



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                                          |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Study on the enhancement of anti-inflammatory effect using uronic acid-type glycation in fish protein [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | Li, Wenzhao                                                                                                                                                              |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                                    |
| Degree Name         | 博士(水産科学)                                                                                                                                                                 |
| Dissertation Number | 甲第15712号                                                                                                                                                                 |
| Issue Date          | 2024-03-25                                                                                                                                                               |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/92529">https://hdl.handle.net/2115/92529</a>                                                                                        |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>                                                                  |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                          |
| File Information    | Li_Wenzhao_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                                                             |



# 学位論文審査の要旨

リ ブンショウ

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：LI WENZHAO

|      |       |       |
|------|-------|-------|
| 審査委員 | 主査 教授 | 栗原 秀幸 |
|      | 副査 教授 | 佐伯 宏樹 |
|      | 副査 教授 | 細川 雅史 |
|      | 副査 助教 | 趙 佳賢  |

## 学位論文題目

Study on the Enhancement of Anti-Inflammatory Effect Using Uronic  
Acid-Type Glycation in Fish Protein  
(ウロン酸修飾を活用した魚肉タンパクの抗炎症機能改変に関する研究)

近年、肥満、糖尿病、心血管疾患などの非感染性疾患（NCD）が、ヒトの健康において大きな課題となっている。また、これらの疾患は慢性炎症と密接に関連していることから、日々の健康管理、特に食事による炎症体質予防が重要視される。その結果、食品成分中の抗炎症成分を探索し利用するとともに、その機能を向上させる試みが行われている。本論文が取り組んだ「メイラード反応を用いたタンパク質への糖鎖導入技術」は、還元糖とタンパク質中の反応性アミノ基との自発的縮合反応を利用するものである。新規な化学物質の介在が不要であり、食品タンパク質の機能改変に適した分子修飾法である。

本研究は、この分子修飾技術を、食料資源である魚類筋原線維タンパク質（以下 Mf）に適用し、抗炎症機能改変に適した糖分子を探索するとともに、その分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。さらに、その知見が社会実装可能な汎用技術となりうる可能性を論じた。

本論文は3章より構成されている。第1章では、Mf のもつ抗炎症機能の改変効果を、2種類のウロン酸単糖と海藻由来のアルギン酸オリゴ糖を用いて確認するとともに、抗炎症機能の改変に対するウロン酸の構造の関与を論じた。すなわち、メイラード反応を介して

さまざまな還元糖を Mf に導入した後、ペプシン-トリプシン消化後にリポ多糖で刺激した RAW 264.7 マクロファージに作用させて、炎症誘発性サイトカインと一酸化窒素の分泌抑制作用を調べた。その結果、Mf の抗炎症作用は、ウロン酸型還元糖であるグルクロン酸、ガラクトロン酸、アルギン酸オリゴ糖による糖化によって強く増強された。そして、Mf に結合した還元糖中のカルボキシル基の存在が、Mf の抗炎症改善に取って重要であることを、定量的に明らかにした。

第 2 章では、ウロン酸のもつ抗炎症機能改変効果の分子メカニズム明らかにするため、LPS 刺激したマクロファージにおける細胞内シグナル伝達経路を解析した。そしてウロン酸糖化 Mf が、(1) 炎症誘発性サイトカインの発現と分泌を遺伝子レベルで抑制すること、(2) この制御がマクロファージ表面に存在する LPS 受容タンパク質 CD14 と TLR4 の発現を抑制し、さらには (3) そのシグナル伝達経路にあるアダプタータンパク質 MyD88 の発現抑制に起因することを明らかにした。すなわち、Mf のウロン酸糖化が CD14 の発現を弱め、TLR4-MyD88 依存性炎症シグナル伝達経路を阻害し、その結果として Mf の抗炎症効果が増強されるという、一連の分子メカニズムの理解に達した。

第 3 章では、第 2 章で得た知見を陸上植物由来のウロン酸（ペクチン、 $\alpha$ 1-4 結合によるガラクトロン酸の直鎖多糖）に応用することで、本研究成果の産業的応用を目指した。まず、メイラード反応を用いて Mf をペクチンオリゴ糖（以下、P0）に導入し、反応過程における Mf 中の有効性リジン含量、P0 結合量、およびメイラード反応の進行度を調べ、これらと抗炎症付与効果の関係を調べた。その結果、Mf の抗炎症機能は顕著なリジンの損失が生じないメイラード反応の初期段階における P0 糖化によって増強されること、またその分子メカニズムが第 2 章で述べた各種ウロン酸型糖化と同様であることを明らかにした。この第 3 章の結果は、本論文の研究対象であるウロン酸型糖化が、Mf の抗炎症機能改変法として普遍的な産業技術となりうることを示唆している。

以上述べたように、申請者は、魚肉タンパク質の健康機能を改変する実用的な分子改変技術を提案し、その分子機構を明らかにした。一連の成果は機能性素材としての魚肉タンパク質の利用を促進し、水産副産物の有効利用に寄与することが期待される。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。