

加齢に伴う腸内環境の変化と防御免疫機能低下に関する研究（29-26）  
高齢者の感染に対する防御免疫機能低下に関する基礎研究

主任研究者 丸山 光生 国立長寿医療研究センター 副所長・老化機構研究部長

### 研究要旨

#### 3年間全体について

我が国における高齢者の健康状態の維持と共にリスクを負った時の重篤化の回避、あるいは予防は極めて重要な施策である。本研究の「研究の対象範囲」は長寿医療研究開発費取扱規定第2条に示された「老化の機構に関する研究」に属する。高齢者が患う認知症や骨粗鬆症などの老年疾患の直接の引き金とはならないまでも、生体防御機能が低下するという老化の機構解明は高齢者の死因でも常に上位にある感染症に深く関与する機構でもあり、疾患の克服だけに限らず高齢者の生活の質(QOL)を高め、健康寿命の延伸にもつながる重要かつ喫緊の課題である。その中で特に本研究課題では、「加齢に伴う免疫機能低下機構を腸内環境に関わる粘膜、腸管免疫系に見られる変化を中心に解析し、低下の予防、克服を目指す新たな知見を得る」までに焦点を絞ることを研究目的の根幹として研究を行った。これまでの先行研究で加齢に伴う免疫機能の低下には生体防御機能と免疫監視機構の加齢変化(脆弱化)が関わっていることを明らかにしてきた。一方では国内外において、近年、腸管を含む粘膜免疫系も加齢に伴う機能低下を示すことや腸内細菌が宿主のリンパ球系免疫機能を制御してウイルスや細菌感染時の免疫応答の維持に関与することが強く注目されるようになった。そこで、本研究課題では腸内環境の加齢変化に注目することで、基礎老化研究として感染と深く関わる「①防御免疫機能の低下機構と腸内フローラとの相関に関する研究」を根幹となる研究として、臨床への橋渡し研究として「②ウイルス、細菌感染あるいは炎症時に見られる腸内フローラや免疫応答の変化」に関する研究を、さらには評価システムの開発研究として「③加齢に伴う栄養摂取を介した恒常性維持への免疫・代謝機能変化とその評価モデル系の開発」の3点に焦点を絞って研究を進めてきた。

3年間全体を通して、本研究に関わるすべての動物実験に関しては実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえ、的確に管理した。さらに一部のウイルス株を用いた感染実験においては感染実験安全委員会、ならびに動物実験倫理委員会に加えて遺伝子組換え実験委員会による承認を受けた後、適切に実施した。

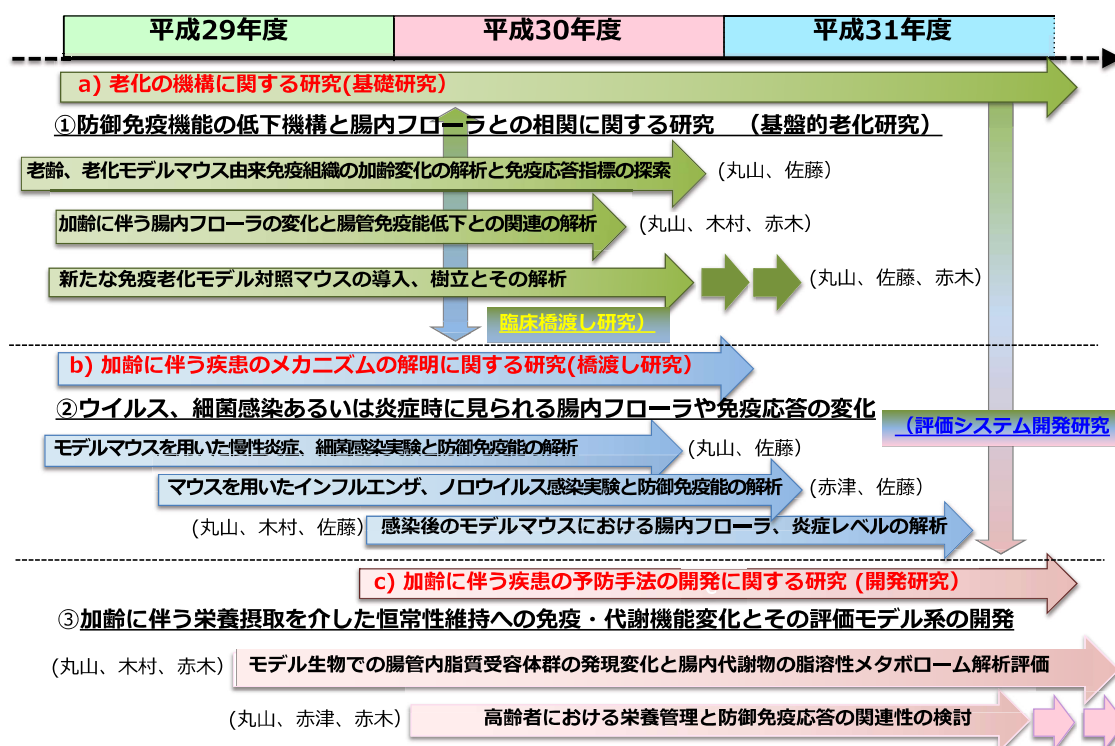
#### 2019年度について

最終年度となる2019年度は「老齢、老化モデルマウス由来免疫組織の加齢変化の解析と免疫応答指標の探索」と「加齢に伴う腸内フローラの変化と腸管免疫能低下との関連の解析」、ならびに「モデルマウスを用いた慢性炎症、細菌感染実験と防御免疫能の解析」、「モデル生

物での腸管内脂質受容体群の発現変化と腸内代謝物の脂溶性メタボローム解析評価」を手掛けることで免疫機能改善の指標となる栄養、老化によって変化する腸内細菌の探索を行った。

「加齢に伴う腸内環境の変化と防御免疫機能低下に関する研究」(年次計画)

赤字は長寿医療研究開発費取扱細則第2条に示された研究開発費で行う「研究の対象範囲」



主任研究者

丸山 光生 国立長寿医療研究センター 副所長・老化機構研究部 (部長)

分担研究者

赤木 一考	国立長寿医療研究センター	組織恒常性 PT	(PL)
佐藤慎太郎	大阪市立大学大学院医学研究科	ゲノム免疫学	(准教授)
赤津 裕康	名古屋市立大学	大学院医学研究科	(教授)
木村 郁夫	東京農工大学	農学研究院	(教授)

研究期間 2017年4月1日～2020年3月31日

## A. 研究目的

世界的にも長寿先進国である我が国においては高齢者の健康状態の維持と共にリスクを負った時の重篤化の回避、あるいは予防が極めて重要な施策である。本研究の「研究の対象範囲」は長寿医療研究開発費取扱規定第2条に示された「老化の機構に関する研究」に属する。高齢者が患う認知症や骨粗鬆症などの老年疾患の直接の引き金とはならないまでも、加齢とともに生体防御機能が低下する老化のメカニズムの解明は高齢者の死因でも常に上位にある感染症に深く関与する機構でもあり、疾患の克服だけに限らず高齢者の生活の質(QOL)を高め、健康寿命の延伸にもつながる重要かつ喫緊の課題でありその重要性、必要性を疑う余地はない。その中でこれまで先行研究により得られた知見を元に29年度開始の本研究課題では、3年間の全体計画として「加齢に伴う免疫機能低下機構を腸内環境に関わる粘膜、腸管免疫系に見られる変化を中心に解析し、低下の予防、克服を目指す新たな知見を得る」までに焦点を絞ることを研究目的の根幹とした。そしてさらに個々の分担研究者を中心としては以下の研究内容を3本柱として時系列的に研究を進める事を目標に設定した。

① 防御免疫機能の低下機構と腸内フローラとの相関に関する研究

② ウイルス、細菌感染あるいは炎症時に見られる腸内フローラや免疫応答の変化

③ 加齢に伴う栄養摂取を介した恒常性維持への免疫・代謝機能変化とその評価モデル系の開発

主任研究者は研究班全体の総括をするとともに、免疫老化関連遺伝子の1つである Zizimin2(Ziz2/Dock11)を中心とした Zizimin ファミリーの免疫系に関する分子機構を明らかにするために、「高齢者の感染に対する防御免疫機能低下に関する基礎研究」の一部として免疫老化関連遺伝子として同定した Ziz2 の個体レベルでのウイルス、病原体感染時における機能を中心にそのファミリー遺伝子も含めた解析をこの研究班でも一貫して継続性のある研究を行った。

## B. 研究方法

### 3年間全体について

先行研究により得られた知見を元に29年度開始の本研究課題では、具体的には29,30年度に「老齢、老化モデルマウス由来免疫組織の加齢変化の解析と免疫応答指標の探索」と「加齢に伴う腸内フローラの変化と腸管免疫能低下との関連の解析」を行い、30,31年度を中心に「モデルマウスを用いた慢性炎症、細菌感染実験と防御免疫能の解析」、「モデル生物での腸管内脂質受容体群の発現変化と腸内代謝物の脂溶性メタボローム解析評価」をはじめすることで免疫機能改善の指標となる栄養、老化によって変化する腸内細菌の探索を行った。

① 防御免疫機能の低下機構と腸内フローラとの相関に関する研究

：(木村・佐藤・赤津・丸山)

免疫老化関連遺伝子である Zizimin2 (Dock11/Ziz2) 遺伝子の機能解析においては腹腔 B1-a 細胞における解析を中心に丸山が分担した。具体的には先行研究以来用いている免疫老化関連遺伝子欠損マウス(Ziz2, Ziz3 KO、さらには Ziz2,3DKO マウス)を用いた個体レベルでの免疫応答について、Zizimin ファミリー遺伝子の機能的補完の可能性の有無に加えて、B細胞を中心に細胞特異的 Cre 発現マウスを交配させることで、Zizimin2 が関わる新たな免疫老化のメカニズムの解析も継続的に検討した。佐藤は昨年同様、よりマウス感染に最適化されたインフルエンザウイルス、A/California/7/2009 (H1N1) pdm 株を用いて、若齢・老齢マウスに感染させ、老化に伴う腸内細菌相変化と免疫応答の関連、とりわけインフルエンザを指標にした感

感染症と腸内細菌叢との関連について科学的な立証を試みた。

②ウイルス、細菌感染あるいは炎症時に見られる腸内フローラや免疫応答の変化

：(佐藤・丸山)

2017, 18年度の感染前、感染後42日目にそれぞれのマウスから血清、7, 10, 14, 28日後における糞便由来の含まれる total IgG と抗原 (HA) 特異的 IgG 量の測定に引き続き、2019年度は若齢、老齢マウスの A/California/7/2009 (H1N1)感染前、感染28日後における糞便を採取し、そこに含まれる total IgA と HA 特異的 IgA 量を測定すると共に、次世代シーケンサーを用いた16S rRNA メタゲノム解析を行い、それぞれのマウス群における腸内細菌叢の変動を解析するとともに iPath3 を用いて代謝パスウェイの比較解析も行った。

③加齢に伴う栄養摂取を介した恒常性維持への免疫・代謝機能変化とその評価モデル系の開発

：(赤木・木村・丸山)

赤木は30年度、加齢に伴う腸の透過性の変化(主に上昇)や炎症がどのような分子メカニズムで起こるのかをこれまで彼が指標にしてきた細胞競合のシステムに注目して研究を行った。その結果、加齢に伴う腸内環境の変化が腸管上皮恒常性に与える影響についてシグナル経路や作用機序の解明を目指した。また木村を中心にして近年、食物繊維等の食事由来多糖類の腸内細菌主要代謝産物である短鎖脂肪酸や、食事由来の長鎖脂肪酸である  $\omega 6$  脂肪酸、 $\omega 3$  脂肪酸等の腸内代謝脂肪酸が、各種脂肪酸受容体群を介し、腸管免疫系に深く関与することで宿主側の恒常性維持機構に多大な影響を与えることが明らかになりつつある。この中で、加齢に伴う栄養摂取を介した恒常性維持への免疫・代謝機能変化の影響もまた、これら各種脂肪酸受容体群の関与が予想される。そこで、加齢に伴う種々の脂肪酸受容体と腸内細菌叢、ならびにその代謝産物の代謝恒常性の破綻のメカニズムに着目し、加齢マウスと若齢マウスの腸管での各種脂質受容体群の発現変化比較および腸内代謝物の脂溶性メタボローム解析比較を行う。加齢に伴う栄養・腸内変化による腸管免疫系から全身性の免疫系、あるいは恒常性機能への関与について解析を試みた。

一方、腸管免疫系における加齢変化については、免疫能の改善も期待されるプロ、あるいはプレバイオティクス等の栄養介入によって老化関連疾患の発症や有病率が変化する要因について解析した。具体的には、乳酸菌パラカゼイの一種を長期摂取させたマウスでは小腸粘膜固有層における腸内細菌叢の改善、炎症を惹起させる CD4 陽性 T 細胞の抑制等のこれまでも見られた老化関連の変化の詳細を検討しつつ、乳酸菌を長期摂取させる栄養介入において、小腸粘膜固有層周辺で見られた抗炎症、免疫応答がどのように全身の炎症反応に関与していくのかを腸内細菌叢、SASP 因子を含む炎症性サイトカイン等の変化を解析した。研究協力者として3年間を通じて、研究開発費研究員の坂本に加え、研究生として上述した実験動物を用いたプロバイオティクス介入による高齢者の免疫機能賦活化に関する腸管免疫系解析に関しては KIRIN 株式会社(森田)が断続的に参加した。

2019年度について

主任研究者として研究の総括を行いながら、「高齢者の感染に対する防御免疫機能低下に関する基礎研究」という分担研究課題としては「Ziz2/3 DKO マウスの腹腔内 B1-a,b 細胞における機能低下と自然抗体、細菌感染に対する易感染性の分子機能を解析した。さらに慢性炎症、細菌感染実験と防御免疫能の解析を樹状細胞系列における活性化シグナルを中心に解析、腸管免疫系の加齢との関連、あるいは細菌感染実験を絡めた Ziz2、3KO マウスと



IL-10KO の交配を通して新たな老化関連炎症モデルマウスを確立し解析と論文化を目指した。研究協力者（流動研究員 1 名ならびにポストドク 1 名）が参加した。また、腸管免疫系の研究計画としては分担研究者の佐藤と木村が中心になって、脂肪酸受容体 GPR40 や GPR120 遺伝子欠損加齢マウスを用い、加齢における油脂摂取による免疫・代謝機能変化への影響について生体機能評価を行った。特に、2018 年度までに確認できた加齢に伴う産生変動の見られた腸内細菌代謝脂肪酸に焦点を絞り老化関連腸内細菌由来脂肪酸と宿主への影響について解析を進める。以上より、加齢に伴う栄養・腸内環境変化による腸管免疫・代謝系からの全身恒常性機能への関与について基礎データの蓄積を目指した。加えて、赤木を中心に 2018 年度までに、NF-KappaB のショウジョウバエ相同遺伝子である Relish を腸管特異的にノックダウンすることにより、健康寿命の短縮が観察された結果の再現性を確認した。さらに、腸管免疫機能の低下が腸内フローラや腸管上皮恒常性にどのような影響を与えるかについて検討し、これらにより、腸管免疫機能の低下が、腸内細菌叢の変化の直接的な原因になるのかどうかについて明らかにすることを目指した。

#### （倫理面への配慮）

主任研究者の属する施設（NCGG）ではヒト試料を対象とする研究は分担研究者を含め、ヒト試料を対象とする研究は含まれていない。一方、すべての研究に関わる動物実験に関しては実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえた確に管理されていた。さらに一部、免疫老化関連遺伝子欠損マウス、初代培養細胞株への一部のウイルス株（ノロウイルス、あるいはインフルエンザウイルス）あるいは細菌株を用いた感染実験においては国立長寿医療研究センター 感染実験安全委員会、ならびに動物実験倫理委員会に加えて遺伝子組換え実験委員会による承認を受けた後、適切に実施した。

その他、移動等を伴う遺伝子組換え体の扱いについてはカルタヘナ議定書に基づく「遺伝子組換え生物等の使用に規則による生物多様性の確保に関する法律」に従って遂行した。本研究はいくつかの組み換え DNA 実験と動物実験より構成されるので、我が国の感染症新法とカルタヘナ条約の批准による組み換え生物拡散防止に関する法の 2 つの法令に沿って計画・準備されている。

## C. 研究結果

### 3 年間全体について

全体計画としては、本研究は「加齢に伴う免疫機能低下機構を腸内環境に関わる形で粘膜免疫系、腸管免疫系に見られる変化を中心に解析し、低下の予防、克服を目指す新たな知見を得る」までに焦点を絞り、分担研究者との共同研究、情報交換を通して以下の 3 課題を柱として研究を進めてきた。

#### ① 防御免疫機能の低下機構と腸内フローラとの相関

（木村・佐藤・赤津・丸山）

「免疫老化関連遺伝子である Zizimin2 (Dock11/Ziz2) 遺伝子の機能解析においては腹腔 B1-a 細胞における免疫応答の解析に加え、獲得免疫系における生理的機能の解析、病原体の

感染後に免疫能の維持に重要な働きを示す記憶 B 細胞の産生と維持に関わる部分を丸山が中心に担当してきた。佐藤は本研究において、PR8 よりもマウスに最適化されたインフルエンザウイルス、A/California/7/2009 (H1N1) pdm 株を用いて、若齢・老齢マウスに感染させた。この株は老齢マウスにおいて感染 10 日後をピークとして体重減少が認められ、それに伴う振戦も認められた。老齢マウスでも感染後に死亡しない感染量を求めた。結果、15 ヶ月齢の C57BL/6J を用いて検討し、老齢マウスでは  $1.0 \times 10^4$  TCID50/mL、 $5.0 \times 10^4$  TCID50/mL の 2-dose で感染をさせることとした。

### ② 病原体感染あるいは炎症時における腸内フローラや免疫応答の変化

(丸山、佐藤)

腸内フローラと自己免疫疾患、生活習慣病、感染症を含む各種疾患との関係性が注目されており、老齢化に伴った免疫機能低下においても腸内フローラの変化が関係していることが予想される。Zizimin2 を指標にしたインフルエンザウイルス感染前後の免疫応答の変化をこれまでも検討したが、これまで用いていた H1N1 型 PR8 よりもマウスに最適化されたインフルエンザウイルス、A/California/7/2009 (H1N1) pdm 株を用いて、若齢・老齢マウスに感染させ、感染の前後の体重変化を図 1

にまとめた。また感染前、感染後 42 日目にそれぞれのマウスから血清を調製し、血清中に含まれる total IgG と抗原 (HA) 特異的 IgG 量を測定した。さらに、感染前、感染後 7, 10, 14, 28 日目に糞便を回収し、次世代シーケンサーによる 16S rRNA 解析を行い、インフルエンザ感染と腸内細菌叢の相関を解析する目的で感染前後における若齢、老齢マウスの腸内細菌相変化を観察した。結果、若齢、老齢マウス共にほぼ同じ腸内細菌叢の変異が起こることを示す傾向が認められた。さらに図 2 に示すように、iPATH3 を用いて代謝パスウェイの加齢変化を解析した結果、若齢マウスと比較して老齢マウスでは全体的に腸内細菌の代謝変動が弱いことが示唆された。その中でも老齢でピルビン酸代謝経路が更新されているのが判明した。

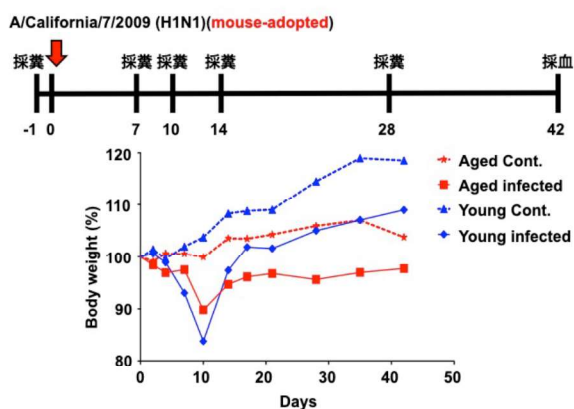


図 1 インフルエンザウイルス感染前後の体重変化と腸内細菌叢解析プロトコール

た。結果、若齢、老齢マウス共にほぼ同じ腸内細菌叢の変異が起こることを示す傾向が認められた。さらに図 2 に示すように、iPATH3 を用いて代謝パスウェイの加齢変化を解析した結果、若齢マウスと比較して老齢マウスでは全体的に腸内細菌の代謝変動が弱いことが示唆された。その中でも老齢でピルビン酸代謝経路が更新されているのが判明した。

### ③ 加齢に伴う栄養摂取を介した恒常性維持への免疫・代謝機能変化とその評価モデル系の開発

(赤木・木村・丸山)

赤木は寿命延伸効果が知られている食餌制限 (DR) によって、加齢に伴う腸管バリア機能の破綻が抑制できる作用機序について、ショウジョウバエ腸管では、DR によって転写因子 dMyc の発現が一定に保たれ、アポトーシスを抑制することで腸管バリア機能を維持していること、また高栄養条件においた個体や老化した個体では、dMyc の発現が低下することで高頻度でのアポトーシスが誘発されることで腸管バリア機能が低下し、全身感染症が引き起こされることがわかった。木村を中心には加齢に伴う栄養および腸内細菌叢の変化による宿主の生理機能への影響を明らかにすることを目的として、加齢マウスにおける①各種脂肪酸受容

体の発現解析、②食事脂質の影響、③食物繊維の影響、さらに④各種脂肪酸受容体欠損した加齢マウスの作成を進めてきた。具体的には①長鎖脂肪酸受容体 GPR40 と GPR120、短鎖脂肪酸受容体 GPR41 と GPR43 の加齢による発現変化を定量 RT-PCR で調べ、いずれも大腸で

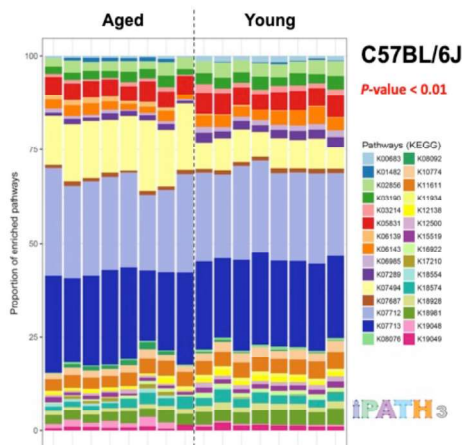


図2 C57BL/6Jにおける代謝パスウェイの加齢変化

は減少する傾向が見られ、GPR41 と GPR43 は脂肪組織で増加した。②食事脂質の影響に関しては大腸の長鎖脂肪酸受容体の発現比較を行い、若齢マウスでは高脂肪食負荷で大腸 GPR120 の発現が低下したが、GPR40 の発現には高脂肪食負荷の影響は観察されなかった。老齢マウスで腸管 GPR120 の発現と GLP-1 量が低いことから加齢における GLP-1 の分泌低下は GPR120 の発現低下による可能性が考えられた。一方で長鎖脂肪酸受容体のリガンドとなりうる腸内細菌で生成

される脂肪酸を測定してみたところ、盲腸内で加齢と高脂肪食によって影響を受ける脂肪酸のあることがわかった。③食物繊維の影響については糞便中の短鎖脂肪酸分析と腸内細菌叢の解析を行い、食物繊維負荷により糞便中の酢酸やプロピオン酸が若齢と老齢マウスいずれでも増加傾向を示した。糞便中の腸内細菌叢の解析からは、Family Level の解析で若齢、老齢共に食物繊維負荷で Desulfovibrionaceae が増加することが明らかになったが、食物繊維の影響は加齢変化としては大きな差は観察されなかった。④各種脂肪酸受容体欠損した加齢マウスの作成については GPR40KO マウス、GPR43KO マウスについては、20 週齢辺りで体重が 30-35 g となり、40 週齢辺りでさらに体重が増加し 35-40 g となった。また、一年齢でのエネルギー消費量を比較すると、B6J に比べて GPR40KO マウス、GPR43KO マウスはエネルギー消費量が低い傾向を示した。

## 2019 年度について

「エネルギー代謝に関連した高齢者腸内環境と免疫機能低下予防に関する研究」について赤津を中心に取り組み、2018 年度までの高齢者に対して、プレ/プロバイオティックスの栄養介入を行い、インフルエンザワクチン抗体価の変遷、血中サイトカインの変化、便性、便からの腸内細菌叢遺伝子解析によるフローラの変化については引き続き、継続研究課題として検討した。これまでの高齢者の腸内環境と免疫機能低下の予防研究に外的ストレス要因も加えて研究を開始した。またヒト検体を用いた加齢による抗体産生の反応性を解析するためのコホート体制づくりや加齢による抗体産生の反応性の解析も部分的に進めることができた。

## D. 考察と結論

### 3 年間全体について

本研究は「老化の機構に関する研究」のみならず、中期計画における「加齢に伴う疾患

等の本態解明」、すなわち老化に伴う身体機能の脆弱化の中でも、多くの老年疾患の引き金となる生体防御系の機能低下について、そのメカニズムを理解し、克服し、重篤化を予防することが期待される。研究開始初年度の2017年度は加齢に伴い、多価不飽和脂肪酸受容体の発現が低下することが明らかにし、GPR120発現低下に伴い腸管ホルモン分泌が低下し、それが宿主の代謝機能低下や免疫系においてもマクロファージを介した脂肪組織慢性炎症の抑制に関わることの一因に繋がっている可能性が示唆することができた。一方で、近年、獲得免疫系、自然免疫系が巧みなバランスで働くことで生体を防御することが明らかになった粘膜・腸管免疫系（腸内フローラと感染症を含む各種疾患との関連性）が注目されている。すなわち、加齢に伴う免疫機能が低下する原因として、腸内フローラの加齢変化を通じた腸管免疫系の免疫動態を客観的に評価することが注目されており、本研究を継続することで高齢者における免疫機能が栄養摂取による改善や賦活化につながる有効な方策を検討していくことができたと考えている。研究開始後2年目になる2018年度は最終年度となる2019年度とのつながりが極めて強く、加齢と高脂肪食負荷が長鎖脂肪酸受容体GPR120の発現や消化管ホルモンであるGLP-1量に影響を与えていることが明らかになった。加えて高脂肪食や加齢によって影響を受ける腸内細菌とその脂肪酸代謝物を検出することができたことはやはり、加齢に伴って腸管の受容体発現低下や腸内細菌叢とその代謝産物が、宿主の代謝機能の低下に重大な影響を与えている可能性が考えられた。一方で、近年、獲得免疫系、自然免疫系が巧みなバランスで働くことで生体を防御することが明らかになった粘膜・腸管免疫系（腸内フローラと炎症、感染症を含む各種疾患との関連性）が注目されている。すなわち、加齢に伴う免疫機能が低下する原因として、腸内フローラの加齢変化を通じた腸管免疫系の免疫動態を客観的に評価することが注目されており、本研究を継続することで高齢者における免疫機能が栄養摂取による改善や賦活化につながる有効な方策を検討していくことができると考えている。ショウジョウバエを用いたモデルシステムで加齢した腸管ではSPiDER-β-Gal陽性細胞が増加し、その増加は食事制限によって抑制できることが明らかになった。今後はSPiDER-β-Gal陽性細胞がこれまでに報告されているloser cellマーカーやサイトカインの発現を同時に検討していく必要がある。また、30年度は免疫能の改善も期待されるプロ、あるいはプレバイオティクス等の栄養介入によって老化関連疾患の発症や有病率が変化する要因について解析した。結果にも示したように乳酸菌パラカゼイの一種を長期摂取させたマウスでは小腸粘膜固有層における腸内細菌叢の改善、炎症を惹起させるCD4陽性T細胞の抑制等のこれまでも見られた老化関連の変化のみならず、驚いたことに加齢に伴う網膜細胞の欠落にも抑制効果を示した。このことから、我々はこのパラカゼイ株は生理的老化マウスにおける慢性炎症や加齢依存的な網膜細胞欠損の抑制に寄与したと考察している。この3年間の研究を通して、健常高齢者においても日常生活の中で免疫能の低下が予防する手立てが提唱できれば医療政策的に、高齢者のQOLを改善できるばかりでなく、疾患療養中の高齢者にとっても、感染等に対するリスクの軽減に大いに期待される。

#### 2019年度について

本研究の最終年度となる今年度は加齢と摂取栄養の観点からは高脂肪や食物繊維の吸収への適応変化の解析が可能となり、今後これらの栄養摂取と関連の高い脂肪酸受容体変異マウス

を用いることで、加齢による代謝変化の分子メカニズムの解明が期待できる点が大きな成果である。また加齢に伴う腸内細菌叢の変化を制御できるプロバイオティクスの探索の一端から加齢に伴う網膜細胞死や身体活動量低下を抑制させる効果を有する乳酸菌を見だし、今後はそれらの分子メカニズムの解明が可能になった。さらには、この腸内細菌叢変化と免疫応答、特に感染症と腸内細菌叢の関連の科学的な立証は今後大変注目される分野であり、まさに本研究がその最先端かつ中核を担っている。具体的に若齢、老齢マウス双方において、インフルエンザウイルス感染前後で腸内細菌叢がダイナミックに変化していることが本研究で判明しており、変化の詳細については今後明らかにしていく必要がある。これらの事実からも引き続き、本研究を継続することで高齢者における免疫機能が栄養摂取による改善や賦活化につながる有効な方策を検討していくことができると考えている。健常高齢者においても日常生活の中で最大の脅威である感染症に対する免疫能の低下を予防する手立てが提唱できれば医療政策的に、高齢者の QOL を改善できるばかりでなく、疾患療養中の高齢者にとっても、日和見感染等に対するリスクの軽減に大いに期待される。いずれにせよ、本研究は、研究の専門性が感染免疫、免疫老化、栄養介入にも絡めた地域医療とバランス良く広がっており、継続する事で相互的な研究が発展的に期待できる。健常高齢者においては日常生活の中で免疫能の低下を予防する手立てを、また疾患療養中の高齢者にとっても感染等に対するリスクの軽減を、本研究の柱とも言える「加齢－腸内細菌－免疫応答－疾患発症の関係性の解明」を継続することによってのみ提唱できる。さらに腸内環境の変化に注目した感染症に対する免疫力賦活化に関する試みは政策的にも介護負担の軽減に繋がり、今後、間接的に在宅医療の推進を図れる等、健全な高齢化社会を築く上でも大きな成果を期待できる研究であると確信している。

## E. 健康危険情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

2019 年度

1. Kawaguchi K, Kim SE, Sugiyama D, Sugimoto M, Maruyama M  
Age-associated alterations in murine dermis through inflammatory response with mitochondrial DNA deletions. **Geriatrics & Gerontology International**. 19: 451–457, 2019
2. Kim SE, Kawaguchi K, Hayashi H, Furusho K, Maruyama M  
Remission Effects of Dietary Soybean Isoflavones on DSS-Induced Murine Colitis and an LPS-Activated Macrophage cell Line. **Nutrients** 11, 1746, 2019
3. Maruyama M, Sakamoto A, Morita Y, Takaoka A  
Immunosenescence: The Forefront of Infection and Trophic Control  
*Yakugaku Zasshi*. 2020 ; 140(3): 391-393.
4. 古庄克宏 丸山光生  
免疫系の老化-Inflammaging における核酸センサーの役割を中心に-  
*Geriatric Medicine 老年医学* 57(8):787-790, 2019

5. 古庄克宏 丸山光生 三宅健介  
TLR 7/8 による核酸認識機構およびそれらの関連する炎症病態  
炎症と免疫 9月号 vol.27no.5:2-6(358-362), 2019
6. 亀山昭彦、松野裕樹、飯田真由、丸山光生、渡邊淳、山越貴水  
分子マトリックス電気泳動で解明する唾液腺ムチンの老化に伴う変化  
電気泳動, 2019 年 63 巻 2 号 p. 55-61, 2019
7. 坂本明彦、丸山光生  
決定版 阻害剤・活性化剤ハンドブック, p64, 羊土社, 2019 年 09 月 25 日

#### 2018 年度

8. Iida, M., Matsuno, YK., Watanabe, A., Maruyama, M., Kameyama, A., Yamakoshi, K.  
A sialo-oligosaccharide-rich mucin-like molecule specifically detected in the  
submandibular glands of aged mice. **Arch. Oral Biol.**, 12(97), 52-58, 2018.
9. Morita Y, Jounai K, Sakamoto A, Tomita Y, Sugihara Y, Suzuki H, Ohshio K, Otake M,  
Fujiwara D, Kanauchi O, Maruyama M  
Long-term intake of Lactobacillus paracasei KW3110 prevents age-related chronic  
inflammation and retinal cell loss in physiologically aged mice. **Aging** (Albany NY),  
10(10)2723-2740, 2018.
10. Mikawa R, Okuno A, Yoshimi T, Watanabe A, Maruyama M, Takikawa O  
Partial Identification of Amyloid- $\beta$  Degrading Activity in Human Serum.  
**Nagoya J Med Sci.** 2019 Feb; 81(1): 55-64.
11. 丸山光生、柳澤勝彦 基礎老化研究の国家戦略  
日本臨牀増刊号老年医学 上 基礎・臨床研究の最新動向, 76 (5) : 57-62, 2018  
坂本明彦、丸山光生 基礎老化研究の最前線と健康長寿社会の取り組み  
加齢皮膚医学セミナー, 13(1) : 1-4, 2018

#### 2017 年度

12. A Sakamoto A, Matsuda T, Kawaguchi K, Takaoka A, Maruyama M  
Involvement of Zizimin2/3 in the age-related defect of peritoneal B-1a cells as a source of  
anti-bacterial IgM. **Int. Immunol.** Nov 1; 29(9): 431-438. 2017
13. Maruyama M 老年医学を支える基礎老化研究, 序文  
**Geriatric Medicine** 老年医学, Vol.55 (5):469-470, 2017
14. 坂本明彦、丸山光生  
細胞老化と個体老化. **病理と臨床** 36(2): 98-101, 2018

#### 2. 学会発表

##### 2019 年度

1. Maruyama M. Infrastructure and Platform Building for Geroscience in Japan Asian  
Geroscience Conferences 25 May, 2019 Shenzhen China
2. Maruyama M. Infection and tropic control on Immunosenesnce 2019  
Spring International Conference of the Korean Society for Gerontology and Korea-  
Japan Joint Symposium 27 June, 2019 Seoul Korea

3. Akatsu H, Kawabe Y, Arakawa K, Masaki Y, Tanaka H, Kanematsu T, Hashizume Y, Tsuneyama K, Manabe T, Ohohara T, Maruyama M, Fukushima NST team  
How Risky of Intravenous Iron Administration ? (Analysis of Iron Deposition By 157 Pathological Liver Tissues) 41st ESPEN Congress on Clinical Nutrition & Metabolism Sep 2 2019 Krakow, Poland
4. Kawaguchi K, Kim SE, Sugiyama D, Sugimoto M, Maruyama M. Age-associated alterations in murine skin involving inflammatory response with mitochondrial DNA deletions ICSA 2019 in Conference Sep 11 2019 Athens, Greece
5. Kawaguchi K, Kim SE, Sugiyama D, Sugimoto M, Maruyama M. Age-associated alterations in murine dermis through inflammatory response with mitochondrial DNA deletions 11th IAGG AOR congress Oct 26 2019 Taipei, Taiwan
6. Maruyama M. Current Aging Research and Society in Japan The 2nd International Conference on Biomedical Health in Beijing, UNESCO, Dec 16 2019 Beijing, China
7. Kim SE, Morita Y, Sakamoto A, Maruyama M. Inflammation and trophic control on immunosenescence The 42nd Annual Meeting of the MBSJ, workshop, Dec 4 2019, Fukuoka Japan
8. Maruyama M. The nutritional interventions on the basic mechanisms of aging and age-related diseases. Conclusion The 42nd Annual Meeting of the MBSJ, workshop Dec 4 2019, Fukuoka Japan
9. 亀井優香、川口耕一郎、金湘殷、保田朋波流、真下知士、杉本昌隆、丸山光生  
老化細胞可視化除去マウスの作製と免疫老化機構の解明 第 42 回日本基礎老化学会大会 2019 年 6 月 7 日 仙台市
10. 金湘殷、亀井優香、木村郁生、國澤 純、丸山光生  
水溶性大豆イソフラボンが腸内細菌叢に与える影響と加齢変化  
第 42 回日本基礎老化学会大会 2019 年 6 月 7 日 仙台市
11. 山越貴水、亀山昭彦、西島里咲、飯田万由、丸山光生  
ポリコームタンパク質 Bmi-1 による顎下腺ムチン糖鎖構造の制御  
第 42 回日本基礎老化学会大会 2019 年 6 月 8 日 仙台市
12. 坂本明彦、丸山光生  
B 細胞の免疫応答における DOCK11 の関与  
第 42 回日本基礎老化学会大会 2019 年 6 月 8 日 仙台市
13. 川口耕一郎、金湘殷、杉山大二郎、杉本昌隆、丸山光生  
皮膚の自然老化における慢性炎症の分子機構解析  
第 42 回日本基礎老化学会大会 2019 年 6 月 8 日 仙台市
14. 坂本明彦、錦見昭彦、高岡晃教、丸山光生 抗原特異的 B 細胞の増殖における DOCK11 の寄与 第 42 回日本分子生物学会年会 2019 年 12 月 6 日 福岡市
15. 亀井優香、川口耕一郎、小谷祐子、松田一成、保田朋波流、真下知士、杉本昌隆、丸山光生 老化細胞可視化除去モデルマウスを用いた皮膚老化解析への試み第 42 回日本分子生物学会年会 2019 年 12 月 6 日 福岡市
16. Sakamoto A, Maruyama M. Contribution of DOCK11 to the expansion of antigen-

specific B-cell populations. The 48th Annual Meeting of the JSI Dec 12 2019  
Hamamatsu, Japan

17. 丸山光生「日本の高齢者は優等生」～きんさんぎんさん 元気の秘訣はなんだったのか?～日本笑い学会中部支部 第21回新春笑例会 2020年1月26日 名古屋市

#### 2018年度

18. Sakamoto A, Matsui N, Takaoka A, Maruyama M  
Natural antibody immunity and immunosenescence  
Asian Society for Aging Research Symposium, Apr 19, 2018 Jeju, South Korea
19. Kim S, Kawaguchi K, Maruyama M  
Potential anti-inflammation effect of water-soluble soybean isoflavones on a murine macrophage cell line and DSS-induced murine colitis model  
Asian Society for Aging Research Symposium, Apr 19, 2018 Jeju, South Korea
20. Miyamoto J, Nakatani A, Sutou A, Kamei Y, Maruyama M, Kimura I  
Short-chain fatty acid receptors and aging-related energy metabolism regulation, Asian Society for Aging Research Symposium, Apr 19, 2018 Jeju, South Korea
21. Maruyama M Summary Report in Aging Biology, ICAH-NCCG symposium, May 10, 2018, Taipei, Taiwan
22. Hayakawa T, Morimoto R, Kimura Y, Nagasaki M, Nagata M, Maruyama M, Motoyama N. SIRT1 regulates the expression of p21 during cellular senescence. Metabolism and Aging Cell Symposia, Sep 23-25, 2018
23. Yamakoshi K, Iida M, Nishijima R, Kameyama A, Maruyama M, Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyltransferase C2GnT2 International Cell Senescence Association, July 10, 2018, Montreal Canada
24. Kawaguchi K, Kim S-E, Sugiyama D, Maruyama M, Age-associated alterations in murine skin via ROS/SASP axis with mitochondrial DNA deletions, Mechanisms of Aging, Oct 2, 2018, Cold Spring Harbor, NY, USA
25. Kim S-E, Kawaguchi K, Kamei Y, Matsui N, Maruyama M Remissive effect of dietary soybean isoflavones on DSS-induced murine colitis model and validation of its impact on intestinal microbiome., Mechanisms of Aging, Oct 2, 2018, Cold Spring Harbor, NY, USA
26. 丸山光生、坂本明彦 : B細胞老化と免疫応答の加齢変化.  
第18回日本抗加齢医学会総会、シンポジウム 2018年5月25日, 大阪
27. 金湘殷、丸山光生 : DSS誘導型マウス大腸炎におけるSoyaFlavone HGの抗炎症効果とその腸内細菌叢に及ぼす効果の解析  
第41回日本基礎老化学会大会, 2018年5月31日, 東京
28. Ogiso N, Mugaruma K, Takano S, Tomita K, Yamaguchi K, Matsui N, Maruyama M: Search for definitive senescence biomarkers in naturally-aged mice.  
機能解析 第41回日本基礎老化学会大会、2018年5月31日, 東京
29. Kim S, Maruyama M: Anti-inflammatory effect of water-soluble soy isoflavones on murine macrophage cells and murine colitis model、第41回日本基礎老化学会大会,



2018年6月1日, 東京

30. Sakamoto A, Takaoka A, Maruyama M: Contribution of Zizimin2/3 to the age-related defect in B-1a cells as a source of anti-pneumococcal immunoglobulin M. 第41回日本基礎老化学会大会, 2018年6月2日, 東京
31. Kawaguchi K, Sugiyama D, Maruyama M: The analysis of molecular mechanisms underlying inflammatory reactions in chronological skin aging 第41回日本基礎老化学会大会, 2018年6月2日, 東京
32. Iida M, Matsuno Y, Watanabe A, Maruyama M, Kameyama A, Yamakoshi K  
A sialo-oligosaccharides rich mucin-like molecule is specifically detected in the submandibular glands of aged mice. 第41回日本基礎老化学会大会, 2018年6月2日, 東京
33. Kawaguchi K, Kim SE, Maruyama M: Age-associated alterations in murine skin via ROS/SASP axis linked by mitochondrial DNA deletions. 第41回日本分子生物学会年会, 2018年11月29日, 横浜
34. 松井直美、亀井優香、小木曾昇、丸山光生: 妊娠、授乳期マウスの持続的ストレスとSASP因子の加齢変化に関する研究. 第41回日本分子生物学会年会, 2018年11月29日, 横浜
35. 坂本明彦、丸山光生: Involvement of DOCK11 in B-cell responses against T cell-independent type 2 antigens. 第45回日本免疫学会学術集会, 2018年12月10日, 福岡

2017年度

36. Sakamoto A, Takaoka A, Maruyama M: Putative function of Zizimin2/3 in Immunosenescence of peritoneal B-1a cells as a source of natural antibacterial IgM KEYSTONE SYMPOSIA, February 27, 2017, Texas USA
37. Hayakawa T, Kimura Y, Nagasaki M, Nagata M, Morimoto R, Maruyama M, Motoyama N: P21 negatively regulates DNA damage-induced pro-inflammatory response during senescence. KEYSTONE SYMPOSIA, February 27, 2017, Texas USA
38. Yamakoshi K, Iida M, Kimura H, Kameyama A, Maruyama M: Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyltransferase C2GnT2. Gordon Research Conferences (Aging), July 12, 2017, Switzerland
39. Yamakoshi K, Iida M, Kimura H, Kameyama A, Maruyama M: Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyltransferase C2GnT2. Keystone Symposia, May 18, 2017, 横浜
40. Maruyama M, Sakamoto A, Matsuda T, Matsui N, Takaoka A: Concomitant deletion of Zizimin2/3 to mimic impaired protective immunity in aged mice Gordon Research Conferences (Aging Biology of), July 11, 2017, Les Diablerets, Switzerland
41. Maruyama M, Jounai K, Sakamoto A, Morita Y, Kirisako T, Matsuda T, Fujiwara D: A novel food constituent potentially mitigates inflammation in physiologically aged mice. IAGG 2017 World Congress, July 24, 2017, San Francisco, USA.
42. Sakamoto A, Matsui N, Takaoka A, Maruyama M: Involvement of Zizimin2 in the defective natural antibacterial antibody production by aged peritoneal B-1a B cells.

- 2017 Aging Seminar between Korea and Japan, August 24, 2017, Korea
43. Maruyama M, Sakamoto A, Takaoka A: Zizimin2-deficient mice showing defective production of natural antibacterial immunoglobulin M and interruption in B-cell development. 19th GCC, September 14, 2017, Venice, Italy
  44. Akatsu H, Arai S, Tanaka T, Kamiya A, Arakawa K, Masaki Y, Tanaka H, Kanematsu T, Ohara H, Inoue K, Xia J-Z, Maruyama M: Investigation on the effect of aminolevulinic acid on intestinal environment of aging mice. 39th ESPEN CONGRESS, Sep 10, 2017, Hague, Nederland
  45. Muguruma K, Ogiso N, Tomita K, Takano S, Yamaguchi K, Matsui N, Maruyama M: Search for definitive senescence biomarkers in mice: What changes will occur in naturally-aged mice? 68th AALAS National Meeting, Oct 17, 2017, Austin, USA.
  46. Ogiso N, Muguruma K, Tomita K, Takano S, Tamura S, Tanii S, Maruyama M: Development of naturally-aged rats and elucidation of aging mechanism. 68th AALAS National Meeting, 17 October, 2017, Austin, USA.
  47. Kawaguchi K, Sugiyama D, Maruyama M: The analysis of molecular mechanisms underlying inflammatory reactions in chronological skin aging  
第 40 回 日本分子生物学会年会 ポスター, 2017 年 12 月 6 日, 神戸市
  48. 三河隆太、鈴木洋平、丸山光生、佐藤 匡、杉本昌隆: Clearance of senescent cells ameliorates emphysema-associated pathologies in mice, 第 30 回日本老年学会総会, 2017 年 6 月 15 日, 名古屋
  49. Yamakoshi K, Iida M, Kimura H, Kameyama A, Maruyama M: Bmi-1 controls cancer cell motility and invasion through the glycosyl-transferase C2GnT2  
第 40 回日本基礎老化学会大会, 2017 年 6 月 15-16 日, 名古屋
  50. 坂本明彦、松田剛典、高岡晃教、丸山光生: Involvement of Zizimin2 in the defective antibody production by aged peritoneal B-1a B cells  
第 40 回日本基礎老化学会大会, 2017 年 6 月 16 日, 名古屋
  51. 城内健太、森田悠治、松田剛典、桐浴隆嘉、坂本明彦、藤原大介、丸山光生: Effects of food constituents on immunosenescence in physiological aged mice 第 40 回日本基礎老化学会大会, 2017 年 6 月 16 日, 名古屋
  52. 長友涼介、岡田泰毅、筒井陽仁、赤津裕康、丸山光生、井之上浩一: ピコリルアミン誘導体化 LC-MS/MS を用いた腸内細菌叢解析を目指した短鎖脂肪酸の網羅的分析法の開発日本医用マスペクトル学会第 42 回年会, 2017 年 9 月 15 日, 東京
  53. 川出義浩、赤津裕康、丸山光生、大原弘隆: ペクチン含有濃厚消化態流動食(ハイネイール®)の長期投与が栄養状態および消化管に及ぼす影響  
第 33 回日本静脈経腸栄養学会学術集会, 2018 年 2 月 22 日, 横浜市
  54. 岡田泰毅、長友涼介、赤津裕康、丸山光生、井之上浩一  
Pattern analysis of branched-chain short-chain fatty acids by derivatized LC-MS/ MS 誘導体化 LC-MS/MS 法によるマウス便中の分岐鎖短鎖脂肪酸のパターン解析日本薬学会第 138 年会, 2018 年 3 月 27 日, 金沢市

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

発明者：森田悠治、城内健太、藤原大介、丸山光生

発明の名称：乳酸菌を有効成分とする加齢による網膜細胞死を抑制するための組成物

出願日：2016年9月9日

公開日：2018年3月15日

出願番号：特願 2016-177056

出願人：国立長寿医療研究センター、小岩井乳業株式会社、  
キリン株式会社 R & D 本部健康技術研究所

発明者：丸山光生、坂本明彦、森田悠治

発明の名称：ラクトバシラス・パラカゼイ乳酸菌を有効成分とする加齢による身体活動量低下を抑制するための組成物

出願日：2017年11月30日

公開日：2019年7月11日

出願人：国立長寿医療研究センター、キリン株式会社 R&D 本部健康技術研究所

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし