

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	易 書瀚 (YI Shuhan)
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 侯 徳興
	副査 鹿児島大学 准教授 池永 誠
	副査 佐賀大学 教授 永尾 晃治
	副査 鹿児島大学 教授 小松 正治
	副査 鹿児島大学 助教 坂尾 こず枝
審査協力者	
実施年月日	令和5年7月27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>主査及び副査は、令和5年7月27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	易 書 瀚 (Yi Shuhan)
[質問 1]	Chapter 2-1 に関して、グラフでは一次関数的に見えるが蛍光写真ではそう見えない理由は何か？
[回答 1]	これには 3 つの理由があると思う。1 つ目は、蛍光は非常に短い時間しか光らず、それぞれの画像を撮影するのにかかる時間にはばらつきがあるということである。2 つ目は、各セットの露光時間を完全に正確にコントロールすることが難しいこと。3 つ目は、撮影時に無作為に選んだ場所の細胞密度が異なることである。
[質問 2]	Chapter 2-1 の ANP40 (ANP: 檳榔子ポリフェノール 40 $\mu$ g/m) 処理の ROS はコントロールより高く、ANP80 処理ではコントロールと同等なのはなぜか？
[回答 2]	すべての ANP グループは細胞を細菌リポ多糖 (LPS) で刺激した際、コントロールより過剰な活性酸素種 (ROS) を産生していた。ANP40 処理がコントロールより高いのは、ANP40 の濃度では LPS で産生された ROS がまだ完全に消去されなかったことを意味している。ANP80 がコントロールと同等なのは LPS で産生された ROS が ANP80 の濃度で完全に消去されたことを意味している。
[質問 3]	Chapter 2-1 の ANP160 と ANP320 処理の ROS がコントロールよりも低いのはなぜか？
[回答 3]	正常な細胞は、生理的活動を維持するために一定レベルの ROS を維持する必要がある。しかし、ANP160 と ANP320 にはポリフェノールが高濃度に含まれているため、抗酸化力は高い。そのため、ANP160 と ANP320 は細胞そのものの ROS を除去してしまったので、コントロールより低かったと考える。
[質問 4]	Chapter 2-1 の細胞培養における Well 間のタンパク量は揃えていたのか？
[回答 4]	各 Well に $2 \times 10^4$ 細胞量を播いて 24 時間培養したので、それぞれの Well に含まれるタンパク質の量は概ね揃っていると考えられる。
[質問 5]	アレコリンとポリフェノールの分離はどのように行ったのか？ 50%EtOH により分離は可能なのか？
[回答 5]	マクロポーラス吸着樹脂により分画した。マクロポーラス吸着樹脂はファンデルワールス力による物理吸着型樹脂で分子量が高いほど吸着力は強くなる。檳榔子アレコリンの分子量はポリフェノールの分子量よりはるかに小さ

いので、吸着力も小さい。50%EtOHを溶出に使用した場合、檳榔子アレコリンは最初に溶出され、ポリフェノールは後に溶出された。

[質問 6] アレコリンの分子量はどれくらいのか？ 溶解量はどの程度なのか？

[回答 6] アレコリンの分子量は 155.197 である。ほとんどの有機溶剤と水に溶ける。温度 25°C で水への溶解度は 1000mg/ml である。

[質問 7] アレコリン (ARE) 投与マウスの肝脂肪抽出のグラフでは西洋食と変化がないが、肝損傷マーカーのグラフは回復しているのはなぜか？

[回答 7] 明確なことは、分からない。しかし、2つの理由が考えられる。ひとつは、肝障害は脂肪肝の次プロセスである。もうひとつは、本研究の ARE は安全な添加濃度であるということ。低濃度の ARE で脂肪肝を改善することはできないが、脂肪肝から肝臓損傷へ向かうプロセスの進行を止めることはできると考えた。これらは今後の研究で検証する必要がある。

[質問 8] 逸脱酵素である GOT と GPT の違いはなにですか？意味はなにを示すか？

[回答 8] GOT は多くの臓器に存在する アミノトランスフェラーゼである。臓器が損傷すると、大量の GOT が血流に放出される。一方 GPT は主に肝臓に存在するアミノトランスフェラーゼである。肝臓が損傷すると、大量の GPT が血液中に放出される。そのため、肝臓の健康状態を示す指標となる。

[質問 9] マウスの餌に用いたサンプルの添加量は適切であるのか？

[回答 9] 檳榔子抽出物の添加濃度は、以前の研究で確立された安全な添加濃度を用いた。また、檳榔子のポリフェノールとアレコリンの添加濃度は、檳榔子抽出物中のポリフェノール並びにアレコリンの含有率に基づいて決定した。

[質問 10] 腸内細菌であるアッカーマンシア菌とルミノコッカス菌への影響に関して、ARE の挙動が相反な結果を示しているのはなぜか？

[回答 10] ARE はアッカーマンシア菌には影響を与えないが、ルミノコッカス菌を増加させる。Observed species の結果は、ARE が菌叢の種を増加させることを示している。一方、菌の濃度とは、菌全体に占める割合のことである。したがって、ARE が菌叢の種を増やすという条件下において、ARE がアッカーマンシア菌数に影響を与えない場合、アッカーマンシア菌の濃度は減少する。逆に、ARE はルミノコッカス菌の数を増やすので、相対的にルミノコッカス菌の濃度が増えることになる。

[質問 11] なぜ檳榔子は口内ガンを引き起こすか？

[回答 11] 口腔がんの誘発因子としては檳榔子中のアルカロイド成分である Arecoline、Arecaidine、Guvacine 及び Guvacoline が認定されている。また、檳榔子を咀嚼するときにその粗い繊維が口の粘膜や舌をトゲのように常に刺激し、これも口腔疾患の主な原因となっている。

[質問 12] カテキンと PBI の機能性はなにか？また別々使用と混合使用では効果が変わるか？本研究と比べ、カテキン、PBI それぞれの先行研究の結果は同じなのか？

[回答 12] 先行の研究によると、カテキンと PBI (Procyanidin B1) は、抗酸化作用と脂質代謝異常に対する改善作用を有することが知られている。本研究では、両者混合で使用し、同じ効果が得られた。しかし、混合後に効果が増強されるかどうかは不明であり、今後の研究で証明する必要がある。