

審査の結果の要旨

氏名 菊池 洋介

腸管粘膜は、免疫組織として重要な役割を果たしている。その機能を司っているのが、パイエル板である。パイエル板では、immunoglobulin A (IgA) が産生され、腸管へ分泌され、ウイルス等の抗原が中和されている。また、パイエル板で IgA 分泌を亢進する細胞数が増加すると、気管支随伴リンパ組織でも、同様に IgA 分泌が亢進されることが知られている。これらを踏まえ、近年、IgA 分泌を亢進してウイルス感染の症状を緩和し得る各種乳酸菌株が注目されている。しかし、それら乳酸菌の IgA 分泌亢進の作用機序は未詳であった。

本研究は、乳酸菌株を利用した新たな機能性食品の開発を目指し、IgA 分泌を亢進する効果を有し、さらにその作用機序が明確な乳酸菌株を見出すことを目的として行ったものである。論文は、序章である第 1 章、本論である第 2 章、第 3 章、第 4 章、第 5 章、および総合討論である第 6 章から成る。

第 2 章では、IgA 分泌亢進能を持つ乳酸菌株の選抜と、その必要摂取量について述べられている。マウスパイエル板細胞の初代培養系に、食品由来の 140 種の乳酸菌株の死菌粉末をそれぞれ添加し、培地中への IgA 分泌量を測定する *ex vivo* 試験で 1 次スクリーニングを行った。その後、選抜した 3 種の菌株の死菌粉末混合餌をマウスに摂食させた後、摘出したパイエル板初代培養細胞から培地中への IgA 分泌量を測定する *ex vivo* 試験で 2 次スクリーニングを行った。これらの試験から腸管への IgA 分泌亢進作用を有する乳酸菌株として、パンの発酵種由来の乳酸菌株である *Lactobacillus plantarum* AYA (AYA 株) を選抜した。マウスに AYA 株死菌粉末混合餌を 4 週間摂取させた後、腸管内腔への IgA 分泌量を測定した *in vivo* 試験においても AYA 株による IgA 分泌量増強効果が示された。用量試験の結果、マウスでは 1 日あたり 0.72 mg の AYA 株摂取が効果発現に必要なことが示された。

第 3 章では、AYA 株が IgA 分泌を亢進する作用機序について検討されている。まず、パイエル板から単離した樹状細胞および IgA 陽性 B 細胞を共培養し、そこに AYA 株死菌粉末を添加すると、IgA 分泌が亢進することを示した。次に、AYA 株死菌粉末添加によって、樹状細胞における interleukin-6 (IL-6) の mRNA 発現、および、培地中へのタンパク質分泌が有意に亢進されることを示した。さらに、抗 IL-6 抗体の添加によって、IgA 分泌亢進効果がキャンセルされること

を示した。これらの結果から、IgA 分泌亢進には樹状細胞からの IL-6 分泌亢進が必須であることが示された。また、AYA 株の細胞壁成分中に活性成分の一部が含まれることを明らかにし、樹状細胞による活性成分の受容は toll-like receptor 2 (TLR-2) が担う可能性も示した。以上より、AYA 株はパイエル板樹状細胞に認識されて、そこからの IL-6 分泌を亢進し、結果として腸管内腔への IgA 分泌を亢進していることが示された。

第 4 章では、AYA 株が有する IgA 分泌亢進以外の免疫機能の推定について述べられている。AYA 株の死菌粉末混合餌をマウスに 4 週間摂取させた後、パイエル板を摘出して DNA マイクロアレイ試験を実施し、対照群と比較して発現変動遺伝子を抽出した。発現変動遺伝子群の特徴記述から、T 細胞や B 細胞の活性化による獲得免疫の亢進、炎症や補体を誘導する自然免疫の亢進等が示唆された。

第 5 章では、AYA 株死菌粉末の摂取がウイルス感染時の症状に与える影響について述べられている。AYA 株死菌粉末混合餌を摂取させたマウスでは、肺での IgA 分泌量が有意に増加することを明らかにした。AYA 株死菌粉末混合餌を摂取させたマウスに対して、インフルエンザウイルス X31 株の感染試験を行った結果、対照群と比較し、AYA 株摂取群の生存率が有意に高く、インフルエンザ罹病時の症状を緩和することが示された。

第 6 章の総合討論では、他の乳酸菌株での研究を踏まえ、学術的な価値、産業での利用価値について考察がなされ、実用化に向けてさらに検討が必要な項目にも言及されている。

以上、本研究では、乳酸菌 *L. plantarum* AYA が有する機能性として、粘膜組織での IgA 分泌亢進、および、インフルエンザ症状緩和効果を示した。また、その作用機序として、AYA 株がパイエル板樹状細胞に認識されること、そこからの IL-6 の分泌を亢進し、IgA 陽性 B 細胞を活性化することを明らかにした。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。