 Promotion of adult hippocampal neurogenesis by memantine via enhancement of chondroitin sulfate proteoglycan expression in middle-aged mice
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Risako Fujikawa, Shozo Jinno
2. 発表標題 Involvement of hippocampal microglia in vulnerability and resistance to social defeat stress
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Ohgomori, Shozo Jinno
2. 発表標題 Enhanced quiescence of neural stem cells in the hippocampus by short-term exposure to cuprizone, a mouse model for schizophrenia
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shozo Jinno
2. 発表標題 Dysfunction hippocampal oligodendrocytes in the mouse model for posttraumatic stress disorder
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Ohgomori, Shozo Jinno
2. 発表標題 Involvement of keratan sulfate-expressing hippocampal microglia in epileptogenesis via innate immune system
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Risako Fujikawa, Jun Yamada, and Shozo Jinno
2. 発表標題 Subclass-dependent changes of parvalbumin-expressing neurons and perineuronal nets in the hippocampus of a mouse ketamine model for schizophrenia
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jun Yamada, Shozo Jinno
2. 発表標題 Myelination of the axons derived from parvalbumin-expressing GABAergic neurons in the mouse hippocampus: time course, topography, and functional implications
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤川理沙子、山田純、神野尚三
2. 発表標題 社会的敗北ストレスに起因する海馬の神経炎症に対するゲニステインの効果
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大籠友博、神野尚三
2. 発表標題 新たな統合失調症モデルとしてのクプリゾン短期暴露マウスにおいて成体海馬神経新生が抑制されるメカニズム
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田純、神野尚三
2. 発表標題 海馬のパーシカン陽性ペリニューロナルネットはneurogliaform cellの周囲に選択的に形成されている
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Risako Fujikawa, Shozo Jinno
2. 発表標題 Morphological phenotypes of hippocampal microglia determining the vulnerability and resiliency to social defeat stress
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jun Yamada, Shoichiro Maeda, Kyoko Inuma, Shozo Jinno
2. 発表標題 A novel treatment for cocaine dependence by ketamine via promotion of adult hippocampal neurogenesis
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田純、神野尚三
2. 発表標題 メマンチンによるコンドロイチン硫酸量の増加を介した成体海馬神経新生の促進
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田祥一朗、山田純、神野尚三
2. 発表標題 マウス海馬のコンドロイチン硫酸の発現と神経新生に対するリポ多糖とセサミンの作用 に関する解析
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Editors: Colin Martin Victor Preedy Rajkumar Rajendram	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 1500
3. 書名 The Neuroscience of Aging 1st Edition	

1. 著者名 黒木 俊秀、神野 尚三、小野 良平	4. 発行年 2022年
2. 出版社 創元社	5. 総ページ数 224
3. 書名 ひと目でわかる 脳のしくみとはたらき図鑑	

〔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
---------	---------