



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

牛乳カゼインを素材とした非アレルギー性IgA生産促進ペプチド素材の開発

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 張, 鳳梅 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2697

氏名(本国籍)	張鳳梅(中華人民共和国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第356号
学位授与年月日	平成17年3月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	信州大学
学位論文題目	牛乳カゼインを素材とした非アレルギー性IgA生産 促進ペプチド素材の開発
審査委員会	主査 信州大学 教授 大谷 元 副査 信州大学 教授 大島 浩二 副査 岐阜大学 教授 金丸 義敬 副査 静岡大学 教授 森 誠

論文の内容の要旨

ミルクは、哺乳類新生仔が最初に口にする食物であり、新生仔の未熟な生理機能を補うためや、栄養素の消化吸収を高めるための様々な成分を含んでいる。ミルク中の主要たんぱく質であるカゼインは、消化性に優れていることとアミノ酸バランスがよいことから、以前はアミノ酸の供給源としてのみ考えられてきた。ところが、1979年、Brantlらが牛乳カゼインの酵素消化物にオピオイド活性を見出して以来、カゼインの消化物から様々な生理活性ペプチドが分離され、現在では、カゼインは新生仔の生体を調節する上でも重要な機能を担っていると考えられるようになってきている。

牛乳カゼインの消化により生じるペプチドの中でも、最もよく研究されているペプチドにホスホセリン集中域を含むカゼインホスホペプチド(CPP)がある。CPPは、カルシウムの吸収促進を目的とした特定保健用食品素材として厚生労働省から許可されているところであるが、本学位論文の提出者が所属する研究室では、1998年に、CPPが細胞培養系で免疫グロブリンの産生を促進することを見出し、その後、CPP添加飼料でマウスやブタを飼育すると、それらの動物の腸管IgAレベルが顕著に高くなることを明らかにするとともに、ヒトでもCPPを摂取すると糞便中のIgAレベルが上昇する傾向にあることを確認している。これらのことは、CPPは感染予防食品素材として利用できる可能性を示唆するものである。ところが、牛乳アレルギー患者のIgE抗体にはカゼインのホスホセリン集中域を認識したものがあるという報告がある。このこと

は、牛乳アレルギー患者が感染防御を目的として CPP を摂取するとアレルギー症状を起こす可能性が高いことを示している。そのために、ホスホセリン集中域を認識している抗体とは反応せず、IgA 産生促進活性を有するペプチド素材の開発が望まれる。そこで、そのようなペプチドの開発を目的とした研究成果をまとめたのが張論文である。

張論文は III 編構成になっており、まず第 I 編では、牛乳カゼインの一般的な性質、粘膜免疫系の特徴、CPP の免疫調節機能が発見された経過および本研究の目的について述べている。

第 II 編は 4 章からできており、いずれの章でも研究成果について述べている。すなわち、まず第 1 章では、牛乳 α s2-カゼインの 1-32 域に相当する CPP と牛乳 β -カゼインの 1-28 域に相当する CPP を含む飼料で C3H/HeN 系マウスを 5 週間飼育し、牛乳 α s2-カゼインの 1-32 域、牛乳 β -カゼインの 1-28 域および全カゼインに対する腸管および血液中の IgG, IgM および IgA クラスの抗体応答性を調べている。それら CPP に対する抗体生産はほとんど見られないことを示すことにより、アミノ酸 30 個程度からなる CPP は、健康なヒトにおいて、IgA 産生促進素材になると考察している。一方、既に牛乳アレルギーに陥っているヒトでは CPP に対する抗体が存在することから、第 2 章では、ホスホセリン集中域を認識した抗体と化学合成した 6 種類のホスホペプチドの反応性を調べることにより、ホスホセリン集中域を認識する抗体に対するエピトープの構造解析を行なった成果を述べている。すなわち、第 2 章では、SerP-SerP-SerP という配列がホスホセリン集中域を認識した抗体との反応において不可欠な領域であり、その真ん中に位置する SerP 1 残基が他のアミノ酸に置換されたトリペプチドにはホスホセリン集中域を認識した抗体との反応性はほとんどないことを示している。先に、本論文提出者が属する研究室では、SerP-X-SerP (X は SerP 以外のアミノ酸) は IgA 産生促進活性を有することを報告している。本報告結果と第 2 章の実験結果を取り上げて、牛乳カゼインのプロテアーゼ消化により、ホスホセリン集中域との反応性は低い、IgA 産生促進活性を有するペプチド素材の開発が可能であるという仮定の下に、牛乳カゼインと 13 種類の市販の食品添加物用プロテアーゼを用いて、細胞培養系において強い IgA 産生促進活性を有するが、ホスホセリン集中域を認識した抗体との反応性のないペプチドの調製について述べたのが第 3 章である。すなわち、第 3 章では、コウジカビ由来のアルカリ性プロテアーゼ消化カゼインから調製した CPP は、従来製品化されているトリプシン消化カゼインから調製した CPP よりもおよそ 2 倍強い IgA 産生促進をもち、ホスホセリン集中域を認識した抗体との反応性は 1/100 以下に低下していることを示している。さらに第 4 章では、コウジカビ由来のアルカリ性プロテアーゼ消化カゼインから調製した CPP をマウスの飼料に添加して 35 日間与えると、その CPP を含まない飼料で飼育したマウスよりも、腸管 IgA レベルが有意に高くなることを確認している。

最後の第 III 編では、第 II 編に記述した実験結果の背景や意義について総括することにより論文を結んでいる。

マウスの飼料にカゼインホスホペプチド (CPP) を添加して与えると腸管 IgA レベルが高くなることや、ヒトがカゼインホスホペプチドを経口摂取すると糞便の IgA レベルが高くなるという報告がある一方で、牛乳アレルギー患者の IgE 抗体にはカゼインのホスホセリン集中域を認識したものがあるという報告がある。張論文は、ホスホセリン集中域を認識した抗体との反応性を持たず、IgA 産生促進活性を有するペプチド素材を牛乳カゼインの消化により調製することを目的に行った研究成果をまとめたものである。張論文の成果の中で、審査委員会は特に以下の 4 点を評価した。

- ① ホスホセリン集中域を含むアミノ酸 30 残基程度のペプチドには免疫原性はほとんどないことをマウスへの経口投与試験により示した。
- ② CPP のホスホセリン集中域を認識した抗体と化学合成した 6 種類のホスホペプチドの反応性を調べることにより、ホスホセリン集中域を認識する抗体が反応するエピトープの中心は SerP·SerP·SerP という配列であり、その中心の SerP 残基が他のアミノ酸に置換された場合はその抗体との反応性はほとんどなくなることを見出した。
- ③ 13 種類の市販の食品添加物用プロテアーゼで消化したカゼインから調製した CPP のうち、コウジカビ由来のアルカリ性プロテアーゼ消化カゼインから調製した CPP は、従来市販されているトリプシン消化カゼインから調製した CPP よりも IgA 産生促進活性はおよそ 2 倍強く、ホスホセリン集中域を認識した抗体との反応性は 1/100 以下に低下していることを示した。
- ④ コウジカビ由来のアルカリ性プロテアーゼ消化カゼインから調製した CPP は腸管 IgA レベルを有意に高くすることをマウスへの経口投与試験で明らかにした。

以上のことは、学位論文の課題とした研究が実行できたことを示すものである。このことと、以下に示すとおり基礎となる論文が整っていることに基づき、審査委員会は張論文を岐阜大学大学院連合農学研究科博士学位論文としての価値があるものと判断した。

【学位論文の基礎となる論文】

- 1) Immunogenicity and antigenicity of casein phosphopeptides
Milchwissenschaft, 58(1/2): 9-13 (2003)
Zhang, F.M. and Otani, H
- 2) Preparation of hypo-antigenic casein fragments having a stimulatory effect on IgA production in mouse spleen cell cultures
Milchwissenschaft, 60(3/4): in press (2005)
Zhang, F.M. and Otani, H