

グリーンルイボス摂取による激運動時の抗酸化力上昇作用

永 澤 健¹⁾, 村 上 香²⁾

(¹⁾畿央大学健康科学部健康栄養学科*, (²⁾広島工業大学生命学部食品生命科学科)

(受付 2017年8月31日, 受理 2017年10月12日)

Effects of unfermented rooibos ingestion on anti-oxidant potential during high intensity exercise in human

Takeshi NAGASAWA¹⁾ and Kaori MURAKAMI²⁾

¹⁾Department of Health and Nutrition, Kio University*

²⁾Department of Food Sciences and Biotechnology, Hiroshima Institute of Technology

Summary

The purpose of this study was to investigate the effects of unfermented rooibos (green rooibos) ingestion on anti-oxidant potential during high intensity exercise in human. Ten healthy male subjects were administered green rooibos (520 mg) or placebo in a double-blind method. Experiments were performed by a randomized crossover study design with a 7-day washout period between ingestion conditions. The subjects performed repeated 30 sec sprint exercise on a cycle ergometer with 4 min recovery, after 30 min of green rooibos or placebo ingestion. Reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological anti-oxidant potential (BAP) in plasma were measured at rest, 3 min and 30 min after exercise. There was no significant difference in power output during exercise between green rooibos and placebo ingestion. In both conditions, d-ROMs showed a significant increase ($p < 0.01$) from rest to 3 min after exercise, and returned to the resting value after 30 min. In green rooibos ingestion, BAP at 3 min and 30 min after exercise was significantly increased ($p < 0.01$) compared with the resting value. On the other hand, BAP in placebo ingestion showed a significant increase ($p < 0.01$) after 3 minutes of exercise and there was no significant difference in BAP after 30 minutes of exercise compared with the resting value. Rate of change of BAP in green rooibos ingestion from rest to after 3 min of exercise was $134 \pm 12\%$, which was significantly higher ($p < 0.05$) than that of placebo ingestion ($119 \pm 16\%$). These results suggest that green rooibos ingestion before high intensity exercise has an effect of increasing anti-oxidant potential.

激しい運動は活性酸素を過剰に生成させ、酸化ストレスが上昇する。スプリント運動のような短時間の高強度運動時には、運動後の酸素摂取量の増大に加えて、運動中のATPの急激な消費によって筋細胞内にAMPの蓄積が生じ、キサンチンオキシダーゼが活性化して¹⁾活性酸素が過剰に生成される。こうした酸化ストレスの増大はDNA損傷や過酸化脂質生成の原因となり²⁾、運動パフォーマンスや身体のコンドーションに悪影響を及ぼす可能性がある。こうしたことから、運動前に高い抗酸化性を有する食品を摂取すれば、生体内の抗酸化力が高まり、運動に伴う酸化ストレスが軽減することが期待され、ビタミンCやビタミンE、ポリフェノールなどの様々な抗酸化物の摂取が運動パフォーマンスと酸化ストレスに与える効果が検討されている^{3,4)}。

ルイボスは南アフリカ原産のマメ科低木植物であり、葉と根を発酵して抽出したものはルイボスティーとして飲用されている。発酵していないルイボスはグリーンルイボスと呼ばれ、グリーンルイボスはアスパラチン、イソオリエンチン、オリエンチン、ルチンおよびケルセチンなどのフラボノイドが含まれ⁵⁾、抗酸化性を有することが知られている^{5,6)}。特にグリーンルイボスはルイボスと比較してアスパラチンを多く含有しており⁵⁾、我々はグリーンルイボスの抽出液はルイボスの抽出液と比較してポリフェノール量およびアスパラチン量が多く、抗酸化性が高いことを報告している⁷⁾。アスパラチンの吸収性と生体利用性は十分明らかになっていないものの⁸⁾アスパラチンには、抗酸化作用⁹⁾に加えて、キサンチンオキシダーゼ阻害作用¹⁰⁾、糖取込促進作用¹¹⁾といった生理作用が報告されている。

*所在地：奈良県北葛城郡広陵町馬見中4-2-2 (〒635-0832)

このようにグリーンロイボスは高い抗酸化性を有することから、運動前に摂取することで運動時における生体内の抗酸化力が上昇する可能性がある。我々は、ヒトを対象に低強度の歩行運動前にグリーンロイボスティーを飲むことで、酸化ストレスマーカーの尿中8-OHdGの生成が抑制されたことを報告している⁷⁾。しかしながら、運動前のグリーンロイボスの摂取が激しい運動時の生体内の抗酸化力を上昇させるかどうかは十分明らかにされていない。

そこで本研究では、運動前のグリーンロイボスエキスの急性摂取が激しい運動時の生体内の抗酸化力に及ぼす影響について検討することを目的とした。

実験方法

1. 被験者

健康成人男性10名(年齢:20~22歳,身長:173.3±6.5 cm,体重:67.7±12.4 kg)を被験者とした。全ての被験者に対して、事前に実験の主旨と内容を文章と口頭によって説明し、文書により自発的に実験に参加する同意を得た。本研究はヘルシンキ宣言(1964年承認,2008年修正)の精神に則り実施した。

2. 実験手順

実験デザインは、無作為化クロスオーバー法による二重盲検プラセボ対照試験とし、各被験者は、グリーンロイボス摂取とプラセボ摂取の2条件の実験に参加した。実験前日の運動および飲酒は避けるように指示した。実験当日は投与開始の3時間前に規定食(サンドウィッチと牛乳)を摂取させ、実験前夜から実験終了までの間の飲料は水のみを摂取とした。被験者は実験室に到着後、座位にて安静を30分以上保持し、指尖から血液を採取し、安静時の血液の抗酸化力(Biological Anti-oxidant Potential; BAP)と酸化度(Reactive Oxygen Metabolites; d-ROMs)の測定を行った。その後、グリーンロイボスエキス(タマ生化学社製)あるいはプラセボとしたデキストリン520 mgを4つのカプセルに分けて水と一緒に経口摂取させた。本研究で使用したグリーンロイボスエキスは、グリーンロイボス茶葉より調製した¹²⁾。摂取終了60分後に30秒間の全力自転車運動を4分間の休憩を挟み2本実施した。運動後の回復期では仰臥位にて安静を保持し、運動終了の3分後と30分後に採血してBAPとd-ROMsを測定した。

3. 運動負荷

運動は、Wingate anaerobic testの方法¹³⁾に従って30秒の全力自転車運動を2本実施し、運動の間の回復時間は4分間とした。自転車エルゴメータ(Powermax-VII, コンビ社製)を用いて、体重1 kg当たり0.075 kpの負荷で実施した。被験者毎にサドルおよびハンドルの高さを調節し。トゥクリップで両足をペダルに固定した。運動中はサドルから腰を上げないようにさせ、常に最大努力でペダリ

ングするように指示した。運動パフォーマンスは、運動時の平均パワーから評価した。運動前にウォームアップとして下肢中心の静的ストレッチングを5分と5秒間の全力自転車運動を2回実施した。

4. 血液の酸化度と抗酸化力

血液のBAPとd-ROMsは、フリーラジカル解析装置(FREE, 株式会社ウイスマー社製)を用いて測定した。BAPは血漿中の三価鉄イオンを二価鉄イオンに還元する還元作用から評価した。d-ROMsはフリーラジカルによる代謝産物のヒドロペルオキシドの血漿中の濃度を測定することにより評価した。d-ROMsの単位はU.CARRとし、1U.CARRは0.08 mg H₂O₂/dLに相当する。なお、U.CARRは開発者名由来の任意単位である。

5. 統計処理

各測定値は平均±標準偏差で表した。有意水準は5%未満とした。血液データの平均値の差の検定測定は反復測定による二元配置分析にて行い、F値に有意性が認められた場合、Scheffe法により多重比較を行った。運動時の平均パワーの条件間の比較は、対応のあるt-testにより行った。

結果

運動時の平均パワーは、1本目と2本目ともに条件間で有意な差がなかった(Fig. 1)。

BAPは、グリーンロイボス条件において運動3分後に有意な上昇を示し、30分後において安静値と比べて有意に上昇していた($p < 0.01$) (Fig. 2)。一方、プラセボ条件のBAPは、運動3分後に有意な上昇を示したものの($p < 0.01$)、30分後に安静値と比較して有意な差を認めなかった。運動後のBAPは、両摂取条件間で有意な差を認めなかった。

d-ROMsは両条件共に安静値から運動3分後に有意に上昇を示し($p < 0.01$)、30分後には安静値に戻った(Fig. 3)。d-ROMsは条件間に有意な差がなかった。

安静時から運動3分後における抗酸化力の変化率はグリーンロイボス条件が134±12%、プラセボ条件が119±

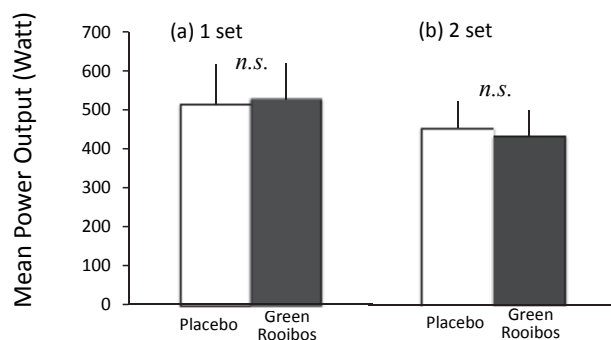


Fig. 1 Mean power output during repeated 30 sec sprint cycling of green rooibos and placebo ingestion.

16%であり、グリーンルイボス条件が有意に高値 ($p < 0.05$) を示した (Fig. 4)。

考 察

本研究の主要な知見は、グリーンルイボス摂取条件がプラセボ摂取条件と比較して運動直後に生体内の抗酸化力である BAP の上昇が大きくなったことである。このことから、運動前のグリーンルイボスエキスの摂取には激運動後に生体内の抗酸化力を上昇させる効果があることが示唆された。

本研究では、グリーンルイボスの摂取によって運動直後の BAP の上昇が 15% 程度大きくなった。運動時に過剰に生成された活性酸素やフリーラジカルに対しては、生体内の抗酸化酵素や抗酸化物質が抵抗することが知られている²⁾。血液中の抗酸化物質には、アルブミン、トランスフェリン、ビリルビン、尿酸、グルタチオンなどの内因性抗酸化物質とアスコルビン酸、トコフェロール、カロテン、グルタチオン、ユビキノン、メチオニン、ポリフェノールなどの外因性抗酸化物質があり、この外因性抗酸化物質は食事の影響も受けるものと考えられる。BAP は血液の還元力を評価しており、BAP の上昇には、血液中の抗酸化物質が影響するものと考えられる。グリーンルイボス中のフラボノイドとしては、アスパラチンが最も多く、他にオリエンチン、ルチン、ケルセチンも含有され⁵⁾、これらフラボノイドには抗酸化作用があることが知られている。本研究で摂取したグリーンルイボスエキスは、アスパラチンを 20% 以上含有するエキスである¹²⁾。本研究では、グリーンルイボスエキス中の主要なフラボノイドであるアスパラチンに加えてオリエンチン、ルチン、ケルセチンも吸収、代謝されて、運動後の BAP 上昇を補足した可能性がある。

フリーラジカルの代謝産物である血漿中ヒドロペルオキシド濃度 (d-ROMs) は、本研究において、安静時から運動後に増大したことから、本研究で実施したスプリント運動は、フリーラジカルを増大させる運動であったものと考えられる。この自転車スプリント運動は、先行研究¹⁾と同様に ATP 消費の急速な増大とそれに伴う筋細胞内の AMP が蓄積したものと推察される。グリーンルイボス含有のアスパラチンにはキササンチンオキシダーゼ阻害作用¹⁰⁾が報告されていることから、グリーンルイボスを摂取することで、激運動時にキササンチンオキシダーゼの活性が抑制され、活性酸素の生成が低減して、運動後の d-ROMs の低下が観察される可能性がある。しかしながら、本研究ではグリーンルイボス摂取に伴う d-ROMs の低下は認めなかった。したがって、グリーンルイボス摂取は本研究で実施したような運動時における活性酸素生成の抑制に有効でない可能性がある。

スプリント運動時の発揮パワーは、本研究において 1 本目と 2 本目ともにグリーンルイボス摂取によって向上しなかった。このことは、運動前のグリーンルイボス摂取が高強度運動時の運動パフォーマンス向上に有効でないことを

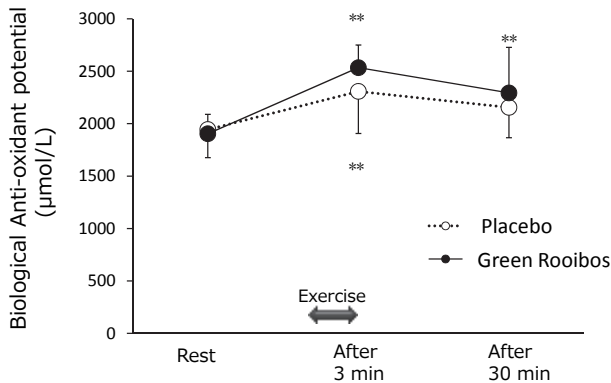


Fig. 2 Biological Anti-oxidant potential (BAP) during rest, after 3 min and 30 min of repeated sprint cycling of green rooibos and placebo ingestion. ** $p < 0.01$, significant difference from resting value

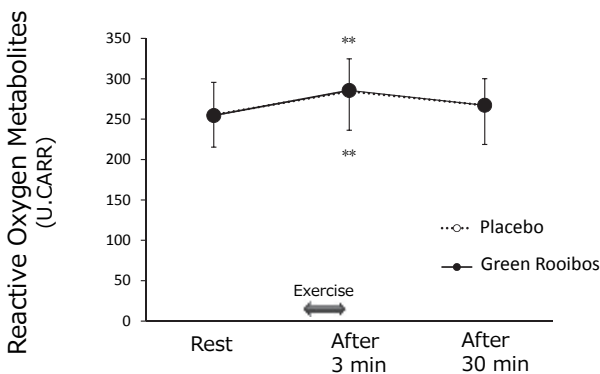


Fig. 3 Reactive Oxygen Metabolites (d-ROMs) during rest, after 3 min and 30 min of green rooibos and of placebo ingestion at repeated sprint cycling. 1U.CARR corresponds to 0.08 mg of H_2O_2/dL . ** $p < 0.01$, significant difference from resting value.

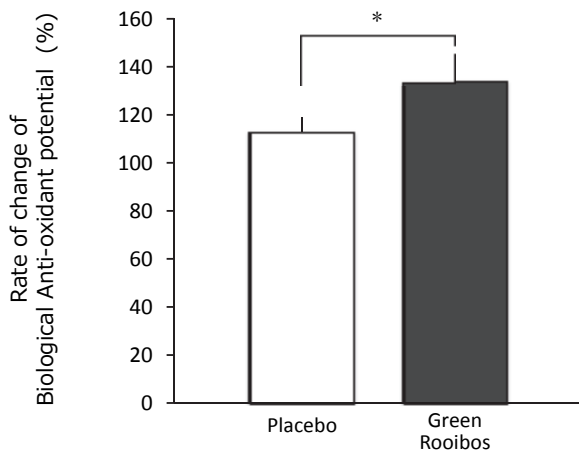


Fig. 4 Rate of change of Biological Anti-oxidant potential from rest to after 3 min of repeated sprint cycling in green rooibos and placebo ingestion. * $p < 0.05$, significant difference between placebo and green rooibos

示している。数多くの先行研究において、抗酸化物の運動前の急性投与によって、運動パフォーマンスは向上しないことが明らかにされており^{3,4)}、本研究結果はこれら報告と一致している。

グリーンルイボスティーをヒトに摂取させたところ、安静時の血液の抗酸化力が摂取の1時間後に最高値を示したことが報告されている¹⁴⁾。一方、ヒトを対象にしてグリーンルイボスエキスを摂取することで、激運動時の抗酸化力の上昇を認めた報告は見当たらない。グリーンルイボスエキスをヒトに投与した先行研究は少なく、糖尿病患者に対して2ヶ月半投与して糖代謝と脂質代謝に及ぼす影響を検討した報告¹⁵⁾がみられる程度である。グリーンルイボスエキス摂取の安全性については、ラットを用いた単回毒性試験、28日連続投与試験およびヒトの2ヶ月半の投与実験が報告されており、安全性が確認されている¹⁵⁾。本研究においてもグリーンルイボスエキスの急性摂取により体調不良や下痢などの有害な症状を訴える被験者はいなかった。

グリーンルイボスの急性摂取による運動時の抗酸化力上昇の作用を本研究において認めたが、グリーンルイボスを反復して摂取した場合にも抗酸化力が上昇するか否かについて検討する必要がある。さらに、グリーンルイボス摂取が運動後の酸化ストレス軽減に役立つか否かについては明らかでなく、尿中8-OHdGなどの酸化ストレスマーカーに対するグリーンルイボス摂取の影響を検証するとともに、グリーンルイボス摂取による運動時の抗酸化力の上昇が、疲労感の軽減や身体コンディションの自覚症状の向上にどの程度寄与するかも検討する必要がある。

結 論

運動前のグリーンルイボスエキスの急性摂取には激運動後の抗酸化力を上昇させる作用があることが示唆された。

文 献

- 1) Zhao S, Snow RJ, Stathis CG, Febbraio MA, Carey MF (2000) Muscle adenine nucleotide metabolism during and in recovery from maximal exercise in humans. *J Appl Physiol.* 88: 1513-1519.
- 2) 江口裕伸, 藤原範子, 大河原知水, 鈴木敬一郎, 谷口直之 (2009) 酸化ストレスと健康. *生物試料分析.* 32 : 247-256.
- 3) Juhn M (2003) Popular sports supplements and ergogenic aids. *Sports Med.* 33: 921-939.
- 4) Kanter MM, Williams MH (1995) Antioxidants, carnitine, and choline as putative ergogenic aids. *Int J Sport Nutr.* 5: S120-131.
- 5) Bramati L, Aquilano F, Pietta P. (2003) Unfermented rooibos tea: quantitative characterization of flavonoids by HPLC-UV and determination of the total antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* 51: 7472-7474.
- 6) Snijman PW, Joubert E, Ferreira D, Li XC, Ding Y, Green IR, Gelderblom WC (2009) Antioxidant activity of the dihydrochalcones Aspalathin and Nothofagin and their corresponding flavones in relation to other Rooibos (*Aspalathus linearis*) Flavonoids, Epigallocatechin Gallate, and Trolox. *J Agric Food Chem.* 57: 6678-6684.
- 7) 村上海, 永澤健, 松林弘明 (2015) 発酵および非発酵ルイボスティー飲用による夏季の屋外歩行時の酸化ストレスへの影響. *ウォーキング研究* 19 : 31-36.
- 8) Stalmach A, Mullen W, Pecorari M, Serafini M, Crozier A (2009) Bioavailability of C-linked dihydrochalcone and flavanone glycosides in humans following ingestion of unfermented and fermented rooibos teas. *J Agric Food Chem.* 57: 7104-7111.
- 9) Chen W, Sudji IR, Wang E, Joubert E, van Wyk BE, Wink M (2013) Ameliorative effect of aspalathin from rooibos (*Aspalathus linearis*) on acute oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *Phyto-medicine.* 20: 380-386.
- 10) Kondo M, Hirano Y, Nishio M, Furuya Y, Nakamura H, Watanabe T (2013) Xanthine oxidase inhibitory activity and hypouricemic effect of aspalathin from unfermented rooibos. *J Food Sci.* 78: H1935-1939.
- 11) Kawano A, Nakamura H, Hata S, Minakawa M, Miura Y, Yagasaki K (2009) Hypoglycemic effect of aspalathin, a rooibos tea component from *Aspalathus linearis*, in type 2 diabetic model db/db mice. *Phytomedicine* 16: 437-443.
- 12) 畠修一 (2009) グリーンルイボスエキスの機能性. *日本食品新素材研究会誌* 12 : 73-77.
- 13) Bar-Or O (1987) The Wingate anaerobic test. An update on methodology, reliability and validity. *Sports Med.* 4: 381-394.
- 14) Villaño D, Pecorari M, Testa MF, Raguzzini A, Stalmach A, Crozier A, Tubili C, Sarafini M (2010) Unfermented and fermented rooibos teas (*Aspalathus linearis*) increase plasma total antioxidant capacity in healthy humans. *Food Chem.* 123: 679-683.
- 15) 小笠原芳宏, 植田真弓, 畠修一 (2011) グリーンルイボスエキスの糖代謝, 脂質代謝に対する影響 — 糖尿病患者を対象としたランダム化二重盲験群間比較試験. *食品と開発.* 46 : 74-77.