

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小田 卷 俊 孝

本研究は、スギ花粉症患者を対象とした臨床試験により、高い整腸作用を有するプロバイオテイクス *Bifidobacterium longum* BB536 株 (以下 BB536) を用いた花粉症症状緩和作用を確認するとともに、その作用機序解明にむけた腸内細菌叢を解析したもので、論文は 3 章からなる。

第 1 章では、花粉飛散の少なかった 2004 年と、大量に飛散した 2005 年春のスギ花粉飛散シーズンに二重盲検並行 2 群比較試験を実施した結果、BB536 摂取群は、プラセボ摂取群に比べて、目の自覚症状が有意に改善され、血中の IFN- γ の減少および好酸球比率の上昇が抑制されたことを述べている。2005 年は、プラセボ摂取群では 22 名中 9 名だったのに対し、BB536 摂取群では 22 名中 2 名と有意に少なかった。また、BB536 摂取群はプラセボ群と比較して、水性鼻汁、鼻閉などの自覚症状および各種分析スコアが有意に改善された。花粉飛散に伴って、Th2 ケモカインである TARC (thymus- and activation-regulated chemokines) は顕著に上昇したが、BB536 摂取群では、有意な抑制が認められ、血中好酸球比やスギ花粉特異的 IgE の上昇、IFN- γ の減少も抑制される傾向を示した。

第 2 章では、臨床試験参加者の腸内細菌叢を解析することで、BB536 摂取による間接的な免疫調節作用について検証を行った。まず、2004 年の臨床試験参加者から 23 名の腸内細菌叢の全体像を T-RFLP (terminal-restriction fragment length polymorphism) 法により解析した。健常成人の腸内細菌叢は安定と考えられているが、花粉症患者の腸内細菌叢は花粉の飛散に伴い変動を起こすことが明らかとなった。中でも *Bacteroides* (*Ba.*) *fragilis* グループは有意に増加しており、BB536 摂取群はプラセボ群と比較し 3、4 月の時点で *Bifidobacterium* が有意に高く、*Ba. fragilis* グループ / *Bifidobacterium* 比は試験期間を通じて有意に低い値を示した。そこでこれら腸内細菌のヒト末梢血単核球に対するサイトカイン産生能を比較したところ、*Bifidobacterium* は Th1 サイトカインである IFN- γ や IL12p40、*Ba. fragilis* グループは炎症性サイトカインである IL-6 を多く誘導したため、*Ba. fragilis* グループ / *Bifidobacterium* 比が高いほど花粉症症状が悪化すると推測された。2005 年の臨床試験では、花粉症患者 44 名に加えて非花粉症の健常者 14 名についても腸内細菌叢の解析を実施した。主成分分析の結果、4 月の時点でプラセボ群と健常者群の腸内細菌叢バランスが異なることが示され、プラセボ群では *Ba. fragilis* グループが増加していた。4 月の *Ba. fragilis* グループ菌数と、自覚症状及び血中のスギ花粉特異的 IgE との間に正の相関が認められたことから、*Ba. fragilis* グループとアレルギーとの関連が示唆された。また、BB536 の摂取により *Ba. fragilis* グループ菌数の上昇は抑制された。

第 3 章では、*Ba. fragilis* グループに属する 14 菌種について、16S rRNA 遺伝子を標的とした菌種特異的プライマーを作成し、菌種レベルでの動態を解析した。定量 PCR の結果、*Ba. fragilis* と *Ba. intestinalis* は、花粉シーズン前から花粉症患者で有意に高い菌数を示し、試験前後における

菌数が花粉症の自覚症状スコア及び花粉シーズン末期における血中スギ花粉特異的 IgE レベルと有意な正の相関を示した2菌種は、花粉シーズン終了時には菌数を増加させてアレルギー症状を重篤化させる悪循環が生じていた。BB536 摂取によるこれら2菌種の増加の抑制は、この悪循環の防止すなわち、花粉症症状の軽減に繋がっていると推測された。

以上、本研究は、BB536 の継続摂取が花粉症症状を緩和させるのに有効であり、通常プロバイオティクスの作用機序として考えられている菌体成分の免疫への直接的な刺激とは別に、腸内細菌叢を安定化させ、症状の悪化を防止する新たな機序の存在を示したもので、学術的・応用的に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。