

天然GABA高含有豆乳によるヒト血圧低下作用 及びリラックス効果

伊藤 禎司¹⁾ *、富田 順一³⁾、茂木 晴久³⁾、海老原 淑子²⁾、
高橋 菊枝²⁾、清水 隆磨¹⁾、沼田 弘明¹⁾、渡邊 泰雄⁴⁾

¹⁾〒101-0047 東京都千代田区内神田 3-3-5 中信ビル2F CPCC株式会社

²⁾〒101-0047 東京都千代田区内神田 3-3-5 中信ビル2Fチヨダパラメディカルケアクリニック

³⁾ 〒370-0073 群馬県高崎市下大島 613 オリヒロプランデュ株式会社

⁴⁾ 〒362-0806 埼玉県北安達郡伊奈町小室 10281 日本薬科大学医療薬学科薬理薬物治療分野

Antihypertensive and sedative effects of soymilk contained high natural GABA levels in human

Teiji Itoh¹⁾, Jun-ichi Tomita³⁾, Haruhisa Motegi³⁾, Shukuko Ebihara²⁾,
Kikue Takahashi²⁾, Ryoma Shimizu¹⁾, Hiroaki Numata¹⁾, and Yasuo Watanabe⁴⁾

¹⁾ CPCC Co., Ltd., Chushin Bld.2F, 3-3-5 Uchikanda Chiyoda-ku, Tokyo 101-0047, Japan

²⁾ Chiyoda Paramedical Care Clinic, Chushin Bld.2F, 3-3-5 Uchikanda Chiyoda-ku, Tokyo 101-0047, Japan

³⁾ Orihiro Plant Dew Co., Ltd., 613, shimo-oshima, Takasaki-shi, Gunma 370-0886, Japan

⁴⁾ Department of Pharmacology/Pharmacotherapy, Nihon Pharmaceutical University 10281 Komuro, Ina-machi, Kita-Adachi-gun, Saitama 362-0806, Japan

Received February 26, 2007, Accepted May 2, 2007

The effects of Orihiro's soy milk containing γ -aminobutylic acids (GABA) on blood pressure and stressful conditions of the mild hypertensive middle aged subjects were investigated as a human study. Twelve volunteers (six males and six females) took a 180 g of Orihiro's soy milk containing 30mg GABA at the breakfast for five weeks. Blood pressure was monitored at 0, 4 and 8 weeks after administration of this test sample. By eight weeks consecutive intake of this test sample, the mean blood pressures were significantly decreased compared to the mean levels obtained at 0 week. The Profile of Mood State (POMS) test and the blood cortisol test were also performed at every 4 weeks for the assessment of mental relaxation (sadtation). No significant difference was observed in each POMS score after 4 and 8 weeks administration, although POMS pattern was tend to decrease in cases of the tension, depression and fatigue, and then to increase the activities (vigor). Such effects related to the mental relaxation were reflected in the decreased blood cortisol level after 8 weeks consecutive administration. These results indicate that the special made Orihiro's soymilk containing high contents of GABA shows antihypertensive and sedative effects on mild hypertensive subjects. Thus a 180 g Orihiro's soymilk containing 30mg GABA taken at breakfast can expect to be good for the mild hypertensive and stressful conditions.

Keywords: Soy milk / GABA / Hypertension / Relaxation / Human study

*Correspondence author : 伊藤 禎司 〒101-0047 東京都千代田区内神田 3-3-5 中信ビル2F
CPCC 株式会社 Tel : 03-5297-3112 Fax : 03-5297-3113 E-mail : chiyoda@cpcc.co.jp

緒言

高血圧症は、生活習慣病の中でも最も頻度の高い疾患であるとともに、適切な治療を早期に行いさえすれば、これに基づく重篤な心血管病の発症を予防することが可能な疾患でもある。

高血圧治療の開始はライフスタイルの修正からであるとガイドライン(日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会, 2000)でも強調されており、基本は減量、食塩制限、アルコール制限、運動、禁煙及びコレステロールと飽和脂肪酸の制限とされている。さらに、カリウム、マグネシウム、カルシウムや魚油、食物繊維の摂取増などの食事療法やストレス管理もまた軽度の降圧効果が期待できるとされている。しかしながら、食事療法などのライフスタイルの修正は、効果が比較的小さく、実行と継続が難しい。

最近の食と健康との話題から、豆乳が大豆タンパク及びアミノ酸にビタミンB・Eなどを豊富に含み栄養価が高いだけでなく、ノンコレステロールでカリウム・マグネシウムが多いなど生活習慣病を予防する効果にも脚光を集め、今では世界中で飲用されるようになって来ている。

一方、大豆や玄米に含有の天然GABAはアミノ酸の一種で、生体内では抑制性神経伝達物質と考えられている。GABAは、グルタミン酸にグルタミン酸脱炭酸酵素(GAD)が作用して生成され、発芽の過程で増加することが知られている。GABAを関与成分とする製品の摂取は血圧を低下させるという結果が得られており(梶本ら, 2003)、特定保健食品として許可されている食品もある。

オリヒロ GABA 豆乳は、GABAの生成を高める特許製法で作られた豆乳であり、他の豆乳と比較すると大豆アミノ酸、ペプチド類が豊富であることを特徴とする。今回我々は、血圧が高めな中高年男女を対象として、含有量を高めたGABAの機能性を主としたGABA豆乳の継続摂取による降圧作用及びリラックス効果について検討を行った。

試験方法

1) 試験飲料

オリヒロブランド株式会社製「GABA豆乳」180gアセプティックフィルムパック入りを用いた。

GABA豆乳は国産丸大豆と群馬県榛名山系の伏流水を原料に独自の特許製法(定清ら, 2002)で調製されたもので、GABA含量が高く、旨み及び機能性の向上が期待できるアミノ酸及びペプチド含量が比較的多い特徴を有する。

一般的な豆乳の製造では大豆を水に浸漬させた後に磨砕して呉と呼ばれる大豆磨砕物を作り、そこから大豆タンパク成分を含む液体の豆乳画分を抽出して調製される。この時通常は、呉の調製後すぐにリポキシゲナーゼによる過酸

Table 1 Composition of Orihiro GABA soy milk

Main constituents	Amount per serving (180g)
Total soy solids	21.6g (12%)
Protein	11.0g
Fat	5.8g
Carbohydrates	3.2g
Sodium	0 g
GABA	30mg
Isoflavone (aglycone)	40mg (25mg)
Calories	108kcal

Table 2 Low molecular weight peptides contents

Peptides fraction	GABA soymilk	Normal soymilk
M.W < 500	24.1%	14.8%
M.W 500 – 1000	24.0%	22.9%

化脂質の生成に起因する青臭みを防ぎ、味への影響を抑制する目的で大豆中に含まれる各種の酵素を失活させるための加熱処理が為される。本特許製法は、浸漬大豆を発芽段階まで進めてから磨砕すること、呉の加熱処理を遅らせて大豆成分のグルタミン酸とGADの反応を呉という液中で効率的に行わせることでGABAの生成量を高めることを可能としている。GABA豆乳1パック180gあたりの成分はTable 1に示した。また、加熱処理を遅らせる製法では、プロテアーゼやペプチダーゼによる酵素反応も進行し、大豆タンパクの分解によりアミノ酸やジペプチド・トリペプチドといった分子量500以下の成分が一般製法に比べて豊富(Table 2)である。さらにHTST(高温・短時間)殺菌製法とアセプティックフィルム包装を採用することで、味と品質の保持及び長期の保存安定性を実現している。味に関しては、大豆固形分が12%と濃厚でアミノ酸成分による旨み効果も寄与して比較試験でも高評価が得られている。このようにGABA豆乳は飲料として日常生活の中で無理なく摂取することに適した味と機能を備えた食品となっている。

2) 試験対象者

試験対象者は、C P C C (株)において一般募集した有償ボランティアで、特定疾患を持たない成人男女で、平均血圧が収縮期血圧130~159mmHg、拡張期血圧85~99mmHg程度の高めの方に該当する選択基準をクリアした男6名、女6名の12名(平均年齢47.2±6.2歳)を対象とした。被験者の背景についてTable 3に示す。尚、循環器、消化器、肝臓、

膵臓、及び腎臓に重篤な疾病をしている者、過去に心筋梗塞などの発症既往がある者、妊娠中（可能性を含む）の者、過去3ヶ月以内に他の治験参加者は、試験対象者から除外した。

Table 3 Background of all subjects

Subjects	Mean ± S.D. (n=12)
Age	47.2 ± 6.2 y
Systolic blood pressure	145.5 ± 11.9 mmHg
Diastolic blood pressure	86.2 ± 7.0 mmHg
Heart rate	66.9 ± 10.4 bpm
Body weight	67.4 ± 12.5 kg
BMI	25.0 ± 3.9 kg/m ²
Body fat rate	28.4 ± 6.4 %

本試験は、試験食品データ、臨床試験計画書、実施要綱をC P C C（株）内に組織された諮問委員会（IRB）に提出し、試験の倫理性、試験方法の妥当性などについて客観的な審査と承認を得て実施した。

被験者の健康診断データを確認し、ヘルシンキ宣言の主旨に従い、事前に研究内容、方法について十分な説明を行い、被験者の自発的な協力同意を文書にて得て行った。

3) 試験スケジュール

試験スケジュールを Fig.1 に示す。試験方法はオープン形式で実施した。試験期間は、前観察なしで8週間の摂取期間とした。被験者には摂取期間中、試験食を一日毎朝食時1回1パック180gづつ摂取させた。なお、試験の実施に際しては、暴飲暴食を避けるように指示し、それ以外は日常生活について変えることの無いよう指示した。

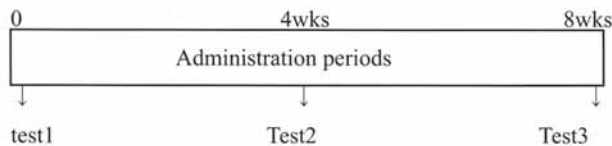


Fig.1 Test schedule

4) 効果確認試験

摂取前、摂取4週後そして摂取8週後の3回来院して、主要効果である血圧・脈拍の検査を実施し、さらにリラックス効果の確認としてPOMSアンケート及び採血による血中コルチゾール値の測定を実施した。同時に体重や体脂肪率など体成分分析、採血及び医師の問診を行い副次作用の有

無など安全性の確認を行った。

5) 測定方法

a) 血圧測定

血圧の測定は被験者来院後60分以上の安静待機を実施して精神的及び肉体的に安定した状態で行った。測定は座位にて熟練した医師が(株)エー・アンド・デイ社製の全自動血圧計TM-2571を用いて、左上腕にて3回づつ行った。個々の血圧・脈拍値については、3回測定のうち、最初の1回目の測定値を削除し、2回目3回目の平均値を採用した。

b) 血液検査

ストレス関連検査としてのコルチゾールは、毎回の来院時間を固定して日内変動の影響のないように採血して測定した。食品の安全性確認としての一般生化学検査については、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ、ALT、AST、乳酸脱水素酵素、 γ -GTP、総コレステロール、中性脂肪、HDLコレステロール、遊離脂肪酸、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、血糖、CRP、Na、K、Clの項目について行い、血液一般検査については、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数そして白血球分画における好中球%、好酸球%、好塩基球%、単球%、リンパ球%の項目について行った。

採血は、千代田パラメディカルケアクリニックにて行い、採血した血液成分の分析は、(株)苫小牧臨床検査センターにて実施した。

c) 体成分分析

体重、BMI、体脂肪率、筋肉量の測定は、(株)バイオスペース社製の体成分分析装置InBodyを用いて行った。

d) 診察・問診

医師による診察・問診により消化器、呼吸器、循環器、中枢症状などの副作用状況の監視を行った。

e) POMS アンケート

気分を評価する質問紙法の一つであるPOMS (Profile of Mood States)により、各被験者の来院当日の気分について「緊張-不安」「抑うつ-落ち込み」「怒り-敵意」「疲労」「混乱」「活気」の6つの尺度を同時に評価した。

f) 統計処理

各測定値は、平均値±標準誤差で示した。

検定は、連続摂取前後の比較として対応のあるt-testにて行った。両側検定で有意水準5%以下を有意な変動とし、10%以下の場合には傾向ありとして評価した。

結果

1) 血圧・脈拍数の推移

試験期間中の来院時血圧の推移を Fig.2A 及び Fig.2B のグラ

フに示す。収縮期血圧は、摂取前 $145.5 \pm 3.4 \text{ mmHg}$ から、摂取4週目において $133.1 \pm 2.5 \text{ mmHg}$ へと有意な ($p < 0.05$) 低下を示し、摂取8週後においても $136.5 \pm 3.0 \text{ mmHg}$ と有意な ($p < 0.05$) 低下が観察された。拡張期血圧も同様に、摂取前 $86.2 \pm 2.0 \text{ mmHg}$ から、摂取4週目において $79.8 \pm 1.5 \text{ mmHg}$

へと有意な ($p < 0.05$) 低下を示し、摂取8週後においても $81.8 \pm 1.9 \text{ mmHg}$ と有意な ($p < 0.05$) 低下が観察された。

脈拍数に関しては、試験期間中の有意な変化は観察されおらず、除脈及び頻脈といった異常所見も認められなかった。

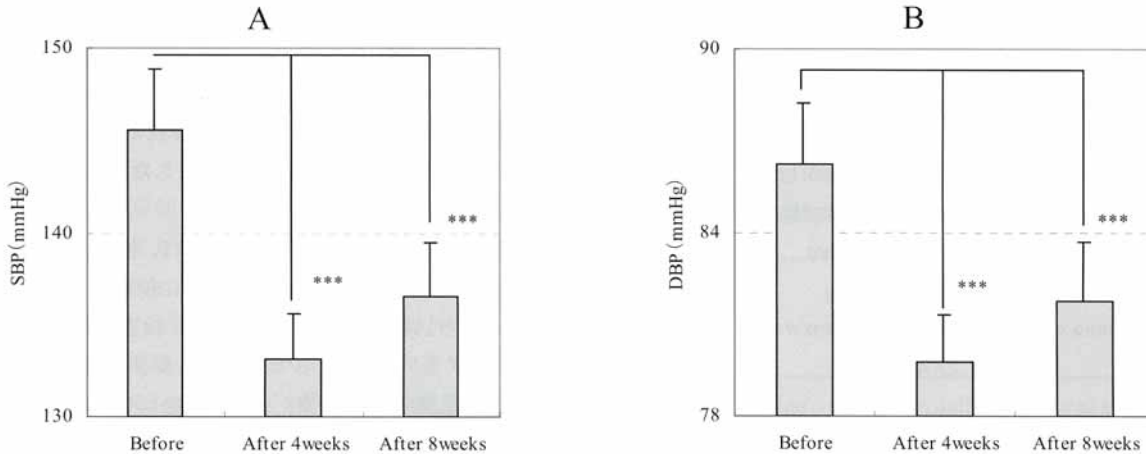


Fig.2 Changes in systolic and diastolic blood pressures.

Graph A (left) shows the changes in systolic blood pressure. Graph B (right) shows the changes in diastolic blood pressure. Each value was measured at 0th, 4th and 8th week after administration.

Data are expressed as mean \pm S.E.

*** : Significant difference compared to the initial point (Before; 0 week) ($p < 0.01$: paired-*t* test)

2) 血中コルチゾール値の推移

GABAによる交感神経抑制作用による血圧降下作用と併せて、ストレス負荷により高まった交感神経状態を抑制することによるコルチゾール分泌の変化も観察し、GABA豆乳の摂取効果としての抗ストレス作用を検討した。試験期間中の来院時コルチゾール値の推移はFig.3に示した。血中コルチゾール値は摂取前 $15.9 \pm 1.4 \mu \text{ g/dL}$ 、摂取4週後も $14.8 \pm 1.2 \mu \text{ g/dL}$ と僅かな低下で有意な変化は見られなかったが、摂取8週後に $10.5 \pm 0.6 \mu \text{ g/dL}$ へと有意な ($p < 0.01$) 低下が観察された。

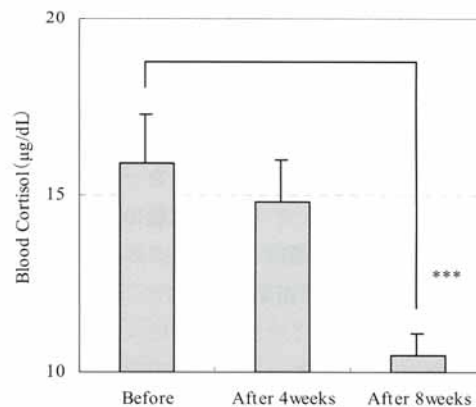


Fig.3 Changes in blood cortisol levels.

Each value was measured at 0, 4 and 8 weeks after administration. Data are expressed as mean \pm S.E.

*** : Significant difference compared to the initial point

(Before; 0 week) ($p < 0.01$: paired-*t* test)

3) POMS パターンの推移

GABA豆乳の4週及び8週間摂取前後における気分の変化を確認する目的で、気分を評価する質問紙法の一つであるPOMSテストにより、各被験者の来院当日の気分について「緊張-不安」「抑うつ-落ち込み」「怒り-敵意」「疲労」「混乱」「活気」の6つの尺度パターン変化を比較した。POMSパターンの推移グラフは、Fig.4に示した。

摂取前のスコアでは「緊張-不安」 4.3 ± 1.2 「抑うつ-落ち込み」 1.7 ± 0.4 「怒り-敵意」 3.4 ± 1.0 「疲労」 5.8 ± 1.2 「混乱」 5.1 ± 0.4 「活気」 6.3 ± 0.9 であったが、有意差は検出されなかったが、摂取8週後には「緊張-不安」 3.8 ± 0.6 「抑うつ

-落ち込み」 1.3 ± 0.4 「怒り-敵意」 3.3 ± 0.7 「疲労」 4.6 ± 0.8 「混乱」 5.1 ± 0.4 「活気」 6.7 ± 1.2 と特に「緊張-不安」「疲労」のスコアが下がって「活気」のスコアが上昇するようなパターンの変化が見られた。

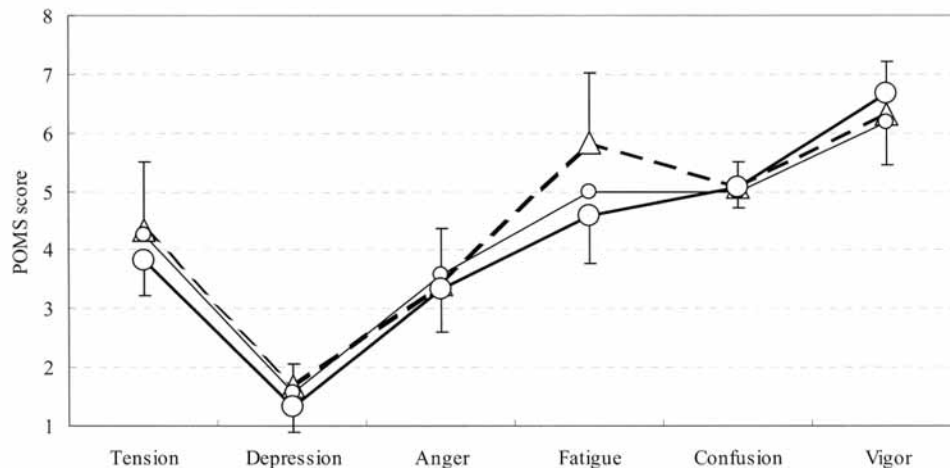


Fig.4 Changes in POMS test score.

Changes in POMS scores (Tension, Depression, Anger, Fatigue, Confusion and Vigor) between 0 and 8th week after administration were drawn. Open triangle with break line shows the mean ± S.E. obtained at 0 week, open small circle with thin line shows the mean score obtained at 4 weeks, and open large circle with thick line shows the mean ± S.E. obtained at 8th week after administration. No significant difference was observed in each score.

4) 血液生化学検査及び血液学検査数値

食品としての安全性確認として連続摂取前後における生化学検査数値及び血液学的検査数値の推移を観察したが、連続摂取に伴う検査数値の変化は正常値内での軽微な変化のみで有害反応としての数値変化は観察されなかった。

5) 体成分分析値

体重、BMI、体脂肪率、筋肉量などの体成分分析値に関して試験期間中の有意な変化は観察されなかった。

6) 診察・問診

試験期間中に、胃腸症状、皮膚症状（湿疹や皮膚掻痒感など）、味覚異常、頭痛、めまい、ふらつきなどの異常事象は認められなかった。医師の問診結果において、摂取期間中、試験食によると思われる自覚症状における異常所見は見られなかった。

考察

本試験において、血圧が高めな中高年男女を対象とするGABA豆乳の8週間連続摂取は、頰脈や除脈その他循環器系障害等の発現なしに安全に血圧を低下させることが明らかとなった。さらに、血圧低下作用と併せて自律神経興奮を鎮め、ストレス緊張状態を緩和する効果の裏づけとして血中コルチゾール値の有意な低下も確認された。

経口投与によるGABAの血圧降下作用は古くから知られ(Takahashi *et al.*, 1955)、末梢交感神経系の亢進の抑制によるものと推察されている。GABAは、腸間膜動脈床の電気刺激

による収縮反応に対して、本態性高血圧ラット(SHR)では細動脈収縮を抑制するのに対し、正常血圧ラット(WKY)ではほとんど収縮に影響せず、交感神経末端からのノルアドレナリンの遊離量が収縮抑制の程度に応じて減少することが確認されている(Hayakawa *et al.*, 2002)。腎交感神経切除SHRにおけるGABA降圧作用の消失より腎交感神経の重要性が確認されていること(Hayakawa *et al.*, 2005)から、GABAは腎臓など末梢臓器血管にある交感神経系の神経末端の神経伝達を抑制して血圧降下作用を発現することが推察される。

GABA含有食品のヒトを対象とした研究においても、GABA含有醗酵乳製品(Inoue *et al.*, 2003)やGABA高含有クロレラ(土田ら, 2003)などで降圧効果が報告されている。

また、GABAによるリラックス効果及び免疫増強効果に関しては、GABA摂取による脳α波の増加とβ波の減少、唾液中IgA分泌の亢進が観察されている(Abdou *et al.*, 2006)。

一方、豆乳に関する研究では、軽症から中等度高血圧の男女における降圧効果の報告がある(Rivas *et al.*, 2002)が、1日500mL2回を3ヶ月間摂取するもので一般的な常用量とは言えない。さらに、治療薬において、血圧抑制作用として交感神経抑制とは別にアンジオテンシンI変換酵素(ACE)阻害作用が良く知られるが、近年、大豆タンパクの消化ペプチドにACE阻害活性があることが示唆されている(Wu *et al.*, 2001)(Lo *et al.*, 2005)。醗酵大豆食品である豆腐蓉から単理されたACE阻害ペプチドはIle-Phe-Leu (IC₅₀, 44.8 μM)、Trp-Leu (IC₅₀, 29.9 μM)であった(Kuba *et al.*, 2003)。これらのペプチドは大豆βコングリシニン及びグリシニン

配列に由来するもので、低分子ペプチド含量を高めた GABA 豆乳にも含まれるものと考えられる。

以上の知見をふまえて本試験結果における GABA 豆乳の 1 日 180g 摂取による降圧作用は、GABA による末梢交感神経の興奮抑制と特許製法により生成する大豆ペプチド成分及びイソフラボンなど様々な機能性の結果として現れたものと考えられる。本試験では、動脈硬化の指標としての脈波伝播速度 (ABI, baPWV) に及ぼす GABA 豆乳の 8 週間連続摂取の影響を検索した。データは示していないが、明確な効果は確認できなかった。しかし、最近イソフラボンなど大豆抽出物が動脈硬化の因子として知られるホモシステインによる血管内皮細胞のアポトーシス誘導を抑制することが報告されており (Fuchs *et al.*, 2006), 豆乳の長期継続摂取は血圧降下作用と併せて動脈硬化の予防につながる事が期待される。

以上、オリヒロ特製 GABA 豆乳の継続摂取により直接的な血圧降下作用に加えてストレス改善効果が期待できることが明らかとなった。すなわち、GABA 豆乳は、高血圧に基づく重篤な心血管病の発症を予防するための継続可能なライフスタイル修正手段の一助として有効な食品であることが示唆された。

結 論

WHO/ISH の血圧の定義・分類 (1999) より正常高値或いは低中等度リスク高血圧症に該当する血圧が高めの方 (収縮期血圧 130-159mmHg, 拡張期血圧 85-99mmHg) を対象としたオープン試験にて、GABA 豆乳の 8 週間継続摂取は頻脈や除脈その他副作用と見られる異常所見なしに安全に血圧を低下させることが明らかとなった。さらに、血圧低下作用と併せて自律神経興奮を鎮め、ストレス緊張状態を緩和する効果の裏づけとして血中コルチゾール値の有意な低下も確認された。

引用文献

日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会 (2000): 高血圧治療ガイドライン 2000 年版, 日本高血圧学会
梶本修身, 平田洋, 西村明 (2003): GABA 含有醗酵乳製品の正常高値および軽症高血圧に対する長期摂取時の有効性と安全性. 健康・栄養食品研究, 6(2), 51-64.
定清剛, 佐藤芳範, 結縁邦彦, 小橋常夫 (2002): γ -アミノ酪酸高含有大豆加工食品 公開特許公報, 特開 2002-45138
Takahashi H., Tiba N., Iino N., Takayasu T. (1955): The effect of gamma-aminobutyric acid on blood pressure. *Jpn J Physiol.*, 5(4), 334-339

Hayakawa K, Kimura M, Kamata K. (2002): Mechanism underlying gamma-aminobutyric acid-induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 438(1-2), 107-113
Hayakawa K, Kimura M, Yamori Y. (2005): Role of the renal nerves in gamma-aminobutylic acid-induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 524(1-3), 120-125
Inoue K., Shrai T., Ochiai H., Kasao M., Hayakawa K., Kimura M., Sansawa H. (2003): Blood-pressure-lowering effect of novel fermented milk containing gamma-aminobutylic acid (GABA) in mild hypertensives. *Eur J Clin. Nutr.* 57(3), 490-495
土田隆, 益子研士, 山田勝彦, 平塚秀雄, 島田孝男, 坂垣雪絵, 藤沼秀光, 鮫島浩二, 中村寿雄, 長谷川節, 松林恒夫 (2003): 血圧が高めの健常者および軽症高血圧者に対する γ -アミノ酪酸高含有クロレラの効果. 日本栄養・食糧学会誌 56, 97-102
Abdou AM., Higashiguchi S., Horie K., Kim M., Hatta H., Yokogoshi H. (2006): Relaxation and immunity enhancement effects of gamma-aminobutylic acid (GABA) administration in human. *Biofactors.* 26(3), 201-208
Rivas M., Garay RP., Escanero JF., Cia P Jr., Cia P., Alda JO. (2002): Soymilk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. *J. Nutr.* 132(73), 1900-1902
Wu J, Ding X. (2001): Hypotensive and physiological effect of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from soy protein on spontaneously hypertensive rats. *J. Agric. Food Chem.* 49(1), 501-506
Lo WM, Li-Chan EC. (2005): Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from in vitro pepsin-pancreatin digestion of soy protein. *J. Agric. Food Chem.* 53(9), 3369-3376
Kuba M, Tanaka K, Tawata S, Takeda Y, Yasuda M. (2003): Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides isolated from tofuyo fermented soybean food. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(6), 1278-1283.
Fuchs D., Dirscheri B., Schroot JH., Daniel H., Wenzel U. (2006): Soy extract has different effects compared with the isolated isoflavones on the proteome of homocysteine-stressed endothelial cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 50(1), 58-69.