

学位論文の審査結果の要旨

オリゴDNAとは、微生物ゲノムDNAに由来する免疫機能性核酸素材であり、これまでに優れた免疫機能を有する核酸配列が次々と見出されている。本学位論文では、哺乳動物の免疫反応系と生体防御システムについて整理した上で、プロバイオティクスや、その菌体成分と宿主との関わりについて総括している。また、菌体成分の中からゲノムDNAに着目した点と、ゲノムDNAに由来するオリゴDNAを用いた研究に関するこれまでの報告と、位置づけについて論じ、新たな有用性や将来的な実現性について展望を述べている。とくに本研究では、免疫刺激性オリゴDNA(CpG-ODN)の作用効果を、相乗的に向上させるオリゴDNAを*Lactobacillus rhamnosus* GGのゲノム配列から網羅的に探索し、以下4点に集約される研究成果が得られていることを確認した。

- ① 5' -TTAGGGTGAGGG-3' をコアモチーフに有するオリゴDNAを、*Lactobacillus rhamnosus* GGゲノム情報から探索し、50種類の候補配列(iSN01-50)を取得した。同候補配列とCpG-ODNを同時にマウスの脾臓細胞を刺激すると、CpG-ODNにより誘導されるサイトカインIL-6の誘導効果が3倍以上に促進される配列として、iSN34およびiSN35を同定した。とくにiSN34が安定的に相乗効果を発揮することから、以後iSN34に絞って検討が行われた。
- ② iSN34による相乗効果について、最適濃度を検討した結果、0.63μMという低濃度で最も強く効果が発揮されることを見出した。とくにA, B, Cの3つのクラスに分類されるCpG-ODNとの組み合わせにおいて、BタイプCpG-ODNとの同時処理、もしくはiSN34を前処理することで相乗効果が発揮されることを明らかにした。オリゴDNA研究において最も実用化に近いと言われている、BタイプCpG-ODNの使用量削減に繋がる成果として報告した。
- ③ iSN34の標的細胞を検討した結果、CD19陽性細胞(B細胞)からのIL-6産生量が促進されることを見出し、CpG-ODNと共に繰り返しマウスに投与すると脾臓の肥大現象が観察された。すなわちCpG-ODNによる免疫増強効果を、vivoレベルで相乗的に向上させることを明らかにした。
- ④ 続いて、CpG-ODN以外の病原体関連分子パターン(PAMPs, pathogen-

associated molecular patterns) との組み合わせについて調査を行った。結果として、Pam3CSK4（TLR1/2のリガンド）, LPS（TLR4のリガンド）, Zymosan（TLR2のリガンド）など、主にバクテリアの菌体膜成分とiSN34との組み合わせにより、CpG-ODN同様に免疫相乗効果が得られることを発見した。

審査委員会は、これらの成果が本学位論文の基礎となる原著論文として、査読付き学術誌に公表（1編）、または受理（1編）されていることを確認した。以上踏まえ、審査委員会は、本論文は博士論文として十分な内容を有するものであると判断し、「合格」と判定した。

公表主要論文名

Nigar, S., Yamamoto, Y., Okajima, T., Shigemori, S., Sato, T., Ogita, T. & Shimosato, T. Synergistic oligodeoxynucleotide strongly promotes CpG-induced interleukin-6 production, *BMC Immunology*, 18:44, 2017. (2017年10月号に掲載)

Nigar, S., Yamamoto, Y., Okajima, T., Sato, T., Ogita, T. & Shimosato, T. Immune synergistic oligodeoxynucleotide from *Lactobacillus rhamnosus* GG enhances the immune response upon co-stimulation by bacterial and fungal cell wall components, *Animal Science Journal* (2018年6月5日受理・電子版掲載済DOI: 10.1111/asj.13082)