

【トピックス】

Lactobacillus gasseri SBT2055 の寿命延長・抗老化作用メカニズムの解明

中川 久子、宮崎 忠昭

北海道大学 遺伝子病制御研究所 プロバイオティクス・免疫ロジー研究部門

キーワード：乳酸菌、寿命、老化、線虫、酸化ストレス、生体防御

1. はじめに

プロバイオティクスとは、「腸内菌叢のバランスを改善することにより人に有益な作用をもたらす生きた微生物」と定義されており、乳酸菌はその代表的なものとして広く認知されている。1907年にイリヤ・メチニコフにより、乳酸菌は人の健康と長寿を推進するという「ヨーグルト不老長寿説」[1]が説かれ、その作用としては腸内の腐敗菌の増殖を防ぐこと等が推察されていたが、未だそのメカニズムの詳細は明らかにされていない。近年いくつかのグループが乳酸菌による線虫 (*Caenorhabditis elegans*, *C.elegans*) の寿命延長効果とその作用機序について調べたところ、乳酸菌の種類によりその効果と作用機序は異なることが明らかとなってきた。一方で寿命延長作用を示さない乳酸菌も報告されていることから、一概にすべての乳酸菌が寿命延長作用を有しているわけではない。

今回、我々は、日本人の糞便より分離された *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (LG2055) に着目した。LG2055 は胃酸や胆汁酸に抵抗性を有することから、腸管定着性が高く、これまでに整腸作用 [2]、およびコレステロール低下作用 [3] を示すことが報告されている。また我々の最近の研究により LG2055 はインフルエンザ A ウイルスの感染予防効果 [4] および IgA 抗体産生誘導能を有する事 [5] を報告した。本検討では、LG2055 による線虫の寿命延長および抗老化効果を評価し、その作用メカニズムを明らかにすることとした。

2. LG2055 による線虫の寿命延長・抗老化効果とその作用メカニズム

LG2055 による線虫の寿命延長効果を評価した結果、通常食の *Escherichia coli* OP50 摂取群に対し LG2055 摂取群では 37% 程度の平均寿命の延長が認められた。

そこで、抗老化作用を調べるため、他の実験動物と同様に線虫においても加齢に伴い増加・蓄積する脂肪やリポフスチン量を老化の指標として OP50 摂取群および LG2055 摂取群で解析した。その結果両群とも加齢により脂肪・リポフスチンの蓄積量が増加する傾向が認められたが、LG2055 摂取群では OP50 摂取群に比べ顕著に蓄積の程度が低く、摂取 10 日目では脂肪の蓄積が OP50 摂取群の 50% 程度であった。また運動能についても同様に LG2055 摂取により低下の抑制が認められたことから、LG2055 は抗老化作用を有し、線虫の寿命を延長させる事が明らかになった。

線虫の老化関連シグナル伝達経路においては DAF-16 (forkhead box O (FOXO) transcription factor) と SKN-1 (ortholog of mammalian NF-E2-related factor 2 (NRF2)) が重要な役割を担っている。そこで我々は LG2055 摂取と DAF-16、DAF-2 (インスリン/インスリン様成長因子 (IGF) 受容体) の関与について検討する事とした。*daf-2* 変異株及び *daf-16* 変異株の線虫では LG2055 摂取による寿命延長効果が失われなかったことより、LG2055 摂取による寿命延長効果は DAF-16 に依存しない経路を介しているものと考えられた。

NRF-2 は外的・内的酸化ストレス刺激により活性化され、解毒、代謝、免疫応答、酸化ストレス応答など種々のプロセスで生理的に調節する役割を担っており、MAPK 経路を介してその発現が誘導される。MAPK 経路の一つである p38MAPK (PMK-1) 経路は、炎症性サイトカイン、リポ多糖などの様々な細胞ストレスによって活性化した MAPKKK ASK-1 (NSY-1) が MAPKK (SEK-1) をリン酸化し、続いて MAPKK (SEK-1) により MAPK である p38 (PMK-1) がリン酸化 (活性化) されることでシグナルが伝達される。細菌感染により CeDUOX/BLI-3 から産生された ROS が p38MAPK 経路を介して SKN-1 を活性化することが報告されており [6]、また、SKN-1 と PMK-1 は線虫の免疫老化にも関与することが明らかにされている [7]。そこで LG2055 摂取が p38MAPK 経路あるいは他の MAPK 経路を介して SKN-1 の発現を誘導し、加齢による酸化ダメージを抑制するか否かを検討した。LG2055 を摂取した野生株の線虫では OP50 摂取群に比べ、加齢による ROS の蓄

連絡先：宮崎忠昭 〒060-0815

北海道札幌市北区北 15 条西 7 丁目

TEL：011-706-8095

FAX：011-706-8095

E-mail：miyazaki@pop.med.hokudai.ac.jp

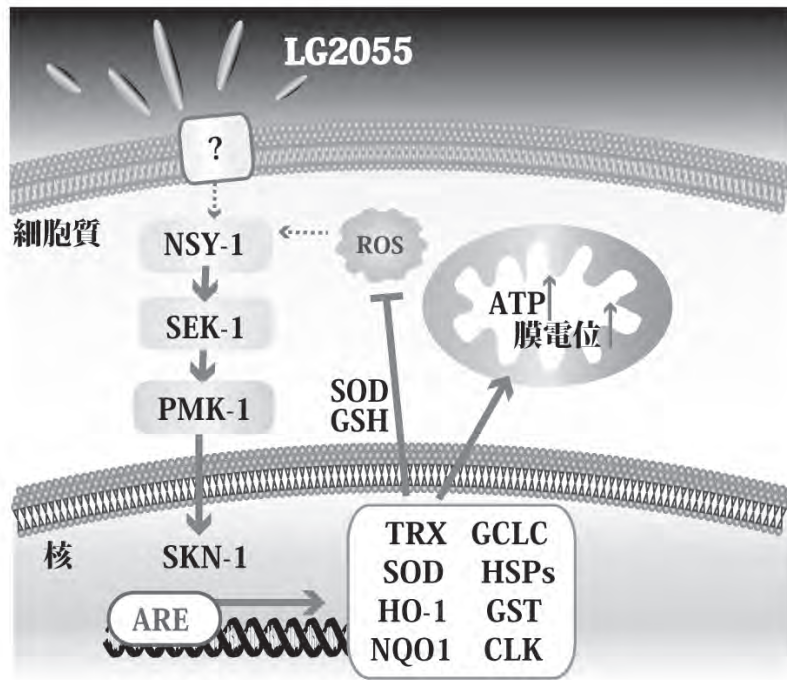


Figure.1 LG2055 による寿命延長・抗老化作用メカニズム。

線虫の消化管では LG2055 摂取により NSY-1-SEK-1-PMK-1 が活性化し、SKN-1 およびその標的遺伝子が up-regulation される。それにより加齢による酸化ストレス防御応答やミトコンドリアの機能低下が抑制され、寿命延長・抗老化作用を示す (文献 10 より一部改変)

積、及び酸化タンパクの増加が有意に抑制された。また LG2055 摂取により SKN-1 の遺伝子発現およびタンパク質量が亢進した。次に、MAPK 経路関連遺伝子について LG2055 摂取による発現変化を解析したところ、*nsy-1* (MAPKKK ASK1 のオルソログ)、*sek-1* (MAPKK) の遺伝子発現が亢進していた。さらに MAPK 関連遺伝子変異株の生存率を解析した結果、LG2055 摂取による *nsy-1*、*sek-1*、*pmk-1*、*skn-1* 変異株の平均寿命の延長は認められなかった。また LG2055 を摂取した野生株の線虫ではリン酸化 PMK-1 タンパク質の発現量が増加していた。これらの結果から、LG2055 は線虫の p38MAPK シグナル伝達経路を介して SKN-1 を活性化することにより、寿命延長・抗老化作用を示していることが明らかとなった。

3. LG2055 による酸化ストレス抵抗性の増強

SKN-1 は PMK-1 により活性化された後、Phase II 解毒遺伝子やミトコンドリア生合成関連遺伝子などの転写を誘導すること [8] から、これらの遺伝子発現を解析したところ LG2055 摂取により SOD やチオレドキシシンなどの ROS 消去系や HSP 遺伝子群などの遺伝子発現が亢進した。加えて ROS 消去系酵素活性を比較したところ LG2055 摂取により加齢に伴う SOD 活性や GSH/GSSG 比の低下が抑制された。このように LG2055 が ROS 消去系を活性化することから、加齢によるミトコンドリアの機能低下も抑制されることが想定された。ミトコンドリアの機能は加齢と共に低下する事が知られており、加齢による ROS の蓄積はミトコンドリア機能障

害を引き起こし、癌や糖尿病、代謝障害などの発症に関与する [9]。そこで我々はミトコンドリアの機能を示すパラメーターであるミトコンドリア膜電位と ATP 産生量について検討した。その結果、LG2055 摂取により加齢に伴うミトコンドリア膜電位および ATP 産生の低下が抑制されたことから、LG2055 は酸化ストレス抵抗性を増強し、ミトコンドリアの機能維持に働くことが明らかとなった。

4. おわりに

今回、我々は LG2055 による線虫の寿命延長および抗老化作用の有無と作用機序について検討し、LG2055 が p38 型 MAPK シグナル伝達経路を制御し、SKN-1 を活性化することにより、その下流に存在する抗酸化関連遺伝子の発現を誘導することで、加齢による ROS 消去系およびミトコンドリアの機能低下を抑制し寿命延長効果および抗老化作用を示すことを明らかにした [10]。最近、我々のマウス細胞を用いた試験においても同様の結果が得られていることから、哺乳類に対しても LG2055 の抗酸化ストレス効果および抗老化作用を示すことが推察される。今後、より詳細なメカニズムの解析と作用物質の特定により、LG2055 が酸化ストレス・老化関連疾患の治療または予防に応用されることが期待される。

[1] Metchnikoff E. The prolongation of life: optimistic studies. William Heinemann, London 1907: pp. 161-83.

[2] Fujiwara S, Seto Y, Kimura A, Hashiba H. Es-

- establishment of orally-administered *Lactobacillus gasseri* SBT2055SR in the gastrointestinal tract of humans and its influence on intestinal microflora and metabolism. *Journal of Applied Microbiology*. 2001;90 (3) :343-52.
- [3] Kajimoto O HH, Aoe S, Takahashi T, Suzuki Y, Tanaka H. Fermented milk containing *Lactobacillus gasseri* (SP strain) decreases serum cholesterol concentration in men with boundary and mild hypercholesterolemia. *Jpn J Lactic Acid Bacteria (in Japanese)* . 2002;13:114-24.
- [4] Nakayama Y, Moriya T, Sakai F, Ikeda N, Shiozaki T, Hosoya T, et al. Oral administration of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 is effective for preventing influenza in mice. *Sci Rep*. 2014;4:4638.
- [5] Sakai F, Hosoya T, Ono-Ohmachi A, Ukibe K, Ogawa A, Moriya T, et al. *Lactobacillus gasseri* SBT2055 induces TGF-beta expression in dendritic cells and activates TLR2 signal to produce IgA in the small intestine. *PLoS One*. 2014;9 (8) :e105370.
- [6] Bishop NA, Guarente L. Two neurons mediate diet-restriction-induced longevity in *C. elegans*. *Nature*. 2007;447 (7144) :545-9.
- [7] Hoeven R, McCallum KC, Cruz MR, Garsin DA. Ce-Duox1/BLI-3 generated reactive oxygen species trigger protective SKN-1 activity via p38 MAPK signaling during infection in *C. elegans*. *PLoS Pathogens*. 2011;7 (12) :e1002453.
- [8] Papp D, Csermely P, Söti C. A role for SKN-1/Nrf in pathogen resistance and immunosenescence in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Pathogens*. 2012;8 (4) :e1002673.
- [9] Inoue H, Hisamoto N, An JH, Oliveira RP, Nishida E, Blackwell TK, et al. The *C. elegans* p38 MAPK pathway regulates nuclear localization of the transcription factor SKN-1 in oxidative stress response. *Genes & Development*. 2005;19 (19) :2278-83.
- [10] Nakagawa H, Shiozaki T, Kobatake E, Hosoya T, Moriya T, Sakai F, et al. Effects and mechanisms of prolongevity induced by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell*. 2016 Apr;15 (2) :227-36.