

氏名(国籍)	張 培 娟 (中 国) <small>ちゃん べい じゅあん</small>		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 4717 号		
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Fucoxanthin Extraction from <i>Laminaria Japonica</i> Processing Waste and its Evaluation of Physiological Functions</b> (昆布加工廃棄物からの有用物質 (fucoxanthin) の抽出及びその生理活性評価)		
主 査	筑波大学教授	農学博士	杉 浦 則 夫
副 査	筑波大学教授	博士 (農学)	山 口 智 治
副 査	筑波大学教授	博士 (農学)	北 村 豊
副 査	筑波大学教授	博士 (農学)	張 振 亜

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

本研究では、海産物である昆布やワカメの生産や加工時に発生する廃棄物を利活用する視点から、新規健康食品素材、医薬材料、動物飼料の添加剤を開発するために、ジャポニカ昆布からフコキサンチンの省エネ的かつ高効率の抽出方法を検討した。さらに抽出したフコキサンチンの抗ガン作用について細胞レベルのバイオアッセイを行った。

まず機能性成分であるフコキサンチンのエタノール水溶液による抽出方法を検討した。とくにフコキサンチン収率に及ぼす昆布の形状、エタノール濃度や pH、乾燥温度などの影響を調べた。抽出条件を検討したところ、pH5.3、エタノール濃度 80% (v/v) の 20mL を用いて、30 分間の抽出を 3 回繰り返したところ、得られたフコキサンチンの量はエタノール水溶液として最大  $251 \pm 13\mu\text{g}$  であった。さらにフコキサンチンを粉末化するときに、乾燥温度や乾燥速度、コストなどの面を考慮すると、55%のエタノール濃度、55℃の熱風乾燥温度が最適条件であり、フコキサンチン収率は最大で 69.4%であった。

また、膀胱ガンの検査や治療には最も高い費用を必要とされ、天然物由来の抗癌機能の薬品や機能性食品の開発も注目されつつあるが、いままでフコキサンチンの膀胱ガンに対する抗ガン作用について報告例はない。そこで本研究では膀胱ガン細胞を用いてバイオアッセイを行った。フコキサンチンの生理活性を評価するため、カラムクロマトグラフィや TLC を用いてフコキサンチンの精製を行ったところ得られたフコキサンチン濃度は 97%であった。

本研究では膀胱がん細胞である EJ-1, T24 両種類の細胞を用いた。フコキサンチンによる EJ-1, T24 両種類の細胞の生存率、細胞の形態学的変化、がん細胞の DNA 断片化、FSCA 解析、caspase-3 活性の活性化などの実験データに基づき、初めてフコキサンチンは膀胱がん細胞に対する強いアポトーシス誘導効果が得られ、有効性があると確認した。フコキサンチンの EJ-1, T24 両種類の細胞に対するアポトーシス効果はフコキサンチン濃度及び暴露時間に依存し、フコキサンチン濃度  $20\mu\text{M}$ 、暴露時間 72 時間の場合、EJ-1, T24 両種類の細胞の形態学的変化や DNA 断片化が観察され、特に EJ-1, T24 両種類細胞の FACS 解析を行った結果、80%以上の細胞がアポトーシス誘導されることがわかった。また、フコキサンチンによる caspase-3

の活性が活性化されたことから、caspase-3 に依存するアポトーシスが誘導されたと考える。

上記の結果から、今後昆布やワカメ生産や加工時に発生する廃棄物を利活用し、エタノール溶液抽出物は膀胱がんの予防や治療のための機能性食品や医薬素材の開発に期待できると考える。

## 審査の結果の要旨

機能性成分であるフコキサンチンのエタノール水溶液による抽出方法を検討した。特にフコキサンチン収率に及ぼす昆布の形状、エタノール濃度や pH、乾燥温度などの影響を調べた。抽出条件を検討したところ、pH 5.3、エタノール濃度 80% (v/v) の 20mL を用いて、30 分間の抽出を 3 回繰り返したところ、得られたフコキサンチンの量はエタノール水溶液として最大  $251 \pm 13\mu\text{g}$  であった。さらにフコキサンチンを粉末化するとき、乾燥温度や乾燥速度、コストなどの面を考慮すると、55%のエタノール濃度、55℃の熱風乾燥温度が最適条件であり、フコキサンチン収率は最大で 69.4%であった。

また、膀胱がんの検査や治療には最も高い費用を必要とされ、天然物由来の抗癌機能の薬品や機能性食品の開発も注目されつつあるが、これまでにフコキサンチンの膀胱がんに対する抗がん作用について報告例はない。そこで本研究は膀胱がん細胞を用いてバイオアッセイを行った。フコキサンチンの生理活性を評価するため、カラムクロマトグラフィや TLC を用いてフコキサンチンの精製を行ったところ、得られたフコキサンチン濃度は 97%であった。

フコキサンチンによる EJ-1、T24 両種類の細胞の生存率、細胞の形態学的変化、がん細胞の DNA 断片化、FACS 解析 (フローサイトメータ解析)、caspase-3 活性の活性化などの実験データに基づき、初めてフコキサンチンは膀胱がん細胞に対し強いアポトーシス誘導効果が得られ、有効性が確認された。

以上により、昆布やワカメの生産や加工時に発生する産業廃棄物を利活用し、エタノール溶液抽出物の EJ-1、T24 両種類の膀胱がん細胞に対する効果を検討したところ強いアポトーシス誘導効果が確認され、新しい知見が得られたことからこの素材が膀胱がんの治療や防止に新しい天然物由来の機能性食品や医薬品素材の開発に寄与していることが高く評価される。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。