

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 朴 知賢

本論文は、加齢に伴って変化する免疫機能や反応を調べることで、免疫老化のメカニズムを明らかにすることを目的として行った、加齢に伴う細胞レベルでの免疫反応の機能的な変化や加齢に伴い変化した免疫機能を調節できる物質の探索の結果について述べている。本論文は 5 章からなる。

序で研究の背景と目的を述べた後、第 1 章では、高齢マウスの脾臓由来ストローマ細胞が高いレベルの IL-6 を産生することを確認した結果について述べている。高齢マウスにおいて、免疫組織の支持細胞である CD45<sup>+</sup>ストローマ細胞の IL-6 産生が大きく増加することが明らかになった。さらに、高齢マウス CD45<sup>+</sup>ストローマ細胞は高いレベルの IL-6 mRNA を発現していることも確認できた。加齢に伴う IL-6 産生の増加における CD45<sup>+</sup>ストローマ細胞の重要性が示されている。加齢に伴い、CD45<sup>+</sup>ストローマ細胞のサブセットの分布が変化し、高齢マウス CD45<sup>+</sup>ストローマ細胞において BEC 画分が増加した。このような CD45<sup>+</sup>ストローマ細胞分布の変化が、高齢マウスにおける IL-6 産生の上昇に寄与する可能性が示唆された。

第 2 章では、ミトコンドリア DNA 変異の IL-6 発現に及ぼす影響について述べている。ミトコンドリア DNA ポリメラーゼガンマに点変異を導入し作製した早老症を示す D275A マウスを使用した。LPS 刺激下で、D275A マウス脾臓細胞は野生型マウスより IL-6 を高く発現した。さらに、野生型マウスに比べ、D275A マウスは TNF- $\alpha$  発現も 2 倍以上高かった。ROS の一種であるスーパーオキシドアニオンの産生についても、D275A マウスは野生型マウスより多く ROS を産生することを確認した。ミトコンドリア DNA に変異が入ることで、LPS 刺激により TNF- $\alpha$  がより多く産生され、これにより ROS 産生レベルが高くなり、最終的に IL-6 mRNA の発現が上昇するメカニズムが考えられる。免疫反応における ROS とミトコンドリアの機能に関する研究への新たな可能性が示された。

第 3 章では、黒ニンニクと冬虫夏草抽出物の IL-6 産生抑制能力について述べている。黒ニンニクと冬虫夏草は IFN- $\gamma$  や IL-2 産生に影響を与えることなく、IL-6 産生を抑制することが確認できた。さらに、黒ニンニクはストローマ細胞から産生された IL-6 も抑制することも確認できた。冬虫夏草や黒ニンニクによる IL-6 産生の抑制は、高齢者で関節リウマチや様々な自己免疫疾患において、炎症異常により誘導される症状を軽減できる良い方法になる可能性が示唆されている。

第4章では、高齢マウスにおける CD4<sup>+</sup> T 細胞の遊走能とケモカインレセプターの発現低下との相関について述べている。高齢マウス CD4<sup>+</sup> T 細胞において、CCL19 に対する遊走能や CCR7 発現レベルが低下することが確認できた。レチノイン酸を添加した場合、高齢マウス CD4<sup>+</sup> T 細胞の CCR9 発現レベルや CCL25 に対する遊走能が低下することも確認できた。さらに、高齢マウスの腸間膜リンパ節樹状細胞において、レチノイン酸を産生する酵素 RALDH2 の mRNA 発現の低下も確認できた。加齢に伴うケモカインレセプター発現レベルの低下により CD4<sup>+</sup> T 細胞の遊走能が低下することが示唆された。加齢と共にレチノイン酸産生やレチノイン酸に対する反応性が低下することが、腸管免疫において遊走能が低下する一つの原因となる可能性が示された。

第5章では、*Lactobacillus delbruekii* ssp. *Bulgaricus* OLL1073R-1 の RALDH 発現の上昇について述べている。若齢・高齢マウスにおける *L. bulgaricus* OLL1073R-1 のレチノイン酸産生能を介した免疫調節効果を調べている。MLN またはパイエル板 (PP) 細胞と *L. bulgaricus* OLL1073R-1 を共培養し、RALDH2 発現を調べた結果、MLN 細胞において RALDH2 の発現が促進されることが確認できた。MLN DC の RALDH2 も同様に発現が上昇した。これらの結果により、*L. bulgaricus* OLL1073R-1 は RALDH 発現を増強することにより、ケモカイン発現や制御性 T 細胞を誘導し、T 細胞遊走や自己免疫疾患を制御できることが示唆される。最後に全体のまとめと討論、今後の展望について述べている。

以上、本研究は、自己免疫疾患の一つの原因である IL-6 の増加、T 細胞遊走能の低下などを示しただけでなく、加齢に伴う免疫機能の低下を高齢者の自己免疫疾患や感染症に対する抵抗性の亢進などの応用も見据えて研究を行っており学術上、応用上貢献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して判断した。