

**JOURNAL  
OF  
GERMFREE LIFE  
AND  
GNOTOBIOLOGY**  
**無菌生物**

**Vol. 51**

**No. 1**

**2021**

無 菌 生 物

J. germfree life gnotobiol.

日本無菌生物ノートバイオロジー学会

JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

無 菌 生 物                      51, No.1 Sept. 1 2021

---

編集委員会

神 谷 茂

一 戸 辰 夫

大 崎 敬 子

印 刷 所    共 立 印 刷 株 式 会 社

発 行 所    日 本 無 菌 生 物 ノ ー ト バ イ オ ロ ジ ー 学 会

〒181-8611 東京都三鷹市新川6-20-2

杏 林 大 学 医 学 部 感 染 症 学 講 座

大崎 敬子（おおさき たかこ）

TEL (0422)47-5511, 5512 内線3493

FAX (0422)44-7325

E-mail gnotobiolosaki@ks.kyorin-u.ac.jp

---

JOURNAL OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

Vol. 51, No.1 Sept. 1 2021

Editorial and Publications Committee

SHIGERU KAMIYA MD PhD

TATSUO ICHINOHE MD PhD

TAKAKO OSAKI PhD

Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology

c/o Dr Takako Osaki

Department of Infectious Diseases

Kyorin University School of Medicine

6-20-2 Shinkawa Mitaka

Tokyo 181-8611 Japan

TEL +81-422-47-5511, 5512 extension3493

FAX +81-422-44-7325

E-mail gnotobiolosaki@ks.kyorin-u.ac.jp

## 第54回 日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会

The Fifty-fourth Annual Meeting of  
The Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology

January 21-22, 2021

Tokyo

President *Kazuhiro Hirayama*

会 長	平 山 和 宏
会 期	2021年（令和3年）1月21日（木）・22日（金）
会 場	オンライン開催（Zoom 会議形式）

## 第54回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会開催報告

第54回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会  
会長 平山和宏（東京大学大学院農学生命科学研究科教授）

2021（令和3）年1月21日（木）および22日（金）の両日にわたって、第54回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会が開催されました。本総会は当初、東京大学農学部内の弥生講堂（一条ホール）での開催を予定しておりました。2020年1月26日の東京女子医科大学の弥生講堂での第53回総会閉会にあたっては、2021年の総会での再会を願ってご案内をするとともに、伝統のハンマーを引き継ぐセレモニーをしていただきました。

ところが、その後皆様もご承知の通り新型コロナウイルス感染症が猛威を振るうこととなり、感染防止対策に万全を期すためと施設の使用制限のため、会場での対面の学会を最小限にとどめたオンラインとのハイブリッド開催へと変更いたしました。しかし、2021年に入っても感染はさらに広がりを見せ、東京都をはじめとする1都3県に緊急事態宣言が発令されるに至ったため、最終的に第54回総会はやむなく全面的にリアルタイムでのオンラインでの開催となってしまいました。この間、再度にわたって日程や開催方法の変更を行うことになり、学会員ならびに参加者の先生方には多大なご迷惑をおかけしてしまいました。心よりおわび申し上げます。

直前まで開催方法の変更などで混乱していたにもか

かわらず、おかげさまで1月21日、22日の学会当日には45名の先生方のご参加をいただき、基礎研究を題材とした2つのシンポジウムと、臨床からの話題をイブニングセミナーとして講演していただくことができました。一般演題も、2日間にわたり合計10題の発表をしていただき、いずれも発表者と聴衆の先生方で活発な討論をしていただきました。学会総会の開催に不慣れであったことに加えて、ほとんど経験のないオンラインでの開催となりましたが、何とか総会を終えられたのは、皆様のご協力のおかげです。学会員の先生方、講演者や参加者の先生方、理事長の神谷先生や大崎先生はじめ学会の諸先生方ならびに事務局の方々、学会運営をサポートしていただいた株式会社業務渡航センターに心より感謝いたします。ありがとうございました。

ただ一つの心残りは、閉会にあたってハンマーを次期大会長の白川先生に引き継ぐセレモニーを行うことができず、ハンマーを手渡せなかったことです。白川先生には、ハンマーを郵送するという味気ないことになってしまいましたが、伝統のハンマーは繋がりましたので、次回の総会でお会いできることを楽しみにしています。



第54回日本無菌生物ノートバイオロジー学会 会長 平山和宏 2021年1月21日 オンライン形式

(Zoom 会議形式)

## 第54回日本無菌生物ノートバイオロジー学会プログラム

## シンポジウムⅠ

「無菌生物で栄養学を研究する」

座長 田 村 基

(農業・食品産業技術総合研究機構)

## 1. 基 調 講 演

「なぜ無菌動物で栄養学を研究するのか」

バブアニューギニア高地人の低タンパク適応・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・7

梅崎昌裕

(東京大学大学院医学系研究科人類生態学教室)

2. 腸内細菌が宿主のアミノ酸代謝に及ぼす影響・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・9

斎藤佳絵

(明治ホールディングス株式会社 価値共創センター)

3. 無菌生物で栄養学を研究するービタミン・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・12

白川 仁, 大崎雄介, 駒井三千夫

(東北大学大学院農学研究科栄養学分野)

## イブニングセミナー

多発性硬化症患者のマイクロバイオーーム研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・14

竹脇大貴

(国立精神・神経医療研究センター免疫研究部)

## シンポジウムⅡ

「無菌生物の技術と応用」

座長 平 山 和 宏

(東京大学)

1. 無菌動物を利用した食品機能性研究と同実験施設の管理・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・16

細野 朗

(日本大学生物資源科学部食品生命学科食品生命機能学研究室)

2. 高圧処理による微生物の不活性化・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18

山本和貴, 中浦嘉子

(農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門)

3. 養蚕と無菌カイコの新展開・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・20

木内隆史

(東京大学大学院農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻 昆虫遺伝研究室)

## 一 般 演 題 セッションⅠ

座長 平 山 和 宏  
(東京大学)

1. 胃切除モデルラットを使用した胃癌術後の体重減少とマイクロバイオータの検討 . . . . . 00  
高木泰介\*, 大崎敬子\*\*  
(\*杏林大学医学部附属病院消化器・一般外科, \*\*杏林大学医学部感染症学講座)
2. 小腸と大腸の腸管関連リンパ組織の抗体産生能と抗原結合性の比較 . . . . . 00  
岡田 開, 津田真人, 細野 朗  
(日本大学生物資源科学部食品生命学科食品生命機能学研究室)
3. 熟成中のナチュラルチーズにおける *Listeria monocytogenes* の増殖制御に関する研究 . . . . . 00  
川本柊志郎\*, 梶川揚申\*\*, 五十君静信\*  
(\*東京農業大学大学院応用生物科学研究科, \*\*東京農業大学農芸化学科)

## 一 般 演 題 セッションⅡ

座長 大 崎 敬 子  
(杏林大学)

4. 乳酸菌 *Lactobacillus casei* IGM394の酸化ストレス耐性メカニズムに関する研究 . . . . . 00  
檜木真吾\*, 梶川揚申\*, 佐々木泰子\*\*, 五十君静信\*  
(\*東京農業大学応用生物科学部農芸化学科応用微生物学研究室,  
\*\*明治大学農学部農芸化学科発酵食品学研究室)
5. 食品中での *Clostridium perfringens* の芽胞挙動及び増殖挙動の評価 . . . . . 00  
伊藤正弥\*, 梶川揚申\*\*, 五十君静信\*\*  
(\*東京農業大学大学院農学研究科, \*\*東京農業大学応用生物科学部農芸化学科)

## 一般演題 セッションⅢ

座長 白 川 仁  
(東北大学)

6. シロイヌナズナにおけるアルミニウムストレス下での根系構造のナチュラルバリエーション解析・・・・・・・・・・ 00  
多井紫織, 小山博之, 小林佑理子  
(岐阜大学応用生物科学部生産環境科学課程植物細胞工学研究室)
7. フルオロキノロン系抗菌薬投与による *Campylobacter jejuni* の薬剤耐性誘導・・・・・・・・・・ 00  
市川拓磨, 平山和宏  
(東京大学農学部獣医公衆衛生学教室)

## 一般演題 セッションⅣ

座長 細 野 朗  
(日本大学)

8. 発酵米糠による DSS 誘発腸炎の腸管外合併症の改善効果・・・・・・・・・・ 00  
Jahidul Islam, Affifah Zahra Agista, 大崎雄介, 駒井三千夫, 白川 仁  
(東北大学大学院農学研究科栄養学分野)
9. ヒト腸内細菌によるフコイダン分解メカニズムの解明・・・・・・・・・・ 00  
鈴木 錠, 大坪和香子  
(東北大学農学研究科動物資源化学分野)
10. ケルセチン代謝菌“Bacterium 19-20”のヒトフローラマウスに及ぼす影響・・・・・・・・・・ 00  
田村 基\*, 平山和宏\*\*  
(\*農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門, \*\*東京大学大学院農学生命科学研究科)

## パプアニューギニア高地人の低タンパク適応

梅崎 昌裕

(東京大学大学院医学系研究科人類生態学教室)

パプアニューギニア高地は、ニューギニア島の中央部にある標高 1200 メートルから 2800 メートルの地域をさす。この地域には、サツマイモを主食とし、タンパク摂取量がきわめて少ないにもかかわらず、タンパク欠乏にともなう臨床症状を呈さない人々が暮らしていることが知られている。パプアニューギニア高地における低タンパク適応の研究は 1950 年代に始まり、窒素出納がバランスしていない個人がいること、不可避窒素損失量が先進国集団よりも少ないこと、経口投与した尿素の利用効率が高いことなど、興味深い知見が報告されている。いずれの知見においても、腸内細菌の役割が前提とされていたが、当時の技術的な制約により腸内細菌の具体的ななかかわりを検討するためのデータは十分ではなかった。演者は、2010 年頃より、さまざまなグループと共同で、パプアニューギニア高地における低タンパク適応メカニズムの探索的研究を、特に腸内細菌叢の役割に着目しながら実施してきた。特に、東京大学の平山和宏教授の研究グループとの共同で実施した無菌マウスを用いた実験では、パプアニューギニア高地人の糞便を腸管に移植したマウスは、日本人の糞便を移植したマウスに比較して、

低タンパクの餌を与えたときの体重および血中生化指標の変動パターンが異なるという観察結果が得られている。発表では、プロジェクトの全体像を説明したうえで、これまでに明らかになった低タンパク適応のメカニズムを紹介したい。

## **Low protein adaptation among Papua New Guinea Highlanders**

MASAHIRO UMEZAKI

*Department of Human Ecology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo*

The inconsistency between Papua New Guinea Highlanders' protein-deficient diet and their muscular physique is well known. Moreover, although their protein intake is less than biologically adequate, protein-deficiency related disorders have rarely been reported in this setting. We have speculated that the populace have adapted to a low-protein diet by utilizing air nitrogen fixed by intestinal bacteria and by intensive "recycling" of urea that passes into the gastrointestinal tract. The recent emergence of genome science has enabled us to examine the unsolved question of Papua New Guinea Highlanders' adaptation to a low protein diet in more direct way. In our project, we evaluated gut microbiota for healthy individuals in four Papua New Guinea communities subject to different degrees of protein deficiency. Association of gut microbiota and variation of protein intake and nutritional biomarkers were investigated. In addition, fecal samples of individuals from one of least modernized communities in Papua New Guinea Highlands were transplanted into germ-free mice, which were then fed with low protein diet. I will present and overview of the project as well as preliminary findings from the analysis.

## 腸内細菌が宿主のアミノ酸代謝に及ぼす影響

斎藤 佳絵

(明治ホールディングス株式会社 価値共創センター)

腸内細菌叢は多様な代謝活性を有しており、難消化性物質の分解や栄養素の合成を介して宿主の栄養に重要な役割を果たしている。アミノ酸代謝に関しては、腸内細菌は食事由来の未消化たんぱく質や宿主の内因性たんぱく質の分解、および一部のアミノ酸の *de novo* 合成を介して、腸管内へアミノ酸を供給する。安定同位体を用いた研究により、腸内細菌が合成したアミノ酸は宿主に吸収され血中に移行することが示されている<sup>1</sup>。一方で、腸内細菌は自身の細胞成分の合成やエネルギー源として多くのアミノ酸を利用する。このように、腸内細菌によるアミノ酸代謝は、宿主のアミノ酸恒常性に影響を及ぼしていると考えられる。実際に、無菌マウスは SPF マウスと比べて腸管内および血中のアミノ酸プロファイルが異なること<sup>2</sup>、腸内細菌によるアミノ酸代謝の異常が宿主の栄養失調に関連することが報告されている<sup>3,4</sup>。腸内細菌のアミノ酸代謝による宿主への影響は複合的であり、宿主のアミノ酸必要量にどのような影響を及ぼすかは不明であった。そこで我々は、腸内細菌が宿主のアミノ酸必要量に及ぼす影響を解明することを目的に、無菌マウスを用いて指標アミノ酸酸化 (IAAO) 法による検討を行った。IAAO 法は、摂取した指標アミノ酸のうち、たんぱく質合成に利用されずに酸化さ

れ二酸化炭素として呼気中に排出される余剰分を測定することで、体内のアミノ酸プール量やたんぱく質代謝を推定する方法である。IAAO 法は、これまでにヒトやウマ、ラットにおいて実施された報告はあるが、マウスや無菌条件下での実施報告はこれまでになかった。我々は、無菌条件下においてマウスを用いて IAAO 法を実施する方法を確立し、さらに無菌マウスと SPF マウスについて IAAO 法による検討を実施した。検討では、無菌または SPF 16-18 週齢の雄の BALB/c マウスに、たんぱく質含有濃度の異なる飼料 (たんぱく質含有量 3, 6, 12 および 18%) および L-[1-<sup>13</sup>C] phenylalanine を投与し、呼気中の <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> の存在比を測定した。その結果、3%たんぱく質含有飼料投与時において、SPF マウスに比べて無菌マウスで呼気中の <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> が多いことが明らかとなった。したがって、食事由来のたんぱく質が少ない場合においては、無菌マウスは SPF マウスに比べて体内のアミノ酸プールが少ない、すなわちアミノ酸必要量が増加することが示唆された。本発表では、無菌マウスにおける IAAO 法の評価方法および評価結果を中心に報告する。

## **Effect of intestinal bacteria on host amino acid metabolism**

YOSHIE SAITO

*Co-Creation Center, Meiji Holdings Co., Ltd., Tokyo*

Gut microbiota have diverse metabolic activities and play an important role in host nutrition. Regarding amino acid metabolism, gut microbiota provide amino acids to the intestinal tract through degradation of undigested proteins, as well as de novo synthesis of some amino acid. On the other hand, intestinal bacteria utilize substantial amounts of amino acids for the synthesis of their cellular components and as an energy source. Thus, amino acid metabolism by gut bacteria may have an influence on amino acid homeostasis in the host. Indeed, it has been reported that germ-free mice have a different amino acid profile in the gut and blood compared to SPF mice and that perturbations in microbial amino acid metabolism are associated with malnutrition in the host. The effects of microbial amino acid metabolism on the host are complex, and it has been unclear how they affect the amino acid requirements of the host. To elucidate this, we applied the indicator amino acid oxidation (IAAO) method in germ-free mice. The IAAO method can estimate the amount of amino acid pool in the body and protein metabolism by measuring the surplus of ingested indicator amino acids, which are not used for protein synthesis and are oxidized and excreted as carbon dioxide in the breath. In this presentation, we will focus on the results of the IAAO method in germ-free mice.

## References

1. NEIS, PJ., G., EVELIEN, CORNELIS, HC., DEJONG, & SANDER, S., RENSEN. :  
"The role of microbial amino acid metabolism in host metabolism". *Nutrients*, **7**(4), 2930-2946, 2015.
2. MISHIMA, E., FUKUDA, S., MUKAWA, C., YURI, A., KANEMITSU, Y., MATSUMOTO, Y., AKIYAMA, Y., FUKUDA, N., N., TSUKAMOTO, H., ASAJI K., SHIMA, H., KIKUCHI, K., SUZUKI, C., SUZUKI, T., TOMIOKA, Y., SOGA, T., ITO, S. & ABE, T. : "Evaluation of the impact of gut microbiota on uremic solute accumulation by a CE-TOFMS-based metabolomics approach." *Kidney International*, **92** (3), 634-645, 2017.
3. SMITH, MI., YATSUNENKO, T., MANARY, MJ., TREHAN, I., MKAKOSYA, R., CHENG, J., KAU, AL., RICH, SS., Concannon, P., Mychaleckyj, JC., Liu, J., Houpt, E., Li, JV., Holmes, E., Nicholson, J., Knights, D., Ursell, LK., Knight, R., Gordon, JI. : "Gut microbiomes of Malawian twin pairs discordant for kwashiorkor." *Science*, **339**, 6119, 548-554, 2013.
4. KUMAR, M., JI, B., BABAEI, P., DAS, P., LAPP, D., RAMAKRISHNAN, G., FOX, TE., HAQUE, R., PETRI, WA., BÄCKHED F., & NIELSEN, J. : "Gut microbiota dysbiosis is associated with malnutrition and reduced plasma amino acid levels: lessons from genome-scale metabolic modeling." *Metabolic Engineering*, **49**, 128-142, 2018.

## 無菌生物で栄養学を研究するービタミン

白川 仁 大崎 雄介 駒井 三千夫  
(東北大学大学院農学研究科栄養学分野)

腸内細菌を含む多くの微生物がB群ビタミンやビタミンKを合成しているが、腸内細菌により産生されたビタミンの一部は宿主に吸収され、宿主の栄養要求量の一部を担っている。このことから、ビタミンのさらなる機能性を明らかにする研究において、無菌動物を用いた真性のビタミン欠乏モデルは、抗生物質やビタミンの代謝拮抗剤・吸収阻害剤を使用する場合と比較して、薬物自体の影響を排除できる点でメリットが大きい。

これまで、我々の研究室では、ビタミンKの欠乏モデルの作成において、無菌動物を使用してきた。ビタミンKは脂溶性ビタミンのひとつで、血液凝固因子や骨タンパク質の翻訳後修飾（特定のグルタミン酸残基の $\gamma$ -カルボキシ化）を行う $\gamma$ -グルタミルカルボキシラーゼの補因子としてはたらく。天然に存在するビタミンKは、植物由来のフィロキノンと、微生物により産生されるメナキノン類である。メナキノン類は、種々の長さのイソプレン側鎖を有しているが、イソプレン単位を4つ持つメナキノン-4は、肝臓や骨組織だけでなく、膵臓、脳、精巣などに多量に存在することが分かっている。これらの組織中のメナキノン-4は、フィロキノンや微生物由来のメナキノン類が吸収後に

生体内変換されることにより生じる。メナキノン-4は破骨細胞や腫瘍細胞へのアポトーシス誘導、核内受容体PXRのリガンド活性など、他のビタミンKには見られない作用を有している。しかし、メナキノン-4が多量に存在する臓器での機能については十分に明らかとなっていない。我々は、無菌ラットへビタミンK欠乏飼料を与えて、精巣中のメナキノン-4量を低下させ、発現量が変化する遺伝子種を網羅的に解析した。その結果、メナキノン-4が精巣でのテストステロン産生に関与することを見いだした。さらに、その作用点について解析を進めたところ、メナキノン-4は精巣ライディッヒ細胞内でアデニル酸シクラーゼを活性化させ、細胞内cAMP量を増加させて、テストステロン産生を上昇させることが示唆された。また、同様のcAMP量の上昇は膵臓 $\beta$ 細胞でも見られ、メナキノン-4はグルコース依存性インスリン分泌の増強効果を示した。以上のことから、生体内で変換・生成するメナキノン-4はホルモン産生・分泌に関与して、加齢に伴うホルモン低下を抑制する作用を有することが示唆された。

## **Nutritional research using germfree animals – vitamins**

HITOSHI SHIRAKAWA, YUSUKE OHSAKI, YOSHIHIKO MINEGISHI and  
MICHIO KOMAI

*Laboratory of Nutrition, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai*

Numerous gut microorganisms synthesize several vitamins including B-group vitamins and vitamin K. Produced vitamins are absorbed by the host and contribute to a part of host's nutritional requirement. Vitamin deficient model using germfree animals has great advantage compared to the model induced by the administration of antibiotics and metabolic antagonists because drug-induced models cannot exclude off target effects completely. For clarifying novel functions of vitamin K, we developed vitamin K deficient model using germfree animal. In this paper, we introduce novel function of vitamin K revealed in this model. Vitamin K is one of the fat-soluble vitamins and acts as a cofactor for  $\gamma$ -glutamyl carboxylase, which catalyzes posttranslational modification (called Gla formation) of blood coagulation factors and bone proteins. There are two types of naturally occurring vitamin K, phylloquinone derived from plants and menaquinones mainly produced by microorganisms. Menaquinones have isoprene units of various lengths in their side-chain structures. Large amount of menaquinone-4, which has four isoprene units, is observed not only in the liver and bone, but also in the pancreas, brain, and testis. Menaquinone-4 in these tissues is endogenously synthesized from dietary phylloquinone and microbial-derived menaquinones, and has unique functions other than Gla formation. We explored further functions of menaquinone-4 using germfree rats fed vitamin K deficient or supplemented diets. In testis, we found mRNA level of steroidogenic gene and testosterone level were reduced under vitamin K deficient state. Further analysis indicated that menaquinone-4 can stimulate adenylate cyclase and activate downstream pathway toward testosterone production. This novel property of menaquinone-4 could contribute to prevent age-related diseases and further prolong healthy life expectancy.

## 多発性硬化症患者のマイクロバイオーーム研究

竹脇大貴

(国立精神・神経医療研究センター免疫研究部)

多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) は脳や脊髄などの中枢神経に対する自己免疫が原因で生じる代表的な免疫性神経疾患であり、視力の低下、手足のしびれ、脱力などの神経症状を繰り返すことが病気の特徴である。本邦での特定疾患医療受給者数は、1980 年以降の 40 年間で 20 倍以上に増加しているが、根治療法は確立しておらず、若年者に襲いかかる神経障害の代表的な原因の一つになっている。また、次世代シーケンサーによる常在細菌叢の包括的な解析や無菌マウスを用いた菌投与実験が可能になったことで、様々な疾患における腸内細菌の関与を検証できるようになった。我々のグループは急速に進んだ食生活の欧米化が腸内細菌叢偏倚を介した免疫系の変調、ひいては MS 発症の増加につながっている可能性を考え、モデルマウスやヒト糞便検体を用いた腸内細菌研究を進めてきた。最近 MS 患者の多数例についての腸内細菌叢の解析結果 (菌組成解析, メタゲノム機能解析, 代謝物解析) がまとまったが、治療反応性である再発寛 MS (relapsing-remitting MS ; RRMS) 患者における *Eubacterium rectale* などの酪酸産生菌の減少、酪酸代謝 pathway の抑制、糞便中の酪酸濃度の減少などが示

された (Takewaki et al., *PNAS*. 2020).

酪酸には制御性 T 細胞を誘導するだけではなく、グリア細胞に直接作用して再髄鞘化を促進するはたらきがあることが報告されている。また、酪酸産生菌の生存には食物繊維が必須であるため、一連の変化は日本人の食物繊維摂取の減少と関連し、近年の MS 患者数の増加の誘因になっている可能性が考えられた。さらに我々は、MS における “unmet medical needs” 克服を目指し、治療反応性である RRMS と難治性である二次進行型 MS (secondary progressive MS ; SPMS) の腸内細菌叢の比較解析を行い、SPMS 患者で有意に増加し、かつ臨床重症度スコアと有意に相関する細菌種の同定、患者糞便検体からの単離培養に成功した。現在、生体モデルを用いて当該菌種の機能解析を進めている。また、患者糞便検体を用いたメタゲノム機能解析では、SPMS 患者の腸管内における炭水化物代謝の抑制、酸化ストレス亢進によると推定される DNA ミスマッチ修復機構の亢進なども明らかになった。

本セミナーでは MS 腸内細菌叢研究の背景研究結果の意義などを概説し、腸内細菌がもたらす神経難病治療の将来について論じる。

## **Gut microbiome research in patients with multiple sclerosis**

DAIKI TAKEWAKI

*Department of Immunology, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo*

The number of patients with multiple sclerosis (MS) in Japan has been rapidly increasing for decades. This may be linked with westernization in lifestyle and subsequent alterations of the gut microbiome. Notably, recent achievements established the bidirectional causality between gut microbiomes and development of MS. As the next step, many researchers try to overcome "unmet medical needs" of MS through the gut microbiome. MS generally starts as relapsing remitting MS (RRMS), but often shifts into secondary progressive MS (SPMS). SPMS represents a more advanced stage of MS, characterized by accumulating disabilities and refractoriness to medications. Recently, we revealed the characteristics of gut microbiomes associated with each of RRMS and SPMS based on the microbial composition, metagenomic functional, and metabolite analyses (Takewaki et al., *PNAS*. 2020). In microbial composition analysis, we identified specific bacteria whose abundance was significantly increased in SPMS compared with that in RRMS and positively correlated with clinical severity score of the patients. Next, we have isolated this specific species from the fecal sample of a SPMS patient and are doing *in vivo* analysis to verify the functional significance of this species. In metagenomic functional analysis, we revealed an enhancement in microbial DNA mismatch repair in SPMS, which was consistent with excessive fecal oxidation shown in sulfur metabolomic analysis. In this seminar, I will talk about the background of MS microbiome research and significance of the obtained results and discuss the future therapy for intractable neurological diseases focusing on the gut microbiome.

## 無菌動物を利用した食品機能性研究と同実験施設の管理

細野 朗

(日本大学生物資源科学部食品生命学科食品生命機能学研究室)

生体内には膨大な数の腸内細菌が共生し、宿主においては腸管を介して組織の発達や恒常性の維持など、さまざまな生理作用とも相互に影響し合っている。近年、腸内に共生する腸内細菌が宿主腸管だけではなく種々の生体応答に重要な役割を果たしていることが注目されており、無菌動物はその解明に重要な役割を果たしている。それらの研究では、古くは加齢や栄養学的な観点からの報告があり、通常と同系統の動物に比べて無菌動物は寿命が 1.5 倍ほど長いことや、腸内細菌が産生するビタミンの生理作用について無菌動物がその解明に重用されてきた。さらに、感染防御において特定の微生物がどのように寄与するのかを明らかにする、いわゆる特定の微生物のみを有するノバイオート動物の作出により評価する実験系などにも多用されてきた。特に免疫学的な解析において、腸内細菌の存在や特定の腸内細菌の腸管組織への定着が免疫系組織の発達やリンパ球の細胞分化において重要な役割を果たしていることは、数多くの報告がある。例えば、腸内細菌が腸管免疫組織の発達や腸管免疫の主要な免疫応答である免疫グロブリン A (IgA) 産生の誘導に強く関与している。特に、無菌マウスの IgA 産生応答の誘導は大腸部位の方がかなり低応答であるのに対して、小腸部位では無菌マウスでも低レベルながらも一定の免疫応答が起こっているように観察される。これは、無菌マウスの飼育環境下には常在細菌は生存していないものの、死菌体や微生物由来成分、微生物抗原との共通抗原を有する有機物などの混入が避けられず、しばしば

精製飼料においても死菌体が確認される場合があることから、微生物由来パターン認識受容体に反応する抗原が無菌マウスの環境下に存在することになる。この微生物由来抗原などが無菌マウスに対して経口感作していることは容易に想定されることから、小腸部位の免疫系が特にこの影響を受けている可能性は否定できない。一方で、特定の腸内細菌の免疫学的な修飾作用の解析には無菌マウスに対して特定の細菌を定着させて解析できるノバイオート動物が有効な方法として利用されている。*Bacteroides* はマウスやヒトにおいて腸内細菌叢を構成する優勢菌の一つであり、マウス腸内細菌由来の *Bacteroides acidifaciens* type A43 (BA) は無菌マウスにその生菌体を定着させた際に、腸管免疫系の特に大腸部位において胚中心の形成や IgA 産生を誘導するのに強く関与することがノバイオートマウスの実験系によって明らかになっている。これらには、常在する腸内細菌の菌体成分による抗原刺激だけでなく、腸内細菌の代謝産物も宿主の免疫調節に強く影響を与えていることを示唆する報告も多く、腸内マイクロバイーム研究におけるノバイオート動物を利用した評価系は、基礎研究だけでなく食品機能性研究や薬物代謝研究においても有用性が高い。そのほか、近年は脳腸相関という考え方も腸内細菌研究のトレンドとなりつつあり、腸内環境が脳内の認知機能などに対する影響も示されている。本演題では無菌動物を利用した食品機能性研究の実例とともに、農学系の大学における同実験の管理運営についても紹介したい。

## Study of food and physiological functions using germ-free animals and management of the experimental facility

AKIRA HOSONO

*Department of Food Bioscience and Biotechnology, College of Bioresource Sciences, Nihon University, Fujisawa*

Huge numbers of intestinal bacteria in the body interact with various physiological actions such as tissue development and maintenance of homeostasis via the intestinal tract. In these days, it has been noted that intestinal commensal bacteria play important roles not only in the host intestine but also in various biological responses, and germ-free (GF) animals are useful as important tools for clarifying these problems. Numerous reports in immunological analysis show that the presence of intestinal microbiota and the colonization of the specific commensal bacteria in the intestinal tissue play important roles in the development of gut-associated lymphoid tissue and cell differentiation of lymphocytes. For example, intestinal commensal bacteria are strongly involved in the development of intestinal immune system and the induction of immunoglobulin A (IgA), which is the main immune response of mucosal immunity in the gut. In particular, the induction of IgA production of the small intestine in GF mice is observed that constant immune responses occur at a low level whereas that of the large intestine in GF mice shows rarely. This is because, although no live bacteria exist in the breeding environment of GF mice, contamination with dead cells of bacteria, bacterial metabolites, and organic substances having common antigens with microbial antigens are unavoidable, and including bacterial components even in the purified diet sometimes. It shows that there are bacterial antigens reacting with pattern recognition receptors of immunocytes in the environment of GF mice. Since it is easily assumed that these microbial antigens are orally sensitized to GF mice, the inducible immune stimulation in the small intestine may be particularly affected. On the other hand, for the analysis of the immunomodulatory effects of the specific intestinal bacteria, gnotobiotic animals, which can colonize and analyze specific bacteria in GF mice, are used as an effective method. *Bacteroides* is one of the dominant bacteria in the gut. *Bacteroides acidifaciens* type A43 derived from murine intestinal bacteria, and we can demonstrate that *Bacteroides* mono-associated mice are strongly involved in inducing germinal center formation and IgA production in the intestinal tract immune system, particularly in the large intestine. Furthermore, there are many reports suggesting that not only antigen stimulation by bacterial components of the commensal bacteria but also their metabolites have strong influences on host immunoregulation. It shows that gnotobiotic animals in intestinal microbiome research are highly useful not only in basic research but also in the food functionality research and the drug metabolism research. In addition, in recent years, the idea of gut-brain axis has become a trend in the research of intestinal microbiology, and the effects of the intestinal environment on cognitive function in the brain has also been shown. In this presentation, I would like to introduce the models of food functionality research using germ-free animals, as well as the management and operation of the experiment at an agricultural university.

## 高圧処理による微生物の不活性化

山本 和貴      中浦 嘉子

(農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門)

食品加工に於いては、熱的处理として加熱及び冷却が古来より用いられてきた。特に加熱は、食中毒菌・腐敗菌の殺菌には不可欠な操作として食品の加工流通に貢献してきた。一方、高圧処理は、1990年に食品加工に導入され、非熱的处理として活用されている。高圧処理においては、化学反応が抑制されるため、香り、色、栄養に関する食品成分が最大限保持される。しかも、蛋白質変性等の各種物理的变化の結果として、微生物が不活性化される。食品高圧加工に於ける微生物不活性化では、細菌が主な対象となることが多い。従来の熱処加工では、栄養細胞状態にある細菌を100℃で十分に殺菌できるが、食品の新鮮さに関わる品質を劣化させる問題がある。一方、高圧処理では、食品高圧加工で実用的に利用される600MPaで処理すると、食品の品質を最大限保ちつつ、殺菌することができる。菌種、菌株にも依るが、致死的な不活性化により不検出となれば死滅と判断される。400～500 MPa等、十分な条件とは言えない高圧処理においては、亜致死的に不活性化され、損傷するに留まる場合がある。損傷菌は、熱処

理でも薬品処理でも発生し、処理後の環境条件が良ければ、回復して健常菌のように再び増殖し、そうでなければそのまま死滅することもある。高圧損傷菌については、熱損傷菌と同様に未解明な部分が多いが、高圧処理では再現性高く損傷菌を調製できる利点がある。この他、耐熱性が高い細菌芽胞は、栄養細胞と比べると、かなり過酷な条件でないと死滅することはない。よって、従来からの熱加工で常温流通できる食品を製造する場合には、レトルト処理等による過酷な条件で滅菌される。一方、高圧処理のみで細菌芽胞を死滅させるのは、極めて困難である。しかしながら、高圧処理ではその発芽を効率的に誘導できる条件があり、高圧発芽誘導が可能な細菌株については、100～200 MPa程度の中高圧処理と、65℃前後の中温領域での熱処理とを組み合わせる「自滅的発芽誘導殺菌」することができる。本講演では、高圧処理による微生物の不活性化について、主に細菌を対象として概説しつつ、損傷・回復、自滅的発芽誘導について解説する。

## **Microbial inactivation by high hydrostatic pressure treatment**

KAZUTAKA YAMAMOTO and YOSHIKO NAKAURA

*Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization, Tsukuba*

Conventionally, food has been processed by thermal treatments such as heating and cooling. Since 1990, treatment with high hydrostatic pressure (HHP) ranging from 100 to 600 MPa has been applied to food processing as a nonthermal process. Since HHP processing suppresses chemical reactions in food, flavor, color, and nutrients can be maximally retained. In addition, HHP induces physical changes such as protein denaturation and thus it lethally or sublethally inactivates pathogenic and/or spoilage microbes, particularly bacteria. Therefore, HHP food processing has attracted great attention of food technologists for producing high quality safe foods. Safety of HHP-processed foods is the highest priority in the food industry, and thus HHP-induced microbial inactivation has been studied intensively. This paper will overview HHP inactivation of microbes with focuses on HHP-induced injury of bacteria and subsequent recovery as well as suicidal germination induced to bacterial spores by HHP-heating combination.

## 養蚕と無菌カイコの新展開

木内 隆史

(東京大学大学院農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻 昆虫遺伝研究室)

カイコは家畜化と品種改良を経て、1 km以上の長さにも及ぶ糸からなる繭を作ることができるようになった昆虫である。養蚕はかつて日本の重要産業であったため、カイコは盛んに研究されて優れた養蚕技術が生み出されている。人工飼料の開発もその一つである。基本的にカイコは桑の葉で飼育されるが、農家で扱いやすいサイズに成長するまで、消毒された衛生的な部屋で人工飼料を用いる共同飼育が導入されている。人工飼料による共同飼育は農家の負担を大きく削減することができるばかりか、桑の葉に付着した病原体からカイコを守ることもできる。一年を通じてカイコを安定的に飼育できる体制をつくるため、人工飼料は改良され、全齢を人工飼料で飼育できるようなカイコ品種が選抜・育成された。さらに、人工飼料育にかかるコスト削減のため、家畜飼料を主な原料とした低コストな人工飼料の開発と桑葉を含まない人工飼料も食べる広食性カイコ品種の育成も行われた。しかし、養蚕が衰退するにつれて、そのような研究は次第に下火となってしまった。

ところが、2000年に遺伝子組換えカイコを作成する技術が確立されたことで、風向きが少し変わってきた。カイコが本来持たない外来タンパク質をカイコで作ることができるようになることで、カイコの類い稀なタンパク質生産能力と遺伝子組換えカイコを用いたタンパク質生産のメリットに目を付けた新しい産業が次第に生まれ始めている。

そのようななか、人工飼料を用いてカイコを無菌的に飼育する技術が改めて注目されている。本学会に所属されている方はご存知だと思うが、カイコの無菌飼育技術は確立されている。基本的には、卵を消毒し、滅菌した人工飼料を供給して無菌室で飼育することで達成される。給餌回数を減らしながらも、ほぼすべてのカイコが病気になることなく健常に育ち、年間を通じて安定的に繭や有用タンパク質を供給できる体制を構築できる。すでに技術を取り入れている企業もあるが、新産業がさかんになれば、今後も広く活用される技術になるだろう。一方で、桑葉粉末を多く含む人工飼料のコストは高く、またすべての実用品種が人工飼料をよく食べて育つわけではない。広食性カイコ品種を育成することはできるが、品種の育成には多大な時間を要するため、新産業の流れにはついていけない。

私たちは、低コストな人工飼料をよく食べる広食性カイコ品種を短期間に育成する技術の開発を行っており、本講演ではその研究の一部を紹介したい。そして、上述のように無菌カイコを作出することは可能だが、それを生かした研究例はあまりない。本学会に参加させていただくにあたり、無菌カイコやノートバイオートカイコを用いることでどのような研究が展開できるかについても考えてみたいと思う。

## Next-generation sericulture and germ-free silkworm

TAKASHI KIUCHI

*Laboratory of Insect Genetics and Bioscience, Department of Agricultural and Environmental Biology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo*

The silkworm, *Bombyx mori*, is a domesticated lepidopteran insect (moths and butterflies) which produces vast amounts of silk protein. Furthermore, genetically modified silkworms can produce recombinant proteins such as GFP, human collagen, and feline interferon. Recently, next-generation sericulture using genetically modified silkworms that produce useful foreign proteins is developing in Japan. Under such situation, aseptic rearing of the silkworm larvae using artificial diet is re-evaluated.

The aseptic rearing is accomplished by using surface-sterilized eggs, sterilized artificial diet, and clean rooms. Germ-free silkworms grow well without pathogenic infection under minimum number of feeding, which provide stable supply of the silk and recombinant proteins throughout the year. Therefore, the aseptic rearing system using artificial diet will be required more often along with the development of next-generation sericulture. However, mulberry leaves powder-containing artificial diet is costly and not all silkworm strains can eat artificial diet. In order to reduce rearing costs, we need polyphagous silkworm strains that eat non or less mulberry leaves-containing artificial diet. In this lecture, I introduce our efforts to develop rapid breeding strategy of polyphagous silkworm strains.

Germ-free silkworms are also useful for basic science. I would like to discuss new approaches using germ-free and gnotobiotic silkworms in insect science.

## 原稿執筆要綱

1. 一般演題の演者と共同発表者は本学会員とします。未入会の方は本学会事務所へ入会申込をしてください。無菌生物学・ノートバイオロジーに関する新しい知見を有する研究で、未発表のものに限り、本誌への掲載の可否は編集委員会の審査を経て決定します。編集委員会は加除修正を行うことがあります。カラー印刷は全額自己負担とします。掲載論文等の著作権は、本学会に帰属し、当該論文の全部または一部を本学会が認めたネットワーク媒体、その他の媒体において、任意の言語で、掲載、出版（電子出版を含む）できるものとします。

2. 原著・総説については英文 Guideline for Authors B をご参照ください。

注1 電子データを下記アドレス宛にお送りください。

日本無菌生物ノートバイオロジー学会事務所

gnotobiolosaki@ks.kyorin-u.ac.jp

注2 略語 (abbreviation) は初出のところに「略さない語」 full term をお示しください。

例)

1. 演題 気管支喘息への肺炎マイコプラズマ感染の影響
2. 発表者 蔵田 訓 田口晴彦\* 大崎敬子 花輪智子 米澤英雄 神谷 茂
3. 所属 (杏林大学医学部感染症学講座, \*同保健学部免疫学)
4. 和文要旨 (400字)  
肺炎マイコプラズマ感染は気管支喘息の増悪因子の……
5. キーワード (5項目)  
気管支喘息, 肺炎マイコプラズマ, 無菌マウス, 動物モデル, ……
6. 和文抄録 (2000字)
  - I. 目的 (はじめに, 背景, ……)  
*Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*) は学童から青年……
  - II. 材料 (対象)  
実験動物として BALB/c マウス (雄, 5 週齢) と IQI 系……
  - III. 方法  
感作初日に *M. pneumoniae* M129株を超音波により……
  - IV. 結果  
BALB/c マウスの血清中 OVA 特異的 IgE 濃度は……
  - V. 考察  
*M. pneumoniae* 菌体抗原による感作は……
  - VI. 結論  
*M. pneumoniae* ノートバイオート肺炎モデルの肺内サイトカインの検討より……
  - VII. 謝辞
7. 表・図・写真 (5点以内) Table 1, Figure 1, ……とし、本文中に入る場所を示してください。タイトル、説明および表・図中の文字は英語にしてください。図・写真は、中の文字をふくめ、そのままオフセット印刷できる原図にしてください。カラー印刷も可 (別途、実費請求となります)。
8. 英文演題 The effect of *Mycoplasma pneumoniae* infection on asthma model in mice
9. 英文発表者 (フルネーム, 大文字) SATOSHI KURATA, HARUHIKO TAGUCHI\*, TAKAKO OSAKI, TOMOKO HANAWA, HIDEO YONEZAWA and SHIGERU KAMIYA
10. 英文所属 Department of Infectious Diseases, Kyorin University School of Medicine, Mitaka  
\*Department of Immunology, Faculty of Health Sciences, Kyorin University, Hachioji
11. 英文抄録 (250 words)  
*Mycoplasma pneumoniae* infection is known as one of the factors deteriorating asthma.……
12. 英文キーワード (5項目)  
**Keywords:** asthma, *Mycoplasma pneumoniae*, germfree mouse, animal model...

13. 引用文献 *References* は引用順に番号をつけ、本文の引用場所に右肩付けとする。著者（全著者名、大文字）、表題、雑誌・図書の名称（イタリック）、巻数（太字）、頁数（最初と最後）、年の順に記載する。
1. TAGUCHI, H., TAKAHASHI, M., YAMAGUCHI, H., OSAKI, T., KOMATSU, A., FUJIOKA, Y. & KAMIYA, S.: Experimental infection of germfree mice with hyper-toxigenic enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, strain 6. *J. Med. Microbiol.*, **51**, 336-343, 2002.
  2. LINDAHL, G., HEDEN, L.-O. & STENBERG, L.: Streptococcal IgA receptors. In: *Molecular recognition in host-parasite interactions*, Edited by KORHONEN, T. K., MAKELA, P. H. & HOVI, T. New York, Plenum Press, pp.77-83, 1992.
  3. SAKAGAMI, T., FUKUDA, Y., TAMURA, K., TANIDA, N. & SHIMOYAMA, T.: Does *Helicobacter pylori* promote gastric carcinogenesis? *J. germfree life gnotobiol.*, **31**, 25-26, 2001. (in Japanese)
14. 連絡先 〒181-8611 東京都三鷹市…… 蔵田 訓
15. TEL (0422) 47-…… 内線……
16. FAX (0422) 44-……
17. E-mail kurata@……

3. 倫理指針：ヒトを対象とした研究は「ヘルシンキ宣言」（World Medical Assembly, 1964年, 2004年追加）, 「臨床研究に関する倫理指針」（平成20年厚生労働省告示第415号）, 「疫学研究に関する倫理指針」（平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号）に従って行われ、動物を用いた研究は「実験動物の飼養および保管ならびに苦痛の軽減に関する基準」（平成18年環境省告示第88号）に従って行われ、倫理委員会等で承認されたものでなければならない。

## Guideline for Authors

### A. Annual meeting proceedings

#### I. Proceeding manuscripts (oral presentations)

1. Authors and all co-authors must be members of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG). Papers submitted for review must convey new unpublished findings from studies in germfree research or gnotobiology. Manuscripts are accepted for publication following review by the Editorial and Publications Committee. Please prepare manuscripts according to the instructions below, with reference to the printing sample available through our website. Reproduction in color is available, at the full expense of the author.
2. Manuscripts are accepted in both English and Japanese. However, in the case of Japanese papers, the information carried in the title page, abstract, and key words must also be duplicated in English. All titles and legends to tables, figures, and photos, as well as the reference list must be prepared in English regardless of whether the papers are prepared in English or Japanese.  
The title page of the manuscript should carry manuscript title, name of authors and affiliations, postal address, zip code, phone, fax, and e-mail address of the corresponding author.  
Begin the manuscript on page two, starting with abstract (within 250 words), five key words, and text (2000 words), in the order of: I) Objective (or Introduction), II) Materials (or Subjects), III) Methods, IV) Results, V) Discussion, VI) Conclusion, VII) Acknowledgments (if any), References, and a maximum of 5 figures, tables, or photos in total.
3. An electronic copy in MS-Word format, tables and figures may be incorporated into the Word file, submitted as separate Excel or PowerPoint files, or as jpg, pct, eps, or tif images adjusted to actual printing size. Tables and figures should each be numbered consecutively in Arabic numerals (Table 1, Figure 1), with a title for tables and descriptive legends for figures. The location of tables and figures in the text should be indicated in the margin of the typescript. Each table and figure should be printed on a separate sheet of paper. The manuscripts in the journal are generally printed in black and white. However, if the authors prefer color printing of figure (s) in the manuscript, additional page charge will be added.
4. Abbreviations must be preceded by the full term at first mention. Use standard units of measure such as: m, cm, mm,  $\mu$ m, nm, l, ml,  $\mu$ l, kg, g, mg,  $\mu$ g, ng, pg.
5. References should be cited in the text using superscript Arabic numbers, in order of appearance. In the reference list, the references should be numbered, followed by authors (all authors in full, all capitals), title, journal name (italicized, abbreviated according to Index Medicus), volume (boldface), page numbers (first and last), and year of publication.

#### Example:

1. TAGUCHI, H., TAKAHASHI, M., YAMAGUCHI, H., OSAKI, T., KOMATSU, A., FUJIOKA, Y. & KAMIYA, S.: Experimental infection of germfree mice with hyper-toxigenic enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, strain 6. *J. Med. Microbiol.*, , 336-343, 2002.
2. LINDAHL, G., HEDEN, L-O. & STENBERG, L. : Streptococcal IgA receptors. In: *Molecular recognition in host-parasite interactions*, Edited by KORHONEN, T. K., MAKELA, P. H. & HOVI, T. New York, Plenum Press, pp.77-83, 1992.
3. SAKAGAMI, T., FUKUDA, Y., TAMURA, K., TANIDA, N. & SHIMOYAMA, T.: Does *Helicobacter pylori* promote gastric carcinogenesis? *J. germfree life gnotobiol.*, , 25-26, 2001. (in Japanese)
6. Manuscripts should be sent by E-mail to gnotobiolosaki@ks.kyorin-u.ac.jp.
7. Copyright of manuscripts accepted for publication will become the property of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG).
8. The JAGG retains the right to publish accepted manuscripts in part or full in any network or other media recognized by the Association, in any language (including electronic publishing).

### B. Original articles and reviews

#### I. Original articles

1. Submission of manuscripts to this journal is limited to members of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG) or the International Association for Gnotobiology (IAG), based on material presented at the annual meeting of the JAGG or International Symposium for Gnotobiology.
2. Papers submitted as original articles must convey unpublished findings and conclusions of note from innovative studies capable of contributing to the development of germfree research or gnotobiology.
3. Acceptance of manuscripts for publication will be judged by the Editorial and Publications Committee and referees.
4. Original articles must be prepared in English throughout, in accordance with the instructions for proceeding manuscripts above, with the exception that there is no limitation in word count or number of tables, figures and photos.
5. Authors will be charged 5,000 yen/printed page for manuscripts submitted as original articles. Color reproductions are possible at the full expense of the author.

## II. Reviews

1. Reviews are accepted in either English or Japanese as invited papers as a rule, to be prepared in accordance with instructions for oral presentation manuscripts. Color reproductions are possible at the full expense of the author.

## C. Ethical guidelines

Study protocol must have obtained approval by an appropriate institutional Ethics Committee. Studies on human subject must also conform to the provisions of the Declaration of Helsinki (as revised in Seoul 2008), the Ethical Guidelines for Clinical Research (2008 Ministry of Health, Labour and Welfare Public Notice 415), and the Ethical Guidelines for Epidemiological Research (2007 Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, and Ministry of Health, Labour and Welfare Public Notice 1). Animal studies must conform to the Standards for the Rearing, Housing, and Alleviation of Pain of Experimental Animals (2006 Ministry of the Environment Public Notice 88). Compliance with these guidelines must be stated within the text of original articles.



## CONTENTS

### REPORT ON THE FIFTY-FOURTH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTO BIOLOGY

Kazuhiro Hirayama .....	2
-------------------------	---

### PROGRAMS OF THE FIFTY-FOURTH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTO BIOLOGY

Low protein adaptation among Papua New Guinea Highlanders	
Masahiro Umezaki .....	7
Effect of intestinal bacteria on host amino acid metabolism	
Yoshie Saito .....	9
Nutritional research using germfree animals – Vitamin	
Hitoshi Shirakawa et al. ....	12
Gut microbiome research in patients with multiple sclerosis	
Daiki Takewaki .....	14
Study of food and physiological functions using germ-free animals and management of the experimental facility	
Akira Hosono .....	16
Microbial inactivation by high hydrostatic pressure treatment	
Kazutaka Yamamoto .....	18
Next-generation sericulture and germ-free silkworm	
Takashi Kiuchi .....	20

### GUIDELINE FOR AUTHORS

Guideline for authors .....	22
-----------------------------	----