

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	岡部 由美
論文題目	Studies on the bioactivities of lignins from woody biomass (木質バイオマス由来リグニンの生理活性に関する研究)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>木材や草本などのリグノセルロース系バイオマスは、賦存量の多さや食糧との非競争性などからバイオリファイナリー構築において最も期待される資源である。本研究では、リグノセルロース系バイオマスの高付加価値化によるバイオリファイナリーへの寄与やヒトの健康維持への貢献を目指し、木質バイオマスから生理活性物質を創出することを目的とした。生理活性は、現在、医学・医療の分野で大きな課題となっている①抗薬剤・多剤耐性菌活性、②抗新型コロナウイルス活性、③免疫調節活性に焦点に当て、マイクロ波ソルボリシス(加溶媒分解)による木質バイオマス分解物を中心に、木材の摩砕物から得られる抽出リグニンやパルプ廃液から得られる工業リグニンを含めて、これらの生理活性をもつリグノセルロース由来物質の探索と評価研究を行った。</p> <p>第1章では、木質バイオマスからの抗薬剤耐性・多剤耐性菌活性を有する物質の創出を目指した。既存の抗生物質に耐性を持つ菌に対する感染防御や感染症の治療法として、新しい作用機序を持つ化合物を探索し、生活環境の中であらかじめ病原菌を排除し、抗生物質の使用を最適化することが重要であると考えられている。</p> <p>本章では、脱脂スギ木粉を、2% 硫酸水溶液、エチレングリコール、トルエンの混合溶媒中でマイクロ波分解後、トルエン、酢酸エチル、エタノールで分画し、3つの画分(jTE, jEAE, jEE)を得た。この画分に加えて、摩砕木材からの抽出リグニンであるスギの milled wood lignin (MWL) 及び工業リグニンであるリグニンスルホン酸ナトリウムを生理活性試験に供試し、8種9株のバクテリア、および1種の真菌の生育阻害活性を評価した。その結果、抗菌活性をもつ候補画分として jEAE を、病原菌として <i>Streptococcus pneumoniae</i> (肺炎球菌) と <i>Streptococcus pyogenes</i> (化膿レンサ球菌) を選抜した。</p> <p>選抜した jEAE の抗菌活性を精査し、肺炎球菌の薬剤耐性株(セファロsporin・ペニシリン耐性株) および多剤耐性株(エリスロマイシン・ペニシリン・テトラサイクリン耐性株) に対し、98.5%以上(0.4 mg/mL, 1 h処理)の高い生育阻害活性を示すことを明らかにした。jEAE の化学構造は、熱分解 GC-MS、¹H-¹³C edited-HSQC NMR、³¹P NMR により解析し、jEAE が天然型リグニンのフェニルプロパンユニット間結合の切断されたソルボリシスリグニンであることを明らかにした。jEAE は、MWLよりも高い活性を示したことから、マイクロ波分解によるリグニンの構造変化により、高い抗薬剤・多剤耐性菌活性が獲得されることを見出した。</p> <p>2019年から続いた新型コロナウイルスのパンデミックは、人々の健康や社会生活に深刻な影響を与え、感染に対する注意が依然として必要な状況が続いている。第2章では、リグノセルロース系バイオマスが新型コロナウイルスに対する抗ウイルス物質創出の有用な資源になり得るかを評価することを目的とした。</p> <p>脱脂ユーカリグロビュラス及び脱脂スギ木粉のマイクロ波分解産物6画分、ユーカリグロビュラス及びスギの MWL、リグニンスルホン酸ナトリウムの抗新型コロナウイルス活性を median tissue culture infectious dose (TCID₅₀) アッセイにより評価し</p>			

た結果、最も高い抗ウイルス活性を示す画分として、ユーカリのマイクロ波分解産物由来の eEAE を選抜した。このため、eEAE を各種溶媒に対する溶解度の差によりさらに4つ画分に分画し、最も高い感染阻害率を示す画分 eEAE3 を分離した。eEAE3を熱分解 GC-MS、¹H-¹³C edited-HSQC NMRにより構造解析した結果、eEAE3 は、天然型リグニンのフェニルプロパンユニット間結合が切断されたソルボリシスリグニンであることを明らかにした。

ヒト免疫システムは、炎症性サイトカイン、抗炎症性サイトカインのバランスによって制御されており、恒常性の維持、感染防除という重要な役割を果たしている。第3章では、細胞間の免疫調節の情報伝達を担うタンパク質であるサイトカインの誘導活性を評価することにより、リグノセルロース由来物質の免疫調節能を明らかにすることを目的とした。

本章では、マウスのマクロファージ様 RAW264 細胞を、脱脂ユーカリグロビュラス及び脱脂スギ木粉のマイクロ波分解産物、ユーカリグロビュラスとスギの MWL、リグニンスルホン酸ナトリウムで刺激した際の、炎症性サイトカイン IL-1 β 、IL-6、TNF- α の発現変化を qPCR により評価した。その結果、刺激物質であるグラム陰性菌由来のリポポリサッカライド (LPS) による刺激と比べると、各種リグノセルロース由来試料による RAW264細胞への刺激は、これらの炎症性サイトカインの大きな発現変化を引き起こさないことが明らかとなった。

次に、細菌感染モデル実験系として、あらかじめリグノセルロース由来試料でプレ刺激を与えた RAW264 細胞に、LPS で刺激を与える評価実験を行った。IL-1 β 、IL-6、TNF- α に加え、細菌感染時の自然免疫に関わる IL-17A、IL-23A および G-CSF の発現応答性の評価を試みた。その結果、複数のリグノセルロース由来試料によるプレ刺激が IL-6 および IL-23A の発現上昇を誘導することを見出した。炎症性サイトカイン誘導活性を示したマイクロ波分解産物由来試料は、構造解析により、天然型リグニンのフェニルプロパンユニット間結合が切断されたソルボリシスリグニンが主成分であることを明らかにした。

以上のように、木質バイオマスのマイクロ波分解産物が、抗薬剤耐性・多剤耐性菌活性、抗新型コロナウイルス活性、免疫調節活性という医学・医療分野において重要な生理活性を示すことを明らかにした。また、マイクロ波分解産物の主成分が、天然型リグニンのフェニルプロパンユニット間の主要結合が開裂したソルボリシスリグニンであることを明らかにした。マイクロ波分解産物のみならず、摩砕木粉からの抽出リグニンである MWLも生理活性物質としてのポテンシャルを持つことが示唆された。

以上のように、本研究により木質バイオマス由来のリグニンが生理活性物質創出における有用資源となり、リグニンの化学構造が、生理活性の鍵因子となることを見出された。

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)

本研究では、リグノセルロース系バイオマスの高付加価値化によるバイオリファイナリーへの寄与やヒトの健康維持への貢献を目指し、医学・医療分野で注目されている①抗薬剤・多剤耐性菌活性、②抗新型コロナウイルス活性、③免疫調節活性をもつリグニンを、木質バイオマスのマイクロ波分解などにより創出した。評価する点は以下の通りである。

1. 硫酸を触媒としたエチレングリコール水溶液中でスギ材をマイクロ波分解することにより、肺炎球菌の薬剤耐性株および多剤耐性株に対し、高い生育阻害活性を示すソルボリシスリグニンを分離した。この画分は、天然型リグニンに近い構造をもつとされる **milled wood lignin (MWL)** よりも高い肺炎球菌の生育阻害活性を示したことから、マイクロ波分解によるリグニンの構造の変化により高い抗薬剤・多剤耐性菌活性が獲得されることを明らかにした。
2. スギおよびユーカリ材のマイクロ波ソルボリシス分解物から抗新型コロナウイルス活性をもつ物質の探索を行い、ユーカリグロビュラスの分解物から高い抗ウイルス活性をもつソルボリシスリグニンを分離した。
3. リグノセルロース系バイオマスからの免疫調節活性物質創出を目的とし、ユーカリグロビュラス及びスギ木粉のマイクロ波分解産物や MWL、リグニンスルホン酸ナトリウムでマウスのマクロファージ様細胞 RAW264 を刺激した際の、炎症性サイトカインの発現変化を解析した。その結果、グラム陰性菌由来のリポポリサッカライド (LPS) の刺激に先立ち、複数のリグニン由来物質により RAW264 細胞を刺激すると、炎症性サイトカインである IL-6 および IL-23A の発現が誘導されることを見出した。

以上のように、本研究は、木質バイオマス由来のリグニンが、医学・医療の分野で重要な生理活性を示すとともに、リグニンの化学構造が、生理活性の鍵因子となることを見出したもので、バイオマス変換学、生理活性化学、感染防御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6年1月24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。

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）