

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02754

研究課題名(和文) 多次元解析による神経性無食欲症のサイクバイオティクスの同定：治療薬の創発に向けて

研究課題名(英文) Identification of the psychobiotics in young patients with anorexia nervosa by multidimensional analysis: Toward the discovery of therapeutic agents

研究代表者

岸本 年史 (Toshifumi, Kishimoto)

奈良県立医科大学・医学部・特任教授

研究者番号：60201456

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,500,000円

研究成果の概要(和文)：神経性やせ症の患者において、脳機能の生理学的な変化、あるいは腸内フローラに変化があるのかについて検討を行なった。対象は、13-18歳までの思春期患者と年齢をマッチさせた健常対象者で検討をおこなった。その結果、摂食障害患者における事象関連電位と呼ばれる神経生理学的な検査法では有意な変化を認めた。同患者群における腸内フローラ解析については、健常-対照群間、疾患群においても治療介入前後で腸内フローラの粗大な変化を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経性やせ症の患者において、事象関連電位は疾患の生物学的指標になる可能性が考えられた。一方で、これまでの研究から神経性やせ症における腸内環境の変化が存在することは明らかであるが、治療前後において大きく腸内細菌叢が変化する可能性は乏しく、これが神経性やせ症の現在における治療介入においても未だなお完全寛解に至らない可能性がうかがえた。今後、詳細に解析を続け、診断マーカーや創薬に向けた検討を行なう。

研究成果の概要(英文)：We studied whether physiological changes in the brain or changes in intestinal microbiota was present in patients with anorexia nervosa. We recruited the subjects who were all adolescent patients aged 13-18 years and age-matched healthy subjects.

We found significant changes in the neurophysiological test named event-related potentials in patients with eating disorders. On the one hand, the analysis of intestinal microbiota using a next generation sequencer Gut in the same subject group showed no gross changes in the composition of intestinal microbiota between the groups, nor in the disease group before and after treatment intervention.

研究分野：臨床精神医学

キーワード：神経性やせ症 思春期メンタルヘルス 脳腸相関

## 1. 研究開始当初の背景

摂食障害はボディイメージの歪み(身体象の障害)から生じた摂食行動の異常とその代償行動によって代表される精神障害である。また、薬物乱用や窃盗、万引きといった反社会的行動にまで及ぶ事例もあり、非常に多様性のある、他の精神疾患に比べれば生涯有病率は高くはないが、患者自身や家庭・社会的な負担が大きい疾患である。しかし、現状ではさまざまな症状に対応できる効果的な治療プログラムや薬物療法が乏しく治療に困窮することが多い。なかでも神経性無食欲症(anorexia nervosa:AN)は、思春期女性に好発し、非常に頑固で継続的な食事の制限、極端な体重増加への恐怖により、時として下剤の乱用などの不適切な代償行為を伴う。その背景には、不安・強迫・抑うつ・認知機能障害・多動や衝動制御困難などの多彩な精神症状があり、AN患者の約10%が発症から10年以内に死亡するといわれ、死亡率が高い疾患である。さらに、最近の研究ではAN患者の死亡率は5.9%で統合失調症や気分障害よりも高く、慢性化率・再発率・医療機関からのドロップアウト率も高いと報告されている。つまり、早期発見や、早期介入・初期治療の対応が成否をわけることは明らかであり、ANを脳(こころ)の病気として適切に生物学的な評価を行い、治療法を開発していくことが望まれる。

近年、脳梗塞や神経変性疾患のみならず統合失調症や自閉スペクトラム症などの精神疾患の病因や病態に、脳内の免疫系や炎症反応の関与すること、これらにおいて中心的役割を果たすミクログリアの機能変化が関与することが、数々の死後脳研究や画像研究、遺伝子研究で報告されている。一方で、腸は「第二の脳」と呼ばれる独自の神経ネットワークを有し独立して活動することが可能な器官であるが、脳と腸は、自律神経、ホルモン、サイトカイン・リンパ管などの免疫系の情報伝達系を介して、互いに影響を及ぼし合っている可能性が示唆されている(脳腸相関)。この脳腸相関における新たな主役として注目されているのが腸内細菌叢(腸内フローラ)であり、腸内フローラが各種メタボリック・シンドロームを介して精神機能に影響を与えていること(サイコバイオティクス)が明らかにされつつあり、これらの異常が精神疾患に関連することがわかってきた。この為、思春期AN患者に対する予防医学の推進や治療法開発に向けて、脳腸相関から精神疾患の病理病態を理解し、治療の標的となる因子を同定していくことが、新たな診断および予防的介入・治療薬の開発につながると考える。

## 2. 研究の目的

ANへの薬物療法は対症療法にすぎず、国家レベルで治療や支援への取り組みが行われているが、今なお克服は程遠い。また、ANにおいては早期発見や早期介入が不可欠とされるが、思春期以降の発症を予防する先制医療創出の試みは、これまでほとんどなされていない。本研究は、ANの諸症状を鑑み、生物学的な病理病態の理解に基づく診断・治療薬の創発に向けて、「脳・こころと身体」の三位一体の研究を行うことに独創性がある。脳内環境と腸内(体内・内臓)環境の破綻の分子原理を脳内及び末梢の免疫系の観点に絞って探求し、見出された生理・分子レベルでの異常により腸内環境-脳内環境円環が障害されANを来す分子・神経病理を紐解くことを狙いとする。これらを成し遂げるため、糞便、血液、神経生理、脳画像サンプルから臨床研究と基礎研究の双方向からの相補的かつ多次元な研究を展開し、最新の解析法を駆使しながら、これまで検出困難されていた生物学的相違も明らかにしていくことで、臨床で有効な診断法や治療法の創出の一助になることを本研究の目的とする。

## 3. 研究の方法

思春期AN患者における腸内フローラの変化、いわゆるdysbiosisが生じていることの確認を思春期AN患者の糞便から腸内フローラ解析を行い、健常対照群との比較、治療介入前後での比較により、腸内フローラの異常の有無、つまり総細菌数や優勢菌群の相違に解析する。

AN特性に関わる摂食関連行動や不安・衝動、認知への神経心理学的検査に加えて、近赤外線スペクトロスコピー(near-infrared spectroscopy:NIRS)と眼球運動検査を用いた神経生理学的解析を行う。

動物モデルによる、腸内フローラ回復と摂食行動や精神症状の改善の因果の生物学的検証AN患者における腸内フローラの変化と、摂食行動や精神症状との関係を、動物実験から検証する。AN様のモデルマウスに対して、AN行動に対する妥当性の検証と腸内フローラの変化が存在するのかを検討する。またAN特性を改善しうる薬剤を投与し、腸内フローラが変化するか、脳内の遺伝子発現に変化が伴うか、AN様の行動変化が改善するかを検証する。

## 4. 研究成果

研究参加の同意が得られた13~18歳までのAN女性患者と年齢・性をマッチさせた健常対照、各17例で腸内フローラ解析を行なった。解析対象としてAN治療前と治療後、そして健常対照の3群で比較検討を行なった。各便サンプルからゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサーにて解析した。解析については、細菌叢構成比や、糞便中の菌の多様性を示す指数である多様性や多様性を検証した。各群の多様性(Shannon指数)については、いずれの群間でも統計学的有意差は認められなかった。主成分分析においても統計学的に有意差を認めず、患者の治療前・治療後の変化も認めなかった。しかし、細菌属についての

詳細な解析においては、患者と健常対照者での違い、そして治療前後での変化を確認できたが、今後の検証が必要と考えられた。総じて AN における腸内環境の変化が存在することは明らかであるが、現行での治療前後において大きく腸内細菌叢が変化する可能性は乏しいことが考えられた。

思春期 AN 患者 (13 歳から 18 歳)、脳機能の変化が存在するかを検証した。近赤外線スペクトロスコピーを用いて、Stroop color-word 課題遂行時の前頭領域の血液動態反応について、思春期 AN 群と健常対照群で比較検討を行った。結果、両群間に前頭葉賦活課題時の同領域の血液動態反応に有意差はみられなかった。さらに、眼球運動検査を用いた思春期 AN 群の視線活動について検討を行ったが、眼球運動に対する特徴量について治療前後で有意な変化を検出できなかった。さらに事象関連電位 (以下、ERP) の測定をおこなった。聴覚性刺激による oddball 課題を用い、国際 10-20 法に基づく正中前頭部 (Fz)、正中中心部 (Cz)、正中頭頂部 (Pz)、左中心部 (C3)、右中心部 (C4) の 5 点で P300 を測定し、思春期 AN 群と健常対照群で比較検討を行なった。結果として、Fz, Cz, Pz, C3, C4 において、AN 群の P300 の潜時は健常対照群と比較して有意に延長していた。また、Fz, Cz, Pz, C3, C4 における P300 の振幅は、健常対照群と比較して、AN では有意に減衰していた。これらの変化は、AN の症状重症度や BMI との相関を認めなかった。

思春期 AN マウスモデルの妥当性の検証

これまでに神経性やせ症のモデルマウスとして、その有用性が報告されている activity based anorexia (ABA) を用いた。生後 28 日からマウス用ワイヤレスホイール (Neuroscience, Inc.) をケージに入れて行動量および食事量、体重を測定した。食事制限を与えることで、対照群と比較することで、体重は顕著に減少する一方で、夜間の行動量が顕著に増加することを再現することができた。これらについて、顕著なるいそうに伴い、便の回収が困難であり、腸内フローラ解析を行なうことができなかった。また糞便移植などの施行も困難であり、代替の動物モデルが必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 紀本創兵、山口泰成、中野章代、矢野寿一、岸本年史	4. 巻 61
2. 論文標題 腸内細菌-腸管-脳軸と児童青年の精神活動 脳-腸-微生物円環からみた思春期やせ症	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 児童青年精神医学とその近接領域	6. 最初と最後の頁 422 - 427
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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡崎康輔、山室和彦、紀本創兵、長濱剛史、疇地崇広、山口泰成、松浦広樹、岸本直子、岸本直子、太田豊作、飯田順三
2. 発表標題 P300を用いた思春期神経性無食欲症における認知機能の評価
3. 学会等名 第61回日本児童青年精神医学会総会
4. 発表年 2020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
研究分担者	紀本 創兵  (Kimoto Sohei)  (00405391)	奈良県立医科大学・医学部・講師    (24601)	
研究分担者	牧之段 学  (Makinodan Manabu)  (00510182)	奈良県立医科大学・医学部・准教授    (24601)	
研究分担者	井川 大輔  (Ikawa Daisuke)  (00526717)	奈良県立医科大学・医学部・研究員    (24601)	

## 6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	宮坂 俊輝 (Miyasaka Toshiteru) (00771023)	奈良県立医科大学・医学部・助教  (24601)	
研究分担者	太田 豊作 (Ota Toyosaku) (10553646)	奈良県立医科大学・医学部・学内講師  (24601)	
研究分担者	北村 聡一郎 (Kitamura Soichiro) (10714389)	奈良県立医科大学・医学部・助教  (24601)	
研究分担者	矢野 寿一 (Yano Hisakazu) (20374944)	奈良県立医科大学・医学部・教授  (24601)	
研究分担者	鳥塚 通弘 (Toritsuka Michihiro) (20588529)	奈良県立医科大学・医学部・学内講師  (24601)	
研究分担者	松岡 究 (Matsuoka Kiwamu) (80613794)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部・研究員(任非)  (82502)	
研究分担者	芳野 浩樹 (Yoshino Hiroki) (10347560)	奈良県立医科大学・医学部・准教授  (24601)	
研究分担者	山内 崇平 (Takahira Yamauchi) (20550817)	奈良県立医科大学・医学部・講師  (24601)	

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
---------	---------