

温泉入浴がお茶カテキン吸収にもたらす影響
及び心理的影響への研究

早坂信哉 1,2) 只野智昭 1) 杉森裕樹 1) 後藤康彰 2) 山本（前田）万里 3)

1)大東文化大学スポーツ・健康科学部健康科学科

2)一般財団法人日本健康開発財団温泉医科学研究所

3) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

A. 背景・目的

日本は茶を年間8万トン以上生産している有数の茶生産量国であり[1]、国民により一般的に良く飲用されている飲み物である。そのなかでも特に静岡県は茶の最大生産県である。特に緑茶は強い抗酸化活性[2]や抗動脈硬化作用[3]、コレステロール低下作用[4]、抗血小板凝集作用[5]が認められ、健康増進に寄与すると考えられ、これらの効果はカテキンによるものと考えられている[2-4]。一方、カテキンの血中濃度はおもに摂取量に依存するといわれ[6]、十分な血中濃度を確保するのは以前から難しいという報告がある[7]。そのため、人におけるカテキンの効果を求める際は、効率の良い体内吸収の方法の検討が必要である。

ところで、日本は27,000以上の源泉を持つ温泉の多い国であり、温泉のある旅館には年間1億2千万回もの宿泊があるほど、温泉を利用している国民である[8]。このような背景から、温泉を住民の健康増進に活用することは重要な課題である。

一方、「緑茶」と「温泉」を併せて健康増進に活用しようと検討するにあたり、これまで緑茶と温泉の相乗効果を直接検討した研究はほとんど報告がなく、昨年の本事業にて緑茶と温泉入浴の相乗効果、特に緑茶カテキンの吸収に及ぼす温泉入浴の効果について予備的に調査を行ったところ、温泉入浴は人体の緑茶カテキンの吸収を増大させる可能性が示唆された[9]。昨年度の予備的調査に加えて本研究はさらに対象者およびカテキン測定回数を増やし、より詳細に温泉の緑茶のカテキン吸収に及ぼす影響を検討することを目的とした。

さらに、以前より緑茶内のテアニンによる緑茶の心理的な効果、とくにリラクゼーション効果が指摘されていたが[10]、加えて温泉入浴負荷を行った場合の心理的变化についても併せて測定し検討した。

B. 方法

(1) 対象：自由意思によって研究に参加した成人の男4名、女5名（36.7±13.0歳、

平均±標準偏差)

- (2) 調査時期：2012年11～12月
- (3) 調査方法：
デザイン：同一対象者に対する2種類の介入試験を行い比較
- (4) 解析項目：
① 血漿中カテキン EGCG (Epigallocatechin-3-O-gallate) 濃度
同一被験者にそれぞれ別の2日間に、それぞれ1種ずつ、計2種類の介入を行い、介入の種類別に比較した。
② 心理的影響の測定
生理的ストレス指標である唾液中クロモグラニンA、心理テストのPOMS短縮版、および健康関連QOL (HRQOL: Health Related Quality of Life) 尺度であるSF-8 (アキュート版) を用いた。クロモグラニンAは副腎髄質、下垂体に高濃度に分布する糖たんぱく質であり、主に精神的ストレスにより唾液中の濃度が速やかに上昇する[11]。
- (5) 介入方法：(図)
調査前には、被験者の体温、血圧を測定し、医師による体調確認のち、介入を行った。

① 緑茶飲用のみ (静岡県熱海市)

試験日：2012年12月23日

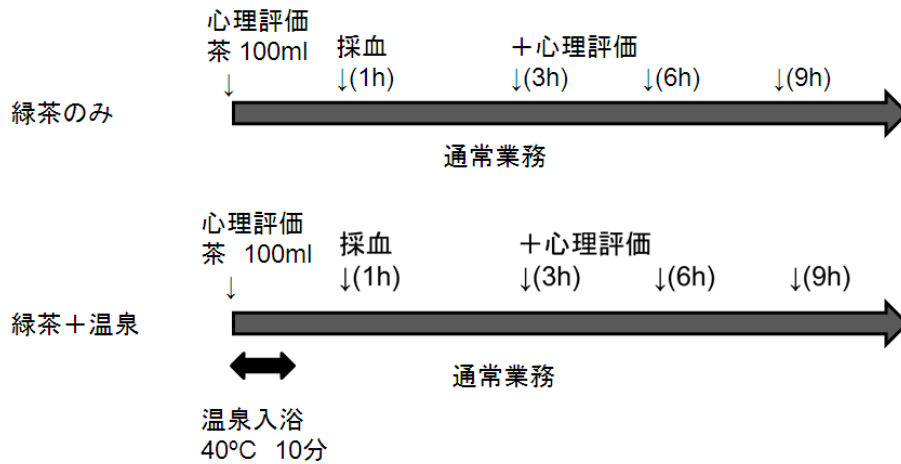
試験前2日間は茶を飲まないウォッシュアウト期間とし、当日朝は白飯かパンのみの朝食とした。9時に同じ被験者全員に後述する決められた方法で抽出した緑茶を一気に飲用させ、スポーツ施設内で通常の勤務、または自宅へ帰宅し待機後、緑茶飲用1、3、6、9時間を経過した時点で採血を行った。心理評価は緑茶飲用前、飲用3時間後に行った。

② 緑茶飲用+温泉入浴負荷 (静岡県熱海市)

試験日：2012年11月18日

試験前2日間は茶を飲まないウォッシュアウト期間とし、当日朝は白飯かパンのみの朝食とした。9時に同じ被験者全員に後述する決められた方法で抽出した緑茶を対象者全員に一気に飲用させた。直ちに脱衣し、かけ湯を行った後、40℃のナトリウム塩化物温泉 (高張性・弱アルカリ性・高温泉：熱海温泉) に肩まで10分間入浴したのち、出浴し通常のスポーツ施設勤務に従事、または自宅へ帰宅し待機後、緑茶飲用1、3、6、9時間を経過した時点で採血を行った。心理評価は緑茶飲用前、飲用3時間後に行った。

図 (研究の流れ)



(6) 血漿中 EGCG 濃度測定方法

一般財団法人材料科学技術振興財団（東京都）にて解析を行った。

- ① 試験緑茶： 静岡やぶきた茶（抽出液）（3g の緑茶を 100ml の熱湯で 6 分間
ボイルし、濾過・冷却した抽出液）
- ② 採血手順： EDTA-2Na 入りベノジェクト II 真空採血管（滅菌品）（テルモ株式
会社製 7ml コード番号 VP-NA070K）に、血液約 5 ml 程度採取した。
- ③ 遊離型 EGCG 濃度解析方法
 1. 血液200 μ l に酸化防止剤 70 μ l (0.2g/ml アスコルビン酸, 1mg/ml EDTA),
 β -グルクロニターゼ 500 ユニット, Sulfatase 2 ユニートを順次添加。
 2. 37°C で45分温浴。
 3. 酢酸エチルを2ml 添加。
 4. 20分間振とう後、3000rpm 5分間遠心し、その上層部を分取した(溶液①)。
 5. 残りの下層部に再度酢酸エチルを2ml 添加し、20分間振とう、3000rpm 5
分間遠心、その上層部を分取し、溶液①と混合した(溶液②)。
 6. 溶液②に10%アスコルビン酸を20 μ l 添加。
 7. N₂気流下乾燥後、10%アセトニトリル水を200 μ l 添加。
 8. 3000rpm 5分間遠心し、その上澄み液を採取。
 9. 0.45 μ m のフィルターにかけたものをLC/MS/MS測定試料とした。

(7) お茶試料

- ① お茶試料を 10%アセトニトリル水で希釈した。
- ② 0.45 μ m のフィルターにかけたものを LC/MS/MS 測定試料とした。

(8) 分析装置

装置 : Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS/MS (Agilent製)
カラム : ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1 mm x 100 mm, 1.8 μm)
カラム温度 : 40°C
移動相 A : 水 + 10mMギ酸アンモニウム + 0.1%ギ酸
B : アセトニトリル
流量 : 0.20 ml/min
注入量 : 1μl
イオン化法 : ESI-
Q1/Q3 : 457.1/169.0

(9) クロモグラニンA測定

唾液中クロモグラニンAの測定にはYK070 Human Chromogranin A EIAキット (株式会社 矢内原研究所製、静岡県富士宮市) を用いた。測定は日本老化制御研究所 (静岡県袋井市) にて委託した。唾液サンプルはサリベット管を使用し、綿球を1分間口腔内で嚙んで唾液を綿球にしみこませたのち、この綿球を遠心分離して回収した唾液をポリプロピレンチューブにうつし、-30°C以下を保ち保存ののち、キット解析方法[11]に従って解析を行った。

(10) 解析方法

緑茶飲用のみの場合、緑茶飲用+温泉入浴負荷の場合についてそれぞれ血中カテキン濃度の平均と標準偏差を求め、対応のある t 検定によって比較検討した。クロモグラニンA、POMS短縮版、SF-8は緑茶飲用3時間後値から飲用前値を引き、差(変化量)を求め、この変化量について緑茶飲用のみの場合、緑茶飲用+温泉入浴負荷の場合の平均と標準偏差を求めたのち、対応のある t 検定によって比較検討した。

(11) 倫理的配慮

本研究実施に先立ち大東文化大学スポーツ・健康科学部倫理委員会の審査を受けた。被験者へは文書によって研究内容を説明し、自由意思にて同意書に署名の上、研究へ参加した。血液はIDを付与した後匿名化した。カテキン測定後は直ちに廃棄した。研究に先立ち、医師による体調確認が行われたのち、医師、臨床検査技師によって採血が行われた。

C. 結果

(1) EGCG 血漿中濃度

採血による各被験者の EGCG の血漿中濃度の平均は以下の通りであった(表 1)。温泉入浴を負荷した場合と温泉入浴がない場合では血漿中 EGCG はほぼ同じか、温泉入浴がない場合でやや高い傾向にあった。1 時間値、3 時間値は特に標準偏差が大きく、測定値のばらつきが大きかった。統計的有意差はなかった。

表 1 緑茶飲用と温泉入浴負荷を加えた場合の EGCG 血漿中濃度の比較

n = 9 EGCG濃度(ng/ml)	緑茶のみ		緑茶+温泉		p
	平均	± 標準偏差	平均	± 標準偏差	
茶飲用後					
1時間値	69.8	± 48.9	57.3	± 61.1	0.56
3時間値	37.0	± 18.9	20.2	± 15.0	0.09
6時間値	9.6	± 10.5	5.0	± 7.5	0.17
9時間値	3.0	± 5.2	0.0	± 0.0	0.12

EGCG: Epigallocatechin-3-O-gallate, p: pared t-test

(2) EGCG お茶中濃度

11 月分、12 月分とも 1mg/ml だった。

(3) 心理評価指標の結果 (表 2)

クロモグラニン A : 調査時に体温が 35°C 未満を示した低体温者 1 名を除いて解析した。有意ではなかったものの、温泉入浴負荷の場合が、緑茶のみの場合と比較して減少値が大きく、よりストレスが改善していることを示していた。

POMS 短縮版 : 「怒り - 敵意」は緑茶のみは悪化していたが、温泉入浴負荷で大きく改善していた。「疲労」は緑茶のみでもわずかに改善していたが、温泉入浴負荷で大きく改善していた。一方、「活気」は緑茶のみで改善していた。全体として、緑茶のみでは、活性化方向へ、温泉入浴負荷では鎮静化方向へ変化していた。いずれも統計的有意差はなかった。

SF-8 : 「活力」や全体的な精神的健康状態を示す MCS (身体的健康をあらわすサマリースコア) は緑茶のみの場合で改善傾向が見られた。一方、「普段の仕事に対する身体機能である「日常役割機能 (身体)」や「体の痛み」、全体的な身体的健康状態を示す PCS (身体的健康をあらわすサマリースコア) は温泉入浴負荷の場合改善傾向にあった。いずれも統計的有意差はなかった。

表2 心理的評価指標の結果

	緑茶のみ		緑茶+温泉		p
	平均	± 標準偏差	平均	± 標準偏差	
唾液中クロモグラニン(n = 8)					
変化量(後-前)(pmol/ml)	-0.80	± 2.60	-1.70	± 3.47	0.48
POMS短縮版(n = 9)					
変化量(後-前)(T-score)					
緊張-不安	-1.66	± 7.42	-1.33	± 12.51	0.94
抑うつ-落込み	-2.22	± 5.04	-1.22	± 5.89	0.72
怒り-敵意	1.00	± 3.81	-4.78	± 11.15	0.24
活気	2.44	± 8.23	-4.67	± 7.12	0.11
疲労	-0.89	± 8.54	-4.56	± 8.68	0.45
混乱	-5.11	± 6.91	-1.11	± 9.70	0.36
SF-8(n = 9)					
変化量(後-前)(尺度得点)					
全体的健康感	1.20	± 5.51	0.61	± 7.36	0.84
身体機能	-0.57	± 4.71	0.00	± 5.86	0.73
日常役割機能(身体)	0.00	± 4.01	2.95	± 9.04	0.39
体の痛み	-0.32	± 6.77	3.11	± 5.14	0.19
活力	2.62	± 4.93	-0.99	± 7.10	0.28
社会生活機能	0.75	± 2.26	1.06	± 8.74	0.93
心の健康	-0.52	± 8.60	0.80	± 6.67	0.71
日常役割機能(精神)	0.00	± 4.26	0.00	± 4.26	1.00
PCS(身体的健康サマリースコア)	-0.11	± 3.89	2.38	± 7.01	0.38
MCS(精神的健康サマリースコア)	1.24	± 4.11	-1.18	± 6.91	0.38

D. 考察

緑茶飲用のみの場合と、温泉入浴負荷を加えた場合の EGCG の血漿中濃度を比較した。濃度は、緑茶飲用のみの場合と温泉入浴負荷ありの場合でほぼ同等か、緑茶飲用のみの場合でやや EGCG 濃度が高い傾向にあった。前回の予備試験の場合、温泉入浴負荷の場合、EGCG が明らかに高値を示していた[9]。前回の予備試験と異なる点は、緑茶飲用後、あるいは温泉入浴後、前回は全員が安静～デスクワーク程度の作業であったが、今回は拘束時間が9時間にわたり、その間、全員に安静を強いることは倫理上難しく、各自が都合で、外出したり、スポーツ施設における各種管理業務に従事していたため一定の条件下での経過観察ではなかった。一部の者は温泉入浴負荷で血漿濃度が増加する傾向も認められ、全員が一様に温泉入浴無しで高値を示したということではなく、ばらつきが見られた。本研究結果だけからは温泉入浴によって EGCG 吸収が一定方向に変化するという結論は得にくく、より正確な測定には前回の予備試験のように被験者全員を一定環境下におく必要があると思われた。

また、本研究では緑茶飲用 1 時間後から測定を開始している。温泉入浴により体温が上昇し、その結果心拍出量が増加し、腸管血流量も増加することから、小腸の吸収能の亢進も報告されており[12]、EGCG の吸収ピークが温泉入浴負荷によって 1 時間より先になってしまった可能性も否定できない。今後の課題として、1 時間より前に採血を行い測定する必要があると思われた。

今回は採血では EGCG の測定だけであったが、温泉入浴時の脱水による血栓形成の危険性は以前から指摘されており、各血栓性疾患の予防のためには積極的な水分摂取が奨励されてきた[9]。温泉入浴時に積極的に緑茶の飲用を勧めることは、この水分摂取にもつながり、安全な温泉利用にも有用であると考えられる。

心理評価、生活の質評価については温泉負荷を行うと唾液中クロモグラニン A の減少が強くなる、すなわちストレスの軽減しており、POMS では「ふきげんだ」などの「怒り - 敵意」のスコアが減少した。一方、「生き生きする」などの「活気」も低下している。SF-8 でも「活気」は低下している。加えて 3 時間の労働の後にも関わらず、「疲労」が改善しており、SF-8 での「痛み」も改善、仕事上の身体機能も改善している。緑茶のみの場合、逆に唾液中クロモグラニンの減少（ストレスの軽減）は弱く、「怒り - 敵意」スコアが上昇し、「活気」スコアも上昇している。SF-8 でも「活気」尺度得点が上昇している。すなわち温泉負荷の場合、心理的に鎮静化の方向に働き、緑茶のみの場合では活性化の方向に働いていると言える。今回、温泉は 40°C の比較的ぬるめの湯であり、この程度の湯温の入浴は、副交感神経優位になることが以前より広く知られている[14]。そのため、温泉負荷の場合、心理的鎮静化の影響が強くと推測できる。例えば、休日や仕事帰りにリラックスをしたい場合は緑茶を飲み、併せて温泉に入ることによりリラクゼーションが図れ疲労も回復する。逆にこれから活動を開始するような場面では緑茶を飲むにとどめて、心理的活性化を図るということで、その時の目的に合わせて温泉の活用を行うことが効果的であると考えられる。緑茶のみの効果に着目すると、3 時間の労働をしているにも関わらず、むしろ活気が増していることは、非常に興味深い結果である。労働の途中で緑茶を飲むことは仕事の効率を上げるためには有効な手段である可能性がある。

E. 結語

本研究からは温泉入浴の緑茶カテキン EGCG 血漿中濃度への影響は判然としなかった。測定値にばらつきがあり、厳密な一定の条件下での測定が必要と考えられた。一方、緑茶飲用に温泉入浴を加えた場合、ストレスが軽減し、疲労をとり痛みを軽減させ、不機嫌さを軽減させるなど、鎮静化の傾向にあった。緑茶のみの場合は活気が増し活性化へ働く傾向にあった。疲労回復やリラクセスを求める場合、緑茶飲用に温泉入浴を併用することが効果的と考えられた。

謝辞：協力いただいたマリンスパあたま（熱海温泉）に感謝の意を表します。

（文献）

[1]農林水産省大臣官房統計部(2012).

http://www.maff.go.jp/j/tokei/pdf/syukaku_tya_11.pdf

[2]Ohmori R, et al. antioxidant activity of various teas against free radicals and LDL oxidation. *Lipid* 40: 849-853, 2005.

[3]Hirano-Ohmori R, et al. Green tea consumption and serum malondialdehydmodified LDL concentrations in healthy subjects. *J Am Coll Nutr* 24: 342-346, 2005.

[4]福與眞弓、他. 茶葉カテキンの構成成分である (-) エピガロカテキンガレートの血中コレステロール低下作用. *日本栄養・食糧学会誌* 39: 495-500, 1986.

[5]Kang WS, et al. antithrombotic activities of green tea vatechins and (-)-epigallocatechin gallate. *Thromb Res* 96: 229-237, 1999.

[6]Nakagawa K, et al. Dose-dependent incorporation of tea catechins, (-)-epigallocatechin-3- gallate and (-)epigallocatechin, into human plasma. *Biosci Biotech Biochem* 61: 1981-1985, 1997.

[7] Maeda-Yamamoto M, et al. In vitro and in vivo anti-allergic effects of 'benifuuki' green tea containing O-methylated catechin and ginger extract enhancement. *Cytotechnology* 55:135-142, 2007.

[8] 環境省 平成 22 年度温泉利用状況.

http://www.env.go.jp/nature/onsen/data/riyou_h22.pdf

[9] 山本（前田）万里、他. 温泉入浴がお茶カテキン吸収にもたらす影響：予備調査. In 静岡県地域資源を活用した健康づくりプログラム事業 平成 23 年度「健康づくりプログラム開発に係る研究設計についての研究」研究報告書. p9-12, 2012,

[10]小林加奈理、他. L-テアニンのヒトの脳波に及ぼす影響. *日本農芸化学会誌* 72(2); 153-157, 1998

[11] YK070 Human Chromogranin A EIA 取り扱い説明書. 株式会社 矢内原研究所、2012.

[12]飯山準一、他. 温泉入浴と肝、および消化管機能. 日本温泉気候物理医学会（編）新温泉医学 p194-198, 2004.

[13]倉林均. 温泉入浴と血小板、凝固・線溶能. 日本温泉気候物理医学会（編）新温泉医学 p184-188, 2004.

[14]光延文裕、他. 温泉入浴と自律神経機能. 日本温泉気候物理医学会（編）新温泉医学 p212-224, 2004.