

## 学位論文審査の要旨

申請者は、糖尿病や高齢による免疫能の低下が日和見感染による口腔・食道の慢性肥厚性カンジダ症を引き起こし、一部の患者では癌にまで進行することに着目し、糖尿病ラットへの *Candida albicans* (*C. albicans*) 強制経口投与による慢性肥厚性カンジダ症モデルラットの確立を行うとともに、作製した慢性肥厚性カンジダ症モデルラットを用いてプロバイオティクスであるヨーグルト LG21 の慢性肥厚性カンジダ症に対する有効性の評価を行った。また慢性炎症から発癌過程に至るメカニズムの解析から、p16、TIMP3、RAR- $\beta$ 2、ERCC1 および BRCA1 のタンパク発現異常が、DNA プロモーター領域のメチル化状態とは関係なく生じていることを明らかにした。以下に本学位論文の審査結果を示す。

慢性炎症が癌の発生に関与することが、ピロリ菌や肝炎ウイルス感染による慢性炎症に起因する胃癌および肝細胞癌の症例から注目を浴び、慢性炎症と発癌の関係を解明するため様々な研究が行われている。常在真菌である *Candida albicans* (*C. albicans*) は、糖尿病患者や高齢者に対し、免疫能低下による感染症を誘発し、口腔・食道の慢性肥厚性カンジダ症患者の一部で癌へ進行することが報告されている。しかしながら、*C. albicans* 感染による慢性炎症と発癌との関係を解析した研究は非常に少ない。申請者の所属する研究室では、アロキサン投与により糖尿病を誘発させたラットの前胃で *C. albicans* 感染を伴った重度の慢性炎症および扁平上皮増殖性病変が形成され、その一部が扁平上皮癌に進行することを報告し、本ラットが扁平上皮過形成や癌を発症する慢性肥厚性カンジダ症のモデルであることを報告しているが、本モデルは病変形成に長期の時間を要すること、また病変の程度が一定でなく、発癌率も低いなどの問題点も存在する。

申請者は、まず、アロキサン誘発糖尿病ラットに *C. albicans* を強制経口投与することにより、ほぼ全例に扁平上皮増殖性病変を増悪化させた慢性肥厚性カンジダ症様症状が出現することを明らかにした。また糖尿病ラットにプレドニゾロンを間歇投与する従来にない方法により、*C. albicans* の直接投与なしに日和見感染を誘導し、高率にかつ長期間感染を持続できる慢性肥厚性カンジダ症モデルを作製することにも成功した。いずれの手法においても少数例ながら早期に扁平上皮癌に進行することから、希に扁平上皮癌に進行するヒトの口腔および食道の慢性肥厚性カンジダ症と極めて類似していることが判明した。本モデル動物の病変では CD4 陽性 T 細胞およびマクロファージの増加が顕著であり、扁平上皮過形成から連続する腫瘍形成にこれらの免疫期細胞が関与する

ものと推測される。

次に申請者は、確立した *C. albicans* 接種による慢性肥厚性カンジダ症モデルを用い、胃に定着性を有するプロバイオティクス (*Lactobacillus gasseri* OLL2716 を含む LG21 ヨーグルト) が、前胃の *C. albicans* 感染および増殖性病変を抑制するか否かを検討した。その結果、扁平上皮過形成の程度は、慢性肥厚性カンジダ症モデルに LG21 を投与した群で有意に低く、LG21 非投与群では中等度から高度病変が約 70%であったのに対し、LG21 投与群では高度病変は認められず、中等度病変も 20%にとどまった。また、粘膜表層の化膿性炎症も、LG21 投与群で僅かに抑制されていた。すなわち、*Lactobacillus gasseri* OLL2716 株を含むプロバイオティクスが *C. albicans* 感染による慢性肥厚性カンジダ症の扁平上皮過形成を有意に抑制することを明らかとし、*C. albicans* 感染により誘発される増殖性および炎症性病変を予防もしくは治療できる可能性を示した。

次に申請者は、慢性肥厚性カンジダ症から癌に至る発がんメカニズムの解析をがん抑制遺伝子や DNA 修復遺伝子のプロモーター領域におけるメチル化を指標に検討を行った。その結果、p16、RAR- $\beta$  2、TIMP3、ERCC1 および BRCA1 のタンパク発現の異常はプロモーターのメチル化状態とは関係なく生じ、これらが *C. albicans* 感染によって引き起こされる炎症性発癌を促進する可能性を推測した。

以上、申請者は、アロキサン誘発糖尿病ラットに *C. albicans* を強制経口投与またはプレドニゾロンを間歇投与する 2 種類の方法により高率かつ高度に発症する慢性肥厚性カンジダ症モデルを確立し、*Lactobacillus gasseri* OLL2716 株を含むプロバイオティクスが *C. albicans* 感染によって引き起こされる増殖性および炎症性病変に対し、予防および治療効果があることを明らかにした。また慢性肥厚性カンジダ症の増悪化には CD4 陽性 T 細胞およびマクロファージの増加が深く関与していることや、p16、TIMP3、RAR- $\beta$  2、ERCC1 および BRCA1 のタンパク発現異常が、DNA プロモーター領域のメチル化状態とは関係なく生じていることを見出した。本研究で確立した慢性肥厚性カンジダ症モデルは、いずれも少数例ながら早期に扁平上皮癌に進行することから、希に扁平上皮癌に進行するヒトの口腔および食道の慢性肥厚性カンジダ症と極めて類似しており、発がんメカニズムの解析や治療薬の開発に貢献されることが期待される。このような観点から、本論文は博士（薬学）の学位論文としてふさわしいものと認定した。