

作用機序に関する説明資料

1. 製品概要

商品名	リフレのぐっすりずむ b
機能性関与成分名	L-テアニン
表示しようとする機能性	本品に含まれる L-テアニンは、睡眠の質をすこやかに改善（睡眠効率<就床時間中の睡眠の割合>を上げ、すっきりとした目覚めと起床時の眠気・疲労感の軽減に役立つ）するとともに、一過性の作業などによるストレス（精神的負担）を和らげる機能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に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. 睡眠に対する作用機序

意識水準と脳波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)。覚醒時においては 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 波が連続的に出現し、入眠過程においては 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、興奮性のニューロンはグルタメート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(Komada, 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 作動性ニューロンに作用し入眠を促進している可能性が推察される。一方で、興奮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。酸化型グルタチオンはグルタメート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

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

ルタチオンも断眠ラットより抽出され同定された睡眠促進物質であり、ラット脳内の神経細胞のシナプス膜に存在するグルタメート受容体への興奮性神経伝達物質であるグルタメートの結合を抑制する。このように、グルタメート受容体のある種のアнта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* における試験で興奮性神経伝達物質であるグルタメートに対応するグルタメート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も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メート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定される。

自律神経系の機能と睡眠には密接な関係があり、夜間睡眠時の自律神経活動は起床時の睡眠感に強く影響する (Trinder J. 2001)。L-テアニンの睡眠に対する作用についてレビューの結果、L-テアニンと自律神経系の交感神経とは中程度の関連性があり、副交感神経とは弱いながらも関連性が認められた。通常の睡眠では、交感神経活動は減弱し、副交感神経活動が相対的に優位となる。これらから、L-テアニンが自律神経活動への効果を通じて睡眠の維持、安定性を改善していると考えられる。以上のことから、テアニンには睡眠を改善する作用があることが示唆され、主観的評価である起床時の疲労感や眠気を軽減する作用においても効果が示される可能性があると思われた。

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.
- Trinder J., J.Kleiman, et al., (2001), “Autonomic activity during human sleep as a function of time and sleep stage.” J Sleep Res, 10(4), 253-264.
- Kakuda, T., A. Nozawa, et al. (2002). "Inhibition by theanine of binding of [3H]AMPA, [3H]kainate, 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.
- Komada, 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

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

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ガンマアミノ酪酸 (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察される。

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の量を調べると、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、興奮性の神経伝達物質である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

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

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、この化合物は闘争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

テアニン投与における脳内セロトニンについては、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

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. 1998a)、グルタミン酸受容体を阻害することから、抑制性に働くと示唆される。

2-2-3 *in vivo* 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習性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。抗鬱薬の作用は、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。テアニンに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

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

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. 2013)。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の 30 分前に 2 または 4mg/kg 体重で経口投与した。ストレス負荷開始 4 週後に 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が低下するが、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観察している。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 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 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。脳 CA1 の LTP については Takeda, 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

別紙様式 (VII) - 1 【添付ファイル用】

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精神的ストレス感をやわらげる作用があると推察された。

参考文献

- Kakuda, T., A. Nozawa, et al. (2002). "Inhibition by theanine of binding of [3H]AMPA, [3H]kainate, 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.
- 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.
- 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). "Effects 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.

以上