

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉田 綾子

*Lactobacillus gasseri* OLL2809 (LG2809) は、ヒト糞便から単離された乳酸菌であり、抗アレルギー作用が明らかにされている。乳幼児における食物アレルギーが大きな問題になって久しいが、これに対し経口免疫寛容の機能を強化することで食物アレルギーを予防、あるいは寛解を促進することが考えられている。また、T細胞はアレルギー等の免疫疾患に深く関与していることが知られている。そのためT細胞の増殖を制御することができればT細胞を原因とする免疫疾患を予防・治療できる可能性がある。しかしながら、乳酸菌による経口免疫寛容の強化及びその作用機構、また乳酸菌によるT細胞の増殖応答の抑制に関する知見は限られたものに過ぎない。本研究は、LG2809の経口免疫寛容に対する効果、T細胞の増殖応答に対する抑制効果について解明を試みたもので、序論および2章からなる。

研究の背景と目的が述べられている序論に続き、第1章では、LG2809の強制経口投与による経口免疫寛容誘導の強化効果について述べられている。卵白アルブミン (ovalbumin; OVA) 特異的なT細胞受容体遺伝子を導入したトランスジェニックマウスであるDO11.10マウスに20%OVA水を5日間自由摂取させる経口免疫寛容誘導モデルに対し、LG2809生菌体の投与により経口免疫寛容が強化されることが示された。LG2809の投与により、経口免疫寛容誘導時の脾臓でのCD62L<sup>low</sup> CD44<sup>high</sup> CD4<sup>+</sup> T細胞集団の割合の増加とIL-10産生の増強、その細胞集団自身の抑制活性の増強が起こることから、全身性の経口免疫寛容誘導を強化していることが示唆された。また、LG2809投与により、小腸粘膜固有層 (lamina propria; LP) に存在するT細胞が強い抑制活性を早い段階で獲得すること、LPのCD62L<sup>low</sup> CD44<sup>high</sup> CD4<sup>+</sup> T細胞集団の割合が早く増加することが明らかになった。LPの樹状細胞 (dendritic cell; DC) についての検討では、LG2809投与により形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DC; pDC) が増加していることが示されると共に、LG2809を投与したLP細胞で分化誘導させたCD4<sup>+</sup> T細胞は強い抑制活性を有することも示された。以上のことは、LG2809投与がLPのpDCを増加させ、抗原提示によって抑制能の強いCD4<sup>+</sup> T細胞の分化誘導を促進し、経口免疫寛容の誘導を促進していることを示唆していると結論づけている。

第2章では、CD4<sup>+</sup> T細胞の増殖に与えるLG2809の効果について述べられている。LG2809の加熱死菌体がCD4<sup>+</sup> T細胞の増殖応答を抑制すること、また活性成分としてLG2809のRNAにCD4<sup>+</sup> T細胞の増殖応答を抑制する効果があることが明らかにされた。その作用メカニズムには、MyD88を介したシグナリング経路と酸化ストレスが関

与していることが示された。マウス生体では、LG2809 由来の RNA の投与によりIV型アレルギーモデルの遅延型過敏反応 (delayed-type hypersensitivity; DTH) を抑制できること、この効果に酸化ストレスが関与することが示された。LG2809 及びその RNA による抑制メカニズムを調べるため、各種 Toll-like receptor (TLR) リガンドを用いた検討を行ったところ、TLR7 のリガンドである Imiquimod が、CD4<sup>+</sup> T 細胞の増殖を強く抑制すること、その抑制には MyD88 を介した酸化ストレスによる CD4<sup>+</sup> T 細胞のアポトーシス誘導と、MyD88 非依存的な IL-2 産生の抑制、G0/G1 期への cell cycle arrest が関与することが示された。Imiquimod が DTH 反応を顕著に抑制することも明らかとなった。以上より、LG2809 とその RNA による CD4<sup>+</sup> T 細胞の増殖応答抑制効果に MyD88 及び酸化ストレスの関与が示され、TLR7 が関与する可能性が示唆された。DTH 反応を抑制できることから、これらの成分がIV型アレルギーの治療に利用できる可能性が示された。

総合討論では本研究の意義や課題についての考察がなされている。

本研究は、乳酸菌投与により食物アレルギーやIV型アレルギーを予防、治療できる可能性を示し、またその作用機作の一端を明らかにしたものであり、乳酸菌体のもつ新規な免疫調節機能を明らかにした点で、学術上、応用上寄与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る。