

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	山本貴之
論文題目	Studies on the safety of food and feed, and on the effects of plant derived anti-inflammatory components (食品および飼料の安全性と植物由来抗炎症成分に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
食品および飼料の安全性において、人畜共通感染症の一種であるウシ海綿状脳症（bovine spongiform encephalopathy, BSE）の発生防止のために、飼料へ混入する反芻動物由来肉骨粉を検出する方法の確立は極めて重要である。本研究においては、種々の飼料中の反芻動物由来肉骨粉を特異的かつ高感度に検出できる enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を確立した。また、食物アレルギーも食品の安全性を考慮する際の重要課題であり、アレルギーを引き起こしやすい特定原材料の表示が義務化されている。本研究では、食品加工の際に変性を起こすアレルギー物質を検出できる高精度のELISA法を構築した。 また、食品の機能性成分の利用性に関する研究として、代表的なカカオポリフェノールであるエピカテキンの腸管吸収性に着目した。エピカテキンは、心血管疾患予防など多くの機能性が知られているが、腸管吸収性が低い。本研究では、カカオ由来キサンチン類であるテオブロミンが、エピカテキンの吸収性に与える影響を検討した。さらに食品の機能性成分の作用機構に関する研究として、パッションフルーツに高含有されるポリフェノールであるピセアタンノールが、肥満関連病態の発症要因となるマクロファージと脂肪細胞間の炎症反応に対する影響を検討した。			
第1章 食品および飼料の安全性に関する応用研究			
第1節 反芻動物由来肉骨粉検出法の確立			
BSE発生防止のために、飼料への反芻動物由来肉骨粉の混入が規制されている。飼料分析基準にELISA法がある。従来のELISA法はウシアルブミンに対する抗体が用いられていたが、ブタアルブミンとも交差性があったため反芻動物とブタ肉骨粉を測り分けることが困難であった。さらに、飼料への使用が認められているウシの乳やゼラチンをも検出してしまう欠点があった。そこで、ウシミオグロビン特異的な抗体を用いたサンドイッチELISA法を確立し、種々の飼料中の反芻動物由来肉骨粉を特異的・高感度に検出できる測定系を構築した。			
第2節 食物アレルギー測定法の確立			
アレルギー物質を含む食品の表示は食品衛生法に規定されおり、ELISA法を最初のスクリーニングに用いることが定められている。これまでも、加工食品中のアレルギーを測定できるELISA法はあったが、2008年に毒物指定となった2-メルカプトエタノールを使用する方法であったため、食品製造現場には不向きとなった。そこで、2-メルカプトエタノールの代わりに亜硫酸ナトリウムを還元剤としたELISA法を確立し、5種類の特定原材料を高精度に検出できる測定系を構築した。			

第2章 食品の機能性に関する基礎研究

第1節 機能性成分の消化管吸収性

カカオには、エピカテキンやそのオリゴマーであるプロシアニジン類のポリフェノールが豊富に含まれ、心血管疾患や糖尿病、酸化ストレスに対して抗酸化や抗炎症機能を有していることが報告されている。しかし、これらポリフェノールの体内吸収性は乏しく、最も吸収されやすい単量体のエピカテキンですら数%の腸管吸収性と言われている。そこで、エピカテキンの吸収性に対するカカオの他の成分による影響を検討した。ラットに、エピカテキンまたはココアパウダーとともに、カカオ特有のキサントシンであるテオブロミンを経口投与し、経時的に尾静脈採血を行った。血漿中のエピカテキンおよびその代謝物を高速液体クロマトグラフィー/質量分析（UPLC-qTof/MS）にて解析を行った。その結果、テオブロミンが濃度依存的にエピカテキンやその代謝物の吸収性を向上させることを見いだした。

第2節 食品成分の機能と作用機構の解析

ピセアタンノールは、レスバトロールより-OH基が一個多い構造を持つスチルベン類の一種である。ピセアタンノールは、血管弛緩作用などが知られているが、炎症に対する作用については不明な点が多い。マクロファージと脂肪細胞の慢性炎症は、インスリン抵抗性を引き起こし糖尿病の発症に関与する。本研究では、炎症誘導物質や脂肪細胞の培養上清によるマクロファージの活性化を、ピセアタンノールが抑制することを見いだした。さらに、共同研究者の先行研究により、褐色脂肪細胞特異的に発現し熱産生分子として機能する脱共役タンパク質1(UCP1)は、炎症反応の影響によりアドレナリン刺激による発現誘導が低下することが明らかとなっている。ピセアタンノールは、炎症により低下するUCP1の発現誘導を回復させることを見いだした。このことから、ピセアタンノールは抗炎症作用を有し、肥満をベースとする2型糖尿病などの疾患の予防に役立つ機能性成分であることが示唆された。

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)

食のグローバル化に伴い、その安全性に対する関心が高まっている。BSE対策として、飼料安全法のもと、ELISA法が飼料中の反芻動物由来肉骨粉の検査法の一つとして定められている。従来のELISA法では、ブタ肉骨粉やウシゼラチンや乳などを検出してしまう偽陽性の課題があった。本研究では、反芻動物の肉骨粉特異的な検出法の確立を行った。また、食物アレルギーによる健康危害が問題視されている。食品表示法によりアレルギーを引き起こしやすいアレルゲンの表示が義務化されており、ELISA法がスクリーニング検査として公定法に採用されている。従来の方法では、加工食品からのアレルゲンの回収を目的に、2-メルカプトエタノール(2-ME)が還元剤として用いられていた。しかし、2-MEが医薬用外毒物に指定されたため、食品製造現場での使用に抵抗感が強まった。そこで、本研究において、2-MEに変わる還元剤の探索を行った。

また、少子高齢化や生活習慣病の増加を背景として、国民の健康に対する関心も高く、機能性食品に対する期待が大きい。肥満状態における脂肪組織の慢性炎症が、インスリン抵抗性や糖尿病発症に関与すると考えられている。本研究では、抗炎症作用を有するカカオ由来ポリフェノール（エピカテキン）の腸管吸収性向上、並びに脂肪細胞とマクロファージの間の炎症反応に対するパッションフルーツ由来ポリフェノール（ピセアタンノール）の機能解析を行った。評価される点は以下の通りである。

1. ウシミオグロビンモノクローナル抗体を用いたELISA法を確立し、特異的・高感度に牛肉骨粉の検出が可能となった。この技術は実用化され、農林水産省の飼料分析基準の通知に採用された。
2. 2-MEの代替還元剤として亜硫酸ナトリウムを用いた、アレルゲンスクリーニング検査のELISA法を確立した。この技術も実用化され、消費者庁の公定法として採用された。
3. カカオ由来キサントンの一種であるテオブロミンが、カカオポリフェノールであるエピカテキンの腸管吸収性を向上させることを見いだした。
4. ピセアタンノールが、脂肪細胞とマクロファージの間の炎症反応において、抗炎症作用とそれによる脂肪細胞機能の回復さようを有することを見いだした。

以上のように、本論文は、BSE対策や食物アレルギー予防に有効なELISA法を確立するとともに、植物由来の新規の健康機能性成分を明らかにしたものであり、食品安全学、食品機能学、酵素化学に寄与するところが多い。

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、平成28年2月4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）