

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	太田 知志
論文題目	Studies on intestinal absorption and skin-improving effects of dietary sphingolipids (スフィンゴ脂質の消化管吸収と皮膚改善効果に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>スフィンゴ脂質は長鎖アミノアルコールのスフィンゴイド塩基を共通の構成要素として含む脂質群の総称であり、真核生物では生体膜を形成する主要な脂質成分として普遍的に存在する。一方で、スフィンゴイド塩基の化学構造については、生物種によって極めて多様であることも知られている。スフィンゴ脂質は、日常的に摂取されている食品成分であるにもかかわらず、体内で合成され、欠乏症状も確認されていないことから、栄養学的には重要視されてこなかった。近年、スフィンゴ脂質の摂取による大腸がん予防効果や脂質異常症の改善効果、皮膚改善効果が見出されてきており、その食品機能性が注目されてきているが、消化管吸収や代謝、体内分布などの生体利用特性についての知見は十分には得られていない。このような背景のもと、本論文は、経口摂取されたスフィンゴ脂質の消化管吸収機構と血中動態、さらに皮膚への影響を解明し、スフィンゴ脂質の食品機能性の理解につなげることを目的としたものである。本論文の内容は以下のように要約される。</p>			
1. これまでに遊離セラミドの消化管吸収については評価されていなかった。本論文では、新たに開発された醤油粕から調製された遊離セラミド(醤油粕由来セラミド)を用いて、スフィンゴ脂質の消化管吸収について調べ、コメ由来グルコシルセラミドと比較した。マウスに醤油粕由来セラミドまたはコメ由来グルコシルセラミドを単回経口投与したところ、投与したものと同一化学構造のセラミドやグルコシルセラミドが、経口投与後の血漿から検出された。さらに、コメ由来グルコシルセラミド投与後の血漿から分解物と考えられるセラミドが検出された。以上の結果から、経口投与したセラミドおよびグルコシルセラミドの一部は、消化されずに直接吸収される可能性が示された。			
2. これまでにグルコシルセラミドやスフィンゴミエリンなどのスフィンゴ脂質の経口摂取による皮膚バリア機能改善効果が確認されている。そこで新規素材として食品分野での有効活用が期待される醤油粕由来セラミドについて、ヘアレスマウスの皮膚への影響を評価し、皮膚バリア機能改善効果が報告されているトウモロコシ由来グルコシルセラミドと比較した。0.1% 醤油粕由来セラミドまたは0.1%トウモロコシ由来グルコシルセラミド配合食をヘアレスマウスに 2 週間自由摂食させ、経皮水分蒸散量、角層水分量、粘弾性などの皮膚性状を測定した。その結果、醤油粕由来セラミド摂取群の経皮水分蒸散量がコントロール群に比べて有意に低下し、皮膚バリア機能の向上が確認された。この効果は、トウモロコシ由来グルコシルセラミド摂取群と比較して同等以上であった。また、醤油粕由来セラミド摂取群では、皮膚におけるセラミド合成酵素4 やインボルクリンの mRNA 発現量が有意に減少した。表皮に含まれるセラミド量については、一部の分子種で有意な増加が認められたが、摂取したスフィンゴ脂質に由来するセラミド分子種は検出されなかった。以上の結果から、醤油粕由来セラミドの経口摂取による皮膚バリア機能向上作用が示され、間接的な作用メカニズムで効果を発揮することが示唆された。			
3. ヒトにおけるコメ由来グルコシルセラミドの吸収について調べるために、経口投与したヒト血清に含まれるスフィンゴ脂質の経時変化について評価した。被験者 7 名(男性、20~59 歳)を対象に、1.8 mgまたは150 mgのコメ由来グルコシルセラミ			

ドを経口投与し、摂取前および摂取30～360分後の血清に含まれるスフィンゴ脂質を定量分析した。摂取後の血清から、摂取したのと同じ化学構造のグルコシルセラミドは検出されなかったが、炭素鎖長22未満の脂肪酸から構成されるモノヘキソシルセラミド分子種が、摂取後に有意な増加を示した。さらに鎖長22以上の脂肪酸から構成されるセラミド分子種が摂取後に有意な減少を示した。また、180 mg投与の場合、スフィンゴシン-1リン酸およびスフィンガジエニン-1リン酸が有意に増加した。以上の結果から、経口摂取されたグルコシルセラミドは消化および代謝されることで、スフィンガジエニン-1リン酸として血中に移行する可能性が示唆された。また、グルコシルセラミド摂取によって、内因性スフィンゴ脂質代謝が変動する可能性が示された。

4. 食品成分として、消化管で生じるいくつかの遊離スフィンゴイド塩基に注目し、腸管上皮細胞におけるスフィンゴイド塩基と相互作用を示すタンパク質分子を探索した。スフィンゴシン、フィトスフィンゴシン、スフィンガジエニンをそれぞれ固定化した磁性ナノビーズを調製し、腸管上皮様に分化させたCaco-2細胞の破碎液からスフィンゴイド塩基との結合を示すタンパク質を分離した。得られたタンパク質については、スフィンゴイド塩基の構造による違いは認められなかった。MALDI-MS を用いて得られたタンパク質分子を同定したところ、オリゴ糖転移酵素複合体サブユニットのリボホリン1や、ミトコンドリア膜タンパク質などの複数のタンパク質が見出された。さらに、ウエスタンブロットイング法によって、得られたタンパク質の同定が正しいことを確認した。

以上のように、本論文は食品成分としてのスフィンゴ脂質の消化管吸収と皮膚に対する効果に関する新たな知見と、スフィンゴイド塩基の生理的な意義と生体内での作用メカニズムに関わると考えられる候補分子を見出したものであり、今後のスフィンゴ脂質研究に大きく貢献するものといえる。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

スフィンゴ脂質は、農水畜産物から日常的に摂取されているにもかかわらず、食品成分としての知見は十分ではない。さらに、生物種によって多彩な化学構造が存在するにもかかわらず、その違いに踏み込んだ評価も少ない。本論文では、新たに開発された醤油粕由来セラミド(遊離セラミド)を被験試料の一つとして活用し、食品成分としてのスフィンゴ脂質について、その食品機能性や消化管吸収特性に関する新たな知見を示したものである。成果として評価できる点は以下の通りである。

1. マウスを用いた評価により、経口摂取された遊離セラミドは、これまでの通説とは異なり、一部は消化を受けずに分子構造を維持したまま吸収される可能性を示した。
2. 遊離セラミドの食品機能性として、皮膚バリア機能向上作用を初めて見出した。これまでに同様の効果が見られているグルコシルセラミドと比較して、その効果は同等以上であることを確認した。
3. コメ由来グルコシルセラミドをヒトに経口投与しても、投与した分子種は血清からは検出されず、代謝物と考えられるリン酸化物が増加することを明らかにした。
4. スフィンゴイド塩基に結合するタンパク質の探索を行い、新たな候補分子を見出した。

以上のように、本論文は、スフィンゴ脂質の食品機能性や消化管吸収特性に関する新たな知見を見出したものであり、今後の研究の進展と用途開発への道を開くものといえ、海洋生物生産利用学、食品機能学、脂質栄養学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和4年2月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)