

審査の結果の要旨

氏名 黒田 玲子

日本の総人口は年々減少している一方、高齢者の人口は増え続けており、2020年総務省発表によると、65歳以上の割合は過去最高の28.7%を記録した。それに伴う医療費の増大を抑えるためには、運動を積極的に行う、禁煙するといった予防医学の考え方を推進することが肝要であり、特定保健用食品や機能性表示食品といった食品をはじめとする「食」が寄与するところは大きい。本論文は、「食」の観点から人々の健康を維持する方法に関して、感染症などの外的要因の防御と、免疫機能の低下といった内的要因の改善という、2つのアプローチにより研究を行ったものである。

第1章の序論に続き、第2章では、毎年のように流行するインフルエンザに注目し、感染防御に寄与しうる機能性食品素材の探索を行っている。候補となる126種の天然植物抽出物の中から、インフルエンザウイルス感染阻害効果が高い植物として見出されたカリン(*Chaenomeles sinensis*)の50%エタノール抽出物(CSE50)について、その阻害メカニズムを検討した。MDCK (Mardin-Darby canine kidney)細胞を用いた感染中和効果試験において、インフルエンザウイルス3株(A/Udorn/307/72、A/Chiba/1001/2009(H1N1)pdm、B/Johannesburg/5/99)に対するCSE50の感染阻害効果を確認し、この抽出物がウイルスの型によらず有効である可能性を示している。続いて、マウスへのインフルエンザウイルス感染に対して、CSE50を異なるタイミングで投与し、予防効果・治療効果・感染阻害効果について検証している。その結果、感染阻害効果のみが確認されたことから、CSE50をウイルスに直接作用させることが重要であると結論している。さらに、CSE50を分画し、効果が高かった画分CSD3について成分分析を行い、その主成分がエピカテキンを主体とした高分子ポリフェノールであることを明らかにしている。

第3章では、ウイルス増殖過程の各段階における阻害活性とMDCK細胞への感染阻害活性を比較することでCSD3の感染阻害メカニズムを解明することに取り組み、阻害活性は投与するCSD3の濃度により2相に分かれることを示している。第I相であるCSD3濃度0.5 µg/ml以下においては、Hemagglutination (HA)活性の減少とMDCK細胞への感染性の減少は同程度であり、CSD3による感染阻害効果はウイルスの細胞への吸着阻害が主な要因であることを示している。一方、CSD3濃度0.5 µg/ml以上の第II相においては、HA活性およびHemolysis活性の減少と比較して、MDCK細胞への感染性は大きく減少していることが確認された。一次

転写された mRNA 量は、CSD3 処理によって細胞への感染性と同程度減少したことから、第 II 相では、CSD3 の作用によってウイルスの膜融合から一次転写までの段階において何らかの欠陥が生じていることが示唆された。電子顕微鏡による観察において、CSD3 処理によってウイルスエンベロープ膜が損傷を受ける様子が示されたことから、損傷により膜融合以降の段階の阻害を引き起こしている可能性があると考えられている。

第 4 章では、機能性食品摂取がもたらす免疫賦活効果の検証を行っている。具体的には、乳酸菌 *Leuconostoc mesenteroides* NTM048 ($> 1.0 \times 10^9$ CFU/日) 含有チョコレートについて、免疫力が低下している成人健常者を対象にした無作為化二重盲検並行群間比較試験を実施している。本試験においては、被験者の T 細胞数や B 細胞数など主要な免疫パラメーター 8 項目についてスコア化し、総合的な免疫機能の状態として数値化した免疫カスコアを基準として免疫賦活効果を判定した。その結果、NTM048 含有チョコレートの 4 週間摂取により、対照群と比較して CD8⁺ T 細胞数の増加や CD8⁺CD28⁺ T 細胞数といった T 細胞系免疫の亢進が確認され、免疫カスコアが有意に上昇することが確認された。

第 5 章では、本論文で示されたカリンのインフルエンザウイルス感染阻害効果と NTM048 配合チョコレートの免疫賦活効果について総合的に考察し、これらに関する課題及び今後の展望を述べて、本研究を総括している。

これらの研究成果は、機能性食品として適用しうるカリン抽出物のインフルエンザウイルスに対する感染阻害効果や NTM048 配合チョコレートの免疫賦活効果の可能性を示し、今後の展望と課題を提示するものであり、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって本論文は博士（農学）の学位請求論文として合格と認められる。