

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 17 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2016

課題番号：24687032

研究課題名(和文)低タンパク食適応における腸内細菌の役割

研究課題名(英文)Role of enteric bacteria on adaptation to low protein diet

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類の腸内における窒素固定細菌の役割を純粋な形で検討するため、まず、窒素固定細菌を有するマウスモデルを構築した。また、国内メーカーと共同で、¹⁵Nガス曝露実験用インキュベーターを設計・開発を行った。本インキュベータにて3日間飼育した窒素固定細菌を保有するマウスと保有しないマウスの臓器(腸内容物、腸管、肝臓、体毛)を回収し、元素分析/同位体比質量分析計を用いて、窒素同位体比を測定した。その結果、腸内容物、腸管、そして肝臓において統計学的に有意な窒素同位体比の上昇が認められた。一方、体毛においてはそのような上昇は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：We designed and developed an incubator for ¹⁵N-gas exposure experiments with a domestic manufacturer. Mice with or without nitrogen-fixing bacteria were kept for 3 days under ¹⁵N gas in the incubator. The internal organs (intestinal contents, intestinal tract, liver, body hair) of the mice were harvested and analyzed nitrogen isotope ratio of the samples using an elemental analysis / isotope ratio mass spectrometer to measure. The results indicated that a statistically significant increase in the nitrogen isotope ratio was found in intestinal content, intestinal tract, and liver. In contrast, no significance was observed in the body hair.

研究分野：細菌学

キーワード：細菌学 人類学 栄養学 進化・適応 腸内細菌

1. 研究開始当初の背景

近年のメタゲノム解析ならびにプロテオミクス解析等の進展によって、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、窒素代謝における腸内細菌叢に関する分子生物学的手法を用いた研究例はほとんどなく、その詳細は明らかではない。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手法を応用してこの問題を明らかにすることを試みる。すなわち、腸内細菌の進化と現生人類の食生態の多様性から人類進化の一側面を明らかにすることを目標とする。また本研究の進展により、草食・肉食動物の食餌選択や栄養代謝についても新しい洞察をもたらす可能性が考えられる。

2. 研究の目的

哺乳類の腸内における窒素固定細菌の役割を検討する

3. 研究の方法

哺乳類の腸内における窒素固定細菌の役割を純粋な形で検討するため、まず、窒素固定細菌を有するマウスモデルを構築した。また、マウスを 15N ガス雰囲気下で飼育するため、国内メーカーと共同で、15N ガス曝露実験用インキュベーターを設計・開発を行った。窒素固定細菌を保有するマウスと保有しないマウスを本インキュベーターにて3日間飼育した。その後マウスから各種臓器(腸内容物、腸管、肝臓、体毛)を回収し、元素分析/同位体比質量分析計を用いて、窒素同位体比を測定した。

4. 研究成果

本研究課題を遂行することによって以下の検討を行い、新規知見を得た。哺乳類の腸内における窒素固定細菌の役割を純粋な形で検討するため、まず、窒素固定細菌のも荷を有するマウ

スモデルを構築した。マウスの腸内において窒素固定遺伝子が発現しているかどうかを調べるため、腸内容物における窒素固定遺伝子 *nifH* の発現を確認した。嫌氣的雰囲気下で回収した腸内容物を 15N ガスに暴露し、腸内容物内における窒素同位体比が上昇するかどうかを調べたところ、コントロール(窒素固定細菌を持たないマウスの腸内容物ならびに窒素固定細菌を有するが 15N ガスを暴露していないマウスの腸内容物)と比べて、有意な窒素同位体比の上昇が認められた。 *in vivo* 実験を行うため、15N ガス暴露用のインキュベーターを国内メーカーとともに設計・開発した。このインキュベーターにて3日間飼育した窒素固定細菌を保有するマウスと保有しないマウスの臓器(腸内容物、腸管、肝臓、体毛)を回収し、元素分析/同位体比質量分析計を用いて、窒素同位体比を測定した。その結果、腸内容物、腸管、そして肝臓において統計学的に有意な窒素同位体比の上昇が認められた。一方、体毛においては、そのような上昇は認められなかった。

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9件)

Iwase T, Matsuo T, Nishioka S, Tajima A, Mizunoe Y. Hydrophobicity of Residue 128 of the Stress-Inducible Sigma Factor RpoS Is Critical for Its Activity. *Front Microbiol.* 8:656. 2017.
doi: 10.3389/fmicb.2017.00656.

Iwase T, Ogura Y, Hayashi T, Mizunoe Y: Complete Genome Sequence of *Klebsiella pneumoniae* YH43. *Genome Announc.* 4 (2): pii: e00242-16. 2016
doi: 10.1128/genomeA.00242-16.

Iwase T, Ogura Y, Hayashi T, Mizunoe Y: Complete Genome Sequence of *Klebsiella oxytoca* Strain JKo3. Genome Announc. 4(6): pii: e01221-16.

doi: 10.1128/genomeA.01221-16.

Iwase T, Mizunoe Y. [Microbe-microbe and host-microbes interactions]. Seikagaku. 85(9):803-6. 2013. Review. Japanese.

Iwase T, Tajima A, Sugimoto S, Okuda K, Hironaka I, Kamata Y, Takada K, Mizunoe Y. A simple assay for measuring catalase activity: a visual approach. Sci Rep. 3:3081. 2013.

doi: 10.1038/srep03081.

Okuda K, Zendo T, Sugimoto S, Iwase T, Tajima A, Yamada S, Sonomoto K, Mizunoe Y. Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. Antimicrob Agents Chemother. 57(11):5572-9. 2013.

Hironaka I, Iwase T, Sugimoto S, Okuda K, Tajima A, Yanaga K, Mizunoe Y. Glucose triggers ATP secretion from bacteria in a growth-phase-dependent manner. Appl Environ Microbiol. 79(7):2328-35. 2013.

Sugimoto S, Iwamoto T, Takada K, Okuda K, Tajima A, Iwase T, Mizunoe Y. *Staphylococcus epidermidis* Esp degrades specific proteins associated with *Staphylococcus aureus* biofilm formation and host-pathogen interaction. J Bacteriol. 2195(8):1645-55. 2013.

Vengadesan K, Macon K, Sugimoto S, Mizunoe Y, Iwase T, Narayana SV. Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the *Staphylococcus epidermidis* extracellular serine protease Esp. Acta

Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 69(Pt 1):49-52. 2013.

[学会発表] (計 8 件)

Iwase T: *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. Pasteur-Jikei Joint Symposium. Paris, France 2017.

岩瀬忠行, 岡井智瑛, 田嶋亜紀子, 水之江 義充: 腸管出血性大腸菌 Sakai 株のゲノムに存在する機能未知遺伝子の酸化ストレス耐性に与える影響の解析. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市 2017.

Okuda K, Yamada S, Sugimoto S, Iwase T, Sato M, Sato C, Mizunoe Y: Genotypic and biofilm profiles of *Propionibacterium acnes* isolated from pacemakers without clinical signs of infection. 2016 ASM Microbe. Boston, USA 2016.

西岡彩子, 岩瀬忠行, 水之江義充: 腸管出血性大腸菌 O157 において見出された新規一塩基変異による 因子の機能不全. 第 133 回成医学会総会. 東京都港区 2016.

岩瀬忠行, 田嶋亜紀子, 水之江義充: 腸管出血性大腸菌 O157 の臨床分離株で見出された一塩基変異による RpoS の機能不全. 第 89 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市 2016.

岩瀬忠行: 哺乳類腸内における窒素固定. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(平成 23-27 年度)「安定同位体医学応用研究基盤拠点(SI 医学応用研究基盤拠点)の形成」第 5 回会議及び研究報告会. 東京都港区 2015.

岩瀬忠行, 石渡賢治, 田嶋亜紀子, 杉本真也, 奥田賢一, 水之江義充: 哺乳類腸内における

窒素固定. 第 132 回成医会総会. 東京都港区
2014.

研究者番号: 80385294

Iwase, T.: *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibit
Staphylococcus aureus biofilm formation and
nasal colonization. 15th Symposium on
Staphylococci and Staphylococcal Infections -
ISSSI. Lyon, France 2012.

(2)研究分担者

()

研究者番号:

[図書] (計 0 件)

(3)連携研究者

()

研究者番号:

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

(4)研究協力者

()

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

6. 研究組織

(1)研究代表者

岩瀬 忠行 (代表) (Iwase, Tadayuki)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師