

2. 緑茶のストレス軽減および抗うつ作用

Stress reducing and anti-depression effects of green tea

海野けい子

UNNO Keiko

静岡県立大学茶学総合研究センター

Tea Science Center, University of Shizuoka

要約

緑茶に含まれるテアニン (T) やアルギニン (A) は優れたストレス軽減作用を示す。一方で緑茶の主要な成分であるカテキン (EGCG, E) やカフェイン (C) はそれに対し拮抗的に作用する。したがって、これら成分のバランス CE/TA 比は緑茶のストレス軽減効果のマーカーとなる。カフェイン量を低下させた低カフェイン緑茶は、20代、40 - 50代 (中高齢者) および80 - 90代 (高齢者) の参加者のストレスを軽減し、高齢者や中高齢者の睡眠の質を高めた。抹茶では CE/TA 比が 2 以下のものでストレス軽減効果が認められたが、茶溶出液でストレス軽減効果を期待するには CE/TA 比は 0.5 以下が望ましいことが見出された。また白葉茶では抗うつ作用が期待された。体調に合わせて緑茶を選択することは、心身の健康増進に寄与するものと考えられる。

1. はじめに

「適度なストレス」は私たちに必要な刺激であるが、長期にわたり過度なストレスが負荷された場合は「うつ」や気分障害、心血管系疾患、加齢関連疾患など様々な疾患が引き起こされると考えられている。ヒトが「ストレス」と感じる様々な要因の中で、職場や学校、家庭における対人関係に起因する社会心理的ストレスは主要なストレスである。そこで実験動物に社会心理的ストレスを長期に負荷した場合の寿命や脳機能への影響を明らかにするとともに、ストレス軽減について緑茶成分を中心にその効果を検討してきた。昨今はコロナウィルスの世界的流行により日常生活に様々な制限が加えられたことから、ストレスを強く感じている人が増加していることも報告されており、ストレス軽減の重要性はより高まっていると考えられ

る。

2. 社会心理的ストレスの負荷方法

ストレス負荷実験でよく用いられている方法は、動物に電気ショックや拘束、強制水泳などの物理的苦痛を与える方法であるが、身体に直接危害が加わるのではない心理的ストレスが長期間にわたり負荷された場合には、生体の応答が異なる可能性が考えられる。また、社会心理的ストレスを負荷するために実験動物でこれまでよく用いられている方法の一つとして、雄動物（マウス、ラットなど）のナワバリ意識を利用した居住者と侵入者間による対面飼育という方法がある¹⁾。居住者のケージに、別のケージから侵入者を入れ対面させる。この場合、侵入者は居住者から激しい攻撃を受けるため長期間にわたる同居飼育は困難で、身体への直接的ストレスは無視できない。またケージが変わるとい物理的ストレスも侵入者には加わることになる。そこでこれらを改善した新たな方法を考案した^{2,3)}。2匹の雄マウスを、ステンレス製の仕切り板で2つに区切ったケージに1匹ずつ入れ単独飼育を行うことで、マウスにナワバリ意識を確立させた後、仕切り板を外して2匹の対面飼育を行った（図1）。マウスは互いを侵入者とみなすが、これらマウスは2

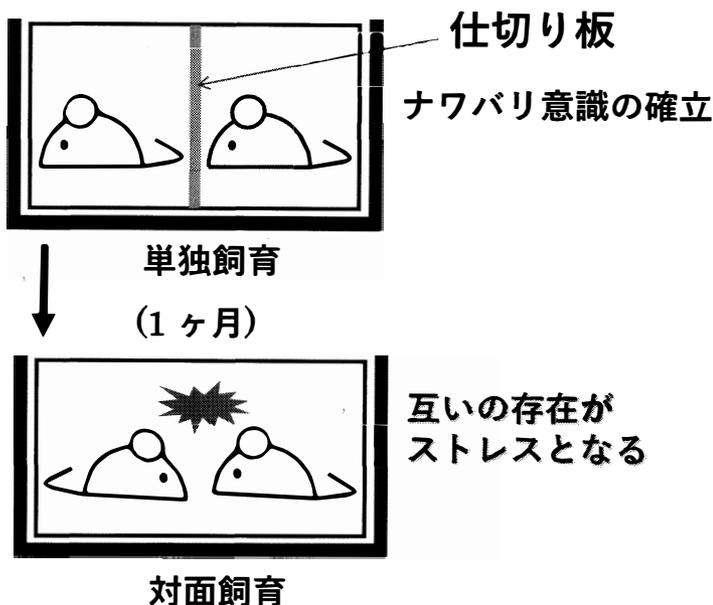


図1 対面飼育によるストレス負荷試験

匹とも居住者でもある。仕切り板を外した直後に 2 匹の間では互いの臭いを嗅ぐ、追いかける、一方が他方に乗りかかる、などの行動が観察されることから優劣の関係は成立している。その後 2 匹のマウスの間で時に闘争行動が見られるが、激しい闘争には至らず、体重の減少などの顕著な変化も認められない。したがってストレス負荷条件下で長期飼育が可能であり、寿命や脳機能等に対する長期にわたる社会心理的ストレス負荷の影響を調べることができる。群飼育により若い時から同じケージで飼育したマウス同士では闘争が少ないが、同じ群れの仲間であるかどうか、ということ認識する情報源の一つが尿の臭いである⁴⁾。仕切り板を用いた対面飼育の方法では、単独飼育の条件下でも少なくとも尿の臭いの情報は共有していることから、同じケージ仲間として認識していることが、激しい攻撃には至らない一因ではないかと推察される。

ここで紹介する長期の実験系では、1 月齢で購入した老化促進モデルマウス (SAMP10) を 1 ヶ月間、仕切板を入れたケージで単独飼育を行った後、仕切り板を外して対面飼育を開始した。この系統のマウスは正常に 4 ~ 5 ヶ月で成熟した後、老化徴候が早期に現れるため平均生存期間が通常のマウスに比べやや短いという特徴を示す⁵⁾。脳機能の測定は SAMP10 にとって初老期に相当する 11 ~ 12 月齢で行った。対照群として、同月齢の群飼育群のマウスを対面飼育群のマウスと比較した。一方緑茶成分のストレス軽減効果を簡便に評価する方法としては、1 月齢で購入した ddY マウスを 1 週間、仕切り板を入れたケージで単独飼育を行った後、仕切り板を外して対面飼育を開始し、1 日後に副腎肥大の抑制の程度で抗ストレス作用を評価した。ddY マウスは広く実験に使用されている一般的マウスで、成長が早く体が大きいので副腎の肥大が評価しやすい。仕切板を用いた対面飼育では、これまで調べたすべての系統の雄マウスで副腎の肥大が観察されている。一方雌の場合は縄張り意識が雄ほど強くないため、副腎の有意な肥大は観察されない。

3. ストレス負荷による副腎の肥大

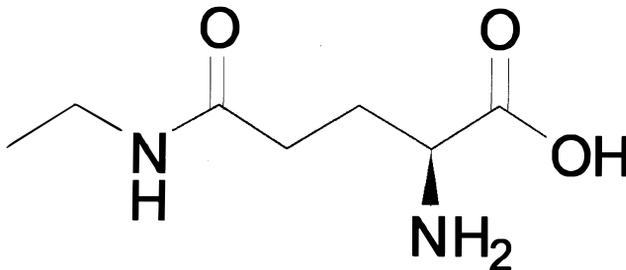
ストレスが負荷された時、ヒトも他の動物も共通して内分泌系および神経系を介したストレス応答がおこる。内分泌系では、視床下部の室傍核から副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH)、下垂体前葉から副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、そして副腎皮質からは糖質コルチコイドが血中に放出される視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 軸の機能の活性化が知られている。また自律神経系では視床下部-交感神経-副腎髓質系を介して、おもにアドレナリンが分泌される。このように副腎は感

受性の高い重要なストレス応答器官であり、ストレスの指標の一つとして副腎の肥大が共通して見られる。対面飼育下の2匹のマウスの間では優劣の関係が成立しており、劣位のマウスの方が優位のマウスに比べ副腎がより肥大している傾向が見られたが、両者の差はわずかであり、優位および劣位どちらのマウスの副腎も、群飼育群のマウスに比べ顕著に肥大していた。このことから、優劣の違いはあっても対面飼育下では2匹のマウスはほぼ同等のストレスを感じているものと推察された³⁾。

対面飼育を行った ddY マウスでは24時間後に副腎が有意に肥大し、その後1週間は肥大が継続し10日目頃から徐々に退縮した³⁾。一方、SAMP10マウスでは対面飼育を開始してから6ヶ月経過した時点でも、ストレスに应答するHPA軸が活性化していることが示唆された²⁾。このことからマウスの系統によりストレスからの回復力に違いがあることが明らかとなった。ストレスに対する感受性に個人差があることはよく知られているが、SAMP10と ddY マウスはストレス脆弱性の違いを解明するための良いモデルであると考えられる。

4. テアニンの作用と緑茶成分による副腎の肥大抑制

テアニン(図2)は緑茶中には1.6~3.4%、紅茶には0.5~4.1%含まれている茶に特有のアミノ酸で⁶⁾、脳内の神経伝達物質の一つであるグルタミン酸と構造が似ていることから、脳内での生理作用に着目した研究が行われてきた。これまでにリラックス作用⁷⁾、ストレス軽減作用^{8,9)}、うつ病・統合失調症の症状軽減作用¹⁰⁾、睡眠改善作用¹¹⁾、等がヒトにおける研究で報告されている。また動物等を用いた研究から、血液脳関門を介した脳への取り込み¹²⁾、ドーパミン等の脳内神経伝達



theanine

図2 テアニンの構造

物質への影響¹³⁾、カフェインによる興奮の抑制¹⁴⁾、神経への保護作用¹⁵⁾、グルタミン輸送体への高い親和性¹⁵⁾、神経細胞の新生への関与¹⁶⁾等が報告されている。

ストレス時における HPA 軸の活性化の調節は、視床下部の室傍核にあるグルタミン酸受容体を介して行なわれており¹⁷⁾、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸はグルタミンから供給されている。脳内に取り込まれたテアニンはグルタミン輸送体に強力に作用し、細胞外のグルタミンの神経細胞内への取込みを阻害し脳内におけるグルタミン酸代謝を調節していると考えられている¹⁵⁾。ddY マウスにストレスを負荷した時、副腎の肥大とともに糖質コルチコイドの日内リズムが変化したが、テアニンを摂取することによりそれらが正常状態となった³⁾。このことから、テアニンは HPA 軸の正常化を介してストレス軽減作用をもたらしていることが示された。また、糖質コルチコイドの正常な日内リズムは脳におけるシナプス形成に重要であることが報告されていることから¹⁸⁾、ストレスによるホルモンの日内リズムの乱れは脳機能低下の一因として重要だと考えられる。

ストレス負荷による副腎肥大に対する抑制効果を指標にして、緑茶成分のストレス軽減作用ならびに成分間の相互作用を検討した¹⁹⁾。テアニンを摂取していたマウスでは対面飼育条件下でも副腎の肥大は観察されなかったが、テアニンによる副腎肥大抑制作用はカフェインあるいはエピガロカテキンガレート (EGCG) の共存で強く抑制された。しかしガレート基を持たないエピガロカテキン (EGC) は低濃度ではストレスを軽減する作用を示すとともに、テアニンに対しては何ら妨害作用を示さなかった。またテアニン以外の遊離アミノ酸について検討したところ、グルタミン酸やグルタミンにはストレス軽減効果は認められなかったが、アルギニンは優れたストレス軽減効果を示すことが明らかとなった。そこでテアニンに対するカフェイン、EGCG、EGC およびアルギニンについて共存による影響を検討した。テアニン量は、ヒトがサプリメントとしてテアニンを一般的に用いている用量である 200mg に相当する量とした。アルギニン量は、緑茶中ではテアニン量の 1/2 程度であることに基づき、テアニンの 1/2 量とした。その結果、テアニンに対して 5 倍量のカフェインが共存した場合はテアニンによる副腎肥大抑制効果が打ち消されてしまうことが示された。しかしテアニンとアルギニンの両者の共存により、カフェインの作用が打ち消され副腎肥大が抑制された。EGCG に対しても、テアニンとアルギニンが協同的に拮抗することが明らかになった。また EGC もテアニンと協同的に作用した (図 3)。

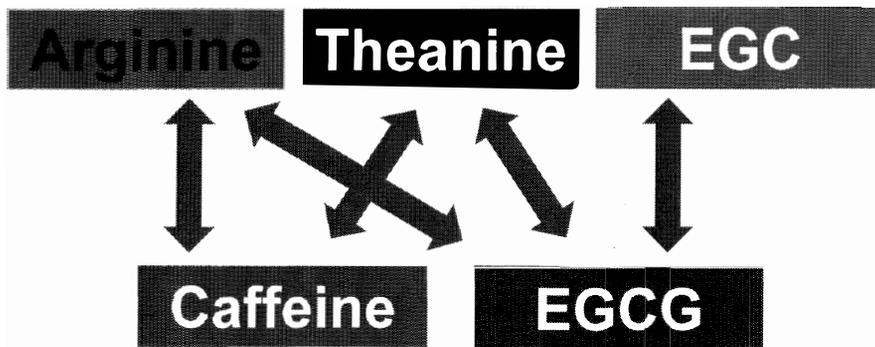


図3 テアニンのストレス軽減作用に対する他の緑茶成分の作用

5. ストレスと「うつ」、脳機能、寿命

対面飼育群のマウスについて、うつ様行動が引き起こされているか観察した。強制水泳および尾懸垂試験により、諦めて動かなくなってしまう時間を測定することにより「うつ」の状態を推測した。その結果、いずれの測定方法においても対面飼育群のマウスにおいて、水を摂取していたマウスに比べテアニンを摂取していたマウスでは、諦めて動かなくなってしまう時間が短縮していることが見いだされた。SAMP10の場合、加齢に伴いうつ様行動が観察されることが報告されているが、テアニンの摂取はうつ様行動を抑制していることが見いだされた。このことからテアニンには抗うつ作用の可能性も示唆された²⁾。実際、健常者(20~69歳の男女)が毎日200mgのテアニンを4週間服用した結果、うつに関する自己評価調査で有意な改善が認められたことが報告されている¹¹⁾。

マウスを用いた検討では、SAMP10マウスが寿命の短縮に加え加齢に伴い脳が萎縮するという特徴を示すことから、脳萎縮に対する作用を調べた。その結果、対面飼育群のマウスでは群飼育群に比べ有意に脳の萎縮が促進していることが見いだされた。一方、テアニンを摂取していた場合は、対面飼育条件下でも脳の萎縮は促進していなかった²⁾。健康な人においても、例えば家族との死別、失業、事故、または大規模な自然災害などにより、強いストレスに繰り返しさらされると脳が萎縮することが報告されている^{20,21)}。また虐待を受けた子供たちに脳萎縮が起きていることも報告されていることから²²⁾、脳の萎縮は実験動物だけの話ではない。

対面飼育の条件下で飼育したマウスについて、ステップスルー装置を用いた受動回避試験により学習記憶能を測定した。予めマウスを明室に入れ、となりの暗室への入口を開けると、マウスは暗所を好むことから素早く暗室に移動する。暗室に入っ

た時に床に弱い電流を流し、暗室に入ると電気ショックが与えられることを学習させる。暗室から明室にマウスを移動し、上記の作業をくり返すと、若いマウスではすぐに学習し、暗室に入らず明室に留まるようになるが、老齢になると学習能力が低下し、繰り返し暗室に入ってしまう、明室になかなか留まることができない。8月齢の時点で群飼育群のマウスの学習能を比較した結果、対面飼育群で顕著に学習能が低下していることが見いだされた²⁾。SAMP10の場合、加齢に伴い学習記憶能も低下するため通常の群飼育では11月齢以降になると有意に学習能が低下するが、8月齢の時点ではまだ有意な学習能の低下は観察されないことから、対面飼育により脳機能の低下が促進されることが見いだされた。一方、テアニンを摂取していた対面飼育群のマウスでは、脳機能の低下は認められなかった。

また、対面飼育下にあったSAMP10マウスでは成熟後早い時期から死に始めるマウスが見られた²⁾。これら早期に死亡したマウスに外傷はなく、対面飼育群のマウスの平均生存期間は14ヶ月であった。一方、群飼育群のマウスの平均生存期間は18ヶ月であったことから、対面飼育のマウスでは群飼育のマウスに比べ約4ヶ月寿命が短縮し、群飼育の場合の3/4の寿命となったことが見いだされた。一方マウスにテアニン(6mg/kg)を飲水として自由摂取させたところ、対面飼育下にあるにもかかわらずテアニン摂取群では平均生存期間が18ヶ月に延長しており、群飼育の場合とほぼ同じ平均生存期間となった。同様にSAMP10マウスにストレス負荷条件下でアルギニン(3mg/kg)を自由摂取させたところ、生存期間中央値(MST)は17ヶ月で、水を摂取していたマウス(11ヶ月)に比べ有意に延長していた²³⁾。テアニンやアルギニンの寿命延長効果は、対面飼育により生じた寿命短縮作用を打ち消しているものであり、通常飼育下でストレスを殆ど感じていない場合は、それ以上の寿命延長効果は示さなかった。

ストレスは心血管系疾患、消化器系疾患、内分泌・代謝系疾患などの様々な病気の発症や進行に深く関わっていることから、ストレスがヒトの寿命にも影響していることは容易に想像される。しかし平均寿命より短命であったヒトたちはストレスを強く受け、それより長寿だったヒトたちではストレスが少なかったかと言うと、それほど単純ではないのも事実である。ストレスと寿命との関連はまだ十分には解明されていないが、少なくとも神経が常に高まったような状態は寿命が短縮する一因だと考えられている²⁴⁾。またストレスに対する感受性には個人差があるのも事実であり、ストレスを感じやすい人にとってはストレスの軽減は重要だと考えられる。

6. 低カフェイン緑茶のストレス軽減効果と睡眠に対する作用

カフェインやEGCGはテアニンのストレス軽減作用に対し抑制的に作用するが¹⁹⁾、水で淹れる「水出し」とすることで溶出するカフェインやEGCGを減らすことができる。これはカフェインやEGCGが低温では顕著に溶出量が低下するのに対し、アミノ酸類やEGCは水温の影響をほとんど受けないことによる²⁵⁾。また、摘み取った茶葉を熱水で短時間処理することにより、茶葉中のカフェインを当初の1/3～1/4に低下させた「低カフェイン緑茶」は、相対的にテアニンの効果が高まることが期待された。そこで20代、40～50代（中高齢者）および80～90代（高齢者）の参加者に「水出し」した低カフェイン緑茶を飲んでいただき、ストレスや睡眠への影響を観察した²⁶⁻²⁸⁾。

唾液中のアミラーゼ活性を測定する（唾液アミラーゼモニター、ニプロ（株）、大阪）ことによりストレスの程度を評価した結果、いずれの年代においても対照群に比べ低カフェイン緑茶を摂取していた人たちではストレスの程度が軽減していることが明らかとなった。また20代では、主観的なストレスの程度をVAS（Visual Analogue Scale）を用いて数値化した評価でも、低カフェイン緑茶摂取群で有意にストレスが低下していた²⁸⁾。中高齢者では、厚生労働省が策定した「労働者の疲労蓄積度診断チェックリスト」を用いて疲労感の程度を評価したところ、月曜の朝の疲労感が低カフェイン緑茶摂取群で有意に低下していた²⁷⁾。月曜の朝に不調を感じずる人は多くいることから、低カフェイン緑茶のこの抗疲労効果は興味深い結果である。

また、睡眠時の脳波を簡易睡眠計（スリープスコープ、スリープウェル（株）、大阪）を用いて測定し、睡眠への影響を検討した。睡眠には個人差があったが高齢者では、朝早く目が醒めてしまいその後再び寝つくことができない「早朝覚醒」が、低カフェイン緑茶摂取群で抑制されていた²⁶⁾。早朝覚醒は高齢者によく見られる睡眠上のトラブルの一つであることから、低カフェイン緑茶に切り替えることは高齢者の睡眠の質の向上につながる可能性がある。中高齢者では早朝覚醒の時間は短かったが、低カフェイン緑茶摂取群で改善効果が認められた²⁷⁾。さらに高齢者では、通常の緑茶を摂取していた時に比べ低カフェイン緑茶に切り替えたことによりストレスが軽減していた参加者ほど、睡眠に関する種々のパラメーター（睡眠時間、中途覚醒、睡眠効率、入眠潜時、ノンレム睡眠）に改善が認められた²⁶⁾。中高齢者では、低カフェイン緑茶の摂取量が多い参加者ほど睡眠の質の高さを示すノンレム睡眠の割合が高まっていたことから²⁷⁾、低カフェイン緑茶への切り替えは中高齢

者においても睡眠の質の向上につながるものと考えられる。

8. 抹茶のストレス軽減作用

抹茶は煎茶に比べ茶葉に含まれるテアニン量が多くカテキンは少ないが、カフェインを多く含んでいる緑茶である。先に示したようにカフェインとEGCGは、テアニンおよびアルギニンの抗ストレス作用に対し拮抗的に作用することから、日本国内で販売されている抹茶について比較した結果、各抹茶に含まれるテアニンやアルギニン、カフェイン、カテキン量にはかなり大きな違いがあることが明らかとなった。カフェイン量には抹茶の種類による違いはあまり見られなかったが、テアニンとEGCGの割合は大きく変動していた。またアルギニンはテアニン量に比例して変動した。種々の抹茶についてストレスを軽減することができるかどうか実験動物を用いて評価した結果、抹茶中に含まれるテアニン (T) とアルギニン (A) に対する、カフェイン (C) とEGCG (E) のモル比を示す「CE/TA比」が2以下の抹茶では、マウスのストレスによる副腎肥大を抑制することができたが、2より大きい抹茶ではストレスによる副腎肥大を抑制することができないことが明らかとなった²⁹⁾。日本国内で販売されている抹茶についてCE/TA比を比較した結果、76銘柄中32銘柄はCE/TA比が2以下であった²⁹⁾。一般に、上級～中級の抹茶はCE/TA比が2以下のものが多かった。一方海外で販売されていた67銘柄ではCE/TA比が2以下のものは1銘柄のみであった²⁹⁾。

CE/TA比が2以下の抹茶では、実際にヒトにおいてストレスが軽減されるのか調べてみた。20代の被験者がCE/TA比1.79の抹茶3gを水に懸濁して摂取した場合、ストレス軽減効果が認められたが、CE/TA比が10.79の抹茶ではストレス軽減効果が認められなかった²⁹⁾。また、抹茶を飲む習慣はそれほど一般的ではないが、抹茶を含む菓子類は多く販売されていることから、焼菓子などとして抹茶を摂取した場合も同様の効果が認められるか検討してみた。その結果クッキーとして摂取した場合も、CE/TA比が1.79の抹茶ではCE/TA比が10.79の抹茶に比べストレス軽減効果が高かった³⁰⁾。抹茶の臨床研究では、量的にどの程度摂取すればストレス軽減効果が期待できるのか更に検討する必要があるが、これまでの研究から少なくとも抹茶のCE/TA比には注意を払う必要があると考えられる。

白葉茶の抗うつ作用

「白葉茶」は、茶樹を2週間ほど完全に遮光することにより一般の煎茶に比べて

アミノ酸量を6～7倍に増加させた緑茶であり（図4）、旨味の強い緑茶として注目されている。白葉茶では一般煎茶に比べテアニンが約5倍に増加していたことから、ストレス軽減効果が期待された。しかし臨床研究において一般煎茶と比べた時に、有意なストレス軽減効果は残念ながら認められなかった³¹⁾。そこでその原因の解明に向け、動物実験を行ってみた。白葉茶では完全な遮光を行うことから茶葉中の可溶性タンパク質の分解が生じ、遊離アミノ酸組成が一般煎茶の場合と大きく異なり、テアニンは量的に増加するものの一般煎茶に比べ全アミノ酸に占める割合はむしろ低下してしまう一方で、アルギニンやグルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸等の割合が増加した（図5）³¹⁾。そこでアミノ酸の比率の違いによるテアニンのストレス軽減効果に対する影響を検討した結果、アスパラギンやアスパラギン酸の増加はテアニンの作用を抑制することが見出された³¹⁾。

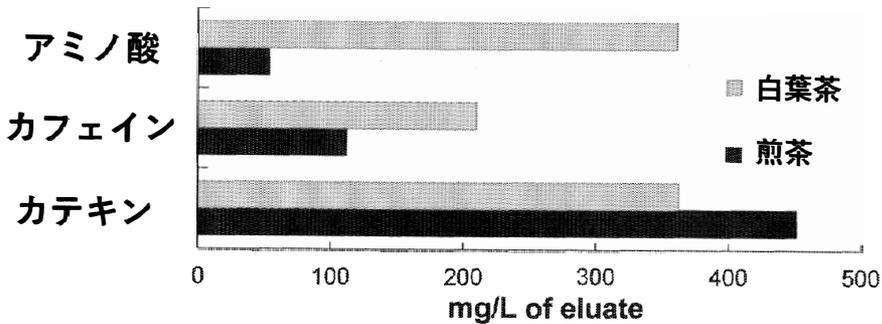


図4 白葉茶と煎茶の主要成分

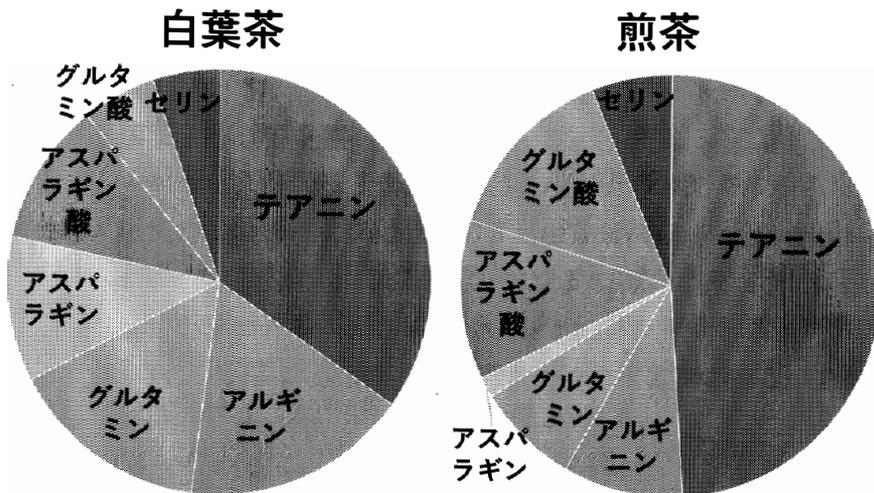


図5 白葉茶と煎茶のアミノ酸組成の違い

次に白葉茶および一般煎茶に含まれる割合でテアニン、アルギニン、カフェイン、EGCGを溶解した水をマウスに与えた時も、マウスのストレスを軽減できなかった。白葉茶のCE/TA比は1.12であり、一般煎茶は4.47であった。低カフェイン緑茶等のデータと合わせて考えると、茶溶出液の場合はCE/TA比が0.54以下ではストレス軽減効果が認められたが、0.9以上では効果が見られないことが示唆された。抹茶の場合と茶溶出液の場合では、ストレス軽減効果が期待されるCE/TA比に違いがあることが明らかとなった。茶溶出液と抹茶との作用の違いについては今後更なる検討が必要である。

ところでうつ病は最も一般的な精神疾患で、ストレスはその重要な危険因子であるが、緑茶の摂取がうつ病を予防することが報告されている³²⁾。「うつ」の予防において、緑茶中のカフェインやカテキンの関与が示唆されていることから、実験動物を用い白葉茶の抗うつ効果を検討した。その結果、白葉茶を摂取していたマウスではうつ様行動が有意に低下することが明らかとなった³¹⁾。これらのことから、白葉茶の場合は抗うつ効果が期待されると考えられる。

まとめ

緑茶に含まれるテアニンやアルギニンは優れたストレス軽減作用を示すが、緑茶の主要な成分であるカテキン（EGCG）やカフェインはそれに対し拮抗的に作用する。ストレス軽減効果に着目して緑茶の作用を評価した場合、緑茶溶出液ではテアニンとアルギニンに対する、カフェインとEGCGのモル比であるCE/TA比は0.5以下であることが望ましいことが示された。抹茶の場合はCE/TA比が2以下であればストレス軽減効果が認められたことから、抹茶と茶抽出液との違いについて今後更なる検討が必要である。緑茶は食品であるが、緑茶に含まれるテアニンやカフェイン、EGCG、アルギニンの組成の違いにより実際にストレスが軽減されたり睡眠に影響が生じたりすること等、その機能性が明らかとなった。うつ状態が軽減される可能性も示唆された。ストレスが負荷された時、生体の応答では興奮状態になる場合もあれば抑うつ状態になる場合もある。これにはストレスの状況や個人による感受性の違いなど複雑な要因が関与するが、いずれにおいても脳内の興奮と抑制のバランスを保つことは、心身の健康を保つ上で非常に重要であると考えられる。状況に合わせた緑茶の選択は心身の健康増進に寄与するものと考えられ、食品成分が持つ機能性について更なる解明が進むことが期待される。

引用文献

- 1) Pryce CR, Fuchs E. Chronic psychosocial stressors in adulthood: Studies in mice, rats and tree shrews. *Neurobiol Stress*. 2016, **6**, 94–103.
- 2) Unno K, Fujitani K, Takamori N, Takabayashi F, Maeda K, Miyazaki H, Tanida N, Iguchi K, Shimoi K, Hoshino M. Theanine intake improves the shortened lifespan, cognitive dysfunction and behavioural depression that are induced by chronic psychosocial stress in mice. *Free Radic Res*. 2011, **45**, 966–974.
- 3) Unno K, Iguchi K, Tanida N, Fujitani K, Takamori N, Yamamoto H, Ishii N, Nagano H, Nagashima T, Hara A, Shimoi K, Hoshino M. Ingestion of theanine, an amino acid in tea, suppresses psychosocial stress in mice. *Exp Physiol*. 2013, **98**, 290–303.
- 4) Nakamura K, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. The critical role of familiar urine odor in diminishing territorial aggression toward a castrated intruder in mice. *Physiol Behav*. 2007, **90**, 512–517.
- 5) Takeda T. Senescence-accelerated mouse (SAM) with special references to neurodegeneration models, SAMP8 and SAMP10 mice. *Neurochem Res*. 2009, **34**, 639–659.
- 6) Alcázar A, Ballesteros O, Jurado JM, Pablos F, Martín MJ, Vilches JL, Navalón A. Differentiation of green, white, black, Oolong, and Pu-erh teas according to their free amino acids content. *J Agric Food Chem*. 2007, **55**, 5960–5965.
- 7) Kobayashi, K.; Nagato, Y.; Aoi, N.; Juneja, L.R.; Kim, M.; Yamamoto, T.; Sugimoto, S. Effect of L-theanine on the release of α - brain wave in human volunteers. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 1998, **72** 153–157.
- 8) Kimura, K.; Ozeki, M.; Juneja, L.R.; Ohira, H. L-Theanine reduces psychological and physiological stress responses. *Biol. Psychol.* 2007, **74**, 39–45.
- 9) Unno, K.; Tanida, N.; Ishii, N.; Yamamoto, H.; Iguchi, K.; Hoshino, M.; Takeda, A.; Ozawa, H.; Ohkubo, T.; Juneja, L.R.; et al. Anti-stress effect of theanine on students during pharmacy practice: Positive correlation among salivary α -amylase activity, trait anxiety and subjective stress. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2013, **111**, 128–135.
- 10) Hidese, S.; Ota, M.; Wakabayashi, C.; Noda, T.; Ozawa, H.; Okubo, T.; Kunugi, H. Effects of chronic l-theanine administration in patients with major depressive disorder: An open-label study. *Acta Neuropsychiatr.* 2017, **29**, 72–79.

- 11) Hidese S, Ogawa S, Ota M, Ishida I, Yasukawa Z, Ozeki M, Kunugi H. Effects of L-Theanine Administration on Stress-Related Symptoms and Cognitive Functions in Healthy Adults: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2019, **11**, 2362.
- 12) Yokogoshi, H.; Kobayashi, M.; Mochizuki, M.; Terashima, T. Effect of theanine, r-glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats. *Neurochem. Res.* 1998, **23**, 667–673.
- 13) Yamada, T.; Terashima, T.; Okubo, T.; Juneja, L.R.; Yokogoshi, H. Effects of theanine, r-glutamylethylamide, on neurotransmitter release and its relationship with glutamic acid neurotransmission. *Nutr. Neurosci.* 2005, **8**, 219–226.
- 14) Kakuda, T.; Nozawa, A.; Unno, T.; Okamura, N.; Okai, O. Inhibiting effects of theanine on caffeine stimulation evaluated by EEG in the rat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2000, **64**, 287–293.
- 15) Kakuda, T. Neuroprotective effects of theanine and its preventive effects on cognitive dysfunction. *Pharmacol. Res.* 2011, **64**, 162–168.
- 16) Yoneda, Y.; Kawada, K.; Kuramoto, N. Selective Upregulation by Theanine of Slc38a1 Expression in Neural Stem Cell for Brain Wellness. *Molecules* 2020, **25**, 347.
- 17) Evanson NK, Van Hooren DC, Herman JP, GluR5-mediated glutamate signaling regulates hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress responses at the paraventricular nucleus and median eminence. *Psychoneuroendocrinology*, 2009, **34**, 1370–1379.
- 18) Liston, C.; Cichon, J.M.; Jeanneteau, F.; Jia, Z.; Chao, M.V.; Gan, W.B. Circadian glucocorticoid oscillations promote learning-dependent synapse formation and maintenance. *Nat. Neurosci.* 2013, **16**, 698–705.
- 19) Unno, K.; Hara, A.; Nakagawa, A.; Iguchi, K.; Ohshio, M.; Morita, A.; Nakamura, Y. Anti-stress effects of drinking green tea with lowered caffeine and enriched theanine, epigallocatechin and arginine on psychosocial stress induced adrenal hypertrophy in mice. *Phytomedicine* 2016, **23**, 1365–1374.
- 20) Ansell, E.B.; Rando, K.; Tuit, K.; Guarnaccia, J.; Sinha, R. Cumulative adversity and smaller gray matter volume in medial pre-frontal, anterior cingulate, and insula regions. *Biol. Psychiatry* 2012, **72**, 57–64.
- 21) Schoenfeld, T.J.; McCausland, H.C.; Morris, H.D.; Padmanaban, V.; Cameron, H.A. Stress and Loss of Adult Neurogenesis Differentially Reduce Hippocampal Volume. *Biol. Psychiatry* 2017, **82**, 914–923.

- 22) Tomoda, A.; Polcari, A.; Anderson, C.M.; Teicher, M.H. Reduced visual cortex gray matter volume and thickness in young adults who witnessed domestic violence during childhood. *PLoS ONE* 2012, **7**, e52528.
- 23) Pervin M, Unno K, Konishi T, Nakamura Y. L-Arginine Exerts Excellent Anti-Stress Effects on Stress-Induced Shortened Lifespan, Cognitive Decline and Depression. *Int J Mol Sci.* 2021, **22**, 508.
- 24) Zullo JM, Drake D, Aron L, O'Hern P, Dhamne SC, Davidsohn N, Mao CA, Klein WH, Rotenberg A, Bennett DA, Church GM, Colaiácovo MP, Yankner BA. Regulation of lifespan by neural excitation and REST. *Nature.* 2019, **574**, 359–364.
- 25) Monobe M, Ema K, Tokuda Y, Maeda-Yamamoto M. Effect on the epigallocatechin gallate/epigallocatechin ratio in a green tea (*Camellia sinensis* L.) extract of different extraction temperatures and its effect on IgA production in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010, **74**, 501–503.
- 26) Unno K, Noda S, Kawasaki Y, Yamada H, Morita A, Iguchi K, Nakamura Y. Ingestion of green tea with lowered caffeine improves sleep quality of the elderly via suppression of stress. *J Clin Biochem Nutr.* 2017, **61**, 210–216.
- 27) Unno K, Noda S, Kawasaki Y, Yamada H, Morita A, Iguchi K, Nakamura Y. Reduced Stress and Improved Sleep Quality Caused by Green Tea Are Associated with a Reduced Caffeine Content. *Nutrients.* 2017, **9**, 777.
- 28) Unno K, Yamada H, Iguchi K, Ishida H, Iwao Y, Morita A, Nakamura Y. Anti-stress Effect of Green Tea with Lowered Caffeine on Humans: A Pilot Study. *Biol Pharm Bull.* 2017, **40**, 902–909.
- 29) Unno K, Furushima D, Hamamoto S, Iguchi K, Yamada H, Morita A, Horie H, Nakamura Y. Stress-Reducing Function of Matcha Green Tea in Animal Experiments and Clinical Trials. *Nutrients.* 2018, **10**, 1468.
- 30) Unno K, Furushima D, Hamamoto S, Iguchi K, Yamada H, Morita A, Pervin M, Nakamura Y. Stress-reducing effect of cookies containing matcha green tea: essential ratio among theanine, arginine, caffeine and epigallocatechin gallate. *Heliyon.* 2019, **5**, e01653.
- 31) Unno K, Furushima D, Nomura Y, Yamada H, Iguchi K, Taguchi K, Suzuki T, Ozeki M, Nakamura Y. Antidepressant Effect of Shaded White Leaf Tea Containing High Levels of Caffeine and Amino Acids. *Molecules.* 2020, **25**, 3550.

- 32) Rothenberg, D.O.; Zhang, L. Mechanisms Underlying the anti-depressive effects of regular tea consumption. *Nutrients* 2019, **11**, 1361.