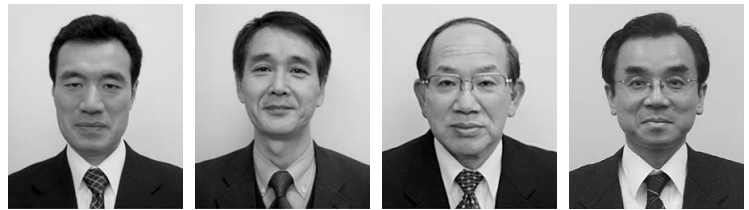


《農芸化学技術賞》

γ-アミノ酪酸含有乳製品乳酸菌飲料の開発



① (株)ヤクルト本社 中央研究所 主任研究員 早川 和 仁
 ② (株)ヤクルト本社 中央研究所 主任研究員 木村 雅 行
 ③ (株)ヤクルト本社 中央研究所 主席研究員 三 沢 宏
 ④ (株)ヤクルト本社 開発部 主席研究員 赤 星 良 一

高血圧は徐々に進行し、自覚症状がないことから「サイレントキラー（沈黙の殺人者）」とも呼ばれ、全死因の約3割を占める心臓病、脳卒中の原因となる危険因子である。最近の国民健康・栄養調査報告（2003年）では、15歳以上の国民の半数が血圧が高いまたは高めで、その比率は年齢とともに上昇し、人口の高齢化の中で高血圧者はますます増加すると考えられている。比較的軽い高血圧である正常高値血圧者（収縮期血圧130～139 mmHg または拡張期血圧85～89 mmHg）および軽症高血圧者（収縮期血圧140～159 mmHg または拡張期血圧90～99 mmHg）においては、投薬が必要な高血圧者とは異なり、非薬物療法がプライマリーケアとなるため、食生活を含めた生活習慣の改善で血圧をコントロールすることが重要である。減塩食が有効であることはよく知られているが、一方で、食品成分の中には血圧低下作用が報告されているものも存在しており、それを考慮してデザインされた食品を摂取することも有効であろう。このような視点から食品として認められているγ-アミノ酪酸（GABA）に注目した。GABAは自然界に広く分布するアミノ酸の一種で、血圧降下作用をもつことが古くから知られている。われわれは、乳酸菌の代謝機能を応用して、乳成分からGABAを発酵生産する方法を確立し、「GABA含有乳製

品乳酸菌飲料“プレティオ”（図1）を開発した。

1. GABAを産生する乳酸菌のスクリーニングとその培養方法

当社保有の乳酸菌のうち、乳製品乳酸菌飲料の製造に適している約100株の乳酸菌を対象にGABA産生菌株をスクリーニングした。GABAを産生する乳酸菌が全体の約5%存在し、特に*Lactococcus lactis*と*Streptococcus thermophilus*にGABA産生能が高い株が多いことが認められた。そこで、この2菌種に絞って、さらにスクリーニングを続けた結果、ほぼ100%の効率でグルタミン酸をGABAに変換する*Lc. lactis* YIT 2027をGABA生産用乳酸菌として選抜した。本菌株を用いて発酵乳を調製したが、乳にはGABAの前駆体となるグルタミン酸の遊離体が少ないため、残念ながらGABAは期待したほど蓄積しなかった。

次のステップとして、乳タンパク質の構成アミノ酸の20%を占めるグルタミン酸を、乳酸菌の作用で遊離させ、これをGABAに変換させる戦略を考えた。1菌種でGABA産生能が高く、かつグルタミン酸遊離活性の高いという二つの機能をもつ菌株のスクリーニングを行ったが、風味などの点で適切な菌株が見いだせなかった。そこで、グルタミン酸を遊離させる能力の高い乳酸菌をスクリーニングし、*Lc. lactis* YIT 2027との混合培養により効率的にGABAを産生する方法を試みた。その結果、チーズ製造などに用いられる菌株が比較的高いグルタミン酸遊離能を示し、*Lactobacillus casei* strain Shirota, *Lb. johnsonii* YIT 0284, *Lc. cremoris* YIT 2007などが特に優れていた。その中でも*Lb. casei* strain Shirotaは安全性が確認されており、食経験も長いことからグルタミン酸遊離活性の高い乳酸菌として選抜することにした。以上のスクリーニング結果を踏まえ、*Lc. lactis* YIT 2027と*Lb. casei* strain Shirotaの2菌株を混合培養したところ、期待した量のGABAが産生されることを認めた（特許第3172150号）。

2. GABA含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”の高血圧自然発症ラットの血圧に対する作用

前項の方法で調製したGABA含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”を、実験動物倫理規定に準拠した方法で、高血圧自然発症ラット（SHR/Izm）あるいはそのコントロールである正常血圧ラット（WKY/Izm）に経口投与したところ、SHR/Izmのみ血圧降下作用が認められ、また等量のGABAを投与しても同様な結果が得られた。したがって、少量のGABAの経口投与では、正常血圧には影響を与えず、高血圧のみ降圧効果を示すことが示唆された。このことは、万人が摂取する食品として



図1 GABA含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”

は好ましい性質であると考えられた。また別途実施された試験で、GABA 含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”は安全性に問題がないことが確認された。

3. GABA 含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”のヒトの血圧に対する作用

はじめに述べたように正常高値血圧者や軽症高血圧者は、非薬物療法がプライマリーケアとなるため食生活を含めた生活習慣の改善で血圧をコントロールすることが重要となってくる。その食生活の一環として GABA 含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”を対象とした効果の検証を行った。なお、すべての臨床試験はヘルシンキ宣言に準拠し、全被験者に対して研究内容、方法について十分な説明を行い、文章による同意を得て実施した。

降圧薬を服用しない正常高値血圧者および軽症高血圧者 86 名を対象に、GABA 含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”の有効性と安全性を評価する二重盲検並行群間試験が行われた。10 mg/100 mL/本の GABA を含む“プレティオ”あるいは GABA を含まないプラセボ（酸乳）を 1 日 1 本摂取させた。その結果、図 2 に示したように、“プレティオ”の摂取により血圧は穏やかに低下し、その作用は持続した。飲用を中止すると血圧は、飲用前の値に穏やかに戻る傾向を示し、リバウンド現象は認められなかった。また、安全上問題となる事象の発生はなかった。つづいて、正常高値血圧者のみ 108 名を対象にした二重盲検並行群間試験を実施し、同様に有意な血圧降下作用と安全性を確認した。

GABA 含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”は食品であるため、正常血圧者が摂取する可能性もある。そこで、正常血圧者を対象とした同様な試験を実施した。その結果、正常血圧者の血圧は降下させないことが明らかとなった。このことは、前述の動物実験において、SHR/Izm の血圧は降下させたが、正常血圧である WKY/Izm の血圧には影響を与えなかった実験結果と一致した。さらに医師や薬剤師の管理下でない食品であるため、過剰摂取のリスクも考えられたことから、1 日に 3 本飲用する試験を実施し、過剰に飲用しても必要以上の血圧降下作用が現れないこと、また副次的な作用も発生しないことを確認

した。以上から、GABA 含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”は正常血圧には影響を与えず、血圧が高めの方のみ穏やかな降圧作用を示す安全な食品であることが確認された。

4. GABA の血圧降下作用のメカニズム

GABA が血圧降下作用をもつことは、1950 年代から知られていたが、そのメカニズムは中枢を介しての作用と理解されていた。GABA は血液脳関門を通過しないため、経口投与における血圧降下作用のメカニズムは明らかとなっていなかった。そこでわれわれは、末梢での機能に注目し、SHR/Izm を用いてそのメカニズムを検討した。その結果、GABA の降圧作用は自

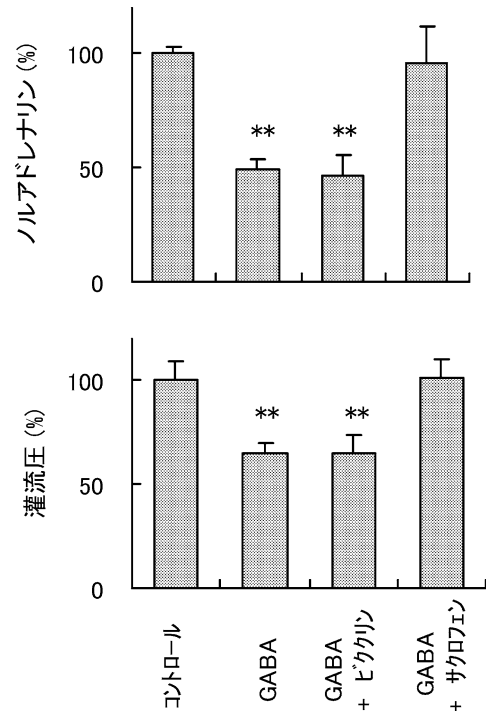


図 3 SHR/Izm の腸管膜動脈床に GABA およびそのアゴニスト・アンタゴニストを環流させたときの灌流圧とノルアドレナリン分泌の変化
平均値±SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: コントロールに対する Dunnett 検定.

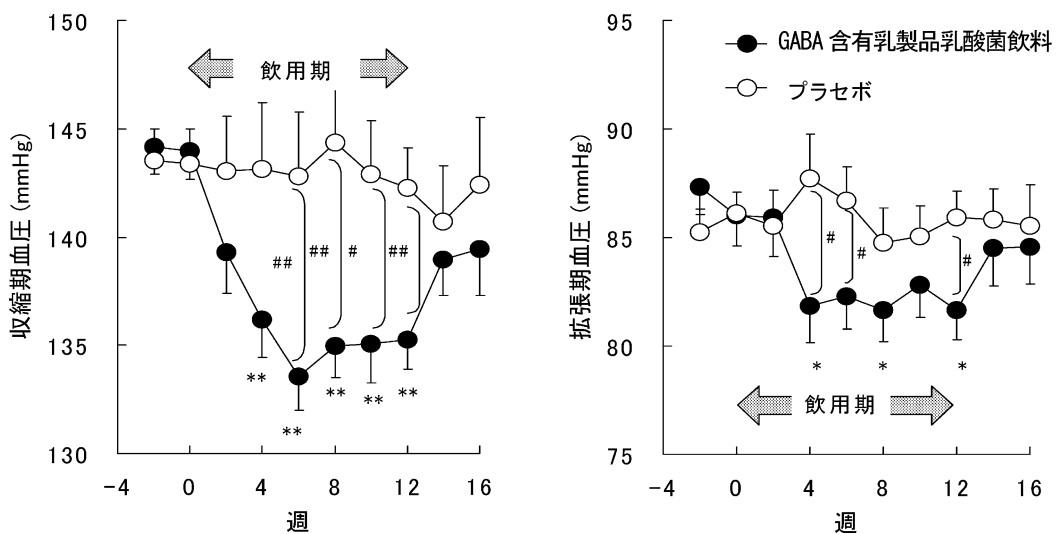


図 2 正常高値血圧者および軽症高血圧者に GABA 含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”を投与したときの血圧の推移 (n=86)
平均値±SEM. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$: プラセボ群に対する対応のない t 検定, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: 摂取開始日に対する Dunnett 検定.

律神経系末端の $\alpha 1$ レセプターやムスカリン様レセプターへの直接作用によるものではなく、GABAレセプターを介した交感神経節またはそれ以降の神経伝達系の抑制によることが示唆された。さらに中枢神経から遮断した腸管膜動脈床を用いて経壁電気刺激により誘導される灌流圧の変化を指標とした検討を行ったところ、GABAおよびGABA_Bレセプターのアゴニストであるバクロフェンは、血圧降下作用とノルアドレナリンの分泌抑制を示したが、その作用はGABA_Bアンタゴニストであるサクロフェンで抑制されることがわかった(図3)。したがって、末梢のGABA_Bレセプターの関与が考えられた。さらにGABAを長期摂取させると、飲水量と尿量が増加し、ナトリウム排泄が有意に亢進すること、また血漿レニン活性が有意に低下することを認めた。このことは、GABAが腎機能に影響を与えていることを示すものであった。そこで、腎臓の交感神経を切断したSHR/Izmを用いて検討を進めた。GABAは、腎交感神経を切断しないSHR/Izmに対して持続的な血圧降下作用を示したが、交感神経を切断したSHR/Izmでは、降圧作用は認められなかった。また血漿レニン活性は、腎交感神経の切断あるいはGABAの摂取により有意に低くなることが認められた。これらの事実からGABAの血圧降下のメカニズムは、「GABAが交感神経神経を抑制することにより過剰なノルアドレナリンの分泌が抑制されて末梢細動脈が弛緩すること、同時に腎臓において、レニンの分泌が抑制されナトリウム排泄の亢進が起こること」により成立すると考えられた。

5. ま と め

乳製品はさまざまな有益な性質を有する。栄養素としての一

次機能やおいしさの二次機能は言うまでもなく、我々の健康に寄与する三次機能という点でも優れている。本研究においては、乳酸菌による発酵というプロセスを経ることで、乳の機能をさらに高めることに成功した。乳と乳酸菌という組合せは、ヨーグルトあるいはチーズなどの形態で古くから人類が親しんできたものである。伝統的な素材ではあるが、新しい切り口からさらに発展させることは可能であろう。本論で総括したGABA含有乳製品乳酸菌飲料“プレティオ”は、2004年、厚生労働省より「血圧の高めの方」を対象とした特定保健用食品として表示許可を得た。このことは、本製品の有効性、安全性、作用メカニズムに一定の評価が得られたともと言える。厚生労働省の「健康日本21」によると、血圧を2mmHg低下させることで、年間2万人の命が助かるという。今回開発した新規な乳製品が血圧が高めの方に少しでも役に立つことを願いたい。

われわれはこれからも未知の可能性を秘めた微生物の機能を探求し、その力を上手に引き出す発酵技術を駆使して、人々の健康増進につながる研究開発に注力していきたいと考える。

本研究開発を進めるに当たり、貴重なご指導をいただきました星葉科大学医薬品化学研究所教授、鎌田勝雄博士、循環器疾患予防国際共同センター長、家森幸男博士、元東京警察病院副院長、井上 清博士をはじめとする諸先生方に深謝いたします。最後に本研究開発は、ヤクルト本社における多くの関係者が「人々の健康を夢見て」協力して進めた結果であることを付記する。