

審査の結果の要旨

氏名 柳原 沙恵

近年、アレルギー性疾患の乳酸菌による抑制効果が報告されている。*Lactobacillus acidophilus* L-92 株 (L-92 株)も、アレルギーモデルマウス実験において IgE 産生抑制作用の高い乳酸菌として選抜され、ヒトにおいても花粉症、通年性アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎に対する症状の改善効果が示されている。また、免疫賦活効果による感染防御効果も確認されている。L-92 株の作用メカニズムについては、Th1/Th2 バランス改善や制御性 T 細胞の誘導によりアレルギー症状緩和効果を、炎症性サイトカイン産生誘導や NK 活性上昇により感染防御効果を示すものと推測されている。しかしながら、L-92 株を含めて、免疫調節機能を有する乳酸菌の生体へ作用する経路や菌体上の特徴などに関しては不明な点が多い。

以上を背景に、本研究では、L-92 株の腸管免疫系への作用経路を明らかにするとともに、これを担う L-92 株の重要分子を探索した。また、それらの分子が乳酸菌の免疫調節においてどのような役割を果たすのかについて解析し、L-92 株が腸管全般に対してどのような影響を及ぼすのかについても検討を試みた。本論文は、緒言（第一章）と総合討論（第五章）を含め、5 章からなる。

研究の背景と目的が述べられている緒言に続き、第二章では、L-92 株の小腸パイエル板からの取り込みと関連分子の解析について述べられている。腸管に到達した L-92 株が免疫調節作用を発揮するための作用経路を解明するために、小腸パイエル板に存在する“M 細胞”と呼ばれる抗原取り込みに特化した細胞に着目して研究を行った。その結果、L-92 株の菌体が M 細胞からパイエル板内部の樹状細胞へと取り込まれる様子を観察することに成功した。続いて、M 細胞特異的に発現する分子に着目して L-92 株との結合性を評価した結果、L-92 株が Uromodulin タンパク質に結合性を示すこと、Uromodulin が M 細胞からの取り込みに関与することが示された。乳酸菌側の因子では、Uromodulin 結合性の低い乳酸菌株とのプロテオーム比較解析等から、L-92 株の表層タンパク質 Surface layer protein A (SlpA) が M 細胞からの取り込みに関与することが示唆された。また、*in vivo*における脾臓 NK 活性を評価した結果、Uromodulin と SlpA の両方が重要であることが示唆され、L-92 株が免疫調節作用を発揮するためには Uromodulin と SlpA を介して菌体が M 細胞から取り込まれ、樹状細胞へ到達することが重要であることが示唆された。

第三章では、M 細胞から取り込まれた L-92 株の菌体が樹状細胞に接触した際の免疫応答を解

析し、免疫調節メカニズムを推察するために、*in vitro* でマクロファージ様に分化させた THP-1 細胞を用いて、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。その結果、L-92 株との共培養初期には、主にサイトカインの発現が上昇し、共培養 24 時間後ではさらに転写因子、酵素、細胞膜受容体などが発現上昇した。抗原提示分子や補助刺激分子の発現上昇もみられ、Th1/Th2 バランスの調節や制御性 T 細胞の誘導、感染防御に関与する分子として IL-12、IDO1 などの発現上昇も見出された。以上のことから、樹状細胞に L-92 株が到達した際の応答を推測することが可能となった。

第四章では、L-92 株が免疫系のみならず消化管に対しても様々な刺激を与えるものと考え、腸管上皮細胞様に分化させた Caco-2 細胞を用いて、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。L-92 株に対する初期応答としては、多くの遺伝子群の発現が抑制され、後期応答としては細胞接着などに関連する細胞表面分子の発現が上昇した。これらの結果より、L-92 株の刺激により腸管上皮細胞が細胞接着因子を発現し、L-92 株が上皮細胞に接着する可能性が示唆された。

総合討論では、結果のまとめ、課題、および食品・医薬分野への応用を含めた今後の展望について述べられている。

以上、本論文では、L-92 株の腸管免疫系への作用経路およびその分子機構について明らかにし、その作用において L-92 株を特徴づける重要分子を解明した。特に、乳酸菌の M 細胞からの取り込みに関する分子メカニズムについて重要な新知見を得たもので、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。