

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（薬科学）	氏名	白神 聖也
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
植物乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> SN35N の全ゲノム解析と本菌株に特異的な細胞外多糖体の構造と機能			
論文審査担当者			
主査	教授	松尾 裕彰	印
審査委員	教授	松浪 勝義	
審査委員	准教授	木下 英司	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>乳酸菌は醗酵食品の製造に利用されており，食品に対する保存期間の延長や食感や風味などの付加価値を高めるのに役立っているほか，健康サプリメントや整腸剤としても用いられている。近年，腸内細菌叢と様々な疾病や免疫力との間に密接な関係があるとの議論が活発になされている。そのような背景の中で，人体への乳酸菌の摂取が腸内細菌叢の改善に有益であるとの可能性に注目が集まっており，乳酸菌の未病・予防医学への利用が期待されている。</p> <p>乳酸菌は分離源の違いによって，動物由来乳酸菌（動物乳酸菌）と植物由来乳酸菌（植物乳酸菌）とに大別できる。乳酸菌のなかには細胞外へ多糖体（exopolysaccharide: EPS）を産生する菌株が見出されており，近年は EPS が有する生理活性が注目されている。植物乳酸菌とその EPS が期待される注目点としては，難消化性のため消化管上部では分解されずに大腸まで移行し，EPS がビフィズス菌の栄養源となるプレバイオティック（prebiotic）効果であり，2 つ目は免疫システムを賦活化（活性化）する効果である。更なる EPS の基盤研究が，新たな EPS の保健機能性の発見につながるものと推察される。</p> <p>これまでの研究で，梨から分離された植物乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> SN35N も EPS を産生することが明らかにされている。本研究では，SN35N 株の産生する EPS の化学構造および機能を解析することを目的とした。さらに，本菌株の EPS 生合成に関与する遺伝子クラスターを明らかにするため，本菌株の全ゲノムの解読を研究目的の 1 つとした。本研究を実施した結果，SN35N 株の産生する EPS の分子量は約 2.5×10^6 であることがわかった。乳酸菌種によっては，酸性 EPS と中性 EPS を同時に産生する株も知られているが，SN35N 株は酸性 EPS のみを産生していた。この酸性 EPS の構成糖として，グルコース，ガラクトース，マンノースが検出され，その存在比率は，それぞれ，14.3 : 5.7 : 1 であった。このように，SN35N 株由来の EPS はグルコースの占める割合が高いのが特徴である。また，その酸性はリン酸基によるものであることが判明した。</p>			

次に、全ゲノムの塩基配列を解析した結果、SN35N 株の染色体は環状構造をとることが示された。その全塩基対数は 3,267,626 bp であり、GC 含量は 44.51%、推定遺伝子数は 3,146 であった。さらに、この菌株には 4 つのプラスミド (pSN35N-1, -2, -3, -4 と命名) を保有することもわかった。SN35N 株の EPS 生合成遺伝子クラスターは、染色体 DNA 上に 4 個存在 (lpe1, lpe2, lpe3, lpe4 と命名) し、更なる 1 つ (lpe5) はプラスミド (pSN35N-3) に存在した。なお、pSN35N-3 プラスミドの塩基対数は 35,425 bp であった。乳酸菌における EPS 生合成遺伝子クラスターがプラスミド DNA 上に存在する例はほとんど知られていない。また、*Lactobacillus plantarum* に分類される他の菌株では未だ報告はない。

SN35N 株が産生する酸性 EPS の生理機能を調べた結果、本 EPS はヒアルロニダーゼに対する強い阻害活性を示した。このヒアルロニダーゼ阻害活性は、当研究室において、タイ国のトロピカルフルーツから分離された好温性乳酸菌 (thermophilic lactic acid bacteria) である *Lb. amylovorus* PY45 および *Pediococcus pentosaceus* LY45 の産生する EPS や褐藻類由来のフコイダンよりも強いことがわかった。また、既存の抗炎症剤として使用されているクロモグリク酸ナトリウムやグリチルリチン酸ジカリウムとほぼ同じ IC50 値を示した。ヒアルロニダーゼ活性阻害の IC50 値とヒスタミンの放出阻害との間には正の相関があるとの報告から判断すると、SN35N 株由来の酸性 EPS は抗炎症剤として利用できる可能性が示唆される。

また、SN35N 株の安全性試験の結果、急性毒性試験と変異原性試験はともに陰性であった。さらに、既に製品化されている、SN35N 株を用いて製造したヨーグルトや乳酸菌飲料を通じた食経験から、本菌株の安全性は担保されている。したがって、*Lb. plantarum* SN35N は、プロバイオティック (probiotics) およびバイオジェニクス (biogenics) として期待できる乳酸菌と言える。

以上、本論文は、植物乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* SN35N 産生する EPS の構造と機能を明らかにし、かつ、本菌株の全ゲノムを決定することにより EPS 生合成遺伝子クラスターの存在を実証したものである。よって審査委員会全員は本論文が白神聖也氏に博士 (薬科学) の学位を授与するのに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（薬科学）	氏名	白神 聖也
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
植物乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> SN35N の全ゲノム解析と本菌株に特異的な細胞外多糖体の構造と機能			
最終試験担当者			
主査	教授	松尾 裕彰	印
審査委員	教授	松浪 勝義	
審査委員	准教授	木下 英司	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定合格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年6月14日の第34回広島大学医歯薬保健学研究科発表会（薬学系）及び平成30年2月6日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 SN35N株が産生する細胞外多糖体（EPS）の化学構造について 2 SN35N株が産生するEPSの機能性に及ぼすリン酸基の影響について 3 SN35N株が産生するEPSの構造とEPS生合成遺伝子との関連性について 4 一般的な乳酸菌のEPS産生能について 5 SN35N株が産生するEPSの生理機能と臨床応用について <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			