

令和 2 年 7 月 10 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H05026

研究課題名（和文）ヒト腸内細菌最優勢種の腸管内腔におけるポリアミン生産機構の遺伝学的解析

研究課題名（英文）Genetic analysis of polyamine production mechanism in the intestinal lumen of the dominant human intestinal bacteria

研究代表者

栗原 新 (Kurihara, Shin)

近畿大学・生物理工学部・講師

研究者番号：20630966

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,300,000 円

研究成果の概要（和文）：ヒト腸内常在菌叢最優勢種および代表的な善玉菌であるビフィズス菌のポリアミン合成・輸送について網羅的に解析を行った。また、多くのヒトにおいてヒト腸内常在菌叢における最優勢の2門であるBacteroidetes門およびFirmicutes門を代表する菌種（*Bacteroides thetaiotaomicron*, *B. dorei*, *Enterococcus faecalis*）の単菌あるいは複数菌にまたがるポリアミン代謝・輸送系を遺伝学的・生化学的に解析した。さらに環境中に著量のポリアミンを放出する腸内細菌である*P. mirabilis*の新規ポリアミンエクスポートを2種、スクリーニングした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、世界中の研究者が生体内のポリアミン量を上昇させると動物の健康寿命が伸長することを報告しており、ポリアミン摂取による医療費削減・労働人口増大が期待されている。腸内細菌はヒトの主要なポリアミン源であるが、その腸管内腔での生産機構はほとんど明らかとなっていない。本研究で得られた成果は腸管内腔におけるポリアミン濃度を最適化するための重要な基礎科学的知見となる。

研究成果の概要（英文）：A comprehensive analysis of polyamine synthesis and transport in the most dominant species of the human intestinal microbiota and *Bifidobacteria*, which are typical beneficial bacteria, was performed. Then, genetic and biochemical analysis of polyamine metabolism and transport systems in a single bacterium or spanning multiple bacteria in the phylum Bacteroidetes and Firmicutes, the two most dominant phylum in the human intestinal microbiota, was carried out. Furthermore, two novel polyamine exporters in *P. mirabilis*, an intestinal bacterium that releases significant amounts of polyamines into the environment, have been screened. These results will provide important basic scientific insights for optimizing polyamine concentrations in the intestinal lumen.

研究分野：応用微生物学

キーワード：ポリアミン ヒト腸内常在菌叢最優勢種 *Bacteroides dorei* *B. thetaiotaomicron* *Enterococcus faecalis* 腸内細菌の培養 腸内細菌の遺伝子操作

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

1. 研究開始当初の背景

現在の腸内常在菌研究とその課題

ヒトはその腸管内に重量にして 1 kg、細胞数にしてヒト細胞のほぼ同数の腸内常在菌を有している。近年、動物実験により、肥満(1)・糖尿病(2)・自閉症(3)などの疾患に腸内常在菌が強く関与していることが報告されるなど、腸内常在菌がヒト健康に及ぼす影響は非常に大きいことが判明しつつあり、腸内常在菌を「もう一つの臓器」と捉える考え方が広まってきた。腸内常在菌の菌体そのものは大腸の免疫機構に阻まれて、そのごく一部しかヒト組織に接触できない。これとは対照的に腸内常在菌の代謝産物は、腸管上皮を通過して体内に取り込まれ、ヒト健康に対してより直接的な影響を与えることから、腸内環境の良否の大部分は腸内常在菌の代謝産物によって決定されていると考えられる。

21 世紀に入り、飛躍的に発達した核酸解析技術を用いて、培養を介さない手法によりヒト腸内常在菌最優勢 56 種が報告された(4)。これらの腸内常在菌のゲノム DNA の塩基配列は、ほとんどが公開済みである。しかしその遺伝子がどのような機能を持つかについては、大部分が分かっていない(アノテーションがつくものでも 40-50%と言われている(5))。このため、「もう一つの臓器」の内部機構について人類はほとんど知見を有していない。一方で最近、ヒト腸内常在菌最優勢種のいくつかについてその遺伝子操作技術が確立されたことから、ヒト腸内常在菌最優勢種の機能を遺伝子・物質代謝レベルで直接的に解析するための環境は整いつつある。

健康寿命伸長に役立つポリアミン

医療費削減、労働人口増大の双方に寄与する「健康寿命の伸長」は日本社会を財政破綻から守り、先進国として踏みとどまらせるための喫緊の課題であり、様々な生理活性物質を利用した健康増進法が望まれている。

ポリアミンはほぼ全ての生物がその細胞内に持ち、細胞増殖促進作用を始めとした様々な役割を果たす生理活性アミンである。ポリアミンの主要なものには、ブトレッシン、スペルミジン、スペルミンがある(図 1)。2009 年以降、世界中の研究者からポリアミン摂取がいくつかの動物の健康寿命伸長に著効を示すことが報告されている(表 1)。生物はポリアミンを自ら合成する。また、食品は生物由来であるためこの中にはポリアミンが含まれる。一方で、細胞内のポリアミン濃度は加齢とともに減少するため、動物は食物に含まれるポリアミンを小腸から積極的に吸収する。このため、小腸より下流の消化管にはポリアミンが存在しないことが予想されるが、消化管における最下流の臓器である大腸の内腔にも数 100 μ M のポリアミンが存在する。この大量のポリアミンは腸内常在菌叢由来であることが報告されている。以上を総合すると、腸内常在菌叢由来のポリアミンを大腸粘膜を通じて効率よく吸収すれば、加齢に伴う体内のポリアミン減少が補われ、ヒトの健康寿命を伸長させることができると期待できる。なお、安定同位体を用いた実験により、ポリアミンは大腸粘膜を通じて血中に取り込まれることがわかっている。また、大腸内では様々な老廃物の影響により、しばしば慢性炎症が生じ、これが様々な疾病につながっていると考えられている。ポリアミンは強い炎症抑制作用を持つことから、大腸腸管内のポリアミン濃度を適正に保つことは、腸内環境の改善を通じた健康増進に役立つと考えられる。

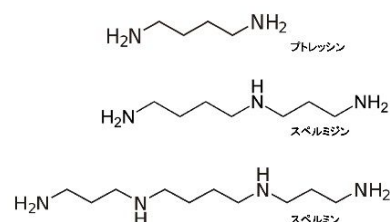


図 1 ポリアミンの構造

表 1 ポリアミンによる健康増進ならびに健康寿命伸長

報告年	効果	対象	メカニズム	ポリアミン源	文献
2009	寿命伸長	マウス	腎臓の保護	経口摂取	(6)
2009	寿命伸長	マウス、ハエなど	オートファジー誘導	経口摂取	(7)
2011	寿命伸長	マウス	炎症抑制	腸内細菌	(8)
2013	記憶力増強	ハエ	オートファジー誘導	経口摂取	(9)
2014	寿命伸長および認知力向上	マウス	炎症抑制	腸内細菌	(10)

2. 研究の目的

本研究は、腸内常在菌の代謝産物として健康寿命延伸効果を持つポリアミンを研究対象とし、ヒト腸内常在菌のポリアミン代謝系・輸送系を遺伝子レベルで同定する。また、その作用機序・発現条件を解析することで、腸管内腔におけるポリアミン濃度を最適化するための基礎科学的知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

ヒト腸内常在菌について、糞便中に含まれる腸内細菌由来 DNA の配列を網羅的にシーケンスする手法ではなく、ヒト腸内常在菌最優勢種について純粋培養あるいは混合培養し、培養上清中および菌体内のポリアミン濃度を定量した。さらに、複数の腸内常在菌 (*Bacteroides dorei*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Enterococcus faecalis*, 大腸菌, *Proteus mirabilis*) のポリアミン合成酵

素・トランスポーターをコードする遺伝子について遺伝子破壊（一部については相補）を行い、培養上清および細胞内のポリアミンを定量した。ポリアミンの定量には高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に加えて本研究で新たに開発した比色定量法を用いた。また、*Bacteroides thetaiotaomicron* についてはポリアミン合成酵素 2 種について His タグを付加した組換えタンパクを大腸菌を宿主として大量発現させた後にニッケルカラムを用いてアフィニティー精製し、生化学的解析を行った。

4. 研究成果

これまでに我々は、ヒト腸内細菌叢最優勢種 56 種のうち培養可能な 44 種をコレクションし、そのうちの 32 種が汎用培地である GAM で生育可能であることを初めて示し、この 32 種についてハイスループット培養・評価系を構築している(11)。本研究では、この系を用いて上記 32 種の細胞内および培養上清中のポリアミン濃度（プトレッシン、スペルミジン、スペルミン）を HPLC にて定量し、各菌種のゲノム情報と照らし合わせた。この結果、ヒト腸内常在菌叢最優勢 56 種のうち、新規ポリアミン取り込み系を持つと推定されるものが少なくとも 2 菌種（*Eubacterium siraeum*, *Collinsella aerofaciens*）、新規ポリアミン放出系を持つと推定されるものが少なくとも 7 菌種（*Bacteroides dorei*, *Bacteroides stercoris*, *Dorea longicatena*, *Dorea formicigenerans*, *Ruminococcus torques*, *Blautia hansenii*）、新規ポリアミン合成系を持つと推定されるものが少なくとも 3 菌種（*D. longicatena*, *Parabacteroides merdae*, *Eubacterium ventriosum*）存在した(12)。

代表的な善玉菌であるビフィズス菌は、経口摂取に伴う様々な保健効果が知られており、日本人の腸内に優勢に常在することが報告されている(13)。本研究では、13 種のヒト常在性ビフィズス菌のポリアミン合成能および輸送能を上記と同様の手法で HPLC にて解析した。試験したビフィズス菌のうち、11 種がポリアミン合成能、10 種がポリアミン輸送能を有していた。さらに、各ビフィズス菌のポリアミン合成能および輸送能と既知ポリアミン合成酵素、分解酵素およびトランスポーターのホモログの有無を照らし合わせた結果、ヒト常在性ビフィズス菌が新規のポリアミン合成酵素およびトランスポーターを有することが示唆された(14)。

ここまでの研究で、多量のサンプルにおけるポリアミン定量において HPLC 解析がボトルネックとなることが判明した。そこで、サンプル中のポリアミン濃度をハイスループット定量する目的で、プトレッシンがプトレッシンオキシダーゼ（PuO）によって酸化される際に放出される過酸化水素をペルオキシダーゼ（POD）が触媒する 4-アミノアンチピリン（4-AA）と *N*-ethyl-*N*-(3-sulfopropyl)-3-methylaniline sodium salt（TOPS）の発色反応により定量する手法を開発した(15)。開発した方法（PuO-POD-4AA-TOPS 法）により、サンプル中のプトレッシン濃度を 96 穴マイクロプレートリーダー上で簡易定量することが可能となった。*Proteus mirabilis* は腸内細菌の一種であり、細胞外へ盛んにプトレッシンを放出することが知られている。PuO-POD-4AA-TOPS 法で測定した *P. mirabilis* の培養上清中のプトレッシン濃度は、HPLC で測定した濃度とほぼ一致した。さらに PuO-POD-4AA-TOPS 法を利用して、ランダム変異を導入に伴い培養上清中のプトレッシン濃度が減少した *P. mirabilis* の変異株を選抜する手法で、プトレッシンエクスporter 候補となる遺伝子を 2 種、スクリーニングした（未発表データ）。

上述した研究で培養上清中に著量のスペルミジンを放出した *Bacteroides dorei*（ヒト腸内常在菌叢最優勢 32 位）において、マーカーレス遺伝子欠損系を確立した。具体的には、他の *Bacteroides* 属細菌で応用されているように、チミジンキナーゼ遺伝子（*tdk*）破壊株と対抗選択マーカー-*tdk* を用いてマーカーレス遺伝子欠損を導入する系を構築した。本系を駆使して作出したアルギニンデカルボキシラーゼ遺伝子（*speA*）欠損株は、親株と比較して生育能が大幅に低下していた。さらに、*speA* 欠損株の細胞内および培養上清中のスペルミジン濃度は親株よりも大きく低下していた(16)。次に結腸内腔の腸内常在菌に由来するプトレッシンの宿主主体への影響を解析する目的で、*B. dorei* 野生株および *B. dorei* Δ *speA* 株を定着させたノトバイオートマウスの作成を試みた。しかし、*B. dorei* 野生株を定着させたノトバイオートマウスの糞便において、その定着が 10^7 cfu/g と非常に低かったために、代謝産物の十分な産生は期待できなかった。

Bacteroides thetaiotaomicron はヒト腸内常在菌叢最優勢 8 位の菌種であり、遺伝子操作が比較的容易なことから、ヒト腸内常在菌叢最優勢 56 種の約 36% を占める *Bacteroides* 属細菌の中では最も研究の進んでいる菌種である。*B. thetaiotaomicron* のポリアミン生合成系を Blast 解析した結果、本菌はカルボキシスペルミジンを反応中間体とするスペルミジン生合成経路を有することが推定された。そこで、これらの推定スペルミジン生合成系を構成する遺伝子の機能検証の一環として、*N*-カルバモイルプトレッシンをプトレッシンへと変換する酵素である *N*-カルバモイルプトレッシンアミドヒドラーゼ（NCPAH）および、カルボキシスペルミジンをスペルミジンへと変換する酵素であるカルボキシスペルミジンデカルボキシラーゼ（CASDC）の機能解析を行った。まず *ncpah* 遺伝子破壊株を作出し、ポリアミンを含まない最少培地で培養した親株と各欠損株の細胞内ポリアミンを HPLC により解析した。この結果、親株で検出されたスペルミジンが遺伝子破壊株では検出されなかったことから、*B. thetaiotaomicron* において *ncpah* はスペルミジン生合成に必要不可欠であることが明らかとなった。次に精製（His）₆-NCPAH を用いてその酵素活性を解析したところ *N*-カルバモイルプトレッシンをプトレッシンへと変換する能力を有しており、その最適温度は 50℃、最適 pH は 7.0、*K_m* は 730（ μ M）、*k_{cat}* は 0.760（s⁻¹）であった。また、その酵素活性はアグマチン、プトレッシン、カルボキシスペルミジン、スペルミジンに阻害されることが明らかとなり、生成物による NCPAH の酵素活性の阻害を通じたポリアミンホメオスタシ

スの存在が示唆された。次に、精製 CASDC-(His)₆ を用いてその酵素活性を解析したところ、カルボキシスペルミジンをスペルミジンへと変換する能力を有しており、その最適温度は 40℃、最適 pH は 8.5、 K_m は 52.0 (μM)、 k_{cat} は 0.36 (s⁻¹) であった。また、CASDC の酵素活性がポリアミン生合成系における反応中間体によって阻害されるか否かについて解析した結果、CASDC-(His)₆ の酵素活性はスペルミジン生合成経路の代謝産物であるアルギニン、アグマチン、プトレッシン、スペルミジンによって阻害されるが、*N*-カルバモイルプトレッシンの影響は受けないことが明らかとなった（未発表データ）。

腸内細菌はヒト腸管内では複雑な細菌叢を形成しているため細菌間の相互作用にも考慮する必要がある。そこで腸内細菌叢の最も単純なモデルとして、腸内細菌 2 菌種の混合培養を行い、ポリアミンを高生産する組み合わせをスクリーニングしたところ、腸内細菌叢最優勢 54 位の *Enterococcus faecalis* とモデル腸内細菌である大腸菌の混合培養でポリアミン生産が飛躍的に高まることを見出した。次にその産生機構を両菌の遺伝子破壊・相補株を定着させたマウスを用いて解析したところ、以下の機構が明らかとなった。すなわち、大腸菌の AdiC によって環境中から取り込まれたアルギニンが、本菌の細胞内で AdiA によってアグマチンへと変換される。このアグマチンは大腸菌の AdiC により環境中へと放出され、放出されたアグマチンは *E. faecalis* の AguD によりその細胞内に取り込まれる。次に *E. faecalis* の AguA 等の触媒する反応によりプトレッシンにまで代謝され、AguD により環境中へと放出されることが明らかとなった。この経路は、ビフィズス菌に代表される細菌が放出する酸がトリガーとなり発動し、大腸菌に代表される細菌のアルギニン依存性の酸耐性機構および、*E. faecalis* に代表される細菌のアグマチンデイミナーゼによるエネルギー獲得機構が組み合わさることで成立する。また、この合成経路によるプトレッシンの産生はノトバイオートマウスの糞便中で再現した(17)。この経路は、複雑な細菌叢を形成する腸管内腔において複数の細菌の独立した生存戦略が偶然に組み合わさった結果、ヒトに大きな影響を与える生理活性物質であるポリアミンが生成されるという点が特徴的である。

以上を総合すると、ヒト腸内常在菌叢最優勢種および代表的な善玉菌であるビフィズス菌を対象として、そのポリアミン合成・輸送について網羅的に解析を行った。また、環境中に著量のポリアミンを放出する腸内細菌である *P. mirabilis* の新規ポリアミンエクスポーターをスクリーニングした。さらに、多くのヒトにおいてヒト腸内常在菌叢における最優勢の 2 門である Bacteroidetes 門および Firmicutes 門を代表する菌種 (*B. thetaiotaomicron*, *B. dorei*, *E. faecalis*) の単菌あるいは複数菌にまたがるポリアミン代謝・輸送系を遺伝学的・生化学的に解析した。これらの成果は腸管内腔におけるポリアミン濃度を最適化するための重要な基礎科学的知見となると考えられる。

引用文献

1. Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., and Gordon, J. I. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **444**, 1027-1031
2. Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., and Elinav, E. (2014) Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature* **514**, 181-186
3. Hsiao, E. Y., McBride, S. W., Hsien, S., Sharon, G., Hyde, E. R., McCue, T., Codelli, J. A., Chow, J., Reisman, S. E., Petrosino, J. F., Patterson, P. H., and Mazmanian, S. K. (2013) Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell* **155**, 1451-1463
4. Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D. R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., Tap, J., Lepage, P., Bertalan, M., Batto, J. M., Hansen, T., Le Paslier, D., Linneberg, A., Nielsen, H. B., Pelletier, E., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., Turner, K., Zhu, H., Yu, C., Li, S., Jian, M., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, X., Li, S., Qin, N., Yang, H., Wang, J., Brunak, S., Dore, J., Guarner, F., Kristiansen, K., Pedersen, O., Parkhill, J., Weissenbach, J., Meta, H. I. T. C., Bork, P., Ehrlich, S. D., and Wang, J. (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* **464**, 59-65
5. Zou, Y., Xue, W., Luo, G., Deng, Z., Qin, P., Guo, R., Sun, H., Xia, Y., Liang, S., Dai, Y., Wan, D., Jiang, R., Su, L., Feng, Q., Jie, Z., Guo, T., Xia, Z., Liu, C., Yu, J., Lin, Y., Tang, S., Huo, G., Xu, X., Hou, Y., Liu, X., Wang, J., Yang, H., Kristiansen, K., Li, J., Jia, H., and Xiao, L. (2019) 1,520 reference genomes

- from cultivated human gut bacteria enable functional microbiome analyses. *Nat Biotechnol* **37**, 179-185
6. Soda, K., Dobashi, Y., Kano, Y., Tsujinaka, S., and Konishi, F. (2009) Polyamine-rich food decreases age-associated pathology and mortality in aged mice. *Exp Gerontol* **44**, 727-732
 7. Eisenberg, T., Knauer, H., Schauer, A., Buttner, S., Ruckstuhl, C., Carmona-Gutierrez, D., Ring, J., Schroeder, S., Magnes, C., Antonacci, L., Fussi, H., Deszcz, L., Hartl, R., Schraml, E., Criollo, A., Megalou, E., Weiskopf, D., Laun, P., Heeren, G., Breitenbach, M., Grubeck-Loebenstien, B., Herker, E., Fahrenkrog, B., Frohlich, K. U., Sinner, F., Tavernarakis, N., Minois, N., Kroemer, G., and Madeo, F. (2009) Induction of autophagy by spermidine promotes longevity. *Nat Cell Biol* **11**, 1305-1314
 8. Matsumoto, M., Kurihara, S., Kibe, R., Ashida, H., and Benno, Y. (2011) Longevity in mice is promoted by probiotic-induced suppression of colonic senescence dependent on upregulation of gut bacterial polyamine production. *PLoS One* **6**, e23652
 9. Gupta, V. K., Scheunemann, L., Eisenberg, T., Mertel, S., Bhukel, A., Koemans, T. S., Kramer, J. M., Liu, K. S., Schroeder, S., Stunnenberg, H. G., Sinner, F., Magnes, C., Pieber, T. R., Dipt, S., Fiala, A., Schenck, A., Schwaerzel, M., Madeo, F., and Sigrist, S. J. (2013) Restoring polyamines protects from age-induced memory impairment in an autophagy-dependent manner. *Nat Neurosci* **16**, 1453-1460
 10. Kibe, R., Kurihara, S., Sakai, Y., Suzuki, H., Ooga, T., Sawaki, E., Muramatsu, K., Nakamura, A., Yamashita, A., Kitada, Y., Kakeyama, M., Benno, Y., and Matsumoto, M. (2014) Upregulation of colonic luminal polyamines produced by intestinal microbiota delays senescence in mice. *Sci Rep* **4**, 4548
 11. Gotoh, A., Nara, M., Sugiyama, Y., Sakanaka, M., Yachi, H., Kitakata, A., Nakagawa, A., Minami, H., Okuda, S., Katoh, T., Katayama, T., and Kurihara, S. (2017) Use of Gifu Anaerobic Medium for culturing 32 dominant species of human gut microbes and its evaluation based on short-chain fatty acids fermentation profiles. *Biosci Biotechnol Biochem* **81**, 2009-2017
 12. Sugiyama, Y., Nara, M., Sakanaka, M., Gotoh, A., Kitakata, A., Okuda, S., and Kurihara, S. (2017) Comprehensive analysis of polyamine transport and biosynthesis in the dominant human gut bacteria: potential presence of novel polyamine metabolism and transport genes. *Int J Biochem Cell Biol*
 13. Nishijima, S., Suda, W., Oshima, K., Kim, S. W., Hirose, Y., Morita, H., and Hattori, M. (2016) The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness. *DNA Res* **23**, 125-133
 14. Sugiyama, Y., Nara, M., Sakanaka, M., Kitakata, A., Okuda, S., and Kurihara, S. (2018) Analysis of polyamine biosynthetic- and transport ability of human indigenous *Bifidobacterium*. *Biosci Biotechnol Biochem* **82**, 1606-1614
 15. Sugiyama, Y., Ohta, H., Hirano, R., Shimokawa, H., Sakanaka, M., Koyanagi, T., and Kurihara, S. (2020) Development of a new chromogenic method for putrescine quantification using coupling reactions involving putrescine oxidase. *Anal Biochem* **593**, 113607
 16. Sakanaka, M., Sugiyama, Y., Nara, M., Kitakata, A., and Kurihara, S. (2018) Functional analysis of arginine decarboxylase gene *speA* of *Bacteroides dorei* by markerless gene deletion. *FEMS Microbiol Lett* **365**, fny003
 17. Kitada, Y., Muramatsu, K., Toju, H., Kibe, R., Benno, Y., Kurihara, S., and Matsumoto, M. (2018) Bioactive polyamine production by a novel hybrid system comprising multiple indigenous gut bacterial strategies *Sci Adv* **4**, eaat0062

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sugiyama Yuta, Nara Misaki, Sakanaka Mikiyasu, Gotoh Aina, Kitakata Aya, Okuda Shujiro, Kurihara Shin	4. 巻 93
2. 論文標題 Comprehensive analysis of polyamine transport and biosynthesis in the dominant human gut bacteria: Potential presence of novel polyamine metabolism and transport genes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The International Journal of Biochemistry & Cell Biology	6. 最初と最後の頁 52～61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.biocel.2017.10.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitada Yusuke, Muramatsu Koji, Toju Hirokazu, Kibe Ryoko, Benno Yoshimi, Kurihara Shin, Matsumoto Mitsuharu	4. 巻 4
2. 論文標題 Bioactive polyamine production by a novel hybrid system comprising multiple indigenous gut bacterial strategies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaat0062
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.aat0062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sugiyama Yuta, Nara Misaki, Sakanaka Mikiyasu, Kitakata Aya, Okuda Shujiro, Kurihara Shin	4. 巻 82
2. 論文標題 Analysis of polyamine biosynthetic- and transport ability of human indigenous Bifidobacterium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1606～1614
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2018.1475211	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li Bin, Maezato Yukari, Kim Sok Ho, Kurihara Shin, Liang Jue, Michael Anthony J.	4. 巻 111
2. 論文標題 Polyamine-independent growth and biofilm formation, and functional spermidine/spermine N-acetyltransferases in Staphylococcus aureus and Enterococcus faecalis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Microbiology	6. 最初と最後の頁 159～175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/mmi.14145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakanaka Mikiyasu, Sugiyama Yuta, Nara Misaki, Kitakata Aya, Kurihara Shin	4. 巻 365
2. 論文標題 Functional analysis of arginine decarboxylase gene speA of Bacteroides dorei by markerless gene deletion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 fny003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fny003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li Bin, Kurihara Shin, Kim Sok Ho, Liang Jue, Michael Anthony J.	4. 巻 476
2. 論文標題 A polyamine-independent role for S-adenosylmethionine decarboxylase	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical Journal	6. 最初と最後の頁 2579 ~ 2594
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20190561	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sugiyama Yuta, Ohta Hirokazu, Hirano Rika, Shimokawa Hiromi, Sakanaka Mikiyasu, Koyanagi Takashi, Kurihara Shin	4. 巻 593
2. 論文標題 Development of a new chromogenic method for putrescine quantification using coupling reactions involving putrescine oxidase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 113607 ~ 113607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2020.113607	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 9件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 栗原新
2. 発表標題 腸内細菌の代謝産物が及ぼす生体への影響とその制御
3. 学会等名 平成30年度発酵と代謝研究会 講演会 『人のインサイド空間に迫る ~Society5.0+ が実現するヒューマンサステナブルシステム~』（招待講演）
4. 発表年 2019年

1．発表者名 栗原新
2．発表標題 ヒト腸内常在菌叢最優勢種の機能を培養と遺伝子操作によって解明する
3．学会等名 第52回無菌生物ノートバイオロジー学会」のシンポジウム 「新時代を迎えた腸内常在菌研究（招待講演）
4．発表年 2019年

1．発表者名 太田宏一、阪中幹祥、杉山友太、栗原新
2．発表標題 尿路感染症菌 <i>Proteus mirabilis</i> の新規ブトレッシンエキスポーターの探索
3．学会等名 日本ポリアミン学会 第10回年会
4．発表年 2018年

1．発表者名 下川ひろみ、阪中幹祥、栗原新
2．発表標題 ヒト腸内細菌 <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> のカルボキシスペルミジン脱炭酸酵素の生化学的解析
3．学会等名 日本ポリアミン学会 第10回年会
4．発表年 2018年

1．発表者名 栗原新
2．発表標題 培養と遺伝子操作によるヒト腸内常在菌叢最優勢種の機能解明
3．学会等名 腸内菌未来フォーラム（招待講演）
4．発表年 2018年

1．発表者名 阪中幹祥、杉山友太、奈良未沙希、北方彩、栗原新
2．発表標題 ヒト腸内常在菌叢優勢種 <i>Bacteroides dorei</i> のポリアミン放出能とアルギニンデカルボキシラーゼ遺伝子の機能解析
3．学会等名 第22回腸内細菌学会大会
4．発表年 2018年

1．発表者名 下川ひろみ、阪中幹祥、栗原新
2．発表標題 ヒト腸内細菌 <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> のカルボキシスベルミジン脱炭酸酵素の遺伝学的・生化学的解析
3．学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4．発表年 2019年

1．発表者名 Sugiyama, Y., Nakamura, A., Matsumoto, M., Kanbe, A., Sakanaka, M., Higashi, K., Igarashi, K., Katayama, T., Suzuki, H., Kurihara, S.
2．発表標題 A novel putrescine exporter SapBCDF of <i>Escherichia coli</i> .
3．学会等名 Gordon Research Conference Polyamines 2017. (国際学会)
4．発表年 2017年

1．発表者名 Ohta, H., Sugiyama, Y., Kurihara, S.
2．発表標題 Development of a novel simple method for the determination of putrescine concentration in biological samples.
3．学会等名 Gordon Research Conference Polyamines 2017. (国際学会)
4．発表年 2017年

1．発表者名 太田宏一・杉山友太・栗原新.
2．発表標題 ブトレッシンの新規簡易定量法の開発とこれを用いた尿路感染症菌 <i>Proteus mirabilis</i> の新規ブトレッシンエクスポーターの探索.
3．学会等名 東京慈恵会医科大学学外共同シンポジウム 「第16回 ポリアミンと核酸の共進化」
4．発表年 2017年

1．発表者名 阪中幹祥・杉山友太・奈良未沙希・北方彩・栗原新.
2．発表標題 マーカーレス遺伝子欠損を利用したヒト腸内細菌 <i>Bacteroides dorei</i> のアルギニンデカルボキシラーゼ遺伝子の機能解析.
3．学会等名 日本ポリアミン学会第9回年会
4．発表年 2018年

1．発表者名 藤澤友貴・阪中幹祥・杉山友太・太田宏一・栗原新.
2．発表標題 ヒト腸内細菌 <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> のスペルミジン生合成経路の遺伝学・生化学的解析.
3．学会等名 日本ポリアミン学会第9回年会
4．発表年 2018年

1．発表者名 阪中幹祥・杉山友太・奈良未沙希・北方彩・栗原新.
2．発表標題 ヒト腸内常在菌叢最優勢種 <i>Bacteroides dorei</i> におけるマーカーレス遺伝子欠損系の確立およびポリアミン代謝系遺伝子の機能解析.
3．学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4．発表年 2018年

1．発表者名 太田宏一・杉山友太・栗原新.
2．発表標題 プトレッシンオキシダーゼと発色試薬を用いたプトレッシンの新規簡易定量法の開発.
3．学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4．発表年 2018年

1．発表者名 Kurihara, S.
2．発表標題 The Genetic Analyses of Polyamine Transport and Biosynthesis in the Dominant Human Gut Microbes
3．学会等名 Gordon Research Conference Polyamines 2019. (招待講演) (国際学会)
4．発表年 2019年

1．発表者名 Shimokawa, H., Sakanaka, M., Kurihara, S.
2．発表標題 Genetic and biochemical analysis of carboxyspermidine decarboxylase of the prominent intestinal microbiota species Bacteroides thetaiotaomicron
3．学会等名 Gordon Research Conference Polyamines 2019. (国際学会)
4．発表年 2019年

1．発表者名 栗原 新
2．発表標題 ヒト腸内常在菌叢による食品成分の変換機構と宿主への影響
3．学会等名 第9回オルソオルガジェノシス検討会 (招待講演)
4．発表年 2019年

1．発表者名 栗原 新
2．発表標題 腸内シンビオシスの分子機序解明とその高度応用展開
3．学会等名 公益財団発酵研究所 第13回助成研究報告会（招待講演）
4．発表年 2019年

1．発表者名 栗原 新
2．発表標題 腸内細菌のポリアミン代謝・輸送機構の解明
3．学会等名 日本農芸化学会中部支部例会（招待講演）
4．発表年 2019年

1．発表者名 栗原 新
2．発表標題 ヒト腸内常在菌叢最優勢種によるポリアミン輸送・生産
3．学会等名 第42回 日本分子生物学会 年会 フォーラム 「ポリアミン代謝調節と健康医療～人生100歳時代を生き抜くために～」（招待講演）
4．発表年 2019年

1．発表者名 栗原 新
2．発表標題 ヒト腸内常在菌叢最優勢種のポリアミン合成・輸送経路の遺伝学的解明
3．学会等名 第71回日本生物工学会大会 シンポジウム「微生物ポリアミンが支える高齢化社会の生活」（招待講演）
4．発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	尾仲 宏康 (Onaka Hiroyasu)		
研究協力者	新家 一男 (Shinya Kazuo)		
研究協力者	松本 光晴 (Matsumoto Mitsuharu)		
研究協力者	奥田 修二郎 (Okuda Syujiro)		