

博士論文（要約）

グルコシルセラミドおよびその代謝物による
腸管上皮サイトカイン産生制御機構の研究

嶋津 京子

目次

略語一覧	1
第1章 序論	3
第2章 グルコシルセラミドの腸管上皮細胞モデルにおける新規機能の解析	
第一節 グルコシルセラミドおよび代謝物の抗ウイルス応答に対する影響	13
第二節 植物由来スフィンゴイド塩基による発現変動遺伝子の網羅的解析	20
第3章 グルコシルセラミドおよびその代謝物の腸管上皮細胞モデルにおける サイトカイン産生への影響	
第一節 グルコシルセラミドおよび代謝物の <i>IFNβ</i> 発現への影響	38
第二節 グルコシルセラミドおよび代謝物の <i>TNF</i> 発現への影響	45
第4章 グルコシルセラミドおよびその代謝物のサイトカイン産生に関わる経路 および受容体の探索	
第一節 グルコシルセラミドおよび代謝物のサイトカイン発現に対する阻害剤の影響	50
第二節 グルコシルセラミドおよび代謝物のサイトカイン発現に関するシグナル伝達 経路への影響	59
第三節 グルコシルセラミドおよび代謝物のサイトカイン発現に関する受容体への影響	66
第5章 総合討論	73
引用文献	80
要旨	90
参考情報	94
謝辞	99

略語一覽

Akt: AKT serine/threonine kinase

BCR: B cell receptor

CoA: Coenzyme A

DAVID: Database for annotation, visualization and integrated discovery

DMEM: Dulbecco's modified eagle medium

DMSO: Dimethyl sulfoxide

DNA: Deoxyribonucleic acid

ELISA: Enzyme-linked immuno solvent assay

ESI: Electrospray ionization

FBS: Fetal bovine serum

FcγRIIa: Fcγ receptor IIa

FcεRI: Fcε receptor I

FDR: False discovery rate

GO: Gene ontology

HEK: Human embryonic kidney

IFN: Interferon

IFNAR: IFN-α/β receptor

Ig: Immunoglobulin

IκB: Inhibitor of NF-κB

IKK: IκB kinase

IL: Interleukin

IPA: Ingenuity pathway analysis

IRAK: IL-1 receptor-associated kinase

IRF: IFN-regulatory factor

ISG: IFN-stimulated gene

JAK-STAT: Janus kinase-signal transducer and activator of transcription

KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes

LPS: Lipopolysaccharide

Mal: MyD88 adaptor-like

MD-2: Myeloid differentiation protein-2

MDA5: Melanoma-differentiated-associated gene 5

MHC: Major histocompatibility complex

MyD88: Myeloid differentiation factor 88

NF-κB: Nuclear factor-κ B

NK: Natural killer
NMR: Nuclear magnetic resonance
OD: Optical density
PAMP: Pathogen-associated molecular pattern
PBS: Phosphate-buffered saline
pIRF: Phosphorylated IRF
PKR: Protein kinase R
Poly(I:C): Polyinosinic-polycytidylic acid
PPIA: Peptidylprolyl isomerase A
PRR: Pattern recognition receptor
PVDF: Polyvinylidene fluoride
RIG-I: Retinoic acid-inducible gene-I
RIP: Receptor-interacting protein
RNA: Ribonucleic acid
RT-qPCR: quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction
SEAP: Secreted-alkaline phosphatase
Sema3A: Semaphorin 3A
TAB2: TAK1 (MAP3K7)-binding protein 2
TAK1: TGF- β activated kinase 1
TANK: TRAF family member-associated NF- κ B activator
TBK1: TANK-binding kinase 1
TBS-T: Tris-buffered saline with tween-20 detergent
TCR: T cell receptor
TGF- β : Transforming growth factor- β
TIR: Toll/IL-1 receptor
TIRAP: TIR domain-containing adaptor protein
TLC: Thin-layer chromatography
TLR: Toll-like receptor
TNF: Tumor necrosis factor
TRAF: TNF receptor-associated factor
TRAM: TRIF-related adaptor molecule
TRIF: TIR domain-containing adaptor-inducing IFN- β
TYK: Tyrosine kinase

第 1 章

序論

第1章 序論

セラミドは、長鎖アミノアルコールであるスフィンゴイド塩基と脂肪酸が結合した特徴的な構造を有し、細胞膜や組織を構成している。皮膚においては、表皮の最外層に位置する角質層における細胞間脂質の約半分を占め^{1,3}、ラメラ構造を形成して水分を保持し、外部の刺激から皮膚を守るバリア機能に寄与している^{4,5}。セラミドが加齢や何らかの影響を受け減少すると皮膚のバリア機能が損なわれ、また、セラミドの減少はアトピー性皮膚炎や乾癬といった皮膚疾患と関連があることが知られている^{6,7}。体内において内因性のセラミドやセラミド-1-リン酸、スフィンゴシン、スフィンゴシン-1-リン酸といったスフィンゴ脂質の代謝物はシグナル伝達に関与する脂質メディエーターとして働き^{8,9}、アポトーシスや細胞増殖^{10,11}、ストレス応答^{12,13}、炎症応答^{14,15}等の生命維持に重要な細胞機能に関与すること¹⁶、また、細胞膜上に存在するスフィンゴ脂質はコレステロールとともに脂質ラフトを形成し^{17,18}、種々の情報伝達や膜輸送を介する物質輸送の場として機能することが報告されている^{19,20}。

一方、塗布あるいは経口によるセラミドの摂取が皮膚の保湿やバリア機能を向上させることが報告されている^{21,22} (Fig. 1-1)。植物由来では穀類や豆類に含まれる4位と8位に二重結合をもつ植物に特有のスフィンガジエニン (*trans*-4, *trans*-8-Sphingadienine (8-*trans*型)) あるいは *trans*-4, *cis*-8-Sphingadienine (8-*cis*型)) をスフィンゴイド塩基とするセラミド骨格にグルコースが結合したグルコシルセラミド²³⁻²⁵が、動物由来ではミルクや卵、肉に含まれるスフィンゴイド塩基としてスフィンゴシン (*trans*-4-Sphingenine (Sphingosine)) を有するセラミド骨格にホスホコリンが結合したスフィンゴミエリン²⁶⁻²⁸が、経口摂取される主要なセラミドとなっている。また、その分子種や含有比率はそれぞれの由来により異なり、米やトウモロコシでは8位に *cis*型の二重結合を有するスフィンガジエニン (8-*cis*型) が豊富に含まれている²⁴。ヒトは日常的に様々な食品からスフィンゴ脂質を摂取しており、その量は1日あたりアメリカ人で300~400 mg²⁷、日本人ではグルコシルセラミドで50~80 mg、スフィンゴミエリンで50~110 mg程度と報告されているが^{29,30}、ヒト試験においては、1日あたり植物由来のグルコシルセラミドでわずか0.6~1.8 mg^{21,22}、動物由来のスフィンゴミエリンでも数十 mg^{31,32}の摂取により皮膚保湿効果が確認されている。また、経口摂取されたスフィンゴ脂質は大部分がそのまま排泄されるが、一部はグルコースやホスホコリンなどの極性基が外れてセラミドとなった後、アミド結合が切れて脂肪酸とスフィンゴイド塩基にまで分解される³³⁻³⁵。動物由来のスフィンゴシンはごくわずかに腸上皮より吸収されるが、一般的な脂質と比較するとその吸収率は低く³⁴、植物由来のスフィンガジエニンでは薬物排出トランスポーターであるP-糖タンパク質 (P-glycoprotein) により排出され、さらに低い^{36,37}。ごくわずかに吸収されたスフィンゴイド塩基の大部分は脂肪酸に変換されてグリセロリン脂質となるが、一部は再びセラミドやスフィンゴ脂質に再合成されてリンパへ吸収される^{33,38}。最終的に皮膚においてセラミド合成酵素の発現上昇³⁹およびセラミド量の増加⁴⁰が確認されており、これらが皮膚保湿効果に寄与すると考えられているが⁴¹、皮膚にて植物に特有の8位に二重結合をもつスフィンガジエニン

は検出されていない。これらのことを踏まえると、経口摂取したセラミドやその代謝物が皮膚に達して直接保湿効果を発揮しているとは考えづらく、その作用メカニズムの全体像は十分に解明されていない。また、最近では植物由来グルコシルセラミドの経口摂取による抗炎症効果^{39,42}や抗腫瘍効果、さらにマウスの脾細胞において Interferon- γ (IFN- γ) や Interleukin-2 (IL-2) の産生上昇、免疫応答を Th1 優位に調節するといった免疫機能への関与が示唆されている。

腸管は外界と接しており、食品や腸内細菌叢、病原性微生物由来の外来抗原に常にさらされている。そのため腸管を形成する腸管上皮細胞には食品成分を吸収するだけでなく、物理的バリアとしての機能や様々な異物と最初に接し、迅速に強力な免疫応答を誘導する働きがある⁴³。この異物を非自己として認識し、排除する最初の応答が自然免疫系であり、Toll-様受容体 (Toll-like receptor: TLR) に代表されるパターン認識受容体 (Pattern recognition receptor: PRR) が重要な役割を担う^{44,45}。TLR は免疫応答に関わる組織や細胞⁴⁶だけでなく、外部環境にさらされている消化管⁴⁷や気管⁴⁸、皮膚⁴⁹などの非免疫組織の上皮細胞にも発現しているが、その種類や発現量については各組織や細胞、あるいは疾患などの健康状態により異なる⁵⁰。現在までにヒトでは 10 種類の TLR が同定されており^{51,52}、いずれも細胞外のロイシンリッチリピートと呼ばれる繰り返し構造により微生物に共通した分子構造 (Pathogen-associated molecular pattern: PAMP) を認識し^{53,54}、細胞内の Toll / IL-1 受容体 (Toll/IL-1 receptor: TIR) ドメインで下流のアダプタータンパク質と結合してシグナルを伝達する⁵⁵。細胞内局在に応じて、細胞膜上に発現し、主に病原体由来の膜成分を認識する cell-surface TLR (TLR1、TLR2、TLR4、TLR5 および TLR6) と、エンドソームなどの細胞内小胞に発現してウイルスや微生物由来の核酸を認識する endosomal TLR (TLR3、TLR7、TLR8、および TLR9) に大別される⁵²。TLR4 は細菌由来の細胞壁成分であるリポ多糖 (Lipopolysaccharide: LPS) を認識し^{56,57}、TLR3 はウイルス由来の二本鎖 RNA を認識することが報告されている^{58,59}。

下流のシグナル伝達経路としては、TLR3 を除く全ての TLR に共通の炎症性サイトカインの分泌をもたらす Myeloid differentiation factor 88 (MyD88) 依存性炎症経路および TLR3 および TLR4 に特有の I 型 IFN の産生に関わる TIR domain-containing adaptor-inducing IFN- β (TRIF) 依存性抗炎症経路が存在し、さらに TRIF 依存性経路を介する TLR4 はエンドソームに局在することが報告されている (Fig. 1-2)^{60,61}。MyD88 依存性経路では、細胞膜上の TLR は PAMP を感知すると二量体を形成し、細胞質の TIR ドメインにアダプタータンパク質である MyD88、MyD88 adaptor-like protein/TIR domain-containing adaptor protein (Mal/TIRAP) が結合し、Tumor necrosis factor (TNF) α receptor-associated factor (TRAF) 6 により IKK α および IKK β を含む IKK (I κ B kinase) 複合体を活性化させる。IKK 複合体は、抑制因子として働く inhibitor of NF- κ B (I κ B) をリン酸化して分解を誘導し、その結果、転写因子 Nuclear factor kappa B (NF- κ B) が遊離して核内へと移行し、TNF- α 、IL-6、IL-1 といった炎症性サイトカインの発現が誘導される。一方、エンドソームに局在する TLR3 および

TLR4 を介する TRIF 依存性経路では、TIR ドメインヘアダプタータンパク質である TRIF-related adapter molecule (TRAM) がリクルートされた後、TRIF がリクルートされる。TRIF は TRAF3 を介して TRAF family member-associated NF- κ B activator (TANK)-binding kinase 1 (TBK1) および IKK ϵ に結合し、これにより転写因子 IFN-regulatory factor (IRF) 3 がリン酸化されると、IRF3 は二量体を形成して核内へ移行し、抗ウイルス活性をもつ I 型 IFN の発現を誘導して、自然免疫、それに続く獲得免疫応答を誘導する⁶⁰。

インターフェロンの中でも IFN- α /IFN- β に代表される I 型 IFN は、ウイルス感染により誘導され、ウイルス複製を阻害し、Natural killer (NK) 細胞の溶解能とウイルス感染細胞での Major histocompatibility complex (MHC) クラス I 分子の発現を増加させ、Th1 細胞の発達を刺激することで強力な抗ウイルス作用を示すことが報告されている⁶²。ウイルス感染などにより誘導された IFN は、周囲の細胞に発現している I 型 IFN 受容体 (Interferon- α/β receptor: IFNAR) に結合し、Janus kinase-signal transducer and activator of transcription (JAK-STAT) 経路を介して、IFN 誘導遺伝子群 (IFN-stimulated genes: ISG) の発現を誘導し、細胞内にさらなる抗ウイルス作用、細胞増殖抑制作用をもたらす⁶³。

腸管表面を覆う単層の腸管上皮細胞は極性を有し、内腔側において様々な抗原シグナルを受け取り、その刺激や抗原の情報を基底側の免疫担当細胞に伝達することで腸管免疫系を制御し、恒常性を維持している。かつては単純な物理的バリアと見なされていた腸管上皮細胞だが、現在では腸の免疫機能において重要な役割を担うと考えられている⁶⁴。

腸管上皮を介した研究をするための *in vitro* モデルとして、ヒト結腸腺癌由来細胞株 (Human Colon Adenocarcinoma) である Caco-2 細胞株あるいは HT-29 細胞株が広く用いられる。Caco-2 細胞は腸上皮を介した吸収および輸送プロセスの研究に適しており、一方、HT-29 細胞は密着結合構造を有し、TLR3、Retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) および Melanoma-differentiated-associated gene 5 (MDA5) といった二本鎖 RNA に対する受容体の他、*TLR1~TLR6* および *TLR9* の発現が確認されており^{50,65}、PRR の活性化およびサイトカイン産生、それに続く自然免疫・獲得免疫応答に関連するシグナル伝達機構の研究に適する細胞モデルとして活用されている⁶⁶⁻⁶⁸。実際に、HT-29 細胞を腸管上皮細胞モデルとして、乳酸菌株を含むミルクや大豆の発酵物⁶⁹ および穀物の β -グルカン調製物⁷⁰ における免疫調節作用や抗酸化作用、バリア保護作用の研究が報告されている⁷¹。また、PRR を介した異物の認識とそれに続く免疫応答の誘導は、上皮細胞の恒常性維持に重要な役割を果たし、PRR の遺伝的な異常は腸管炎症を誘導するなど⁷²、腸管における恒常性維持に自然免疫応答は不可欠である。

免疫賦活能が報告される食品として、ビタミンやミネラルなどの栄養素の他、腸内細菌叢に働きかけるプレバイオティクスやプロバイオティクスが挙げられる。その免疫機能への作用は、腸内細菌叢を改善して腸管免疫系を改善するものから、マクロファージや樹状細胞、腸管上皮細胞に作用して IFN の産生を誘導し⁷³、T 細胞や NK 細胞⁷⁴、B 細胞^{75,76} などの免疫細胞

を活性化させて感染を防御したり、自然免疫・獲得免疫に作用するもの、アレルギー・炎症抑制⁷⁷など多様である (Fig. 1-3)。乳酸菌やビフィズス菌の中には皮膚保湿効果が認められている菌株もあり、その作用メカニズムとして便通改善⁷⁸や腸粘膜のバリア機能改善、腸内細菌叢の改善、Th1/Th2 サイトカインバランスの調節⁷⁹、抗炎症性サイトカインの誘導や分泌 IgA の産生増加⁸⁰といった免疫賦活能の関与が示唆されている。また、乳酸菌は TLR3 や TLR9 に作用してサイトカイン産生能をあげることで免疫賦活能を発揮することが報告されている⁸¹⁻⁸³。その他にも菌体膜成分であるリポタイコ酸が樹状細胞に発現する TLR2 を介して IL-12 産生を誘導して T 細胞を Th1 に分化させたり、IL-6 や TGF-β を産生させたりすることで Th17 細胞への分化を促す効果があること⁸⁴、リンゴや高麗人参などの野菜や果実に含まれる多糖類やオーーツ麦、大麦、小麦から分離されたグルカンが TLR4 を活性化すること⁸⁵、カテキン類が TLR2 や TLR3 を介した炎症を抑制する⁸⁶など、摂取した食品由来の成分が、体内において TLR に認識されてシグナル伝達に作用し、免疫機能を調節する例が報告されている。

本研究の目的

セラミドは表皮の最外層である角質層に豊富に含まれ、水分を保持し、刺激から皮膚を守るバリア機能に寄与している¹⁶。また、内因性のセラミド代謝物は脂質メディエーターとしてアポトーシスや細胞増殖・分化・遊走に関わる⁴。一方、セラミドの経口摂取は皮膚においてセラミド合成酵素の発現を上げ、セラミド量を増加させることで皮膚のバリア機能を向上させると考えられている⁴¹。しかし、ヒト試験において、日常のセラミド摂取量に対してごくわずかな摂取量で皮膚保湿効果がみられること²⁸、吸収率が極めて低いこと^{36,37}、その上、皮膚にて植物由来のスフィンゴイド塩基が検出されないことを考慮すると、経口摂取したセラミドやその代謝物が皮膚に到達して効果を発揮しているとは考えづらい。そこで、本研究では、腸管において植物由来グルコシルセラミドおよびその代謝物であるスフィンゴイド塩基が、腸管から皮膚に至る間にサイトカインシグナル伝達機構のような皮膚や全身へと波及する何らかのシグナル伝達経路に作用すると想定し、HT-29 細胞を腸管上皮細胞モデルとして検証を行った (Fig. 1-4)。また、スフィンゴ脂質の分子構造のわずかな違いにより生物活性が大きく変化することが報告されていることから⁸⁷、植物由来と動物由来、さらには植物由来のスフィンゴイド塩基においても二重結合の立体配置の違いによりその作用や強度が異なると予想した。

第2章

グルコシルセラミドの 腸管上皮細胞モデルにおける新規機能の解析

第2章 グルコシルセラミドの腸管上皮細胞モデルにおける新規機能の解析

第一節 グルコシルセラミドおよび代謝物の抗ウイルス応答に対する影響

第二節 植物由来スフィンゴイド塩基による発現変動遺伝子の網羅的解析

本章の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。

5年以内に出版予定。

第3章

グルコシルセラミドおよびその代謝物の
腸管上皮細胞モデルにおけるサイトカインの産生への影響

第3章 グルコシルセラミドおよびその代謝物の腸管上皮細胞モデルにおける サイトカイン産生への影響

第一節 グルコシルセラミドおよび代謝物の *IFN* 発現への影響

第二節 グルコシルセラミドおよび代謝物の *TNF* 発現への影響

本章の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。
5年以内に出版予定。

第4章

グルコシルセラミドおよびその代謝物の
サイトカイン産生に関わる経路および受容体の探索

第4章 グルコシルセラミドおよびその代謝物のサイトカイン産生に関わる経路および受容体の探索

第一節 グルコシルセラミドおよび代謝物のサイトカイン発現に対する阻害剤の影響

第二節 グルコシルセラミドおよび代謝物のサイトカイン発現に関するシグナル伝達経路への影響

第三節 グルコシルセラミドおよび代謝物のサイトカイン発現に関する受容体への影響

本章の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。

5年以内に出版予定。

第5章

総合討論

第5章 総合討論

本章の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。

5年以内に出版予定。

引用文献

- 1 Coderch, L., López, O., de la Maza, A. and Parra, J. L. Ceramides and skin function. *Am. J. Clin. Dermatol.* **4**, 107-129 (2003).
- 2 Elias, P. M. and Menon, G. K. Structural and lipid biochemical correlates of the epidermal permeability barrier. *Adv. Lipid Res.* **24**, 1-26 (1991).
- 3 Feingold, K. R. Thematic review series: skin lipids. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. *J. Lipid Res.* **48**, 2531-2546 (2007).
- 4 Wertz, P. W. and Downing, D. T. Glycolipids in mammalian epidermis: structure and function in the water barrier. *Science* **217**, 1261-1262 (1982).
- 5 Menon, G. K., Cleary, G. W. and Lane, M. E. The structure and function of the stratum corneum. *Int. J. Pharm.* **435**, 3-9 (2012).
- 6 Imokawa, G. *et al.* Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: an etiologic factor in atopic dry skin? *J. Invest. Dermatol.* **96**, 523-526 (1991).
- 7 Jensen, J. M. *et al.* Impaired sphingomyelinase activity and epidermal differentiation in atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* **122**, 1423-1431 (2004).
- 8 Takuwa, Y. *et al.* Subtype-specific, differential activities of the EDG family receptors for sphingosine-1-phosphate, a novel lysophospholipid mediator. *Mol. Cell. Endocrinol.* **177**, 3-11 (2001).
- 9 Ueda, N. Ceramide-induced apoptosis in renal tubular cells: a role of mitochondria and sphingosine-1-phosphate. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 5076-5124 (2015).
- 10 Galadari, S., Rahman, A., Pallichankandy, S. and Thayyullathil, F. Tumor suppressive functions of ceramide: evidence and mechanisms. *Apoptosis* **20**, 689-711 (2015).
- 11 Spiegel, S. and Merrill, A. H., Jr. Sphingolipid metabolism and cell growth regulation. *FASEB J.* **10**, 1388-1397 (1996).
- 12 Zheng, W. *et al.* Ceramides and other bioactive sphingolipid backbones in health and disease: lipidomic analysis, metabolism and roles in membrane structure, dynamics, signaling and autophagy. *Biochim. Biophys. Acta* **1758**, 1864-1884 (2006).
- 13 Harvald, E. B., Olsen, A. S. and Færgeman, N. J. Autophagy in the light of sphingolipid metabolism. *Apoptosis* **20**, 658-670 (2015).
- 14 El Alwani, M., Wu, B. X., Obeid, L. M. and Hannun, Y. A. Bioactive sphingolipids in the modulation of the inflammatory response. *Pharmacol. Ther.* **112**, 171-183 (2006).
- 15 Nixon, G. F. Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets. *Br. J. Pharmacol.* **158**, 982-993 (2009).

- 16 Dany, M. and Ogretmen, B. Ceramide induced mitophagy and tumor suppression. *Biochim. Biophys. Acta* **1853**, 2834-2845 (2015).
- 17 Simons, K. and van Meer, G. Lipid sorting in epithelial cells. *Biochemistry* **27**, 6197-6202 (1988).
- 18 Ikonen, E. Roles of lipid rafts in membrane transport. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**, 470-477 (2001).
- 19 Simons, K. and Ikonen, E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* **387**, 569-572 (1997).
- 20 Helms, J. B. and Zurzolo, C. Lipids as targeting signals: lipid rafts and intracellular trafficking. *Traffic (Copenhagen, Denmark)* **5**, 247-254 (2004).
- 21 浅井さとみ および 宮地勇人. 植物性セラミドの塗布および経口投与による皮膚保湿効果とその評価. *臨床病理* **55**, 209-215 (2007).
- 22 平河聡. 米胚芽エキス配合粉末顆粒の摂取による全身の皮膚バリア機能に対する改善効果. *薬理と治療* **41**, 1051-1059 (2013).
- 23 Sperling, P. and Heinz, E. Plant sphingolipids: structural diversity, biosynthesis, first genes and functions. *Biochim. Biophys. Acta* **1632**, 1-15 (2003).
- 24 Aida, K. *et al.* in *Advanced research on plant lipids* 233-236 (Springer, 2003).
- 25 Takakuwa, N., Saito, K., Ohnishi, M. and Oda, Y. Determination of glucosylceramide contents in crop tissues and by-products from their processing. *Bioresour. technology* **96**, 1089-1092 (2005).
- 26 Hannun, Y. A. and Obeid, L. M. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**, 139-150 (2008).
- 27 Vesper, H. *et al.* Sphingolipids in food and the emerging importance of sphingolipids to nutrition. *J. Nutr.* **129**, 1239-1250 (1999).
- 28 Blank, M. L., Cress, E. A., Smith, Z. L. and Snyder, F. Meats and fish consumed in the American diet contain substantial amounts of ether-linked phospholipids. *J. Nutr.* **122**, 1656-1661 (1992).
- 29 Sugawara, T. and Miyazawa, T. Separation and determination of glycolipids from edible plant sources by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detection. *Lipids* **34**, 1231 (1999).
- 30 YUNOKI, K. *et al.* Analysis of Sphingolipid Classes and Their Contents in Meals. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **72**, 222-225 (2008).
- 31 春田裕子, 上田典子, 加藤健, 辻秀一 および 吉岡俊満. 皮膚に対する牛乳由来スフィンゴミエリン高含有素材の臨床効果. *ミルクサイエンス* **58**, 135-141 (2009).
- 32 木村育子. SC-2 乳酸菌, コラーゲンペプチド, スフィンゴミエリン含有食品の摂取は肌の角層水分量を増加させる—ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験—.

- 薬理と治療 **45**, 929-938 (2017).
- 33 Nilsson, A. Metabolism of cerebroside in the intestinal tract of the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **187**, 113-121 (1969).
- 34 Nilsson, A. Metabolism of sphingomyelin in the intestinal tract of the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **164**, 575-584, (1968).
- 35 Sugawara, T., Kinoshita, M., Ohnishi, M., Nagata, J. and Saito, M. Digestion of Maize Sphingolipids in Rats and Uptake of Sphingadienine by Caco-2 Cells. *The Journal of Nutrition* **133**, 2777-2782 (2003).
- 36 Sugawara, T. *et al.* Efflux of sphingoid bases by P-glycoprotein in human intestinal Caco-2 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**, 2541-2546 (2004).
- 37 Fujii, A. *et al.* Selective Absorption of Dietary Sphingoid Bases from the Intestine via Efflux by P-Glycoprotein in Rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **63**, 44-50 (2017).
- 38 Nilsson, A. The presence of sphingomyelin- and ceramide-cleaving enzymes in the small intestinal tract. *Biochim. Biophys. Acta* **176**, 339-347 (1969).
- 39 Duan, J. *et al.* Dietary sphingolipids improve skin barrier functions via the upregulation of ceramide synthases in the epidermis. *Exp. Dermatol.* **21**, 448-452 (2012).
- 40 Shirakura, Y. *et al.* 4,8-Sphingadienine and 4-hydroxy-8-sphingenine activate ceramide production in the skin. *Lipids Health Dis.* **11**, 108 (2012).
- 41 菅原達也. 食品機能性成分としてのスフィンゴ脂質の消化と吸収. 日本栄養・食糧学会誌 **66**, 177-183 (2013).
- 42 Yeom, M. *et al.* Oral administration of glucosylceramide ameliorates inflammatory dry-skin condition in chronic oxazolone-induced irritant contact dermatitis in the mouse ear. *J. Dermatol. Sci.* **67**, 101-110 (2012).
- 43 Wells, J. M., Rossi, O., Meijerink, M. and van Baarlen, P. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108 Suppl 1**, 4607-4614, (2011).
- 44 Kawai, T. and Akira, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol.* **11**, 373-384 (2010).
- 45 Pichlmair, A. and Reis e Sousa, C. Innate recognition of viruses. *Immunity* **27**, 370-383 (2007).
- 46 Muzio, M. *et al.* Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J. Immunol.* **164**, 5998-6004 (2000).
- 47 Cario, E. and Podolsky, D. K. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease.

- Infect. Immun.* **68**, 7010-7017 (2000).
- 48 Guo, J. and Friedman, S. L. Toll-like receptor 4 signaling in liver injury and hepatic fibrogenesis. *Fibrogenesis and tissue repair* **3**, 21 (2010).
- 49 Begon, E. *et al.* Expression, subcellular localization and cytokinic modulation of Toll-like receptors (TLRs) in normal human keratinocytes: TLR2 up-regulation in psoriatic skin. *Eur. J. Dermatol.* **17**, 497-506 (2007).
- 50 Zarembek, K. A. and Godowski, P. J. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *J. Immunol.* **168**, 554-561 (2002).
- 51 Kagan, J. C. Signaling organelles of the innate immune system. *Cell* **151**, 1168-1178 (2012).
- 52 Akira, S., Uematsu, S. and Takeuchi, O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* **124**, 783-801 (2006).
- 53 Kawai, T. and Akira, S. Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.* **17**, 338-344 (2005).
- 54 Bell, J. K. *et al.* Leucine-rich repeats and pathogen recognition in Toll-like receptors. *Trends Immunol.* **24**, 528-533 (2003).
- 55 Akira, S., Takeda, K. and Kaisho, T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat. Immunol.* **2**, 675-680 (2001).
- 56 Takeuchi, O. *et al.* Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* **11**, 443-451 (1999).
- 57 Shimazu, R. *et al.* MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* **189**, 1777-1782 (1999).
- 58 Stahl-Hennig, C. *et al.* Synthetic double-stranded RNAs are adjuvants for the induction of T helper 1 and humoral immune responses to human papillomavirus in rhesus macaques. *PLoS Pathog.* **5**, e1000373 (2009).
- 59 Alexopoulou, L., Holt, A. C., Medzhitov, R. and Flavell, R. A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* **413**, 732-738 (2001).
- 60 Zheng, C., Chen, J., Chu, F., Zhu, J. and Jin, T. Inflammatory Role of TLR-MyD88 Signaling in Multiple Sclerosis. *Front. Mol. Neurosci.* **12**, 314 (2019).
- 61 Joosten, L. A., Abdollahi-Roodsaz, S., Dinarello, C. A., O'Neill, L. and Netea, M. G. Toll-like receptors and chronic inflammation in rheumatic diseases: new developments. *Nat. Rev. Rheumatol.* **12**, 344-357 (2016).
- 62 Samuel, C. E. Antiviral actions of interferons. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**, 778-809 (2001).

- 63 Hu, X., Yu, Y., Eugene Chin, Y. and Xia, Q. The role of acetylation in TLR4-mediated innate immune responses. *Immunol. Cell Biol.* **91**, 611-614 (2013).
- 64 Artis, D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat. Rev. Immunol.* **8**, 411-420 (2008).
- 65 Abreu, M. T. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat. Rev. Immunol.* **10**, 131-144 (2010).
- 66 Furrie, E., Macfarlane, S., Thomson, G. and Macfarlane, G. T. Toll-like receptors-2, -3 and -4 expression patterns on human colon and their regulation by mucosal-associated bacteria. *Immunology* **115**, 565-574 (2005).
- 67 Macpherson, C., Audy, J., Mathieu, O. and Tompkins, T. A. Multistrain probiotic modulation of intestinal epithelial cells' immune response to a double-stranded RNA ligand, poly(i c). *Appl. Environ. Microbiol.* **80**, 1692-1700 (2014).
- 68 Lea, T. in *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models* (eds Kitty Verhoeckx *et al.*) 95-102 (Springer International Publishing, 2015).
- 69 Wagar, L. E., Champagne, C. P., Buckley, N. D., Raymond, Y. and Green-Johnson, J. M. Immunomodulatory properties of fermented soy and dairy milks prepared with lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* **74**, M423-430 (2009).
- 70 Rieder, A., Grimmer, S., Kolset, S. O., Michaelsen, T. E. and Knutsen, S. H. Cereal β -glucan preparations of different weight average molecular weights induce variable cytokine secretion in human intestinal epithelial cell lines. *Food Chem.* **128**, 1037-1043 (2011).
- 71 Martínez-Maqueda, D., Miralles, B. and Recio, I. in *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models* (eds Kitty Verhoeckx *et al.*) 113-124 (Springer International Publishing, 2015).
- 72 Sheikh, A., Taube, J. and Greathouse, K. L. Contribution of the microbiota and their secretory products to inflammation and colorectal cancer pathogenesis: the role of toll-like receptors. *Carcinogenesis* **42**, 1133-1142 (2021).
- 73 Kawashima, T. *et al.* Double-stranded RNA of intestinal commensal but not pathogenic bacteria triggers production of protective interferon- β . *Immunity* **38**, 1187-1197 (2013).
- 74 Trinchieri, G. and Santoli, D. Anti-viral activity induced by culturing lymphocytes with tumor-derived or virus-transformed cells. Enhancement of human natural killer cell activity by interferon and antagonistic inhibition of susceptibility of target cells to lysis. *J. Exp. Med.* **147**, 1314-1333 (1978).
- 75 GeurtsvanKessel, C. H. *et al.* Clearance of influenza virus from the lung depends on migratory langerin+CD11b- but not plasmacytoid dendritic cells. *J. Exp. Med.* **205**,

- 1621-1634 (2008).
- 76 Tezuka, H. *et al.* Prominent role for plasmacytoid dendritic cells in mucosal T cell-independent IgA induction. *Immunity* **34**, 247-257 (2011).
- 77 Tsukada, C. *et al.* Immunopotential of intraepithelial lymphocytes in the intestine by oral administrations of beta-glucan. *Cell. Immunol.* **221**, 1-5 (2003).
- 78 伊澤佳久平ら. LB81 乳酸菌を使用したヨーグルトの皮膚機能改善効果に関する検証. 腸内細菌学雑誌 **22**, 1-5 (2008).
- 79 Ogden, N. S. and Bielory, L. Probiotics: a complementary approach in the treatment and prevention of pediatric atopic disease. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **5**, 179-184 (2005).
- 80 Ouwehand, A. C. Antiallergic effects of probiotics. *J. Nutr.* **137**, 794s-797s (2007).
- 81 Tsuji, R., Fujii, T., Nakamura, Y., Yazawa, K. and Kanauchi, O. Staphylococcus aureus Epicutaneous Infection Is Suppressed by Lactococcus lactis Strain Plasma via Interleukin 17A Elicitation. *J. Infect. Dis.* **220**, 892-901 (2019).
- 82 Shibata, T. *et al.* Lactococcus lactis JCM5805 activates anti-viral immunity and reduces symptoms of common cold and influenza in healthy adults in a randomized controlled trial. *J. Funct. Foods* **24**, 492-500 (2016).
- 83 Jounai, K., Sugimura, T., Morita, Y., Ohshio, K. and Fujiwara, D. Administration of Lactococcus lactis strain Plasma induces maturation of plasmacytoid dendritic cells and protection from rotavirus infection in suckling mice. *Int. Immunopharmacol.* **56**, 205-211 (2018).
- 84 Lightfoot, Y. L. and Mohamadzadeh, M. Tailoring gut immune responses with lipoteichoic acid-deficient Lactobacillus acidophilus. *Front. Immunol.* **4**, 25 (2013).
- 85 Zhang, X., Qi, C., Guo, Y., Zhou, W. and Zhang, Y. Toll-like receptor 4-related immunostimulatory polysaccharides: Primary structure, activity relationships, and possible interaction models. *Carbohydrate polymers* **149**, 186-206 (2016).
- 86 Hong Byun, E., Fujimura, Y., Yamada, K. and Tachibana, H. TLR4 signaling inhibitory pathway induced by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate through 67-kDa laminin receptor. *J. Immunol.* **185**, 33-45 (2010).
- 87 Brockman, H. L. *et al.* The 4,5-double bond of ceramide regulates its dipole potential, elastic properties, and packing behavior. *Biophys. J.* **87**, 1722-1731 (2004).
- 88 Longhi, M. P. *et al.* Dendritic cells require a systemic type I interferon response to mature and induce CD4+ Th1 immunity with poly IC as adjuvant. *J. Exp. Med.* **206**, 1589-1602 (2009).
- 89 Hooper, L. V. and Macpherson, A. J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat. Rev. Immunol.* **10**, 159-169 (2010).

- 90 Murakami, T., Hirono, R. and Furusawa, K. Efficient stereocontrolled synthesis of sphingadienine derivatives. *Tetrahedron* **61**, 9233-9241 (2005).
- 91 Krzystek-Korpacka, M. *et al.* Serum availability affects expression of common house-keeping genes in colon adenocarcinoma cell lines: implications for quantitative real-time PCR studies. *Cytotechnology* **68**, 2503-2517 (2016).
- 92 間和彦. 植物由来グルコシルセラミドの食品機能性評価とその応用 植物および真菌由来スフィンゴ脂質による大腸ガン予防効果. *オレオサイエンス* **7**, 141-149 (2007).
- 93 Carter, H. E. and Shapiro, D. CONFIGURATION OF DIHYDROSPHINGOSINE. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 5131-5132 (1953).
- 94 R Development Core Team, R. *A language and environment for statistical computing*. Vol. 1 (2006).
- 95 Gentleman, R. C. *et al.* Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biol.* **5**, R80 (2004).
- 96 Hochreiter, S., Clevert, D. A. and Obermayer, K. A new summarization method for Affymetrix probe level data. *Bioinformatics* **22**, 943-949 (2006).
- 97 Breitling, R., Armengaud, P., Amtmann, A. and Herzyk, P. Rank products: a simple, yet powerful, new method to detect differentially regulated genes in replicated microarray experiments. *FEBS Lett.* **573**, 83-92 (2004).
- 98 Kadota, K., Nakai, Y. and Shimizu, K. Ranking differentially expressed genes from Affymetrix gene expression data: methods with reproducibility, sensitivity, and specificity. *Algorithms Mol. Biol.* **4**, 7 (2009).
- 99 Benjamini, Y., Drai, D., Elmer, G., Kafkafi, N. and Golani, I. Controlling the false discovery rate in behavior genetics research. *Behav. Brain Res.* **125**, 279-284 (2001).
- 100 Huang da, W., Sherman, B. T. and Lempicki, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat. Protoc.* **4**, 44-57 (2009).
- 101 Haller, O., Kochs, G. and Weber, F. The interferon response circuit: induction and suppression by pathogenic viruses. *Virology* **344**, 119-130 (2006).
- 102 Barton, G. M. and Kagan, J. C. A cell biological view of Toll-like receptor function: regulation through compartmentalization. *Nat. Rev. Immunol.* **9**, 535-542 (2009).
- 103 Sasai, M., Linehan, M. M. and Iwasaki, A. Bifurcation of Toll-like receptor 9 signaling by adaptor protein 3. *Science* **329**, 1530-1534 (2010).
- 104 Menaldino, D. S. *et al.* Sphingoid bases and de novo ceramide synthesis: enzymes involved, pharmacology and mechanisms of action. *Pharmacol. Res.* **47**, 373-381 (2003).
- 105 Wu, B. X., Clarke, C. J. and Hannun, Y. A. Mammalian neutral sphingomyelinases:

- regulation and roles in cell signaling responses. *Neuromolecular Med.* **12**, 320-330 (2010).
- 106 Kitatani, K., Idkowiak-Baldys, J. and Hannun, Y. A. The sphingolipid salvage pathway in ceramide metabolism and signaling. *Cell. Signal.* **20**, 1010-1018 (2008).
- 107 Noh, S. K. and Koo, S. I. Milk sphingomyelin is more effective than egg sphingomyelin in inhibiting intestinal absorption of cholesterol and fat in rats. *J. Nutr.* **134**, 2611-2616 (2004).
- 108 Yunoki, K. *et al.* Dietary sphingolipids ameliorate disorders of lipid metabolism in Zucker fatty rats. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 7030-7035 (2010).
- 109 西田奈央. エクソソームの脂質二重膜の構成成分および生理機能. *オレオサイエンス* **21**, 69-75 (2021).
- 110 Montecalvo, A. *et al.* Exosomes as a short-range mechanism to spread alloantigen between dendritic cells during T cell allorecognition. *J. Immunol.* **180**, 3081-3090 (2008).
- 111 Bobrie, A., Colombo, M., Raposo, G. and Théry, C. Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses. *Traffic (Copenhagen, Denmark)* **12**, 1659-1668 (2011).
- 112 Robbins, P. D. and Morelli, A. E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nat. Rev. Immunol.* **14**, 195-208 (2014).
- 113 Pike, L. J. Rafts defined: a report on the Keystone Symposium on Lipid Rafts and Cell Function. *J. Lipid Res.* **47**, 1597-1598 (2006).
- 114 Matsumoto, M., Kikkawa, S., Kohase, M., Miyake, K. and Seya, T. Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **293**, 1364-1369 (2002).
- 115 Choudhuri, S. and Garg, N. J. PARP1-cGAS-NF- κ B pathway of proinflammatory macrophage activation by extracellular vesicles released during *Trypanosoma cruzi* infection and Chagas disease. *PLoS Pathog.* **16**, e1008474 (2020).
- 116 Lysakova-Devine, T. *et al.* Viral inhibitory peptide of TLR4, a peptide derived from vaccinia protein A46, specifically inhibits TLR4 by directly targeting MyD88 adaptor-like and TRIF-related adaptor molecule. *J. Immunol.* **185**, 4261-4271 (2010).
- 117 Mäkelä, S. M., Osterlund, P. and Julkunen, I. TLR ligands induce synergistic interferon- β and interferon- λ 1 gene expression in human monocyte-derived dendritic cells. *Mol. Immunol.* **48**, 505-515 (2011).
- 118 Yu, L., Wang, L. and Chen, S. Endogenous toll-like receptor ligands and their biological significance. *J. Cell. Mol. Med.* **14**, 2592-2603 (2010).

- 119 Häcker, H. *et al.* Specificity in Toll-like receptor signalling through distinct effector functions of TRAF3 and TRAF6. *Nature* **439**, 204-207 (2006).
- 120 Tseng, P. H. *et al.* Different modes of ubiquitination of the adaptor TRAF3 selectively activate the expression of type I interferons and proinflammatory cytokines. *Nat. Immunol.* **11**, 70-75 (2010).
- 121 Ciesielska, A., Matyjek, M. and Kwiatkowska, K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cell. Mol. Life Sci.* **78**, 1233-1261 (2021).
- 122 Husebye, H. *et al.* Endocytic pathways regulate Toll-like receptor 4 signaling and link innate and adaptive immunity. *EMBO J.* **25**, 683-692 (2006).
- 123 Hausmann, M. *et al.* Toll-like receptors 2 and 4 are up-regulated during intestinal inflammation. *Gastroenterology* **122**, 1987-2000 (2002).
- 124 Płóciennikowska, A., Hromada-Judycka, A., Borzęcka, K. and Kwiatkowska, K. Cooperation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cell. Mol. Life Sci.* **72**, 557-581 (2015).
- 125 田口 友彦. エンドソームの機能破綻に起因する疾患とその発症メカニズム. *生化学* **90**, 35-42 (2018).
- 126 Mobarak, E. *et al.* Glucosylceramide modifies the LPS-induced inflammatory response in macrophages and the orientation of the LPS/TLR4 complex in silico. *Sci. Rep.* **8**, 13600 (2018).
- 127 Yeom, M. *et al.* Glucosylceramide attenuates the inflammatory mediator expression in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. *Nutr. Res.* **35**, 241-250 (2015).
- 128 Józefowski, S. *et al.* Ceramide and ceramide 1-phosphate are negative regulators of TNF- α production induced by lipopolysaccharide. *J. Immunol.* **185**, 6960-6973 (2010).
- 129 Hankins, J. L., Fox, T. E., Barth, B. M., Unrath, K. A. and Kester, M. Exogenous ceramide-1-phosphate reduces lipopolysaccharide (LPS)-mediated cytokine expression. *J. Biol. Chem.* **286**, 44357-44366 (2011).
- 130 Usuki, S. *et al.* Neurite Outgrowth and Morphological Changes Induced by 8-trans Unsaturation of Sphingadienine in kCer Molecular Species. *Int. J. Mol. Sci.* **20** (2019).
- 131 Shimizu, H., Kuse, M., Minato, K. I. and Mizuno, M. Anti-allergic property of 4,8-sphingadienine stereoisomers in vivo and in vitro model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **577**, 32-37 (2021).
- 132 Tan, Y. and Kagan, J. C. Innate Immune Signaling Organelles Display Natural and Programmable Signaling Flexibility. *Cell* **177**, 384-398.e311 (2019).
- 133 Fang, Z. *et al.* Probiotics modulate the gut microbiota composition and immune responses in patients with atopic dermatitis: a pilot study. *Eur. J. Nutr.* **59**, 2119-2130

- (2020).
- 134 Prakoeswa, C. R. S. *et al.* Beneficial effect of *Lactobacillus plantarum* IS-10506 supplementation in adults with atopic dermatitis: a randomized controlled trial. *The Journal of dermatological treatment*, 1-8 (2020).
- 135 Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Munoz-Quezada, S. and Gil, A. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *Br. J. Nutr.* **109**, S35-S50 (2013).

謝辞

本研究は、東京大学大学院 農学生命科学研究科 食品機能学寄付講座にて行いました。本論文の完遂にあたりご支援いただきました多くのみなさまに心から感謝いたします。

本研究の遂行にあたり多くのご指導をいただきました東京大学大学院 農学生命科学研究科 食品機能学寄付講座 岡田晋治特任准教授に心より感謝いたします。

また、同研究室の石島智子特任助教には、実験手法を教えていただき大変お世話になりました。

中間審査および最終審査では、同専攻の食品生化学研究室 佐藤隆一郎教授、食の安全研究センター 免疫制御研究室 八村敏志准教授、生物機能開発化学研究室 三坂 巧准教授、食の健康科学（ニッポン）寄付講座の小林彰子特任准教授より、審査員として貴重なご指導とご助言を賜り感謝申し上げます。

本研究を遂行するにあたり貴重な試料をご供与くださいました国立研究開発法人 産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門 村上梯一博士に感謝申し上げます。

また、所属する食品機能学寄付講座のみなさま、快く受け入れてくださりありがとうございました。

このような貴重な機会を与えてくださった東京大学 阿部啓子特任教授、株式会社ニッポン 前鶴俊哉代表取締役社長、イノベーションセンター 間 和彦センター長に深く感謝申し上げます。また、同センター 宮下留美子副センター長、福光 聡主幹には、会社業務と学術研究を遂行する上で温かいご支援をいただきましてありがとうございました。また、実験をお手伝いしてくださった譲原明子さん、様々なお力添えをくださったセンター員のみなさまに深く感謝いたします。最後に、いつも支えてくれる家族、友人のみなさまに感謝いたします。

2021年12月

嶋津 京子