

<999>

(学位第9号様式)

No. 1

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	金城 由希子			
	主査	琉球大学	教授	和田 浩二
	副査	琉球大学	准教授	玉城 一
審査委員	副査	鹿児島大学	教授	侯 德興
	副査	琉球大学	教授	屋 宏典
	副査	佐賀大学	教授	永尾 晃治
審査協力者				印
実施年月日	令和2年8月6日			
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)	<input checked="" type="checkbox"/> 口答・筆答			

主査及び副査は、令和2年8月6日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。

以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。

学位申請者 氏 名	金城 由希子
〔質問1〕ヒトを対象としたストレス負荷試験（ヒト試験）に用いた試料は、黒糖のみであるか。白糖摂取でもストレスを緩和するのではないか。また、甘味による「リラックス効果」はないのか。	
〔回答1〕ヒト試験における試料は黒糖のみである。白糖摂取や甘味は、精神安定に関わる脳内物質を分泌するが、その効果が現れる時間と本試験の結果が一致していない。したがって、本試験の「リラックス効果」は、白糖摂取や甘味で得られるものではない可能性が示唆された。また、黒糖のストレス緩和効果に関する成分についてマウスを用いたストレス負荷試験（マウス試験）で検証したところ、黒糖中の糖類によるものではないという結果が示された。さらにヒト試験では、甘味の影響を受けないように黒糖水溶液を一気に摂取した後に水を飲んで口腔内に残らないようにしたことから、本試験の「リラックス効果」は甘味によるものではないと考えられた。	
〔質問2〕ヒト試験において、被験者の年齢が若いのはなぜか。	
〔回答2〕ヒト試験の被験者は大学生が多かったため、平均年齢が25歳となった。	
〔質問3〕ヒト試験のストレス負荷方法に用いたクレペリンテストは、具体的にどのようなテストなのか。	
〔回答3〕クレペリンテストは、羅列された数字の隣り合った数字を足し算して得た答えの一桁目を書いていくテストである。被験者には、この計算を15分の間になるべく多く解くよう指示し、ストレスを負荷した。	
〔質問4〕ヒト試験とマウス試験で、産地の異なる黒糖を用いているのはなぜか。	
〔回答4〕沖縄県には産地の違いにより8種類の代表的な黒糖があり、ヒト試験では市販で入手しやすい「多良間島産の黒糖」を用いた。一方マウス試験では、フェノール化合物を標的にしていることから、8黒糖の中でフェノール化合物を多く含み、大量に調達できて抽出物を得やすい「伊平屋島産の粉末黒糖」を用いた。	
〔質問5〕ストレス刺激によって活性酸素種（ROS）が増加するのはなぜか。	
〔回答5〕ストレスを受けると、生体内の活動量やエネルギー消費量が増加することで酸素が必要となる。生体に取り込む酸素量が増加するため、酸素から数%変換されて生じるROSも増加すると考えられる。	
〔質問6〕黒糖中にp-ヒドロキシアセトフェノン（HAP）はどのくらい入っているのか。また、HAPはサトウキビ由来の化合物か。	
〔回答6〕本試験や参考文献より、黒糖1kgから得られるHAPは、約100～400μgであった。また、HAPはサトウキビ中にも存在する物質である。	

[質問7] マウス試験において、ストレス負荷から断頭までの間に30分の休息時間を設けたのはなぜか。

[回答7] ストレス負荷直後に興奮状態のまま断頭による採血を行った場合、血管収縮より得られる血液量が少なくなったため、マウスを落ち着かせる時間が必要となった。血清中ストレスホルモンは、ストレス負荷後60分にピークとなり、その後も高い値を示すため、ホルモン値に影響はない判断し、30分の休息時間を設けた。

[質問8] マウス試験において、生体内のストレス応答伝達経路の1つである内分泌（HPA）系活性によって分泌する血清中ストレスホルモンを測定していたが、交感神経（SAM）系のストレスマーカーについてはどう考えるか。

[回答8] 予備試験では、本試験と同様の1時間の拘束ストレスによってSAM系のストレスマーカー（カテコールアミン）の増加を確認した。しかし、血清中カテコールアミンは短時間で平常値に戻るためばらつきが大きくなり、測定キットも高額である。このことから、本試験ではHPA系活性を反映する血清中ストレスホルモンのみをストレスマーカーとして測定した。

[質問9] 「HAPの投与によって生体内抗酸化酵素が増大する」と考察しているが、どのようなメカニズムか。

[回答9] 具体的なメカニズムについては分からぬが、フェノール化合物であるケルセチンは抗酸化酵素のmRNAに働きかけて生体内抗酸化酵素を増加させるため、HPAも同様のメカニズムを有する可能性があると考える。

[質問10] 抗酸化活性測定において、測定方法によってばらつきがあるがなぜか。

[回答10] 抗酸化活性の測定原理には水素原子供与反応と電子供与反応があり、その測定原理の違いによって、数値に差が生じている。

[質問11] 黒糖の香りにストレス緩和効果はあるのか。

[回答11] 予備試験において、1時間の拘束ストレス負荷時に黒糖の香気成分抽出物を嗅がせた場合も、マウスの血清中コルチコステロンの増加が抑制された。したがって、黒糖にはストレス緩和効果を有する香気成分が含まれている可能性があると考える。

[質問12] HAPが含まれている沖縄の食材やその他の食材は他に何があるか。

[回答12] HAPはアルテミシア属の植物に存在する化合物であり、例えば沖縄料理で使われるヨモギにHPAが含まれている。