

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	SHAKYA SHRIJANA
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
Metabolomic and transcriptional study of plant-derived lactic acid bacteria enhancing bioactivities of medicinal plant extracts (生薬発酵産物の生物活性を高める植物乳酸菌のメタボローム解析と転写研究)			
論文審査担当者			
主査	教授	松尾 裕彰	印
審査委員	教授	小池 透	
審査委員	准教授	山野 幸子	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>微生物が主役である発酵法は，食品を美味しく，かつ，長期保存させる技術であり，医薬品の製造やヒトの健康維持に大いに貢献している。一方，薬用植物（生薬）には，さまざまな生物活性物質が数多く含まれており，それらは治療薬につながるリード化合物となる。しかしながら，その物質の多くは有機化学の手法で合成することが困難な化学構造を持ち，かつ，薬用植物から得られるリード化合物の量はわずかである。このような背景から，微生物による生薬エキスの発酵技術は，生物活性物質を量産させる方法として意義深い。</p> <p>発酵食品，例えば，ヨーグルトの製造には乳酸菌が必須であるが，植物から分離される <i>Lactobacillus (L.) plantarum</i> や <i>Pediococcus (P.)</i> 属などの植物乳酸菌はそのままでは乳を発酵できない。ところが，動物由来の乳酸菌と違って，生薬エキス中で増殖でき，生薬由来配糖体をアグリコンに変換したり，抗酸化物質やフェノール含有化合物を生成したりするなど，生物活性を有する物質を新生できる。植物乳酸菌を用いて生薬エキスを発酵する過程で，グリコシルヒドロラーゼ，フェノール酸デカルボキシラーゼ，レダクターゼ，エステラーゼなどの代謝酵素を介して，植物に含まれる化合物を分解したり，変換したりして，ヒトの健康に有益な物質がつくられる。</p> <p>本研究では，シャクヤク (<i>Paeonia lactiflora</i> Pall の乾燥根)，ハッカ (<i>Mentha arvensis</i> Linné var. <i>Piperascens</i> Malinvaud)，およびクチナシ(<i>Gardenia fructus</i>)の実などの薬用植物の水抽出液を培地として，<i>L. plantarum</i> SN13T, <i>L. brevis</i> 174A, <i>P. pentosaceus</i> LP28 などの各植物乳酸菌株を培養し，得られた発酵液に含まれる生物活性物質を解析した。また，SN13T 株の全ゲノム配列から，活性物質の生成に関わる代謝酵素をコードする遺伝子を同定し，それら遺伝子の転写プロファイルと発酵液の生物活性物質との関連性を調べた。</p> <p>その結果，SN13T 株および 174A 株をシャクヤク，ハッカ，クチナシ抽出液で増殖させると，生物活性物質の量が増加し，かつ，RAW 264.7 細胞をリポポリサッカライド(LPS)により刺激した時に産生される炎症性メディエーターである，一酸化窒素(NO)，活性酸素種(ROS)，IL-6，TNF-<math>\alpha</math> などが抑制された。</p>			

次に、SN13T 株によりシャクヤク、ハッカ、クチナシを発酵した時に生成する生理活性物質の同定を試みた。その結果、発酵によりシャクヤクにおいては gallic acid から pyrogallol, ハッカでは rosmarinic acid から dihydrocaffeic acid, クチナシでは geniposide から genipin が生成することを明らかにした。植物乳酸菌による生薬発酵液中にこれらの生物活性物質が新生されるためには、乳酸菌の代謝酵素が使われていると予測された。SN13T 株のゲノム遺伝子を解析した結果、これらの代謝経路に関与する酵素として、デカルボキシラーゼ、エステラーゼ、レダクターゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼをコードすると推定された遺伝子が存在していた。これらのアミノ酸配列は、*L. plantarum* WCFS1 や *L. plantarum* ATCC 8014 で以前に同定されたものと相同性が認められた。さらに、これらの酵素の mRNA が SN13T 株による生薬の発酵中に発現しており、時間と共に発現量が変化することを明らかにした。

以上の結果は、生薬エキスの生物活性を強化した機能性食品を開発するために、植物乳酸菌による発酵が有益であることを示唆する。本論文は、機能性向上を目的とした発酵技術に関する新知見を与えるものであり、今後の新しい疾病治療薬・予防薬の開発に寄与する点で高く評価できる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（薬科学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。