

## 博士學位論文審査等報告書

審査委員 主査 和田 小依里

副査 東 あかね

副査 南山 幸子

副査 松井 元子

1 氏 名 福永 祥子

2 学位の種類  
博士（学術）

3 学位授与の要件  
学位規程第3条第4項該当

4 学位論文題目  
トルラ酵母由来グルコシルセラミドのヒト皮膚状態の変化，およびメラノーマ細胞におけるメラニン生成と線維芽細胞によるコラーゲンゲル収縮に対する効果の検討

5 学位論文の要旨および審査結果の要旨

**【学位論文の要旨】**

別紙に記載

**【論文目録】**

別紙に記載

## 【審査結果の要旨】

トルラ酵母由来グルコシルセラミド (GlcCer) は、トルラ酵母から酵母エキスなどを抽出した後の残渣から抽出することが可能である。従来、残渣は産業廃棄物として処分されていたため、この残渣を有効活用することにより、安価に供給することができる。GlcCer は皮膚の保湿機能を有する成分として注目されており、コムギなどの農作物からも抽出される。農作物は気候などの条件により供給量が変化するのに対し、トルラ酵母はタンク内で連続発酵させることで得るため安定供給することが出来る。本論文では、このトルラ酵母由来 GlcCer を用いて、皮膚における保湿、メラニン生成および弾力性に関して、臨床試験におけるヒトでの効果評価から細胞実験による生化学的機序の解明までを行い評価した。

第1章では、本論文の背景と目的について述べている。高齢化社会に伴いセラミドを配合したアンチエイジングのためのスキンケア用品への関心は高まっているが、GlcCer に関する研究は十分とは言えない。GlcCer はコメ、コムギ、トウモロコシなどから抽出され、原材料によって生理活性が異なることが報告されている。トルラ酵母 (*Candida utilis*) は、GlcCer 含有量が 0.15% と比較的高い。また、トルラ酵母由来 GlcCer (トルラ酵母 GlcCer) は、植物由来の GlcCer には存在しないスフィンゴイド骨格の9位にメチル基がある。そのため、次章以降で、この特殊な構造を有するトルラ酵母 GlcCer およびトルラ酵母抽出物の皮膚における機能を明らかにすることとした。

第2章では、トルラ酵母 GlcCer 経口摂取が冬季にヒトの皮膚に与える影響について検討している。対象者の成人男女を無作為に割り付けし、二重盲検クロスオーバー試験を行った。1.8 mg の酵母 GlcCer (GlcCer 群) またはプラセボ (プラセボ群) を毎日1錠ずつ4週間摂取し、その前後での皮膚状態を客観的および主観的に評価した。GlcCer 群では、客観的評価では保湿効果を示す前腕の経皮水分蒸散量 (TEWL) の減少とメラニン生成を示す褐色斑点スコアの改善が認められた。プラセボ群では客観的評価のシワの項目で悪化が認められたが、GlcCer 群では悪化がプラセボ群より抑制される傾向が観察された。また、主観的評価では肌荒れの改善がみられた。これらの結果は、トルラ酵母 GlcCer の皮膚における機能性食品への応用可能性を示唆している。

第3章では、マウスメラノーマ細胞を用いトルラ酵母抽出物およびトルラ酵母 GlcCer のメラニン生成抑制および植物抽出物との比較を行った。メラニン量、チロシナーゼ活性の測定をし、植物抽出物 (コメ、トウモロコシ) および植物 GlcCer (コメ、コムギ、トウモロコシ) との比較を行った。抽出物間の比較ではトルラ酵母が最も強いメラニン生成抑制を示したが、チロシナーゼ活性抑制はコメが最も強かった。GlcCer 間の比較では、トルラ酵母とトウモロコシ GlcCer がメラニン生成とチロシナーゼ活性をともに抑制した。次に、GlcCer 非含有トルラ酵母抽出物は tyrosinase related protein 1 (TRP1) タンパク質発現を抑制し、チロシナーゼを介さないメラニン生成抑制を示すことを明らかにした。GlcCer 以外のトルラ酵母抽出物中の有効成分の特定はできてい

ないが、トルラ酵母抽出物中に未知のメラニン生成抑制を示す機能成分が存在することを示唆している。これらのことから、トルラ酵母抽出物は既存の GlcCer のメラニン抑制作用に加え、別の作用機序を介した付加的な作用を有することが示された。

第4章では、トルラ酵母抽出物およびトルラ酵母 GlcCer のコラーゲングル収縮作用について検討している。コラーゲン収縮には、線維芽細胞数やコラーゲン産生量に関与している。まず、細胞実験にてトルラ酵母 GlcCer がヒト皮膚線維芽細胞数とコラーゲン産生量に及ぼす影響を評価した。さらに、線維芽細胞含有3次元コラーゲングルの収縮率を測定し、線維芽細胞とコラーゲン線維の相互作用を評価した。トルラ酵母抽出物は、濃度依存的に線維芽細胞を増殖させる一方、最大濃度の 25  $\mu\text{g}$  GlcCer eq./ml でのみコラーゲン量を増加させた。トルラ酵母 GlcCer は線維芽細胞を増殖させ、コラーゲン量を増加させた。コラーゲングル収縮は、トルラ酵母抽出物およびトルラ酵母 GlcCer とともに特定濃度でのみ収縮し、至適濃度（ともに 5 と 7.5  $\mu\text{g}$  GlcCer eq./ml）が存在することを明らかにした。これらの結果は、トルラ酵母抽出物中の有効成分は GlcCer であることを示唆している。GlcCer の真皮における弾力性に及ぼす効果についての報告は少なく、GlcCer が直接、線維芽細胞の増殖およびコラーゲン産生を介し弾力性を促進した本研究は新しい知見である。

第5章は、総括である。本論文は、トルラ酵母抽出物およびトルラ酵母 GlcCer の皮膚における機能について、ヒト試験での実証から細胞実験による作用機序の解析まで行い、その機能を考察した。ヒトの皮膚状態に及ぼす影響の研究では、保湿機能を示す TEWL、メラニン生成を示す褐色斑点、自覚症状の肌荒れが有意に改善された。また、シワについてもプラセボ群と比較して悪化を抑制する傾向を認めた。これらの結果を踏まえて細胞実験で作用機序を精査し、チロシナーゼ活性抑制等を介したメラニン生成抑制、および線維芽細胞増殖・コラーゲン産生を介した3次元コラーゲングルによる弾力性促進を認めた。これらの結果はヒト試験での結果を裏付けるものとなった。

本論文は産業廃棄物から新規素材を見出し、トルラ酵母抽出物およびトルラ酵母 GlcCer の皮膚に対する機能性食品としての利用の可能性を示唆している。本論文が博士学位論文として価値があるものと判断した。

## 6 最終試験の結果の要旨

令和元年8月22日（木）午前11時より、稲盛記念会館会議室において公開の博士学位論文発表会を行った。約30分の発表後、約30分の質疑応答が行われた。質問の内容は、トルラ酵母から GlcCer を生成することのアドバンテージ、グル収縮における酵母 GlcCer の作用機序、酵母 GlcCer の消化吸収、細胞実験とヒト試験の関連性、ヒト試験被験者のリクルート方法など多岐に渡ったが、概ね適切に回答した。また、博士論文の論理展開順の変更等を指摘されたため修正を行った。4章の

ヒト試験の結果を2章に移動し、ヒトでの実証を先に示し、その後細胞実験で各々の結果の作用機序を解明する構成に変更した。また、すべての章で公聴会での指摘点をふまえて考察を深めることで大幅に改訂した。その後、審査委員全員一致で最終試験合格とした。

## 7 学力の確認の結果

別紙に記載するように、学力確認を行った結果、合格とした。