

## 学位論文審査の結果の要旨

令和 5年 2月 6日

審査委員	主査	中村 隆範 <span style="float: right;">(中)</span>		
	副主査	星野 克明 <span style="float: right;">(星)</span>		
	副主査	大日 輝弘 <span style="float: right;">(香)</span>		
願出者	専攻	医学	部門	(平成27年度以前入学者のみ 記入)
	学籍 番号	19D701	氏名	綾木 聡美
論文題目	β-1,4-Galactan suppresses lipid synthesis in sebaceous gland cells via TLR4			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格      不合格      (該当するものを○で囲むこと。)			

**[ 要 旨 ]**

皮脂は、皮膚の皮脂腺から分泌される脂質混合物であり、皮脂の分泌を適切にコントロールすることは、皮膚を健康に保つために重要である。天然多糖類には、増殖、分化、創傷治癒などの作用が知られているが、皮膚への効果は表皮角化細胞や皮膚線維芽細胞に対する報告に限定されており、皮脂腺細胞に対する効果は未知であった。そこで本研究では、ハムスター皮脂腺細胞の脂質生合成に対する天然多糖類の影響を評価した。Oil Red Oで細胞内の脂肪を染色し、定量化したところ、評価した天然多糖類の中で、I型アラビノガラクトランの主鎖であるβ-1,4-ガラクトランが皮脂腺細胞における脂質合成を最も強力に抑制した。Toll-like receptor (TLR)4 阻害剤およびIκB kinase (IKK)β阻害剤はこの抑制効果を打ち消し、また、TLR4リガンドであるリポポリサッカライドはこの効果を強力に模倣したことから、TLR4/IKKβシグナル伝達経路の関与が示唆された。また、β-1,4-ガラクトランは皮脂腺細胞でインスリンシグナル伝達経路制御下の脂質生成に関連する転写因子、酵素およびグルコーストランスポーターのmRNAレベルも大幅に低下させた。以上の結果から、β-1,4-ガラクトランはTLR4/IKKβシグナル伝達経路とインスリンシグナル伝達経路のクロストークを介して脂質合成抑制作用を発揮することが推測された。さらに、β-1,4-ガラクトランは、TLR4依存的に乳酸の産生を増加させた。乳酸は天然の保湿因子であるのに加えて、皮膚バリア形成促進作用や、皮膚pHによる抗菌作用も有している。したがって、このように皮脂腺細胞における脂質合成を抑制するだけでなく乳酸産生を増加させるβ-1,4-ガラクトランは、皮膚の治療的および美容的価値を持つ可能性のある材料であることが示唆された。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和5年2月2日に行われた。

本研究は、 $\beta$ -1,4-ガラクトンの皮脂腺細胞における脂質合成抑制とそのメカニズムについて新たな知見を与えるものであり、学術的価値が高い。委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分値するものと判断した。

審査においては、

1. 様々な多糖類が存在する中、 $\beta$ -1,4-ガラクトンに着目した理由。  
→同じ皮膚系の細胞である表皮角化細胞や線維芽細胞において、 $\beta$ -1,4-ガラクトンの様々な作用が確認されているため。
2.  $\beta$ -1,4-ガラクトンの作用は単なる脂質合成抑制なのか分化抑制なのか。  
→現状では判断がつかないが、分化誘導期間の途中から $\beta$ -1,4-ガラクトンを添加した場合でも脂質合成抑制作用は弱いながらも認められるため、少なくとも脂質合成抑制作用は有していると考えられる。
3.  $\beta$ -1,4-ガラクトンの脂質合成抑制によって皮脂の脂質組成に変化はあるのか。  
→転写因子であるPPAR $\gamma$ やSREBP1はトリグリセリドやコレステロールなどの様々な脂質分子の合成に関与しており、特定の脂質のみが抑制されるとは考えづらい。しかし、脂質組成を実際に測定したわけではないので、変化の有無は不明である。
4. 使用した $\beta$ -1,4-ガラクトンは天然物由来のものだが、エンドトキシンが混入していてそれがTLR4に反応しているの可能性があるのか。  
→ $\beta$ -1,4-ガラクトンをアラビノフラノシダーゼおよびガラクタナーゼの2つの酵素で処理することにより $\beta$ -1,4-ガラクトンを単糖からオリゴ糖レベルまで分解できる。この酵素処理後の試料を用いて皮脂腺細胞で脂質合成抑制作用を確認すると、脂質合成抑制作用が認められなくなるので、エンドトキシンが混入の可能性は低いと考えられる。
5. コンフルエントで実施しているWST-1法による試験系において、本当に細胞増殖活性は上昇しているのか。  
→WST-1法はNADHが存在すると高値を示す試験法である。通常はミトコンドリアにおけるNADHの量をもって細胞増殖活性を評価するが、今回は細胞がすでにコンフルエントであることから、ご指摘の通り、細胞増殖ではなく、細胞内の代謝活性が上昇していると捉えるべきである。
6. *in vivo*では $\beta$ -1,4-ガラクトンはどのようにして皮脂腺細胞の到達するのか。  
→皮膚の経皮吸収の経路には、角質層を経由する経表皮経路と、毛孔や汗孔を経由する経付属器官経路がある。経表皮経路は主に分子量500以下の物質が吸収される経路であるのに対し、経付属器官経路は分子量の影響を受けにくいと経路であるため、 $\beta$ -1,4-ガラクトンのような高分子多糖類は後者を介して皮脂腺細胞に到達すると考えられる。

などについて多数の質問が行われた。

申請者はいずれの質問にも明確に応答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲載誌名	The Journal of Biochemistry 第 173 巻, 第 2 号		
(公表予定) 掲載年月	2023 年 2 月	出版社(等)名	Oxford University Press

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。