

機関番号：37109

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20500735

研究課題名（和文） 茶葉カテキンは糖尿病性うつ病を改善するか

研究課題名（英文） Does catechin from tea leaves improve diabetes-induced depression ?

研究代表者

大和 孝子（YAMATO TAKAKO）

中村学園大学・栄養科学部・准教授

研究者番号：70271434

研究成果の概要（和文）：茶葉カテキン類（EC、EGC、ECG、EGCG、CAT）が、脳海馬のセロトニン（5-HT）放出に及ぼす影響および市販の高濃度茶カテキン飲料（カテキン茶）投与による血清中の酸化ストレス度および抗酸化力を健常および糖尿病ラットを用いて調べた。茶葉カテキンは、健常および糖尿病ラットともに5-HTの放出を増加させた。また、カテキン茶を投与した糖尿病群における結果からカテキンは、血清中の酸化ストレス度を軽減し、抗酸化力を上昇させる可能性があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We studied the effects of catechins (EC, EGC, ECG, EGCG, and CAT) from tea leaves on hippocampal serotonin (5-HT) release in normal and diabetic rats, using in vivo microdialysis techniques. In addition, the effects of green tea beverage containing high concentration of catechins on oxidative stress and antioxidative activity in the serum of both rats were examined. Catechins significantly increased 5-HT release from hippocampus in both rats, more or less. Experiments of administration of beverage with high catechin in diabetic rat suggest that the level of the oxidative stress tended to decrease but the antioxidative activity increased.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：健康と食生活

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、茶に含有される成分の生理機能や茶と健康との関わりについての研究が、茶カテキンを中心に科学的な根拠をもって実証されつつある。カテキン類には、抗がん作用

をはじめ、血圧上昇抑制、血小板上昇抑制、血糖上昇抑制、アルツハイマー病予防、肝障害予防など様々な生活習慣病を予防する効果があることが次々と明らかにされている。しかしながら、脳機能へのカテキンの効果に

関しては十分には検討されていない。

(2) 一方、我が国では様々な生活習慣の変化により糖尿病が急増している。糖尿病患者数は、現在全世界で約2億人、日本全国では糖尿病が強く疑われる人は約890万人、糖尿病の可能性が否定できない人も含めて約2,210万人(2007年厚生労働省調査)と推定されており、21世紀の国民病となるほど増加している。糖尿病患者では、情緒障害やうつ病などの精神神経障害などの合併頻度が一般人口でのその頻度に比し、有意に高い(3~4倍)ことが知られている(Gavard *et al.*, 1993; 本郷と内海, 2000)。また、過食などの異常行動の報告もある(Marshall *et al.*, 1976; Marshall, 1978)。また、うつ病発症の原因の一つに「モノアミン仮説」がある。これは脳内セロトニン(5-HT)濃度低下とうつ病に関連性があるというものである。さらに糖尿病患者および糖尿病動物の脳において5-HTレベルの低下も報告されている(Chaouloff *et al.*, 1989; King & Rohrbach, 1990)。

2. 研究の目的

(1) 茶葉カテキンが、脳機能に対してどのような影響を及ぼすのか、糖尿病動物を用いて脳内神経伝達物質である5-HTを指標として調べる。まずは茶葉カテキンが5-HT放出を引き起こすかどうか、そしてその結果、糖尿病患者においてもうつ症状の改善に茶葉カテキンが奏効するかどうかを検討する。また、ヒトが日常摂取する緑茶で、そして日常飲用する量で、糖尿病性うつ病の発症予防効果と改善効果を期待するものである。さらには、糖尿病やうつ病に用いる内服薬の服用量を軽減し、尚且つ副作用の解消にも繋がる効果を期待するものである。

(2) うつ状態が持続すると5-HT量が減少し、満腹中枢への伝達障害が起こり、食欲が満足できずに肥満を招くことが知られている。そこで健常および糖尿病マウスを用いて、ストレスを負荷した状態での摂食量、摂水量および行動量を調べる。

(3) 糖尿病の高血糖状態ではスーパーオキシドを生成し、酸化ストレスを起し、活性酸素によるダメージを招くことが報告(中

野, 1993)されている。そこで健常および糖尿病ラットを用いて生体内の酸化ストレス度および抗酸化力の測定を行い、それらの関連性を追及することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 健常(体重;270~310g、週齢;8~10週、Wistar)および糖尿病(体重;280~310g、週齢;8~10週、STZ)ラットを用いて、*in vivo* マイクロダイアリス法により、5種類のカテキン類(エピカテキン;EC、エピガロカテキン;EGC、エピカテキンガレート;ECG、エピガロカテキンガレート;EGCG、カテキン;CAT)を脳内灌流した場合の脳海馬細胞外5-HT放出レベルを測定した。

(2) 健常(Wistar)ラットを用いて、市販の高濃度カテキン茶(ヘルシア緑茶;カテキン含量154mg/dl、以下カテキン茶)を用いて、経口投与〔体重60kgのヒトがヘルシア緑茶を1本(350ml)飲んだ場合をラットの体重当たりに換算した量;6ml/kg〕した場合の5-HT放出レベルの変化を調べた。

(3) 健常(Wistar)ラットを用いて、様々な阻害剤〔Naチャンネル阻害剤;Tetrodotoxin(TTX)、MAO阻害剤;Clorgyline, Pargyline、SSRI;Fluvoxamine〕の作用やイオン組成を変化させた溶液(高Kリンゲル液、低Kリンゲル液)の作用についても調べた。

(4) 健常(C57BL/6J)および糖尿病(KK/Ta)マウスを用いて、カテキン(CAT)を腹腔内投与(マウスの血液量に対してED₅₀の0.1mMになるように調整した量;2.3mg/kg)し、さらにストレス(床上60cmの高所に拘束した状態で吊り下げ、30分間保持した)を負荷した場合の摂食量、摂水量、行動量(回転かご式測定器による自発運動量)を健常および糖尿病マウスで比較した。

(5) 健常(Wistar)および糖尿病(STZ)ラットを用いて、市販の高濃度カテキン茶(ヘルシア緑茶;154mg/dl、以下カテキン茶)を経口投与〔体重60kgのヒトがヘルシア緑茶を1本(350ml)飲んだ場合をラットの体重当たりに換算した量;6ml/kg〕した群(以下CAT I群)、自由摂取させた群(以下CAT II群)および水摂取群(以下W群)の3群に分け2

週間飼育し、体重、摂食量、摂水量を測定した。また、カテキン茶摂取後の血糖値、血清中の酸化ストレス度、抗酸化力およびNOの測定を行った。

4. 研究成果

(1) Wistar 系雄性健常ラットおよび糖尿病 (STZ) ラットを用いて、*in vivo* マイクロダイアリシス法により、脳海馬細胞外 5-HT レベルを測定した。CAT は $1\mu\text{M}$ ~ 1mM の範囲で標準灌流液に混和して用い、その他のカテキン類は $10\mu\text{M}$ で用いた。その結果、5種類のカテキン類全てにおいて 5-HT 放出を増加した。中でも EC は 5-HT の baseline レベルを約 270 倍増加し、次いで CAT (約 5.5 倍)、EGC (約 2.9 倍)、ECG (約 2.6 倍)、EGCG (約 1.6 倍) の順であった。さらに CAT は濃度依存性に 5-HT 放出を増加し、 ED_{50} は約 0.1mM であった。また、糖尿病 (STZ) ラットでは、 $10\mu\text{M}$ の CAT を脳内に灌流した場合、健常ラットと同様に 5-HT レベルは増加し、baseline レベルの約 12 倍であった。

(2) 健常 (Wistar) ラットを用いて、カテキン茶を経口投与した場合の 5-HT 放出レベルの変化を調べた。その結果、投与 20 分後に 5-HT レベルは約 15%増加し、投与 40 分後には約 20%の増加が観察された。その後緩やかに減少していき、投与 80 分後にはほぼ baseline レベルまで戻った。このことからカテキン類の脳内灌流実験と同様に、カテキン茶の経口投与においても 5-HT 放出レベルを増加することが明らかとなった。

(3) 健常 (Wistar) ラットを用いて、様々な阻害剤 (TTX、Clorglyline、Pargyline、Fluvoxamine) の作用や高 K リンゲル液、低 K リンゲル液の作用について調べた。その結果、 $1\mu\text{M}$ TTX の作用によりラットの 5-HT レベルは約 50%にまで抑制された。この条件下での CAT 1mM の作用は、TTX により 5-HT レベルが 50%ほど抑制されていたにもかかわらず、5-HT レベルは有意に増加し、N.R. (ノーマルリンゲル液) 下での CAT による 5-HT 増加の約 8 倍に達した。次に MAO-A 阻害剤として clorglyline 1mM を灌流させた場合、5-HT 放出は約 6 倍と有意 ($p < 0.01$) に増加した。

一方、MAO-B 阻害剤として pargyline 0.1mM を灌流させた場合では、5-HT 放出は約 1.4 倍

と増加傾向を示したが、有意な差はみられなかった。各 MAO 阻害剤によって 5-HT レベルを増加させた条件下で CAT 1mM を作用させた場合、clorglyline 影響下では N.R. 下での CAT が引き起こした 5-HT レベル増加に比べ、5-HT レベルは有意 ($p < 0.01$) に抑制された。しかし、pargyline 影響下での CAT による 5-HT レベルの増加は、N.R. 下での CAT による 5-HT レベルの増加に比べ有意な差はなかった。さらに Fluvoxamine 1mM を使用した結果、5-HT レベルは 5 倍ほど増加した。この 5-HT を増加させた条件下での CAT による 5-HT 放出と N.R. 下での CAT による 5-HT レベルを比較したところ、Fluvoxamine 存在下での CAT の 5-HT レベルが有意 ($p < 0.05$) に抑制された。以上の結果から CAT は、MAO 阻害剤および Fluvoxamine に類似した作用で 5-HT レベルを増加させるという可能性が示唆された。

また、高 K^+ 溶液 (100mM) を灌流させたところ 5-HT レベルは baseline の約 4 倍にも増加した。このように高い濃度の K^+ を作用した場合、5-HT の増加が起こるのは、高濃度の K^+ が脱分極を起こすため Na^+ や Ca^{2+} チャネルが開き、これらのイオンの流入により神経伝達物質放出の増加が考えられる。一方、低 K^+ 溶液 (1mM) を作用させたが、作用直前の 5-HT レベルと比べ約 1.03 倍であり有意な差はみられなかった。この条件下での CAT 1mM の灌流では 5-HT レベルは増加したが、N.R. 下の 5-HT レベルとの有意な差は認められなかった。

(4) 健常 (C57BL/6J) および糖尿病 (KK/Ta) マウスを用いて、CAT を腹腔内投与し、さらにストレスを負荷した場合の摂食量、摂水量および行動量 (自発運動量) を健常および糖尿病マウスで比較した。その結果、1 日の摂食量、摂水量はいずれも健常マウスより糖尿病マウスの方が約 2 倍多かった。しかし、健常マウスでは、CAT を投与しても 1 日の摂食量、摂水量はストレスを負荷することで、いずれも 1.4 倍増加する傾向がみられた。一方、糖尿病マウスでは、CAT を投与し、尚且つストレスを負荷することで健常マウスとは逆に摂食量、摂水量はともに有意 ($p < 0.05$) に減少した。1 日の行動量は、健常マウスの方が糖尿病マウスより約 1.8 倍多かった。しかし、健常マウスの行動量は、CAT を投与し、ストレスを負荷することで非ストレス下よ

り有意 ($p < 0.05$) に減少した。一方、糖尿病マウスは健常マウス同様に CAT を投与し、ストレスを負荷することで行動量は減少したが、有意差はみられなかった。

(5) 健常 (Wistar) および糖尿病 (STZ) ラットを用いて、カテキン茶を経口投与した CAT I 群、自由摂取させた CAT II 群および水摂取 W 群の 3 群に分け 2 週間飼育し、体重、摂食量、摂水量を測定した (図 1)。また、カテキン茶摂取後の血清中の酸化ストレス度、抗酸化力および NO の測定を行った。糖尿病群におけるカテキン茶投与による血糖値の上昇抑制効果はみられなかった。このことはカテキン茶投与期間が短期間 (2 週間) であったことが考えられる。一方、糖尿病群は健常群に比べ、血清中の酸化ストレス度は高い傾向にあり、抗酸化力は低い傾向にあることがわかった。しかし、カテキン茶を投与することで糖尿病状態にある糖尿病群では、血清中の酸化ストレス度を軽減し (図 2)、抗酸化力を上昇させる可能性があることが示唆された (図 3)。さらに血清中の NO 量は健常群に比べ、糖尿病群の方が少ない傾向にあった。糖尿病における血清中の NO 量の報告は様々であり、一定の評価は得られていないが、本研究の結果は Kino らの報告と一致するものであった。

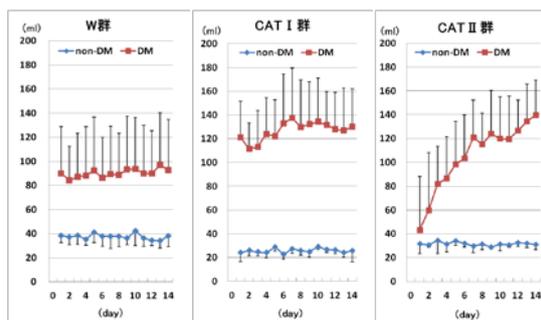


図 1 W 群、CAT I 群、CAT II 群における飲水量の変化

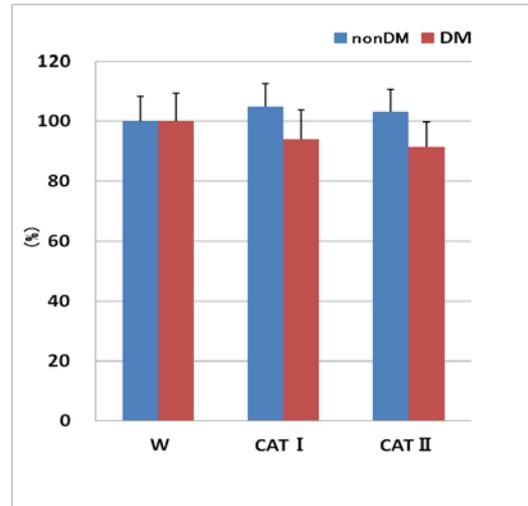


図 2 W 群、CAT I 群、CAT II 群における酸化ストレス度の比較

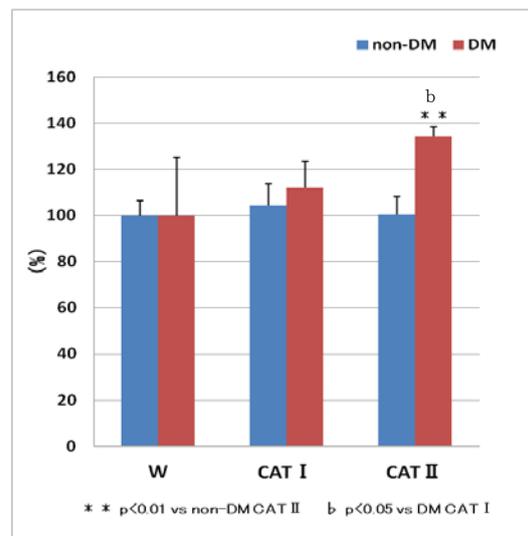


図 3 W 群、CAT I 群、CAT II 群における抗酸化力の比較

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 9 件)

- ① Tamaki Nagata, Atsuko Nishiyama, Takako Yamato, Toshio Obata, Masahiro Aomine, Diabetes modulates ethanol-induced increase in serotonin release from rat hippocampus: an *in vivo* microdialysis study, Nutr. Neurosci., 査読有, 2011, *in press*

② 大和孝子、永田瑞生、西山敦子、太田英明、青峰正裕、マウスの摂食・摂水日内リズムに及ぼすカプサイシンの影響 - 糖尿病マウスと正常マウスの比較 -、調理食品と技術、査読無、15 (1)、2009、16-26

③ 西山敦子、永田瑞生、大和孝子、青峰正裕、一酸化窒素は糖尿病マウスの運動量を増加させる、中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要、査読有、41、2009、263-270

④ 大和孝子、青峰正裕、太田英明、コーヒーによるストレス緩和に関する研究 - 女子大学生におけるアンケート調査編 -、食品と科学、査読無、50 (2)、2008、73-76

〔学会発表〕(計 21 件)

① 大和孝子、高濃度茶カテキン飲料を用いた糖尿病改善効果の検討、第 57 回日本栄養改善学会、2010 年 9 月 24-25 日、埼玉

② 西山敦子、永田瑞生、大和孝子、青峰正裕、糖尿病マウスの食行動に及ぼす抗うつ剤の急性効果、第 64 回日本栄養・食糧学会、2010 年 5 月 21-23 日、徳島

③ 永田瑞生、村上晴秋、西山敦子、大和孝子、青峰正裕、糖尿病ラットにおける高血糖状態はストレス抵抗性を低下させる、第 23 回日本糖尿病・肥満動物学会、2009 年 2 月 13-14 日、岡山

④ 大和孝子、村上晴秋、西山敦子、青峰正裕、茶葉カテキンによるラット脳セロトニン放出の増加、第 18 回日本清涼飲料研究会、2008 年 10 月 22 日、東京

〔図書〕(計 2 件)

① 江澤郁子、津田博子、河野篤子、田中一成、松本晴美、五関正江、松田早苗、沖田千代、勝野由美子、大和孝子、藤井久雄、第 9 章 3. ストレスと栄養、建帛社、Nブックス改訂応用栄養学、2010、194-199/236

② 青峰正裕、藤田守、清末達人、阪本典子、長谷川昇、大和孝子、熊井まどか、竹嶋美夏子、第 8 章 呼吸、第 14 章 基礎代謝、東京教学社、イラスト解剖生理学実験、2009、77-82、121-129/145

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大和 孝子 (YAMATO TAKAKO)

中村学園大学・栄養科学部・准教授

研究者番号：70271434

(2) 研究分担者

青峰 正裕 (AOMINE MASAHIRO)

中村学園大学・栄養科学部・教授

研究者番号：60091261

西山 敦子 (NISHIYAMA ATSUKO)

中村学園大学・栄養科学部・助手

研究者番号：90461475