

6 マウスにおける茶と血糖値変化の関係 第3報

実験Ⅰ 茶抽出液投与実験

1. 実験動機

一般的に血糖値を下げる効果のあると言われている茶を投与したところ、マウスが全て死亡するということが起きた。死亡直前の血糖値の値は50mg前後と非常に低い値となっていた。

そこで、今回は前回の失敗を踏まえ、改めて茶の血糖値に対する効果を調べるとともに、その具体的な原因を追究することにした。

2. 仮説

前回の実験では茶を投与したマウスは血糖値が下がり続け、1週間以内に全て死亡するという事が起きた。このことから、茶には血糖値を下げる効果があると考えられる。

それを参考にし、予備実験として前回よりも低濃度の茶粉末抽出液をマウスに皮下注射したところ血糖値は減少したが死亡することはなかった。以上より、茶は濃度によらず血糖値を減少させる効果があるという仮説を立てた。

3. 材料と方法

(1)材料

- ・ハツカネズミ *Mus musculus* (日本SLC株式会社) 24匹

人間と同じ哺乳類で小型のため実験に用いやすく、飼育が容易なので多く飼うことができ、データがたくさん得られる。

- ・血糖計、血糖試験測定チップ (テルモ株式会社)
- ・注射器(テルモ株式会社) 予防注射用・最大容量 1 ml

皮下注射に使用した。

(2)飼育方法

プラスチック製の容器にシュレッターをかけた紙を敷き詰めて、容器1つに対して最大4匹のマウスを飼った。えさは市販の固形飼料 (lab diet) を使用した。水・えさともに充分与え、週3回掃除した。

(3)茶抽出液投与実験の方法

- ①マウスを 2 g・3 g・4 g の3つの実験群と対照群に分ける。各群のマウスは6匹ずつ。
- ②実験前8時間絶食させる。
- ③各マウスの血糖値の初期値を計測する。
- ④粉末状の茶 2 g・3 g・4 g に水を加えメスフラスコで100mlにして混和し3種類のお茶抽出液を作る。
- ⑤各マウスの体重を量り、体重 1 g につき0.02mlの茶抽出液を皮下注射する。
- ⑥対照実験として0.9%の生理食塩水を体重 1 g につき0.02ml 皮下注射する。
- ⑦短期間の影響を調べるため、血糖値を注射後10分ごとに9回測定する。
- ⑧長期間の影響を調べるため、血糖値を注射後24時間ごとに4回測定する。

(4) タンニンの公定分析

- ① 茶サンプル 2 ml、酒石酸鉄試薬 20 ml、リン酸 Buffer 60 ml を 100 ml メスフラスコで混和し、少量を専用のセルに入れ、分光光度計にかける。
- ② 分析値からタンニン含有量を計算し、タンニン濃度を算出する。

4. 結果

(1) 茶抽出液投与実験

ア 短期的影響：10分ごとの結果

実験群・対照群の初期値および10分ごとの血糖値の平均値を出し、各群の初期値を0として、それらを基準にした血糖値の増減を出し、出た各群の値から対照群の値を引いたものを、表1に表す。以下同様の処理をしたものを表として表す。

表1 各群の値から対照群の値を引いた値

	初期値	10分	20分	30分	40分	50分	60分	70分	80分	90分
茶 2 g	0	-2.8	-10.8	-2.2	-43.2	-29.3	-28.0	-19.0	-3.2	-18.5
茶 3 g	0	20.3	-7.0	0.0	-19.2	-8.7	-15.3	-24.5	7.2	-2.5
茶 4 g	0	32.5	-9.5	26.7	-0.17	-20.5	-19.5	-4.8	2.5	-8.5

各群 n = 6 [単位 mg/dl]

茶 3 g・4 g 抽出液を投与した実験群の血糖値は、いったん上昇するものの、40分を過ぎた辺りから減少に転じる。茶 2 g は常に対照群の生理食塩水よりも低い値を示しており、40分を過ぎた辺りから大きく減少に転じた。80分にはどの茶抽出溶液も生理食塩水の血糖値の値に近付いた。

イ 長期的影響：24時間ごとの結果

実験群・対照群の初期値および24時間ごとの血糖値の平均値を処理したものを表2に示す。

表2 各群の値から対照群の値を引いた値

	初期値	1日後	2日後	3日後	4日後
茶 3 g	0	-23.2	-21.7	-17.8	3.0
茶 4 g	0	-53.3	-48.2	-75.8	-41.8
茶 2 g	0	-38.7	-30.2	-28.0	-23.7

茶 2 g・3 g・4 g 抽出液を投与した実験群はどれも血糖値の減少が見られた。特に、茶 3 g 抽出液を投与した実験群の血糖値の減少は著しい。しかし、全体的に血糖値は増加し、4日後には生理食塩水を投与した実験群の値に近付いている。

(2) タンニンの公定分析

各濃度の茶抽出液を分光光度計にかけて、算出したタンニン濃度を表3に示す。

表3 茶抽出液のタンニン濃度

茶濃度	2 g	3 g	4 g
タンニン濃度	140ppm	180ppm	250ppm

※ppm = mg/kg

5. 考察

(1) 短期的影響：10分ごとの実験の考察

茶 2 g 抽出液の実験群では全体で常に対照群の血糖値の値よりも低い値を示しており、一部では大きな減少も見られる。しかし、茶 3 g・4 g 抽出液の実験群では初め血糖値が大きく増加した。最後の90分ではそれぞれの群の値は収束しているようである。

茶 2 g 抽出液の実験群と茶 3 g・4 g 抽出液の実験群の違いについて、茶の主な成分の一つであるカフェインが考えられる。低濃度の茶 2 g 抽出液ではその影響が現れず、茶 3 g・4 g 抽出液では、カフェインがある一定量を超えて自律神経の交感神経を刺激して血糖値を上昇させたのではないかと考えられる。しかし、40分後には効果がなくなっていることから持続性はないと考えられる。

(2)長期的影響：24時間ごとの実験の考察

初期値計測後は通常通りエサを与えたため、血糖値は増加するのが正常である。

茶 2 g の抽出液の実験群では、対照群との差はわずかであり、あまり効果がないように思われる。茶 3 g・4 g 抽出液の実験群においては、対照群よりも血糖値は減少傾向である。特に茶 3 g の抽出液の実験群においては大きく減少が認められる。このことから、茶の濃度が濃ければ濃いほど血糖値減少の効果が大きいというわけではないようである。つまり血糖値減少に適した濃度が存在すると考えられる。今回の実験では公定分析法により、タンニンの濃度180ppmのときに血糖値を減少させる最適の濃度である事が分かった。

(3)全体の考察

茶 2 g 抽出液の実験群の結果から、10分ごとの実験も24時間ごとの実験も大きな増加・減少は見られないため、効果は認められないと考えられる。

他方、濃度の濃い茶 3 g・4 g 抽出液の実験群においては、10分ごとでは血糖値の増加・24時間ごとでは血糖値の減少が見られた。その中でも茶 3 g 抽出液（タンニン濃度180ppm）の効果のほうが大きかったことから、茶 3 g 抽出液の濃度が長期的な血糖値減少の効果があると考えられる。

茶濃度に関わらず血糖値を下げる効果があるという仮説を立てたが、血糖値を下げる効果を顕著に表す適した濃度があることがわかった。

また、10分ごとの実験での血糖値上昇は交感神経を刺激するカフェインの効果によると考えられる。また24時間ごとの実験での血糖値減少はタンニンの効果であると考えられる。

実験Ⅱ カフェインおよびタンニン溶液投与実験

1. 実験動機

実験Ⅰの茶抽出液投与実験において、10分ごと・24時間ごとの血糖値の測定を行い、茶 3 g・4 g 抽出液では、10分ごとで血糖値上昇、24時間ごとで血糖値減少という結果が得られた。10分ごとの原因としてカフェイン、24時間ごとの影響としてタンニンの効果が関係していると考えた。茶の主成分にはカフェインとタンニンが存在する。つまり、茶抽出液を投与した時の血糖値の変動はこの2つの成分に依存していると考えられる。

そこで、2つの成分を単独投与することで、それぞれの成分の血糖値の変動に関わるはたらきを確かめるべくこの実験を行った。

2. 仮説

カフェインの効果として交感神経を刺激するため、短期間の10分ごとの90分間の実験においては血糖値が上昇すると予想される。茶抽出液を投与した実験では、茶 2 g 抽出液において血糖値の上昇は見られず、茶 3 g・4 g 抽出液において血糖値が上昇したので、カフェインでは茶 3 g・4 g 抽出液分のカフェインを投与した実験群の血糖値が上昇すると考えられる。よって10分ごとの実験では、茶 3 g・4 g 抽出液中のカフェインを投与した実験群の血糖値が生理食塩水を投与したマウスよりも高い値を示す。

また長期的な24時間ごとに血糖値を測る実験群においては、カフェインの効果はなくなり、生理食塩水を投与した実験群とほぼ同じ値を示す。

タンニンについては、血糖値を減少させる効果があるため24時間ごとにおける値が生理食塩水を投与した実験群の値よりも低い値を示す。10分ごとの実験では、対照群とほぼ同じ値を示す。

以上のように仮説を立てた。

3. 材料と方法

実験Ⅰと同様。ハツカネズミ カフェイン、タンニンの投与実験にそれぞれ24匹ずつ。

4. 結果

(1) カフェイン投与実験

ア 短期的な影響：10分ごとの結果

実験群・対照群の初期値および10分ごとの血糖値の平均値を処理したものを表4に示す。

表4 各群の値から対照群の値を引いた値

	初期値	10分	20分	30分	40分	50分	60分	70分	80分	90分
カフェイン 2 g	0	3.2	14.3	-5.7	-0.67	16.0	11.8	4.8	28.2	16.7
カフェイン 3 g	0	-13.5	18.2	-1.2	4.3	2.8	-19.8	-29.5	-8.2	6.8
カフェイン 4 g	0	12.5	23.3	-3.7	5.5	28.7	8.0	-3.7	27.8	16.5

茶 2 g・3 g・4 g 抽出液中のカフェインの量を投与した実験群は、カフェイン 2 g・4 g 溶液を投与した実験群が血糖値を上昇させた。一方、カフェイン 3 g 溶液を投与した実験群は60分以降血糖値減少が大きく見受けられる。また、いずれの濃度においても30分周期で増減を繰り返している。

イ 長期的な影響：24時間ごとの結果

実験群・対照群の初期値および24時間ごとの血糖値の平均値を処理したものを表5に示す。

表5 各群の値から対照群の値を引いた値

	初期値	1日後	2日後	3日後	4日後
カフェイン 2 g	0	-20.2	-36.2	-27.3	-15.7
カフェイン 3 g	0	-18.0	-10.8	-18.8	-4.8
カフェイン 4 g	0	-6.7	0.5	-9.7	10.0

カフェイン 2 g・3 g・4 g 溶液を投与した実験群の方が、生理食塩水投与した実験群よりも血糖値は減少していた。また、減少の下げ幅は、カフェイン 2 g・3 g・4 g 溶液の順に大きくなっている。しかしいずれも、血糖値を一旦減少させた後は、対照群に近づいてきている。

(2) タンニン投与実験

ア 短期的な影響：10分ごとの結果

実験群・対照群の初期値および10分ごとの血糖値の結果を処理したものを表6に示す。

各群の初期値を0として、それらを基準にした血糖値の増減を出し、出た各群の値から対照群の値を引いたものを、表11・グラフ5に表す。

表6 各群の値から対照群の値を引いた値

	初期値	10分	20分	30分	40分	50分	60分	70分	80分	90分
タンニン 2 g	0	-19.8	-11.1	-1.5	0.3	5.8	-22.5	-3.4	4.8	4.1
タンニン 3 g	0	18.4	28.5	25.0	13.5	35.0	50.4	35.0	14.1	57.0
タンニン 4 g	0	-4.1	15.4	3.5	25.2	19.2	20.0	37.8	53.6	33.8

タンニン 3 g・4 g 溶液を投与した実験群の血糖値の値は大きく上昇している。一方、タンニン 2 g 溶液を投与した実験群は若干血糖値の減少傾向がある。

イ 長期的な影響：24時間ごとの結果

実験群・対照群の結果を処理したものを表7に表す。

表7 各群の値から対照群の値を引いた値

	初期値	1日後	2日後	3日後	4日後
タンニン 2 g	0	-5.7	-3.7	-22.5	-19.7
タンニン 3 g	0	27.3	35.8	7.2	33.0
タンニン 4 g	0	23.0	21.2	-35.7	33.0

タンニン 2 g 溶液を投与した実験群では全体通して血糖値を減少させているが、タンニン 3 g・4 g 溶液を投与した実験群では上昇傾向が顕著である。しかし、3日目においては大きく減少している。

7. 考察

(1)短期的な影響：10分ごとの実験の考察

実験Ⅰの茶抽出液を投与する実験では、茶 3 g・4 g 抽出液で血糖値が増加する原因としてカフェインの効果をあげた。しかしながら、カフェインを投与してみると、カフェイン 2・4 g で血糖値増加、カフェイン 3 g で減少するという結果になった。しかし、90分間の間で血糖値が増減を繰り返すことが見られ、特に 2 g、4 g の実験群において20分後、50分後、80分後で上昇が認められた。これは、カフェインが自律神経を刺激することが知られていることから、まず、交感神経が刺激され血糖値が上昇し、その後、フィードバック作用で副交感神経が刺激され血糖値が急激に下がったと考えられる。そして、急激に下がったことで再び交感神経が刺激されるという繰り返しが起こったと考えられる。

実験Ⅰの茶投与実験でも同様の傾向が見られる（グラフ1）。しかし、カフェイン単独投与の方が上下動が激しくそれが90分後まで続くのに対し、茶投与では50分後以降は収束傾向が見られることから、カフェイン以外の物質が50分以降関与していることが示唆される。

一方、タンニン溶液を投与した実験群の血糖値は 3 g・4 g 溶液において大きく上昇した。しかしながら、カフェイン溶液、タンニン溶液を投与したそれぞれの実験群の結果から、茶抽出液を投与した実験群の血糖値がカフェイン溶液、タンニン溶液をそれぞれ投与した実験群の血糖値が単純に合わさったものではないと分かる。また、茶抽出液を与えた実験群の血糖値とカフェイン溶液を投与した実験群の血糖値が類似していることから、短期的な影響としてカフェインの影響が大きくタンニンの影響はほとんど無いと考えられる。

(2)長期的な影響：24時間ごとの実験の考察

茶抽出液を投与した実験と同じく、カフェイン溶液を投与した実験群の血糖値は生理食塩水よりも減少している。このことから、当初は予想していなかったカフェインの血糖値減少効果が存在すると考えられる。しかしながら、お茶抽出液では 3 g 抽出液が血糖値を最も減少させているのに、カフェイン溶液では 2 g 溶液が血糖値を最も減少させているなど、血糖値の減少の下げ幅の大小の順が異なることから、お茶の血糖値減少の効果とカフェインの血糖値の減少の効果を直接は結びつけられないと考えられる。

タンニン溶液を投与した実験群において、3 g・4 g 溶液の血糖値が3日目に大きく減少しているのにもかかわらず、茶抽出液を投与した実験群の血糖値は3日目まで下がり続けていることから、タンニン独自の血糖値への影響は無いと考えられる。

(3)全体の考察

カフェイン溶液を投与した実験の結果において、茶抽出液を投与した際に得られた結果から推測されるきれいな結果は得られなかった。しかし、短期的な影響において、血糖値の上下動を引き起こす作用が見られたことは新たな発見で興味深かった。また、タンニン溶液を投与して10分ごとに血糖値を測定する実験の結果から、お茶とタンニンとの関係は明らかにならなかった。よって、茶抽出液を投与した実験群の結果は、カフェイン・タンニンという2つの成分が単独の作用によるものではないことが分かった。よって、カフェイン・タンニンの成分が合わさることで、血糖値への影響が変わってくるのではないかと考えられる。

しかしながら、24時間ごとに計測した実験においては血糖値を減少させるという点においては茶抽出液とカフェイン溶液を投与した実験群の結果は類似した。このことから、長期間においては、お茶とカフェインの効果において何らかの関係性があると考えられる。

一方、タンニン溶液を投与した実験群の3日目の急激な血糖値の減少が、茶抽出液に影響していないことから、タンニンという成分と血糖値は関係が無いと考えられる。