

ウシ α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用に関する研究

学位論文内容の要旨

新生哺乳動物にとって唯一の食品である乳は、栄養源としての役割だけでなく、発育を促す機能や未熟な生体防御能を補う機能も有している。また、乳は古くから滋養食品として用いられており、成人の健康にも寄与すると信じられてきた。摂取された乳は高濃度に、かつ未消化の状態で胃粘膜に接触することから、乳成分、特に多くの機能性が明らかとなっている乳たんぱく質は、胃粘膜に対して何らかの作用を示す可能性が考えられる。一方、胃粘膜は、食物由来の刺激物やストレスに対する感受性が高いため、現代社会における乱れた食生活や精神・肉体的ストレスなどから「胃の健康」を守ることは容易ではない。これらの背景を踏まえ、乳たんぱく質の胃に対する作用を検討した結果、主要な乳清たんぱく質である α -ラクトアルブミンに強い胃粘膜保護作用を見出した。本研究では、この α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用の特徴や作用機序を明らかにすることを目的として検討を行った。

α -ラクトアルブミンは、殆どの哺乳類の乳中に豊富に含まれる分子量約 14,000 のカルシウム結合性たんぱく質で、その生理的機能として乳糖合成に関与することが古くから知られてきたが、最近、アポトーシス誘導活性や細胞傷害活性、抗菌活性などの多彩な機能を示すことが報告されている。本研究では、ラット実験胃潰瘍モデルを用いて、ウシ α -ラクトアルブミンの経口投与による胃粘膜保護作用について検討を行い、本たんぱく質がヒトの胃粘膜傷害の主要な要因であるアルコールやストレス、非ステロイド性抗炎症薬によって引き起こされる胃粘膜傷害を予防することや、慢性潰瘍の治癒を促進することを明らかにした。 α -ラクトアルブミンの有効投与量は、潰瘍モデルにより異なったが、10~1,000 mg/kg の範囲にあり、抗胃潰瘍薬と比べて遜色ないレベルであった。

α -ラクトアルブミンによる潰瘍予防作用が潰瘍誘発後早期から観察されたことから、 α -ラクトアルブミンは潰瘍の発生そのものを抑制することが示唆された。胃粘膜には胃酸やペプシンなどから自身を保護するための特有の防御機構が備わっており、 α -ラクトアルブミンは潰瘍誘発に対抗できるよう事前にこの粘膜防御機構を強化するのではないかと考えられた。このことを検証するために、 α -ラクトアルブミンを投与したときに起きる胃内変化について正常ラットを用いて調べ、 α -ラクトアルブミン投与によって、プロスタグランジン E_2 量・胃粘液分泌量・胃液量が増加することや、胃運動が抑制されること、胃酸分泌には関与せずに胃液 pH が上昇することを明らかにした。また、ラット胃粘膜由来培養細胞である RGM1 細胞を用いて、 α -ラクトアルブミンのプロスタグランジン産生促進作用や、粘液ムチンの合成・分泌促進作用を確認した。これらのことから、 α -ラクトアルブミンは、①粘膜防御の中心的因子である

プロスタグランジン産生を促進し粘膜防御機構全体を活性化すること、②胃粘液分泌を促進し粘膜バリアーを強化すること、③傷害性物質を希釈しその潰瘍誘発作用を低減すること、④潰瘍誘発に伴う過剰な胃運動を抑制すること、⑤重炭酸イオン分泌を促進し胃酸を中和することが示唆された。このような粘膜防御機構の活性化は、抗胃潰瘍薬の機構と同じであり、 α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用を裏付けるものである。

また、粘膜傷害には炎症反応が関わっていることが最近の研究で明らかにされていることから、炎症マーカーの変動に対する α -ラクトアルブミンの作用について、アルコール潰瘍モデルを用いて調べた。その結果、 α -ラクトアルブミンは潰瘍形成に伴う粘膜内インターロイキン- 1β 量の増加や、好中球のマーカーであるミエロパーオキシダーゼ活性の上昇、脂質過酸化のマーカーであるチオバルビツール酸反応性基質量の増加を抑制し、一連の炎症反応を抑制することが明らかとなった。特に、炎症反応の初期のステップであるインターロイキン- 1β の産生抑制が、その後に続く好中球の粘膜内浸潤、脂質過酸化の抑制に寄与している可能性が考えられた。以上のことから、 α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用の機序として、粘膜防御機構の活性化に加え、抗炎症作用も重要な役割を果たしていると考えられた。

次に、 α -ラクトアルブミンの立体構造と胃粘膜保護作用との関係について、アルコール潰瘍モデルを用いて調べ、① α -ラクトアルブミンの抗潰瘍作用は、カルシウム結合の有無による立体構造の変化や加熱による変性、加水分解による立体構造の破壊の影響を受けないことや、②経口投与された α -ラクトアルブミンは胃内でペプチドに分解され速やかに消失すること、③ α -ラクトアルブミン加水分解ペプチドは前述の RGM1 細胞の粘液代謝を促進することを明らかにした。これらのことから、 α -ラクトアルブミンの立体構造は活性発現には必須ではなく、加水分解によって生じるペプチドが粘液代謝を促進するなどして胃粘膜保護作用を発揮すると考えられた。

α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用を臨床応用することを想定した場合、血清マーカーなどを指標とした、侵襲度の低い方法で評価することが望ましい。臨床の場では胃潰瘍特異的な血清マーカーとして、ペプシノーゲン値が用いられているため、潰瘍誘発によるラット血清ペプシノーゲン値の変動と、 α -ラクトアルブミンの血清ペプシノーゲン値に対する作用について調べた。その結果、①潰瘍の程度と血清ペプシノーゲン値は相関すること、② α -ラクトアルブミンは潰瘍誘発による血清ペプシノーゲン値の上昇を抑制することを明らかにした。これらのことから、 α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用を臨床評価する指標として、血清ペプシノーゲン値が適していることを確認した。

以上、本研究は胃粘膜保護に関わる乳成分を同定し「経口摂取された α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用の特徴や作用機序」を明らかにした。これらの成果は、「 α -ラクトアルブミンがヒト胃粘膜の保護に役立つ可能性」や「 α -ラクトアルブミンの作用を応用した胃の健康に貢献する食品の開発の可能性」、さらには「 α -ラクトアルブミンが乳中に豊富に含まれる意義の一端」を提示しており、乳の機能性に関する研究の発展に寄与するだけでなく、食品による胃粘膜の保護という新しい研究分野を拓いたものと評価される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 島 崎 敬 一

副 査 教 授 中 村 富美男

副 査 准教授 玖 村 朗 人

学 位 論 文 題 名

ウシ α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用に関する研究

本論文は序論、総括を含めて9章で構成され、図 56、表 8 を含む 164 頁からなる和文論文である。また、参考論文 3 編が添付されている。

新生哺乳動物にとって唯一の食品である乳は、栄養源としての役割だけでなく、発育を促す機能や未熟な生体防御能を補う機能も有している。摂取された乳は高濃度にかつ未消化の状態で胃粘膜に接触することから、乳成分が胃粘膜に対して何らかの作用を示す可能性が考えられた。そこで乳たんぱく質の胃に対する作用を検討したところ、乳清たんぱく質である α -ラクトアルブミンに強い胃粘膜保護作用を見出したため、その胃粘膜保護作用の特徴や作用機序を明らかにしたのが本論文である。なお、 α -ラクトアルブミンは分子量 14 kDa のカルシウム結合性たんぱく質で、乳糖合成に参与していることが知られている。

1 ラット胃潰瘍モデルに対する作用

ラット実験胃潰瘍モデルを用いて、 α -ラクトアルブミンの経口投与による胃粘膜保護作用について検討を行い、 α -ラクトアルブミンがアルコールやストレス、非ステロイド性抗炎症薬によって引き起こされる胃粘膜傷害を予防すること、および慢性潰瘍の治癒を促進することを明らかにした。 α -ラクトアルブミンの有効投与量は 10~1,000 mg/kg で、抗胃潰瘍薬と比べて遜色ないレベルであった。

2 胃粘膜防御機構の活性化と抗炎症作用

α -ラクトアルブミン投与時の胃内変化について正常ラットを用いて調べ、プロスタグランジン E2 量・胃粘液分泌量・胃液量などが増加すること、胃運動を抑制すること、胃酸分泌には関与せずに胃液 pH が上昇することを明らかにした。さらにラット胃粘膜由来培養細胞である RGM1 細胞を用いて、プロスタグランジン産生促進作用や、粘液ムチンの合成・分泌促進作用も確認した。これらのことから、 α -ラクトアルブミンには、①プロスタグランジン産生促進による粘膜防御機構全体の活性化、②胃粘液分泌促進による粘膜バリアーの強化、③傷害性物質希釈による潰瘍誘発作用の低減、④潰瘍誘発に伴う過剰な胃運動の抑制、⑤重炭酸イオン分泌促進による胃酸の中和、などの作用

をもつことが確認され、 α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用を裏付けた。さらに炎症マーカーの変動に対する α -ラクトアルブミンの作用についてラットアルコール潰瘍モデルを用いて調べた結果、潰瘍形成に伴う粘膜内インターロイキン- 1β 量、好中球マーカーであるミエロパーオキシダーゼ活性、脂質過酸化マーカーであるチオバルビツール酸反応性基質量などの増加を抑制し、一連の炎症反応を抑制することも明らかにした。特に、炎症反応初期段階でのインターロイキン- 1β 産生抑制が、その後に続く好中球の粘膜内浸潤、脂質過酸化の抑制に寄与している可能性が考えられ、 α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用の機序として、粘膜防御機構の活性化に加え、抗炎症作用も重要と考えられた。

3 α -ラクトアルブミンの立体構造と胃粘膜保護作用との関係

アルコール潰瘍モデルを用いた実験により、① α -ラクトアルブミンへのカルシウム結合の有無による立体構造の変化や、加熱による変性さらに加水分解による立体構造破壊は本効果に影響を与えない、②経口投与された α -ラクトアルブミンは胃内でペプチドに分解され速やかに消失する、③ α -ラクトアルブミン加水分解ペプチドはRGM1細胞の粘液代謝を促進することを明らかにした。これらのことから、 α -ラクトアルブミンの立体構造は活性発現には必須ではなく、加水分解によって生じるペプチドが粘液代謝を促進するなどして胃粘膜保護作用を発揮すると考えられた。

4 胃粘膜保護作用のための評価指標の提示

α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用を臨床応用する場合の指標として、ペプシノーゲン値を用いる可能性を調べた。これは胃潰瘍特異的な血清マーカーとして用いられているものである。その結果、潰瘍の程度と血清ペプシノーゲン値は相関し、かつ α -ラクトアルブミンが潰瘍誘発による血清ペプシノーゲン値の上昇を抑制することを明らかにした。これらのことから、 α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用を臨床評価するうえでの指標として、血清ペプシノーゲン値が適していることを提示した。

以上の研究によって、経口摂取された α -ラクトアルブミンの胃粘膜保護作用の特徴および作用機序が明らかになった。これらの成果は、 α -ラクトアルブミンが乳中に豊富に含まれる意義の一端を提示し、乳の機能性に関する研究の発展に寄与するだけでなく、食品による胃粘膜の保護という新しい研究分野をも拓いたものと期待される。よって、審査員一同は、牛田吉彦が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。