

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	Neng Tanty Sofyana
論文題目	Studies on novel food functions of microbial metabolites and constituents (微生物の代謝産物と成分の新規食品機能性に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
微生物を用いた物質生産技術は様々な産業分野において応用されており、古くから発酵食品の製造にも用いられている。近年、腸内細菌と健康の関連が指摘されており、ヒトマイクロバイオームの健康維持や疾病予防に対する役割が精力的に研究されている。また、乳酸菌が代謝変換して生じる脂肪酸代謝物の機能性も明らかにされつつある。一部の乳酸菌が、不飽和脂肪酸を水和反応によって代謝変換し、水酸化やオキシ化した脂肪酸代謝物を産生することが見出されている。これらの脂肪酸代謝物は、発酵食品にも含まれ、腸内細菌によっても産生されることから、健康機能への関わりが注目されており、実際に様々な疾病の予防や改善に対する有効性も示されている。加えて、これらの脂肪酸代謝物を産業的に製造する技術も確立されてきており、さらなる健康機能の解明が望まれている。また、水圏微生物である微細藻類についても有用物質の効率的な生産への利用が大いに期待されており、様々な検討がなされている。加えて、直接的な食品原料としても微細藻類が注目されており、ユーグレナ藻などの一部は実用化されている。このような微細藻類の健康機能については様々な報告がなされているが、微細藻類に特有の成分に注目した研究は少ない。ユーグレナ藻には、特徴的なカロテノイド（ジアトキサンチン）が含まれているため、その健康機能にも興味をもたれる。このような背景のもと、本論文は、乳酸菌による脂肪酸代謝物と、ユーグレナ藻に含まれる特徴的な成分に着目して、それらの新規食品機能性を評価し、作用メカニズムを明らかにすることで、微生物資源のさらなる有効利用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。			
1. 乳酸菌 (<i>Lactobacillus plantarum</i> AKU1009a) による不飽和脂肪酸の水和反応によって生じるオキシ化脂肪酸代謝物 (KetoAおよびKetoC) に注目し、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に与える影響を評価した。NASHモデルマウス (STAMマウス) に対して、0.1%のKetoAまたはKetoCを含む高脂肪食を3週間継続摂取させたところ、高脂肪食のみを摂取させたものと比べて、肝臓の脂質組成には変化がなかったものの、脂質合成に関わるSREBP-1cのmRNA発現が低下する傾向を示した。また、抗酸化に関わる酵素のmRNA発現の上昇や炎症に関わるTNFαのmRNA発現の低下も確認された。さらにNASHの指標として、肝臓の繊維化やBallooningなどが抑制される傾向を示した。以上の結果から、乳酸菌によるオキシ化脂肪酸代謝物の新規機能性として、非アルコール性脂肪性肝炎の進行を抑制する可能性が見出された。このとき、KetoCの摂取により、血中HDL-コレステロール濃度が有意に上昇することも確認した。			
2. 乳酸菌による脂肪酸代謝物がHDL-コレステロールに与える影響に注目して、培養細胞を用いた検討を行った。ヒト肝臓由来HepG2細胞に対して、KetoAおよびKetoCは細胞外へのアポリポタンパク質A-I（アポA-I）の分泌を有意に促進した。KetoCは、アポA-IのmRNA発現も有意に上昇させた。一方、ヒト小腸上皮様Caco-2細胞においては、同様の効果は確認されなかった。また、海産物に多く含まれるエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸およびそれらの水酸化脂肪酸代謝物は促進効果を示さなかった。以上の結果から、KetoC摂取による血中HDL-コレステロール濃度上昇作用は、オキシ化脂肪酸代謝物に特有な効果であり、その作用メカニズムには、肝臓におけるアポA-Iの産生と分泌の促進が関わることが示された。			

3. ユーグレナ藻に特有な成分の新規食品機能性を評価するために、カロテノイド画分（主成分としてジアトキサンチンを含む）と熱水抽出物について、高脂肪食マウスに与える影響を評価した。熱水抽出物の摂取により、通常食に比べて脂肪組織重量の有意な増加が認められた。血漿の脂質組成および肝機能マーカーについては、有意な変動は認められなかったが、高脂肪食によって上昇した血糖値に対して、カロテノイド画分の摂取による有意な抑制効果が認められた。体重や脂肪組織重量に有意な差は認められなかったことから、高血糖を抑制する作用は肥満抑制によるものではなく、別のメカニズムによるものと考えられた。また、肝臓のSREBP-1cと脂肪酸合成酵素のmRNA発現は高脂肪食によって、通常食に比べて有意な増加を示したが、カロテノイド画分および熱水抽出物の摂取によって、有意な抑制もしくは抑制傾向を示した。さらにカロテノイド画分を摂取したマウスの脂肪組織と肝臓から、ジアトキサンチンが検出されたことから、経口摂取されたジアトキサンチンは体内に蓄積されることが初めて確認された。以上の結果から、ユーグレナ藻に含まれる特徴的なカロテノイドであるジアトキサンチンについて、新規機能性食品成分としての可能性が示された。

以上のように本論文によって、乳酸菌によるオキシ化脂肪酸代謝物の新規食品機能性として、NASHに対する予防効果の可能性が示された。なかでもKetoCは動脈硬化発症のリスクを低減すると考えられているHDL-コレステロールの血漿濃度を上昇させ、そのメカニズムとして肝臓におけるアポA-I産生と分泌を促進することが初めて明らかとなった。また、微細藻類であるユーグレナ藻のカロテノイド画分は、高脂肪食によって誘発される高血糖を抑制することが見出され、有効成分と考えられるジアトキサンチンが、経口摂取により肝臓や脂肪組織に蓄積することを初めて確認した。このように本論文の成果から微生物による代謝変換や生合成によって生じる成分の新たな食品機能性が示された。これらの成果は、微生物の代謝産物や成分に関する更なる研究の発展に寄与するものである。

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。

(論文審査の結果の要旨)

人類は古くから発酵食品などの形で微生物を有効利用してきている。近年、腸内細菌と健康の関連が注目されており、ヒトマイクロバイオームの重要性に関する研究が精力的に進められている。しかしながら、微生物に含まれている成分や代謝産物について、それらの健康機能には不明な点が未だ多く残されている。本論文は乳酸菌による脂肪酸代謝物と微細藻類であるユーグレナ藻に含まれるカロテノイドに着目した評価を進め、その新規食品機能性と作用メカニズムの一端を明らかにすることで、これらの有効活用の可能性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. 乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum* AKU1009a) による不飽和脂肪酸の水和反応によって生じるオキシ化脂肪酸代謝物の経口摂取が非アルコール性脂肪性肝炎に対して抑制的に働くことをモデルマウスを用いて明らかにした。
2. 培養細胞を用いた評価によって、乳酸菌によるオキシ化脂肪酸代謝物がアポリポタンパク質A-Iの産生と分泌を促進することを明らかにした。また、この作用は小腸上皮細胞ではなく、肝臓細胞に対するものであることを示した。
3. ユーグレナ藻に含まれる機能性成分の評価を行い、ユーグレナ藻に特徴的なジアトキサンチンを含むカロテノイド画分が高脂肪食によって誘導される高血糖を改善することを初めて見出した。

以上のように、本論文は、微生物の代謝産物と成分の新たな食品機能性を見出したものであり、今後の用途開発への道を開くものといえ、海洋生物生産利用学、応用微生物学、食品機能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2年3月16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)