

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：24402

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15133

研究課題名(和文)線虫のパターン認識受容体とその標的分子の解明

研究課題名(英文)Pattern recognition receptors of *C. elegans* and the target molecules

研究代表者

西川 禎一 (NISHIKAWA, Yoshikazu)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・教授

研究者番号：60183539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ビフィズス菌(BI)給餌は線虫の生体防御機能を賦活し、寿命を延長させたり感染に対する耐性を高める。BIのどのような成分が、線虫のいかなる受容体を介して認識されプロバイオティクスとして作用するのか検討した。今回、BIが長寿効果を発揮するのに必要なある遺伝子を発見した。本遺伝子をノックダウンした線虫は感染抵抗性が低下していた。この遺伝子が受容体として直接的に働いているのか、どのような経路で生体防御機能を賦活するのか調べた。

研究成果の概要(英文)：Bifidobacteria (BI) enhance the host defense of *C. elegans* and bring the longevity and tolerance to infection. This study was to reveal what is the pattern recognition receptor (PRR) of the worm and which molecule of BI binds to the receptor for the probiotic effects. A gene was found as a putative PRR; knockdown of the gene made the worms susceptible to infection. Further studies are ongoing to examine if the gene codes the product working as a PRR directly and how the gene is involved in the enhancement of host defense.

研究分野：細菌学

キーワード：細菌 乳酸菌 老化 感染症 生体防御 自然免疫 栄養 機能性食品因子

1. 研究開始当初の背景

認知症などの老年病が世界的課題となっていることを考えると、単なる寿命延長ではなく健康寿命を延長しサクセスフル・エイジングを可能にすることが求められている。研究代表者は、35年間にわたる細菌学研究の基盤に基づき2001年から新たに「生体防御と老化と栄養」を研究テーマに加え実験を進めてきた。その結果、老化に伴う免疫力の低下や日和見感染感受性の増加を検討する実験モデルとして *Caenorhabditis elegans* (線虫) を利用できること、プロバイオティクスとしても利用されるビフィズス菌 (BI) や乳酸桿菌を給餌すると線虫の老化が抑制され寿命が延長したり感染抵抗性が亢進したりすることを発見した (Appl. Environ. Microbiol. 2007;73:6404-9、同誌2010;76:4105-8、Jpn. J. Food Microbiol. 2008;25:137-47、Mech. Ageing Dev. 2009;130:652-5、Biogerontology 2012;13:337-44、Eur. J. Nut. 2014;53:1659-68、同誌2018;57:1137-46)。さらに時限付き分科細目として設けられた「統合栄養学」領域で科研費を受け、BIの作用機構を探り、BIが主にp38MAPK経路を介して線虫の生体防御機能を賦活していることを明らかにした (Biogerontology 2013;14:73-87)。しかしながら、菌体のいかなる成分がどのように認識されて効果を発揮するのか未だ不明である。

2. 研究の目的

線虫が微生物を認識するために使用するパターン認識受容体 (PRRs) は不明であり、乳酸菌体のいかなる成分がどのように認識され長寿効果を発揮しているのか未だ明らかではない。BIの効果に必要な宿主側の遺伝子を探るため、異物認識に寄与していると考えられる塩基配列の遺伝子をリストアップしRNA干渉による予備実験をした。その結果、分担研究者の小村が候補に挙げている遺伝子 X が必須であることが判明した。本研究は、遺伝子 X がコードする産物が、BIの何を認識し、どのようなシグナル伝達経路を介して如何なる生体応答を調節し線虫の生体防御に関与しているか明らかにすることを目的とする。また、乳酸菌の長寿効果に果たす本遺伝子の役割も解明し、生体防御と抗老化を結

ぶ糸口を得ることも目的とする。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子 X はビフィズス菌の長寿効果に必要なか？

これまでに線虫を宿主モデルとして BI 給餌による寿命延長とその機構解明に取り組み、p38MAPK 経路が作動し寿命を延長させることを見出したが、BI の存在を認識し p38MAPK に伝える PRRs は不明であった。線虫以外の生物において外来物の認識に関わると推定されている物質と類似した配列を持つ遺伝子を列挙し、RNA 干渉した。その後 BI を給餌して長寿効果が抑制されるかどうかを観察した。

(2) 遺伝子 X は病原菌に対する生体防御に関与しているのか？

本遺伝子の生体防御における特異性と重要性を明らかにするため、グラム陽性およびグラム陰性の複数の病原菌に対する感受性を調べた。

(3) 遺伝子 X は、どのようなエフェクター産生に関わるのか？

遺伝子 X を RNA 干渉した線虫に BI を与え、mRNA の転写量を測定して遺伝子 X がどのようなエフェクター遺伝子を制御しているかを調べた。

4. 研究成果

(1) 遺伝子 X はビフィズス菌の長寿効果に必要なか？

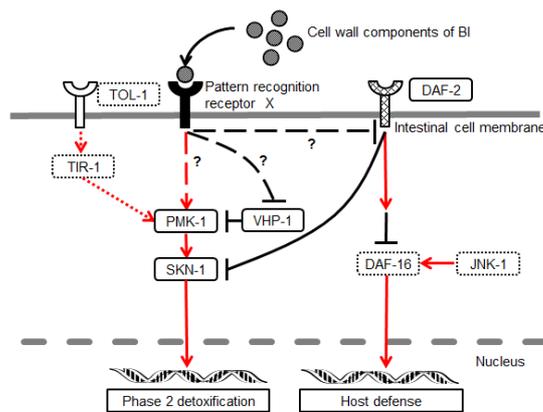
遺伝子 X をフィーディング法により RNA 干渉したところ、BI の長寿効果が消失した。BI の長寿効果を発揮させるには本遺伝子が必須であることが判明した。

(2) 遺伝子 X は病原菌に対する生体防御に関与しているのか？

遺伝子 X を RNA 干渉した線虫にグラム陽性の病原菌を摂取させたところ対照に比べて生存期間の著しい短縮が見られた。グラム陰性菌に対しても感受性の上昇が見られたがグラム陽性菌に対するほどではなかった。したがって、遺伝子 X はペプチドグリカンを認識する PRRs をコードしている可能性が考えられる。

(3) 遺伝子 X は、どのようなエフェクター産生に関わるのか？

生体防御に関わる複数のエフェクター遺伝子が、BI を与えた時には通常のエサを与えた時に比べて 32 倍以上発現量が増加することをマイクロアレイ法と RT-PCR 法を用いて見出した。この発現上昇を示した複数の遺伝子が、遺伝子 X を RNA 干渉した線虫では BI 摂取後も応答を示さないことが明らかとなった。BI に反応して発現増加する遺伝子群の中でも、遺伝子 X の RNA 干渉で転写が抑制さ



れたものと、これらに関連しているシグナル伝達経路が BI の長寿効果に寄与しているであろう。

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3件)

Nakatani, Y., Yaguchi, Y., Komura, T., Nakadai, M., Terao, K., Kage-Nakadai, E., and Nishikawa, Y. Sesamin extends lifespan through pathways related to dietary restriction in *Caenorhabditis elegans*. *Eur. J. Nut.* 査読有、57、2018、1137-1146

DOI:[10.1007/s00394-017-1396-0](https://doi.org/10.1007/s00394-017-1396-0)

西川禎一 (2017) 線虫 (*Caenorhabditis elegans*) における乳酸菌及び食品成分の抗老化効果 食品機械装置 査読無、54、2017、50-55

Kage-Nakadai, E., Ohta, A., Ujisawa, T., Sun, S., Nishikawa, Y., Kuhara, A., and Mitani, S. *Caenorhabditis elegans* homologue of Prox1/Prospero is expressed in the glia and is required for sensory behavior and cold tolerance. *Genes Cells* 査読有、21、2016、936-948

[学会発表](計17件)

孫 思墨、西川禎一、中台(鹿毛)枝里子。線虫におけるビフィズス菌 (*Bifidobacterium infantis*) への低嗜好性に関わるニューロンおよび分子メカニズム、日本栄養食糧学会第56回近畿支部大会、平成29年11月18日 龍谷大学瀬田キャンパス p.63

Hamazaki, Y., Kamimura, S., Inada, S., Sun, S., Komura, T., Tomida, S., Nishikawa, Y., and Kage-Nakadai, E. (2017) Influence of *Propionibacterium acnes* on host defense of *Caenorhabditis elegans*. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji

Yumebutai International Conference Center, Japan, Abstract: 62. 2017/9/5-8

加藤舞子、濱崎祐美、中台(鹿毛)枝里子、西川禎一。線虫 *Caenorhabditis elegans* の寿命と各種ストレス耐性に及ぼす宮入菌給餌の影響、第71回日本栄養・食糧学会大会、平成29年5月19-21日 沖縄コンベンションセンター 2A-B06(p.199)

橋本実奈、日野出裕也、中台(鹿毛)枝里子、西川禎一。若齢期の線虫 (*Caenorhabditis elegans*) におけるビフィズス菌またはレジオネラ摂取が寿命と感染抵抗性に与える影響、第71回日本栄養・食糧学会大会、平成29年5月19-21日 沖縄コンベンションセンター 2A-B07(p.199)

飯田千晴、中台(鹿毛)枝里子、西川禎二。線虫 *Caenorhabditis elegans* を用いた食品由来の苦味物質に対する応答のメカニズム解明、第71回日本栄養・食糧学会大会、平成29年5月19-21日 沖縄コンベンションセンター 2A-B45(p.208)

趙 秋池、伊藤 愛、西川禎一、中台(鹿毛)枝里子。線虫 *Caenorhabditis elegans* モデルを用いたミトコンドリアUPR活性化を介して寿命延長効果をもたらす化合物の探索、第71回日本栄養・食糧学会大会、平成29年5月19-21日 沖縄コンベンションセンター 2P-B28 (p.268)

小村智美、中台枝里子、西川禎一。C. *elegans* (線虫) におけるプロバイオティクスの長寿効果と特異的な遺伝子発現、第90回日本細菌学会総会、平成29年3月19-21日 仙台国際センター WS1-3 (P-035)

橋本実奈、日野出裕也、中台枝里子、西川禎一。若齢期の線虫 (*Caenorhabditis elegans*) によるビフィズス菌およびレジオネラ摂取が寿命と感染抵抗性に与える影響、第69回日本細菌学会関西支部学術集会、平成28年11月19日 大阪市立大学 p.46

濱崎祐美、上村了美、稲田智史、孫思墨、小村智美、富田秀太、西川禎一、中台枝里子。線虫 *C. elegans* を代替モデル宿主としたアクネ菌の作用に関する研究、第69回日本細菌学会関西支部学術集会、平成28年11月19日 大阪市立大学 p.47

東 幸奈, 上村 了美, 稲田 智史, 西川 禎一, 中台 枝里子. 黄色ブドウ球菌感染に対する線虫 *C. elegans* の生体応答と有用菌による感染抵抗性の付与, 第 69 回日本細菌学会関西支部学術集会, 平成 28 年 11 月 19 日 大阪市立大学 p.48

孫 思墨, 水野靖子, 小村智美, 中台枝里子, 西川禎一. ビフィズス菌の線虫 *C. elegans* に対する抗老化効果と線虫のビフィズス菌に対する行動, 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 平成 28 年 5 月 13-15 日 西宮 武庫川女子大学 p.220

網 達也, 山元宏貴, 伊神孝生, 中台枝里子, 西川 禎一. *Lactobacillus helveticus* MIKI-020 株の寿命延伸作用, 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 平成 28 年 5 月 13-15 日 西宮 武庫川女子大学 p.250

東 幸奈, 孫 思墨, 上村了美, 稲田智史, 西川禎一, 中台枝里子. 黄色ブドウ球菌給餌による線虫 (*Caenorhabditis elegans*) の遺伝子発現量の変化および行動, 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 平成 28 年 5 月 13-15 日 西宮 武庫川女子大学 p.298

中台枝里子, 西川禎一. 線虫 *C. elegans* モデルにおけるプロバイオティクスに対する生体の応答. 第 89 回日本細菌学会総会, 平成 28 年 3 月 23-25 日 大阪大学微生物病研究所 大阪国際交流センター シンポジウム (S6) 多彩なモデル生物を用いた先端的細菌学研究 S6-1

中谷裕美子, 西川禎一. セサミンによる *Caenorhabditis elegans* (線虫) の寿命延長メカニズムの解明, 日本食品免疫学会第 11 回学術大会, 平成 27 年 10 月 15-16 日 東京大学 ポスター発表 P-31 p.47

西川禎一. *Caenorhabditis elegans* (線虫) における乳酸菌の抗老化効果, 日本食品免疫学会第 11 回学術大会, 平成 27 年 10 月 15-16 日 東京大学 シンポジウム講演 S3-4 p.15

Nakatani, Y., Yaguchi, Y., Kashima, N., Komura, T., Kage-Nakadai, E., Terao, K., and Nishikawa, Y. Sesamin prolongs lifespan of *Caenorhabditis elegans* through regulation of genes related to caloric restriction. The 3rd International Conference on Model Hosts, Crete, Greece, Abstract: 29. 2015/9/19-24

〔図書〕(計 1 件)

西川禎一, 中台枝里子, 小村智美, 化学同人, 線虫の腸内細菌, 大野博司編著 『共生微生物』, 2016, 94-104

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.life.osaka-cu.ac.jp/cgi/pro.cgi?4102>

<http://www.life.osaka-cu.ac.jp/report/rep10.html>

<http://nishikawa-lab.net/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西川 禎一 (NISHIKAWA, Yoshikazu)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・教授

研究者番号: 60183539

(2) 連携研究者

小村 智美 (KOMURA, Tomomi)

奈良女子大学・生活環境科学系・助教

研究者番号: 10736515

中台 枝里子 (NAKADAI, Eriko)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・准教授

研究者番号: 40453790