

## 論文の内容の要旨

氏名：高 田 和 秀

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：腔上皮細胞の再上皮化に対する *Lactobacillus crispatus* の関与の研究

背景：健常女性の腔内では *Lactobacillus* 属を主体とする細菌叢が見られることが多いが、その中でも *L. crispatus* 主体の細菌叢は乳酸や  $H_2O_2$  産生による腔内 pH の低下および、病原菌の上皮細胞への付着阻止などの機序により、炎症反応を抑えるなど健常な腔内環境の維持に重要であり、HIV をはじめとする様々な感染症の局所防御に寄与していると考えられている。一方で *L. crispatus* を含む各種の乳酸菌自体が腔上皮細胞自体に与える影響はまだ不明な点が多い。

目的：上皮細胞によるバリア機能の修復・維持において重要な要素の一つに、損傷を受けた上皮組織周辺の上皮細胞が、遊走並びに増殖することで創傷部位を再び覆う再上皮化がある。しかしこのプロセスにおける乳酸菌の影響は完全には解明されておらず、腔上皮細胞における再上皮化に対する関与を検討する為、本研究を行った。

方法：ヒト不死化腔上皮細胞株 MS74 と腔乳酸菌の優位種である *L. crispatus* あるいは *L. acidophilus* を共培養し、スクラッチアッセイにて *L. crispatus* の再上皮化に対する影響を評価した。また細胞培養上清中の Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF) の濃度を ELISA 法にて検討した。次に蛍光免疫染色法によりスクラッチアッセイにおける VEGF およびその受容体である VEGFR1 及び 2 の発現を評価した。さらに明視野において菌体の細胞への付着を観察した。またヒトリコンビナント VEGF と *L. crispatus* の菌培養上清を添加し、再上皮化に対する影響を併せて評価した。

結果：*L. crispatus* との共培養時に MS74 細胞の再上皮化は有意に促進したが、細胞障害性に有意な変化は見られなかった。一方 *L. acidophilus* 共培養や加熱処理した *L. crispatus* の死菌では再上皮化に対する影響は見られなかった。また *L. crispatus* は細胞培養上清中の VEGF の濃度を有意に上昇させたが *L. acidophilus* では有意な変化は見られなかった。免疫蛍光染色において VEGF はスクラッチ端での発現が増加し、VEGFR1 及び 2 の発現はスクラッチによる影響は認められなかった。次に明視野で *L. crispatus* がスクラッチ端に多く付着している様子が観察され、*L. acidophilus* では同様の現象は認められなかった。糖鎖付加阻害剤を添加したところ、スクラッチ端における *L. crispatus* の接着数は有意に減少した。またリコンビナントヒト VEGF は有意に MS74 細胞の遊走を促進し、菌の分泌成分を含む培養上清単独添加時においても、再上皮化の促進及び VEGF 濃度の増加が認められた。

結論と考察：*L. crispatus* は何らかの可溶性成分によって腔上皮細胞の VEGF 産生を上昇させることで、腔における再上皮化を促進している可能性が示唆された。また *L. crispatus* は創傷部位付近に糖鎖を介して付着することで、他の菌の接着を阻害する可能性が示唆された。これらの結果は腔上皮組織における創傷治癒と、創傷部位からの HIV をはじめとする感染リスクにおける *L. crispatus* のさらなる重要性を示唆するものである。