

令和元年6月12日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19797

研究課題名(和文) 母乳成分が決定する腸内細菌叢と脳機能の関係解明

研究課題名(英文) Studies on the relationship between brain function and gut microbiota determined by breast milk components

研究代表者

永岡 謙太郎 (Nagaoka, Kentaro)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：60376564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：私たちの健康維持には腸内細菌叢が深く関わっています。本研究では、マウスを用いた実験により、母乳中のアミノ酸代謝から産生される過酸化水素が乳子の腸内細菌叢の形成に関与していることを明らかにしました。過酸化水素は乳子の消化管内において外部から侵入してくる様々な細菌に対して門番の様な役割を担っており、乳酸菌など過酸化水素に抵抗性を示す細菌が優先的に腸内に定着していました。本研究結果は、母乳中に含まれる過酸化水素の重要性を示すとともに、アミノ酸や活性酸素による腸内細菌制御方法の開発につながることを期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長い間、母乳育児が子の生体機能に有利に働くことが示唆されてきましたが、母乳成分による生化学的なメカニズムの存在は不明でした。また、ヒトやマウスも含め多くの動物において母乳が哺乳期間中の子の腸内細菌叢の多様性を抑えることが明らかとなっており、その生物学的な意義も不明です。本研究結果により、過酸化水素をはじめとした活性酸素を利用することで腸内細菌叢形成過程における菌の多様性を制御できる可能性が示され、さらにLA01欠損マウスを用いることで乳児期の腸内細菌の多様性の違いが生後の生体機能にどのような影響を与えているかを調べることで可能となります。現在、脳機能や代謝機能など広く検討を行っています。

研究成果の概要(英文)：Gut microbiota is an essential for maintaining our health. In this study, we have found that hydrogen peroxide produced from amino acid metabolism in mouse milk is involved in the gut microbiota formation during infancy. The hydrogen peroxide plays a role as a gatekeeper against various bacteria that invade from the outside, and bacteria that show resistance to hydrogen peroxide such as Lactobacillus were preferentially established in the gut. It is expected that our data lead to the development of gut microbiota control using reactive oxygen species.

研究分野：生理学

キーワード：母乳 過酸化水素 腸内細菌叢 海馬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物進化の過程で、我々哺乳類は母乳で子を育てる戦略を選択してきた。母乳合成には多大なエネルギーが必要であり、哺育中は外敵に狙われやすいデメリットが生じるが、哺乳類が発展できたことは、哺乳育児には大きなメリットが存在することを示唆している。哺乳類にとって腸内細菌叢は生体の恒常性維持に重要であり、腸内細菌叢の乱れがガンや生活習慣病、痴呆症の発症リスクを高めることが知られている。腸内細菌叢は産まれて間もなく形成が開始され、離乳時には成動物と同様の菌叢を獲得する。一般的に哺乳期間中に獲得した腸内細菌叢は不変であり、老化と共に乳酸菌やビフィズス菌といったいわゆる善玉菌が減少する以外、基本菌叢パターンを大きく変えることは難しい。乳製品などを摂取して一時的に菌叢を変えても、摂取をやめると元に戻ってしまう理由である。すなわち、哺乳中に形成される腸内細菌叢を如何して正常な菌叢に整えるかが重要となり、母乳中にその秘密が隠されていると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、哺乳類が長い進化をかけて獲得した乳腺組織と母乳が持つ神秘的な役割に焦点をあて、母乳は単に仔を成長させる栄養源としてだけでなく、仔が健全な腸内細菌叢を獲得することを促し、その健全な腸内細菌叢が仔の健康な生体機能に寄与するといった生体内コミュニケーションの存在と重要性を科学的に証明することである。

3. 研究の方法

これまでに申請者は、アミノ酸代謝酵素の一つでありマウス母乳中に多く含まれるL型アミノ酸オキシダーゼ(LA01)について研究を行ってきた結果、LA01欠損マウスにおいて母乳成分が異なること、乳子マウスの腸内細菌叢が明らかに異なること、飲んだ母乳の違いにより成長後の脳機能が異なることを見出した。本研究は、1)母乳成分の違いと腸内細菌叢の違いとの相関性の解明(との関係性)と2)哺乳期の腸内細菌叢の違いと成長後の脳機能の違いとの相関性の解明(との関係性)を以下の方法で行なった。

1)に関しては、野生型とLA01欠損マウスに対して養母交換や帝王切開後の仮親処置に加え人工保育を試み、母乳成分が異なることで腸内細菌叢にどのような変化が生じるかを明らかにする。また、母乳解析で明らかとなった成分それぞれについて、invitroの糞便培養によりその効果を調べる。培養後、細菌叢構成に変化が認められた成分については、人工保育技術にてinvivoの腸内細菌叢形成に与える影響の解析をおこなう。(2)に関しては、哺乳期や成長後の腸内細菌叢の解析に加え、哺乳期もしくは成長後の無菌マウスに野生型およびLA01欠損マウスの糞便を移植し、その後の脳発達や機能を行動試験による評価を行う。

4. 研究成果

「母乳成分の違いと腸内細菌叢の違いとの相関性の解明」については、生後1日以内に養母交換を行い、生後10日目の乳子より糞便を回収しT-RFLP解析と次世代シーケンス解析を行った結果、野生型ミルクを飲んでいる乳子の糞便中には乳酸菌が多く存在し、菌種が少ない、すなわち多様性が低く抑えられており、LA01欠損ミルクを飲んでいる乳子の多様性は高いこと

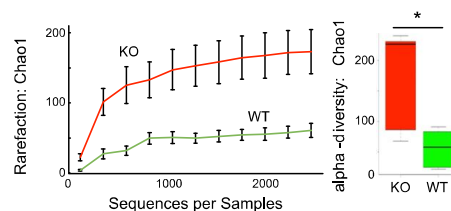


図1 生後10日目の腸内細菌多様性

を確認した(図1)。

一方で、ミルク成分のメタボローム解析の結果より、野生型ミルクにはフェニルピルビン酸とフェニル乳酸が多く含まれていることが確認された。特にフェニル乳酸は他の有害菌への抗菌作用として注目されており、本研究結果は非常に興味深い。また、マウスの母乳中に含まれるアミノ酸代謝酵素LA01が乳子の腸管内において過酸化水素を産生していることを明らかにした。また、他の菌に比べて乳酸菌は過酸化水素に対して抵抗性を示したことから、LA01が産生する過酸化水素は外部から侵入してくる細菌群に対してバリアとして働き、乳酸菌を優先的に生息させると考えられた(図2)。

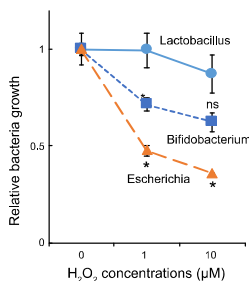


図2 過酸化水素に対する抵抗性

人においても母乳を飲んでいる乳児の菌の多様性は抑えられており、母乳摂取を止めると多様性が増えていくことが知られているが、人の母乳を用いた実験ではアミノ酸代謝による過酸化水素産生はマウスに比べてかなり低いことが確認された。この結果から、人の乳児の腸内細菌叢では主にビフィズス菌が多いことから、別の仕組みが存在すると推察された。

「哺乳期の腸内細菌叢の違いと成長後の脳機能の違いとの相関性の解明」については、LA01欠

損乳子を野生型または LA01 欠損母マウスにあてがい、生後 10 日目に、血液、糞便、脳組織採取した。その糞便を離乳直後の無菌マウスに移植し、2 週間後に血液、糞便、脳組織のサンプリングを行なった。生後 10 日目の乳子において、腸内細菌叢の多様性が低い個体と高い個体の脳海馬内において神経のミエリン鞘形成に関わる遺伝子群の発現が多様性の高い個体で抑えられており、その中の一つである GAL3ST1 遺伝子発現の低下は、それらの乳子マウスから採取された糞便を移植した無菌マウスにおいても確認された。また、成長後においてミエリン結合タンパクの低下も確認されている。すなわち、哺乳中における乳子の腸内細菌叢の多様性は海馬における GAL3ST1 発現に関与し、ミエリン鞘形成に影響を及ぼすことが示唆された。また、乳子の血液成分メタボローム解析の結果から、腸内細菌の多様性が異なることで濃度変化が認められる低分子代謝物のピックアップを行い、7 分子を候補とした。現在、神経細胞培養系に添加し、GAL3ST1 遺伝子発現変化が引き起こされるかの検討を行っている。

結果のまとめ

本研究において、1) 母乳成分の違いと腸内細菌叢の違いとの相関性について、母乳中のアミノ酸代謝による過酸化水素が腸内細菌叢形成に関わることを明らかにし、過酸化水素をはじめとした活性酸素を利用することで腸内細菌叢形成過程における菌の多様性を制御できる可能性を示した。2) 哺乳期の腸内細菌叢の違いと成長後の脳機能の違いとの相関性については、腸内細菌叢の多様性の変化が血中代謝物濃度に変化をもたらす、その代謝物が神経細胞の遺伝子発現を変化される可能性について検討中であり、今後の研究発展に期待である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

Sovijit WN, Sovijit WE, Pu S, Usuda K, Inoue R, Watanabe G, Yamaguchi H, Nagaoka K. Ovarian progesterone suppresses depression and anxiety-like behaviors by increasing the Lactobacillus population of gut microbiota in ovariectomized mice. *Neurosci Res.* S0168-0102(19) 30142-7. 2019 査読有

Shigeno Y, Zhang H, Banno T, Usuda K, Nochi T, Inoue R, Watanabe G, Jin W, Benno Y, Nagaoka K. Gut microbiota development in mice is affected by hydrogen peroxide produced from amino acid metabolism during lactation. *FASEB J.* 33(3):3343-3352. 2019 査読有

神邊淳、永岡謙太郎 “健やかな腸内環境”の解明と構築を目指して *Precision Medicine Vol2 No4 62-65* 2019 査読無

山室友紀、永岡謙太郎 L 型アミノ酸オキシダーゼの多面的な役割と新規免疫療法への期待 *B&I Vol77 No3 248-249* 2019 査読無

Usuda K, Kawase T, Shigeno Y, Fukuzawa S, Fujii K, Zhang H, Tsukahara T, Tomonaga S, Watanabe G, Jin W, Nagaoka K. Hippocampal metabolism of amino acids by L-amino acid oxidase is involved in fear learning and memory. *Sci Rep.* 8(1):11073. 2018 査読有

Toyoda A, Shimonishi H, Sato M, Usuda K, Ohsawa N, Nagaoka K. Effects of non-purified and semi-purified commercial diets on behaviors, plasma corticosterone levels, and cecum microbiome in C57BL/6J mice. *Neurosci Lett.* 670:36-40. 2018 査読有

[学会発表](計 5 件)

重野佑布子、伴野太平、辨野義己、永岡謙太郎 母乳中アミノ酸代謝により産生される過酸化水素がマウス腸内細菌叢形成過程に与える影響 日本無菌生物ノートバイオロジー学会 2019

外山晴香、村瀬晴崇、佐藤文夫、井上亮、渡辺元、永岡謙太郎 雌ウマの発情周期中における腸内細菌叢の変化と性ホルモンとの関係 日本繁殖生物学会 2018

永岡謙太郎 泌乳期の母体と子を守る母乳中アミノ酸代謝について 日本乳房炎研究会 (招待講演) 2018

永岡謙太郎 泌乳期の母体と子を守る母乳中アミノ酸代謝について 日本栄養食糧学会 (招待講演) 2018

佐々木 優、河田 祐樹、金城 輝雄、川上 茂久、渡辺 元、友永 省三、井上 亮、永岡 謙太郎 アジアゾウ(*Elephas maximus*)の哺乳期における腸内細菌叢の形成と 母乳中成分の解析 Hindgut 研究会 2017

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://kenkyu-web.tuat.ac.jp/Profiles/36/0003600/profile.html>

<http://web.tuat.ac.jp/~nvetphys/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：平山 和宏

ローマ字氏名：Kazuhiro Hirayama

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院農学研究院

職名：教授

研究者番号(8桁)：60208858

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：辨野 義己

ローマ字氏名：Yoshimi Benno

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。