

ブドウジュースの摂取は唾液の酸化状態を改善させる

佐々木ちひろ、板倉 千尋、清家 正博

ブドウジュースの摂取は唾液の酸化状態を改善させる

佐々木ちひろ、板倉 千尋、清家 正博

Intakes of Grape Juice Improve the Degree of Oxidation in Saliva

Chihiro SASAKI, Chihiro ITAKURA, Masahiro SEIKE

Abstract

Active oxygen is associated with many diseases. Grapes, the fruits with the highest yield in the world, have resveratrol, anthocyanin, catechin, dihydroflavonol, flavonol, proanthocyanidine, which are antioxidant nutrients. In the present study, alterations of oxidation in the saliva of healthy college girls were investigated after they drank grape juices. We simultaneously performed questionnaires about lifestyle habits. The degree of oxidation in saliva was significantly decreased by intakes of grape juices. On the other hand, it was not significantly decreased by intakes of green tea or tea. Correlations were not observed between the degree of oxidation in the saliva and the lifestyle habits (intakes of fruits, fruit juices, green tea, tea, and so on).

要旨

活性酸素は多くの疾患との関連が示唆されている。ブドウは世界でもっとも収穫量の多い果物で、機能性成分として抗酸化作用を持つレスベラトロール、アントシアニン、カテキン、ジヒドロフラボノール、フラボノール、プロアントシアニジンが含まれている。本研究では、健常女子大生を対象にブドウジュースの摂取前後における唾液の酸化還元電位の変化を測定し、抗酸化作用を有する他の飲料と比較分析を行った。また、同時に生活習慣についてのアンケート調査を実施した。その結果、ブドウジュース摂取により唾液の酸化度は有意に減少した。一方、緑茶や紅茶飲料の摂取では酸化度に減少傾向はみられたものの、有意差は認められなかった。果物、果物飲料、緑茶や紅茶飲料の摂取などの生活習慣と唾液の酸化度との間に因果関係はみられなかった。

Key Words : Grape juice, degree of oxidation in saliva, antioxidative action

1. はじめに

人間は体の中で酸素を燃焼させエネルギーを得ているが、その過程で活性酸素が生成される。活性酸素には不対電子を持つスーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシラジカルなどのフリーラジカルと不対電子を持たない一重項酸素、過酸化水素などがある。心理的ストレスなどによってスーパーオキシドやヒドロキシラジカルの産生が亢進されることが明らかにされている。心理的ストレスはフリーラジカルの産生増加だけでなく抗酸化能を低下させるので、定期試験を前にした学生が体験する心理的ストレスによって酸化ストレスが増加するとの報告もある⁽¹⁾。スーパーオキシドなどの活性酸素は、動脈硬化、心筋梗塞、癌、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症、白内障、気管支喘息、潰瘍性大腸炎、糖尿病など多くの疾患との関連が示唆されている⁽²⁾。活性酸素のうち、スーパーオキシドアニオンラジカルはスーパーオキシドジスムターゼにより、過酸化水素はカタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼにより体内で消去されるが、最も活性の強いヒドロキシラジカルは生体内に消去機構が無い。そのため、ヒドロキシラジカルに対しては食品中の抗酸化成分の摂取が非常に重要である⁽³⁾。

ブドウは世界でもっとも収穫量の多い果物で、機能性成分として抗酸化作用を持つスチルベノイド、アントシアニン、カテキン、ジヒドロフラボノール、フラボノール、ポリアントシアニンが含まれている⁽⁴⁾。例えば、スチルベノイドの一種であるレスベラトロールは動脈硬化を抑制することが示されている。これらは、抗酸化作用、一酸化窒素の産生促進、血小板凝集の阻害、HDL-コレステロールの上昇などによるが、これらの機構のいくつかは炎症反応の抑制に由来する^(5, 6)。さらに、レスベラトロールには発がん抑制機能もあり、ヒト膀胱がん細胞を用いた研究では抗腫瘍活性を示すマクロファージ阻害性サイトカイン1の遺伝子発現を上昇させる⁽⁷⁾。ヒト乳がん細胞においては、乳がんの発生に重要な役割をはたしているエストロゲン合成系酵素であるアロマターゼの発現と活性の双方を阻害する⁽⁸⁾。

本研究では、健常女子大生を対象にブドウジュースの摂取前後における唾液の酸化還元電位の変化を測定し、抗酸化作用を有する他の飲料と比較分析を行った。また、同時に生活習慣についてのアンケート

調査を実施し、唾液の酸化還元電位やその影響を受ける可能性のあるアミラーゼ活性との関係を分析した。

2. 方法

2. 1 被験者

健常女子大生を被験者として、アンケート調査と唾液酸化還元電位の測定を行った。本研究は、相模女子大学ヒトを対象とする研究に関する倫理委員会の承認(19079)を得て実施した。

2. 2 唾液の酸化度測定

被験者は飲料水で十分にうがいをした後に唾液の酸化還元電位を測定した。測定には酸化還元確認計(佐藤商事、川崎市)を使用した。その後、被験者は無作為に分けられ、飲料200mlを摂取した。飲料として、ブドウジュース(A社製品)、緑茶(B社製品)と紅茶(C社製品)を使用した。摂取1時間後に、同様にうがいをを行い再度唾液の酸化還元電位を測定した。その間、被験者には机上で出来る作業を行わせた。

2. 3 唾液のアミラーゼ活性値測定

唾液アミラーゼモニター(ニプロ株式会社、大阪市)を用いて、被験者の飲料摂取前のアミラーゼ活性値を測定した。

2. 4 統計処理

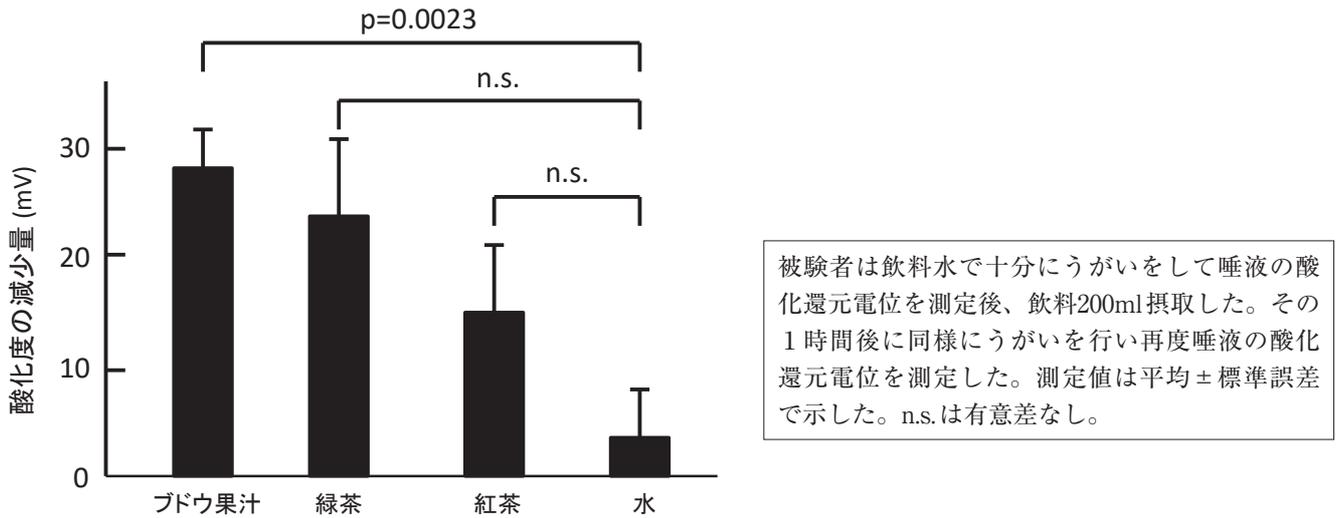
唾液酸化還元電位と唾液アミラーゼ活性値の測定値は平均±標準誤差で示し、t検定にて $p < 0.05$ を有意差ありとして評価した。

3. 結果

3. 1 唾液の酸化度

3. 1. 1 飲料摂取による変化

飲料の摂取による唾液の酸化度の減少量を平均±標準誤差で図1に示した。ブドウジュースは 27.1 ± 4.9 mV、緑茶は 23.2 ± 8.6 mV、紅茶は 14.6 ± 4.9 mV、水は 3.18 ± 5.7 mVであった。3種類の飲料とも水に比べて酸化度は減少傾向にあるが、ブドウジュースだけに有意差が認められた。3種類の飲料間では有意差がなかった。



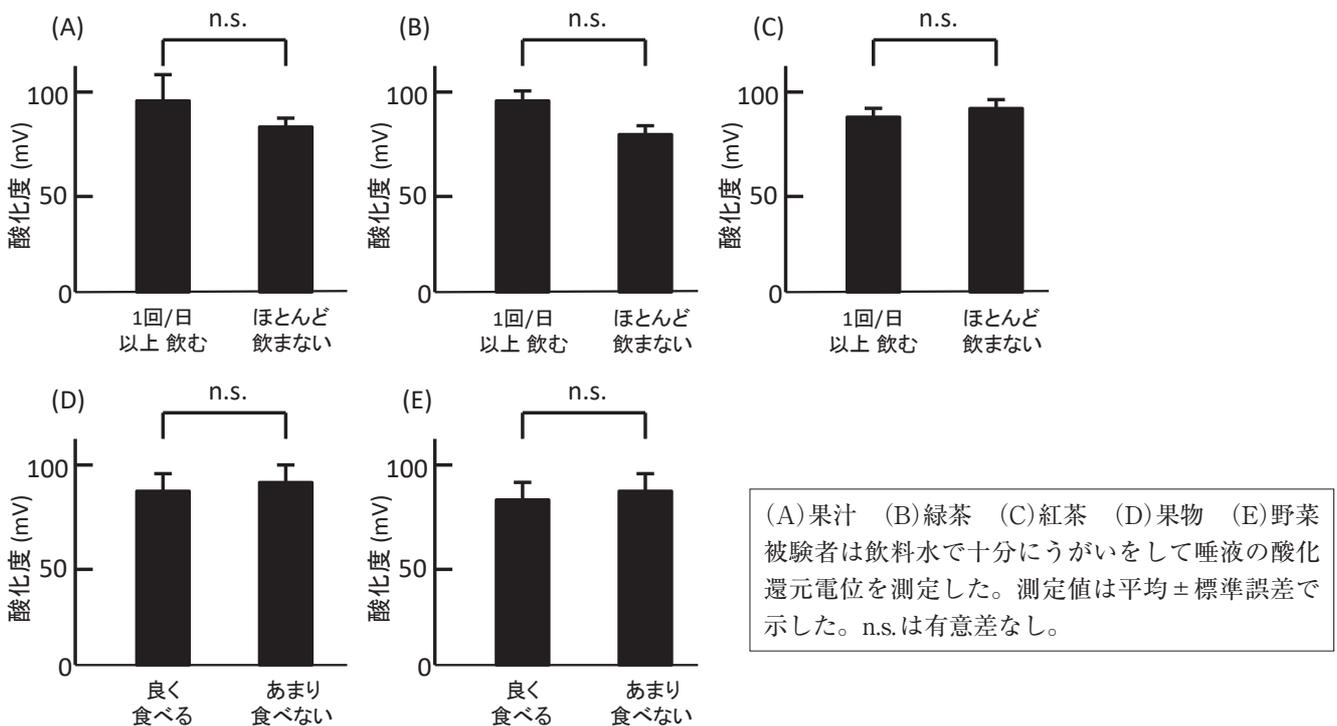
被験者は飲料水で十分にうがいをして唾液の酸化還元電位を測定後、飲料200ml摂取した。その1時間後に同様にうがいを行い再度唾液の酸化還元電位を測定した。測定値は平均±標準誤差で示した。n.s.は有意差なし。

図1 飲料摂取による唾液の酸化度の減少

3. 1. 2 食習慣

果物飲料（オレンジジュースやブドウジュースなど）を1日1回以上飲むと答えた群では唾液の酸化度は 93.7 ± 15 mV、ほとんど飲まないと答えた群では 85.2 ± 4.1 mVであった（図2-A）。緑茶を1日1回以上飲むと答えた群では唾液の酸化度は 94.4 ± 5.7 mV、ほとんど飲まないと答えた群では 79.3 ± 5.2 mVであった（図2-B）。紅茶を1日1回以上飲むと答えた群では唾液の酸化度は 83.5 ± 7.0 mV、ほ

とんど飲まないと答えた群では 87.0 ± 4.8 mVであった（図2-C）。果物をよく食べると答えた群では唾液の酸化度は 81.1 ± 6.0 mV、あまり食べないと答えた群では 89.0 ± 5.2 mVであった（図2-D）。野菜をよく食べると答えた群では唾液の酸化度は 84.3 ± 4.8 mV、あまり食べないと答えた群では 88.8 ± 7.0 mVであった（図2-E）。いずれも有意差は認められなかった。



(A)果汁 (B)緑茶 (C)紅茶 (D)果物 (E)野菜
被験者は飲料水で十分にうがいをして唾液の酸化還元電位を測定した。測定値は平均±標準誤差で示した。n.s.は有意差なし。

図2 食物の摂取習慣と唾液の酸化度との関係

3. 1. 3 生活習慣

現在ストレスを感じていると答えた群では唾液の酸化度は 87.8 ± 4.6 mV、感じていないと答えた群では 78.9 ± 7.2 mVであった(図3-A)。日光をよく浴びていると答えた群では唾液の酸化度は 85.3 ± 4.5 mV、避けていると答えた群では 87.6 ± 8.1 mVであった(図3-B)。いずれも有意差は認められなかった。

3. 2 唾液のアミラーゼ活性

3. 2. 1 食習慣

果物飲料(オレンジジュースやブドウジュースなど)を1日1回以上飲むと答えた群では唾液のアミラーゼ活性は 32.2 ± 8.1 k IU/L、ほとんど飲まない

と答えた群では 26.2 ± 1.9 k IU/Lであった(図4-A)。緑茶を1日1回以上飲むと答えた群では唾液のアミラーゼ活性は 28.4 ± 2.9 k IU/L、ほとんど飲まないと答えた群では 25.0 ± 2.5 k IU/Lであった(図4-B)。紅茶を1日1回以上飲むと答えた群では唾液のアミラーゼ活性は 27.6 ± 3.0 k IU/L、ほとんど飲まないと答えた群では 26.0 ± 2.4 k IU/Lであった(図4-C)。果物をよく食べると答えた群では唾液のアミラーゼ活性は 23.2 ± 2.2 k IU/L、あまり食べないと答えた群では 29.6 ± 2.9 k IU/Lであった(図4-D)。野菜をよく食べると答えた群では唾液のアミラーゼ活性は 26.5 ± 2.1 k IU/L、あまり食べないと答えた群では 26.8 ± 3.8 k IU/Lであった(図4-E)。いずれも有意差は認められなかった。

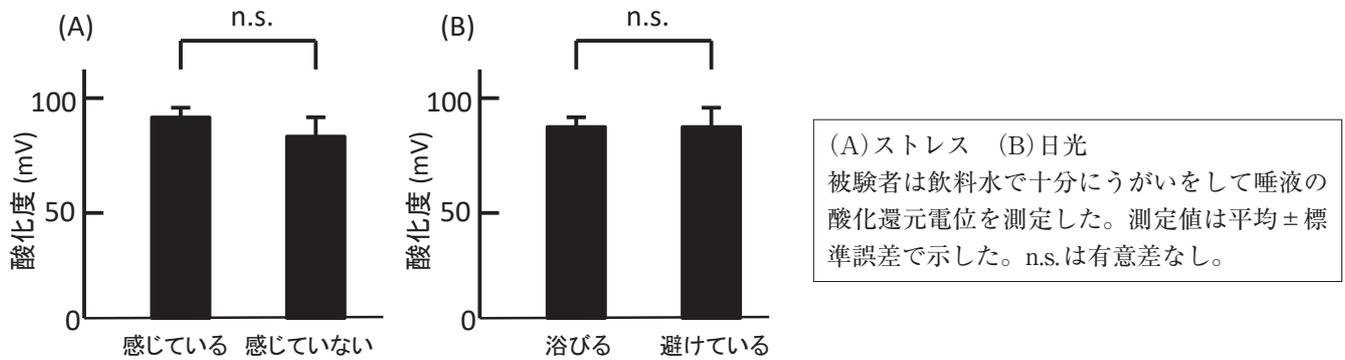


図3 生活習慣と唾液の酸化度との関係

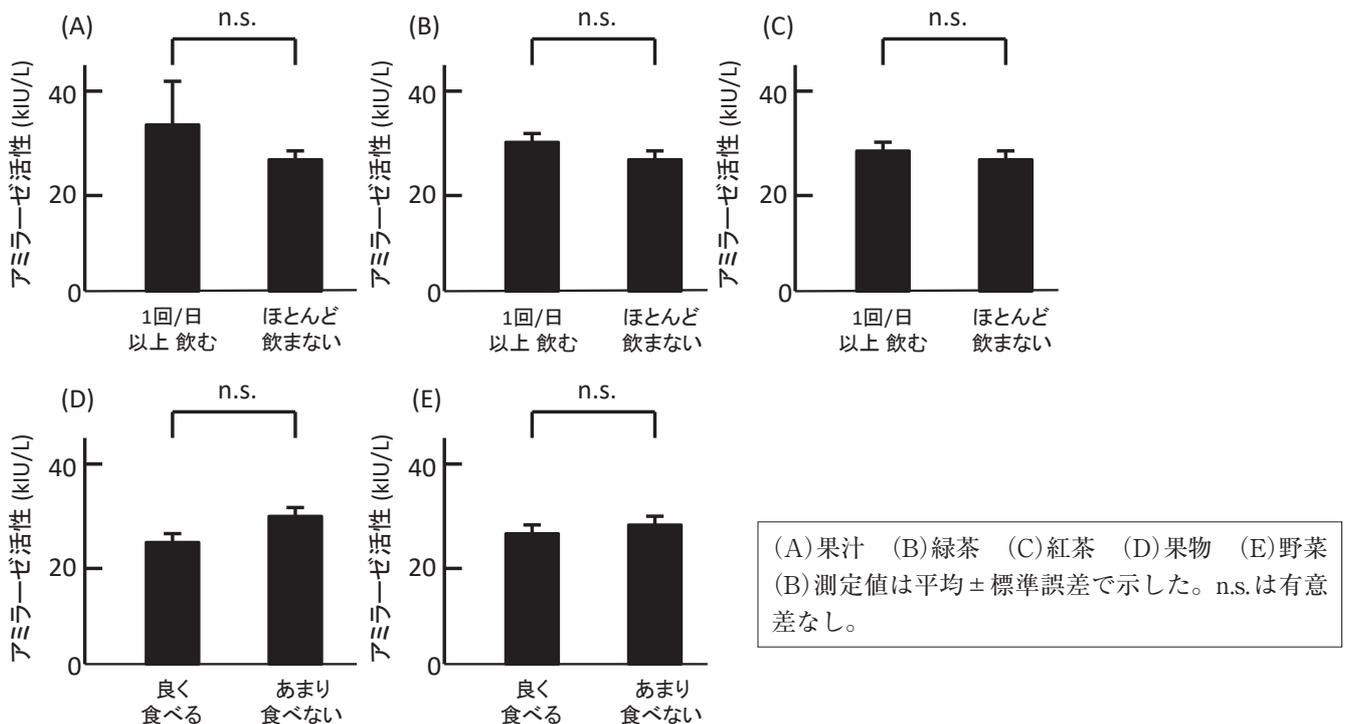


図4 食物の摂取習慣と唾液のアミラーゼ活性との関係

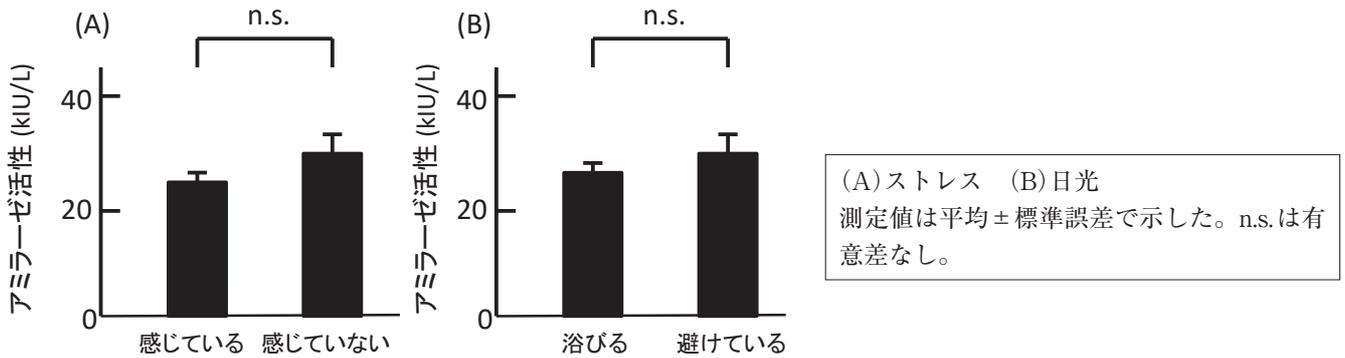


図5 生活習慣と唾液のアミラーゼ活性との関係

3. 2. 2 生活習慣

現在ストレスを感じていると答えた群では唾液のアミラーゼ活性は 25.8 ± 2.1 k IU/L、感じていないと答えた群では 29.3 ± 4.1 k IU/Lであった (図5 - A)。日光をよく浴びていると答えた群では唾液のアミラーゼ活性は 25.9 ± 2.1 k IU/L、避けていると答えた群では 28.5 ± 4.3 k IU/Lであった (図5 - B)。いずれも有意差は認められなかった。

4. 考察

ブドウ単独あるいは他の食品などと一緒に摂取した際の抗酸化作用について、多くの研究結果が報告されている。ブドウとリンゴのジュースを摂取すると、血漿総抗酸化能力が増加し、マロンジアルデヒドの濃度が減少する。赤血球グルタチオンペルオキシダーゼとカタラーゼの活性はジュースの摂取によって上昇し、リンゴとブドウ果汁の同時摂取が体の抗酸化状態を高めるのに効果的である⁽⁹⁾。ブドウの食事は、ラットスーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ活性を促進させる⁽¹⁰⁾。食後ストレスに対する内因性抗酸化応答の一部として高脂肪食によって誘発される尿酸およびチオールレベルの増加は、抗酸化物質が豊富なフルーツジュースドリンクの同時摂取によって防ぐことができる⁽¹¹⁾。フルーツジュースの摂取により、酸化的DNA損傷の減少および還元型グルタチオンの増加およびグルタチオンステータスの増加が観察される⁽¹²⁾。ニンニクの高用量は、過酸化水素と遊離鉄の間のフェントン反応によって特徴付けられる酸化促進状態カルシウムイオンの枯渇を引き起こす。ブドウ種子および果皮抽出物は抗酸化作用を示し、カルシウムイオンを増加させる^(13, 14)。

また、各臓器を対象にした研究も行われている。

ブドウの果皮の抽出物が、ラットの複数の臓器でのカドミウム曝露によって誘発される酸化ストレスを緩和させる⁽¹⁵⁾。ブドウ種子抽出物が高血糖状態で生成された活性酸素種に対する抗酸化防御を高め、それによりラット肝細胞を保護する⁽¹⁶⁾。ぶどう種子抽出物は全体として、高脂肪食誘発性肥満に対して抗酸化効果を示し、高脂肪食がもたらす肺組織の損傷に対して有効である⁽¹⁷⁾。ドキシソルビシンがラットの腎臓に誘発する酸化ストレスを、ブドウ種子および果皮の抽出物が細胞内カルシウムを調節することによって抑制する⁽¹⁸⁾。健康な被験者と血液透析患者の両者で、濃縮赤ブドウ果汁の摂取により、尿酸またはアスコルビン酸の濃度に影響を与えることなく、血漿の抗酸化能が増加し、酸化されたLDLの濃度が減少する。さらに、コレステロール標準化アルファトコフェロールの濃度を増加させる。濃縮赤ブドウ果汁はまた、HDLコレステロールおよびアポリポタンパク質A-Iの濃度を増加させながら、LDLコレステロールおよびアポリポタンパク質B-100濃度の有意な減少を引き起こす⁽¹⁹⁾。

ぶどうはポリフェノールが多く、とくに種子、果皮、果肉の順に多く含まれている。アントシアニンは果皮に、カテキンやプロアントシアニジンは種子に多く、レスベラトロールは果皮、とくに赤ワインに多く含まれている。アントシアニンが豊富な飲料摂取後、血漿スーパーオキシドジスムターゼおよびカタラーゼ活性は有意に増加し、進行中のアテローム性動脈硬化症の特徴である酸化ストレスから身体を保護する⁽²⁰⁾。プロアントシアニジンは、発がん抑制、インスリン様作用などが報告されている⁽²¹⁾。高濃度のプロアントシアニジンを含むブドウ種子抽出物に関連した研究で、ラットにおいてアルコール性肝障害を抑制することが報告されている⁽²²⁾。また、ラットの培養細胞において、生体内で発生する

活性酸素を消去することによって β -アミロイドにより誘導される細胞死を抑制する⁽²³⁾。プロアントシアニジンがジニトロソアミン誘発性肝障害に対して*in vivo*で肝保護作用と抗線維形成作用を示す。それは、ブドウ種子プロアントシアニジンが肝線維症の発症を防ぐのに役立つ可能性を示唆する⁽²⁴⁾。

レスベラトロールを酵母に加えると、テロメアDNAの分解を抑制するSir2の活性を上昇させて酵母の寿命が延長される⁽²⁵⁾。レスベラトロールは高カロリー食を与えたマウスでも、過剰なカロリー摂取による有害な作用を防ぎ、寿命を延ばす⁽²⁶⁾。有機ブドウ果汁で処理したラットは、血漿と肝臓の両方でスーパーオキシドジスムターゼおよびカタラーゼ活性上昇を示す。血漿では、スーパーオキシドジスムターゼとカタラーゼの活動、レスベラトロール、およびアントシアニン含有量の間には正の相関が見られ、これらのポリフェノールが抗酸化防御の増加に関与している可能性が示唆される。ブドウ果汁は、血漿および肝臓のカルボニルおよび脂質過酸化レベルを低下させる⁽²⁷⁾。

成人の唾液分泌量は1日当たりおよそ1リットルで、99%は水であり、残りの1%はナトリウムイオン、カリウムイオン、重炭酸イオン、塩素イオンなど無機成分などである。分泌速度が遅い時には重炭酸イオン濃度が減少するためにpHは5.46~6.06に低下し、分泌速度が増加すると重炭酸イオン濃度が上昇してpHは7.8に達する⁽²⁸⁾。ヒトでは副交感刺激は、有機物質濃度と粘ちょう性の低い唾液を大量に分泌する。一方、交感神経刺激は、有機物質に富み粘ちょう性の高い唾液を少量分泌する⁽²⁹⁾。ストレスを感じると交感神経の刺激を介して、粘ちょう性の重炭酸イオンの少ない状態になりpHが低下する。pHが低下するすなわち水素イオン濃度が高いと、水素イオンを含むあらゆる元素や化合物の酸化力、還元力を示す酸化還元電位が上昇すると考えられ

る⁽³⁰⁾。今回の研究では、ブドウ果汁で唾液の酸化度が有意に減少したが、緑茶と紅茶では減少傾向ではあったものの有意差がみられなかった。使用した飲料の栄養成分(表1)によると、ブドウ果汁には170mg/100mlのポリフェノールが含まれていた。一方、緑茶と紅茶飲料にはビタミンCが添加されているものの、緑茶で40mg/100mlのカテキンおよび紅茶で42mg/100mlの紅茶ポリフェノールであった。大量に含まれていたポリフェノールの効果によって、ブドウ飲料だけに唾液の酸化度の有意な減少が認められたと考えられる。日常生活の調査では、果物飲料を1回/日以上摂取する或いは果物をよく摂取すると回答した群とほとんど摂取しない群との間で、唾液の酸化度に差がみられなかった。125mlの赤ワインを摂取すると、唾液中のポリフェノール濃度は30分後に最高になり、その後は2時間まで減少を続ける⁽³¹⁾。したがって、唾液の酸化度が低い状態を維持し続けるためには、ブドウ製品を頻回に摂ることが必要であると思われる。

唾液アミラーゼモニターで測定したアミラーゼ活性はストレスマーカーとして有用であるが、慢性ストレスを評価する時にはストレス時と比較する個人の基準水準を明確に設定することが重要である⁽³²⁾。今回の報告ではこの設定を行わなかったため、唾液アミラーゼ活性がストレスを感じているかの有無で有意差が認められなかったと考えた。その他の生活習慣などについても同様の可能性が示唆された。

5. 結論

健常女子大生を対象にブドウジュース摂取による唾液の酸化度の変化を他の飲料摂取と比較した。その結果、ブドウジュース摂取により唾液の酸化度は有意に減少した。一方、緑茶や紅茶飲料の摂取では酸化度に減少傾向はみられたものの、有意差は認め

表1 摂取した飲料の栄養成分

飲料	ブドウ果汁	緑茶	紅茶	
原材料	ブドウ、香料	緑茶、ビタミンC	紅茶、ビタミンC、香料	
栄養成分 (100ml当たり)	エネルギー(kcal)	56	0	
	タンパク質(g)	0.4	0	
	脂質(g)	0	0	
	炭水化物(g)	14	0	
	食塩相当量(g)	0~0.05	0.03	0.02
	抗酸化成分(mg)	170 (ポリフェノール)	40 (カテキン)	42 (紅茶ポリフェノール)

られなかった。果物、果物飲料、緑茶や紅茶飲料の摂取などの生活習慣と唾液の酸化度との間に因果関係はみられなかった。また、同様にこれらの生活習慣と唾液のアミラーゼ活性についても関連はなかった。

謝辞

本研究の実施にあたり、研究対象者としてご協力いただいた学生の皆様に心より御礼申し上げます。

利益相反

利益相反に相当する事項はない。

参考文献

- (1) 渡辺明治、心理的ストレスによる酸化ストレス発現のメカニズム、日本病態栄養学会誌、10(1) :5-23、2007年
- (2) 中村成夫、活性酸素と抗酸化物質の化学、日医大医学会誌、9:164-169、2013年
- (3) 酒井重男、健康に役立つポリフェノール成分(前編)、食の科学、30-36、2002年
- (4) http://www.5aday.net/v350f200/doko/seiri2_c.html
- (5) Martin AR et al., Resveratrol, a polyphenol found in grapes, suppress oxidative damage and stimulates apoptosis during early colonic inflammation in rats. *Biochem Pharmacol* 67: 1399-1410, 2004
- (6) Das S et al., Anti-inflammatory responses of resveratrol. *Inflamm Allergy Drug Targets* 6: 168-173, 2007
- (7) Golkar L et al., Resveratrol inhibits pancreatic cancer cell proliferation through transcriptional induction of macrophage inhibitory cytokine-1. *J Surg Res* 38: 163-169, 2007
- (8) Wang Y et al., The red wine polyphenol resveratrol displays bilevel inhibition on aromatase in breast cancer cells. *Toxicol Sci* 92: 71-77, 2006
- (9) Yuan L et al., Impact of apple and grape juice consumption on the antioxidant status in healthy subjects. *Int J Food Sci Nutr* 62:844-850, 2011
- (10) Rho K et al., Effects of different grape formulations on antioxidative capacity, lipid peroxidation and oxidative DNA damage in aged rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 52:33-46, 2006
- (11) Miglio C et al., Fruit juice drinks prevent endogenous antioxidant response to high-fat meal ingestion. *Br J Nutr* 111:294-300, 2014
- (12) Weisel T et al., An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. *Biotechnol J* 1:388-397, 2006
- (13) Hamlaoui-Gasmi S et al., Grape seed and skin extract mitigates garlic-induced oxidative stress in rat liver. *Can J Physiol Pharmacol* 90:547-558, 2012
- (14) Hamlaoui S et al., Protective effect of grape seed and skin extract on garlic-induced erythrocyte oxidative stress. *J Physiol Pharmacol* 63:381-388, 2012
- (15) Boiago G et al., Grape skin extract mitigates tissue degeneration, genotoxicity, and oxidative status in multiple organs of rats exposed to cadmium. *Eur J Cancer Prev* 27:70-81, 2018
- (16) Chis I et al., Antioxidant effects of a grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 6:200-204, 2009
- (17) El AM et al., Protective effects of grape seed and skin extract against high-fat-diet-induced lipotoxicity in rat lung. *Lipids Health Dis* 16:174, 2017
- (18) Mokni M et al., Grape seed and skin extract protects kidney from doxorubicin-induced oxidative injury. *Pak J Pharm Sci* 29:961-968, 2017
- (19) Castilla P et al., Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and anti-inflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 84:252-262, 2006
- (20) Kuntz S et al., Anthocyanins from fruit juices improve the antioxidant status of healthy young female volunteers without affecting anti-inflammatory parameters: results from the randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over ANTHONIA

- (ANTHONIAcyanins in Nutrition Investigation Alliance) study. *Bri J Nutr* 112:925-936, 2014
- (21) http://www.5aday.net/v350f200/doko/seiri2_c.html
- (22) Zong JY et al. Effects of grape procyanidins on the concentration of intracellular calcium and the proliferation activity of the hepatoma cells. *Wei Sheng Yan Jiu* 35: 567-568, 572, 2006
- (23) Li MH et al. Protective effects of oligomers of grape seed polyphenols against beta-amyloid-induced oxidative cell death. *Ann N Y Acad Sci* 1030: 317-329, 2004
- (24) Shin M et al., The proanthocyanidins inhibit dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. *Arch J Pharm Res* 33:167-173, 2010
- (25) Howitz KH et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan, *Nature* 425: 191-196, 2003
- (26) Baur JA et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 444: 337-342, 2006
- (27) Dani C et al., Intake of purple grape juice as a hepatoprotective agent in Wistar rats. *J Med Food* 11:127-132, 2008
- (28) 佐々木 成ら編集、からだと水の事典、朝倉書店、2008年
- (29) 本郷利憲ら監修、標準生理学第6版、医学書院、2005年
- (30) 塩田正俊ら、運動時の唾液酸化還元電位の変化、山口大学教育学部研究論叢、63: 123-131、2014年
- (31) Varoni EM et al., Effects of red wine intake on human salivary antiradical capacity and total polyphenol content. *Food Chem Toxicol* 58:284-294, 2013
- (32) 浅海靖恵ら、唾液アミラーゼによる精神的ストレスの評価、急性・慢性ストレスについて検討、第48回日本理学療法学会大会（名古屋市）、2013年