

緑茶カテキンが 脳の老化を 予防する

静岡県立大学 茶学総合研究センター
海野けい子

緑茶の摂取が認知症リスクを低減していることが明らかとなってきたが、緑茶のどの成分がどのように作用しているのかはまだ明らかとなっていない。認知症の最も重要な危険因子は脳の老化であることから、緑茶の主要成分であるエピガロカテキンガレート (EGCG) について脳の老化予防効果を検討した。EGCGは血液脳関門を通過して脳実質に到達することが確認され、神経細胞の分化を促進する効果があることが見出された。また、腸内細菌叢によるEGCGの分解産物も神経細胞の分化を促進することから、EGCGとその分解産物が時間差をもって神経細胞に作用し、認知症リスクの低減に関与している可能性が考えられる。



はじめに

日本では2012年の時点で高齢者人口の15%が認知症であったが、2025年には20%になるという推計もある。高齢化は世界的に進んでおり、脳の老化予防は世界共通の課題であるが、特に日本では高齢者数が急速に増加しており、総人口に占める65歳以上の人口の割合は2021年の時点で29.1%と世界で最も高くなっている。高齢者の認知症対策は日本において喫緊の課題である。

認知症には遺伝的な要因のほかに、脳の老化、環境要因、生活習慣が関わっていることから、これらを改善し加齢による変化を緩和することが、認知症の発症を遅らせることにつながると考えられる。加齢に伴い一般には、動脈硬化、更年期障害、糖尿病、高脂血症、腎臓病、高血圧、肥満、記憶力の低下等さまざまな変化が起こる。しかし、運動や食事に関するアドバイス等に従った場合、これらの加齢に伴う変化が改善または抑制されることが報告されている。緑茶の摂取はそのような老化抑制のための選択肢の一つである。実際、緑茶の摂取は、男女の心臓病死亡率、男性の脳血管疾患および呼吸器疾患死亡率と逆相関することが疫学的に示されている¹⁾。また、緑茶の摂取が認知症予防に有効であることを示す報告も蓄積されてきている²⁻⁶⁾。

緑茶の効果を解明するために、主にエピガロカテキンガレート (EGCG) の抗酸化作用に着目した研究が *in vivo* および *in vitro* で行われている。確かにEGCGの作用は強いことが多いが、緑茶の効果は必ずしもEGCGの抗酸化作用だけで説明できるわけではない。カフェイン、テアニン、アルギニンなど他の緑茶成分との相互作用や、緑茶の代謝物の関与も検討する必要があると考えられる。緑茶カテキンの代謝については詳細な研究が行われており、近年では代謝物の生物学的効果に関する研究も行われてきている。ここでは、緑茶成分であるカテキンとEGCG代謝物の脳機能への影響について説明する。

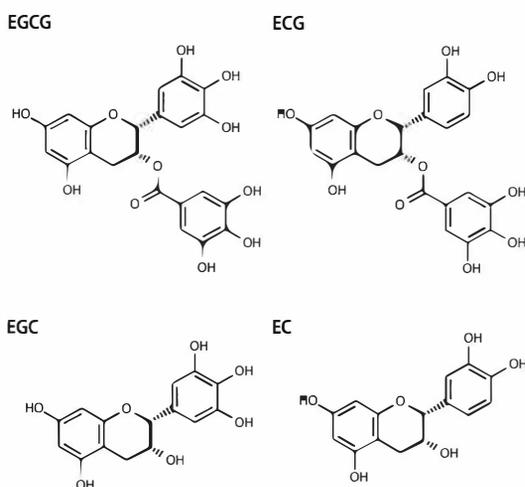
緑茶に含まれるカテキン

カテキン類は緑茶葉(乾物)中で10~18%を占める成分である。カテキンには(+)カテキン、(-)カテキン、(+)エピカテキン、(-)エピカテキンの4つの構造があり、緑茶には(-)エピ型が多く含まれる。また、没食子酸はカテキンやガロカテキンに含まれ、(-)エピガロカテキンガレート(EGCG)は緑茶に最も多く含まれるカテキンである。そのほかに(-)エピガロカテキン(EGC)、(-)エピカテキンガレート(ECG)、(-)エピカテキン(EC)なども含まれている(図1)。カテキンは通常のフラボノイドと異なり、糖が結合した配糖体として自然界に存在することはほとんどない。カカオ、ブドウ、リンゴ、モモなどの樹木系果実にもカテキンは含まれているが、その主成分は(+)カテキン、(-)エピカテキン、(-)エピガロカテキンなどの遊離カテキンで、没食子酸は含まれていない。したがって、EGCGやECGなどのガレート型カテキンは茶葉に特有のものである。

寿命

脳の老化と体の老化は必ずしも一致しないが、寿命は体の老化の重要なマーカーであり、緑茶や

図1 緑茶カテキンの構造



EGCGが線虫やハエ、マウスに対し寿命延長効果を持つことが報告されている。40歳から69歳の日本人約91,000人を対象に約20年間追跡した疫学調査の結果によると、緑茶を毎日5杯以上飲んでいる人は、1日1杯未満の人に比べて全死亡率が有意に減少していた¹⁾。同様に、ほぼ毎日お茶を飲んでいた中国人高齢男性は、ほとんど飲まない人に比べて死亡リスクが10～20%低いことが報告されている⁷⁾。

寿命の短い老化促進モデルマウスSAMP10/TaSlc (SAMP10) を用いて、緑茶カテキン摂取量と寿命の関係を検討した結果、1mg/kg (ヒトで1日1杯の緑茶に相当) を毎日摂取すると、生存期間中央値(MST)が有意に延長された⁸⁾。緑茶カテキンを5～60 mg/kg摂取した場合も、緑茶カテキンを摂取していないマウスと比較するとMSTが延長された⁸⁾。したがって、少なくとも毎日数杯の緑茶を飲むことは重要であると思われる。しかしカテキンを大量に摂取する必要はないことも示された。

認知機能

緑茶の摂取は認知機能の低下を防ぐことが、疫学調査の結果等から明らかとなってきた^{2,3,9,10)}。我々はSAMP10マウスを用いた動物実験において、緑茶カテキンを毎日摂取することで、老化したマウスの脳機能低下が抑制されることを明らかにしてきた^{11,12)}。そこで、SAMP10マウスを用い緑茶カテキンの摂取開始時期の影響を検討した。脳の萎縮は成熟期の30代頃からはじまると言われている。また中高齢期になると、多くの人が脳の老化を意識するようになると思われる。そこでこのような成熟期や中高齢期から緑茶カテキンの摂取を開始することで老化予防効果が期待できるのか検討した。SAMP10マウスにとって成熟期に相当する6月齢から、初老期に相当する11月齢まで緑茶カテキンを摂取したマウスでは、緑茶カテキンを摂取していない同月齢の対照マウスと比較して、受動回避試験で調べた学習能(記憶獲得能力)が有意に高いことが明らかとなった

13)。中高齢期に相当する9月齢から11月齢まで緑茶カテキンを摂取した場合では、学習能の低下が抑制される傾向が見られた¹³⁾。これらのことから成熟期から緑茶カテキンを毎日摂取することで、加齢に伴う脳機能低下を抑制することが示された。更に、中高齢期から摂取を開始した場合でも、全く摂取しないよりは有益であることが示唆された。

次に、緑茶カテキンの認知機能に対する効果の用量依存性を検討した。受動的回避試験による評価で記憶の獲得と保持能を調べたところ、緑茶カテキンの1日摂取量が1 mg/kg以上で記憶獲得に対する有意な効果が認められ、最も有効な用量は15 mg/kgであった⁸⁾。緑茶カテキンを毎日60 mg/kg摂取したマウスでは、長期記憶保持率がコントロールに比べて有意に高くなった。Y迷路を用いて測定した空間作業記憶は、緑茶カテキンを30 mg/kg以上摂取したマウスで有意に改善した⁸⁾。したがって緑茶カテキンによる認知機能低下の抑制は用量に依存し、マウスでは1日1mg/kg (ヒトでは緑茶1杯分に相当) が最低限必要な用量であった。

2種類のカテキンEGCGとEGCについて認知機能低下抑制能を比較した結果、EGCGでは有意な認知機能低下抑制効果が認められたのに対し、同じ濃度のEGCでは効果は見られなかった。EGCGとEGCの違いはガロイル基の有無にあるが、没食子酸(GA) そのものには認知機能低下抑制効果はなかった。カテキンの作用については、抗酸化活性の重要性が広く知られている。実際、緑茶カテキンであるEGCGまたはEGCを摂取したマウスでは、大脳皮質の過酸化脂質が対照群に比べて有意に減少しており、EGCGとEGCで抗酸化力には有意な違いがないことが示されている。このことから、認知機能低下の抑制に関するEGCGとEGCの違いを、抗酸化活性だけで完全に説明することはできないと考えられる。

カテキン類の吸収と代謝

EGCGを経口摂取するとごく少量が小腸から取り

生まれ、分解されことなく全身循環に取り込まれた後、摂取から8時間後にはほとんど体内から消失する。一方、EGCGの大部分は腸内細菌叢によってEGCとGAに分解される¹⁴⁾。脱ガロイル化されたカテキン類は大腸でさらに分解され、摂取後8時間以上経過すると5-(3',5'-dihydroxyphenyl)- γ -valerolactone (EGC-M5) (図2) や、5-(3',4'-dihydroxyphenyl)- γ -valerolactone、5-(3',4',5'-trihydroxyphenyl)- γ -valerolactoneに変換される。これらのバレロラクトンは大腸から容易に吸収され、その後代謝され分布する¹⁵⁾。これらのカテキンの分解物は硫酸塩 (EGC-M5-Sul) やグルクロン酸抱合体 (EGC-M5-GlcUA) などとして血漿や尿に見出されている¹⁵⁾。GAはピロガロール(PG)を経てグルクロン酸抱合体 (PG-GlcUA) になる (図2)。

カテキン類およびその分解物が脳内で直接作用するには血液脳関門 (BBB) を通過する必要があるため、インビトロ BBB アッセイキット (RBT-24、

ファーマコセル株式会社、長崎) を用いて脳の血管側から実質側への透過性を測定した。30分間でEGCGの透過性は4%、EGCの透過性は5%であった¹⁶⁾ (表1)。これらの値はカフェインやGAの透過性よりも低い、EGCGやEGCなどのカテキン類は確かに脳実質に到達していると考えられる。同様のインビトロBBBモデルを用いて、(+) カテキンと(-) エピカテキンの1時間での移行率はそれぞれ7.4%と15.4%と報告されている¹⁷⁾。このことは、フラバン構造の3位の水酸基の配置の違いがBBB透過性に大きく影響することを示している。EGCGは3位に大きなガロイル基を持つが、GAの高い透過性がEGCGの透過性をEGCと同程度に高めていると考えられる。EGC-M5はEGCGおよびEGCよりもわずかに高い透過性を示した。EGC-M5抱合体はEGC-M5より透過性が低く、EGC-M5-SulはEGCGよりわずかに高い値を示した。これらのデータから、カテキン類とその分解物の脳内における影響を調べる必要があることが明らかとなった。一方、

EGCとGAが一緒に存在した場合、EGCの透過性はEGC単独に比べかなり低下していた。このような競合作用が実際に脳内で起こるかどうかを評価するためには、さらなる研究が必要である。

SH-SY5Y細胞に対する緑茶カテキンの作用

ヒトの神経芽細胞腫であるSH-SY5Y細胞を用い、脳実質に取り込まれた緑茶カテキンの作用を検討した。SH-SY5Y細胞に50nMのカテキン類を作用させると、神経細胞の分化の指標である神経突起が長くなり、その数も増加した。EGCGの作用はEGCやGAよりも強く (図3) ¹⁸⁾、EGC-M5の作用はEGCGに次いで強かった¹⁹⁾。EGC-M5-Sulも神経突起伸長作用を有していた¹⁹⁾。興味深いことに、ラットに5-(3',4'-dihydroxyphenyl)

図2 EGCGの代謝分解物

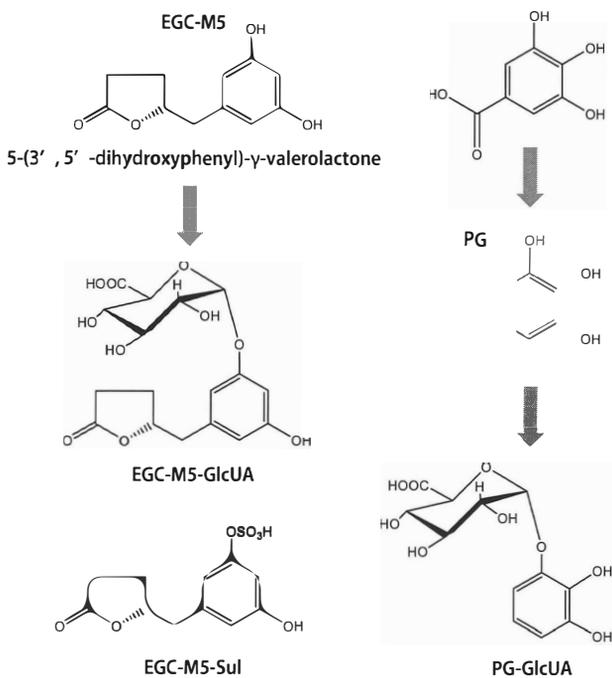


表1 EGCGおよびその代謝分解物のBBB透過性

Sample	Coexistence sample	Permeability coefficient (10 ⁻⁶ cm/s)	BBB permeability (%) (0.5 h)
EGCG		13.45 ± 0.57	4.00 ± 0.17
EGCG	EGC	10.53 ± 0.63	3.13 ± 0.19
EGC		16.70 ± 1.86	4.96 ± 0.55
EGC	EGCG	12.39 ± 1.56	3.68 ± 0.47
EGC	GA	6.01 ± 1.57	1.79 ± 0.47
GA		31.73 ± 3.39	9.42 ± 1.01
GA	EGC	26.98 ± 2.77	8.01 ± 0.82
EGC-M5		17.99 ± 0.79	5.34 ± 0.23
EGC-M5-Sul	-	14.61 ± 1.35	4.34 ± 0.40
EGC-M5-GlcUA	-	12.53 ± 0.02	3.72 ± 0.01
Pyrogallol	-	13.79 ± 1.62	4.10 ± 0.48
Pyro-GlcUA	-	9.28 ± 1.41	2.76 ± 0.42
Caffeine	-	45.22 ± 4.41	13.43 ± 1.31

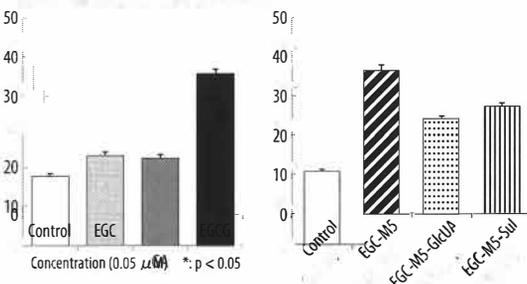
Data are expressed as the mean ± SEM (n = 3)

- γ -valerolactoneを投与すると硫酸抱合体の5-(3',4'-dihydroxyphenyl)- γ -valerolactoneが脳内で検出されたが、アグリコンの形では認められなかったことが報告されている²⁰⁾。したがって、EGC-M5-SulはEGCG分解物として脳内で重要な役割を担っている可能性がある。

緑茶カテキン摂取による遺伝子発現の変化

緑茶カテキン摂取による脳機能低下抑制作用を明らかにするために、脳内でどのような遺伝子の発現が変化しているかを調べた。緑茶カテキンを1カ月間投与したSAMP10マウスの海馬では、nuclear

図3 EGCGとその代謝分解物によるSH-SY5Y細胞の神経突起の長さに対する作用



receptor subfamily 4, group A, member 1 (Nr4a1)、FBJ osteosarcoma oncogene (Fos)、early growth response 1 (Egr1)、neuronal PAS domain protein 4 (Npas4)、cysteine rich protein 61 (Cyr61) 等のいくつかの最初期遺伝子 (IEGs) が有意に高い発現を示していた⁸⁾。IEGの発現は細胞外刺激にตอบสนองして初めて誘導され、神経活動のマーカーとして広く用いられている。Fos、Egr1、Npas4は長期シナプス可塑性に重要

な役割を果たす。さらに、Npas4は回路内の興奮性と抑制性のバランスを制御している。Nr4a1は、スパインとシナプスの密度と分布を制御し、加齢に伴う脳機能の低下を抑制する役割を担っており、Cyr61は海馬の樹状突起の分枝に必要である。これらのIEGが海馬で高発現すると、シナプス可塑性が高まり、学習・記憶能力の維持・向上に寄与すると考えられている。神経細胞における多くのIEGの転写は、シナプスの活動や活動電位に伴うカルシウムイオンの流入によって開始される。さらに、EGCGは海馬のニューロンにおけるカルシウムシグナルを調節する。したがって、EGCGは海馬神経細胞における細胞内カルシウムイオンのレベルを増加させることにより、IEGの発現を増加させている可能性がある。

EGCGおよびその分解物の脳への作用

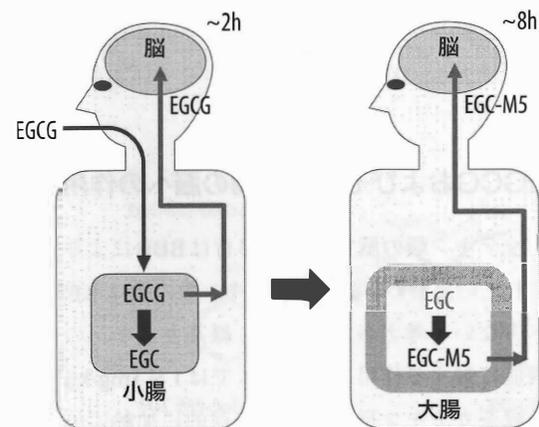
カテキン類の脳実質への移行はBBBにより制限されているため、脳内のカテキン類の量は末梢に比べ少ないと考えられている。緑茶カテキンの認知機能に対する作用は、マウスでは1日1mg/kg以上の緑茶カテキン摂取で濃度依存的に加齢に伴う認

知機能低下が抑制されることが示唆された⁸⁾。また、疫学研究により、1日1杯または数杯の緑茶の摂取が認知症のリスクを低減することが報告されている^{2,3,9,10)}。カテキン類の水への溶出は温度依存性があり、熱水中でも安定である。緑茶に含まれるカテキン量は、一般的に茶葉からお湯で溶出すると70mg/100mL程度、市販のペットボトルの緑茶では30～50mg/100mL程度とされている。先に述べたカテキンのBBB透過性から、1日に数杯、あるいはペットボトル1本程度の緑茶を摂取すると、EGCGとその分解物の濃度が神経細胞の分化を促進すると推測され、加齢に伴う認知機能の低下を抑制することが期待される。

毎日数杯の緑茶を飲むことで、EGCGとその分解物の両方が脳に取り込まれ、神経細胞を活性化するのではないかと考え、以下のようにまとめ、図4に示した。

1. 緑茶摂取後2～3時間で、ごく微量のEGCGが小腸から取り込まれ、血流に乗って脳実質に至る。
2. 取り込まれたEGCGは、IEGの発現を高め、細胞の分化を促進することで神経細胞を活性化させる。その後、EGCGは排泄される。
3. 一方大腸では、ほとんどのEGCGが腸内細菌叢に

図4 EGCGとその代謝分解物が時間差をもって脳に作用する(仮説)



よって約8時間かけてEGCからEGC-M5などのバレロラクトンに分解される。

4. EGC-M5（およびその他の分解物）は大腸から取り込まれる。
5. EGC-M5とその抱合体は、全身循環を介して脳へ送達される。
6. 神経細胞が再び活性化される。

このようにして、毎日数杯の緑茶を飲むことで脳の老化を遅らせることができるかもしれない。カテキン類のバイオアベイラビリティは低いと考えられていたが、分解代謝物では、個人差は大きいものの、約40～62%であることが報告されている。フラバン-3-オールに共通の代謝分解産物として、フェニルバレロラクトンやフェニルバレロ酸が重要であることが指摘されていることから²¹⁾、EGCGだけではなくその他のカテキン類に共通した作用があるのかもしれない。EGCG分解物では神経細胞への作用のほか、血圧、免疫、糖代謝への有益な作用が報告されている。今後、カテキン分解物の生理作用がさらに明らかになると思われる。

謝辞

カテキン代謝物に関する成果は、三井農林(株)食品総合研究所の南条文雄、高垣晶子、原(寺脇)彩との共同研究により得られたものです。

(海野けい子)

文献

- 1) Saito E, Inoue M, Sawada N, et al: Association of green tea consumption with mortality due to all causes and major causes of death in a Japanese population: the Japan Public Health Center-based Prospective Study (JPHC Study) . Ann Epidemiol. 25: 512-518, 2015.
- 2) Noguchi-Shinohara M, Yuki S, Dohmoto C,

- et al: Consumption of green tea, but not black tea or coffee, is associated with reduced risk of cognitive decline. *PLoS One*. 9: e96013, 2014.
- 3) Kakutani S, Watanabe H, Murayama, N: Green Tea Intake and Risks for Dementia, Alzheimer's Disease, Mild Cognitive Impairment, and Cognitive Impairment: A Systematic Review. *Nutrients*. 11: 1165, 2019.
- 4) Ran LS, Liu WH, Fang YY, et al: Alcohol, coffee and tea intake and the risk of cognitive deficits: a dose-response meta-analysis. *Epidemiol Psychiatr Sci*. 30: e13, 2021.
- 5) Zhang J, Wang A, Zhang X, et al: Association between tea consumption and cognitive impairment in middle-aged and older adults. *BMC Geriatr*. 20: 447, 2020.
- 6) Okubo H, Inagaki H, Gondo Y, et al: Association between dietary patterns and cognitive function among 70-year-old Japanese elderly: a cross-sectional analysis of the SONIC study. *Nutr J*. 16: 56, 2017.
- 7) Qiu L, Sautter J, Gu D: Associations between frequency of tea consumption and health and mortality: evidence from old Chinese. *Br J Nutr*. 108: 1686-1697, 2012.
- 8) Unno K, Pervin M, Taguchi K et al: Green Tea Catechins Trigger Immediate-Early Genes in the Hippocampus and Prevent Cognitive Decline and Lifespan Shortening. *Molecules*. 25: 1484, 2020.
- 9) Shirai Y, Kuriki K, Otsuka R et al: Green tea and coffee intake and risk of cognitive decline in older adults: The National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging. *Public Health Nutr*. 23: 1049-1057, 2020.
- 10) Kuriyama S, Hozawa A, Ohmori K et al: Green tea consumption and cognitive function: a cross-sectional study from the Tsurugaya Project 1. *Am J Clin Nutr*. 83: 355-361, 2006.
- 11) Unno K, Takabayashi F, Kishido T et al: Suppressive effect of green tea catechins on morphologic and functional regression of the brain in aged mice with accelerated senescence (SAMP10). *Exp Gerontol*. 39: 1027-1034, 2004.
- 12) Unno K, Takabayashi F, Yoshida H et al: Daily consumption of green tea catechin delays memory regression in aged mice. *Biogerontology*. 8: 89-95, 2007.
- 13) Unno K, Ishikawa Y, Takabayashi F et al: Daily ingestion of green tea catechins from adulthood suppressed brain dysfunction in aged mice. *Biofactors*. 34: 263-271, 2008.
- 14) Kohri T, Matsumoto N, Yamakawa M et al: Metabolic fate of (-)-[4-(3)H]epigallocatechin gallate in rats after oral administration. *J Agric Food Chem*. 49: 4102-4112, 2001.
- 15) Clifford MN, van der Hooft JJ, Crozier A: Human studies on the absorption, distribution, metabolism, and excretion of tea polyphenols. *Am J Clin Nutr*. 98: 1619S-1630S, 2013.
- 16) Unno K, Nakamura Y: Green Tea Suppresses Brain Aging. *Molecules*. 26:4897, 2021.
- 17) Faria A, Pestana D, Teixeira D et al: Insights into the putative catechin and epicatechin transport across blood-brain barrier. *Food Funct*. 2: 39-44, 2011.
- 18) Pervin M, Unno K, Nakagawa A et al: Blood brain barrier permeability of (-)-epigallocatechin gallate, its proliferation-enhancing activity of human neuroblastoma SH-SY5Y cells, and its preventive effect on age-related cognitive dysfunction in mice. *Biochem Biophys Rep*. 9: 180-186, 2017.
- 19) Unno K, Pervin M, Nakagawa A et al: Blood-brain Barrier Permeability of Green Tea Catechin Metabolites and their Neuritogenic Activity in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells. *Mol Nutr Food Res*. 61: 1700294, 2017.
- 20) Angelino D, Carregosa D, Domenech-Coca C et al: 5-(Hydroxyphenyl)- γ -Valerolactone-Sulfate, a Key Microbial Metabolite of Flavan-3-ols, Is Able to Reach the Brain: Evidence from Different in Silico, In Vitro and In Vivo Experimental Models. *Nutrients*. 11: 2678, 2019.
- 21) Mena P, Bresciani L, Brindani N et al: Phenyl- γ -valerolactones and phenylvaleric acids, the main colonic metabolites of flavan-3-ols: synthesis, analysis, bioavailability, and bioactivity. *Nat Prod Rep*. 36: 714-752, 2019.