

平成 21 年 6 月 15 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007 年度～2008 年度
 課題番号：19700602
 研究課題名（和文）茶葉成分テアニンの脳障害保護作用機構の解明と記憶学習能へ及ぼす作用
 研究課題名（英文）Study on brain injury protection of theanine, and effects of learning ability.
 研究代表者
 寺島 健彦（TAKEHIKO TERASHIMA）
 浜松大学・健康プロデュース学部・助教
 研究者番号：00398356

研究成果の概要（和文）：

緑茶成分テアニンには、実験的脳梗塞による脳細胞死抑制作用がある。本研究ではこの作用機構と傷害後の記憶学習能への影響を明らかにするため、脳内物質変動と記憶学習試験を行った。その結果、テアニン投与が傷害を受けやすい海馬でドーパミン放出量を増加させ、経口摂取でも脳内ドーパミン放出量が増加することを明らかにし、実験的脳梗塞モデルラットの記憶学習試験（受動的回避試験）で、テアニン投与が記憶保持を延長する可能性があることを示唆する。

研究成果の概要（英文）：

Theanine, a unique amino acid in green tea, has a neuroprotective effect after ischemia. In this study, clarify this protective mechanism and influence on memory and learning ability after the ischemia-reperfusion treatment rats. As a result, theanine increase dopamine release on hippocampus and striatum by oral administration. In addition, administration of theanine, tend to longer memory retention by the passive avoidance test of the ischemia-reperfusion treatment rats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	0	1,800,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	270,000	2,970,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：テアニン、マイクロダイアリシス、記憶学習

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因第3位である脳梗塞および脳卒中は障害後、一命を取りとめた場合においても、脳に物理的な障害を起こし、機能的障害を残す場合がある。その結果、発症後の生活

に困難をきたし、本人の QOL が低下することや、本人の周辺に携わる人への精神的・肉体的な影響も大きく、治療やケアにかかる医療費膨大などの多くの問題を抱えている。また高齢化社会を向かえ、今後も高齢者の人口が

増加する現状を考えると、それら医療費が減少するとは考えがたい。このような背景から、日常的に摂取できる食品成分に予防的作用を持つ成分があるとすれば、QOL 向上, 医療費削減などへ貢献できるものと考えられる。これまでの研究で緑茶の代表的なアミノ酸で、うまみ成分とされる、グルタミン酸の誘導体のテアニン (図 1) について、経口摂取することで脳内に取り込まれること、神経伝達物質質量を変化させることや、脳微小透析法を用いた研究でドーパミンの放出量が増加することが明らかとなっている。また、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHR-SP) の脳卒中発症遅延、寿命延長、脳障害保護などの作用があることを明らかにしてきた。さらに、実験的脳梗塞による神経細胞死や脳傷害を抑制することも報告されている。テアニンには脳を保護する作用があることが明らかであるが、現在のところその詳細な機構は明らかとなっておらず、脳が障害を受けた際に低下する認知機能に対する検討はこれまでになされていない。

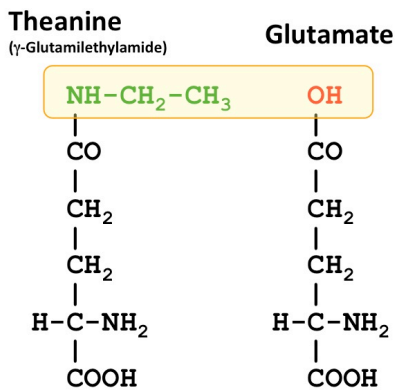


図1 テアニンとグルタミン酸の構造

2. 研究の目的

背景で示した通り、テアニンの脳保護作用機構の詳細や、その際の認知機能に対する検討はなされていないことから、本研究課題では、それらを明らかにすることを目的とし、次項について検討した。

(1) 脳微小透析法を用いて自由行動下のラットで、脳内神経伝達物質の放出へ、テアニンが影響するかを検討する。特に、実験的脳梗塞で傷害が起こりやすい脳部位である「海馬」での神経伝達物質の放出にテアニンが影響を及ぼすか否かについて検討する。またテアニンを経口的に投与した場合にも、脳内で神経伝達物質の放出パターンへ影響するかを検討する。これらの結果より、口からテアニンを摂取した場合の脳機能障害に対する作用を予測する。

(2) 脳虚血-再還流を行った、脳梗塞モデルラットを用いて認知機能への影響を調べる。認知機能の指標として、記憶学習試験である、モリス水迷路試験 (空間認知試験) や受動的回避試験を用いて評価する。その際、テアニン投与方法やタイミングが、これらの評価系における生成に影響するか否かを検討する。

3. 研究の方法

(1) 脳微小透析法による解析 (図 2)

脳微小透析法は、動物が自由に行動できる状態で、脳内における物質変動を解析できるシステムであり、脳局所間隙の神経伝達物質等の変動を把握できる。

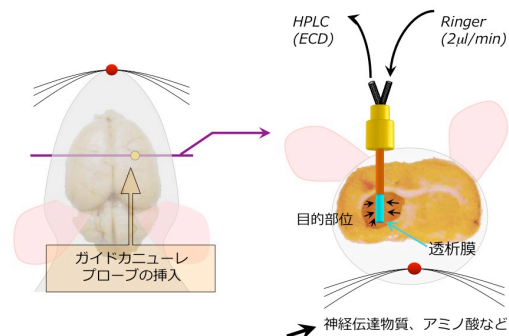


図2 ラットを用いた脳微小透析法

これまでにも、テアニンにより、脳線条体でのドーパミン放出促進作用解析に用いてきた。本研究においては、Wistar 系ラット (雄性、200-250g 前後) を用い、虚血-再還流で最も障害を受けやすい部位である海馬へ透析用プローブを挿入する。測定はガイドカニューレ挿入手術を行い、3 日間の回復期間後に行った。放出量 (ドーパミン) を 20 分ごとにモニターしながら、安定した時点で一定時間、定常状態を測定し、その後テアニンを投与することで、放出されるドーパミン量に変動するかどうかを、HPLC-ECD 法にて測定する。

(2) 同じく、脳微小透析法を用いて、これまで脳内に投与していたテアニンを、経口的に摂取した場合の変動を解析する。脳部位としてテアニン投与でドーパミン放出量が一過性に増加することが明らかな線条体とした。ガイドカニューレ挿入手術前 7 日間、一定時間 (11:00-17:00) の間だけ飼料を与えて、飼料提示後、すぐに飼料を摂取するように訓練したラットを用いて、測定を行った。ドーパミン放出量が一定になったのち、コンスターチ・スクロス混合飼料またはその飼料にテアニンを 5% 含有させた飼料をそれぞれ 5g 与えすべて摂取させ、ドーパミン放

出力の変動を解析する。

(3) 5日間、コントロール群には12%カゼイン食を、テアニン群には、12%カゼイン+1%テアニン食を自由摂取させた Wistar 系ラット（雄性、12週齢）を用い、それらラットに両側頸静脈閉塞法（回数2回、閉塞時間10分、間隔50分）を施して、実験的脳梗塞モデルラットを作成した。手術1週間後に記憶学習試験として、空間認知試験法として確立されているモリス水迷路試験のプロープテストを行い、虚血後に起こる認知機能低下を抑制できるか評価する。

また、テアニン摂取のタイミングが記憶学習行動へ影響するかを検討するため、血管を閉塞し虚血-再灌流を起こす直前および直後に、蒸留水またはテアニン溶液（10mg/100g体重）を経口投与したモデル（各群12匹）を作成し、記憶学習機能を受動的回避試験も用いて評価した。

4. 研究成果

(1) 2007年度においては、テアニンの脳機能保護作用の機構解明の一端を明らかにすることを目的として、まずはじめに、実験的脳梗塞を起こしたラットで障害が起りやすい部位「海馬」における脳間隙中成分（神経伝達物質など）の放出パターンに対してテアニン投与が影響するか否かを、脳内へのテアニン投与により調べた。方法は、前述した脳微小透析法を用い自由行動下で測定した。まず、海馬におけるドーパミン放出量の変動はこれまで線条体で見られた変化と同様、ドーパミン放出量が安定したのちに、灌流液中へテアニンを溶解して作用させることで、一過性の増加を示した。このように海馬においてもテアニンがこれまでと同様に作用することを明らかにした。（図3）

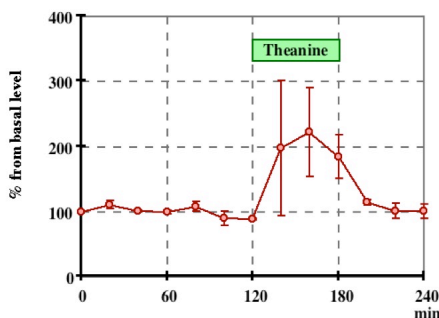


図3 脳海馬からのドーパミン放出に対するテアニン灌流の影響

また、テアニンを脳内へ投与した場合に観察される脳間隙中の神経伝達物質量の増加が、経口的に摂取し、吸収された場合においても起こりうるかについて、テアニンを含有した飼料を摂取させ、上記実験と同様に脳微小透析法を用いて検討した。その結果、ドーパミン放出量が安定した（120分）以降、コントロール群である、コーンスターチとスク

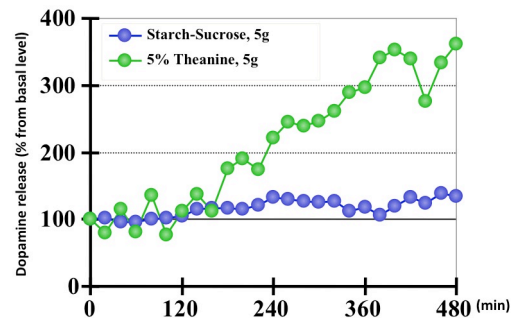


図4 テアニン含有飼料摂取後の脳内ドーパミン放出量の変化

ローズのみを摂取した群では、6時間後まで、大きな変動が見られなかったが、テアニン5%含有飼料を摂取すると、脳線条体におけるドーパミンの放出量が徐々に増加してゆき、摂取2時間から6時間後まで、放出量の増加が続くことが明らかとなった。（図4）これらの結果から、テアニンは直接脳内へ作用させた場合のみならず、経口的に摂取した場合においても、脳内神経伝達物質（ドーパミン）の放出に影響を与えることが明らかとなった。しかし、その作用機構については、本実験のみでは解明してはいない。

(2) 2008年度においては、虚血-再灌流による実験的脳梗塞モデルラットを用いて、脳梗塞後の記憶学習機能低下に、テアニン摂取や投与がどのように影響するかについて検討した。

まず、12%カゼイン食とその飼料にテアニンを1%混合した飼料を5日間摂取させたラットに、虚血-再灌流手術を施して、その後の障害度合いを、記憶学習試験である Morris 水迷路試験法を用いて検討した。

その結果、避難場所のあった位置をどの程度記憶しているかの指標となるプロープテストにおいて、飼料の違いによる有意な差はみられなかった。（図5）

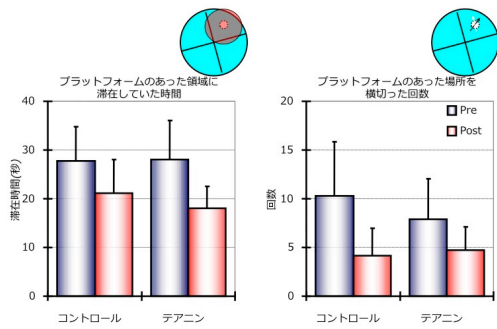


図5 モリス水迷路試験(プローブテスト)

そこで、テアニンの投与方法、タイミングおよび記憶学習試験方法を変更して、再度、検討を行った。投与方法とタイミングは、経口強制投与で、虚血-再灌流手術を行う直前と、直後に設定し、10mg /100g の濃度のテアニン溶液を投与した。対照群には蒸留水を投与している。記憶学習試験としては、受動的回避試験を行った。

その結果、蒸留水投与群に比べ、テアニン溶液を投与した群には、手術 24 時間 (1 日) 後の記憶保持の指標となる最大待機時間 (300 秒) に達するラットが多い傾向が観察された。また、5 日後に同じの試験を行ったところ、それぞれの群で最大待機時間 (300 秒) に達するラットがは少なくなっていたものの、やはりテアニン投与群の方が、多い傾向にあった。(図 6)

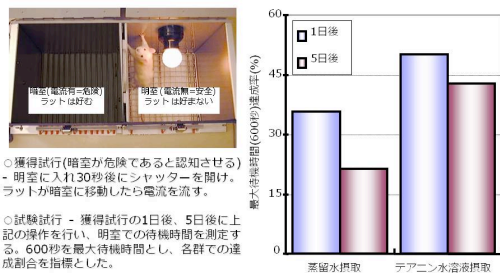


図6 受動的回避試験結果

以上の結果より、実験的脳梗塞モデルラットの記憶学習機能へのテアニン摂取や投与の作用は、テアニンの摂取方法や学習試験の種類により異なり、今回の実験からは傷害がおこる時間、すなわち虚血直前から再還流に移ったのちでの摂取が、より効果的である可能性が示唆された。

以上をまとめると、本研究を通じて、テアニンの摂取による脳内神経伝達物質への影響については、脳線条体のみならず、海馬にお

いても影響があり、経口摂取した場合においても作用することが明らかとなった。また虚血-再灌流による実験的脳梗塞モデルを用いた実験結果から、テアニンの摂取や投与の時期、評価する記憶学習試験によって、その作用が異なり、今回のモデルでは、傷害が発生する前後での投与が有効な可能性が示唆された。

今後、より効果的な摂取タイミングを検討すべきであると考えられ、SHR-SP の寿命延長効果などの結果からも、ラットの週齢等もさらに検討すべきであろう。

これらの検討を加えてゆくことで、テアニンが日常的に摂取できる食品成分の一つとして、高齢化やQOLの低下に関係する脳機能障害に対してどのような役割を担えるかが明らかになると考えられ、今後の研究の進展が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 件)

[学会発表] (計 件)

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

なし

○取得状況 (計◇件)

なし

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺島 健彦 (TAKEHIKO TERASHIMA)

浜松大学・健康プロデュース学部・助教

研究者番号：00398356

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし