

作用機序に関する説明資料

1. 製品概要

商品名	熟すやナイト
機能性関与成分名	L-テアニン
表示しようとする機能性	本品には、「L-テアニン」が含まれます。L-テアニンには、朝目覚めたときの疲労感を軽減することが報告されています。また、L-テアニンには、一過性の作業などによる精神的ストレス感をやわらげることが報告されています。

2. 作用機序

テアニンの睡眠とストレス対して推察される作用機序について以下のことが報告されている。脳内の神経伝達物質、受容体および *in vivo* 試験についてまとめた。

2-1. 睡眠の質を改善する作用機序

意識水準と脳とは密接な関係があり、脳波を判別することにより測定時点における意識水準を推定することが可能である(大熊輝雄 1988)。各政治においては β 波と α 波が混在して認められるが、覚醒から睡眠段階に移行するに従い α 波の出現に低振幅 θ 波が混入し始める。テアニンを経口摂取すると、脳波を指標とした測定において α 波を増強することが報告されている(小林 加奈理ら 1998, Nobre, A. C., et al. 2008)。 α 波の出現を促進することで円滑な入眠過程を進行させた可能性が推論される。

睡眠には脳の抑制性および興奮性のニューロン、更にはそれぞれのニューロンに作用する神経伝達物質が関与している。代表的な抑制性のニューロンはガンマアミノ酪酸(GABA)作動性ニューロンであり相互補完的な作用を示すことが知られている。Komada, Y.らは睡眠促進物質(Sleep promotion substance:SPS)を断眠ラットの脳幹から抽出し、ウリジンをSPSの一つとして同定している(Kodama, Y., et al. 1983)。ウリジンは抑制系のGABA作動性ニューロンの伝達活動をシナプスレベルで促進するように働く。更に、睡眠導入剤として知られているベンゾジアゼピン(Benzodiazepine、以下BZ)はBZ/GABAA受容体/Cl⁻複合体に結合し鎮静、催眠作用を示すことが知られている。GABA作動性ニューロンのアゴニストは抑制性ニューロンを刺激して鎮静と入眠を促進すると考えられている。Kimura, R.らはテアニンをマウスに腹腔内投与した後、脳内のGABA量を測定しており、投与30分後のGABA量は投与前に比較して有意に増加していた(Kimura, R., et al. 1971)。このことから、テアニンは抑制系のGABA作動性ニューロンの活性を抑制する物質も睡眠を促進すると考えられている。酸化型グルタミン酸はグルタミン酸作動性ニューロンの受容体に作用してニューロンの活動を阻害する。酸化型グルタミン酸も断眠ラットより抽出され同定された催眠促進物質であり、ラット脳内の神経細胞のシナプスの結合を抑制する。このように、グルタミン酸受容体のある種のアンタゴニストは睡眠を増加、促進させることが知られている(Komoda, Y., et al. 1990)。テアニンは *in vitro* に

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

おける試験で興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸に対するグルタミン酸受容体のイオンチャンネル内蔵型受容体である α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propionic acid (AMPA)、カイニン酸および N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体のアンタゴニストとして働くことが知られている (Kakuda, T., et al. 2002)。ラットの脳および大脳皮質膜の AMPA、カイニン酸および NMDA 受容体サブタイプとの結合を調べたところテアニンはどのサブタイプとの結合することが確認され、また神経伝達物質であるグルタミン酸と弱いながらも競合的に作用することが認められている。このように、テアニンは抑制性のニューロンの活動を促進し、興奮性のニューロンを抑制すると示唆され、脳内の神経伝達機構のレベルにおいても睡眠を促進している可能性が推測される。

参考文献

- 大熊輝雄. (1988). 臨床脳波検査基準. 脳波と筋電図 17, 81-99.
- 小林加奈理ら. (1998). "L-テアニンのヒトの脳波に及ぼす影響" Nippon Nogeikagaku Kaishi, 72, 153-157.
- Kakuda, T., A. Nozawa, et al. (2002). "Inhibition by theanine of binding of [3H]AMPA, [3H]kainite, and [3H]MDL 105,519 to glutamate receptors." Biosci Biotechnol Biochem 66(12):2683-6
- Kimura, R. and T. Murata (1971). "Influence of alkylamides of glutamic acid and related compounds on the central nervous system. I. Central depressant effect of theanine." Chem Pharm Bull (Tokyo) 19(6):1257-1261.
- Komoda, Y., M. Ishikawa, et al. (1983). "URIDINE A SLEEP-PROMOTING SUBSTANCE FROM BRAINSTEMS OF SLEEP-DEPRIVED RATS." Biomed Research 4(suppl):223-227.
- Komoda, Y., K. Honda, et al. (1990). "SPS-B, a physiological sleep regulator, from the brainstems of sleep-deprived rats, identified as oxidized glutathione." Chem Pharm Bull (Tokyo) 38(7):2057-9.
- Nobre, A. C., A. Rao, et al. (2008). "L-theanine, a natural constituent in tea, and its effect on mental state." Asia Pac J Clin Nutr 17 (Suppl 1):167-8.

2-2. ストレスをやわらげる作用機序

2-2-1. 脳内神経伝達物質

GABA

脳内の神経伝達物質は抑制性と興奮性に分けられる。抑制性の神経伝達物質の代表的なものとして γ (gamma)-aminobutyric acid (GABA) が知られている。Kimura, R. らは、マウスを用いテアニンを腹腔内に投与後、経時的に断頭し脳内の神経伝達物質の推移を観察している (Kimura, R. and Murata, T. 1971)。テアニン投与 30 分後に脳内の GABA 濃度が有意に増加していることが確認された。また、Yamada, T. らは、テアニン配合飲料水で飼育した母ラットの母乳で育てられた乳のみラットの脳内神経伝達物質の動態を確認している (Yamada, T., et al. 2007)。テアニンを投与した母ラットの母乳にテアニンは移行する。その母乳で育てられた

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

乳のみラットの脳内神経伝達物質の量を調べると、2週以降で脳内の GABA 濃度がコントロールに対し有意に増加していた。このように、テアニンを投与することにより脳内において重要な抑制性の神経伝達物質である GABA の濃度が増えるということから、抗ストレスの作用が発現すると推測される。

グリシン

グリシンも抑制性に作用する神経伝達物質のひとつである。Yamada, T.らは、前述の GABA と同様に乳のみラットの脳内神経伝達物質の動態を確認しており、テアニンを投与した母ラットの母乳で育てられた乳のみラットのグリシン量を調べると、1週目に脳内のグリシン濃度がコントロールに対し有意に増加していた (Yamada, T., et al. 2007)。また、Yamada, T.らはラットにおけるマイクロダイアリシス法により脳内の神経伝達物質の動態を確認している (Yamada, T., et al. 2005)。テアニンを脳内に還流させた際、グリシン、グルタミン酸、アスパラギン酸の脳内放出について調べたところ、グリシンはテアニン還流後有意に放出量が増加することが確認された。

アスパラギン酸

アスパラギン酸は興奮性に作用する神経伝達物質のひとつである。Yamada, T.らは前述のマイクロダイアリシス法により脳内の神経伝達物質の動態を確認している (Yamada, T., et al. 2005)。テアニンを脳内に還流させた際、グリシン、グルタミン酸、アスパラギン酸の脳内放出について調べたところ、アスパラギン酸はテアニン還流後有意に放出量が抑制されることが確認された。

ノルエピネフリン

ノルエピネフリンは、シナプス伝達の際にノルアドレナリン作動性ニューロンから放出される神経伝達物質として機能する。また、ストレス・ホルモンの1つであり、注意と衝動性が制御されている生物の脳の部分に作用する。アドレナリンと共に、この化合物は逃走あるいは逃避反応を生じさせて、心拍数を直接増加させるといった交感神経系を刺激することが知られており興奮性の作用を示すとされる。

Kimura, R.らはラットへテアニンを腹腔内投与した際の脳内ノルエピネフリン量の変化を調べている (Kimura, R. and Murata, T. 1986)。テアニン投与 30分、75分後に脳内のノルエピネフリン量が減少することが確認された。

セロトニン

セロトニンは脳内において情動的には抑制に働く神経伝達物質として知られている。セロトニンについては、動物試験において増加 (Yokogoshi, H., et al. 1998a, Yamada, T., et al. 2007)、減少 (Yokogoshi, H., et al. 1995, Yokogoshi, H. et al. 1998b)、変化なし (Kimura, R. and Murata, T. 1986) といった一貫した結果が得られていない。

2-2-2.受容体

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

グルタミン酸は中枢神経系において主要な興奮性神経伝達物質である。グルタミン酸の脳内における濃度上昇は、グルタミン酸受容体の活性化による興奮作用を示すとされる。テアニンはグルタミン酸受容体のアンタゴニストとして確認されており (Kakuda, T., et al. 2002)、テアニンは血液脳関門を通過することが知られており (Yokogoshi, H., et al. 1998s)、グルタミン酸受容体を阻害することから、抑制性に働くこと示唆される。

2-2-3. in vitro 試験

Unno, K.らはマウスによる社会的ストレスに対するテアニンの作用を確認している (Unno, K., et al. 2012)。2匹のマウスをパーティションにて仕切られた1ケージにそれぞれ1匹ずつ入れ1週間飼育した後、パーティションを取り除き1週間同一ケージで飼育することにより、マウスが本来持つ縄張りに対するストレスをかける。飲料水にテアニンを添加した群とコントロールを水とした群を対照にテアニンの効果を検討した。本試験においてストレス負荷により副腎の肥大が観察されるが、テアニン摂取群においてはコントロールに対し有意に副腎の肥大が抑制された。また、ストレス負荷により鬱症状が誘発される。抗鬱剤の作用は、マウスの尻尾を支点とし宙吊りした際、鬱症状により無動作時間や動作が長くなったり増えるという尾懸垂試験の行動を観察することで評価できる。テアニンを投与した群においては、無動作の時間がコントロールに比較し有意に短縮される結果となる。テアニンは社会的ストレスに対する抗ストレス作用が確認されたという結果を示唆している。また、カフェインや茶抽出物にはテアニンの抗ストレス作用との拮抗作用があることも確認している。

また、Unno, K.らは別の研究でも同様な研究を行っている (Unno, K., et al. 2011)。前試験と同様にマウスに社会的ストレスをかけた際のマウスの生存率は、テアニン投与群で高くなるという傾向が確認された。副腎の肥大および脳萎縮についてもテアニン投与群で有意に抑制されていた。更に、抗鬱作用を強制水泳試験および尾懸垂試験で評価しており、共にテアニンの投与において抗鬱作用が有意に認められている。

Tian, X.らはマウスを用いた慢性的なストレス負荷による学習能力低下モデルにおいてテアニンの抗ストレス作用に対する評価を行っている (Tian, X., et al. 2011)。マウスを直径 3.2cm 長さ 10.5cm のポリプロピレンチューブ内で拘束することによりストレス負荷をかける。ストレス負荷は1日8時間21日連続実施、テアニンはストレス負荷開始4週間後に Morris water maze テストと Step-thorough テストを実施しテアニンの効果を確認した。拘束ストレスによりマウスの学習能力は低下するが、テアニンの投与により学習能力の低下の抑制が認められている。また、試験終了後の血清中のコルチコステロン値はストレス負荷群で有意に上昇していたが、テアニン投与群では投与量依存的に有意に抑制された。更に記憶・学習において重要なモノアミン(ノルアドレナリン、ドーパミン)の脳および血清における動態を確認している。脳、血清のモノアミン量はストレス負荷において低下するが、テアニンの投与においては投与量依存的に有意に抑制されていた。このように、テアニンのストレスに対する作用が確認されている。

Takeda, A.らはラットにおけるテアニンの脳神経学分野における長期増強(LTP)に対する作用を確認している (Takeda, A., et al. 2012)。3週齢オスのラットを 0.3%テアニン水で3週間飼育した際、血中のコルチコステロン濃度はコントロールの水に対し有意に低かった。テアニンは

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

NMDA 受容体依存性 CA1 の LTP を減衰させ、NMDA 受容体非依存性 CA1 の LTP は増強させることが確認された。一方、30 秒の尻尾から吊り下げるといったストレス負荷で、テアニンにより減衰した NMDA 受容体依存性の CA1 の LTP の欠如を改善する効果がみられた。このことは、他の報告と同様にテアニンはストレス負荷において惹起されるストレスマーカーである血清のコルチコステロンの増加を抑制しており、またストレスにおける脳内の LTP への改善について示唆する結果であった。

Tamano, H.らは、前報の Takeda, A.らと同様な試験を試みている(Tamano, H., et al. 2013)。3 週齢オスのラットを 0.3%テアニン水で 3 週間飼育した際、30 分の強制水泳ストレス負荷後の血中のコルチコステロン濃度はコントロールの水に対し有意に低かった。強制水泳ストレス負荷後の認知能力(novel object recognition task)についてはテアニン摂取群で認知能力の向上が確認されている。LTP については Takada, A.らの 30 秒の尻尾から吊り下げるストレスより強い強制水泳ストレス負荷下においても同等な結果を報告している。

Yin, C.らは、マウスによりテアニンの抗不安作用を確認している(Yin, C. et al. 2011)。マウスにテアニンを 1,4 および 20mg/kg 体重で 10 日間ゾンデにて強制連続投与し、コントロールとして水、ポジティブコントロールとして抗鬱薬(クロミプラミン 20mg/kg 体重)との比較を行った。抗鬱作用は尾懸垂試験、強制水泳試験、オープンフィールド試験において評価。尾懸垂試験、強制水泳試験については、テアニン 1mg/kg 体重の投与量からコントロールに対し有意に抗鬱様作用が認められ、20mg/kg 体重の投与ではポジティブコントロールの抗鬱薬と同様な効果であった。オープンフィールド試験においてはテアニンの作用は確認できなかった。このように、Yin, C.らは、Unno, K.らの報告とは異なりストレス負荷なしの状況でテアニンの抗鬱作用を確認している。

Yang, Q. S.らは鶏雛鳥の社会的ストレスに対するテアニンの作用を確認している(Yang, Q. S., et al. 2007)。生後 7 日齢の雛鳥を個別に飼育すると不安行動を示す。テアニンを腹腔内投与することにより不安行動が抑制されていると報告している。

Tamano, H.らはラットにおけるテアニンの認知の評価を行っているが、ストレスに直接的な評価ではない文献であったため除外した(Tamano, H., et al. 2014)。

以上のように、テアニンにはマウスやラットにおいて、ストレス負荷の有無の条件、動物の行動やストレスマーカー、脳の機能性の変化を指標としたストレス緩和作用が確認されている。

以上のように、テアニンは脳内の神経伝達物質や神経受容体の面から興奮を抑制し、抑制を亢進する働きがあると想定された。また、動物行動学の面からもテアニンにはストレスに対する緩和作用があると推察された。

参考文献

Kakuda, T., Nozawa, et al. (2002). "Inhibition by theanine of binding of [3H]AMPA, [3H]kainite, and [3H]MDL 105,519 to glutamate receptors." *Biosci Biotechnol Biochem* 66(12): 2683-6.

Kimura, R and T. Murata (1986). "Effect of theanine on norepinephrine and serotonin levels in rat brain." *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 34(7):3053-7.

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

- Kimura, R and T. Murata (1971). "Influence of alkylamides of glutamic acid and related compounds on the central nervous system. IU. Central depressant effect of theanine." *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 19(6): 1257-1261.
- Takeda, A., H. Tamano, et al. (2012). "Unique Induction of CA1 LTP Components After Intake of Theanine, an Amino Acid in Tea Leaves and its Effect on Stress Response." *Cell Mol Neurobiol* 32(1): 41-8.
- Tamano, H., K. Fukura, et al. (2013). Preventive effect of theanine intake on stress-induced impairments of hippocampal long-term potentiation and recognition memory. *Brain Res Bull.* 95: 1-6.
- Tamano, H., K. Fukura, et al. (2014). "Advantageous effect of theanine intake on cognition." *Nutr Neurosci* 17(6): 279-283.
- Tian, X., L. Sun, et al. (2013). Protective effect of l-theanine on chronic restraint stress-induced cognitive impairments in mice. *Brain Res.* 1503: 24-32.
- Unno, K., K. Fujitani, et al. (2011). "Theanine intake improves the shortened lifespan, cognitive dysfunction and behavioural depression that are induced by chronic psychosocial stress in mice." *Free Radic Res* 45(8): 966-74.
- Unno, K., K. Iguchi, et al. (2012). "Ingestion of theanine, an amino acid in tea, suppresses psychosocial stress in mice." *Exp Physiol.*, 1-13
- Yamada, T., T. Terashima, et al. (2005). "Effect of theanine, r-glutamylethylamide, on neurotransmitter release and its relationship with glutamic acid neurotransmission." *Nutr Neurosci* 8(4): 219-26.
- Yamada, T., T. Terashima, et al. (2007). "Theanine, r-glutamylethylamide, increases neurotransmission concentrations and neurotrophin mRNA levels in the brain during lactation." *Life Sci* 81(16): 1247-1255.
- Yang, Q. S., P. X. Xu, et al. (2007). "Effects of theanine and houpu extract in 7-day chick social separation-stress procedure." *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 32(19): 2040-3.
- Yin, C., L. Gou, et al. (2011). "Antidepressant-like effects of L-theanine in the forced swim and tail suspension tests in mice." *Phytother Res* 25(11): 1636-9.
- Yokogoshi, H., Y. Kato, et al. (1995). "Reduction effect of theanine on blood pressure and brain 5-hydroxyindoles in spontaneously hypertensive rats." *Biosci Biotechnol Biochem* 59(4): 615-8.
- Yokogoshi, H., M. Kobayashi, et al. (1998a). "Effect of theanine, r-glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats." *Neurochem Res* 23(5): 667-73.
- Yokogoshi, H., M. Mochizuki, et al. (1998b). "Theanine-induced reduction of brain serotonin concentration in rats." *Biosci Biotechnol Biochem* 62(4): 816-7.