

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 サファラ デイタル

論文提出者サファラ・デイタルの研究は、緑茶及びブロッコリーの熱水抽出画分に見いだされた自然免疫活性物質の精製、構造解析、並びに、精製標品によるマウス腹腔マクロファージの活性化に関するものである。

論文提出者は、自らが所属する研究室で開発された、カイコの筋肉収縮を指標とした自然免疫活性化物質の評価系に着目した(Ishii *et al.* (2008) *J.Biol.Chem.* 283, 2185)。この系では、カイコの血液内に β グルカンやペプチドグリカンのような真菌や細菌の外壁成分物質を注射すると、血液内に存在する免疫担当細胞が活性化して活性酸素種が生成される。それにより、血液内のセリンプロテアーゼが活性化され、麻痺ペプチドと呼ばれるサイトカイン様ペプチドが前駆体から切り出される。その結果、活性化麻痺ペプチドによる筋肉収縮が起きる。この系の特徴は、グラム陰性細菌の外壁構造であるLPS(リポポリサッカライド)が反応を示さないことである。大腸菌などのグラム陰性細菌は環境中に常在すること、並びに、マクロファージなどの細胞を用いた自然免疫活性化物質測定系において、LPSは極めて微量で反応する。そのため、LPSの混入は従来自然免疫活性化物質の評価を行う上で解決することが困難な問題であった。論文提出者は、カイコの筋肉収縮系を利用することにより、食品中に含まれる自然免疫活性化物質の活性を、LPSの混入の問題を無視して定量し、活性物質を精製することが可能であると考え、本研究に着手した。

論文提出者は、カイコの筋肉収縮系を用いて、種々の野菜や食品中に含まれる自然免疫活性化物質を検索した。その結果、緑茶とブロッコリーの熱水抽出液に高い活性が含まれることを見いだした。緑茶の活性物質については、エタノール沈殿並びにDEAE-セルロースカラムクロマトグラフィー、MonoQカラムクロマトグラフィーにより、比活性の上昇を指標とした精製が行われた。その結果、再クロマトグラフィーを繰り返しても、比活性が上昇せず、またクロマトグラフィーにおける、活性と酸加水分解物に含まれる糖の挙動が一致することが判明した。そこで論文提出者は、活性物質が多糖として精製されたと判断するに至った。

さらに論文提出者は、精製された画分について、酸加水分解物中の糖の分析、並びに、 ^1H 並びに ^{13}C NMRによる解析を実施し、ケミカルシフトのパターンが既にペクチンとして報告されている、 α -1,4ポリガラクトウロン酸及びそのメチルエステル体とよく一

致していることを明らかにした。さらに論文提出者は、精製標品を β グルカナーゼ処理すると活性が消失すること、並びに、この酵素処理により大部分の構造が保持されることを示唆する結果を得た。このことから論文提出者は、 β グルカナーゼ感受性の構造が活性に必要であること示唆した。

また論文提出者は、ブロッコリーの熱水抽出液中にも自然免疫促進活性があること、並びに、活性化物質がエタノール沈殿及びゲル濾過により精製されることを示した。したがって、緑茶の成分と同様、ブロッコリーの熱水抽出液中の活性化物質も、多糖であることが示唆された。

さらに論文提出者は、緑茶やブロッコリーから精製した自然免疫活性化物質がマウスの腹腔マクロファージにおけるサイトカイン IL-6 の産生を促進するかについて検討した。その結果、緑茶やブロッコリー由来の多糖は、LPS に比べると非常に比活性は低いが、自然免疫活性化を示すことを明らかにした。この結果は、カイコの自然免疫活性化物質として精製された緑茶及びブロッコリー由来の成分が、ほ乳動物の免疫系も促進することを示唆している。

以上、論文提出者の研究は、免疫学、生化学に寄与するところが多く、当審査会は、論文提出者に対して、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしい、と判定した。