

(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	陳 珂雨 <span style="float: right;">1013</span>
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 侯 徳興
	副査 鹿児島大学 教授 イブラヒム ヒッジャム
	副査 琉球大学 教授 モハメド アムザド ホサイン
	副査 佐賀大学 教授 永尾 晃治
	副査 鹿児島大学 助教 坂尾 こず枝
審査協力者	印
実施年月日	令和 3 年 12 月 24 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <span style="float: right;">(口答)・筆答</span>	
<p>主査及び副査は、令和 3 年 12 月 24 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	陳 珂雨 (Keyu Chen)
[質問 1]	Alliinase-free garlic (AFG) powder 作成において、allicin の含有量はなぜ“0”になったのか？
[回答 1]	Allicin は、ニンニクの切断により細胞内 alliinase が、alliin に反応することで生成する。本研究では、AFG powder 作成の時にニンニクを切断せずに加熱し、ニンニク中の alliinase を失活させたので、allicin は生成されなかった。そのため、AFG powder 中の allicin の含有量は“0”になった。
[質問 2]	ニンニクのフルクタンはプレバイオティクスとして作用するか？その作用に対する検討はしているか？
[回答 2]	本研究に使っていたニンニク中のフルクタンは除いていないので、プレバイオティクスとして腸内細菌への作用があると考えられる。そこで、本研究ではニンニク硫化物の作用を調べるため、alliinase-free garlic 1 (G1) と alliinase-free garlic 2 (G2) の両実験群のフルクタン含有量は同じに設定した。
[質問 3]	DPP-4 酵素に関するグラフは酵素の濃度もしくは酵素活性のどちらを示しているのか？
[回答 3]	ELISA Kit によって、マウス DPP-4 酵素の濃度を定量したものであるので、酵素の濃度を示している。
[質問 4]	青森県のニンニクを選んだ理由は何か？他の品種や他の地域との比較を入れて背景を構築した方が良いのではないか？
[回答 4]	青森県のニンニクを選んだ理由は主に 2 点ある。(1) 青森県は日本最大のニンニク産地であり、代表的な国産ニンニクである。(2) ニンニクの硫化物含有量とニンニクの匂いに関する関係がある。青森県のニンニクは他の地域のものより大きく、匂いが濃いので、硫化物調整にも有利だと考え、選定した。これらの背景を博士論文に追記する。

10/3

- [質問 5] サンプル G1 と G2 の硫化物比率について、その調整方法を述べよ。
- [回答 5] 先ず、収穫時期の異なるニンニクから調整した 4 種の AFG powder の成分含量を分析した。次は、フルクタン含有量を同量にするように 4 種の AFG powder を一定の比例で混合した。さらに、硫化物含量が二倍差になるように調整した。最後に、できた混合物の成分組成を再度分析し、G1 と G2 を選出した。
- [質問 6] Alliinase だけの影響についての検証または考察はされていたのか？
- [回答 6] 本研究では、alliinase だけに注目した実験は行っていないが、Chapter 4 で、alliinase なしニンニク (AFG の G1 と G2) 及び alliinase が存在するニンニク (whole garlic) の実験を実施している。結果から見ると、血中脂質及び腸内細菌に関する効果について、G2 は whole garlic より顕著な予防効果を示した。しかし、AFG と whole garlic サンプルのフルクタン含有量が違うことから、単純に alliinase による影響を判定することはできない。
- [質問 7] *Bacteroides acidifaciens* 細菌にニンニク硫化物を添加し、体外培養を行った結果、この細菌が増えたが、なぜ、この細菌のみ体外培養実験を行ったか、他の細菌増殖には影響がなかったのか？
- [回答 7] ニンニクの硫化物により変化した腸内細菌については *bacteroides acidifaciens* 細菌のみではなく、他の腸内細菌の変化もあった (Chapter 4 に示している) が、*bacteroides acidifaciens* 細菌の変化が一番顕著だったため、体外培養に *bacteroides acidifaciens* 細菌を用いた。
- [質問 8] Chapter 2 から Chapter 4 まで、結果に示される菌の組み合わせが毎回変わっているのはなぜか？
- [回答 8] 腸内細菌の結果が異なる理由について、Chapter 2 から Chapter 4 までエサの組成及びニンニクサンプルが変わったため、腸内細菌の組み合わせも変わったと考えている。
- [質問 9] AFG powder の成分において、S-allyl-L-cysteine (SAC) の量が普通の whole garlic powder よりも減少した理由は何か？
- [回答 9] AFG powder 作成時に、ニンニクをまるごとに加熱したので、alliinase だけで

10/3

はなく、 $\gamma$ -glutamyl-S-allyl-cysteine (GSAC) を SAC に変換する酵素も失活していた可能性がある。そのために、SAC の含有量は普通の whole garlic powder よりも減少したと考えている。

[質問 10] Whole garlic と AFG を比較した結果、*p-Bacteroidetes* が変化したのは SAC がなくなったせいなのか？それとも、allicin がなくなったか？

[回答 10] Allicin は強い抗菌作用を持つ。AFG では alliin から allicin を産生できなくなったため、whole garlic より抗菌作用が弱いと思う。そのために、*p-Bacteroidetes* の変化は allicin がなくなったことに起因する可能性が高いと考えている。Chapter 4 において、G1 と G2 は両方とも AFG であり、G1 の SAC 含有量は G2 より高いが、*p-Bacteroidetes* はほぼ変わっていないことから、SAC は *p-Bacteroidetes* に変化を与える要因ではないと考えられる。

[質問 11] 血中コレステロール濃度と腸内細菌の変化に相関性があるか、ある場合は、腸内細菌の変化は血中コレステロール濃度の変動に影響するということか？

[回答 11] 血中コレステロール濃度と腸内細菌との相関(Pearson correlation coefficient)を分析した結果、腸内細菌と血中 T-cho、LDLc、HDLc 変化の間に有意な相関性があることが示された。以上のことから、腸内細菌の変化は血中コレステロール濃度の変動に影響を与えると思う。

[質問 12] 細胞増殖に対するサンプルの濃度コースにおいて、G1 の添加量が 10mg/ml の時に 30 時間だけ細菌が減少している理由は何か？

[回答 12] 細菌培養の濃度コースは 30 時間のデータを表しているが、30 時間における 10mg/ml の G1 の添加時には、細菌の対数増殖期を超えていた可能性が高いと思われる。