

## 審査の結果の要旨

氏名 青木 玲二

近年、乳酸菌に様々な健康機能があることが明らかになり、乳酸菌の活用が進められている。本論文は、乳酸菌の健康面での活用をさらに進めることを目的とし、乳酸菌代謝物の一つである芳香族ピルビン酸(フェニルピルビン酸、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸、インドール-3-ピルビン酸)の新規機能性と、卵白リゾチームの加熱凝集による乳酸菌体の免疫調節作用の増強機構について検討したものである。本論文は、研究背景などについて記述した序論につづき、1章、2章、3章、4章および5章(総合討論)から構成される。

第1章では、紫外線B波(UVB)照射による角化細胞の損傷および炎症反応に対するピルビン酸の防御作用について検討している。ヒト不死化角化細胞であるHaCaT細胞を用い、ピルビン酸がUVB照射後の細胞の生存を向上させること、UVBにより誘導される炎症性メディエーターであるinterleukin (IL)-1 $\beta$ 、IL-6、cyclooxygenase-2 (Cox-2)の発現を抑制することを明らかにしている。本章ではさらに、UVBにより誘導される活性酸素(ROS)の産生およびmitogen-activated protein kinase (MAPK)の活性化に対するピルビン酸の効果を検討し、ピルビン酸はROSの産生ではなくp38 MAPKのリン酸化を抑制することにより、角化細胞の損傷および炎症反応を抑制している可能性があると考えられている。

第2章では、UVB照射による皮膚傷害に対する芳香族ピルビン酸の防御作用について検討している。HaCaT細胞のUVB照射モデルを用いた検討から、芳香族ピルビン酸はピルビン酸よりも強く細胞の生存を高めること、UVBにより誘導されるIL-1 $\beta$ 、IL-6、Cox-2の発現を抑制することを明らかにしている。また、芳香族ピルビン酸はピルビン酸と同様にUVB照射により誘導されるROSの産生を阻害しない一方で、p38 MAPKのリン酸化を抑制することを明らかにしている。さらに、HR-1ヘアレスマウスのUVB照射炎症モデルを用いて芳香族ピルビン酸の防御作用について調べ、芳香族ピルビン酸の中でも特にインドール-3-ピルビン酸(IPA)の塗布により、皮膚の炎症や皮膚のバリア機能の低下が抑制されることを明らかにしている。

第3章では、芳香族ピルビン酸の腸管炎症抑制作用について検討している。4-ヒドロキシフェニルピルビン酸や IPA は芳香族炭化水素受容体(AhR)を活性化すること、また、いくつかの AhR アゴニストは腸管炎症を抑制することが報告されており、これらの物質は腸管炎症を抑制できる可能性がある。本章では芳香族ピルビン酸の AhR 活性化能を評価するとともに、T 細胞移入大腸炎モデルを用いて芳香族ピルビン酸の腸管炎症抑制作用を評価し、IPA に最も強い AhR 活性化能があること、経口摂取させた場合には IPA でのみ腸管炎症が抑制されることを明らかにしている。さらに、IPA の大腸炎症抑制機構について検討し、IPA が大腸において IL-10 産生 T 細胞を増加させること、*in vitro* において IL-10 産生を特徴とする Type 1 regulatory T (Tr1)細胞の分化を促進すること、腸間膜リンパ節(MLN)樹状細胞の Th1 分化誘導能を減弱させること、MLN 樹状細胞のサブセット構成を変動させ、CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup>樹状細胞を減少させる一方で、抗炎症作用がある CD103<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>樹状細胞を増加させることを明らかにしている。一方、AhR アンタゴニストを用いた検討を行い、IPA の大腸炎症抑制作用、Tr1 細胞分化の促進作用、MLN における CD103<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>樹状細胞増加作用に、AhR が関与している可能性が高いことを明らかにしている。

第4章では、卵白リゾチームの加熱凝集による *Lactococcus* 属乳酸菌体の IL-12 誘導能の増強機構について検討している。*Lactococcus* 属乳酸菌 46 菌株を用いた検討から、マクロファージ様細胞である J774.1 細胞では 46 菌株中 41 菌株で、マウス脾臓細胞ではすべての菌株で、卵白リゾチームの加熱凝集により IL-12 産生誘導が増強されることを明らかにしている。また、卵白リゾチームに加え、 $\alpha$ -ラクトアルブミン、 $\beta$ -ラクトグロブリン、オボアルブミンの加熱凝集死菌体を用いた検討および食食阻害剤、リゾチーム阻害剤を用いた検討から、この作用は卵白リゾチーム特異的であること、その機構には、菌体の疎水性の増加によるマクロファージ食食の促進と菌体のリゾチーム耐性強化によるマクロファージ消化耐性の増大が関係している可能性が考察されている。

第5章(総合討論)では、ピルビン酸および芳香族ピルビン酸の p38 MAPK の阻害機構と UVB 照射による皮膚傷害に対する IPA の防御作用における AhR の関与の可能性について論じられているほか、今後の展望について述べられている。

以上、本論文で得られた知見は、乳酸菌代謝物および菌体による免疫炎症応答調節の新たな機構を明らかにしたものであり、乳酸菌の健康機能向上につながるものと期待される。これらの研究成果は、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。