

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (学術)	氏名	BAMBANG DWI WIJATNIKO
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>Studies on Intestinal Protective Effects of Jack Bean (<i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) Protein Hydrolysates (タチナタマメ由来タンパク質加水分解物による腸管保護作用に関する研究)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	鈴木 卓弥	
審査委員	教 授	矢中 規之	
審査委員	教 授	小櫃 剛人	
審査委員	准教授	Kumrungsee Thanutchaporn	
審査委員	助教	山本 祥也	
〔論文審査の要旨〕			
<p>腸管の炎症を抑えることは、健康維持にとって極めて重要である。腸管は栄養吸収、免疫機能の調節、有害物質の排除において中心的な役割を果たしているが、過剰な炎症はこれらの機能を損ない、慢性疾患や全身の健康状態に悪影響を及ぼす。特に、腸管上皮細胞が産生する IL-8 やマクロファージが産生する TNF-<math>\alpha</math> および IL-6 が炎症反応の中心的な役割を果たすことが知られる。IL-8 は白血球、特に好中球を炎症部位に引き寄せ、TNF-<math>\alpha</math> は炎症性サイトカインの産生を促進し、血管透過性を高める。また、IL-6 の過剰な産生は組織損傷を引き起こすことも知られている。一方で近年、様々な食品タンパク質から生理活性ペプチドを調製する試みが盛んにおこなわれている。例えば、降圧ペプチドや抗コレステロールペプチドは機能性食品としても応用されている。しかしながら、食品ペプチドの腸管炎症への影響は必ずしも十分に明らかにされていない。本研究は、タチナタマメ由来のタンパク質の加水分解物の抗炎症活性を調べ、その中から抗炎症活性をもつペプチドを同定することを試みた。培養細胞やマウスを用いたアプローチと併せて、in silico によるペプチド探索も組み合わせて実施された。</p> <p>第一章では、本研究の背景と目的、意義が説明され、第二章では本研究に深く関わるキーワード(腸管炎症、生理活性ペプチド、マクロファージ、腸管上皮細胞など)とそれらの相互作用に関する過去の知見がまとめられている。</p> <p>第三章では、タチナタマメのタンパク質とペプシン・パンクレアチン酵素を用いて、タンパク質加水分解物(JBPH-PP)を作成し、ヒト腸管上皮 Caco-2 細胞において抗炎症効果を調べた。Caco-2 細胞に TNF-<math>\alpha</math> を作用させると IL-8 産生が起きるが、JBPH-PP の前処理により抑制された。この作用には、NF<math>\kappa</math>B や MAPK 経路の抑制が関わることを示された。質量分析計と in silico</p>			

アプローチにより、複数の抗炎症ペプチドが同定された。

第四章では、タチナタマメのタンパク質とアルカラゼ酵素を用いて、タンパク質加水分解物 (JBPH-ALC) を作成し、ヒト腸管上皮 Caco-2 細胞において抗炎症効果を調べた。Caco-2 細胞に TNF- $\alpha$  を作用させると IL-8 産生が起きるが、JBPH-ALC の前処理により抑制された。この作用には、NF  $\kappa$  B や p38-MAPK 経路の抑制が関わることを示された。質量分析計と in silico アプローチにより、複数の抗炎症ペプチドが同定された。

第五章では、JBPH-PP による抗炎症作用を、マウスマクロファージ細胞 Raw264.7 を用いて調べた。Raw264.7 細胞にリポ多糖 (LPS) を作用させると TNF- $\alpha$  や IL-6 産生が起きる。しかしながら、JBPH-PP はこの作用に影響しなかった。

第六章では、JBPH-ALC による抗炎症作用を、マウスマクロファージ細胞 Raw264.7 を用いて調べた。Raw264.7 細胞にリポ多糖 (LPS) を作用させると TNF- $\alpha$  や IL-6 産生が起きるが、JBPH-ALC は TNF- $\alpha$  産生を明確に抑えた。この作用には、NF  $\kappa$  B, MEK/ERK, p38 経路の抑制が関わることを示された。さらに質量分析計と in silico アプローチから、JBPH-ALC から複数の抗炎症ペプチドが同定された。そのなかから 2 つのペプチド DFFL と LFLLP を合成して試験したところ、いずれのペプチドも Raw264.7 細胞からの TNF- $\alpha$  産生を抑えた。

第七章では、大腸炎マウスを用いて JBPH-PP による病態軽減作用を調べた。大腸炎マウスでは、体重の減少、血便や下痢という症状を示したが、JBPH-ALC を摂取したマウスでは、それらの症状が部分的に軽減した。

第八章では、大腸炎マウスを用いて JBPH-ALC による病態軽減作用を調べた。大腸炎マウスでは、体重の減少、血便や下痢という症状を示したが、JBPH-ALC を摂取したマウスでは、それらの症状が部分的に軽減した。

第九章では、研究成果を総括した上で、今後の検討課題や展望を明確に定義している。

以上、審査の結果、本論文は統合生命科学研究科学位論文評価基準を満たし、著者は博士 (学術) の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。