

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 狩野 宏

---

慢性関節リウマチの一部には、自己免疫性のものがある。近年有効な症状緩和剤が上市されているにもかかわらず、その発症機構は依然として不明のため根本的な治療法や予防法は確立していない。本論文は、自己免疫性慢性関節リウマチの予防法の開発を最終目的として行ったものである。予防法として投与の負担の少ない経口摂取法を採用し、安全性が確認されておりヨーグルト製造に用いられる乳酸菌の経口投与により、慢性関節リウマチの動物モデルであるコラーゲン誘導性関節炎（CIA）の発症が抑制されるか否かを調べた。また T 細胞株を用いた *in vitro* の系で乳酸菌株による CIA 抑制能を簡便に評価できるか否かを検討するため、T 細胞株におけるインターロイキン（IL）2 応答を解析した。

序論で、本研究の背景と意義について概説した後、第 1 章では、*Lactobacillus bulgaricus* OLL1073R-1 および OLL1102 の経口投与が CIA の発症を予防できるか否かを検討した。OLL1073R-1 の脱脂乳培養物を予め経口投与することにより CIA の発症が強く抑制された。OLL1102 の脱脂乳培養物あるいは脱脂乳の経口投与でも CIA は抑制された。しかし、抑制程度は OLL1073R-1 の脱脂乳培養物と比べると弱かった。OLL1073R-1 の合成培地培養物は脱脂乳の主成分を含有していないにもかかわらず、OLL1073R-1 の脱脂乳培養物と同様に CIA を抑制した。この結果から、OLL1073R-1 の脱脂乳培養物による CIA 抑制効果は脱脂乳の成分のみならず OLL1073R-1 菌体または代謝産物によることが示された。OLL1073R-1 の脱脂乳培養物と脱脂乳は、リンパ節細胞におけるインターフェロン（IFN） $\gamma$  の産生を抑制した。しかし、OLL1102 の脱脂乳培養物では抑制されなかった。OLL1073R-1 の菌体外産生多糖画分によっても CIA と IFN- $\gamma$  産生の両方とも抑制された。以上の結果から、OLL1073R-1 による CIA 抑制は、IFN- $\gamma$  産生抑制を介しており、また、OLL1073R-1 による CIA 抑制効果の関与成分として菌体外産生多糖の可能性が示唆された。

第 2 章では、OLL1073R-1 による CIA 抑制機構の解明を目的とし、OLL1073R-1 脱脂乳培養物の経口投与がリンパ節細胞におけるサイトカイン産生に及ぼす影響をさらに詳細に解析した。OLL1073R-1 の脱脂乳培養物により炎症性サイトカインである IFN- $\gamma$ 、IL-6、腫瘍壊死因子（TNF） $\alpha$  および走化性因子である単球遊走タンパク質（MCP）1 の産生が抑制された。特に、TNF- $\alpha$  の産生抑制が顕著であった。IL-2 と IL-4 の産生は影響を受けなかった。各サイトカインの産生細胞に関する知見と本章の結果から、OLL1073R-1 の脱脂乳培養物は、T 細胞ではなく、マクロファージなどのアクセサリ細胞による炎症性サイトカインの産生を抑制することが示された。また、OLL1073R-1 の脱脂乳培養物による CIA 抑制は、炎症性サイトカインの産生抑制を介していると考えられた。

第3章では、乳酸菌による CIA 抑制を評価する際に T 細胞株を用いた *in vitro* の系が利用できる可能性を検討するため、CIA 発症への関与が示されている T 細胞と同じ抗原を認識する T 細胞を株化 (B245/270D) し、IL-2 応答を解析した。長期間の刺激培養 (抗原刺激を伴った培養) を施した細胞株 (B245/270D4.3) では、抗原特異的な増殖応答が消失していた。B245/270D4.3 は、刺激培養条件下では CD25 (IL-2 受容体 $\alpha$ 鎖) を発現しなかった。しかし、休止培養条件下 (抗原刺激を伴わない培養) では、長期間の刺激培養前の細胞株 (B245/270D9.1) と同様、活性化後に CD25 を発現した。以上の結果から、B245/270D では、長期間の刺激培養の間に CD25 の発現量低下に伴い、増殖応答が低下すると考えられた。継続的な刺激培養後の CD25 発現量の低下は、*in vivo* での CIA における T 細胞応答を反映している可能性がある。従って、培養期間の異なる B245/270D9.1 および B245/270D4.3 を用いることにより各々 CIA 発症初期および慢性期における乳酸菌の効果を *in vitro* で評価できる可能性が示された。

以上、本論文は *Lactobacillus bulgaricus* OLL1073R-1 が炎症性サイトカインの産生抑制を介して CIA の発症を予防することを示し、また、T 細胞株を用いた *in vitro* の系で乳酸菌の CIA 抑制能を評価できる可能性を示したもので、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認めた。