

平均 BMI 値が高値を示している。ロジスティック回帰分析の結果では、非喫煙者では、肥満者は普通体重者に比較して、歯周疾患罹患のオッズ比は 2.85 であり、喫煙者では 2.41 であった。これは、米国や我が国の先行研究結果と概ね同様な傾向を示し、肥満者は普通体重者に比較して、歯周疾患に罹患する確率が高いことを実証している。

第 3 章では、歯周疾患と生活習慣の中で最も日常的な行動である飲酒および食生活習慣の関連性について、第 1 章と同様な対象者において、4 年間のコホート研究を行っている。その結果、飲酒習慣との関連では、喫煙者において飲酒習慣が歯周疾患罹患を高める傾向を示し、他の先行研究結果と同様な結果を認めている。非喫煙者には明らかでなかったが、喫煙者においては歯周疾患と飲酒習慣の因果関係を明らかにしている。次に食生活習慣との関連性については統計的に有意な差異は認めていない。

第 4 章では、健康者を対象に糖尿病の重要な評価指標である HbA1c 値と歯周疾患の関連性について、横断研究を行っている。その結果、歯周疾患罹患者は HbA1c および空腹時血糖値が高値になる傾向を明らかにしている。

長期間にわたる追跡を特徴とする本研究は、歯周疾患とその発症危険因子である、喫煙、肥満および飲酒、食生活習慣との関連性を実証し、さらに、糖尿病の一検査指標である HbA1c と歯周疾患罹患との間に統計的に有意な関連性を見い出している。これらの知見は、歯周疾患予防を中心とした健康管理の方法論に有益であり、本研究の結果は、ヒトの健康増進および疾病予防の領域で寄与するものである。よって、本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。

氏 名	のう み たか お 能 味 堂 郎
学位の種類	博 士 (薬学)
学位記番号	薬 第 7 9 号
学位授与の日付	平成 20 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規程第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Enterococcus faecalis F K - 2 3 加熱死菌体の免疫賦活作用に関する研究
論文審査委員 (主 査)	教授 松 田 秀 秋
(副主査)	教授 岩 城 正 宏
(副主査)	教授 西 田 升 三

## 論文内容の要旨

古来ヒトは生きるために目に見えない病原菌と戦ってきた。病原菌に対する治療は、医療において非常に重要な問題であり、抗生物質・抗真菌剤と共に進歩してきた。しかし、抗生物質の乱用によって出現した多剤耐性菌に感染した場合には、適切な治療方法が確立されていない。さらに、副腎皮質ホルモン剤や抗癌剤を使用すると、免疫力を低下させる免疫抑制という副作用が生じるため、患者は易感染状態になる。そのため、薬剤の副作用によって免疫力が異常に低下した患者の免疫力を、正常な状態にする薬剤の開発が切望されている。

本論文ではヒト糞便から分離した *Enterococcus faecalis* の中でも、免疫賦活活性が高い *E. faecalis* FK-23 株の機能性食品素材としての応用の可能性を検討した。

第1章では宿主の免疫機能に対するステロイド骨格を有するホルモン剤の影響について検討した。第1章第1節では好中球の抗カンジダ活性に対する副腎皮質ホルモンの影響について検討し、血中生理臨床レベルの低濃度で、生体 glucocorticoid (GC) ホルモンおよび抗炎症性 GC 剤の両方がマウス好中球の抗カンジダ活性を抑えることを明らかにした。ヒト好中球の抗カンジダ活性も同様の濃度の hydrocortisone によって抑制された。著者は低濃度の GC (dexamethazone  $1 \times 10^{-8}$  M) 剤でも、好中球の抗カンジダ活性を抑制することを発見した。このことから、GC により宿主の免疫力が低下して起こるカンジダ症などの日和見菌感染症の原因として、好中球機能の低下が重大な原因の一つであると推測される。

第1章第2節では好中球の抗カンジダ活性に対する性ホルモンの影響を検討し、マウス好中球の抗カンジダ活性をその progesterone が抑制することを明らかにした。特に、estradiol で前処理されたマウス好中球の抗カンジダ活性は、 $1 \times 10^{-6}$  M 以上の progesterone で有意に抑制された。この時の progesterone の濃度は、妊娠第3期のヒト血中の progesterone 濃度に相当する。以上の結果より、estradiol と progesterone のコンビネーションによって、妊娠している女性の好中球の抗カンジダ活性が低下していることが推測される。

第2章では抗癌剤で免疫不全状態とした宿主の免疫力を、乳酸菌製剤「*E. faecalis* FK-23 株の加熱処理菌体標品 (FK-23 標品)」で回復させることができるか検討した。第2章第1節は FK-23 標品による白血球数の回復促進作用について検討し、FK-23 標品を経口投与することで、5-fluorouracil の副作用である致死毒性、総白血球の減少や機能の低下を軽減することを明らかにした。FK-23 標品そのものには抗菌活性を持たないこと、総白血球数および抗体産生細胞数の増加が認められたことから、免疫賦活作用によるものと考えられた。

第2章第2節は FK-23 標品によるサイトカイン (インターフェロン: IFN) の産生能の亢進作用について検討し、cyclophosphamide (CY) 処置マウスに FK-23 標品を経口投与することにより、脾細胞の IFN 産生能を増強することを明らかにした。FK-23 標品を経口投与した CY 処置マウスの脾細胞は、無刺激では IFN を産生しないが、IFN 誘導剤で刺激すると IFN 産生量が明らかに増加していた。このとき、FK-23 標品を経口投与したマウスの脾細胞は、対照に比して 1/10 量の IFN 誘導剤で 検出可能レベルの IFN を産生していた。したがって、FK-23 標品の経口投与は脾細胞に対して直接 IFN の産生を誘導するのではなく、phytohemagglutinin-P (PHA) または lipopolysaccharide (LPS) のような IFN 誘導剤に対する脾細胞の応答性を亢進させると考えられる。この条件下で脾細胞から産生された IFN のクラスは、抗体による中和実験より、PHA で刺激した場合は IFN- $\beta$  と IFN- $\gamma$  であり、LPS で刺激した場合は IFN- $\beta$  であった。

第3章第1節では免疫賦活 (感染防御) 剤としての FK-23 標品の効果について、宿主の抗ウイルス (ヘルペス) 活性の機能の亢進を明らかにした。

現在、抗ウイルス剤として用いられている IFN は、経口投与が不可能なこと、さらに副作用および経済性の問題から新規の治療薬が望まれている。治療薬としての注射剤の IFN と比べ、FK-23 標品は経口投与が可能で内因性の IFN の産生を高める点に特徴があり、しかも安全性が高いこと、経口投与で有効なこと、長期投与ができることなど、幾つもの利点が期待できる。

第3章第2節ではヒト C 型肝炎患者の肝機能の改善効果を明らかにした。HCV 感染

論文審査結果の要旨

症は自然治癒率が低く、その多くが慢性肝炎を経て肝硬変、さらには肝癌に移行する。本邦における HCV 感染者数は慢性肝炎患者で 192 万人以上、キャリアを含めると 242 万人以上いるとみられており、治療ばかりでなく進展の阻止が急務とされている。今回は、FK-23 標品を飲用した慢性活動性 C 型肝炎患者における 3 カ月後の aspartic aminotransferase (AST) および alanine aminotransferase (ALT) 値は開始時に比較して、平均 18%有意に低下し、9 例中 8 例で肝機能の改善がみられた。

IFN 療法の際、長期の方が有効な治療効果がみられるが、6 カ月以上の使用は健康保険適応外となり、患者に経済的負担がかかる。さらに、IFN 療法は注射で行うため、患者に対して時間的、肉体的、精神的に負担となり、患者の行動範囲の制限もまねいている。一方、FK-23 標品は内服でトランスアミナーゼ改善効果がみられたことから、HCV 感染症の進行を抑えることが期待されるばかりでなく、従来の療法で問題になっていた患者への負担や副作用による quality of life の低下の解消にも寄与しうることが示唆された。

以上の研究から、FK-23 標品は易感染（免疫抑制）状態の宿主の免疫機能を高めることが明らかになった。

近年、日本国では自己免疫疾患患者および癌患者が増加しており、その治療薬の副作用として免疫力が低下するために発症する病原菌感染症が治療上の問題となっている。本論文では免疫抑制剤（GC 剤）や抗癌剤（CY）により白血球機能が低下するメカニズムを明らかにし、易感染状態が FK-23 標品の投与で回復することが示されたことから、今後、機能性食品素材または医薬品原料としての可能性が期待される。

学位申請者はヒト糞便から分離した *Enterococcus faecalis* の中でも、免疫賦活活性が高い *E. faecalis* FK-23 株（FK-23 標品）の機能性食品素材としての応用の可能性を検討している。

まず、好中球の抗カンジダ活性に対する副腎皮質ホルモンの影響について検討し、血中生理臨床レベルの低濃度で、生体 glucocorticoid (GC) ホルモンおよび抗炎症性 GC 剤の両方がマウス好中球の抗カンジダ活性を抑えることを明らかにし、GC により宿主の免疫力が低下して起こるカンジダ症などの日和見感染症の原因として好中球機能の低下が原因の一つであると推測している。さらに estradiol で前処理されたマウス好中球の抗カンジダ活性を progesterone が抑制することを明らかにし、妊娠している女性の好中球の抗カンジダ活性が低下していることとの関連性を示唆している。

次に、FK-23 標品による白血球数の回復促進作用について検討し、FK-23 標品を経口投与することで抗癌剤の副作用である致死毒性、総白血球の減少や機能の低下を軽減することを明らかにしている。さらに、FK-23 標品によるサイトカイン（インターフェロン：IFN）の産生能の亢進作用について検討し、脾細胞の IFN 産生能を増強することを明らかにしている。

また、免疫賦活（感染防御）剤としての FK-23 標品の効果について検討し、宿主の抗ウイルス（ヘルペス）活性の機能の亢進を明らかにしている。さらにヒトでの治験も行い、FK-23 標品がヒト C 型肝炎患者の肝機能の改善効果を示すことを明らかにしている。

本論文では免疫抑制剤（GC 剤）や抗癌剤により白血球機能が低下するメカニズムを明らかにし、易感染状態が FK-23 標品の投与で回復することが示されたことから機能性食品素材または医薬品原料としての可能性が期待され、「薬用資源学」が目指す基本的な研究の姿勢を示したもので、極めて価値のある論文である。

よって、本論文は博士（薬学）の学位論文に十分値するものと認める。