

## 協同乳業、理化学研究所、京都工芸繊維大、京都大学の共同研究 ビフィズス菌「LKM512」摂取による寿命伸長効果を発見 世界初、腸管内ポリアミンと大腸の老化抑制と寿命の関連を証明

メイトーブランドの協同乳業株式会社(本社:東京・中央区/社長:山崎 直昭)の松本光晴主任研究員らは、(独)農業・食品産業技術総合研究機構・生物系特定産業技術研究支援センター「イノベーション創出基礎的研究推進事業」の平成21年度課題「健康寿命伸長のための腸内ポリアミン濃度コントロール食品の開発」(研究代表者:松本光晴)の研究において、プロバイオティクス ビフィズス菌「LKM512」の摂取により、マウスの寿命伸長効果が得られることを発見しました。なお、本研究結果は、米国オンライン科学誌「PLoS ONE(プロスワン)」で本日8月17日に公開されました。

### 《ポイント》

- ・ビフィズス菌「LKM512」投与により、大腸内で増えたポリアミンの作用に起因する寿命伸長効果を、マウスの試験により確認
- ・腸内ポリアミン濃度を増やすことによる大腸の老化抑制や抗炎症効果が、寿命伸長に繋がったことを示した、世界で初めての研究
- ・メチニコフのヨーグルト不老長寿説に基づいた、腸内環境改善によるアンチエイジングの証明

### 《発表要旨》

今回の研究は、プロバイオティクス ビフィズス菌「LKM512」を摂取し、腸内細菌にポリアミン\*1を生成させることで、老年病の原因である慢性炎症を抑えることが可能になるという仮説を検証するために実施しました。実験は、10ヶ月齢のマウス(ヒト換算:30-35歳)を用い、LKM512投与、ポリアミンの経口投与、生理食塩水との比較試験の形式で行いました。その結果、LKM512は、大腸内のポリアミン濃度を上昇させることで、大腸バリア機能が維持され、抗炎症効果が得られ、寿命を伸長させることが明らかになりました。一方、ポリアミンの経口投与でも一定の寿命伸長効果はあったものの、LKM512と比較すると弱いものでした。今回の研究成果は、カロリー制限以外の方法で、マウスの寿命伸長効果が得られることを証明した数少ない成果となっています。

\*1 ポリアミン:DNA、RNA、タンパク質の合成および安定化や細胞の増殖および分化に関与している生理活性物質であり、全ての生物の細胞に普遍的に存在する。抗炎症作用、抗変異原作用、オートファジーの誘導、腸管バリア機能の維持・促進などの作用が報告されている。

### 《研究の意義》

我が国の少子高齢化の進展に伴い、医療費および介護費の増大、さらには労働人口の減少などが国民全体の問題となっています。この問題解決へのアプローチの1つとして健康寿命の伸長は重要な課題です。疫学調査から、老年病の主要因は慢性炎症にあり、抗炎症作用を有する食品の開発が健康寿命の伸長効果を有する食品と考えられます。そうした環境下、特にプロバイオティクスは安価で安全で抗炎症効果が期待できる食品の一つといえるでしょう。しかしながら、これまでプロバイオティクスの保健効果の多くは腸内菌叢を改善に起因すると考えられていますが、メカニズムが不明瞭なものが殆どでした。また、腸内細菌が産生する物質の効果に着目したものは殆どありません。本研究は、腸内菌叢が産生する生理活性物質ポリアミンに着目し、そのポリアミンに依存すると考えられる生体内での効果を寿命伸長に繋がるように検証したもので、腸内環境、寿命およびプロバイオティクスと幅広い研究分野において意義のある成果が得られたと考えられます。

本件に関するお問合せ先

## 《研究の概要》

### ■目的

LKM512の摂取が、腸内細菌にポリアミンを生成させることで大腸組織を健全化し、さらに血中に移行したポリアミンが全身の細胞(特に免疫担当細胞)に供給され、老年病の原因である慢性炎症の抑制につながることを明らかにする。

### ■試験方法

通常的环境下で飼育中の10ヶ月齢(ヒト換算:30-35歳)のメスのマウスを3グループ(19~20匹)に分け、それぞれにビフィズス菌LKM512、スペルミン\*2、生理食塩水(対照群)に分け、週に3回経口投与。投与6ヶ月目にL/R負荷試験\*3および糞便と尿を回収、投与11ヶ月目に大腸を摘出し、寿命、腸内環境および炎症状態に与える影響を調べました。

糞便菌叢は、RT-qPCR法\*4によって主要菌群の16SrRNA遺伝子の発現比率を比較しました。また、結腸の全RNAを抽出し、マイクロアレイ解析\*5を行いました。

\*2 スペルミン:ポリアミンの1種で、最も活性が強い。

\*3 L/R負荷試験:ラクチュロース-ラムノース負荷試験。尿中に排泄されるこれらの糖の比率で腸管バリア機能を測定する。

\*4 RT-qPCR法:RNAを鋳型とし合成したDNAをもちいて定量するPCR。

\*5 マイクロアレイ解析:多数のDNA断片を配置したプレートを使い、網羅的に細胞の遺伝子発現量を調べる解析法。

### ■結果

図1は、LKM512を投与したマウス群の寿命が対照群と比較して有意に伸びていることを表したグラフです。生存率70%になる時点を見ると約6ヶ月の伸びで、マウスの平均寿命(約2年)の4分の1に相当する効果があります。スペルミン投与群も同様の伸長傾向を示しましたが、有意な効果はありませんでした。つまり、ポリアミンを直接摂取するよりも、腸内菌叢に産生させた方が効果的であることを示しています。

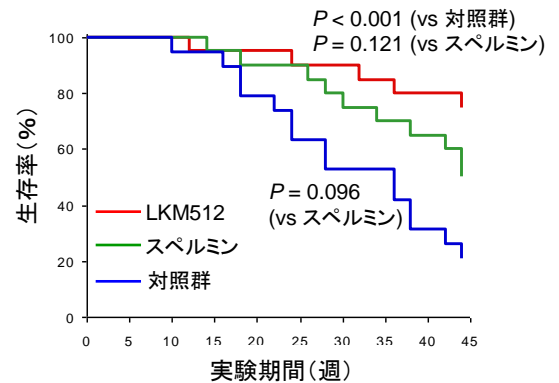


図1. LKM512、スペルミン経口投与が生存曲線に及ぼす効果

図2は、LKM512の経口投与がマウスの外見、腫瘍および潰瘍発生に及ぼす影響を調べた結果です。対照群には、皮膚に腫瘍や潰瘍が多く見られましたが、LKM512を投与したマウスには投与期間中ほとんど観察されず、毛並みも非常に良く、動きも活発でした。

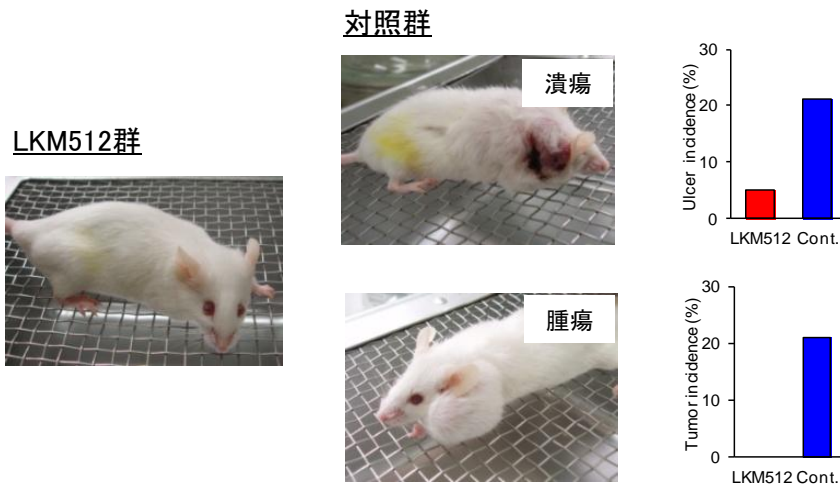


図2. LKM512経口投与がマウスの外見、腫瘍および潰瘍発生に及ぼす影響。LKM512投与群は毛並みが良く、腫瘍や潰瘍の発生頻度が少なかった。

図3は、LKM512経口投与がマウスの大腸内環境へ及ぼす影響を示したグラフです。腸内環境を調べたところ、投与したビフィズス菌 (*B. animalis* subsp. *lactis*) や *Prevotella* 属の16S rRNA遺伝子が強く発現し、腸内菌叢が変動していることが認められました。また、LKM512群の腸内ではポリアミン濃度が上昇しましたが、スペルミン投与群では上昇が認められず、経口的に摂取したポリアミンは小腸で吸収され、大腸には到達しないことが確認されました。なお、一般的に腸内細菌の重要な代謝産物といわれている酢酸や酪酸などの短鎖脂肪酸にはLKM512投与による差は認められませんでした。

図4は、LKM512の経口投与が、炎症マーカー・尿中ハプトグロビンへ及ぼす影響について表したグラフです。LKM512投与群では、結腸組織の炎症関連遺伝子の発現が抑制され、炎症マーカーの減少が認められました。この結果は、LKM512投与により腸内で継続的にポリアミンを作り出すことで炎症が抑えられ、寿命が延伸した可能性を示唆しています。

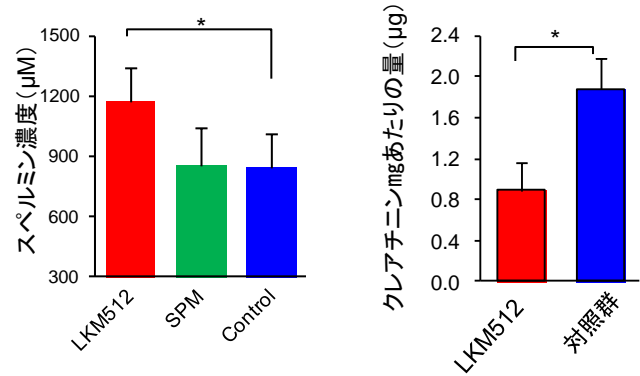
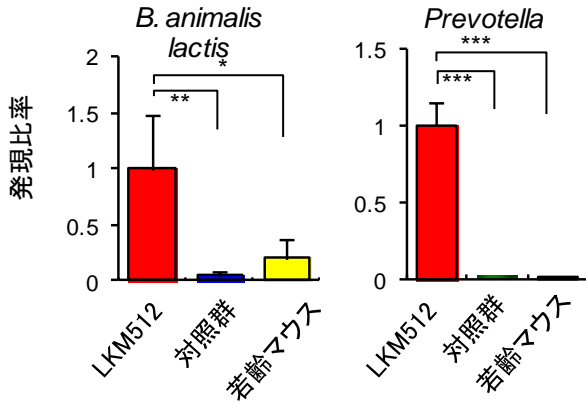


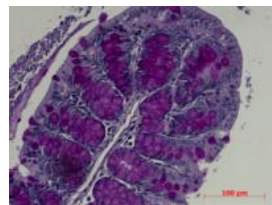
図3. LKM512経口投与がマウス大腸内環境へ及ぼす影響。  
左はビフィズス菌のラクティス(LKM512の菌種)、真中は *Prevotella* 属の発現を調べたもの。  
右側は糞便中のスペルミン(ポリアミンの1種)の濃度でLKM512で有意に増えたが、スペルミン(SPM)では増えず、大腸にはとどいていないことが確認された。

図4. LKM512経口投与が炎症マーカー・尿中ハプトグロビンへ及ぼす影響  
この他にも血清TNF- $\alpha$  濃度、結腸のTraf6およびTNF発現もLKM512群で抑制あるいは同様の傾向を示した。

図5、6は、LKM512の投与がマウスの大腸に及ぼす影響を示した結果です。

大腸を摘出した結果、対照群の半分は便が溜まり茶色い腸管をしていたのに対し、LKM512群は全て若齢マウスと同じ色をしていました。また、組織片で確認したところ、対照群の半数は組織が崩壊しつつあり、粘液を分泌する杯細胞の数も著しく少なくなっていました。LKM512群では十分に杯細胞も残っており、試験終了時まで粘液を分泌し続けていたと考えられます。この結果は、LKM512投与により大腸のバリア機能の崩壊を抑制できたことを示しています(図5)。

#### LKM512投与群



#### 対照群

#### PAS染色写真

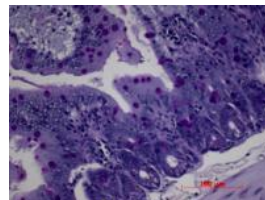


図5. LKM512経口投与がマウスの大腸に及ぼす影響

LKM512投与群の大腸および内容物は若齢マウスと同じ色をしていましたが、対照群の半数は黒い便が溜まり、組織自体が脆弱であった(左図)。組織切片でも対照群の組織が崩壊しつつあるのに対し、LKM512では杯細胞がきちり維持できているのが確認された(右図)。

また、大腸の遺伝子発現パターンをマイクロアレイで調べると、LKM512を投与したマウスは若齢マウスと類似したパターンを示し、何も投与していないマウスやスペルミンを投与したマウスとは逆のパターンとなりました(図6)。これは、大腸の老化に伴う遺伝子発現の変動をLKM512が防いでいることを示しています。さらに、ポリアミンを経口摂取するよりも大腸でポリアミンを作ることの方が、大腸組織の機能維持、さらには寿命伸長にとって効果的である可能性が高いことも確認できました。

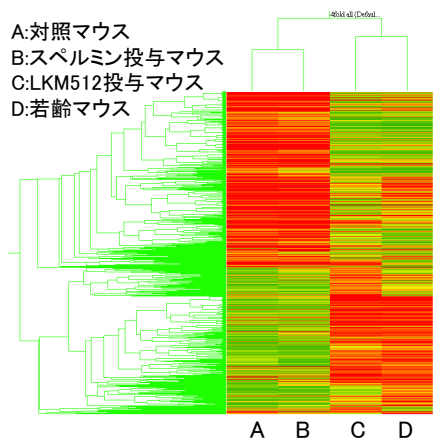


図6. 結腸のDNAマイクロアレイ.

帯一つ一つが遺伝子を示し、約2万個の遺伝子の発現パターン。LKM512投与マウス(C)と若齢マウス(D)が似た発現パターンで、対照マウス(A)とスペルミン投与マウス(B)は逆パターン。赤は発現が強く、緑は弱いことを示す。

LKM512経口投与が老化に伴う遺伝子発現の変動を抑制していることがわかる。ポリアミンを経口摂取(スペルミン投与マウス)しても大腸の遺伝子発現の変動は防げないことも示している。

## 《今後の展望》

これまでの研究で、LKM512単独投与では、腸内ポリアミン濃度の上昇が十分でない個体が発現することを確認しております。そこで、より多くの個体で確実に腸内ポリアミン濃度を上昇させる技術の開発に取り組んでいます。具体的には腸内細菌のポリアミントランスポーター(輸送系)をコントロールする物質(ポリアミン濃度制御物質)を用いることを検討しています。現在、多量の腸内に存在する代謝産物をメタボロミクス解析することにより候補物質を見出しており、その評価を実施中です。ポリアミンの作用機序の確認も重要な課題で、カロリー制限やレスベラトロールと同様にサーチェン遺伝子の活性化に関与しているのか、オートファジー促進と絡めながら検討していく予定です。

また、本研究でLKM512の経口投与で寿命が伸びることが確認されましたが、最も重要なのは単なる長寿ではなく健康寿命を伸ばすことです。そのため、炎症関連以外のマーカー解析や別の試験を実施していく予定です。ヒトへの応用は、既に、高齢入院患者、健康成人、アトピー性皮膚炎患者などで、LKM512含有ヨーグルトを摂取することで腸内ポリアミン濃度が上昇することを確認しております。しかし、より多くの個体で確実性を高めるため、ポリアミン濃度制御物質を用いた技術の確立を目指しています。この方法の確立後は、ヒトでの健康寿命伸長というテーマに興味を持って頂ける医学部の先生方との共同研究を視野に入れていきます。

## 論文

**Longevity in mice is promoted by probiotic-induced suppression of colonic senescence dependent on upregulation of gut bacterial polyamine production**

Mitsuharu Matsumoto, Shin Kurihara, Ryoko Kibe, Hisashi Ashida, Yoshimi Benno

**腸内細菌のポリアミン合成上昇に依存するプロバイオティクス誘導型大腸老化抑制によるマウス寿命伸長促進**

### 著者(所属)

松本光晴(協同乳業(株)研究所技術開発室、(独)理化学研究所イノベーション推進センター 辨野特別研究室)

栗原新(京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科応用生物学専攻、

京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻微生物細胞機構学分野)

木邊量子((独)理化学研究所イノベーション推進センター 辨野特別研究室)

芦田 久(京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻微生物細胞機構学分野)

辨野義己((独)理化学研究所イノベーション推進センター 辨野特別研究室)