

食事調査法における緑茶カテキン類摂取量の 評価と妥当性について

三 浦 努

(2009年1月30日受理)

Validation of green tea catechin intake estimated from dietary survey

Tsutomu Miura

キーワード key words

緑茶カテキン (green tea catechin) 食事調査法 (dietary survey) バイアス (bias)

食物摂取頻度調査法 (food frequency questionnaire) ポーションサイズ (portion size)

緒 言

栄養摂取と疾病の関連性の仮説を評価する場合、研究デザインによって、結果の信頼性は異なる。一般的に、研究結果の信頼性は、無作為割付臨床試験が最も高く、前向きコホート研究やコホート内症例対照研究がこれに続く。断面研究や地域相関研究の結果の信頼性は相対的に低く、症例対照研究については、これらの研究の中間に位置するとされている¹⁾。

人の栄養摂取状況を評価する方法には、食事調査法による食事記録法、24時間思い出し法、陰膳法、食物摂取頻度調査法 (FFQ) と血液などの生体試料から得られる検査データから食事摂取量に反映する生化学指標を用いて評価する方法がある。食事調査法は対象者が食べた食事の量や種類について調査して食事摂取量を求め、そのデータから食品に含まれる栄養素成分が記載されている食品成分表などを用いて、栄養素等摂取量を求める方法である。食事調査法の中で測定精度の高いものとされているのが食事記録法である。食事記録法は、実際に摂取した食物の量や種類を記録してもらうため、摂取量の評価として食事調査

の手法の中で信頼性が高いと言われている。しかし、1人当たりの調査に要する費用がかかることや調査内容が煩雑であることで多数人を対象とする食事調査には不向きな面もあり、さらに短い期間での食物摂取の調査であるため、長期間の習慣的な食物摂取状況を反映できない欠点などもある。食事調査法には、それぞれの方法に一長一短がある。一方、食物摂取頻度調査法では、調査内容も簡便で対象者には負担が少なく、調査費用も少なく済み、習慣的な食事摂取状況がある程度、正確性を保持できることから、近年では、食事調査に用いられることが多い。さらに、食物摂取頻度調査法 (FFQ) の調査票には、食品リスト、摂取頻度、目安量の項目から構成されており、習慣的な栄養素等摂取量をそこから求めることができる。食物摂取頻度調査法による栄養素等摂取量の妥当性と再現性については、24時間思い出し法や食事記録法より測定精度は落ちる。このことから食物摂取頻度調査法から求めた栄養素等摂取量は、実際の摂取量よりも大きく差が生じることがある。この誤差については、対象者の一部の人を用いて食事記録法、24時間思い出し法などの食事調査をおこない求められた栄養素等摂取量との妥

当性を評価して補正することによって、精度を高める工夫もなされている²⁾。食物摂取頻度調査法は食事記録法に比べ測定精度が低いとされるが、その要因として考えられるものには、1つに対象者の食物や食品の大きさ（ポーションサイズ）の捉え方の違いに原因があると考えられる。対象者に調査票からのポーションサイズの情報がどのように伝わるかによって、栄養素等摂取量の算出に影響してくると考えられる。食物摂取頻度調査法を用いて食事と疾病との因果関係を明らかにしていく時には、そのことも検証していく必要性があるかもしれない。

近年、緑茶に含まれる機能的成分であるカテキン類は、抗酸化作用³⁾、がん予防効果^{4) 5) 6)}、血圧上昇抑制作用^{7) 8)}など多様な作用を有しており、生体への有効性が期待されている。このように、カテキン類を多く含む緑茶の飲用による疾病予防効果についての研究が多方面で行われている。人に対して緑茶を飲むことが、疾病予防に効果があるかを検討している研究を見てみると、例えば、胃がんの発症に対する習慣的な緑茶の飲用する頻度の関連性についての報告では一致した結果がみられていない。緑茶の飲用する頻度が多ければ、胃がんの抑制効果があると報告されているものや逆に抑制効果がみられない報告もある。これには、何か原因となる要因はないだろうかと考えられる。調査対象者の多い研究では、緑茶の飲用量を評価するには、飲用した緑茶の摂取量を直接測定することは難しいので食物摂取頻度調査法の手法を用いることによって、緑茶の飲用の頻度が求められている。調査票の質問項目としては、「普段、お茶を何杯飲みますか?」という質問肢になる。そこで飲用量の誤差になりうる要因として考えられるものとして、1つ目には、緑茶を飲む湯呑茶碗の容量の大きさ（ポーションサイズ）が考えられる。2つ目には、緑茶を飲む時には、茶葉にお湯を入れて、それを濾して緑茶の浸出液を飲むが、この浸出液に含まれる成分に濃度差が生じているのではないかと考えられる。さらに、日本人の習慣的な特徴を考慮すると、緑茶を飲む時、同じ茶葉で何杯かの緑茶を飲むことがある。同じ茶葉でお湯を入れる杯数の違いよっては、生

じる浸出液の成分の濃度の違いがあることも考えられる。これは、「普段、お茶を何杯飲みますか?」という質問項目では、実際には、緑茶の浸出液の成分の濃度に濃淡が生じていても補正することができないと考えられ、緑茶に含まれる成分の摂取量に差が生じてくると考えられる。このことから食物摂取頻度調査法の手法を用いて緑茶の飲用を杯数で、疾病の予防効果を検討する場合においては、緑茶に含まれる成分の摂取量が精度の低い状態で評価されている可能性があり、そしてさらに疾病との関連性について検討されていることも考えられる。

そこで、今回の研究では、緑茶の浸出液のカテキン濃度を測定して、同じ茶葉で数杯の緑茶を作った時の浸出液のカテキン濃度の変化を検討した。また、一般的に緑茶を飲む時に使用する湯呑茶碗の容量についても調べ、1杯の飲用量の範囲を検討した。

方 法

1. 試 料

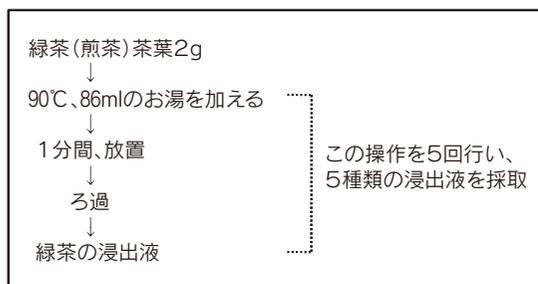
カテキン類の測定に用いた茶葉の種類は、一般的に多く飲用されている煎茶とし、市販されている国産の煎茶を使用した。茶葉は、サンプルA、サンプルBの2種類に分け、それぞれから5回浸出液を採取して、カテキン類の測定検体とした。

2. 緑茶茶葉からの浸出液の抽出方法

緑茶茶葉からの浸出液を得る条件や方法については、五訂増補日本食品標準成分表に記載してある浸出液の抽出条件と方法に準じておこなった⁹⁾。

図1のように、茶葉2gをピーカーに入れ、90℃のお湯を86ml加えて、1分間放置した。放置後、濾し網で濾して浸出液を得た。浸出液を採取した後に残った残渣の茶葉（出がらし）に再び、上記のようにお湯を加えて浸出液を採取した。この工程を計5回繰り返して5種類の浸出液を採取した。採取した緑茶の浸出液は、HPLCで測定するまでは、暗所で冷蔵保存（4℃）した。

図1 緑茶茶葉からの浸出液の抽出手順



* 1回目の浸出液が得られた後、さらに茶葉の残渣(出がらし)に対してお湯を加えて浸出液を採取した。合計5回、この操作を行い5種類の浸出液を採取した。

3. 緑茶の浸出液からのカテキン類の抽出と分析方法

緑茶の浸出液を50%メタノールで10倍に希釈した後、メンブランフィルター(0.45 μ m)に通し濾過を行ない、HPLC分析の試験溶液とした。HPLCでのカテキン類の分析には1検体につき、2回測定を行い、得られた分析値の平均値を求め、検量線からカテキン類の画分(EGC:エピガロカテキン、EC:エピカテキン、EGCG:エピガロカテキンガレート、ECG:エピカテキンガレー

ド)の濃度を算出した。総カテキン濃度は、エピガロカテキン、エピカテキン、エピガロカテキンガレート、エピカテキンガレートの総和によって求めた。

浸出液のカテキン類のHPLC分析には、高速クロマトグラフィー多電極電気化学検出器システム(クーロアレイ, ESA社)を用いた。カテキン類の標準品には、エピガロカテキン(EGC)、エピカテキン(EC)、エピガロカテキンガレート(EGCG)、エピカテキンガレート(ECG)を用いた。カテキン類の標準品については、シグマ社から購入した。

4. 緑茶を飲用する容器の容量の検討

一般的な食器のカタログ(Sanshin Tableware & Food Service Equipment 2009:三信化工株式会社)に記載されている湯呑茶碗の記載されている内容量について調査した。さらに、いくつかの種類湯呑茶碗に水を入れて、内容量をメスリンドーで実測した。

結 果

1. 緑茶の浸出液のカテキン類濃度について(表1、図2)

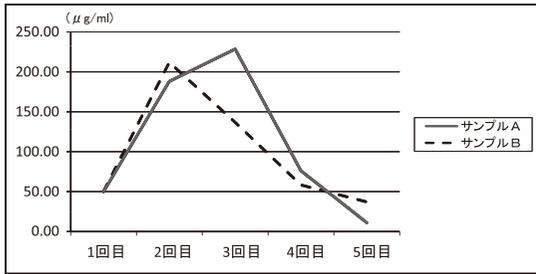
表1 各緑茶浸出液におけるカテキン濃度について

サンプルA	EGC	EC	EGCG	ECG	Total	比率
1回目の浸出液	32.45	7.08	8.66	1.64	49.84	1.0
2回目の浸出液	145.96	17.62	20.98	3.54	188.10	3.8
3回目の浸出液	166.54	15.31	40.72	5.97	228.54	4.6
4回目の浸出液	42.90	9.65	19.33	4.24	76.12	1.5
5回目の浸出液	2.74	4.07	2.42	1.85	11.09	0.2

サンプルB	EGC	EC	EGCG	ECG	Total	比率
1回目の浸出液	33.11	7.37	8.12	1.58	50.17	1.0
2回目の浸出液	165.57	14.39	28.31	3.69	211.95	4.3
3回目の浸出液	96.39	12.23	24.16	4.02	136.79	2.7
4回目の浸出液	35.09	7.77	12.73	2.69	58.29	1.2
5回目の浸出液	18.40	7.81	7.95	2.94	37.10	0.7

- 1) EGC: Epigallocatechin (エピガロカテキン), ECG: Epicatechin gallate (エピカテキンガレート)
EC: Epicatechin (エピカテキン), EGCG: Epigallocatechin gallate (エピガロカテキンガレート)
- 2) Total: 総カテキン濃度 (EGC + EC + EGCG + ECGの合算)
- 3) EGC, EC, EGCG, ECG, Totalの単位: (μ g/ml)
- 4) 比率: 1回目の浸出液の総カテキン濃度に対しての各浸出液の総カテキン濃度の比率

図2 緑茶浸出液の1～5回採取時の総カテキン濃度の変化



緑茶の浸出液のカテキン濃度は、5回の浸出工程のなかで、2、3回目で高い濃度で、4回目以降で濃度の低下がみられた。浸出の回数によって、緑茶の浸出液のカテキン濃度に差があり、1回目の浸出液のカテキン濃度を基準とした場合、2、3回目の浸出液での総カテキン濃度は、3～4倍程度の濃度になっていた。お茶の入れ方によっては、カテキンの濃度に差が大きく生じると考えられた。

2. 緑茶を飲用する容器の容量について

緑茶を飲用する湯呑茶碗の内容量は、約150mlから250mlまで範囲の容量と考えられた。飲用する湯呑茶碗の内容量の違いも摂取するカテキン類の量に少なからず影響を与えることが考えられた。

考 察

緑茶は、五訂増補日本食品標準成分表では、し好飲料類に分類される。し好飲料類には、お茶類の他には、アルコール類、茶類、コーヒー・ココア類などがある¹⁰⁾。これらは栄養素を摂取するための目的ではなく、香味や刺激、やすらぎなどを得るものとされていた。しかし、近年、し好飲料類の中には、ポリフェノールなどの機能性成分を含み、生体への有効性を示してくれるものがあると報告され注目されている。緑茶には、栄養素成分としてビタミンCなどが含まれているが、特にポリフェノールであるカテキン類が多く含まれており、これが生体に有効性を示すとされている。緑茶のカテキン類の期待される効果として報告されているものとしては、抗酸化作用³⁾、がん予防

効果^{4) 5) 6)}、血圧上昇抑制^{7) 8)}、抗う食作用¹¹⁾、抗菌作用^{12) 13)}などの多様な作用がある。このように、カテキン類を多く含む緑茶飲用とがん予防効果などの関連性についての研究は多く行われている。

人での緑茶の飲用と胃がんの発症との関連性についての研究が行われているが、一致した結果がみられていない。緑茶と胃がんに関する疫学研究では、地域相関研究や症例対象研究では、緑茶によるリスク低下がおおむね示されているのに対し、近年においての前向きコホート研究などでは、緑茶による胃がんのリスクの低下が認められない報告がなされている。古野らの胃がんの症例対照研究では、1日10杯以上の緑茶の飲用により、胃がんリスクを低下させることを報告している¹⁴⁾。しかし、坪野らが行ったコホート研究による胃がんの罹患と緑茶飲用による予防効果は観察されなかった¹⁵⁾。さらに、文部科学省研究費がん特定領域大規模コホート研究でも緑茶飲用に対する胃がん予防効果についての関連性はないと報告している^{16) 17)}。しかし、厚生労働省研究班による多目的コホート研究では、女性においては、緑茶の飲用が胃がんに対して予防的である結果が報告されている¹⁸⁾。コホート研究における緑茶の飲用量の評価は、食物摂取頻度調査法を用いて行っており、調査票には、「1日に何杯のお茶を飲みますか？」などの質問項目である。そこから、緑茶の飲用量を杯数で評価し、さらに胃がんの罹患と緑茶飲用の関連性について検討を行っている。

緑茶を飲むのに使用する湯飲み茶碗の内容量については、本研究の結果から約150mlから250mlまでの範囲であり、飲用量には大きな誤差はないかと思われる。コホート研究での緑茶の飲用量を杯数で評価して疾病との関連性について検証することは、一見すると正確性があるように思われる。しかし、習慣的に緑茶を飲む場合、同じ茶葉で何度もお湯を注ぎ緑茶を飲むことが多いことも考えると、実際に飲用する緑茶の浸出液のカテキン濃度は、一定ではなく、ばらつきがあると考えられる。本研究の実験結果からみると、1回目より2、3回目の緑茶の浸出液の方が、カテキン濃度が高く、4回目以降になると、カテキン濃度は低下する。

1回目の浸出液のカテキン濃度と2、3回目の浸出液のカテキン濃度の差を比較すると3~4倍程度の濃度差を示した。1回目の浸出液のカテキン濃度と2、3回目の浸出液のカテキン濃度の方が、カテキン濃度が高くなるのは、茶葉にお湯を入れて、完全にお湯が茶葉に浸潤して、茶葉からカテキン類が流出しやすくなったため、2、3回目の浸出液で高い濃度を示したと考えられる。このことから、1回目の浸出液よりも2、3回目の浸出液の方が、むしろより多くのカテキン類を摂取することができるようになる。このように、緑茶の入れ方によっては、浸出液のカテキン濃度に大きな差やばらつきを生じさせることが推察される。以上のことから、食物摂取頻度調査法で緑茶の飲用量を評価する場合と実際の緑茶の飲用量を評価する場合には、カテキン類の摂取量には差が生じている可能性があり、緑茶の飲用量と胃がんの予防効果の関連性について正確に検証しきれていない可能性があるのではないかと考えられる。

一方、女性において血液中のカテキン濃度の高い場合、胃がんのリスクが低いことが報告されている¹⁹⁾。血液中のカテキン濃度と緑茶のカテキン類の摂取量には相関関係があり、食物摂取頻度調査法による緑茶飲用の評価よりは、血液中のカテキン濃度を測定する生体指標での評価の方が、実際の緑茶の飲用によるカテキンの暴露量の示しており、信頼性が高いのではないかと考えられる。しかし、血液中のカテキン濃度で緑茶のカテキン飲用量を評価する場合には、緑茶の飲用後、時間経過とともに血液中のカテキン濃度が減少することも加味して検証しなければならないと考えられる²⁰⁾。

今回の研究では、緑茶のカテキン類の分析には、長い時間を要するために測定した緑茶の浸出液の検体数は少ない。今後の研究では、緑茶の浸出液のカテキン濃度の測定値の信頼性から考えて、測定検体数を増やして変動係数などを求めて再検討したいと考えている。

要 約

緑茶に含まれるカテキン類は、抗酸化作用、血圧上昇抑制作用、抗がん作用など多様な作用を有

しており、生体への有効性が期待されている。緑茶と胃がんに関する疫学研究では、地域相関研究や症例対象研究では、緑茶によるリスク低下がおおむね示されているのに対し、近年においての前向きコホート研究などでは、緑茶による胃がんのリスクの低下が認められない報告がなされている。このように、緑茶による胃がんのリスクの関連性については、これまでのところ一致した結果は得られていない。これらの研究では、食物摂取頻度調査法により、緑茶の飲用量を杯数で評価して胃がんとのリスクの関連性について検証している。しかし、緑茶の飲用した量を杯数で評価することは、飲用した時に使用した湯飲み茶碗の容量の大きさや緑茶の浸出液のカテキン濃度のばらつきがバイアスとなっている可能性があり、緑茶による胃がんのリスクの関連性の評価に影響している可能性も考えられる。そこで、緑茶の浸出液に含まれるカテキン濃度を測定して、カテキン濃度のばらつきや一般的に飲用する湯飲み茶碗の容量の大きさについて検討した。

実験結果から、緑茶の浸出液に含まれるカテキン類の濃度は、緑茶の入れ方によって、浸出液のカテキン類濃度には差が生じることがみられた。特に同じ茶葉で、数回飲用する場合には、1回目の浸出液の総カテキン濃度と2、3回目の浸出液の総カテキン濃度の差を比較すると3~4倍程度の濃度の差を示した。このことより、緑茶の飲用による生体への効果などを検証する場合には、緑茶の飲用量の評価の仕方を少し検討する必要性があるのではないかと考えられた。

引用文献

- 1) 坪野吉孝, 久道 茂: 栄養疫学, 南江堂, 25-46 (2001)
- 2) 赤羽正之編: 公衆栄養学, 化学同人, 118-123 (2005)
- 3) 松崎妙子, 原 征彦: 茶葉カテキン類の抗酸化作用について, 日本農芸化学学会誌, 59, 29-34 (1985)
- 4) Katiyar SK, Agawal R, Mukhtar H. Protection against malignant conversion of chemically induced benign skin papillomas to squamous cell carcinomas in SENCAR mice by a polyphenolic fraction isolated from green tea. *Cancer Res* 1993; 53: 5409-5412.
- 5) Yang CS, Landau JM. Effects of tea consumption on nutrition and health. *J Nutr* 2000; 130: 2409-12.

- 6) Yang CS, Chung JY, Yang G-Y, et al. Tea and tea polyphenols in cancer prevention. *J Nutr.* 2000; 130: 472S-8S.
- 7) 原 征彦, 外岡史子: 茶カテキンのラット血圧上昇に及ぼす抑制効果, 日本栄養・食糧学会誌, 43, 345-8 (1990)
- 8) Negishi H, Xu J-W, Ikeda K, et al. Black and green polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr.* 2004; 134: 38-42.
- 9) 文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会: 五訂増補日本食品標準成分表, 国立印刷局, 427-8 (2005)
- 10) 文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会: 五訂増補日本食品標準成分表, 国立印刷局, 424-30 (2005)
- 11) Otake S, Makimura M, Kuroki T, et al. Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries Res.* 1991; 25: 438-43.
- 12) 戸田真正子, 大久保幸枝, 大西玲子: 島村忠勝日本茶の抗菌作用および細菌作用について, 日本細菌学雑誌 44, 669-72 (1989)
- 13) 花王健康科学研究会: KAO Health Care Report. No9, 花王株式会社 (2005)
- 14) Kono S, Ikeda M, Tokudome S, et al. A case-control study of gastric cancer and diet in northern Kyushu, Japan. *Jpn J cancer Res.* 1988; 79: 1067-74.
- 15) Tsubono Y, Nishino Y, Komatsu S et al. Green tea and the risk of gastric cancer in Japan. *N Engl J Med.* 2001; 344: 632-6.
- 16) Hoshiyama Y, Kawaguchi T, Miura Y, et al. A prospective study of stomach cancer death in relation to green tea consumption in Japan. *Br J Cancer.* 2002; 87: 309-13.
- 17) Hoshiyama Y, Kawaguchi T, Miura Y, et al. A nested case-control study of stomach cancer in relation to green tea consumption in Japan. *Br J Cancer.* 2004; 90: 135-8.
- 18) Sasazuki S, Inoue M, Hanaoka T, et al. Green tea consumption and subsequent risk of gastric cancer by subsite: the JPHC Study. *Cancer Causes Control.* 2004; 15: 483-91.
- 19) Sasazuki S, Inoue M, Miura T, et al. Plasma tea polyphenols and gastric cancer risk: A case-control study nested in a large population-based prospective study in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008; 17: 343-51.
- 20) Lee MJ, Wang ZY, Li H, et al. Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1995; 5: 393-9.