

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770241

研究課題名（和文） パプアニューギニアの高地に住む人々の低タンパク食適応における腸内細菌叢の役割

研究課題名（英文） Role of gut microbiota of Papuan for adaptation to low-protein diets

研究代表者

岩瀬 忠行（IWASE TADAYUKI）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：80385294

研究成果の概要（和文）：

研究の背景と目的

近年、メタゲノム解析から、腸内細菌叢が、炭水化物を効率良く分解し、生じたエネルギーを宿主に提供することで、肥満と痩せに関係していることが示されているが、窒素代謝に関する腸内細菌叢の役割は明確ではない。そこで申請者が専門とする細菌学的手法を応用して腸内細菌の低タンパク食適応への関与を検討した。得られた成果を以下に記す。

①本申請者は、2011年度において、パプアニューギニアの高地に住む人々（タリ地域）から窒素固定遺伝子を持つ細菌を見出した。②2010年度に開発した窒素固定能確認試験培地（無窒素培地）上での生育を確認した。③水素ガス検出法による窒素固定能を確認し、分離した細菌が窒素固定能を有していることを確認した。④また37℃においても窒素固定能を有することを見出した。生体内におけるこれらの株のふるまいを解析することで、腸内細菌叢とヒトの食生態の多様性について、生物学的実験に基づいた考察が可能になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Nitrogen-fixing bacteria have been isolated from Papua people. These bacteria have been characterized by using biochemical tests, hydrogen generation, and growth in nitrogen-free media. In addition, these bacteria grow at 37 degree in nitrogen-free media under anaerobic conditions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人類学・自然人類学

キーワード：腸内細菌叢、低タンパク食適応

## 1. 研究開始当初の背景

近年、メタゲノム解析から、腸内細菌叢が、炭水化物を効率良く分解し、生じたエネルギーを宿主に提供することで、肥満と痩せに関係していることが示された。

しかしながら、タンパク質の代謝に関する腸内細菌叢に関する研究例はほとんどなく、その詳細は明らかではなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では人類生態学で大きな問題とされてきた低タンパク食適応について、申請者が専門とする細菌学的な手法を応用してこの問題を明らかにし、腸内細菌叢と現生人類の食生態の多様性から人類進化・適応の側面を明らかにすることを目標とする。

## 3. 研究の方法

ヒトから分離される窒素固定細菌に適合した培地に関する情報が不足していたため、本培地の開発を行なった。第一に窒素源を持ち込まないために、完全合成培地の開発を目指した。多くの菌によって資化されるが、窒素固定遺伝子の発現を抑えるといわれるグルコースの添加量を必要最小限とし、フルクトースとマルトースを主な糖源として構築した。またビタミン類に関してはビタミン B1、ビタミン B2、ビオチン、ニコチン酸を主に構築した。ミネラルに関しては、一般的に必要なミネラルと考えられているマグネシウムや鉄、カルシウム、マンガン、亜鉛、銅、硫黄、リン、そして窒素固定酵素の働きに必要な

なモリブデン等を加えた培地の開発を行なった。

上述の培地ならびにコントロールとなる菌を用いて培地の有用性をテストした後、本培地を用いて窒素固定能の検討を行った。簡便には、無窒素培地に寒天を加えた平板培地もしくは液体培地での増殖を指標にした。窒素固定酵素が KCN の分解にも関与することを利用し、KCN を唯一の窒素源とし、仮に KCN を分解・利用できた場合には窒素代謝の動きにより培地がアルカリに傾く。この pH の傾きの変化を捉えるために、pH 指示薬であるニュートラルレッドを添加した培地も作成した。また間接的窒素固定能の検定法として、水素ガス発生量の測定がある。本検討では窒素固定と同時に発生するこの水素を検出することで窒素固定能をテストした。今後、直接的な窒素固定能を知るためには、安定同位体窒素である  $^{15}\text{N}$  を用い、 $^{15}\text{N}$  の取り込みを測定する必要があると考えられる。

また窒素固定細菌の窒素固定能を測定する場合、通常  $25^{\circ}\text{C}$  から  $30^{\circ}\text{C}$  の間で生育した菌を用いる。一般的には  $30^{\circ}\text{C}$  を超える温度では窒素固定能は著しく下がることが知られている。しかしながら本研究ではヒトを含む哺乳動物の腸内での窒素固定能の働きの解明を目指した研究を行なっているため、哺乳動物の体内深部温度に併せた  $37^{\circ}\text{C}$  における窒素固定能を検討した。

## 4. 研究成果

研究成果を以下に記す。

①本申請者は、2011 年度において、パプアニューギニアの高地に住む人々（タリ地域）

から窒素固定遺伝子を持つ細菌を見出した。  
②2010 年度に開発した窒素固定能確認試験培地（無窒素培地）上での生育を確認した。  
③水素ガス検出法による窒素固定能を確認し、分離した細菌が窒素固定能を有していることを確認した。④また 37℃においても窒素固定能を有することを見出した。

これらの知見はヒトの窒素固定細菌による窒素固定が行われている可能性が高いと考えられる。今後、生体内におけるこれらの株のふるまいを解析することで、腸内細菌叢とヒトの食生態の多様性について、生物学的実験に基づいた考察が可能になると考えられる。

なお、現地におけるサンプリングについては東京大学大学院医学系研究科人類生態学教室梅崎昌裕准教授の協力を得て行なわれた。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 2 件）

1.  
S. Sugimoto, T. Iwase, F. Sato, A. Tajima, H. Shinji and Y. Mizunoe  
Cloning, expression and purification of extracellular serine protease Esp, a biofilm-degrading enzyme, from *Staphylococcus epidermidis*  
Journal of Applied Microbiology, 111, 1406-1415, 2011

2.  
B. Park, T. Iwase, GY. Li  
Intranasal Application of *S. epidermidis* Prevents Colonization by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Mice  
PloS ONE, 2011.  
DOI: 10.1371/journal.pone.0025880

〔学会発表〕（計 3 件）

1.  
岩瀬 忠行  
第 94 回日本細菌学会関東支部総会（2011 年）  
ヒト - 常在細菌 - 病原細菌との間に見られる相互作用、2011/10/7、北里大学（東京）

2.  
岩瀬 忠行  
ポリアミン研究会  
常在細菌—病原細菌—宿主に見られる相互関係、2011/9/10、東京慈恵会医科大学（東京）

3.  
岩瀬 忠行  
ゲノム微生物学会ワークショップ -ゲノムで繋がる微生物研究の新展開-、2011/8/21、東北大学（宮城）

〔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：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

特になし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩瀬 忠行（IWASE TADAYUKI）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：80385294