

Original article

Influence on the oxidized protein hydrolase (OPH) activity of herbal tea extract

Kaori Ishizaki, Masayuki Yagi, Chieko Sakiyama, Yoshikazu Yonei

Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center,
Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2020; 7 (1): 22-28
(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

ハーブティー抽出物の酸化蛋白分解酵素 (OPH) 活性に対する影響

石崎 香、八木雅之、崎山智恵子、米井嘉一

同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／糖化ストレス研究センター

抄録

糖化最終生成物 (advanced glycation end products; AGEs) の生成や蓄積による生体ストレスを総合的にとらえた概念は糖化ストレス (glycative stress) と呼ばれる。糖化ストレスの増大は、老化や糖尿病合併症、アルツハイマー病、動脈硬化などの疾患の発症進展リスクになる。糖化ストレス対策は抗糖化と呼ばれ、食後高血糖の抑制、糖化反応の抑制、AGEs の分解排泄、食事由来の AGEs の低減などがある。酸化蛋白分解酵素 (oxidized protein hydrolase: OPH) は老化蛋白や AGEs の分解作用を有するプロテアーゼの一種で、生体組織中に広く分布する。本研究では糖化ストレスの低減に寄与する成分の探索を目的に、ハーブティー抽出物の OPH 活性に対する影響を検証した。58 品 (38 種類) のハーブティー熱水抽出液の OPH 活性に関する影響を検証した結果、OPH 活性増強作用は 47 品 (81%) に認められた。ハーブティーの種類別では 34 種類 (89%) に OPH 活性増強作用が認められた。一方、12 品の試料抽出液は OPH 活性を抑制した。チャノキ (*Camellia sinensis*) 由来の茶は緑茶 (不発酵茶) と紅茶 (発酵茶) で阻害作用を示したが、ほうじ茶 (焙煎茶)、プーアル茶 (後発酵茶) で活性増強した。OPH 活性増強作用が認められたハーブティーの利用部位を比較すると種子が葉と比べて有意に強かった。OPH 活性を増強する作用成分は多くの植物に含まれている可能性がある。茶葉の焙煎や発酵処理などの加工は OPH 活性に影響した。ハーブティーは OPH 活性を増強することで老化蛋白や AGEs の蓄積を防ぎ、糖化ストレスによる老化の進展抑制の一助となる可能性がある。

連絡先：教授 八木雅之
同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／
糖化ストレス研究センター
〒610-0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
TEL & FAX : 0774-65-6394 e-mail : myagi@mail.doshisha.ac.jp
共著者：石崎 香 ko-sei12@mail.doshisha.ac.jp ;
崎山智恵子 csakiyam@mail.doshisha.ac.jp ; 米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2020; 7(1): 22-28
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

KEY WORDS: 酸化蛋白分解酵素 (oxidized protein hydrolase : OPH)、ハーブティー抽出液、糖化ストレス、抗糖化

はじめに

グルコースなどの還元糖と蛋白との非酵素的反応は糖化 (glycation) と呼ばれる。糖化は生体内でも起こり、糖化により組織中に糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs) が蓄積する。AGEs の生成や蓄積は蛋白の褐色化、架橋形成による組織の硬化による機能性低下の要因となる。AGEs は生体内で特異的受容体 RAGE (receptor for AGEs) と結合し、様々な組織に炎症性変化を惹起する。このため AGEs の生成や蓄積による生体ストレスを総合的にとらえた概念は糖化ストレス (glycative stress) と呼ばれる^{1,2)}。糖化ストレスの増大は、老化や糖尿病合併症、アルツハイマー病、動脈硬化などの疾患の発症進展リスクになる。糖化ストレス対策は抗糖化と呼ばれ、食後高血糖の抑制、糖化反応の抑制 (AGEs 生成抑制)、AGEs 分解排泄促進などがある³⁾。

生体内で酸化または糖化した蛋白は老化蛋白と呼ばれる。酸化蛋白分解酵素 (oxidized protein hydrolase: OPH) はセリンプロテアーゼの一種で老化蛋白の N 末端アシル化アミノ酸を遊離する酵素でアシルアミノ酸遊離酵素 (acylamino-acid releasing enzyme: AARE)^{4,5)}、あるいはアシルアミノペプチドヒドラーゼ (acylaminoacyl-peptide hydrolase: APEH)⁶⁾とも呼ばれる。OPH は肝臓^{7,8)}、脳⁹⁾、血液¹⁰⁾、赤血球膜^{11,12)}、胎盤¹³⁾ など生体組織中に広く分布する。

糖尿病ラットにおいて血清中 OPH 活性は顕著に上昇し、血中カルボニル修飾蛋白量が低下する¹⁴⁾。OPH はプロテアソームと協働で老化蛋白の分解排泄に作用する¹⁵⁾。OPH は蛍光性 AGEs、CML など AGEs の分解作用を有する¹⁶⁾。また OPH は角層中にも存在し、加齢と弱い負の相関性がみられている。しかし OPH の活性に影響する成分は知られていない。

本研究では糖化ストレスの低減に寄与する成分の探索を目的に、ハーブティー抽出物の OPH 活性に対する影響を検証した。

材料と方法

1) 試薬

OPH は acylamino-acid releasing enzyme (AARE) をタカラバイオ (滋賀県草津市) から購入した。OPH は AARE を 50 mmol/L リン酸緩衝液 (pH 7.2) にて 0.025 U/mL に調整して使用した。OPH の酵素基質には L-acetyl-L-alanine

p-nitroanilide (AAPA) を Bachem (Bubendorf, Switzerland) から購入して使用した。AAPA は 50% エタノール水溶液で 25 mmol/L に調製して使用した。その他の試薬は特級グレードのものを富士フィルム和光純薬工業 (大阪府大阪市) またはナカライテスク (京都府京都市) から購入して使用した。

2) ハーブティー

ハーブティーは市販の乾燥物 58 品 (38 種類) を株式会社ひかわ (島根県出雲市) から提供を受けて使用した。

3) 試料抽出液の調製

試料抽出液は 40 mL の精製水にハーブティー粉末 2 g を混合し、80°C に設定したウォーターバス中で 60 分間インキュベートして得た。得られた抽出液は、室温まで冷却後、濾過して試料溶液とした。試料溶液の固形分濃度は、抽出液 5 mL を入れたアルミトレイを 120°C に 2 時間おいて水分を乾燥蒸発させ、蒸発残分を秤量して算出した。試料抽出液の濃度は固形分量と希釈率から算出し、反応終濃度として示した。

4) OPH 活性の測定と OPH 活性化率の算出

OPH 活性の測定の試料抽出液を 1/25 量添加した反応液を以下の構成で作成した: 0.1 mol/L Tris (tris (hydroxymethyl) aminomethane) – 塩酸緩衝液 (pH 7.4)、2 mmol/L AAPA、1 mU/mL OPH、試料抽出液。反応液 250 μ L を、37°C で 60 分間インキュベートし、OPH が AAPA を分解して遊離する p-nitroanilide (pNA) 量を 405 nm で吸光度測定した (S)。OPH 活性測定のリファレンスには、前記混合液中に添加する試料溶液の代わりに蒸留水を添加して測定した (R)。OPH 活性化率 (%) はリファレンス反応で反応開始直後 (0 分) からの 60 分間に遊離生成された pNA 量を 100% として、以下の式で算出した。

$$\text{OPH 活性化率 (\%)} = \{ (S_{60} - S_0) / (R_{60} - R_{00}) \} \times 100$$

S ; 試料溶液添加反応液の pNA 濃度,

R ; リファレンス反応液の pNA 濃度,

60 ; 60 分後,

0 ; 反応直後 (0 分)

OPH 活性の測定は試料抽出液をそのまま、あるいは試料抽出液を蒸留水で 3 ~ 100 倍希釈液した 3 濃度を検証した。OPH 活性化率は検証した 3 濃度のうち、最高値を代表値とした。

統計解析

OPH 活性化率は平均値 ± 標準偏差で示した。解析結果の検定は統計解析ソフト BellCurve for Excel (社会情報サービス、東京都新宿区) を使用し、群間の比較にチューキーの多重比較検定 (Tukey's test) を実施した。統計解析結果は危険率 5% 未満を有意とした。

結果

58 品のハーブティー熱水抽出液の OPH 活性に関する影響を検証した結果、OPH 活性増強作用は 46 品 (81%) に認められた (Table 1)。OPH 活性増強作用が認められた 46 品の OPH 活性化率は、24 品が 50% 以上 ($66.5 \pm 12.9\%$)、22 品が 0% 以上 50% 未満 ($35.5 \pm 13.4\%$) であった (Table 2)。一方、12 品の試料抽出液は OPH 活性を抑制し、8 品が 0% 以上 50% 未満の抑制 ($-23.7 \pm 10.8\%$)、4 品が 50% 以上の抑制 ($-58.7 \pm 4.4\%$) であった。

ハーブティーの種類別では 38 種類のうち 34 種類 (89%) に OPH 活性増強作用が認められた。OPH 活性化率は玄米 (89.2%: 平均値, n = 2)、大麦 ($83.6 \pm 2.7\%$, n = 3)、タンポポ (78.3%)、ローズヒップ (77.2%) が 70% 以上の高値を示した (Fig. 1)。一方、4 種類は OPH 活性を阻害した。紅茶 (-55.7%) は OPH 活性化率が最も大きなマイナスの値となり強い阻害作用を示した。次いで阻害作用を示したハーブティーは緑茶 ($-52.1 \pm 9.3\%$, n = 3)、メイグイ (-16.5% : 平均値, n = 2)、ジャスミン茶 (-0.8%) であった。

チャノキ (*Camellia sinensis*) 由来の茶が OPH 活性に与える影響は緑茶 (無発酵茶) と紅茶 (発酵茶) で -40% 以上の阻害作用を示したが、ほうじ茶 (焙煎茶)、プーアル茶 (後発酵茶) は活性を増強した。ウーロン茶 (半発酵茶) の作用は使用した 3 品に活性増強作用と阻害作用の両方を示した。

OPH 活性増強作用が認められたハーブティーの利用部位を比較すると、活性化率は種子 ($72.7 \pm 17.4\%$, n = 9)、根 ($52.6 \pm 17.8\%$, n = 4)、葉 ($43.9 \pm 17.8\%$, n = 29) 順に大きく、種子が葉と比べて有意に大きかった ($p < 0.01$, Fig. 2)。

考察

OPH 活性に影響を及ぼすハーブティー中の成分

OPH 活性はハーブティー抽出液の影響を与え、検証した 58 品 (38 種類) の試料中 46 品 (81%)、34 種類 (89%) に活性増強作用が認められた。この結果は OPH 活性を増強する作用成分が多く含まれている可能性を示している。既に植物には化学分類学的な知見からさまざまな属や科レベルの特徴成分が報告されている^{17,18)}。OPH 活

性化率は葉よりも種子を利用しているハーブティーで高値であったが、活性の強弱に植物分類学的な関連性を認められなかった。

OPH 活性を阻害する作用は緑茶 (無発酵茶) に認められたが、茶葉の焙煎、発酵処理によって阻害作用が軽減した。緑茶にはカフェイン (caffeine)、テオフィリン (theophylline)、タンニン (tannin) 類などが含まれている¹⁹⁾。また茶葉は酸化発酵によりカテキン (catechins) がテアフラビン (theaflavin) などに変化することが知られている²⁰⁻²²⁾。茶葉の焙煎や発酵処理などの加工は茶葉成分の変化に起因する OPH 活性阻害作用の変化に関連する可能性がある。

糖化ストレス抑制の観点からみた OPH 活性増強作用

OPH は生体組織中に広く分布している⁷⁻¹³⁾。OPH には AGEs 量および N^{ϵ} -(carboxymethyl) lysine (CML) 量を減少させる作用が認められているため¹⁶⁾、ハーブティーの摂取は生体内の OPH 活性の増強に繋がり、体内で AGEs 化した老化蛋白の分解排泄促進する可能性がある。また皮膚角層中にも OPH 様活性が認められ、角層中 CML の分解に関与している可能性が示されている。しかし角層 OPH 活性は加齢と弱い負の相関性、角層 CML 量、皮膚中 AGEs 蓄積量 (skin autofluorescence: SAF) の増加が観察されている¹⁶⁾。皮膚中 AGEs の増加は皮膚のキメ喪失²³⁾、黄色化、バリア機能の低下²⁴⁾に関与し、皮膚老化の進展に影響する。ハーブティー成分のスキンケア剤としての利用は OPH 活性の低下を抑え、SAF 抑制に寄与する可能性がある。ハーブティーを食品やスキンケア剤として利用することは、OPH 活性を増強することで AGEs の蓄積を防ぎ、糖化ストレスによる老化抑制の一助となる可能性がある。

結語

ハーブティーの熱水抽出物には OPH 活性に影響を与える作用が認められた。OPH 活性増強作用は評価した 58 品の試料中、46 品 (81%) に認められ、OPH 活性を増強する作用成分が多く含まれている可能性があった。OPH 活性に対する影響はハーブの種類、焙煎や発酵処理などの加工、利用部位によって異なった。ハーブティーの OPH 活性増強作用は、老化蛋白や AGEs の蓄積を予防する効果が期待され、糖化ストレスによる老化抑制の一助となる可能性がある。

利益相反申告

本研究の実施にあたりクラージュ株式会社より研究費の支援を受けた。

謝辞

本研究の一部は文部科学省研究助成 (#26350917) によって実施された。

Table 1. Influence on the OPH activity of 58 sample (38 category) herbal tea extract

Sample ID	Sample name	Japanese general tea category	Use for tea	Scientific name	Family name	Sample conc. (µg/mL)	pNA conc. (mmol/L)	Activation ratio (%)
41	Dokudami	Dokudami-cha	leaf	<i>Houttuynia cordata</i>	Saururaceae	24.8	0.120	48.9
1	Job's tears (non-caramel)	Hatomugi-cha	seed	<i>Coix lacryma-jobi var. ma-yuen</i>		0.9	0.123	53.5
4	Job's tears					387.7	0.120	48.8
22	Brown rice (crushed)	Genmai	seed	<i>Oryza sativa</i>		224.0	0.149	85.8
26	Brown rice (crushed)					163.8	0.155	92.7
21	Barley tea	mugi-cha	seed	<i>Hordeum vulgare</i>	Poaceae	93.1	0.150	86.5
55	Nijo Barley tea					116.6	0.147	83.0
56	Rokujo Barley tea					95.1	0.146	81.2
8	Lemon grass	Lemon grass	leaf	<i>Cymbopogon citratus</i>		384.1	0.118	47.0
46	Kuma bamboo grass	Kumazasa-cha	leaf	<i>Sasa veitchii</i>		165.3	0.134	67.4
38	Amacha	Amacha	leaf	<i>Hydrangea macrophylla var. thunbergii</i>	Saxifragaceae	63.7	0.113	41.0
49	Salacia	Salacia-cha	root	<i>Salacia sp.</i>	Celastraceae	74.7	0.109	37.4
13	Five-leaf ginseng	Amachazuru-cha	leaf	<i>Gynostemma pentaphyllum</i>	Cucurbitaceae	214.2	0.133	65.3
15	Cassia seed	Habu-cha	seed	<i>Senna obtusifolia</i>		97.2	0.140	73.6
36	Candle bush	Candle bush	leaf	<i>Cassia alata</i>	Fabaceae	273.1	0.110	36.3
40	Sword bean	Natamame-cha	seed	<i>Canavalia gladiata</i>		114.9	0.120	49.2
43	Rooibos	Rooibos-cha	leaf	<i>Aspalathus linearis</i>		99.6	0.129	60.3
16	Mulberry leaf	Kuwa-no-ha-cha	leaf	<i>Morus sp.</i>	Moraceae	50.3	0.125	55.7
20	Mulberry leaf (Shimane Pref.)					34.6	0.140	74.0
25	Rugosa rose	Meigui	flower	<i>Rosa rugosa spp.</i>		22.3	0.058	-27.4
54	Rugosa rose					2.1	0.076	-5.5
28	Rose hip	Rose hip	fruit	<i>Rosa canina</i>	Rosaceae	77.0	0.142	77.2
44	Tencha					31.7	0.123	53.4
58	Tencha	Ten-cha	leaf	<i>Rubus suavissimus</i>		59.9	0.100	24.9
59	Tencha (fermented)					53.0	0.108	34.9
45	Banaba	Banaba-cha	leaf	<i>Lagerstroemia speciosa</i>	Lythraceae	20.5	0.089	10.5
42	Guava leaf	Guava leaf-cha	leaf	<i>Psidium guajava</i>	Myrtaceae	8.9	0.089	10.2
6	Evening primrose	Tsukimiso-cha	leaf	<i>Oenothera sp.</i>	Onagraceae	2.5	0.088	9.6
52	Evening primrose					1.6	0.080	-0.5
37	Moringa	Moringa	leaf	<i>Moringa oleifera</i>	Moringaceae	61.0	0.125	55.2
47	Kaki leaf	Kaki-no-ha-cha	leaf	<i>Diospyros kaki</i>	Ebenaceae	208.0	0.124	53.8
33	Green tea (benifuki)	Ryoku-cha				18.9	0.034	-57.7
34	Green tea (saemidori)					41.9	0.035	-56.2
32	Green tea (Kagosima Pref.)					25.1	0.046	-42.9
31	Green tea (autum-winter harvest)					56.6	0.047	-41.2
27	Green tea (2nd harvest)					45.8	0.041	-49.3
35	Green tea (3rd harvest)					63.5	0.028	-65.1
19	Coarse tea (roasted)					Ban-cha		
3	Roasted green tea	Hoji-cha	leaf	<i>Camellia sinensis</i>	Theaceae	6.1	0.093	15.4
29	Roasted green tea					51.9	0.125	55.2
5	Jasmine tea	Jasmine-cha (oolong tea scented with the aroma of jasmine blossoms)				6.2	0.080	-0.8
12	Black tea	Koh-cha				62.7	0.036	-55.7
14	Oolong tea (leaf)	Oolong-cha				51.7	0.063	-21.9
17	Oolong tea (tea bag)					38.4	0.104	29.2
24	Oolong tea (Taiwan)					43.9	0.108	34.9
7	Pu'er tea (tea bag)	Pu'er-cha				37.0	0.115	43.4
11	Pu'er tea (leaf)					4.0	0.114	42.2

ハーブティーのOPH活性に対する影響

Sample ID	Sample name	Japanese general tea category	Use for tea	Scientific name	Family name	Sample conc. (µg/mL)	pNA conc. (mmol/L)	Activation ratio (%)
9	Gymnema	Gymnema-cha	leaf	<i>Gymnema sylvestre</i>	Apocynaceae	6.7	0.133	65.5
48	Shiso	Shiso-cha	leaf	<i>Perilla frutescens var. crispa</i>	Lamiaceae	29.1	0.082	39.8
39	Olive leaf	Olive-ha-cha	leaf	<i>Olea europaea</i>	Oleaceae	51.3	0.121	50.7
2	chicory (raw)	Chicory	leaf	<i>Cichorium intybus</i>		50.3	0.124	54.7
51	chicory					384.0	0.128	59.7
30	Burdock tea	Gobo-cha	root	<i>Arctium lappa</i>		1448.2	0.117	46.2
53	Burdock tea					714.7	0.119	48.4
18	Safflower	Benibana-cha	flower	<i>Carthamus tinctorius</i>	Asteraceae	88.2	0.119	47.7
23	Dandelion	Tanpopo-ne-cha	root	<i>Taraxacum sp.</i>		936.0	0.143	78.3
50	Chrysanthemum flower	Kikuka-cha	flower	<i>Chrysanthemum morifolium</i>		35.7	0.126	56.9
10	Lingzhi mushroom	Lingzhi	mushroom	<i>Ganoderma lucidum</i>	Ganodermataceae	109.5	0.126	57.0
Ref						-	0.080	0.0

Sample conc, final sample concentration in reaction reagent; pNA conc, concentration of pNA separated in reaction liquid in 60 minutes; Activation ratio, activation ratio of OPH to reference; OPH, oxidized protein hydrolase; pNA, p-nitroanilide.

Table 2. OPH activity by processing of green tea

Tea category	Processing	n	Activation ratio (%)
Green tea	unfermented	3	-52.1 ± 9.3
Coarse tea	roasted	1	34.5
Roasted green tea		2	35.3
Black tea		2	-55.7
Oolong tea	fermented	3	14.1 ± 31.3
Pu'er tea		2	42.8

Results are expressed as mean ± SD or average values. Green tea, tea of *Camellia sinensis* source; activation ratio, activation ratio of OPH to reference; OPH, oxidized protein hydrolase; SD, standard deviation.

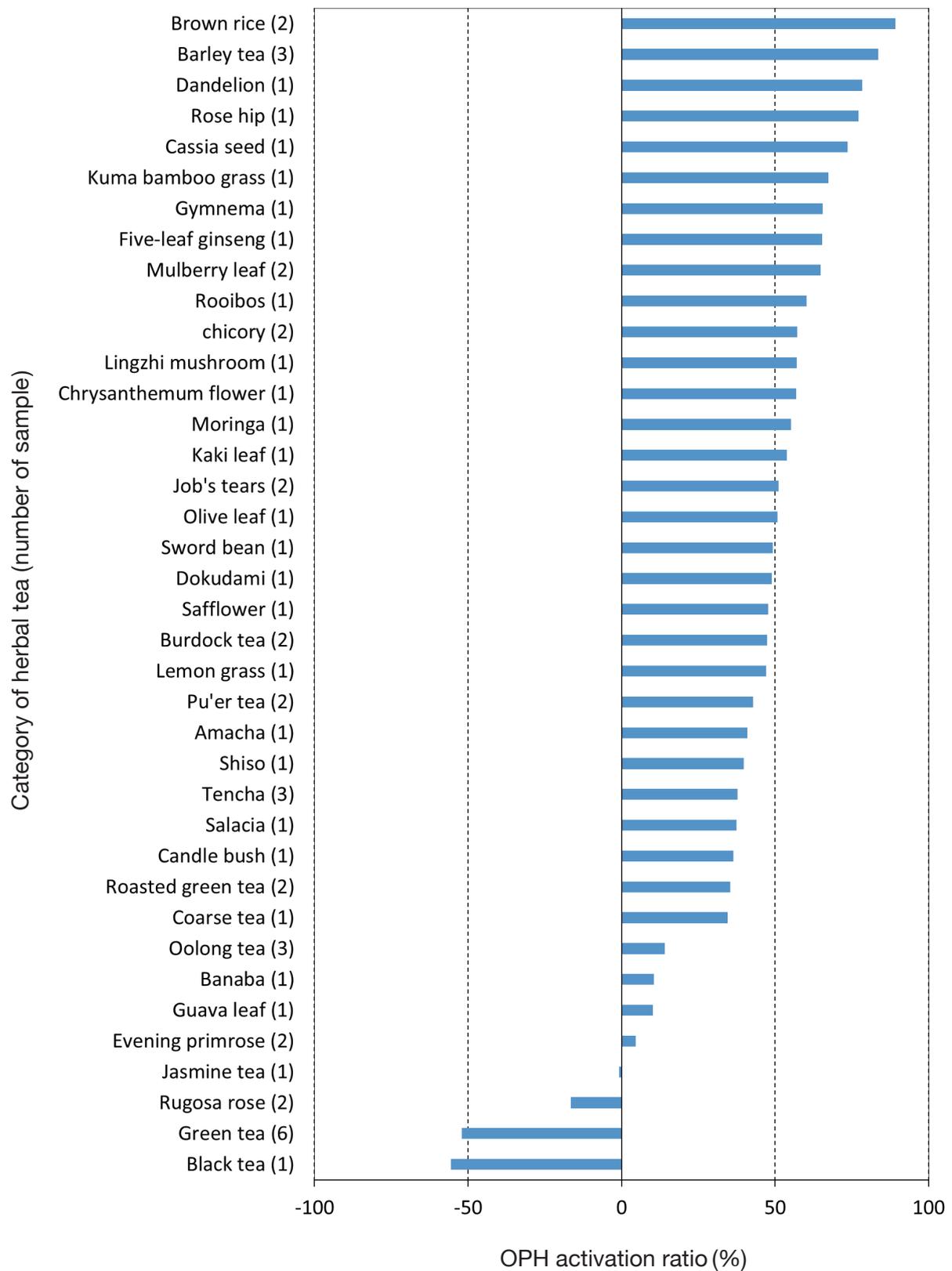


Fig.1. Influence on the OPH activity of 38 category herbal tea extract.

OPH activation ratio, activation ratio of OPH to reference; Extract condition, dry herb powder 2g + 40 mL hot water (80°C), incubated for 60 min; OPH, oxidized protein hydrolase.

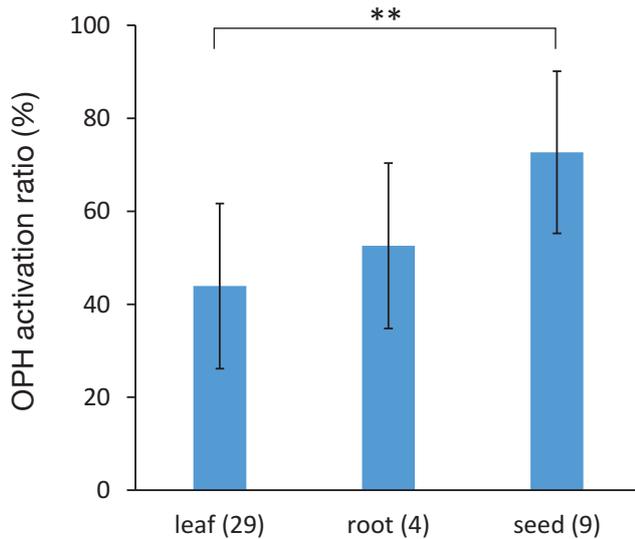


Fig.2. Influence on the OPH activity use for tea.

Results are expressed as mean±SD. Parenthesis shows number of samples. **: p < 0.01, Tukey's multiple comparison test. OPH activation ratio, activation ratio of OPH to reference; Extract condition, dry herb powder 2g+40mL hot water (80°C), incubated for 60min; OPH, oxidized protein hydrolase; SD, standard deviation.

参考文献

- 1) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. *Ant-Aging Med.* 2011; 8: 23-29.
- 2) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 1. What is glycative stress? *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 152-155.
- 3) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 13. Regulation of glycative stress. 1. Postprandial blood glucose regulation. *Glycative Stress Res.* 2019; 6: 175-180.
- 4) Miyagi M, Sakiyama F, Kato I, et al. Complete covalent structure of porcine liver acylamino acid-releasing enzyme and identification of its active site serine residue. *J Biochem.* 1995; 118: 771-779.
- 5) Tsunasawa S, Imanaka T, Nakazawa T. Apparent dipeptidyl peptidase activities of acylamino acid-releasing enzymes. *J Biochem.* 1983; 93: 1217-1220.
- 6) Kobayashi K, Smith JA. Acyl-peptide hydrolase from rat liver. Characterization of enzyme reaction. *J Biol Chem.* 1987; 262: 11435-11445.
- 7) Gade W, Brown JL. Purification and partial characterization of alpha-N-acylpeptide hydrolase from bovine liver. *J Biol Chem.* 1978; 253: 5012-5018.
- 8) Mitta M, Miyagi M, Kato I, et al. Identification of the catalytic triad residues of porcine liver acylamino acid-releasing enzyme. *J Biochem.* 1998; 123: 924-931.
- 9) Yamin R, Zhao C, O'Connor PB, et al. Acyl peptide hydrolase degrades monomeric and oligomeric amyloid-beta peptide. *Mol Neurodegener.* 2009; 4: 33.
- 10) Quistad GB, Klintonberg R, Casida JE. Blood acylpeptide hydrolase activity is a sensitive marker for exposure to some organophosphate toxicants. *Toxicol Sci.* 2005; 86: 291-299.
- 11) Beppu M, Inoue M, Ishikawa T, et al. Presence of membranebound proteinases that preferentially degrade oxidatively damaged erythrocyte membrane proteins as secondary antioxidant defense. *Biochim Biophys Acta.* 1994; 1196: 81-87.
- 12) Fujino T, Watanabe K, Beppu M, et al. Identification of oxidized protein hydrolase of human erythrocytes as acylpeptide hydrolase. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1478: 102-112.
- 13) Unger T, Nagelschmidt M, Struck H. N-Acetylaminoacyl-p-nitranilidase from human placenta. Purification and some properties. *Eur J Biochem.* 1979; 97: 205-211.
- 14) Shimizu K, Ikegami-Kawai M, Takahashi T. Increased oxidized protein hydrolase activity in serum and urine of diabetic rat models. *Biol Pharm Bull.* 2009; 32: 1632-1635.
- 15) Shimizu K, Kiuchi Y, Ando K, et al. Coordination of oxidized protein hydrolase and the proteasome in the clearance of cytotoxic denatured proteins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 324: 140-146.
- 16) Yagi M, Ishigami M, Mori R, et al. Reduction effect of oxidized protein hydrolase (OPH) on advanced glycation end products and OPH-like activity in human stratum corneum. *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 184-191.
- 17) Singh R. Chemotaxonomy: A tool for plant classification. *J Medicinal Plants, Studies.* 2016; 4: 90-93.
- 18) Liu K, Abdullah AA, Huang M, et al. Novel approach to classify plants based on metabolite-content similarity. *Biomed Res Int.* 2017; 5296729.
- 19) Tang GY, Meng X, Gan R-Y, et al. Health functions and related molecular mechanisms of tea components: An update review. *In J Mol Sci.* 2019; 20: 6196.
- 20) Tanaka T, Miyata Y, Tamaya K, et al. Increase of theaflavin gallates and thearubigins by acceleration of catechin oxidation in a new fermented tea product obtained by the tea-rolling processing of loquat (*Eriobotrya japonica*) and green tea leaves. *J Agric Food Chem.* 2009; 57: 5816-5822.
- 21) Jiang HY, Shii T, Matsuo Y, et al. A new catechin oxidation product and polymeric polyphenols of post-fermented tea. *Food Chem.* 2011; 129: 830-836.
- 22) Zhang M, Otake K, Miyauchi Y, et al. Comprehensive NMR analysis of two kinds of post-fermented tea and their anti-glycation activities *in vitro*. *Food Chem.* 2019; 277: 735-743.
- 23) 五味貴優. 角層のAGEs評価法とその応用. *Bio Industry.* 2011; 28: 20-26.
- 24) Yokota M, Tokudome Y. The effect of glycation on epidermal lipid content, its metabolism and change in barrier function. *Skin Pharmacol Physiol.* 2016; 29: 231-242.