九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Study on the analytical evaluation of immunoactive sulfated polysaccharides by ligand-assisted nuclear magnetic resonance spectroscopy

朴, 俊夏

https://hdl.handle.net/2324/4496111

出版情報：Kyushu University, 2021, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：

（様式６－２）

氏　　名	朴　俊夏（バク　ジュンハ）
論　文　名	Study on the analytical evaluation of immunoactive sulfated polysaccharides by ligand-assisted nuclear magnetic resonance spectroscopy（リガンド支援型核磁気共鳴法による免疫賦活活性を持つ硫酸化多糖の分析評価に関する研究）
論文調査委員	主　査　　九州大学　　教授　　松井　利郎 副　査　　九州大学　　准教授　宮﨑　義之 副　査　　九州大学　　准教授　沖野　望

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

本論文は、海藻由来の天然硫酸化多糖類であるフコイダンの免疫増強効果およびβ-glucan との相乗効果を解明するとともに、硫酸化多糖類中の硫酸基量測定のための新たな分析法の構築を目的としている。

まず、マクロファージ様細胞株 RAW264 において、オキナワモズク（*Cladosiphon okamuranus*）由来フコイダンとザイモザン（*Saccharomyces cerevisiae* 細胞壁由来β-glucan）の同時添加によって一酸化窒素および腫瘍壊死因子αの産生量が個別添加と比べて有意に増加することを示している。また、蛍光標識フコイダンが RAW264 細胞の細胞膜表面上に存在していることが観察され、マクロファージの活性化を導くフコイダン受容体の存在を示唆している。一方、脂質ラフトを崩壊させた RAW264 細胞ではフコイダンとザイモザンの併用効果が減弱すること、さらにβ-glucan 受容体である dectin-1 の発現を抑制することによってフコイダンとの併用効果が消失することを示している。以上のことから、フコイダンは dectin-1 とは異なる細胞膜受容体に作用してマクロファージを活性化させていると推察するに至っている。

次いで、硫酸化多糖類中の硫酸基量を測定するために、非破壊的な状態分析が可能な核磁気共鳴（NMR）法の適用を図っている。強酸性解離基である硫酸基とのイオン的相互作用に基づくリガンド分子の ^{1}H-NMR 化学シフト変化をもとに、候補化合物から imidazole を最適リガンド分子として選定している。Neocarrabiose-4-*O*-sulfate をモデル硫酸化糖として imidazole との化学シフト変化を求めたところ、硫酸基との混合モル比が 1 を超えると、imidazole プロトンシグナルは高磁場シフトしたことから、imidazole 分子は硫酸化糖類の硫酸基と 1:1 の複合体を形成していること、化学シフト変化が起こる imidazole 濃度が硫酸基量に相当することを明らかにしている。市販のヒバマタ（*Fucus vesiculosus*）由来フコイダン標品および 20 種類の海藻から抽出した硫酸化多糖類を用いて本法の妥当性を検討したところ、従来法である barium-rhodizonate 法と一致する結果を得ている。以上のことから、imidazole を複合体形成のためのリガンド分子とする ^{1}H-NMR 法は、多糖類の構造および組成に影響されることなく迅速かつ簡便に硫酸基量を測定できる分析法であると結論付けている。

以上要するに、 本研究は、海藻由来の天然硫酸化多糖類の一種であるフコイダンとβ-glucan の併用による免疫増強効果を初めて明らかにし、さらに硫酸化多糖類が生理機能を発揮するための構造要件である硫酸基について ^{1}H-NMR 法による非破壊的定量法を新たに構築したものであり、食品分析学および食品機能学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。