

明 細 書

発明の名称：

脳機能向上剤、脳機能向上剤の製造のための使用、及び脳機能の向上方法
技術分野

[0001] 本開示は脳機能向上剤に関する。

背景技術

[0002] ヒトの脳は、大脳、脳幹、及び小脳で構成されており、それらが相互に連携して複雑な作業を可能にすることや、そこでは脊髄を介して伝えられた末梢からの刺激に基づいて、思考、記憶、行動の命令決定などが行われることが知られている。そして、人間の通常の生活においては、休養や睡眠を取ることにより、心身の疲労、特に脳の疲労が回復することが知られている。

[0003] 一方、24時間活動している現代社会ではインターネットの普及も加わり、勤務時間の長時間化やシフト勤務等で心身が疲労し、眠気、だるさ、肩こり、頭痛、腰痛、腹痛、便秘、めまい、ほてり、のぼせ、不安、動悸、眼精疲労、記憶力の低下、集中力や意欲の低下、怒りっぽさ、などの脳機能に起因する体調不良が社会問題として指摘されている。このような体調不良は病気の予兆であるとともに、パフォーマンスの低下やミス・事故の発生リスクの上昇を引き起こし、その結果生産効率が低下することによる経済損失もまた問題となっている(参考文献：企業の「健康経営」ガイドブック ～連携・協働による健康づくりのススメ～ (改訂第1版) 経済産業省 商務情報政策局 ヘルスケア産業課kenkokeiei-guidebook2804.pdf (meti.go.jp))。このような脳機能に起因する体調不良の解決には休養や睡眠をとるだけではそれらを直ちに解決することは困難であり、睡眠によらない方法が提案されている。

[0004] 例えば、特許文献1には、ドコサヘキサエン酸(DHA)が、加齢、痴呆、又は脳障害等によって低下した脳の認知機能の改善のみならず、健常者における脳の認知応答機能を改善することが開示されている。また、特許文献2には、アラキドン酸及び／又はアラキドン酸を構成脂肪酸とする化合物が

、脳の認知能力の正常応答の低下を予防、改善又は向上させることが開示されている。さらに特許文献3には、歯磨きの前後における脳の覚醒度の向上効果について開示されている。

先行技術文献

特許文献

- [0005] 特許文献1：特開平10-059844号公報
特許文献2：特表2006-502196号公報
特許文献3：特開2011-5056号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] 上記従来技術は、上述した現代人の生活に適した脳機能向上剤を提供するものではなかった。本発明者らは、睡眠が充分に取れていると取れていないとに関わらず、ヒトの脳の機能を向上させる成分を見いだすべく、種々検討した。その結果、ラクチカゼイバチルス属の中でも特に、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体又はその菌体処理物を摂取すれば、脳機能を向上できることを見いだした。

課題を解決するための手段

- [0007] 上記に例示した課題を解決するために、本発明の一実施形態における脳機能向上剤は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方を有効成分とすることを特徴とする。
- [0008] また、本発明の一実施形態における使用は、脳機能向上剤の製造のための、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方の使用であることを特徴とする。
- [0009] さらに、本発明の一実施形態における脳機能の向上方法は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌数として 10^{10} c f u / 日以上以上の量で少なくとも4週間継続して経口摂取させることを特徴とする。

発明の効果

[0010] 本開示の脳機能向上剤によれば、睡眠の取得状態に関わらず、脳機能の向上効果が得られる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]主観的評価（日中の気分指標）に使用する調査票の一例を示す図である。

[図2]主観的評価（日中の気分指標）の結果を示す図である。

[図3]客観的評価（自発脳波）の結果を示す図である。

[図4]客観的評価（自発脳波）の結果を示す図である。

[図5]客観的評価（P300潜時及びボタン押し反応時間）の結果を示す図である。

[図6]主観的評価（集中力の変化量）と客観的評価（ θ 波の変化率）との関連性を示す図である。

発明を実施するための形態

[0012] <脳機能向上剤>

本開示における脳機能向上剤の有効成分は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方であることを特徴とする。

[0013] 本開示において、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイであればその菌株は特に限定されないが、好ましい例としてラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9018 (FERM BP-665)、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9029 (FERM BP-1366)、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 10003 (FERM BP-7707) が挙げられる。このうち、脳機能向上の効果の点から、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9029 (FERM BP-1366) が特に好ましい。

[0014] 上記したラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9018株は、ラクトバチルス・カゼイ YIT 9018 (FERM BP-665、受託日：昭和59年11月14日)として、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9029株は、ラクトバチルス・カゼイ YIT 9029 (FERM BP-1366、受託日：昭和56年

5月1日)として、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 10003 (FERM BP-7707) は、ラクトバチルス・カゼイ YIT 10003 (FERM BP-7707、受託日:平成13年8月14日)としてブダペスト条約の国際寄託当局である独立行政法人製品評価技術基盤機構特許生物寄託センター(〒292-0818日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 120号室)に国際寄託されている。なお、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイは以前の分類ではラクトバチルス・カゼイ (*Lactobacillus casei*) とされていたが、近年ラクトバチルス属の再分類がなされ、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイに分類された (Zheng et al., A taxonomic note on the genus *Lactobacillus* : Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2020 Apr; 70(4):2782-2858 DOI 10.1099/ijsem.0.004107)。本明細書では、乳酸菌の分類について、上記文献に基づいて分類された新分類で表記している。

- [0015] 本開示において、菌体処理物とは、用いられる細菌(ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ)に何らかの処理を加えたものをいい、その処理は特に限定されない。
- [0016] ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体処理物としては、菌体分解物等が挙げられる。具体的には、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの超音波などによる破碎液、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの酵素処理液、それらを濾過ないし遠心分離など固液分離手段によって分離した上清液や固体残渣等が挙げられる。
- [0017] また、本開示におけるラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体処理物としては、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイを界面活性剤等によって溶解した後、エタノール等によって沈殿させて得られる核酸含有画分も含まれる。
- [0018] さらに、本開示におけるラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体処理物としては、前記ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの超音波などによる破碎液、細胞の酵素処理液などに対し、例えば各種クロマトグラフィーによる分

離・精製処理をさらに行ったものも含まれる。

[0019] さらに、本開示におけるラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体処理物としては、死菌体も含まれる。該死菌体としては、例えば、加熱処理、抗生物質などの薬物による処理、ホルマリンなどの化学物質による処理、紫外線による処理、 γ 線などの放射線による処理により得ることができる。なお、これら処理のうち特に、超音波処理、酵素処理、又は加熱処理が、コスト、製造しやすさ、又は得られる脳機能向上剤の安定性等の観点からは好ましい。

[0020] 一方で本開示において、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物としては、特に生菌体を用いることが、脳機能向上の効果の点からより好ましい。

[0021] 本開示において、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物としては、摂取の容易性、摂取の継続性、脳機能向上の効果等の点から、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイを含む発酵物の形態とするのがより好ましい。発酵物の例としては、乳発酵物に加え豆乳発酵物や穀物汁発酵物、果汁発酵物などの植物液発酵物が挙げられるが、乳発酵物がより好ましい。

[0022] ラクチカゼイバチルス・パラカゼイを含む発酵物は、例えば、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイを、牛乳等の獣乳、粉乳、脂肪粉乳、脱脂粉乳等の乳成分中で、30～40℃の温度で4時間～10日間培養することにより得ることができる。培養は、静置、攪拌、振盪、通気等が挙げられる。より好ましくは、殺菌した乳培地にラクチカゼイバチルス・パラカゼイを単独又は他の微生物と同時に接種培養し、これを均質化処理して発酵乳ベースを得る。次に、別途調製したシロップ溶液を添加混合し、ホモゲナイザー等で均質化し、さらにフレーバーを添加して最終製品に仕上げればよい。

[0023] 本開示において、発酵物とは、乳等省令により定められている発酵乳、乳製品乳酸菌飲料等の飲料やハードヨーグルト、ソフトヨーグルト、プレーンヨーグルト等も包含するものである。また、本開示における発酵物には、ラ

クチカゼイバチルス・パラカゼイを利用した飲食品、例えば、プレーンタイプ、フレーバードタイプ、フルーツタイプ、甘味タイプ、ソフトタイプ、ドリンクタイプ、固形（ハード）タイプ、フローズンタイプ等の発酵乳、乳酸菌飲料等が含まれる。

[0024] 本開示において、これらの発酵物は、必要に応じて、シロップ等の甘味料のほか、それ以外の各種食品素材、例えば、各種糖質、増粘剤、乳化剤、各種ビタミン剤、酸化防止剤、安定化剤等の任意成分を配合することができる。これらの食品素材として具体的なものは、ショ糖、グルコース、フルクトース、パラチノース、トレハロース、ラクトース、キシロース、麦芽糖等の糖質、ソルビトール、キシリトール、エリスリトール、ラクチトール、パラチニット、還元水飴、還元麦芽糖水飴等の糖アルコール、アスパルテム、ソーマチン、スクラロース、アセスルファムK、ステビア等の高甘味度甘味料、寒天、ゼラチン、カラギーナン、グァーガム、キサンタンガム、ペクチン、ローカストビーンガム、ジェランガム、カルボキシメチルセルロース、大豆多糖類、アルギン酸プロピレングリコール等の各種増粘（安定）剤、ショ糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、レシチン等の乳化剤、クリーム、バター、サワークリームなどの乳脂肪、クエン酸、乳酸、酢酸、リンゴ酸、酒石酸、グルコン酸等の酸味料、ビタミンA、ビタミンB類、ビタミンC、ビタミンE類等の各種ビタミン類、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、鉄、マンガンのミネラル分、ヨーグルト系、ベリー系、オレンジ系、花梨系、シソ系、シトラス系、アップル系、ミント系、グレープ系、アプリコット系、ペア、カスタードクリーム、ピーチ、メロン、バナナ、トロピカル、ハーブ系、紅茶、コーヒー等のフレーバー類を挙げることができる。

[0025] 発酵物の製造には、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ以外の公知の微生物を併用することも可能である。このような微生物としては、例えば、ビフィドバクテリウム・ブレーベ（*Bifidobacterium breve*）、ビフィドバクテリウム・ロンガム（*Bifidobacterium l*

ongum)、ビフィドバクテリウム・ビフィダム (*Bifidobacterium bifidum*)、ビフィドバクテリウム・アニマリス (*Bifidobacterium animalis*)、ビフィドバクテリウム・ズイス (*Bifidobacterium suis*)、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium infantis*)、ビフィドバクテリウム・アドレセンティス (*Bifidobacterium adolescentis*)、ビフィドバクテリウム・カテヌラータム (*Bifidobacterium catenulatum*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテヌラータム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、ビフィドバクテリウム・ラクチス (*B. lactis*)、ビフィドバクテリウム・グロボサム (*Bifidobacterium globosum*) 等のビフィドバクテリウム属細菌、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ (*Lacticaseibacillus paracasei*)、ラクチカゼイバチルス・カゼイ (*Lacticaseibacillus casei*) 等のラクチカゼイバチルス属細菌、ラクトバチルス・ガセリ (*Lactobacillus gasseri*)、ラクトバチルス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバチルス・ヘルベティカス (*Lactobacillus helveticus*)、ラクトバチルス・デルブルッキー サブスピーシーズ、ブルガリカス (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)、ラクトバチルス・デルブルッキー サブスピーシーズ、デルブルッキー (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*)、ラクトバチルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*)、等のラクトバチルス属細菌、リジラクトバチルス・サリバリウス (*Ligilactobacillus salivarius*) 等のリジラクトバチルス属細菌、リモシラクトバチルス・ファーマンタム (*Limosilactobacillus fermentum*) 等のリモシラクトバチルス属

細菌、リコリラクトバチルス・マリ (*Liquorilactobacillus mali*) 等のリコリラクトバチルス属細菌、ラクチプランチバチルス・プランタルム (*Lactiplantibacillus plantarum*) 等のラクチプランチバチルス属細菌、ストレプトコッカス・サーモフィルス (*Streptococcus thermophilus*) 等のストレプトコッカス属細菌、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ、ラクチス (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ、クレモリス (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*)、ラクトコッカス・プランタルム (*Lactococcus plantarum*)、ラクトコッカス・ラフィノラクチス (*Lactococcus raffinolactis*)、ラクトコッカス・クレモリス (*Lactococcus cremoris*) 等のラクトコッカス属細菌、エンテロコッカス・フェカリス (*Enterococcus faecalis*)、エンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*) 等のエンテロコッカス属細菌を挙げることができ、これらの乳酸菌を1種または2種以上用いることができ、複数を併用して発酵物を製造すると高い嗜好性が得られ、摂取が容易となるため好ましい。

[0026] 本開示において、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方としては、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイを含む発酵物として入手可能な市販品を利用してもよい。一例として、ヤクルト本社が製造するラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌を含有する発酵乳飲食品を好適に利用することができる。その具体例としては「ヤクルト」「Newヤクルト」、「ヤクルト400」「ヤクルト1000」「Y1000」等のヤクルト類、「ジョア」、「ソフル」、「プレティオ」等が挙げられ、特にラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌数を多く含有することからヤクルト類の利用が好ましい。

[0027] 本開示において、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌

体処理物の少なくとも一方としては、医薬品製剤として入手可能な市販品を利用してよい。一例として、ヤクルト本社が製造するラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌を含有する医薬品製剤を好適に利用することができる。その具体例としては「ヤクルトBL整腸薬」が挙げられる。

[0028] 本開示における脳機能向上剤の1日摂取量は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌数として、 10^5cfu 以上が好ましく、 10^8cfu 以上がより好ましく、 10^{10}cfu 以上がさらに好ましく、 10^{11}cfu 以上が特に好ましい。またその摂取日数は、5日間以上が好ましく、2週間以上がより好ましく、4週間以上がさらに好ましく、8週間以上が特に好ましい。

[0029] また、本開示における脳機能向上剤は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの1回摂取における密度を所定以上とすることが好ましい。具体的な1回摂取における密度は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌数として、 $10^5\text{cfu}/100\text{mL}$ 以上が好ましく、 $10^8\text{cfu}/100\text{mL}$ 以上がより好ましく、 $10^{10}\text{cfu}/100\text{mL}$ 以上がさらに好ましく、 $10^{11}\text{cfu}/100\text{mL}$ 以上が特に好ましい。なお、本発明者らは、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの1回摂取における密度を規定する効果を以下のように考えた。密度により脳機能が向上する理由は詳細には明らかではないが、本発明者らの検討によれば、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの摂取の密度が所定値以上の場合、特定の胃内分泌細胞への刺激性が高まると推測している。刺激を受容した胃内分泌細胞から分泌された物質は求心性の迷走神経を刺激して、脳機能への作用が発揮されと考えられる。

[0030] さらに本開示の脳機能向上剤は、上述の1回摂取における密度で、上述の1日摂取量を、上述の摂取日数の間、継続して摂取することが特に好ましい。

[0031] 本開示における脳機能向上剤は、経口投与又は非経口投与のいずれでも使用できるが、経口投与が好ましい。投与に際しては、有効成分を含有する組成物を経口投与、直腸内投与、注射等の投与方法に適した固体又は液体の医薬用無毒性担体と混合して、慣用の医薬品製剤の形態で投与することができ

る。このような製剤としては、例えば、錠剤、顆粒剤、散在、カプセル剤等の固形剤、溶液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤、凍結乾燥製剤等が挙げられる。

これらの製剤は、製剤上の常套手段により調製することができる。上記の医薬用無毒性担体としては、例えば、グルコース、乳糖、ショ糖、澱粉、マンニトール、デキストリン、脂肪酸グリセリド、ポリエチレングリコーカル、ヒドロキシエチルデンプン、エチレングリコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、アミノ酸、ゼラチン、アルブミン、水、生理食塩水等が挙げられる。また、必要に応じて、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、結合剤、等張化剤、賦形剤等の慣用の添加剤を適宜添加することもできる。

[0032] 本発明者らが試行錯誤し鋭意検討した結果、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方を摂取した場合、脳機能の優れた向上効果を示すことが発見された。脳機能の向上効果としては具体的に、注意機能向上効果や、覚醒度向上効果、刺激反応向上効果が挙げられる。より具体的に、集中力を保つ、刺激に対して素早く反応する等の効果が挙げられる。

[0033] 本開示の脳機能向上剤による効果は、主観的評価、及び客観的評価のうち、少なくとも一方により確認することができる。

[0034] 主観的評価としては具体的に、被験者によるアンケート等が挙げられる。より具体的に、本開示の脳機能向上剤を摂取した場合と摂取しない場合において、疲労、覚醒度、意欲、集中力、楽観度、不安等の項目を含むアンケートを取り、その結果を比較することにより上記効果を確認することができる。

[0035] 客観的評価としては具体的に、自発脳波の測定、事象関連電位の測定等を挙げることができる。

[0036] 自発脳波に関して、自発脳波は常に観察されており、周波数によって分類される α 、 β 、 θ 、 δ 波の強度によって覚醒度合いが変化する。0.5～4 Hzは δ 波（デルタ波）、4～8 Hzは θ 波（シータ波）、8～13 Hzは α 波（アルファ波）、13 Hz以上が β 波（ベータ波）である。脳が活性化

状態にある時には β 波が優位であるが、リラックス状態になると α 波が出現してくる。さらに瞑想状態や入眠すると θ 波が増加し、熟睡している場合には δ 波が優位となる。自発脳波として、 δ 波（デルタ波）、 θ 波（シータ波）、 α 波（アルファ波）、 β 波（ベータ波）等を測定することにより、本開示における脳機能向上の効果を確認することができる。例えば、睡眠中以外、 θ 波の強度の低下は、脳の機能の向上、より具体的には脳の覚醒度の向上を意味する。具体的に、本開示の脳機能向上剤を摂取した場合に測定される θ 波の強度が、摂取しない場合の θ 波強度よりも低い場合、脳の機能が向上した（覚醒度が向上した）とすることができる。さらに、自発脳波の β 波と α 波の比率（ β/α ）も脳の機能の向上、具体的には注意力の指標とすることができる。より具体的に、本開示の脳機能向上剤を摂取した場合における上記比率（ β/α ）が、摂取しない場合の比率よりも高い場合、脳の機能が向上した（注意力が向上した）とすることができる。

[0037] また、事象関連電位は、精神活動によってヒトの脳波上に誘発される電位変動であり、精神作業という刺激を与えた上での電位変動であるため、人間の精神機能を反映し、その客観的な評価に役立つものである。事象関連電位として、P300やN400等を測定することにより、本開示の脳機能向上剤の効果を確認することができる。特に本開示における事象関連電位は、事象関連電位P300を用いることが好ましい。事象関連電位P300は、複数の種類の刺激のなかから不規則に出現する感覚刺激に対して、被験者に注意を向けさせるようなオドボール課題により、刺激後約300ミリ秒（ms）前後に陽性方向に頂点を持つ電位として出現する事象関連電位である。具体的に、P300潜時（刺激からその頂点までの時間）の短縮により、本開示における脳機能向上剤の効果を確認することができる。一般的に、加齢、うつ病、認知症などの脳機能が低下している場合には、P300潜時が延長することが知られている。そこで、本開示の脳機能向上剤を摂取することにより、頂点潜時が短縮することが確認できた場合、脳内処理速度が速くなり、覚醒度や集中力が高まったと言える。なお、発明者らのこれまでの継続し

た実験の結果、一般的に事象関連電位 P 3 0 0 は複数の成分から構成されるため、単独ピークとして検出される場合は多くない。しかしながら本開示における実験において、本開示の脳機能向上剤の摂取により、事象関連電位 P 3 0 0 の頂点の検出率が高くなることを知見として得た。本開示の脳機能向上剤を摂取することにより、事象関連電位 P 3 0 0 の頂点の検出率が向上した場合、P 3 0 0 潜時データの取得補助に寄与したとすることができる。

[0038] 本開示の脳機能向上剤によれば、睡眠時間や睡眠の質とは相関関係がなく脳機能向上効果が得られる。言い換えれば、睡眠が充分に取れていない場合や、被験者が自身の睡眠に不満を有している（例えば、寝つきが悪い、途中で目が覚める、すっきり起きられない、日中の眠気が強い等）であっても、本開示の脳機能向上剤を摂取することにより、脳機能の向上が見込まれる点で優れている。

[0039] ＜脳機能向上剤の製造方法＞

本開示における脳機能向上剤の製造方法について、以下に説明する。本開示における脳機能向上剤の製造方法は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方として、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9029 (FERM BP-1366) を使用することが好ましい。

[0040] ＜脳機能の向上方法＞

本開示における脳機能の向上方法について、以下に説明する。本開示における脳機能の向上方法は、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌数として 10^{10} c f u / 日以上量を、少なくとも 4 週間継続して経口摂取させる工程を含む。

[0041] また、本開示における脳機能の向上方法において、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの 1 回摂取における密度が、生菌数として 10^{10} c f u / 100 mL 以上の量で経口摂取させる工程を含むことが好ましい。

[0042] 脳機能の向上方法としては、より具体的に、 θ 波の強度を低減させる方法、又は、事象関連電位 P 3 0 0 潜時を短縮する方法であることが好ましい。

なお、自発脳波や事象関連電位の測定方法に関しては上述の通りであるため、ここでは説明を省略する。

実施例

[0043] 次に実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0044] 実施例 1（被験飲料の調製）

ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9029株（L c S）を接種し、37℃で発酵させた脱脂粉乳溶液に、以下の表 1 に示される他の材料を添加した後、均質化して容器に充填して被験飲料を得た。この被験飲料 100 mL 中のラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌数は 10^{11} cfu であった。これを使用するまで冷蔵保存（10℃以下）した。

[0045] 参考例 1（プラセボ飲料の調製）

ラクチカゼイバチルス・パラカゼイを含まない以外は被験飲料と同等の製造方法により、プラセボ飲料を得た。材料は表 1 のとおりとした。なお、被験飲料では製造中に糖が代謝されて乳酸が産生されることを考慮して、プラセボ飲料の原料ではぶどう糖果糖液糖に代替して乳酸が含まれる。

[0046] [表1]

名 称	被 験 飲 料	プラセボ飲料
1 回 摂 取 量 中 の 関 与 成 分 量	10^{11} cfu /100 mL (cfu：生菌数)	—
原 材 料	砂糖、脱脂粉乳、ぶどう糖果糖液糖、高果糖液糖、安定剤（大豆多糖類）、香料、LcS	砂糖、脱脂粉乳、高果糖液糖、乳酸、安定剤（大豆多糖類）、香料
内 容 量	100 mL	
形 態	ポリスチレン容器	
保 存 条 件	冷蔵保存（10℃以下）	

[0047] 睡眠に不満を有する健常者 12 名（男性 5 名、女性 7 名、年齢 40～59 歳）に、実施例 1 で調製した被験飲料と、参考例 1 で調製したプラセボ飲料を、それぞれ摂取させた。なお、それら被験者が感じる睡眠に対する不満と

しては、寝つきが悪い、途中で目が覚める、すっきり起きられない、日中の眠気が強い等が挙げられた。

[0048] 本開示のヒト試験は、ヘルシンキ宣言の精神に則り十分な配慮の下に実施した。試験内容の説明を行った上で、試験参加に同意した上記健常者12名をⅠ群（プラセボ飲料先行群）とⅡ群（被験飲料先行群）に無作為に割り付けた（Ⅰ群：n＝6、Ⅱ群：n＝6）。以下の表2に記載のとおり、Ⅰ群には参考例1で調製したプラセボ飲料を一日100mL、毎日夕食後に4週間摂取させ、Ⅱ群には被験飲料を同様に摂取させた（1期）。1期の最終週に日中の気分指標を調査するとともに、自発脳波及び事象関連電位を測定した。Ⅰ群及びⅡ群の被験者には、その後、4週間、飲料の摂取を中断させた（ウォッシュアウト期）。ウォッシュアウト期終了後、Ⅰ群には被験飲料を、Ⅱ群にはプラセボ飲料を4週間摂取させ（2期）、その最終週に日中の気分指標の調査と、自発脳波及び事象関連電位の測定を行った（二重盲検、クロスオーバー試験）。

[0049] [表2]

		1期（4週間）		2期（4週間）
Ⅰ群	前観察期 （3週間）	プラセボ飲料	ウォッシュアウト期 （4週間）	被験飲料
Ⅱ群		被験飲料		プラセボ飲料

[0050] 主観的評価（日中の気分指標）

日中の身体的疲労、意欲、集中力、楽観度について、Visual Analog Scale（VAS）を用いた調査票により評価した。その具体的な方法について、集中力を例に挙げると、図1に示すように、長さ100mmの黒い線上の左端を「全く集中できない（不良）」、右端を「非常に集中できる（良好）」とし、被験者が自身の状態に当てはまると感じる位置に×印を記入した。左端から×印までの距離（mm）をその項目の変数（VAS mm）とした。

[0051] 客観的評価（自発脳波及び事象関連電位）

自発脳波の測定は、シールドルーム内で、上述の1期及び2期の最終週のうち任意の一日の午前と午後に実施した。測定には生体信号収録装置（P o

lymate、株式会社ミユキ技研）を使用した。国際10-20電極配置法に則り、Fz（正中前頭部）、Cz（正中中心部）及びPz（正中頭頂部）の頭部3か所に銀皿電極を装着した。これらに加えて、両耳には基準電極を、額2か所にはアース及び基準電極をそれぞれ装着した。電極インピーダンスは10kΩ以下とした。椅子に腰かけた被験者にモニター上のある一点を注視させた状態で、安静開眼状態の脳波を2分間収録し、続けて聴覚オドボール課題遂行時の脳波を5分間収録した。これを、以下の表3に示すとおり3セット実施し、最後に閉眼の安静状態の脳波を2分間収録した。

[0052] [表3]

条件	安静開眼 状態1	オドボール 課題1	安静開眼 状態2	オドボール 課題2	安静開眼 状態3	オドボール 課題3	安静閉眼 状態
時間	2分	5分	2分	5分	2分	5分	2分

[0053] 聴覚オドボール課題では、聴覚刺激として2,000Hzと1,000Hzの2種類の短音（提示時間100ms）を用い、それぞれ20%と80%の出現率で、2.0秒に1回の間隔で合計150回呈示した。被験者には、2,000Hzの聴覚刺激（標的刺激）を聞いた時に手元のボタンを押すように指導し、標的刺激を与えてからボタンが押されるまでの反応時間も測定した。

[0054] 自発脳波の周波数解析には、0.5～30Hzの帯域通過フィルタにより眼球運動などのアーチファクトの除去を行い、安静状態（2分間）の120,000ポイントおよびオドボール課題遂行中（5分間）の300,000ポイントに関してフーリエ変換を行い、各周波数帯域（θ波：4～8Hz、α波：8～13Hz、β波：13～30Hz）におけるパワースペクトル解析を行った（安静状態：μV²/2min、オドボール課題：μV²/5min、）。解析には数理解析ソフト（MATLAB）を用いた。事象関連電位P300の取得および解析は、一般社団法人 日本臨床神経生理学会の指針に準じて、解析ソフト（EP Travel Light、有限会社のるぷろライトシステムズ）を用いて、30回の標的刺激提示の時に見られた波形の加算平均を求めた。P300は2つ以上の成分が

ら構成されており、P 3 0 0 a と P 3 0 0 b が観察された場合は逸脱刺激に対して出現する P 3 0 0 a ではなく標的刺激に対して出現する P 3 0 0 b を選択した。

[0055] 日中の気分指標に関する考察

得られた結果を図 2 に示す。日中の気分指標の項目（疲労、意欲、集中力、および楽観度）はいずれも、その測定時間帯（午前、午後）によらず、被験飲料摂取時にプラセボ飲料摂取時よりもパフォーマンスが高まる方向に変化した。特に午後の集中力は被験飲料摂取時に有意に高まった。午前と午後を比較してみると、日中の気分指標の項目は総じてパフォーマンスが低下する方向に変化した。被験飲料摂取時の午後のスコアはプラセボ摂取時の午前のスコアと同程度まで高まっていた。すなわち、午後のパフォーマンス低下が被験飲料の摂取により抑制され、午前と同等のレベルで維持されたことを確認できた。

[0056] 自発脳波に関する考察

得られた結果を図 3 に示す。被験飲料摂取時にはプラセボ飲料摂取時よりも θ 波の強度が低く、その現象は特に午後の時間帯に顕著であった。同様の傾向が安静開眼状態とオドボール課題遂行時の両方で確認された。図 4 には β 波と α 波の比率 (β / α) を示す。被験飲料摂取時にはプラセボ飲料摂取時と比較して、オドボール課題遂行中及び安静開眼状態のいずれにおいても、本比率が高いことが認められた。すなわち、被験飲料の摂取により、覚醒度及び注意力が向上したことを確認できた。なお、 α 波は変化せず、 β 波の増加により、比率が高くなる被験者もいた。

[0057] 事象関連電位（P 3 0 0 潜時）及びボタン押し反応時間に関する考察

得られた結果を図 5 に示す。正中中心部（C z）、正中前頭部（F z）、及び正中頭頂部（P z）のいずれの部位でも、被験飲料摂取時にはプラセボ飲料摂取時と比較して、P 3 0 0 潜時の短縮を確認できた。また、聴覚オドボール課題におけるボタン押し反応時間に関して、被験飲料摂取時にはプラセボ飲料摂取時と比較し、ボタン押し反応時間が短くなる傾向が認められた。

。すなわち、被験飲料の摂取により、刺激への反応が向上したことを確認できた。さらに、ボタン押し反応時間は、プラセボ飲料摂取時は午前（365.9 msec）、午後（381.6 msec）となり、被験飲料摂取時は午前（349.2 msec）、午後（356.0 msec）となり、被験飲料摂取時の変動はプラセボ飲料摂取時に比べ小さくなった。すなわち、午後のパフォーマンス低下が被験飲料の摂取により抑制され、午前と同等のレベルで維持されたことを確認できた。

[0058] なお、図5に示されるP300潜時は、午前中に測定されたものである。事象関連電位P300は複数の成分から構成されるため、特に午後の測定ではピークが特定できない場合や、振幅が浅くピーク自体を確認できない場合がある。本実施例においては、午前と午後の両方の時間帯に測定を行い、事象関連電位P300に相当するピークの検出頻度と検出率を解析した。解析結果を表4に示す。

[0059] [表4]

部位	飲料	午前			午後		
		検出延べ数	検出率(%)	p	検出延べ数	検出率(%)	p
Cz	プラセボ飲料	22/36	61.1	0.212	17/36	47.2	0.236
	被験飲料	27/36	75.0		23/36	63.9	
Fz	プラセボ飲料	24/36	66.7	0.793	18/36	50.0	1.000
	被験飲料	26/36	72.2		19/36	52.8	
Pz	プラセボ飲料	20/36	55.6	0.137	17/36	47.2	0.838
	被験飲料	27/36	75.0		20/36	55.6	

[0060] 上記表4に示されるとおり、午後の測定におけるピーク検出率は、午前のそれと比べて低い傾向にあった。一方で、プラセボ飲料摂取時と比べると、被験飲料摂取時のピーク検出率が高い傾向が認められた。換言すれば、被験飲料の摂取が、P300潜時データの取得補助に寄与することが確認できた。なお、表4において、PはFisherの正確確率検定における有意確率を、検出延べ数は12名の被験者に対して3回ずつ延べ36回の測定を実施したうち、事象関連電位P300に相当するピークの検出が可能であった回数の割合を示す。

[0061] 主観的評価と客観的評価との関連性

主観的評価方法（日中の気分指標）と客観的評価方法（自発脳波）との連動について考察した。図6は、プラセボ飲料摂取時に対する被験飲料摂取時の午後の集中力の変化量（横軸、VASmm）と、同じく安静閉眼中の θ 波強度の変化率（縦軸、比率）について、被験者12名の両変数の関係を示す図である。図6に示されるとおり、両者の間には負の相関関係が見られ、主観的指標と客観的指標は被験飲料の摂取にともなって連動して変化していたと判断される。なお、図6には、日中の気分指標のうち集中力に関する結果のみを例示するが、その他の気分指標についても、自発脳波との相関関係が確認された。

[0062] 以上、本開示の好適な実施形態について詳細に説明したが、本開示はかかる例に限定されない。本開示の属する技術の分野における通常の知識を有する者であれば、特許請求の範囲に記載された技術的思想の範疇内において、各種の変更例又は修正例に想到し得ることは明らかであり、これらについても、当然に本開示の技術的範囲に属するものと了解される。

請求の範囲

- [請求項1] ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方を有効成分とする、脳機能向上剤。
- [請求項2] 前記ラクチカゼイバチルス・パラカゼイが、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9029 (FERM BP-1366) である、請求項1に記載の脳機能向上剤。
- [請求項3] 1日摂取量が、前記ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌数として 10^{10} cfu 以上である、請求項1又は2に記載の脳機能向上剤。
- [請求項4] 前記ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの1回摂取における密度が、生菌数として 10^{10} cfu / 100 mL 以上である、請求項1又は2に記載の脳機能向上剤。
- [請求項5] 脳機能向上剤が、注意機能向上剤、覚醒度向上剤、刺激反応向上剤及びパフォーマンス維持剤の少なくとも一つである、請求項1又は2に記載の脳機能向上剤。
- [請求項6] 脳機能向上剤の製造のための、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方の使用。
- [請求項7] 前記ラクチカゼイバチルス・パラカゼイが、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイ YIT 9029 (FERM BP-1366) である、請求項6の使用。
- [請求項8] ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの生菌数として 10^{10} cfu / 日以上で少なくとも4週間継続して経口摂取させる、脳機能の向上方法。
- [請求項9] 前記ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの1回摂取における密度が、生菌数として 10^{10} cfu / 100 mL 以上の量で摂取させる、請求項8に記載の脳機能の向上方法。
- [請求項10] 前記脳機能の向上がθ波の強度の低減である、請求項8又は請求項9に記載の脳機能の向上方法。

- [請求項11] 前記脳機能の向上が事象関連電位 P 3 0 0 潜時の短縮である、請求項 8 又は請求項 9 に記載の脳機能の向上方法。
- [請求項12] 事象関連電位 P 3 0 0 潜時の取得を補助するための、ラクチカゼイバチルス・パラカゼイの菌体、及びその菌体処理物の少なくとも一方の使用。