

茶およびにがりが膵リパーゼ活性に及ぼす影響

The Effects of Various Teas and Bitterns on the Pancreatic Lipase Activity

榮 昭博, 関崎 悦子

要 約

茶の抗肥満効果を検討するため、鶏臍臓から粗酵素を調製し、これを用いてリパーゼ活性に及ぼす茶の影響を調べた。その結果、次のことがわかった。

1. 緑茶、ジャスミン茶は顕著にリパーゼ活性を阻害した ($p<0.001$)。
2. ウーロン茶はリパーゼ活性を阻害した ($p<0.01$)。
3. プール茶はリパーゼ活性を高めた (186%)。
4. 緑茶よるリパーゼ活性低下には濃度依存性が認められた。
5. 緑茶よるリパーゼ活性低下はショ糖、でんぷんの添加では影響を受けなかったが、卵アルブミンの添加によりリパーゼ活性低下が抑制された。また、カゼインの添加ではリパーゼ活性が逆に増加した。
6. にがりは顕著にリパーゼ活性を阻害し ($p<0.001$)、そのリパーゼ活性低下には濃度依存性が認められた。

キーワード：リパーゼ、活性阻害、茶、にがり、抗肥満

はじめに

ヒトの死を招く動脈硬化症や心筋梗塞等の疾患を促進させるのが、肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症等の生活習慣病である。糖尿病、高血圧、高脂血症は発生頻度の高い疾患であるが、これらは偶然重なって発症するのではなく、その上流に共通の基盤をもって集積する独立した病態がある。この病態は「メタボリックシンドローム」と呼ばれている¹⁾。日本内科学会の診断基準によると、ウエスト周囲が男性で85cm以上、女性で90cm以上、かつ、糖尿病、高血圧、高脂血症のどれか2つ以上の診断がある場合を「メタボリックシンドローム」としている。この「メタボリックシンドローム」は、その根底に肥満が存在するが、その肥満の程度とは必ずしも相関しないようである。軽度の肥満であっても、腹腔内脂肪が蓄積する「内臓型肥満」は「メタボリックシンドローム」の危険因子となりうる²⁾。肥満の発症予防は摂取エネルギーの過剰を抑えることと、適切に運動をすることである。摂取エネルギーの制限には、今まで、食欲のコントロールが重要であると考えられてきた。また、肥満はそのセルフコントロールの欠如が主な原因と考えられていた。しか

しながら、最近の研究によると肥満はその人のセルフコントロールの欠如が原因ではなく、むしろ、食欲調節ホルモン（レプチン、グレリン、インスリン）^{2,3,4)} やアディポサイトカイン^{5,6)}等の生化学的因子による代謝調節機構が複雑に絡み合った病態であることがわかってきた。そこで、食欲のコントロールに依存しない、抗肥満行動（ダイエット方法）を検索してみると、欧米ではオルリスタットのような消化酵素阻害剤（リパーゼ活性を30%阻害する抗肥満治療薬）⁷⁾ による脂肪の吸収阻害などが行われていて、その有効性が提唱されている。最近の我が国での研究^{8,9)}では食品中の特定の成分、例えば蟹甲羅などのキチン・キトサンや鮭の頭部から調製したコンドロイチン硫酸等が膵リパーゼ活性を阻害して肥満予防に有効であろうことが示されている。また、茶のサポニン¹⁰⁾ やウーロン茶中のポリフェノール¹¹⁾ が脂肪の乳化や消化を阻害することも示唆されている。また、著者らはアントシアニン系色素を含む食品の水抽出物が膵リパーゼ活性を阻害することを明らかにし、これらの食品の摂取は抗肥満に一定の効果があることを報告した¹²⁾。

本研究では、日常、飲用されている緑茶に抗肥満効果が期待できるかを明らかにするため、先ず、茶抽出

物について、鶏臍臓から抽出された粗酵素液に含まれるリパーゼの活性阻害の有無を調べた。次いで、茶のリパーゼ活性の阻害に糖、蛋白質の混在がどのように影響するかについても調べた。また、ダイエットに効果があるとされている「にがり」についてもそのリパーゼ活性に及ぼす影響を検討した。

材料および方法

I 酵素液の調製

鶏の臍臓および十二指腸2gを少量の石英砂とともに乳鉢ですりつぶし、リン酸緩衝液 (pH7.2) を加えよく攪拌し、ホモジェネイトを得た。これを遠心管に移し遠心分離 (3000rpm10分間) し、得られた上澄み液をさらに遠心分離 (12,000×g20分間) し、脂質画分と沈殿物を除いた上澄み液を粗酵素液とした。なお、粗酵素液中の蛋白質の濃度をLowry法¹³⁾ で測定した。その結果、粗酵素液中の蛋白質濃度は3.8mg/mlであったので、実験1. のリパーゼ活性測定ではこの粗酵素液をリン酸緩衝液で希釈して蛋白質濃度1mg/ml、実験2~4. では蛋白質濃度2mg/mlとし、それぞれリパーゼ活性測定に用いた。

II 試料の調製

茶：市販の静岡県産煎茶5gを純水495mlと共に100℃下で10分間置いた。これを東洋濾紙No5Aにて濾過し、濾過液を茶抽出物とした。また、ウーロン茶 (中国福建省産)、ジャスミン茶 (中国福建省産)、プアール茶 (中国雲南省産) 5gについて同様に操作して抽出液を得た。

にがり：兵庫県赤穂市産の「天然にがり」赤穂化成 (株) を群馬県内小売店で購入した。主な成分：マグネシウム9.5mg/ml, ナトリウム3.3mg/ml

添加物：ショ糖 (国産化学 (株)), 可溶性でんぷん (国産化学 (株)), 卵アルブミン (国産化学 (株)), カゼイン (国産化学 (株)) 各々2gをリン酸緩衝液 (pH7.2) 98mlに溶かし、可溶性でんぷんとカゼインについてはさらに100℃下の水浴上に10分間置いて真性溶液とし、それぞれ2%溶液を調製した。

III リパーゼ活性

リパーゼ活性の測定はアルカリ滴定法^{7,12)} を改良して行った。

①実験操作

実験1. 各種の茶抽出液がリパーゼ活性に及ぼす影響

試験管A, A', B, B'に水3ml, 粗酵素液1mlをそれぞれ加えた。試験管A', B'を100℃の水浴上で5分間加熱し、リパーゼ活性を不活性化させた。次いで、試験

管A, A'には水1ml, B, B'には茶抽出液1ml加え、すべての試験管にそれぞれ基質 (30%オリーブ油) 2mlを加え良く混和し、40℃で60分間インキュベートした。インキュベート後、直ちに、氷冷すると同時にエタノール5mlを加えた。これを、三角フラスコに移し、試験管内をさらにエタノール5mlで洗浄しこれらすべてを三角フラスコに移し、1%フェノールフタレイン/エタノールを指示薬とし0.05M水酸化ナトリウム水溶液で中和滴定した。AおよびA'の滴定量の差を α , BおよびB'の滴定量の差を β とし、次式により茶抽出液を加えた場合のリパーゼ活性阻害率とした。

$$\text{阻害率} = (1 - \beta / \alpha) \times 100 (\%)$$

なお、各抽出液の濃度は、緑茶8.9mg/ml, ウーロン茶7.8mg/ml, ジャスミン茶8.3mg/ml, プアール茶8.0mg/mlであった。

実験2. 異なる緑茶濃度がリパーゼ活性に及ぼす影響

茶抽出物の濃度が0.5, 1, 2, 4, 8mg/mlとした茶抽出液について実験1と同様に行った。

実験3. 添加物によるリパーゼ活性阻害率に及ぼす影響

試験管A, A', B, B', C, C'それぞれに水3mlを採り、さらに、酵素液1mlをそれぞれ加えた。試験管A', B', C'を100℃の水浴上で5分間加熱し、リパーゼ活性を不活性化させた。試験管A, A'には水1mlとリン酸緩衝液1mlを、試験管B, B'には茶抽出液1mlおよびリン酸緩衝液1mlを、試験管C, C'には茶抽出液1mlおよび添加物1mlを加えた。以下については実験1の操作に準じた。またCとC'の滴定値の差を γ とし、各添加物を加えた場合の阻害率を次に示した。

$$\text{添加物存在下の阻害率} = (1 - \gamma / \alpha) \times 100 (\%)$$

なお、緑茶抽出液濃度は4mg/mlに調製したものを使用した。

実験4. 異なる「にがり」の濃度がリパーゼ活性に及ぼす影響

にがりの原液 (Mg: 9.5mg/ml) を水で希釈して、4.8, 2.4, 1.2, 0.6mg/mlマグネシウム相当濃度の液を調製し、上記実験1. の操作を茶の代わりに「にがり」を用いて実施した。

IV 統計処理

t-検定にて行った。

結果

表1には緑茶、ジャスミン茶、ウーロン茶およびプアール茶の抽出液を加えた場合のリパーゼ活性を示した。茶の抽出液を含まないコントロールと比較して、緑茶、ジャスミン茶を加えた場合、リパーゼ活性は著

Table 1. Effect of various tea extract on the lipase activity

Extract	Lipase activity
Control	0.52 ± 0.04 #
Green tea	0.02 ± 0.01 ***
Jasmine tea	0.03 ± 0.01 ***
Oolong tea	0.13 ± 0.06 **
Pu-erh tea	0.59 ± 0.05

#Values are means ± standard error.
 **Significantly different from control(p<0.01).
 ***Significantly different from control(p<0.001).

Table 2. Effect of various green tea concentration extract on the lipase activity

Extract (mg/ml)	Lipase activity
0	0.82 ± 0.04 #
0.5	0.82 ± 0.03
1.0	0.74 ± 0.05
2.0	0.63 ± 0.18
4.0	0.20 ± 0.04 ***
8.0	0.21 ± 0.03 ***

#Values are means ± standard error.
 ***Significantly different from 0mg/ml (p<0.001).

Table 3. Effect of various additive on the lipase activity

Extract	Lipase activity
Control	0.77 ± 0.02 # c
Green tea	0.44 ± 0.04 ** a
Green tea + Sucrose	0.46 ± 0.02 *** a
Green tea + Starch	0.51 ± 0.03 ** a
Green tea + Ova albumin	0.70 ± 0.04 b
Green tea + Casein	1.43 ± 0.05 *** d

#Values are means ± standard error.
 ***Significantly different from control (p<0.001).
 **Significantly different from control (p<0.01).
 *Significantly different from control (p<0.05).
 a Non-significantly different from Green tea(p>0.05).
 b Significantly different from Green tea(p<0.05).
 c Significantly different from Green tea(p<0.01).
 d Significantly different from Green tea(p<0.001).

Table 4. Effect of various bitter concentration extract on the lipase activity

Bitter concentration	Lipase activity
0	0.80 ± 0.03 #
0.6	0.80 ± 0.02
1.2	0.70 ± 0.02
2.4	0.20 ± 0.02 ***
4.8	0.13 ± 0.01 ***
9.5	0.03 ± 0.01 ***

#Values are means ± standard error.
 ***Significantly different from 0mg/ml (p<0.001).

しく減少し (P<0.001), さらに, ウーロン茶を加えた場合も減少した (p<0.01). 一方, プアール茶を加えた場合, リパーゼ活性はわずかに増加したが有意な増加ではなかった. 図1には各茶抽出液を加えた場合のリパーゼ活性の阻害率を示した. 緑茶, ジャスミン茶, ウーロン茶を加えた場合, リパーゼ活性は阻害され, その阻害率は緑茶, ジャスミン茶では90%以上であった.

表2には異なる濃度の緑茶抽出液を加えた場合のリパーゼ活性を示した. 加えた緑茶濃度が高まるに従

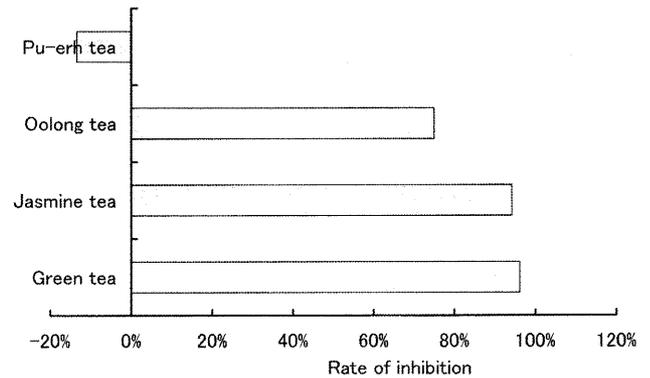


Fig.1 The inhibitory effect of various tea-extracts on the pancreatic lipase activity in vitro

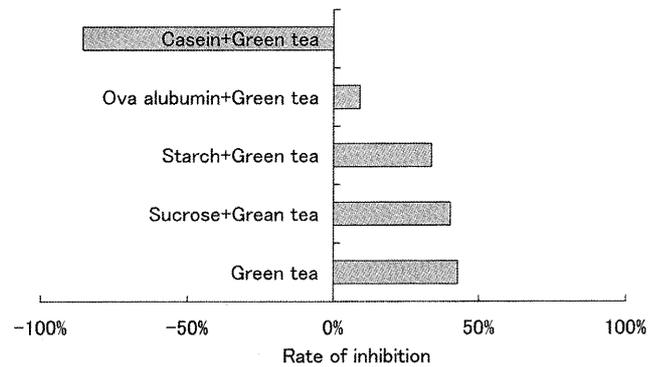


Fig.2 The inhibitory effect of various additives on the pancreatic lipase activity in vitro

い, リパーゼ活性は漸次減少し, 4および8ml/mgの緑茶濃度では有意な減少が示された (p<0.001).

表3には緑茶 (4mg/ml) を加えた場合のリパーゼ活性と, 緑茶 (4mg/ml) にさらにショ糖, でんぷん, 卵アルブミン, カゼイン (いずれも2%濃度) を添加した場合のリパーゼ活性を示した. リパーゼ活性は茶の抽出液を含まないコントロールと比較して, 緑茶のみを加えた場合, 最も減少し (p<0.01), 次いで, 緑茶とショ糖 (p<0.001), 緑茶とでんぷん (p<0.01) を添加した場合の順でリパーゼ活性の減少が示された. また, 緑茶と卵アルブミンの添加ではわずかな減少が示された (p<0.05). これらに対して, 緑茶とカゼインの添加した場合にはコントロールと比較してリパーゼ活性は増加した (p<0.01).

また, 緑茶のみを加えた場合のリパーゼ活性と, さらに各添加物を加えた場合で比較すると, 茶のみの場合とショ糖またはでんぷんを添加した場合とではリパーゼ活性に有意な差が認められず, 卵アルブミンとカゼインを添加した場合には緑茶のみの場合と比較して有意に高い値が示された (p<0.001). 図2には緑茶 (4mg/ml) のみを加えた場合のリパーゼ活性と, 緑茶 (4mg/ml) にさらにショ糖, でんぷん, 卵アルブミン, カゼイン (各2%溶液) を添加した場合のリパーゼ活性の阻害率を示した. 緑茶のみ, 緑茶とショ糖, 緑茶

とでんぷん間では著しい差は認められなかった。一方、緑茶のみと、緑茶と卵アルブミンを添加した場合を比較すると、リパーゼ活性の阻害率はアルブミン添加によって顕著に減少した。また、カゼインの添加では負の阻害率（-86%）が示された。

表4には、種々の濃度のにがりを加えた場合のリパーゼ活性を示した。にがりの濃度が高まるにしたがって、リパーゼ活性は減少した ($p<0.001$)。

考 察

著者らは前報¹²⁾でいくつかの食品の抽出液がリパーゼ活性を阻害することを見だし、それらの食品の適正な摂取は肥満防止に一定の効果が期待できることを示した。また、野田らは多くの食品においてリパーゼ活性の阻害物を調査し、茶類に強いリパーゼ阻害作用があることを報告した¹⁴⁾。本報告では、日常に飲用されている茶の抗肥満効果について検討するため、緑茶、ジャスミン茶、ウーロン茶およびプアール茶についてリパーゼ活性の阻害作用を調べた（表1および図1）。その結果、緑茶とジャスミン茶に強いリパーゼ阻害作用が認められ、ウーロン茶にも一定の阻害作用が認められた。茶の製造方法は茶の種類によって異なり、緑茶は発酵させずに製造され、ジャスミン茶も基本的には発酵させない茶を原料としている。しかし、ウーロン茶は一定の発酵を行い製造されている。それ故、この阻害作用の程度の違いは茶の発酵の程度が関係している可能性が考えられる。一方、プアール茶は、リパーゼ阻害作用は認められず、むしろリパーゼ活性を促進させる傾向を示した。これは、プアール茶の製法が釜いり、揉捻、乾燥後、黒麹菌で発酵させるもので、麹菌由来のリパーゼが茶の中に存在することに由来していると考えられる。

また、緑茶抽出液の濃度を増加させるとリパーゼ活性が低下したことから、緑茶のリパーゼ阻害作用には濃度依存性が認められた（表2）。

通常の食行動では、茶のみを飲むことは少なく、食事や間食時に他の食物と共に摂取することが多い。そこで、本実験では、糖、蛋白質と同時に茶を摂取することを想定して、ショ糖、でんぷん、卵アルブミン、カゼインを共存させた条件でリパーゼ阻害作用を検討した（表3、図2）。その結果、ショ糖とでんぷんの存在はリパーゼ阻害作用に影響を及ぼさなかったが、卵アルブミンは阻害作用を相殺させ、カゼインは逆にリパーゼ活性を促進させた。従って、抗肥満効果を期待した茶の飲用では、でんぷんや砂糖を同時に摂

ることは問題ないと考えられるが、蛋白質、特に牛乳・乳製品の同時摂取は茶の有しているリパーゼ阻害作用をマスクする可能性が考えられ、茶の有している抗肥満効果を減じる可能性が懸念される。また、本実験で用いた粗酵素にはカゼインを分解するプロテアーゼ活性が認められていて（未発表）、従って、カゼイン添加では粗酵素中に夾雑しているプロテアーゼによりカゼインが一部消化されている可能性もある。また、乳中に含まれる蛋白質の消化過程で生じたペプチドが他の栄養素の消化吸収に影響を与えることがあり、例えば、カゼインの分解物のペプチドであるCPPが腸管でのカルシウムの消化吸収を促進させることが知られている¹⁷⁾。それ故、本実験で観られたリパーゼ活性促進作用はカゼインそのものの作用だけでなく、カゼインの消化物による可能性も考えられる。

近年、「にがりダイエット」が注目され、多くの「にがり」がダイエットに用いられているようである。その効果の根拠には、北川らによる報告があり¹⁵⁾、それによると「にがり」の主成分である塩化マグネシウムがラットの膵リパーゼ活性を強く阻害すること、ラット腸管における脂質吸収低下作用によることが示されている¹⁵⁾。本実験の条件下で、にがりを用いてリパーゼ活性を検討した結果、濃度依存性を示す顕著なリパーゼ阻害作用が認められた（表4）。従って、にがりの摂取は抗肥満に役立つ可能性が示唆される。しかしながら、マグネシウムの過剰摂取による害作用も知られている。塩化マグネシウム・無水におけるLD₅₀はラット経口摂取2800mg/kg、マウスで4700mg/kg、マウス静注で14mg/kgである。ヒトでは経口摂取による過剰摂取はマグネシウムが尿中へ速やかに排泄されるため起こりにくいとされているが、腎臓機能障害のあるときには、傾眠傾向、筋肉麻痺、低血圧などが生じることが知られている¹⁶⁾。それ故、にがりの摂取には、摂取量等、慎重におこなう必要があると考える。

引用文献

- 1) 舟橋 徹：肥満とメタボリックシンドロームーアディポサトカインからー。日本医学会。肥満の科学。日本医学会（東京）、17-26、2004。
- 2) 加隅哲也、坂田利家：レプチンによる脂肪代謝と脂肪蓄積の抑制。日薬理誌、118（5）：334-339、2001。
- 3) 小川佳宏：～生活習慣病シリーズ～肥満と食欲調節の分子機構ーレプチンを中心にー。日本栄養・食糧学会誌、56（1）：47-51、2003。

- 4) Masuzaki H., Ogawa Y. et al.: Glucose metabolism and insulin sensitivity in transgenic mice over expressing leptin with lethal yellow agouti mutation. *Diabetes*, 48: 1615-1622, 1999.
- 5) Okamoto Y., Kihara S. et al.: Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 106 (22) : 2767-2770, 2002
- 6) Maeda N., Takahashi M., et al.: PPAR-gamma ligands increase expression and plasma concentration of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*, 50 (9) : 2094-2099, 2001.
- 7) 池田義雄：海外におけるオルリスタットの最近の使用状況. *肥満研究*, 7 (3) : 316-318, 2001.
- 8) 奥田拓道：食品に含まれる機能物質と肥満に関する研究. *日本栄養・食糧学会誌*, 54 (1) : 35-40, 2000.
- 9) 奥田拓道：生活習慣病と食品の機能性. *臨床栄養*, 97 (7) : 818-823, 2000.
- 10) 奥田拓道：健康茶の抗肥満作用（第1報）各健康茶素材のラット脂肪細胞における脂肪分解及び膵臓リパーゼ活性に及ぼす影響. *日本体質学雑誌*, 63: 60-65, 2001.
- 11) Han L.K., Takaku T.: Anti-obesity action of oolong tea, *Int. J. Obesity*. 23: 98-105, 1999.
- 12) 榮昭博, 井桁千恵子, 関崎悦子：食品から得られた水抽出物が膵リパーゼ活性に及ぼす影響. *桐生短期大学紀要*, 15 : 77-81, 2004.
- 13) Lowry. O. H., Rosebrough N. J. and Randall R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275, 1951.
- 14) 野田淑子, 三浦理代, 五明紀春：食品中のリパーゼ活性に及ぼす影響. *日本臨床栄養学会雑誌*, 22 (3): 28-38, 2000.
- 15) 北川孝江, 韓立坤, 奥田拓道：ラットにおける脂質エマルジョンの腸管吸収に及ぼすにがりの影響. *栄養学雑誌*, 62 (2): 91-94, 2004.
- 16) 江指隆年, 中嶋洋子：ネオエスカ基礎栄養学. 同文書院（東京）, 175-190, 2002.
- 17) 小池五郎, 齊藤恵子, 高橋正和：栄養学, 医学書院（東京）, 9版, 18, 2000.

The Effects of Various Teas and Bitterns on the Pancreatic Lipase Activity

Akihiro Sakae, Etsuko Sekizaki

Abstract

The effects of various teas on the lipase activity were examined using the crude enzymes of chicken pancreas to clarify the presence of anti-obesity effects. The findings were as follows,

1. Green tea and jasmine tea inhibited the lipase activity markedly ($p < 0.001$).
2. Oolong tea inhibited the lipase activity ($p < 0.01$).
3. Pu-erh tea (black tea) increased the lipase activity (186%).
4. The degree of the lowering effect of green tea on lipase activity depends on the concentration of the tea.
5. The addition of sucrose and starch to green tea did not alter the lowering effect of green tea on lipase activity. While the addition of ova-albumin suppressed the lowering effect, the addition of casein increased the effect.
6. The addition of bittern remarkably inhibited the lipase activity ($p < 0.001$), and the degree of the lowering effect depended on the concentration of bittern.

Keywords: Lipase, Inhibitor, Tea, Bittern, Anti-obesity