HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アルギン酸オリゴ糖修飾を利用した抗炎症魚肉タンパク質の開発に関する食品生化学的研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	西澤, 瑞穂
Citation	北海道大学. 博士(水産科学) 甲第12214号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/61627
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Mizuho_Nishizawa_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：西 澤 瑞 穂

審査委員

主査　教授　　川 合 祐 史
副査　特任教授　今 野 久 仁 彦
副査　教授　　佐 伯 宏 樹
副査　准教授　　片 山　茂（信州大学）

学 位 論 文 題 目

アルギン酸オリゴ糖修飾を利用した抗炎症魚肉タンパク質の開発に関する食品生化学的研究

本論文の主題は，魚肉タンパク質に抗炎症機能を付与する科学的手段としての「アルギン酸オリゴ糖修飾」の有効性を明らかにするとともに，その産業的意義を論じることである。

近年，生活習慣病の進行に対する生体内炎症反応の関与が種々明らかとなり，食生活の改善によって過剰な炎症反応を緩和しようという試みがなされている。これまで，抗炎症機能を持つさまざまな食品成分が見いだされてきたが，現在のところ，魚肉タンパク質の抗炎症機能に関する知見はほとんどない。申請者はタンパク質の機能改変手段として知られている「メイラード反応を利用したタンパク質への糖鎖導入技術」に注目し，これを利用して抗炎症機能を有する魚肉タンパク質を開発しようと試みた。また研究成果を，低利用水産資源の高度利用に資するため，サケマスふ化放流事業の廃棄産物である河川遡上シロザケを実験材料に選択した。本論文は 5 章および総合考察で構成されている。

第 1 章では，アルギン酸オリゴ糖修飾（以下，AO 修飾）が，シロザケ筋肉タンパク質の抗炎症機能を増強させる極めて有効な手段であることを示した。すなわち，AO 修飾の進行度合いが異なる魚肉タンパク質を調製し，体内消化酵素の代表であるペプシンとトリプシンを用いて消化ペプチド（以下，Meat-AO peptide）を得た。そして炎症性刺激を与えたマウス・マクロファージ様細胞株 RAW 264.7 に Meat-AO peptide を作用させ，同細胞の炎症メディ

エータ産生能を指標として Meat-AO peptide の抗炎症作用を評価した。その結果，Meat-AO peptide が，複数の炎症メディエータ（一酸化窒素，TNF-α，インターロイキン-6）の産生を濃度依存的に強く抑制することを明らかにした。続いて第 2 章では，マウスに経口投与した Meat-AO peptide が局所炎症反応（マウスカラゲニン浮腫の増悪を観察）を効果的に抑制することを，動物実験によって明らかにした。なおこの抗炎症作用は，ペプシン-トリプシン消化前の AO 修飾魚肉タンパク質でも確認できたことから，魚肉タンパク質を AO 修飾することの有用性が確認できた。これら第 1 章と第 2 章の実験によって申請者は，メイラード反応を介した AO 修飾が抗炎症魚肉タンパク質を製造するための有効な手段であることを明らかにした。なお，慢性炎症モデルを用いた検討では，上記の抗炎症作用が確認できなかったが，申請者はこの理由を考察し，今後の研究課題として提示している。

第 3 章では，Meat-AO peptide の作用機序を細胞レベルで検討し，抗炎症作用が RAW264.7 細胞の炎症メディエータの遺伝子発現を抑制する事を見いだし，さらに，遺伝子発現に関わるシグナル伝達が抑制されることを示した。すなわち，関連タンパク質のリン酸化を指標として，炎症メディエータ転写因子である NF-κB の活性化を調べ，Meat-AO peptide が NF-κB の活性化に関わる IKKα/β と IκBα のリン酸化を抑制する事実を明らかにした。そして，一連の解析結果から，Meat-AO peptide が炎症メディエータの発現に必須である NF-κB の核内移行を抑制すると結論づけた。

第 4 章では，Meat-AO peptide に含まれている機能ペプチドの性質を検討した。まず，Meat-AO peptide を構成する酸性ペプチドが強い炎症メディエータ産生抑制能を有すること，そして，Meat-AO peptide 中には，産生抑制する炎症メディエータの種類が異なる複数種の機能ペプチドが存在していることを明らかにした。これらの結果から，抗炎症ペプチドの特徴を明らかにするとともに，Meat-AO peptide 抗炎症機能が，各種の機能ペプチドが複合的に作用して発現した結果であると結論づけた。

第 5 章では，食品製造用酵素を用いた Meat-AO peptide の調製とニワトリ筋肉タンパク質に対する AO 修飾の効果について検討した。食品製造用酵素を用いて調製した Meat-AO peptide と AO 修飾ニワトリ筋肉タンパク質から調製した AO 修飾-消化ペプチドは，経口投与によってマウスカラゲニン浮腫の増悪を有意に抑制した。糖修飾を行っていないニワトリ筋肉タンパク質には抗炎症機能が認められず，AO 修飾によって浮腫増悪抑制効果が発現したことから，AO 修飾は抗炎症作用を付与する手段として，シロザケ以外のタンパク質に対しても有効であることを示した。

これら一連の成果は，メイラード反応を介して魚肉タンパク質に糖鎖を結合させることによって新しい抗炎症作用物質が製造できることを明確に証明しており，学術的に高く評価できる。また，当該技術の実用性を食品生化学的に実証しており，水産資源の有効活用に対する貢献が期待できる。よって審査員一同は，申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。