

氏名（本籍）	王 淋渤 （中国）
学位の種類	博 士（生物工学）
学位記番号	博 甲 第 7164 号
学位授与年月日	平成26年11月30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 Functional Food Materials Production from Food Process Waste and Its Physiological Activity Evaluation

（食品加工廃棄物から機能性食品素材の生産とその生理活性評価）

主査	筑波大学教授	博士（工学）	野村 暢彦
副査	筑波大学教授	博士（農学）	高谷 直樹
副査	筑波大学准教授	博士（工学）	橋本 義輝
副査	筑波大学教授	博士（農学）	張 振亜

論 文 の 要 旨

本研究は、農産廃棄物の利活用や再資源化の一つとして、まず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からフコキサンチンを生産し、生産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ものであり、さらに豆腐などの加工工場から発生したオカラを用いて冬虫夏草（*Cordyceps militaris*）菌糸体の固体発酵を世界で初めて試みたものである。農産廃棄物から生理活性物質を生産する手法の開発と再資源化技術の確立を目的とした。

ワカメの加工廃棄物について：*Undaria pinnatifida* は褐藻類の一つで、日本を含めアジアの国々の伝統的な食材として毎年の生産量は数百万トンである。*Undaria pinnatifida* には大量のフコキサンチンを含んでおり、人間の結腸癌、白血病細胞、前立腺癌細胞、乳癌細胞のようなくつかのヒト癌細胞に対して、フコキサンチンの抗がん活性について報告された。しかしながら、ヒト癌細胞（T24, MDA-MD-231, HT1080, U-2 OS）に対し、フコキサンチンによるアポトーシス誘導作用や抗酸化に関する研究は殆どない。ここでフコキサンチンの抗酸化作用、免疫調節作用、抗腫瘍活性について検討をした。フコキサンチンの抗酸化活性および免疫調節活性について検討した結果、フコキサンチンの抗酸化活性が、ヒドロキシルラジカル（EC50: 7.03 μ M）、鉄キレート（EC50: 30.22 μ M）で強い消去活性と還元力を示した。また、抗腫瘍と抗ガンなどの免疫調節活性については、フコキサンチンがマウス由来マクロファージ細胞（RAW264.7）の増殖を促進し、マクロファージに対するドキシソルビシン（DOX）損傷を緩和する保護効果があることが確認された。またフコキサンチンのヒト癌細胞（T24, MDA-MD-231, HT1080, U-2 OS）の増殖を抑制することが確認できた。さらに、フコキサンチンの低使用量で誘導された細胞増殖抑制作用は、G0/G1期のp21のアップレギュレーションによってCDK2、CDK4、サイクリンD1およびサイクリンEのダウンレギュレートされたことに起因すると示唆された。フコキサンチンの高い使用量に引き起こされたアポトーシスは、Hsp70/mortalinをダウンレギュレートされたことに寄与すると考えられ、そのとき、cleaved caspase-3のアップレギュレーションによって核転置への細胞質からp53をリリースしたことを確認した。

また、豆腐加工廃棄物オカラについて：近年、農産廃棄物の有効利用は、生産コスト並びに環境負荷低減の有効な手法として注目されている。豆腐、豆乳、大豆タンパク質生産の副産物であるオカラ(SCR)は、農産廃棄物として日本で毎年約70万トンも排出されている。それゆえに、農産廃棄物であるSCRを用いて、*Cordyceps militaris*の固体発酵を行い、多糖類を生産することが有効であると考えられる。そこで、多糖類の生産に着目し、発酵させたSCRから抽出した多糖類とコルジセピンの抗酸化作用、免疫調節作用、抗腫瘍活性について検討をした。その結果、SCRを*Cordyceps militaris*の固体培地として利用することができること、また、発酵したSCRは生理活性物質が豊富であり、機能的食品素材や動物の餌の添加剤として利用できることが示された。本研究で提案した多糖類生産法は、伝統的なキノコからの生産法より、廃棄物の負荷減少の面、コストの面、生産効率の面などにおいて、優れた点を示した。また、多糖類の抗酸化活性および免疫調節活性について検討した結果、*Cordyceps militaris*多糖類の抗酸化活性が、ABTSラジカル(EC50: 0.05 mg/mL)、ヒドロキシルラジカル(EC50: 0.23 mg/mL)、DPPHラジカル(EC50: 0.44mg/mL)、鉄キレート(EC50: 1.27mg/mL)、SOD(IC50:7.89 mg/mL)で強い消去活性と還元力を示した。そして、抗ガンなどの免疫調節活性については、発酵物から分離した多糖類がマウス由来マクロファージ細胞の増殖を促進し、投与量に依存して、マクロファージに対するドキシソルビシン(DOX)とリポ多糖類(LPS)による損傷を緩和する保護効果があることが実証された。また、発酵物から分離した多糖類とコルジセピンのヒト癌細胞(Hela, HT1080, A549, U-2 OS, MDA-MB-231)の増殖を抑制することが確認できた。

審 査 の 要 旨

本研究は、豆腐、豆乳、大豆タンパク質生産の副産物であり農産廃棄物として処理されることの多いオカラ(SCR)を原料とし、*Cordyceps militaris*を用いてSCRの固体発酵をして有効な多糖類を抽出することに、世界で初めて挑戦したものである。

固体発酵の最適条件を明らかにして多糖類の最適条件を確立し、高濃度で収率の高い多糖類の生産法を構築したことが示された。それに加えて、生産された多糖類の抗酸化作用、免疫調節作用、抗腫瘍活性についても明らかとした。また、*Undaria pinnatifida*からフコキサンチンを抽出し、世界初めて4種のヒト癌細胞(T24, MDA-MD-231, HT1080, U-2 OS)に対し、フコキサンチンによるアポトーシス誘導作用や抗酸化作用、免疫調節作用、抗腫瘍活性に関しての究明を行い、その有効性を確認した。

以上のように、本博士論文で、新規性の高い実用的な有用物質生産に繋がる貴重な成果が得られ、農産廃棄物の再資源化分野への応用、科学的かつ技術的助言が提供できる点が、生物工学分野においてオリジナリティに富む研究として高く評価できる。

平成26年9月16日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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