

令和 5 年 5 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15975

研究課題名（和文）炎症性腸疾患における脳腸関連の機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the Mechanism of Brain-Gut Correlation in Inflammatory Bowel Disease

研究代表者

良原 丈夫（Yoshihara, Takeo）

大阪大学・医学系研究科・寄附講座助教

研究者番号：20814601

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、腸炎とうつ病の相互作用と脳腸関連のメカニズムを明らかにすることであった。ストレス負荷マウスモデルと中枢神経系特異的ミトコンドリア脆弱性マウスで腸内炎症を誘導し、行動異常と腸炎を評価した。中枢神経系特異的ミトコンドリア脆弱性マウスに腸炎を誘発したところ、腸炎を起こさないマウスに比べ、行動異常の発症が早まった。また、野生型マウスと比較して、より重度の腸内炎症の発現と炎症性サイトカインの発現量の増加が確認された。腸管免疫の調節異常が中枢神経系の機能障害により腸管炎症を増悪させたと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は腸炎とうつ病の相互作用と脳腸関連のメカニズムを明らかにすることであり、マウスの中枢神経のミトコンドリア機能異常が腸炎の増悪と行動異常を誘導することを示した。中枢神経系の異常が腸管免疫の調節異常をきたすメカニズムの一端を明らかにしたことで、今後の腸炎と精神症状の発症や治療法開発の端緒となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the interaction between intestinal inflammation and depression and the mechanism of brain-gut interaction. We induced intestinal inflammation in a stress-loaded mouse model and mice with CNS-specific mitochondrial vulnerability. We evaluated intestinal inflammation in both models. Induction of enteritis in mice with CNS-specific mitochondrial vulnerability showed earlier onset of behavioral abnormalities compared to non-enteritis mice. The mice showed a more severe expression of intestinal inflammation and increased inflammatory cytokine expression than wild-type mice. Therefore, it is considered that the dysregulation of intestinal immunity exacerbated intestinal inflammation due to the dysfunction of the central nervous system.

研究分野：消化器内科学

キーワード：炎症性腸疾患 脳腸関連

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患(Inflammatory bowel disease: IBD)に対して根治療法たり得る治療法はなく、治療に難渋する患者も依然として多い。IBD の疾患メカニズムが未だ解明されておらず、遺伝的因子、環境因子が複合的に関与することがその理由として考えられている。なかでも IBD の発症・増悪において精神的ストレスが引き金となることがよく知られており、IBD 患者の精神状態が疾患経過に重要な影響を与えることが想定されている。我々は IBD 患者とその精神状態について以前より着目しており、当教室および関連施設における約千名の IBD 患者に対する調査研究において、ストレスにより IBD の自覚症状の増悪を認める患者がその約 75%にのぼり、3分の1の患者で抑うつ状態をきたしていることを明らかにした (Araki M, et al. PLOS ONE 2020)。また抑うつ状態や不安症状を呈する IBD 患者ではその後の腸炎再燃率が有意に高いことも報告されており(Gracie DJ, et al. Gastroenterology 2018)、IBD 患者における抑うつ状態は解決すべき重要な腸管外合併症である。

IBD と同様、抑うつ状態やうつ病も遺伝的因子や環境因子が複合的に関与する事により発症すると考えられており、そのメカニズムの一つとして腸炎や腸内細菌が関与する脳腸相関が着目されている。しかし、腸炎が単なる精神的ストレスなのかあるいは腸炎自体が中枢神経に器質的な異常をきたすのかについてはよく分かっていない。これらの背景から腸管炎症が中枢神経系に与える影響、精神的ストレスや抑うつ状態が腸管炎症に与える影響、そしてそれらのメカニズムを明らかにすることは IBD の発症・増悪における病態の解明に重要な役割を果たすと考えた。

### 2. 研究の目的

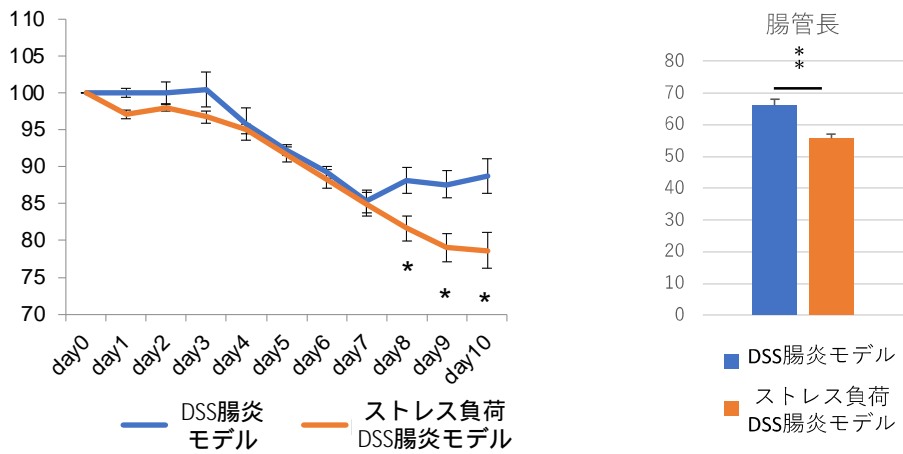
本研究は腸炎が腸管局所のみならず全身の特に脳のエネルギー代謝に与える影響について検討することにより、腸管炎症と抑うつ状態の相互作用、脳腸相関のメカニズムについて明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

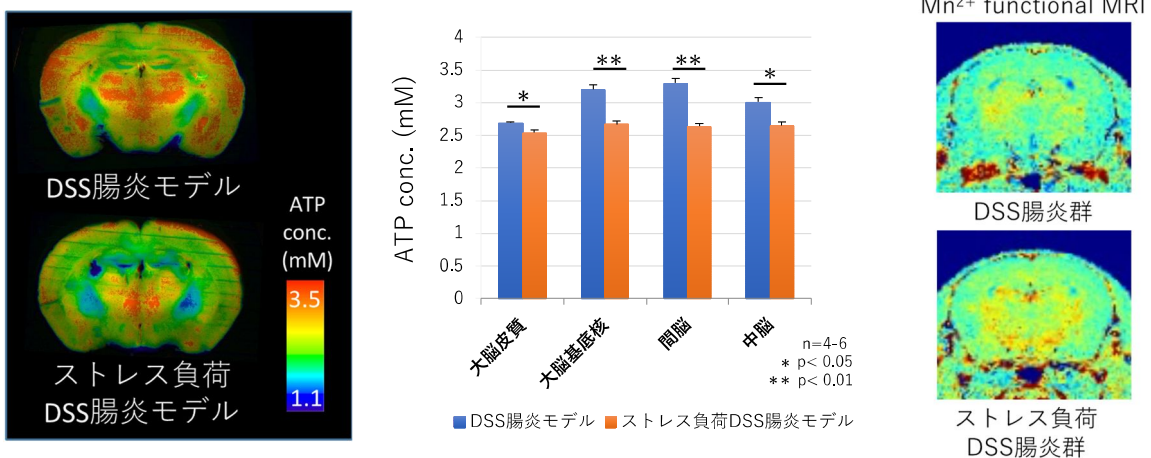
ATP 濃度可視化蛋白質である GO-Ateam2 を全身に発現したマウス(GO-ATeam2 発現マウス)に対してデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) の経口投与により腸炎を誘導し ATP 濃度が可視化できる IBD モデルマウスを作成した。また拘束ストレスを負荷したマウスに DSS を投与し腸炎を誘導した(ストレス負荷 DSS 腸炎マウス)。上記マウスの脳スライスを人工脳脊髄液灌流下に蛍光顕微鏡で撮影し ATP 濃度を測定した。また一部のモデルでは functional MRI を用いて中枢神経系の神経活動を評価した。抑うつ様行動や腸炎を誘導したマウスから採便し、16SrRNA シーケンスにより腸内細菌叢の解析を行った。中枢神経特異的ミトコンドリア異常(mMtDNA)マウスに対して DSS 腸炎を誘導し、腸炎の評価を行った。

### 4. 研究成果

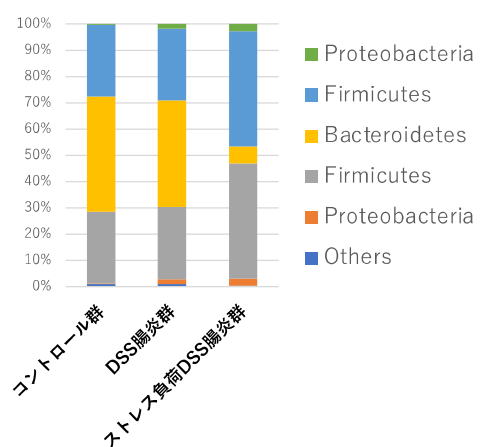
(1)GO-Ateam2 発現マウスを用いて炎症性腸疾患モデルマウスの作成と解析を行った。拘束ストレスを負荷し DSS 腸炎を誘導したところストレス負荷 DSS 腸炎モデルにおいて DSS 腸炎モデル群と比較して体重の減少と腸管長の短縮を認め腸炎の増悪を認めた。ストレス負荷 DSS 腸炎モデルでは病理組織学的にも腸炎の増悪を認め、第腸粘膜固有層リンパ球のサイトカイン発現が亢進していた。(下図)



(2)in vivo で蛍光実体顕微鏡を用いて脳での ATP の挙動を観察したところ、ストレス負荷 DSS 腸炎モデルマウスにおいて ATP 濃度の低下を認めた。神経細胞の興奮頻度を検討するためにマンガンの取込みを functional MRI で検討したところ、ストレス負荷 DSS 腸炎モデルマウスでは神経発火頻度が上昇する傾向を認めた。拘束ストレスと腸炎によりエネルギー代謝の変化を伴って中枢神経系の神経活動が変化したと考えられた。(下図)



(3)門レベルでの腸内細菌叢の存在割合を右に示す。ストレス負荷 DSS 腸炎モデルマウスではバクテロイデス門の著明な割合減少を認めた。拘束ストレスによる DSS 腸炎の増悪に腸内細菌叢の変化が関与している可能性が示唆された。これらの結果から、拘束ストレスは中枢神経系での神経活動やエネルギー代謝の変化を誘導し、腸内細菌叢の変化を伴って腸炎を増悪させることが示唆された。



(4)8-12 週齢の mMtDNA マウスに対して DSS 腸炎を誘導したところ、腸炎の増悪(体重減少、腸管長の短縮)を認めた。腸炎を発症させたマウスで行動解析を行ったところ、不安様行動が出現し、腸炎の誘導により行動異常が早期に発現した。中枢神経系の異常により腸炎が増悪するモデルと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 JDDW2021 W7 臓器間ネットワークと消化器疾患
2. 発表標題 中枢神経ミトコンドリア機能異常が腸管炎症に寄与する役割の検討
3. 学会等名 JDDW2021
4. 発表年 2021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
---------	---------