

第25回腸内フローラシンポジウム  
25th Symposium on Intestinal Flora

腸内フローラとメンタルヘルス  
Intestinal microbiota and mental health

講演要旨集  
Abstracts

日 時 平成28年11月4日（金） 午前10時～午後5時30分  
Date : Friday, November 4, 2016 10:00a.m.～5:30p.m.  
場 所 ヤクルトホール（東京・新橋）  
Venue : Yakult Hall (Shinbashi, Minato-ku, Tokyo)  
主 催 公益財団法人 ヤクルト・バイオサイエンス研究財団  
Sponsor : Yakult Bio-Science Foundation  
後 援 文 部 科 学 省  
Support : Ministry of Education, Culture, Sports, Science and  
Technology – Japan

# プ ロ グ ラ ム

午 前 の 部 10:00~12:00

主 催 者 挨 拶 澤 田 治 司 (ヤクルト・バイオサイエンス研究財団 理事長)

来 賓 挨 拶 原 克 彦 (文部科学省研究振興局ライフサイエンス課長)

は じ め に 神 谷 茂 (杏林大学 医学部 総合座長)

[座 長: 神 谷 茂 (杏林大学)]

特別講演 1 「腸内細菌によるストレス応答・行動特性の制御」…………… 3  
須 藤 信 行 (九州大学大学院医学研究院 心身医学)

特別講演 2 「微生物内分分泌学:微生物学と神経生物学の融合はいかにして  
健康およびプロバイオティクス開発に関わるのか」…………… 7  
Mark Lyte (アイオワ州立大学 米国)

午 後 の 部 13:15~17:30

[座 長: 尾 崎 博 (東京大学)]

講 演 1 「プロバイオティクスが脳腸相関に及ぼす影響 — 動物モデルでの検討 —」…………… 11  
河 合 光 久 (ヤクルト本社中央研究所)

講 演 2 「ストレスと脳腸相関:プロバイオティクスによるストレス緩和作用」…………… 15  
西 田 憲 生 (徳島大学大学院医歯薬学研究部 病態生理学分野)

[座 長: 伊 藤 喜久治 (東京大学)]

講 演 3 「腸内フローラと脳の発達」…………… 19  
Manu S. Goyal (ワシントン大学セントルイス 米国)

— 休 憩 15:10~15:30 —

[座 長: 五十君 静 信 (東京農業大学)]

講 演 4 「うつと腸内細菌」…………… 25  
功 刀 浩 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所)

講 演 5 「パーキンソン病における腸内フローラ」…………… 30  
Agata Mulak (ヴロツワフ医科大学 ポーランド)

総 合 討 論 [座 長: 神 谷 茂 (杏林大学)]

# P R O G R A M

10 : 00 ~ 12 : 00

**Welcome Address :** Haruji Sawada (President, Yakult Bio-science Foundation)

**Guest Address :** Katsuhiko Hara (Director, Life Science Division, Research Promotion Bureau,  
Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology-Japan)

**Introduction :** Shigeru Kamiya (Kyorin University School of Medicine, Japan)

## Keynote Lecture :

[Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University)]

1. **“The gut microbiota influences stress response and behavior of the host”** ..... 3  
Nobuyuki Sudo (Department of Psychosomatic Medicine,  
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Japan)
2. **“Microbial Endocrinology: Why the intersection of Microbiology and  
Neurobiology Matters to Health and the Design of Probiotics”** ..... 7  
Mark Lyte (Iowa State University College of Veterinary Medicine, Iowa, USA)

13 : 15 ~ 17 : 30

## Lecture :

[Chair : Hiroshi Ozaki (The University of Tokyo)]

1. **“Effects of probiotics on the gut-brain interaction in animal models”** ..... 11  
Mitsuhisa Kawai (Yakult Central Institute for Microbiological Research, Japan)
  2. **“Stress and the Brain-Gut Axis: Probiotics Can Alleviate Stress-Related Symptoms”** ..... 15  
Kensei Nishida (Department of Pathophysiology, Institute of Biomedical Sciences,  
Tokushima University Graduate School, Japan)
- [Chair : Kikuji Itoh (The University of Tokyo)]
3. **“Intestinal microbiota and brain development”** ..... 19  
Manu S. Goyal (Mallinckrodt Institute of Radiology,  
Washington University School of Medicine St.Louis, Missouri, USA)

—15 : 10 ~ 15 : 30 Break—

[Chair : Sizonobu Igimi (Tokyo University of Agriculture)]

4. **“Depression and gut microbiota”** ..... 25  
Hiroshi Kunugi (Department of Mental Disorder Research,  
National Center of Neurology and Psychiatry, Japan)
5. **“Gut microbiota in Parkinson’s disease”** ..... 30  
Agata Mulak (Department of Gastroenterology and Hepatology,  
Wroclaw Medical University, Wroclaw, Poland)

## Discussion

[Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University)]

## 腸内細菌によるストレス応答・行動特性の制御

須藤信行

九州大学医学研究院 心身医学

略歴：福岡県生まれ。1988年九州大学医学部卒業。九州大学医学部心療内科助手、講師、助教授を経て2009年より教授。

主な研究テーマ：ストレス関連疾患における腸内細菌の役割の解明

要約：近年、健康維持における腸内細菌の役割への関心が高まっている。さらに腸内細菌が脳の発達や機能に重要な役割を演じていることが明らかとなり、注目を集めている。

演者らは、2004年、腸内細菌が主要なストレス経路を構成する視床下部－下垂体－副腎軸（hypothalamic pituitary adrenal axis: HPA axis）の発達に関わっていることを世界で初めて明らかにした<sup>1)</sup>。すなわち無菌（germfree: GF）マウスは通常のspecific pathogen free (SPF) マウスと比較し、拘束ストレスに対する血中ACTHおよびコルチコステロンの上昇反応が有意に亢進していた。人口菌叢マウスを用いた検討では、ストレス負荷によるACTH, corticosterone上昇反応は腸内細菌を*Bifidobacterium infantis*で再構成することによってSPFマウスと同程度まで反応性が減じたが、*Bacteroides vulgatus*の再構成では反応性の減弱は認めなかった。これらの結果は、腸内細菌がHPAストレス応答の発達を決定する重要な環境要因のひとつであり、腸内細菌と脳の間には新しい機能連関が存在することを示している。この考え方は、現在では腸内細菌－腸－脳連関と呼ばれ、より一般的な概念へ統合されつつある。さらに最近、演者らを含む複数の研究グループによって腸内細菌の影響は行動特性にも及ぶことが明らかとなった<sup>2-5)</sup>。事実、ビー玉埋没行動とオープンフィールド法を用いた演者らの検討では、GFマウスは、通常のSPFマウスと比較し、多動で不安レベルも高かった。しかしながらのGFマウスの多動、高不安という行動特性は、SPFマウスの糞便またはヒト腸内の最優勢菌の一種を投与することによって減弱した。以上の結果は、腸内細菌は宿主のストレス応答や行動特性を規定する重要な因子であることを示している。

本講演では、我々の動物実験の結果に基づき、腸内細菌と脳との情報伝達の実際について述べたい。また、その情報伝達に関わっている物質について紹介し、議論に供したい。

## 参考文献

- 1) Sudo N, Chida Y, Aiba Y, et al. : Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 558 : 263-275, 2004.
- 2) Heijtz RD, Wang S, Anuar F, et al. : Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 : 3047-3052, 2011.
- 3) Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, et al. : Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil* 23 : 255-264, 2011.
- 4) Nishino R, Mikami K, Takahashi H, et al. : Commensal microbiota modulate murine behaviors in a strictly contamination-free environment confirmed by culture-based methods. *Neurogastroenterol Motil* 25 : 521-528, 2013.
- 5) Desbonnet L, Clarke G, Shanahan F, et al. : Microbiota is essential for social development in the mouse. *Mol Psychiatry* 19 : 146, 2014.

# The gut microbiota influences stress response and behavior of the host

Nobuyuki Sudo

Department of Psychosomatic Medicine, Graduate School of Medical Sciences,  
Kyushu University, Fukuoka, Japan

**Brief curriculum vitae :** Born in Fukuoka. Graduated from Faculty of Medicine, Kyushu University in 1988. Assistant Professor of Kyushu University from 1997 to 2003. Associate Professor of Kyushu University from 2003 to 2008. Professor of Kyushu University from 2009 to present. Major Research Fields: To elucidate the role of gut microbiota in stress-related diseases.

**Abstract :** Recently, there is increasing interest in the role of gut bacteria in maintaining the health of the host. It has also become apparent that the gut microbiota plays a major role in brain development and function.

We reported for the first time in 2004 that gut microbes influence the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) reaction<sup>1)</sup>, which is a central integrative system crucial for successful physiological adaptation to stress. Elevation in plasma ACTH and corticosterone in response to restraint stress was substantially higher in germ-free (GF) than in specific pathogen free (SPF) mice. The exaggerated HPA stress response in GF mice was reversed by reconstitution with *Bifidobacterium infantis*, but not with *Bacteroides vulgatus*. This indicated that exposure to gut microbes was a critical environmental determinant that regulated development of the HPA stress response. These results taken together provided strong evidence for a novel link between gut microorganisms and the brain. This concept has now been integrated into an elaborate interaction between the microbiota, gut, and brain. Recently, several independent groups<sup>2-5)</sup>, including our own, have shown that gut microorganisms can affect the behavioral phenotype of the host. In fact, our behavioral analyses based on marble-burying and open-field behavioral tests showed that GF mice were more active and anxious than SPF mice. However, such behavioral phenotypes of GF mice were reversed by reconstitution with either SPF feces or a single strain of bacteria that is a predominant microbiota in the human gut. Thus, these results indicate that the gut microbiota plays a crucial role in the development of brain systems that determine the HPA stress response and behavioral phenotypes of the host.

In this lecture, I'd like to talk about signaling between the gut microbiome and the brain with respect to the effect of gut microbes on the HPA axis response and host behavior, based on our series of animal experiments. I'd also like to discuss certain molecules that may play an important role in this signaling.

#### References

- 1) Sudo N, Chida Y, Aiba Y, et al. : *J Physiol* 558 : 263-275, 2004.
- 2) Heijtz RD, Wang S, Anuar F, et al. : *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 : 3047-3052, 2011.
- 3) Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, et al. : *Neurogastroenterol Motil* 23 : 255-264, 2011.
- 4) Nishino R, Mikami K, Takahashi H, et al. : *Neurogastroenterol Motil* 25 : 521-528, 2013.
- 5) Desbonnet L, Clarke G, Shanahan F, et al. : *Mol Psychiatry* 19 : 146, 2014.

# 微生物内分泌学：微生物学と神経生物学の融合は いかにして健康およびプロバイオティクス開発に関わるのか

Mark Lyte

Iowa State University College of Veterinary Medicine  
Ames, Iowa, USA

**略歴：**1954年、アメリカ合衆国に生誕。1976年、フェアレイ・ディッキンソン大学を卒業、医学検査学の学士を取得した。同年、臨床検査専門医の認定を受け、1977年まで大病院で臨床検査を担当していた。1979年、イスラエルのウェイツマン科学研究所において膜研究の修士号を取得、1983年には膜研究および細胞生物学の博士号を取得した。その後、1983～85年までバージニア医科大学において、また1985～86年まではピッツバーグ・スクール・オブ・メディスン大学において博士研究員として在籍し、1986～88年までウィスコンシン大学ミルウォーキー校で助教を務めた。1988年から2005年までミネソタ州立大学マンケート校において准教授を経て教授となり、2005～2015年までテキサス工科大学ヘルスサイエンスセンターの教授、2015年からアイオワ州立大学獣医学部の教授として現在に至る。

**主な研究分野：**疾患および健常時におけるストレスの役割、学問としての微生物内分泌学の確立

**受賞：**

2002年：Joseph Susman Memorial Award for Surgical Infectious Disease

2008年：NIH Director's Pioneer Awardのファイナリスト

2014年：NIH Distinguished Speaker

**要約：**微生物内分泌学は、微生物学と神経生物学という一見相容れない2つの学問を融合したものであり、宿主が持つ神経化学物質は微生物内にも同様に存在するという事実に基づいている。微生物は、ストレス時などにおいて宿主が産生する神経化学物質に対して、応答するだけでなく、同じものを作る能力がある。微生物はその能力により進化を遂げ、感染症の発症や恒常性維持に働くとともに、プロバイオティクスとして主に腸内細菌-腸-脳軸を介して宿主に有益な影響を与える作用を有するようになった。

微生物が進化によって宿主の神経化学物質によるシグナル伝達を共有したことが、どのようにして宿主の恒常性維持と疾患感受性に影響を与えるのだろうか。このメカニズムに関する考察を提供するのが微生物内分泌学であり、ストレス研究やストレスと感染症発症に関する研究によってその一例が示される。例えば、動物のストレスに対する神経生理的な応答には、カテコールアミンなど多くのス



トレス関連神経化学物質の産生が関与している。一般的に、このような神経化学物質は動物界において排他的に存在しており、その物質が感染時において果たす役割は、主に宿主の生理機能や免疫関連応答に限定される。しかし、それは全くの間違いであり、多くの感染性微生物はストレス時に宿主から作られる神経化学物質を認識するだけでなく、それと全く同じものを作る能力がある。これにより、感染性微生物はストレスイベントにより生じる神経化学物質の放出に対して直接応答し、疾患の病態形成を始める能力を持っているのである。現在、微生物内分泌学によって、病院におけるバイオフィルムの発生をはじめとする様々な感染症を説明できることが示されている。

加えて、行動や認知に影響を与え得る腸内細菌-腸-脳軸の存在が認識されたことは、微生物内分泌学によって考察できる分野を広げることとなった。これは特に、プロバイオティクスが宿主の行動に影響を与える機構の研究に関連しており、プロバイオティクスが多量の神経化学物質を産生するためである。今回のシンポジウムでは、腸内細菌-腸-脳軸の伝達に対してプロバイオティクスが影響を与えると推定される機構について説明し、特に行動や脳の発達に影響するプロバイオティクスと宿主神経系における神経化学的なコミュニケーションに着目する。また、微生物内分泌学に基づいたプロバイオティクス選択の具体的な構想について紹介する。

# Microbial Endocrinology: Why the Intersection of Microbiology and Neurobiology Matters to Health and the Design of Probiotics

Mark Lyte

Iowa State University College of Veterinary Medicine

Ames, Iowa, USA

**Brief curriculum vitae** : Born in USA (1954). Graduated from Fairleigh Dickinson University with a Bachelor of Science degree in Clinical Laboratory Sciences in 1976. Board certified in clinical laboratory medicine (1976) and responsible for laboratory clinical sciences at major hospital 1976-77. Master's degree in Membrane Research, Weizmann Institute of Science, Israel (1979) and Ph.D. in Membrane Research and Cell Biology, Weizmann Institute of Science (1983). Postdoctoral fellowships at the Medical College of Virginia (1983-85) and University of Pittsburgh School of Medicine (1985-86). Assistant Professor University of Wisconsin-Milwaukee (1986-88), Associate and Full Professor, Minnesota State University-Mankato (1988-2005), Full Professor Texas Tech University Health Sciences Center (2005-2015), Full Professor Iowa State University College of Veterinary Medicine (2015-present).

**Major Fields of Studies** : Role of stress in disease and health and development of interdisciplinary field of microbial endocrinology.

**Prize awarded** : Joseph Susman Memorial Award for Surgical Infectious Disease (2002), Finalist NIH Director's Pioneer Award (2008), NIH Distinguished Speaker (2014).

**Abstract** : Microbial endocrinology represents the intersection of two seemingly disparate fields, microbiology and neurobiology, and is based on the shared presence of neurochemicals that are exactly the same in the host as well as in the microorganism. The ability of microorganisms not only to respond to but also to produce many of the same neurochemicals that are produced by the host, such as during periods of stress, has led to this evolution-based mechanism being shown to have a role not only in the pathogenesis of infectious disease and homeostasis, but also in the functional capacity of probiotics to influence the host principally through the microbiota-gut-brain axis.

The study of stress and how it relates to the pathogenesis of infectious dis-

ease provides just one example of the reasons why microbial endocrinology can provide mechanistic insights into how sharing of an evolutionary-based common language of neurochemical signaling between host and microbe can affect host homeostasis and disease susceptibility. For example, the neurophysiological response of an animal to stress involves the production of a number of stress-related neurochemicals including the catecholamines. It is generally believed that such neurochemicals belong exclusively to the animal kingdom and that any role such neurochemicals play in the infective process is largely confined to host physiology and immunology-related responses. This, however, is wholly incorrect as many of the bacterial species that are known to cause infections possess the capacity to not only recognize neurochemicals produced by the host in response to stress, but also synthesize the very same neurochemicals. Given this, infectious microorganisms are capable of directly responding to the neurochemical outflow resulting from a stress event and initiating pathogenic processes. Microbial endocrinology has now been shown to explain a wide variety of infections including the development of biofilms in the hospital setting.

Additionally, the recognition of the existence of a microbiota-gut-brain axis that can influence behavior and cognition has opened new avenues by which microbial endocrinology-based mechanisms can be applied. This is particularly relevant to the study of the mechanisms by which probiotics may function to influence behavior since probiotics are capable of production of large quantities of neurochemicals. This talk will also examine the possible mechanisms by which probiotics can influence such microbiota-gut-brain communication with specific attention addressing possible neurochemical-based communication between the probiotic microorganism and host neuronal elements that influence behavior and brain development. A specific framework for the selection of probiotics based on microbial endocrinology will be presented.

## プロバイオティクスが脳腸相関に及ぼす影響 －動物モデルでの検討－

河合光久

(株)ヤクルト本社 中央研究所

略歴：1965年、愛知県生まれ、1991年岐阜大学農学部獣医学科卒業後、2005年、同大学大学院連合獣医学研究科博士課程修了。

1991年ファイザー製薬株式会社入社、医薬品研究開発に従事、2007年(株)ヤクルト本社入社中央研究所勤務、副主席研究員。

主な研究テーマ：神経内分泌系に対するプロバイオティクスの有用性に関する研究

要約：近年、ヒトの生理機能に対する腸内細菌叢やプロバイオティクスの研究は、免疫・内分泌系を介した生理的なホメオスタシスへのかかわりから、不安やうつ状態などに関与する神経・内分泌系を介した精神的なホメオスタシスへと対象が広がりつつある。動物を中心とした基礎研究では、プロバイオティクスや腸内細菌が視床下部－下垂体－副腎系の反応を調節してストレス感受性を軽減することや、ストレス下での行動や学習機能に対しても良い影響を及ぼすことが報告されている<sup>1、2)</sup>。また、ヒトにおいて腸内細菌叢の乱れを整えるとともに、免疫調節作用等の有益な作用を有するプロバイオティクス、L.カゼイ・シロタ株(LcS)は、気分や感情に不調のあるヒトに対して心理的に有効な作用を示すことが確認されている<sup>3、4)</sup>。我々は現在ストレスモデル動物を用いた研究を通じて、このLcSの脳機能に対する作用機構の解明や新しい機能への展開を図っている。これまでの結果、LcSは脳の室傍核に働きかけ、ストレスによる神経・内分泌系の興奮性を軽減することが確認された。また、この作用には消化管から脳に投射する求心性の迷走神経系の関与が考えられた<sup>5、6)</sup>。すなわち、LcSは消化管から脳腸相関を介して直接あるいは間接的に脳に情報を伝達していることが推察された。

このようなプロバイオティクスの日常的摂取は、消化吸収だけでなく神経・内分泌・免疫系にも深く関わっている腸に働きかけるとともに、脳腸相関を介して脳に刺激を与え、全身の神経・内分泌・免疫系を調節することにより、体が本来持っている自然治癒力、恒常性が崩れた際の回復力(レジリエンス)を高め、全身の健康維持、さらには健腸長寿を可能にすることが新たな仮説として考えられる。

## 参考文献

- 1) Sudo, N. *et al.* Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *J Physiol.* 558 : 263-275 (2004).
- 2) Palma, GD. *et al.* Microbiota and host determinants of behavioural phenotype in maternally separated mice. *Nat Commun.* 6 : 7735 (2015). doi : 10.1038/ncomms8735.
- 3) Benton, D. *et al.* Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr.* 61 : 355-361 (2007).
- 4) Rao, AV. *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathog.* 1 : 6 (2009). doi : 10.1186/1757-4749-1-6.
- 5) Takada, M. *et al.* Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut-brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol Motil.* 28 : 1027-1036 (2016). doi : 10.1111/nmo.12804.
- 6) Tanida, M. *et al.* Intragastric injection of *Lactobacillus casei* strain Shirota suppressed spleen sympathetic activation by central corticotrophin-releasing factor or peripheral 2-deoxy-D-glucose in anesthetized rats. *Neurosci Lett.* 619 : 114-120 (2016). doi : 10.1016/j.neulet.2016.03.016.

## Effects of probiotics on the gut-brain interaction in animal models

Mitsuhisa Kawai

Yakult Central Institute, Yakult Honsha Co. Ltd.

**Brief curriculum vitae** : Born in Aichi, 1965. Graduated from Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Gifu University in 1991. Entered Pfizer Japan Inc in 1991 and engaged in pharmaceutical R&D until 2007. Completed Doctorial Course of the United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University and received a PhD degree in Veterinary Science in 2005. Joined Yakult Honsha, Co. Ltd. in 2007. Associate Chief Researcher

**Major field studies** : Research on the effects of probiotics on the neuroendocrine system

**Abstract** : Recently, the subject of interest concerning the effects of intestinal microbiota and probiotics on human physiological functions has been expanding from physiological homeostasis involving immunomodulation to psychological homeostasis involving the neuroendocrine system, for example the relationship of microbiota to anxiety and depression. Several investigators have worked with animals to show that probiotics and intestinal microbiota reduce stress reactivity by modulating the neuroendocrine system or have positive effects on behavior and cognitive function under stressful conditions<sup>1, 2)</sup>. In humans, *Lactobacillus casei* Shirota (LcS), a probiotic that is known to have a role in immunoregulation as well as normalization of intestinal microbiota, has also been shown to have positive psychological effects by improving mood disturbances<sup>3, 4)</sup>.

We have been conducting basic research to investigate these novel functions of LcS and its mechanism of action in the brain using animal stress models. Our current results demonstrate that LcS intake reduces stress-induced excitation of the neuroendocrine system via the paraventricular nucleus (PVN). The afferent vagal nerves from the gastrointestinal tract seems to be involved in modulating the changes in the brain<sup>5, 6)</sup>. Our results suggest that LcS affects neurotransmission in the brain directly and/or indirectly through interactions with the gut-brain axis.

Daily intake of probiotics promotes the health of the gut, a major site of neuro-endocrine-immune responses as well as digestion and absorption. Together with the newly proposed hypothesis of action mechanism through the gut-brain axis, we expect that probiotics will enhance the body's resilience to maintain

physiological and psychological homeostasis and help achieve ‘healthy intestines for longevity.’

## References

- 1) Sudo, N. *et al.* Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *J Physiol.* 558 : 263-275 (2004).
- 2) Palma, GD. *et al.* Microbiota and host determinants of behavioural phenotype in maternally separated mice. *Nat Commun.* 6 : 7735 (2015). doi : 10.1038/ncomms8735.
- 3) Benton, D. *et al.* Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr.* 61 : 355-361 (2007).
- 4) Rao, AV. *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathog.* 1 : 6 (2009). doi : 10.1186/1757-4749-1-6.
- 5) Takada, M. *et al.* Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut-brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol Motil.* 28 : 1027-1036 (2016). doi : 10.1111/nmo.12804.
- 6) Tanida, M. *et al.* Intragastric injection of *Lactobacillus casei* strain Shirota suppressed spleen sympathetic activation by central corticotrophin-releasing factor or peripheral 2-deoxy-D-glucose in anesthetized rats. *Neurosci Lett.* 619 : 114-120 (2016). doi : 10.1016/j.neulet.2016.03.016.

## ストレスと脳腸相関：プロバイオティクスによるストレス緩和作用

西田憲生

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 病態生理学分野

略歴：1975年、静岡県生まれ。2001年京都府立医科大学医学部医学科卒業。京都第一赤十字病院にて内科研修、消化器内科専攻医を経て、2009年徳島大学大学院プロテオミクス医科学専攻博士課程修了、医学博士取得。2009年米国 Columbia university, Post-doctoral fellow。2011年徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部助教、2015年徳島大学大学院医歯薬学研究部准教授。

主な研究テーマ：RNA バイオロジー、生体ストレス応答メカニズムの解明、脳腸相関を介した抗ストレス食品としてのプロバイオティクスの評価と開発

要約：プロバイオティクスは、ヨーグルトなどの発酵食品に含まれており、腸内環境を整えることで我々の健康維持に寄与している。近年の腸内細菌に関するめざましい研究成果により、Brain-Gut-Microbiota axis を介した新たな機能が次々と明らかとなり、腸内細菌叢は、Mind-altering Micro-Organisms とも呼ばれている。そこで、プロバイオティクスの持つ腸内環境改善作用に注目し、プロバイオティクスのストレスに伴う身体症状の緩和作用について検討をおこなった。

我々がストレスバイオマーカーの探索の中で確立した医学部学生の進級試験ストレスモデル<sup>1)</sup>を用いて、プラセボ対照二重盲検比較試験を行った。2012年から2014年に進級試験を受験した被験者140名を *Lactobacillus casei* Shirota (LcS) 含有飲料摂取群 (n = 70) とプラセボ摂取群 (n = 70) の2群にわけ、試験前から8週間にわたり毎日被験物を摂取させた。LcSを摂取した群においては、ストレスによる腹部症状や体調不良の発症頻度が有意に低下していた。さらに、LcS群では、試験直前において、ストレスバイオマーカーである唾液コルチゾールの上昇が有意に抑えられていた。また、網羅的末梢白血球遺伝子発現解析では、脂質代謝に関わる遺伝子群が、ストレスの増加に伴って有意に変化していたが、LcS摂取群では、試験前日に2倍以上発現が変化した遺伝子数が有意に抑制されていた (プラセボ、176 遺伝子；LcS群、86遺伝子)。さらに、腸内細菌叢の解析では、LcS摂取群では、ストレスによるバクテロイデス門の増殖が抑制され、また、腸内細菌叢の  $\alpha$  多様性が増加していた<sup>2)</sup>。

本研究では、ストレスによる身体症状の出現をLcS含有の乳酸菌飲料の摂取により予防・緩和する可能性が示唆された。また、LcS摂取によりストレスバイオマーカーであるコルチゾールの上昇や遺伝子発現の変化も抑制していたことから、整腸作用のみならず身体ストレス応答反応を緩和している可能性が示唆さ



れた。そのメカニズムとしては、腸内細菌叢へ作用や、自律神経調節作用<sup>3)</sup>を介した可能性が考えられるが、今後のさらなる検討が必要である。安全で美味しい乳酸菌飲料が、ストレス緩和作用を通じて我々の健康維持に貢献する抗ストレス食品として位置づけられることを期待する。

#### 参考文献

- 1) Katsuura S, Kuwano Y, Yamagishi N, *et al.* MicroRNAs miR-144/144\* and miR-16 in peripheral blood are potential biomarkers for naturalistic stress in healthy Japanese medical students. *Neurosci Lett* 516 (1) : 79-84, 2012
- 2) Kato-Kataoka A, Nishida K, Takada M, *et al.* Fermented Milk Containing *Lactobacillus casei* Strain Shirota Preserves the Diversity of the Gut Microbiota and Relieves Abdominal Dysfunction in Healthy Medical Students Exposed to Academic Stress. *Appl Environ Microbiol* 82 (12) : 3649-58, 2016
- 3) Takada M, Nishida K, Kataoka-Kato A, *et al.* Probiotic *Lactobacillus casei strain* Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut-brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol Motil* 28 (7) : 1027-36, 2016

# Stress and the Brain-Gut Axis: Probiotics Can Alleviate Stress-Related Symptoms

Kensei Nishida

Department of Pathophysiology, Institute of Biomedical Sciences,  
Tokushima University Graduate School

**Brief curriculum vitae :** I was born in Shizuoka in 1975. I graduated from the Faculty of Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, in 2001, and worked as a medical intern and resident at Kyoto First Red Cross Hospital for 4 years. I received my Ph.D. from the Tokushima University Graduate School in 2009 and served as a post-doctoral fellow at Columbia University, USA, until 2011. After returning to Japan, I worked as an Assistant Professor at the Institute of Health Biosciences, Tokushima University, until 2014. Currently, I am working as an Associate Professor at the Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University.

**Research interests :** RNA biology, mechanisms of stress response, and the evaluation and development of probiotics as anti-stress foods, based on their effects on the brain-gut axis

**Abstract :** Probiotics are widely consumed as components of fermented foods such as yogurt and have a salubrious effect on the gut environment. Recent intensive research reveals that the microbiota affects our behavior and emotions through the brain-gut-microbiota axis ; therefore, members of the microbiota are called “mind-altering microorganisms.” We investigated the effects of probiotics on both stress-induced physical symptoms and stress biomarkers, through the improvement of gut health. To this end, we conducted double-blind, placebo-controlled trials involving healthy medical students, who were undertaking an authorized nationwide examination for academic advancement<sup>1)</sup>. We repeated the trials annually for 3 consecutive years with different groups of subjects and performed a pooled analysis of the data. For 8 weeks until the day before the examination, two groups, containing 70 subjects each, consumed *Lactobacillus casei* strain Shirota (LcS)-fermented milk or placebo milk daily. The total score for abdominal dysfunction and the number of genes with more than 2-fold change in expression in leukocytes were significantly suppressed in the LcS group compared to the placebo group during the observed period. Furthermore, the 16S rRNA gene amplicon sequences demonstrated that the LcS group had a significantly higher number of species, a marker of the alpha diver-

sity index, in their gut microbiota, and a significantly lower percentage of *Bacteroidaceae* than did the placebo group<sup>2)</sup>.

Our findings suggested that the daily consumption of probiotics such as *L. casei* strain Shirota prevented stress-related physical symptoms in healthy subjects exposed to stressful situations. Moreover, we showed that probiotics suppressed changes in both the levels of gene expression in leukocytes and the levels of the salivary stress marker, cortisol. Some preliminary studies in animal models suggest that stimulation of the gastric vagal nerve may be a possible mechanism underlying the effectiveness of LcS in attenuating stress responses<sup>3)</sup>. However, further research is needed to clarify the effects of LcS on the autonomic nervous system in healthy subjects. Probiotics are generally considered delicious and safe for consumption. We expect that fermented milk-based drinks will be recognized as anti-stress foods that contribute to the maintenance of good health.

#### References

- 1) Katsuura S, Kuwano Y, Yamagishi N, *et al.* MicroRNAs miR-144/144\* and miR-16 in peripheral blood are potential biomarkers for naturalistic stress in healthy Japanese medical students. *Neurosci Lett* 516 (1) : 79-84, 2012
- 2) Kato-Kataoka A, Nishida K, Takada M, *et al.* Fermented Milk Containing *Lactobacillus casei* Strain Shirota Preserves the Diversity of the Gut Microbiota and Relieves Abdominal Dysfunction in Healthy Medical Students Exposed to Academic Stress. *Appl Environ Microbiol* 82 (12) : 3649-58, 2016
- 3) Takada M, Nishida K, Kataoka-Kato A, *et al.* Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut-brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol Motil* 28 (7) : 1027-36, 2016

## 腸内フローラと脳の発達

Manu S. Goyal, MD, MSc  
Mallinckrodt Institute of Radiology  
Washington University School of Medicine  
St. Louis, Missouri, USA

**略歴：**2000年イリノイ大学にて学士（工学）取得。2002年英オックスフォード大学にて修士（神経生理学）取得。2005年シカゴ大学にてMD取得。2009年に神経学、2013年に放射線医学、2014年に神経放射線学の卒業後研修を修了後、Prof. Macrus Raichleの元でPost-Doc。現在、ワシントン大学マリックロット放射線医学研究所助教。

**主な研究テーマ：**脳代謝、特に寿命や疾患、栄養摂取との関連

**最近の受賞歴：**北米放射線学会奨学金受賞（研究内容：子供の栄養失調による脳の発達への影響）

**要約：**我々は、脳代謝、特に脳の発達や可塑性との関連性に注目して研究している。幼児の腸内フローラ解析研究の進展は、腸内フローラが脳の発達にどう影響するかという興味をかき立てる。今回我々は、身体の代謝状態が、腸内フローラと脳との仲介役であるという仮説を提案する（Goyal et al. 2015）。幼児では、代謝状態の影響によって、腸内フローラが脳代謝、すなわち脳の栄養源の利用に大きな変化を及ぼし、最終的には脳の発達にまで影響する可能性がある。本シンポジウムでは、発達時の脳の代謝要求、あるいは腸内フローラの発達、代謝や成長への影響、さらには異常な腸内フローラが脳代謝に影響する可能性について議論し、上記の仮説についてさらなる検証を進めるための今後の取り組みについて提案したい。

### 脳の発達における代謝要求

ヒト成人の脳の質量は、体重のわずか2%ほどしかないが、安静時のカロリー消費量のおよそ20%を消費するという代謝要求の点でユニークである。幼児の脳では要求量が高らかに高く、安静時のグルコース総消費量のおよそ50%にも達する（Chugani et al. 1998; Kennedy & Sokoloff 1957; Goyal et al. 2014）。我々は、この高いグルコース消費量は、酸素利用量を上回るものであり、これはすなわち好氣的解糖によるものであることを明らかにした（Goyal et al. 2014）。発達時の脳において、初期段階では神経突起やグリアなどを形成するため、その後は、脳の発達で広く見られる現象である、シナプス増殖やシナプス可塑性といった過程で、新しいシナプスの構成単位を形成するために、好氣的解糖が必要となる。

この特徴的な代謝要求は、ヒトの脳では5歳から10歳の間にピークを迎え、その後は徐々に低下する (Chugani et al. 1998 ; Goyal et al. 2014) 。このような代謝要求が「満たされない」ことによる影響はまだよく理解されていないが、幼児期の深刻な栄養失調とのちの認知機能障害との関連性について、いくつかの報告例がある (e.g. Waber et al. 2014) 。

### 腸内フローラの発達と幼児期の栄養失調

Jeffrey Gordon教授やその他の研究者たちによって、腸内フローラは生後数年間で一貫した変遷を遂げることが明らかとなっている (Yatsunenکو et al. 2012 ; Smith et al. 2013 ; Subramanian et al. 2014) 。一方で、深刻な栄養失調児の腸内フローラは大きく異なっており、未成熟の状態である (Subramanian et al. 2014 ; Blanton et al. 2016) 。栄養失調児の腸内フローラを無菌マウスに移植すると、発達障害の表現系がみられるが、その後に健常児の腸内フローラを移植することで抑えられた (Blanton et al. 2016) 。これらの結果は、幼児期の健全な代謝状態の発達と形成において、食生活と腸内フローラとの間に重要な相互作用があることを示唆するものである。

### 腸内フローラと脳代謝

脳代謝の研究における最初の試みとして、6匹の無菌マウスのうち3匹に、4週齢の通常マウスの腸内フローラを移植した研究が挙げられる (Matsumoto et al. 2013) 。予備検討ではあるものの、解糖系やアミノ酸に関連した脳代謝産物が、無菌マウスと移植マウスで著しく異なることが明らかになった。最近、健常児の腸内フローラを移植したノトバイオートマウスと、栄養不良児の腸内フローラを移植したノトバイオートマウスの間でも、アミノ酸やクエン酸の代謝が異なっていることが発見された (Blanton et al. 2016) 。これらの結果は予備的なものではあるが、腸内フローラと脳代謝の因果関係を示唆するものであり、腸内フローラ-腸-脳の相互関係の重要性を理解するために今後取り組むべき方向性を示している。

### 参考文献

- 1) Blanton, L. V., Charbonneau, M. R., Salih, T., Barratt, M. J., Venkatesh, S., Ilkaveya, O., & Gordon, J.I. (2016). Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children. *Science*, 351 (6275), aad3311
- 2) Chugani HT (1998). A critical period of brain development : Studies of cerebral glucose utilization with PET. *Prev Med* 27 ( 2 ) : 184-188

- 3) Goyal MS, Hawrylycz M, Miller JA, Snyder AZ, Raichle ME (2014). Aerobic glycolysis in the human brain is associated with development and neoteny gene expression. *Cell Metab* 19 ( 1 ) : 49-57
- 4) Goyal, M. S., Venkatesh, S., Milbrandt, J., Gordon, J. I., & Raichle, M. E. (2015). Feeding the brain and nurturing the mind : linking nutrition and the gut microbiota to brain development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (46) : 14105-14112
- 5) Kennedy C, Sokoloff L (1957). An adaptation of the nitrous oxide method to the study of the cerebral circulation in children : Normal values for cerebral blood flow and cerebral metabolic rate in childhood. *J Clin Invest* 36 ( 7 ) : 1130-1137
- 6) Matsumoto M, et al. (2013). Cerebral low-molecular metabolites influenced by intestinal microbiota : A pilot study. *Front Syst Neurosci* 7 : 9
- 7) Raichle ME, Mintun MA (2006). Brain work and brain imaging. *Annu Rev Neurosci* 29 : 449-476.
- 8) Smith MI, et al. (2013). Gut microbiomes of Malawian twin pairs discordant for kwashiorkor. *Science* 339 (6119) : 548-554
- 9) Subramanian S, et al. (2014). Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children. *Nature* 510 (7505) : 417-421
- 10) Waber, D. P., Bryce, C. P., Girard, J. M., Zichlin, M., Fitzmaurice, G. M., & Galler, J. R. (2014). Impaired IQ and academic skills in adults who experienced moderate to severe infantile malnutrition : A 40-year study. *Nutritional neuroscience*, 17 ( 2 ), 58-64
- 11) Yatsunenkov T, et al. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 486 (7402) : 222-227

## Intestinal microbiota and brain development

Manu S. Goyal, MD, MSc  
Mallinckrodt Institute of Radiology  
Washington University School of Medicine  
St. Louis, Missouri, USA

**Brief curriculum vitae :** Dr. Goyal received his education at University of Illinois at Chicago (B.S. Engineering), Oxford University, U.K. (M.Sc. in Neurophysiology), and University of Chicago (M.D.). He completed post-graduate training in Neurology (2009), Radiology (2013), and Neuroradiology (2014), and post-doctoral training with Professor Marcus Raichle. He is now Assistant Professor of Radiology at the Mallinckrodt Institute of Radiology at Washington University School of Medicine in St. Louis, Missouri. His research is on brain metabolism, particularly as it relates to lifespan changes, disease, and nutrition. He recently received an RSNA Scholar Award to study the effects of childhood malnutrition on brain development.

**Abstract :** Our research focuses on brain metabolism, particularly in the context of brain development and plasticity. Advances in research on the gut microbiota of children has stimulated interest in how the gut microbiota might influence brain development. Here we propose a hypothesis that a key mediator between gut microbiota and the brain is in the metabolic state of the body (Goyal et al. 2015). By influencing the metabolic state of a child, the gut microbiota might significantly affect brain metabolism, its access to nutritional resources, and ultimately its development. We will discuss the metabolic needs of a developing brain, the developing gut microbiota and its influence on metabolism and growth, and early evidence in how abnormal gut microbiota might influence brain metabolism. We will end with proposals for future efforts to more fully test this hypothesis and its potential implications.

### Metabolic needs of the developing brain

The adult human brain is unique in its metabolic requirements, consuming approximately 20% of the body's resting caloric consumption despite comprising just 2% of the body's typical weight (Raichle & Mintun 2006). A young child's brain is far more expensive, requiring nearly 50% of the body's total resting glucose consumption (Chugani et al. 1998 ; Kennedy & Sokoloff 1957 ;

Goyal et al. 2014). Our research has found that much of this glucose consumption is consumed in excess of oxygen utilization, i.e. via aerobic glycolysis (Goyal et al. 2014). Aerobic glycolysis in the developing brain is required to initially build biomass including neurites and glia, and subsequently provides the building blocks for new synapses in the course of synaptic proliferation and plasticity that flourishes during early brain development. The metabolic needs of the developing human brain peak between the ages of 5 and 10 and gradually decline thereafter (Chugani et al. 1998 ; Goyal et al. 2014). The effects of perturbations to the provision of these metabolic needs are not yet well understood, but several studies demonstrate cognitive impairments in children who previously suffered from severe malnutrition (e.g. Waber et al. 2014) .

### **Gut microbiota development and childhood malnutrition**

Research from Professor Jeffrey Gordon and others has shown that the gut microbiota undergo stereotypical changes over the first few years of life (Yatsunenکو et al. 2012 ; Smith et al. 2013 ; Subramanian et al. 2014). Severely malnourished children harbor significant alterations in their gut microbiota, which has an immature appearing ecology (Subramanian et al. 2014 ; Blanton et al. 2016). The gut microbiota from severely malnourished young children recapitulates an impaired growth phenotype when transplanted into sterile gnotobiotic mice, which can then be prevented by transplanting ‘healthy’ gut microbiota (Blanton et al. 2016). These results indicate an important interaction between diet and gut microbiota in developing and establishing a healthy or unhealthy metabolic state in a child.

### **Gut microbiota and brain metabolism**

An early / preliminary study of brain metabolism was performed in 6 germ-free mice, 3 of whom were transplanted with typical intestinal microbiota at 4 weeks of age (Matsumoto et al. 2013). Though a pilot study, this revealed significant differences in brain metabolites associated with glycolysis and amino acids between the germ-free and transplanted mice. A more recent study similarly found differences in amino acids and citrate between gnotobiotic mice transplanted with healthy donor or stunted / undernourished donor microbiota (Blanton et al. 2016). While these results remain preliminary, they suggest that gut microbiota might have a causal effect on brain metabolism, and point to future efforts that will help reveal important microbiota-gut-brain interactions..



## References

- 1) Blanton, L. V., Charbonneau, M. R., Salih, T., Barratt, M. J., Venkatesh, S., Ilkaveya, O., & Gordon, J.I. (2016). Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children. *Science*, 351 (6275), aad3311
- 2) Chugani HT (1998). A critical period of brain development : Studies of cerebral glucose utilization with PET. *Prev Med* 27 (2) : 184–188
- 3) Goyal MS, Hawrylycz M, Miller JA, Snyder AZ, Raichle ME (2014) . Aerobic glycolysis in the human brain is associated with development and neonatal gene expression. *Cell Metab* 19 (1) : 49–57
- 4) Goyal, M. S., Venkatesh, S., Milbrandt, J., Gordon, J. I., & Raichle, M. E. (2015). Feeding the brain and nurturing the mind : linking nutrition and the gut microbiota to brain development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (46) : 14105-14112
- 5) Kennedy C, Sokoloff L (1957). An adaptation of the nitrous oxide method to the study of the cerebral circulation in children : Normal values for cerebral blood flow and cerebral metabolic rate in childhood. *J Clin Invest* 36 (7) : 1130–1137
- 6) Matsumoto M, et al. (2013). Cerebral low-molecular metabolites influenced by intestinal microbiota : A pilot study. *Front Syst Neurosci* 7 : 9
- 7) Raichle ME, Mintun MA (2006). Brain work and brain imaging. *Annu Rev Neurosci* 29 : 449–476.
- 8) Smith MI, et al. (2013). Gut microbiomes of Malawian twin pairs discordant for kwashiorkor. *Science* 339 (6119) : 548–554
- 9) Subramanian S, et al. (2014). Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children. *Nature* 510 (7505) : 417–421
- 10) Waber, D. P., Bryce, C. P., Girard, J. M., Zichlin, M., Fitzmaurice, G. M., & Galler, J. R. (2014). Impaired IQ and academic skills in adults who experienced moderate to severe infantile malnutrition : A 40-year study. *Nutritional neuroscience*, 17 (2), 58-64
- 11) Yatsunenko T, et al. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 486 (7402) : 222–227

## うつと腸内細菌

○功刀 浩<sup>1</sup>、相澤恵美子<sup>1</sup>、辻 浩和<sup>2</sup>、朝原 崇<sup>2</sup>、高橋琢也<sup>2</sup>、寺石俊也<sup>1</sup>、  
吉田寿美子<sup>3</sup>、太田深秀<sup>1</sup>、古賀賀恵<sup>1</sup>、服部浩太郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第三部

<sup>2</sup>(株)ヤクルト本社中央研究所

<sup>3</sup>国立精神・神経医療研究センター病院臨床検査部

略歴：山梨県にて出生。1986年東京大学医学部卒業、1998年帝京大学医学部精神科学教室講師、2002年より国立精神・神経医療研究センター疾病研究第三部・部長。山梨大学・早稲田大学客員教授。研究テーマ：精神疾患のバイオマーカー、栄養学的研究。著書に「精神疾患の脳科学講義」（金剛出版、2012年）、「こころに効く精神栄養学」（女子栄養大学出版、2016年）ほか。

要約：うつ病は慢性ストレスを誘因として発症することが多いが、腸内細菌とストレス応答との間に双方向性の関連が示唆されている。動物実験によりプロバイオティクスがストレスに誘起されたうつ様行動やそれに伴う脳内変化を緩和することが示唆されている。しかし、うつ病患者における腸内細菌に関するエビデンスはいまだに少ない。本講演では、動物実験による基礎的検討やうつ病患者における腸内フローラ解析について概観し、演者らが行ったうつ病患者に関する腸内フローラ解析の結果を中心に紹介する。

これまでにいくつかのうつ病モデル動物において、腸内細菌とうつ様行動との関連やストレス応答との関連について検討されてきた。ラットの「母子分離モデル」では、ストレス応答を司る視床下部—下垂体—副腎系（HPA系）の活動亢進、神経伝達物質であるモノアミン（アドレナリン、ノルアドレナリン、セロトニン）の脳内での減少、炎症性サイトカインIL-6の増加が観察された。しかし、このラットにプロバイオティクス（*Bifidobacterium infantis* 35624）を投与すると、うつ病様行動が改善し、モノアミンが増加し、免疫反応が減少したという<sup>1)</sup>。「嗅球摘出マウス」もうつ病モデルマウスとしてよく使用され、このマウスでの検討によれば、脳内のCRH（HPA系において視床下部から放出されるホルモン）の発現上昇、結腸のセロトニンや蠕動運動の亢進がみられると共に、腸内細菌叢プロフィールの変化が見られた。同様の変化はCRHの脳室内投与によっても観察され、このモデルにおけるHPA系の過活動が過敏性腸症候群様の症状や腸内細菌叢の変化をもたらす可能性が示唆されている<sup>2)</sup>。そのほか、「慢性浸水ストレス」を与えたマウスにおいては、プロバイオティクス（*Bifidobacterium longum*と*Lactobacillus helveticus*）が、脳の可塑性変化の異常やニューロン新生の減少、

HPA系の亢進、腸の透過性亢進を改善したと報告されている<sup>3)</sup>。

うつ病患者における腸内細菌叢に関する検討はいまだに少ないが、演者が知る限りこれまでに海外で2報ある。Naseribafroueiら<sup>4)</sup>による最初の報告では、37人のうつ病患者と18人の非うつ病者を対象に16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析を行い、operational taxonomic units (OTU) 解析を行った。その結果、うつ病患者では*Bacteroidales*が多く、*Lachnospiraceae*が少ないという結果を報告している。Jiangら<sup>5)</sup>は、46人の大うつ病患者と30人の健常者を解析し、*Enterobacteriaceae*や*Alistipes*が増加していたが、*Faecalibacterium*が減少していたという。これらの2研究の長所はOTU解析から網羅的に腸内細菌を解析した点であるが、*Bifidobacterium*や*Lactobacillus*などの特定の菌属についての定量性が低いという欠点がある。特に、*Lactobacillus*は腸内細菌の総数に対する菌数が少なく、この方法ではうつ病との関連を検討することは困難である。2研究の結果は異なっており、意義付けも今のところ不明である。

演者ら<sup>6)</sup>は16S rRNAを標的とした定量的RT-PCR (Yakult Intestinal Flora-SCAN; YIF-SCAN<sup>®</sup>)によって、43人の大うつ病患者(診断は米国精神医学会によるDSM-IVに基づく)と57人の健常者とを比較し、患者群は*Bifidobacterium*や*Lactobacillus*が低値を示す者が多いことを示す結果を得た<sup>28)</sup>。すなわち、うつ病患者では健常者と比較して*Bifidobacterium*が有意に減少しており、*Lactobacillus*は減少傾向にあった。また、それぞれの菌についてROC解析に基づいて一定の閾値を設定すると、両菌において閾値未満の頻度が患者で有意に多く、リスク因子となることがわかった(オッズ比2.5~3.5)。これらの閾値未満であるとIBSのリスクも有意に高くなることも明らかになった。さらに、ヨーグルトなどの摂取量が少ない者は*Bifidobacterium*が少ないことも観察された。

ごく最近、うつ病患者に対するプロバイオティクスの効果に関するランダム化比較対照試験の結果が報告され、プロバイオティクスの有効性が示唆されている。イランの大うつ病患者を対象とした研究<sup>7)</sup>によれば*Lactobacillus acidophilus*、*Lactobacillus casei*、*Bifidobacterium bifidum*を含むプロバイオティクスを8週間投与した群(N=20)とプラセボ群(N=20)との間で、うつ病症状や代謝関連分子の変化について比較したところ、プロバイオティクス投与群はプラセボ群と比較して、うつ病症状改善度が有意に高く、耐糖能の指標や高感度CRPなどの値が有意に改善していたという。以上から、うつ病が*Lactobacillus*や*Bifidobacterium*の低下と関連することを支持する所見が得られ、今後、うつ病患者におけるプロバイオティクスやプレバイオティクスによる臨床試験も増加することが予想される。

## 参考文献

- 1) Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, et al : Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* 170 : 1179-1188, 2010
- 2) Park AJ, Collins J, Blennerhassett PA, et al : Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression. *Neurogastroenterol Motil* 25 : 733-e575, 2013
- 3) Ait-Belgnaoui A, Colom A, Braniste V, et al : Probiotic gut effect prevents the chronic psychological stress-induced brain activity abnormality in mice. *Neurogastroenterol Motil* 26 : 510-520, 2014
- 4) Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, et al : Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil* 26 : 1155-1162, 2014
- 5) Jiang H, Ling Z, Zhang Y, et al : Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun* 48 : 186-194, 2015
- 6) Aizawa E, Tsuji H, Asahara T, et al : Possible association of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the gut microbiota of patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*. 2016 May 24 ; 202 : 254-257.
- 7) Akkasheh G, Kashani-Poor Z, Tajabadi-Ebrahimi M, et al : Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder : A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*. 2016 Mar ; 32 ( 3 ) : 315-20.

## Depression and gut microbiota

○Hiroshi Kunugi<sup>1</sup>, Emiko Aizawa<sup>1</sup>, Hirokazu Tsuji<sup>2</sup>, Takashi Asahara<sup>2</sup>,  
Takuya Takahashi<sup>2</sup>, Toshiya Teraishi<sup>1</sup>, Sumiko Yoshida<sup>3</sup>, Miho Ota<sup>1</sup>,  
Norie Koga<sup>1</sup>, Kotaro Hattori<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Department of Mental Disorder Research, National Institute of Neuroscience,  
National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan.

<sup>2</sup>Yakult Central Institute, Tokyo, Japan.

<sup>3</sup>Department of Psychiatry, National Center of Neurology and Psychiatry  
Hospital, Tokyo, Japan.

**Brief curriculum vitae** : Born in Yamanashi, Graduated from Tokyo University Faculty of Medicine in 1986, Lecturer in Psychiatry at the Teikyo University School of Medicine in 1998, Director, Department of Mental Disorder Research, National Institute of Neuroscience, NCNP in 2002, Honorary Professor at Yamanashi University and Waseda University. Main research interest : biomarker and nutrition in psychiatric diseases.

**Abstract** : Depressive disorder is a stress-induced condition, which has been suggested to have bidirectional interactions with the gut microbiota. Probiotics such as *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* are suggested to mitigate stress response. Animal models of depression have shown abnormalities in the gut such as increased gut permeability, and the probiotics ameliorate their depression-like behaviors and altered stress responses<sup>1-3)</sup>. However, there have been only a few studies that have directly investigated the gut microbiota of the depressed patients<sup>4,5)</sup>.

We examined whether bacterial counts of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* are reduced in patients with major depressive disorder (MDD) than in healthy controls<sup>6)</sup>. Bacterial counts in fecal samples were estimated in 43 patients and 57 controls using bacterial rRNA-targeted reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (Yakult Intestinal Flora-SCAN ; YIF-SCAN<sup>®</sup>). The patients had significantly lower *Bifidobacterium* counts and tended to have lower *Lactobacillus* counts than the controls. Individuals whose bacterial counts below the optimal cut-off point (9.53 and 6.49 log<sub>10</sub> cells/g for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, respectively) were significantly more common in the patients than in the controls for both bacteria. Using the same cut-off points, we observed an association between the bacterial counts and irritable bowel

syndrome. Frequency of fermented milk consumption was associated with higher *Bifidobacterium* counts in the patients. Our results provide direct evidence, for the first time, that individuals with lower *Bifidobacterium* and/or *Lactobacillus* counts are more common in patients with MDD compared to controls.

In line, a recent randomized controlled study<sup>7)</sup> on depressive disorder from Iran reported beneficial effects of probiotics (combination of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*) on depression severity and metabolic parameters of the patients. Collectively, the use of gut microbiota in the diagnosis and treatment of depressive disorder seems to be promising.

## References

- 1) Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, et al : Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* 170 : 1179-1188, 2010
- 2) Park AJ, Collins J, Blennerhassett PA, et al : Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression. *Neurogastroenterol Motil* 25 : 733-e575, 2013
- 3) Ait-Belgnaoui A, Colom A, Braniste V, et al : Probiotic gut effect prevents the chronic psychological stress-induced brain activity abnormality in mice. *Neurogastroenterol Motil* 26 : 510-520, 2014
- 4) Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, et al : Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil* 26 : 1155-1162, 2014
- 5) Jiang H, Ling Z, Zhang Y, et al : Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun* 48 : 186-194, 2015
- 6) Aizawa E, Tsuji H, Asahara T, et al : Possible association of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the gut microbiota of patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*. 2016 May 24 ; 202 : 254-257.
- 7) Akkasheh G, Kashani-Poor Z, Tajabadi-Ebrahimi M, et al : Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder : A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*. 2016 Mar ; 32 ( 3 ) : 315-20.

## パーキンソン病における腸内フローラ

Agata Mulak

Department of Gastroenterology and Hepatology,  
Wroclaw Medical University  
Wroclaw, Poland

**略歴：**Agata Mulak (医学博士、学術博士)。ポーランド、ヴロツワフ医科大学 消化器部門 准教授。1999年同大学卒業、2005年学術博士取得。消化器、内科専門医。2009年から2011年、アメリカ、ロサンゼルス、UCLA、David Geffen医科大学院のストレス神経生物学センター、博士特別研究員。

**会員：**アメリカ消化器学会、アメリカ神経消化器学会、ヨーロッパ神経消化器学会、ポーランド消化器学会。2012年から2016年、COST Action BM1106: *The Genes in Irritable Bowel Syndrome Research Network Europe (GENIEUR)* の管理委員会メンバー。2016年から、ポーランドROME IV Global FGID疫学研究 主任研究員。

**受賞歴：**ヨーロッパ消化器病週間 若手研究者 Best Abstract Travel Grant Awards 受賞 (2006年ベルリン、2007年パリ、2011年ストックホルム、2013年ベルリン)、消化器病週間 (DDW) 優秀ポスター賞 (2012年サンディエゴ)、ヴロツワフ医科大学 three Individual Awards of Rector 受賞。

**研究分野：**脳-腸-菌軸の基礎と臨床、IBSの病態生理学、内臓知覚過敏とストレス関連疾患の性差

**要約：**パーキンソン病は (PD)、 $\alpha$ -シヌクレインの蓄積による神経変性疾患を特徴とし、それは中枢神経系 (CNS)、自律神経系そして腸管神経系 (ENS) を含む脳-腸軸の全てのレベルに影響を与える。近年、常在菌および病原菌を含めた腸内細菌の脳-腸相関における役割は、広く認識されてきている。PDにおける脳-腸-菌軸の異常調節は、時にPDの病態そのものである運動障害よりも先に消化管症状の発症を伴い、PDの病態が、腸から脳に広がっていくという仮説を示唆する。腸内細菌がCNSと消化管の双方向のコミュニケーションに与える影響は、免疫系、神経内分泌系そして神経系への直接的な作用をも内包する。腸内細菌は、病原菌からのリポ多糖 (LPS) や炎症促進性サイトカインによる局所性および全身性の炎症を亢進させることが知られている。腸におけるディスバイオシス (腸内細菌構成バランスの異常)、および/または腸内細菌異常増殖および腸透過性亢進による自然免疫系の過剰な刺激は、全身性のおよび/またはCNSの炎症を引き起こすかもしれない。一方で腸管神経や腸管グリア細胞の活性化は、 $\alpha$ -シヌクレインの折りたたみ異常を引き起こす要因になるかもしれない。

事実、 $\alpha$ -シヌクレインの凝集は、脳よりも先にENSの粘膜下神経叢や筋層間神経叢に存在し、“プリオン様”の伝播の可能性を示唆する。加えて獲得免疫系は、よく似た分子経路を介してヒトの抗原と交差反応する腸内細菌のタンパク質によって、阻害されるかもしれない。腸内細菌はまた、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA)、セロトニン、ドパミンや短鎖脂肪酸のような多くの神経伝達物質や神経調節因子を合成できる。迷走神経を介して腸と脳が直接的な神経コミュニケーションを行うように、菌はENSの求心性神経を刺激し得る。

腸内細菌の変化がPD発症に先行して、またはその過程の中で起こることを裏付ける証拠は、現在増えつつある。近年、PD患者における腸内細菌の構成が、臨床的な症状と関連することが示されてきている。加えて、腸内細菌の加齢による変化、特に種多様性の減少は、加齢による神経変性と繋がっているかもしれない。また、多くのPD患者が、腸内細菌異常増殖を併発することも報告されている。*Helicobacter pylori*や*Mycobacterium paratuberculosis*のような複数の特別な病原菌が、潜在的な誘発因子として想定されている。しかし、腸内細菌の質および量的な変化とPDの病原因子との因果関係は、未だに明確ではない。重要なことに、腸炎に関する脳-腸-菌軸の相互作用において、いくつかの遺伝的な危険因子が、決定的な役割を果たすかもしれない。また驚くべきことに、疫学的なデータから、喫煙者やコーヒー嗜好者におけるPDの発症リスクは低いことが示されている。食物繊維豊富な食事と同様に、タバコやコーヒーの消費は、腸炎を緩和する方向に腸内細菌の構成を変化させ、PDのリスクを下げるのかもしれない。

脳-腸-菌相関のより深い理解により、PDの病態生理に関して新しい知見が得られるだろう。腸のディスバイオシス、透過性亢進および神経機能障害の密接な関係は、プロバイオティクス、プレバイオティクスや糞便細菌移植も含めた腸内細菌の改変が、PD患者に確かな治療の選択肢を与えることを示唆する。

## 参考文献

- 1) Mulak A, Bonaz B. *Brain-gut-microbiota axis in Parkinson's disease*. World J Gastroenterol 2015 ; 21 : 10609-20.
- 2) Mayer EA, Knight R, Mazmanian SK, Cryan JF, Tillisch K. *Gut microbes and the brain : paradigm shift in neuroscience*. J Neurosci 2014 ; 34 : 15490-6.
- 3) Cryan JF, Dinan TG. *Mind-altering microorganisms : the impact of the gut microbiota on brain and behaviour*. Nat Rev Neurosci 2012 ; 13 : 701-12.
- 4) Felice VD, Quigley EM, Sullivan AM, O'Keefe GW, O'Mahony SM. *Microbiota-gut-brain signalling in Parkinson's disease : Implications for non-motor symptoms*. Parkinsonism Relat Disord 2016 ; 27 : 1-8.
- 5) Scheperjans F, Aho V, Pereira PA, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E,



Haapaniemi E, Kaakkola S, Eerola-Rautio J, Pohja M, Kinnunen E, Murros K, Auvinen P. *Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype*. *Mov Disord* 2015 ; 30 : 350-8.

## Gut microbiota in Parkinson's disease

Agata Mulak

Department of Gastroenterology and Hepatology,  
Wroclaw Medical University  
Wroclaw, Poland

**Brief curriculum vitae :** Agata Mulak, MD, PhD is an Associate Professor of Medicine in the Department of Gastroenterology and Hepatology at Wroclaw Medical University, Poland. She graduated from Wroclaw Medical University, Poland : MD (1999), PhD (2005). She is a specialist in internal medicine and gastroenterology. In years 2009-2011 she completed her postdoctoral fellowship at the Center for Neurobiology of Stress, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, CA, USA.

**Memberships :** the American Gastroenterological Association, the American Neurogastroenterology and Motility Society, the European Society of Neurogastroenterology and Motility, the Polish Society of Gastroenterology. In years 2012-2016 Management Committee Member of the COST Action BM1106 : *The Genes in Irritable Bowel Syndrome Research Network Europe (GENIEUR)*. Since 2016 Polish Principal Investigator of ROME IV Global FGID Epidemiology Study.

**Awards :** Best Abstract Travel Grant Awards for young scientists at United European Gastroenterology Week (Berlin 2006, Paris 2007, Stockholm 2011, Berlin 2013), Poster of Distinction at Digestive Disease Week (San Diego 2012), three Individual Awards of Rector of Wroclaw Medical University, Poland.

**Research interests :** basic and clinical aspects of the brain-gut-microbiota axis, the pathophysiology of irritable bowel syndrome, sex differences in visceral hypersensitivity and stress-related disorders.

**Abstract :** Parkinson's disease (PD) is characterized by alpha-synucleinopathy that affects all levels of the brain-gut axis including the central, autonomic, and enteric nervous systems. Recently, a role of the gut microbiota, both commensal and pathogenic organisms, in the brain-gut axis interactions has been increasingly recognized. Dysregulation of the brain-gut-microbiota axis in PD may be associated with gastrointestinal manifestations frequently preceding motor symptoms, as well as with the pathogenesis of PD itself, supporting the hypothesis that the pathological process is spread from the gut to the brain. The impact of the gut microbiota on the bidirectional communication between the cen-

tral nervous system (CNS) and the gastrointestinal tract involves immunological, neuroendocrine, and direct neural mechanisms.

The gut microbiota is known to upregulate local and systemic inflammation due to lipopolysaccharides (LPS) from pathogenic bacteria and synthesis of pro-inflammatory cytokines. Excessive stimulation of the innate immune system resulting from gut dysbiosis and/or small intestinal bacterial overgrowth and increased intestinal permeability may produce systemic and/or CNS inflammation, while activation of enteric neurons and enteric glial cells may contribute to the initiation of alpha-synuclein misfolding. In fact, alpha-synuclein aggregates are present in both the submucosal and myenteric plexuses of the enteric nervous system (ENS), prior to their appearance in the brain, indicating a possible “prion-like” spread. Additionally, the adaptive immune system may be disturbed by bacterial proteins cross-reacting with human antigens via the molecular mimicry pathway. The gut bacteria are also able to synthesize numerous neurotransmitters and neuromodulators such as  $\gamma$ -aminobutyric acid, serotonin, dopamine or short-chain fatty acids. The direct neural communication between the gut and the brain occurs via the vagus nerve, as bacteria can stimulate afferent neurons of the ENS.

There is a growing body of evidence confirming that the gut microbiota alterations precede or occur during the course of PD. The gut microbiota composition in PD patients has been recently associated with clinical phenotypes of the disease. In addition, the age-related changes in the gut microbiota, in particular a decreased diversity of species, may be linked to the age-related neurodegeneration. High prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in PD has been also reported. Moreover, some specific pathogens, including *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium paratuberculosis*, have been postulated as potential triggering factors. However, the causal relationship between the qualitative and quantitative changes of gut microbiota and the pathogenesis of PD remains unclear. Importantly, some genetic risk factors may play a crucial role in the interactions between the brain-gut-microbiota axis with respect to gut inflammation. Surprisingly, epidemiological data indicate that the risk of PD is lower in smokers and coffee drinkers. Cigarette and coffee consumption, like fiber-rich diet, may alter the microbiota composition in a way that mitigates intestinal inflammation lowering the risk for PD.

A better understanding of the brain-gut-microbiota axis interactions should bring a new insight in the pathophysiology of PD. The close relationship be-

tween gut dysbiosis, intestinal permeability and neurological dysfunction suggests that the gut microbiota modification with probiotics, prebiotics, or even fecal microbiota transplantation, may provide a promising therapeutic option in PD.

## References

- 1) Mulak A, Bonaz B. *Brain-gut-microbiota axis in Parkinson's disease*. World J Gastroenterol 2015 ; 21 : 10609-20.
- 2) Mayer EA, Knight R, Mazmanian SK, Cryan JF, Tillisch K. *Gut microbes and the brain : paradigm shift in neuroscience*. J Neurosci 2014 ; 34 : 15490-6.
- 3) Cryan JF, Dinan TG. *Mind-altering microorganisms : the impact of the gut microbiota on brain and behaviour*. Nat Rev Neurosci 2012 ; 13 : 701-12.
- 4) Felice VD, Quigley EM, Sullivan AM, O'Keeffe GW, O'Mahony SM. *Microbiota-gut-brain signalling in Parkinson's disease : Implications for non-motor symptoms*. Parkinsonism Relat Disord 2016 ; 27 : 1-8.
- 5) Scheperjans F, Aho V, Pereira PA, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E, Haapaniemi E, Kaakkola S, Eerola-Rautio J, Pohja M, Kinnunen E, Murros K, Auvinen P. *Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype*. Mov Disord 2015 ; 30 : 350-8.



**Yakult Bio-Science Foundation**