

(論文内容の要旨)

緒言

線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) は、高等動物と類似の生命現象、高い遺伝的相同性を有するモデル生物である。腸管に関してもわずか 20 細胞から成る単純な組織構造であるが、ヒトを含めた高等動物と同様に、方向選択的な生理活性物質の運搬経路や細胞間接着による物理的バリアを有する。そのため、*C. elegans* は腸管研究の簡便な *in vivo* モデルとして期待される。本論文では *C. elegans* を用いて、プロ・プレバイオティクスなどの腸で機能性を発揮することが想定される食品因子を用いた食品機能学的研究を施行した。また、生理学的研究として、腸バリアの指標である腸管透過性についての新たな定量評価法の開発、そして、遺伝学的アプローチにより腸管透過性に関与する新規遺伝子の同定を目指した。

第1章 *Streptococcus thermophilus* は DAF-16 関連抗酸化経路の活性化を介して *C. elegans* の寿命を延伸する

プロバイオティクスである *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*) は、乳製品生産の発酵スターターとして利用される乳酸菌である。本章では、*S. thermophilus* の寿命延伸効果の検証および分子機序の解明を行った。*S. thermophilus* 摂取により、*C. elegans* の寿命延伸、運動能力の低下およびリポフスチン蓄積の抑制が認められた。また、寿命延伸における主要な転写調節因子である *daf-16* および下流の酸化ストレス関連遺伝子の発現増加、 H_2O_2 蓄積の抑制が観察された。さらに、*daf-16* 変異体では寿命延伸効果が減弱した。以上より、*S. thermophilus* は DAF-16 関連抗酸化経路を介して *C. elegans* の寿命を延伸することを明らかにした。

第2章 アガロオリゴ糖は SIR-2.1 を介した小胞体ストレス応答の活性化により *C. elegans* の寿命を延伸する

アガロースの酸加水分解であるアガロオリゴ糖 (AGO) は、抗炎症や抗酸化作用を有するオリゴ糖である。本章では、AGO の寿命延伸効果の検証および分子機序の解明を行った。AGO 摂取により、*C. elegans* の寿命が延伸した。マイクロアレイ解析の結果、AGO 摂取に伴い、小胞体ストレス応答およびインスリン/インスリン様成長因子シグナル経路の活性化が示唆された。定量的 RT-PCR 解析の結果、AGO 摂取により小胞体ストレス応答に関係する *abu/pqn* の発現増加、これら遺伝子を抑制する *sir-2.1* の発現減少が認められた。また、*sir-2.1* 変異体では AGO による寿命延伸効果が減弱し、熱ストレス耐性が失われた。以上より、AGO は小胞体ストレス応答を介して *C. elegans* の寿命を延伸することを明らかにした。

第3章 *C. elegans* を用いた新たな腸管透過性評価法の開発

C. elegans の腸管透過性は、色素を投与後、腸管外への投与物質の漏出を目視で判定することで評価されている。つまり、定量的な評価法が確立されていない。本章では、*C. elegans* の腸管

(論文内容の要旨)

透過性を蛍光物質を用いて定量する新規評価法の開発を行った。新規評価法では、*C. elegans* に蛍光色素を内包したリポソームを投与し、腸管内腔を蛍光物質で満たした。続いて、標準餌である *Escherichia coli* OP50 を投与することで、腸管内腔の蛍光物質を排泄させ、腸上皮細胞の間隙より漏出した蛍光物質のみが残留する状態とした。50匹の *C. elegans* から破碎液を調製し、その蛍光強度を測定することで腸管透過性を定量した。透過性を亢進させることが既知である *Pseudomonas aeruginosa* O1 (PAO1) および14 (PA14) に *C. elegans* を暴露し、本法を用いて透過性を測定した。その結果、PAO1およびPA14による透過性の亢進が認められ、本法により *C. elegans* の腸管透過性を定量的に評価することが可能となった。

第4章 順遺伝学的スクリーニングによる腸管透過性の亢進を示す *C. elegans* 突然変異体の作出および解析

C. elegans の腸管は、その他高等動物と組織構造が類似しているものの、その分子基盤は不明な点が多い。本章では、*C. elegans* にエチルメタンスルホン酸処理を行うことで腸管透過性が亢進した突然変異体を作成し、原因遺伝子を同定することにより、腸管透過性に関与する新規遺伝子の解明を試みた。F2 集団において Smurf assay によるスクリーニングを行い、変異体候補を単離した。子孫においても Smurf assay および第 3 章の評価系による解析を行った結果、野生体と比較して腸管透過性が有意に亢進した変異体を獲得した。さらに、全ゲノムシーケンス解析により、変異を規定する原因遺伝子候補として 5 遺伝子を同定した。

総括

本論文では、*C. elegans* を用いて *S. thermophilus* と AGO の新規機能性を明らかにした。また、腸バリア機能として重要である腸管透過性が *C. elegans* で簡便に定量可能となった。*C. elegans* は、腸管研究の簡便な *in vivo* モデルとして有用であると考えられる。