

最終試験結果の要旨	
学位申請者氏名	Abu Yousuf Hossin
審査委員	主査 琉球大学・教授 屋 宏典
	副査 琉球大学・准教授 岩崎 公典
	副査 佐賀大学・教授 永尾 晃治
	副査 鹿児島大学・教授 侯 徳興
	副査 琉球大学・准教授 稲福 征志
審査協力者	
実施年月日	令和3年 7月 16日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査および副査は、令和3年7月16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。</p> <p>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。</p>	

学位申請者 氏名	Abu Yousuf Hossin
質問1 : DPCが生体内でどのように代謝されるのか教えてください。また、DPCが原体または代謝産物が活性を有しているのか教えてください。	回答1 : この研究の主な目的は、動物モデル実験で抗肥満効果とその分子メカニズムを評価することでしたので、DPC代謝物の機能については分析していませんが、質量分析計で測定している限りでは代謝産物は検出されていません。
質問2 : ナノ粒子化により、白色脂肪組織にDPCの蓄積が亢進しているが、同様に肝臓への蓄積も亢進するのか。	回答2 : 肝臓の重量や脂質濃度に変化は認められなかったため、DPC投与によって変化が認められた白色脂肪組織のDPC含量のみを測定しています。
質問3 : この研究ではどのような麻酔が使用されていますか。また、その血糖値に及ぼす影響はありましたか。	回答3 : この研究では、三種混合麻酔を用いています。この麻酔に含まれている $\alpha 2$ アドレナリン受容体作動薬であるメドトミジンは、 $\beta$ 細胞のインスリン分泌を抑制することが、近年明らかになっています。そのため、本実験で示した血糖値には麻酔薬の影響が表れると考えられます。しかしながら、全てのマウスは麻酔投与後一定時間後に採血を行っていますので、麻酔薬の血糖値に及ぼす影響はほぼ一定であると仮定できますので、本実験でのDPC摂取による糖代謝変動は認められないと判断しています。
質問4 : この実験では白色脂肪組織のUCP1, UCP2, UCP3の遺伝子発現を評価していますが、それらの機能的な違いを教えてください。	回答4 : UCP (Uncoupling Protein) は、ミトコンドリアにおける脂肪酸酸化とATP産生を切り離して、エネルギーを熱生成に変換することができます。UCPの機能は同じであるが、その発現している組織が大きく異なる。UCP1は主に褐色脂肪組織で発現するとされるが、白色脂肪組織が褐色化することでUCP1発現が高まるとされている。従って、本実験ではDPC摂取により白色脂肪組織の褐色化が亢進して、UCP1発現が高まっていることが示唆されます。
質問5 : DPCやnano-DPCの摂取は、白色脂肪組織におけるPPAR- $\gamma$ を活性化しているが、インスリン、アディポネクチン、TNF- $\alpha$ などのサイトカインシグナルに影響をもたらすのではないのでしょうか？	回答5 : 本実験において、インスリン、アディポネクチン、炎症性サイトカインシグナルに関しては解析しておりません。
質問6 : この実験では、DPCをマウスが摂取することで白色脂肪組織のPPAR- $\gamma$ 発現は亢進していますが、一方、3T3-L1細胞をシリンギンで処理すると同遺伝子発現は低下しています。肥満治療にはどちらが有益なのでしょう？	回答6 : どちらも有効だと考えられます。DPCは脂肪細胞が小型化と褐色化することで抗肥満効果を示すと考えられますが、一方、シリンギンは前駆細胞が脂肪細胞へと分化することを抑制することで、最終的に抗肥満効果を示すと考えられます。
質問7 : 白色脂肪組織における、シリンギン蓄積などに関する情報はありますか？	回答7 : 私の知る限りでは、白色脂肪組織におけるシリンギンの吸収に関する研究報告は見ることがありません。
質問8 : <i>In vivo</i> 試験で適切と考えるシリンギン投与量を教えてください。また、 <i>in vitro</i> 試験にて最適処理濃度を20 $\mu$ Mと決定した理由を教えてください。	回答8 : 2017年にKim氏らが報告した <i>in vivo</i> 研究では、シリンギンの抗糖尿病効果がありました。実験マウスに、5mg/kgの用量のシリンギンを隔日で腹腔内注射していました。また、本実験では、シリンギンの脂質蓄積抑制効果と細胞毒性に応じて、細胞へ処理濃度を最適化しています。
質問9 : シマアザミ根 (CbR) のシリンギン含有量を教えてください。	

回答 9 : 本実験ではシリンギンを単離することに注力しているため、正確な含有量を測定していませんが、シリンギンの収量から計算すると、CbR乾燥粉末には0.07%以上のシリンギンが含まれていることが判ります。

質問 10 : DPC摂取によって白色脂肪組織のUCP1遺伝子発現が亢進していましたが、マウスの体温に変化はありましたか？

回答 10 : 本実験では、マウスの体温変化について検証していません。

質問 11 : CbR抽出物を分画したところ (スライド39)、画分1と画分2で抗脂肪活性が認められ、画分2が強い抗肥満活性を示しています。あなたの発表では画分1に焦点を当てて、その活性成分としてシリンギンを単離・同定していますが、なぜ強い活性を示した画分2ではなく画分1に焦点を絞ったのでしょうか？

回答 11 : ご指摘の通り画分1と画分2に抗肥満活性が認められています。本日は時間の関係上、画分1の抗肥満活性成分の同定に関してのみ発表しています。画分1と同様に、本実験では画分2にも焦点を当てて、その活性成分の同定も試みましたが、その活性成分の同定には至っておりません。