

平成 27 年 1 月 19 日

論文審査結果の要旨

専攻 入学年度	生物機能応用科学 平成 24 年度 (4 月) 入学	専攻	氏名	永濱 清子
論文題目	Development of food functionality evaluation system and its applications (食品機能性評価法の開発とその応用)			
審査委員 職名及び氏名	主査	教授	水光 正仁	
	副査	教授	榊原 陽一	
	副査	准教授	江藤 望	
	副査	教授	山森 一人	
	副査	准教授	山崎 正夫	
審査結果の要旨 (800字以内)				
<p>食品の多様な機能性の評価は、機能性ごとに個別の試験を実施しなければならず、多くの労力と時間を必要とする。本研究では、食品の複数の機能性を個別の測定系を用いて評価するのではなく、単一の測定系に集約し、インフォマティクスを利用して複数の評価系を統一することにより、一度に評価可能なシステムの開発を試みた。</p> <p>その結果、細胞内マーカータンパク質発現パターンからニューラルネットワークに基づいたモデルにより、5つの機能性を同時に推定可能なシステムの開発に成功した。本法の信頼性評価のため、農産品抽出物について、本法による推定値と既存法による実測値とを比較し本法の予測能力を確認したところ、すべての機能性について、既存法と同程度の数値を推定することに成功した。</p> <p>さらに、本法による食品成分のスクリーニングの結果、ブルーベリー葉 (BBL) によるヒトT細胞白血病ウイルス1型感染細胞MT2の増殖抑制効果とキンカン果皮によるナチュラルキラー (NK) 細胞賦活効果を見出した。そこで、BBLによる増殖抑制効果の活性成分の同定とその作用機序について、<i>in vitro</i>で検討を行った。その結果、プロアントシアニジンを中心とするBBLの画分は、デスレセプターを介したカスパーゼ依存経路によるアポトーシスの誘導およびcyclin B1とcdc2の発現低下に起因するG₂/M期細胞周期停止により、MT2細胞の増殖を抑制することが分かった。</p> <p>また、キンカン果皮によるNK細胞賦活効果については、<i>in vitro</i>ならびに<i>in vivo</i>による検証を行った。その結果、カロテノイドを含むアセトン画分に賦活効果を見出し、特に、β-cryptoxanthinに最も高い効果があることが分かった。さらに、このアセトン画分の効果を拘束ストレスマウスにより検証したところ、拘束ストレスにより低下したNK活性を有意に改善した。</p> <p>以上のことから、新しい食品機能性評価法は、食品の網羅的な1次スクリーニング法として極めて有効であることが明らかになった。</p> <p>本審査委員会は、以上の論文内容ならびに平成27年1月19日に開催された公聴会での発表内容および質疑に対する応答を総合的に判断して、本論文が宮崎大学大学院農学工学総合研究科博士論文として適格であり、最終試験に合格したものと判定した。</p>				

(注) 論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。

To clarify the active components responsible for the HTLV-1-infected cell growth suppression activity of BBL and the mechanism of action *in vitro*, BBL extract was fractionated into eight distinct fractions by Sephadex LH-20 column chromatography. Then, the author examined antiproliferative effect of each fraction on HTLV-1-infected cells MT2 and performed chemical analyses of the fractions. Moreover, effect of the most effective fraction on MT2 cells was analyzed by flow cytometry and Western blotting. The fraction contained highly oligomeric proanthocyanidin (OPA) with a mean degree of polymerization of 3.1. Cell growth suppression by the OPA fraction was significantly higher in all HTLV-1-infected cell lines than in MOLT-4, HTLV-1 negative T cell line. It inhibited the growth of MT2 cells by inducing caspase-dependent apoptosis through a death receptor-mediated pathway and G₂/M cell cycle arrest along with the down-regulation of cyclin B1 and cdc2. The BBL OPA fraction may be a source of novel compounds for reducing the risk of developing adult T-cell leukemia.

NK cell activation potential of KP and their constituents are not well characterized and the effect has not yet been verified *in vivo*. Therefore, the author attempted to validate the NK cell activation potential of KP *in vitro* and *in vivo*. The author first separated various fractions from KP using extraction with the pH-dependent organic solvent. Then, the effect of the KP fractions on NK cell activation was determined by the amount of IFN- γ production using human NK cell line, KHYG-1. Acetone fraction from KP (KP-AF) was found to have the strongest NK cell activation activity and the thermolability. KP has shown to contain carotenoids, essential oil, and flavonoids. Among tested seven compounds, only β -cryptoxanthin exhibited the enhancement of IFN- γ production in KHYG-1. These results suggest that the NK cell activation effects of KP-AF from kumquat may be caused by carotenoids such as β -cryptoxanthin. The author examined whether orally administered KP-AF also enhanced the NK cell activation of restraint stress mice. Oral administration of KP-AF significantly improved the suppressed NK cytotoxic activity per a splenocyte in restraint stressed mice. These results suggest that oral administration of KP-AF enhance NK cytotoxic activity of splenocyte. NK cell activation effects of KP-AF were confirmed by both *in vivo* and *in vitro*.

In conclusion, the author developed a new food functionality evaluation system. The system was helpful in clarifying the active components and the mechanism of action *in vitro*. Additionally, estimated effects by the system were confirmed by *in vivo*. Furthermore, if more food functionalities can be presumed from the expression data of the marker proteins at the same time, it will be useful as a first screening method of food constituents for various beneficial purposes.

- (注1) 論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。
(注2) フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。
(注3) 学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。
(注4) 和文又は英文とする。