

博士論文要旨

氏名	本野 由季
学位の種類	博士（人間科学）
学位記番号	甲第21号
学位授与年月日	令和4年10月24日
学位授与の条件	神戸女学院大学学位規程第5条1項の規定による
学位論文題目	酒粕の機能性に関する研究

論文の要旨

我が国の平均寿命は1980年代に世界第1位となり、2019年時点で男性は81.41歳、女性は87.45歳と、現在に至るまで常に上位を維持しており、健康長寿国として知られている。日本が長寿国となった要因として、医学の進歩や生活水準の向上の他に、日本独自の食文化、すなわち日本食の影響が大きいと考えられている。日本食は欧米食と比べ、低脂肪、低カロリーであり、植物性食品や魚介類の構成量が多いと言われている。さらに、発酵食品や緑茶など、健康に有益であると考えられている食品も習慣的に食されていることも特徴の一つである。

しかし、近年我が国では食の欧米化が進み、主要な食材が植物性食品から動物性食品へと変化したことにより、乳製品や肉類などの動物性タンパク質や油脂類摂取が増加し、肥満者が増加傾向にある。

肥満は糖尿病、高血圧、高脂血症などの症状として複合的に見られるメタボリックシンドロームの原因であることから、多くの国々において問題視されている。厚生労働省によると、日本国内における20歳以上の男女における肥満者の割合は、男性は1976年で15.2%であったのに対し、2020年では31.3%と増加傾向にある。また女性においては1976年で21.1%であったのに対し、2020年では20.6%とわずかに減少したが、若年女性ではBMIは標準値でも、筋肉や骨と比較して脂肪が多い、つまり体脂肪率が高い状態（隠れ肥満）が多いと言われている。

一方、脂肪細胞とは細胞質に脂肪滴と呼ばれる脂肪の塊を有する細胞で、脂肪を貯える役割を持つ。脂肪細胞はアディポサイトカインと呼ばれる生理活性物質を分泌し、糖尿病、高血圧、高脂血症、動脈硬化を引き起こすことが認められている。エネルギーの過剰摂取に伴い大型化した脂肪細胞が増加すると、脂肪細胞の機能不全に陥り、健康にマイナスの影響を与えるアディポサイトカインの分泌が亢進する。アディポサイトカインの1つであるアンジオテンシンIIは血圧を上げる作用を持ち、高血圧症の原因となる。また、TNF- α はインスリン抵抗性を引き起こし、糖尿病の発症につながり、PAI-1は血液を固めて血栓を作りやすくすることが明らかにされており、これらのアディポサイトカインにより生活習慣病と呼ばれる疾患を引き起こすことが認められている。このように脂肪細胞の肥大は生活習慣病の発症と密接な関係をもっている。わが国

においても肥満者が増加傾向にあり、生活習慣病患者数の増加は現代の重要な社会問題とされている。

このような肥満による健康被害問題を解決する方法として、発酵食品が注目を集めている。発酵食品とは微生物を利用して食材をより有用な形に変化させたもので、日本に数多く存在する。代表的な発酵手法である清酒醸造によって得られる副産物である酒粕も発酵食品の1つである。酒粕とは、日本酒の醪（もろみ）を压榨した後に残る固形物のことを指す。醪とは日本酒を造る際に、酒母という酒の胚になるものに、麴、蒸米、仕込み水を混ぜて発酵させたものである。酒粕は我が国において漬物、粕汁や甘酒として食され、長い食経験を持つ。「酒は百薬の長」とも言われ、清酒はヒトの健康に対し何らかのプラスの影響を及ぼしていると考えられ、さらに清酒製造の副産物に関しても同様な健康効果（機能性）を有していると考えられる。

酒粕はこれまで報告された以外でもまだ多くの機能性を持つ可能性が秘められていると考えられ、酒粕に関する研究は未だ発展の途上であると考えられる。よって、本研究では酒粕の新たな機能性を見出し、その詳細なメカニズムについて解析することを目的として研究を実施した。

さらに近年では酒粕は食品素材としてだけでなく、酒粕抽出液などを配合した化粧品が多く提案され、その美容効果にも注目されている。先行研究では、マウス試験において酒粕に含まれる α -グルコシルグリセロール（以下 α GC）を皮膚に塗布することによるコラーゲン濃度の増加や、ヒト介入試験において α GCを含む化粧水の塗布による肌の弾力性の増加、また酒粕に含まれるスフィンゴ脂質による肌状態の改善などが報告され、酒粕による肌状態の改善効果が期待されている。よって、酒粕の美容効果を検証するため、正常ヒト皮膚線維芽細胞を用いた繊維芽細胞の活性化と、チロシナーゼ活性阻害への酒粕の効果を検証し、酒粕の美容効果についても明らかにすることを目的とした。

実験には酒粕を凍結乾燥した酒粕パウダー（以下、酒粕）、酒粕の不溶性画分集め、粉末化した酒粕難消化成分パウダー（以下、難消化成分）、酒粕を再度発酵して得られたエキスを粉末化した酒粕発酵エキス末（以下、発酵エキス末）の3種類の酒粕素材を用いた。

第1章では酒粕素材の組成成分を分析した。その結果、難消化成分には食物繊維が、発酵エキス末には遊離アミノ酸が多く含まれていることがわかった。それぞれの素材の抽出液においては酒粕には全糖が、難消化成分にはタンパク質が多く含まれていることが明らかとなった。

また、マウス由来の前駆脂肪細胞3T3-L1細胞を用い、酒粕素材抽出液の前駆脂肪細胞分化および脂肪蓄積に対する影響について解析した。その結果、食物繊維が豊富に含まれていた酒粕難消化成分100℃抽出液1mg/mlを培地に添加した場合、細胞の脂肪蓄積が最も抑制された(80.9%)。

第2章では第1章で脂肪蓄積抑制効果が確認できた酒粕難消化成分100℃抽出液1mg/ml添加培養細胞に焦点を当て、脂肪合成に関わる酵素活性解析、メタボローム解析およびReal-time PCRによる遺伝子発現の解析を行った。その結果、分化誘導後8日目で酒粕難消化成分100℃抽出液1mg/ml添加培養細胞のGPDH活性が低下することが認められた。またメタボローム解析において、酒粕難消化成分100℃抽出液1mg/ml添加培養細胞ではコントロールと比較し、

BCAAの代謝に変化が見られた。バリン、ロイシンは脂肪合成に関与していることがすでに報告されており、BCAAの代謝変化が脂肪蓄積抑制に関与していることが示唆された。

また、Real-time PCRによる遺伝子発現の解析では、酒粕難消化成分100℃抽出液1mg/ml添加培養細胞においてIL-6の有意な発現量の低下が見られた。IL-6の発現が低下することでLPL活性が高まることが報告されており、このメカニズムにより脂肪蓄積が抑制される可能性が示唆され、IL-6の発現低下が脂肪蓄積抑制に関与していることが示唆された。

第3章では、第1章において酒粕難消化成分100℃抽出液1mg/ml添加培養細胞で脂肪蓄積抑制が確認できたため、その抑制効果に関与している成分の特定を試みた。本章では実際に食されている酒粕と、酒粕に含まれている成分であるコウジ酸をサンプルとして用い、3T3-L1細胞の脂肪蓄積、GPDH活性、Real-time PCRによる遺伝子発現の解析を行った。

その結果、コウジ酸1mg/ml添加培養細胞の脂肪蓄積率は、分化誘導後4日目で(58.7%)および8日目で(52.2%)と顕著に抑制されることが明らかとなった。また、コウジ酸1mg/ml添加培養細胞においては、分化誘導後4日目で有意にGPDH活性の低下がみられ、Real-time PCRによる遺伝子発現の解析では脂肪細胞の分化因子とされるC/EBP β およびPPAR γ の発現低下が認められ、コウジ酸は脂肪細胞分化抑制に強く影響することが示唆された。さらに、コウジ酸添加によりIL-6の発現低下も確認され、IL-6の発現低下からLPL活性が上昇し、脂肪蓄積を抑制したことが推察された。3T3-L1細胞を用いた実験において、コウジ酸の脂肪蓄積抑制および脂肪細胞分化抑制に関する知見はこれまでに報告が見られず、本研究で認められたコウジ酸の脂肪蓄積抑制効果は初めて報告された知見であり、新規性がある研究結果であると思われる。

一方、酒粕では酒粕100℃抽出液1mg/ml添加細胞で最も脂肪蓄積が抑制された(79.5%)。GPDH活性では、有意な結果ではなかったが、分化誘導後8日目において低下する傾向がみられ、Real-time PCRにおける遺伝子発現の解析ではIL-6発現が有意に低下した。酒粕に含まれるコウジ酸は非常に微量であると考えられ、コウジ酸添加と比較して、酒粕添加による脂肪蓄積抑制効果は低かったが、Real-time PCRでは、コウジ酸と同様にIL-6の発現低下が認められ、同様のメカニズムで脂肪蓄積が抑制されたと考えられる。以上の結果から、酒粕摂取により肥満を抑制する可能性が示唆された。

第4章では、酒粕素材の新たな機能性の探索のため、正常ヒト皮膚線維芽細胞の培養やチロシナーゼ活性を測定することにより、酒粕の美容効果について検討した。正常ヒト皮膚線維芽細胞の培養においては、酒粕、発酵エキス末、酒粕難消化成分の各温度抽出液添加培養細胞において、細胞の増殖がみられた。チロシナーゼ活性においては、酒粕を水およびエタノールで抽出し、チロシナーゼ活性への影響について検討した。その結果、酒粕の水抽出およびエタノール抽出の両方において、チロシナーゼ活性の抑制がみられた。

以上のことから、酒粕を摂取することによりヒト皮膚線維芽細胞の増殖やチロシナーゼ活性が阻害され、酒粕を塗布したり、経口摂取したりすることで肌のハリやメラニン生成の抑制などの美肌効果も期待できることが推察された。

本研究の結果から、酒粕素材は肥満や肥満が引き起こすメタボリックシンドロームの予防・改

善のために活用できる可能性が示唆され、また肌状態改善に関しても有効である可能性が示唆された。このような酒粕の機能性を社会に広く知ってもらうことで、酒粕が人々の健康維持や増進、生活の質の向上に活用されることを期待したい。