

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	新谷 知也
審査委員	主 査 佐藤正資 副 査 手林慎一 副 査 西脇 寿 副 査 杉山康憲 副 査 吉原明秀

論文名 Studies on functional hexoses with anti-aging effects  
(抗老化効果を有する機能性ヘキソースに関する研究)  
審査結果の要旨

本学位論文は以下の6つの内容から構成される。

### (1) 食品工業でのヘキソースの製造法

自然界の多くの単糖は、D-グルコース(D-Glc)に代表される6個の炭素原子を持つヘキソースである。食品産業での用途向けに、安価な多糖類から、種々の特徴を持つさまざまなヘキソースが製造できる。そのため、ヘキソースの健康機能を見出すことにより、生活の質を向上させることが期待される。食品素材として利用されるヘキソースには、D-グルコサミン(D-GlcN)、N-アセチル-D-グルコサミン、D-フルクトース(D-Fru)、D-マンノース、D-ガラクトース、D-タガトース、D-アルロース(D-Alu)等が含まれる。ここでは、微生物、酵素、および化学的方法によるヘキソースの食品工業での既存の生産方法について比較検討した。

### (2) D-Alu生産酵素の固定化とその応用

D-FruからD-Aluへのエピマー化を触媒する酵素を、*Arthrobacter globiformis* M30株から見出した。*Arthrobacter*属は、食品産業において長年使用されており、高い安全性を有していた。この酵素は精製され、D-Alu-3-エピメラーゼと同定され、諸性質の解析がなされた。酵素活性の最適なpH域は中性域で、最適温度は、70℃であった。この酵素に最適な固定化担体を検討し、弱塩基性イオン交換樹脂を選抜した。その固定化酵素は10℃以下で保存した場合、遊離酵素よりも長期間安定であった。またカラム反応では、酵素活性も4か月以上安定性を維持した。最適条件下で、固定化酵素1リットルあたり215kgのD-Aluが生成され、この生産量はこれまでに報告されたD-Aluの生産の最高値であった。以上から、この酵素がD-Aluの工業生産の理想的な候補であることが示唆された。

### (3) D-GlcNの細胞内の代謝亢進

オートファジーは、細胞質成分を非特異的に分解する細胞プロセスであり、細胞老化に関与している。種々のヘキソースのうち、D-GlcN、D-ガラクトサミン、D-マンノサミンなどの遊離アミノ基を持つアミノ糖が、mTOR非依存的なオートファジーを誘発することを哺乳類培養細胞にて見出した。少なくとも500  $\mu$ Mから40 mMを超える濃度でD-GlcNはオートファジーを誘導した。40mM D-GlcN

の存在下で、オートファジー誘導は6時間で開始され、36時間でプラトーに達した。D-GlcN誘導性オートファジーは、蓄積されたユビキチン化タンパク質と神経変性疾患原因タンパク質ポリグルタミンを除去した。したがって、D-GlcNは、神経変性疾患の予防と抗老化効果の促進に寄与する可能性が考えられた。

#### (4) 線虫におけるD-GlcNの抗老化効果

寿命研究のモデル動物である線虫*Caenorhabditis elegans*を用いてGlcNの寿命への影響を検討した。D-GlcNは、線虫の寿命を有意に延長することを見出した。線虫の成虫と卵においても、D-GlcNはオートファジーを誘導した。オートファジー遺伝子を欠損させた線虫では、GlcN投与によって寿命に変化はなかった。このことから、GlcNによる寿命延長はオートファジー依存的であることが示唆された。

#### (5) D-Alu含有液糖のげっ歯類での糖代謝改善効果およびヒトでの低い血糖応答

希少糖含有シロップ (RSS) は、D-GlcとD-Fruの混合液糖である異性化糖のアルカリ異性化により製造され、5% D-Aluを含む。RSSの長期投与が耐糖能を維持するか、および肝グルコキナーゼの核外移行を促進するかを検討した。WistarラットにRSSまたはHFCSを10週間飲水投与し、耐糖能および肝臓グルコキナーゼの細胞内分布について評価した。RSSは、体重増加と体脂肪量を有意に抑制した。耐糖能試験では、HFCS群はコントロールの水群と比較して有意に高い血糖値を示したのに対し、RSS群は低い血糖値を示した。D-Glc負荷後、グルコキナーゼの核外移行は、水群と比較してRSS群で有意に増加した。これらの結果から、RSSが肝グルコキナーゼの核外移行を促進することにより少なくとも部分的に耐糖能を維持することが示唆された。またヒトにおいて、グリセミック・インデックス (GI) 試験を行った。その結果、砂糖のGI値が64に対して、RSSは49であった。RSSはショ糖に比べ血糖応答が低い低GI甘味料であることが示された。

#### (6) D-Aluの線虫における老化遅延効果

カロリー制限 (CR) は、さまざまな生物の寿命を延ばすことが知られている効果的な介入であり、食事制限の一種である。CRは加齢に伴う疾病の発症を遅らせるため、CRの効果を模倣する化合物であるCR模倣薬が精力的に研究されている。ここでは、D-Aluの*C. elegans*の寿命への影響について検討した。D-Alu投与は、食餌制限モデル*eat-2*変異体の寿命を更に延長することはなく、その効果が食事制限に関連していることを強く示唆した。しかし、D-Aluは野生型*C. elegans*の食餌摂取量を減少させなかった。D-Alu長寿効果のメカニズムを調べるために、栄養センサー関連遺伝子*daf-16*, *sir-2.1*, *aak-2*, および*skn-1*欠損変異体の寿命をD-Alu投与条件下で検討した。その結果、D-Aluは*daf-16*, *sir-2.1*, および*skn-1*変異体の寿命を延長したが、*aak-2*(AMPK)変異体の寿命は延長しなかった。またD-Aluは、抗酸化酵素のmRNA発現と酵素活性を高めた。これらの結果から、D-AluはCRメカニズムを介して酸化ストレス耐性を高めることにより寿命を延ばし、CR模倣薬の候補になる可能性が示唆された。

本論文は、機能性ヘキソースの生産とそれらの機能性の詳細について幅広く検討した内容であり、高く評価される。また、本論文は、農学に留まらず、医科学、栄養科学などの生命科学分野の内容を含んでおり、非常に学際的である。

本論文の公開審査会は令和2年2月8日、愛媛大学農学部で開催され、論文の口頭発表と質疑応答が行われた。引き続き開催された学位論文審査委員会で本論文の内容を審査した結果、委員全員一致して本論文が博士 (学術) の学位を授与するに値するものと判定した。