

Culture supernatant produced by
Lactiplantibacillus plantarum strain BF1-13
isolated from deep seawater of Izu-Akazawa
protects the intestinal epithelial barrier
from the dysfunction caused by hydrogen
peroxide

学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2021
学位授与番号	12614博甲第611号
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00002401/

〔課程博士〕 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名：刁 小真

博士論文題目：Culture supernatant produced by *Lactiplantibacillus plantarum* strain BF-13 isolated from deep seawater of Izu-Akazawa protects the intestinal epithelial barrier from the dysfunction caused by hydrogen peroxide

博士論文審査：

学生から提出された博士論文について、公開発表会が2月14日に行われ、審査委員と学生の間で質疑応答が繰り返され、すべての質疑についての的確な回答が得られたので、学生の知識、論理的思考能力とも十分であり、博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。

体外環境から生体内を防御する重要な機能担う生体膜としての腸管上皮バリアが、水輸送、栄養吸収、および薬物代謝の仲介に関与することはよく知られている。タイト結合 (TJ) によって調節されていた腸管上皮バリア機能は、過酸化水素などの活性酸素種によって誘発される酸化ストレスによって低下することが報告されている。最近、アクアポリン-3 (AQP3) が細胞膜を介して過酸化水素 (H_2O_2) を通過させるペルオキシポリンとしての輸送が、単純拡散によるものよりも優先されることが明らかにされた。乳酸菌 (LAB) は、プロバイオティクスとして重要な役割を果たしており、LAB が生産する乳酸は、食品業界だけでなく、化粧品や医薬品などにもさまざまな用途で使用されている。本研究では、伊豆赤沢の海洋深層水 (DSW) から分離された *Lactiplantibacillus plantarum* BF1-13 株の培養上清 (CS) が、 H_2O_2 処理による腸管上皮バリア機能の劣化に対する保全に対する影響を調査することを目的に、CS に含まれる有効成分と、TJ のバリア機能と AQP3 によって促進される H_2O_2 の細胞内浸潤との潜在的な関係を明らかにするメカニズムを研究した。DSW (取水深度 800m) の懸濁物のろ過に使用したフィルターから分離した *L. plantarum* BF1-13 株を培養して上清 (CS) を得た。比較対照として海藻表面から採集した *L. plantarum* H-6 株および標準株として本菌種の保存機関から *L. plantarum* JCM11125 株を入手して同様に捜査して培養した。その結果、BF1-13 株の CS は、Caco-2 細胞での H_2O_2 処理によって引き起こされる腸管上皮機能障害を軽減することおよび同処理によって低下する CLDN-4 の発現を亢進することを蛍光免疫染色法により顕微鏡の観察により明らかにした。BF1-13 株の CS のこれらの作用は、比較対照よりも強い傾向を示した。なお、CS の主要成分である乳酸の標準品を用いた研究では、CLDN-4 の発現について、タンパク質および遺伝子レベルで BF1-13 株の CS 同様の作用を示すことが確認された。一方 LA は BF1-13 株の CS では見られなかった OCLN 遺伝子の発現を亢進したが、タンパク質の発現レベルでは BF1-13 株の CS 同様、その作用は確認されなかった。

最終試験の結果要旨：

最終試験は2月14日に行われた。審査委員一同出席の下、学生に対して、博士論文の内容について最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。一方、専門知識については公開発表会当日の質疑応答時や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。本研究はこれまで全く研究されていなかった海洋深層水由来の新たな特性を明らかにしたものであり、国内外の研究の水準に照らしても、各研究分野における学術的意義は大変大きく、新規性、独創性及び応用的価値を有している。学術論文は1編 (英語) が第一著者として公表済み (Xiaozhen Diao, Katsuhisa Yamada, Yuji Shibata and Chiaki Imada, Marine drugs 20(2), 87; <https://doi.org/10.3390/md20020087> であることを確認した。また、マリンバイオテクノロジー学会及び海洋深層水利用学会において英語で口頭発表しており、外国語の学力については問題ないと判断した。合同セミナーについて、規定の学習時間および出席回数を満たしていることを確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了している。大学院海洋科学技術研究科が指定した方法により剽窃のチェックを行った結果、問題は認められなかった。

以上から、学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。