



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development of analytical method for monitoring sphingomyelin synthase and discovery of its natural inhibitor from Hizikia fusiformis
Author(s)	Madhuvanahalli Sundaraswamy, Punith
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(食資源学)
Dissertation Number	甲第17001号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k17001
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99845
Type	doctoral thesis
File Information	Madhuvanahalli_Sundaraswamy_Punith_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士 (食資源学) 氏名 Madhuvanahalli Sundaraswamy Punith

審査担当者	主 査	准教授 ボメゴウダ シッダバサーブゴウダ
	副 査	教 授 高橋 昌志
	副 査	准教授 小林 国之

学 位 論 文 題 名

Development of analytical method for monitoring sphingomyelin synthase and discovery of its natural inhibitor from *Hizikia fusiformis*

(スフィンゴミエリン合成酵素のモニタリング分析法の開発とヒジキからの天然阻害剤の発見)

脂質は、細胞構造の維持、エネルギー貯蔵の提供、恒常性維持に不可欠なシグナル伝達経路の仲介において重要な役割を果たす基礎的な生体分子である。その中でもスフィンゴ脂質は、アポトーシス、炎症、膜組織化を調節する重要な生物活性脂質群を構成する。スフィンゴ脂質経路の鍵酵素であるスフィンゴミエリン合成酵素 (SMS) は、セラミド (Cer) とホスファチジルコリン (PC) からスフィンゴミエリン (SM) とジアシルグリセロール (DAG) の合成を触媒する。スフィンゴミエリンとセラミド代謝における調節機能のため、SMS 活性の異常調節や過剰発現は、脂肪肝疾患、アテローム性動脈硬化症、神経変性疾患、大腸癌など複数の病態に関与している。本論文の目的は、SMS 活性をモニタリングするための堅牢な分析プラットフォームを開発し、主要な原料として褐藻ヒジキ (*Hizikia fusiformis*) を用いた食品由来の天然阻害剤を発見することである。さらに、ヒジキ由来のバイオマスペースのカーボンドットを生物学的応用に向けて調製することである。

第 1 章では、脂質およびスフィンゴ脂質の生物学の概要を概説し、SMS が Cer と SM の相互変換を制御することで、膜組織化、アポトーシス、炎症、疾患関連シグナル伝達を調節する仕組みに焦点を当てる。さらに SMS アイソフォーム、その調節機構、および現在利用可能な合成・天然阻害剤をまとめ、SMS が代謝性疾患、神経変性疾患、心血管疾患における有望な治療標的であることを確立する。

第 2 章では、SMS1 および SMS2 活性を精密に測定するための、感度が高く蛍光に依存しない細胞アッセイと液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) を統合した手法の開発について詳述する。ヒト SMS アイソフォームを安定発現する HeLa 細胞をモデル系として利用し、非蛍光性 C6-Cer 基質を用いて C6-SM への酵素的変換を正確に追跡した。この手法は従来の蛍光ベースアッセイの限界を克服し、SMS 活性の高特異的かつ再現性のある検出を可能とする。本アッセイは、よく特徴づけられた SMS 阻害剤であるギンコール酸 (C15:1) を用いて検証され、SMS1 および SMS2 に対してそれぞれ 5.5 μM および 3.6 μM の半数阻害濃度 (IC_{50}) を示した。補完的な分子ドッキングシミュレーションにより、両アイソフォームの触媒ポケット内におけるギンコール酸の安定な結合がさらに確認され、生化学的観察結果を裏付け、開発した分析プラットフォームの信頼性を強化した。

第 3 章では、ヒジキ由来の SMS 天然阻害剤の同定を調査した。生物活性誘導抽出法とクロマトグラフィー精製により、強力な SMS 阻害剤である *cis*-9-ドコセン酸 (9Z-DSA) を単離した。LC-MS ベースのキネティックアッセイでは、SMS1 に対して 4.5 μM 、SMS2 に対して 6.0 μM の IC_{50} 値を示す濃度依存的な阻害が確認された。分子ドッキングおよび分子動力学シミュレーション解析により、酵素活性部位内における 9Z-DSA の強い結合親和性、水素結合相互

作用、および顕著な立体構造安定性が明らかとなった。これらの知見は、9Z-DSEA が SMS 活性を調節する有望な天然分子であることを示しており、肥満関連代謝異常および脂肪肝の予防・管理における栄養補助食品としての有用性を示唆している

第 4 章では、新規な生物活性ナノ材料であるヒジキ由来カーボンドット (H-CDs) のグリーン合成と機能特性評価を紹介する。H-CDs はヒジキバイオマスを用いたワンステップ水熱プロセスにより合成され、強い青色発光 ($\lambda_{em}=407nm$ 、量子収率=8.7%)、超微粒子サイズ (0.85–3 nm)、およびヒドロキシル基、カルボキシル基、アミノ基などの豊富な表面官能基を有した。H-CDs の光学的・構造的特性は、優れた水溶性、コロイド安定性、生体適合性を付与した。in vitro 試験では SMS1 および SMS2 活性の顕著な阻害が確認され、これらのナノ材料の酵素標的型生体機能性を示唆した

第 5 章では、SMS 活性に対する様々な遊離脂肪酸の阻害効果について体系的な評価を行った。in vitro 酵素アッセイ、分子ドッキング、分子動力学シミュレーションを組み合わせた結果、ペンタデカン酸 (C15:0) が両 SMS アイソフォームの強力な阻害剤であることが判明した。ドッキング研究により、C15:0 と SMS1 および SMS2 の主要な触媒残基との間に強い非共有結合相互作用が明らかになった。一方、動的シミュレーションでは、時間経過に伴う酵素-リガンド間の安定した相互作用が確認された。これらの結果は、中鎖飽和脂肪酸がスフィンゴミエリン代謝の天然調節因子として持つ可能性を裏付けている

第 6 章では、肥満誘発マウスにおける C15:0 の食事補給が、高脂肪食による体重増加、脂質異常、および炎症促進性遺伝子発現を抑制することで、心臓、肝臓、脾臓に対して広範な保護効果をもたらすことを示している。C15:0 は膜脂質組成を回復させ、脂肪肝と病理的組織リモデリングを軽減し、修復的免疫プロファイルを促進する。これにより、奇数鎖飽和脂肪酸、特に C15:0 が心代謝・炎症性疾患を緩和し得る生物活性栄養素として支持され、現行の飽和脂肪ガイドラインの見直しが正当化される

本論文では、スフィンゴミエリン合成酵素活性の特性評価と天然阻害剤の発見に向けた、分析・生化学・計算科学を統合した枠組みを確立した。ペンタデカン酸などの奇数鎖飽和脂肪酸やヒジキ由来の多機能性炭素系ナノ材料といった生物活性分子の発見を通じ、細胞レベルおよび全身レベルで効果を発揮する、海洋由来および食事由来のスフィンゴ脂質代謝調節因子を明らかにした。これらの知見は総合的に、海洋由来治療薬および栄養補助食品戦略を推進し、スフィンゴ脂質に起因する代謝性疾患を調節するための持続可能かつ生理学的に関連性の高いアプローチを提供するものである。

よって、審査員一同は、Madhuvanahalli Sundaraswamy Punith が博士（食資源）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。