

## 【審査結果の要旨】

プロバイオティクスとは「消化管内の細菌叢を改善し、宿主に有益な作用をもたらす得る有用な微生物」の総称である。一般的に用いられるプロバイオティクスとして乳酸菌やビフィズス菌があり、これらの有用細菌を用いた機能性食品の市場規模は、年々拡大の一途を辿っている。プロバイオティクスや関連の機能性食品の使用目的は、元来、便秘や下痢など腸症状の改善を目的として開発された経緯があったが、近年では、腸内細菌と肥満や高血圧の関係を示す研究が多くなったことから、プロバイオティクスの使用対象が生活習慣病まで拡大しつつある。しかし、適用範囲拡大の根拠となった研究は、無菌動物や各種の免疫不全動物を用いており、いわば腸内細菌叢を全体として評価するものであった。すなわち、プロバイオティクスの適用を直接意識して行われた研究は、あまりなかったといえる。そこで申請者は、乳酸菌含有製剤の腸内細菌叢への作用、およびプロバイオティクス乳酸菌の肥満予防を中心とした効果のメカニズムについて明らかにする目的で、研究を進めた。

第1章では、これまでの研究動向を中心に文献検討を進め、本研究を進めるにあたっての背景と解決を目指す対象を明らかにしている。

第2章では、市販の健胃生薬配合プロバイオティクス製剤のヒト糞便細菌叢の菌種構成及び細菌数に与える影響を検討している。具体的には、健康な成人6名を対象に、当該の整腸薬を毎食後3錠（1日9錠）10日間投与し、投与前、投与後、投与休止1週間後の便を採取し、温度勾配ゲル電気泳動法やリアルタイムPCR法を駆使して、腸内菌叢の検索を行っている。その結果、服用後に、有用細菌であるビフィズス菌の濃度増加が認められ、同時に *Acidaminococcus* 属をはじめとした有機酸（乳酸）利用性細菌や *Butyrate-producing bacterium* と推定される細菌の増加が認められた。その結果より、本剤服用により、腸内のビフィズス菌が増加し、乳酸産生の増加と乳酸利用細菌の活性化を促すことが明らかとなった。また腸内の短鎖脂肪酸量が増加し、増加した短鎖脂肪酸によってもたらされる生理効果を期待できることも明らかにした。

第3章では、通常マウスに比較的長期間にわたって高脂肪食を給与したモデル系を用いて、経口投与したプロバイオティクス乳酸菌 (*Lactobacillus gasseri* NT) が、マウスの脂質代謝及び脂肪合成へ及ぼす効果を定量的に明らかにしようとした。とくに内臓脂肪組織からの脂肪動員に焦点を当て、乳酸菌の投与が内臓脂肪組織の生理に与える影響を、新たに *ex vivo* 系の試験方法を確立して定量的に評価することに成功した。結論として、経口的な乳酸菌投与により、当初想定した内臓脂肪組織の脂質代謝亢進とは違い、脂肪合成が抑制されることによって内臓脂肪重量及び血液中の遊離脂肪酸量が有意に低下することを明らかにした。内臓脂肪の蓄積が抑制されることにより、脂肪組織中の炎症性サイトカインの発現が低下することも同時に明らかにした。

第4章では、過食による肥満モデル KK-A<sup>y</sup> マウスを用いて検討を行い、内臓脂肪の蓄積を抑制するメカニズムを明らかにしようとした。先に、第3章において、乳酸菌投与によ

り内臓脂肪合成が抑制されることが認められたことから、それが肥満モデルにおいても認められるかどうかを検討した。第3章の試験結果と同様に、乳酸菌(*L.gasseri* NT)投与により、内臓脂肪重量及び血液中の遊離脂肪酸量が有意に低下することが確認された。乳酸菌投与によって、肝臓中の脂肪重量の低下、糞便中の胆汁酸量の低下、糞便中の中性脂肪量の増加を認め、腸のリパーゼ活性も阻害したことから、プロバイオティクス乳酸菌の肥満抑制の作用機序には腸管における脂肪消化吸收の抑制が含まれることを示した。

第5章は、総合的な考察を行い、大腸の腸内細菌叢が宿主のエネルギー恒常性維持に深く関与していることを示す既報と本研究の結果をあわせて考察し、とくに乳酸菌 (*L. gasseri* NT) の経口投与が内臓脂肪の蓄積を抑制する効果には、大腸に加えて小腸における作用を考慮する必要を明らかにした。

本論文の内容は、上記のように、プロバイオティクスの作用機序に関する新しい知見を含んでおり、プロバイオティクスの適用範囲を従来の腸症状やアレルギー予防を越えて、生活習慣病の予防まで拡大できることを示した点から、応用生命科学専攻の博士論文として価値あるものと判断した。

## 6. 最終試験の結果の要旨

平成25年8月13日午前11時より、図書館視聴覚室において公開の博士学位論文発表会を行った。口頭発表後、質疑応答が行われ、腸内細菌叢の構成検査の方法論、ヒト腸内細菌叢の変化の解釈、ヒト介入試験における排便回数や便性状、マウスの血液性状の測定項目に付け加えるべき内容、胆汁酸を初めとしてプロバイオティクスのターゲットになる生化学反応系の評価の根拠、今後の課題としてのメタボローム的な研究の展開、プロバイオティクスの作用ターゲットは小腸なのか大腸なのかなど、多岐にわたる内容であったが、それぞれ適切に回答した。最終試験の結果としては、審査委員全員一致で合格とした。