

## 妊娠期母体腸内細菌叢の胎児、 乳児の中枢神経系の発生における役割の解析

研究代表者： 栢谷 史郎（子どものこころの発達研究センター・特命助教）

概 要
非吸収性の抗生剤を妊娠9日目～16日目の期間、妊娠マウスに飲水投与したのち、仔マウスを出産させ、離乳まで養育させた。その後、生後4週の子マウスに対して行動実験を行った。その結果、活動低下、不安様行動などが観察された。マウスは生後6週で性的に成熟するため、生後4週の時期は未就学児童や小学校の低学年に相当する。この時期には本来、活動的で、好奇心旺盛であるべきで、低活動で不安傾向が強いことはさらなる学習、発達の機会を奪う可能性がある。本研究の結果は妊娠期におけるマウス母体腸内細菌叢が胎児の中枢神経系の発生、発達に寄与しており、妊娠期の腸内細菌叢の攪乱が仔の中枢神経系の機能的な発達に深刻な影響を与えることを示唆する。
関連キーワード
腸内細菌、精神発達障害、マウスモデル、不安様行動、プロバイオティクス

### 研究の背景および目的

1970年代以降の精神神経分野の発達障害の増加は健全な脳の発育における環境要因の重要性を示唆する。健全な腸内細菌の構成は妊娠期母体の重要な環境の一つである。腸内細菌叢の構成の変化が動脈硬化、肝臓障害、アレルギー疾患などの原因となる可能性が様々な研究により示唆されている（光岡, 2014）。精神神経分野においても腸内細菌叢の変化が社会的行動や不安傾向等に影響を与えることがヒトおよびマウスで示唆されている（Collins, 2013; Tillisch, 2013; Hsiao, 2013）。

ただし妊娠期母体腸内細菌叢が胎児、新生児の脳の発生、発達において果たす役割は明らかではない。研究代表者は妊娠マウスに対する非吸収性抗生剤の飲水投与により母体腸内細菌の構成を攪乱する方法を確立している。本研究は、この方法を用いて胎児神経発生期を通じて母体腸内細菌叢の攪乱を引き起こし、そのことが胎児、新生児の中枢神経系の発生にどのような影響を与えるかを仔マウスに対する行動実験により明らかにする。

### 研究の内容および成果

胎児神経発生期に母体腸内細菌叢の攪乱が生じると、胎児、新生児の中枢神経系の発生にどのような影響を与えるかを明らかにする目的で、非吸収性抗生剤を妊娠9日目～16日目の期間、妊娠マウス（C57BL/6J系統）に飲水投与したのち、仔マウスを出産させ、離乳まで養育させた。その後、生後4週の子マウスに対して行動実験を行った（図1）。その結果、24時間の活動量を測定するホームケージ活動試験においてマウスにとって本来の活動期である暗期の低活動が観察された（図2）。また、広く目印などが何もない空間にマウスを置き、行動様式を観察するオープンフィールド試験の結果は、新奇環境における活動量が低下すること（図3）、マウスが空間の中心部を避け、壁沿いを移動することを好み、不安傾向があることを示唆した（図4）。マウスは生後6週で性的に成熟するため、生後4週の時期は未就学児童や小学校の低学年に相当する。この時期には本来、活動的で、好奇心

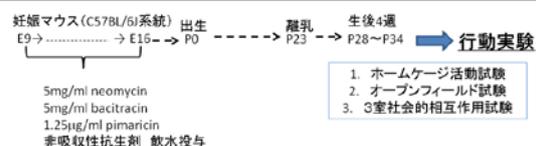


図1 非吸収性抗生剤投与による妊娠期母体の腸内細菌攪乱と仔マウスへの行動実験のスキーム

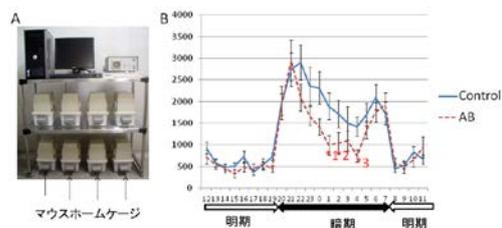


図2 (A) ホームケージ活動試験測定装置 (B) 対照群(Control)及び抗生剤投与群(AB)の24時間周期の活動

旺盛であるべきで、低活動で不安傾向が強いこと(表1)はさらなる学習、発達の機会を奪う可能性がある。これらの結果は妊娠期におけるマウス母体腸内細菌叢が胎児の中枢神経系の発生、発達に寄与しており、妊娠期の腸内細菌叢の攪乱が仔の中枢神経系の機能的な発達に深刻な影響を与えることを示唆する。

日本は発酵食品が豊かであり、腸内細菌を整えるプロバイオティクス製剤、プレバイオティクス製剤の研究開発が盛んである。この実験系は抗生剤により腸内細菌が攪乱された母体及びその仔マウスに対し、プロバイオティクス製剤、プレバイオティクス製剤を投与し、仔の行動の改善の度合いを定量的に観察することができ、仔の脳の発生、発達に寄与するプロバイオティクス製剤、プレバイオティクス製剤等の評価、スクリーニングに有効である。そのため、この実験系をもとに「妊娠期母体腸内細菌攪乱による行動異常モデル動物の作製方法とその用途」として特許を出願済みである(特願 2015-017613)。また、本実験系に興味を持った企業と共同研究を開始する予定である。

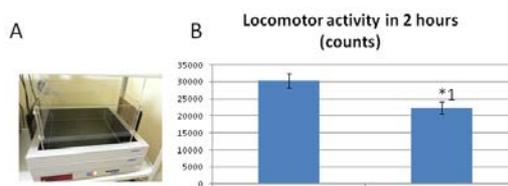


図3 (A) オープンフィールド試験測定装置 (B) 対照群(Control) 及び抗生剤投与群(AB) の新奇環境における行動量(2時間)

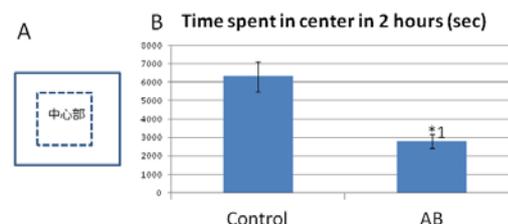


図4 対照群(Control) 及び抗生剤投与群(AB) がオープンフィールド試験において空間の中心部(A) で過ごした時間(B)

	妊娠期に腸内細菌が攪乱された母体から生まれたマウス仔の行動の特徴
社会的行動異常	なし
常同性	なし
睡眠障害(概日リズム障害)	あり(暗期活動低下)
新奇環境下低活動	あり
不安傾向	あり

表1 妊娠期に腸内細菌が攪乱された母体から生まれたマウス仔の行動の特徴

## 本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

### 「主な発表論文等」

Tochitani *et al.*, Perturbation of maternal gut microbiota during pregnancy results in abnormal behaviours in offspring. *Sci. Rep.*, *submitted*.

栃谷史郎、松崎秀夫「マウス妊娠期腸内細菌叢の攪乱は仔の中枢神経系の発生発達に影響を与える」第19回腸内細菌学会、東京都、2015年6月(予定)

Tochitani S. and Matsuzaki H. Perturbation on the mouse maternal gut microbiota during pregnancy leads to the abnormal behavior of their offspring. 第38回日本神経科学大会、神戸市、2015年7月(予定)

### 「特記事項」

特許(出願済)

発明の名称: 妊娠期母体腸内細菌攪乱による行動異常モデル動物の作製方法とその用途

出願日: 2015年1月30日

整理番号: A12307

出願番号: 特願 2015-017613

出願人: 福井大学

発明者: 栃谷史郎、松崎秀夫

栃谷史郎「妊娠期母体腸内細菌攪乱による行動異常マウスの作成方法とその用途」

ふくい知財フォーラム、福井市、2015年3月10日

### 「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

公益財団法人ヤクルト・バイオサイエンス研究財団・研究助成・一般課題研究・平成26年度・「母体腸内細菌の胎児、乳児中枢神経系の発生、発達における役割とそのメカニズムの解析」・代表・採択・100万円

公益財団法人武田科学振興財団・研究助成・医学系研究奨励・平成26年度・「母子関係に基づく新生児脳発達における腸内細菌叢の役割(仮題)」・代表・申請予定・200万円