

脳機能性食品としての牛乳に特異的に含まれる短鎖脂肪酸 —牛乳に多量に含まれる酪酸の中樞神経系に及ぼす作用—

順天堂大学	名誉教授	山口 正弘
順天堂大学スポーツ健康科学部	教授	澤木 啓祐
順天堂大学医学部 生理学第一研究室	助手	中里 泰三
昭和大学医学部	客員教授	亀山 恒夫
順天堂大学スポーツ健康科学部	助教授	阿部 裕
	助教授	久保田 洋一
	講師	竹内 敏康
順天堂大学医学部 精神医学研究室	講師	文元 秀雄
	講師	島崎 正次
	助手	桐野 衛二彦
	助手	鈴木 聡一
順天堂大学 越谷病院	院長	井上 令一

昔から伝わる英国の諺に「Man is what he eats.」と言うのがある。「ヒトは食べる物により、そのヒトの体力は勿論、性質や人格までもコントロールされる、と言う意味である。食べ物が健康の維持・向上のために必要であることは良く理解されているが、精神作用に影響を与えることは一般的ではない様に思われる。

それは、消化管から吸収された食物の消化物は最終的に血液に入り、全身に供給される。しかし、脳だけは更に血液・脳関門 (blood-brain barrier) があり、ここを通過しなければ、脳内に入らない。更に脳内血管の内皮細胞どうしが密着結合しているため、物質が通り難くなっている。また、毛細血管の上皮細胞の外側とそれを取り巻く星状神経膠細胞等を合わせて二重の関門が存在する。しかし、それらの細胞膜は内側も外側も共にリン脂質を主成分とした極性のある脂質で構成されているので脂質に溶けやすいものが透過し易く、電荷を持った極性物質は通りにくいことは一般に認められている。

ところで、現在、牛乳は乳幼児→子供→成人→老人に至るまで多量に摂取されている食品である。江戸時代や明治時代には薬として、また、長寿の効果を高める貴重な食べ物として用いられていたと言われている。確かに牛乳の中に含まれている色々な成分が抗酸化作用や抗がん作用や免疫力を高めることやアポトーシスの遺伝子の発現作用を持つなど優れた機能食品の一つである。

以前、我々は総カロリーを一定にして、カロリーの30%を全脂牛乳で置換した飼料で飼育したラットは強制運動能力は十分持っているにもかかわらず、対照ラットに比べて自発的運動量が有意に低下することを報告した¹⁾。この現象は飼料の脂肪の質的な違いが要因と考えられた。確かに牛乳の脂肪成分には他の食品には殆ど含まれていない酪酸が脂肪含量の10%も含まれている、この酪酸が脳内に取り込まれ中枢に鎮静作用をもたらした結果と考えられた。この作用は、牛乳(含まれる酪酸)が脳機能食品としての作用を持つ可能性を示唆するものである。

次いで、我々はラットを普通に飼育しておき、それに牛乳に特異的に多量に含まれる酪酸のナトリウム塩を腹腔内に注射したラットは対照ラットに比べて、線状体に遊離されたセロトニンとドーパミン（両者とも脳の興奮性シグナルを発生させる伝達物質のグループ）の増加が同じ時間経過を示した²⁾。即ち酪酸が直接又はその代謝産物が中枢神経系の回路網を介して、情動（興奮性シグナルの発生：怒り、恐れ、喜び、悲しみ等の様に、比較的急速に引き起こされる一時的で急激な感情の動き）に影響を及ぼすものと考えられる。

興奮性シグナルは、伝達物質を受け取った神経細胞を興奮させるか、あるいは興奮の度合いを強める。一方、抑制シグナルを発生させる伝達物質（代表的なものはギャバ）を受け取った神経細胞は興奮を弱める。車で例えると、興奮シグナルはアクセルであり、抑制シグナルはブレーキに相当すると考えられる。

興奮シグナルはセロトニンやドーパミンやノルアドレナリン等の伝達物質により神経細胞の細胞膜の脱分極を起こし膜電位が速やかに変化する。また、抑制シグナルはギャバの様な伝達物質により細胞膜の脱分極を抑え、膜電位の変化を鎮めることが解っている。このことから、我々がラットの実験から得た結果²⁾がヒトでも生ずるならば、脳波のパターンに変化が生ずる可能性が大いに考えられる。脳波が変わることにより、ヒトの精神活動に影響を与えることが推測される。

本研究では、次のことを明らかにする。

- 1) 前研究²⁾に於いて、*in vivo voltammetry* によるセロトニン及びドーパミンの検出は、これらの物質の加水分解によって生ずる電圧をそれぞれ検出するもので物質そのものを捉えていない。セロトニン及びドーパミンのそれぞれの生合成に特異的に作用する阻害剤の付加による、酪酸摂取によるセロトニン及びドーパミンの更なる確認をする。
 - 2) ヒトを対照とした検査で、“酪酸ドリンク”（牛乳より調製した酪酸を高濃度に含む飲み物）を摂取したときの脳波の変化を測定し精神作用への影響を推測する。
- 以上の実験から、牛乳に多量に含まれる酪酸が脳機能食品としての作用を明らかにする。

実験方法

I. ラットを用いて *in vivo voltammetry* 法で脳内セロトニン及びドーパミンの検出方法

Wistar 系雄ラット（体重約250g）を用い中里の試作した *in vivo voltammetry* 法³⁾で行った。この方法は Kissinger ら⁴⁾が微小電極を脳内（本実験では線状体）に挿入し（図1を参照）、potentiostat を用いて、脳内伝達物質の濃度を調べた。この検出装置は基本的には高速液体クロマトグラフィに用いられている電気化学検出器と似ている。potentiostat を用いて、ある特定の電解電圧を加えたとき、物質の酸化・還元によって生ずる電流を測定する装置である。図1に見られるように、特別な小さな対照電極と修飾電極をラット脳内（線状体）に挿入して測定した。ラット脳の線状体に電極を挿入して、飼育しておき、必要に応じて測定用飼育箱に移し、平静になってから、予め30分～60

分間の安静時の値を測定した後、2M 酪酸ナトリウム 1 ml (22mg 酪酸) を素早く腹腔内に注射し、測定した。

voltammetry で捉えられた脳内物質変化がドーパミンか、或いはセロトニンであるかを定めるために、ドーパミン生合成の阻害剤である α -methyl-*p*-tyrosine (200mg/体重 kg) を腹腔内投与し30分後、酪酸を投与してドーパミン放出変化に与える影響を調べた。

また、セロトニン生合成阻害剤である *p*-chlorophenylalanine (200mg/体重 kg) を3日間連続投与し、その後酪酸を投与してセロトニン放出に与える影響を調べた。

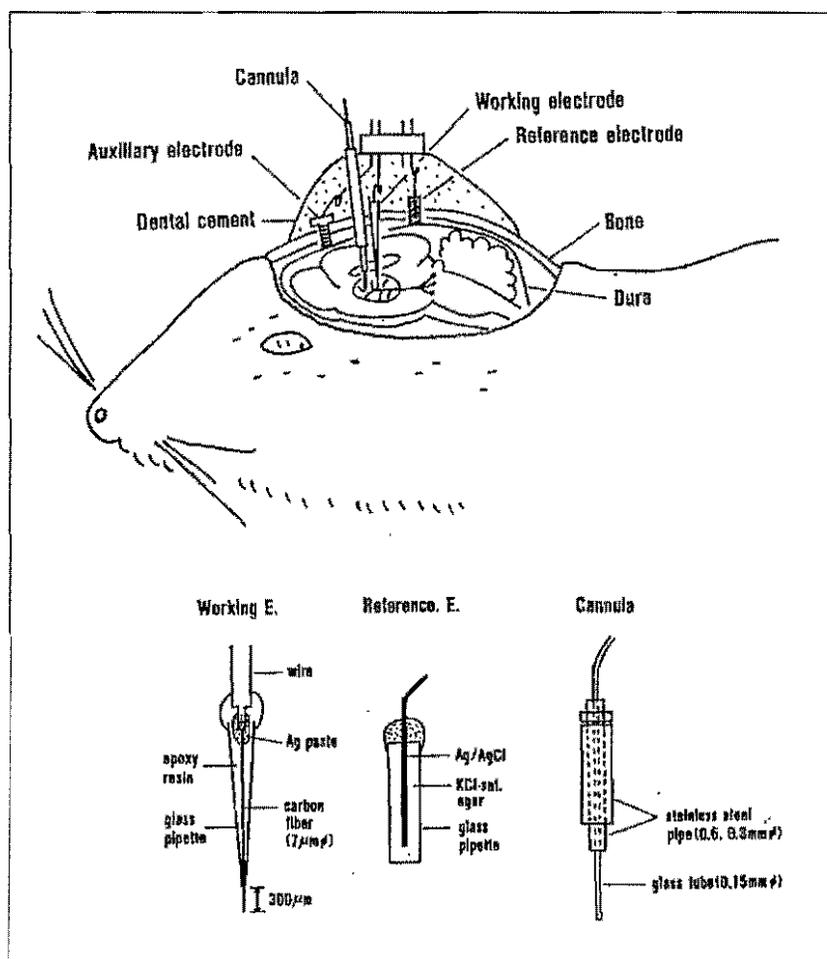


図1. In vivo voltammetry 法に従ってラット脳に微小電極を挿入した図とその微小電極 (参考文献3参照)

II. ヒトの脳波に及ぼす酪酸摂取の影響を検討する方法

被検者は順天堂大学・スポーツ健康科学部の運動部に属するボランティア男性 (19~21歳) で、メディカル・チェックにより健康であることが確認された者である。摂取する酪酸試料 (“酪酸ドリンク”) は明治乳業・栄養科学研究所の桑田所長と土田博先生により調製されたもので、クッキーやアイスクリームの素材として既に使われている製品である。表1に示されるように、酪酸が33%含まれている。

表1 “酪酸ドリンク”の成分

◆クリーム組成

サラトリム	30%
脱脂粉乳	4%
砂糖	5%
乳化剤	1.3%
水	59.7%

■サラトリム脂肪酸組成

酪酸	32.7%
パルミチン酸	7.1%
ステアリン酸	54.3%
他	0.9%

“酪酸ドリンク”の10ml、20ml、30mlはそれぞれ牛乳166ml、333ml及び500mlに含まれる酪酸量に相当する。

安静（非運動）時に“酪酸ドリンク”をそれぞれ10mlと20mlを摂取した後、30分、90分、120分、150分、180分後の脳波を測定した。

運動負荷と酪酸摂取が脳波に及ぼす影響の検討

此についての検討は次のように行った。被検者（写真1）は運動強度により二つのグループに分けた。グループIは“ゆるやかな運動負荷（4kmを15分での走行）のグループ、グループIIはややきつい運動負荷（4kmを13分20秒での走行）のグループである。酪酸摂取は走行2時間前に“酪酸ドリンク”30mlを摂取した。非酪酸摂取グループは運動負荷のみで行った。脳波は走行負荷15分前と、運動終了15分後にそれぞれ測定した。運動負荷の強度を判定するため、運動前と運動終了直後に手指先端から約50μl採血し、乳酸計ラクト・プロ（株）京都第一科学）で血中乳酸濃度を測定した。



写真1. 運動負荷をしている被検者。

ゆるやかな運動（上）。 ややきつい運動（下）。

脳波の測定

定量脳波は電極配置を国際10-20法（図2）に基づき、銀-塩化銀電極を用い、両耳殻を基準電位とした。12部位（Fp₁, Fp, F₇, F₈, Fz, C₃, C₄, Pz, T₅, T₆, O₁, O₂）より単極導出し（写真2）、データレコーダ（TEACXA-510X）に記録した（写真3）。記録条件は高周波フィルター120Hz、時定数0.3とした。最低10回開閉眼を繰り返し、アーチファクトの混入を認めない5秒間を選び、それを一回の解析時間としてA/D変換し、高速フーリエ変換（FFT）を行いパワースペクトルを求めた。これを10回（総計50秒）加算平均して0.2Hz刻みに平均振幅パターン値を算出し、全帯域のパワーの総和に対する比、即ち、相対パワー値を求めた。さらに正規分布に近ずけるため Cas-ser⁵⁾の方法に従い対数変換した（ $\log\{X/(1-X)\}$ 、 \log は自然対数、 X は相対パワー値を示す）。脳波解析処理には7T18A（日本電気三栄製）を用いた。周波数帯域を σ （0.2~3.8Hz）、 θ_1 （4.0~5.8Hz）、 θ_2 （6.8~7.8Hz）、 α_1 （8.0~8.8Hz）、 α_2 （9.0~12.8Hz）、 β_1 （13.0~19.8Hz）、 β_2 （20.0~29.8Hz）と設定した。

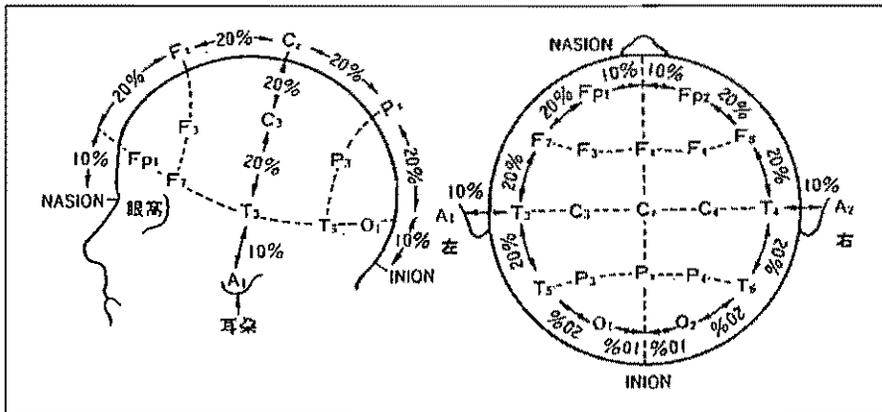


図2. 10-20法による脳波測定のための電極配電法



写真2. 電極を装填した被検者。



写真3. 脳波の測定装置と記録装置と測定・記録の様様.

実験結果

I. 酪酸投与に伴う脳内興奮伝達物質セロトニン及びドーパミンの濃度変化

図3 A、Bに見られるように、ラット腹腔内に酪酸を注射してから約30分の潜伏期の後脳内のドーパミン及びセロトニンが増加し始め、約2時間後に最大に達し、4時間後には殆ど正常値に戻った。この酪酸の影響は全く同じ酪酸量を加えても、図4 A、Bに示される様に脳内興奮伝達物質（ここではドーパミンとセロトニン）の量が図3のラットとは著しく異なった。即ち酪酸に対する感受性が個体によって異なることが示された。

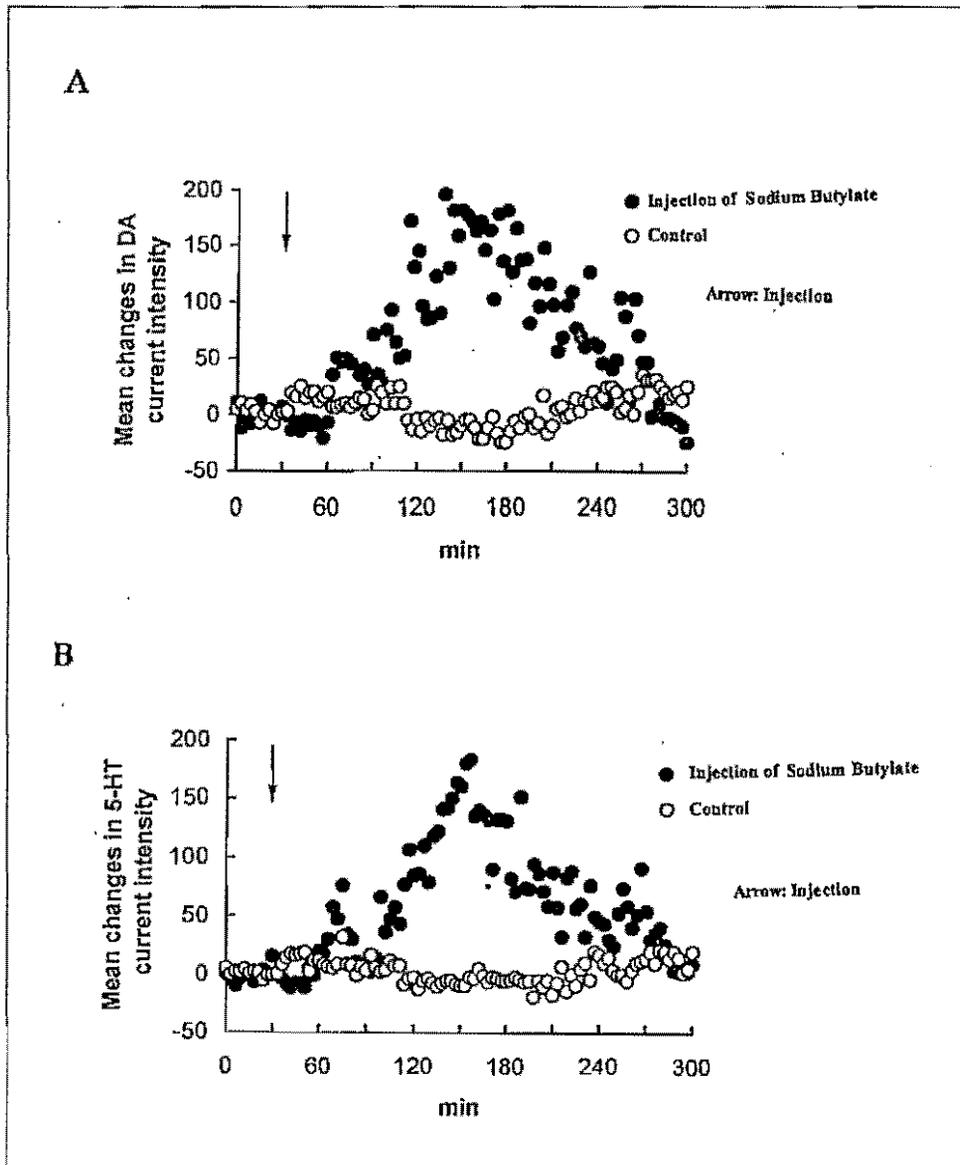


図3. ラット腹腔内に酪酸ナトリウムの注射により、線状体に放出された神経伝達物質の濃度変化 (in vivo voltammetry 法による)。
A: ドーパミン量の変化。 B: セロトニン量の変化。

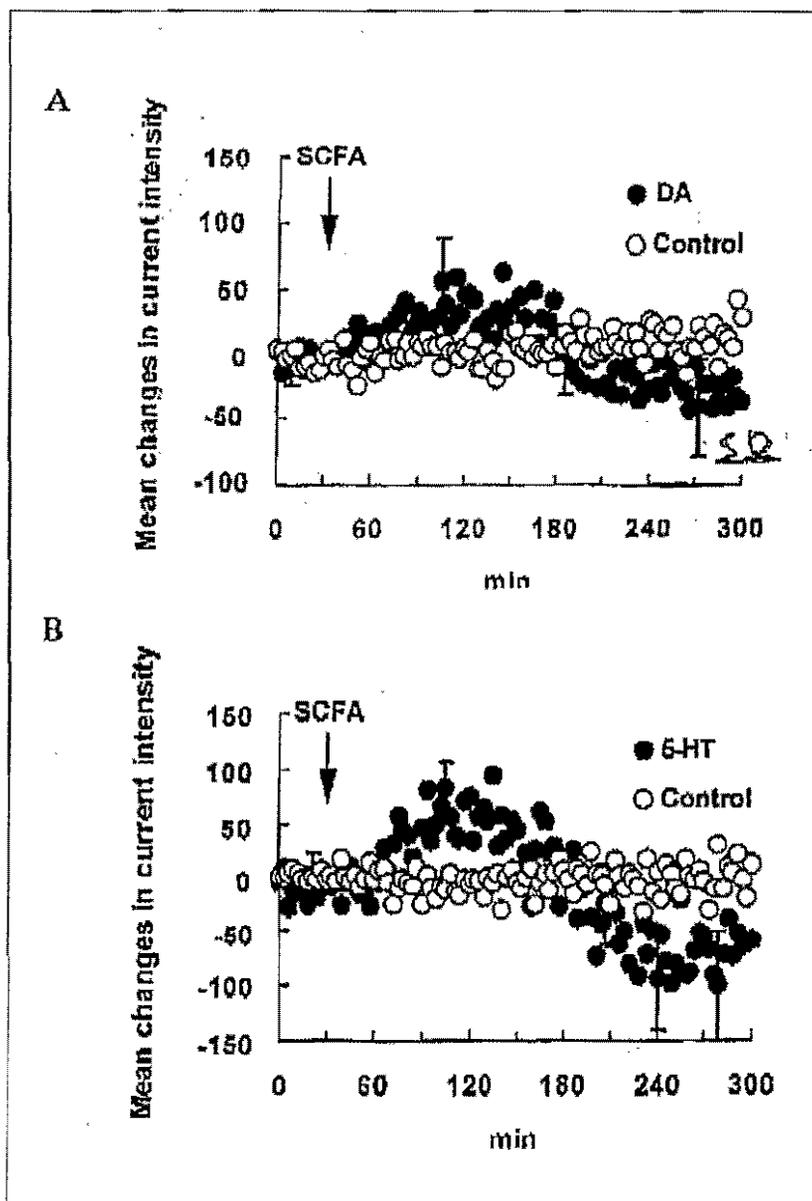


図4. ラット腹腔内に酪酸ナトリウムの注射により、線状体に放出された神経伝達物質の濃度変化 (in vivo voltammetry 法による)。

A: ドーパミン量の変化. B: セロトニン量の変化.

↓: 酪酸ナトリウム注射時点を示す.

ここで得られた脳内ドーパミンとセロトニンの濃度変化は in vivo voltammetry によって得られたもので、物質を分離し、同定した者でないので、僅かながら、果たしてセロトニンまたはドーパミンなのか、不安がある。この問題を明らかにするため、脳内のセロトニン生合成阻害剤 p-chlorophenylalanine を3日間付加飼育したラット及びドーパミン生合成阻害剤 α -methyl-p-tyrosine を投与したラットについて実験した。それぞれラットは酪酸投与によって脳内にドーパミン及びセロトニンに相当するシグナルは全く見られず、脳内興奮伝達物質濃度の増加が見られなかった (図5 A, B)。従って、ここで増加している伝達物質はそれぞれドーパミン及びセロトニンであることが解った。

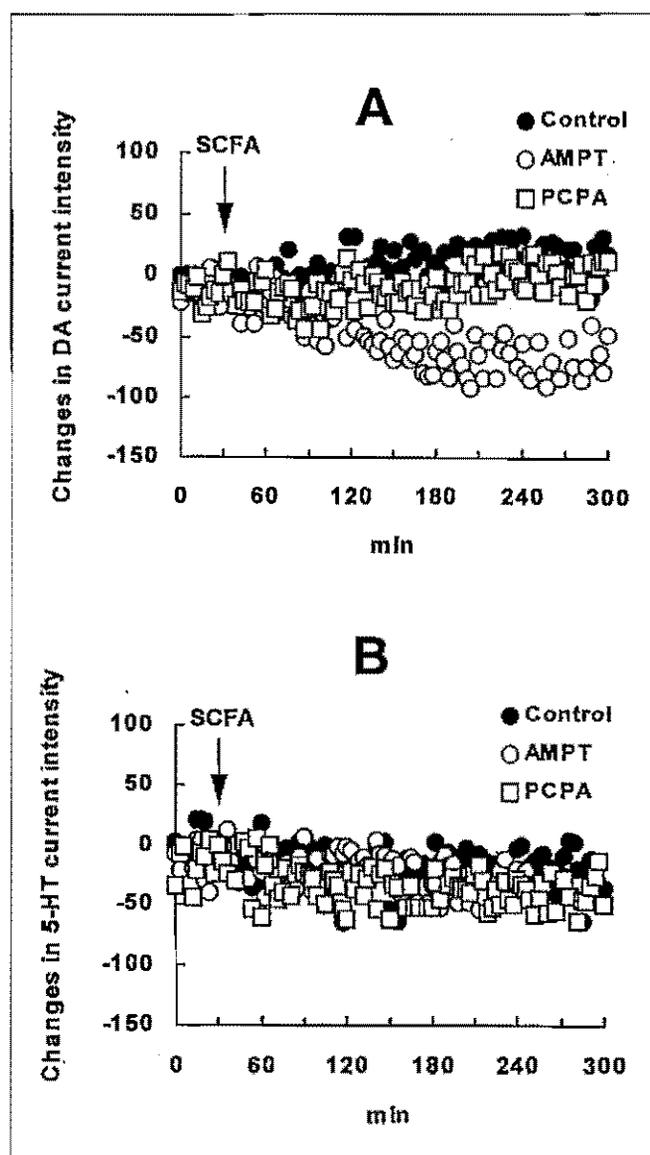


図5. 神経伝達物質生合成で処理したラットの腹腔内に酪酸ナトリウムの注射により、線状体に放出された神経伝達物質の濃度変化 (in vivo voltammetry 法による)。
 A: ドーパミン量の変化. B: セロトニン量の変化。
 ○: α -methyl-p-tyrosine (AMPT, ドーパミン生合成阻害剤) で処理したラット。
 □: p-chlorophenyl-alanine (PCPA, セロトニン生合成阻害剤) で処理したラット。
 ●: 無処理ラット。
 ↓: 酪酸ナトリウム注射時点を示す。

II. ヒトの脳波に及ぼす酪酸摂取の影響

(a) 安静状態で“酪酸ドリンク”摂取による脳波の経時的变化を測定した。

図6は国際10-20法(図2)に示した頭部の各部位より記録した脳波を示した。この脳波から σ 波、 θ 波、 α 波、 β 波の成分を抽出し、それぞれのパワースペクトル値を解析した。図7は被検者6名に“酪酸ドリンク”摂取後の各領域の脳波を統計的に処理した大脳半球での各スペクトル領域の脳波のパワースペクトルの強さをカラーの色とその濃度によって示したものである。

“酪酸ドリンク”の少量摂取(10ml:牛乳170mlに含まれる酪酸の量)でも多量摂取(20ml:

牛乳340mlに含まれる酪酸の量)でも摂取後30分に全ての脳波パワースペクトルが減少し、60分後には全ての脳波は高まった。しかし、 β 波はその後、時間の経過によって殆ど変化が無かった。 σ 波や θ 波の成分も90分後に高まったが、その後の時間の経過に伴う変化に特徴はなかった。“ α 波と α_2 波”については“酪酸ドリンク”の低摂取でも高摂取でも同じ様な傾向を示した。図7のパワースペクトルのマッピングから α 波のパワースペクトル値を抽出した。特に多量摂取者のTs, P₂, P₃, P₄, T₁, O₁, O₂領域で獲られたパワースペクトルは30分後~180分後まで高まり、180分~210分はプラトウで移行した(図8aとb)。

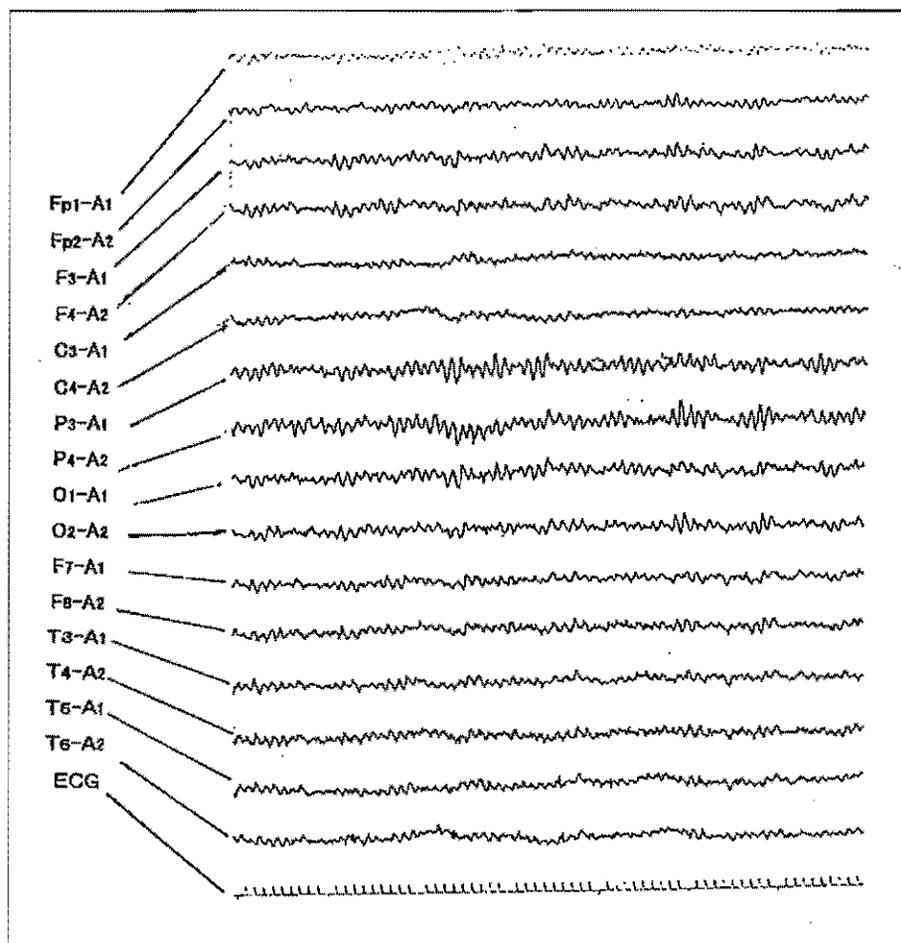


図6. 国際10—20法電極配置法の16部位より記録された脳波記録.

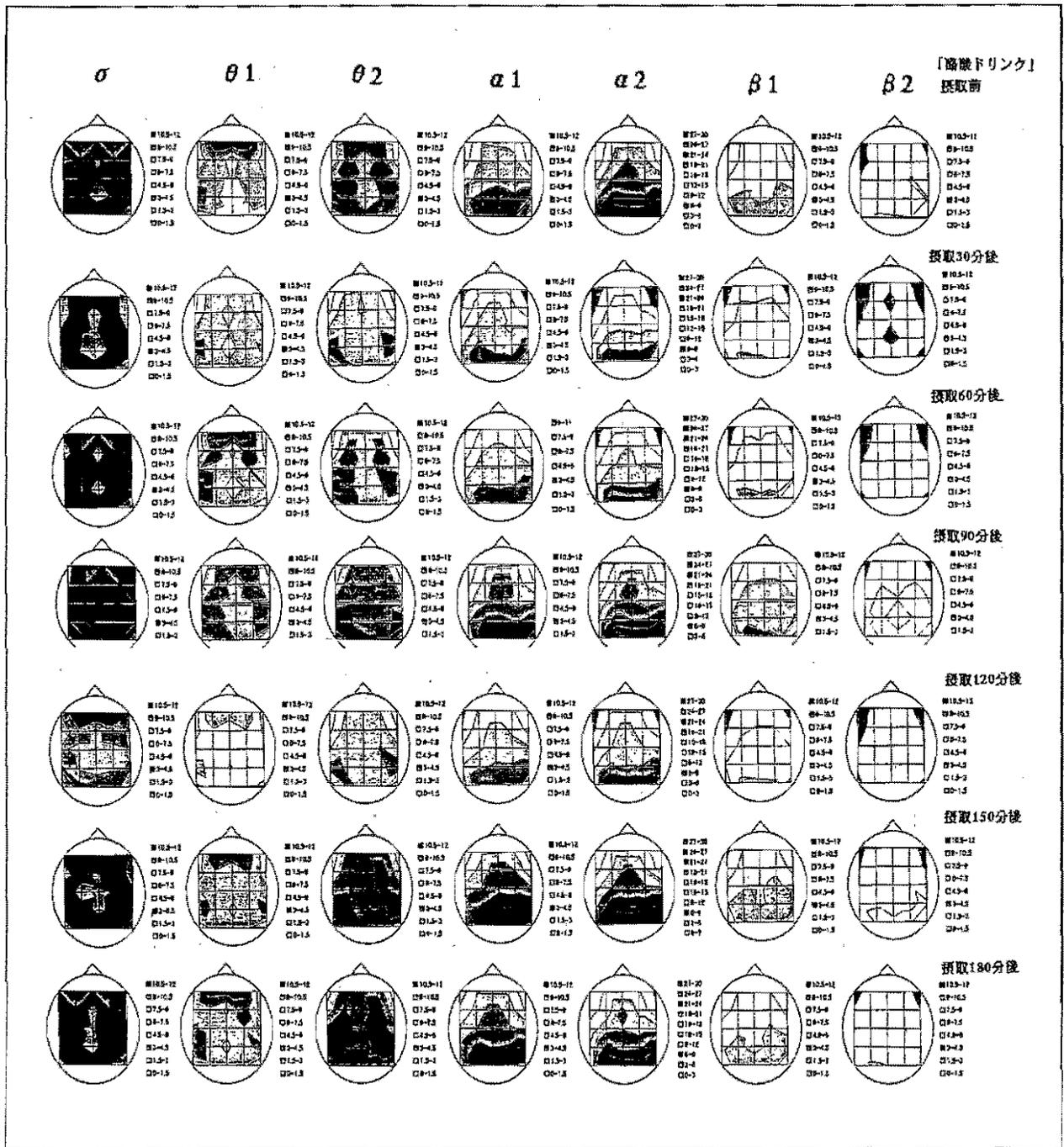


図7 A. 脳波から抽出した周波数帯域 (σ 、 θ_1 、 θ_2 、 α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2) 及びそのパワースペクトル値の程度をカラーと色の濃淡によってマッピングした図 (少量酪摂取酸グループ、 $n=6$) .

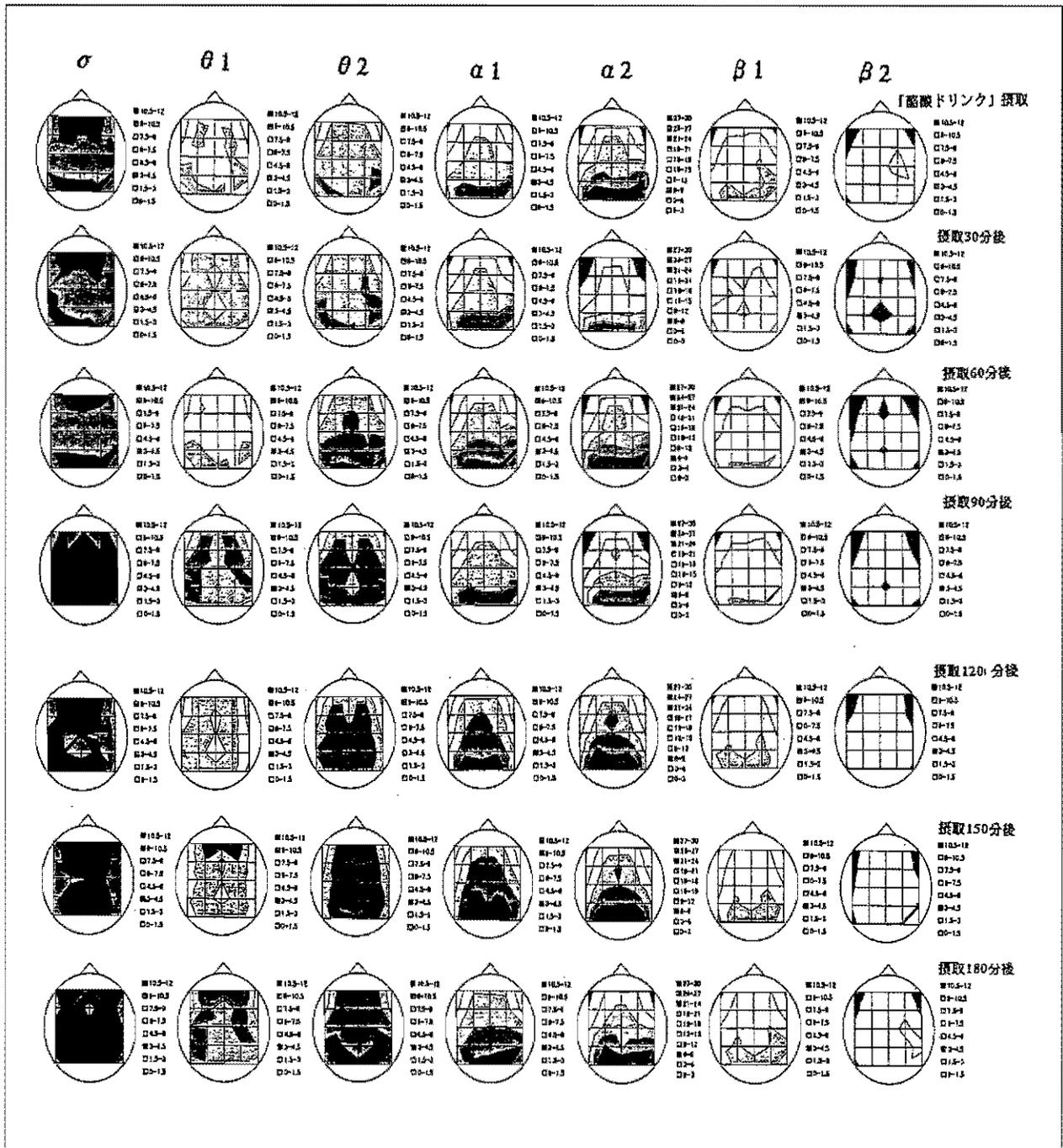


図7B. 脳波から抽出した周波数帯域 (σ , $\theta 1$, $\theta 2$, $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$) 及びそのパワースペクトル値の程度をカラーと色の濃淡によってマッピングした図 (多量酪摂取酸グループ、 $n=6$)。

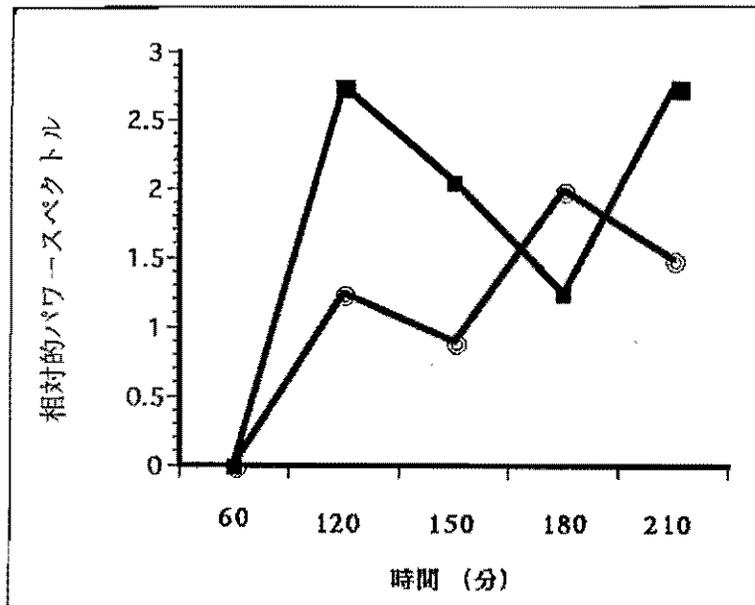


図 8 a. T5, P3, Pz, P4, T6, O2, O1 領域の於ける「酪酸ドリンク (低濃度酪酸)」
 摂取後の α 波の時間的变化. 各値は 6 人の平均値.

■ : $\alpha 1$. ○ : $\alpha 2$.

相対的スペクトル =

(摂取後のパワースペクトル) - (摂取60分後のパワースペクトル)

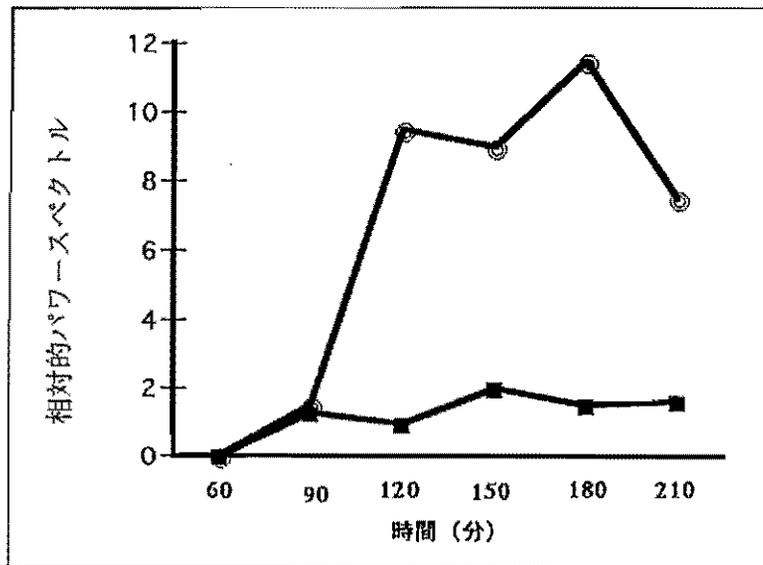


図 8 b. T5, P3, Pz, P4, T6, O2, O1 領域の於ける「酪酸ドリンク (高濃度酪酸)」
 摂取後の α 波の時間的变化. 各値は 6 人の平均値.

■ : $\alpha 1$. ○ : $\alpha 2$.

相対的スペクトル =

(摂取後のパワースペクトル) - (摂取60分後のパワースペクトル)

(b) 酪酸摂取と運動負荷による脳波の変化

負荷された走運動“ゆるやかな走運動”(4 km を15分)と“ややきつい走運動”(4 km を13分20秒)がヒトの身体に運動の強度の差が十分反映されるかどうかを検査するために血中乳酸濃度を測定した。

図9にその結果を示してある。“ゆるやかな走運動”では、血中乳酸濃度は僅かに高まったのみで殆ど変化が無かった。一方、“ややきつい走運動”では走行前約2mM程度の乳酸濃度が、走行直後には約10mMに高まった。運動負荷によるこの乳酸濃度の増加は“酪酸ドリンク”を多量(30ml)に摂取しても酪酸の影響はみられなかった(図9)。明らかに身体に対する運動強度の差が両走運動間に認められた。

脳波の測定については、現在進行中で、結論は出ていないが、安静時に“酪酸ドリンク”で出現した後頭部のα波が運動によって生ずる変化にどの様に影響するか、現在実験を進めており、大変興味を持っている。

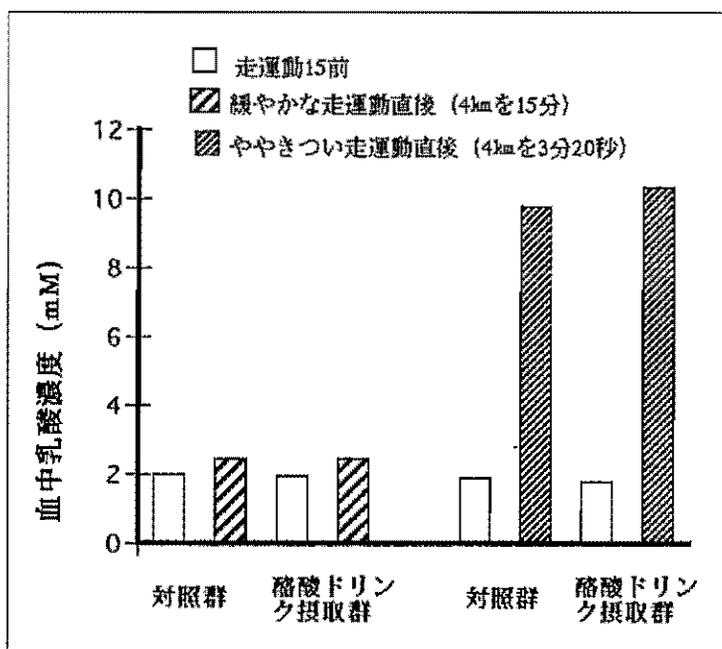


図9. “酪酸ドリンク” 摂取グループと非摂取グループの走運動負荷テストの走行前と走行直後の血中乳酸濃度の変化。

考 察

脳波は多くの部分に分かれているが、それぞれの部分が独立しているわけではない。互いにケーブルで密接に繋がっていて「情報交換」をしている。その構造は神経細胞が網目の様につながっている。この網目のようなネットワークを「情報」が行き交うことで精神作用が生ずる。脳内の「情報」は微弱電気シグナルの形で無数の神経細胞の繋がりの中を伝わっている。

しかし、神経細胞と神経細胞の間にはシナプスという僅かな隙間があって、この隙間を電気シグナルは飛び越えることができない。シナプスまで伝わった電気シグナルは化学シグナル(化学物質、即ち伝達物質)に姿を変え、電気のでれない“すきま”を超えて次の神経細胞に情報を伝える。脳内に神経伝達物質は百数十種あるとみられているが、確認されているのは25種程度である。神経シグナル

が電気シグナルだけでなく、化学シグナルを取り入れることにより、脳の場所ごとに役割を分担して、高度の精神作用を分業することを可能にしている。

ドーパミンやセロトニンなどの興奮性神経伝達物質による神経シグナルの発生は次の様である。神経細胞の外側はナトリウム・イオンが内側より遥かに多い。膜の外側のナトリウム・イオンは脂質で構成されている膜に弾かれて、細胞内に入れない。このため膜の外側は+に、膜の内側は-にそれぞれ電荷を持っている。膜上にある、興奮性神経伝達物質の受容体（レセプター）の隣接して存在するナトリウム・イオンだけを通す関門（ナトリウム・チャンネル）がある。このナトリウム・チャンネルは普段は固く閉じていて、ナトリウム・イオンは膜の内側（細胞内）に入れない。神経細胞が伝達物質を受け取る前の状態である。伝達物質が受容体に結合するとナトリウム・チャンネルは開き、ナトリウム・イオンが膜の内側（細胞内）に雪崩込んでくる。それ故、神経細胞の内側が-から+に変わる（膜の脱分極）。電気の逆転によって興奮性シグナルが発生する。ドーパミン、セロトニン、ノルアドレナリン、アセチルコリンなどが此の仕組みで興奮を伝える。

本研究でラットに酪酸を投与すると、脳内にドーパミンやセロトニンが放出されることが示された（図3と4）。ヒトでも同じ様な現象が起こるとすれば、神経細胞の膜に脱分極が起こり、神経シグナルが普段と異なったものになると考えられる。それ故、神経シグナルの変化は脳波の変化に反映すると大いに考えられる。

近年、Kristev ら⁶⁾はウサギに酪酸ナトリウムを静脈注射し、30分後の脳波のパワースペクトルの高まることを報告している。彼等は酪酸が血液-脳関門を乗り越えて、脳組織に入り神経細胞に脱分極を生じさせると述べている。このことは、我々の実験結果を強く支持するものと考えられる。

例数が少ないので、有意差については言えないが、図8に示される様に、“酪酸ドリンク”の摂取が後頭部での α 波のパワースペクトル値を高める作用がある可能性を示した。

後頭部の α 波の高まりについては、走運動と関係があることが報告されている。佐々木⁷⁾は低強度走運動負荷と高強度走運動負荷で脳波に違いがあることを調べている。低強度走運動負荷では高強度走運動負荷に比べて、後頭部の α 波パワー値が顕著に高まり、また α 波の出現する比率が低強度走運動負荷でより増加したことを報告している。

一般に、 α 波は後頭部で優勢であることが報告されている⁸⁾。また、この α 波はリラクゼーション（精神的緊張を緩める）との関連性が示されている^{9,10)}。さらに、 α 波成分の高まりと注意集中の変化に相関関係のあることが認められている¹¹⁾。

一方、走運動は脚筋の収縮運動によってもたらされる。筋の収縮運動のエネルギーはATP加水分解によって得られるもので、そのATPは主として好氣的解糖系によって支えられている。グルコースが酸素の消費により CO_2 と H_2O に分解され、その時、生ずるエネルギーによってATPが合成される。しかし、激しい運動時にはATP消費が多量でこの好氣的解糖系では賄いきれなくなる。この激しい運動を支えるためのエネルギーは嫌氣的解糖系で得られる。この時、グルコースは乳酸に代謝される¹²⁾。生成された乳酸は血液に入り、肝臓に運ばれそこで糖新生の経路を経てグルコースに再生さ

れ、血糖となって再利用される（コリー・サイクル）。それ故、上述の代謝系が活発に活生化しているときには血中乳酸濃度が高まることが知られている。

この時生じた乳酸が糖新生される時、肝臓で大量のATPが消費されるし、組織に溜まった乳酸によりその組織でのATPの生産が低下する。これらのことにより疲労が生ずる脳組織では中枢神経が疲労し後頭部の α 波パワー値は低下することが報告されている⁷⁾。本研究で α 波を高める可能性があるとして示された“酪酸ドリンク”の摂取が、激しい運動に対し α 波を高める作用があるかどうか、また、激しい運動と冷静な判断や決断や集中力等高度の精神活動を必要とする色々な球技（サッカー、バスケットボール、バレーボール等）に対して“酪酸ドリンク”が脳波にどの様に影響するか、それによりどの様な精神作用が示されるかを調べたことを計画している。

謝 辞

脳波を測定して頂いた順天堂大学・医学部・精神医学研究室の蒲池弘果先生、小林朝隆先生、福田麻由子先生、山崎洋祐先生、および宇田川正子先生に大変お世話になりました。厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 山口正弘、黒田善雄「発育過程の運動トレーニングラットの体力に及ぼす牛乳および砂糖摂取の影響—牛乳と脱脂粉乳の影響」
平成二年度牛乳栄養学術研究会委託研究報告書188—198頁
- 2) 山口正弘、亀山恒夫、刈間理介、柴 佳保理、神山洋一郎、中里泰三「牛乳に多量に含まれる短鎖脂肪酸の中枢神経（行動）に及ぼす作用」平成七～九年度牛乳栄養学術研究会委託研究報告書（I）169—183頁
- 3) 中里泰三、「in vivo 電気化学センサーによる脳神経機能の解析」
電気化学および工業物理化学 61：180—186（1993）
- 4) Kissinger, P.t. Hart, J.B. and Adam, J.B. 「Voltammetry in brain tissue—new neurophysiological measurement」
Beain Res. 55：209—213（1973）
- 5) Casser, T., Bacher, P/and Nochs, J. 「Transformation toward the normal distribution of broad band spectral parameters of the EEG.
Electroencephalogr. Chin. Neurophysiol. 52：119—124（1982）
- 6) Kristev, A., Kostadinoova, M. and Mitkov, D. 「Effects of the butyric short-chain fatty acid on the bioelectric activity of rabbits.」

Folia Medica, 2 : 9 -13, (1992)

- 7) Sasaki, H. 「Effects of the exercise intensities standardized by anaerobic threshold on EEG and heart rate variability」
Hokkaido J. Med. Sci. 73 : 327-341 (1998)
- 8) 平井富雄、竹村信男、江部 充、宮崎元慈、竹内一夫、橋 直矢、水谷 徹、滝沢和盛「脳波の構成要素、正常脳波」脳波学、平井富雄、竹村信男、江部 充、竹内一夫編集、分光堂、東京：pp369-375 (1974)
- 9) West, M.A. 「Mediation and the EEG.」 Psychological Medicine 10 : 369-375 (1980)
- 10) Banquer, J.P. 「Special analysis of the EEG in mediation.」
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 35 : 143-151 (1973)
- 11) 斉藤和雄「注意集中と脳波及び光・音誘発反応との関連.」臨床脳波25 : 296-176 (1977)
- 12) Costill, D.L. and Fox. E.L 「Energetics of marathon runner」
Medicine and Science in Sports 1 : 87-86. (1969)