

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	ユディ ラフマディアン Yudi Rahmadian
論文題目	Structure and bioavailability of γ -glutamyl peptides in fish and soy sauces and their effects on phagocytic activity of macrophages (魚醤および醤油における γ -グルタミルペプチドの構造、生体利用能、およびマクロファージの貪食能に対する影響)		
(論文内容の要旨)			
Salted and fermented fish and vegetable products are widely used in East Asia, with fish sauce, soy sauce, and miso being the most common seasonings. Miso is known to contain various modified peptides, including pyroglutamyl peptides, diketopiperazines, and β-aspartyl isopeptides, which exhibit high bioavailability and diverse biological activities. In contrast, little is known about the presence and physiological relevance of modified peptides in fish sauce and soy sauce, despite their distinct raw materials and fermentation processes. This study aimed to identify and characterize modified peptides in fish and soy sauces, evaluate their bioavailability, and investigate their immunomodulatory effects on macrophages, key innate immune cells responsible for phagocytosis and cytokine production. In Chapter 1, more than 96 peptides in commercial fish and soy sauces, including γ-glutamyl peptides, pyroglutamyl peptides, β-aspartyl peptides, and diketopiperazines were identified by using liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Peptide profiles varied markedly among samples, reflecting differences in fermentation methods and raw materials. Following oral administration of Vietnamese fish sauce to rats, γ-glutamyl and pyroglutamyl peptides increased significantly in the small intestine, and several hydrophobic γ-glutamyl isopeptides and pyroglutamyl-proline (pGlu-Pro) increased in the blood, whereas most unmodified peptides did not. Diketopiperazines and β-aspartyl isopeptides increased in both the intestine and blood. γ-Glutamyl peptides also increased in colon tissue and its luminal contents. These findings demonstrate that fish sauce is particularly rich in γ-glutamyl dipeptides, whereas soy sauce contains abundant diketopiperazines, and that modified peptides from these seasonings are bioavailable in vivo. In Chapter 2, the effects of γ-glutamyl peptides from Vietnamese fish sauce on macrophage inflammatory responses were examined. At 1.3 μM, γ-Glu-Val, γ-Glu-Leu, γ-Glu-Phe, γ-Glu-Asp, γ-Glu-Pro, and γ-Glu-Met reduced lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) production in J774A.1 macrophages. These peptides also reduced basal NO production in the absence of LPS. At 0.5 μM, γ-glutamyl dipeptides modestly suppressed LPS-induced phagocytosis, whereas a higher concentration (2.5 μM) modestly enhanced phagocytic activity. In the absence of LPS, γ-glutamyl peptides enhanced basal phagocytosis, suggesting that γ-			

glutamyl dipeptides enhance basal phagocytosis activity, possibly through distinct signal pathways rather than LPS-TLR pathway.

In **Chapter 3**, the involvement of the calcium-sensing receptor (CaSR) in these effects was investigated. The CaSR allosteric antagonist NPS-2143 abolished both the suppression of NO production and the enhancement of phagocytosis induced by γ -glutamyl peptides, indicating that their actions are at least partly mediated through CaSR-dependent allosteric activation. Collectively, these findings suggest that γ -glutamyl peptides allosterically activate CaSR, leading to β -arrestin-mediated inhibition of NF- κ B signaling downstream of LPS-TLR4, thereby reducing NO production and LPS-induced phagocytosis. β -Arrestin may also activate Src kinase to enhance basal phagocytosis independently of TLR4 signaling. Further studies on intracellular phosphorylation events are required to confirm this mechanism.

Overall, γ -glutamyl dipeptides exhibit dual immunomodulatory functions—suppressing inflammation while enhancing basal phagocytic activity. Their concentrations in the small intestines exceed 1 μ mol/kg after ingestion, a level sufficient to exert these effects, and they accumulate in the colon lumen. These findings open new avenues for exploring traditional fermented foods as functional dietary components with immunoregulatory potential.

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

魚醤、醤油、味噌といった塩漬け・発酵食品は東アジア料理に欠かせない調味料である。味噌には生理活性をもつ修飾ペプチドが含まれることが知られているが、魚醤や醤油におけるペプチドの存在や機能については、これまで十分に検討されてこなかった。本論文は、醤油および魚醤中の修飾ペプチドの構造と含量を明らかにし、魚醤に高濃度で含まれる γ -グルタミルペプチドの生物学的利用能と、食食作用および炎症因子産生を担う自然免疫細胞であるマクロファージに対する免疫調節作用を解明することを目的としている。本論文の評価すべき点は以下の通りである。

1. 魚醤および醤油中に、ピログルタミルペプチド、 β -アスパラチルペプチド、ジケトピペラジンに加え、 γ -グルタミルペプチドが存在することを明らかにした。特に魚醤では一部の γ -グルタミルペプチドが、また醤油ではジケトピペラジンが非常に高濃度(>1 mM)で存在することを示した点は新規性が高い。
2. ベトナム産魚醤をラットに経胃投与した結果、複数の γ -グルタミルペプチドが小腸組織(1 μ mol/kg)、小腸および大腸管腔内、および血中で有意に増加することを示した。さらに、これらの γ -グルタミルペプチドは約1 μ MでLPS刺激下のマクロファージ様細胞(J774A.1)からの一酸化窒素(NO)産生を有意に抑制し、一方でLPS非刺激下では食食能を促進することを明らかにした。
3. 上記のNO産生抑制および食食能促進作用が、Calcium Sensing Receptor (CaSR)のアロステリック拮抗薬NPS-2143により阻害されることを示し、 γ -グルタミルペプチドが少なくともCaSRを介して免疫調節作用を発揮する可能性を示唆した。

以上のように、本論文は、魚醤・醤油中にタンパク質分解由来の単純なペプチドだけでなく、多様な修飾ペプチドが存在することを初めて体系的に示した。また、魚醤に従来想定されていた以上の高濃度で存在する γ -グルタミルペプチドが、マクロファージにおいて過剰な炎症反応を抑制しつつ食食活性を高める可能性を示した点は、海洋生物機能学および食品機能学の発展に寄与するところが大い。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和8年1月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)