

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 木村 勝紀

Helicobacter pylori 感染症は世界的に最も感染率の高い感染症の一つである。日本人の *H. pylori* 感染率は約 50%で、6000 万人もの人が感染していると推計されている。近年、*H. pylori* が胃炎、胃・十二指腸潰瘍、胃ガンなど様々な胃・十二指腸疾患に関与していることが明らかになってきた。また、最近では *H. pylori* が特発性血小板減少性紫斑病などの胃・十二指腸以外の疾患にも関与することが報告されている。*H. pylori* の除菌により、*H. pylori* 関連疾患の発症予防が期待できるが、予防目的で感染者全員に抗生物質による除菌療法を行うことは、医療コストの面などから困難である。また、最近では抗生物質耐性 *H. pylori* の増加が問題視されている。本論文は *H. pylori* 感染症に対して有効なプロバイオティクスの開発を目的とした研究である。

第一章では、ヒトに対するプロバイオティクスを開発するための基礎的な情報およびプロバイオティクスの候補株を得るために、ヒト消化管における *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* の生態について検討するとともに、プロバイオティクスとして使用可能な菌株を取得した。被験者から分離した菌をリボタイピング法および PFGE 法によって菌株レベルで解析したところ、日本人およびニュージーランド人ともに各被験者はそれぞれ独自の菌株を有していること、およびほとんどの被験者において特定のタイプの菌株が常に最優勢に存在していることが明らかになった。すなわち、ヒト腸内菌叢は菌株レベルでは個体差が極めて大きいことが示唆された。日本人のヒト消化管の *Lactobacillus* については菌株レベルの解析だけでなく、最新の分類体系に基づいて菌種の同定も行った。日本人の消化管由来の *Lactobacillus* として 13 菌種が検出され、ほとんどの被験者において、同一被験者から異なる日に採取したサンプルから同一タイプの菌株が検出され、これらは *L. amylovorus*、*L. gasseri*、*L. fermentum*、*L. delbrueckii*、*L. crispatus*、*L. vaginalis* および *L. ruminis* と同定された。これらの菌種は優勢な *Lactobacillus* として、少なくとも 1 週間以上ヒト腸内に定着していたと考えられた。特に *L. gasseri* および *L. fermentum* が最も高頻度に検出され、日本人

の消化管に適応した菌種であると考えられた。

第二章では、*H. pylori* 感染抑制プロバイオティクスの開発について検討した。まず、これまで報告例の極めて少ない *H. pylori* 感染者および非感染者 (成人および子供) の胃内菌叢について解析を行ったところ、成人では胃液の pH が高く、胃内菌叢の形成が認められたが、子供では胃液の pH が低く、胃内から細菌はほとんど検出されなかった。ヒトの胃内には *H. pylori* 以外の細菌が生息できないと考えられていたが、成人、特に *H. pylori* 感染者では胃液の pH が高く、胃内菌叢が形成されていることが確認された。そこで、耐酸性で抗 *H. pylori* 作用に優れた乳酸菌の選抜を行った。人工胃液耐性試験、低 pH 条件下での増殖性試験、胃由来培養細胞株に対する付着性試験および混合培養試験による *H. pylori* 増殖抑制ならびに殺菌効果などによって乳酸菌 *L. gasseri* OLL2716 株をプロバイオティクス候補として選抜した。この菌株を *H. pylori* 感染マウスに経口投与したところ、マウスの胃内 *H. pylori* を検出限界以下に低下させることが確認された。

第三章では、第二章で選抜した OLL2716 株のヒトにおける有効性を検討するために、OLL2716 株含有ヨーグルトのヒトへの投与試験を実施し、その有効性について検証した。また、摂取した OLL2716 株が胃の粘液層からの検出できるかどうかについても検討を加えた。OLL2716 株含有ヨーグルトのヒト投与試験を実施した結果、OLL2716 株含有ヨーグルトの投与により、尿素呼気試験での $\Delta^{13}\text{C}$ 値の有意な低下および血清ペプシノーゲン I/II 比の有意な上昇が認められた。すなわち、OLL2716 株含有ヨーグルトの投与により、胃内 *H. pylori* 菌数が減少し、胃粘膜の炎症が改善されることが示唆された。さらに、OLL2716 株含有ヨーグルトを投与したヒトの胃から生検試料を採取し、LMPC 法により粘液層のみを摘出し、OLL2716 株の検出を試みたところ、胃粘液層から OLL2716 株が検出されることを確認した。

以上、本論文はヒト消化管乳酸菌の生態および胃内菌叢を明らかにするとともに、*H. pylori* 感染抑制プロバイオティクスとして選抜した *L. gasseri* OLL2716 株がヒトの胃内 *H. pylori* 菌数を減少させ、胃粘膜の炎症を改善することを明らかにした。これまでプロバイオティクスは腸内、特に大腸内の菌叢の改善を目的に開発されてきたが、本研究はプロバイオティクスの新たな可能性を開いたものと考えられる。さらに、本研究の成果が実際に商品として市販されており、社会一般からも受け入れられていることは学術上の貢献にとどまらず、応用科学として高く評価できる。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。