

カテキン含有茶飲料の血中ビタミン、ミネラルおよび腸内細菌叢に及ぼす影響

前川 紫¹⁾, 谷口 歩美¹⁾, 福井 徹²⁾,
林田 幸吉³⁾, 前川 隆嗣⁴⁾, 渡邊 敏明¹⁾

(¹⁾兵庫県立大学環境人間学部*, (²⁾病体生理研究所**,

(³⁾田辺製薬(株)ファインケミカル事業部***, (⁴⁾前川TSH研究所****)

Effects of Green Tea Catechins on Serum Vitamins, Minerals and Intestinal Microflora

Yukari MAEKAWA¹⁾, Ayumi TANIGUCHI¹⁾, Toru FUKUI²⁾,
Kohkichi HAYASHIDA³⁾, Takatsugu MAEKAWA⁴⁾ and Toshiaki WATANABE¹⁾

¹⁾Department of Environment for Life and Living School of Human Science and Environment,

Himeji Institute of Technology, University of Hyogo

²⁾Clinical Laboratory, Byotai Seiri Laboratory

³⁾Tanabe Seiyaku Co., Ltd.

⁴⁾Maekawa Taste, Safety and Health Laboratory

Summary

Catechins have shown to have antioxidative, anticarcinogenic and hypocholesterolemic activities. In this clinical trial, we investigated the influences of catechins, which are contained in green tea, on vitamins and minerals of serum and intestinal microflora in healthy 9 adult women. On 14 days after daily ingestion of green tea containing a large amount of catechins (1,080 mg/day), the concentrations of serum vitamin B₂ and biotin were significantly increased. However, such a change in serum vitamin B₁ concentration was not observed during the experimental period. On the other hand, the serum concentrations of minerals such as zinc, sodium, potassium, chloride and calcium, were significantly increased. The proportion of *Bifidobacterium* on 14 days was significantly higher than that on 0 day, whereas the number of *Enterobacteriaceae* was decreased by the ingestion of green tea. Also the ammonium concentration in feces decreased to 47.5%. These findings suggest that the green tea widely consumed in Japan may have a beneficial action for maintaining the good health.

健康に対する関心が高まり、近年、ビタミンやミネラルなどのサプリメントや健康食品が広く利用されている。そのひとつとして、緑茶、紅茶、コーヒーなどの嗜好飲料が多くの人々に愛用されている。緑茶は主にわが国をはじめとするアジアで広く親しまれている飲料である。飲料としてのみでなく、緑茶などがもたらす健康への効能に関する研究が活発に行われている。

緑茶には、多量のカテキン類が含まれていることが知られている。乾燥重量の10-18%を占める。カテキンはフラボノイド類の1種であり、茶に多く含まれる苦味成分である。緑茶中には、1杯あたりおよそ100~150mgのカテキンが

*所在地：兵庫県姫路市新在家本町1-1-12 (〒670-0092)

**所在地：東京都板橋区熊野町47-11 (〒173-0025)

***所在地：東京都千代田区三番町26 (〒102-8355)

****所在地：兵庫県姫路市土山6-4-1 (〒670-0996)

含まれており、主成分はエピガロカテキンガレート、エピカテキンガレート、エピガロカテキン、エピカテキンの4種類である。このうち、エピガロカテキンガレートが50～60%と最も高い割合で含まれている。このほか、カテキンは、カキやモモなどの樹木性の果実にも多く存在しているが、野菜類にはあまり含まれていない。

カテキンには様々な生理作用がある。主なものとして、抗酸化作用や抗菌・抗ウイルス作用、体脂肪低減効果などがあげられる^{1),2)}。最近では、血中コレステロール低下作用、血圧上昇抑制作用や突然変異抑制作用、抗腫瘍作用、消臭効果などのあることが注目されている³⁾。また、カテキンを摂取することによりビフィズス菌や乳酸菌が増殖し、腸内環境が改善されることも報告されている。しかし、ある種のビフィズス菌はビオチンを取り込むため、体内のビオチン量が減少したり、不足するのではないかと考えられている。

このように、近年、緑茶やウーロン茶などのような保健効果を期待したさまざまな健康茶が市販されている。しかし、健康茶の保健効果については不明な点が多い。そこで、本研究では、カテキン摂取による血液中のビタミン、ミネラル、腸内細菌叢および酸化ストレスへの影響について検討した。

実験方法

1. 試験デザイン

対象者は、規則正しい生活を送っている健常な女子大学生9名（平均年齢21.5歳）である。対象者には、食生活によく問題はみられず、飲酒、喫煙の習慣もない。試験プロトコルは、Fig. 1に示したとおりである。試験期間は、カテキン摂取前日および摂取2週間の計15日間である。カテキン摂取には、市販の高濃度カテキン含有茶飲料である「H」（花王㈱，東京）を使用した。

摂取前日と摂取14日目は血液、尿、糞便を採取し、摂取7日目は尿のみを採取した（Fig. 1）。3回のサンプル採取においては、それぞれの前日の夕食から当日の夕食までの4食は、決められた同一の食事を摂取した。飲料水としては、摂取前は水のみ、摂取期間中はカテキン含有茶飲料を1日に2本と水のみにした。水は水道水やペットボトル入りの自然水などを自由摂取とした。

対象者には、あらかじめ研究の趣旨および方法を文書で説明し、協力を依頼し、同意を得た。また今回の試験は、ヘルシンキ宣言「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」（2000年修正）に則って実施した。

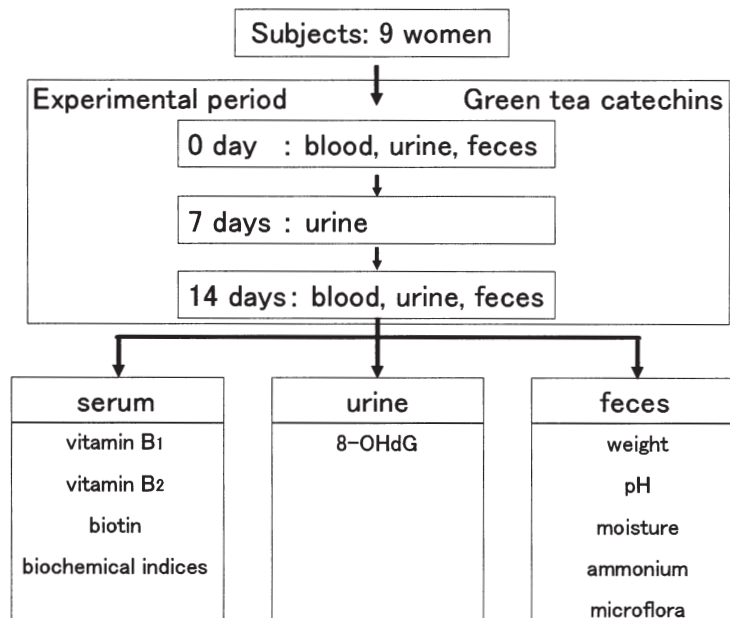


Fig. 1 Experimental protocol

2. カテキン含有茶飲料の摂取

カテキン含有茶飲料は、1日に2本で合わせて計700mlを摂取することになる。カテキン含有茶飲料には1本あたり540mgの抽出カテキンが含まれているために、1日で1,080mgのカテキンを摂取することになる。これは、1日に緑茶を7~10杯飲んでいる量に相当する。

3. サンプルの採取および分析

血液は、採血後に3,000回転10分間遠心をして血清を採取した。血清は分析を行う直前まで凍結保存した。血清は、一般生化学的検査をした後、ビタミンとしては、ビタミンB₁、ビタミンB₂、およびビオチンを分析した。

採血時に採尿し、測定まで凍結保存をした。尿中の8-OHdG(8-oxo-2'-deoxyguanosin)は、8-OHdG測定用ELISAキット(New 8-OHdG Check, 日研ザイル(株), 静岡)を用いて分析した。つまり、DNAが活性酸素によりダメージを受けると、DNA構成成分であるデオキシグアノシンから8-OHdGが切り出され、最終的に尿中に排泄される。そこで、8-OHdGを測定することで、生体での酸化的ストレスダメージを測定することができると考えられる。つまり、8-OHdGの値が高い程、酸化ストレスダメージは大きく、低ければダメージは少ないことになる。

糞便については、腸内細菌叢および重量、pH、水分量、アンモニア濃度について測定した。

4. 統計処理

得られた分析データは、平均値±標準偏差で表した。これらのデータの統計処理は、StatView Ver.5.0(SAS Institute, Cary, NC, USA)を用い、群間の有意差をMann-Whitney's U-testおよびStudent's t-testにより検定し、 $p < 0.05$ を有意とした。

結果および考察

1. 血液中ビタミンへの影響

Fig. 2は、カテキン含量茶飲料の摂取による血清中ビタミンB₁およびビタミンB₂濃度を示したものである。血清中ビタミンB₁濃度は、カテキン含有茶飲料を摂取しても、変化が見られなかった。しかしながら、血液中ビタミンB₂濃度は有意に増加した($p < 0.01$)。これはビタミンB₂は、日本食品標準成分表によると緑茶中には多いもので0.11mg(玉露浸出液)、少ないものでも0.01mg(玄米茶浸出液)含まれている。このため、カテキン含有茶飲料を摂取することによって、通常よりビタミンB₂をより多く摂取し、血清中のビタミンB₂濃度が上昇したものと考えられる。

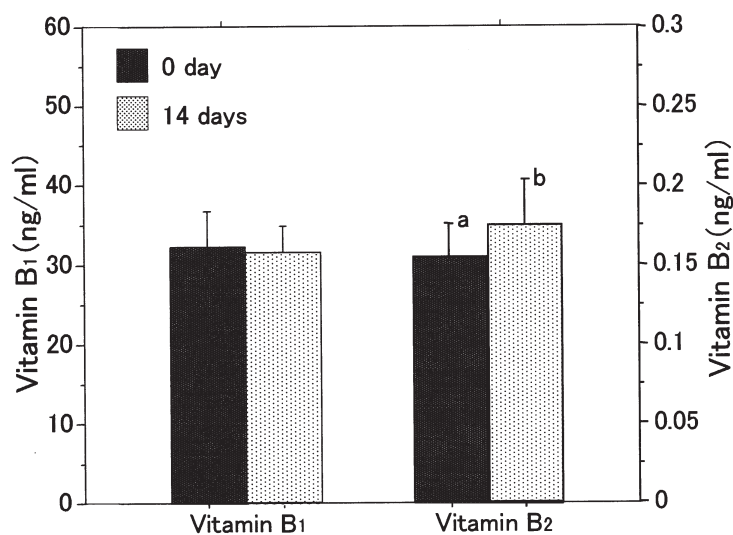


Fig. 2 Changes of serum vitamins after ingesting green tea catechins
^{a-b} $p < 0.05$.

カテキン含有茶飲料の摂取による血清中のビオチン濃度の変化を見たものがFig. 3である。摂取前と比較して、摂取14日目では、総ビオチン濃度が有意に増加した ($p < 0.01$)。しかしながら、遊離型ビオチン濃度には差異は認められなかった。今回使用したカテキン含有茶飲料には、ビオチンが平均7.6ng/ml含まれているため、1日あたり5.3 μ g摂取していることになる。この量は、ビオチン目安量の約12%に相当している。このことより、血清ビオチンが増加したものと考えられる。

2. 血清ミネラルへの影響

Table 1は、カテキン含有茶飲料の摂取による血液中のミネラルレベルの変化についてみたものである。血清亜鉛、ナトリウム、カリウム、塩素およびカルシウム濃度は有意に減少した ($p < 0.05$)。この原因については、明らかではないが、腸管でミネラルの吸収が阻害されたことが考えられる。動物実験では、カテキン摂取によって、亜鉛吸収の著しい阻害は観察されていない⁴⁾。

3. 腸内細菌叢の変化

Fig. 4は、カテキン含有茶飲料の腸内細菌叢に対する影響を示したものである。腸内細菌叢の占有率を見ると、ビフィズス菌が摂取前に平均19%であったのに対して、摂取14日目では平均26%と有意に増加した ($p < 0.01$)。その他の腸内細菌については、腐敗菌である連鎖球菌やエンテロバクテリウムの減少傾向が見られた。これまでも、カテキン茶を摂取している期間はビフィズス菌が増加し、クロストリジウムなどが減少するとの報告がある⁵⁾。なお、これらの効果は、カテキン茶飲料の摂取を止めることにより元に戻る傾向を示した。

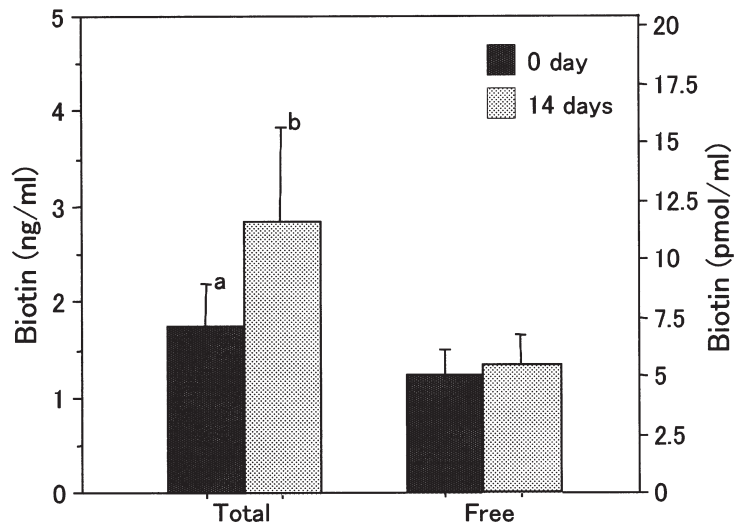


Fig. 3 Changes of serum biotin after ingesting green tea catechins
^{a-b} $p < 0.05$.

Table 1 Effects of the ingestion of green tea containing catechins on minerals in serum

Serum		Experimental period (days)	
		0	14
Zinc	μ g/ml	0.83 \pm 0.08	0.76 \pm 0.06*
Sodium	mEq/l	143 \pm 1.45	141 \pm 1.01*
Potassium	mEq/l	4.24 \pm 0.28	4.04 \pm 0.34*
Chloride	mEq/l	104 \pm 1.32	102 \pm 1.27*
Calcium	mg/dl	9.62 \pm 0.28	9.38 \pm 0.19*

mean \pm SD. * $p < 0.05$ (t-test).

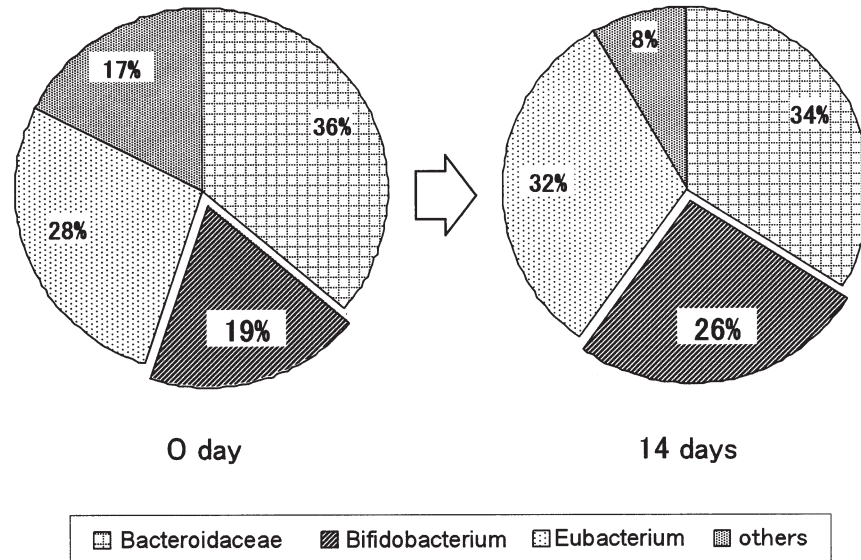


Fig. 4 Effects of green tea intake on fecal microflora in women

ビフィズス菌の増殖には、ビオチンやパントテン酸などのビタミンの存在に依存していることが知られている⁶⁾。また、ビフィズス菌によってオリゴ糖からビオチンの産生の過程については、よく分かっていないが、ビフィズス菌がヒトにおけるビオチンの供給において重要な働きをしていることが示唆されている⁷⁾。このようなことから、カテキン含有茶飲料を摂取した後、ビフィズス菌の占有率が高くなったことと血清中のビオチン濃度の増加と関連があるかもしれない。

糞便中の重量やpHには変化が見られなかったが、糞便中のアンモニア濃度が摂取前に1453.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ であったのに比べ、摂取2週目では689.8 $\mu\text{g}/\text{g}$ と、有意に減少した ($p < 0.01$)。これは、摂取前の47.5%に相当している (Table 2)。Gotoら⁸⁾も、カテキン茶の摂取によって糞便中のアンモニアが低下するばかりでなく、pHの低下することや有機酸が増加することも報告している。このように、カテキン含有茶飲料の摂取により腸内環境が改善されたことが示唆される。

4. 8-OHdGへの影響

生体内酸化ストレスの生物指標である尿中8-OHdGの変化を示したものがFig. 5である。尿中8-OHdG濃度は、摂取前と比較し、摂取14日目で半分以下と著しく減少した ($p < 0.05$)。このことから、カテキン含有茶飲料の摂取により、生体内の酸化ダメージが減少したと考えられる。カテキンによる抗酸化作用については、これまでも報告されている。Sugisawa and Umegaki⁹⁾は、培養細胞を利用して、茶の主要なカテキンであるエピガロカテキンガレートは、スーパーオキシドやヒドロパーオキシドなど反応性の高いラジカルに対しては、おもに細胞の外で反応している。一方、反応性が低く細胞膜を通過する過酸化水素に対しては細胞内でもその酸化ダメージを抑制することを報告してい

Table 2 Effects of the ingestion of green tea containing catechins on the fecal properties in women

Feces	Experimental period (days)	Experimental period (days)	
		0	14
Wet weight	g/day	68.8 \pm 54.3	64.2 \pm 42.3
pH		6.9 \pm 0.6	6.9 \pm 0.9
Moisture	g/100g	73.8 \pm 9.8	71.1 \pm 6.7
Ammonium	$\mu\text{g}/\text{g}$	1.453 \pm 151	689 \pm 406*

mean \pm SD. * $p < 0.01$.

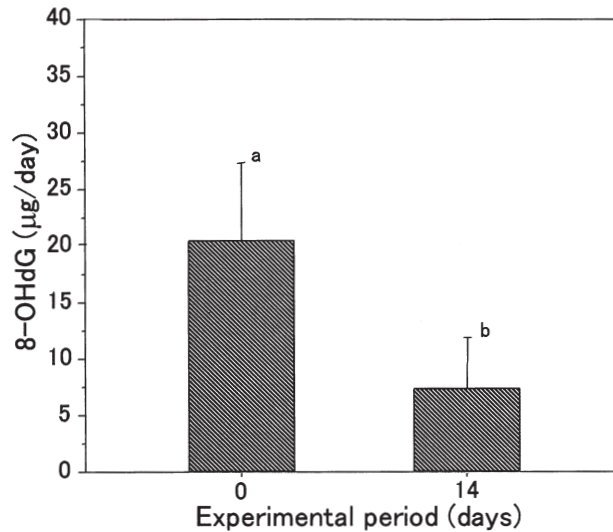


Fig. 5 Effects of green tea intake on 8-oxo-2'-deoxyguanosin (8-OHdG) in women
^{a-b}*p* < 0.05.

る。そして、これらの活性酸素種に対するエピガロカテキンガレートの抑制効果は、通常量の茶摂取で到達する生理的な血中エピガロカテキンガレートの濃度で有効である。たとえば、エピガロカテキンガレートは、過酸化水素による染色体損傷に対して、生理的な濃度において有意な抑制効果を示している。

わが国においては、茶カテキンはがんに対する効能を中心に研究が行われている。一方、欧米では、茶に含まれるフラボノイドの摂取が、循環器疾患の危険率を低下させることを示している¹⁰⁾。この機序については不明であるが、ボランティアに茶カテキン抽出物を1週間摂取させることによって、低密度リポタンパク質の酸化遅延時間が、摂取前に比べ有意に延長されたことが、報告されている¹¹⁾。このように古くから日本人に愛用されてきた緑茶などのカテキン含有茶飲料を常用することは、生活習慣病の予防ばかりでなく、上手に利用することで健康増進に役立てることができると考えられる。

結 語

1. カテキン含有茶飲料を14日間摂取した後、血液中のビタミン濃度をみると、血清ビオチンおよびビタミンB₂は増加した。これは、これらのビタミンが緑茶中に多く含まれるためと考えられる。一方、血液中のミネラル濃度は減少した。
2. カテキン含有茶飲料の腸内細菌叢への影響を見ると、ビフィズス菌の占有率は有意に増加し、連鎖球菌等は減少傾向にあった。また、糞便中アンモニア濃度は摂取14日間で有意に減少した。このようにカテキン含有茶飲料の摂取によって腸内環境の改善されることが示唆された。
3. 酸化ストレスの生物指標である8-OHdGは、カテキン含有茶飲料の摂取によって減少した。つまり、体内の酸化ストレスダメージが低下したのかもしれない。
4. 古くから日本人に愛用されてきた緑茶は、上手に利用することで健康増進に役立てることができると考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、ご協力を賜りました昭和女子大学の飯野久和教授に深謝致します。

引用文献

- 1) Umegaki K, Sugisawa A, Yamada K, Higuchi M (2001) Analytical method of measuring tea catechins in human plasma by solid-phase extraction and HPLC with electrochemical detection. *J Nutr Sci Vitaminol* 47: 402-408.
- 2) 梶本五郎, 村上美嘉子 (1999) 各種市販茶の抗酸化性とそれらの成分. *日本栄養・食糧学会誌* 52: 209-218.
- 3) 杉澤彩子, 梅垣敬三, 山田和彦 (2003) X線照射により誘発した染色体損傷に対する茶カテキンの抑制効果. *日本栄養・食糧学会誌* 56: 85-90.
- 4) Coudray C, Bousset C, Tressol JC, Pepin D, Rayssiguier Y (1998) Short-term ingestion of chlorogenic or caffeic acids decreases zinc but not copper absorption in rats, utilization of stable isotopes and inductively-coupled plasma mass spectrometry technique. *Br J Nutr* 80: 575-584.
- 5) 原 征彦 (1997) 茶カテキン類の生理活性作用②. *臨床栄養* 91: 149-152.
- 6) Yazawa K, Nakamura H, Shibamura S, Tamura Z (1981) Properties of the biotin transport system in *Bifidobacterium breve* N4. *Microbiol Immunol* 25: 627-637.
- 7) Noda H, Akasaka N, Ohsugi M (1994) Biotin production of *Bifidobacteria*. *J Nutr Sci Vitaminol* 40: 181-188.
- 8) Goto K, Kanaya S, Ishigami T, Hara Y (1998) The effects of tea catechins on fecal conditions of elderly residents in a long-term care facility. *J Nutr Sci Vitaminol* 45: 135-41.
- 9) Sugisawa A, Umegaki K (2002) Physiological concentrations of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate (EGCg) prevent chromosomal damage induced by reactive oxygen species in WIL2-NS cells. *J Nutr* 132: 1836-1839.
- 10) 富田多嘉子 (2004) 食品成分と循環器疾患 - 茶カテキンの動脈硬化, 脳卒中進展抑制効果を中心に -. *日本栄養・食糧学会誌* 57: 21-26.
- 11) Miura Y, Chiba T, Miura S, Tomita I, Umegaki K, Ikeda M, Tomita T (2000) Green tea polyphenols (flavan 3-ols) prevent oxidative modification of low density lipoproteins: An ex vivo study in humans. *J Nutr Biochem* 11: 216-222.