

## アポトーシス誘導作用

(1) カテキン類によるアポトーシス誘導

アポトーシスとは生理的条件下で細胞自らが積極的にひき起こす細胞死(自殺)であり、発生の過程で不要な細胞が生理的に死滅することにより個体が完成していくために必要な過程である。従つて、がん細胞にアポトーシスを起こさせれば、がんを自殺に追いやり、がんを抑制することができる。事実、多くの抗癌剤が、がん細胞にアポトーシスを誘導することがわかっている。

Hibasami<sup>(14)</sup>は、一九九六年にヒトリンパ球様白血病細胞Molt4Bをカテキン類の存在下で培養すると細胞の増殖が抑制されるとや、この増殖抑制はカテキン類がアポトーシスを誘導することを初めて明らかにした。Saeki<sup>(15)</sup>も、EGCgがヒト単球性白血病細胞U937のアポトーシスを誘導すること、(+)カテキンにはこの作用がないことを確かめている。続いて Hibasami<sup>(16)</sup>は、緑茶カテキン抽出物やEGCgがヒト胃がん細胞KATOIIIにもアポトーシスを誘導することを明らかにし、緑茶飲用が胃がん予防に役立つ可能性を示した。現在までに上記のほか、白血病、類表皮がん、肺がん、腸がん、前立腺がんなどの多くのがん細胞に緑茶成分がアポトーシスを誘導することがわかっている。ただし、感受性は細胞種間でかなり異なる。一方、正常細胞とがん細胞に対するカテキン類の作用には違いがある。例えば、Chen<sup>(17)</sup>は、サイクリンなどのがん細胞に緑茶成分がアポトーシスを誘導することがわかつていている。ただし、感受性は細胞種間でかなり異なる。一方、正常細胞とがん細胞に対するカテキン類の作用には違いがある。例えば、Chen<sup>(17)</sup>は、

シスを誘導するとしている。

G1期からS期へと細胞周期を進める際に働くサイクリンD1に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを細胞に導入するとアポトーシスが誘導されることが示されている<sup>(25)</sup>ので、細胞周期停止がアポトーシス実行へつながると考えられるが、その分子機構についてはほとんど不明であり、今後の重要な研究課題として残されている。

### (c) プロテアソーム

サイクリンなどの細胞周期因子や種々の細胞内タンパク質の選択的分解に関わっている高分子プロテアーゼ複合体であるプロテアソームの酵素活性を阻害すると細胞周期停止や細胞死が起こる。EGCgなどのエステル型カテキンがプロテアソームのキモトリプシン様活性を特異的に阻害し、それによつてプロテアソームの基質であるp27タンパク質やI<sub>K</sub>Bが蓄積し、細胞がG1期停止に追い込まれることが示されている<sup>(26)</sup>。これはプロテアソームサブユニットXのN末端トレオニンとEGCgの間に結合がおこり、複合体ができるためであるといふ。

### (d) 転写因子

Fujiki<sup>(23)(27)</sup>は、EGCgがKATOIII細胞のTNF- $\alpha$ 遺伝子の発現を阻害し、またオカダ酸で誘導されるAP-1およびNF- $\kappa$ Bの活性化を阻害すること、カテキン類はKATOIII細胞からのTNF- $\alpha$ の遊離を阻害すること、などを明らかにしている。

は、40 $\mu$ MのEGCgは正常ヒト線維芽細胞WI38にはSV40ウイルス形質転換細胞であるWI38VAの増殖を完全に抑制するが、WI38VAにアポトーシスを説明しないが、75 $\mu$ MのEGCgで処理する際に50、100、200 $\mu$ MのECが共存すると、EGCg単独の場合よりそれぞれ3.4倍、4.5倍、7.2倍強くアポトーシスが誘導されるという。このECの効果はEGCgの細胞への取り込みをECが促進することによると考えられている。従つて、EGCg単独に摂取するより、カテキン混合物あるいは緑茶として摂取する方が、がん予防に有効であると思われる。

### (2) エピカテキンの共働作用

Suganuma<sup>(18)</sup>は、EGCgなどのがん細胞に対するアポトーシス説導作用がエピカテキン(EC)により共働的に増幅されることを報告している。ECは単独ではヒト肺がん細胞PC9にアポトーシスを説明しないが、75 $\mu$ MのEGCgで処理する際に50、100、200 $\mu$ MのECが共存すると、EGCg単独の場合よりそれぞれ3.4倍、4.5倍、7.2倍強くアポトーシスが誘導されるという。このECの効果はEGCgの細胞への取り込みをECが促進することによると考えられている。従つて、EGCg単独に摂取するより、カテキン混合物あるいは緑茶として摂取する方が、がん予防に有効であると思われる。

### (3) 茶高分子画分のアポトーシス説導作用

Ahmad<sup>(22)(28)</sup>も、EGCgによる細胞周期停止やアポトーシス説導にNF- $\kappa$ Bの阻害が関与していることを示唆している。NF- $\kappa$ Bの活性化はアポトーシスインビターナンパク質AIPの発現を促し、アポトーシス防御に作用するので、NF- $\kappa$ Bの活性化阻害はアポトーシスを進めるようになると考えられる。

### (e) シトクロームc

Kennedy<sup>(29)</sup>は、緑茶抽出物がミトコンドリアからのシトクロームcの遊離を引き起こすことによりカスパーゼ3の活性化を導き、エールリッヒ腹水がん細胞にアポトーシスを説導すると報告している。

### (f) Fas経路

以上のようにいくつかのEGCgによるアポトーシス説導のメカニズムが提出されているが、いずれもEGCgの最初の作用標的分子が何であるかを明らかにしていない。Fas-Fasリガンド系はアポトーシスの主要経路のひとつであり、Fasリガンドや作動性抗Fas抗体が細胞表面のFasタンパク質に結合するとカスパーゼ8が活性化されてカスパーゼカスケードが動きアポトーシスが起こる。最近、Hayakawa<sup>(30)</sup>は、EGCgの最初の作用標的がFasタンパク質であることを示した。EGCgはFasを結合してアポトーシスを開始させると考えられる。

### (5) in vivoでのアポトーシス説導

Ohishi<sup>(31)</sup>は、ラットのアゾキシメタン誘導

に吸収されることは考えにくいが、ヒト胃がん細胞MKN45や大腸がん細胞W<sub>i</sub>D<sub>r</sub>にもアポトーシスを説導することから、胃がんや大腸がんの抑制には有効と考えられる。これらの高分子画分には抗腫瘍活性があることがNakamura<sup>(20)</sup>により見い出されている。茶高分子画分は、従来から知られている発がん抑制の他に、アポトーシス説導により茶によるがん抑制に寄与していると考えられる。

### (4) 茶成分によるアポトーシス説導のメカニズム

(a) 活性酸素

Yang<sup>(21)</sup>は、EGCgやエピガロカテキンによって説導される形質転換ヒト気管上皮細胞のアポトーシスの説導がカタラーゼを加えることにより阻害されることを示した。従つて、このアポトーシス説導によつてG0/G1期停止を引き起こし、細胞を最終的にアポトーシスに導くと報告している。

### (b) 細胞周期

Ahmad<sup>(22)</sup>は、ヒト類表皮がんA431細胞においてはEGCgはG1期サイクリンキナゼインビターナンパク質を説導することによつてG0/G1期停止を引き起こし、細胞を最終的にアポトーシスに導くと報告している。

一方、Fujiki<sup>(23)</sup>は、EGCgはG2/M期停止を引き起こすことにより、ヒト肺がん細胞PC9の増殖を阻害するとしている。また、Smith<sup>(24)</sup>は、エピガロカテキンはJurkat、HL60、K562などの白血病細胞のDNA複製を阻害することによつてS期停止に導き、アポトーシスに導くと報告している。

Jung<sup>(33)</sup>は、ヒト腸がん細胞HT29をマウスに皮下移植した場合、一匹あたり一日1.5mgのEGCgの腹腔内投与によつて、コントロールと比べがん増殖が58%、微小血管密度が30%抑制され、がん細胞のアポトーシスは1.9倍、内皮細胞のアポトーシスは3倍に増加した。また、Gupta<sup>(34)</sup>は、遺伝子操作により作製した前立腺がん易発症モデルであるTRAM-Pマウスを用いて、緑茶のポリフェノール画分GTPが、ヒト換算で一日六杯分の量の経口投与により前立腺がんの発がんやがん増殖を強く抑制すること、転移をほぼ完全に抑制すること、アポトーシスを強く説導することなどを示した。

以上のように、発がんやがんの進展に関係するいたるところで抑制的に働く緑茶の妙が明らかになつた。動物実験では緑茶やその成

分のがん抑制作用は確立されたといつてよく、がん抑制効果が明らかにされているがんの種類は、食道、胃、腸、乳腺、肺、前立腺、脾、肝、皮膚、膀胱のがんや白血病など多岐にわたる。しかし、ヒトの場合にもあてはまるのかどうかは疫学調査研究の結果に委ねざるを得ない。Oguri<sup>(35)</sup>は、一九六九～一九八三年の五年間の検討結果から静岡県の緑茶産地で胃がんの標準化死亡比が男で全国値の約1/5、女で1/3以下であることを示した。この他多くの研究で緑茶やその成分ががん抑制に有効であることが示されている。

しかし一方、効果がないとする最近の報告<sup>(36)</sup>もある。聞きとり方式の調査では飲用した緑茶の種類、量、濃度などの因子の取り扱いが困難であるため、結果の解釈が難しい。現在アメリカで行われているヒトを対象とした大規模な介入試験の結果が、緑茶のがん予防作用をある程度明らかにするものと期待される。

### 三 エピガロカテキンガレート(EGCg)の生体内動態

#### はじめに

近年、天然抗酸化物質による生体機能性の研究が盛んである。なかでも、お茶の渋み成分であるカテキンというポリフェノールの生理活性作用については、世界でもっとも緑茶の消費量が多い我が国において、大学や各研究機関で盛んに行われ、実験動物や疫学調査によりその機能性が明らかにされつつある。そして、ガンをはじめ高血圧、糖尿病、コレステロール値の上昇抑制などの成人病予防効果が期待されるようになってきた。

弊社研究所においても茶カテキン類の様々な生理活性について紹介してきたが、これら生理活性機能は、我々がカテキン類を食品成分として摂取してはじめて現れるものである。したがって経口摂取されたカテキン類が、どの程度消化管から吸収され、どのような代謝を

受けて、体内の各臓器に分布し、最終的にどのように体外へ排泄されるかという問題は、その生体機能メカニズムを知るために不可欠なものとなっている。特に茶カテキン類のなかでも(+)エピガロカテキンガレート(EGCg)は、最も多く緑茶に含まれ、他のカテキン類よりも強い生理活性を示すために、その生体内動態の解明が注目されている。

こうした観点から我々もこれまでにEGCgの代謝について研究し、ラットにおいてEGCgが経口摂取された後、少なくともその一部が門脈血中に現れることや<sup>(1)</sup>、胆汁中にEGCgおよびメチル化EGCgの抱合体が、おもに排泄されることを報告してきた<sup>(2)</sup>。またラットに経口投与されたEGCgの一部は、循環血中へ微量入り、その血漿中EGCg濃度は、投与一～二時間後に数百ng/mlとなるが、その後は速やかに消失することが示されている<sup>(3)</sup>

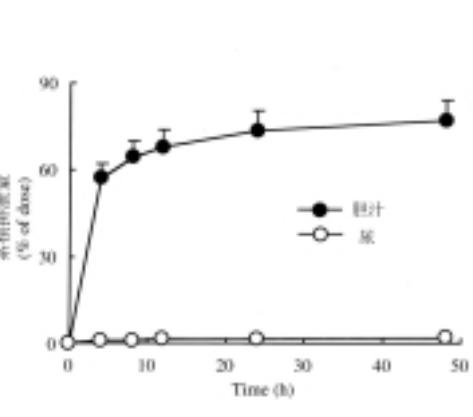


図2.[4-3H]EGCg静脈投与後の胆汁及び尿中放射活性

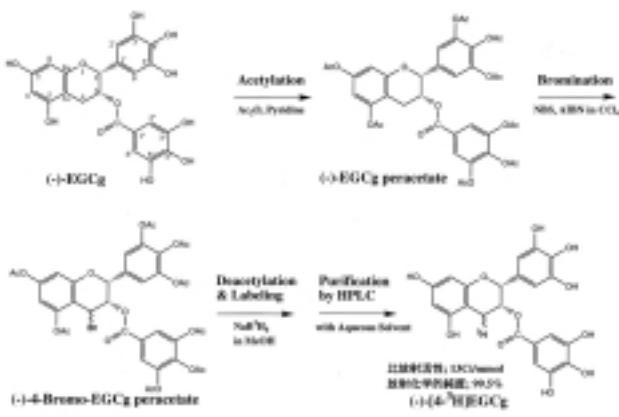


図1.[4-3H]EGCgの合成経路

原征彦  
郡俊之

東京フードテクノ(株)  
食品総合研究所

#### 引用文献

- (1) Okuda, T. et al.: Chem. Pharm. Bull., 32, 3755 (1884)
- (2) Hour, T.-J. et al.: Food Contam. Toxicol., 37, 569 (1999)
- (3) Khan, W. A. et al.: Cancer Lett., 42, 7 (1988)
- (4) Wang, Z. Y. et al.: Carcinogenesis, 10, 411 (1989)
- (5) 中村好志、ほか:環境変異研究、17, 107 (1995)
- (6) Barthelman, M. et al.: Carcinogenesis, 19, 2201 (1998)
- (7) Sai, K. et al.: Carcinogenesis, 21, 1671 (2000)
- (8) Taniguchi, S. et al.: Cancer Lett., 65, 51 (1992)
- (9) Sazuka, M. et al.: Cancer Lett., 98, 27 (1995)
- (10) Isemura, M. et al.: Cell Biol. Int., 17, 559 (1993)
- (11) Sazuka, M. et al.: Biosci. Biotechnol. Biochem., 61, 1504 (1997)
- (12) Garbisa, S. et al.: Nature Med., 5, 1216 (1999)
- (13) Cao, Y. et al.: Nature, 398, 381 (1999)
- (14) Hibasami, H. et al.: Anticancer Res., 16, 1943 (1996)
- (15) Saeki, K. et al.: Biosci. Biotechnol. Biochem., 63, 585 (1999)
- (16) Hibasami, H. et al.: Oncol. Rep., 5, 527 (1998)
- (17) Chen, Z. P. et al.: Cancer Lett., 129, 173 (1998)
- (18) Suganuma, M. et al.: Cancer Res., 59, 44 (1999)
- (19) Hayakawa, S. et al.: Biosci. Biotechnol. Biochem., 65, 459 (2001)
- (20) Nakamura, Y. et al.: In *Food Factors for Cancer Prevention*, eds. Ohigashi, H. et al. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 138-141 (1997)
- (21) Yang, G. Y. et al.: Carcinogenesis, 21, 2035 (2000)
- (22) Ahmad, N. et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 275, 328 (2000)
- (23) Fujiki, H. et al.: Mutat. Res., 402, 307 (1998)
- (24) Smith, D. M. et al.: Int. J. Mol. Med., 7, 645 (2001)
- (25) Saikawa, Y. et al.: Jpn. J. Cancer Res., 92, 1102 (2001)
- (26) Nam, S. et al.: J. Biol. Chem., 276, 13322 (2001)
- (27) Okabe, S. et al.: Jpn. J. Cancer Res., 90, 733 (1999)
- (28) Ahmad, N. et al.: Arch. Biochem. Biophys., 376, 338 (2000)
- (29) Kennedy, D. O. et al.: Cancer Lett., 166, 9 (2001)
- (30) Hayakawa, S. et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 285, 1102 (2001)
- (31) Ohishi, T. et al.: Cancer Lett., in press, 177, 49 (2002)
- (32) Caderni, G. et al.: Carcinogenesis, 21, 1965 (2000)
- (33) Jung, Y. D. et al.: Br. J. Cancer, 84, 844 (2001)
- (34) Gupta, S. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 98, 10350 (2001).
- (35) Oguri, I. et al.: Jpn. J. Nutr., 47, 93 (1989)
- (36) Tsubono, Y. et al.: New Eng. J. Med., 344, 632 (2001)

(4)。このように摂取されたEGCgの一部は消化管から吸収されて胆汁や循環血中に検出されているが、経口投与された大部分の未吸収のEGCgの動態については不明であった。そこで、最近我々は放射性アイソotopeで標識したEGCgの合成に成功し<sup>(5)</sup>、これを用いて生体内動態の全容解明に努めたので報告する<sup>(6)</sup>。

### [4-3H] EGCgの合成

図1に4位トリチウム標識EGCg ([4-3H] EGCg)の合成経路を示した。トリチウム標識部位は生体内で安定と考えられるEGCgの4位を選択した。その概略は、まずEGCgの全ての水酸基を保護するためにアセチル化し、次にN-ブロモサクシニイミドにより4位の水素を臭素に置換した。最後にトリチウム化ほう素ナトリウムを用いてこの4位の臭素をトリチウムに置換すると同時に、脱保護を完了させた。

この結果、比放射活性 $^{13}\text{Ci}/\text{mM}$ 、放射化学的純度99.5%の[4-3H] EGCgを得ることができた。

### [4-3H] EGCgの排泄経路

まず循環血液中に取り込まれたEGCgの排泄経路を調べるために、静脈投与実験を行った。ラットに胆管カニュレーション手術を施し、

一ヶ月となり七二時間までの累積値は、投与量の35%であった。

つぎに血液、血漿および血球中の放射線濃度変化は、図3に示した。血中濃度は、投与四時間までは低濃度であったが、八時間以降から高くなり始め、二十四時間後でピークとなり、その後は減少した。また、血漿および血球中濃度も同様の経時変化を示した。

図4に放射線の組織分布の経時変化を示したが、図3に示した血中濃度変化とパターンが類似しており、二十四時間付近でピークが見られた。また分布した放射線量をみると、肝臓では投与量の0.7%（二十四時間後）検出できたが、その他の組織では0.2%以下と低くいレベルであり、組織への特異的な蓄積は見られなかつた。

以上のように、生体内において[4-3H] EGCg経口投与後の放射線量のピークは二十四時間付近にあることが明らかになった。しかしこれまでの報告で、EGCgの血中濃度ピークは、投与後二～三時間に見られ、その後は速やかに消失することが示されている。そこで我々は、八時間以降の血中放射線濃度の増加は、EGCgではなく、腸内細菌によるEGCgの分解物が腸管から吸収されたものではないかと予想した。次にこの仮説を確認するために腸内細菌抑制ラットでEGCgの動態実験を行つた。

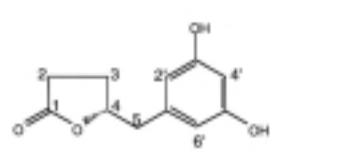
### 経口投与した[4-3H] EGCgの動態

#### 腸内細菌抑制ラットにおける[4-3H] EGCgの動態

まず腸内細菌が抑制された状態のラットを作成するために、抗生素質(Bacitracin, Neomycin sulfate, Streptomycin sulfate)をラットにあらかじめ投与して、腸内細菌抑制ラットを作成した。そして上記と同様に[4-3H] EGCgを腸内細菌抑制ラットに経口投与して血液および尿中の放射線量を測定し、コントロールラット(抗生素質非投与)と比較した。

その結果、抗生素質投与による腸内細菌抑制ラットの血中放射線濃度および尿中放射線排泄量は、コントロールラットと比較して非常に低値になった(図5)。この結果は、コントロールラットの血液や尿中で見られた大部分の放射活性が、[4-3H] EGCgの腸内細菌分解物に由来していることを強く示唆している。このことをより明確にするため、次に我々はこの尿中代謝物を分析した。

M-1



(-)-5-(3', 5'-dihydroxyphenyl)-(4R)-γ-valerolactone

M-2



(-)-5-(S-hydroxyphenyl)-(4R)-γ-valerolactone 3-O-β-glucuronide

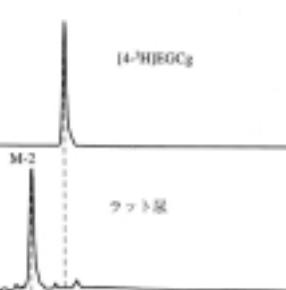


図7.尿中代謝物(M-2)及びその脱抱合体(M-1)

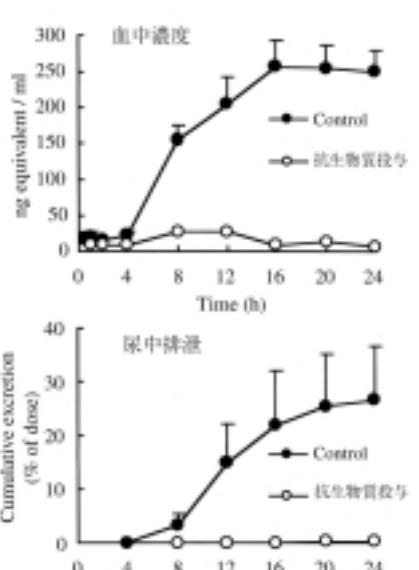


図6.ラット尿中代謝物のHPLC分析チャート

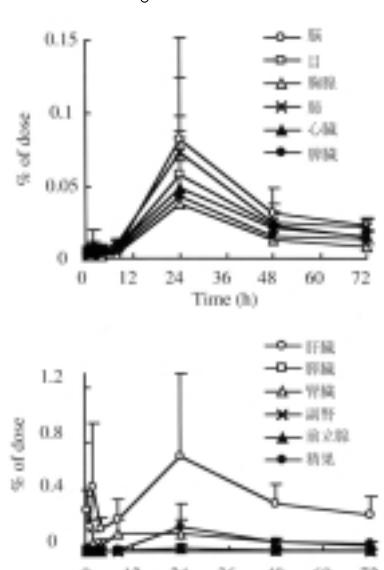


図5.抗生素質投与または非投与ラットにおける血液及び尿中放射活性量

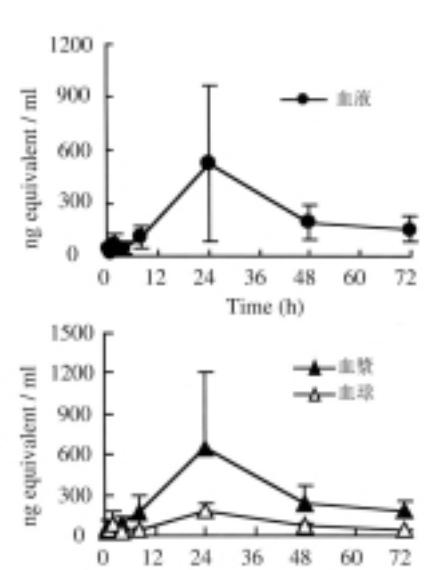


図4.[4-3H] EGCg経口投与後の組織中放射活性量

Time (h)	尿中排泄量 (% of dose)		糞中排泄量 (% of dose)	
	各時間割合	累積	各時間割合	累積
0-4	0.4±0.9	0.4±0.9	0	0
4-8	2.6±2.6	3.0±3.0	0	0
8-12	12.7±7.7	15.7±10.1	3.4±4.8	3.4±4.8
12-24	11.2±4.7	26.8±10.6	12.1±7.8	15.5±7.4
24-36	2.2±0.7	29.0±11.2	7.6±3.8	23.1±5.6
36-48	1.2±0.4	30.3±10.3	8.1±4.2	31.2±5.2
48-72	1.8±0.7	32.1±11.1	4.0±2.5	35.2±4.2

Values are the mean ± S.D. of four rats.

### 経口投与した[4-3H] EGCgの動態

次に経口的に摂取したEGCgの生体内動態を調べるため、生理食塩水に溶解した $50\mu\text{Ci}$ のEGCgをラットに経口投与した。その後、経時に血液、主要組織、尿、糞を採取してそれぞれの放射活性を測定した。

表1は、尿および糞中に排泄された放射線量を測定した結果である。尿中放射線排泄量の経時変化をみると、投与後八～二十四時間で多く、その後は減少していく。そして七二時間までの累積値は、投与量の30%以上に達した。よってEGCg由来の物質が少なくとも30%程度吸収されていることが判明した。一方糞への放射線排泄量は、二十四時間付近でピーキーとなる。

これに生理食塩水に溶解した $50\mu\text{Ci}$ の放射活性を持つ $1\text{mg}$ のEGCgを尾静脈に注入した。その後、経時に胆汁および尿を採取して、その両者の放射活性を測定することで排泄経路を確かめた。

この結果は図2に示した。投与四八時間までに胆汁中へ排泄された放射線量は、投与量の77%であった。一方、投与後四八時間までに尿中へ排泄された放射線は、投与量の2%であった。このことから循環血液中に取り込まれたEGCgの主な排泄経路は胆汁であり、尿中へ排泄された放射線は、投与量の2%であつた。このことが分かつた。

H

PLCで尿を分析したものである。放射活性を持つ主な尿中代謝物は約7分に検出され<sup>(M-2)</sup>、EGCgとは異なるものであった。次にこの代謝物を $\beta$ -グルクロニダーゼ/サルファターゼミックス酵素で処理したところ、ピーク<sup>(M-2)</sup>

は消失し、新たにピーク<sub>(M1)</sub>が出現した。このことからM-2はグルクロン酸あるいは硫酸抱合体であることが分かった。ついに尿をβ-グルクロニダーゼ/サルファターゼミックス酵素(つまりサルファターゼ活性のみ有する)で処理したところ、7分のピーク<sub>(M2)</sub>は変化しなかつた。

以上より尿中代謝物<sub>(M2)</sub>は、β-グルクロン酸抱合体であることが強く示唆された。

さらに我々は、尿中代謝物の構造を同定するためにcold EGCg経口投与後のラット尿からM-1、M-2を単離してMSおよびNMRによる解析を行った。その結果、M-1およびM-2はそれぞれ3',5'-dihydroxyphenyl-γ-valerolactone, 5-hydroxyphenyl-γ-valerolactone 3'-O-β-glucuronide(M-1のβ-グルクロン酸抱合体)であると同定された(図7)。

さらに我々は、上記の尿と同様にしてラットの糞中代謝物をHPLCで分析した。

その結果、図8に示したように、放射活性を有する3つの主なピークが検出できた。P-1、P-3はそれぞれEGCおよびEGCgの保持時間と一致し、P-2は尿中代謝物の脱抱合体M-3(3',5'-dihydroxyphenyl-γ-valerolactone)の保持時間と一致した。またP-1、P-2、P-3の放射活性は、糞中に排泄された全放射活性に対してもそれが40.8%、16.8%、5.4%であった。尿中では3',5'-dihydroxyphenyl-γ-valerolactoneはグルクロン酸抱合体<sub>(M2)</sub>として検出されるが、糞中では遊離型<sub>(M1)</sub>として存在していた。

受け、胆汁排泄されることが挙げられる。一方、多くの未吸収のEGCgは、盲腸や大腸に到達し、腸内細菌により中間産物EGCを経てM-1にまで分解される。腸管内でEGCgから生成したM-1(3',5'-dihydroxyphenyl-γ-valerolactone)は、体内に吸収されるが、腸粘膜上皮あるいは肝臓でグルクロン酸抱合化されM-2となつた後に、循環血液中に入り、体内の各臓器に分布し、最終的に尿中へ排泄される。またすべての排泄量をみると、投与した放射線量の6%程度が胆汁へ排泄され、尿へは30~40%排泄されていると見積られた。以上のことから、EGCgはそのままの形ではわずかしか吸収されず、その大半は腸内細菌分解物として吸収されることが示され、EGCgとその分解物を合わせた吸収量は、少なくとも30~40%であると推定できた。

本研究結果及びこれまでのEGCgの代謝研究に関する報告に基づいて我々は、ラットにおいて経口投与したEGCgの推定されうる代謝経路の骨格をまとめた。しかしEGCgの詳細な生体内動態を完全なものとするためには、さらに多くの腸内細菌分解物を含む代謝物を同定すると共に、それらの動態を検討しなければならない。またEGCgの生理活性発現メカニズムを解明するためには、M-1およびM-2をはじめとする生体内で見い出されたEGCg代謝物の生理活性を明らかにすることが必要である。

以上の結果および過去の報告<sup>(7)</sup>から、腸内細菌によるEGCgの推定分解経路を図9に示した。まずEGCgのガレート基が切られてEGCg Gallic Acidになる。ついにEGCのA環が還元的に開環する。さらに脱水酸化反応を受け、そしてA環の分解とラクトン環の形成(あるいはその逆の順番)の結果、3',5'-dihydroxyphenyl-γ-valerolactone<sub>(M1)</sub>が生成したと考えられた。

### まとめ

最後にこれまでの研究報告と、今回我々が示した結果から、摂取したEGCgの推定される代謝経路の概略を図10に示した。

ラットに経口投与したEGCgは、投与初期に消化管から数パーセント吸収され、門脈血に入り、肝臓に到達する。この間に、吸収されたEGCgの大半が小腸粘膜上皮あるいは肝臓で抱合され、さらにその一部は、肝臓でメチル化を受ける。これらEGCg代謝物の多くは、胆汁に排泄されるが、一部は循環血液中へ到達する(投与後1~2時間がピーク)。今回我々の結果からEGCgの生物学的利用率(Bioavailability)は、0.3%以下と見積られた。このようにEGCg骨格を保った状態で、循環血液中に到達できる量は、非常に少ない。この理由としてはKidaら<sup>(2)</sup>が報告している様に、吸収されたEGCgの相当量が初回通過効果(肝臓で代謝、胆汁排泄される)を

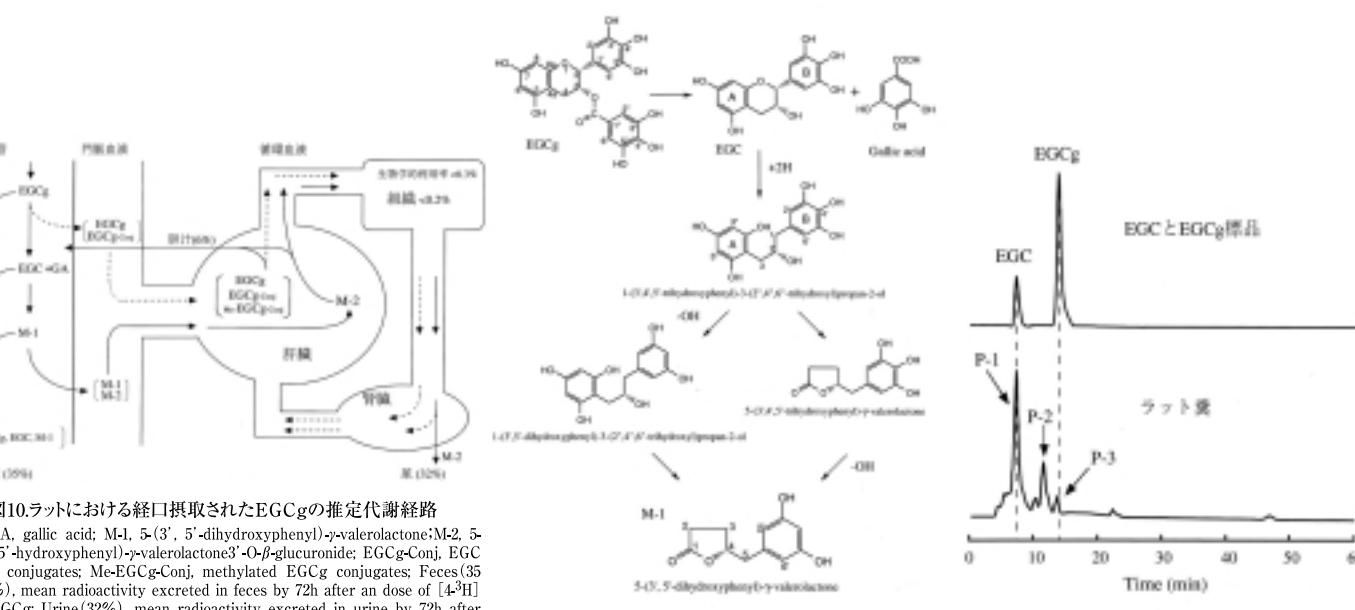


図10.ラットにおける経口摂取されたEGCgの推定代謝経路  
GA: gallic acid; M-1: 5-(3', 5'-dihydroxyphenyl)-γ-valerolactone; M-2: 5-(5'-hydroxyphenyl)-γ-valerolactone-3'-O-β-glucuronide; EGCg-Conj: EGCg conjugates; Me-EGCg-Conj: methylated EGCg conjugates; Feces(35%), mean radioactivity excreted in feces by 72h after an dose of [4-3H]EGCg; Urine(32%), mean radioactivity excreted in urine by 72h after an dose of [4-3H]EGCg; Bile(6%), mean radioactivity excreted in bile by 48h after an dose of [4-3H]EGCg.

図9ラット糞サンプルによるEGCgの推定分解経路

### 参考文献

- Okushio, K.; Matsumoto, N.; Kohri, T.; Suzuki, M.; Nanjo, F.; Hara, Y. Absorption of tea catechins into rat portal vein. Biol. Pharm. Bull. 1996, 19, 326-329.
- Kida, K.; Suzuki, M.; Matsumoto, N.; Nanjo, F.; Hara, Y. Identification of biliary metabolites of (-)-epigallocatechin gallate in rats. J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 4151-4155.
- Unno, T.; Takeo, T. Absorption of (-)-epigallocatechin gallate into the circulation system of rats. Biosci. Biotech. Biochem. 1995, 59, 1558-1559.
- Nakagawa, K.; Miyazawa, T. Chemiluminescence-high-performance liquid chromatographic determination of tea catechin, (-)-epigallocatechin 3-gallate, at picomole levels in rat and human plasma. Anal. Biochem. 1997, 248, 41-49.
- Kohri, T.; Nanjo, F.; Suzuki, M.; Seto, R.; Matsumoto, N.; Yamakawa, M.; Hojo, H.; Hara, Y.; Desai, D.; Amin, S.; Conaway, C. C.; Chung, F.-L. Synthesis of (-)-[4-3H]Epigallocatechin gallate and its metabolic fate in rats after intravenous administration. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 1042-1048.
- Kohri, T.; Matsumoto, N.; Yamakawa, M.; Suzuki, M.; Nanjo, F.; Hara, Y.; Naoto Oku. Metabolic fate of (-)-[4-3H]Epigallocatechin gallate in rats after oral administration. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 4102-4112.
- Meselhy, M. R.; Nakamura, N.; Hattori, M. Biotransformation of (-)-epicatechin 3-O-gallate by human intestinal bacteria. Chem. Pharm. Bull. 1997, 45, 888-893.

# 驚くべき効果 緑茶テアニンの

太陽化学株式会社  
N.F.事業部  
レカ・ラジュ・ジュネジャ  
大久保 勉

## はじめに

緑茶は、日本人の長い生活習慣の中에서도しっかりと根付き、食事をするのと同じような感覚で親しまれるようになつて。このような機能を持つ「万病の薬」ともいえる優れた飲みものであり、最近の研究から機能と成分との関係も明らかにされてきている。緑茶の主な成分は、ビタミンCやビタミンEなどのビタミン類、カテキン類などのポリフェノール、そしてテアニン、アルギニンやギャバ(γ-アミノ酪酸)などのアミノ酸、カフェイン、その他各種ミネラル、香気成分など多く含まれている。中でも緑茶に含まれるアミノ酸には特徴があり、特にテアニン(図1参照)は緑茶の旨みに関与するユニークなアミノ酸であり、通常乾燥した茶葉に1~2%含まれ、特に上級なお茶に多く含まれている。

**緑茶テアニンの生理効果**

古くから“お茶を飲むとほつとする”と言わされているように、お茶を飲むことは気持ちを落ち着かせることが知られている。我々はテアニンとヒトのリラックス感との関係について調べた。ヒトがリラックスしている時の状態を客観的に調べる方法として、脳波、血圧、心拍数、

血流、皮膚電位などがあり、我々は脳波を指標としてテアニンのリラックス効果を調べた。一般に脳表面からは脳波と呼ばれる微弱な電流が発生している。それらは周波数の差異からδ、θ、α及びβの四種類に分類され、δ波は熟睡時、θ波はまどろみ状態、α波は安静時のリラックス状態、β波は興奮状態にそれぞれ出現することと言われている。そこで我々は、ヒト(八歳から二十二歳までの女性)に脳波測定のための電極を付けた後、水またはテアニン水溶液を飲んでもらい、一時間にわたって脳波を記録した。その結果、水を飲んだときには目立った脳波の変化は認められなかつたが、テアニン水(水100mlにテアニン100mg溶解)を飲んだ場合、飲んでから四〇分頃から顕著にα波の発生が認められた(図2参照)。この傾向は不安傾向の高いヒトほど顕著であった。α波はリラックスの指標としてよく知られているが、これらの結果から、テアニンが脳内で何らかの作用をすることによりα波の発生を促しひどにリラックス状態をもたらしたのではないかと推察された。

## 緑茶テアニンの月経前症候群改善

月経前症候群(以下、PMS)の症状は、身体的症状、精神的症状及び社会的症状と多種多様である。とくに二〇歳代後半～四〇歳代前半を中心とし月経前の三から一〇日前始まる「イライラ」、「怒りっぽい」等の精神症状や乳房緊満感、腰痛及び腹部緊慢感等身

体的症狀を主とする症候群で、月経開始とともに減退ないし消失する(図3参照)。実際には性成熟期女性のうち月経前に気分の変化があるものは六〇%以上、身体的不快症状を感じるものは八〇%以上に上るという報告がある。PMSについて海外では、専門書やその症狀を緩和するようなサプリメントなどが多数販売されており、最近になって日本でも健康雑誌や女性誌で頻繁に取り上げられるようになり、認知されるようになつてきた。またその対策についても重要視されてきている。

我々は、テアニンのリラックス効果や気持ちを落ち着かせる効果によりPMS症状を改善できるのではないかと予測し、ヒトでの試験を実施した。

試験期間は月経周期で三周期とし、第二周期は無摂取のコントロール区、基礎体温の確認と質問紙Menstrual Distress Questionnaire(47の愁訴の項目からなる質問紙、以下MDQ)によるPMS症状の有無の確認を行つた。第二周期と三周期目は、被験者二十四名でのブラインドクロスオーバー法によりテアニン入りのタブレット(一日当たりテアニン量200mg)かプラセボ(偽薬)を用い試験を実施した。試験は被験者に基礎体温より排卵日を判断させ、排卵日から月経開始日までの約二週間にわたりサンプルを摂取させる方法を用いた。

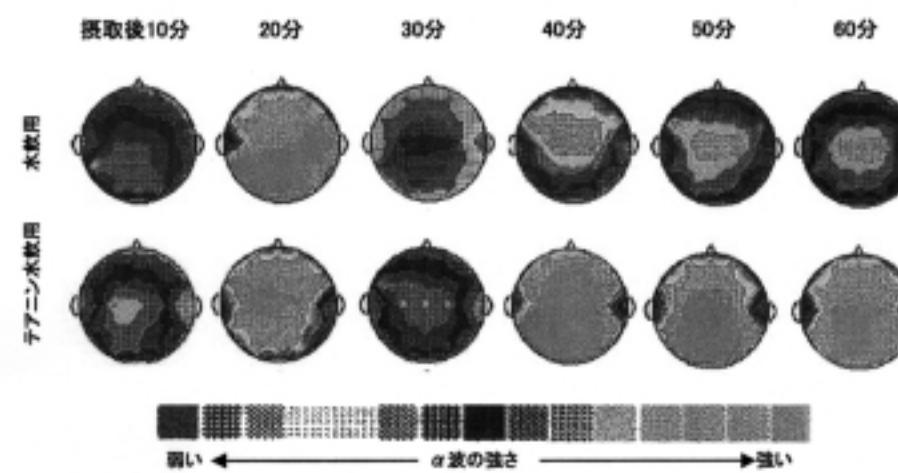


図2.水またはテアニン水飲用後の脳波トポグラフィー

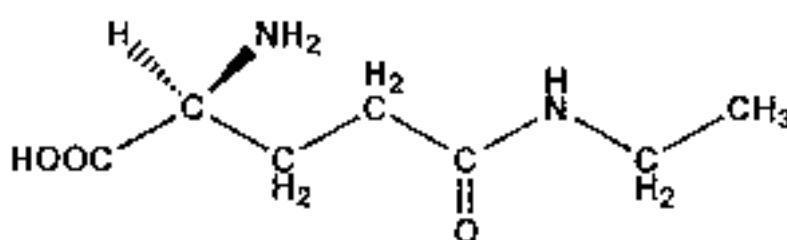


図1.L-テアニン(γ-エチルアミノ-L-グルタミン酸)の構造式