

学位論文審査結果の報告書

氏 名

山津 敦史

生 年 月 日

昭和50年12月17日

本 籍 (国籍)

大阪府

学位の種類

博 士 (農 学)

学位記番号

第 249 号

学位授与の条件
(博士の学位)

学位規程第5条該当

論 文 題 目

γ -アミノ酪酸 (GABA) のヒトに対する生理作用

学位論文受理日

令和2年 11月 20日

学位論文審査終了日

令和3年 2月 2日

審 査 委 員

(主 査)

米谷 俊



(副主査)

上嶋 繁



(副主査)

森山 達哉

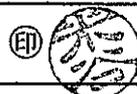


(副 査)



指 導 教 員

米谷 俊



論文内容の要旨

現代は、ストレス社会や高齢化社会と言われ、睡眠の質の低下や認知症などの健康に関わる諸問題への対応が求められている。本研究は、これらの健康問題への食品分野からのアプローチとしてγ-アミノ酪酸 (GABA) に焦点を当て、睡眠の質や認知機能に対する影響を調査した。

第1章では、GABAが高齢者の睡眠の質に及ぼす影響を調査した。60歳以上の約30%が不眠症を訴えており、高齢者の睡眠の質を改善できれば、その健康に貢献し社会への負担を軽減することができる。GABAはリラクゼーションとストレス緩和効果があると報告されており、ストレスが不眠症の主な原因であるため、GABAは睡眠の質に影響を与えると考えられていた。しかし、GABAが高齢者の睡眠の質に及ぼす影響はこれまで検証されていなかった。

介護施設に通院、または、入院している38人の被験者を対象に、プラセボ対照二重盲検並行群間試験を実施した。被験者を無作為にGABA群とプラセボ群の2つの群に分け、就寝時間の30~60分前に、毎日100 mgのGABAを含有するチョコレートまたはプラセボチョコレートを4週間摂取させた。摂取開始前、摂取後2週間、4週間後に、ストレスの指標となる唾液中のコルチゾール、睡眠の質に関する質問票および毎日の夜間の排尿頻度を測定した。

唾液中のコルチゾールは、摂取後4週間でプラセボ群で有意に増加したが、GABA群ではわずかに増加したのみで、プラセボ群に比べ、ストレスが緩和されていたと考えられた。睡眠の質に関する質問票では、GABA群の改善者の割合は、起床時の眠気、入眠と睡眠維持、目覚めた時の疲労回復の各項目で、プラセボ群よりも高かった。夜間の排尿頻度は、プラセボ群では変化なかったが、GABA群では10%有意に減少した。この結果、GABAは、高齢者のストレスを和らげ、睡眠の質を改善し、深く眠ることを可能にしたため、夜間の排尿頻度を減らすことができたことと示唆された。

第2章では、GABAが睡眠の質に及ぼす影響を、主観的および客観的な指標を使用して調査した。客観的な評価の結果が良好であったとしても、自覚症状を感じずに睡眠に満足できない人もいることが多い。これでは、生活の質 (QOL) は改善されないと見做されるため、客観的な指標の改善だけでなく、睡眠に対する満足感も評価した。

客観的指標 (脳波; EEG) と主観的指標 (睡眠質問票) の両方を用いて、GABAが睡眠の質に及ぼす影響を調べるために、プラセボ対照単一盲検試験を実施した。この研究では、GABAに加えて、ヒペロシンドとイソクエルシトリンを含み、抗不安作用があると報告されているラフマ (*Apocynum venetum*) の葉の抽出物 (AVLE) の効果も同時に検証した。被験者には、ピッツバーグ睡眠質問票 (PSQI) を使用し、睡眠の質がわずかに悪い (PSQIスコア合計が6以上) 16人の健康な被験者を選抜した。被験者を無作為に4つの群に分け、GABA (100 mg摂取) 群、AVLE (同50 mg) 群、GABA (100 mg) + AVLE (50 mg) 群、およびプラセボ群がそれぞれ8人となるようにした。被験者は就寝時刻の30分前に1週間毎日試験サンプルを摂取した。夜間睡眠時の脳波は、1週間の試験期間開始前夜と試験期間最終日の夜に測定し、翌朝、PSQIと視覚的アナログ尺度 (VAS) を用いて、睡眠の満足度の調査を実施した。

EEGの結果から、GABA群が入眠潜時を有意に5.3分短縮し、AVLE群がノンレム睡眠時間を有意に7.6%増加させたことが明らかとなった。また、GABA群とAVLE群の両方で、VASとPSQIのスコアを改善する傾向があった。脳波と質問票ではGABA群とAVLE群の間に明確な相乗効果は見られなかったが、それぞれの効果は互いに干渉することなく示された。GABAとAVLEは、主観的な症状と客観的な指標で睡眠の質を改善する可能性のある食品素材であることが示唆された。

第3章では、第2章に続いて、主観的および客観的な指標を用いて、睡眠の質に対するGABAの影響を調査した。試験は、無作為化プラセボ対照シングルブラインドクロスオーバーで実施した。被験者として上記と同様に、睡眠の質がわずかに悪い (PSQIスコア合計が6以上) 10人の健康な被験者を選抜した。被験者を無作為に2つの群に分け、GABA (100 mg摂取) またはプラセボを就寝時刻の30分前に1週間毎日摂取させた。クロスオーバーの間に1週間のウォッシュアウト期間を設けた。睡眠中の脳波は、1週間の試験期間開始前夜と試験期間最終日の夜に測定し、翌朝にPSQIとVASを用いてアンケートを実施した。

EEGの結果、プラセボ群に比べて、GABA群では睡眠潜時が有意に5.0分減少し、ノンレム睡眠時間が有意に2.2%増加した。質問票では、GABA群は目覚めたときの気持ちを大幅に改善した。また、GABAの生体吸収について検証するために、別途、10人の健康な被験者に200 mgのGABAを摂取させ、摂取前、摂取後30分、60分後に採血し、血中GABA濃度を測定した。血漿GABA濃度は、摂取前の244 nmol/Lから摂取後30分で329 nmol/Lに増加し、摂取後60分で290 nmol/Lに減少した。

以上のように、脳波に加えて、主観的評価による睡眠の改善は、GABAが客観的および主観的に睡眠の質を改善することができる食品素材であることを示した。GABAは30分程度で吸収されることから、入眠潜時を改善でき、これが睡眠の質へ影響していることが示唆された。

第4章では、通常用量（100 mg/日）での認知機能に対するGABAの効果を調査した。認知症は、超高齢社会において解決するのが最も難しい健康問題の1つであるが、症状が現れる前に認知機能の低下を遅らせ、予防することは非常に重要である。先行研究で、GABAが認知症モデルマウスで学習改善効果があることが示されている。また、ヒトでは、ストレスや睡眠に効果的なGABAの摂取量は1日あたり約100 mgであることが示されているが、ヒトの認知機能への影響はこれまで検証されていないかった。

本試験では、健康な中年または高齢者を対象に、無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間試験を実施した。記憶力が低下したと感じた40歳以上の健康な日本人男女335人を募集し、ミニメンタルステート検査（MMSE）のスコアが24点以上で病気のない60人を選抜した。試験期間は合計16週間、摂取期間は12週間、追跡期間は4週間とした。被験者を無作為に2つの群に分け、GABA（100 mg摂取）またはプラセボを12週間毎日服用させた。認知機能やQOLの評価および血液学的、血液生化学的検査や尿検査によって評価された安全性を、4週間ごとに測定した。認知機能の評価には、日本語版のCognitrixと日本語版のRBANSを使用した。QOLの評価にはSF-36v2を使用した。

GABA群は、12週目に有意に高いRBANS視空間/構造的および遅延記憶スコアを示した。さらに、SF-36v2の身体機能スコアは、GABA群の8週目に有意に高かった。血液・尿分析の安全項目によっては数値が変化したものの、生理的変動の範囲内であり、GABAによる有害事象は認められなかった。

視空間/構造記憶および遅延記憶は、一般に空間認知および記憶として認識されている機能であり、日常生活において重要な機能である。GABAは中高年の人々の空間認知と記憶を維持または改善し、さらに、これらの認知機能を維持または改善することにより、身体的QOLが改善されることが示唆された。

第5章では、第4章の研究を高用量（200 mg/日）で実施した。上記と同様に、健康な中年または高齢者を対象に、無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間試験を実施した。記憶力が低下したと感じた40歳以上の健康な日本人男女335人を選び、MMSEスコアが24点以上で病気のない60人を選抜した。試験期間は、合計16週間、摂取期間は12週間、追跡期間は4週間とした。GABAの摂取量以外は、被験者の群分け、GABAまたはプラセボの摂取などは上記の試験と同様であった。また、認知機能の評価、安全性の評価も同様に実施した。

プラセボ群に比べて、GABA群は、12週目にCognitrix Non-Verbal推論、8週目にワーキングメモリと持続的注意について有意に高いスコアを示した。RBANS視空間/構造的および遅延記憶スコアは、GABA群の12週間で有意に高かった。さらに、SF-36v2は、GABA群で8週間の役割物理、4、8、12週間の活力、4週間のメンタルヘルスで有意に高いスコアを示した。血液・尿分析で評価した安全項目によっては数値が変化したものの、生理的変動の範囲内であり、GABAによる有害事象は認められなかった。GABAの摂取量を200 mg/日に増加した本試験でも、100 mg/日のものと整合性のある結果が得られた。

本研究では、経口摂取したGABAがヒトの睡眠の質と認知機能に影響を与えることを明らかにした。この研究成果は、GABAがストレスの多い超高齢社会における健康課題への食品分野からのアプローチとしての解決策の1つを提示できることを示した。

論文審査結果の要旨

本研究では、ヒトを対象とした γ -アミノ酪酸 (GABA) の経口投与による睡眠促進作用および認知状態の改善作用を明らかにすることを目的に実施した。

現代社会は、グローバル化、24時間社会化、情報化、超高齢化などの影響により、社会、経済、産業などの急激な変革が生じ、多くの人々がストレスや不安を抱きながら生活しているストレス社会とも言われている。厚生労働省の「国民健康・栄養調査」は、日本国民の60~70%の人々がストレスを感じる生活をおくっていることを報告しており、この状況は、平成14年の調査から現在までほとんど変わっていない。ストレスは、睡眠不足にも繋がり、睡眠不足は、個人の生活だけでなく、仕事上の事故などにも繋がるなど、全体的な経済損失は、4兆円にもものぼると推計されている。さらに、日本は、世界に先駆けて超高齢社会に突入しており、現在、65歳以上が人口の約28.4%となっている。加齢は、認知症の最大の危険因子と言われており、2012年は認知症患者数が約460万人（高齢者人口の15%）だったが、2025年には5人に1人、20%が認知症になるという推計も存在する。加齢による認知機能の低下は避けられないので、これを如何に遅らせるかが、超高齢社会では重要になると考えられる。

GABAは、動物、植物、微生物など自然界に広く存在する非たんぱく性のアミノ酸であり、生体内では、L-グルタミン酸からグルタミン酸デカルボキシラーゼにより生成される。高等生物において、GABAは、抑制系の神経伝達物質として脳内に存在することが明らかにされて以来、膨大な研究が実施されている。日本では1959年から頭部外傷後遺症に伴う諸症状を適応症とした医療用医薬品（脳代謝促進剤として、成人1日3gを3回に分割経口投与する）として利用されてきたが、2000年からは食品の健康機能成分としての利用が可能になった。食品分野では、血圧降下作用の研究が実施され、GABAを富化（加工工程でGABAの蓄積を促進）した食品（茶（ギャバロン茶）、発芽玄米、かぼちゃ、醗酵大豆、クロレラ、アガリクス、紅麹など）が開発された。医薬品としての使用経験や2000年以降の食品としての摂取の経験から、GABAは、g単位で大量に摂取しても重篤な副反応が生じる可能性が極めて低いことがわかっており、安心して利用できる食品素材である。

GABAは、これまでに自律神経を副交感神経活動優位にすることにより、血圧の低下作用やストレス緩和作用を発現させていることが明らかとなっている。副交感神経活動が優位であれば、GABAの睡眠促進作用が期待できる。睡眠促進の研究、特に、健常者を対象とした研究は、被験者の確保（睡眠の問題は個人差が大きく、被験者の確保と研究結果の評価が難しい）、研究手法の選択（自覚症状の評価は翌朝のアンケートなどは、比較的実施しやすいが、脳波の測定などの客観的指標の評価は、睡眠クリニックなどで実施する必要があり、日常生活の中では難しい面が多い）など難しい問題が多い。

また、脳代謝促進剤として使用されたGABAは、TCAサイクルの導入部に必要なヘキソキナーゼ活性を高め糖質代謝を促進すること、動物実験ではあるが、脳血流量、脳酸素供給量などを増加することが認められている。したがって、認知機能の改善にも効果がある可能性が考えられた。認知機能の研究も睡眠促進の研究と同様に、被験者の確保（認知機能は個人差が大きく、健常で認知機能の低下した被験者の確保が難しい）、研究手法の選択（自覚症状の評価の定量化をどのようにするかが問題になる）など難しい問題が多い。

本研究は、GABAの睡眠促進効果（第1~3章）と認知機能の改善（第4~5章）から成る。

第1章では、睡眠が浅く途中覚醒が多いため、睡眠に対して満足感が得られにくい高齢者を対象に、GABAを含有したチョコレートの摂取が、睡眠に及ぼす影響を翌朝の自覚症状の質問票と夜間の排尿回数で評価した。睡眠は、客観的指標が改善されても、主観的指標が改善されないと満足感が得られないことから、以下の2つの章についても、主観的指標および客観的指標の両方を評価した。平均年齢が80歳を超える高齢者を対象としたため、客観的指標として脳波の測定などは実施しにくいので、夜間の排尿回数（睡眠が浅くなり、途中覚醒し起こる現象）を客観的指標とした。

従来の睡眠研究では、被験者が睡眠クリニックなどに泊まり込み、頭をはじめ体中に電極などのセンサーを張り付け、睡眠中の脳波や身体状況を定量化している。いつも睡眠をとっている自宅と違う環境で、多数のセンサー（電極）を装着しての状況では、通常の睡眠とある程度の差異があると考えられる。特に、高齢者では、日常の生活に近い環境が必要と考え、試験計画を構築した。

その結果、主観的指標である質問票の調査では、プラセボ群に比べて、GABA群では、朝の目覚めで良好な結果が得られ、夜間の排尿回数についても10%程度減少した。また、プラセボ群では、唾液中のコルチゾールが、試験開始時に比べて、試験期間中は上昇し、試験の緊張感が窺われたが、GABA群では、試験開始前に比べてほとんど変化がなかった。これはGABAのストレス緩和効果に由来すると考えられた。

第2章と第3章では、睡眠研究でよく利用されているピッツバーグ睡眠質問票を用いて、被験者のスクリーニングを行い、また、これを睡眠の質の主観的評価にも用いた。さらに、客観的指標として睡眠中の脳波を測定した。通常脳波は、上記のように睡眠クリニックで測定するが、今回は最近、旧バイオサイエンス研究所（大阪府吹田市に設置されていた）の裏出教授らが開発した脳波計を採用した。これは、頭に2つのセンサー（電極）を装着するだけで脳波が測定でき、付属するのは脳波の記録装置だけであるため、自宅で使用し、試験終了後に被験者が実験者に脳波記録装置を提出し、その中の脳波を解析するものである。したがって、自宅で使用できるため、通常睡眠に近い状態の脳波を測定することが可能である。また、被験者もあまり高齢でない健康成人であるので、試験自体を強いストレスと感じる人は少なかったと思われる。

第2章では、抗不安作用を持つヒペロシドとイソケルシトリンを含むラフマエキスとGABAの相乗効果についても検討したが、相乗効果がない代わりに、相殺効果もなく、それぞれが単独で睡眠促進効果を示した。GABAは、入眠潜時を有意に短縮し（睡眠しやすく）、ラフマエキスは、ノンレム睡眠を有意に増加させ（深く睡眠で来る）、作用のメカニズムに差異があると考えられた。使用する生理活性物質により作用メカニズムに差異があることは興味深く、どのような効果が得たいのかにより使い分けができることが示唆された。今後研究が進展し、さまざまな物質の睡眠促進効果が明らかになれば、個人の症状（訴え）に応じた処方ができる可能性が示された。

第3章では、GABAの睡眠促進効果がさらに詳細に検討された。GABAの摂取は、第2章で示した通り、睡眠潜時を約1/2に短縮した。また、プラセボ群に比べて、ノンレム睡眠時間を有意に増加させた。これにより、目覚めた時の気分を大幅に改善し、客観的にも主観的にも睡眠を改善することが明らかになった。

また、GABAを摂取し、経時的に血中GABA濃度を測定すると、30分程度で吸収されることが明らかになったので、GABAは、睡眠の30分前に摂取することが適当であることも判明した。

これら一連の研究により、100 mgのGABAの摂取が、健康成人や高齢者の睡眠の質（睡眠潜時を短縮し、ノンレム睡眠時間を延長し、朝の目覚めを改善できる）を改善できることが明らかになった。また、摂取タイミングは、睡眠30分程度前が適当であることも明らかになり、睡眠不足に悩むストレス社会の状況の改善に役立つことが示唆されたことは意義があると考えられる。

第4章と第5章では、GABAの摂取が認知機能を改善するか否かを検討した。認知機能の低下した被験者を集めるために、記憶力が低下したと感じている40歳以上の男女335人を募集し、認知機能の研究でよく利用されているミニメンタルステート検査を行い、60名の男女を選抜した。認知機能の評価には、これもよく利用され定評のあるCognitrix（日本語版）とRBANS（日本語版）を用いた。

通常用量（100 mg/日）と高容量（200 mg/日）のGABAを被験者に摂取させ、認知機能の改善を評価したところ、ともに整合性のある結果、空間認知能力と記憶維持能力の改善がみられた。また、生活の質（QOL）は、SF-36v2を利用し評価したが、身体機能スコアに改善がみられ、空間認知能力と記憶維持能力が改善することにより、身体的な問題も改善されたと考えられた。

また、同時に実施した血液学的、血液生化学的検査および尿検査では、数値に変化がある項目があるものの、いずれも生理的変動の範囲内で、これまでの摂食経験と合わせて、安全な食品素材であることも明らかとなった。

本研究では、ヒトを用いて、GABAの摂取が睡眠を促進すること、認知能力を改善することを明らかにした。ストレス社会、超高齢社会の日本にあっては、睡眠と認知能力の改善はともに解決すべき重要な健康課題であるが、食品素材を用いて、その一端を担う可能性を示すことができた。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、令和3年2月16日、農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。