

令和 5 年 5 月 6 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06425

研究課題名(和文) 難治性認知症の発症予防に有効なプロバイオティクスの作用機構と脳腸相関

研究課題名(英文) Action Mechanism of probiotics effective in preventing the onset of intractable dementia and brain-gut correlation.

研究代表者

石井 利明 (Ishii, Toshiaki)

帯広畜産大学・畜産学部・教授

研究者番号：50264809

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)：MPTPをマウスの腹腔内に投与することでパーキンソン病のモデルマウス(PDマウス)を作出した。B. breve A1は、PDマウスが示す海馬記憶の異常な消去亢進を正常レベルにまで回復させた。その際、B. breve A1はPDマウス海馬で亢進したneuropsinのmRNAとタンパク質発現を回復することで、シナプスタンパク質発現量とCA1領域の神経樹状突起上のスパイン密度を正常化することを明らかにし、抑制性GABA神経伝達の減弱を正常化している可能性を示した。また、B. breve A1の作用発現には海馬神経細胞内のILKとその下流に位置するAktの活性化が一部関与する知見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PDの認知症の発症を予防するプロバイオティクスの検索過程でその有効性を認めたBifidobacterium breve strain A1 [MCC1274] (B. breve A1)の作用機構を解明し、PDの難治性認知障害に対して安全性の高い治療あるいは予防に向けたプロバイオティクス有効活用による機能性食品開発の手がかりを見出すことが出来た。また、B. breve A1はGABA-A受容体拮抗薬による不随意運動の亢進を回復させたことから(特願2022-089546 抗てんかん用組成物 [発明者：石井利明])、B. breve A1はてんかん発作の予防にも有効である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We generated a mouse model of Parkinson's disease (PD mice) by intraperitoneal injection of MPTP, which destroys DA neurons in the substantia nigra of the midbrain, and B. breve A1 restored the abnormal hyper-extinction of hippocampal memory exhibited by PD mice to normal levels. B. breve A1 restored neuropsin mRNA and protein expression in the hippocampus of PD mice, resulting in normalizing synaptic protein expression and spine density on dendrites in the CA1 region and in possibly normalizing attenuation of inhibitory GABAergic neurotransmission. Our findings also suggest that the cranial normalizing neural mechanism of B. breve A1 is partially mediated by the activation of integrin-linked kinase and its downstream Akt in hippocampal neurons.

研究分野：神経科学、神経薬理学

キーワード：B. breve A1 [MCC1274] MPTP パーキンソン病 難治性認知障害 記憶消去 脳-腸-微生物相関 海馬 neuropsin

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経変性疾患の一つであるパーキンソン病(PD)は、中脳黒質のドパミン(DA)神経細胞が変性し、これが投射する線条体領域のDAが不足することで振戦・固縮・無動などの錐体外路症状を引き起こす。PDは運動症状以外にも難治性の認知障害を併発することが知られているが、PDで認知障害が発症するメカニズムは未だ解明されておらず有効な治療薬も存在しない。申請者はこれまで1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)をマウスの腹腔内に投与することで作出したPDモデルマウス(PDマウス)の記憶能力を調べた結果、記憶の固定と再固定は正常であるが記憶の消去が顕著に亢進していることを見出し認知障害の発症機構を解明した(Life Sci. [2015]137:28-36、J.Pharmacol.Sci. [2017]134:55-58)。本研究は、PDの認知症の発症を予防するプロバイオティクスの検索過程でその有効性を認めたビフィズス菌特定株の作用機構を解明することで、PDの難治性認知障害に対して安全性の高い治療あるいは予防に向けたプロバイオティクス有効活用による機能性食品開発の手がかりを見出すことが出来、同時に、これまで曖昧であった腸のマイクロバイオームと脳の両者間に存在する腸脳軸(腸脳相関)の本体を明らかに出来るので、脳神経生理学の分野においても重要である。

2. 研究の目的

本研究は、PDマウスを用いたPD認知症の発症を予防するプロバイオティクスの検索過程で、その有効性を認めたビフィズス菌特定株 *Bifidobacterium breve* strain A1 [MCC1274] (*B. breve* A1)の海馬・神経可塑性に及ぼす影響を解析することで、PDマウスの記憶消去の亢進を予防・回復させる作用機構を解明する。

3. 研究の方法

PDマウスは中脳黒質のDA神経細胞を特異的に破壊するMPTPをマウスの腹腔内に投与することで作出した。PDマウスに *B. breve* A1 を1日1回4日間経口投与することで、*B. breve* A1 がPDマウスの認知機能障害に及ぼす影響について文脈的恐怖条件付けテストを用いて解析評価した。摘出海馬組織を用いて、神経細胞の可塑的变化時に機能する代表的なタンパク性シグナル分子である Integrin-linked kinase (ILK)、neuropsin、神経成長因子 BDNF、活性化ミクログリアの指標である Iba1、ならびに海馬に豊富に発現するセロトニン 5HT₄ 受容体の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法により、また、これらのタンパク性シグナル分子タンパク質発現量はウエスタンブロット法により解析した。海馬の cAMP 含量は Cyclic AMP EIA kit (Cayman Chemical Co. 社)を用いて測定した。海馬の神経可塑性の形態学的指標としてゴルジ染色法を用いてスパインの変化を形態学的に解析した。

4. 研究成果

MPTP をマウスの腹腔内に投与することで作出した PD マウスへの *B. breve* A1 の4日間の経口投与は、PD マウスの海馬の記憶消去機能の異常亢進を control マウスのレベルにまで回復した。一方、*B. breve* A1 を熱処理した死菌 *B. breve* A1 にはそのような改善効果が認められなかったことから、消化管内で生存している *B. breve* A1 が脳-腸-微生物相関を介して脳に作用し、PD マウスの認知機能を改善することが明らかとなった。その際、*B. breve* A1 は、PD マウスの海馬神経における synaptophysin や PSD-95 などのシナプスタンパク質の mRNA 発現量の低下を回復し、CA1 領域の神経樹状突起上のスパイン密度の低下をコントロールレベルにまで回復・正常化した。ところが、PD マウス海馬で低下した cAMP 含量には影響を与えなかった。一方、海馬シナプスの神経可塑性を調節する代表的なセリンプロテアーゼである neuropsin の mRNA 発現量ならびにそのタンパク質発現量は、その両者が PD マウス海馬で有意に増加した。それに対して、*B. breve* A1 は、PD マウス海馬で亢進した neuropsin の mRNA ならびにタンパク質の発現誘導を共にコントロールレベルにまで回復・正常化した。これらの結果から、*B. breve* A1 は PD マウスの海馬で異常亢進した neuropsin の発現誘導を正常レベルにまで回復させることで、海馬の神経可塑性を正常化し、亢進した記憶の消去機能を改善・回復させることが明らかとなった。さらに、*B. breve* A1 の脳神経機能正常化機構のシグナル解明を目指して更なる研究を進めた結果、海馬神経細胞内の ILK シグナルとその下流に位置し生存シグナル分子の役割を担う Akt の活性化が一部関与することを見つけた。また、GABA_A 受容体拮抗薬を用いた薬理学的手法により、*B. breve* A1 が PD マウスの海馬記憶の異常な消去亢進を正常化する機構に、抑制生 GABA 神経伝達の減弱を正常化する作用も関与することが示唆された。

[研究発表]

(1)学会誌

1. Ishii, T., Furuoka, H., Kaya, M., Kuhara, T. (2021) Oral Administration of *Bifidobacterium breve* improves facilitation of hippocampal memory extinction via restoration of aberrant higher induction of neuropsin in an MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. *Biomedicines* 9: 167.; 10.3390/biomedicines9020167

(2)特許出願

1. 特願 2022-089546 抗てんかん用組成物 [発明者：石井利明]

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ishii Toshiaki, Furuoka Hidefumi, Kaya Motohiro, Kuhara Tetsuya	4. 巻 9
2. 論文標題 Oral Administration of Probiotic Bifidobacterium breve Improves Facilitation of Hippocampal Memory Extinction via Restoration of Aberrant Higher Induction of Neuropsin in an MPTP-Induced Mouse Model of Parkinson's Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 167 ~ 167
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines9020167	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0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 抗てんかん用組成物	発明者 石井利明	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-089546	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

石井利明のホームページ http://www.obihiro.ac.jp/~yakuri141/
--

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