

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：37119

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23500990

研究課題名(和文) 心血管イベント抑制のための栄養学的戦略—若年成人からの動脈硬化予防—

研究課題名(英文) The prevention of cardiovascular events by nutritional intervention.

## 研究代表者

田川 辰也 (Tagawa, Tatsuya)

西南女学院大学・保健福祉学部・教授

研究者番号：50347142

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：心血管イベント抑制のための栄養学的戦略として、若年成人を対象に、抗酸化物質である茶カテキンの血管内皮機能と脂質代謝の改善効果について検討した。茶カテキン(540mg/日)を4週間投与する前後で、安静時及び5分間の疎血後に生じる反応性充血時の前腕血流量と、体重、体脂肪率、血中脂質等を測定した。茶カテキン投与により、反応性充血時の前腕血流量が増加した。体重、体脂肪率、血圧、血中脂質は、茶カテキン投与前後で有意な差はなかった。以上の結果より、茶カテキンはその抗酸化作用により、血管内皮機能を改善すると考えられるが、若年成人女性に対する脂質代謝に対する影響は少ないと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Green tea catechin has an antioxidative effect and may improve endothelial function. The aim of the present study was to examine whether long-term treatment with green tea catechin improves endothelial function in human forearms. Forearm blood flow (FBF) was measured in nine healthy women, before and four weeks after oral treatment with green tea catechin (540 mg/day). The long-term treatment with green tea catechin did not alter FBF at rest or peak FBF during RH. However, green tea catechin treatment significantly improved total reactive hyperemic flow (flow debt repayment) ( $P < 0.01$ ). These results indicate that long-term treatment with green tea catechin improves endothelium-dependent forearm vasodilations in healthy human.

研究分野：栄養学的介入による動脈硬化予防

キーワード：血管内皮機能 抗酸化物質 一酸化窒素 動脈硬化

### 1. 研究開始当初の背景

現在、日本人の死因の2位は心臓病、4位は脳血管疾患であり、その合計は約30%である。言い換えれば、日本人の30%は血管病で亡くなっている。したがって、心血管病や動脈硬化症の予防は日本社会の急務といえる。最近では肥満やメタボリックシンドロームの動脈硬化が話題となり、さらには若年や子どものメタボリックシンドロームが問題になっている。動脈硬化は、その前段階として血管内皮機能障害を認める。したがって、血管内皮機能障害の段階で何らかの介入を行えば、血管内皮機能が改善し動脈硬化の進行を抑えられ、将来発症すると考えられる心筋梗塞、脳卒中の発症抑制につながると考えられる。

現代の食生活は欧米化し、魚の摂取量が少なくなる一方で、脂肪の摂取量が多くなっている。4割以上の人で脂肪エネルギー比率が25%を超え、30%を超えている人が2割以上もいる。この食生活状況が続けば、若年成人ですでに血管内皮機能障害が生じている可能性があり、将来の心筋梗塞や脳卒中などの動脈硬化性疾患の発症は増加し、発症年齢も低年齢化すると考えられる。現在までに、レニン・アンジオテンシン系阻害薬等の薬剤の抗動脈硬化作用については研究されている。しかし、はっきりとした病気（糖尿病、高脂血症、高血圧症）を満たしていない若年成人の場合では、保険診療で投与できる薬剤はない。このような症例に対しては、薬剤ではない介入により、血管内皮機能を改善させ動脈硬化を予防する戦略、すなわち血管のアンチエイジング戦略が必要である。その場合に、介入できる候補として挙げられるのが、栄養（食事）と運動である。しかしながら、食品ないし食行動、または食事と運動の組合せによる動脈硬化予防についての研究において、血管内皮機能の改善を検討した研究は少ない。

### 2. 研究の目的

肥満は生活習慣病の罹患率を増加させる一因と言われている。特に日本人は欧米人に比べて軽度の肥満でも生活習慣病を引き起こしやすい体質で、現在生活習慣病が多い状況にあることが報告されている。平成18年の国民健康栄養調査によると、30～60歳代の男性および60歳代以降の3人に1人が肥満であるという結果が出ている。肥満の増加は脂質摂取の増加など食生活の変化が主な原因と考えられ、肥満による糖尿病や脂質異常症などの生活習慣病は血管内皮機能障害および動脈硬化の危険因子であり、適度な運動とともに食生活の改善が動脈硬化の予防に重要である。

近年、高濃度茶カテキンの体脂肪を低下させる効果が見出され、茶カテキンを豊富に含むヘルシア®緑茶は体脂肪が気になる人に適した飲料として厚生労働省から特定保健用食品の表示許可を取得している。茶カテ

キンの投与により、血管内皮機能と脂質代謝が改善するのであれば、茶カテキンの摂取は将来起こりうる心筋梗塞および脳卒中の発生を予防すると考えられる。さらに、若年の段階から茶カテキンを多く服用すれば、早い段階から動脈硬化予防が期待できる可能性がある。そこで本研究では、若年健康成人を対象に、茶カテキンによる血管拡張機能と脂質代謝に対する影響を検討した。

### 3. 研究の方法

#### 対象

若年健康女性9名(平均年齢21.3±0.7歳)

#### 前腕血流量測定

静脈閉鎖プレチスモグラフ法を用いて安静時及び5分間の疎血後に生じる反応性充血時の前腕血流量を測定した。左手首に小児用カフを巻き、200mmHgで加圧して手首から先の血流を遮断し、測定中加圧を維持した。左上腕のカフを15秒ごとに40mmHgで加圧、減圧を3分間繰り返して静脈還流を遮断し、前腕径の変化をストレングージで測定することにより、前腕の体積の増加分を解析した。前腕の体積の増加分を時間で割ったものが前腕血流量として求められる。これを安静時の血流量とした。次に、上腕のカフを5分間200mmHgで加圧後にカフを解放すると生じる反応性充血時の前腕血流量を安静時と同様に測定した。

#### プロトコール

ヘルシア®緑茶(350ml)の標準成分を表1に示す。ヘルシア®緑茶は540mgの茶カテキンを含有する(表1)。

表1. ヘルシア®緑茶(350ml)中の標準成分

成分	
熱量	14 kcal
たんぱく質	0 g
脂質	0 g
炭水化物	3.9 g
ナトリウム	35 mg
茶カテキン	540 mg

ヘルシア®緑茶投与前に安静時、反応性充血時の前腕血流量を測定した。ヘルシア®緑茶を1本/日、4週間投与し、最終投与日の翌日に再び安静時、反応性充血時の前腕血流量を測定した。また、Flow Dept Repayment (FDR)を図1の計算式により算出した。

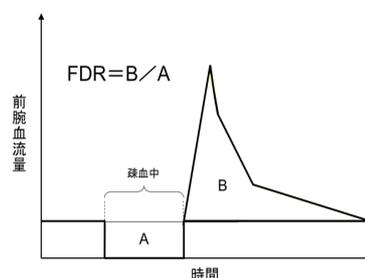


図1. Flow Dept Repayment (FDR)の測定の原理

ヘルシア®緑茶の投与終了後、4週間のウォッシュアウトの期間を経た後、再び安静時、反応性充血時の前腕血流量を測定し、前腕血流量が、ヘルシア®緑茶の投与前のレベルに回復しているかどうか検討した。

このプロトコールを実施中、ヘルシア®緑茶以外の緑茶、紅茶、コーヒーなどカテキンやカフェインを含む嗜好性飲料水の服用は制限した。

#### その他の検査項目

1本/日のヘルシア®緑茶を4週間投与前後で、体重、体脂肪率、ウエスト径、血圧、脈拍の測定と採血を行った。体脂肪率はタニタの体組成計(BC-118)を用いて、インピーダンス法で測定した。採血では、総コレステロール値、中性脂肪値、HDL-コレステロール値、遊離脂肪酸値、高感受性C反応性蛋白(CRP)値、NOx濃度を測定した。LDL-コレステロール値は以下の計算式で求めた。

Friedewaldの計算式

LDL-コレステロール = 総コレステロール値 - HDL-コレステロール値 - 中性脂肪値 ÷ 5

#### 統計学的処理

データは平均値 ± 標準偏差で表し、群間の差の検定は、SPSS ver.16を用いて、対応のあるt検定およびANOVAにて行った。P値が5%未満を有意と判定した。

#### 倫理的配慮

この臨床研究は西南女学院大学倫理審査委員会の承認を得て行った。対象者全員に対して、検査前に研究について文書にて十分に説明し、書面にて同意を得た。

#### 4. 研究成果

##### ヘルシア®緑茶投与前後における体重・体脂肪率、ウエスト径・血圧・脈拍の変化

体重、体脂肪率、ウエスト径、血圧、脈拍はヘルシア®緑茶投与前後で有意な変化はなかった(表2)。

##### ヘルシア®緑茶投与前後における血中脂質・高感受性CRP・NOxの変化

総コレステロール値、中性脂肪値、HDL-コレステロール値、LDL-コレステロール値、高感受性CRP値はヘルシア®緑茶投与前後で有意な差はなかった(表2)。血中NOx濃度は、有意ではないが増加傾向にあった(P=0.09; 表2)

表2. ヘルシア®緑茶投与前後の各項目の変化(n=9)

項目	投与前	投与後	p value	
体重 (kg)	51.0±4.8	50.8±4.8	n.s.	
体脂肪率 (%)	29.8±1.8	28.8±3.5	n.s.	
ウエスト径 (cm)	68.8±4.1	68.8±4.8	n.s.	
血圧	収縮期 (mmHg)	98.1±8.6	102.2±10.0	n.s.
	拡張期 (mmHg)	59.1±5.8	63.0±6.9	n.s.
	脈拍 (beats/min)	68.4±8.5	66.1±8.9	n.s.
総コレステロール (mg/dL)	168.1±24.5	173.1±33.4	n.s.	
中性脂肪 (mg/dL)	59.1±18.1	69.6±29.2	n.s.	
HDL-コレステロール (mg/dL)	62.0±6.4	61.2±8.7	n.s.	
LDL-コレステロール (mg/dL)	94.3±19.8	98.0±21.9	n.s.	
遊離脂肪酸 (mEq/L)	0.37±0.09	0.43±0.28	n.s.	
高感受性CRP (ng/mL)	272±336	186±299	n.s.	
血中NOx濃度 (μmol/L)	18.2±6.2	27.7±15.4	0.09	

n.s.: not significant

##### ヘルシア®緑茶投与前後における安静時および反応性充血時の前腕血流量の変化

ヘルシア®緑茶投与前後で、安静時および反応性充血時のピーク時の前腕血流量に変化はなかった(図2)。しかしながら、反応性充血時のピーク後の前腕血流量は、ヘルシア®緑茶投与後で有意に増加し(P<0.01; 図2)、FDRも有意に増加した(P<0.01; 図3)。

ヘルシア®緑茶投与終了4週間後では、FDRはヘルシア®緑茶投与前のレベルに戻っていた(図3)。

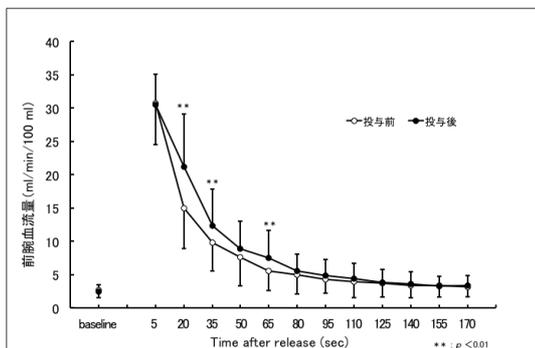


図2. ヘルシア®緑茶投与前後の反応性充血時の前腕血流量の変化

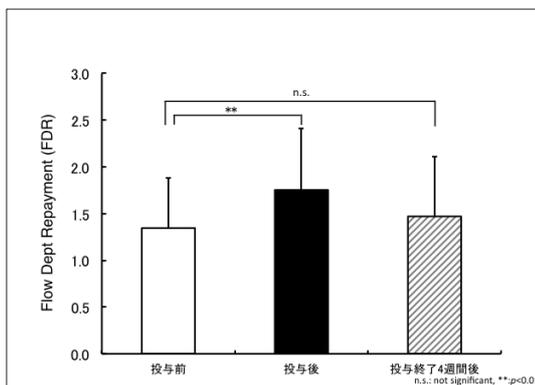


図3. ヘルシア®緑茶投与前後のFDRの変化

#### 考察

本研究の結果では、茶カテキン 540mgを含有するヘルシア®緑茶の4週間投与により、反応性充血時の前腕血流量が有意

に増加した。この結果から、茶カテキンの長期投与は血管内皮機能を改善させると考えられる。

茶カテキンは抗酸化作用を有することが知られている。酸化ストレスは、血管内皮細胞を障害し、動脈硬化を進行させる。本研究では、茶カテキンの投与により、反応性充血時の前腕血流量が有意に増加し、FDRが増加したことから、茶カテキンの長期投与により、酸化ストレスから血管内皮細胞が守られ、血管内皮機能が改善したと考えられる。

血管内皮細胞において、一酸化窒素(NO)はアルギニンを基質としてNO合成酵素(NOS)により産生され、血管平滑筋を弛緩し、血管を拡張させる。本研究での茶カテキンによる反応性充血時の前腕血流量の増加はピーク時の血流ではなく、ピーク後の血流であった。この時期は、ピークの血流増加によるシアーストレスが、血管内皮細胞のNO産生増加を招き、血流量を維持する期間である。この期間の血流量が増加したということから、茶カテキンによる反応性充血時の前腕血流量の増加は血管内皮細胞におけるNOの産生増加によるものであると考えられる。また、有意ではないものの、血中NOx濃度に増加の傾向がみられた。NOxはNOの代謝産物であり、血中NOx濃度が増加したことは、血管内皮細胞からのNOの産生の増加を反映し、血管内皮機能の改善を意味する。したがって、血中NOx濃度に増加傾向が認められたことも、茶カテキンによる血管内皮機能の改善の可能性を示唆すると考えられる。残念ながら、今回の研究では血中NOx濃度の増加は有意とはいえないことから、症例数を増やして、茶カテキンによる血管内皮からのNO産生増加を証明することは、今後の検討課題である。

また、茶カテキン投与によるNO産生増加の機序について、茶カテキン投与前後で、体重、体脂肪率、血圧、血中脂質に変化がなかったことから、降圧や脂肪毒性の減少により、血管内皮機能が改善したのではないと考えられる。一方、茶カテキンには抗酸化作用があり、茶カテキンの長期投与により、酸化ストレスの指標である血中のMDA+4-HNE(malondialdehyde and 4-hydroxy-nonenal)値が低下することが報告されている。したがって、茶カテキンの長期投与は、抗酸化作用により酸化ストレスを減少させることにより、血管内皮細胞のNOS活性を改善させ、NOの産生を増加させると推測される。しかしながら、本研究はin vivoのhuman studyであり、直接的に茶カテキンが抗酸化作用により血管内皮細胞のNOS活性を上昇させるかどうかの証明は

できない。この点についてはHUVEC(正常ヒト臍帯静脈内皮細胞)等を用いたin vitroの研究が必要と考えられる。

本研究では、茶カテキン投与前後において体重、体脂肪率や、総コレステロール値、HDL-コレステロール値、中性脂肪値、LDL-コレステロール値、遊離脂肪酸値などの脂質代謝や血中脂質に変化は認められなかった。茶カテキンを長期間肥満者に摂取させた場合、体重、体脂肪率、血中脂質などが有意に減少したという結果が報告されていることから、茶カテキンは、肥満者などにおいては脂質代謝の改善効果があると考えられる。しかし、本研究の対象者である若年健康成人女性は、もともと脂質代謝に異常や肥満がなかったため、茶カテキンは脂質改善に影響を及ぼさなかったと考えられる。

本研究で使用したヘルシア®緑茶は350mLあたり、80mgのカフェインを含有する。カフェインには血管拡張作用、血管内皮機能改善作用があることが報告されている。しかしながら、カフェインの作用は、急性作用で、持続時間が約120分である。本研究では、最後のヘルシア®緑茶服用後24時間以上経過した後に、安静時および反応性充血時の前腕血流量の測定を行っている。したがって、本研究で認められた反応性充血時の血流増加にカフェインは影響していないと考えられる。さらにカフェインの効果を除外するために、カフェインを含まない高濃度茶カテキン飲料を用いた研究の実施を検討している。

本研究の対象者は、健康に問題のない20歳代の若年成人女性の大学生であった。近年、女子大生の生活の乱れが指摘されており、茶カテキン投与前の時点で、反応性充血時の血流増加が正常より低下していた可能性がある。しかし、我々が以前実施した20歳代の健康男性を対象に反応性充血時の前腕血流量を調べた研究と本研究を比較したところ、反応性充血時の血流増加は2群間でほぼ同等で、ピーク時の血流は安静時の約10倍であった。一方、本研究と心不全患者を対象に反応性充血時の前腕血流量を調べた研究を比較すると、血管内皮機能が低下している心不全患者の反応性充血時の血流増加は、本研究の若年成人女性の反応性充血時の血流増加に比べ低かった。したがって、本研究の対象者である20歳代の女子学生の茶カテキン投与前、すなわちコントロール時の血管拡張機能は正常であり、茶カテキンの投与により、さらに血管拡張機能が改善したと考えられる。

今回の研究では証明できなかったが、茶カテキンには抗癌作用や抗菌作用などもあるという報告がある。緑茶カテ

キンを摂取することは、動脈硬化の予防以外の面でも好影響を及ぼすことが考えられる。

#### 結論

茶カテキンを含有するヘルシア®緑茶の長期経口投与によって、反応性充血時の前腕血流量が改善したことから、茶カテキンの経口投与はその抗酸化作用により血管内皮機能を改善する可能性が示唆された。茶カテキンの経口摂取は血管内皮機能を改善することにより、動脈硬化を予防し、心筋梗塞や脳卒中の発症を低下させることが期待される。

#### <引用文献>

- 七尾謙治：俟約遺伝子。小児科診療 66：1046-1052, 2003
- 健康・栄養情報研究会：平成 16 年厚生労働省国民栄養調査結果国民栄養の現状。第一出版 150-152, 2006
- 土田隆，板倉弘重，中村治雄：カテキン類の長期摂取によるヒトの体脂肪低減作用。Progress in Medicine 22(9)：2189-2203, 2002
- 高妻和哉，千竈映郎，星野栄一，片岡潔，森建太，長谷正，桂木能久，時光一郎：肥満男女に対するカテキン含有飲料摂取の効果。Progress in Medicine 25(7)：1945-1957, 2005
- 富田勲：茶に含まれるカテキン(類)の生体内酸化抑制作用。茶の化学成分と機能 弘学出版株式会社 114-119, 2002
- Moncada S and Higgs EA: The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 329: 2002-2012, 1993
- Wennmalm A, Benthin G, Edlund A, et al. Metabolism and excretion of nitric oxide in humans. An experimental and clinical study. *Cir Res* 73: 1121-1127, 1993
- Tatsuya T, Imaizumi T, Endo T, Shiramoto M, Harasawa Y, Takeshita A: Role of nitric oxide in reactive hyperemia in human forearm vessels. *Circulation* 90: 2285-2290, 1994
- Oyama J, Maeda T, Kouzuma K, Ochiai R, Tokimitsu I, Higuchi Y, Sugano M, Makino N: Green tea catechins improve human forearm endothelial dysfunction and have antiatherosclerotic effects in smokers. *Circ J* 74: 578-588, 2010
- Papamichael CM, Aznaouridis KA, Karatzis EN, Karatzi KN, Stamatelopoulos KS, Vamvakou G, Lekakis JP, Mavrikakis ME: Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci* 109: 55-60, 2005.
- Belzowzki A, Bergren D, Brugler A,

Hillman BG, Hillman KC, Hillman SR, Kuss B, Ngo BT, Pisarri T, Rendell MS, Thompson SL, Turner SA: The effect of vasoactive agents on post-pressure hyperemia. *Microvasc Res* 84: 345-350, 2012.

Hirooka Y, Imaizumi T, Tagawa T, Shiramoto M, Endo T, Ando S, Takeshita A: Effects of L-arginine on impaired acetylcholine-induced and ischemic vasodilation of the forearm in patients with heart failure. *Circulation* 90: 658-668, 1994

中村好志：がん予防効果が期待されている茶葉成分。茶の化学成分と機能 弘学出版株式会社 68-69, 2002

黒田行昭，原征彦：お茶はなぜ体よいか。裳華房株式会社 94-97, 1999

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

#### [雑誌論文](計3件)

田川 辰也、山上 樹里、柳瀬 織枝、好中 千裕、渡邊 裕子、茶カテキンの経口投与によるヒト血管内皮機能の改善効果に関する研究、西南女学院大学紀要、査読有、18巻、2014、123-128

Iseki K, Arima H, Kohagura K, et al., Effects of angiotensin receptor blockade (ARB) on mortality and cardiovascular outcomes in patients with long-term haemodialysis: a randomized controlled trial. *Nephrol Dial Transplant*, 査読有, Vol.28(6), 2013, pp.1578-1589, DOI: 10.1093/ndt/gfs590.

Shimabukuro M, Higa N, Tagawa T, Yamakawa K, Sata M, Ueda S. Defects of vascular nitric oxide bioavailability in subjects with impaired glucose tolerance: A potential link to insulin resistance. *Int J Cardiol*, 査読有, Vol.167(1), pp.298-299, DOI: 10.1016/j.ijcard.

#### [学会発表](計1件)

田川 辰也、若年成人女性における茶カテキン経口投与によるヒト血管内皮機能の改善効果、第3回臨床高血圧フォーラム、広島、2014年5月24日～25日

#### [図書](計0件)

#### [産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www3.seinan-jo.ac.jp/univers/c00195.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

田川 辰也 (TAGAWA, Tatsuya)

西南女学院大学・栄養学科・教授

研究者番号：50347142

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

八木 康夫 (YAGI, Yasuo)

西南女学院大学・保健福祉学部・教授

研究者番号：80200476

稲木 光晴 (INAKI, Mitsuharu)

西南女学院大学・保健福祉学部・教授

研究者番号：20261787

植田 真一郎 (Ueda, Shinichiro)

琉球大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：8025105