

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	酒井 祥太
論文題目	Studies on Anti-Inflammatory Compounds Derived from Marine Bioproducts and their Mechanisms (海洋生物由来抗炎症物質の探索およびその作用機構の解明)		
(論文内容の要旨)			
近年、花粉症や食物アレルギーといったI型アレルギー疾患の増加が問題となっている。I型アレルギーの発症機構については、アレルゲン認識からアレルギー症状の発症までの生体内メカニズムが細胞生物学的あるいは分子生物学的にも近年詳細に明らかにされてきており、どのような反応経路を制御すれば、炎症反応を抑制できるのかをある程度予測できる段階になってきている。I型アレルギーの炎症反応は、体組織に存在する肥満細胞の脱顆粒反応に伴って放出される炎症性メディエーターによって惹起されるため、脱顆粒反応を抑制する食品機能成分の探索が試みられている。しかしながら、海洋生物由来の抗炎症物質は極めて少ない。そこで本論文では、抗炎症作用を有する海洋生物由来物質を見出すことを目的とし、様々な海洋生物由来物質について肥満細胞の脱顆粒反応に与える影響を調べた。また、それらの物質による抑制作用の機構を細胞内のシグナル伝達に着目し、検討した。本論文の内容は以下のように要約される。 1. 海洋生物に特有のカロテノイドであるフコキサンチン、アスタキサンチン、ゼアキサンチン、β-カロテンと甲殻類の殻を形成するキチン質の構成成分であるキチンオリゴ糖、キトサンオリゴ糖およびそれらの単量体であるN-アセチルグルコサミン、グルコサミンについて肥満細胞の脱顆粒反応に与える影響を調べた。このとき、ヒスタミン等の炎症性メディエーターと同時に肥満細胞から放出されるβ-ヘキソサミニダーゼの活性を脱顆粒反応の指標にした。その結果、海洋生物カロテノイドのフコキサンチン、アスタキサンチン、ゼアキサンチン、β-カロテンおよびグルコサミン(塩酸塩)に脱顆粒抑制作用を見出した。また、これらの物質が炎症反応に関わるサイトカインの一種であるTNF-α遺伝子発現に与える影響を調べた結果、すべての海洋生物カロテノイドとグルコサミン、N-アセチルグルコサミンは有意にTNF-αの遺伝子発現を抑制することを見いだした。 2. カロテノイドによる脱顆粒抑制の作用機序について肥満細胞の細胞膜に発現している高親和性IgE受容体 (FcεRI)を介した細胞内シグナル伝達経路に着目して調べた。その結果、海洋生物カロテノイドは抗原刺激後の初発反応であるFcεRIの凝集反応を有意に抑制することを明らかにした。また、FcεRIの凝集抑制の確認のために、細胞内のシグナル伝達に与える影響を調べた結果、海洋生物カロテノイドで前処理した細胞では、FcεRIの凝集反応に付随して起こるLynおよびFynキナーゼのリン酸化、プロテインキナーゼC-βの活性化、細胞内へのCa²⁺流入のすべてが抑制されることを見いだした。海洋生物カロテノイドによるFcεRIの凝集抑制について、FcεRIの凝集の足場として用いられる脂質ラフトに着目し、詳細を調べた結果、カロテノイドは、抗原刺激に伴うFcεRIの脂質ラフトへの移行を阻害することを明らかにした。カロテノイド			

と脂質ラフトの関わりについてはこれまでに報告がなく、本研究により見出された海洋生物カロテノイドによる肥満細胞の脱顆粒抑制作用は新規の機構を介していることが明らかとなった。

3. グルコサミンによる脱顆粒抑制の作用機序について、上記と同様にFcεRIを介した細胞内シグナル伝達に着目して調べた。グルコサミンは、FcεRIの凝集反応には影響を与えなかったが、脱顆粒反応を制御するタンパク質であるLynキナーゼのリン酸化を抑制することで脱顆粒を抑制することを明らかにした。一方、脱顆粒反応には影響を与えなかったがTNF-αの遺伝子発現を抑制したN-アセチルグルコサミンは、サイトカイン遺伝子の転写に深く関わるタンパク質であるERK1/2の活性化を抑制することがわかった。

4. 海洋生物カロテノイドまたはグルコサミンの経口摂取により、ジニトロフルオロベンゼン(DNFB)を用いて惹起したマウス耳介の炎症反応が有意に抑制されることを明らかにした。このとき、耳介の切片を作成後に病理解析をしたところ、生理食塩水のみを摂取させたマウスの耳介で観察された皮下組織の膨張および白血球の浸潤が、海洋生物カロテノイドまたはグルコサミンの摂取により抑制された。また、海洋生物カロテノイドまたはグルコサミン摂取は、DNFBで誘導された耳介および血漿中のヒスタミン濃度上昇を有意に抑制した。

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)

花粉症や食物アレルギーといったI型アレルギー疾患は国民の約三分の一が罹患しているといわれており、問題となっている。このため抗炎症作用を有する新たな物質の発見が期待されている。本論文は、海洋生物から新規のアレルギー抑制物質を見だし、それらの作用機構の解明を行い、さらに動物実験により生体における有効性を確認したものである。評価される点は以下の通りである。

1. I型アレルギーにおける炎症に深く関わる肥満細胞の脱顆粒反応に着目し、様々な海洋生物由来物質の脱顆粒に与える影響を調べた。その結果、海洋生物に特有なカロテノイドであるフコキサンチン、アスタキサンチン、ゼアキサンチン、 β -カロテンとエビやカニ等の甲殻類の外殻に含まれるグルコサミンに脱顆粒抑制作用を見出した。

2. 海洋生物カロテノイドによる脱顆粒抑制機構について、肥満細胞の細胞膜に発現している高親和性IgE受容体 (FcεRI)を介した細胞内シグナル伝達経路に着目して検討した。海洋生物カロテノイドは、抗原刺激後の初発反応であるFcεRIの凝集反応を抑制するという新規の機構で脱顆粒を抑制していることを明らかにした。また、FcεRIの凝集反応の抑制は、FcεRIの脂質ラフトへの移行が阻害されることによることを示した。

3. グルコサミンによる脱顆粒抑制機構を上記と同様に明らかにした。グルコサミンは、脱顆粒反応に関わるタンパク質であるLynキナーゼの活性化を抑制することを示した。また、N-アセチルグルコサミンは、サイトカイン遺伝子を制御しているタンパク質であるERK1/2の活性化を抑制することを示した。

4. 海洋生物カロテノイドとグルコサミンの生体における抗炎症作用を評価した。その結果、海洋生物カロテノイドまたはグルコサミンの経口摂取により、薬剤で誘発された耳介の炎症反応が抑制されることを見出した。また、耳介におけるヒスタミン量の減少が認められたことから、海洋生物カロテノイドとグルコサミンは、生体においてもヒスタミンの貯蔵庫である肥満細胞の脱顆粒反応を抑制することを示した。

以上のように、本論文は、海洋生物カロテノイドとグルコサミンが肥満細胞の脱顆粒反応を抑制すること、またその機構を初めて明らかにしたものである。これを通じてカロテノイドを含む藻類やグルコサミンを含むエビ、カニなどの殻といった未利用資源の有効利用が期待され、海洋生物生産利用学、水産化学、食品機能学の発展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22年2月18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。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開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