

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(生)甲第273号	氏名	姜 澤東
学位審査委員	主査 副査 副査 副査	小田達也 原 研治 長富 潔 山口健一	
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>姜 澤東氏は、2008年7月に中国大連水産学院(現:大連海洋大学)大学院海洋生物科学専攻を修士終了後、2008年10月に研究生として、長崎大学水産学部に入學した。2009年4月に長崎大学大学院生産科学研究科(博士後期課程)海洋生産科学専攻へ入學し、現在に至っている。同氏は、生産科学研究科に入學以降、大型海藻類由来硫酸化多糖体アスコフィラン、フコイダン、ポルフィラン等の生物活性に関する研究に従事し、その成果を2011年12月に主論文「大型海藻類由来硫酸化多糖体の生物活性に関する研究」として完成させ、参考論文として、学位論文の印刷公表論文3編(うち審査付き論文3編)、学位の基礎となる論文3編(うち審査付き論文0編)、その他の論文8編(うち審査付き論文8編)を付して、博士(水産学)の学位の申請をした。長崎大学大学院生産科学研究科教授会は、2011年12月21日の定例教授会において論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を2012年2月15日の生産科学研究科教授会に報告した。</p> <p>以下に論文審査内容について記載する。</p> <p>海藻類中には、多くの有用な化学成分が含まれている。特にミネラル類が豊富に含まれている。さらに、海藻由来の多糖体が様々な生理活性を発現することが明らかにされている。近年、昆布やワカメやモズク等に含まれる硫酸化多糖体であるフコイダンはアポトーシス誘導作用、抗酸化作用、抗腫瘍作用、免疫賦活作用、血圧降下作用、血糖値降下作用など多彩な作用を示すことから、様々な利用法が期待されている。アルギン酸の原料として用いられている褐藻類アスコフィラム・ノドサム(<i>Ascophyllum nodosum</i>)粉末からフコイダンとは異なる硫酸化多糖体として未利用のアスコフィランが比較的高収率で得られる。本研究ではアスコフィランの生物活性について特にアスコフィランの種々哺乳類細胞(CHO、XC、MDCK、Vero、PtK<sub>1</sub>、HeLa)の生長に対する影響及びアスコフィランの免疫系に及ぼす影響について細胞レベルで検討し、以下の知見を得ることができた。</p> <p>1. アスコフィラン及びフコイダンは Vero 細胞及び XC 細胞のコロニー形成に対して強い毒性を示</p>			

したが、CHO 細胞、PtK<sub>1</sub> 細胞及び HeLa 細胞に対しては顕著な毒性を示さないことがわかった。アスコフィランは MDCK 細胞の増殖を濃度依存的に促進することを見出した。一方、フコイダンは MDCK 細胞に対して逆に強い毒性を示した。アルギン酸はいずれの細胞に対しても毒性を示さなかった。

2. アスコフィランとフコイダン A (*A. nodosum* 由来) は 1000 µg/ml まで RAW264.7 細胞に対して毒性を示さなかったが、フコイダン S (シグマ社製) は濃度依存的に細胞毒性を示した。

3. アスコフィランはいずれのフコイダンより、RAW264.7 細胞に対して NO 及びサイトカイン放出誘導活性が高いことを見出した。また、いずれの活性もフコイダン S は A より強かった。100 µg/ml のアスコフィランは RAW264.7 細胞に対して、iNOS mRNA 及び iNOS 蛋白質発現を強く誘導し、その作用はフコイダンより強いことがわかった。

4. ゲルシフトアッセイ解析において、100 µg/ml のアスコフィランは RAW264.7 細胞における転写因子 AP-1 及び NF-κB の活性化を誘導し、その作用はフコイダンより強いことが示唆された。また、MAPK 阻害実験及びウェスタンブロットティング法から、アスコフィランは特異的に JNK、p38 キナーゼシグナル経路を介して RAW264.7 細胞からの NO 産生を誘導すると推定された。

以上より、アスコフィランはマクロファージに対してフコイダンに比べ、より強い NO 及びサイトカイン放出誘導を引き起こし、その機構には MAP キナーゼ系や転写因子 NF-κB 及び AP-1 の細胞内シグナル伝達機構が関与すると推定された。

一方、*Porphyra yezoensis* はノリの一類であり、日本ではよく食べられている。近年、ノリに含まれて主要な硫酸化多糖体であるポルフィランはアポトーシス誘導、抗酸化、抗腫瘍、免疫賦活、血圧及び血糖値降下作用など多彩な生理活性を示すことが報告されている。そこでアスコフィランと類似の硫酸化多糖体であるポルフィランについても前述同様、細胞レベルでの解析を行うし、以下の知見を得ることができた。

1. ポルフィラン自身は RAW 細胞に対する毒性作用、NO や TNF-α の放出誘導作用はなかった。

2. ポルフィランは、LPS 刺激 RAW 細胞からの NO 放出を濃度依存的に抑制したが、TNF-α 放出誘導に対しては影響しなかった。従って、LPS 刺激 RAW 細胞において、NO 産生と TNF-α 放出は別々に調節されており、ポルフィランは特異的に NO 産生を司る細胞内シグナル経路を抑制すると推定された。

3. ゲルシフトアッセイ解析及びウェスタンブロットティング解析において、ポルフィランは NF-κB の阻害サブユニットの遊離と分解を抑制することで、NF-κB の主要なサブユニット蛋白質 NF-κB p65 の核への移行を阻害し、結果として iNOS の発現を阻害すると推定された。

以上のように本論文は、大型海藻類由来硫酸化多糖体の生物活性に関して新規な多くの知見を示しており、海藻多糖体研究の分野に多大な寄与をするものと評価できる。以上の事から、学位審査委員会は、本論文は博士（水産学）の学位に値するとして合格とした。