

鉄・ラクトフェリンの経口摂取が精神ストレスに及ぼす影響

| | |
|-------|--|
| 誌名 | ミルクサイエンス = Milk science |
| ISSN | 13430289 |
| 著者名 | 吉瀬,蘭エミリー 松山,博昭 細谷,知広 小川,哲弘 門岡,幸男 |
| 発行元 | 日本酪農科学会 |
| 巻/号 | 59巻2号 |
| 掲載ページ | p. 93-101 |
| 発行年月 | 2010年8月 |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



原著論文

鉄・ラクトフェリンの経口摂取が精神ストレスに及ぼす影響

吉瀬蘭エミリー・松山博昭*・細谷知広・小川哲弘・門岡幸男
 (雪印メグミルク株式会社ミルクサイエンス研究所, 埼玉県川越市南台 1-1-2 350-1165)

Effects of Fe-lactoferrin via oral administration on mental stress

Ran Emilie Yoshise, Hiroaki Matsuyama, Tomohiro Hosoya, Akihiro Ogawa, and Yukio Kadooka
 Milk Science Research Institute, MEGMILK SNOW BRAND Co., Ltd., 1-1-2 Minamidai, Kawagoe, Saitama 350-1165, Japan

Abstract

It is well known that mental stress leads to various physiological disorders, which has also been a social problem in Japan. Lactoferrin, a milk protein that has various beneficial functions, has been reported to suppress the stress response in the mental stress model rats when administrated in an abdominal cavity. In the present study, we investigated the effect of anti-mental stress of iron-associated lactoferrin (FeLf) that makes 70 irons soluble with one molar lactoferrin and that has resistance to digestive enzymes.

This examination was designed as a cross over trial of a single oral intake of FeLf (833 mg) with 24 subjects who had shown stress reaction to the calculation work as a mental stressor. Stress reactions were evaluated using psychological investigation, brain wave, and stress markers in saliva. These analyses revealed that an oral administration of FeLf reduced the mental stress reaction in central nervous system, autonomic nervous system, and immunological response. Therefore, it is suggested that FeLf suppresses mental stress reaction.

Key Words: lactoferrin, mental stress

緒言

現代, ストレスは大きな社会問題となっており, ストレスによって引き起こされる疲労や免疫力, 感染抵抗性の低下が疾患の発症に繋がることも指摘されている。このような社会的背景に呼応し, 文部科学省による産官学連携の21世紀 COE プログラム「疲労および疲労感の分子, 神経メカニズムとその防御に関する研究」および「疲労定量化および抗疲労食薬開発」が発足し, ストレスや疲労に関する生化学的指標も徐々に明らかとなっている^{1,2)}。

ラクトフェリン (Lf) は, 乳中, 特に初乳中に多く

含まれる機能性タンパク質であり, Lf 1分子あたり2分子の鉄イオンをキレート結合することができる³⁾。ヒト, ウシ, ウマ, マウス, ブタなどの乳中に存在し, 鉄代謝の調節だけでなく抗菌, 抗ウイルス, 抗真菌, 免疫賦活作用, 細胞増殖などの生体防御作用が知られている⁴⁻⁷⁾。また, 抗ガン, 抗アレルギー作用などの研究も盛んに進められている⁸⁾。

近年, 成熟動物 (ラット) において, 十二指腸に投与された Lf がリンパ系を介して体内へ輸送されること⁹⁾, 経静脈投与した Lf が脈絡叢上皮細胞の Lf 受容体を介してトランスサイトーシスにより脳脊髄液に輸送され, 脳に到達することが明らかにされており¹⁰⁾, 脳に到達した Lf の生理機能に関する研究も進められている。そのひとつとして, Lf の抗ストレス作用が報告されている。哺乳期のラットを母体と引き離した場合, 徘徊や超音波発声による不安行動が観察されるが, 腹腔内に Lf を投与した場合に不安行動は軽減する¹¹⁾。母体と引き離すことで示される不安行動は, オピオイド受容体拮抗薬であるナロキソン (NX) および μ -オピオイド受

* 連絡者 松山博昭
 〒350-1165 埼玉県川越市南台 1-1-2
 雪印メグミルク株式会社ミルクサイエンス研究所
 (Fax : 049-242-8157, Tel : 049-242-8165,
 E-mail : h-matsuyama@megmilk-snowbrand.co.jp)
 2009年12月27日 受付
 2010年3月25日 受理

容体拮抗薬 (CTOP) を投与することにより抑制されることから、Lfの抗精神ストレス作用は μ -オピオイドを介していると推察されている¹¹⁾。さらに成熟動物においても、Lfを腹腔内に投与した場合に抗精神ストレス作用が認められた¹²⁾。Lfの投与による抗精神ストレス作用は、一酸化窒素合成酵素 (NOS) 阻害薬であるL-NAMEにより抑制された。Lfは神経細胞膜上のオピオイド受容体に結合しないことが確認されているため、Lfは μ -オピオイド受容体に結合することなく、NOSを活性化させることにより一酸化窒素 (NO) を産生し、 μ オピオイド作用を亢進すると考えられている¹²⁾。即ち、Lfが消化酵素による分解を受けずにリンパ系を介して体内に移行した場合、神経系を介した抗ストレス作用を示す可能性がある。一方、Lfは消化酵素による分解を受けやすいという特徴を有しているため、経口摂取による抗ストレス作用の検証は、Lfを封入した腸溶性カプセル、または消化酵素耐性を有するLfを用いる必要がある。腸溶性カプセル状のLfをヒトに投与した場合の月経痛緩和効果が示されている¹³⁾。しかし、ヒトが経口摂取した場合のLfの精神ストレスに対する効果は報告されていない。

我々はこれまでの研究により、通常の鉄イオンが析出・沈澱する中性条件下でも、析出・沈澱しない鉄剤として鉄・ラクトフェリン (FeLf) を開発し、実用化している^{14,15)}。FeLfは生体利用性に優れ、鉄特有の異風味を殆ど呈さない特徴を有している上、消化酵素による分解に抵抗性を示すため¹⁶⁾、体内へ移行し、抗精神ストレス作用を示す可能性がある。実際に、ヒトがFeLfを経口摂取した場合、貧血は改善され¹⁷⁾、さらに月経痛が軽減される (投稿中)。そこで本研究では、FeLfを経口摂取した場合の抗精神ストレス作用の検証を目的として、健康な成人男女を対象としたFeLf摂取試験を実施し、精神的なストレスの負荷に及ぼす影響について検討した。

実験方法

本試験は、2群クロスオーバー法で実施した。尚、本試験は雪印乳業株式会社の研究倫理審査委員会の承認を受けると共に、ヒト試験の倫理性について記したヘルシンキ宣言の精神¹⁸⁾に則り実施した。また、本試験の妥当性と意義に関する第三者の専門家による指導を受けるため、外部機関に試験監督医師を依頼した。

1. 試験対象者

これまでに、暗算をストレスラーとして負荷した場合、疲労感が有意に上昇することが報告されている¹⁹⁾。そこで、本試験では雪印乳業株式会社技術研究

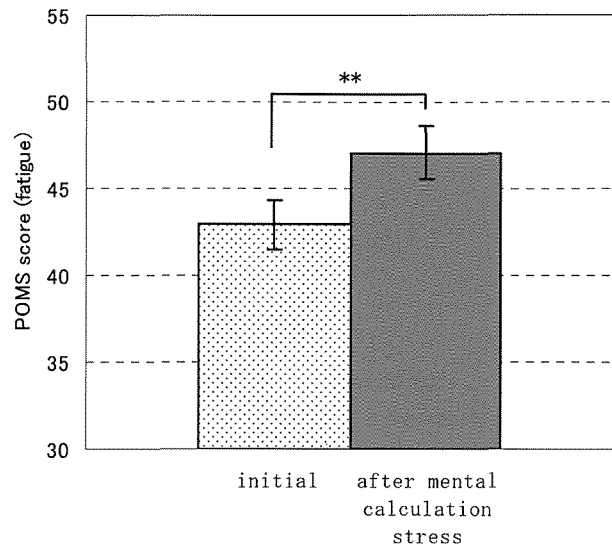


Fig. 1 Change in the fatigue score with mental calculation stress. Results were expressed as mean \pm standard error (SE) (n = 24). **Significant difference from initial score, $p < 0.01$ (paired t-test).

所内に勤務する者のうち、暗算作業負荷によりストレス反応が示された被験者、即ち、気分・感情の評価 (後述) において「疲労」スコアがプラセボ摂取時に比べて有意に上昇した被験者を対象とした (Fig. 1 参照)。該当する被験者は、男性17名 (平均年齢 33.0 ± 7.1 歳) および女性7名 (平均年齢 29.9 ± 5.1 歳) の計24名であった。

除外基準は、以下の11項目とした。即ち、①治療 (医師による薬剤の処方) を受けている者、②痛風などの疾患を有している者、③糖尿病または糖尿病の治療を要する者、④肝疾患、腎疾患、心疾患などの重篤な疾患を有している者、⑤重篤な疾病既往歴がある者、⑥投与サンプルの原材料にアレルギーのある者、⑦慢性あるいは急性感染症の疑いのある者、⑧他の食品または医薬品の試験に参加している者、⑨妊娠、授乳婦および妊娠している可能性のある者、⑩試験期間中に妊娠の希望がある者、⑪その他、試験責任医師が本試験に参加することが不適当と判断した者である。また、遵守事項は以下の7項目とした。即ち、①生活習慣を極端に変更しないこと、②暴飲暴食を行わないこと、③摂取試験当日の昼食は試験担当者が用意したもの以外食べないこと、④摂取試験当日はビタミンB類および滋養強壮剤などを摂取しないこと、⑤摂取試験当日はカフェインが多く含まれた飲料を摂取しないこと、⑥摂取試験当日は喫煙しないこと、⑦摂取試験当日に体調の異変がある場合摂取を中止すること。

尚、脱落基準は、①試験期間中、注意事項の非遵守が発覚した場合、②被験者において検査結果の信頼性を損なう行為が顕著に認められた場合、③被験食品に起因する有害事象以外の理由で、試験行為が著しく困難となっ

た場合、④試験上の問題などで、検査値の信頼性に大きな問題が生じた場合、⑤その他、試験担当者が脱落扱いとすることが適当と考えられる明らかな理由がある場合、⑥試験担当医師の判断、⑦急性の疾患が生じた場合、あるいは⑧重大な疾患が判明した場合、および⑧ボランティアの自由意志による申し出があった場合、とした。

2. 被験食品

試験に用いる FeLf は、FeLf70粉末（雪印乳業㈱）を用いた。FeLf 粉末833 mg を水50 ml に添加して調製した水溶液を被験食品（FeLf 水溶液）とした。1回あたりの Lf および鉄の摂取量は、それぞれ723 mg, 40 mg となる。被験食品と外観（形状・色）が識別不可能になるように、カラメル色素粉末（仙波糖化工業㈱）83 mg を水に添加して調製した水溶液を対照食品（プラセボ水溶液）とした。尚、FeLf は無味無臭であり、被験食品間に官能的な差はない。

3. 試験デザイン

被験者を無作為に A および B 群に分け、A 群は FeLf 水溶液からプラセボ水溶液の順に、B 群はプラセボ水溶液から FeLf 水溶液の順に単回摂取試験を実施した。被験食のウォッシュアウト期間は5日間以上とした。尚、試験会場は室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $30 \pm 5\%$ に調整し、外部の騒音を遮断して行った。

摂取試験当日の試験概要を Fig. 2 に示す。被験者の昼食は統一し、被験者は午後1時～3時の指定した時刻に試験会場に入場した。座位において安静状態を保持した後、1回目の評価を実施し、イニシャル値とした。被験食を摂取後、消化吸収のため15分間の安静状態を保持した。その後、精神的なストレスとしてクレペリンテスト（日本心理テスト研究所㈱）を用いて単純暗算作業を30分間負荷し、直後に2回目の評価を実施した。さらに10分間の安静状態を保持した後、3回目の評価を実施した。

4. 評価項目

(1) POMS (Profile of Mood States)

摂取試験当日の1, 2 および3回目の評価において実施した。POMS とは、気分・感情を評価する30項目に対して5段階で回答する質問紙法であり、「緊張-不安」、「抑うつ-落込み」、「怒り-敵意」、「活気」、「疲労」、「混乱」の6つの気分尺度を同時に測定することが可能である²⁰⁾。本試験では日本版 POMS™ 短縮版（金子書房）を用い、全国平均を50点として換算する気分プロフィール換算表を用いて標準化得点（スコア）により示した。「活気」以外の項目については、値が低いほど気分が良好な状態にあることを示す。

(2) 脳波

摂取試験当日の1, 2 および3回目の評価において、前頭部二極点脳波測定器（FUTEC INC.）を用いて測定し、 β 波、 α_1 、 α_2 および α_3 波の周波数成分は国際脳波学会による分類にあわせて、それぞれ14 Hz 以上30 Hz 未満、7 Hz 以上9 Hz 未満、9 Hz 以上12 Hz 未満および12 Hz 以上14 Hz 未満とした²¹⁾。

(3) 唾液中の生化学的指標

唾液中に含まれるストレスマーカーとしてのクロモグラニン A (CgA) および分泌型 Immnoglobulin A (S-IgA) 濃度を測定した。摂取試験当日の1, 2 および3回目の評価時に、唾液検査用容器サリベット（SARSTEDT INC.）を用いて唾液を回収した。唾液中 CgA 濃度は、Human Chromogranin A EIA Kit (YANAIHARA INSTITUTE INC.) を用いて測定した。唾液中 S-IgA 濃度は、Salivary secretory IgA Indirect EIA Kit (SALIMETRICS INC.) を用いて測定した。尚、回収した唾液は測定まで -80°C で保存した。

(4) 唾液中タンパク質濃度

ストレスに関する唾液中の指標は、測定した後に唾液中のタンパク質濃度により補正して解析した。尚、唾液中のタンパク質濃度は、Lowry 法²²⁾により測定した。

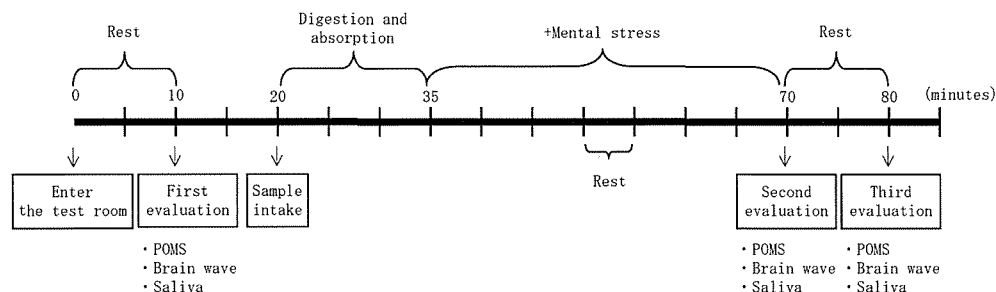


Fig. 2 Examination schedule. Subjects' lunch and examination time were the same. The first evaluation was carried out after the rest with sitting, which was taken as an initial value. After the sample intake, subjects took a 15-minute rest for digestive absorption. The mental calculation (stressor) was done for 30 minutes, followed by the second evaluation. After subjects took a rest for ten minutes, the third evaluation was executed.

5. 統計解析

全ての数値は、平均値±標準誤差で示した。本試験はクロスオーバー法であるため、順序効果および時期効果について Wilcoxon の検定を行った。尚、順序効果および時期効果については両側検定で有意水準を危険率10%以下とした。有意な順序効果および時期効果が認められない場合、同一被験食内の暗算ストレス負荷による変化について paired t-test を実施した。尚、同一被験食内の変化については両側検定で有意水準を危険率5%以下とした。

結果

1. 対象者

被験者24名のうち、被験食品が原因で脱落した者および脱落基準に該当した被験者はいなかった。よって、全ての被験者を解析に用いた。また、有意な順序効果および時期効果は認められなかったため、以下の解析においては同一被験食についての暗算ストレス負荷による変化を比較した。

2. 脳波発現量について

暗算作業負荷後の脳波発現量の変化を Fig. 3 に示

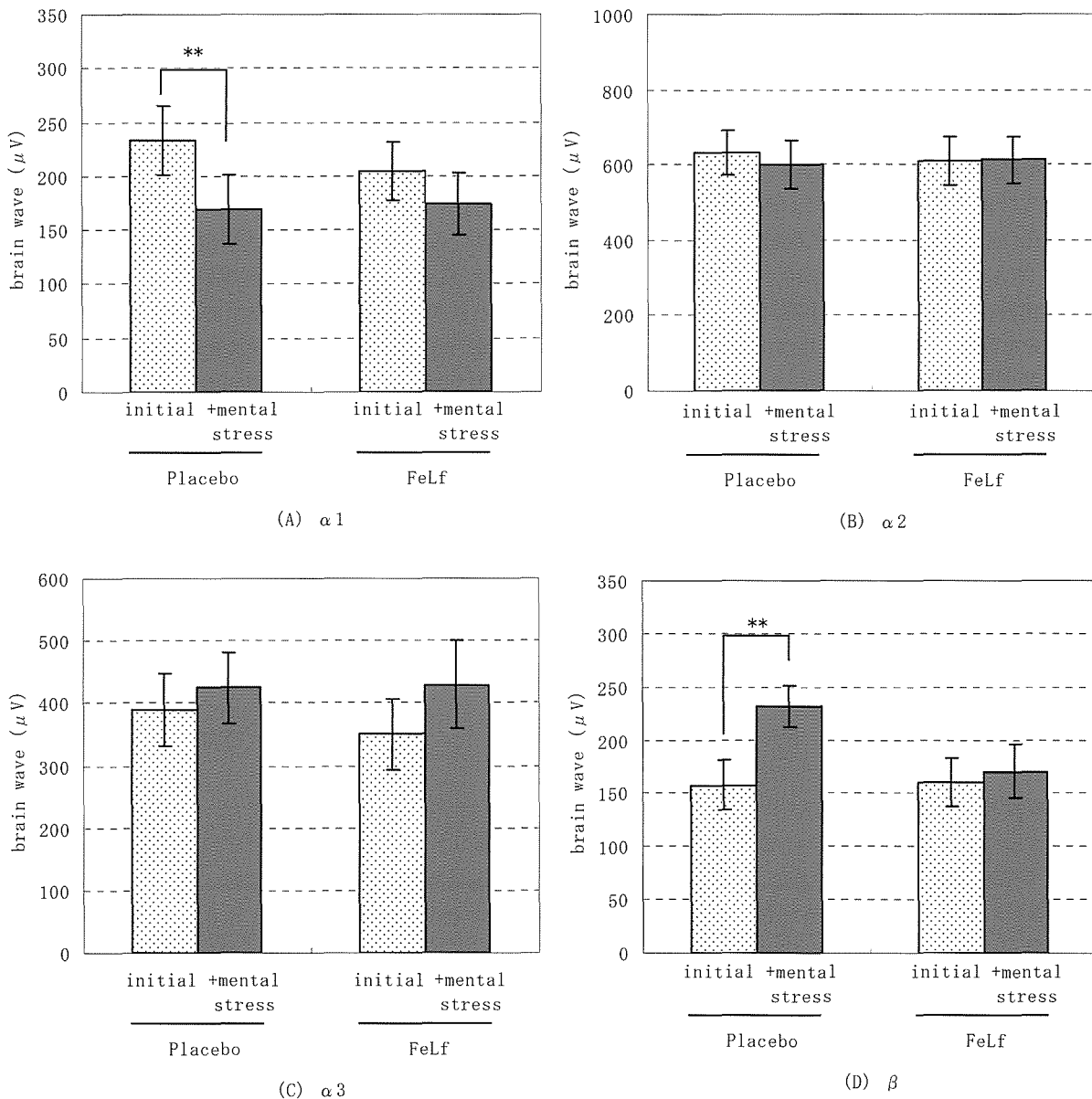


Fig. 3 Change in the brain wave appearance. (A) $\alpha 1$ wave, (B) $\alpha 2$ wave, (C) $\alpha 3$ wave and (D) β wave. Results were expressed as mean \pm SE (n = 24). Significant difference from initial value; *p < 0.05, **p < 0.01 (paired t-test).

す。プラセボ群において、暗算作業負荷後に $\alpha 1$ 波が有意に減少し (Fig. 3(A)), β 波が有意に上昇した (Fig. 3(D))。一方, FeLf 摂取群において有意な変化は認められなかった。また, $\alpha 2$ および $\alpha 3$ 波では暗算作業負荷による有意な変化は認められなかった。

3. 唾液中のストレスマーカーについて

暗算作業負荷後の唾液中 CgA 濃度の変化を Fig. 4 に示す。プラセボ摂取群において、暗算作業負荷により有意に上昇し、その後の安静により唾液中 CgA 濃度は有意に減少した。FeLf 摂取群において、暗算作業負荷による唾液中 CgA 濃度の有意な変化は認められなかった。

暗算作業負荷後の唾液中 S-IgA 濃度の変化を Fig. 5 に示す。プラセボ摂取群において、唾液中 S-IgA 濃度は暗算作業負荷により有意に上昇した。また、FeLf 摂取群においても、暗算作業負荷による唾液中 S-IgA 濃度の上昇傾向が認められた。

4. 気分・感情の変化について

暗算作業負荷後の POMS スコアの変化を Fig. 6 に示す。暗算作業負荷により、プラセボ摂取群における「怒り-敵意」「疲労」および「混乱」スコアは有意に上昇し、「活気」スコアは有意に減少した。一方、FeLf 摂取群はすべてのスコアにおいて、暗算作業による有意な変化は認められなかった。

5. 安静による測定値および POMS スコアの変化について

暗算作業負荷により有意な変化が認められた測定値および POMS スコアについて、安静後の変化を Table 1 に示す。暗算作業負荷後の安静により、両群における $\alpha 1$ 波発現量および POMS の「混乱」スコアは有意に減少した。また、プラセボ摂取群において、唾液中 CgA 濃度および S-IgA 濃度は安静により有意に減少した。即ち、FeLf の摂取は、急性のストレス反応に影響を及ぼすことが明らかとなった。

考 察

脳波は中枢神経系の指標であり、 β 波は覚醒時の精神活動が活発なときやイライラしているとき多く発生し、 α 波はストレスを解消し、リラックス状態のときに多く発生する²³⁾。これまでに、精神的なストレスである暗算作業負荷により $\alpha 1$ 波の発現量は有意に減少することが知られている²⁴⁾。本試験における $\alpha 1$ 波発現量の減少および β 波発現量の上昇は、暗算作業負荷による緊張状態の誘導に起因するストレス反応によると推察され、既報²⁴⁾の結果と一致した。一方、FeLf 摂取群において同様のストレス反応は認められなかったことから、FeLf を摂取することにより緊張状態を緩和する可能性が示された。

気分・感情は、主観的であるが故に客観的な評価は困難である。しかし、非常に重要な評価項目である。この

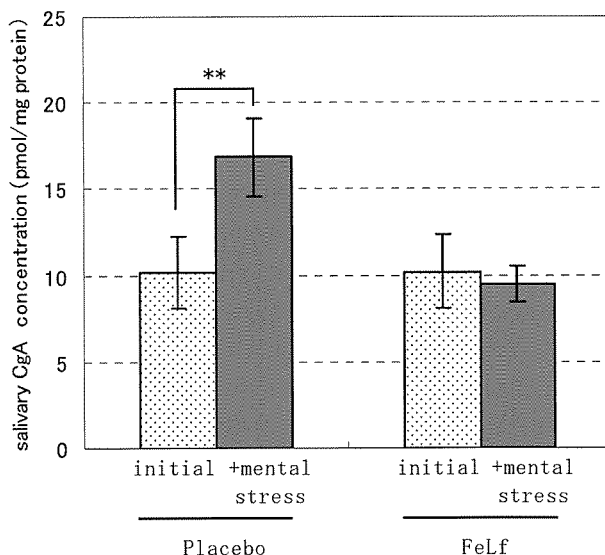


Fig. 4 Change in the salivary CgA concentration. Salivary CgA concentration was measured by ELISA and values were corrected by salivary protein weight. Results were expressed as mean \pm SE (n = 24). Significant difference from initial value; **p < 0.01 (paired t-test).

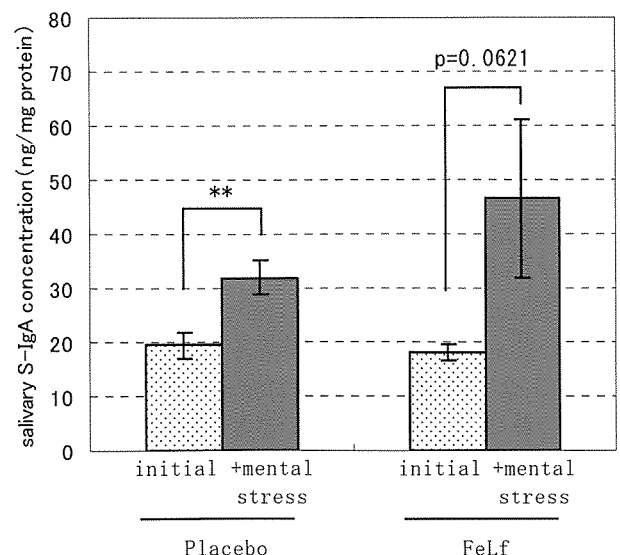


Fig. 5 Change in the salivary S-IgA concentration. Salivary S-IgA concentration was measured by ELISA and values were corrected by salivary protein weight. Results were expressed as mean \pm SE (n = 24). Significant difference from initial value; **p < 0.01 (paired t-test).

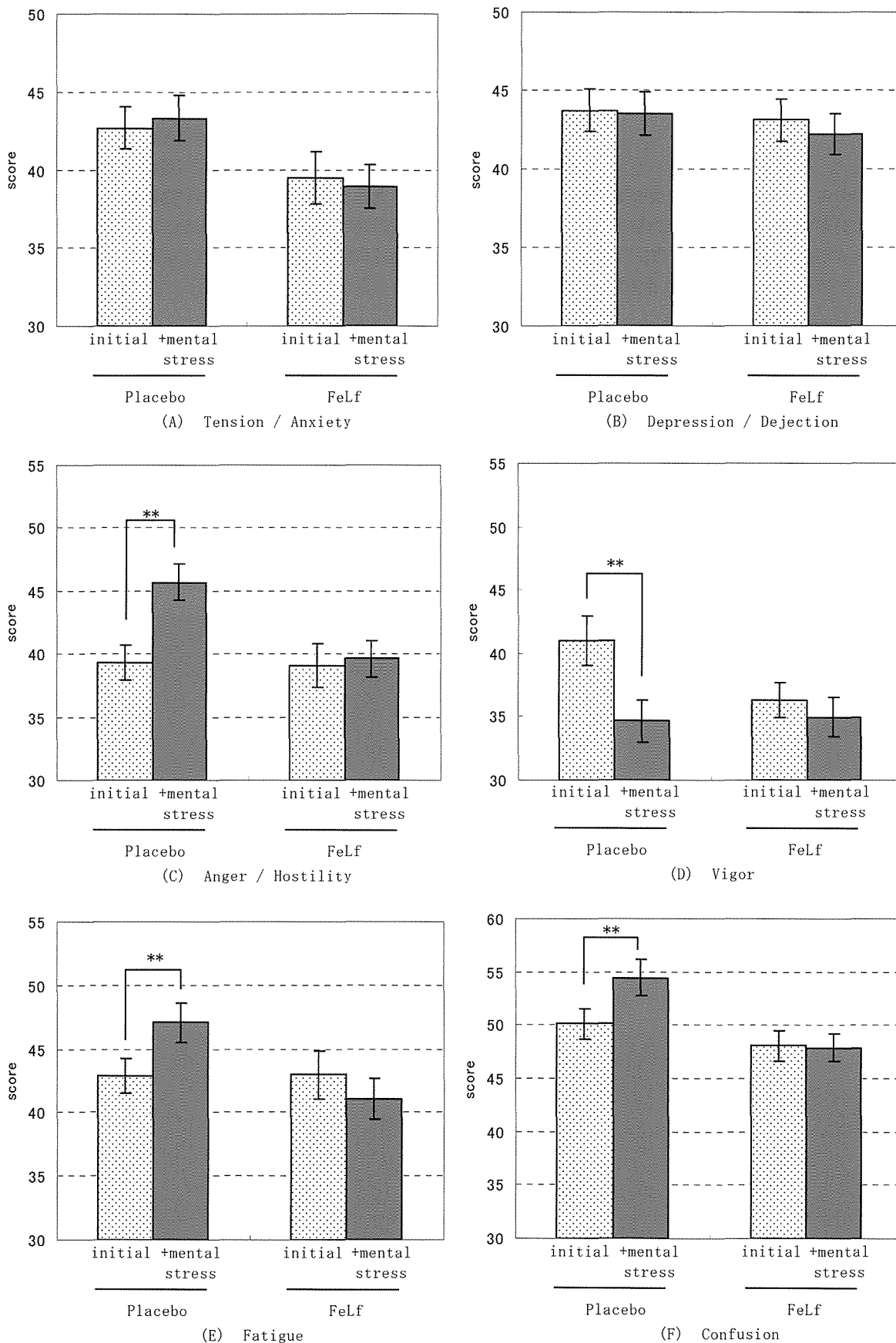


Fig. 6 Change in the POMS score. (A) Tension-Anxiety score, (B) Depression-Dejection score, (C) Anger-Hostility score, (D) Vigor score, (E) Fatigue score and (F) Confusion score. Results were expressed as mean \pm SE (n = 24). Significant difference from initial score; *p < 0.05, **p < 0.01 (paired t-test).

Table 1 Changes in values and scores after the rest.

| | index | group | after mental stress(A) | after the rest (B) | changes(B - A) |
|------------------------|-------------------------------------|---------|------------------------|--------------------|----------------|
| brain wave | $\alpha_1(\mu V)$ | Placebo | 169.29±26.22 | 203.83±26.22* | 34.54±14.78 |
| | | FeLf | 174.29±21.50 | 216.13±30.22* | 41.83±14.88 |
| | $\beta(\mu V)$ | Placebo | 231.46±34.49 | 194.29±27.46 | -37.12±33.54 |
| | | FeLf | 170.42±27.19 | 168.00±24.50 | -2.42±19.64 |
| salivary stress marker | CgA concentration (pmol/mg protein) | Placebo | 16.86±2.24 | 11.90±1.67* | -5.24±2.09 |
| | | FeLf | 9.52±1.04 | 10.24±1.36 | 0.69±1.15 |
| | S-IgA concentration (ng/mg protein) | Placebo | 32.02±3.12 | 25.95±2.92* | -5.83±2.03 |
| | | FeLf | 46.53±14.65 | 27.46±2.88 | -18.30±13.42 |
| POMS score | Anger-Hostility | Placebo | 45.71±1.65 | 43.88±1.12 | -1.83±0.86 |
| | | FeLf | 39.63±1.25 | 38.71±0.71 | -0.92±0.72 |
| | Vigor | Placebo | 34.67±1.64 | 37.00±1.28 | 2.33±1.54 |
| | | FeLf | 34.96±1.56 | 35.08±1.44 | 0.13±1.07 |
| | Fatigue | Placebo | 47.08±1.53 | 46.21±1.94 | -0.875±1.70 |
| | | FeLf | 41.08±1.59 | 41.96±1.24 | 0.875±1.36 |
| | Confusion | Placebo | 54.46±1.69 | 49.33±1.54* | -5.13±1.02 |
| | | FeLf | 47.92±1.33 | 45.88±0.77* | -2.04±0.85 |

Results were expressed as mean±SE (n=24).

*) Significant difference from initial score, p<0.05 (paired t-test).

ような気分・感情の評価方法としては POMS がよく知られており、多くの臨床試験やメンタルヘルスケアに用いられる客観的な指標として確立されている。本試験の結果から、FeLf はストレス負荷に対して気分・感情を改善することが明らかとなった。

唾液中の CgA 濃度は、自律神経系のストレス反応の指標であり、暗算などの精神的なストレスを負荷した時にのみ即時的に反応し、高濃度になることが報告されている²⁵⁾。今回、暗算作業負荷により引き起こされた交感神経系優位な状態が、FeLf の経口摂取により軽減されることが明らかとなった。また、唾液中の S-IgA 濃度は、免疫系のストレス反応を示し、加療が必要である慢性的なストレス状態において減少し、日常の一時的なストレス反応である急性ストレスにより上昇する²⁶⁾。本試験の生化学的指標の結果から、FeLf を摂取することにより中枢神経系および自律神経系における急性のストレス反応を軽減する可能性が示された。また、プラセボ摂取群において上昇した唾液中 CgA 濃度および両群において上昇した唾液中 S-IgA 濃度は、暗算作業負荷後の安静によりイニシャル値に戻る傾向があるため、これらのストレス反応が慢性的ではなく、一時的なストレスに起因すると推察される。

本研究において、脳波および唾液中のストレス指標、即ち生化学的評価と主観的評価の両面から、FeLf を単回摂取することにより、被験者の暗算によって引き起こされたストレス反応に影響を及ぼすことが示唆された。我々はこれまでに、経口摂取した FeLf の多くは分解さ

れずに腸管に到達すること¹⁶⁾、貧血傾向の女性における貧血改善効果を示すことを明らかにしている¹⁷⁾。このことから、FeLf の鉄は腸管において遊離し、血中に移行すると推察される。動物において経静脈投与された Lf はリンパ液に移行し、脳に到達することがわかっている¹¹⁾、ヒトにおいて Lf の脳への移行に関する検証は行われていない。経口摂取した FeLf がリンパ液に移行し、脳に到達している場合、動物における検証から一酸化窒素合成酵素 (NOS) を活性化すると推察される。一方、NOS と唾液中のストレスマーカーの関係は明らかにされておらず、FeLf の精神ストレス軽減効果については、Lf の NOS の活性化による作用メカニズムの解析を含め、更なる検討を続ける必要がある。過剰な鉄は細胞障害を引き起こすが、精神的ストレスと鉄との関係については報告されていない。よって、本試験で明らかとなった FeLf のストレス軽減効果は、Lf による効果であると推察される。本報告は、ストレス軽減効果の現象についての報告であるが、ヒトが経口摂取した Lf のストレス軽減効果を示す報告はこれまでにない。今後、様々な観点から作用メカニズムを検証しなければならない。

要約

現代、ストレスは大きな社会問題となっており、ストレスによって引き起こされる疲労や免疫力、感染抵抗性の低下が疾患の発症に繋がることも指摘されている。これまでに、ラットの腹腔内に投与したラクトフェリン

(Lf) は、精神的なストレスを緩和することが報告されている。そこで本研究では、消化酵素に耐性を示す鉄・ラクトフェリン (FeLf) をヒトに経口投与し、精神ストレスに及ぼす影響について検証した。

ストレッサーとして用いた暗算作業負荷によりストレス反応が示された被験者24名を対象に、FeLf 833 mgを単回経口摂取するクロスオーバー試験を実施した。スーパークレペリンを用いた暗算作業負荷によるストレス反応は、心理調査、脳波、唾液中の各ストレスマーカーにより評価した。その結果、FeLfを摂取することにより中枢神経系および自律神経系における一時的な精神ストレス反応が軽減された。これらのことから、FeLfはストレス反応に影響を及ぼし、メンタル状態を改善することが示された。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、ご指導を賜りましたエミネククロスメディカルクリニックの辻秀一医師に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 渡辺恭良:「脳21—疲労の脳神経回路仮説—」, (金芳堂, 京都), pp. 19-26 (2006)
- 2) 渡辺恭良他:「医学のあゆみ—疲労の科学」, (医歯薬出版, 東京), pp. 593-742 (2009)
- 3) Lonnerdal, B. and Iyer, S.: Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu. Rev. Nutr.*, **15**, 93-110 (1995)
- 4) Anorld, RR., Cole, RM., and McGhee, JR.: A bactericidal effect for human lactoferrin. *Science*, **197**, 263-265 (1997)
- 5) Anorld, RR., Brewer, M., and Gauthier, JJ.: Bactericidal activity of human lactoferrin: sensitivity of a variety of microorganisms. *Infect. Immun.*, **28**, 839-898 (1980)
- 6) Kalmer, JR. and Anorld, RR.: Killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* by human lactoferrin. *Infect. Immun.*, **56**, 2552-2557 (1988)
- 7) Yamauchi, K., Tomita, M., Giehl, TJ., and Ellison III, RT.: Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment. *Infect. Immun.*, **61**, 719-728 (1993)
- 8) Kuhara, T., Igo, M., Itoh, T., Ushida, Y., Sekine, K., Terada, N., Okamura, H., and Tsuda, H.: Orally administered lactoferrin exerts an antimetastatic effect and enhances production of IL-18 in the intestinal epithelium. *Nutr. Cancer*, **38**, 192-199 (2000)
- 9) Takeuchi T., Kitagawa H., and Harada E.: Evidence of lactoferrin transportation into blood circulation from intestine via lymphatic pathway in adult rats. *Exp. Physiol.*, **89**(3), 263-270 (2004)
- 10) Talukder, MJR., Takeuchi, T., and Harada, E.: Receptor-mediated transport of lactoferrin into cerebrospinal fluid via plasma in young calves. *J. Vet. Med. Sci.*, **65**, 957-964 (2003)
- 11) Kamemori, N., Takeuchi, T., Hayashida, K., and Harada, E.: Suppressive effects of milk-derived lactoferrin on psychological stress in adult rats. *Brain Res.*, **1029**, 34-40 (2004)
- 12) Takeuchi, T., Hayashida, K., Inagaki, H., Kuwahara, M., and Tsubone, H.: Opioid mediated suppressive effect of milk-derived lactoferrin on distress induced by maternal separation in rat pups. *Brain Res.*, **979**, 216-224 (2003)
- 13) 前田隆子, 原田悦守, 腸溶性ラクトフェリンによる月経痛緩和とQOLの改善効果, 母性衛生, **48**(2), 239-245 (2007)
- 14) Kawakami, H., Dosako, S., and Nakajima, I.: Effect of Lactoferrin on Iron Solubility under Neutral Conditions. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1376-1377 (1993)
- 15) Uchida, T., Oda, T., Sato, K., and Kawakami, H.: Availability of lactoferrin as a natural solubilizer of iron for food products. *Int. Dairy J.*, **16**, 95-101 (2006)
- 16) 山村淳一, 井上佳子, 門岡幸男, 川上浩: 鉄・ラクトフェリンのヒト単球 THP-1 細胞における IL-6 産生抑制作用. *Milk Sci.*, **53**, 256-257 (2004)
- 17) 元賣睦美, 吉瀬蘭エミリー, 松山博昭, 細谷知広, 門岡幸男, 浅田千鶴, 内田俊昭, 川上浩: ラクトフェリン可溶化鉄が成人女性の貧血指標に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌, **54**(10), pp. 442-446 (2007)
- 18) World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. (2008)
- 19) 浜田敏彦, 村田哲人, 高橋哲也, 大竹由香, 齊藤実, 木村秀樹, 和田有司, 吉田治義: 暗算負荷による自律神経機能および脳波変化と両者の関連性について. 臨床病理, **54**, pp. 329-334 (2005)
- 20) 横山和仁: POMS 短縮版手引きと事例解説. (金子書房, 東京), pp. 1-9 (2005)
- 21) 上野秀剛, 石田響子, 松田侑子, 福嶋祥太, 中道

- 上, 大平雅雄, 松本健一, 岡田保紀: 脳波を利用したソフトウェアユーザビリティの評価—異なるバージョン間における周波数成分の比較. ヒューマンインターフェース学会誌, **10**(2), 233-242 (2008)
- 22) Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. and Randall R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)
- 23) 大熊輝雄: 「臨床脳波学第5版」, (医学書院, 東京), (2003)
- 24) 大竹由香, 浜田敏彦, 村田哲人, 高橋哲也, 和田有司, 木村秀樹, 吉田治義: メンタルストレス時の自律神経反応の違いと脳波活動の変化との関連性について. 臨床病理, **55**, 1075-1079 (2007)
- 25) Nakane, H., Asami, O., Yamada, Y., Harada, T., Matsui, N., Kanno, T., and Yanaihara, N.: Salivary chromogranin A as an index of psychosomatic stress response. *Biomed. Res.*, **19**, 401-406 (1998)
- 26) Bristow, M., Hucklebridge, F. Clow, A., and Evans, P.: Modulation of secretory immunoglobulin A in relation to an acute episode of stress and arousal. *J. Psychophys.*, **11**, 248-255 (1997)