

審査の結果の要旨

氏名 高野 智弘

慢性炎症は様々な生体の異常と密接な関係があることが報告されている。例えば、加齢に伴い全身で慢性炎症状態になることが報告されており、慢性炎症は加齢性疾患の原因となりうる。慢性炎症が生じるメカニズムや、抑制する手段を明らかにすることは、加齢誘発性慢性炎症のみならず生活習慣病の改善にも寄与する可能性がある。腸管免疫系には特徴的な炎症抑制機構が存在し、その機能不全が慢性炎症の亢進にはたらく一方で、その抑制機構を利用して炎症を抑制することができると考えられる。本論文は、加齢に伴う慢性炎症の生じるメカニズムを腸管免疫系の観点から明らかにし、また、慢性炎症の抑制手段の一つとして、乳酸菌株と腸管免疫系との相互作用を明らかにすることで、食品成分による抗炎症性作用を検討することを目的としたもので、緒言と総合討論を合わせ 4 章からなる。

緒言では、研究の背景と目的について述べている。

腸管免疫系における重要な炎症抑制機構の一つに過剰な免疫応答を抑制する制御性 T 細胞 (Treg) の誘導が挙げられる。加齢に伴い Treg の分化誘導が低下することが報告されているが、腸管免疫系における Treg 誘導に関する加齢の影響については、これまで報告されていなかった。この研究状況にもとづき、第一章では、卵白アルブミン (OVA) 特異的 T 細胞レセプター (TCR) を発現するトランスジェニックマウスに OVA を含有する飼料 (卵白食) を摂食させる実験系を用いて、経口抗原の投与による Treg 誘導における加齢の影響を検討している。若齢および加齢 TCR トランスジェニックマウスに卵白食を摂食させ、MLN における Treg の割合を測定したところ、加齢マウスにおいて Treg の誘導が低下していることが観察された。

腸管免疫系において樹状細胞 (DC) は Treg の分化を誘導する主要な細胞の一つであり、ビタミン A 代謝産物であるレチノイン酸を産生することで Treg の分化誘導を促進する。そこで若齢 BALB/c マウスおよび加齢マウスの腸間膜リンパ節 (MLN DC) に発現するレチノイン酸合成酵素 retinaldehyde dehydrogenase 2 (RALDH2) の mRNA 発現量を測定したところ、若齢マウスと比較して、加齢マウスにおいてその発現量が低下していることが確認された。また、若齢マウスと比較して加齢マウスにおいて RALDH2 発現の高い CD11b⁻CD103⁺PD-L1^{high} サブセットの割合および酵素活性が低下していることが示されている。また、加齢マウス

由来の MLN DC と T 細胞を共培養したところ、若齢マウス由来の MLN DC と比較して誘導された Treg の割合が低いことを見出している。続いて、加齢に伴い RALDH2 遺伝子プロモーター領域に存在する CpG アイランド領域がメチル化されることにより遺伝子発現が抑制される可能性を検討している。その結果、若齢マウスと比較して加齢マウス由来 MLN DC の RALDH2 遺伝子プロモーター領域では CpG 配列のメチル化が有意に亢進していることを明らかにしている。この結果から、加齢に伴うエピジェネティックな遺伝子発現抑制により、MLN DC におけるレチノイン酸産生が低下していることが示唆された。最後に、経口抗原摂取による Treg 誘導の実験系において、レチノイン酸を投与することによる影響を検討している。その結果、レチノイン酸の投与により、MLN 内の Treg の割合が増加する傾向が認められた。このことから、加齢に伴う Treg 誘導の低下がレチノイン酸産生の低下によるものであること可能性が示された。

続く第二章では、乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* OLL2712 株による腸管免疫系を介した抗炎症作用のメカニズムの解析を行っている。慢性炎症状態を抑制する手段の一つとして、抗炎症作用のある成分の摂取が考えられる。乳酸菌 *L. plantarum* OLL2712 株は、骨髄由来 DC および腹腔マクロファージに対して抗炎症性サイトカイン interleukin 10 (IL-10) の高い誘導能を持つことで選抜された菌株である。そこで本章では、経口的に摂取される乳酸菌は、腸管免疫系に作用し、抗炎症作用を発揮することを想定し、*L. plantarum* OLL2712 株の腸管免疫系、特に DC に及ぼす影響について検討している。まず本菌体の腸管 DC への作用について検討し、*L. plantarum* OLL2712 株との共培養により、MLN DC およびパイエル板 (PP) DC の両方において IL-10 遺伝子相対発現量および IL-10 タンパク質が増加することを示している。また、*L. plantarum* OLL2712 株を投与したマウスでは対照群と比較して PP DC および MLN DC で IL-10 遺伝子相対発現量が増加することを明らかにしている。これらの結果から、*L. plantarum* OLL2712 株が生体に対して腸管 DC の IL-10 産生を誘導し、抗炎症性の作用を及ぼす可能性が示された。

続く総合討論では、全体を通しての考察および今後の展望を述べている。

以上、本論文は、腸管免疫系の免疫抑制機構を担う DC の機能低下が加齢における慢性炎症の原因となる可能性を示し、腸管 DC の機能低下を食品成分等で改善することで加齢や肥満による慢性炎症の改善につながる可能性を示したもので、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。