

安田女子大学紀要 48, 305-314 2020.

線虫 (*Caenorhabditis elegans*) モデルにおける 自家製発酵食品由来乳酸菌摂取が寿命に与える影響

橋本 実奈¹⁾, 清水 利朗¹⁾

The Effect of Lactic Acid Bacteria Isolated from Homemade Fermented Food
on Lifespan using the *Caenorhabditis elegans* Model

Mina HASHIMOTO¹⁾ and Toshiaki SHIMIZU¹⁾

¹⁾ 管理栄養学科, 家政学部,
安田女子大学

要 旨

一般家庭で作られた白菜の漬物から乳酸菌の分離と菌種の同定を行った。その結果、MH-1～MH-4株の4株の乳酸菌が分離され、生化学的性状検査の成績からMH-1～MH-3株は *Carnobacterium maltaromaticum*、MH-4株は *Lactobacillus acidophilus* と同定された。続いて、分離された乳酸菌が生体に与える影響を、*Caenorhabditis elegans* (線虫) を用いて観察した。分離された2種類の乳酸菌MH-1株とMH-4株を線虫に与えたところ、MH-4株では寿命の延長効果が認められた。しかし、乳酸菌単独の給餌では忌避行動が見られたため、標準的な餌である大腸菌との混合給餌を行った。この条件では忌避行動はなくMH-1株では有意な寿命延長効果を示した。本研究により、線虫の寿命延長に少なくとも一部関与する乳酸菌株が新たに発見された。

キーワード：乳酸菌、線虫、*Carnobacterium maltaromaticum*、*Lactobacillus acidophilus*、寿命

はじめに

乳酸菌とは、糖を分解して乳酸を作り出す細菌の総称である。健康志向が高まる昨今、乳酸菌の健康に対する様々な効果が注目され、健康のために簡単に生活に取り入れることのできるものとして乳酸菌を使用した食品に世間の関心が集まっている。乳酸菌は動物の腸管内から農作物、そして食品に至るまで私たちの生活環境中の至るところに存在している。食品では、古くから発酵食品の製造に使われてきた。発酵食品のひとつである漬物の製造にも関与しており、乳酸菌の重要な分離源となっている。漬物から分離された乳酸菌が優れた保健効果を示す事例もある。Wakiらは、すぐき漬けから分離された *Lactobacillus brevis* がマウスへの経口投与によりインフルエンザウイルス感染時の症状を軽減することを報告している¹⁾。また、ザワークラウトから分離された *Lactococcus lactis* は、抗菌ペプチドであるバクテリオシンを産生する²⁾。さらに、四川

泡菜から分離された*Lactobacillus fermentum*は高脂肪食を与えたマウスにおいて血清脂質レベルの低下や脂肪の蓄積を防ぐという報告も存在する³⁾。

線虫は土壤中で生活している体長約1 mmの非寄生性の動物である。実験室内では、非病原性大腸菌を餌として容易に飼育することができる。また、雌雄同体で959個、雄で1031個という非常に少ない体細胞で構成されているにもかかわらず、咽頭や消化器官、神経、筋肉、生殖組織といった多細胞生物として基本的な組織、器官がすべて備わっている。さらに、全ゲノム配列が解読されており、遺伝学的にはヒト疾患原因遺伝子の約65%が線虫に存在する。そして、寿命が約3週間と短いため、優れた老化モデル生物として多くの研究に用いられてきた。線虫は主に寿命を指標として、様々な物質の安全性、機能性の評価や作用メカニズムの解明にも利用されている⁴⁾⁶⁾。2007年にはIkedaらが、線虫をモデルとしてビフィズス菌を含む乳酸菌給餌により寿命が延長することを報告し⁷⁾、次いでKomuraらがそのメカニズムを明らかにした⁸⁾。これ以降、プロバイオティクスの*in vivo*スクリーニングモデルとしても線虫を使用した実験系が注目され始めている⁹⁾。

そこで、本研究では、機能性を有する乳酸菌の分離源として漬物に着目し、自家製の漬物から乳酸菌の分離と菌種の同定を試みた。続いて、*in vivo*モデルとして線虫を用いた実験により、分離した乳酸菌の長寿効果を検討した。

材料および方法

1. 乳酸菌の分離

試料として広島県内の家庭で作られた白菜の古漬けを用いた。入手した古漬け(10.2 g)を滅菌生理食塩水(90 mL)中に加えたものをストマッカー処理し、上澄み液を調製した。次に、上澄み液の10倍希釈系列($10^0 \sim 10^5$)を調製し、各100 μ Lを1%炭酸カルシウム添加MRS寒天培地(Difco製)に塗布した。その後、アネロパックケンキジャーシステム(三菱ガス化学株式会社製)を用いて、30°Cで48時間培養し、透明帯を形成したコロニーを釣菌した。その後、グラム染色液B&Mワコー(1%クリスタルバイオレット溶液、2%ヨウ素溶液、アセトン・エタノール混合液、パイフェル液)(和光純薬工業製)を用いて、添付の使用方法に従い染色を行い、光学顕微鏡(BE210E: 島津製作所製)にて1,000倍で鏡検した。

2. 分離菌の生化学的性状検査および菌種同定

純培養した分離菌のコロニーを用いて、アピ 50 CHL培地(日本ビオメリュー社製)中で菌液を調製した。その後、調製した菌液を用いて、分離菌の嫌氣的条件下における各種の炭水化物基質(アピ50CH: 日本ビオメリュー社製)に対する分解試験(30°C, 48時間)を行った。この成績をインターネット上のデータベース(APIwebTM)¹⁰⁾に登録されている菌種と比較し同定した。

3. 線虫を用いた生存分析

実験動物として、線虫Bristol株N2の雌雄同体を用いた。まず、成虫の体内より卵を採取し、M9バッファー中で25.5時間、25°Cで培養して孵化させ、同期したL1ステージの幼虫を得た。この幼虫を標準的な餌である非病原性大腸菌株*Escherichia coli* OP50(OP)を用いてペプトンを

除いた線虫育成用寒天平板 (mNGM : peptone-free modified nematode growth medium) 上で実験に使用する 3 日齢まで 25℃ で飼育した。成虫になった 3 日齢の時点でコントロール群 (OP)、分離した乳酸菌株を与える群に分けた。すなわち、OP あるいは分離した乳酸菌株 (湿重量 10 mg) を 50 μL の M9 バッファーに懸濁し塗布した mNGM プレートに、ワームピッカーを用いて線虫を 35 匹ずつ移した。混合給餌では、OP 3mg と乳酸菌 7 mg (総菌重量 10 mg) を混ぜ合わせたものを mNGM プレートに塗布した。なお、産卵期である 3 ~ 7 日齢の間は毎日プレートを交換し、線虫を移動させて新たに孵化した線虫の混入を防ぎ、8 日齢以降は 2 日毎に新しくプレートを交換した。実験期間を通じ生死の確認はすべての個体が死亡するまで毎日行った。生死判定は、ワームピッカーで 3 回触れて動かなかった個体を死亡と判断した。ただし、プレートの壁での乾燥死は事故死と判断し、試験個体数から除外した。観察により得られた結果は、4 Steps エクセル統計 第 4 版付属の統計ソフト Statcel 4 を使い、Kaplan-Meier 法により生存率を計算後、Logrank test により各群間の生存率の差を比較した。

結 果

1. 乳酸菌の分離

試料からグラム陽性桿菌 (MH-1 ~ MH-3 株) ならびにグラム陽性短桿菌 (MH-4 株) の計 4 株を分離した。さらにこれらの菌株が乳酸菌であることを確認するため、以後の実験に供した。

2. 生化学的性状検査に基づく菌種の同定

MH-1 ~ MH-4 株の生化学的性状検査の成績を表 1 に示した。この成績をもとにデータベース

表 1. MH-1 ~ MH-4 株の生化学的性状検査の成績

炭水化物基質		菌株	
glycerol		MH-1	-
erythritol		MH-2	-
D-arabinose		MH-3	-
L-arabinose		MH-4	-
D-ribose			+
D-xylose			-
L-xylose			-
D-adonitol			-
Me-β-D-xylopyranoside			-
D-galactose			+
D-glucose			+
D-fructose			+
D-mannose			+
L-sorbose			-
L-rhamnose			-
dulcitol			-
inositol			-
D-mannitol			+
D-sorbitol			-
Me-α-D-mannopyranoside			-
Me-α-D-glucopyranoside			+
N acetylglucosamine			+
amygdalin			+
arbutin			-
esculin ferricitrate			+
炭水化物基質		菌株	
salicin		MH-1	+
D-cellobiose		MH-2	+
D-maltose		MH-3	+
D-lactose		MH-4	-
D-melibiose			-
D-sucrose			+
D-trehalose			+
inulin			-
D-melezitose			-
D-raffinose			-
starch			-
glycogen			-
xylitol			-
gentiobiose			+
D-turanose			+
D-lyxose			-
D-tagatose			-
D-fucose			-
L-fucose			-
D-arabitol			-
L-arabitol			-
gluconate			-
2 keto gluconate			-
5 keto gluconate			-

+ : 陽性、- : 陰性

検索を行ったところ、分離された菌は、*Carnobacterium maltaromaticum* (MH-1, MH-2, MH-3株)と*Lactobacillus acidophilus* (MH-4株)と同定されたことにより、乳酸菌であることが確認された。

3. 分離乳酸菌株が線虫の寿命に与える影響

分離した乳酸菌を単独で線虫に給餌した際の生存分析の結果を図1に示した。乳酸菌株は、*C.maltaromaticum*からはMH-1～MH-3株の生化学的性状検査の成績が同一であったことからMH-1株を、*L.acidophilus*についてはMH-4株を用いた。MH-1株を与えた群の寿命と、OPを給餌したコントロール群の寿命との間に有意差はなかった ($P=0.194$) (図1A)。また、MH-1株を与えた群の線虫は忌避行動を示し、体重の代替指標となる虫体の大きさもコントロール群と比較して小さいことが分かった。一方、MH-4株を与えた群は、コントロール群と比較して寿命が有意に延長した ($P=0.047$) (図1B)。ただし、MH-4株を与えた群の線虫についても、MH-1株を与えたときのほどの忌避行動は認められなかったものの、虫体はコントロール群と比較すると少し小さかった。この点については、線虫の忌避行動が摂食量を低下させる要因となって、結果として虫体の大きさの違いに影響したとも考えられた。

また、線虫を含め動物の寿命は食餌制限によって延長することが知られている。そこで、食餌制限の影響を除いた状態で乳酸菌の寿命への影響を観察するため、乳酸菌給餌群に少量のOPを加えることで忌避行動と食餌制限の影響を回避することができないかと考え、OPと乳酸菌株を混合給餌した場合の線虫の寿命を比較することとした。まず、コントロール群との比較で寿命に変化が表れないOPの給餌量を検討した。OP 10 mg (コントロール群の給餌量)とOP 3 mgを線虫に給餌し生存分析を行ったところ、両群の寿命に有意差はなく ($P=0.642$)、OPを10 mgから3 mgに減らしても寿命がコントロール群と変わらないことが確認できた (図2A)。虫体の大き

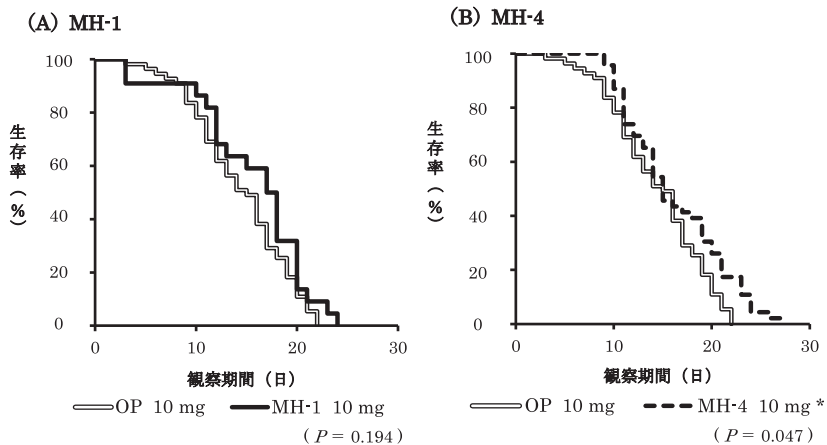


図1. 分離した乳酸菌 (MH-1株とMH-4株) を給餌した線虫の生存曲線

(A) 乳酸菌株はMH-1株を使用。OP 10 mg (n=55), MH-1株 10 mg (n=22)

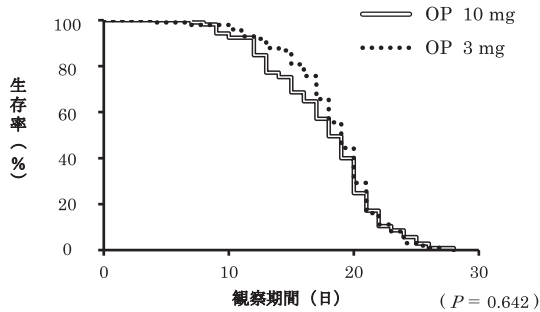
(B) 乳酸菌株はMH-4株を使用。OP 10 mg (n=55), MH-4株 10 mg (n=46)

図の曲線は1回実施した実験の成績を示す。AとBの実験は同時に行った。

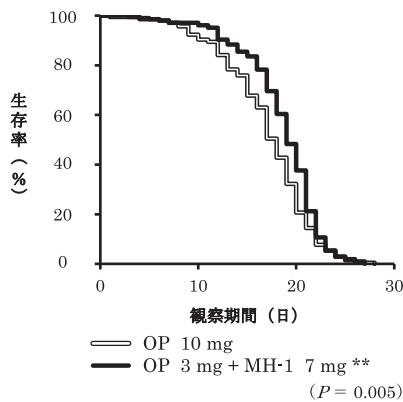
乳酸菌株の給餌を開始した3日齢を観察期間0日とした。

* $P < 0.05$

(A) OP 3 mg



(B) MH-1



(C) MH-4

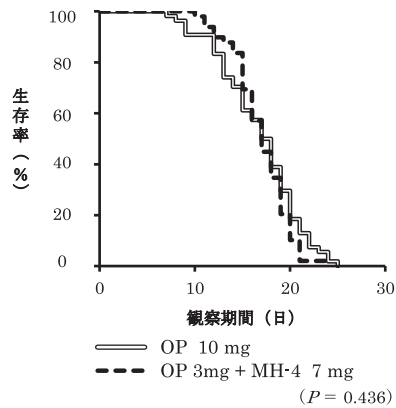


図2. OP 3 mgとOP 3 mgに分離した乳酸菌7 mgを加えた餌を給餌した線虫の生存曲線

(A) OP 10 mg (コントロール群) とOP 3mgの比較。OP 10 mg (n=105), OP 3 mg (n=99)。図の曲線は2回に分けて実施した実験の合計を示す。

(B) 乳酸菌株はMH-1株を使用。OP 10 mg (n=208), OP 3 mg + 乳酸菌7 mg (n=207)。図の曲線は4回に分けて実施した実験の合計を示す。

(C) 乳酸菌株はMH-4株を使用。OP 10 mg (n=54), OP 3 mg + 乳酸菌7 mg (n=49)。図の曲線は1回実施した実験の成績を示す。

混合給餌を開始した3日齢を観察期間0日とした。

** $P < 0.01$

さもコントロール群と同程度であった。

そこで、混合給餌としてOP 3 mgに乳酸菌7 mgを混ぜ合わせた餌（総菌量10 mg）を線虫に与えて生存分析を行った。その結果、コントロール群と比較して、OPとMH-1株を混合して与えた群では寿命が有意に延長した ($P=0.005$) (図2B)。反対に、OPとMH-4株を混合して与えた群では、コントロール群と比較して寿命に変化が認められなかった ($P=0.436$) (図2C)。なお、両条件とも乳酸菌に対する忌避行動は見られなくなり、虫体の大きさもコントロール群と同程度であった。

これらのことから、混合給餌におけるMH-1株の寿命延長効果は単にOPの給餌量が減ったこと

や忌避行動に起因するものではなく、MH-1株が線虫の寿命延長に関与している可能性が示唆された。

考 察

自家製の白菜の漬物から2種類の乳酸菌*C. maltaromaticum* (MH-1 ~ MH-3株) と*L. acidophilus* (MH-4株) が分離された。一般的な漬物の発酵過程において、発酵初期には*Leuconostoc*属や*Enterococcus*属といった乳酸球菌が増殖し、pHが低下してくると酸に対する抵抗性が強い*Lactobacillus*属の乳酸桿菌が優勢となってくる¹¹⁾。これまでに、野菜の漬物からは、*Leuconostoc mesenteroides*や*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus brevis*などが高い頻度で分離されている^{11),12)}。それに対して、今回分離された乳酸菌*C. maltaromaticum*や*L. acidophilus*が漬物から分離されることは珍しい。

*L. acidophilus*は、ヒトや動物の腸管などに存在し、ヨーグルトなどの乳製品の製造にも用いられている乳酸菌種である。サプリメントや整腸薬での活用実績もあり、抗アレルギー効果¹³⁾、血清コレステロール低下作用¹⁴⁾、抗腫瘍作用¹⁵⁾といった機能性を示す株も存在する。一方、*C. maltaromaticum*は、自然界や食品に広く存在する乳酸菌であり、*Carnobacterium*属の中では高頻度で分離される菌種である。これまでに乳製品や食肉、極海、魚などから分離された例がある¹⁶⁾。また、食中毒菌の*Listeria monocytogenes*など一部のグラム陽性菌に対するバクテリオシンを産生する株が多数見つかっている^{17),18)}。この*L. monocytogenes*の増殖を抑制するという特性を活用して、カナダでは保健省が食品添加物として食肉製品への*C. maltaromaticum* CB1の使用を認可しており¹⁹⁾、*C. maltaromaticum*の人に対する安全性は高いものと考えられる。一方で、魚に対しては、病気の原因となるという報告もあれば、養殖においてプロバイオティクスとして利用できるという報告も存在している¹⁶⁾。

今回分離した2種類の乳酸菌MH-1株とMH-4株が生体に与える影響を線虫モデルにおいて調べた。その結果、乳酸菌の単独給餌では、コントロール群の大腸菌株OP50を給餌した線虫と比較して、MH-1株を与えた線虫においては寿命に有意差が表れず、MH-4株を与えた線虫については寿命が有意に延長した。また、著しい寿命の短縮は見られなかったことから、両株は線虫に対して病原性は示さないものと推察される。しかし、乳酸菌の単独給餌では忌避行動と虫体の大きさの縮小が見られ、食餌制限による寿命への影響が考えられた。そのため、忌避行動が見られず、虫体の大きさもコントロール群と同程度となるOPと乳酸菌の混合給餌群とコントロール群の生存曲線を比較したところ、MH-1株を給餌した線虫において寿命の延長が認められ、MH-4株を給餌した線虫については寿命に変化が認められない結果となった。

このことから、MH-1株は線虫の寿命延長に一部関与している可能性が強く示唆された。*Carnobacterium*属の乳酸菌を線虫に与えた報告はこれまでになく、これは*C. maltaromaticum*が寿命延長に関与していることを示唆した最初の報告である。一方で、寿命の短縮に関する報告はタイセイヨウダラの仔魚とキイロシヨウジョウバエで1例ずつ存在する^{20),21)}。*C. maltaromaticum*は健康な魚の腸管からも分離されることから、*C. maltaromaticum*の寿命への影響は、菌株やモデル生物、または暴露する時期によっても異なる可能性がある。今回供試したMH-1株がどのようにして寿命を延長させていたのかは明らかでないが、ビフィズス菌の一種である*Bifidobacterium infantis*による寿命延長効果は、病原菌に対するストレス応答に重要な役割

を果たすp38MAPK (mitogen-activated protein kinase) 経路を介し⁸⁾、*Lactobacillus rhamnosus*では、寿命の制御に関わるインスリン/IGF-1シグナル経路を介することが示されている²²⁾。MH-1株も、これまでに報告されているメカニズムと同様の効果を線虫に及ぼしていたのかもしれない。

一方、OPとMH-4株の混合給餌群では、コントロール群と比較して寿命に変化が認められなかったが、単独給餌においては寿命が延長したため、混合給餌の際のMH-4株の量が十分ではなかった可能性も考えられる。この結果に関しては、KimとMylonakisは、MH-4株と同じ菌種である*L. acidophilus* NCFM株は線虫の寿命には変化をもたらさなかったと報告している²³⁾。しかし、彼らはこの研究で、young adultの時期に24時間*L. acidophilus*を与えた線虫にグラム陽性菌に対する感染抵抗性が付与されたことも明らかにしている。さらにKimらは、*L. acidophilus* A4株の細胞溶解物は線虫の寿命には影響を及ぼさなかったものの、*E. coli* O157: H7感染時にペロ毒素2の細胞毒性が中和されることで線虫の生存率が高まったことも報告している²⁴⁾。こうした報告から、*L. acidophilus*は寿命延長効果を示さなくとも、病原菌に暴露された条件下では宿主である線虫の感染抵抗性を高める可能性がある。

乳酸菌の単独給餌で見られた忌避行動に関して、線虫は生育に必要な食物と認識した細菌が存在する場所には寄って行ってその場に留まり、そうではないと感知した細菌や病原性を示す細菌からは離れて好ましい食物を探し回る²⁵⁾。こうした特性から、今回、MH-1株やMH-4株はいわゆる常食としての餌としては適していないと感知し、好ましい餌を探すために忌避行動を起こしたものと考えられる。一般に、線虫は他の乳酸菌種に対しても低嗜好性を示す傾向が強い²⁶⁾。乳酸菌培養上清では低嗜好性は誘導されないため、菌体表面に存在する何らかの成分に対して低嗜好性を示していると考えられる。他に、寿命延長効果が見られる*Bifidobacterium infantis*についても、OPと比較して低嗜好性を示すという報告がある²⁷⁾。しかし、この*B. infantis*を用いた実験においては、OPを様々な比率で線虫に混合給餌した場合に*B. infantis*の容量依存的に寿命延長効果も大きくなったことも報告されている⁸⁾。したがって、今回供試したMH-1株とMH-4株もOPと混合することで低嗜好性が緩和されて、線虫の体内に一定量取り込まれたのではないかと考えられる。

本研究で分離された乳酸菌のうち、*C. maltaromaticum*の有用性については、バクテリオシン産生に関する報告がほとんどであり、*L. acidophilus*のように生体における作用について調べられたものは少ない。そのため、今後は*C. maltaromaticum*に焦点を当て、この細菌の特性を調べるとともに、生体に有益な作用をもたらす可能性についても引き続き検討を進めたい。

ま と め

自家製の白菜の漬物から乳酸菌を分離し、生化学的性状検査により菌種の同定を行った。その結果、*C. maltaromaticum*と*L. acidophilus*の2種類の乳酸菌が得られた。分離した2種類の乳酸菌(*C. maltaromaticum* MH-1と*L. acidophilus* MH-4)を線虫に与えたところ、寿命の短縮は認められなかったことから、MH-1株とMH-4株は線虫に対して病原性は示さないと推察された。MH-1株については、OPとの混合給餌により線虫の寿命が延長し、寿命延長に一部関与している可能性が強く示唆された。

謝 辞

線虫ならびに*E. coli* OP50を分与していただきました大阪市立大学大学院生活科学研究科 西川禎一教授に深謝申し上げます。

引 用 文 献

1. Waki, N., Yajima, N., Suganuma, H., Buddle, B.M., Luo, D., Heiser, A. and Zheng, T. (2014) Oral administration of *Lactobacillus brevis* KB290 to mice alleviates clinical symptoms following influenza virus infection. *Lett Appl Microbiol.* 58(1): 87-93.
2. Harris, L.J., Fleming, H.P. and Klaenhammer, T.R. (1992) Characterization of two nisin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains isolated from a commercial sauerkraut fermentation. *Appl Environ Microbiol.* 58(5): 1477-83.
3. Zhu, K., Tan, F., Mu, J., Yi, R., Zhou, X. and Zhao, X. (2019) Anti-Obesity Effects of *Lactobacillus fermentum* CQPC05 Isolated from Sichuan Pickle in High-Fat Diet-Induced Obese Mice through PPAR- α Signaling Pathway. *Microorganisms.* 7(7): E194.
4. Rui, Q., Zhao, Y., Wu, Q., Tang, M. and Wang, D. (2013) Biosafety assessment of titanium dioxide nanoparticles in acutely exposed nematode *Caenorhabditis elegans* with mutations of genes required for oxidative stress or stress response. *Chemosphere.* 93(10): 2289-96.
5. Martorell, P., Forment, J.V., de Llanos, R., Monton, F., Llopis, S., Gonzalez, N., Genoves, S., Cienfuegos, E., Monzo, H. and Ramon, D. (2011) Use of *Saccharomyces cerevisiae* and *Caenorhabditis elegans* as model organisms to study the effect of cocoa polyphenols in the resistance to oxidative stress. *J Agric Food Chem.* 59(5): 2077-85.
6. Yan, F., Chen, Y., Azat, R. and Zheng, X. (2017) Mulberry Anthocyanin Extract Ameliorates Oxidative Damage in HepG2 Cells and Prolongs the Lifespan of *Caenorhabditis elegans* through MAPK and Nrf2 Pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2017: 7956158.
7. Ikeda, T., Yasui, C., Hoshino, K., Arikawa, K. and Nishikawa, Y. (2007) Influence of Lactic Acid Bacteria on Longevity of *Caenorhabditis elegans* and Host Defense against *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(20): 6404-9.
8. Komura, T., Ikeda, T., Yasui, C., Saeki, S. and Nishikawa, Y. (2013) Mechanism underlying prolongevity induced by bifidobacteria in *Caenorhabditis elegans*. *Biogerontology.* 14(1): 73-87.
9. Park, M.R., Yun, H.S., Son, S.J., Oh, S. and Kim, Y. (2014) Short communication: Development of a direct in vivo screening model to identify potential probiotic bacteria using *Caenorhabditis elegans*. *J Dairy Sci.* 97(11): 6828-34.
10. Biomerieux Home Page . <https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authenticate?action=prepareLogin>
11. 宮尾茂雄. (2005) 漬物と微生物. 日本食品微生物学会誌, 22(4): 127-137.
12. 中川弘, 水野竹美, 清水隆浩, 金子旬一, 角野政弥, 伊藤武, 坂井千三, 寺田厚. (2001) 漬物の乳酸菌叢に関する検討. 日本食品微生物学会誌, 18(2): 61-66.
13. Ishida, Y., Nakamura, F., Kanzato, H., Sawada, D., Yamamoto, N., Oh-Ida, M., Takeuchi, H. and Fujiwara, S. (2005) Effect of milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* strain L-92 on symptoms of Japanese cedar pollen allergy: a randomized placebo-controlled trial. *Biosci Biotechnol Biochem.* 69(9): 1652-60.
14. Song, M., Park, S., Lee, H., Min, B., Jung, S., Parl, S., Kim, E. and Oh, S. (2015) Effect of *Lactobacillus acidophilus* NS1 on plasma cholesterol levels in diet-induced obese mice. *J.Dairy Sci.* 98(3): 1492-501.
15. Rao, C.V., Sanders, M.E., Indranie, C., Simi, B. and Reddy, B.S. (1999) Prevention of colonic preneoplastic lesions by the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFMTM in F344 rats. *Int J Oncol.* 14(5): 939-44.
16. Leisner, J.J., Laursen, B.G., Prevost, H., Drider, D. and Dalgaard, P. (2007) *Carnobacterium*: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS Microbiol Rev.* 31(5): 592-613.

17. Ahn, C. and Stiles, M.E. (1990) Plasmid-Associated Bacteriocin Production by a Strain of *Carnobacterium piscicola* from Meat. *Appl Environ Microbiol.*, 56(8): 2503-10.
18. Martin-Visscher, L.A., van Belkum, M.J., Garneau-Tsodikova, S., Whittall, R.M., Zheng, J., McMullen, L.M. and Vederas, J.C. (2008) Isolation and Characterization of Carnocyclin A, a Novel Circulae Bacteriocin Produced by *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307. *Appl Environ Microbiol.*, 74(15): 4756-63.
19. Health Canada Home Page. List of Permitted Preservatives. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/food-additives/lists-permitted/11-preservatives.html>
20. Sandlund, N. and Bergh, O. (2008) Screening and characterisation of potentially pathogenic bacteria associated with Atlantic cod *Gadus morhua* larvae: bath challenge trials using a multidish system. *Dis Aquat Organ.*, 81(3): 203-17.
21. Jensen, R.L., Pedersen, K.S., Loeschcke, V., Ingmer, H. and Leisner, J.J. (2007) Limitations in the use of *Drosophila melanogaster* as a model host for gram-positive bacterial infection. *Lett Appl Microbiol.*, 44(2): 218-23.
22. Grompone, G., Martorell, P., Llopis, S., Gonzalez, N., Genoves, S., Mulet, A.P., Fernandez-Calero, T., Tiscornia, I., Bollati-Fogolin, M., Chambaud, I., Foligne, B., Montserrat, A. and Ramon, D. (2012) Anti-inflammatory *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-3690 strain protects against oxidative stress and increases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Plos One.*, 7(12): e52493.
23. Kim, Y. and Mylonakis, E. (2012) *Caenorhabditis elegans* immune conditioning with the probiotic bacterium *Lactobacillus acidophilus* strain NCFM enhances gram-positive immune responses. *Infect Immun.*, 80(7): 2500-8.
24. Kim, Y., Han, K.S., Imm, J.Y., Oh, S., You, S., Park, S. and Kim, S.H. (2006) Inhibitory effects of *Lactobacillus acidophilus* lysates on the cytotoxic activity of shiga-like toxin 2 produced from *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol.*, 43(5): 502-7.
25. Shtonda, B.B. and Avery, L. (2006) Dietary choice behavior in *Caenorhabditis elegans*. *J Exp Biol.*, 209 (Pt1): 89-102.
26. Chelliah, R., Choi, J.G., Hwang, S.B., Park, B.J., Daliri, E.B., Kim, S.H., Wei, S., Ramakrishnan, S.R. and Oh, D.H. (2018) In vitro and in vivo defensive effect of probiotic LAB against *Pseudomonas aeruginosa* using *Caenorhabditis elegans* model. *Virulence.*, 9(1): 1489-1507.
27. Sun, S., Ohta, A., Kuhara, A., Nishikawa, Y. and Kage-Nakadai, E. (2019) daf-16/FOXO isoform b in AIY neurons is involved in low preference for *Bifidobacterium infantis* in *Caenorhabditis elegans*. *Neurosci Res.*, S0168-0102 (18) 30597-2.

[2019. 9. 26 受理]

コントリビューター：箱田 雅之 教授（管理栄養学科）

