

# 博士論文要約 (Summary)

平成 23 年 4 月入学  
連合農学研究科 生物資源科学 専攻  
氏 名 荒井 克仁

タイトル	農畜産物由来成分の消化管への機能性に関する研究
<p>農畜産物が市場に供給されるに当たり、生産物の形状や重量等の規格が定められ、生産者はその規格を満たした物のみを市場に提供する。しかしながら製品を生産するに当たり、一定の割合で、その規格に収まらない規格外品や、生産の過程において何らかの障害によりに傷や形態といった不良品が生じる。また、農作物では天候により生産過多となった場合、市場での価格維持のため、収穫せずに農地において直接廃棄する場合もある。これらの生産物の一部は、加工用として利用され加工食品として市場に流通するが、多くは未利用物として廃棄処分となる場合も多い。しかしながら、これらの未利用物は、成分的には市場に流通する農畜産物と同等であり、その中には数多の有用成分を含む物も数多く存在する。本研究ではこれら未利用物由来の有用成分のモデルとして、北海道十勝圏での主要な農産物であるナガイモの塊茎貯蔵タンパク質および、真核生物に普遍的に存在する機能性脂質であるスフィンゴ脂質を試料とし、下部消化器官疾患(大腸ガン、炎症性腸疾患)モデルに与える効果を検証した。</p> <p>I, 大腸ガン発症抑制におけるナガイモ塊茎貯蔵タンパク質の効果</p> <p>ナガイモの大腸腺腫発症抑制効果は過去に報告されているが、その活性本体は不明である。本研究では、その活性本体の一つと予測されるナガイモ塊茎貯蔵タンパク質画分を試験試料とし、ヒト結腸ガン由来細胞(Caco-2)の増殖およびアポトーシス誘導に与える効果および、1,2-Dimethylhydrazine (DMH) 投与マウスにおける大腸腺腫(ACF)発症抑制系を用いた動物実験を行い、大腸ガン発症抑制効果を検証した。ナガイモ塊茎貯蔵タンパク質は、生のナガイモ塊茎に約 2%程度含まれており、様々な機能性の報告がなされているナガイモ類のみに認められる dioscorin と呼ばれるタンパク質が約 8 割を占めている。貯蔵タンパク質画分はナガイモ塊茎凍結乾燥粉末より水抽出にて抽出した後に段階的飽和硫酸アンモニウム沈殿によりタンパク質画分の精製を行った。抽出したタンパク質画分のプロテアーゼ分解物を試料とし、Caco-2 細胞の培養液添加(100 <math>\mu</math>g/ml)により、24, 48 時間時点での増殖率が未添加の細胞と比較して有意に抑制された、また添加 24 時間後の細胞では、アポトーシスの形態を示す細胞が確認された。動物実験は ICR マウス(♂)を使用し、週 1 回の DMH の腹腔内投与により ACF 発症を誘発した。マウスには DMH 投与 1 週間前から解剖前日まで AIN-93G の組成を基本とした飼料に 0.5 または 1%の割合でナガイモ塊茎貯蔵タンパク質またはその分解物を添加した試料を投与した。8 週間の DMH 投与後、誘発された ACF 数を顕微鏡下において計測したところ、ナガイモ貯蔵タンパク質群およびその分解物投与群では、未投与群と比較して大腸単位面積当たりの ACF 数が有意に抑制されており、ACF を構成する異常腺窩(AC)の個数にも減少傾向が認められた。また ACF 部位の組織切片を作成し、TUNEL 染色によるアポトーシス陽性細胞の計測を行ったところ、ナガイモ貯蔵タンパク質投与群では組織中のアポトーシス陽性細胞の割合が有意に増加していた。</p>	

以上の結果より、ナガイモの大腸腺腫発症抑制効果には塊茎貯蔵タンパク質大きく関わっていることが推測された。また経口より摂取されたナガイモタンパク質は体内で消化されても大腸腺腫発症抑制効果を持つことがあきらかとなった。

## II, デキストラン硫酸ナトリウム誘導性大腸炎モデルマウスにおける食餌性スフィンゴ脂質の効果

食餌性スフィンゴ脂質の大腸炎抑制効果に関する研究は、これまでに動物の主要なスフィンゴ脂質であるスフィンゴミエリン(SM)のみで報告されているが、その効果は大腸炎の改善、悪化双方の効果が報告されている。一方植物型の主要なスフィンゴ脂質であるグルコシルセラミド(GlcCer)に関してはこれまでに報告されていない。本研究ではこれら双方のスフィンゴ脂質を試料とし、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)投与マウスにおける効果の検証を行った。SMは鶏皮由来の物を、GlcCerはトウモロコシ由来の物を試料とした。試験飼料としてAIN-76の組成を基本とし、これに0.1%の割合で各スフィンゴ脂質を添加したものを飼料としDSS投与の3日前から飼育終了まで投与した。大腸炎の誘導は飲水中2%の割合でDSSを溶解したものを2週間投与し大腸炎症の発症を誘発した。飼育中の体重減少が両スフィンゴ脂質の投与により3日目から最大7日目の期間において、未投与群と比較し有意に抑制された。飼育2週間時点での大腸粘膜の組織状態は、両スフィンゴ脂質投与マウスにおいて組織障害の軽減が確認された。また炎症の初期応答である好中球の粘膜浸潤の指標となる組織MPOのウェスタンブロット解析においても両スフィンゴ脂質の投与によって有意な減少が認められた。さらにDSS投与5日目における大腸粘膜組織でのサイトカインの変動をサイトカインアレイにより調査したところ、両スフィンゴ脂質の投与により炎症を抑制する方向にサイトカイン発現の変動が引き起こされることが明らかとなった。以上のことより、スフィンゴ脂質の投与は大腸炎症の症状を初期の段階において抑制し、その効果に関して、動物型、植物型による違いはないということが示唆された。

今回の研究において、現在までに様々な機能性が報告されている、ナガイモ塊茎貯蔵タンパク質およびスフィンゴ脂質の新たな機能性が認められた。ナガイモ塊茎貯蔵タンパク質はナガイモの、スフィンゴ脂質は鶏皮およびトウモロコシ由来の物を使用しているため、本研究はこれら農畜産物の未利用物の利用促進に対して、有用な情報を付与することができる。と考える。