

氏名	小菅愛加
学位の種類	博士(医療科学)
学位記番号	甲第38号
学位授与の日付	2023年3月12日
学位論文題名	Heat-sterilized <i>Bifidobacterium breve</i> prevents depression-like behavior and interleukin-1 β expression in mice exposed to chronic social defeat stress 「加熱殺菌された <i>Bifidobacterium breve</i> 摂取は社会的敗北ストレスによるうつ様行動と IL-1 β 発現を抑制する」
指導教員	教授 毛利 彰 宏
論文審査委員	主査 教授 鈴木 康 司 副査 教授 井 平 勝 教授 寺 本 篤 司

論文内容の要旨

うつ病は意欲の低下、自殺念慮などを示す精神疾患である。うつ病の病態機構は未だ不明だが、うつ病患者末梢血において炎症性サイトカインが上昇すること、うつ病患者死後脳において脳内免疫担当細胞であるミクログリアの活性化が認められることなどから、うつ病の病態機構に炎症が関与している可能性が示唆されている。近年、ストレスが腸内細菌叢の構成を変化させ脳内の免疫機能などに影響を与えることにより生じる脳腸相関の乱れが、うつ病など精神疾患の発症要因となる可能性が示唆されている。*Bifidobacterium breve* は *Bifidobacterium* 属に属し、ヨーグルトなど発酵乳製品などに使用されている腸内善玉菌の一つである。既報において *Bifidobacterium breve* 生菌体の投与は、炎症性サイトカイン抑制作用など抗炎症作用を介して潰瘍性大腸炎やアレルギー疾患の症状を改善することが報告されている。しかしながら、*Bifidobacterium breve* の抗炎症作用は生菌体でのみ検討されており、薬品や幅広い製品に応用する上で加熱殺菌された状態においても抗炎症作用を有するか検討することが非常に重要な課題であった。そこで本研究では、加熱殺菌された *Bifidobacterium breve* の付与が、炎症が発症要因とされるうつ病の病態を緩解させるか検討した。

初めにストレス負荷が腸内細菌叢を変容させるか明らかにするために、7週齢 C57BL/6J マウスに対し、攻撃性を示す ICR マウスを5日間暴露させることで、軽度の社会的敗北ストレス (CSDS) 負荷を行った。ストレス負荷終了後、行動試験によりうつ様行動を評価した。糞便を回収し、次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢の解析を行った。対照群と比較して、5日間 CSDS 負荷群においては社会性行動の低下が認められ、5日間 CSDS 負荷がうつ様行動を惹起することが示唆された。さらに腸内細菌叢の解析を行った結果、5日

間 CSDS 負荷群において、*Bacilli* 綱、*Bacteroidia* 綱、*Mollicutes* 綱、*Verrucomicrobiae* 綱などの菌種の増加、並びに *Erysipelotrichi* 綱の低下が認められたことから、5日間 CSDS 負荷が腸内細菌叢の構成を変容させることが明らかになった。

次に、加熱殺菌された *Bifidobacterium breve* がうつ病モデル動物に対しても抗ストレス作用を示すか明らかにするために、10日間の CSDS 負荷開始2週間前から負荷終了2週間後まで加熱殺菌した *Bifidobacterium breve* を混和した餌を経口にて摂取させた。CSDS 負荷直後に糞便を回収し、腸内細菌叢を解析すると共に、CSDS 負荷直後および2週間後に行動試験を行い、うつ様行動の評価を行った。また前頭前皮質・海馬を回収し、リアルタイム PCR 法にて炎症関連遺伝子の定量を行った。結果より、加熱殺菌した *Bifidobacterium breve* の摂取は CSDS 負荷により変容した腸内細菌叢の構成に影響を及ぼした。興味深いことに、加熱殺菌した *Bifidobacterium breve* の摂取は CSDS 負荷により上昇した前頭前皮質ならびに海馬の IL-1 β を含む炎症性サイトカインを有意に抑制し、CSDS 負荷直後・2週間後の社会性行動の低下を有意に緩解した。以上より、加熱殺菌された *Bifidobacterium breve* 摂取は腸内細菌叢の構成を変化させることで、脳内炎症性サイトカインである IL-1 β を低下させることで、社会性行動の低下を特徴とするうつ様行動を抑制することが示唆された。

本研究の成果より、加熱殺菌された *Bifidobacterium breve* はストレスにより変容した腸内細菌叢を改善し、脳内炎症を抑制することで抗ストレス作用をもたらすことが明らかになった。生菌体は保管温度など衛生管理上の考慮が必要であり活用できる製品に限られているが、本研究において、加熱殺菌された菌体においても抗ストレス作用が認められたことから、医薬品や幅広い製品に応用できる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

加熱殺菌した菌体においても抗ストレス作用が認められたことから、医薬品や幅広い製品に応用できるうつ病予防や治療に対する有用性を見出した。主査及び副査から、加熱殺菌した菌体の抗ストレス効果の作用機序、それに関連した中枢と抹消での免疫応答・炎症の違い、その急性効果の有無、うつ病と炎症の関連、それに関する *B. breve* 加熱殺菌体の作用点、動物実験データの表示方法、摂食量への影響など多岐に亘る質問があり、申請者は各質問に対して的確に説明することができた。申請者は本研究を主体的に実施したこと及び専門領域の知識を十分有していたことを確認できた。本論文は、査読付き英文雑誌「Brain, Behavior, and Immunity」に掲載されており、英語による論文作成能力も有していると判断した。博士(医療科学)の学位を与えるに十分な能力を有すると判定した。