

学位論文の審査結果の要旨

乳酸菌を有益タンパク質の運搬体として用いる乳酸菌組換え体（gmLAB）研究は、種々の疾病に対する予防・軽減手法の一つとして注目されている。本論文では、過去のgmLAB研究に関する報告を総括した上で、gmLABの有用性や実現性について論じている。本論文の中で示された具体的な研究内容は、3種類のgmLABの構築と疾病の予防・軽減における有効性に関する検証である。得られた研究成果は以下の3点に集約される。

- ① ヘムオキシゲナーゼ-1（H0-1）はヘムの分解を触媒する生体内酵素で、炎症や酸化などの生体ストレスの抑制において重要な働きを担う。重盛氏は、gmLABを用いてH0-1を腸管粘膜へ送達できれば、腸炎の予防・軽減に有用であると仮定し、リコンビナント（r）H0-1を分泌する *Lactococcus (L.) lactis* 組換え体（NZ-H0）を構築した。また、*in vitro*におけるH0-1酵素反応を検証し、rH0-1はヘム分解活性を有することを証明した。さらにマウスを用いた投与実験により、NZ-H0が大腸粘膜へ運搬され、rH0-1産生することを明らかにした。以上の成果を踏まえ、薬剤誘導性大腸炎モデルマウスを用いた試験を実施し、NZ-H0が大腸炎症状を有意に抑制することを証明した。以上の成果から、NZ-H0を用いたH0-1の経口運搬システムは、大腸炎の予防・軽減において有用であることを明らかにした。
- ② インターロイキン6（IL6）が誘導する生体反応は、種々疾病の発症や悪化に至る関与が指摘されており、同反応を阻害する特異的抗体の有効性が報告されている。しかし、抗体薬は極めて高価であることが問題とされている。この課題に対し、重盛氏はIL6特異的抗体のscFvフラグメント（IL6scFv）を分泌する *L. lactis* 組換え体を構築した。NZ-IL6scFvの培養条件を検討することで、rIL6scFvの産生・分泌を最適化することに成功した。また酵素結合免疫吸着検定法を用いて、rIL6scFvはマウスIL6に結合することを示し、優れた抗体活性を明らかにした。抗サイトカイン抗体のscFvフラグメントを産生するgmLABは前例がなく、抗体医薬の低コスト化に向けた取り組みとして高く評価できる成果である。
- ③ 乳由来の β -ラクトグロブリン（BLG）や、その分解産物は多彩な生理活性を有することが知られている。重盛氏は、rBLGを分泌する *L. lactis* 組換え体を構築し、rBLGの生理活性を検討した。とくに、rBLGの

トリプシン分解物は、dipeptidyl peptidase IVの酵素活性を阻害することを示した。また、BLG感作マウスの脾臓細胞を用いた細胞培養試験において、rBLGはアレルギー性を有することを明らかにした。以上の結果から、NZ-BLGは牛乳アレルギーや2型糖尿病の予防・軽減の一つとして有用であることを示した。

以上、本論文には、異なる3種のタンパク質を分泌するgmLABの構築と、各リコンビナントタンパク質の生理活性について纏められている。審査委員会は、これらの成果が原著論文（3編）として公表されていることを確認した。とくに、NZ-H0による実験的大腸炎の軽減効果を実証し、大腸炎の予防・軽減に向けた新しい技術として総説論文（1編）として公表されている点について高く評価した。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

- Suguru Shigemori, Kazushi Oshiro, Pengfei Wang, Yoshinari Yamamoto, Yeqin Wang, Takashi Sato, Yutaka Uyeno, Takeshi Shimosato. Generation of dipeptidyl peptidase-IV-inhibiting peptides from β -lactoglobulin secreted by *Lactococcus lactis*. *BioMed Research International*, Volume 2014, Article ID 393598, August 2014.
- Suguru Shigemori, Takafumi Watanabe, Kai Kudoh, Masaki Ihara, Shireen Nigar, Yoshinari Yamamoto, Yoshihito Suda, Takashi Sato, Haruki Kitazawa, Takeshi Shimosato. Oral delivery of *Lactococcus lactis* that secretes bioactive heme oxygenase-1 alleviates development of acute colitis in mice. *Microbial Cell Factories*, Volume 14, Article ID 189, November 2015.
- Suguru Shigemori, Masaki Ihara, Takashi Sato, Yoshinari Yamamoto, Shireen Nigar, Tasuku Ogita, Takeshi Shimosato. Secretion of an immunoreactive single-chain variable fragment antibody against mouse interleukin 6 by *Lactococcus lactis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volume 101, Page 341-349, January 2017.
- Suguru Shigemori, Takeshi Shimosato. Applications of genet

ically modified immunobiotics with high immunoregulatory capacity for treatment of inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Immunology*, Volume 8, Article ID 22, January 2017.