

学位論文の要旨

論文題目 乳酸菌が産生する新規機能性物質に関する基礎的研究

広島大学大学院生物圏科学研究科
生物機能開発学専攻
D124522
海切 弘子

第1章：緒言

脂質は、ヒトの生命活動や身体維持に欠かせない栄養素の1つである。なかでも、中性脂肪は重要なエネルギー源であるだけでなく、それを構成する脂肪酸の種類により、生体へ及ぼす影響が異なることが知られている。食物から摂取しなければならない必須脂肪酸の1つであるリノール酸は、乳酸菌により機能性脂肪酸である共役リノール酸 (CLA) へ変換される。近年、この CLA への変換経路の中間代謝産物として 10-hydroxy-*cis*-12-octadecenoic acid (HYA)が見出され、これまでに当研究室では、HYAが腸上皮バリアを保護し、大腸炎を抑制することを示している。本研究では、新たな機能性食品素材として期待される HYA について、アトピー性皮膚炎 (AD)モデルマウスに対する抑制作用、および腸内環境への影響を探索することを目的とした。また一方で、一部の乳酸菌は、菌体外多糖 (EPS)を産生することが知られており、この EPS は菌種や菌株によって異なる生理活性を示すことが報告されている。本研究では、腸管免疫グロブリン (Ig)A産生上昇作用が知られているエンドウ豆由来の乳酸菌 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* NTM048 株が産生する EPS について、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS)誘導性大腸炎モデルマウスに対する抗炎症作用も併せて探索した。

第2章：腸内細菌代謝産物 HYA のアトピー性皮膚炎抑制作用

本章では、ヒト AD モデルとして NC/Nga マウスを用い、リノール酸の腸内細菌代謝産物である HYA の経口摂取が AD 発症を改善することを明らかにした。まず、HYA 摂取は AD 症状と相関関係にある血清 IgE の上昇を抑制し、また、皮膚症状を掻痒・発赤・出血・浮腫・擦過傷・乾燥の5項目、4段階で評価したクリニカルスコア、および組織学的分析による皮膚の肥厚化を抑制した。皮膚組織の病理学的解析により、HYA 摂取がアレルギー性炎症の主要メディエーターである肥満細胞の皮膚への浸潤を抑制していることが示唆された。さらに、HYA 摂取群の皮膚では、Control 群に比べて炎症性マーカーである TNF- α の遺伝子発現、NF κ -B p65 のリン酸化が抑制されていた。過去の研究から、AD の発症要因の1つとして皮膚バリアの損傷が報告されている。そこで、皮膚バリアにとって重要なタイトジャンクション (TJ)分子である Claudin-1 の発現量を調べたところ、HYA 摂取は AD による発現低下を抑制していた。以上の結果より、機能性脂肪酸 HYA の摂取は、皮膚の炎症、Th1/Th2 バランス、バリア損傷の改善を通して、AD 症状を緩和することが示唆された。

第3章：腸内細菌代謝産物 HYA の及ぼす腸内環境への影響

過去の研究において、HYA が腸上皮バリアを保護し大腸炎発症を抑制することが示されている。また、AD の発症と進展には、Th1/Th2 バランスの Th2 偏向、腸内細菌叢の乱れ、腸管バリアの低下が関わることも知られている。そこで本章では、HYA による AD 抑制の作用機序を探索するため、腸管の Th1/Th2 バランス、糞中 IgA 産生量、腸内細菌叢の解析を実施した。HYA 摂取は、Th2 を負に調節する Th1 サイトカイン IFN- γ および Th1 特異的転写因子である Tbet のパイエル板での発現を増加した。これらの結果より、HYA は Th1 / Th2 バランスを Th1 へシフトすることによって皮膚肥厚化や血清 IgE 濃度を抑制したと考えられた。さらに、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE)法によりマウス糞便中の腸内細菌叢を解析したところ、HYA 摂取は腸内細菌叢組成のゆるやかな変化を引き起こしていた。以上の結果より、HYA が腸内細菌叢をおだやかに修飾すること、IgA 産生を高めることが、少なくとも部分的に Th1 応答の増加および抗アレルギー効果に関与していることが提案された。

第4章：EPS 摂取による炎症性腸疾患への影響

本章では、エンドウ豆由来の植物性乳酸菌 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* NTM048 株が産生する菌体外多糖 (EPS)による大腸炎に対する軽減効果を探した。EPS 摂取は、大腸炎の病態の指標となる体重変化量の減少、結腸長の短縮、血便と下痢症状の 2 項目、5 段階で評価する DAI スコアともに軽減した。消化管バリア損傷の指標である血中 LBP (Lipopolysaccharide-Binding Protein)濃度は、DSS によって上昇したが、EPS 摂取ではその上昇が抑えられた。消化管組織炎症の評価のため、結腸における代表的な炎症性サイトカインの遺伝子発現量、腸管 TJ 分子について調べた結果、DSS 群と比べて EPS 摂取はそれらの異常を軽減していた。マウス結腸における TJ の局在においても、EPS 摂取において、TJ 構造の損傷の軽減が確認された。以上の結果より、EPS は DSS 誘導性大腸炎に対して保護的な役割を發揮することが明らかになった。

第5章：総括

HYA 摂取では、皮膚におけるクリニカルスコア、組織学的評価、サイトカインや TJ において、HYA による AD 軽減効果が認められた。また、腸管内でもパイエル板細胞産生のサイトカインや糞中 IgA の産生量において、Th1 / Th2 バランスの Th1 シフトする結果となった。EPS 摂取では、体重変化量の減少、結腸長の短縮、DAI スコア、血中 LBP 濃度、炎症性サイトカインの遺伝子発現量、腸管 TJ 分子の発現について、DSS による変化を軽減する効果が認められた。本研究で得られた知見は、乳酸菌が産生する新たな機能性物質の食品素材への開発の一助となることが期待される。