

「線虫モデルを用いた乳酸菌摂取におけるアミロイドβ生成抑制効果の検証」

兵庫県立大学 大学院環境人間学研究科

小村 智美

1 研究の背景と目的

急速な高齢化に伴い認知症患者は増加の一途を辿り、厚生労働省は、2025年には65才以上の5人に1人が認知症を発症すると推計されている。認知症患者の60%はアルツハイマー型であり、脳内の神経細胞外でアミロイドβペプチド（Aβ）が局所的に凝集し、神経細胞に変性を来すことで記憶障害が生じる。健常者と認知症患者の境界域「軽度認知障害」は、既に脳内でAβ凝集が顕著に認められたため、認知症の発症は体内でのAβ生成が引き金とされている（Jack et al., Lancet Neurol., 2010）。

最近、米国にてAβ減少効果を有する抗体医薬が承認されたものの、抗体医薬は製造コストが高く、高額な医療費を必要とするため、誰しもが受け難い治療法である。そのため健康なうちから日常生活を通じてAβ形成や認知症発症を予防することが重要であるものの、予防策は明らかにされていない。

近年、抗加齢医学分野においては、アルツハイマー病など神経変性疾患に関する研究が活発に進められているものの未知な点も非常に多い。その理由のひとつとして哺乳動物の実験の場合、長期の実験期間や実験コストがかかり、動物倫理の制約が厳しいことが挙げられる。これまで筆者は、マウスなど哺乳類の実験動物の代わりとなるモデル生物「*Caenorhabditis elegans*（線虫）」を用いて乳酸菌摂取における寿命延長効果や抗老化作用見出してきた（Komura et al., Biogerontology, 2013、Komura et al., Microbiol Spectr. 2022）。そこで本研究では線虫を用いて、乳酸菌におけるAβ生成の抑制効果を検証した。

2 研究方法・研究内容

本研究は、ヒトAβ合成遺伝子を導入したトランスジェニック線虫を用いて、①乳酸菌摂取における神経機能への影響と②トランスジェニック線虫体内のAβ発現量の変化について検討を行った。

実験1. ヒトAβ合成遺伝子導入線虫を用いた乳酸菌給餌における神経機能への影響

アルツハイマー病の神経障害は、脳内でのアミロイドβ（Aβ）の凝集蓄積が重要因子とされている。そこで、神経にヒトAβ合成遺伝子を導入したトランスジェニック線虫（Wu et al. J Neurosci., 2006）を用いて、下記の誘引行動実験を行った。線虫飼育培地に芳香族アルデヒド（ベンズアルデヒド）とエタノール（ベンズアルデヒドの溶媒）をスポットし、培地中央に線虫をおき、一定時間後にベンズアルデヒドに誘引された線虫数を評価した（図1）。なお、スポット溶液にはア

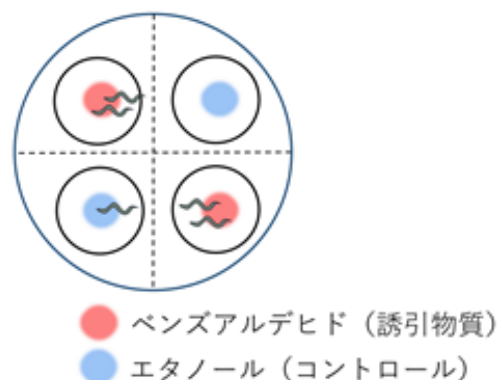


図1. 誘引行動実験

ジ化ナトリウムを含め、線虫がスポットした場所で麻酔作用により行動が停止するようにした。

実験 2. 乳酸菌を与えた線虫体内の A β 量の変化

実験 1 にて誘因行動低下の改善を示した乳酸菌を与えた線虫は、体内の A β 量が減少しているのか否か、その変化を遺伝子レベルとタンパクレベルで検証した。

2-1. 遺伝子レベルの変化

乳酸菌を与えたトランスジェニック線虫と、乳酸菌を与えなかったトランスジェニック線虫の体内から RNA を抽出し、cDNA を合成した。この cDNA を鋳型として RT-PCR を行い、A β 合成遺伝子の mRNA 量を測定した。

2-2. タンパクレベルの変化

乳酸菌を与えたトランスジェニック線虫と、乳酸菌を与えなかったトランスジェニック線虫それぞれの体内のアミロイド β タンパク量を、抗 A β 抗体を用いた免疫組織化学染色法にて調べた。

3 研究成果

結果 1. ヒト A β 合成遺伝子導入線虫を用いた乳酸菌給餌における神経機能への影響

野生型線虫はベンズアルデヒドに対して正の誘引行動を示した。一方、トランスジェニック線虫はベンズアルデヒドに対する誘引行動の低下が認められた。そこでトランスジェニック線虫に予め種々の乳酸菌株を与え、その後に誘因行動実験を実施したところ、今回調べた乳酸菌 14 株中 2 株 (*Lactococcus laudensis* と *Pediococcus parvulus*) において顕著な誘引低下の抑制を示した。

結果 2. 乳酸菌を与えた線虫体内の A β 量の変化

2-1. 乳酸菌を与えた線虫体内の A β 合成遺伝子量の変化

結果 1 において誘因行動低下を抑制した乳酸菌 2 株を与えたトランスジェニック線虫と、乳酸菌を与えなかったトランスジェニック線虫において、A β 合成遺伝子の発現量を比較したところ、mRNA 量の顕著な変化は認められなかった。

2-2. 免疫組織化学染色法を用いた線虫体内の A β 発現変化

結果 1 において誘因行動低下を抑制した乳酸菌 2 株を与えたトランスジェニック線虫と、乳酸菌を与えなかったトランスジェニック線虫の免疫染色を行ったところ、乳酸菌を与えた線虫において顕著に A β タンパクが低下した（図 2）。

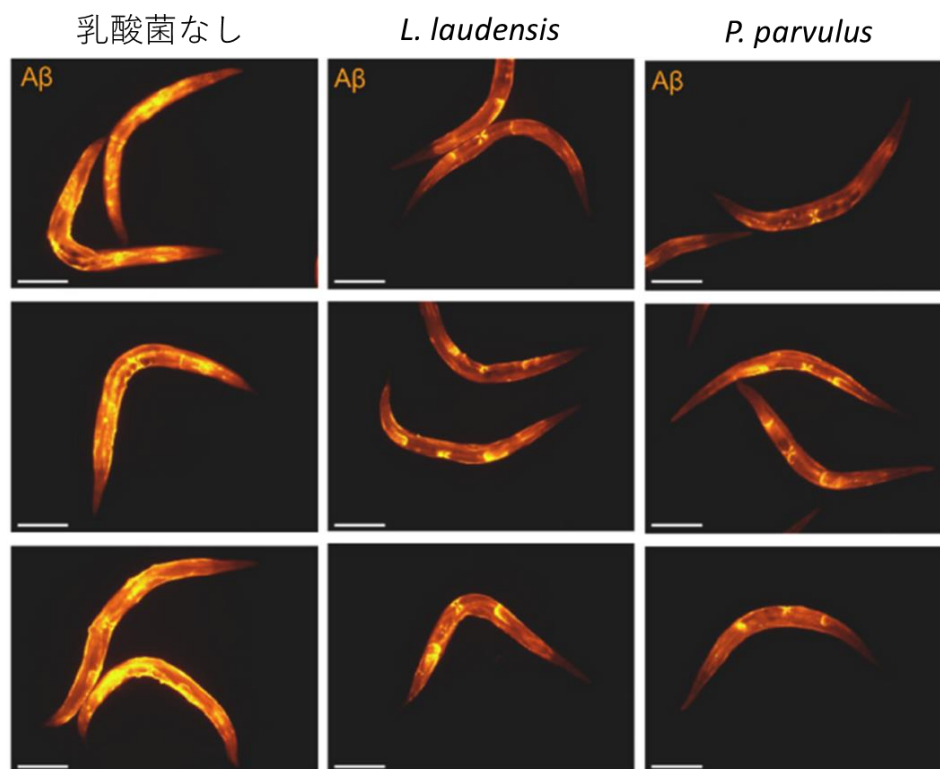


図 2. A β の免疫染色画像（Scale bar: 100 μ m）

以上のことから、*L. laudensis* および *P. parvulus* は線虫体内の A β タンパクの蓄積を抑制し、神経機能の異常を緩和させることが示唆された。

なお本研究成果は、下記の国際誌にて誌上発表を行ったため、詳細な研究方法や成果は論文を参考にされたい。

Tomomi Komura, Motoshi Aoki, Satoshi Kotoura, Yoshikazu Nishikawa. “Protective effect of *Lactococcus laudensis* and *Pediococcus parvulus* against neuropathy due to amyloid-beta in *Caenorhabditis elegans*”, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 155: 113769, 2022.

4 生活や産業への貢献および波及効果

食を通じたヒトの健康や疾患の理解のための基礎研究は、マウスやラットなど哺乳動物を用いた実験が一般的である。食品由来の細菌あるいは食品成分をスクリーニングする際、哺乳動物を用いるとなれば、評価するまでに数カ月の飼育期間を要する。また有効成分を探索するとなれば、複数群飼育する必要があり実験コストもかかる。さらに動物福祉の観点から、実験で用いる哺乳動物の苦痛の最小化、使用頭数の最小化が必須であり、多くの実験を試行錯誤することは困難である。そこで、線虫などモデル生物を利活用することは、上記問題点をクリアさせることが可能であると考えられる。本研究で用いた乳酸菌株は食品から分離しているため、人体への安全性が高い。今後、作用機序を解明できれば、加速する認知症に歯止めをかけるための重要な基礎的知見を得ることができるだろう。