HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	チーズスターター乳酸菌Lactobacillus helveticus SBT2171の免疫制御作用に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	山下, 舞亜
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第7051号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70151
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Maya_Yamashita_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博　士（農学）　　氏名　　山　下　　舞　亜

学 位 論 文 題 名

チーズスターター乳酸菌 *Lactobacillus helveticus* SBT2171
の免疫制御作用に関する研究

本研究では、チーズスターター乳酸菌である *Lactobacillus helveticus* SBT2171（LH2171）の免疫制御作用に着目し研究を進めた。LH2171 は乳製品から分離された乳酸菌であり、高いプロテアーゼ活性を有することから、ゴーダチーズの製造にスターター乳酸菌として広く用いられている。これまでに、LH2171 を含有するチーズをマウスに摂取させることにより、制御性の免疫細胞の誘導、炎症性サイトカインの産生抑制、マウスの大腸炎の緩和といった免疫制御作用が認められることが報告されている。また、ヒトやラットにおけるチーズの免疫制御作用が報告されている。しかしながら、チーズの製造に用いられるスターター菌が免疫制御作用を有するかどうかは検証されていない。また、近年、生活習慣病やがんを含む加齢関連疾患には、総じて生体内での慢性炎症（炎症性サイトカインやケモカインの過剰な分泌、免疫細胞の過剰な増殖や活性化等）が深く関与することが報告されており、“慢性炎症は万病の元”といわれている。したがって、炎症を抑制すること、それも医薬に頼るのではなく、日常的摂取できる食品によって予防的に抑制することは、今後、超高齢社会に突入していく日本が抱える様々な問題（医療費の増大や労働力の減少など）を解決する、一つの有力な手段となると考えられる。

第 1 章において、LH2171 菌体そのものに免疫制御作用があるか否かを、細胞実験において様々な乳酸菌 40 株と比較しながら検証した。マウスの初代培養免疫細胞に乳酸菌を添加し、免疫指標として一般的に用いられる免疫細胞の増殖、および炎症性サイトカインの産生について評価した。結果として、LH2171 は免疫細胞の増殖、及び IL-6 をはじめとする炎症性サイトカインの産生を抑制し、LH2171 が他の乳酸菌と比べて、非常に強い免疫制御作用を有することが示された。また、その作用は細胞毒性によるものではなかった。LH2171 がチーズスターター乳酸菌としての食経験を有することを踏まえると、LH2171 は安全に摂取可能な有用な乳酸菌であると考えられた。

第 2 章では、第 1 章の細胞実験で示された LH2171 の免疫制御作用が動物においても発揮されるかを検証するため、過剰な免疫反応の動物モデルとして、自己免疫疾患の一つである、関節リウマチ（Rheumatoid arthritis; RA）のモデルマウス（コラーゲン誘導性関節リウマチ（Collagen-induced arthritis ; CIA）マウス）を用いた試験を実施した。これまでに、LH2171 の腹腔内投与により、CIA マウスの発症率及び症状が緩和されることを報告していたため、本研究では、経口投与による効果の検証、及び緩和メカニズムの深堀を主な目的とした。結果として、LH2171 の経口投与により、CIA 発症に伴う体重低下や後肢の肥厚が緩和された。さらに、LH2171

の投与は、血液中において CIA や RA の増悪因子である血清中の抗原特異的抗体価と炎症性サイトカイン IL-6 を低下させ、リンパ組織において抗体産生やサイトカイン産生を促進する B 細胞や T 細胞といった免疫細胞数を減少させた。これらの結果から、LH2171 は動物試験においても免疫細胞の過剰増殖を抑制することで抗体やサイトカインの産生を抑制し、炎症性疾患を抑制することが示唆された。

第 3 章では、新たに、多発性硬化症（Multiple sclerosis; MS）モデルマウスに対する効果を検証した。多発性硬化症は、自己免疫疾患の一つで、脳や脊髄といった中枢神経系において自己のタンパク質に対して過剰な免疫反応が起こり、運動機能、感覚機能、認知機能等に支障をきたす脱髄性脳脊髄炎である。MS の研究において、モデル動物として実験的自己免疫性脳脊髄炎（Experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE）モデルマウスが広く用いられている。このモデルは脊髄のタンパク質やペプチドを抗原として動物に投与することにより、投与部位近傍のリンパ組織で免疫細胞が活性化され、脊髄へと浸潤し、多発性硬化症様の病状を呈す。EAE マウスに LH2171 を投与した結果、EAE の発症率の低下、麻痺症状の緩和作用が認められた。また、脊髄、および末梢のリンパ組織において、LH2171 投与マウスで病原性免疫細胞である Th17 の数と存在割合が低下した。加えて、Th17 細胞の分化に関わる IL-6 をはじめとした炎症性サイトカインの遺伝子発現がリンパ組織で低下した。IL-6 の主な産生細胞である、マクロファージや樹状細胞の細胞株を用いた細胞実験においても、LH2171 がこれらの細胞からの IL-6 産生を、LH2171 の添加濃度依存的に抑制することが明らかとなった。したがって、LH2171 による EAE 緩和の作用メカニズムとして、LH2171 が病原性免疫細胞である Th17 細胞の分化を誘導する IL-6 等の炎症性サイトカインの産生を抑制することで、脊髄に浸潤する病原性免疫細胞の数を減少させ、EAE を緩和することが示唆された。これらの知見から、LH2171 は MS をはじめとする自己免疫疾患の患者に対し、予防効果、あるいは緩和効果を発揮する可能性が示唆された。

以上のように、本研究において、チーズスターター乳酸菌である LH2171 は、免疫細胞に作用し、免疫細胞の増殖、炎症性サイトカインや抗体の産生を抑制することで、炎症性疾患の動物モデルの症状を緩和する、すなわち、生体内において過剰な免疫応答を制御することが明らかとなった。近年、高齢化社会で問題視されている、生活習慣病やがんを含む加齢関連疾患は、総じて生体内での慢性炎症が深く関与することが報告されている。このことから、LH2171 が過剰な炎症反応を抑制する乳酸菌であることを示した本研究は、研究モデルとして用いた自己免疫疾患だけでなく、加齢関連疾患が蔓延する現代において、食を介した人々の健康増進に大きく貢献するものであると考えられる。