

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：20104

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K02325

研究課題名（和文）うつ病を発症に関わるミクログリア活性化に対する大腸水素の作用を解明する

研究課題名（英文）Effects of colonic hydrogen on microglial activation induced during depression

研究代表者

山本 達朗（Yamamoto, Tatsuro）

名寄市立大学・保健福祉学部・准教授

研究者番号：90379389

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：難消化性糖質を摂取することによって生成される大腸水素が、うつモデル動物において生じている酸化ストレスに起因する脳の炎症を軽減し、モデル動物の社会性行動や情動性に影響を与えるのか検討を行った。その結果、高架式十字路試験を用いて行われた情動性の分析では、大腸水素の影響は認められなかった。しかし、社会的相互作用試験で抽出された脆弱個体を用いた検討では、脆弱個体の社会性スコアは大腸水素生成量に相関して改善され、炎症性サイトカインである血漿中IL-6濃度も大腸水素生成量に対して負の相関を示した。これらの結果は、大腸水素がうつ症状改善に寄与することを示すものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年行われているうつ病に関する研究は、モデルマウスを用いて薬を投与することによって脳内の炎症抑制に関する研究やそれにと伴う行動学的変化に関する研究が主体である。しかし、本研究成果は、日常生活の行動に含まれる食事により得られる大腸水素が、IL-6の減少やうつ様行動の軽減に寄与していることが示されており、今後のうつ病発症・予防の研究において1つの方向性を示すものと考えられる。このような研究の継続的な実施は、必ずうつ病の発症抑制、またうつ病患者のQOL向上に寄与できるものと考えられ、栄養学的側面から新しい神経科学の基盤を構築し、栄養学の発展に大きく貢献できると考える。

研究成果の概要（英文）：We examined whether colonic hydrogen, which is produced by ingestible carbohydrates, reduces brain inflammation caused by oxidative stress that occurs in animal models of depression and affects the social behavior and emotionality of the model animals. The results showed that colonic hydrogen had no effect in the analysis of emotionality conducted using the elevated plus maze test. However, an examination using susceptible mice extracted from the social interaction test showed that the social interaction scores of susceptible mice improved in correlation with large intestine hydrogen production, and plasma IL-6 concentration, an inflammatory cytokine, also showed a negative correlation with colonic hydrogen production. These results indicate that large intestine hydrogen contributes to the improvement of depressive symptoms.

研究分野：解剖学・発生学

キーワード：大腸水素 うつ病 脳 炎症 IL-6

### 1. 研究開始当初の背景

世界には約 3 億 5 千万人のうつ病患者がいることが 2012 年に世界保健機構から報告され、うつ病に起因する経済的な損失は日本やアメリカ合衆国で合わせて年間数百億ドルにも達すると言われている。1950 年代から始まった抗うつ薬の開発は、現在モノアミン神経伝達物質を標的とした抗うつ薬の開発につながり一定の効果を示しているが、既存の抗うつ薬には以下のような問題点が存在する。

- 1) 治療効果が得られるまでに数週間服用を続ける必要がある (即効性がない)
- 2) 服用直後には自殺のリスク増加が報告されている
- 3) 副作用のために薬物服用のコンプライアンスが良くない
- 4) うつ病患者のうち 3-5 割の患者が十分に回復しない

これらの要因から、薬物による既存の治療法では寛解できずに苦しんでいる患者が多いのが現状である。したがって、新規の治療法の開発が必要とされている。

近年、モデルマウスを用いたうつ病患者に関する研究において、脳内の炎症やミクログリア活性化の関与が報告され (Frank et al., Brain Behav. Immun. 2007; Giovanoli et al., Science, 2013) さらにモデルマウスの脳において炎症性サイトカイン (IL-1 $\alpha$  および TNF $\alpha$ ) の発現上昇が見られること、その中和抗体投与がうつ様行動の抑制につながる事が報告された (Xianget al., Neuron, 2018)。これらの報告は、うつ病を呈している脳内の炎症を抑制することができれば、うつ病の治療や発症の予防に繋がることを示している。

申請者は、これまでに食物繊維を基質とした大腸発酵由来の水素が、外傷性脳損傷モデルマウスにおいて炎症部位の酸化ストレスによるミクログリアの活性化を抑制することを確認した。このような背景から申請者は、1) 大腸発酵由来水素は、うつ病モデルマウスにおけるミクログリアの活性化を抑制し、うつ病に見られる行動学的異常の軽減または症状の寛解に導くことができる、2) うつ病モデルマウス作出前から大腸由来水素を脳に供給することによって状態うつ病の発症を抑制できるということを証明すべく本研究を遂行した。

### 2. 研究の目的

申請者は、心理社会ストレスモデルマウス (うつ病モデルマウス) を用いた、うつ病発症に伴う脳内ミクログリアを中心とした炎症反応に対する大腸発酵由来水素の作用を詳細に検討することを本研究の目的とした。

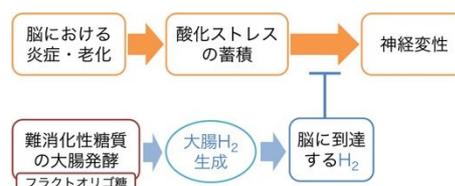


図 1: うつ病などに見られる脳の炎症を大腸水素は抑制できるのか

### 3. 研究の方法

大腸発酵を利用した水素の体内供給については様々な難消化性糖質で試みられているが (Nishimura et al., British Journal of Nutrition, 2012; Tanabe et al., Food and Health 2012)、本研究では過去の研究成果から 5% フラクトオリゴ糖食を用いて検討を行った。5% フラクトオリゴ糖食を摂取したマウスの呼気と放屁の排出水素量を経時的に分析し、予備検討同様の大腸発酵由来水素の生成を確認した。

B57BL/6 マウスを用い、ICR とストレスラーとして使用することによって心理社会ストレスモデルマウスを作出した。ストレス負荷 1 週間前より 5% フラクトオリゴ糖食の給餌を行い、10 日

間にわたるストレス負荷を行った。ストレス負荷の方法は Goto らの方法に従った (Goto et al., Behavioural Brain Research, 2014)。ストレス負荷後にうつ病の指標となる行動学的解析として、高架式十字路試験や社会性相互作用試験を行った。行動解析終了後、マウスを迅速に解剖し脳組織の採取を行った。採取した脳は、パラフィンに包埋し薄切化した。これらの組織標本に対してミクログリアのマーカである Iba1 による免疫組織化学を行い、ミクログリア活性化の状態を分析した。また、ELISA 方を用いて、うつ発症のマーカとなる血漿中 IL-6 濃度について分析した。

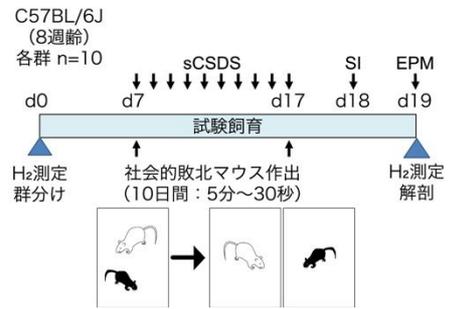


図2: 社会的敗北マウスの作出と行動実験のスケジュール。SI は社会的相互作用試験、EPM は高架式十字路試験を示す。

#### 4. 研究成果

C 食群と FOS 食群の間において、飼育期間中の総摂食量、体重増加量に有意な差はなかった。しかし、呼気・腸ガス水素排泄量において FOS 食摂取により排泄量が有意に増加した (図3)。また、ストレス負荷の指標となる血漿中 IL-6 濃度はストレス負荷による増加、FOS 食摂取による減少を認めた (図4)。

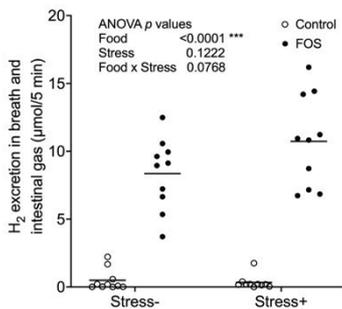


図3: 呼気・腸ガス水素排泄量。FOS 食摂取は水素排泄量を有意に増加させた。

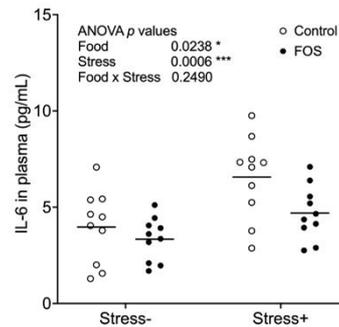


図4: 血漿中 IL-6 濃度。ストレス負荷は IL-6 濃度を有意に増加させた。また、FOS 摂取は、IL-6 濃度を低下させた。

うつ様行動の指標となる社会性相互作用試験を行った結果、オープンフィールド内のストレッサー存在下と非存在下における総移動距離は、各群間に差を認めなかった。一方、interaction zone 滞在時間は、ストレス負荷群で存在時、非存在時において有意に低下した (図4, 図5)。また、interaction zone 滞在時間について (非存在時/存在時) を計測することで算出される社会性行動(SI)スコアは、ストレス負荷によって減少することが確認された (図6)。

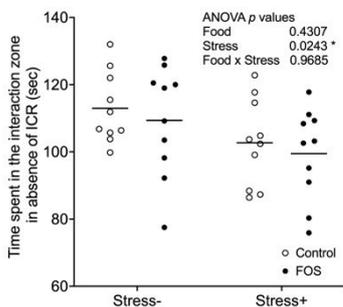


図4: ICR非存在下の interaction zone 滞在時間

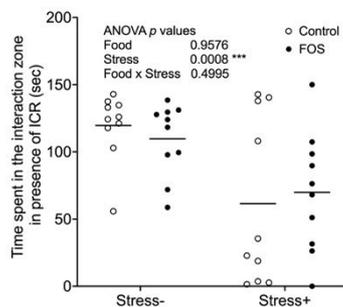


図5: ICR存在下の interaction zone 滞在時間

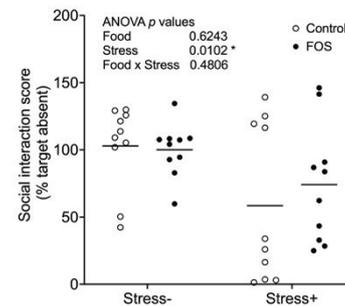


図6: SI スコア

不安様行動の観察のために、高架式十字路試験を行った。その結果、高架式十字路のオープンアームに滞在した時間は、ストレス負荷群に減少傾向が観察された（図 7）。一方、クローズドアームの滞在時間ではストレス負荷により滞在時間の有意な増加が認められた（図 8）。また、総移動距離についてもストレス負荷によって有意な減少が確認された（図 9）。

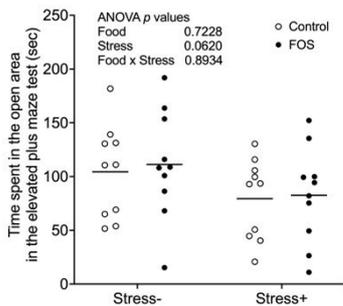


図 7: open arm 滞在時間

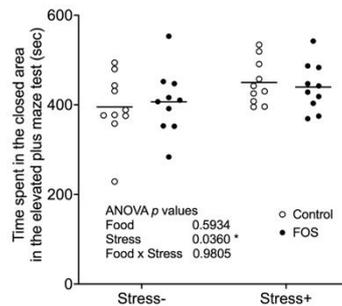


図 8: closed arm 滞在時間

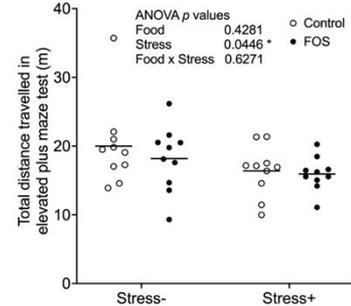


図 9: 総移動距離

図 2 に示したストレス負荷群のうち SI スコアが 100 を超えているものはストレス耐性を持つ動物（レジリエント）と考えることができ、100 以下のものは脆弱個体と考えることができる。脆弱個体において大腸水素や血漿中 IL-6 が果たす役割を明確にするために、SI スコアとそれらの値の相関関係を分析した。その結果、大腸水素排泄量と SI スコアの間には有意な正の相関があり（図 10）、血漿中 IL-6 濃度と SI スコアの間には有意な負の相関が確認された（図 11）。

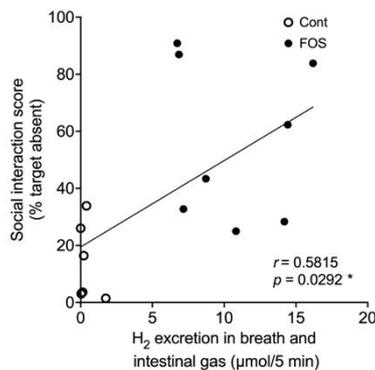


図 10: SI スコアと大腸水素排泄量の相関関係。大腸水素増加に伴って、SI スコアの改善が観察された。

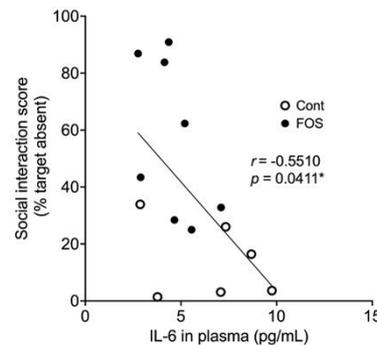


図 11: SI スコアと血漿中 IL-6 濃度の相関関係。IL-6 の増加は SI スコアの低下を導く。

これら結果は、FOS 食摂取によって誘導される大腸水素の生成増加は、うつ病モデル動物の脆弱個体において社会的相互作用スコアの改善を導くことを示すものである。また、FOS 食摂取は血漿中の IL-6 濃度低下を示すことから、大腸水素生成はストレス誘導性のサイトカイン産生を抑制することによって、SI スコアの改善に寄与している可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 山本達朗, 杉山夏菜, 糸澤久美, 田邊宏基, 豊田淳, 西村直道
2. 発表標題 うつ病モデルマウスを用いた大腸水素の抗うつ作用に関する行動学的分析
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本達朗, 前谷柚花, 田邊宏基, 西村直道
2. 発表標題 大腸水素高生成若齢マウスにおける海馬CA3領域細胞層の増加
3. 学会等名 第52回日本栄養・食糧学会北海道支部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本達朗, 奥谷紗羽, 杉山夏菜, 糸澤久美, 田邊宏基, 豊田淳, 西村直道
2. 発表標題 大腸水素はうつ病モデルマウスの脆弱個体に対して抗うつ作用を示す
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023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
---------	---------