

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670366

研究課題名(和文) カテコラミンを介した細菌と宿主との対話：心身関連の新しいパラダイムの創出

研究課題名(英文) Inter-kingdom signaling between bacteria and human: A new paradigm of mind-body interaction

研究代表者

須藤 信行 (Sudo, Nobuyuki)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60304812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：宿主と細菌との界を超えた相互作用(情報交換)が注目を集めている。本研究では、腸管腔内のカテコラミン(CA)やセロトニン(5-HT)に着目し、その制御機構について検討した。脳室内corticotrophin releasing factorの投与によって腸管腔内のCAが一過性に上昇した。腸管腔内には生理活性を有する遊離型の5-HTが存在しているが、無菌マウスではその多くがグルクロン酸抱合されていた。糞便内から回収された腸内細菌はCAを含有していた。以上の結果は、腸管内腔にはCAや5-HTなどのモノアミンが存在しており、様々なストレス関連の病態を修飾している可能性を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：There is increasing interest in the bidirectional communication between the mammalian host and prokaryotic cells. In this study, we examined by what mechanisms monoamines, such as catecholamines (CA) and serotonins (5-HT) are regulated in response to stress stimuli, and how they are generated in the gut lumen. Intracerebral injection of corticotrophin releasing factor elicited a small but significant elevation of norepinephrine in the gut lumen. Biologically active 5-HT levels were higher in SPF mice than in germfree (GF) mice. The majority of 5-HT in the gut lumen of GF mice was conjugated by glucuronic acid. Bacteria collected from SPF feces had a substantial amount of CA. These results indicate that CA and 5-HT exist in the biologically active form and might participate into the pathogenesis of various stress-related disorders.

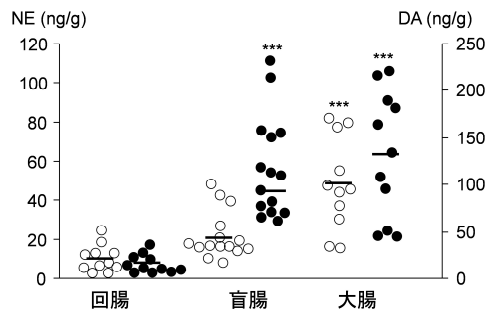
研究分野：内科学一般(含心身医学)

キーワード：カテコラミン 腸内細菌 ストレス インターキングダム・シグナリング

1. 研究開始当初の背景

従来、ストレス環境下における感染症誘発のメカニズムとしては、ストレスによる宿主の免疫機能低下が原因として推定されてきたが、その詳細な病態機序は不明である。近年、宿主と細菌との相互作用（情報交換）いわゆる“インターキングダム・シグナリング (Inter-kingdom signaling: IKS)” (Hughes & Sperandio Nat Rev Microbiol 6;111-20, 2008)の存在が発見され、研究者の注目を集めている。IKSとは、本来は細菌間の情報伝達に使われていた物質が、「界 (kingdom)」を越えてその宿主へ作用し、逆に宿主由来の物質が細菌へ作用し、その性質を変化させるという原生物界（細菌界）と動物界との間の双方向的な情報伝達を指す概念である。その代表例としてノルエピネフリンやドーパミンなどのカテコラミン (catecholamine: CA) の作用が注目されている。CAの添加により大腸菌は増殖が活発となり、病原性が高まる事実は、1990年代に *in vitro* の実験にて証明されていたが (Lyte M. Life Sci. 50;203-12, 1991)、近年、細菌自体がCAに反応する特異的レセプター(QseC)を有することが明らかとなった(Clark MB et al. PNAS 103;10420-5, 2006)。このようなCAを介したIKSは、腸管内で恒常的に行われていると推定されているが、これまで明確に証明されていなかった。

腸管管腔内CA濃度



腸管内容物(管腔内)におけるドーパミン(DA:●)、ノルエピネフリン(NE:○)濃度。\*\*\*  $P < 0.001$   
盲腸、大腸では管腔内にNE, DAが存在している。

我々のグループは、腸管内容物に適用可能なHPLC測定系を確立し、腸管管腔内にドーパミン、ノルエピネフリンが存在することを世界で初めて証明した(上図: Asano Y et al. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 303(11):G1288-95, 2012)。

2. 研究の目的

本研究では、腸管におけるカテコラミンを介した宿主と腸内細菌との相互作用に焦点を当て、管腔内カテコラミンの制御機構と病態形成との関わりについて検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物と実験手法

実験にはSPF環境下で飼育された雄BALB/cマウスを用いた。腸管管腔内セロトニン(5-HT)の実験では、SPFマウスとともに無菌マウスを用いた。まず腸管神経叢(enteric nervous system: ENS)から腸管管腔内へのCA遊離について検討した。麻酔したBALB/cマウスを動物用恒温装置の上に乗せ、脳室内に(corticotrophin releasing factor: CRF)を投与した。近位結腸よりペリスタポンプを用いてPBSを灌流させ、流出液は一定時間ごとに遠位結腸より回収した。

次に少量のインドメタシンの経口投与によって腸管上皮バリア機能が障害されたマウスを用いて管腔内へのCA遊離について検討した。上と同様に刺激として脳室内CRF投与を用いた。

(2) 細菌内CAの検討

腸管内容物より腸内細菌を分離し、その細菌内CA含量について検討した。具体的にはPercoll液によって分離された腸内細菌をソニケーターを用いて破碎し、遠心分離後の上清中に含まれるCAを測定した。

(3) 腸管管腔内5-HT濃度の測定

腸管壁のenterochromaffin細胞は5-HTを豊富に含有しており、食物成分や細菌の菌体成分に反応して腸管管腔内に5-HTを遊離することが知られている。管腔内5-HT濃度をSPF, GFマウスで測定した。5-HT濃度は生理活性を有する遊離型とグルクロン酸抱合された抱合型をそれぞれ測定した。

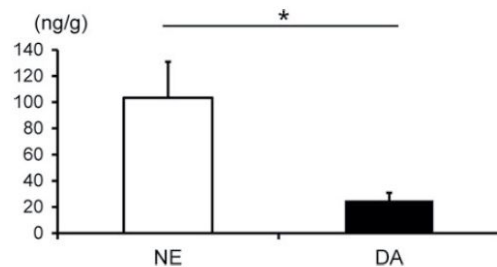
(4) CAおよび5-HTの測定

CAおよび5-HTは既報(Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 303(11):G1288-95, 2012)にしたがってHPLC法によって測定した。

4. 研究成果

(1) 脳室内CRF投与は、腸管管腔内ノルエピネフリン濃度を一過性に上昇させた。

(2) SPFマウスの腸管より回収された腸内細菌は、ノルエピネフリン、ドーパミンを含有していた(下図)。



(3) SPFマウスの大腸管腔内には5-HTが

十分量存在していた。一方 GF マウスの大腸管腔内 5-HT 濃度は有意に低く、大部分はグルクロン酸抱合された状態で存在していた。

以上の結果は、腸管腔内には CA や 5-HT などのモノアミンが存在しており、様々なストレス関連の病態を修飾している可能性を示唆するものである。現在、その詳細な機序を明らかにすべく検討を進めている。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

(1) Sudo N., Microbiome, HPA axis and production of endocrine hormones in the gut., *Adv Exp Med Biol.*, 査読有, 817, 2014, 177-94.

(2) Chijiwa T, Oka T, Lkhagvasuren B, Yoshihara K, Sudo N., Prior chronic stress induces persistent polyI:C-induced allodynia and depressive-like behavior in rats: Possible involvement of glucocorticoids and microglia., *Physiol Behav.*, 査読有, 1:147, 2015, 264-73.

(3) Takakura S, Yokoyama H, Suzuyama C, Tatsushima K, Yamashita M, Gondou M, Morita C, Hata T, Takii M, Kawai K, Sudo N., Three cases of appendicitis with anorexia nervosa under inpatient care., *J Eat Disord.*, 査読有, 6:3, 2015, 38.

(4) Sawamoto R, Nozaki T, Furukawa T, Tanahashi T, Morita C, Hata T, Komak G, Sudo N., Predictors of Dropout by Female Obese Patients Treated with a Group Cognitive Behavioral Therapy to Promote Weight Loss., *Obes Facts.* 査読有, 9(1), 2015, 29-38.

(5) Morita C, Tsuji H, Hata T, Gondo M, Takakura S, Kawai K, Yoshihara K, Ogata K, Nomoto K, Miyazaki K, Sudo N. Gut Dysbiosis in Patients with Anorexia Nervosa., *Plos One.*, 査読有, 18:10(12), 2015, e0145274.

(6) Sudo N. Brain-Gut Axis and Gut Microbiota: Possible Role of Gut Microbiota in Childhood Mental Health and Diseases. *J Pediatr Biochem* 2015;5:77-80.

〔学会発表〕(計 10 件)

(1) Sudo N. Gut microbiota influence stress response and behavior of the host, The 16th Congress of Asian College of Psychosomatic Medicine, August 22nd, 2014, Indonesia.

(2) 波多 伴和, 朝野 泰成, 戸谷 妙, 平本

哲哉, 吉原 一文, 須藤 信行. 腸内細菌叢による腸管腔内セロトニンの変化. 第 82 回消化器心身医学研究会. 2014 年 11 月 7 日, 東京.

(3) 吉原 一文, 朝野 泰成, 波多 伴和, 戸谷 妙, 平本 哲哉, 須藤 信行, 腸脳相関に関する腸内細菌と腸管腔内モノアミン 第 82 回消化器心身医学研究会, 2014.11.07

(4) 須藤 信行. 腸内細菌と脳場相関—心身医学研究の新しい展開—, 第 55 回日本心身医学会総会ならびに学術講演会, 2014 年 6 月 7 日, 千葉.

(5) 須藤 信行. 腸内細菌によるストレス反応・行動特性の制御, 第 10 回日本食品免疫学会学術大会, 2014 年 10 月 17 日, 東京

(6) 須藤 信行. 内科領域におけるストレス関連疾患の病態と治療, 第 53 回九州支部生涯教育講演会 (日本内科学会九州支部), 2015 年 1 月 10 日, 福岡.

(7) 須藤 信行. 腸内細菌によるストレス反応・行動特性の制御, 第 88 回日本内分泌学会学術総会, 2015 年 4 月 24 日, 東京.

(8) 須藤 信行. 腸内細菌によるストレス反応・行動特性の制御, 第 24 回日本臨床環境医学会学術集会, 2015 年 6 月 7 日, 東京.

(9) 須藤 信行. 腸内細菌から見た栄養学 プロバイオティクス・プレバイオティクスの臨床応用の可能性, 第 56 回日本心身医学会総会ならびに学術講演会, 2015 年 6 月 27 日, 東京.

(10) 須藤 信行. 腸内細菌と脳腸相関, 第 45 回日本神経精神薬理学会・第 37 回日本生物学的精神医学会合同年会, 2015 年 9 月 26 日, 東京.

(11) 須藤 信行. 症状としての過食: 腸内細菌からみた摂食障害, 第 31 回日本ストレス学会学術総会, 2015 年 11 月 7 日, 東京.

(12) 須藤 信行. 脳腸相関に基づく消化器・心療内科診療の新展開 腸内細菌からみた脳腸相関, 第 20 回日本心療内科学会総会・学術大会, 2015 年 11 月 21 日, 岩手.

〔図書〕(計 1 件)

(1) 須藤 信行. 「腸内細菌と脳機能」, ヒトマイクロバイオーム研究最前線 (服部正平, 監修), pp442, 2016, 株式会社エヌ・ティ・エス

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕  
なし

6．研究組織

(1)研究代表者

須藤 信行 (SUDO NOBUYUKI)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：60304812

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし