

2019年01月21日

## 「博士学位請求論文」審査報告書

審査委員 (主査) 農学部 専任准教授

氏名 浅沼成人 (印)

(副査) 農学部 専任教授

氏名 浜本牧子 (印)

(副査) 農学部 専任教授

氏名 渡辺寛人 (印)

1 論文提出者 川田 実生

2 論文題名 「新規腸内細菌の経口投与による食事性植物スフィンゴ脂質の利用の増強」  
(Augmentation of dietary plant glucosylceramide utilization by administration of newly isolated intestinal bacterium)

## 3 論文の構成

本論文は、次のような3章から成る。

第1章. グルコシルセラミドの水解能を有する新菌 *Glucerbacter canisensis* gen. nov., sp. nov. の単離とイヌの消化管におけるその存在数

第2章. *Glucerbacter canisensis* がイヌの大腸内で増殖するためのアミノ酸源およびエネルギー源としてのイヌ糞の評価

第3章. *Glucerbacter canisensis* のプロバイオティクス利用による食餌性グルコシルセラミドの水解の増強

## 4 論文の概要

セラミドは、大腸癌や炎症性腸疾患への予防・治療効果が期待される生理活性物質である。現在、一般的にはセラミドの代わりに植物から得られた純度の低いグルコシルセラミド (GluCer) が用いられているが、GluCerは摂取しても腸管から吸収されにくいこともあ

り、その効果が低いと考えられる。そこで、腸内細菌によって腸管内での GluCer からセラミドへの分解を増加させ、その吸収を増加させるための基礎研究を行った。

第一章では、新たな GluCer 水解活性の高い腸内細菌の探索を行った。800 個のコロニーを供試したところ、イヌの糞便由来の一菌株で GluCer 水解能が見られた。16SrRNA 遺伝子の相同性からは、本菌は *Clostridium* のクラスター XIVa に属するが、他菌との同一性は 95 % 以下であり、菌体脂肪酸組成や糖利用性が近縁菌のものと異なっていた。本菌は新規の属の菌と考えられたので、*Glucerbacter canisensis* gen. nov., sp. nov. と命名した。

第二章では、宿主動物の大腸内で、*G. canisensis* の数を増やす条件について検討した。煮沸したイヌの糞便をアミノ酸給源として本菌を培養したところ、どのイヌの糞便からも増殖が見られた。しかし、糞便をエネルギー給源とした場合には増殖は見られず、デンプン等を添加する必要があった。この培養系にフルクトオリゴ糖を添加すると GluCer の水解が更に増加した。従って、大腸内での本菌の生息数を増やすためには、アミノ酸源の補充は不要であるが、フルクトオリゴ糖等のエネルギー源を添加する必要があると考えられた。

第三章では、*G. canisensis* のマウスへの給与が、食餌性 GluCer の消化に及ぼす影響について調べた。*G. canisensis* をマウスに経口投与したところ、その多くが糞中に排泄されたが、一部は GluCer 水解活性を保ちながら、大腸内容物から検出された。GluCer または GluCer 含有食品を給与したマウスに、本菌を経口投与したところ、GluCer の消化率が増加した。本菌をプロバイオティクス利用すれば、大腸における GluCer 水解を増強することができると考えられる。しかし、本菌が大腸内に留まる期間は限られるので、そのような効果を得るためには、菌を定期的に導入する必要があると考えられた。

## 5 論文の特質

本論文は、GluCer 水解能を持つ新種の細菌 *G. canisensis* を見出した報告である。GluCer 水解能を持つ腸内細菌としては、*Blautia glucerosea* に継ぎ二番目の報告となるが、その GluCer 水解能は細胞レベルにおいても、また酵素レベルにおいても *B. glucerosea* よりも高い事を明らかにした。また、イヌにおける *G. canisensis* の生息数と菌混合系における GluCer 水解活性の関係性を調べ、本菌がイヌの腸管内における GluCer の水解において重要な役割を担っている事を示した。これらは動物の腸管内で細菌が GluCer の水解に貢献する事を示した初めての研究となった。また、*G. canisensis* をプロバイオティクスとして導入した場合に、大腸における GluCer 水解を増強することができる事を動物試験で実証しており、実用化に向け大きな成果が得られた。

## 6 論文の評価

GluCer は多くの植物性食品に含まれているが、小腸で分解されにくいので、小腸上皮から吸収される量は少ない。本研究では、伴侶動物だけでなく最終的にはヒトへの応用も視野に入れ、食事性 GluCer の消化・吸収を増大させることを目標とした研究を行い、新

種の GluCer 水解菌 *G. canisensis* を見出し、その増殖制御に関する基礎的な知見を多く得た。本菌を含めた腸内細菌の、実効性のある制御法の確立には数多くの課題が残されているが、本研究はそのための第一歩を踏み出したものと考えられる。腸管内への導入方法や異種動物の腸管内への定着などの点で *G. canisensis* の育種・改良がなされれば、本菌をプロバイオティクスとして腸管内に導入することにより、食事性 GluCer の消化・吸収を増大させると考えられる。この場合、GluCer の水解により生じるセラミドは直接的に、またはスフィンゴイド塩基に分解されてから、大腸の上皮細胞から吸収され、その生理機能を発揮することになる。従って、大腸炎や大腸ガンなどの病状に対しての効果が高くなることが期待される。これらの病体モデルを用いての検証実験が今後に必要なではあるが、本研究により得られた知見は、将来、大腸で生じる病気を未然に防ぐための手段を考えるための土台となるであろう。

## 7 論文の判定

本学位請求論文は、農学研究科において必要な研究指導を受けたうえ提出されたものであり、本学学位規程の手続きに従い、審査委員全員による所定の審査及び最終試験に合格したので、博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定する。

以 上