

## 別紙 4

報告番 -	※ 乙 第 号
----------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 キイロショウジョウバエを用いた睡眠促進作用を有する  
乳酸菌およびビフィズス菌の探索とその作用機序に関する研究  
氏 名 神 太郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

睡眠または睡眠様の行動は多くの動物に保存された生理現象であり、肉体的・精神的な疲労回復や、記憶の定着や保持等の脳機能の適切な実行に関与している。そのため睡眠不足は疾病や事故の原因となり、睡眠に係る経済的損失は年間数兆円以上と試算されている。このように睡眠による個人、社会の損失は大きいにもかかわらず睡眠が不足している者は多い。乳酸菌等の微生物は古くから発酵食品等に活用されて人々の食生活を潤してきたが、近年ではその健康機能への影響が着目され、様々な健康への用途でヒトに摂食されている。それら微生物は、腸内細菌として宿主の健康に寄与する場合もあれば（プロバイオティクス）、微生物が有する物質が腸内菌叢を介さずに健康に寄与する場合もある（バイオジェニクス）。本研究は、将来的に人々の睡眠を改善する一つ的手段として乳酸菌などの微生物由来の機能性素材を開発することを視野に入れた上で、それら微生物が睡眠に及ぼす影響とその作用メカニズムを、ヒトと類似する睡眠機構とヒトよりも単純な腸内細菌叢を有するキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を用いて明らかにすることを目的とした。

私はまず、キイロショウジョウバエの代表的な腸内細菌である *Lactiplantibacillus plantarum* に着目した。*L. plantarum* の菌体濃縮物をハエに投与したところ、実験環境下における夜間に相当する暗期の時間帯において睡眠が促進することを見出した。特に、夜間開始時の睡眠量の増加と、睡眠潜時の短縮が顕著であった。また、加熱処理や破砕分画した *L. plantarum* を用いた検討から、同菌は腸内細菌として作用しているのではないこと、同菌の有効成分は熱安定性の高い細胞膜あるいは細胞質成分である可能性を得た。さらに、RNA シークエンシングによるトランスクリプトーム解析からペプチドホルモンに着目し、*Gal4/UAS* システムを活用してペプチドホルモン遺伝子をノックダウンしたハエを用いた検討により、ニューロペプチド F (Neuropeptide F, NPF) が *L.*

*plantarum* の睡眠促進作用の発現に必要なことを見出した。

*L. plantarum* の睡眠促進作用発現の要件として生菌の腸への定着は必要でないことを示す上記結果は、*L. plantarum* の有効成分と同様の成分を有する微生物であればハエの睡眠を促進する可能性を示している。そこで、*L. plantarum* を含む計 39 種の乳酸菌又はビフィズス菌について評価し、6 種において睡眠促進作用を有することを見出した。そのうち最も効果の大きかった *Bifidobacterium adolescentis* を用いて検討を進めたところ、39 種類の評価で使用した同菌種の BA2786 株の他に、キイロショウジョウバエの睡眠行動にほとんど影響を与えない BA003 株を見出した。両菌株を投与したハエのトランスクリプトームの比較解析から BA2786 の投与によりインスリン受容体 (*Insulin like receptor, InR*) の発現量の亢進を、さらに *InR* のヘテロ接合変異体のハエでは BA2786 の睡眠促進作用の一部 (夜間睡眠量の増加) が消失する事を明らかにした。一方、BA2786 投与による睡眠潜時の短縮は *InR* ヘテロ接合変異体においても認められた。つまり、BA2786 に睡眠促進作用を示す有効成分が複数存在、もしくは一つまたは複数の有効成分が複数経路に対して作用しており、その経路の一つに *InR* が関与していることが示唆された。

私は以上の研究によりキイロショウジョウバエの睡眠を促進する微生物を複数見出し、そのうち少なくとも 2 種類 (*L. plantarum* と BA2786) は NPF または *InR* を介して作用している可能性を得た。NPF と *InR* はどちらもヒトで保存されている。更なる研究、検証が必要だが、本研究で見出した 2 つの微生物は、ヒトにおいても睡眠を促進する作用が期待される。