

令和 6 年 9 月 17 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02141

研究課題名（和文）食品によるエクソソームを介した腸脳相関活性化の分子基盤解明

研究課題名（英文）Molecular basis for the activation of exosome-mediated gut-brain interaction by food

研究代表者

片倉 喜範 (Katakura, Yoshinori)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：50264106

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：エクソソームを介して腸脳相関を活性化する食品の探索・同定を行い、数種の食品を腸脳相関活性化食品として同定した。これら食品は、*in vitro*細胞培養系において、腸管細胞を活性化し、神経細胞を活性化するエクソソームを分泌することが明らかとなった。さらに、これら食品を加齢マウスに投与後、新奇物体認識試験により視覚的認知記憶を評価した結果、いずれの食品も記憶機能を改善することが明らかとなった。さらにこれら食品をモデル食品として用いて、様々な多面的解析及び複合オミックス解析を通じて、これら食品の腸脳相関活性化に関わるmiRNAの同定とそれらmiRNAにより活性化されるパスウェイの同定に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳機能を改善する食品に関しては、最近報告が増えてきつつある。しかしながら、それら食品の機能性の分子基盤を明らかにした例は少ない。本研究では、腸脳相関活性化作用を有する食品の分子基盤として、食品により誘導されるエクソソームを想定するものであり、極めて新規性が高く、食品の機能性に関する新たな可能性を示す研究といえる。今後は、脳機能改善に限らない、様々な食品の様々な全身性の機能を説明する分子基盤となりうる

研究成果の概要（英文）：I have searched for and identified foods that activate the gut-brain relationship via exosomes, and have identified several foods as gut-brain relationship activating foods. These foods were found to activate intestinal cells and secrete exosomes that activate neurons in an *in vitro* cell culture system. In addition, after these foods were administered to aged mice, visual cognitive memory was evaluated by a novel object recognition test, and it was found that all of the foods enhanced the memory function. Furthermore, using these foods as model foods, I succeeded in identifying the miRNAs involved in the activation of the gut-brain correlation and the pathways activated by these miRNAs through various multifaceted analyses and complex omics analyses.

研究分野：食品機能学

キーワード：エクソソーム 腸脳相関 miRNA 加齢マウス Caco-2細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

食品のもつ生体調節機能に関しては、これまで数多く報告されているが、最近では特に脳機能を改善する食品(ブレインフーズ)に関する報告が相次いでいる。申請者はこれまでに、ブレインフーズとして知られるカルノシンや  $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)が、腸管細胞からの細胞外小胞(エクソソーム)の分泌を促し、神経細胞を活性化すること、つまりエクソソームを介して腸脳相関を活性化する可能性を、モデル細胞を用いた *in vitro* 試験により明らかにしている。

これまで、ブレインフーズ候補食品の探索とその機能性に関する研究は数多く行われているが、腸管から吸収された食品成分が、どのようなメカニズムで、どのような因子の介在のもと、脳機能を活性化するのか、つまり食品による腸脳相関活性化の分子メカニズムについてはほとんど明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、細胞間相互作用のメディエーターとして機能することが知られているエクソソームに着目し、食品による腸脳相関活性化に対するその寄与と詳細な分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。そのために下記項目を設定し、研究を行う。

エクソソームを介して腸脳相関を活性化する食品を探索・同定する。

腸脳相関活性化に関わるエクソソームとそこに内包される miRNA を同定する。

複合オミックス解析により、miRNA による脳機能制御の分子基盤を明らかにする。

シングルセル解析により、腸脳相関活性化エクソソームの標的細胞・遺伝子を明らかにする。

腸脳相関活性化 miRNA を指標として食品機能・ヒト脳機能評価系を構築する。

### 3. 研究の方法

エクソソームを介して腸脳相関を活性化する食品の探索・同定

マウスに脳機能改善効果を誘導する食品として、脳機能改善食品(カルノシン、GABA)を用いる。マウスにこれら食品投与を行った後、血中のエクソソームを単離する。*in vitro* 試験系により、これらエクソソームの神経細胞活性化能(神経突起伸長・ミトコンドリア活性化)を、イメージングサイトメーター(IN Cell Analyzer 2200: 現有設備)を用いて評価する。さらに、*in vivo* 試験系により、加齢マウスへこのエクソソームを静脈注射し、記憶機能改善効果を検証する。

多面的解析に基づく腸脳相関活性化に関わる miRNA の探索と同定

1) 血中エクソソーム解析: エクソソームを介して脳機能を改善する食品を、加齢マウスに投与し、血中エクソソーム中の miRNA のマイクロアレイ解析を行い、発現変動 miRNA を同定する。  
2) 腸管由来エクソソーム解析: 腸管モデルとして、結腸ガン由来細胞(Caco-2)を用いる。細胞に、エクソソームを介して脳機能を改善する食品を添加し、分泌される腸管由来エクソソームを単離する。これらエクソソームの神経細胞活性化効果を *in vitro* 試験系により、脳機能改善効果をモデルマウスを用いた *in vivo* 試験系により検証することで、エクソソームの腸脳相関活性化効果を検証する。さらに腸脳相関活性化効果を示すエクソソーム内 miRNA のマイクロアレイ解析から、発現変動 miRNA を同定する。

複合オミックス解析に基づくエクソソームによる腸脳相関活性化の分子基盤解明

1) 上記研究より明らかとなった腸脳相関活性化エクソソーム内 miRNA の標的 mRNA を、ウェブ上の標的予測プログラム(TargetScan)を用いて予測する。  
2) エクソソームを介して腸脳相関を活性化する食品をマウスに投与し、脳海馬において発現変動する遺伝子を、マイクロアレイ解析により明らかにする。  
3) 1)の標的 mRNA と 2)の海馬 mRNA を照合することで、腸脳相関活性化に関わるエクソソーム miRNA とその標的 mRNA の推定を行う。  
4) インフォマティクス解析に基づく機能性検証  
インフォマティクス解析を行うことで、腸脳相関に関わる遺伝子の形成するネットワークを明らかにする。また、上記の腸脳相関活性化に関わる遺伝子と加齢マウスの海馬において発現変動する遺伝子セットとの比較検証を行い、エクソソームによる腸脳相関活性化が特定の遺伝子セットに依存しているかを明らかにする。

脳相関活性化 miRNA を指標とした食品機能/ヒト脳機能評価系の構築

1) マウスに機能未知食品を投与し、血中で検出されるエクソソーム中の miRNA と上記の腸脳相

関活性化 miRNA との比較解析を行うことで、食品の脳機能改善効果を予測するシステムを新たに構築する。

2) 上記の腸脳関連活性化 miRNA をマーカーとして、ヒト生体試料（血液）を用いた低侵襲ヒト脳機能診断システムも新たに構築する。

#### 4. 研究成果

##### エクソソームを介して腸脳関連を活性化する食品の探索・同定

エクソソームを介して腸脳関連を活性化する食品として、カルノシン及びGABAの他に新たに、ザクロ由来ポリフェノールであるエラグ酸の腸内細菌分解物として知られるウロリチン A、最近アンチエイジング素材として注目されている NMN を高生産する乳酸菌が、腸脳関連活性化効果を有する食品であることを明らかにした。これら食品はいずれも、腸管細胞 Caco-2 に添加し、2日間培養した後の培養上清から調製したエクソソームを、ヒト神経細胞として知られる SH-SY5Y に添加すると、神経突起の伸長、ミトコンドリアの活性化を示すことが明らかとなった。さらに当該食品を加齢マウスに2ヶ月間投与後、新奇物体認識試験により、視覚的認知記憶能を評価した結果、いずれの食品も *in vivo* レベルで脳機能を改善するとともに、脳海馬の炎症状態を抑制しうるということが明らかとなり、これら食品は *in vivo* レベルでも脳機能改善効果を有する食品であることが明らかとなった。

##### 多面的解析に基づく腸脳関連活性化に関わる miRNA の探索と同定

上記食品で処理をした Caco-2 細胞の培養上清から調製したエクソソームおよび上記食品を2ヶ月間投与した後に血清中から調製したエクソソームを、分析会社にて依頼解析を行い、それぞれのエクソソーム内 miRNA のマイクロアレイ解析を行った。その結果、いずれの食品においても、Caco-2 培養上清由来エクソソーム内および加齢マウス血清由来エクソソーム内において、食品処理/投与とともに発現変動を示す miRNA の同定に成功した。さらにこれら発現変動を示す miRNA のターゲット遺伝子を TargetScan により推定するとともに、それら遺伝子により制御されるパスウェイを検証したところ、いずれの食品においても、細胞およびマウス由来エクソソーム内 miRNA は、記憶、神経機能活性化、神経軸索誘導等に関わるパスウェイを活性化していることが明らかとなった。

##### 複合オミックス解析に基づくエクソソームによる腸脳関連活性化の分子基盤解明

上記腸脳関連を活性化する食品処理により、Caco-2 細胞および加齢マウス血清由来のエクソソーム内 miRNA の標的遺伝子、およびそれぞれの食品を投与した加齢マウスの海馬において発現変動する遺伝子との間の相関解析を行った結果、それぞれの食品間で同じ miRNA が発現変動 miRNA として同定される例は少なかったものの、そのターゲットパスウェイやターゲット遺伝子にはある程度の共通性が認められた。つまり、いずれの腸脳関連活性化食品も、エクソソーム内で変動する miRNA は異なるものの、その結果として発現する表現型 球通性が認められることと相関する結果であると考えられた。

##### 脳関連活性化 miRNA を指標とした食品機能/ヒト脳機能評価系の構築

上記腸脳関連活性化食品で処理をした Caco-2 の培養上清由来エクソソーム内 miRNA 及びそれぞれの食品を投与した加齢マウス血清由来エクソソーム内 miRNA を用いて、食品の腸脳関連活性化能が評価可能か、そのアルゴリズムの作成を試みている。このアルゴリズムの作成により、将来食品の腸脳関連活性化効果が、誘導される miRNA から予測することが可能になるものと考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ishibashi Asuka, Uono Miyako, Sato Mikako, Katakura Yoshinori	4. 巻 15
2. 論文標題 Molecular Mechanisms for the Carnosine-Induced Activation of Muscle?Brain Interaction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1479 ~ 1479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu15061479	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 Fujiki Tsukasa, Shinozaki Ryosuke, Uono Miyako, Katakura Yoshinori	4. 巻 14
2. 論文標題 Identification and Functional Evaluation of Polyphenols That Induce Regulatory T Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2862 ~ 2862
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14142862	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 Ledrhem Merieme, Nakamura Miku, Obitsu Miyu, Hirae Kinue, Kameyama Jun, Bouamama Hafida, Gadhi Chemseddoha, Katakura Yoshinori	4. 巻 27
2. 論文標題 Essential Oils Derived from Cistus Species Activate Mitochondria by Inducing SIRT1 Expression in Human Keratinocytes, Leading to Senescence Inhibition	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2053 ~ 2053
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27072053	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 Ryo Inotsuka, Miyako Uono, Atsushi Yamatsu, Mujo Kim, Yoshinori Katakura	4. 巻 13
2. 論文標題 Exosome-Mediated Activation of Neuronal Cells Triggered by $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu13082544	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 Mizuki Ogawa, Miyako Uono, Kiichiro Teruya, Norihisa Uehara, Yoshinori Katakura	4. 巻 13
2. 論文標題 Exosomes Derived from Fisetin-Treated Keratinocytes Mediate Hair Growth Promotion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu13062087	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 -

[学会発表] 計10件(うち招待講演 5件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 里 桃花、宮園素直、鶴殿美弥子、片倉喜範
2. 発表標題 カルノシンによるエクソソームを介した脳機能改善
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 伊田裕紀子、石橋明寿香、佐藤三佳子、片倉喜範
2. 発表標題 カルノシンによる筋脳相関活性化
3. 学会等名 日本食品免疫学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 片倉喜範
2. 発表標題 食品による腸脳相関活性化のメディエーターとしてのエクソソーム
3. 学会等名 日本動物細胞工学会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片倉喜範
2. 発表標題 カルノシンによる脳機能制御とその分子基盤
3. 学会等名 機能性食品用ペプチド研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片倉喜範
2. 発表標題 食品機能性成分の腸を介したアンチエイジング
3. 学会等名 パラミロン研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片倉喜範
2. 発表標題 長寿遺伝子を標的としたアンチエイジング食品の探索とその機能性
3. 学会等名 おかやまバイオアクティブ研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鳥飼こと乃、小林陽一郎、片倉喜範
2. 発表標題 メラニン合成抑制サプリメントの探索と機能性
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田俊介、小川瑞紀、鶴殿美弥子、片倉喜範
2. 発表標題 TERTを活性化して育毛効果を有するポリフェノールの同定とその機能性の解明
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中綾乃、いの塚涼、鶴殿美弥子、片倉喜範
2. 発表標題 GABAは腸管細胞から神経細胞を活性化するエクソソームの分泌を促す
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片倉喜範
2. 発表標題 食品成分による育毛制御の分子基盤
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

細胞制御工学研究室  
<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/crt/index.html>

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
研究協力者	鶴殿 美弥子  (Miyako Udon)	九州大学・大学院農学研究院・特任助教  (17102)	
研究協力者	田代 康介  (Tashi ro Kosuke)	九州大学・大学院農学研究院・准教授  (17102)	
研究協力者	喜田 聡  (Kida Satoshi)	東京大学・農学部・教授  (12601)	

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		
モロッコ	Cadi Ayyad University		