

## 緑茶抽出物成分（茶ポリフェノール，カフェイン）の I 型アレルギーに対する効果

塩崎哲也,<sup>a</sup> 杉山 清,<sup>a</sup> 中里賢一,<sup>b</sup> 竹尾忠一\*,<sup>b</sup>  
静岡県立大学薬学部漢方研究施設,<sup>a</sup> (株)伊藤園中央研究所<sup>b</sup>

### Effect of Tea Extracts, Catechin and Caffeine against Type-I Allergic Reaction

Tetsuya SHIOZAKI,<sup>a</sup> Kiyoshi SUGIYAMA,<sup>a</sup> Kenichi NAKAZATO,<sup>b</sup>  
and Tadakazu TAKEO<sup>b</sup>

*Institute of Traditional Chinese Medicines, School of Pharmaceutical Sciences  
University of Shizuoka,<sup>a</sup> 52-1 Yada, Shizuoka 422, Japan and Central  
Research Institute, Ito-en, Co., Ltd.,<sup>b</sup> 21, Mekami, Sagara-cho,  
Haibara-gun, Sizuoka 421-05, Japan*

(Received January 8, 1997)

The antiallergic effects of green tea, oolong tea, and black tea extracts by hot water were examined. These extracts inhibited the passive cutaneous anaphylaxis (PCA) reaction of rat after oral administration. Three tea catechins, (–)-epigallocatechin (EGC), (–)-epicatechin gallate (ECg), and (–)-epigallocatechin gallate (EGCg) isolated from green tea showed stronger inhibitory effects than that of a green tea extract on the PCA reaction. The inhibitory effects of EGC and EGCg on the PCA reaction were greater than that of ECg. Caffeine also showed a inhibitory effect on the PCA reaction.

These results indicate that tea could provide a significant protection against the type-I allergic reaction. These findings also suggest that tea catechins and caffeine play an important role in having an inhibitory effect on the type-I allergic reaction.

**Key words**——catechin; caffeine; antiallergic activity; type I allergic reaction

### 1. 緒 言

植物体成分の1つフラボノイド成分あるいはテオフィリン等には，抗炎症作用，鎮咳効果のあることが知られている。

茶の葉には特異的に高濃度のフラボノール（茶ポリフェノール成分）及びテオフィリンの類縁物質カフェインが含まれており，<sup>1)</sup> それから造られた緑茶には，虫に刺された際の炎症，あるいは赤目等の沈静化に効果があると「本朝食鑑」に記載されている。そこで今回茶に含まれる水溶性成分の抗アレルギー効果について検討した。

既に，我々<sup>2)</sup>は茶水溶性成分にはヒアルロニダーゼ活性阻害効果があり，その作用は茶ポリフェノール成分によることを報告している。その後さらに茶抽出液にラット肥満細胞からの脱顆粒誘発剤 (Compound48/80) によるヒスタミン遊離抑制作用を見出し，その作用は茶液中

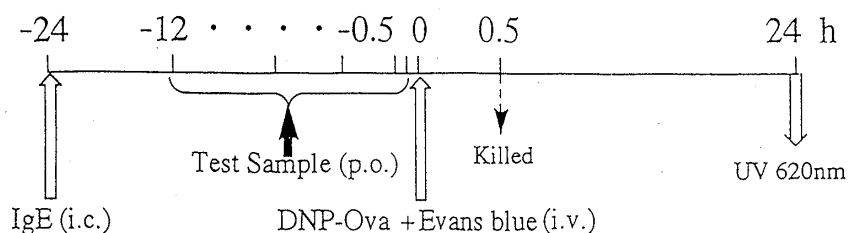


Fig. 1. PCA Assay

に含まれる茶ポリフェノール成分によることを報告している。<sup>3,4)</sup>

一方、大森らは烏龍茶のタンニン成分に抗アレルギー作用のあることを、<sup>5)</sup> また中里らは烏龍茶ポリフェノール成分が経皮吸収されてカラゲニンの皮内注射で誘発される皮膚表面の炎症を抑制することを報告している。<sup>6)</sup>

最近になり、経口摂取された緑茶ポリフェノール成分(茶カテキン類)が小腸部にて体内に吸収され、その後血管内を流れて体内各部位に転流することが明らかとなった。<sup>7,8)</sup> そこで経口投与された茶ポリフェノール成分の生体内での免疫系への影響を検討することを目的として、PCA 反応系を用いて I 型アレルギー作用への茶ポリフェノール成分及びカフェインの効果を *in vivo* 実験により検討をしたので報告する。

## 2. 実験方法

**材料** 1) 茶抽出物——市販の緑茶、烏龍茶及び紅茶(いずれも中級品)を 50 倍量の熱湯にて 5 分間抽出した後、茶殻と抽出液を遠心分離(2000 rpm/5 min)し、その上清液を濃縮し凍結乾燥して試料とした。

2) 茶カテキン——緑茶抽出物から HPLC 法<sup>9)</sup>により 3 種類の茶カテキン(一)エピガロカテキン(EGC), (一)エピカテキン・ガレート(ECg), (一)エピガロカテキン・ガレート(EGCg)を分離・精製し純度 98% の物を試料とした。

3) 試薬——抗 DNP IgE 抗体(Sera-labo 社製マウスモノクローナル抗体), OVA (Sigma 社製, ovalbumin, Grade III), DNP (東京化成製品, dinitrophenol), Evans blue (和光純薬工業製品), Tranilast, リザベン(キッセイ製薬製品), カフェイン, テオフィリン, テオブロミン(和光純薬工業製品)。

PBS (phosphate-buffered saline): NaCl; 8.0 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1.15 g, KCl; 0.2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.2 g を水に溶かし 1000 ml とした。

**動物** 7—9 週齢の Wistar 系雄性ラットを 1 群 6 匹として実験に供した。

**PCA 反応試験<sup>10)</sup>** PCA 反応の試験方法は Fig. 1 に従って行った。

まず 7—9 週齢ラットの剪毛した背部(4×5 cm) 4 箇所の内右側 2 箇所に抗 DNP IgE・PBS 溶液(25 ng/ml)を 0.05 ml 注射し、左側は対照として PBS 液を注射した。24 h 後に DNP-OVA・PBS 溶液(20 μg/ml)と Evans blue・PBS 溶液(5 mg/ml)の等量混合物を尾静脈から 1.0 ml 注入して受身皮膚アナフィラキシー反応を起こさせ、その 30 min 後にラットを放血致死させて、皮膚の青染部位を切りとり、組織片を 2N NaOH 溶液 1.0 ml にて 24 h 処理後、5M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 溶液 0.5 ml で中和し、アセトン 3.0 ml で抽出し、アセトン抽出液に含まれる色素濃度を OD<sub>620 nm</sub> にて計測した後、次式にて色素漏出抑制率を計算した。

$$\text{色素漏出抑制率 (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A; 対照群の色素漏出量

### B; 緑茶成分経口投与群の色素漏出量

なお、試験結果については Student 法による統計処理を行った。

## 3. 実験結果

**3.1 緑茶抽出物の分画** 緑茶抽出物中には緑茶ポリフェノール成分が約 20% (乾物当り) 含まれており、残りは緑茶中の水溶性有機物類であった。

Table 1 にこの緑茶ポリフェノール成分から HPLC 法により茶カテキンを分画した際の、各画分の収量と緑茶抽出物中の各カテキンの含有率を示した。また Fig. 1 に主要茶カテキンの化学構造を示した。

**3.2 PCA 反応誘発前、色素漏出時間を変えて緑茶抽出物を経口投与した際の抑制率** 抗 DNP IgE 感作ラットに DNP-OVA を静注する前、時間を変えて緑茶抽出物を経口投与した際の、PCA 抑制率の変化を示したものが Table 2 である。

PCA 反応による局部皮膚での色素漏出量を見たところ、DNP-OVA 静注 60 min 前に緑茶抽出物を経口投与した区が最も漏出量が少なく、その前後では色素漏出量は大きくなる傾向が見られた。

この結果をもとに、以後の実験では DNP-OVA の静注 60 min 前に、試験試料を経口投与した。

**3.3 緑茶、烏龍茶及び紅茶抽出物の PCA 抑制効果** Table 3 に緑茶、烏龍茶、紅茶の抽出物を用いて行った PCA 反応の結果を示した。Table 3 に示されているように 150 mg/kg の経口投与による PCA 抑制率は、緑茶で 67.8、烏龍茶で 54.7、紅茶で 54.5% であった。

各茶ともに経口投与による、PCA 反応抑制効果はほぼ同程度認められた。

### 3.4 緑茶ポリフェノール成分による PCA 反

Table 1. The Recoveries of Tea Catechins from Green Tea

Elements	Yield (g)	Content <sup>a)</sup> (%)
Green tea	1000	
Green tea extract powder	208	
EC	6.7	3.2
ECg	12.9	6.2
EGC	5.7	2.7
EGCg	47.5	22.8

EC, (–)-epicatechin; ECg, (–)-epicatechin-3-gallate; EGC, (–)-epigallocatechin; EGCg, (–)-epigallocatechin-3-gallate.

a) content of catechins in a green tea extract powder.

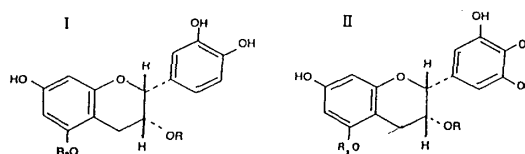


Fig. 2. Tea Catechins

- I-i (–)-epicatechin (EC)  
 $R_1 = R_2 = H$
- I-ii (–)-epicatechin-3-gallate (ECg)  
 $R_1 = 3,4,5\text{-trihydroxybenzoyl}$   
 $R_2 = H$
- II-iii (–)-epigallocatechin (EGC)  
 $R_1 = R_2 = H$
- II-iv (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCg)  
 $R_1 = 3,4,5\text{-trihydroxybenzoyl}$   
 $R_2 = H$

Table 2. Inhibition Effect for PCA of Green Tea Extract *p.o.* Administrated on Different Time before Intravenous Injection of Antigen

Time	Determination of extravasated dye ( $\mu\text{g}/\text{spot}$ )		Inhibition (%)
	Control	Green tea extract powder <sup>a)</sup>	
30 min	$7.72 \pm 1.57^b$	$7.05 \pm 0.96$	8.7
60 min	$8.16 \pm 1.03$	$1.66 \pm 0.27^{**}$	79.7
180 min	$7.41 \pm 1.12$	$1.89 \pm 0.32^{**}$	74.5

a) Dose of 300 mg/kg. b) Each value represents of the mean  $\pm$  S.D. of 6 determinations. Significant difference from control: \*\*  $p < 0.001$ .

Table 3. Inhibitory Effect for PCA of Tea Extracts

Elements	Dose (mg/kg)	Determination of extravasated dye ( $\mu\text{g}$ )	Inhibition (%)
Control		$8.26 \pm 1.35^a$	—
Green tea extract powder	150	$2.66 \pm 0.31^*$	67.8
	300	$1.03 \pm 0.21^{**}$	87.5
Oolong tea extract powder	150	$3.74 \pm 0.97^{**}$	54.7
	300	$2.44 \pm 0.74^{**}$	70.4
Black tea extract powder	150	$3.76 \pm 1.00^{**}$	54.5
	300	$0.61 \pm 0.53^{**}$	92.6
Tranilast	100	$3.99 \pm 0.92^{**}$	51.7

a) Each value represents of the mean  $\pm$  S.D. of 6 determinations. Significant difference from control: \*  $p < 0.01$ , \*\*  $p < 0.001$ . Catechins and tranilast were administered *p.o.* 60 min before the injection of antigen.

Table 4. Inhibitory Effect for PCA of Catechins

Elements	Dose (mg/kg)	Determination of extravasated dye ( $\mu\text{g}$ )	Inhibition (%)
Control		$8.49 \pm 1.62^a$	—
ECg	50	$7.44 \pm 1.73$	12.4
	100	$4.92 \pm 1.33^*$	42.0
EGC	50	$5.85 \pm 1.41^*$	31.1
	100	$3.17 \pm 0.60^{**}$	62.7
EGCg	50	$6.27 \pm 2.01$	26.1
	100	$3.48 \pm 1.48^{**}$	59.0
Tranilast	100	$4.21 \pm 1.01^{**}$	50.4

a) Each value represents of the mean  $\pm$  S.D. of 6 determinations. Significant difference from control: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ . Catechins and tranilast were administered *p.o.* 60 min before the injection of antigen.

**応抑制効果** Table 4 に緑茶抽出物及び茶カテキンによる PCA 反応抑制効果の試験結果をまとめた。

緑茶抽出物を 150 mg/kg ラットに経口投与した際の PCA 抑制率は Table 3 に示したように約 67.8% で、茶カテキンについてみると、ECg, EGC, EGCg それぞれ 100 mg/kg の投与量で、42.0, 62.7, 59.0% の抑制率を示していた。トラニラストは、100 mg/kg の経口投与量で約 50—52% の抑制率を示した。

この結果から緑茶抽出物による PCA 反応抑制効果は、抽出物に含まれる茶カテキン類によることが考察された。

茶カテキンの PCA 反応抑制効果はカテキン・3・ガロイル誘導体である ECg よりもガロカテキンとその 3 ガロイル誘導体である EGC あるいは EGCg の方が高い値を示した。また対照薬として用いたトラニラストは茶カテキン類とほぼ同程度の抑制率を示した。

**3.5 茶カテキンの投与経路と PCA 抑制活性の比較** Table 5 に EGCg を経口及び静脈内投与した際の、PCA 抑制効果を示した。

この結果から静脈投与した際の抑制効果は、経口投与の約 4 分の 1 濃度、25 mg/kg で同程度の効果を示していた。

Table 5. Influence of Administration Route of EGCg on PCA in Rats

Element	Route	PCA	
		Dose (mg/kg)	Inhibition (%)
EGCg	<i>p.o.</i>	100	59.0
	<i>i.v.</i>	25	53.8

**3.6 茶カフェインの PCA 抑制効果** Table 6 に緑茶に含まれるカフェイン及びその類縁物質と、EGCg の PCA 反応抑制効果を示した。

カフェインは、EGCg の 30% 程度の濃度 (27.7 mg/kg) で同程度の抑制効果を示した。またカフェインの類縁物質、テオフィリンはカフェインより低い濃度 12.5 mg/kg で同程度の抑制効果を示したが、テオブロミンの PCA 抑制効果は低かった。

この結果から茶抽出物の PCA 反応抑制効果にはカフェインの関与も明らかとされた。

**3.7 茶成分経口投与後の PCA 反応抑制率の経時変化** Fig. 3 に緑茶抽出物、EGCg 及びカフェインを経口投与した際の、PCA 反応の抑制率の経時的变化を示した。

各成分とも経口投与後 60 min 前後に最大抑制率を示し、その後時間とともに抑制率が低下していた。カフェインは最大値に達する時間は他の 2 成分と比較して若干早く、またその効果も早く消失していた。これに対して茶カテキンと緑茶抽出物は比較的長く抑制効果を維持していた。

#### 4. 考 察

筆者らは既に茶抽出物及び茶カテキン類が抗アレルギー作用のあることを、ラット腹腔肥満細胞を用いたヒスタミン遊離抑制作用から考察している。<sup>3,4)</sup>

今回、茶抽出物及びその成分が経口投与された後、腸管にて吸収され体内の免疫系に影響を与え、受身皮膚アナフィラキシー反応を抑制することを PCA 反応系により明らかとした。この結果は花粉症などの I 型アレルギー反応を抑制する効果を予測させるものである。

茶カテキンは体内に吸収されると、血管内をアルブミンと結合した形で転流し、体内器官組

Table 6. Inhibition Ratio of Xanthines and EGCg

Materials	PCA	
	Dose (mg/kg)	Inhibition (%)
Caffeine	27.7	47.5
Theopylline	12.5	43.5
Theobromine	Non-activity	—
EGCg	100	59.0

Test samples were administered *p.o.* 60 min before the injection of antigen.

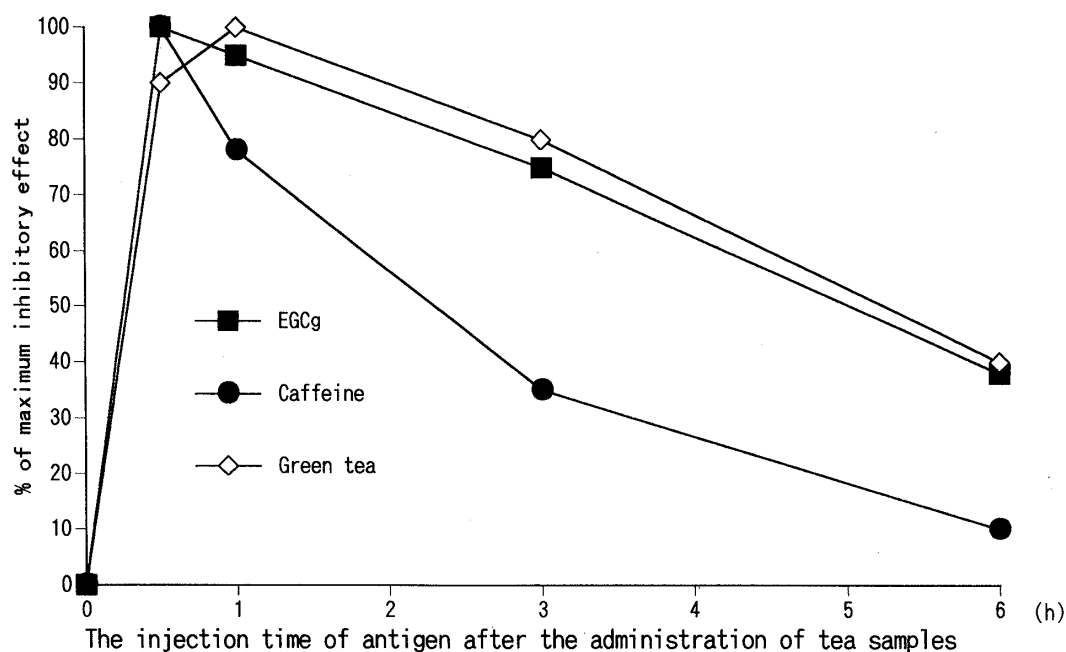


Fig. 3. Time Course of Change in Relative Inhibitory Effect of Green Tea and the Ingredients on PCA  
Sample dose: green tea, 150 mg/kg; EGCg, 100 mg/kg; caffeine, 50 mg/kg.

織の膜質構造,あるいは血流中の LDL 等と可逆的結合をすることが明らかとされていることから,<sup>7,8,11)</sup> 茶カテキンによる PCA 反応の抑制は,体内に吸収された茶カテキンが血管内を流れている間に肥満細胞あるいは好塩基球に影響を及ぼし,これら細胞上での抗原・抗体反応によって起きるヒスタミン放出が抑制されたためと思われるが,その詳細な機構については今後の課題である。

茶カテキンの経口投与と静脈投与での抑制効果を比較すると,経口投与の際には静脈投与の約 4 倍高い濃度を必要とした。これは茶カテキンが腸管にて吸収される際に,投与された量の一部しか吸収されないため,<sup>12)</sup> その分だけ余分に投与量が必要であったと考えられる。

各種茶抽出物はほぼ同程度の PCA 反応抑制率を示した。このことは緑茶中の単分子の茶カテキン類だけでなく,烏龍茶,紅茶製造中に生合成される,烏龍茶,紅茶タンニンである茶カテキンの酸化重合体(カテキンの 2—3 倍体)<sup>13)</sup> もまた,経口摂取された際に腸管から体内に吸収され,体内を血流に乗り転流して,カテキンと同様な動態を生体内で示しているものと考えられる。このような酸化重合型カテキン類の腸管吸収と体内動態については今後更に検討する必要がある。

茶に含まれるカフェイン(3 メチル-キサンチン)に PCA 反応抑制の効果があることが明らかにされた。またカフェインはエピガロカテキンガレート (EGCg) の 4 分の 1 程度の低い濃度で抑制効果を示したが,これはカフェインの腸管での吸収がカテキンよりも高いことが 1 つの理由と考えらる。またカフェインは体内に吸収された後,カテキンよりも速やかに体内で代謝され排泄されることが予測されるので,これがカテキンよりもカフェインの PCA 反応抑制効果が早期に減衰した理由と考えられる。

## 5. 要 約

抗 DNP IgE 抗体感作ラットに緑茶,烏龍茶,紅茶抽出物を経口投与すると, DNP-OVA 静脈注射により抗体感作局部での PCA 反応が抑制された。

緑茶抽出物から分離した,3 種の茶カテキンを経口投与すると,緑茶抽出物よりも高い PCA 反応抑制効果が見られた。特にガロカテキンとその 3 ガロイル誘導体 (EGC, EGCg) の PCA 反応抑制効果は高かった。茶抽出物に含まれるカフェインについても顕著な PCA 反応抑制効果を認めた。

以上の結果から茶抽出物を経口投与すると I 型アレルギーを抑制する効果の有ることが示唆された。またこの効果は茶抽出物に含まれている,茶カテキン類及びカフェインによるものと考えられる。

緑茶抽出物,茶カテキン,カフェインを経口投与した後,経時的に PCA 反応抑制率の変化を追跡したところ,抑制率は投与後 60 min 前後に最大となり,その後抑制率は時間とともに減衰した。その際カフェインが最も早く 3 h で減衰したが,茶カテキンは 6 h 以上抑制効果を維持していた。

## 引 用 文 献

- 1) 中林敏郎,伊奈和夫,坂田完三,“緑茶,紅茶,烏龍茶の化学と機能,”弘学出版,1991, p. 44.
- 2) 前田有美恵,山本政利,増田俊夫,杉山 清,横田正実,中込和哉,田中秀興,高橋宇正,小林利彰,小林栄人,食衛誌, **31**, 233—237 (1990).
- 3) 前田有美恵,山本政利,増田俊夫,杉山 清,横田正実,中込和哉,田中秀興,高橋宇

- 正, 小林利彰, 食衛誌, **30**, 295—299 (1989).
- 4) 塩崎哲也, 杉山 清, 竹尾忠一, 和漢医薬学雑誌, **11**, 144—145 (1994).
  - 5) Ohomori Y., Ito M., Kishi M., Mizutani H., Katada T., Konishi H., *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 683—686 (1995).
  - 6) 中里賢一, 竹尾忠一, 福井和彦, 日本農芸化学会 1996 年度大会, 京都, 1996 年 3 月, p. 9.
  - 7) Unno T., Takeo T., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1558—1559 (1995).
  - 8) Unno T., Takeo T., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 2066—2068 (1996).
  - 9) 良辺文久, 竹尾忠一, 末広文一, 新屋 洋, 柴田憲司, 田中 明, “機能性食品素材の高度分離・精製と開発,” 食品産業ハイセパレーション技術研究組合, 1994, p. 523.
  - 10) 大内和雄編, “炎症とアレルギー I-1,” 廣川書店, 1993, p. 96.
  - 11) 平野玲子, 近藤和雄, 岩本珠美, 松本明世, 蔵田英明, 竹尾忠一, 五十嵐 脩, 板倉弘重, 第 50 回日本栄養・食糧学会大会, 京都, 1996 年 4 月, p. 36.
  - 12) Matsumoto N., Tonooka F., Ishigaki A., Okushio K., Hara Y., *Proceedings of the International Symposium on Tea Science*, 1991 年 8 月, p. 253.
  - 13) 中林敏郎, 伊奈和男, 坂田完三, “緑茶, 紅茶, 烏龍茶の化学と機能,” 弘学出版, 1991, p. 22.