

論文審査の結果の要旨

氏名：山口 真

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：牛乳由来 α -ラクトアルブミンの抗炎症作用に関する研究

審査委員：（主査） 教授 関 泰一郎

（副査） 教授 花澤 重正 教授 細野 朗

α -ラクトアルブミンは、牛乳のホエイ画分に存在する乳タンパク質の一種である。本研究では、 α -ラクトアルブミンの鎮痛、抗炎症作用に着目し、その作用メカニズムを解明することを目的に、疼痛、急性炎症、慢性炎症に対する作用、アラキドン酸代謝関連酵素に対する阻害活性について検討している。さらに、ラット虚血再灌流モデル、マウス大腸発がんモデルを用いて、 α -ラクトアルブミンの抗炎症作用に基づく新しい機能性の解明を行った。

第1章では、牛乳由来 α -ラクトアルブミンの新規作用としてシクロオキシゲナーゼ-2の阻害による鎮痛および抗炎症作用を明らかにしている。牛乳由来ホエイタンパク質に極微量含まれるラクトフェリンについては、酢酸や関節炎による痛みに対する軽減作用が報告されている。しかしながら、その作用メカニズムは明らかになってはおらず、また、ホエイタンパク質の主要成分 β -ラクトグロブリンおよび α -ラクトアルブミンの作用に関しては不明であった。本研究では、ホエイタンパク質の主要な成分である β -ラクトグロブリンおよび α -ラクトアルブミンについて、鎮痛作用および抗炎症作用を評価している。 α -ラクトアルブミンの経口投与により、内臓痛・体性痛のモデルであるマウス酢酸ライジングテストでの疼痛関連行動の抑制、急性炎症モデルであるラットカラゲニン足浮腫および疼痛の抑制、リウマチ性関節炎のモデルであるラットアジュバント関節炎モデルにおける関節の腫脹と疼痛反応が抑制された。一方、 β -ラクトグロブリンはこれらのモデルで効果を示さなかった。つぎに、 α -ラクトアルブミンの鎮痛作用および抗炎症作用メカニズムを明らかにするために、ラットカラゲニン足浮腫モデルにおける後肢浸出液中のIL-6とプロスタグランジン(PG) E₂を測定している。その結果、 α -ラクトアルブミンの経口投与によりIL-6およびPGE₂の産生、上昇が抑制されることを明らかにした。さらに、 α -ラクトアルブミンのアラキドン酸代謝関連酵素に対する阻害活性について検討した結果、シクロオキシゲナーゼ(COX)およびホスホリパーゼA₂を阻害することが明らかになった。さらに α -ラクトアルブミンは、COX-1と比較し、COX-2に対して選択的な阻害活性を示した。

第2章では、牛乳由来 α -ラクトアルブミンの小腸虚血再灌流障害に対する抑制効果を明らかにしている。消化管は、食物の消化と吸収のみならず、免疫器官、神経系器官、様々な生体調節因子を分泌する内分泌器官としても機能している。本章では、腸管の循環障害のモデルとして上腸間膜動脈虚血再灌流法を用い、ホエイタンパク質の消化管炎症に対する抑制効果を薬理的に解析した。ラットの上腸間膜動脈を鉗子により虚血した後、再灌流することで、腸管の循環障害による炎症反応を誘導した。虚血の1時間前にホエイタンパク質や、その主要な構成成分である β -ラクトグロブリン、 α -ラクトアルブミンを十二指腸内に

投与したラットでは、生理食塩水を投与した対照群と比較して、IL-6の産生が抑制された。また、その抑制活性は、 α -ラクトアルブミンが β -ラクトグロブリンと比較して強力であった。さらに、 α -ラクトアルブミンの血清中濃度と抗炎症作用には、正の相関がみられた。ラット腸管虚血再灌流モデルにおける α -ラクトアルブミンの抗炎症作用メカニズムについて、一酸化窒素を中心に解析を行った。一酸化窒素は、IL-6の産生に関与する転写因子NF- κ Bとその阻害タンパク質であるI κ Bとの結合を安定化すること、NF- κ Bのプロモーターへの結合を阻害することが報告されている。ラットの上腸間膜動脈をクランプにより虚血した後、再灌流し、腸管の循環障害による炎症反応を誘導した。虚血の1時間前に α -ラクトアルブミンとともに、一酸化窒素合成酵素阻害剤であるN^G-ニトロ-L-アルギニンメチルエステルを前投与したラットでは、 α -ラクトアルブミンのIL-6産生抑制作用はキャンセルされた。これらの結果から、 α -ラクトアルブミンによるIL-6産生抑制作用には、一酸化窒素によるNF- κ Bの阻害が関与している可能性がある」と結論付けている。

第3章では、牛乳由来 α -ラクトアルブミンの大腸発がんに対する抑制効果について検討している。 α -ラクトアルブミンの強力な抗炎症作用を機能性食品などに応用することを視野に入れ、近年罹患数が急増し、また、加齢により罹患率が増加する大腸がんに着目している。アスピリンなどのCOX阻害剤の大腸がんに対する予防効果が明らかにされて以来、プロスタグランジンとがんの関連性が追究されてきたが、非ステロイド系抗炎症剤(NSAIDs, COX阻害薬)の長期服用には腸管粘膜障害や出血などの副作用があり、COX阻害薬を大腸がん予防のために常用することは推奨されていない。著者は、これまでの長い食経験により安全性が担保されており、かつ、強力なCOX-2阻害活性を示す α -ラクトアルブミンは、副作用が少なく、大腸がんの発生を抑制する機能を有するのではないかと考えた。そこで、 α -ラクトアルブミンの大腸発がん抑制効果を、アゾキシメタン(AOM)とデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)で誘発されるマウス大腸発がんモデルで検討した。その結果、 α -ラクトアルブミン添加食の給餌によって、DSS飲水時(大腸炎症時)の便潜血は軽減され、大腸がんの発生個数は有意に抑制された。また、これらのマウスの大腸では、炎症・発がん関連物質であるTNF- α 、IL-1 β の発現量は有意に減少していた。さらに、大腸発がん抑制機序を明らかにする目的で、AOM/DSS併用モデルのDSS炎症期に対する α -ラクトアルブミンの効果を検討した。その結果、DSS単独投与群よりも、AOMとDSSを併用群の血漿中および大腸ホモジネート中のプロスタグランジンE2濃度は高かった。また、 α -ラクトアルブミンの給餌によって、これらのプロスタグランジンE2濃度は減少した。これらの結果から、 α -ラクトアルブミンは大腸発がんにおけるプロモーション段階でプロスタグランジン産生を阻害することにより、大腸発がんを抑制する可能性を明らかにした。さらに、 α -ラクトアルブミンが大腸発がんにおけるプログレッションに及ぼす効果を検証する目的でAOM/DSS併用モデルのDSS炎症誘発後から α -ラクトアルブミンの給餌を開始したところ、大腸がんの発生個数は抑制されなかったが、大腸でのTNF- α 、IL-1 β の発現量は減少した。これらのことから、 α -ラクトアルブミンは、がんの進展段階(プロモーション)段階においても炎症関連物質の産生を抑制し、慢性炎症を改善することにより発がんを総合的に抑制する可能性を見出した。

以上本研究では、 α -ラクトアルブミンの新しい機能性を鎮痛、抗炎症の角度からはじめて明らかにした。本研究は、生物資源としても極めて重要な位置を占める乳タンパク質を、安全で高度な機能性を有する食品等へ応用する際に必要とされる多くの基礎的な新知見を提供しており、審査員一同、本研究の内容は博士(生物資源科学)の授与に十分値するものであると判断した。また、本研究の内容がすでに国際誌、専

門誌に公表され、インパクトのある成果として評価されていることを確認した。

以 上

平成 27 年 1 月 19 日