

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

Vol. 52

No. 1

2022

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 Vol. 52 No.1 Sept.1 2022

編集委員会 神 谷 茂
 白 川 仁
 大 崎 敬 子

印 刷 所 共 立 印 刷 株 式 会 社
事 務 所 日 本 無 菌 生 物 ノ ー ト バ イ オ ロ ジ ー 学 会
〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-12
公 益 財 団 法 人 実 験 動 物 中 央 研 究 所 内
小倉 智幸（おぐら ともゆき）

TEL (044)201-8520 内線1325

FAX (044)201-8521

発 行 所 杏林大学医学部感染症学講座
 大崎 敬子（おおさき たかこ）

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

JOURNAL OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

Vol. 52 No.1 Sept.1 2022

Editorial and Publications Committee

SHIGERU KAMIYA MD PhD

HITOSHI SHIRAKAWA PhD

TAKAKO OSAKI PhD

Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology

c/o Tomoyuki Ogura

Central Institute for Experimental Animals

3-25-12 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki, 210-0821 Japan

TEL +81-44-201-8520extension1325

FAX +81-44-201-8521

E-mail jagg@cica.or.jp

Department of Infectious Diseases

Kyorin University School of Medicine

Dr Takako Osaki

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

第55回 日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会

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

January 22-23, 2022

Sendai

President *Hitoshi Shirakawa*

会 長	白 川 仁
会 期	2022年（令和4年）1月22日（土）・23日（日）
会 場	東北大学・青葉山コモンズ・オンライン開催併用

第55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55回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会
会長 白川 仁（東北大学大学院農学研究科教授）

令和4年（2022年）1月22日（土）および23日（日）の2日間にわたり、第55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。第54回総会が新型コロナウイルスによる感染症のためオンラインでの開催となり、対面での開催が望まれていたこと、また、本感染症も3年目となり、対面での開催が可能であると考え、東北大学青葉山コモンズ（青葉山新キャンパス）内の翠生ホールで開催することで準備を進めておりました。年末には一旦、収束するように見えた感染症ですが、年明けより、オミクロン変異株の流行によって、爆発的に感染者が増えたことから、急速、オンラインを併用して開催することといたしました。直前の変更によって、当日の運営が必ずしも、スムーズに進められなかった点など、ご不便をおかけしたことをこの誌面を通じて、お詫び申し上げます。

当日は、シンポジウム1とイブニングセミナーを公開講演としたことから、会場、オンライン参加を合わせて、50名以上の参加がございました。シンポジウム1は、農産物、畜産物、海産物に関する研究領域の垣根を越えて進めている、産業生物の生体防御機構を明らかにする研究領域「農免疫（Agricultural Immunology）」と、これを利用した次世代の食糧生産システムと安全性評価に関する講演でした。また、イブニングセミナーは、

大学院生時代に本学会の学生会員であった、駒野悠太氏によるプラズマ乳酸菌飲料の開発に関する講演で、乳酸菌の新たな健康機能性についてご紹介いただきました。また、翌日のシンポジウム2についても、腸内細菌が宿主の免疫系に与える影響について、3名のシンポジストから最新の研究成果を紹介いただき、活発な議論がなされました。一般演題も、例年と同様に10演題の発表があり、2日間にわたって、真摯に討論がなされました。恒例の写真撮影は、会場へご参加の先生方は、会場1階のラーニングコモンズにおいて行い、また、オンライン参加の先生方におかれましては、Meetのスクリーンショットとなりました（次ページ参照）。懇親会も準備しておりましたが、学内の規制により、残念ながら中止することとなり、ご参加の先生方の交流を行うことが叶いませんでしたが、次回の総会はコロナ禍以前と同じような内容で開催できればと切に願う次第であります。

最後に、本総会を共催いただきました、国立大学法人東北大学、東北大学大学院農学研究科附属食と農免疫国際共同教育研究センター、日本学術振興会研究拠点形成事業「食の安全性の飛躍的向上を目指した農免疫国際共同研究拠点形成」、公益財団法人翠生農学振興会へ厚く御礼申し上げます。



第55回日本無菌生物ノートバイオロジー学会 会長 白川 仁 2022年1月22日 仙台市 東北大学青葉山コモンズ
オンライン会議 併用

第55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

「薬に頼らない食糧生産」

共催：東北大学農学カルチャー講座（公益財団法人 翠生農学振興会）

座長 北 澤 春 樹

（東北大学大学院農学研究科 食と農免疫国際教育研究センター）

白 川 仁

（東北大学）

1. 抗ウイルス性イムノバイオティクスの応用基盤研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・7

北澤春樹

（東北大学 大学院農学研究科 食と農免疫国際教育研究センター）

2. キュウリモザイクウイルスのシロイヌナズナへの不顕性感染は条件的相利共生なのか？・・・・・・・・・・9

高橋英樹

（東北大学 大学院農学研究科 植物病理学分野）

3. 動物実験に依らない機能性食品の開発：食品成分のヒト腸内での動態を考慮して・・・・・・・・・・11

大澤 朗^{**}（^{*}神戸大学農学研究科食の安全・安心科学センター，^{**}神戸先制医療システム）

イ ブ ニ ン グ セ ミ ナ ー

座長 駒 井 三千夫

（東北大学）

共催：東北大学農学カルチャー講座（公益財団法人 翠生農学振興会）

Lactococcus lactis JCM 5805（プラスマ乳酸菌）の深耕と応用・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13

駒野悠太

（キリンホールディングス株式会社 品質保証部 信頼性保証室）

シンポジウム II

「腸内細菌が宿主免疫系に与える影響—最近の話題」

座長 細 野 朗

(日本大学)

野 地 智 法

(東北大学)

1. 小腸と大腸の抗体産生機構における腸内細菌による調節作用・・・・・・・・・・・・・15

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)

2. 腸内細菌が宿主免疫系に与える影響 ～腸内微生物—バイエル板—乳腺経路の発見～・・・・・・・・・17

野地智法

(東北大学大学院農学研究科)

3. アミノ酸のキラリティによる免疫調節機構・・・・・・・・・・・・・19

笹部潤平

(慶応義塾大学医学部薬理学)

一 般 演 題 セッション I

座長 大 崎 敬 子

(杏林大学)

津 田 真 人

(日本大学)

1. 新生仔の鼻腔炎症に起因する腸内細菌叢の変動と脳組織損傷・・・・・・・・・・・・・00

石井さなえ*, 三島由祐子*, 浅野妃南**, 大崎敬子***

(*杏林大学保健学部臨床検査技術学科, **杏林大学大学院保健学研究科, ***杏林大学医学部感染症学)

2. 個別換気ケージによる無菌マウスの自発運動量測定法の検討・・・・・・・・・・・・・00

小島圭介, 何 裕遥, 野津量子, 富山香代, 植野昌未, 小倉智幸, 高橋利一

(公益財団法人実験動物中央研究所)

3. 無菌コモンマウスセットの作出・・・・・・・・・・・・・00

井上貴史

(公益財団法人実験動物中央研究所)

4. トリプトファンの微生物代謝産物トリプタミンは発酵米糠の炎症抑制機能性に重要な役割を果たす・・・・・・・・・・・・・00

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)

5. 難治性下痢症発症牛に対する糞便移植の有効性評価・・・・・・・・・・・・・00

Jahidul Islam, 野地智法

(東北大学大学院農学研究科食と農免疫国際教育研究センター)

一般演題 セッションII

座長 大坪和香子

(東北大学)

大崎雄介

(東北大学)

6. ヒト腸内細菌によるL-フコースの資化性・・・・・・・・・・・・・・・・・・00

田村彩佳, 大坪和香子

(東北大学大学院農学研究科 動物資源化学分野)

7. *Lactobacillus* 属乳酸菌の性状に影響を与えるストレス因子の研究・・・・・・・・・・00

周 冰卉, 大坪和香子

(東北大学大学院農学研究科動物資源化学分野)

8. ビオチン欠乏が腸管免疫系を介した免疫修飾に関与する・・・・・・・・・・00

細野 朗*, 津田真人*, 岡田 開*, 大崎雄介**, 白川 仁**, 駒井三千夫**

(*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, **東北大学大学院農学研究科栄養学分野)

9. ビオチン水摂取による脳の認知機能関連遺伝子の発現への影響・・・・・・・・・・00

塩沢浩太, 大崎雄介, 白川 仁

(東北大学大学院農学研究科栄養学分野)

10. ビタミンK無添加食給餌によるマウスの胆汁酸代謝への影響・・・・・・・・・・00

錦戸迪哉, 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)

抗ウイルス性イムノバイオティクスの応用基盤研究

北澤 春樹

(東北大学大学院農学研究科 食と農免疫国際教育研究センター)

SARS-CoV-2 などの新興感染症による被害は、これまでも幾度か起っており、その約6割が人獣共通感染症とされている。一方、豚などの家畜における新興・再興感染症も常に脅威にさらされており、豚熱の発生は記憶に新しく、またアフリカ豚熱の流行拡大から畜産業における多大な影響が懸念されている。それらはまたウイルスを原因とする疾患であり、ロタウイルスなどによる常在疾病も含めると、ウイルス性感染症の予防は、細菌や原虫と共に世界的レベルで克服すべき重要課題である。現在、ワクチンや薬剤が使用されている、それらの開発には労力と時間がかかり、さらに薬剤耐性菌出現から健康危害リスクの激増が予想されることもあって、新たな第3の方策が求められている。

一方、110年以上も前にメチニコフ博士によって提唱された「乳酸菌による不老長寿説」の発想を基礎として、プロバイオティクスの生理機能性研究が動物やヒトにおいて飛躍的に進み、現在では、腸内細菌による疾病予防に関する研究領域が注目されている。

我々は、プロバイオティクスの中でも、特に粘膜免疫を介して生体に有益な効果をもたらすイム

ノバイオティクスに着目し、腸管上皮を介する粘膜免疫調節機能の修飾によるウイルス等の病原体に対する感染防御を基盤とした、豚における選抜・評価系の構築と機構解明を推進している。本評価系により、ブタ小腸由来の乳酸桿菌のイムノバイオティクスとしてのスクリーニングを初め、その機能性におけるトランスクリプトミクス解析からイムノバイオティクスの機能性発現機構の詳細解明が可能となった。これらの成果により、イムノバイオティクスの畜産領域における利用拡大と免疫機能性の畜産食品によるヒトの健康生活の飛躍的向上に貢献できるものと期待される。

本講演では、上記の我々のこれまでの取り組みについて紹介する。また、豚はヒトモデルとしても有用であることから、薬のみに頼らない家畜健全育成への貢献を考えると共に、生体が本来有する免疫機能の増強を助けることで、新興・再興感染症から常在感染症に至るまで、その幅広い予防に貢献するイムノバイオティクスの食品・飼料免疫学的利用の将来展望について皆さんと共有できれば幸いである。

【謝辞】 本講演内容は、農研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強化研究推進事業」(基礎研究ステージNo.01002A)、日本学術振興会科学研究費補助金(基盤研究(A)No.19H00965)および日本中央競馬会畜産振興事業の支援を受けて推進した成果を含む。

Basic research on anti-viral Immunobiotics

HARUKI KITAZAWA

International Education and Research Center for Food and Agricultural Immunology, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai

Emerging and re-emerging infectious diseases caused by virus like SARS-CoV-2 are required to be addressed with both efficient prevention and treatment strategies to protect human health. Similar strategies should be also applied to livestock due to the epidemic spread of viral infectious diseases such as African swine fever. In addition, the diseases caused by indigenous viruses and bacteria are positioned as an important problem to overcome in animal production. Vaccines and antimicrobials have been used to protect livestock from infectious diseases, but their development is labor intensive and time-consuming, and the risk for appearance of antimicrobial-resistant bacteria has been drastically increased. Immunobiotics, the beneficial microbes with the ability to positively influence the immune system of the host, have emerged as a promising alternative to modulate the defenses of human and animals from viral and bacterial infections.

In this symposium I will revise our efforts to select and characterize immunobiotics from porcine small intestine by the construction of an evaluation system for antiviral immunobiotics with an originally established porcine small intestinal epithelial cell line (PIE cells). Since the pig is also useful as a human model, it is expected that our research will lead to the expansion of the food and feed immunological use of immunobiotics, which will contribute to the prevention of a wide range of indigenous, emerging and re-emerging viral infectious diseases, by helping to strengthen the immune functions of human and animals.

【Acknowledgements】 BRAIN(No. 01002A), JSPS KAKENHI (A; 19H00965), JRA

キュウリモザイクウイルスのシロイヌナズナへの不顕性感染は条件的相利共生なのか？

高橋 英樹

(東北大学 大学院農学研究科 植物病理学分野)

近年の次世代シーケンス技術の進歩により、自然界に生息する多年生植物には、しばしばウイルスが不顕性感染(無病徴感染)していることがわかってきた。しかし現在、このウイルスの不顕性感染が、宿主植物の生命活動に与える影響についての知見は限られており、そもそもその不顕性感染を成立させる分子メカニズムを明らかにすることは容易ではない。

ここでは、多年生雑草であるハクサンハタザオに不顕性感染しているキュウリモザイクウイルス[CMV(Ho)系統]と、ハクサンハタザオに近縁のシロイヌナズナを用いた、ウイルス不顕性感染の分子基盤研究について紹介する。CMVは3分節の(+)1本鎖RNAゲノム(RNA1, 2, 3)をもつウイルスで、病原性を異にする多数の系統が存在する。まず、CMV(Ho)と強病原性系統CMV(Y)の感染性ウイルスゲノムRNAを*in vitro*転写するcDNAベクターを構築した。各ベクターから*in vitro*転写したウイルスゲノムRNAを相互に交換したreassortant CMVシリーズを接種したシロイヌナズナの応答解析から、CMV RNA2がコードする2bタンパク質内の2アミノ酸置換が、CMV(Ho)の不顕性感染を決定していることが明らかになった。これまでの研究から2bタンパク質は、宿主のargonaute 1(AGO1)タンパク質と直接相互作用することにより、植物のウイルス防御システムである

RNAサイレンシングを抑制し、感染を成立させることが知られている。そこで、2アミノ酸置換をもつCMV(Ho)2bタンパク質と相互作用するAGOタンパク質(シロイヌナズナゲノムには10コピーのAGOが存在)を免疫共沈法により解析したところ、CMV(Ho)2bタンパク質は、AGO1タンパク質とは結合せず、AGO4タンパク質との結合が確認された。AGO4は、宿主ゲノムDNAのシトシンのメチル化レベルの制御に関与することが知られているため、次にwhole genome bisulfite sequencingにより、CMV(Ho)不顕性感染植物と健全植物の全ゲノムのシトシンメチル化レベルを比較したところ、不顕性感染植物では、プロモーター領域に限定してみても82遺伝子でプロモーター領域のシトシン脱メチル化が生じていた。したがって、CMV(Ho)の不顕性感染は、植物の形態や生育に明瞭な影響を与えないものの、宿主の遺伝子発現をエピジェネティックに修飾している可能性が考えられた。

CMV(Ho)の不顕性感染に伴う宿主ゲノムのエピジェネティック修飾と、植物がもつ環境ストレス耐性に関わる遺伝子発現変動との比較解析から見えてきた、ウイルス不顕性感染がもたらす宿主植物生存戦略への役割についても合わせて紹介したい。

Persistent infection of *Arabidopsis thaliana* with cucumber mosaic virus: a conditional mutualistic symbiont ?

HIDEKI TAKAHASHI

Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai

Wild perennial plants naturally growing in the field often appear to be persistently infected with viruses. However, information on the positive or negative impact of persistent viral infections on host plants is quite limited, while the underlying molecular events leading to the persistent infection have hardly been studied. In this study, cucumber mosaic virus (CMV), a virus with a very broad natural plant host range, was isolated from wild perennial *Arabidopsis halleri* and named CMV(Ho). To study the underlying mechanism of the persistent CMV(Ho) infection in perennial *A. halleri*, infectious cDNA clones were generated for all genetic elements. CMV, which consists of synthetic transcripts from the infectious tripartite RNA genome copies and designated CMV(Ho)tr, multiplied in *A. halleri* and annual *A. thaliana* Col-0 to a similar level as the virulent strain CMV(Y), but did not induce any symptoms in them. The response of Col-0 to a series of reassortant CMVs between CMV(Ho)tr and CMV(Y) suggested that the establishment of asymptomatic phenotype of CMV(Ho) infection was maintained by *2b* gene of CMV RNA2. The 2b protein interacted with argonaute 4, which is known to regulate the cytosine methylation levels of host genomic DNA. Whole genomic bisulfate sequencing analysis of CMV(Ho)tr- and mock-inoculated Col-0 revealed that cytosine hypomethylation in the promoter regions of 82 genes, was induced in response to CMV(Ho)tr infection. Taken altogether, the results indicate that during persistent CMV(Ho) infection in *Arabidopsis*, host gene expression may be epigenetically modulated by resulting from 2b-mediated cytosine hypomethylation of host genomic DNA.

動物実験に依らない機能性食品の開発：食品成分のヒト腸内での動態を考慮して

大澤 朗^{*,**}

(^{*}神戸大学農学研究科 食の安全・安心科学センター, ^{**} 神戸先制医療システム)

ヒトの健康維持に資する成分を含む食品、「機能性食品」と総称される食品群の中には、その効果が培養細胞や動物を対象とした実験では確認できるがヒト介入試験ではされないものや、ヒトにおいて実効するがそのメカニズムが上手く説明できないものも多々あります。その大きな原因としては、私たちが私たち自身の腸について「解っているようで分っていない」下記のごとくの事が挙げられます。

例えば、これまで大半の食品成分の機能性は主にマウス等の動物実験によってプレ評価されていましたが、そもそもマウスとヒトの腸内細菌叢の構成は属レベルで15%ぐらいしか共通していない事です。すなわち、動物実験において「実証」された食品成分の機能性は肝心のヒトにおいて相当限定的である事になります。これに加えて、ヒトの腸管の構造や機能は部位によってかなり異なる事です。例えば健康者の胃や大腸の表層はバクテリアにとってはかなり分厚いムチン層で覆われているので、細菌体（あるいは巨大分子）が直接腸管上皮細胞と接することない。そのようなことが起こるとすれば、ムチン層が散在して上皮細胞が剥き出しとなっている小腸だけとなります。すなわち、食品成分の小腸と大腸を介する免疫賦与のメカニズムは相当異なるという事に

なります。更に更に、健康なヒトの腸内細菌叢の菌種は分類学的な種別では個人間でかなりバラバラなのですが、機能別の遺伝子群（例えば脂肪、炭水化物の代謝関係）の構成という視点から見るとほぼ同様であるという事です。すなわち、食品成分のヒトの健康に資する効果は、所謂「善玉」と称される限定された細菌属・種の消長や構成変化で「一喜一憂」するのではなく、細菌叢全体で腸内に産生される代謝産物の消長や構成変化によって評価したほうが良さそうだという事になります。

上述のごとくの「解っているようで分かっていないこと」に鑑み、私どもは、免疫系腸管モデル（小腸モデル）と、単槽の小型連続嫌気培養装置によって個々人の腸内細菌叢を再現した培養モデル（大腸モデル）、この2つの *in vitro* 試験系を組み合わせた「腸管モデル」を構築しました。現在、これを用いて様々な食品成分に関してプロバイオティクス、プレバイオティクス、あるいはバイオジェニクスとしての機能性評価を行い、真に実効する機能性食品の開発に取り組んでおりますが、その幾つかを本講演で紹介したいと思います。

Development of functional food, not relying on animal experiments but taking into account the dynamics of food components in the human intestine

RO OSAWA*,**

**Research Center for Food Security and Safety, Kobe,*

***Kobe Preemptive Medical System, Nishinomiya*

There are many foods whose components contribute to the maintenance of human health, which are collectively called "functional foods", whose beneficial effects can be confirmed in experiments on cultured cells or animals but not in human intervention tests, or whose effects in humans cannot be explained well. This is because there are still some aspects that we do not understand fully about what take places in our own gut. These include the difference in microbiota between laboratory animals and human, the difference in mucosal architecture between small and large intestines, and the difference in gut microbiota between taxonomic and functional compositions. Based on the above differences, we have developed an "intestinal model" system that combines two in vitro test systems: an immune intestinal model (human small intestinal model) and a culture model (human large intestinal model) that reproduces the intestinal microbiota of an individual using a single vessel continuous anaerobic culture system. Using these systems, we are now working on the development of truly effective functional foods by assessing the probiotic, prebiotic or biogenic properties of various food ingredients, some of which are presented in the talk.

Lactococcus lactis JCM 5805（プラズマ乳酸菌）の深耕と応用

駒野 悠太

（キリンホールディングス株式会社 品質保証部 信頼性保証室）

Lactococcus lactis JCM 5805（以下、プラズマ乳酸菌）は、免疫機能において重要な役割を果たすプラズマサイトイド樹状細胞（以下、pDC）を活性化することが報告されている乳酸菌である。プラズマ乳酸菌はpDC細胞内のToll like Receptor 9に作用し、インターフェロン α 等の抗ウイルス因子を産生誘導することが知られている。健常人を対象としたヒト試験では、プラズマ乳酸菌摂取により、pDC活性の有意な上昇やインフルエンザ・風邪の罹患日数、それに伴う自覚症状の有意な改善が確認されている。

インフルエンザ・風邪といった感染症予防はスポーツの現場においても大きな課題である。フルマラソン等の高強度のスポーツ後には風邪の罹患数が増加すること知られており、これは運動後に一時的に免疫が低下し易感染状態に陥ること“オープンウィンドウ現象”が原因と言われている。この現象は免疫細胞の一種であるナチュラルキラー細胞が減少することと関連深いとされているが、詳細は不明であった。

そこで我々は、スポーツと樹状細胞との関連を明らかにするために研究を進め、大学の運動部学生を対象に実施したヒト試験によって、運動後にpDC等の樹状細胞の活性が低下することを初めて見出した。そして、プラズマ乳酸菌の有効性を検証するために実施した運動部学生を対象としたヒト試験では、プ

ラズマ乳酸菌摂取によりpDC活性が有意に上昇すること、風邪の罹患日数や自覚症状の累積日数が有意に抑制されることが確認された。さらに興味深いことに、スポーツの現場で同様に課題とされている疲労に関して、疲労感の累積日数が有意に抑制されることも確認された。本結果を追求するために実施したプラズマ乳酸菌と疲労の関連性を評価するためのヒト試験では、プラズマ乳酸菌摂取により自律神経における交感神経と副交感神経バランス（LF/HF）が有意に改善することが確認された。また、高強度の運動ストレス等に反応して血中濃度が低下することで知られているテストステロンが維持されることも確認された。それらを支持する血中および筋中の因子の変化も確認された。これらのことから、プラズマ乳酸菌は高強度の運動による体調不良や疲労の蓄積について免疫機能を維持することで予防することが示唆された。

ヒトやモノのグローバルな移動の増加や種々の社会情勢の変化に伴ってウイルス感染リスクが増加していることは明白であり、我々が取り組むべき社会課題の1つである。当日のセミナーにおいては、プラズマ乳酸菌の研究に着目した食品開発についても紹介したい。

Pursuit and development of *Lactococcus lactis* JCM 5805 research

YUTA KOMANO

Kirin Holdings Company, Limited Quality Assurance Department

Lactococcus lactis JCM 5805 (LC-Plasma) is a unique lactic acid bacteria which activates plasmacytoid dendritic cells (pDC) which play important roles in the immune system. It is known that LC-Plasma acts on TLR 9 in pDC and induces the production of antiviral factors such as interferon- α . It has been reported that LC-Plasma supplementation activated pDC and reduced the cumulative number of incidence days of influenza-like symptoms in healthy subjects.

It is well-known that high intensity exercise increases the risk of upper respiratory tract infections which is caused by a temporary decrease in immunity "open window phenomenon". This phenomenon was thought to be closely related to the decrease in natural killer cells, but the details were unknown.

Therefore, we proceeded with research to clarify the relation between exercise and dendritic cells, and university athletic club students study showed that the activity of dendritic-cell decreased after exercise. And it was shown that LC-Plasma supplementation significantly increased pDC activity and decreased the cumulative number of days of cold illness and subjective symptoms. More interestingly, it was also shown that the cumulative number of days of fatigue was significantly suppressed with LC-Plasma supplementation. In additional human study, it was confirmed a significant improvement in sympathetic and parasympathetic balance (LF/HF) and maintain of testosterone concentration. These results suggest that LC-Plasma prevent deterioration of physical condition and accumulation of fatigue during high intensity exercise by maintaining immune function.

At the seminar, I would like to introduce food development focusing on LC-Plasma research.

小腸と大腸の抗体産生機構における腸内細菌による調節作用

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)

腸管粘膜に分泌される免疫グロブリン (Ig)A は病原体の侵入阻止, 毒素の中和などの生体防御反応や腸内細菌叢の制御, 食物アレルギーの抑制などの腸管の恒常性維持に中心的な役割を果たしている. 腸管 IgA は主に小腸に存在するパイエル板 (PP) などの腸管関連リンパ組織 (GALT) において誘導される. 特に, PP 内の胚中心では濾胞性ヘルパーT (T_{fh}) 細胞と濾胞樹状細胞との相互作用を介して, ナイーブ B 細胞がクラススイッチを起こして IgA 陽性 B 細胞が生成される. 腸内細菌の存在は IgA 産生の重要な促進因子であると同時に, 腸内細菌によって誘導される IgA が腸内細菌叢を調節する. また, 食品由来のタンパク質抗原も PP の胚中心の発達と IgA 産生の誘導を促進し, 病原性細菌に対する感染防御にも寄与することが報告されている. 一方, 腸内細菌の存在しない無菌マウスにおいては, アレルギー反応に関与する IgE 抗体価が高いことが知られている. このとき, PP の T_{fh} 細胞が機能異常を起こし, IgE へのクラススイッチを誘導することが示唆されている. このように, PP における抗体産生応答は腸内細菌や食品抗原によって制御

されている.

一方, 大腸にも PP と類似の構造を持つ盲腸リンパ節 (CeP) や結腸リンパ節などの GALT が存在しているが, その役割やその中の免疫系細胞の機能は不明な点が多い. 特に, 腸内細菌の大部分が大腸に存在しているにもかかわらず, 腸内細菌による大腸の GALT の調節機序はほとんど明らかになっていない. そこで, 我々は, 大腸 GALT の抗体産生能に着目して研究を進めてきた. BALB/c マウスの CeP は, PP に比べて, IgG2b を発現する B 細胞が優位に存在していることを見出した. この CeP の IgG2b 陽性 B 細胞の誘導には腸内細菌を介した myeloid differentiation factor 88 シグナル経路の関与が示唆された. さらに, PP の細胞により産生される IgA 抗体は腸内細菌と食品抗原に結合性を示す特徴を持つものに対して, CeP の B 細胞により産生される IgG2b 抗体は, 腸内細菌に強く結合することが示された. 近年, 健常なヒトやマウスの血液中に腸内細菌結合性 IgG 抗体が存在することが報告されており, 筆者らは CeP がこのような IgG 抗体の供給に寄与している可能性を推察している.

Modulation of antibody production in the small and large intestine by gut microbiota

MASATO TSUDA and AKIRA HOSONO

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

Immunoglobulin (Ig) A secreted in the intestine plays roles in the maintenance of intestinal homeostasis in the face of the exposure to invading pathogens, food-derived antigens and commensal microbiota. The primary sites to generate IgA-producing B cells are Peyer's patches (PPs) which are the part of gut-associated lymphoid tissue. In PPs, the activated B cells undergo class-switch recombination to be IgA⁺ B cells by aid of follicular helper T cells and follicular dendritic cells. On the other hand, there are GALT in the large intestine such as cecal patches (CePs) and colonic patches which have a similar structure to PPs, their precise immunological roles as well as regulatory mechanisms remain largely unknown. We have been conducted our research focusing these points. We demonstrated that CePs have more IgG2b⁺ B cells and few IgA⁺ B cells than those in PPs from BALB/c mice with normal gut microbiota. Gut microbiota via myeloid differentiation factor 88 signaling contribute to generation of IgG2b⁺ B cells in CePs. IgG2b antibodies produced by CePs have a large capacity to bind microbiota, whereas IgA antibodies produced by PPs are reactive to microbiota as well as dietary antigens. Our data suggest that CePs have a different antibody production profile compared to PPs.

腸内細菌が宿主免疫系に与える影響 ～腸内微生物—パイエル板—乳腺経路の発見～

野地 智法

(東北大学大学院農学研究科)

哺乳動物における哺育は、母から子への栄養供給に加え、免疫要素（主として抗体）を、母乳を介して母子移行させる上でも欠かせない行為である。我々は、乳汁抗体の産生機序を明らかにするための研究を通して、乳腺免疫の機能強化（乳汁免疫の質向上）、さらには良質な哺育を介した子の健全育成戦略の構築を目指した研究を実施してきた。授乳期に発達する乳腺房を構成する乳腺上皮細胞からは、細胞遊走活性因子（ケモカイン）の一つである **CCL28** が高産生され、その受容体（**CCR10**）を発現する抗体産生細胞（形質細胞）が乳腺房周囲の間質に呼び寄せられることで、乳汁抗体（主として **IgA**）が分泌される。我々は、授乳期の乳腺に存在する形質細胞の供給源を明らかにするための研究を通して、それらの細胞の大半が、乳腺から遠く離れたパイエル板（小腸に発達する二次リンパ組織）に由来していることを明らかにしてきた。事実、パイエル板を欠損するマウスでは、授乳期の乳腺房周囲に集結する形質細胞数は、通常マウスのそれと比較し有意に低く、また、乳汁抗体 **IgA** の濃度も著しく低値であった。腸管免疫の発達には、腸内微生物の存在は非常に重要であることから、次に、授乳期の腸内の微生物環境を抗生物質（アンピシリン、ネオマイシン、バンコマイシン）を用いて攪乱させた際の乳腺の免疫機能を解析することで、腸内の微生物環境が腸管の免疫機能のみならず、乳汁抗

体 **IgA** 産生に与える影響を評価した。その結果、アンピシリン、ネオマイシンを投与しても、何ら影響のなかった乳腺の免疫機能（乳腺房周囲の形質細胞数や乳汁抗体 **IgA** 濃度）は、バンコマイシン投与により、対照区と比較し、有意に低下することが明らかとなった。これらの結果は、バンコマイシンに対する感受性を有した特定の微生物が、パイエル板の免疫機能を賦活し、その結果として、乳汁抗体 **IgA** 産生が誘導されていることを示唆していた。さらに我々は、授乳期の乳腺免疫の機能形成に関わる腸内微生物の特定を目的としたメタゲノム解析を行い、*Bacteroides acidifaciens* および *Prevotella buccalis* を有力微生物として同定した。事実、腸内の微生物環境を攪乱させることで乳腺免疫の機能低下をもたらした授乳期のマウスに、これらの微生物を経口接種することで、乳腺房周囲の形質細胞数や乳汁抗体 **IgA** 濃度が有意に増加することが示された。また、パイエル板欠損マウスにそれらの微生物を接種しても、そのような効果は全く認められなかったことから、腸内微生物—パイエル板—乳腺経路を介した乳汁抗体 **IgA** の産生機序が実証された。本研究成果は、授乳期の腸内微生物環境を調整する有用微生物を活用した、乳腺免疫の機能強化（哺育の免疫学的質向上）を可能にする授乳期用のプロバイオティクス開発に向けた新たな知見をもたらすものであった。

Gut microorganisms induce Peyer's patch-dependent maternal IgA production in milk

-Discovery of gut microorganisms-Peyer's patch-mammary gland axis-

TOMONORI NOCHI

Tohoku University Graduate School of Agricultural Science, Sendai

Improving breastfeeding quality increases mammalian health across generations. Although the interorgan network among distinct tissues has been implicated in maintaining essential behaviors, including breastfeeding, most details remain unknown. We discuss the essential role of Peyer's patches (PPs), a secondary lymphoid tissue in the small intestine, in breastfeeding. Specifically, PPs constitute an important source of plasma cells, recruited from the mammary glands, to produce maternal IgA, which is transferred from the mother to the offspring through breastfeeding. A more significant advance in this study was that *Bacteroides acidifaciens* and *Prevotella buccalis*, both belonging to Bacteroidales, were identified as essential bacteria in the gastrointestinal tract for stimulating the immune functions in PPs to produce maternal IgA in milk. Our results provide significant insights into the development of novel strategies for transferring sufficient amounts of maternal IgA to the next generation via breastfeeding.

アミノ酸のキラリティによる免疫調節機構

笹部 潤平

(慶應義塾大学医学部薬理学)

右手と左手の関係のように、その鏡像と重なり合わない物性をキラリティと呼ぶ。糖やアミノ酸などのキラルな分子のうち、生命は片方の鏡像異性体を選択的に用いることで恒常性を維持している。実際、タンパク質構成アミノ酸の多くはキラリティがあるものの、生命はL-アミノ酸を中心的に利用し、進化的に一貫してタンパク質の材料として光学選択的に用いてきた。しかし、L-アミノ酸とは異なる場面で生命はD-アミノ酸を利用していることが徐々に明らかとなってきた。もっとも多くD-アミノ酸を利用すると考えられているのは真正細菌である。D-アミノ酸は、細菌細胞壁に含まれるペプチドグリカンの架橋に用いられるのみならず、細胞壁のリモデリングの刺激因子としても利用され、細菌には不可欠な分子である。

哺乳類は細菌由来の様々な細胞壁成分（ペプチドグリカンやLPS）をパターン認識していることが知られている。多くの種類のD-アミノ酸は真正細菌のみが産生し、ペニシリンやバンコマイシンなどの抗生物質の標的ともなっているが、D-アミノ酸が哺乳類の細菌認識機構や免疫構築にどのような意義があるのかはほとんど理解されてこなかった。本講演では、a)アミノ酸のキラリティと生命におけるD-アミノ酸の利用、b)細菌におけるD-アミノ酸の役割、c)哺乳類のD-アミノ酸認識機構、d)哺乳類によるD-アミノ酸への反応・代謝が腸内細菌や宿主の免疫構築に及ぼす影響、について最近の知見を交えてご紹介したい。

Chirality of amino acids modifies immune reactions to bacteria

JUMPEI SASABE

Department of Pharmacology, Keio University School of Medicine, Tokyo

Chirality is a property that a subject does not overlap with its mirror image. Among chiral molecules such as sugars and amino acids, organisms maintain homeostasis by using one of the enantiomers selectively. While organisms use L-amino acids in most biological processes, bacteria have large capacity to utilize D-amino acids. Bacteria synthesize variety of D-amino acids and utilize the amino acids not only as integral components of the cell wall but also as functional molecules to modulate synthesis of the cell wall. Mammals recognize and respond to diverse microbial products, including fragments of the cell wall, however, the impact of free microbial D-amino acids on host physiology at the host-microbial interface is not well understood.

In this talk, I will introduce the background of amino acid chirality and discuss 1) what sort of D-amino acids are produced by gut microbiota, 2) how mammals respond to such microbial D-amino acids, and 3) whether such responses influence host immune development.

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ます。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, μ m, nm, l, ml, μ l, kg, g, mg, μ 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 GNOTOBIOLOGY

<i>Hitoshi Shirakawa</i>	2
--------------------------------	---

PROGRAMS OF THE FIFTY-FOURTH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

Basic research on anti-viral Immunobiotics <i>Haruki Kitazawa</i>	7
Persistent infection of <i>Arabidopsis thaliana</i> with cucumber mosaic virus : a conditional mutualistic sybion ? <i>Hideki Takahashi</i>	9
Development of functional food, not relying on animal experiments but taking into account the dynamics of food components in the human intestine <i>Ro Osawa</i>	11
Pursuit and development of <i>Lactococcus lactis</i> JCM 5808 research <i>Yuta Komano</i>	13
Modulation of antibody production in the small and large intestine by gut microbiota <i>Masato Tsuda et al.</i>	15
Gut microorganism induce Peyer's patch-dependent maternal IgA production in milk - Discovery of gut microorganisms - Peyer's patch-mammary gland axis - <i>Tomonori Nochi</i>	17
Chirality of amino acids modifies immune reactions to bacteria <i>Junpei Sasabe</i>	19

GUIDELINE FOR AUTHORS

Guideline for authors	23
-----------------------------	----