

大麦焼酎粕を原料として精製および生産される生理機能成分に関する研究

上原, 絵理子

<https://hdl.handle.net/2324/7157411>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (農学), 論文博士
バージョン :
権利関係 :

氏名	上原 絵理子			
論文名	大麦焼酎粕を原料として精製および生産される生理機能成分に関する研究			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	竹川 薫
	副査	九州大学	教授	片倉 喜範
	副査	九州大学	准教授	樋口 裕次郎

論文審査の結果の要旨

日本の伝統的な蒸留酒である本格焼酎製造工程において、アルコール発酵後のもろみを蒸留後に残った液体は焼酎粕と呼ばれている。麦焼酎粕の上清画分は「発酵大麦エキス(Fermented Barley Extraction, FBE)」として調味料や微生物培養基材として利用されている。本研究では、FBE から炎症が発症の一因とされるロコモティブシンドローム(ロコモ)を抑制する成分と、尿酸値低減効果をもたらす成分の探索および同定を行っている。さらに、FBE を培地として乳酸菌を培養することにより生産された γ -アミノ酪酸(以下、GABA)が、肌弾力および筋肉量の維持に働く作用機序を細胞実験によって明らかにしている。

本研究では、まず FBE に含まれる抗ロコモ成分の同定と細胞および生体に与える影響を調べている。マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP) -13 はリウマチおよび変形性膝関節症の発症に関与する軟骨分解酵素である。そこで、FBE の樹脂処理乾燥物 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および HPLC 分画乾燥物 30-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を含む培地で、ヒト軟骨肉腫細胞(OUMS-27)を培養している。その結果、FBE の精製画分 FBE-P40-5 に含まれていたピログルタミルテトラペプチド pEPYP(pyro-Glu-Pro-Tyr-Pro、分子量 486、分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_7$) を 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上含む培地で培養した場合に、MMP-13 の遺伝子およびタンパク質の発現が有意に減少することを見出している。さらに、pEPYP を 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上と IL-6 を 50 ng/mL を含む培地でヒト急性 T リンパ芽球性細胞(TALL-1)を培養した結果、抗炎症性サイトカインである IL-10 の遺伝子およびタンパク質の発現が有意に増加していた。次に、リウマチモデルラットを用いて pEPYP 含有飼料の強制経口投与試験を行っている。その結果、対照群に比べ、pEPYP 20 mg/kg Body Weight/day 以上の投与群において、足根部の浮腫スコアおよび血清中の抗 II 型コラーゲン IgG 抗体濃度を低値に抑えた。さらに、膝関節に痛みや違和感のある健常男女に pEPYP 15 mg/day を 12 週間連続摂取させた結果、プラセボ群と比較して、変形性膝関節症患者機能評価尺度の「痛み・こわばりスコア」の変化量が有意に低下していた。以上の結果から、FBE に含まれる pEPYP が抗ロコモ効果を示すことを明らかにしている。

次に、FBE に含まれる尿酸値低減成分の同定を試みるため、尿酸排泄機構の一つである尿酸トランスporter-ATP binding cassette subfamily G member (ABCG) 2 の発現を増加させる成分を探索している。ヒト結腸癌由来細胞 (Caco-2 細胞)に FBE の樹脂処理乾燥物 2 mg/mL および HPLC 分画乾燥物 0.5-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を含む培地で培養を行っている。解析の結果、FBE の精製画分 FBE-P60-4-6 に含まれるピログルタミルプロリン pEP(pyro-Glu-Pro、分子量 226、分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4$) が、ABCG2 の遺伝子およびタンパク質の発現を有意に増加させることを見出している。

続いて、FBE を培地として乳酸菌を培養することで生産された GABA を用いて、皮膚細胞に与える影響について調べている。GABA を 0.1-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含む培地で正常ヒト真皮線維芽細胞 (NHDF)の

培養を行っている。その結果、1-10 $\mu\text{g/mL}$ の GABA は I 型コラーゲン(COL1A1) およびエラスチン(ELN)遺伝子の発現を増加させ、コラーゲン分解酵素 MMP-1 の遺伝子の発現を有意に減少させた。また、10 $\mu\text{g/mL}$ の GABA を含む培地で 7 日間培養し免疫蛍光染色を行った結果、エラスチンタンパク質の発現が増加した。この結果より、GABA は皮膚細胞によるコラーゲンおよびエラスチンの産生を促進することによって、肌の弾力を維持することを明らかにしている。さらに、GABA を 10-100 $\mu\text{g/mL}$ 含む培地で筋芽細胞(C2C12 細胞) を培養し、筋肉量制御関連因子に与える影響を検討した。細胞実験の結果、100 $\mu\text{g/mL}$ 以上の GABA は C2C12 細胞の増殖を有意に増加させた。また、10 $\mu\text{g/mL}$ 以上の GABA は、筋管細胞への分化を促進する因子である MyoD と、ミトコンドリアのエネルギー産生に関わる因子である PGC-1 α の遺伝子およびタンパク質の発現を有意に増加させた。一方、筋肉量を負に調節する因子である myostatin の遺伝子およびタンパク質の発現を有意に減少させた。以上の結果より、GABA は筋芽細胞に作用し、筋肉量の維持に貢献することを明らかにしている。

以上の知見を総合し、FBE から精製・同定した pEPYP および pEP は、それぞれ抗ロコモおよび尿酸値低減効果を有することを明らかにしている。また、GABA が有する肌弾力および筋力維持効果の作用機序を解明することができ、本研究は多くの新規な知見を見出したものである。これらの成果は、応用微生物学及び発酵醸造学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士(農学)の学位を得る資格を有するものと認める。