

New Food Industry

2021

1

New food indust. 63 (1): 2021.

新春巻頭言

- ◆ コロナ禍での生活設計

原著

- ◆ カシス含有加工食品“ピントくるカシス”の摂取が健常者の眼機能に及ぼす影響：
ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

研究解説

- ◆ エネルギー産生に欠かすことができないビタミン様物質 α -リポ酸の生合成経路
- ◆ 納豆菌(*Bacillus subtilis natto*)の機能性および経口投与効果
- ◆ 唾液分泌に関わる調節因子 ～耳下腺アミラーゼ分泌とMARCKSタンパク質～

シリーズ5回目 健康食品の有効性・安全性評価におけるヒト試験の現状と課題

- ◆ — 機能性表示食品としての最終製品を用いたヒト臨床試験（ヒト試験）における
クロスオーバー比較デザインの統計学的留意事項 —

製品解説

- ◆ バクチオール, オランダビュ果実油およびその製剤
フィトレチノールTMの表皮・真皮におけるシワ改善メカニズム

New Food Industry Editorial Board

■ボードメンバー敬称略(五十音順)

大石	隆介	Ryusuke Oishi	明海大学 経済学部経済学科
岡	希太郎	Kitaro Oka	東京薬科大学
具	然和	Yeunhwa Gu	純真学園大学 放射線技術科学科
古賀	邦正	Kunimasa Koga	(一財)自然環境研究センター
齋藤	忠夫	Tadao Saito	東北大学
坂上	宏	Hiroshi Sakagami	明海大学歯科医学総合研究所(M-RIO)
史	海霞	Haixia Shi	上海交通大学医学院第九人民医院
白瀧	義明	Yoshiaki Shirataki	城西大学薬学部生薬学講座
須見	洋行	Hiroyuki Sumi	倉敷芸術科学大学
瀬口	正晴	Masaharu Seguchi	神戸女子大学, 日本穀物科学研究会会長
早田	邦康	Kuniyasu Soda	自治医科大学附属さいたま医療センター
津田	孝範	Takanori Tsuda	中部大学応用生物学部食品栄養科学科
友村	美根子	Mineko Tomomura	明海大学 総合教育センター
日比野	康英	Yauhide Hibino	城西大学大学院 薬学研究科
豊崎	俊幸	Toyosaki Toshiyuki	香蘭女子短期大学 食物栄養学科
牧	純	Jun Maki	松山大学薬学部 医療薬学科
増田	宜子	Yoshiko Masuda	松本歯科大学 歯科保存学講座
松郷	誠一	Seiichi Matsugo	金沢大学
宮尾	茂雄	Shigeo Miyao	東京家政大学大学院
山口	正義	Masayoshi Yamaguchi	University of Hawaii Cancer Center
山田	正子	Masako Yamada	東京家政学院大学 現代生活学部 食物学科
肖	黎	Li Xiao	日本歯科大学 生命歯学部薬理学講座
渡部	保夫	Yasuo Watanabe	愛媛大学大学院農学研究会

謹賀新年

OHTA RYU

<http://www.ohtaryu.co.jp>

太田隆株式会社

代表取締役 太田 隆之

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-1
電話 (03) 3662-2721 FAX (03) 3662 2725

おかげさまで 140 年

<http://www.kuratani-kagaku.jp>



倉谷化学産業株式会社

代表取締役社長 倉谷 宏孝
e-mail : hiro@kuratani-kagaku.co.jp



本 社 〒103-0008 東京都中央区日本橋中洲12-10
電 話:03-3668-6781(代) FAX:03-3668-6790
大阪営業所 〒530-0047 大阪市北区西天満3-12-2 ユニ老松ビル5F
電 話:06-6364-6707(代) FAX:06-6364-3734
茨城工場 〒300-1542 茨城県取手市神住709
電 話:0297-85-8009 FAX:0297-85-8669

小堺化学工業株式会社 KOSAKAI CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD

代表取締役社長 小堺 裕一郎

本 社 〒103-8313 東京都中央区日本橋富沢町11-7
KCI ビルディング
本 社 電話 (03) 3662-4701 (代)
大阪営業所 電話 (06) 6543-4701 (代)
静岡営業所 電話 (054) 686-4701 (代)
<https://www.kosakai.co.jp>

株式会社コスモ

代表取締役社長 岡田 典子

本 社 〒103-0001 東京都中央区日本橋人形町 1丁目11番2号
川商ビル5階
電話 (03) 3249-0390 FAX (03) 3666-2165
E-mail : headoffice@cosmo-foods.co.jp

株式会社 食品資材研究会

代表取締役 平井 朋美

〒101-0038 東京都千代田区神田美倉町10番地 喜助新神田ビル
電話 (03) 3254-9191(代) FAX (03) 3256-9559



TOTAL PRINTING ADVISOR

株式会社メイク

代表取締役 吉満 隆文

〒162-0801 東京都新宿区山吹町 350 番地 メイクビル
電話 (03) 5228-2931 FAX : (03) 5228-2445
URL : <http://www.make-print.co.jp/>
<https://atmake.tokyo/>

理研ビタミン株式会社

代表取締役社長 山木 一彦

〒101-8370 東京都千代田区神田三崎町 2-9-18
電 話 (03) 5275-5111(大代表)



胡麻を通じて健康を科学する。
～香と機能、個性ある胡麻をお届けします～

株式会社 わだまんサイエンス

<http://www.wadaman-s.com/>

代表取締役社長 深堀 勝謙

〒604-0845 京都市中京区烏丸御池上る二条殿町546 NT都ビル9F
電 話 (075) 222-7318 FAX (075) 222-0318

New Food Industry



エヌエフアイ合同会社

New future's information

本 社:〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302
電話 042-312-0836 FAX 042-312-0845
編集室: Tel/Fax : 042-326-6258

新春巻頭言

■ コロナ禍での生活設計

坂上 宏 1

原著

■ カシス含有加工食品“ピントくるカシス”の摂取が健常者の眼機能に及ぼす影響：ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

金井 貴義, 高橋 悠太, 山田 高広 3

研究解説

■ エネルギー産生に欠かすことができないビタミン様物質 α -リボ酸の生合成経路

柴田 克己 22

■ 納豆菌 (*Bacillus subtilis natto*) の機能性および経口投与効果

須見 洋行, 満尾 正, 柳澤 泰任, 矢田貝 智恵子 29

■ 唾液分泌に関わる調節因子 ～耳下腺アミラーゼ分泌と MARCKS タンパク質～

佐藤 慶太郎 35

シリーズ5回目 健康食品の有効性・安全性評価におけるヒト試験の現状と課題

■ 機能性表示食品としての最終製品を用いたヒト臨床試験（ヒト試験）におけるクロスオーバー比較デザインの統計学的留意事項 —

鈴木 直子, 田中 瑞穂, 野田 和彦, 柿沼 俊光, 馬場 亜沙美, 波多野 絵梨, 山本 和雄 41

連載解説

■ 新解説 グルテンフリー穀物製品のマーケットについて (2)

瀬口 正晴, 竹内 美貴, 中村 智英子 52

製品解説

■ バクチオール, オランダビュ果実油およびその製剤 フィトレチノールTMの表皮・真皮におけるシワ改善メカニズム

宮坂 賢知, 竹田 翔伍, 山田 和佳奈, 下田 博司 61

コーヒー博士のワールドニュース

■ 健康長寿とコーヒーの関係 / 知識は力

岡 希太郎 57

New Year's essay 新春随想

■ New Business Models and Lifestyle Choices Triggered by COVID-19: The Case of Restaurants and Delivery Businesses

Ryusuke Oishi 66

■ COVID-19 と戦う利器 —エビデンスが語るマスクの有用性

肖 黎 69

連載 野山の花 —身近な山野草の食効・薬効—

■ オモト *Rohdea japonica* (Thunb.) Roth [ユリ科 Liliaceae APG 体系: キジカクシ科 (クサスギカズラ科) Asparagaceae]

白瀧 義明 72

■ 野山の花 —身近な山野草の食効・薬効— (これまでのまとめ)

白瀧 義明 75

海外紀行文 2019 年夏のスコットランド紀行

■ ービフォーコロナー (3) スコティッシュボーダーズ

林田 千代美 88

世界から、優れた「自然の恵み」を提供します

アンテスの母なる穀物 **キヌア**



南米アンテス原産のヒユ科アカザ亜科の雑穀です。インカ帝国の時代より食され、栄養価の高さから伝承的に「母なる穀物」として重用されてきました。食物繊維や鉄・マグネシウムなどのミネラル、すべての必須アミノ酸を含む、栄養バランスに優れたグルテンフリーの雑穀で、スーパーフードとして世界的にも注目されています。

「茹でる」「炊く」が1番ポピュラーな食べ方で、フクフクとした食感を楽しめます。スープ・雑炊・サラダ・雑穀米など様々な料理に使われています。

取扱い製品

◆キヌア粒

◆有機キヌア粒



大日本明治製糖株式会社 本店営業部

〒100-0011 東京都千代田区千代田二丁目1番1号 飯野ビルディング10階
電話 03-5510-1871

<http://www.dmsugar.co.jp>



その透きとおった肌のヒミツは、なに？



外部試験機関にて臨床データを取得
ヒト経口摂取による試験にて、「保湿効果」、「バリア機能改善効果」
さらには「美白効果」も確認されました。

初めまして。
食べて身体の中からキレイになる、
パイナップルから生まれたセラミド。

美容素材 **パイナップルセラミド**

パインセラ®

自然の恵みを運ぶ

食品営業部

丸善製菓株式会社

【東京】東京食品課 〒150-0021 東京都渋谷区恵比寿西2-6-7 TEL(03)3496-1521 FAX(03)3496-1641

【大阪】大阪食品課 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町2-6-6(塩野日生ビル6F) TEL(06)6203-6918 FAX(06)6233-3606 <http://www.maruzenpcy.co.jp>

セサミンを規格
香り芳醇

**リグナンリッチ黒胡麻
マイクロパウダー**

金胡麻マイクロパウダー

60 メッシュ 90% パス、胡麻粉末飲料、ふりかけ、生菓子、製菓へ
「通常のすりごまより香りが広がる」セサミンリッチな黒胡麻です。

～プロテイン飲料、菓子、スープ、トッピング等へ～

～リグナンリッチ黒ごままで栽培された～

胡麻若葉末

有機認定 (島根産)
九州産 (鹿児島)

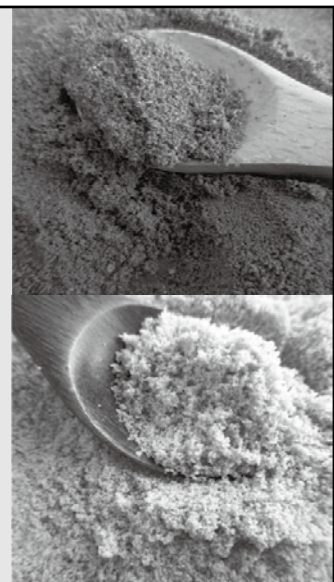
※特許査定を受けました
※急性毒性、変異原性試験、ORAC 値測定
※黒酢との比較で ACE 活性阻害作用を確認

リグナンリッチ黒胡麻ペースト
(セサミン規格値 0.8%)

リグナンリッチ黒胡麻油
(セサミン規格値 1.2%)

発酵胡麻ほか

胡麻クランチの OEM



胡麻を通じて健康を科学する。
～香と機能、個性ある胡麻をお届けします～

株式会社 **わだまんサイエンス**

本 社 〒604-0845 京都市中京区烏丸御池上る二条殿町546

TEL 075-222-7318 / FAX 075-222-0318

<http://www.wadaman-s.com>

コロナ禍での生活設計

明海大学歯科医学総合研究所 坂上 宏

1. コロナ禍から逃れて～地元の人に教えられた富士山の絶景スポット

私は、留学から帰国後6年間、横浜市緑区の団地に住んでいた。敷地内の砂場や、小高い丘の上にある公園や保育園などで、近所の方々と親しく過ごさせていただいた。その当時が懐かしくなり、久しぶりに思い出の地を訪れた。アパート、附近の家並み、急な坂道も、ほとんど変わっていなかったことは嬉しかった。この辺りは、テレビドラマのロケによく使われる。我々が住んでいたアパートの室内もテレビで放映された。台所の壁、トイレ、風呂場も昔のまま残されていた。美しい山並みが画面に現れた。そこは何処であろうかとネットで検索したところ、静岡県北東端にある小山町が撮影の協力をしたと書かれていた。秋晴れの日に、コロナ禍から一時的にでも逃れようと、御殿場線の日帰り旅行に出かけた。御殿場線は単線である。足柄駅で下車した人数は、10名前後であった。駅員は見当たらない。乗り降りには、皆ICTカードで行う。ここは静かな町である。駅前広場には、数件のお店と駅に隣接している展示場しかない。時々、展示場からストリートピアノの音色が聞こえてきた。駐在所で、地元の方がお気に入りの富士山が見渡せる場所を教えてもらった。舗装された車道を歩いて登って行くと、東名高速道路を見下ろせる見晴らし台を見つけた。この辺りには、我々以外には観光客はいなかった。すれ違う車は全て富士山のバックナンバーである。巡回パトロールの人から、近くにオリンピックの宣伝に使われている棚田があることを教わった。カメラを設置して、棚田の写真を撮っていた人がいた。ガイドブックには紹介されていない絶景が目の前に展開していた。何でも地元の人に聞いてみるものだ。



静岡県小山町で出逢った棚田と富士山の光景

2. ベートーベンが、我々に力と勇気を与えてくれる

今年は、ベートーベンの生誕 250 周年にあたる。ベートーベンは、生涯において、2 つの革新的なことを成し遂げた。単一モチーフから交響曲第 5 番（運命）（作品番号 67）と、緻密な情景描写を取り入れた交響曲第 6 番（田園）（作品番号 68）の作曲である。9 つの交響曲のうち、ベートーベンが最も気に入っていたのは第 3 番（英雄）である。この曲はバン、バンの「ピンタ二発」後に曲が始まる。交響曲第 4 番の第 3 楽

章は、ワンテンポずれた音階、シンコペーションで始まる。第5番の冒頭のダダダダーンも、短い間合いを置いて始まる。古今東西のチェロソナタの最高峰と言われるチェロソナタ第3番（作品番号69）の第2楽章は、シンコペーションが効果的である。これら作品番号67, 68, 69の曲は、ほぼ同時に作曲されている。交響曲第7番（作品番号92）と交響曲第8番（作品番号93）もほぼ同時に作曲されている。同時に複数の曲を創作することにより、相互に影響し合い、質と新鮮味が高まるのだろう。変奏能力では、ベートーベンに適うものはいない。最初に現れた主題が、途中で、全く趣の異なる楽句にまで発展することもある。交響曲7番の第2楽章は、ワーグナーをして「舞踏の聖化」と大絶賛させている。ベートーベンは、晩年にもエネルギーに新境地を開拓している。7楽章から成る弦楽四重奏曲第14番は、シューベルトを熱狂させ、死期を早めたとも言われている。ブラームスが第一交響曲を完成するのに19年を要したのも、ベートーベンの9つの交響曲が全てのことを成し遂げてしまったためである。ベートーベンは、作曲者として致命的な耳の病におかされたにも関わらず、逞しく、力強く生きようとした努力家である。その音楽は、我々に力と勇気を与えてくれる。

3. コロナ禍対策：健康の維持と新しい挑戦

コロナ感染者の数が、世界的規模で増加している。コロナウイルスと共生する生活様式を真剣に考え直さなければならない。ほとんどの大学は、対面授業とweb授業の両方を取り入れている。Web授業の準備には相当な時間がかかるため、研究が滞ってしまう。大学では、必要不可欠な学生教育、研究、臨床を行い、自宅では講義準備、実験データの整理や論文作成を行うという2段階システムを有効に使えば、健康を維持し、感染の予防と仕事の能

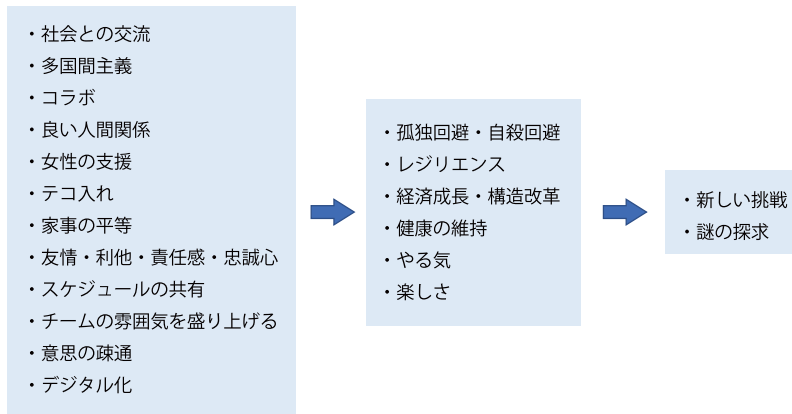


図1 コロナ禍での生活設計

率化に繋がる。特に、臨床系の先生や、子育て中の女性は、いくら時間があっても足りない。基礎系の先生のテコ入れ（協力、ボランティア精神、利他）が必要である。ほんの少しのテコ入れで、止まっていた組織全体を動かすこともできる。

女性の支援は、家族の未来のための投資が増加し、経済成長にも繋がる。組織内の同僚との意思疎通とスケジュールの共有が重要である。各部署にデジタル化を普及させれば、本格的な構造改革が実現できる。競争社会で勝利するためには、他の組織とのコラボが有効である。そうすれば、多様性が獲得され、一つの事業が失敗しても、レジリエンス（立ち直る力）が生まれ、多角的な収入源を開拓できる（図1）。

事業を効率良く行うためには、タイムボクシング（何を、何処で、何時するか）の決定が重要である（図2）。「自分で主体的に、住む場所を選択して働く」地方移住を決断した人は、常に自分をアップデートし、何か新しいチャレンジを行えば、地域の活性化に貢献できるだろう。

昨年のノーベル平和賞に、国連世界食糧計画（WFP）が選ばれた。飢餓との闘いに努め、紛争の影響下にある地域で平和のための状況改善に向けて貢献し、さらに、戦争や紛争の武器として飢餓が利用されることを防ぐための推進力の役割を果たしたことが評価されたのだ。武力紛争や疫病が拡大する今、国を超えた連帯こそが求められる。コロナの教訓は、多国間主義、協調の大切さである。

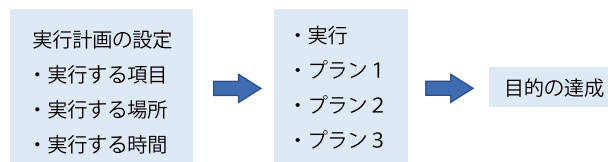


図2 タイムボクシングは目的の達成を助ける

カシス含有加工食品“ピントくるカシス”の摂取が 健常者の眼機能に及ぼす影響： ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

金井 貴義 (KANAI Takayoshi)^{1*}, 高橋 悠太 (TAKAHASHI Yuta)², 山田 高広 (YAMADA Takahiro)^{3**}

Key Words: Visual Display Terminal (VDT), 目の疲れ, 縮瞳率, カシス抽出物

**Effects of the consumption of ‘Pintokuru-cassis’ foods containing cassis extract
on eye functions in healthy Japanese subjects:
A randomised, placebo-controlled, double-blind, parallel-group comparison study**

Authors: Takayoshi Kanai¹, Yuta Takahashi² and Takahiro Yamada³

***Corresponding author:** Takayoshi Kanai

****Principal investigator:** Takahiro Yamada

Affiliated institutions:

¹YASOUKOUSO.CO., Ltd. (2F Eighteen Bldg., 2-1-6, Shibuya, Shibuya-ku, Tokyo 150-0002, Japan.)

²ORTHOMEDICO Inc. (2F Sumitomo Fudosan Korakuen Bldg., 1-4-1, Koishikawa, Bunkyo-ku, Tokyo, 112-0002, Japan.)

³Ario Nishiarai Eye Clinic. (2F Ario Nishiarai, 1-20-1, Nishiarai sakae-cho, Adachi-ku, Tokyo 123-0843, Japan.)

Key Words: Pintokuru-cassis, visual display terminal, eye fatigue, percentage of pupillary response, cassis extract, test-food consumption

Abstract

Objective: This study aims to examine the effects of ‘Pintokuru-cassis’ containing cassis extract on eye functions in healthy Japanese adults.

Methods: We conducted a randomised, placebo-controlled, double-blind, parallel-group comparison study from 19 February 2020, to 5 June 2020. The study included 66 healthy Japanese adults with eye fatigue after operating visual display terminals (VDTs), who were randomly assigned to the ‘Pintokuru-cassis’ (active) group or placebo capsule (placebo) group using a computerised random-number generator ($n=33$ per group). The subjects took three active or placebo capsules once daily for 4 weeks. We analysed the accommodative function and subjective symptoms pre- and post-VDT operation before test food consumption (Scr) and then after 4 weeks (4w).

Results: The number of subjects in the per-protocol dataset was 30 from the active group and 30 from the placebo group (12 males and 18 females in each group). Compared with the placebo group, the amount of change (the percentage of pupillary response of the dominant eye (%) divided by the dioptre (D)) pre- and post-VDT operation between Scr and 4w was significantly higher in the active group ($P = 0.049$), with a mean difference of 1.1 %/D. The subjective symptoms in the active group significantly improved compared to those in the placebo group as follows: tired eyes (at pre- and at post-VDT operation), $P = 0.003$ and $P = 0.039$, respectively; objects being blurry (at pre-VDT operation), $P = 0.048$; watery eyes (at pre-VDT operation), $P = 0.034$. Furthermore, no adverse events related to test food consumption were observed.

Conclusions: ‘Pintokuru-cassis’ consumption for four weeks improved subjective symptoms associated with eye fatigue by preventing the decline in the accommodative function post-VDT operation in healthy Japanese subjects.

Trial registration: UMIN000039370

Foundation: YASOUKOUSO.CO.,Ltd

抄録

目的：カシス含有加工食品“ピントくるカシス”の摂取が健常者の眼機能に及ぼす影響について検証した。

方法：Visual Display Terminal (VDT) 作業を行うと目の疲れを感じる健常な日本人成人男女 66 名を対象に、ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を 2020 年 2 月 19 日から 2020 年 6 月 5 日に実施した。試験参加者は“ピントくるカシス”を摂取させる（被験食品群）またはプラセボを摂取させる群に 33 名ずつコンピュータ乱数にて割り付け、試験食品を 1 日 1 回 3 粒、4 週間継続摂取させた。試験食品の摂取前後に、目の調節機能、自覚症状を評価した。なお、縮瞳率による調節機能の評価およびアンケートによる自覚症状の評価は VDT 負荷前後に行った。

結果：最終的な有効性解析対象者は Per protocol set (PPS) であり、被験食品群は計 30 名（男性 12 名、女性 18 名）、プラセボ群は計 30 名（男性 12 名、女性 18 名）であった。被験食品群の摂取 4 週間後検査では、VDT 負荷前後における優位眼の縮瞳率 (%) を調節指標負荷量 (D) で除した値の変化量は被験食品群の方がプラセボ群よりも有意に高値を示し、1.1%/D の群間差が確認された ($P=0.049$)。自覚症状において、被験食品群はプラセボ群と比べ、摂取 4 週間後検査の実測値で VDT 負荷前および負荷後の「目が疲れることがある」、VDT 負荷前の「視界がぼやけることがある」、VDT 負荷前の「目がしょぼしょぼすることがある」の項目が有意に改善した（それぞれ $P=0.003$, $P=0.039$, $P=0.048$, $P=0.034$ ）。なお、試験期間を通して、試験食品の摂取に起因する有害事象は認められなかった。

結論：VDT 作業を行うと目の疲れを感じる健常な日本人成人男女において、“ピントくるカシス”の 4 週間継続摂取は VDT 作業による調節機能の低下を抑制することで、目の疲れに関連した自覚症状を緩和することが確認された。

事前登録：UMIN-CTR: UMIN000039370

資金提供者：(有)野草酵素

はじめに

IT 化の進展により、コンピュータやスマートフォン、タブレットなどの Visual Display Terminal (VDT) が広く普及し、人々の生活に必要なものとなっている。厚生労働省の調査によると VDT 作業に費やす時間の増加に伴って目の疲れや肩こりなどの自覚症状を感じる者の比率が増加することが示された¹⁾。これまでの研究から、VDT 作業は眼機能の低下や肩こり²⁻⁴⁾などを引き起こすことが知られており、VDT 作業に対する健康管理が必要とされてきている。

VDT 作業に対する健康管理の一つとして眼機能へ効果的な成分の摂取が挙げられる。その成分の一つとしてカシス抽出物は、暗順応および近視化抑制⁵⁾、調節機能改善⁶⁾、血流改善⁷⁾、肩こり緩和⁸⁾の効果がたと報告されている。カシス抽出物に含まれるアントシアニンには delphinidin-3-rutinoside, cyanidin-3-rutinoside, delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-

glucoside などがある⁹⁾。delphinidin-3-rutinoside には毛様体筋弛緩効果があることから¹⁰⁾、カシス抽出物に含まれるアントシアニンが VDT 作業による目の疲れを原因とした調節機能の低下抑制に寄与すると考えられる。そこで本試験では、カシス抽出物に加えてカシス種子油や亜麻仁油、ビタミン A など眼機能の改善に寄与すると考えられる成分を配合する加工食品“ピントくるカシス”（販売：有限会社野草酵素）の摂取が健常者の眼機能に及ぼす影響について検証した。

I. 対象と方法

1. 試験デザイン

本試験はランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験で実施し、割付比は 1:1 であった。本試験は、医療法人社団盛心会タカラクリニック倫理委員会の承認（承認日 2020 年 1 月 24 日、承認番号 2001-1912-YK01-02-TC）を得た後、UMIN-CTR に

* 責任筆者：金井 貴義 (Takayoshi Kanai)¹, ** 試験責任医師：山田 高広 (Takahiro Yamada)³

¹ 有限会社野草酵素（〒150-0002 東京都渋谷区渋谷 2-1-6 青山エイティーンビル 2F）

² 株式会社オルトメディコ（〒112-0002 東京都文京区小石川 1-4-1 住友不動産後楽園ビル 2 階）

³ アリオ西新井クリニック眼科（〒123-0843 東京都足立区西新井栄町 1-20-1 アリオ西新井 2F）

登録された（登録番号 UMIN000039370）。また、ヘルシンキ宣言および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針の趣旨に則り、医学倫理に十分配慮し実施した。

2. 参加者

本試験の対象者は、VDT 作業を行うと目の疲れを感じる健常な日本人成人男女のうち、矯正視力が両眼視力 1.0 以上で、コンタクトレンズを使用していない者、または試験期間中に眼鏡に変更できる者を対象とした。試験参加にあたり次の条件を除外基準とした。

- (a) 悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞の治療中もしくは既往歴がある者、
- (b) ペースメーカーや植え込み型除細動器を埋め込んでいる者、
- (c) 不整脈、肝障害、腎障害、脳血管障害、リウマチ、糖尿病、脂質異常症、高血圧症、出血性障害、腸障害、その他の慢性疾患、
- (d) 老眼と診断された者、または老眼を自覚している者、
- (e) 眼疾患、眼瞼内反症、睫毛乱生症のある者、
- (f) 眼疾患のために点眼薬を使用している者、
- (g) 屈折異常があり、適切な矯正を行っていない者、
- (h) レーシック手術を受けた者、
- (i) 強度乱視がある者、
- (j) 目の疲れの原因が、神経症等、調節機能以外にあると思われる者、
- (k) 特定保健用食品、機能性表示食品、その他の機能性が考えられる食品 / 飲料を日頃から摂取している者、
- (l) 医薬品（漢方薬を含む）・サプリメントを常用している者、
- (m) 降圧剤、抗血小板薬、抗凝固薬、糖尿病治療薬、エストロゲンを常用または使用する可能性がある者、
- (n) 降圧作用、抗血小板作用、抗凝固作用、血糖値低下作用、エストロゲン作用を有するハーブやサプリメントを常用または使用する可能性がある者、
- (o) 試験期間中に、手術など麻酔薬を使用する可能性がある者、
- (p) 試験食品摂取期間の終了後 2 週間以内

に外科的手術を行う予定のある者、

- (q) アレルギー（医薬品・試験食品関連食品）がある者、
- (r) 妊娠中、授乳中、あるいは試験期間中に妊娠する意思のある者、
- (s) 同意書取得日以前の 3 ヶ月間において他の臨床試験に参加していた者、あるいは試験期間中に参加予定のある者、
- (t) その他、試験責任医師が本試験の対象として不適切と判断した者。

試験参加者の募集は、(株)オルトメディコ（東京都文京区）が運営するモニター募集サイト Go トーク (<https://www.go106.jp/>) で行い、試験参加を希望する者には(株)オルトメディコのオフィスにて試験内容を十分に説明し、書面にて同意を得た。試験参加者に、本試験の主宰者および資金提供者企業に所属している者は含まなかった。検査はアリオ西新井クリニック眼科（東京都足立区）、医療法人社団盛心会タカラクリニック（東京都品川区）にて行われた。

3. 介入

本試験の介入に用いた試験食品の 1 粒あたりの原材料組成を表 1 に示した。試験参加者には、被験食品である“ピントくるカシス”（販売：有限会社

表 1 原材料組成

名称	形状	原材料名	容量 (mg/ 粒)
被験食品	ソフトカプセル (OVAL4 号)	内容物	(計 200.000 mg)
		カシス抽出物	57.334
		カシス種子油	28.668
		亜麻仁油	83.492
		ビタミン A	2.56
		ビタミン B ₁	0.67
		ビタミン B ₂	0.67
		ビタミン B ₆	0.67
		大豆レシチン	1.334
		精製ミツロウ	24.602
		被膜	(計 135.000 mg)
		ゼラチン	96.74
		グリセリン	38.26
プラセボ	ソフトカプセル (OVAL4 号)	内容物	(計 200.000 mg)
		サンフラワー油	200
		被膜	(計 135.000 mg)
		ゼラチン	92.329
		グリセリン	36.516
		麦芽抽出物	6.155

野草酵素）あるいはプラセボを1日1回3粒を、昼食後から夕食前までの間に、任意のタイミングで、水またはぬるま湯とともに嚙まずに摂取させた。介入期間は4週間とした。試験食品の形状はいずれもソフトカプセルであり、試験開始前の倫理審査時に、被験食品とプラセボ食品は色、匂い、風味によって判別できないことが確認された。

4. 評価項目

試験スケジュールを表2に示した。有効性と安全性評価の項目測定はスクリーニング兼摂取前検査(Scr)，摂取4週間後検査(4w)に実施した。各検査当日は、スマートフォン用アプリケーションを用いたVDT負荷を約60分間実施した。

(1) 主要アウトカム：4wにおけるVDT負荷前後の縮瞳率（両目平均）の変化量

縮瞳率の評価には、近見反応測定装置であるトライイリスC9000（浜松ホトニクス(株)，静岡県浜松市）を用いた。トライイリスC9000を用いて算出される縮瞳率は、指標の移動距離と対応することから、健常な瞳孔においては近見反応の縮瞳率から調節機能を定量できることが明らかにされている^{11,12)}。縮瞳率は下記の式（1）より算出される^{11,12)}。

$$\frac{\text{最大瞳孔横径} - \text{最小瞳孔横径}}{\text{最大瞳孔横径}} \times 100 \quad (1)$$

VDT負荷により生じる眼疲労症状の一つに、近見反応に関わる縮瞳および散瞳運動機能の低下が挙げられることから¹³⁾，縮瞳率の上昇は調節機能の改善を意味する。

表2 試験スケジュール

	説明会	スクリーニング兼 摂取前検査 (Scr)		組入	割付	摂取開始 (0w)	摂取 4 週間後 検査 (4w)	
		VDT 負荷前	VDT 負荷後				VDT 負荷前	VDT 負荷後
登録：								
適格基準による選抜	●			●				
インフォームド Consent	●							
優位眼測定	●							
その他の手続き	●							
割付					●			
介入：								
被験食品						↔		
プラセボ						↔		
評価：								
調節機能検査		●	●				●	●
フリッカー検査		●	●				●	●
血流検査		●					●	
自覚症状		●	●				●	●
視力検査		●					●	
眼圧検査		●					●	
身体測定・理学検査	●	●					●	
尿検査		●					●	
末梢血液検査		●					●	
問診		●					●	
食事調査		●					●	
日誌						↔		

丸印（●）は各項目の実施タイミングを示した。

また、指標の移動距離は個人によって異なるため、指標の距離を示す調節指標負荷量 (D) で縮瞳率 (%) を除した値をアウトカムの評価に用いる縮瞳率として扱った。

(2) 副次的アウトカム

(a) 縮瞳率

主要アウトカムを除く、VDT 負荷前、VDT 負荷後、VDT 負荷前後における両目平均、優位眼、非優位眼の縮瞳率を副次的アウトカムとした。縮瞳率の評価には、トライイリス C9000 による測定結果と上記の式 (1) を用いた。また、指標の距離を示す調節指標負荷量 (D) で縮瞳率 (%) を除した値をアウトカムの評価に用いる縮瞳率として扱った。

(b) フリッカー値

フリッカーテストにはハンディフリッカ HF-II (株) ナイツ、東京都千代田区) を用いて、VDT 負荷前、VDT 負荷後、VDT 負荷前後における両目平均、優位眼、非優位眼のフリッカー値を評価した。フリッカー値とは、点滅する光が、連続して見えるか、ちらついて見えるかの境目の周波数である。光の指標は、3 色あるが、本試験では眼疲労の指標となる赤色を測定した。また、ちらつきは降下と上昇の両向きで測定した。降下は光源を点灯から点滅、上昇は点滅から点灯へ変動する。本試験では、降下と上昇の測定値に加え、降下と上昇を加算し、2 で除算した値を平均として算出した。

(c) 血流検査

血流検査では毛細血管の血流や形態を評価した。毛細血管は Bscan-Z (GOKO 映像機器(株)、神奈川県横浜市) を用いて、VDT 負荷前に、利き手と逆の薬指 (場合によっては小指もしくは中指) を撮影した調査項目は「血流速」「鮮明度」「血管の密度」「血管の直径」「血管間の距離」「血管の長さ」「血管の形状」とした。「血管の形状」は「ヘアピン状に真っ直ぐで形のそろった血管」「ねじれて形のふぞろいな血管」「枝分かれなどで形のふぞろいな血管」「短く見える (見えにくい) 血管」の 4 段階で評価し、「ヘアピン状に真っ直ぐで形のそろった血管」を 1、「ねじれて形のふぞろいな血管」を 2、「枝分かれなどで形のふぞろいな血管」を 3、「短く見える (見えにくい) 血管」を 4 として得点化した。その他の項目は静止画像解析用ソフト CapiScopeI (KK

Technology, イングランド) およびビデオ画像解析用ソフト CapiScopeII (KK Technology, イングランド) により評価した。

(d) 自覚症状

眼の疲れに関連する自覚症状の評価には、リッカートスケール法によるオリジナルアンケートを用いた。調査項目は、「目が疲れることがある」「目が乾くことがある」「クッキリ見えないことがある」「ピントが合わないことがある」「かすみ目が気になる」「視界がぼやけることがある」「視界にゴミや虫のようなものが見えるときがある」「目がショボショボすることがある」「目の奥が痛む・目が重いと感ずることがある」「細かい文字が読みにくい」「目薬をさすことがある」「夜の運転がこわい・薄暗くなると物が見えにくいことがある」「肩こりや頭痛がする」「冷えが気になる」「身体が疲れやすい」とした。「非常にあてはまる」を 1, 「かなりあてはまる」を 2, 「少しあてはまる」を 3, 「あまりあてはまらない」を 4, 「ほとんどあてはまらない」を 5, 「まったくあてはまらない」を 6 の 6 段階で評価し、数値が高いほど自覚症状が良いことを表した。また、4w における VDT 負荷前から負荷後にかけて各オリジナルアンケート項目が改善した症例数の割合を評価した。

(3) 安全性項目

安全性評価項目として、視力検査、眼圧検査、身体測定、理学検査、尿検査および末梢血液検査を実施した。

視力検査では、VDT 負荷前に両目平均、優位眼、非優位眼の視力を、AutoREF/KERATOMETER ARK-700A (株) ニデック、愛知県蒲郡市) を用いて測定した。

眼圧検査では、VDT 負荷前に両目平均、優位眼、非優位眼の視圧を、Nidek NT-4000 (株) ニデック、愛知県蒲郡市) を用いて測定した。

身体測定および理学検査では、体重、BMI、体脂肪率、収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍数、体温を測定した。スクリーニング検査兼摂取前検査時に身長を測定し、BMI の算出に使用した。

また尿検査では、蛋白質、ブドウ糖、ウロビリノーゲン、ビリルビン、ケトン体、pH、潜血を測定した。各項目は、(株) LSI メディエンス (東京都千代田区) にて常法に従って測定された。

さらに末梢血液検査では、血液学検査項目として、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、MCV（平均赤血球容積）、MCH（平均赤血球色素量）、MCHC（平均赤血球色素濃度）、白血球像（好中球率、リンパ球率、単球率、好酸球率、好塩基球率、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数）を測定した。血液生化学検査項目として、AST（GOT）、ALT（GPT）、 γ -GT（ γ -GTP）、ALP、LD（LDH）、LAP、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、コリンエステラーゼ（ChE）、総蛋白、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、CK、カルシウム、血清アミラーゼ、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、トリグリセリド（TG：中性脂肪）、グリコアルブミン、血清鉄（Fe）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、クロール（Cl）、無機リン（IP）、グルコース、ヘモグロビン A1c（HbA1c: NGSP）、非特異的 IgE を測定した。各項目は、(株) LSI メディエンスに委託し、常法に従って測定された。なお、非特異的 IgE は Scr 時のみの測定とした。

試験参加者の健康状態を確認するため、各検査日において問診を実施した。また、試験参加者には、試験食品の摂取や体調の変化、医薬品の使用などの生活状況を日誌に毎日記録させた。

5. サンプルサイズ

被験食品をヒトに 4 週間摂取させ、縮瞳率を測定した研究はこれまでにない。そこで、本試験は 4w 時における縮瞳率の実測値および変化量で被験食品群とプラセボ群の差が大きいと仮定し、Cohen の示唆に基づき効果量 $d = 0.80$ を利用した。統計学的有意水準 (α) を 0.05、統計学的検出力 ($1-\beta$) を 0.80 とし症例数を計算すると、52 名（各群 26 名）が必要症例数であった。予算の限り統計学的検出力 ($1-\beta$) を最大化するために目標症例数を 60 名（各群 30 名）とした。統計学的検出力 ($1-\beta$) を再計算したところ 0.86 となった。加えて、試験期間中の脱落やプロトコルの遵守違反などを見込み実施症例数を 66 名（各群 33 名）とした。

6. 選抜、ランダム化と盲検化

本試験に参加同意した参加 92 名のうち、66 名を本試験に組み入れた。選抜基準は、試験責任医師が

試験の参加に問題ないと判断し、Scr における縮瞳率の負荷前後の差が負の方向に大きい者であった。試験食品は、主宰者から受託臨床試験機関に提供され、受託臨床試験機関の試験食品発送担当者は、試験食品の識別不能性の確認およびスクリーニング検査のデータ入力・確認を行った後、試験に直接関与していない割付責任者に識別番号を伝えた。本試験にける割付は性別、年齢および Scr における縮瞳率の負荷前後の差を割付調整因子とした層化ランダム割付とし、割付責任者はコンピュータで生成されたランダム化リストに従って被験食品群およびプラセボ群に 33 名ずつランダムに割り付けた。作成された割付表は、受託臨床試験機関の試験食品発送担当者にのみ提供され、試験食品発送担当者は割付表に従い試験に組み入れられた試験参加者へ試験食品を郵送にて送付した。試験食品発送後、割付表は症例および統計解析手法が固定されるまで厳重に保管された。盲検化の対象は、主宰者、試験責任医師、試験分担医師、試験食品発送担当者を含むすべての試験実施医療機関のスタッフ（試験担当責任者、実施運営責任者、モニタリング担当者、統計解析担当者・責任者など）、試験実施機関のスタッフ、倫理委員会の構成メンバー、臨床検査委託機関であり、割付表は症例および統計解析手法が固定されるまで、割り付け責任者が封緘し、保管した。

7. 統計解析

すべての統計解析は両側検定で行うものとし、有意水準は 5% に設定した。ソフトウェアは、Windows 版の SPSS Ver. 23.0（日本アイ・ビー・エム(株)、東京都中央区）と Microsoft Excel 2013（日本マイクロソフト(株)、東京都港区）とした。なお、多項目における多重性は考慮しなかった。

試験参加者背景は、組入対象者および解析対象者で人口統計学的に集計し、性別はカイ二乗検定、その他の項目は Student の t 検定を用いて群間比較した。

縮瞳率、フリッカー値、血流検査（「血管の形状」を除く項目）、視力検査、眼圧検査、身体測定・理学検査、末梢血液検査は、実測値と変化量を平均値と標準偏差で示した。変化量は、Scr の測定値をベースラインとし、4w の測定値からの差（4w-Scr）とした。Scr および 4w-Scr は、Student の t 検定、

4w はベースラインを共変量，群を固定因子とした ANCOVA を用いて群間比較した。血流検査の調査項目である「血管の形状」は，各回答項目に該当する n 数を示し，カイ二乗検定を用いて群間比較した。自覚症状の結果は中央値と四分位範囲（第 1 四分位数，第 3 四分位数）で示し，Mann-Whitney の U 検定を用いて群間比較した。また，4w における VDT 負荷前から負荷後にかけて各自覚症状の項目が改善した参加者数の割合は，改善または非改善に該当する各群の n 数を示し，カイ二乗検定を用いて群間比較した。尿検査は，基準値内を「1」，基準値外を「0」とコード化し，各群の n 数を集計し，それぞれの時点でカイ二乗検定により群間比較を行った。加えて，試験責任医師が個人単位で安全性評価項目を

確認し，試験食品の摂取に伴う医学的に問題のある変動が生じていないことを確認した。

II. 結果

1. 解析対象者

図 1 に試験参加者の追跡フローチャートを示した。参加者の募集は 2020 年 2 月 3 日から 4 月 4 日の間に行い，試験期間は 2020 年 2 月 19 日から 6 月 5 日であった。症例検討会において，割付後に試験食品の介入を一度も受けていない 1 名，日誌記録の著しい欠損により生活状況の確認が困難であったことから結果の信頼性を損なうことが示唆された 5 名を解析対象から除外した。安全性項目については割付後に試験食品の介入を一度も受けていない

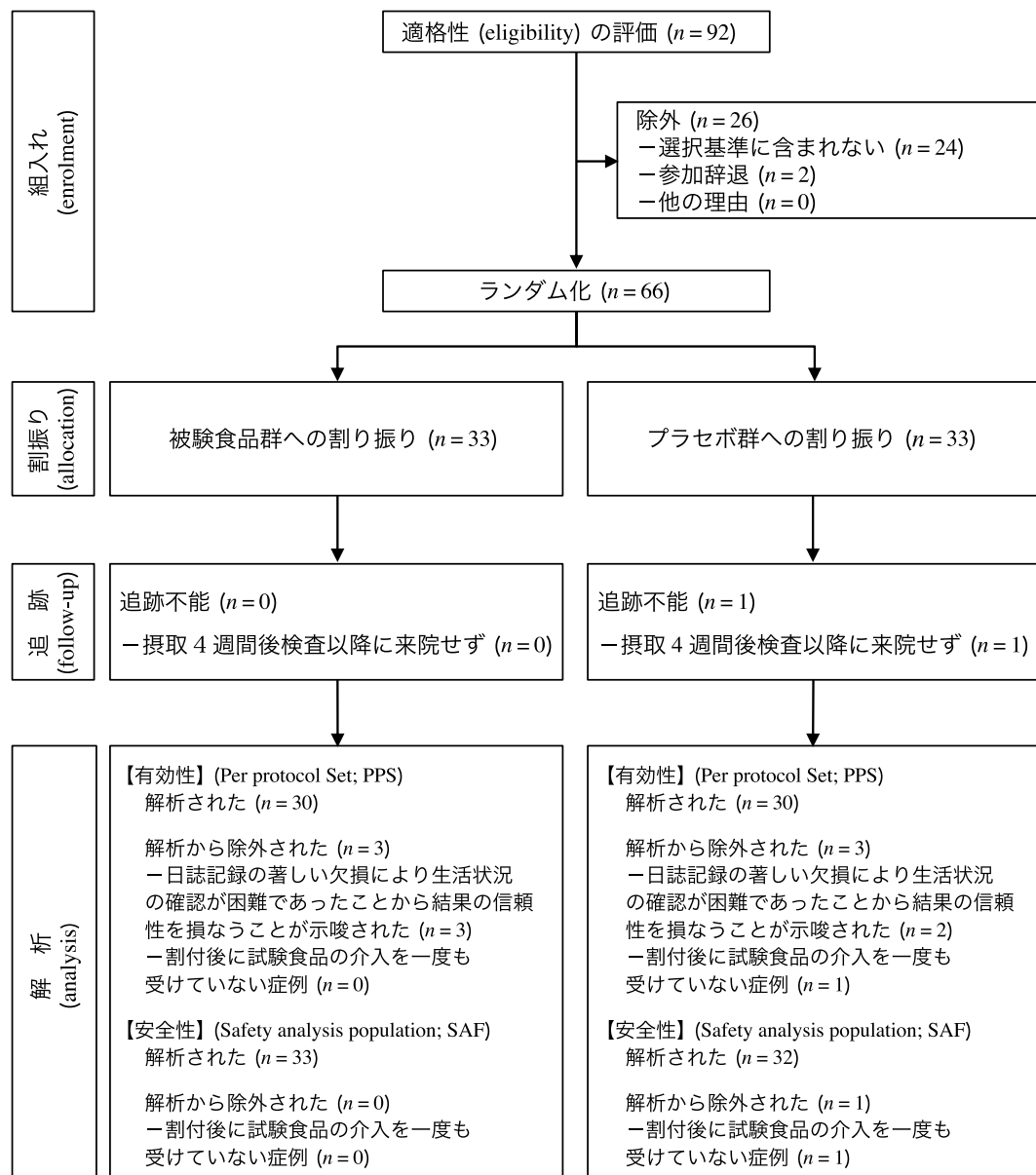


図 1 試験参加者の追跡フローチャート

表 3-1 試験参加者の年齢分布

検査項目	摂取前 (Scr)				P 値
	被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 33)		
	男性	女性	男性	女性	
全体	12 (36.4%)	21 (63.6%)	14 (42.4%)	19 (57.6%)	0.801
－ 20 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 30 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 40 代	3 (9.1%)	11 (33.3%)	5 (15.2%)	7 (21.2%)	-
－ 50 代	9 (27.3%)	10 (30.3%)	9 (27.3%)	12 (36.4%)	-
－ 60 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 70 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 80 代以上	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-

データは人数と全体からの割合を示した。

表 3-2 試験参加者背景

検査項目	摂取前 (Scr)				P 値
	被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 33)		
	Mean	SD	Mean	SD	
年齢 ^a (歳)	50.2	± 5.7	50.4	± 5.4	0.861
身長 ^a (cm)	164.1	± 8.2	162.8	± 8.0	0.525
非特異的 IgE ^a (IU/mL)	248.7	± 693.4	97.7	± 142.4	0.225
優位眼 ^b					
右眼 / 左眼	28 (84.8%)	5 (15.2%)	20 (60.6%)	13 (39.4%)	0.051

a; データは平均値 (Mean) と標準偏差 (SD) で示した。

b; データは人数と全体からの割合を示した。

表 3-3 プロトコルに適合した対象集団 (Per protocol set; PPS) の年齢分布

検査項目	摂取前 (Scr)				P 値
	被験食品群 (n = 30)		プラセボ群 (n = 30)		
	男性	女性	男性	女性	
全体	12 (40.0%)	18 (60.0%)	12 (40.0%)	18 (60.0%)	1.000
－ 20 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 30 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 40 代	3 (10.0%)	9 (30.0%)	5 (16.7%)	7 (23.3%)	-
－ 50 代	9 (30.0%)	9 (30.0%)	7 (23.3%)	11 (36.7%)	-
－ 60 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 70 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
－ 80 代以上	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-

データは人数と全体からの割合を示した。

症例を除外した解析とした。キーオープン後に解析対象から除外された者の内訳を確認したところ、割付後に試験食品の介入を一度も受けていない者は、プラセボ群に 1 名で、日誌記録の著しい欠損により生活状況の確認が困難であったことから結果の信頼性を損なうことが示唆された者は、被験

食品群に 3 名、プラセボ群に 2 名であった。したがって、最終的な有効性解析対象者は Per protocol set (PPS) であり、被験食品群は計 30 名（男性 12 名、女性 18 名）、プラセボ群は計 30 名（男性 12 名、女性 18 名）であった。また、安全性解析対象者は Safety analysis population (SAF) であり、被験食品

表 3-4 プロトコルに適合した対象集団 (Per protocol set; PPS) の背景

検査項目	摂取前 (Scr)				P 値
	被験食品群 (n = 30)		プラセボ群 (n = 30)		
	Mean	SD	Mean	SD	
年齢 ^a (歳)	50.1 ± 5.7		50.0 ± 5.5		0.964
身長 ^a (cm)	165.0 ± 8.0		162.1 ± 7.5		0.152
非特異的 IgE ^a (IU/mL)	263.1 ± 726.6		91.7 ± 130.2		0.209
優位眼 ^b					
右眼 / 左眼	25 (83.3%)/5 (16.7%)		17 (56.7%)/13 (43.3%)		0.047*

a; データは平均値 (Mean) と標準偏差 (SD) で示した。

b; データは人数と全体からの割合を示した。

*: $P < 0.05$

表 3-5 安全性解析対象集団 (Safety analysis population; SAF) の年齢分布

検査項目	摂取前 (Scr)				P 値
	被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 32)		
	男性	女性	男性	女性	
全体	12 (36.4%)	21 (63.6%)	14 (43.8%)	18 (56.3%)	0.617
－ 20 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	－
－ 30 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	－
－ 40 代	3 (9.1%)	11 (33.3%)	5 (15.6%)	7 (21.9%)	－
－ 50 代	9 (27.3%)	10 (30.3%)	9 (28.1%)	11 (34.4%)	－
－ 60 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	－
－ 70 代	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	－
－ 80 代以上	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	－

データは人数と全体からの割合を示した。

表 3-6 安全性解析対象集団 (Safety analysis population; SAF) の背景

検査項目	摂取前 (Scr)				P 値
	被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 32)		
	Mean	SD	Mean	SD	
年齢 ^a (歳)	50.2	± 5.7	50.3	± 5.5	0.908
身長 ^a (cm)	164.1	± 8.2	162.9	± 8.0	0.568
非特異的 IgE ^a (IU/mL)	248.7	± 693.4	100.8	± 143.6	0.241
優位眼 ^b					
右眼 / 左眼	28 (84.8%)	/ 5 (15.2%)	19 (59.4%)	/ 13 (40.6%)	0.028*

a; データは平均値 (Mean) と標準偏差 (SD) で示した。

b; データは人数と全体からの割合を示した。

*: $P < 0.05$

群は計 33 名 (男性 12 名, 女性 21 名), プラセボ群は計 32 名 (男性 14 名, 女性 18 名) であった。試験参加者の年代分布および参加者背景をそれぞれ表 3-1 ~ 表 3-6 に示した。背景因子で群間に有意差が認められた項目はなかった。

2. 縮瞳率

表 4, 図 2 に縮瞳率の結果を示した。Scr から 4w における優位眼の縮瞳率 / 近点 (負荷前後) の変化量は, プラセボ群と比較して被験食品群が有意に高値を示した ($P=0.049$)。

表 4 縮瞳率の結果

検査項目	摂取前 (Scr)				摂取 4 週間後 (4w)				変化量 (4w-Scr)				P 値		
	被験食品群 (n = 30)		プラセボ群 (n = 30)		被験食品群 (n = 30)		プラセボ群 (n = 30)		被験食品群 (n = 30)		プラセボ群 (n = 30)				
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Scr	4w	4w-Scr
VDT 負荷前															
両眼平均の縮瞳率 (%/D)	5.8 ± 2.7		6.0 ± 2.2		5.0 ± 1.7		5.8 ± 1.7		- 0.8 ± 2.7		- 0.3 ± 2.2		0.764	0.089	0.372
優位眼の縮瞳率 (%/D)	5.8 ± 3.1		5.8 ± 2.3		4.6 ± 2.2		5.4 ± 1.9		- 1.2 ± 2.4		- 0.4 ± 2.4		0.987	0.115	0.249
非優位眼の縮瞳率 (%/D)	5.9 ± 3.7		6.3 ± 2.4		5.4 ± 2.1		6.1 ± 2.2		- 0.5 ± 4.2		- 0.1 ± 2.6		0.645	0.190	0.649
右眼の縮瞳率 (%/D)	5.2 ± 2.3		5.7 ± 2.4		4.8 ± 2.2		5.7 ± 2.1		- 0.4 ± 2.4		- 0.1 ± 2.4		0.353	0.206	0.627
左眼の縮瞳率 (%/D)	6.5 ± 4.1		6.3 ± 2.3		5.2 ± 2.2		5.8 ± 2.1		- 1.3 ± 4.2		- 0.5 ± 2.5		0.842	0.208	0.357
VDT 負荷後															
両眼平均の縮瞳率 (%/D)	4.3 ± 1.9		5.0 ± 1.8		4.3 ± 1.7		4.9 ± 1.7		0.0 ± 1.2		- 0.1 ± 2.0		0.196	0.546	0.866
優位眼の縮瞳率 (%/D)	4.1 ± 1.7		4.9 ± 2.2		4.2 ± 1.8		4.7 ± 1.7		0.2 ± 1.1		- 0.2 ± 2.4		0.112	0.863	0.436
非優位眼の縮瞳率 (%/D)	4.6 ± 2.2		5.0 ± 1.7		4.5 ± 1.7		5.1 ± 1.9		- 0.1 ± 1.6		0.1 ± 1.8		0.414	0.269	0.607
右眼の縮瞳率 (%/D)	4.1 ± 1.8		5.0 ± 2.2		4.2 ± 1.9		4.8 ± 1.9		0.2 ± 1.1		- 0.2 ± 2.3		0.068	0.838	0.424
左眼の縮瞳率 (%/D)	4.6 ± 2.2		4.9 ± 1.6		4.5 ± 1.7		5.0 ± 1.7		- 0.1 ± 1.6		0.1 ± 1.9		0.587	0.322	0.613
VDT 負荷前後															
両眼平均の縮瞳率 (%/D)	- 1.5 ± 2.1		- 1.1 ± 1.7		- 0.6 ± 1.4		- 0.9 ± 1.5		0.9 ± 2.1		0.2 ± 1.7		0.386	0.350	0.201
優位眼の縮瞳率 (%/D)	- 1.7 ± 2.8		- 0.9 ± 1.5		- 0.4 ± 1.3		- 0.7 ± 1.5		1.3 ± 2.4		0.2 ± 1.8		0.161	0.163	0.049
非優位眼の縮瞳率 (%/D)	- 1.3 ± 2.9		- 1.3 ± 2.4		- 0.9 ± 2.3		- 1.0 ± 2.1		0.4 ± 3.5		0.2 ± 2.2		0.949	0.782	0.805
右眼の縮瞳率 (%/D)	- 1.1 ± 1.8		- 0.7 ± 1.6		- 0.6 ± 1.6		- 0.8 ± 1.5		0.5 ± 2.1		- 0.1 ± 1.8		0.357	0.339	0.183
左眼の縮瞳率 (%/D)	- 1.9 ± 3.5		- 1.5 ± 2.3		- 0.7 ± 2.1		- 0.9 ± 2.2		1.2 ± 3.7		0.6 ± 2.1		0.562	0.613	0.440

データは平均値 (Mean) と標準偏差 (SD) で示した。

*: $P < 0.05$

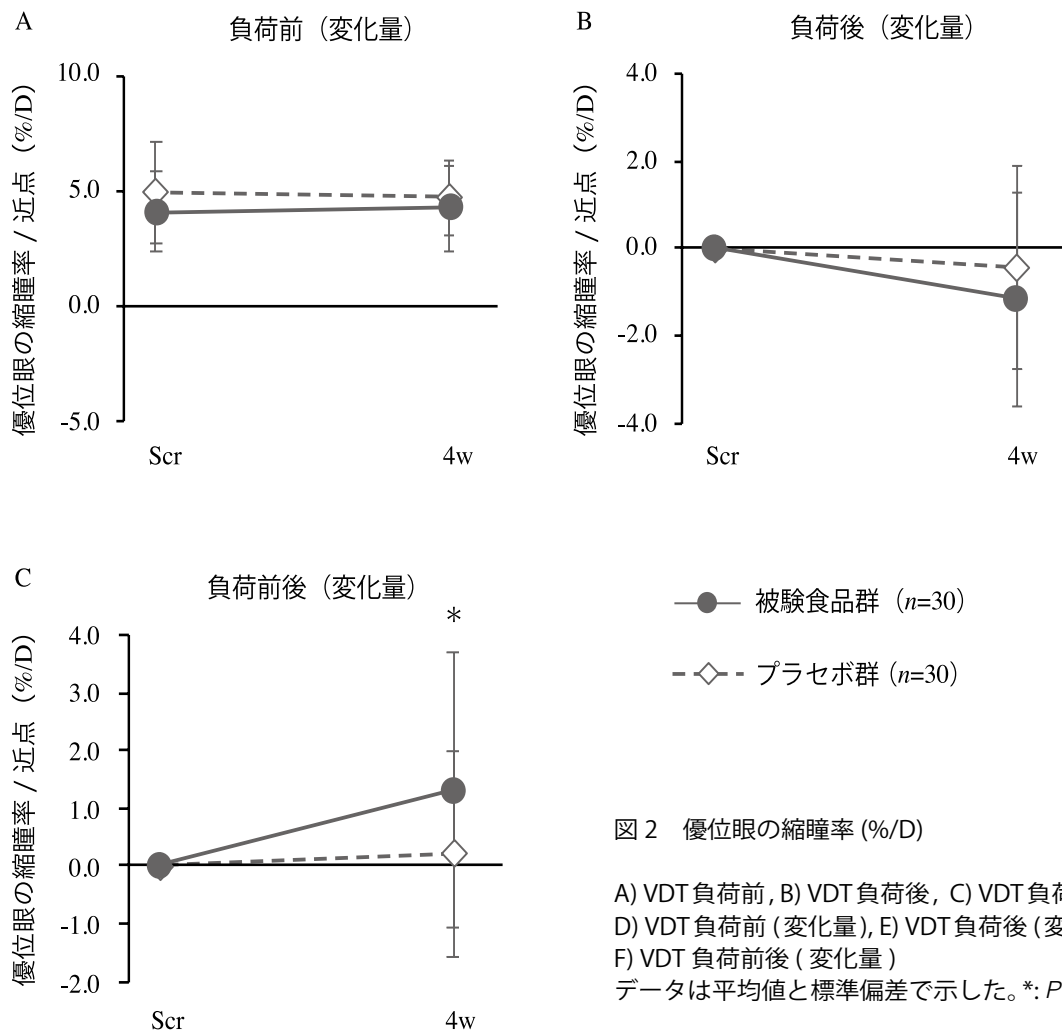


図2 優位眼の縮瞳率 (%/D)

A) VDT 負荷前, B) VDT 負荷後, C) VDT 負荷前後, D) VDT 負荷前 (変化量), E) VDT 負荷後 (変化量), F) VDT 負荷前後 (変化量)
データは平均値と標準偏差で示した。*: $P < 0.05$

3. フリッカー値

被験食品の摂取による変化が認められた項目はなかった (data not shown)。

4. 血流検査

摂取4週間後の血流速 ($P=0.001$), 鮮明度 ($P=0.038$) の実測値は, プラセボ群と比較して被験食品群が有意に低値を示し, 摂取前から摂取4週間後における血流速 ($P=0.015$) の変化量は, プラセボ群と比較して被験食品群が有意に低値を示した (data not shown)。血管の密度, 血管の直径, 血管間の距離, 血管の長さおよび血管の形状において, 被験食品の摂取による有意な変化が認められた項目はなかった (data not shown)。

5. 自覚症状

眼の疲れに関連する自覚症状に関して, 4w で有意差が認められた項目は, VDT 負荷前が「目が疲れることがある」 ($P=0.003$), 「目が乾くことがあ

る」 ($P=0.040$), 「視界がぼやけることがある」 ($P=0.048$), 「目がショボショボすることがある」 ($P=0.034$) であり, VDT 負荷後が「目が疲れることがある」 ($P=0.039$) であった (表 5-1, 図 3)。また, 4w における VDT 負荷前から負荷後にかけて各オリジナルアンケート項目が改善した症例数に関して, 有意差が認められた項目は, 「肩こりや頭痛がする」 ($P=0.030$; 被験食品群: 改善 11 名 / 非改善 19 名, プラセボ群: 改善 3 名 / 非改善 27 名) であった (表 5-2)。

6. 安全性

一部検査項目に群間有意差が確認されたが, 該当する項目の測定値は基準値内の値であることや, 医学的に問題となる変化ではなかったことから臨床的に意味のある差ではないと判断した (表 6-1 ~ 6-4)。よって, 試験食品の継続摂取に伴う医学的に問題のある変化は認められなかった。

表 5-1 自覚症状の結果

検査項目	摂取前 (Scr)						摂取 4 週間後 (4w)						P 値				
	被験食品群 (n = 30)			プラセボ群 (n = 30)			被験食品群 (n = 30)			プラセボ群 (n = 30)			Scr	4w			
	Median	Q1	Q3	Median	Q1	Q3	Median	Q1	Q3	Median	Q1	Q3					
VDI 負荷前																	
目が疲れることがある	2.0	2.0	3.0	2.0	1.0	3.0	3.0	2.0	2.0	2.0	3.0	3.0	2.0	3.0	0.119	0.003**	
目が乾くことがある	3.0	2.0	3.8	2.5	2.0	3.0	3.0	2.0	2.0	3.0	4.8	3.0	3.0	2.0	4.0	0.304	0.040*
クッキリ見えないことがある	3.0	2.0	3.8	3.0	2.0	3.0	3.0	3.0	2.0	2.3	3.8	3.0	3.0	2.0	3.0	0.655	0.083
ピントが合わないことがある	3.0	3.0	4.0	3.0	2.3	3.8	3.0	2.3	2.3	2.3	4.0	3.0	3.0	2.0	4.0	0.335	0.507
かすみ目が気になる	3.0	3.0	4.0	3.5	3.0	4.0	4.0	3.0	3.0	3.0	5.0	4.0	3.0	3.0	4.0	0.935	0.065
視界がぼやけることがある	4.0	3.0	5.0	4.0	3.0	4.0	4.0	3.0	4.0	3.0	5.0	4.0	3.0	3.0	4.0	0.831	0.048*
視界にゴミや虫のようなものが見えるときがある	5.0	3.0	6.0	4.5	3.0	6.0	5.0	3.0	3.3	3.3	6.0	5.0	4.0	4.0	6.0	0.780	0.673
目がシヨボシヨボすることがある	3.0	2.0	4.0	3.0	2.0	4.0	4.0	3.0	2.0	3.0	5.0	4.0	3.0	3.0	4.0	0.301	0.034*
目の奥が痛む・目が重いと感ずることがある	4.0	3.0	5.8	4.5	3.0	5.0	5.0	4.0	3.0	4.0	6.0	5.0	4.5	3.0	5.8	0.998	0.352
細かい文字が読みにくい	3.5	3.0	5.0	3.0	2.0	4.0	4.0	3.0	2.0	3.0	4.0	3.0	3.0	2.0	4.0	0.192	0.285
目薬をさすことがある	5.0	3.0	6.0	5.0	3.0	5.0	5.0	3.0	3.0	3.3	6.0	5.0	5.0	4.0	6.0	0.778	0.990
夜の運転がこわい・薄暗くなると物が見えにくいことがある	4.0	3.0	5.0	3.0	3.0	5.0	5.0	3.0	3.0	4.5	6.0	3.0	3.0	3.0	4.0	0.762	0.074
肩こりや頭痛がする	3.0	2.0	4.0	3.0	2.0	4.0	4.0	3.0	2.0	3.0	4.0	3.0	2.3	2.3	3.0	0.802	0.471
冷えが気になる	3.0	3.0	4.8	3.0	2.3	5.0	5.0	3.0	2.3	4.0	5.8	4.0	3.0	3.5	5.0	0.906	0.316
身体が疲れやすい	3.0	3.0	3.8	3.0	3.0	4.0	4.0	3.0	3.0	3.0	5.0	3.0	3.0	3.0	4.0	0.610	0.459
VDI 負荷後																	
目が疲れることがある	2.0	1.0	2.0	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	1.0	3.0	3.8	2.0	2.0	2.0	3.0	0.848	0.039*
目が乾くことがある	2.5	2.0	4.0	2.0	2.0	3.0	3.0	2.0	2.0	3.0	4.0	3.0	3.0	2.0	4.0	0.129	0.145
クッキリ見えないことがある	3.0	3.0	4.0	3.0	3.0	4.0	4.0	3.0	3.0	4.0	4.0	4.0	3.0	3.0	4.0	0.999	0.104
ピントが合わないことがある	3.0	3.0	4.8	3.0	2.3	4.0	4.0	3.0	2.3	3.0	5.0	4.0	3.0	3.0	4.0	0.148	0.312
かすみ目が気になる	3.0	2.0	4.0	3.0	3.0	4.0	4.0	3.0	3.0	4.0	5.0	4.0	3.0	3.5	4.0	0.993	0.654
視界がぼやけることがある	4.0	3.0	5.0	3.0	2.3	4.0	4.0	3.0	2.3	3.0	5.0	4.0	3.0	4.0	4.0	0.142	0.240
視界にゴミや虫のようなものが見えるときがある	5.5	3.3	6.0	5.5	3.3	6.0	6.0	5.0	3.3	5.0	6.0	5.0	4.0	5.0	6.0	0.796	0.623
目がシヨボシヨボすることがある	3.0	2.0	4.0	3.0	2.0	4.0	4.0	3.0	2.0	3.5	4.8	3.0	3.0	2.0	4.0	0.929	0.167
目の奥が痛む・目が重いと感ずることがある	4.0	2.3	5.0	3.5	2.0	5.0	5.0	3.0	2.0	4.0	5.0	3.0	3.0	3.5	5.0	0.791	0.693
細かい文字が読みにくい	4.0	3.0	5.0	3.0	3.0	4.0	4.0	3.0	3.0	4.0	5.0	3.0	3.0	3.0	4.0	0.275	0.133
目薬をさすことがある	5.5	4.0	6.0	5.0	4.0	6.0	6.0	5.0	4.0	6.0	6.0	6.0	4.3	4.0	6.0	0.911	0.426
夜の運転がこわい・薄暗くなると物が見えにくいことがある	4.0	3.0	5.8	3.0	3.0	5.8	5.8	3.0	3.0	4.0	6.0	4.0	3.0	4.0	5.0	0.876	0.511
肩こりや頭痛がする	3.0	2.0	5.0	3.0	2.0	3.0	3.0	3.0	2.0	3.0	5.0	3.0	2.0	2.0	3.0	0.508	0.210
冷えが気になる	4.0	3.0	5.0	4.5	3.0	5.0	5.0	4.0	3.0	4.5	6.0	4.5	3.0	4.5	5.0	0.649	0.984
身体が疲れやすい	3.0	2.0	4.0	3.0	2.0	4.8	4.0	3.0	2.0	3.0	5.0	3.0	3.0	3.0	4.0	0.797	0.293

データは中央値 (Median) と第 1 四分位数 (Q1)、第 3 四分位数 (Q3) で示した。

1: まったくあてはまらない / 2: ほとんどあてはまらない / 3: あまりあてはまらない / 4: 少しあてはまる / 5: かなりあてはまる / 6: 非常にあてはまる

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

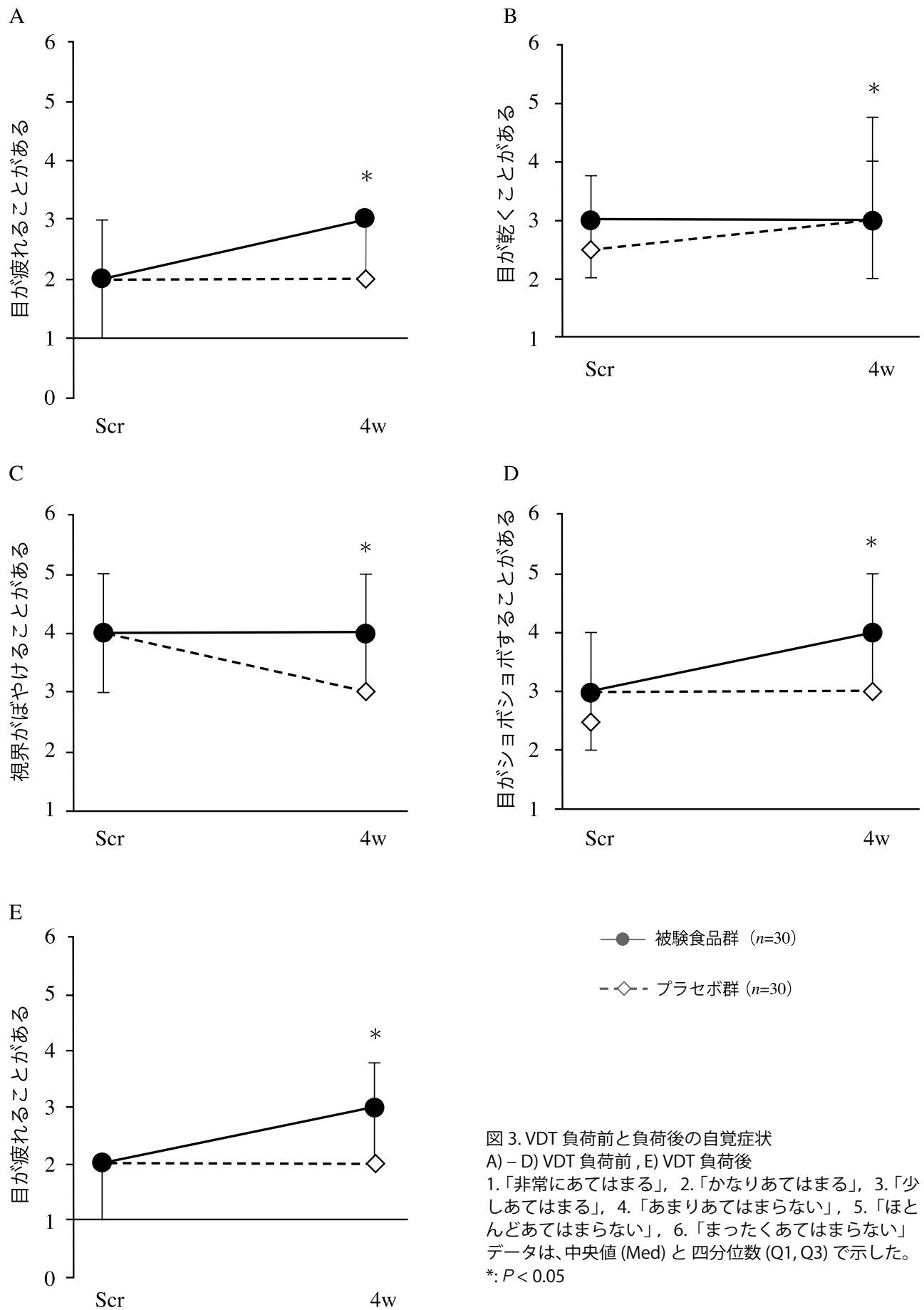


表 5-2 VDT 負荷後にアンケートが改善した参加者数

検査項目	摂取 4 週間後 (4w)				P 値
	被験食品群 (n = 30)		プラセボ群 (n = 30)		
	改善	非改善	改善	非改善	
目が疲れることがある	6	24	3	27	0.472
目が乾くことがある	6	24	7	23	1.000
クッキリ見えないことがある	14	16	15	15	1.000
ピントが合わないことがある	13	17	13	17	1.000
かすみ目が気になる	5	25	7	23	0.748
視界がぼやけることがある	8	22	7	20	0.779
視界にゴミや虫のようなものが見えるときがある	7	23	7	26	0.506
目がショボショボすることがある	3	27	7	24	0.472
目の奥が痛む・目が重と感じることがある	5	25	7	26	1.000
細かい文字が読みにくい	14	16	7	19	0.601
目薬をさすことがある	11	19	7	23	0.399
夜の運転がこわい・薄暗くなると物が見えにくいことがある	3	27	7	21	0.104
肩こりや頭痛がする	11	19	7	27	0.030
冷えが気になる	9	21	7	20	1.000
身体が疲れやすい	5	25	7	25	1.000

データは人数を示した。

*: $P < 0.05$

表 6-1 安全性評価 (身体測定・理学検査)

検査項目	摂取前 (Scr)				摂取 4 週間後 (4w)				P 値	
	被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 32)		被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 32)		Scr	4w
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
体重 (kg)	61.1 ± 10.5		61.5 ± 12.0		60.9 ± 10.6		61.8 ± 12.3		0.897	0.735
BMI (kg/m ²)	22.6 ± 3.2		23.0 ± 3.4		22.6 ± 3.3		23.2 ± 3.5		0.642	0.479
体脂肪率 (%)	26.1 ± 7.9		26.2 ± 6.1		25.8 ± 8.1		26.2 ± 6.5		0.915	0.801
収縮期血圧 (mmHg)	116.7 ± 12.0		115.9 ± 13.2		111.8 ± 11.6		112.9 ± 12.9		0.809	0.718
拡張期血圧 (mmHg)	76.1 ± 9.1		76.2 ± 10.2		72.3 ± 8.4		73.7 ± 11.1		0.947	0.584
脈拍数 (bpm)	73.4 ± 11.0		78.4 ± 9.0		76.5 ± 11.7		78.5 ± 12.1		0.053	0.507
体温 (°C)	36.0 ± 0.5		36.1 ± 0.4		35.9 ± 0.3		35.9 ± 0.3		0.580	0.815

データは平均値 (Mean) と標準偏差 (SD) で示した。

Ⅲ. 考察

本研究で用いた被験食品の有効成分の一つであるカシス抽出物には、目の疲労感などを抑える効果が期待されており、他にも、カシス種子油、ビタミン A など、眼機能の改善に寄与すると考えられる成分を配合している。これらのことから、本研究は VDT 作業を行うと目の疲れを感じる健常な日本人成人男女を対象に、被験食品の摂取が健常者の眼機能に及ぼす影響について検証した。

目の疲れは調節機能が正常化することで緩和すると考えられており¹⁴⁾、眼の疲れがある時には縮瞳率が低下することが報告されている¹⁵⁾。被験食品群の 4w では、VDT 負荷前後における優位眼の縮瞳率 (%/D) の変化量は被験食品群の方がプラセボ群よりも有意に高値を示し、1.1%/D の群間差が確認された。過去に縮瞳率を評価した研究では、縮瞳率の 0.9~1.2%/D 程度の変化を臨床的に意味のある差と解釈している¹⁶⁾。したがって、本試験で確認さ

表 6-2 安全性評価（尿検査）

検査項目	基準値	測定期間	被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 32)		P 値
			基準値内	基準値外	基準値内	基準値外	
蛋白質	(-)	摂取前 (Scr)	31	2	30	2	1.000
		摂取 4 週間後 (4w)	31	2	31	1	1.000
ブドウ糖	(-)	Scr	33	0	32	0	N.A.
		4w	33	0	32	0	N.A.
ウロビリノーゲン	(±)	Scr	33	0	32	0	N.A.
		4w	33	0	32	0	N.A.
ビリルビン	(-)	Scr	33	0	32	0	N.A.
		4w	33	0	32	0	N.A.
pH	5.0-7.5	Scr	32	1	32	0	1.000
		4w	32	1	32	0	1.000
潜血	(-)	Scr	27	6	29	3	0.475
		4w	28	5	27	5	1.000
ケトン体	(-)	Scr	33	0	32	0	N.A.
		4w	32	1	32	0	1.000

データは人数を示した。

N.A., not available.

れた縮瞳率の群間差 1.1%/D は臨床的に意味のある差であり、被験食品の摂取は目の調節機能の改善をもたらすことが確認された。

優位眼は非優位眼よりも常時わずかに緊張しており、素早く近方調節することから、VDT 作業を原因とした調節障害は非優位眼よりも優位眼に影響しやすいことが考えられている^{17, 18)}。そのため、本試験においても VDT 負荷による影響が優位眼で顕著にみられ、被験食品摂取後の VDT 負荷前後における優位眼の縮瞳率に有意差が確認されたと考えられる。

自覚症状において、被験食品群はプラセボ群と比べ、4w の実測値で VDT 負荷前の「目がショボショボすることがある」「視界がぼやけることがある」「目が疲れることがある」と VDT 負荷後の「目が疲れることがある」が有意に高値を示した。このアンケートは、高値であるほど自覚症状が良好なことを意味するため、被験食品の摂取による調節機能の改善が自覚症状の改善に寄与したと考えられる。また、4w 時点において VDT 負荷前から負荷後にかけて自覚症状が改善した者の割合を確認したところ、被験食品群はプラセボ群よりも肩こりや頭痛に関する自覚症状が改善する者が有意に多く確認された。これは、被験食品に含まれるカシス由来アントシアニンの局

所的な血管拡張反応により血液循環が改善されたことで肩こりの自覚症状が改善されたと考えられる。

血流検査では、血流速において 4w の実測値および変化量において、被験食品群がプラセボ群よりも有意に低値を示した。血流速度は個人差が大きく、体調に左右されることが報告されている¹⁹⁾。本試験の対象者は VDT 作業を行うと目の疲れを感じる者を対象にしていたことから、本試験による被験食品が血流に与える影響は明らかにできなかった。したがって、被験食品の摂取が血流速に与える影響を検証するためには、血流速が同程度の者を対象に試験を行うことが望まれる。

本試験の結果から、被験食品の 4 週間継続摂取によって調節機能および目の疲れに関する自覚症状の改善が確認された。カシス抽出物に含まれるアントシアニンには、ロドプシンの再合成を介して夜間視力を改善させることが報告されている^{5, 20, 21)}。VDT の光源はブルーライトを発生させ、過剰なブルーライトの暴露は、視細胞に活性酸素の時間依存的産生をもたらす^{22, 23)}、活性酸素は視細胞のアポトーシスを引き起こす²⁴⁾。過剰な活性酸素が存在する酸化ストレス状況下の視細胞において、ロドプシンが機能低下することが報告されている²⁵⁾。光刺激を受けたロドプシンは分解される際に視覚情報を脳に発

表 6-3 安全性評価 (末梢血液検査)

検査項目	基準値	摂取前 (Scr)				摂取 4 週間後 (4w)				P 値	
		被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 32)		被験食品群 (n = 33)		プラセボ群 (n = 32)		Scr	4w
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
白血球数 (/μL)	3300-9000	5118.2 ± 1098.1		5434.4 ± 1371.0		5515.2 ± 1209.4		5356.3 ± 1345.5		0.308	0.618
赤血球数 (× 10 ⁴ /μL)	男性 : 430-570 女性 : 380-500	458.0 ± 34.0		471.2 ± 30.3		455.3 ± 35.9		464.0 ± 32.9		0.106	0.316
ヘモグロビン (g/dL)	男性 : 13.5-17.5 女性 : 11.5-15.0	13.9 ± 1.3		14.2 ± 1.3		14.0 ± 1.3		14.2 ± 1.2		0.363	0.463
ヘマトクリット (%)	男性 : 39.7-52.4 女性 : 34.8-45.0	43.1 ± 3.4		43.6 ± 3.2		42.5 ± 3.4		43.3 ± 3.1		0.527	0.333
血小板数 (× 10 ⁴ /μL)	14.0-34.0	26.0 ± 3.9		26.0 ± 5.4		25.6 ± 4.4		26.0 ± 5.6		0.971	0.693
MCV (fL)	85-102	94.0 ± 3.9		92.5 ± 5.0		93.3 ± 3.7		93.3 ± 4.3		0.182	0.934
MCH (pg)	28.0-34.0	30.3 ± 1.5		30.1 ± 2.1		30.7 ± 1.4		30.6 ± 1.8		0.643	0.947
MCHC (%)	30.2-35.1	32.3 ± 0.8		32.5 ± 1.0		32.9 ± 1.0		32.8 ± 1.0		0.230	0.836
好中球率 (%)	40.0-75.0	58.2 ± 6.8		57.5 ± 10.5		59.1 ± 7.1		57.3 ± 10.0		0.779	0.413
リンパ球率 (%)	18.0-49.0	33.5 ± 6.7		34.7 ± 10.0		33.2 ± 6.2		34.7 ± 9.6		0.577	0.433
単球率 (%)	2.0-10.0	5.4 ± 1.1		4.9 ± 1.6		5.1 ± 1.3		5.2 ± 1.4		0.116	0.813
好酸球率 (%)	0.0-8.0	2.4 ± 1.8		2.3 ± 1.7		2.1 ± 2.0		2.2 ± 1.3		0.882	0.893
好塩基球率 (%)	0.0-2.0	0.6 ± 0.4		0.6 ± 0.4		0.5 ± 0.3		0.6 ± 0.4		0.561	0.500
好中球数 (/μL)	-	2993.7 ± 818.8		3190.8 ± 1197.1		3280.8 ± 882.8		3154.2 ± 1231.8		0.440	0.635
リンパ球数 (/μL)	-	1696.4 ± 406.8		1826.1 ± 571.8		1811.4 ± 463.2		1783.5 ± 438.2		0.295	0.804
単球数 (/μL)	-	275.2 ± 73.1		256.9 ± 90.6		279.6 ± 83.7		276.6 ± 93.9		0.372	0.890
好酸球数 (/μL)	-	122.2 ± 100.4		126.5 ± 108.4		115.4 ± 111.5		113.2 ± 73.3		0.870	0.926
好塩基球数 (/μL)	-	30.7 ± 23.3		34.1 ± 17.7		27.9 ± 19.7		28.7 ± 18.3		0.504	0.869
AST (GOT) (U/L)	10-40	20.3 ± 5.5		21.9 ± 6.6		21.5 ± 6.1		22.1 ± 6.1		0.280	0.673
ALT (GPT) (U/L)	5-45	17.6 ± 10.8		18.5 ± 6.8		18.2 ± 11.2		20.0 ± 8.7		0.702	0.463
γ-GT (γ-GTP) (U/L)	男性 : 80 以下 女性 : 30 以下	22.9 ± 23.1		39.2 ± 47.0		21.8 ± 16.6		46.3 ± 58.9		0.080	0.025*
ALP (U/L)	100-325	200.5 ± 57.7		197.8 ± 60.1		201.8 ± 49.7		207.9 ± 62.2		0.854	0.661
LD (LDH) (U/L)	120-240	172.5 ± 22.2		183.6 ± 25.0		176.2 ± 27.9		191.6 ± 28.2		0.063	0.030*
LAP (U/L)	男性 : 45-81 女性 : 37-61	48.7 ± 12.0		50.4 ± 10.4		49.5 ± 10.6		53.4 ± 12.3		0.542	0.176

総ビリルビン (mg/dL)	0.2-1.2	0.86 ± 0.33	0.84 ± 0.28	0.87 ± 0.35	0.83 ± 0.28	0.791	0.625
直接ビリルビン (mg/dL)	0.0-0.2	0.08 ± 0.06	0.08 ± 0.04	0.08 ± 0.05	0.08 ± 0.05	0.521	0.848
間接ビリルビン (mg/dL)	0.2-1.0	0.78 ± 0.29	0.75 ± 0.26	0.80 ± 0.32	0.76 ± 0.25	0.674	0.570
コリンエステラーゼ (ChE) (U/L)	男性 : 234-493 女性 : 200-452	324.1 ± 73.6	336.8 ± 75.1	320.3 ± 72.3	339.6 ± 75.7	0.493	0.296
総蛋白 (g/dL)	6.7-8.3	7.1 ± 0.3	7.1 ± 0.4	7.1 ± 0.3	7.1 ± 0.4	0.942	0.966
尿素窒素 (mg/dL)	8.0-20.0	12.5 ± 2.9	13.6 ± 3.8	12.9 ± 3.5	12.9 ± 3.1	0.200	0.961
クレアチニン (mg/dL)	男性 : 0.61-1.04 女性 : 0.47-0.79	0.74 ± 0.17	0.72 ± 0.12	0.75 ± 0.17	0.73 ± 0.14	0.594	0.464
尿酸 (mg/dL)	男性 : 3.8-7.0 女性 : 2.5-7.0	4.7 ± 1.1	5.2 ± 1.4	4.9 ± 1.4	5.3 ± 1.7	0.179	0.344
CK (U/L)	男性 : 60-270 女性 : 40-150	102.4 ± 47.2	102.9 ± 56.1	112.7 ± 57.5	121.4 ± 123.9	0.965	0.714
ナトリウム (mEq/L)	137-147	140.0 ± 1.6	140.1 ± 1.7	140.1 ± 1.5	140.6 ± 1.6	0.759	0.145
カリウム (mEq/L)	3.5-5.0	4.4 ± 0.4	4.3 ± 0.3	4.1 ± 0.3	4.1 ± 0.3	0.234	0.978
クロール (mEq/L)	98-108	101.6 ± 1.8	101.8 ± 2.1	101.8 ± 1.6	102.2 ± 2.0	0.763	0.332
カルシウム (mg/dL)	8.4-10.4	9.3 ± 0.3	9.3 ± 0.3	9.2 ± 0.4	9.2 ± 0.4	0.438	0.837
無機リン (mg/dL)	2.5-4.5	3.2 ± 0.4	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.6	3.4 ± 0.5	0.217	0.722
血清鉄 (µg/dL)	男性 : 50-200 女性 : 40-180	110.9 ± 37.7	105.9 ± 33.8	107.0 ± 40.9	107.6 ± 32.5	0.576	0.951
血清アミラーゼ (U/L)	40-122	79.6 ± 26.4	76.9 ± 20.6	75.3 ± 20.4	77.8 ± 22.9	0.652	0.635
総コレステロール (mg/dL)	120-219	221.7 ± 34.9	222.1 ± 36.3	217.6 ± 31.0	223.4 ± 33.4	0.962	0.468
HDL- コレステロール (mg/dL)	男性 : 40-85 女性 : 40-95	74.0 ± 18.6	70.9 ± 17.1	68.8 ± 18.3	66.8 ± 14.9	0.480	0.631
LDL- コレステロール (mg/dL)	65-139	131.6 ± 32.6	135.3 ± 33.4	128.9 ± 28.6	137.5 ± 30.9	0.652	0.249
TG (中性脂肪) (mg/dL)	30-149	93.3 ± 60.4	99.9 ± 65.9	98.3 ± 65.4	100.9 ± 62.6	0.672	0.872
グルコース (mg/dL)	70-109	84.3 ± 5.8	84.3 ± 6.3	85.7 ± 6.2	85.8 ± 5.8	0.995	0.922
HbA1c (NGSP) (%)	4.6-6.2	5.3 ± 0.3	5.3 ± 0.2	5.3 ± 0.3	5.3 ± 0.3	0.417	0.572
グリコアルブミン (%)	12.3-16.5	13.9 ± 1.0	13.6 ± 1.2	14.2 ± 1.3	14.1 ± 1.4	0.341	0.730

データは平均値 (Mean) と標準偏差 (SD) で示した。

*: $P < 0.05$

表 6-4 安全性評価（視力，眼圧）

検査項目	摂取前 (Scr)				摂取 4 週間後 (4w)				P 値	
	被験食品群 (n= 33)		プラセボ群 (n= 32)		被験食品群 (n= 33)		プラセボ群 (n= 32)		Scr	4w
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
視力										
両眼平均	0.46	± 0.48	0.43	± 0.44	0.46	± 0.48	0.44	± 0.42	0.788	0.891
優位眼	0.45	± 0.48	0.43	± 0.45	0.46	± 0.48	0.43	± 0.43	0.839	0.816
非優位眼	0.48	± 0.50	0.44	± 0.46	0.46	± 0.50	0.46	± 0.43	0.751	0.970
右眼	0.45	± 0.48	0.43	± 0.45	0.47	± 0.49	0.44	± 0.43	0.840	0.780
左眼	0.48	± 0.50	0.44	± 0.46	0.45	± 0.49	0.45	± 0.43	0.750	0.989
眼圧										
両眼平均 (mmHg)	13.6	± 2.9	15.7	± 3.3	13.5	± 2.5	14.7	± 2.7	0.009**	0.092
優位眼 (mmHg)	13.5	± 2.7	15.6	± 3.4	13.5	± 2.7	14.5	± 3.0	0.008**	0.134
非優位眼 (mmHg)	13.7	± 3.4	15.8	± 3.5	13.6	± 2.6	14.8	± 2.7	0.018*	0.086
右眼 (mmHg)	13.4	± 2.6	15.7	± 3.7	13.4	± 2.7	14.8	± 2.9	0.005**	0.047*
左眼 (mmHg)	13.8	± 3.5	15.7	± 3.2	13.7	± 2.6	14.5	± 2.9	0.028*	0.223

データは平均値 (Mean) と標準偏差 (SD) で示した。

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

信する²⁶⁾。ロドプシンは可逆的に分解と合成が行われることから、再合成の遅延は視力低下を意味する²⁷⁾。その他にも、カシス種子油、ビタミン A など、眼機能の改善に寄与すると考えられる成分が被験食品に含有されている。カシス種子油と亜麻仁油は α -リノレン酸を含んでおり、 α -リノレン酸は体内で DHA に変換され²⁸⁻³⁰⁾、DHA はロドプシンの再生に寄与するといわれている³¹⁾。ビタミン A はロドプシンの前駆体であり、欠乏すると夜盲を呈することが知られている³²⁾。これらのことから、被験食品に含まれる食品素材には夜間視力を改善させることが考えられる。夜間視力や暗順応の低下は、低照度の環境下での自動車事故の要因とされていることから、夜間視力および暗順応の低下抑制は社会的課題の解決に寄与すると思われる³³⁾。本試験において

も、4w の VDT 負荷前に自覚症状の「夜の運転がこわい・薄暗くなると物が見えにくいことがある」が改善された傾向がみられた。しかしながら、本試験は VDT 作業を行うと目の疲れを感じる者を対象にしていたため、被験食品の摂取が夜間視力に与える影響を検証するためには、夜間視力の低下を自覚する者を対象に行うことが望まれる。

結論

VDT 作業を行うと目の疲れを感じる健常な日本人成人男女において、“ピントくるカシス”の 4 週間継続摂取は VDT 作業による調節機能の低下を抑制することで、目の疲れに関連した自覚症状を緩和することが確認された。

利益相反

本試験は、金井貴義の所属する(有)野草酵素が主宰し、試験の実施および論文執筆に関わるすべての費用を負担した。高橋悠太の所属は、(有)野草酵素が本試験を委託した(株)オルトメディコである。本試験の実施は(有)野草酵素と(株)オルトメディコが共同で行った。山田高広は、アリオ西新井クリニック眼科に所属する本試験の責任医師であり、試験参加者の健康管理に当たった。

【謝辞】

本研究にご協力いただきました試験参加者、測定スタッフに感謝の意を表します。

参考文献

1. 厚生労働省：平成 20 年 技術革新と労働に関する実態調査．<https://www.mhlw.go.jp/toukei/itiran/roudou/saigai/anzen/08/02.html>, cited 17 February, 2020
2. Tsubota K, Nakamori K: Dry eyes and video display terminals. *N. Engl. J. Med.* **328**(8): 584, 1993.
3. Himebaugh NL, Begley CG, Bradley A, Wilkinson JA: Blinking and tear break-up during four visual tasks. *Optom. Vis. Sci.* **86**(2): E106-E114, 2009.
4. 難波哲子, 深堀和希, 森川綾子, 米田剛, 春石和子, 他: Visual Display Terminal (VDT) 作業による自然視調節機能の低下と眼周囲温熱療法による回復効果. 川崎医療福祉会誌 **17**(2): 363-371, 2008.
5. Nakaishi H, Matsumoto H, Tominaga S, Hirayama M: Effects of black currant anthocyanoside intake on dark adaptation and VDT work-induced transient refractive alteration in healthy humans. *Altern. Med. Rev.* **5**(6): 553-562, 2000.
6. 松本均, 中村裕子, 徳永隆久, 中石仁, 福田千晶, 他: VDT 作業時の調節機能低下へのカシスアントシアニン 摂取の影響, あたらしい眼科 **23**(1): 129-133, 2006.
7. 竹並恵里, 倉重恵子, 松本均, 永澤健, 上田千穂子, 他: 作業負荷時における末梢循環動態に対するカシス抽出物摂取の影響, 脈管学 **43**(8): 331-334, 2003.
8. Matsumoto H, Takenami E, Iwasaki-Kurashige K, Osada T, Katsumura T, *et al.*: Effects of blackcurrant anthocyanin intake on peripheral muscle circulation during typing work in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* **94**(1-2): 36-45, 2005.
9. Pojer E, Mattivi F, Johnson D, Stockley CS: The case for anthocyanin consumption to promote human health: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **12**(5): 483-508, 2013.
10. Matsumoto H, Kamm KE, Stull JT, Azuma H: Delphinidin-3-rutinoside relaxes the bovine ciliary smooth muscle through activation of ETB receptor and NO/cGMP pathway. *Exp. Eye Res.* **80**(3): 313-322, 2005.
11. 平岡満里: 調節の他覚的測定. 神眼 **22**(3): 348-353, 2005.
12. 平岡満里, 諸田麻里子, 遠矢ゆかり, 袴田直俊: 近見三徴測定装置—調節の他覚的量的測定への応用—. 日眼会誌 **107**(11): 702-708, 2003.
13. 平岡満里: IT 眼症. 眼科 **247**(1): 63-70, 2005.
14. 梶田雅義: 屈折矯正における調節機能の役割—臨床から学んだ眼精疲労の正体—. 視覚の科 **33**(4): 138-146, 2012.
15. 平岡満里, 諸田麻里子, 橋本友紀子, 菅沼雅子: 近見三徴測定装置—調節の他覚的定性測定への応用—. 日眼会誌 **110**(4): 363-270, 2006.
16. Okamoto K, Kushima M, Ishii I, Yamada T: Impacts of the Intake of a dietary supplement containing bilberry extract on improving eye functions and conditions caused by visual display terminal load—a randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study—. *Jpn Pharmacol Ther* **47**(3): 503-515, 2019.
17. Ibi K: Characteristics of dynamic accommodation responses: Comparison between the dominant and non-dominant eyes. *Ophthalmic Physiol. Opt.* **17**(1): 44-54, 1997.
18. 伊比健児: テクノストレス眼症と眼調節. 日災医会誌 **50**(2): 121-125, 2003.
19. 中村勇揮, 渡部正夫, 入部昌樹, 松原瑞浦: 703 高速度ビデオ毛細血管顕微鏡を用いた血流動態観察および評価 (J06-1 医療診断のためのマルチスケール血流動態計測と解析 (1), ジョイントセッション, 21 世紀地球環境革命の機械工学: 人・マイクロナノ・エネルギー・環境). 年次大会講演論文集 2008. **6**: 21-22, 2008.
20. Nomi Y, Iwasaki-Kurashige K, Matsumoto H: Therapeutic effects of anthocyanins for vision and eye health. *Molecules* **24**(18): 1-18, 2019.
21. Park PS-H: Constitutively active rhodopsin and retinal disease. *J. Invest. Dermatol.* **70**: 1-36, 2014.
22. Kuse Y, Ogawa K, Tsuruma K, Shimazawa M, Hara H: Damage of photoreceptor-derived cells in culture induced by light emitting diode-derived blue light. *Sci. Rep.* **4**: 5223, 2014.
23. Cheng Q, Nguyen T, Song H, Bonanno J: Hypoxia Protects Human Corneal Endothelium from Tertiary Butyl Hydroperoxide and Paraquat-Induced Cell Death In Vitro. *Exp Biol Med* **232**(3): 445-453, 2007.
24. Roehlecke C, Schumann U, Ader M, Knels L, Funk RHW: Influence of blue light on photoreceptors in a live retinal explant system. *Mol. Vis.* **17**: 876-884, 2011.
25. Nakamura M, Kuse Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Hara H: The involvement of the oxidative stress in murine blue LED light-induced retinal damage model. *Biol. Pharm. Bull.* **40**(8): 1219-1225, 2017.
26. 不破正宏: 視覚受容の生理学的メカニズム. 光学 **15**(5): 376-381, 1986.
27. 中川裕子, 一柳考志, 小西徹也, 松郷誠一: 生理活性植物因子アントシアニンの色と構造. 色材協会誌 **79**(2006): 113-119, 2006.
28. Bártlová M, Bernášek P, Sýkora J, Sovová H: HPLC in reversed phase mode: Tool for investigation of kinetics of blackcurrant seed oil lipolysis in supercritical carbon dioxide. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **839**(1-2): 80-84, 2006.
29. Ruiz del Castillo ML, Dobson G, Brennan R, Gordon S: Genotypic variation in fatty acid content of blackcurrant seeds. *J. Agric. Food Chem.* **50**(2): 332-335, 2002.
30. Holy EW, Forestier M, Richter EK, Akhmedov A, Leiber F, *et al.*: Dietary α -linolenic acid inhibits arterial thrombus formation, tissue factor expression, and platelet activation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **31**(8): 1772-1780, 2011.
31. 小林哲幸: 網膜機能におけるドコサヘキサエン酸 (DHA) の役割. オレオサイエンス **6**(2): 77-83, 2006.
32. 石田晋: 目と耳の老化と老年病 加齢黄斑変性の予防医学. 学術の動向 **17**(12): 80-85, 2012.
33. 中野倫明, 山本新: 3. 運転者の認知能力の診断技術. 映像情報メディア学会誌 **61**(12): 1693-1696, 2007.

エネルギー産生に欠かすことができない ビタミン様物質 α- リポ酸の生合成経路

柴田 克己 (SHIBATA Katsumi) *

Key Words: 高齢期, エネルギー産生, ビタミン様物質, リポ酸の生合成, 尿中 2- オキソ酸

要旨

エネルギー物質である ATP 産生に関わる必須微量栄養素として、ビタミンとミネラルがある。これらは必須栄養素であるので、ヒトが栄養素欠乏に陥らないために摂取すべき量がライフステージごとに提示されている。一方で、体内で生合成される微量成分の中で ATP 産生に関与している物質の一つとして、α- リポ酸がある。これはビタミン様物質と呼ばれている。高齢期におけるフレイルの一因として、この α- リポ酸の生合成能力の低下に起因するエネルギー量の不足が発生している可能性がある。本研究解説では、ヒトにおける生合成経路に関する情報をまとめてみた。その上で、高齢者の健康を維持するために、α- リポ酸の生合成能力の生体指標としての尿中 2- オキソ酸排泄量の活用、ならびにその生合成能力が低下しないようにするための栄養素補充量とを考察した。

はじめに

寿命の限界まで、自立した生活を送りたい。お腹がすいた時に食べたい物に含まれる栄養素の種類と量、いわゆる「栄養バランス」が大切であるという哲学は、皆知っている。「栄養バランス」が良いということは、厚生労働省が策定した日本人の食事摂取基準 2020 年版¹⁾に記載された栄養素量を毎日摂取することである。

健康を維持するために、最も重要なことは、適正体重を維持することである。体重という生体指標は、体重計で測定できる。朝食前の記録を薦める。高齢者では、日ごとの消費エネルギー量に大差はないので、体重は、エネルギー摂取量に鋭敏に反応する。高齢者のエネルギー必要量は、1 日当たり、30～40 kcal/kg 体重と覚えておく。そして、タンパク質は 1 g で 4 kcal, 脂肪は 1 g で 9 kcal, 糖質は 1 g で 4 kcal, アルコールは 1 g で 7 kcal, 食物繊維は 1 g で 2 kcal のエネルギーを作ることができる覚えておく。

1. 高齢期の栄養素必要量

日本人の食事摂取基準 2020 年版には、65 歳～74 歳と 75 歳以上の食事摂取基準が男女ごとにまとめられている¹⁾。この報告書に記載された表を眺めると、成人以降の必要量は、それほど変わらないことがわかる。男女別においても、それほど変わらない。繰り返しであるが、「栄養バランス」の良い食事をするためには、栄養素必要量の概数を記憶しておくことが大切である。

2. ATP 産生に関わる生体必須成分

2-1. α- リポ酸 (リポ酸)

α- リポ酸 ($C_8H_{14}O_2S_2$, 分子量 = 206.33。構造式は図 1 を参照) は、1951 年、Reed らによって乳酸菌 (*Streptococcus lactis*) の生育因子である「acetate-replacing factor」として、牛肝臓から単離された²⁾。日本では、1958 年から医薬品として用いられており、2004 年には食品への使用が認められた。α- リ

* 甲南女子大学 医療栄養学部 医療栄養学科 教授
〒658-0001 兵庫県神戸市東灘区森北町 6-2-23
電話: 078-413-3110, e-mail: kshibata@konan-wu.ac.jp

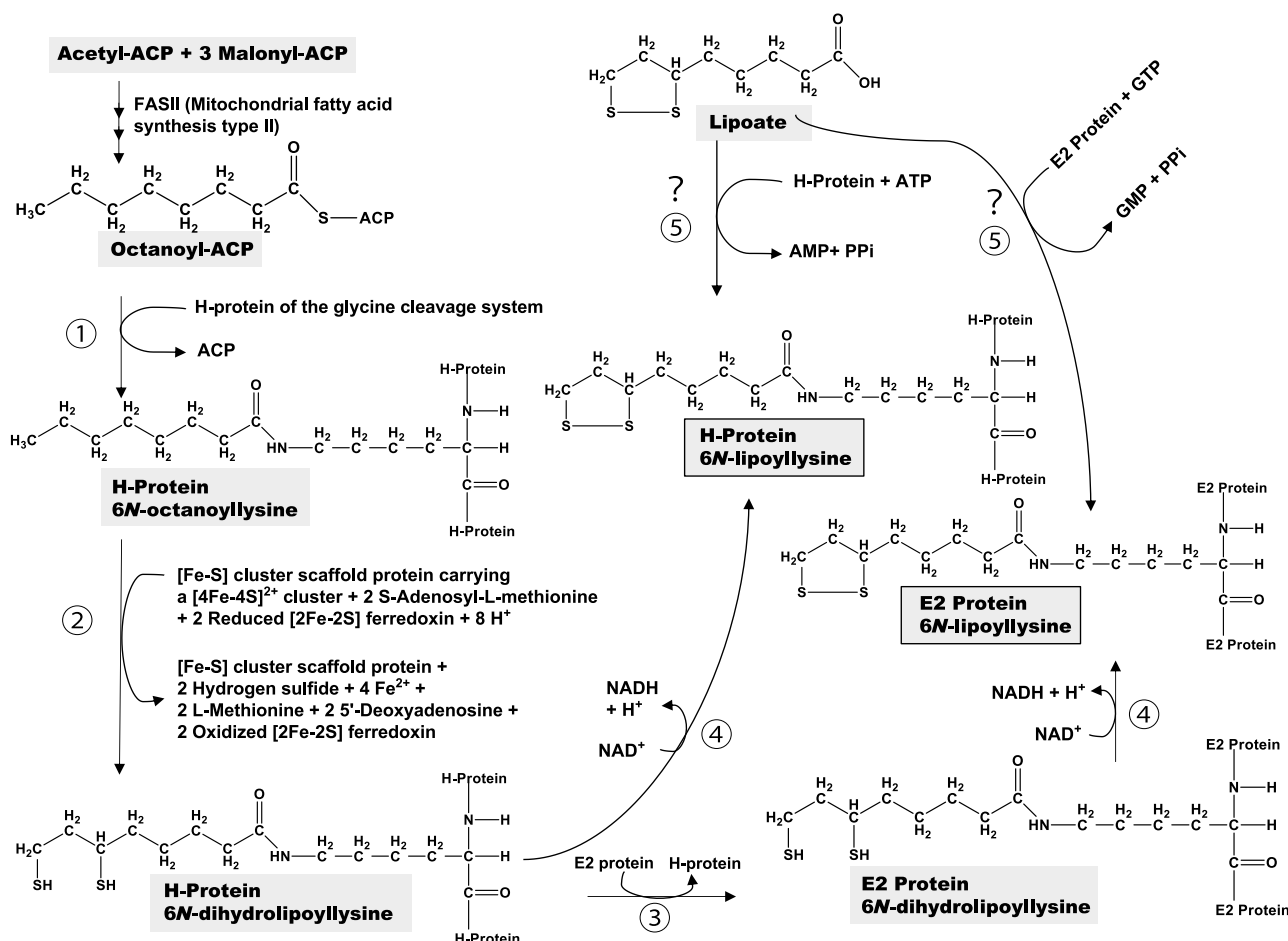


図1 リポ酸の生合成経路

- ① octanoyltransferase (LIPT2)[EC:2.3.1.181],
 - ② ion-sulfur-cluster-dependent lipoyl synthase (LIAS) [EC:2.8.1.8],
 - ③ lipoyltransferase (LIPT1), EC 番号は決まられていない。
 - ④ FAD-dependent dihydrolipoyl dehydrogenase (DLD) [EC 1.8.1.4],
 - ⑤ lipoyl dehydrogenase [EC:6.3.1.20], ヒトにおいては、活性が非常に低いあるいは存在しない可能性もある。
- ACP = アシルキャリアタンパク質. E2 Protein = E2 subunit of the 2-oxo acid dehydrogenase complexes.

ポ酸は分子内に不斉炭素が1個存在する。活性を有するのはD-体のみである。有機溶媒に溶けやすく、水にはほとんど溶けない。D-α-リポ酸は一般的には、単にリポ酸と呼ばれることが多い。以下、リポ酸と記述する。リポ酸にはS-S結合が存在し、生体内では容易に還元されてジチオール型のジヒドロリポ酸となる。したがって、遊離型のリポ酸には抗酸化力があることになる。

(1) 役割

リポ酸は、ヒトでは四つの2-オキソ酸脱水素複合体（ピルビン酸脱水素酵素複合体、2-オキソグルタル酸脱水素酵素複合体、分岐鎖2-オキソ酸脱水素酵素複合体、2-オキソアジピン酸脱水素酵素複合体）とグリシン開裂系（Glycine cleavage system

= GCS）の計五つの酵素の補因子である。

四つの2-オキソ酸脱水素複合体は、E1と呼ばれるThDP（チアミンニリン酸）-依存性2-オキソ酸デヒドロゲナーゼ（脱炭酸反応）、E2と呼ばれるリポ酸-依存性ジヒドロリポイルアシルラーゼ（リポイルアシル基のアシル基をCoAにわたす反応）、E3と呼ばれるFAD-依存性ジヒドロリポイルデヒドロゲナーゼ（ジヒドロリポ酸をリポ酸に戻す反応でNAD⁺を補酵素とする）の三種類のタンパク質から構成されている。反応式は、ピルビン酸脱水素酵素複合体の場合はピルビン酸 + CoA + NAD⁺ → アセチル-CoA + CO₂ + NADH + H⁺である。2-オキソグルタル酸脱水素酵素複合体の場合は、2-オキソグルタル酸 + CoA + NAD⁺ → スクシニル-CoA + CO₂ + NADH + H⁺である。分岐鎖2-オキ

ソ酸脱水素酵素複合体においては、ロイシン由来の 4-メチル-2-オキソペンタン酸の場合は、4-メチル-2-オキソペンタン酸 + CoA + NAD⁺ → 3-メチルブタノイル-CoA + CO₂ + NADH + H⁺、イソロイシン由来の 3-メチル-2-オキソペンタン酸の場合は、3-メチル-2-オキソペンタン酸 + CoA + NAD⁺ → 3-メチルブタノイル-CoA + CO₂ + NADH + H⁺、バリン由来の場合は、3-メチル-2-オキソブタン酸 + CoA + NAD⁺ → イソブチル-CoA + CO₂ + NADH + H⁺ である。リシンおよびトリプトファン由来の 2-オキソアジピン酸を代謝する 2-オキソアジピン酸脱水素酵素複合体においては、2-オキソアジピン酸 + CoA + NAD⁺ → グルタリル-CoA + CO₂ + NADH + H⁺ である。

グリシン開裂系 (GCS) は PLP-依存性デカルボキシラーゼ活性を有する P-タンパク質、アミノメチルトランスフェラーゼ活性を有する T-タンパク質、FAD-依存性ジヒドロリポイルデヒドロゲナーゼ活性を有する L-タンパク質 (ジヒドロリポ酸をリポ酸に戻す反応で NAD⁺ を補酵素とする)、リポ酸で修飾されている H-タンパク質 ([H-protein]-lipoyllysine) の 4 種類で構成されている。この反応は、P-タンパク質の触媒作用により、グリシンが [H-protein]-lipoyllysine のリポ酸と結合することからはじまり、[H-protein]-S8-aminomethyldihydrolipoyllysine と CO₂ が生じる。次に、T-タンパク質の触媒作用により、[H-protein]-S8-aminomethyldihydrolipoyllysine はテトラヒドロ葉酸の存在下で、dihydrolipoylprotein となり、同時に 5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸と NH₃ が生ずる。dihydrolipoylprotein は、L-タンパク質の触媒作用により、[H-protein]-lipoyllysine に戻る。全反応式は、グリシン + テトラヒドロ葉酸 + NAD⁺ → NH₃ + CO₂ + 5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸 + NADH + H⁺ である。

これらの五つの酵素はミトコンドリアに存在する。活性型リポ酸の不足は、アミノ酸異化代謝活性の低下を招くと同時に TCA 回路の回転が鈍ってくる。その結果、ATP 産生能が低下し、結果的に骨格筋や心筋のエネルギー不足を招くことになる。

(2) *de novo* 生合成経路

図 1 にリポ酸の生合成経路を示した^{3,4)}。ミトコンドリアのマトリックスに存在する脂肪酸生合成系 II でオクタノイル ACP が生成することから始まる⁵⁾。

図 1 の①反応。オクタノイル-ACP は、オクタノイルトランスフェラーゼ (LIPT2) の触媒作用により、オクタノイル-LIPT2 複合体を経由して GCS の H-タンパク質のリシン残基に結合し、H-Protein 6*N*-octanoyllysine が生成する。

②の反応。鉄-硫黄-クラスター依存性リポイルシンターゼ (LIAS) の触媒作用により、オクタノイル基の C-6 位と C-8 位に SH 基が入り、H-Protein 6*N*-dihydrolipoyllysine が生成する。この反応は、ラジカル *S*-アデノシルメチオニンファミリーに属するものであり、2 分子の *S*-アデノシルメチオニンが 2 分子の還元型 [2Fe-2S] フェレドキシンの鉄から電子の付加を受けて 2 分子の 5'-デオキシアデノシン-5'-イルラジカル (5'-Ado[•]) と 2 分子のメチオニンに分解される。同時に、還元型 [2Fe-2S] フェレドキシンは酸化型 [2Fe-2S] フェレドキシンとなる。2 分子の 5'-Ado[•] は H-Protein 6*N*-octanoyllysine の C-6 位と C-8 位の電子をそれぞれ引き抜き、H-Protein 6*N*-octanoyllysine ラジカルを生じさせ、5'-Ado に戻る。H-Protein 6*N*-octanoyllysine ラジカルは、C-6 位と C-8 位に [Fe-S] cluster scaffold protein carrying a [4Fe-4S]²⁺ cluster から、それぞれ 1 原子の硫黄の供給を受け、H-Protein 6*N*-dihydrolipoyllysine となる。その際に、[Fe-S] cluster scaffold protein carrying a [4Fe-4S]²⁺ cluster から、2 分子の H₂S が生成し、4 分子の Fe²⁺ が遊離し、[Fe-S] cluster scaffold protein となる。[Fe-S] cluster scaffold protein には、新たな [4Fe-4S]²⁺ cluster が iron-sulfur cluster carrier proteins から直ちに供給される。

③の反応。リポイルトランスフェラーゼ (LIPT1) の触媒作用により、ジヒドロリポイル-LIPT1 複合体を経由して 2-オキソ酸脱水素酵素複合体の E2 タンパク質に転移され、E2 Protein 6*N*-dihydrolipoyllysine が生成する。

④の反応。FAD-依存性ジヒドロリポイルデヒドロゲナーゼ (DLD) の触媒作用により、E2 Protein 6*N*-lipoyllysine となる。さらにピルビン酸脱水素酵素複合体、2-オキソグルタル酸脱水素酵素複合体、分岐鎖 2-オキソ酸脱水素酵素複合体、あるいは 2-オキソアジピン酸脱水素酵素複合体を構成する E1 および E3 と複合体を形成することで、2-オキソ酸脱水素酵素複合体は活性型となる。

GCS の場合、H-Protein 6*N*-dihydrolipoyllysine が

FAD-依存性ジヒドロリポイルデヒドロゲナーゼ活性を有する L-タンパク質によって、H-Protein 6N-lipoyllysine となり、さらに、他の構成タンパク質である T-タンパク質、P-タンパク質を含む四つのタンパク質がゆるく組み合わさり、GCS 活性型となる

(3) salvage 生合成経路

ヒトを含む哺乳類において、タンパク質に結合したリポ酸の再利用系に関する情報は少ない。リポイルペプチドからリポ酸を切り出す酵素、リポアミダーゼは、60 年ほど前に *Streptococcus faecalis* と *Escherichia coli* から発見された⁶⁾。この微生物由来のリポアミダーゼはリポイルペプチドからばかりでなく、微生物由来のピルビン酸脱水素酵素複合体からも、直接リポ酸を切り出すことができると報告されている⁷⁾。したがって、このような微生物においては、リポアミダーゼはピルビン酸脱水素酵素複合体などの阻害剤ともなりうるがどのように調節されているの不明である。ヒト血清中にもリポアミダーゼの存在が知られている。ヒト酵素は、遊離型のリポイルリシンからリポ酸を切り出すことはできるが、結合型リポイルリシンからリポ酸を切り出すことはできない⁸⁾。したがって、ヒトでは、使命を終えた H-タンパク質や E2 タンパク質がリソゾーム内に存在するタンパク質分解酵素によって分解され、遊離型のリポイルリシンが生成することからリポ酸の再利用系が始まるのであろう。

さて、遊離型となったリポ酸がどのような酵素によって、H-タンパク質や E2 タンパク質に取り込まれるのであろうか？ *E. coli* においては、リポ酸が ATP により活性化されて、リポイル-AMP となり、引き続き H-タンパク質や E2 タンパク質に組み込まれる経路が存在する。これらの反応は一つの酵素リポイルリガーゼによって触媒される⁹⁾。2001 年、ブタ肝臓においては、リポ酸は GTP によって活性化されて、リポイル-GMP となり、その後、H-タンパク質や E2 タンパク質に組み込まれる経路が存在し、*E. coli* と同じく一つの酵素で触媒されるという報告がある¹⁰⁾。しかしながら、その後の報告はなく、ヒトでは遊離型のリポ酸を直接 H-タンパク質や E2 タンパク質に取り込める酵素系は存在していない可能性もある。

リポ酸の生合成量は非常に少なく、食べ物から摂取することが必要であるという報告はあるが¹¹⁾、上述のように、ヒトには *salvage* 経路が存在していない可能性もある。

(4) 消化・吸収と体内動態

食品成分由来のリポ酸は、それを含有する酵素タンパク質がミトコンドリアのマトリックスに存在しているため、ミトコンドリア外膜・内膜が破壊される過程が、第一の消化イベントとなる。第二の消化イベントは、2-オキソ酸脱水素酵素複合体の E2 タンパク質や GCS の H-タンパク質の消化である。その結果、遊離型のリポイルリシンが生成する。リシンの ϵ -アミノ基とリポ酸のカルボキシル基が結合した化合物であり、この結合を切断する酵素がリポアミダーゼである。遊離状態となったリポ酸はプロトン共輸送体型の中鎖脂肪酸輸送体を介して小腸細胞内に輸送される¹²⁾。

健康な日本人男性 (26 ~ 31 歳) に 10 mg のリポ酸あるいはリポアミドを経口的に投与したところ、30 分で血漿のリポ酸濃度が 5 倍程度 (70 nmol/L $\rightarrow$ 350 nmol/L) に上昇、また、筋肉内注射では 35 倍程度にまで上昇し (70 nmol/L $\rightarrow$ 2,500 nmol/L)、さらに、経口投与でも、筋肉内注射でも、投与 3 時間後で血漿中のリポ酸濃度は投与前の値に戻っていたという報告がある¹³⁾。また、日本人女性 (31 歳 ~ 44 歳) に、600 mg のラセミ体のリポ酸を経口投与したところ、血漿中のリポ酸濃度のピークは 1 時間後で、その時の濃度は 12.5 μ mol/L であり、投与 6 時間後には元の値にまで戻ったとの報告がある¹⁴⁾。

24 ~ 43 歳の男女を被検者として、600 mg のラセミ体のリポ酸を経口投与したところ、血漿中のピーク濃度は、投与後 30 分ぐらいで、R 型リポ酸濃度は 40 μ mol/L、S 型リポ酸濃度は 18 μ mol/L であり、R 型の方が 2 倍程度多く吸収されることが示された。なお、男女差は見られなかった¹⁵⁾。

健康人に 200 mg のラセミ体のリポ酸を経口投与した時の吸収率は 20 ~ 40% であったという報告がある¹⁶⁾。

リポ酸の代謝産物は、図 2 に示したビスノルリポ酸、テトラノルリポ酸、 β -ヒドロキシビスノルリポ酸やリポ酸の SH 基がメチル化された化合物が同定されている¹⁷⁾。リポ酸も含めて、これらの異

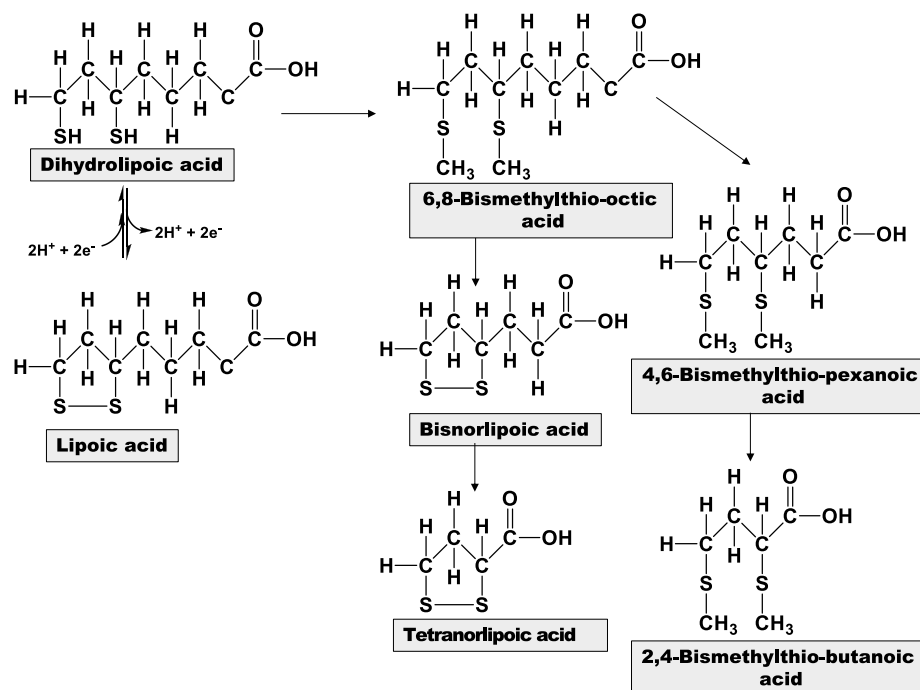


図2 リポ酸の推定異化代謝経路

化代謝産物は尿中に排泄される¹⁸⁾。

健常ラット肝臓中のリポ酸含量は $2.1 \mu\text{g/g}$ 湿重量、肝障害時では $1.1 \mu\text{g/g}$ 湿重量、また、非肝疾患患者の肝臓中のリポ酸含量は $1.04 \mu\text{g/g}$ 湿重量であり、急性肝炎では減少は認められず、慢性肝炎および肝硬変症では減少傾向を認めたとの報告がある¹⁹⁾。健常ラットに ^{35}S - 標識リポ酸 (40 mg/kg 体重) を腰部筋肉内注射した実験では、脳、肺、脾臓では放射能がほとんど検出されず、肝臓、小腸、大腸、腎臓、胃の順に放射能は分布し、注射後 30 分から 60 分に、ピークが認められ、その後時間の経過とともに減少していき、ほとんどが尿中に排泄されたという報告がある²⁰⁾。

以上、外因性リポ酸の体内動態の報告から推察すると、リポ酸がタンパク質に組み込まれる反応は非常に低いものと思われる。

(5) リポ酸の生合成能力低下の生化学的指標としての尿中 2- オキソ酸

E2 タンパク質にリポ酸が組み込まれないと、ピルビン酸脱水素酵素複合体の活性低下を招く、その結果、ピルビン酸自体の濃度上昇が起こり、尿中への排泄量が高くなるものと推察される。他の 2- オキソ酸脱水素酵素複合体においても、同様の考え方ができ、2- オキソグルタル酸 (TCA 回路の酵素で 2- オキソグルタル酸脱水素酵素複合体の基質)、分

岐鎖アミノ酸のイソロイシ、ロイシン、バリン由来の 3- メチル -2- オキソペンタン酸、4- メチル -2- オキソペンタン酸、3- メチル -2- オキソブタン酸 (分岐鎖 2- オキソ酸脱水素酵素複合体の共通基質)、トリプトファンとリシン由来の 2- オキソアジピン酸 (2- オキソアジピン酸脱水素酵素複合体の基質) の尿中への排泄量が高くなるものと思われる。GCS においてもこの酵素活性が低下すれば基質であるグリシンの尿中への排泄量が高くなる。したがって、これらの 2- オキソ酸とグリシンの尿中排泄量の測定は、リポ酸の生合成能力低下の一次スクリーニングの機能性生体指標として活用できるものと推察される²¹⁾。

(6) 食品中の含量

藻類のビタミン含量がまとめられた報告があり、その中にリポ酸含量が記載されている²²⁾。この報告によれば、海藻中のリポ酸は遊離型が少なく、リポ酸総量の 10 ～ 20% にすぎない。含量の概数は乾燥重量 100 g 当たりで $10 \sim 100 \mu\text{g}$ である。健常ラット肝臓中のリポ酸含量は $200 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ 湿重量程度との報告がある^{23, 24)}。

ビタミン B 研究委員会のビタミンの微生物測定方法研究小委員会の報告として、総リポ酸含量が、 100 g 当たり、牛肉 $38 \mu\text{g}$ 、牛肝 $50 \mu\text{g}$ 、豚肉 $15 \mu\text{g}$ 、鶏肉 $7.5 \mu\text{g}$ 、豆腐 $7.5 \mu\text{g}$ 、ニンジン $2.6 \mu\text{g}$ 、ホウレ

ンソウ 57 μg, シュンギク 53 μg, ドライミルク 2.2 μg であったというものがある²⁵⁾。

しかしながら、外因性のリポ酸を、リポ酸生合成欠損線維芽細胞の培養液に加えても、正常な生育に効果がなかったことから、GCS の H- タンパク質や 2- オキシ酸脱水素酵素複合体の E2 タンパク質に、直接組み込む酵素は、ヒトには存在していない可能性がある²⁶⁾。

3. リポ酸の生合成能力を低下させないための栄養素補充

簡潔に生合成過程をまとめる。リポ酸は遊離型の状態で生合成されるのではなく、グリシン開裂系 (GCS) のサブユニットの一つである H- タンパク質の特定のリシン残基に結合した状態で生合成される。生合成の場所はミトコンドリアのマトリックスである。第一段階では、アセチル-CoA とマロニル-CoA からオクタノイル-ACP が生合成されるまでであり、パントテン酸が必要である。このオクタン酸生合成系において、アセチル-CoA カルボキシラーゼが重要な働きをする。この酵素が活性を有するには、ビオチンが ATP 依存的にカルボキシル化されてカルボキシビオチンとなる必要がある。脂肪酸の鎖長延長には NADPH が必要であるが、この NADPH がミトコンドリア内でどのようにして供給されるのか、調べたがわからなかった。ちなみに、細胞質の脂肪酸生合成系に必要な NADPH は、細胞質に存在する五炭糖リン酸回路などから供給される。この時にビタミン B₁ 酵素であるトランスケトララーゼが重要な役割を果たす。第二段階では、H- タンパク質に結合したオクタン酸の C-6 位と C-8 位に硫黄 (S) を挿入する反応が重要となる。この反応には鉄-硫黄クラスタータンパク質、S- アデノシルメチオニンが関与している。ジヒドロリポ酸からリポ酸への酸化にはビタミン B₂ と ニコチンアミド が必要である。さらに、グリシン開裂系酵素の反応にはビタミン B₆ と 葉酸が必要である。したがって、これら 7 種類の B 群ビタミンの不足は、リポ酸の生合成能力を低下させるものと推察される。

古い報告ではあるが、幼若ラットを用いた実験報告がある。ビタミン B₁ 欠乏食の投与は、結合型リポ酸量の低下を²³⁾。ビタミン B₂ 欠乏症の投与は影響をおよぼさず、ビタミン B₆ 欠乏食の投与は結合

型リポ酸量の低下を引き起こしたという²⁷⁾。成熟との関連では、幼若ラットから成熟期にかけて、結合型リポ酸含量は増大したという報告がある²⁸⁾。

GCS の H- タンパク質や四つの 2- オキシ酸脱水素酵素複合体の共通 E2 タンパク質に組み込む酵素がヒトでは存在しない可能性が高いことから、外因性のリポ酸の補充が骨格筋や心筋のエネルギー不足を補う可能性は低い。したがって、高齢期においては、リポ酸の生合成能力を低下させないような栄養素補充が必要である。また、リポ酸の再利用には、反応過程で生成した H- タンパク質および E2 タンパク質のジヒドロリポ酸をリポ酸に戻すジヒドロリポイル脱水素酵素 (E3 タンパク質ともいう) が特に重要な役割を示すことになる。このジヒドロリポイル脱水素酵素にはビタミン B₂ とニコチンアミドが関わる。

2019 年の本誌 (Vol.61, No12, 888-902) に書いた研究解説と同じ結論になるが、高齢期においては、B 群ビタミンは食事摂取基準で示された 3 倍量程度の摂取を薦める²⁹⁾。リポ酸生合成の材料となるタンパク質も重要である。高齢期における 1 日当たりのタンパク質の必要量は、1 g/kg 体重と覚えておくとうまい。B 群ビタミンとタンパク質を同時に豊富に含む食材は骨格筋起源である。高齢期においては、獣鳥魚肉類を積極的に食べる事、このことが医食同源に心がけることとなる。

おわりに

必須微量栄養素として、ビタミンとミネラルがある。ヒトが栄養素欠乏に陥らないために摂取すべき量はすでに厚生労働省から提示されている¹⁾。体内で多量栄養素から生合成される微量生体必須成分があるが、これらの成分を食事からどの程度摂取すべきか？あるいは生合成能力が高齢期においても低下しないようにするには？といった議論が必要である。今回は、ビタミン様物質と呼ばれているリポ酸を取り上げた。高齢期においては、リポ酸の生合成能力の低下に起因する健康障害が発生している可能性がある。一般的な話であるが、ヒトは長い間、栄養学を知らなかった。この期間の寿命は「人生 50 年」のままであった。栄養学を知ってから食べ物には、正常な生育や正常な成熟を保つために必要な栄養素という化学物質が含まれており、それらを偏らない

ように摂取すると健康に長生きできることを知った。現在の日本では、栄養学の知識の普及とともに、知識を実践できる食料基盤が整備されたので、今や、還暦の祝いはほとんど見られなくなり、さらに 20 年間以上、人生を楽しめるようになった。ヒトの寿命の限界は 120 歳だという。1 周 60 年の還暦トラックを 2 回走ることができる体力が欲しい。体内で合成される必須微量成分の合成能力を低下させないよ

うにするための研究が必要である。

謝辞

本研究解説の執筆にあたり、科学研究費補助金(基盤研究 (B)、課題番号 20H02943、次世代型フレイル予防食品開発をめざすミトコンドリア機能制御の基盤研究、代表者 柴田克己)の一部を使用した。関係各位に感謝する。

文 献

1. 厚生労働省「日本人の食事摂取基準 (2020 年版)」策定検討会報告書. https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_08517.html
2. Reed LJ, DeBusk BG, Grunsalus IC, Hornberger CS.: Crystalline α -lipoic acid: a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. *Science*, **114**: 93-94, 1951.
3. Cronan JE.: Assembly of lipoic acid on its cognate enzymes: an extraordinary and essential biosynthetic pathway. *Microbiol Mol Biol Rev*. **80**: 429-450, 2016.
4. Solmonson A, DeBerardinis RJ.: Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation. *J Biol Chem*, **293**: 7522-7530, 2018.
5. Hiltunen JK, Schonauer MS, Autio KJ, Mittelmeier TM, Kastaniotis AJ, Dieckmann CL.: Mitochondrial fatty acid synthesis type II: more than just fatty acids. *J Biol Chem*, **284**: 9011-9015, 2009.
6. Reed LJ, Koike M, Levitch ME, Leach FR.: Studies on the nature and reactions of protein-bound lipoic acid. *J Biol Chem*, **232**: 143-158, 1958.
7. Jiang Y, Cronan JE.: Expression cloning and demonstration of *Enterococcus faecalis* lipoamidase (pyruvate dehydrogenase inactivase) as a Ser-Ser-Lys triad amidohydrolase. *J Biol Chem*, **280**: 2244-2256, 2005.
8. Oizumi J, Hayakawa K.: Liberation of lipoate by human serum lipoamidase from bovine heart pyruvate dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun*, **162**: 658-663, 1989.
9. Green DE, Morris TW, Green J, Cronan JE, Guest JR.: Purification and properties of the lipoate protein ligase of *Escherichia coli*. *Biochem J*, **309**: 853-862, 1995.
10. Fujiwara K, Takeuchi S, Okamura-Ikeda K, Motokawa Y.: Purification, characterization, and cDNA cloning of lipoate-activating enzyme from bovine liver. *J Biol Chem*, **276**: 28819-28823, 2001.
11. Carreau JP.: Biosynthesis of lipoic acid via unsaturated fatty acids. *Methods Enzymol*. **62**: 152-158, 1979.
12. 薩秀夫: 食品因子の腸管吸収および生理機能の分子栄養学的研究. 日本栄養・食糧学会誌, **64**: 207-214, 2011.
13. Wada M, Shigeta Y, Inamori K.: A study on the metabolism of lipoic acid and lipoamide. *J Vitaminol*, **7**: 237-242, 1961.
14. Takahashi H, Kishino E, Mikuni K, Kiuchi Y, Beppu H, Okazaki H, Shimpō K, Sonoda S: Effect of different types of cyclodextrins on gastrointestinal absorption of α -lipoic acid in rats and humans. *J Appl Glycosci*, **9**: 97-103, 2012.
15. Hermann R, Mungo J, Cnota PJ, Ziegler D.: Enantiomer-selective pharmacokinetics, oral bioavailability, and sex effects of various α -lipoic acid dosage forms. *Clin Pharmacol*, **6**: 195-204, 2014.
16. Teichert J, Kern J, Tritschler HJ, Ulrich H, Preiss R.: Investigations on the pharmacokinetics of α -lipoic acid in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther*, **36**: 625-628, 1998.
17. Harrison EH, McCormick DB.: The metabolism of dl-(1,6-14C)lipoic acid in the rat. *Arch Biochem Biophys*, **160**: 514-522, 1974.
18. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmacol*, **29**: 315-331, 1997.
19. 奥山 澄彦, 大井 美栄子, 福村 亮: 肝障害とリポ酸: (I) 肝障害シロネズミおよび肝疾患患者の肝臓内リポ酸含量. ビタミン, **26**: 279-284, 1962.
20. 清水弥寿雄: 水銀中毒に関する研究. 産業医学, **2**: 197-201, 1960.
21. 柴田克己. 生体指標と機能性生体指標を用いる新しい栄養指導方法. *New Food Industry*, **59**(7): 24-32, 2017.
22. 金沢昭夫. 藻類のビタミン. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **29**: 713-731, 1963.
23. 奥山 澄彦, 大井 美栄子, 福村 亮: 肝障害とリポ酸: (I) 肝障害シロネズミおよび肝疾患患者の肝臓内リポ酸含量. ビタミン, **26**: 279-284, 1962.
24. 加藤英彦: 蛋白結合型リポ酸の生成におよぼす B 群ビタミンの影響: (I) ビタミン B₁ 欠乏時における蛋白結合型リポ酸の生成. ビタミン, **31**: 297-302, 1965.
25. 福井三郎, 上原悌次郎, 佐甲安: *Streptococcus faecalis* 10Cl による食品中のリポ酸の定量 (I). ビタミン, **25**: 355, 1962.
26. Habarou F, Yamina Hamel Y, Haack B et al.: Biallelic mutations in LIPT2 cause a mitochondrial lipoylation defect associated with severe neonatal encephalopathy. *Am J Hum Genet*, **101**: 283-290, 2017.
27. 加藤英彦: 蛋白結合型リポ酸の生成におよぼす B 群ビタミンの影響 (II) ビタミン B₂ または B₆ 欠乏時における蛋白結合型リポ酸の生成. ビタミン, **31**: 303-308, 1965.
28. 加藤英彦: 蛋白結合型リポ酸の生成におよぼす B 群ビタミンの影響 (I) ビタミン B₁ 欠乏時における蛋白結合型リポ酸の生成. ビタミン, **31**: 297-302, 1965.
29. 柴田克己: ストレス克服のための至適水溶性ビタミン量. *New Food Industry*, **61**(12): 888-902, 2019.

納豆菌 (*Bacillus subtilis natto*) の機能性 および経口投与効果

須見 洋行 (SUMI Hiroyuki)^{1*}, 満尾 正 (MITSUO Tadashi)², 柳澤 泰任 (YANAGISAWA Yasuhide)³,
矢田貝 智恵子 (YATAGAI Chieko)¹

Key Words: 納豆菌, 抗菌活性, 骨粗鬆症, ビタミン K₂, ナットウキナーゼ, 血栓症予防, 肺塞栓

要旨

抗生物質およびジピコリン酸による抗菌作用, またビタミン K₂ による骨形成作用あるいは心臓病リスクの低下作用など, 納豆菌 (*Bacillus subtilis natto*) が持つ機能性は多岐にわたる。

健康ヒトあるいは肺塞栓ラットへの経口投与実験では, 納豆菌摂取により血栓溶解能 (ELT 短縮あるいは t-PA 放出量) は増加, 肺塞栓数 (Thrombus count) は減少する。つまり, 線溶能亢進による血栓症予防が期待できる。

ただし, 使用される納豆菌 (*Bacillus subtilis natto*) は, ナットウキナーゼの一次構造 (275 個のアミノ酸配列) あるいは基質特異性 (Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA 分解能) の違いから判別される「真の納豆菌」であることが重要である。

納豆は既に江戸時代の「本朝食膳」には「腹中を整え食をすすめ毒を解す」と記されており, 医薬品 (整腸剤) として古くから使用されていることがうかがえる。納豆に含まれる機能成分は骨粗鬆症予防, 心臓病リスク低減からアルツハイマー病予防に働くなど, 次々と明らかにされ, 注目され続けている^{1,2)}。

本書では, 納豆菌が持つ機能性および経口投与効果を中心にまとめてみた。また, ここでは一口に納豆菌と言っても決して同じではないことも提言しておく。

1. 納豆菌が生み出す機能性および投与効果

1) 整腸作用

納豆菌による整腸作用については, 次のような報告がなされている。

ヒトを対象とした試験では, 消化管手術後の胃腸疾患患者に納豆菌配合消化酵素剤を 4 週間投与した

結果, 術後の腹部不定愁訴に対する有用性が認められている。また, 腹部重圧感, 腹部膨満感, 腹鳴, 下痢, 交替性便秘異常の症状において, 早期改善効果が得られたという³⁾。

消化吸収不良に対する試験でも, PFD (Pancreatic Function Diagnostant) 試験の尿中 PABA 排泄率が非投与に比較して有意に増加し, その増加は基準薬とほぼ同等であった⁴⁾。

また, 動物飼料としても利用されており, ブタを用いた試験では納豆菌添加飼料群において十二指腸と空腸で *Streptococcus*, *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* の菌数が高く, 特に *Streptococcus* は十二指腸と空腸で, *Bifidobacterium* は空腸で有意に高く, 腸内環境改善に役立つと考えられる⁵⁾。

2) 抗菌作用

抗菌活性は *Bacillus* 属の細菌が生育過程で菌体外

*1 連絡先: 倉敷芸術科学大学

〒712-8505 岡山県倉敷市連島町西之浦 2640 番地

e-mail: yatagai@kusa.ac.jp

² 満尾クリニック, ³ 千葉科学大学

表 1 納豆菌の性質および機能

分類	<i>Bacillus subtilis natto</i>
菌の大きさ	幅 0.7~0.8μm, 長さ 2.0~3.0μm の棒状
芽胞形成	菌の中心部に孢子形成。加熱（熱湯 100℃, 5 分で発芽能力を失う）, 乾燥（乾燥 100% 生存）, 薬品（pH1~12・95% 生存）など悪環境に強い。
酵素	プロテアーゼ, アミラーゼ, ヘミセルラーゼ, ペクチナーゼ, セルラーゼ, サッカラーゼ, インペルターゼ, トレハラーゼ, ラクターゼ, パーオキシダーゼ, カタラーゼ その他
ビタミン	ビタミン B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , K ₂ (メナキノ-7), ビオチン, ニコチン酸, パントテン酸
その他	免疫機構賦活によりインターフェロン産生

日本の代表的な納豆菌（宮城野）は上記性質を持つと考えられる。業務用の納豆はこれをスターターとするため通常は 80℃で蒸煮大豆に噴霧後、約 40℃で培養する。

表 2 産生する抗生物質

種	抗生物質	種	抗生物質
<i>Bacillus subtilis</i>	Mycobacillin	<i>Bacillus polymyxa</i>	Polymyxin
	Subtilin		Colistin
	Bacilysin		Brevistin
	Bacillomycin	<i>Bacillus circulans</i>	Butirosin
	Fungistatin		Circulin
	Bulbiformin		Polypeptin
	Bacillin		EM-49
	Subaporin		Xylostatin
	Bacillocin	<i>Bacillus laterosporus</i>	Laterosporamine
	Mycosubtilin		Laterosporin
	Fungocin		
	Iturin		
	Neocidin		
	Eumycin	<i>Bacillus cereus</i>	Biocerin
<i>Bacillus brevis</i>	Gramicidin S		Coroxin
	Tyrocidine		Thiocillin
	Linear gramicidin	<i>Bacillus mesentericus</i>	Esperin
	Brevin		
	Edeine		
	Esoine	<i>Bacillus thiaminolyticus</i>	Octopytin (Thisanosine)
	Bresseine		Baciphelacin
	Brevistin	<i>Bacillus lichentormins</i>	Bacitracin
<i>Bacillus pumillis</i>	Mycrococcin P		Licheniformin
	Pumilin		Proticin
	Tetain		

に産生するバシトラシンなどの抗生物質（表 2）, あるいはその作用は弱い, 各種菌に対して幅広く作用するという特徴を持つジピコリン酸の存在によって説明されている。ジピコリン酸は諸外国での抗生物質の発見に先立って、1936 年、我が国の有働が納豆のネバリの中に発見した一種のポリジンジ

カルボン酸であり、これはもともとの大豆中にはなく納豆菌により初めて納豆中に作り出される物質である。このものはそれ自体が納豆菌の生育抑制にも働くが、大腸菌を含めた他の細菌類に対してはさらに鋭敏に抑制効果を発揮する。

納豆菌が持つこうした抗菌活性は医薬品にも応用

されており、O-111、O-114 に対する効果、あるいはピロリ菌などへの投与効果が報告されている⁶⁻⁸⁾。

3) 骨形成促進作用

骨粗鬆症治療時の推奨食品として、まず第1番にあげられているのが納豆である。骨粗鬆症との関係が注目され始めたのは、1995年に閉経後の女性を対象に脊椎圧迫骨折とビタミンK₂との関係を調べた結果、骨折のない群がはるかに血中濃度は高いことが報告されたことによる(図1)⁹⁾。その後の報告でも女性の大腿骨頸部骨折の頻度とビタミンK₂(メナキノン-7)血中濃度とは有意の逆相関が認められている。

例えば、図2は20～79歳の日本人女性944人を対象に3年間追跡調査した結果であるが、女性が

最も骨密度が低下する閉経後(550人)では、納豆摂取量の頻度が高いほど、大腿骨頸部の骨密度低下率が低く、豆腐など他の大豆製品では同様の傾向が見られなかったことから¹⁰⁾、ビタミンK₂の関与が示唆されている。

ビタミンK₂(メナキノン-7)は納豆の等電点電気泳動による分析ではpI3-4と極めて酸性であり、タンパク質とほぼ一致して泳動される。またゲル濾過による分子量は8～10万と大きく、これらはfreeのメナキノン-7(MW648)とは異なる分子形態であることを示す。

図3は納豆あるいは納豆菌摂取による血中ビタミンK₂濃度の変化をみたものである。納豆あるいは納豆菌を2週間摂取した場合、いずれも有意に血中濃度が高まっていた(a)。また、納豆中止1週間

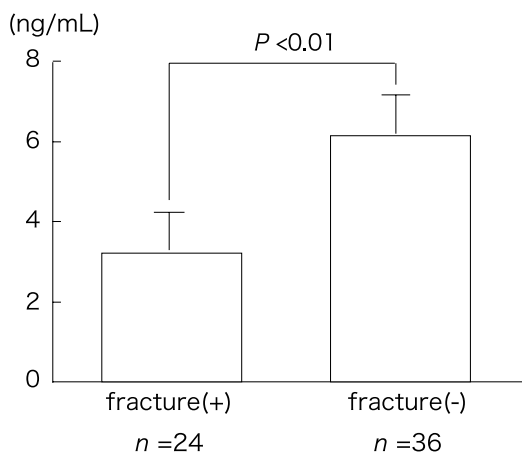


図1 ビタミンK₂(メナキノン-7)の血中濃度と脊椎圧迫骨折

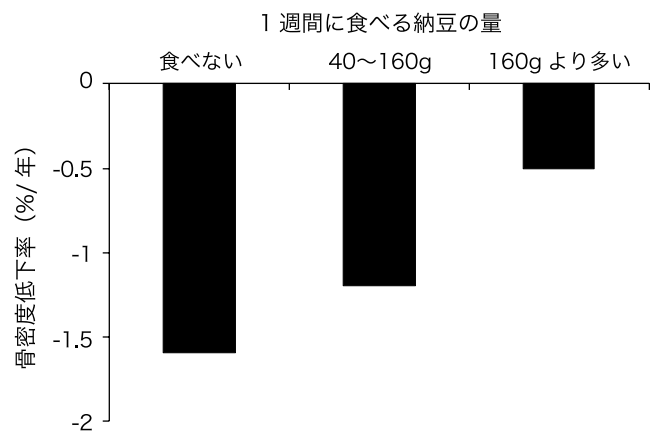


図2 納豆摂取と大腿骨頸部の骨密度低下率

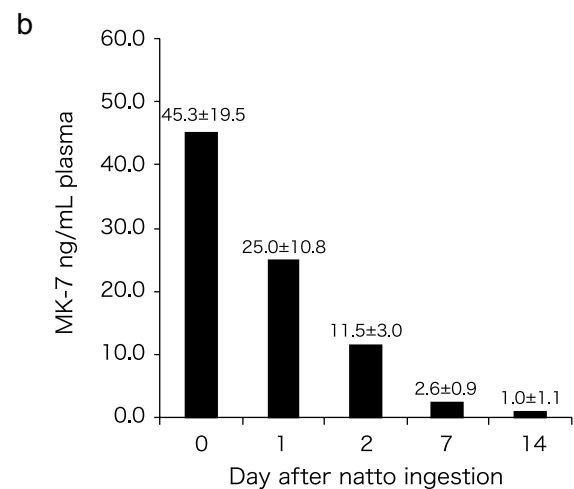
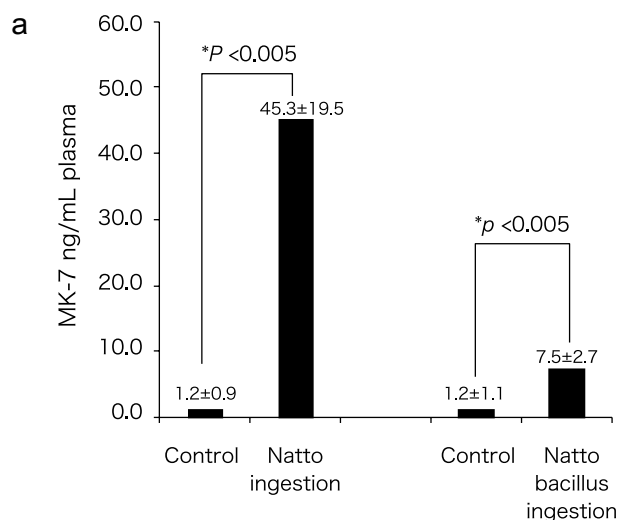


図3 納豆あるいは納豆菌摂取による血中ビタミンK₂濃度の変化

a: 納豆あるいは納豆菌を2週間摂取した結果

b: 納豆摂取中止後14日間の結果

表3 発酵物に含まれるビタミン K₁ およびビタミン K₂ の含量

成分	含量 (μg/100g)					
	ミャンマー Small Seed	ミャンマー High Yield	ベトナム NATTO	ベトナム 手作り納豆	タイ 納豆	タイ トゥアナオ
ビタミン K ₁ (フィロキノン)	23.3	22.7	22.8	22.4	19.9	32.8
ビタミン K ₂ (メナキノン-7)	25.0	16.1	712.1	688.0	478.5	98.9

成分	含量 (μg/100g)					
	韓国 チョングッチャン	中国 豆鼓	日本 ひき割り蒸し 大豆	日本 ひき割り 納豆	日本 丸大豆蒸し 大豆	日本 丸大豆納豆
ビタミン K ₁ (フィロキノン)	29.8	38.3	6.4	8.4	8.5	7.7
ビタミン K ₂ (メナキノン-7)	1247.2	14.1	0.5	1226.4	0.4	1035.6

表4 ビタミン K₂ と心臓病のリスクの関係

	ビタミン K ₂ 摂取量 μg/日			P 値
	<21.6	21.6-32.7	>32.7	
人数	1578 人	1605 人	1624 人	
摂取量の中央値	15.1	26.9	40.9	
心筋梗塞発症リスク	1	1.08	0.67	0.12
CHD 発症リスク	1	0.96	0.59	0.007
CHD による死亡リスク	1	0.73	0.43	0.005
全死因による死亡リスク	1	0.91	0.74	0.007

後においても摂取前と比べて2倍以上であり、血中の半減期が長いことがわかる¹¹⁾。市販納豆のビタミン K₂ 含量は約 870 ~ 2,000 μg/100g とメーカーによって差はあるが、一度食べれば3 ~ 4 日間は維持できると考えられる。

ビタミン K₂ は、我が国の納豆だけでなく、最近では東南アジア、アフリカ、またベトナムおよびタイで製造された大豆発酵物の分析もされており、特に、韓国のチョングッチャンの含量は、日本の納豆を上回る値であることが分かっている(表3)¹²⁾。ただし、外国産大豆発酵食品はいわゆる真の納豆菌によるものではないことを明記しておく。

なお、抹茶、クロレラなどの緑の濃い食品にはいずれもビタミン K₁ が 2,500 ~ 40,000 μg/100g と非常に高含量であるのに対して、ビタミン K₂ はほぼ皆無である。

4) 心臓病リスク低減作用

表4 はビタミン K₂ 摂取量と心臓病の発症リスクとの関係を示したものである。摂取量が多いグループは最も低いグループと比べて CHD 発症リスクが 41%、全死因による発症リスクが 26% 低いことが明らかになっている¹³⁾。さらに、大動脈石灰化についても同様の結果 ($P < 0.001$) が得られている。ビタミン K₂ は血管壁へのカルシウムの沈着を予防する効果、すなわち動脈硬化を防ぎ心循環器疾患の予防効果があると考えられる。

また、最近国立がんセンターの研究チームは全国の成人男女 9 万人を対象とした 15 年にわたる疫学調査で、納豆を食べる人は心臓疾患による死亡リスクが約 20% 低いと報告している¹⁴⁾。

5) 血栓溶解作用

納豆の機能性について最もよく知られているのがナットウキナーゼによる血栓溶解作用であろう。

表 5 血液線溶系に対する納豆菌の投与効果

	Before (Control)	After administration (h)			
		1	4	8	24
Euglogulin lysis time (ELT, min)	31.3 ± 6.0	16.7 ± 7.0 ^{a)}	15.8 ± 6.6	21.3 ± 9.8	30.5 ± 9.8
t-PA (IU/mL)	0.4 ± 0.3	1.1 ± 0.4 ^{a)}	2.7 ± 0.8	1.9 ± 0.8	0.6 ± 0.3

Healthy male volunteers were given 100mg (dry weight)/kg of natto bacillus. Values are the mean ± S.D. (n=5).

^{a)}P<0.05: significantly different from the control.

表 6 肺塞栓に対する投与効果

Dose	n	Thrombus count	% Inhibition
Control (saline)	8	83.1 ± 5.5	—
Natto bacillus 50mg/kg, p.o.	5	64.1 ± 5.0 ^{a)}	22.9
Natto bacillus 200mg/kg, p.o.	8	60.3 ± 4.2 ^{b)}	27.4

Values are the mean ± S.D. (♂, n=5-8). ^{a)}P<0.05, ^{b)}P<0.01: significantly different from the control.

納豆菌のヒトへの経口投与試験では、血液中の EFA（フィブリン分解活性）、FDP（血栓分解産物）量および t-PA（組織プラスミノゲンアクチベーター）量を測定した結果、いずれの数値も上昇が認められている¹⁵⁾。

ナットウキナーゼは菌体中にも存在するため、菌体を経口投与した実験では 1～4 時間後の ELT（ユーグログリン溶解時間）が短縮し血液の線溶系が亢進すること、また、その際 t-PA 抗原量は投与後 1 時間で増加することを確認している¹⁶⁾（表 5）。同じように納豆菌が持つ血栓溶解能を肺塞栓ラットで試験した結果、有意な投与効果（Thrombus count 減少）が認められている（表 6）。

最近、ナットウキナーゼにはアルツハイマーの要因となっているアミロイド β- プロテインを強力に分解する作用、すなわち老人性認知症の予防効果のあることが示唆された¹⁷⁾。今後、日常的に納豆菌を摂取している日本人とアルツハイマー病に関する疫学調査により、その関係性が明らかにされることが期待される。

II. 伝統的発酵食品を作り出す納豆菌と今後の課題

ナットウキナーゼは納豆菌が作る酵素であり、既に結晶化と X 線回折も行われている¹⁸⁾。我々は、納豆とは何たるかを問い続けており、その一つの指標として通常は臨床診断に用いられる合成基質を食品の酵素活性測

定に応用した分析方法を開発している¹⁹⁾。ナットウキナーゼが多く含まれていれば、特定の合成基質（Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA）を強く分解する（LineWerver-Burk プロットで得られた *K_m* 値は 6.38×10^{-4} M, *V_{max}* は 0.034 μmol/min）（表 7）。約 10 年にわたり、我が国で最も伝統のある全国納豆鑑評会の受賞製品（65 例）を分析し²⁰⁾、その全てが合成基質（Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA）を強く分解することを確認している。

納豆菌は古くから胃腸薬として使われている他、抗菌性に着目した食品や SOD 活性の強い飲料が販

表 7 ナットウキナーゼの基質特異性

基質	μmol/min/g
Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA（力価検定法）	3440.46
Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA	1775.75
MeO-Suc-Arg-Pro-Tyr-pNA	549.36
H-D-Ile-Pro-Arg-pNA	0

ナットウキナーゼの全一次構造（アミノ酸配列）

AQSVPGISQIKAPALHSQGYTGSNVKVAVIDSGIDSSHPDLNVR
GGASFVPAETNPYQDGSSHGTHVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAS
LYAVKVLDTSGSGQYSWIINGIEWAISNNMDVINMSLGGPSTSTA
LKTVDKAVSSGIVVAAAAGNEGSSGSTSTVGYPAYKYPSTIAGAV
NSSNQRAFSSVGSSELDVMAPGVSIQSTLPGGTYGAYNGTSMAT
PHVAGAAALILSKHPTWTNAQVRDRLESTATYLGNSFYFGKGLIN
VQAAAQ

計算分子量：27,724

基質濃度： 5×10^{-4} M, 0.17M BSB（pH7.8）。

1 国際単位（IU）とは、37℃で 1 分間に合成基質（Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA）を 1 μmol pNA を分解する活性と定めた。

売された。しかし、中には合成基質(Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA) に対する分解活性は弱いものもあった。さらには浄水処理など工業用に使用されている食用ではない菌も全て“納豆菌”として市場に回っているのも事実である²¹⁾。食品としての歴史が無く、将来副作用や毒性の問題に発展しかねない。今のところ納豆鑑評会より入手した全ての受賞製品は「真の納豆」であるといえたが、納豆菌や納豆の定義が確定していない現状を鑑みると、ナットウキ

ナーゼでないものをナットウキナーゼと謳っているように、納豆菌や納豆でないものが市場に溢れる日がやってくるかもしれない。我が国の伝統的発酵食品納豆を守るだけでなく、健康を守るためにも、「国際的な納豆(納豆菌)の規格化」が喫緊の課題であろう。

その上で、機能成分の個々での分析や投与効果、納豆菌の健康効果がさらに明らかにされることが望まれる。

引用文献

1. 須見洋行, 矢田貝智恵子, 茶竹俊行, 森本幸生, 柳澤泰任他: ナットウキナーゼによる血栓溶解ならびに疾病予防, *FOOD Style* 21, **22**: 43-47, 2018.
2. 柳澤泰任, 須見洋行: ナットウキナーゼによる動脈硬化症予防, 日本医事新報, No.4984, 55-56, 2019.
3. 福井興, 平松紘一, 小林絢三, 椋田知行, 伊藤昭和他: 納豆菌配合消化酵素剤新ドライアーゼおよびコンクチーム N の二重盲検法による臨床評価, 基礎と臨床, **20**: 8923-8959, 1986.
4. 松本恒司, 齊藤治, 辰巳昭央, 正木啓子, 大柴三郎: 納豆菌配合消化酵素剤新ドライアーゼ, コンクチーム N の消化吸収障害症例に対する効果, 基礎と臨床, **20**: 8961-8965, 1986.
5. 木村誠, 小沢恭輔, 横田弘, 光岡知足: 離乳豚の腸内菌叢に及ぼす納豆菌 (*Bacillus subtilis*) BN 株投与の影響, 獣医畜産新報, **733**: 434-440, 1982.
6. 須見洋行, 内藤佐和, 矢田貝智恵子, 丸山眞杉: 納豆菌の抗菌作用および細胞活性化能, *New Food Indust.*, **61**: 95-98, 2019
7. 須見洋行, 矢田貝智恵子, 満尾正: 納豆による血液サラサラ効果—発酵により生じるアスピリン様物質—, *New Food Indust.*, **61**: 903-907, 2019.
8. 須見洋行: 第 17 章 納豆菌と抗菌活性, 190-196, シーエムシー出版, 東京, 1997.
9. 折茂肇: 骨粗鬆症の予防・治療両面で有用なビタミン K₂, *Medical Tribune*, p.36, 11/16, 1995.
10. Y. Ikeda, M. Iki, A. Morita, E. Kajita, S. Kagamimori *et al.*: Intake of fermented soybeans, natto, is associated with reduced bone loss in postmenopausal women: Japanese Population-Based Osteoporosis (JPOS) Study, *J. Nutr.*, **136**:1323-1328, 2006.
11. C. Yatagai, Y. Yanagisawa, T. Ohsugi and H. Sumi: Prolonged increase of plasma vitamin K₂ concentration by natto (*Bacillus subtilis natto*) ingestion, The Mediterranean League against Thromboembolic Diseases, 18th International Congress on Thrombosis (Ljubljana), 115-120, 2004.
12. 久保雄司: 海外納豆様食品の評価, 全国納豆協同組合連合会平成 29 年度通常総会提出資料, 23-26, 2017.
13. J. M. Geleijnse, C. Vermeer, D. Grobber, L. J. Schurgers, M. Knapen *et al.*: Witteman, Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease: the Rotterdam Study, *J. Nutr.*, **134**: 3100-3105, 2004.
14. R. Katagiri, N. Sawada, A. Goto, T. Yamaji, M. Iwasaki *et al.*: Association of soy and fermented soy product intake with total and cause specific mortality: prospective cohort study, *BMJ*, 368, 2020.
15. H. Sumi, H. Hamada, H. Nakanishi and H. Hiratani: Enhancement of fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase, *Acta. Haematol.*, **84**: 139-143, 1990.
16. H. Sumi, Y. Yanagisawa, C. Yatagai and J. Saito: Natto bacillus as an Oral Fibrinolytic Agent: Nattokinase Activity and Ingestion Effect of *Bacillus subtilis* Natto, *Food Sci. Technol. Res.*, **10**: 17-20, 2004.
17. H. Sumi, T. Okamoto, S. Naito and C. Yatagai: Nattokinase increase t-PA activity and degradate amyloid β -protein, The 2nd Joint Meeting of the International Society of Fibrinolysis and Proteolysis and the Plasminogen Activation Workshop (Edinburgh), 107, 2018
18. 須見洋行: 世界に誇る納豆—その効能成分—, 化学と教育, **63**: 358-359, 2015.
19. 須見洋行: 第 5 章 機能性成分分析法, 納豆の研究法, 157-160, 恒星社厚生閣, 東京, 2010.
20. 須見洋行: ナットウキナーゼ力価に優れた納豆 (第 15 回~ 21 回鑑評会優秀製品), 日本テンペ研究会誌, **15**: 7-11, 2018.
21. 須見洋行: “納豆”の国際化に向けて, 日本醸造協会誌, **106**: 793, 2011.

唾液分泌に関わる調節因子 ～耳下腺アミラーゼ分泌と MARCKS タンパク質～

Regulatory factor for salivary secretion; parotid amylase release and MARCKS protein

佐藤 慶太郎 (SATOH Keitaro) *

Key Words: 外分泌腺, 腺房, 耳下腺, アミラーゼ, MARCKS, 脂質ラフト

要旨

唾液腺の一つである耳下腺の腺房細胞は, β アドレナリン受容体 (β 受容体) 刺激により糖質分解酵素のアミラーゼを分泌する。 β 受容体刺激は細胞内サイクリック AMP (cAMP) 濃度の上昇により, cAMP 依存性プロテインキナーゼ (PKA) の活性化を引き起こす。この PKA の活性化が, 種々の細胞内シグナル伝達を介して最終的にアミラーゼ分泌に関与すると考えられている。また, Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) はプロテインキナーゼ C (PKC) のリン酸化基質の一つであり, この MARCKS のリン酸化は多様な細胞機能に関与する。そこで本稿では, 著者らの研究グループが実験動物を用いた基礎研究で得た知見を中心に, 耳下腺アミラーゼ分泌における MARCKS タンパク質の関与について概説する。

はじめに

唾液は口腔環境を維持する上で重要な体液である。唾液中には様々なタンパク質が含まれており, 唾液の構成成分である水やイオンと共に唾液の生理機能を担っている。唾液は唾液腺より分泌されるが, その分泌は自律神経の二重支配により調節されている。副交感神経の興奮においては主として水やイオンの分泌が促進され, 一方, 交感神経の興奮においては消化酵素を含むタンパク質成分の分泌が促進される。アミラーゼは唾液中に含まれる糖質分解酵素である。三大唾液腺の一つである耳下腺において, 交感神経から神経伝達物質を受け取ると, このアミラーゼの分泌が引き起こされる。

唾液腺は, 他の外分泌腺と同様に, 腺房部と導管部から構成される。腺房部を構成する腺房細胞は唾液に含まれるタンパク質成分を合成・分泌する現場となっている。そのため, 唾液腺におけるタンパク質成分の分泌に関する基礎研究は, 実験動物から摘

出した唾液腺より腺房細胞を分離して行われることが多い。本稿では, まず耳下腺アミラーゼ分泌における細胞内シグナル伝達 [項目 1] と, 著者らが着目した機能タンパク質の MARCKS [項目 2] について概説する。その後, ラット耳下腺腺房細胞を用いて得られた著者らの知見 [項目 3, 4] を中心に, 耳下腺アミラーゼ分泌における MARCKS タンパク質の関与について解説する。さらに, 腺外分泌腺アミラーゼ分泌を例に, MARCKS を介した細胞内シグナル伝達の共通性 [項目 5] について紹介する。

1. 耳下腺アミラーゼ分泌の細胞内シグナル伝達

三大唾液腺の一つである耳下腺の腺房細胞において, 交感神経刺激により神経終末から放出された神経伝達物質であるノルアドレナリンは β アドレナリン受容体 (β 受容体) を活性化し, 糖質分解酵素であるアミラーゼを分泌する¹⁾。 β 受容体にノルアドレナリンが結合すると, 三量体 GTP 結合タンパ

* 明海大学歯学部病態診断治療学講座薬理学分野

〒350-0283 埼玉県坂戸市けやき台 1-1

e-mail: k-satoh@dent.meikai.ac.jp

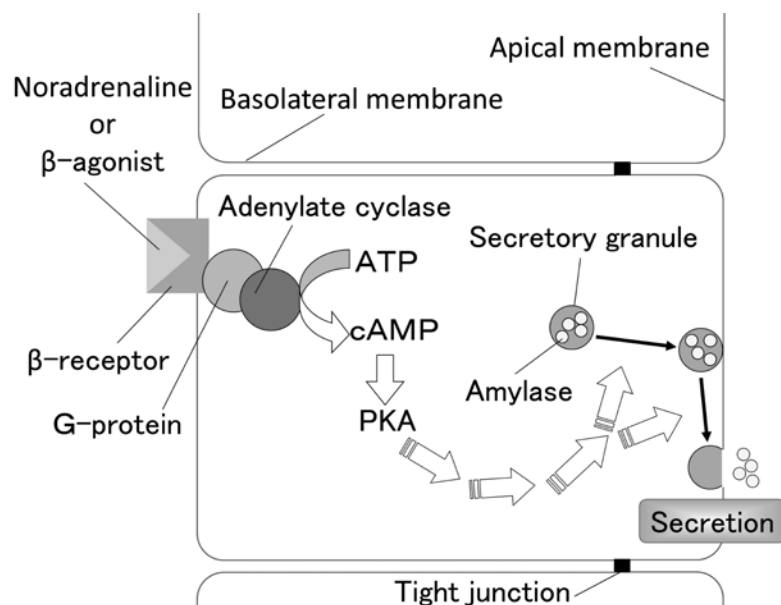


図1 耳下腺腺房細胞におけるアミラーゼ分泌の細胞内シグナル伝達

腺房細胞は密着結合を境に基底側膜と腺腔側膜の極性を有している。基底側膜にある β 受容体が活性化すると、PKA の活性化を介して、分泌顆粒内のアミラーゼなどのタンパク質が腺腔側膜へ分泌される（詳細は本文参照）。

ク質を介して adenylyl cyclase が活性化し、細胞内サイクリック AMP (cAMP) の蓄積を引き起こし、cAMP 依存性プロテインキナーゼ (PKA) が活性化する¹⁾。H89 や PKI- (5-24) ペプチドなどの PKA 阻害剤は cAMP 依存性の分泌を抑制する²⁾。また、過透過性にした耳下腺腺房細胞に PKA を挿入するとアミラーゼ分泌が促進する²⁾。これらのことから、PKA によりリン酸化するタンパク質がアミラーゼ分泌に関与すると考えられる（図1）。耳下腺への β 受容体刺激においていくつかのタンパク質のリン酸化が報告されているが、cAMP 依存性分泌のトリガーとなるタンパク質のリン酸化については議論が続いている。一方、プロテインキナーゼ C (PKC) 活性化剤が耳下腺においてタンパク質分泌やアミラーゼ分泌を引き起こすことから、PKC の活性化も分泌に関与することが示唆されている^{3,4)}。

2. MARCKS タンパク質

Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) は PKC のリン酸化基質の一つである⁵⁾。MARCKS は細胞運動、食作用、膜輸送および有糸分裂など多様な細胞機能に関与することが知られている。その MARCKS の関与する細胞機能の一つに分泌がある。ヒト神経細胞腫細胞 (SH-SY5Y 細胞) では、PKC 活性化剤はノルアドレナリン分泌と MARCKS

のリン酸化を引き起こし、PKC 阻害剤はそれらの効果を抑制する⁶⁾。ヒト膀胱癌カルチノイド腫瘍細胞 (BON 細胞) では、PKC 活性化剤はニューロテンシン分泌と MARCKS のリン酸化を引き起こし、small interfering RNA (siRNA) による MARCKS 発現の抑制は、PKC 活性化剤によるニューロテンシン分泌を阻害する⁷⁾。インスリン分泌細胞 (INS-1 細胞) においては、glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 刺激はインスリン分泌と MARCKS のリン酸化を引き起こし、PKC 阻害剤はそれらの効果を抑制する⁸⁾。これらの細胞における分泌は Ca^{2+} 依存性であり、したがって、MARCKS のリン酸化は Ca^{2+} 依存性の分泌に関与していると考えられている。一方、ヒト気管上皮細胞 (NHBE 細胞) では、コリン作動薬はサイクリック GMP (cGMP) シグナルを介してムチン分泌を引き起こし、MARCKS 阻害ペプチドである MANS (N 末端 MARCKS 関連ペプチド) はこのムチン分泌を抑制する。このことから、MARCKS のリン酸化は cGMP 依存性の分泌に関与することも示唆されている⁹⁾。

3. 耳下腺アミラーゼ分泌における MARCKS タンパク質のリン酸化

MARCKS をリン酸化する PKC には多くのサブタイプが存在し、大きく conventional PKC (cPKC:

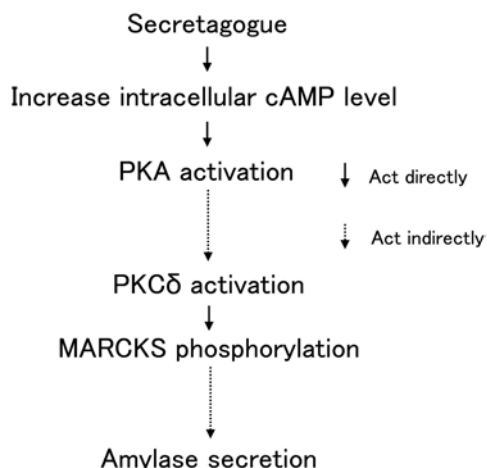


図2 cAMP依存性アミラーゼ分泌におけるPKCδ-MARCKS経路

IPRなどのアミラーゼ分泌を引き起こす物質は、細胞内cAMPの蓄積によりPKAを活性化する。活性化したPKAはPKCδを間接的に活性化する。活性化したPKCδはMARCKSをリン酸化する。MARCKSのリン酸化が間接的にアミラーゼ分泌を調節すると考えられる。

α, βI, βII, γ), novel PKC (nPKC: δ, ε, η, θ) および atypical PKC (aPKC: ζ, ι/λ) の三種類に大別される¹⁰⁾。cPKCはdiacylglycerol (DAG) およびCa²⁺依存性, nPKCはDAG依存性かつCa²⁺非依存性, aPKCはDAGおよびCa²⁺非依存性のPKCである¹¹⁾。

耳下腺腺房細胞においてはcPKCであるPKCα, nPKCであるPKCδ, ε, およびaPKCであるPKCζが発現している¹²⁾。また, ラット耳下腺腺房細胞においてβアゴニストであるisoproterenol (IPR) は, 1 μMの刺激では細胞内Ca²⁺の動態に影響を与えない^{13, 14)}。このことから, IPR (1 μM) により活性化されたPKCはDAG依存性かつCa²⁺非依存性のPKC, すなわちnPKCであると考えられた。そこで著者らはラット耳下腺腺房細胞を用いて, IPR (1 μM) 刺激におけるアミラーゼ分泌に関わるnPKCを検索した¹⁵⁾。すると, PKCδはIPR刺激により活性化されたが, PKCεは活性化されなかった¹⁵⁾。次に, 耳下腺腺房細胞においてPKCδ特異的阻害剤であるrottlerinを作用させたところ, IPR刺激によるMARCKSのリン酸化を抑制した¹⁵⁾。さらに, rottlerinはIPR刺激によるアミラーゼ分泌を部分的に抑制した¹⁵⁾。加えて, MARCKS阻害ペプチドMANSでもIPR刺激によるアミラーゼ分泌を部分的に抑制した¹⁵⁾。以上の結果は, ラット耳下腺腺房細胞においてPKCδ活性化の引き起こす

MARCKSのリン酸化が, cAMP依存性のアミラーゼ分泌に関与することを示唆している(図2)。

また, PKA阻害剤であるH89およびPKI-(5-24)ペプチド存在下でIPR (1 μM) 刺激を行ったところ, 前述のPKCδ活性化が抑制した¹⁵⁾。このことは, PKCδ活性化がPKA活性化の下流にあることを示唆している。このPKAによりPKCδが活性化されるメカニズムには二つの可能性が考えられる。一つはPKAが直接PKCδを活性化するメカニズムである。しかし, このメカニズムは現在までほとんど報告が見当たらない。もう一方のメカニズムは, 細胞内に増加したDAGがPKCδを活性化するメカニズムである。INS-1細胞においてアデニル酸シクラーゼ活性化剤であるforskolinがDAGを増加し, nPKCを活性化する報告がある⁸⁾。また, ラット耳下腺腺房細胞において, DAG合成を調節するphospholipase D (PLD)の活性がCa²⁺非依存性の刺激により起こる報告がある¹⁶⁾。さらに, ラット耳下腺腺房細胞において, PLDの活性化が部分的にIPR刺激によるアミラーゼ分泌に関与する報告がある¹⁷⁾。実際に, PLD特異的阻害剤がIPR (1 μM) 刺激によるアミラーゼ分泌を阻害した(未発表)。同様に, このPLD阻害剤はIPR (1 μM) 刺激によるMARCKSのリン酸化も抑制した(未発表)。これらから, PKCδはPKAにより調節されたPLDにより活性化されている可能性がある。しかし, そのメカニズムの詳細を明らかにするには, さらなる研究が必要である。

4. 耳下腺アミラーゼ分泌におけるMARCKSタンパク質の局在変化

無刺激時のMARCKSは, ミリスチル化されて疎水的となったN末端, リン酸化サイトでありエフェクタードメイン(ED)と呼ばれる多塩基部位, この二者により細胞膜に結合している¹⁸⁾。リン酸化されたMARCKSではEDの細胞膜への結合が失われ, MARCKSの細胞膜への結合力が弱まることから, MARCKSの局在が細胞膜から細胞質へ変化する¹⁹⁾。このようにしてMARCKSは可逆的膜ドメインとして働く性質を持つ(図3)ことから, 細胞内シグナル伝達の中でも特に開口放出など細胞膜周辺で起こるダイナミックな反応に寄与すると考えられている。一方, このような細胞膜周辺の現象

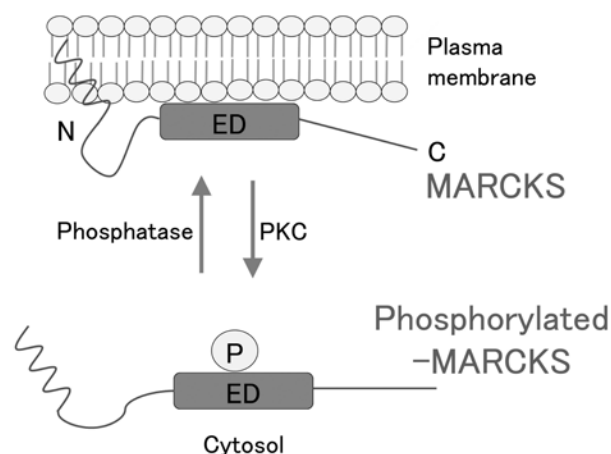


図3 MARCKS のリン酸化と局在変化

MARCKS は細胞膜に結合し局在している。PKC によりリン酸化すると、リン酸化 MARCKS となり細胞質へ局在が変化する。また、脱リン酸化酵素により脱リン酸化を受けると再び細胞膜へ局在が戻る。

に脂質ラフトによる調節が示唆されている。実際に耳下腺腺房細胞において、アミラーゼは開口放出の形式をとる。この際、分泌顆粒膜と細胞膜との膜融合に脂質ラフトの関与が議論されているが、その詳細は明らかではない。著者らは、ラット耳下腺腺房細胞において、IPR (1 μ M) 刺激により MARCKS は細胞膜から細胞質へ局在が変化することを明らかにした¹⁵⁾。さらに、MARCKS の一部は細胞膜の脂質ラフトに局在していた (未発表)。そして、IPR (1 μ M) を作用させると、脂質ラフト

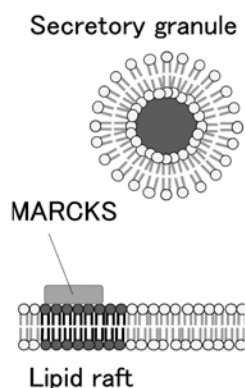
から MARCKS の局在が認められなくなった (未発表)。まとめると、リン酸化した MARCKS は細胞内局在が細胞膜脂質ラフトから細胞質へ変化し、この MARCKS の離れた脂質ラフトがアミラーゼ分泌に関与すると考えられる (図4)。この MARCKS と脂質ラフトを介したアミラーゼ分泌の調節メカニズムを追う段階で、ラット耳下腺腺房細胞の脂質ラフト回収量が少ないため、実験効率の低下が大いに懸念された。そこで、耳下腺アミラーゼの構造異性体である膵アミラーゼを分泌する膵外分泌腺を用いて、詳細を検討し確認するに至った²⁰⁾。

5. MARCKS と膵外分泌腺

著者らは、前述のように耳下腺アミラーゼ分泌で得た MARCKS に関わる知見の膵外分泌腺アミラーゼ分泌へ適用を試みた。以下に、簡単に知見を紹介する (詳細は引用文献を参考にされたい^{20,21)})。

ラット膵外分泌腺において、消化管ホルモンの一つであるコレシストキニン (CCK) 100 pM を刺激すると時間依存的に MARCKS のリン酸化を認めた²⁰⁾。同様に細胞膜から細胞質への局在変化も認めた²⁰⁾。さらに、CCK を作用させると、脂質ラフトに MARCKS の局在を認めなくなった²⁰⁾。CCK 刺激前に MARCKS が局在していた脂質ラフトには、分泌顆粒膜と細胞膜との膜融合に関わる機能タンパク質の一つである syntaxin-2 が発現していた²⁰⁾。これらの結果から、膵外分泌腺と耳下腺では共通し

A. Non-stimulated condition



B. IPR-stimulated condition

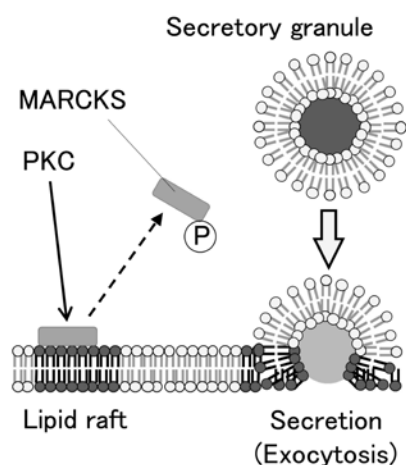


図4 細胞膜脂質ラフトと MARCKS

A. 無刺激時、細胞膜の脂質ラフト上に一部の MARCKS が局在している。脂質ラフトの分泌に関わる機能は抑えられている。B. IPR 刺激時、活性化した PKC が MARCKS をリン酸化する。すると、脂質ラフトからリン酸化した MARCKS が離れる。MARCKS の離れた脂質ラフトは分泌顆粒と細胞膜の膜融合に促進的に働き、アミラーゼなどの分泌 (開口放出) に関与すると考えられる。

て MARCKS は脂質ラフトを介して機能を発現し、アミラーゼ分泌に関与することが示唆された。また、興味深いことに耳下腺と同様に腭外分泌腺でも、PKC δ 阻害剤の rottlerin は MARCKS リン酸化とアミラーゼ分泌を阻害した²⁰⁾。耳下腺のアミラーゼ分泌は主に cAMP 依存性である一方、腭外分泌腺のアミラーゼ分泌は主に Ca^{2+} 依存性である。よって、耳下腺と腭臓では開口分泌の細胞内シグナル伝達におけるセカンドメッセンジャーが異なるにも関わらず、MARCKS のアミラーゼ分泌への関与は共通であることを見出した。さらに、著者らは cAMP 依存性アミラーゼ分泌の共通性の観点を掘り下げるべく、ラット腭外分泌腺腺房における GLP-1 (25 nM) 刺激によるアミラーゼ分泌の実験系を取り入れた。この実験系では、GLP-1 刺激によるアミラーゼ分泌において cAMP がセカンドメッセンジャーとなる²²⁾。実験の結果、GLP-1 刺激による cAMP 依存的な MARCKS リン酸化を認めた²¹⁾。一方で、腭外分泌腺から導管や腭島を分離せず、摘出したままの腭臓を実験に用いるオルガンバス灌流法では、GLP-1 (1 μM) 刺激でもアミラーゼ分泌を生じなかった²³⁾。よって、分離腺房を用いた *in vitro* の知見²¹⁾と臓器そのものを用いた *ex vivo* の知見²³⁾との間に乖離が生じた。この要因として、筆者らは腭外分泌腺の生理的なアミラーゼ分泌には、腺房と導管、その傍らにインスリン分泌を担う腭島の存在が重要と

捉えている。一方、GLP-1 刺激自体は腭内外分泌の機能相関を紐解くツールとしても有用と考えられる。現在、GLP-1 刺激の濃度依存性から慎重に検討を進めている。

おわりに

本稿では、著者らの研究グループが得た知見を中心に、主に耳下腺アミラーゼ分泌における MARCKS タンパク質の役割について概説した。現在、筆者らは MARCKS をはじめとした機能タンパク質を共通の鍵として、唾液分泌を主軸に、腭外分泌さらには涙液分泌をも守備範囲として、外分泌の分子基盤の解明を目指して精力的に研究活動を進めている²⁴⁾。

謝辞

本稿の執筆にあたりご支援を賜りました獨協医科大学医学部 大内基司先生、朝日大学歯学部 大野雄太先生、並びに本研究にあたり多大なご協力を賜りました共同研究者の皆様に厚く御礼を申し上げます。本研究は JSPS 科研費 25870667, 15K21322, 19K10051, 小川科学技術財団の助成を受けたものです。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

引用文献

1. Quissell DO: Stimulus-exocytosis coupling mechanism in salivary gland cells. *Biology of the Salivary Glands*. Dobrosielski-Vergona K. Boca Raton, CRC Press, 181-200, 1993.
2. Takuma T, Ichida T: Catalytic subunit of protein kinase A induces amylase release from streptolysin O-permeabilized parotid acini. *J Biol Chem* **269**: 22124-22128, 1994.
3. Putney JW Jr, McKinney JS, Aub DL, Leslie BA: Phorbol Ester-induced Protein Secretion in Rat Parotid Gland. *Mol Pharmacol* **26**: 261-266, 1984.
4. Yoshimura K, Murakami M, Segawa A: Carbachol-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increase, but not activation of protein kinase C, stimulates exocytosis in rat parotid acini. *J Physiol* **522**: 403-416, 2000.
5. Stumpo DJ, Graff JM, Albert KA, Greengard P, Blackshear PJ: Molecular cloning, characterization, and expression of a cDNA encoding the "80- to 87-kDa" myristoylated alanine-rich C kinase substrate: A major cellular substrate for protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**: 4012-4016, 1989.
6. Goodall AR, Turner NA, Walker JH, Ball SG, Vaughan PF: Activation of protein kinase C- α and translocation of the myristoylated alanine-rich C kinase substrate correlate with phorbol ester-enhanced noradrenaline release from SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *J Neurochem* **68**: 392-401, 1997.
7. Li J, O'Connor KL, Greeley GH Jr, Blackshear PJ, Townsend CM Jr, et al.: Myristoylated alanine-rich C kinase substrate-mediated neurotensin release via protein kinase C- δ downstream of the Rho/ROK pathway. *J Biol Chem* **280**: 8351-8357, 2005.
8. Suzuki Y, Zhang H, Saito N, Kojima I, Urano T, et al.: Glucagon-like Peptide 1 Activates Protein Kinase C through Ca^{2+} -dependent Activation of Phospholipase C in Insulin-secreting Cells. *J Biol Chem* **281**: 28499-28507, 2006.
9. Singer M, Martin LD, Vargaftig BB, Park J, Gruber AD, et al.: A MARCKS-related peptide blocks mucus hypersecretion in a mouse model of asthma. *Nat Med* **10**: 193-196, 2004.

10. Shirai Y, Saito N: Activation mechanisms of protein kinase C: Maturation, catalytic activation, and targeting. *J Biochem* **132**: 663-668, 2002.
11. Newton AC: Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: protein kinase C as a paradigm. *Biochem J* **370**: 361-371, 2003.
12. Terzian AR, Zhang X, Rubin RP: Differential modulation of protein kinase C isozymes in rat parotid acinar cells. *Biochem Pharmacol* **52**: 569-577, 1996.
13. Hughes AR, Takemura H, Putney JW Jr.: Does beta-adrenoceptor activation stimulate Ca^{2+} mobilization and inositol trisphosphate formation in parotid acinar cells? *Cell Calcium* **10**: 519-525, 1989.
14. Tanimura A, Matsumoto Y, Tojyo Y: Evidence that isoproterenol-induced Ca^{2+} -mobilization in rat parotid acinar cells is not mediated by activation of beta-adrenoceptors. *Biochim Biophys Acta* **1055**: 273-277, 1990.
15. Satoh K, Matsuki-Fukushima M, Qi B, Guo MY, Narita T, *et al.*: Phosphorylation of myristoylated alanine-rich C kinase substrate is involved in the cAMP-dependent amylase release in parotid acinar cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **296**: G1382-G1390, 2009.
16. Guillemain I, Rossignol B: Receptor- and phorbol ester-mediated phospholipase D activation in rat parotid involves two different pathways. *Am J Physiol* **266**: C692-C699, 1994.
17. Dohke Y, Fujita-Yoshigaki J, Sugiya H, Furuyama S, Hara-Yokoyama M: Involvement of phospholipase D in the cAMP-regulated exocytosis of rat parotid acinar cells. *Biochem Biophys Res Commun* **299**: 663-668, 2002.
18. Hartwig JH, Thelen M, Rosen A, Janmey PA, Nairn AC, *et al.*: MARCKS is an actin filament crosslinking protein regulated by protein kinase C and calcium-calmodulin. *Nature* **356**: 618-622, 1992.
19. Aderem A: The MARCKS Brothers: A Family of Protein Kinase C Substrates. *Cell* **71**: 713-716, 1992.
20. Satoh K, Narita T, Katsumata-Kato O, Sugiya H, Seo Y: Involvement of myristoylated alanine-rich C kinase substrate phosphorylation and translocation in cholecystokinin-induced amylase release in rat pancreatic acini. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **310**: G399-G409, 2016.
21. Satoh K, Ouchi M, Morita A, Kashimata M: MARCKS phosphorylation and amylase release in GLP-1-stimulated acini isolated from rat pancreas. *J Physiol Sci* **69**: 143-149, 2019.
22. Hou Y, Ernst SA, Heidenreich K, Williams JA: Glucagon-like peptide-1 receptor is present in pancreatic acinar cells and regulates amylase secretion through cAMP. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **310**: G26-G33, 2016.
23. Morita A, Ouchi M, Terada M, Kon H, Kishimoto S, *et al.*: Reproducible insulin secretion from isolated rat pancreas preparations using an organ bath. *Exp Anim* **67**: 15-22, 2017.
24. Ohno Y, Satoh K, Shitara A, Into T, Kashimata M: Arginase 1 is involved in lacrimal hyposecretion in male NOD mice, a model of Sjögren's syndrome, regardless of dacryoadenitis status. *J Physiol*, 2020. doi: 10.1113/JP280090.

著者プロフィール

佐藤慶太郎：明海大学歯学部病態診断治療学講座薬理学分野准教授。'05年 日本大学松戸歯学部歯学科卒業，'09年日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻博士課程修了（博士（歯学）），'09年 獨協医科大学医学部助教，'16年 朝日大学歯学部講師，'18年 朝日大学歯学部准教授，'20年から現職。研究内容：外分泌に関する研究を主に行っています。特に開口放出に興味を持ち、取り組んでいます。得意とする技術は、摘出した外分泌腺から開口放出機能を保った腺房細胞を分離することです。耳下腺や腭外分泌腺より分離した腺房細胞のアミラーゼ分泌をモデルとして、外分泌腺細胞における開口放出の分子機構の解明を目指しています。

E-mail: k-satoh@dent.meikai.ac.jp, Researchmap: <https://researchmap.jp/read0127213>

—機能性表示食品としての最終製品を用いた ヒト臨床試験（ヒト試験）における クロスオーバー比較デザインの統計学的留意事項—

鈴木 直子 (SUZUKI Naoko)^{1*} 田中 瑞穂 (TANAKA Mizuho)¹ 野田 和彦 (NODA Kazuhiko)¹
柿沼 俊光 (KAKINUMA Toshihiro)¹ 馬場 亜沙美 (BABA Asami)¹ 波多野 絵梨 (HATANO Eri)¹
山本 和雄 (YAMAMOTO Kazuo)¹

Key Words：ヒト臨床試験，ヒト試験，特定保健用食品，機能性表示食品，クロスオーバー試験

Current Status and Issues of Clinical Trials for Efficacy and Safety Evaluation of Health Foods —Statistical considerations for crossover comparative design in clinical trials using final products as Foods with Functional Claims—

Keywords: clinical trials, Foods for Specified Health Uses (FOSHU), Foods with Function Claims, crossover trial

Authors:

Naoko Suzuki^{1)*}, Mizuho Tanaka¹⁾, Kazuhiko Noda¹⁾, Toshihiro Kakinuma¹⁾, Asami Baba¹⁾, Eri Hatano¹⁾, Kazuo Yamamoto¹⁾

*Correspondence author: Naoko Suzuki

Affiliated institution

¹⁾ ORTHOMEDICO Inc.

2F Sumitomo Fudosan Korakuen Bldg., 1-4-1 Koishikawa, Bunkyo-ku, Tokyo, 112-0002, Japan.

はじめに

平成 27 年 3 月 30 日に制定された「機能性表示食品の届出等に関するガイドライン」により始まった機能性表示食品は、令和 2 年 4 月 1 日の 6 度目のガイドライン改正¹⁾をうけて、さらなる市場拡大が期待される。最終製品を用いたヒト臨床試験（以下、ヒト試験）による届出だけではなく、機能性関与成分のヒト試験を実施して、その結果を研究レビューに用いる事例もあり、ヒト試験の実施も活性化してきた。直近のガイドライン改正では、最終製品を用いたヒト試験の枠組みは大きな変更もなく、原則として特定保健用食品と同等の試験デザインが採用される（表 1）¹⁾。つまり、機能性表示食品の制度下においては、並行群間比較デザインとクロスオーバー比較デザインの 2 つが推奨される（表 2）²⁾。中でも「食

後の血中中性脂肪の上昇関係」や「食後の血糖上昇関係」、「食後の血清尿酸値の上昇関係」に関連した表示を目指す場合は、クロスオーバー比較デザインが推奨される。しかし、「特定保健用食品の表示許可等について」や「機能性表示食品の届出等に関するガイドライン」ではクロスオーバー比較デザインにおける統計学的な留意事項は詳細に定められておらず、表 2 の下線部や保健の用途ごとの試験の留意事項として「作用機序等からみて十分なウォッシュアウト期間をとり、キャリーオーバー効果がないこと。」といった説明があるのみで、考慮すべき点や注意すべき点などが明示されていない。そこで、我々は不明瞭な点を明らかにすることを課題とし、最終製品を用いたヒト試験におけるクロスオーバー比較デザインの統計学的留意事項を本稿にまとめた。

¹⁾ 株式会社オルトメディコ * 責任著者

〒112-0002 東京都文京区小石川 1-4-1 住友不動産後楽園ビル 2 階

Tel: 03-3818-0610 / Fax: 03-3812-0670

表 1 機能性表示食品の届出等に関するガイドライン¹⁾

■ IV 資料作成に当たっての考え方, (V) 機能性に係る事項に係る事項, 第 2 最終製品を用いた臨床試験(ヒト試験)の実施及び資料の届出, 1 最終製品を用いた臨床試験(ヒト試験)の実施に当たっての留意事項, (2) 臨床試験(ヒト試験)の実施
臨床試験(ヒト試験)の実施方法(参加者の設定に係る考え方は除く。)は原則として、「特定保健用食品の表示許可等について」の別添 2「特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項」に示された特定保健用食品の試験方法(規格基準型、疾病リスク低減表示及び条件付き特定保健用食品に係る試験方法を除く。)に準拠することとする(同留意事項の発出前の時点において研究計画について倫理審査委員会の承認を受けた臨床試験(ヒト試験)については、特定保健用食品に係る従前の通知に準拠していればよいこととする。)。ただし、特定保健用食品で求められる後観察期間の設定については、これを省略できるものとする。また、上記通知に示された特定保健用食品の試験方法に拠らなくても機能性の実証が可能な場合については、科学的合理性が担保された別の試験方法を用いることができる。 臨床試験(ヒト試験)の参加者の設定に当たっては、機能性表示食品の定義及び当該食品の対象者に係る考え方を踏まえ、原則として、疾病に罹患していない者(未成年者、妊産婦、授乳婦は除く。)から選定する。「疾病に罹患していない者」に係る考え方については、以下の①又は②に基づくこととする。なお、表示しようとする機能性と関連しないことが医学的に明らかな疾病の患者のデータについては、これを用いても差し支えない。なお、18 歳及び 19 歳の者を臨床試験(ヒト試験)の参加者に含める場合には、18 歳及び 19 歳の者を含むことについて、食事摂取基準を参考に、医学的、栄養学的な観点から、成人と同等であるかを適切に考察すること。また、倫理的観点からも問題がないかについても適切に考察すること。

機能性表示食品の届出等に関するガイドライン(2020 年 4 月 1 日付け消食表第 123 号)より引用

表 2 特定保健用食品の表示許可等について²⁾

■別添 2 特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項, 第 2 審査申請書の留意事項, 2 審査申請書の添付資料, (4) 食品及び特定の保健の目的に資する栄養成分に係る保健の用途及び一日当たりの摂取目安量を医学的及び栄養学的に明らかにした資料, イ ヒトを対象とした試験, (イ) 試験実施上の留意点
ヒト試験は、ヘルシンキ宣言の精神に則り、常に被験者の人権保護に配慮し、倫理審査委員会の承認を得て、医師の管理の下に実施する。実施に当たっては、倫理指針に従う。また、被験者の割付方法等に十分配慮し、統計学的に十分な有意差の有無を確認するに足る試験方法と被験者を設定することが必要である。クロスオーバー試験では、試験期間が長くなることから、指標が摂取終了後に摂取前の値に回復するか(ウォッシュアウトが十分になされるか)という点に留意する必要がある。また、並行群間試験では、個人差のばらつきを解消するために、十分な例数が必要になる。なお、試験は原則として、社外ボランティアを被験者として第三者機関で実施すること。

特定保健用食品の表示許可等について(2020 年 4 月 1 日付け消食表第 109 号)より引用

1. クロスオーバー比較デザインとは？

「機能性表示食品の届出等に関するガイドライン」におけるクロスオーバー比較デザインの統計学的留意事項をまとめるために、まずデザインの基本的な枠組みや介入効果の推定方法、クロスオーバー比較デザインの欠点を本章で解説する。

1-1. デザインの基本的な枠組み

クロスオーバー比較デザインの特徴をとらえるためにデザインの概略図を示した(図 1)。クロスオーバー比較デザインは、同一の試験参加者に時期を変えて異なる介入を行う。並行群間比較デザインで

は、異なる介入に試験参加者を割り付けるが、クロスオーバー比較デザインでは、介入の順序に対して試験参加者を割り付ける。図 1 のようなクロスオーバー比較デザインは、2 剤 2 群 2 期(2×2×2)クロスオーバー比較デザインとも呼ばれ、最も単純なデザインである。このデザインの場合は AB という順序と BA という順序に試験参加者をランダムに割り付けることになる。このように 2 つの介入を交差させて同一の試験参加者に施すため、時期効果と呼ばれる季節変動や介入時期によって、介入の効果が異なる現象を打ち消すことができる。一方で、時期 1 の介入効果が残存している可能性や時期のノイズの

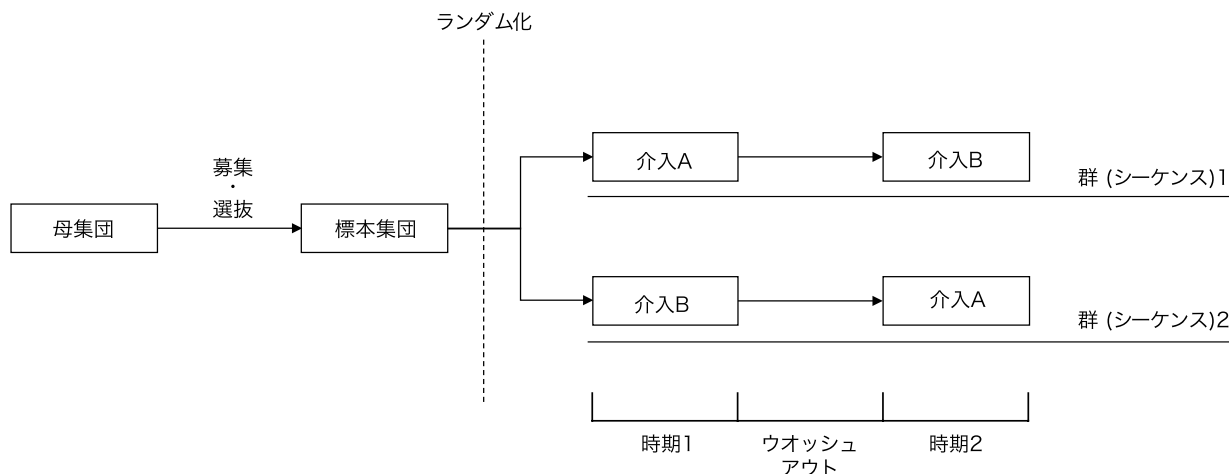


図1 2×2×2 クロスオーバー比較デザインの概略図

群（シーケンス）1では時期1に介入A、時期2に介入Bを施す。群（シーケンス）2ではその逆である。時期1の影響を取り除くために、ウォッシュアウト期間（washout period）を設けることが多い。

表3 「食後の血糖上昇関係」の検証を想定したヒト試験の概略

対象者	日本人，男女両方，20歳以上，健常者
介入	サプリメントX
対照	プラセボ
プライマリーエンドポイント	血中グルコースのIAUC
期間	単回摂取
デザイン	二重盲検・ランダム化・プラセボ対照・クロスオーバー比較

可能性，試験期間の増大により後半（時期2）では脱落が増える可能性があり，利点ばかりではないことに注意する。

1-2. 介入効果の推定

2×2×2 クロスオーバー比較デザイン（図1）における介入効果を推定する方法を示す。例として，「食後の血糖上昇関係」を検証するためのヒト試験の概略を表3に示した。このヒト試験で得られた血中グルコースの血中濃度上昇曲線下面積（Incremental Area Under the Curve；IAUC）を模擬データとして表4に示した。表4のデータを一般化したものが表5であり，それぞれのデータを y_{ijkl} （ i : 介入， j : 時期， k : 順序， l : 試験参加者）とすると，クロスオーバー比較デザインは以下のモデルで表すことができる。

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \varepsilon_{(1)kl} + \varepsilon_{(2)ijkl} \quad (1)$$

ここで α , β , γ はそれぞれ介入，時期，順序の効果， $\varepsilon_{(1)}$, $\varepsilon_{(2)}$ はそれぞれ試験参加者間のばらつきと試験

表4 「食後の血糖上昇関係」の検証試験におけるIAUCの模擬データ

群	試験参加者	時期1	時期2
群1 (γ_1)	No. 1	117.00	182.25
	No. 2	113.50	126.00
	No. 3	63.50	142.75
	No. 4	77.75	79.75
	No. 5	105.38	135.60
群2 (γ_2)	No. 6	115.30	85.75
	No. 7	143.00	122.75
	No. 8	145.75	102.63
	No. 9	90.85	70.65
	No. 10	77.25	120.60

参加者内のばらつきである。このモデルは一般線形混合モデルと呼ばれ，クロスオーバー比較デザインにおける標準的な解析手法の1つであり，表6のような分散分析表が作成される。本稿では，統一的理解のために式（1）における解析のステップを紹介する。まず，試験参加者数（ N ）と総データ数（ n ）

表5 クロスオーバー比較デザインにおけるデータの一般化

群	試験参加者	時期 1	時期 2	計	平均
γ_1	1	y_{111l}	y_{221l}	$y_{\cdot\cdot 1l}$	$m_{\cdot\cdot 1l}$
	:	:	:	:	:
	l	y_{111l}	y_{221l}	$y_{\cdot\cdot 1l}$	$m_{\cdot\cdot 1l}$
	:	:	:	:	:
	n_1	$y_{111(n1)}$	$y_{221(n1)}$	$y_{\cdot\cdot 1(n1)}$	$m_{\cdot\cdot 1(n1)}$
小計		$T_{111\cdot}$	$T_{221\cdot}$	$T_{\cdot\cdot 1\cdot}$	-
平均		$m_{111\cdot}$	$m_{221\cdot}$	-	$m_{\cdot\cdot 1\cdot}$
γ_2	1	y_{212l}	y_{122l}	$y_{\cdot\cdot 2l}$	$m_{\cdot\cdot 2l}$
	:	:	:	:	:
	l	y_{212l}	y_{122l}	$y_{\cdot\cdot 2l}$	$m_{\cdot\cdot 2l}$
	:	:	:	:	:
	n_2	$y_{212(n2)}$	$y_{122(n2)}$	$y_{\cdot\cdot 2(n2)}$	$m_{\cdot\cdot 2(n2)}$
小計		$T_{212\cdot}$	$T_{122\cdot}$	$T_{\cdot\cdot 2\cdot}$	-
平均		$m_{212\cdot}$	$m_{122\cdot}$	-	$m_{\cdot\cdot 2\cdot}$
合計		$T_{\cdot 1\cdot\cdot}$	$T_{\cdot 2\cdot\cdot}$	T_T	-
平均		$m_{\cdot 1\cdot\cdot}$	$m_{\cdot 2\cdot\cdot}$	-	m_T
介入合計		$T_{1\cdot\cdot\cdot}$	$T_{2\cdot\cdot\cdot}$	T_T	-
介入平均		$m_{1\cdot\cdot\cdot}$	$m_{2\cdot\cdot\cdot}$	-	m_T

i : 薬剤 ($i = 1, 2$) j : 時期 ($j = 1, 2$) k : 順序 ($k = 1, 2$) l : 被験者 ($l = 1, \dots, n_k$)

表6 クロスオーバー比較デザインの分散分析表

要因	平方和 (S)	自由度 (ϕ)	平均平方和 (分散) (V)	分散比 (F)
順序効果	S_γ	ϕ_γ	$V_\gamma = S_\gamma / \phi_\gamma$	$F_\gamma = V_\gamma / V_{\varepsilon(1)}$
試験参加者残差	$S_{\varepsilon(1)}$	$\phi_{\varepsilon(1)}$	$V_{\varepsilon(1)} = S_{\varepsilon(1)} / \phi_{\varepsilon(1)}$	-
試験参加者	S_{Sub}	ϕ_{Sub}	$V_{Sub} = S_{Sub} / \phi_{Sub}$	$F_{Sub} = V_{Sub} / V_{\varepsilon(2)}$
時期効果	S_β	ϕ_β	$V_\beta = S_\beta / \phi_\beta$	$F_\beta = V_\beta / V_{\varepsilon(2)}$
介入効果	S_α	ϕ_α	$V_\alpha = S_\alpha / \phi_\alpha$	$F_\alpha = V_\alpha / V_{\varepsilon(2)}$
残差	$S_{\varepsilon(2)}$	$\phi_{\varepsilon(2)}$	$V_{\varepsilon(2)} = S_{\varepsilon(2)} / \phi_{\varepsilon(2)}$	-
全体	S_T	ϕ_T	-	-

は以下の式で表される。

$$N = \sum_{k=1}^2 n_k = n_1 + n_2 \quad (2)$$

$$n = \sum_{j=1}^2 N = 2N \quad (3)$$

$$\begin{aligned}
 S_\gamma &= \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (m_{\cdot\cdot k\cdot} - m_T)^2 \\
 &= 2 \sum_{k=1}^2 n_k (m_{\cdot\cdot k\cdot} - m_T)^2 \\
 &= 2N \sum_{k=1}^2 (m_{\cdot\cdot k\cdot} - m_T)^2
 \end{aligned} \quad (4)$$

分散分析表を構成する要素である平方和を算出する。平方和は、順序効果 (S_γ)、試験参加者残差 ($S_{\varepsilon(1)}$)、試験参加者 (S_{Sub})、時期効果 (S_β)、介入効果 (S_α)、残差 ($S_{\varepsilon(2)}$)、全体 (S_T) を以下の式を用いて算出する。

$$\begin{aligned}
 S_{\varepsilon(1)} &= \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (m_{\cdot\cdot kl} - m_{\cdot\cdot k\cdot})^2 \\
 &= 2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (m_{\cdot\cdot kl} - m_{\cdot\cdot k\cdot})^2 \\
 &= S_{Sub} - S_\gamma
 \end{aligned} \quad (5)$$

$$\begin{aligned} S_{Sub} &= \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (m_{\cdot\cdot kl} - m_T)^2 \\ &= 2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (m_{\cdot\cdot kl} - m_T)^2 \end{aligned} \quad (6)$$

$$\begin{aligned} S_{\beta} &= \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (m_{j\cdot\cdot} - m_T)^2 \\ &= 2 \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^2 n_k (m_{j\cdot\cdot} - m_T)^2 \\ &= 2N \sum_{j=1}^2 (m_{j\cdot\cdot} - m_T)^2 \end{aligned} \quad (7)$$

$$\begin{aligned} S_{\alpha} &= \sum_{i=1}^2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (m_{i\cdot\cdot\cdot} - m_T)^2 \\ &= 2 \sum_{i=1}^2 \sum_{k=1}^2 n_k (m_{i\cdot\cdot\cdot} - m_T)^2 \\ &= 2N \sum_{i=1}^2 (m_{i\cdot\cdot\cdot} - m_T)^2 \end{aligned} \quad (8)$$

$$S_{\varepsilon(2)} = S_T - S_{Sub} - S_{\beta} - S_{\alpha} \quad (9)$$

$$S_T = \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^{n_k} (y_{ijkl} - m_T)^2 \quad (10)$$

クロスオーバー比較デザインにおける自由度 (ϕ) も同様に、群 (ϕ_{γ})、試験参加者残差 ($\phi_{\varepsilon(1)}$)、試験参加者 (ϕ_{Sub})、時期効果 (ϕ_{β})、介入効果 (ϕ_{α})、残差 ($\phi_{\varepsilon(2)}$)、全体 (ϕ_T) で算出する。数式は、以下の通りである。

$$\phi_{\gamma} = 2 - 1 = 1 \quad (11)$$

$$\phi_{\varepsilon(1)} = \phi_{Sub} - \phi_{\gamma} = N - 2 \quad (12)$$

$$\phi_{Sub} = N - 1 \quad (13)$$

$$\phi_{\beta} = 2 - 1 = 1 \quad (14)$$

$$\phi_{\alpha} = 2 - 1 = 1 \quad (15)$$

$$\phi_{\varepsilon(2)} = \phi_T - \phi_{Sub} - \phi_{\beta} - \phi_{\alpha} = N - 2 \quad (16)$$

$$\phi_T = n - 1 \quad (17)$$

最後に平均平方和と分散比を算出し、分散分析表を完成させる。平均平方和は、平方和を自由度で除した値であり、分散比は平均平方和を残差の平均平方和で除した値である。なお、群の分散比は試験参加者残差で除することに注意する。分散比まで求めることができれば、あとは F 確率分布にあてはめて有意確率を算出するだけである。本稿では連続変数に対して式 (1) により解析したが、 t 検定など他の解析手法もある。折笠秀樹 (2016) の文献が解析方法や報告の仕方などがまとめられているので参考になる³⁾。

ここで、算出された有意確率から結果を解釈するため、主要な因子である順序効果、時期効果、介入効果の統計学的仮説を整理する。順序効果の帰無仮説は、「 H_0 : 2 群の背景因子効果は等しく、かつ対照薬と試験薬の順序効果は等しい。」となり、時期効果の帰無仮説は、「 H_0 : 時期 1 と時期 2 の時期効果は等しい。」、介入効果の帰無仮説は、「 H_0 : 介入 A と介入 B の IAUC 平均値は等しい。」である。

模擬データをクロスオーバー比較デザイン用の分散分析表にまとめたものを表 7 に示した。介入効果の有意確率が 5% を下回ったことから帰無仮説である「 H_0 : 介入 A と介入 B の IAUC 平均値は等しい。」が棄却され、「 H_1 : 介入 A と介入 B の IAUC 平均値は異なる。」が採択される。

1-3. クロスオーバー比較デザインの利点と欠点を考える

「1-2. 介入効果の推定」にて、表 4 の模擬データを式 (1) のモデルで解析した。クロスオーバー比較デザインの利点は、並行群間比較デザインの解析と比較することで見えてくる。表 4 を並行群間比較デザインと仮定して、一元配置モデルで解析した結果を表 8 に示した。表 7 と比較して、残差の平方和が増大していることがわかる。クロスオーバー比較デザインは、時期効果や試験参加者間のばらつきを残差から分離することで介入効果の分散比の増大に寄与している。つまり、クロスオーバー比較デザインは時期効果等を排除して介入効果を推定できることが視覚的にわかる。

次にクロスオーバー比較デザインの利点として症例数が並行群間比較デザインよりも少なくなるとされている。クロスオーバー比較デザインの症例数

表7 2×2×2クロスオーバー比較デザインの模擬データにおける分散分析表

要因	平方和 (S)	自由度 (φ)	平均平方和 (分散) (V)	分散比 (F)	有意確率
順序効果	237.705	1	237.705	0.213	0.657
試験参加者残差	8929.451	8	1116.181	2.005	0.172
試験参加者	9167.156	9	1018.573	1.830	0.204
時期効果	713.415	1	713.415	1.282	0.290
介入効果	3353.791	1	3353.791	6.024	0.040
残差	4453.537	8	556.692	1.000	
全体	17687.898	19			

表8 模擬データを並行群間比較として解析した場合の分散分析表

要因	平方和 (S)	自由度 (φ)	平均平方和 (分散) (V)	分散比 (F)	有意確率
介入効果	3353.791	1	3353.791	4.212	0.055
残差	14334.107	18	796.339	1.000	
全体	17687.898	19			17687.898

(n_c) は、丹後俊郎 (2003) が提案した個人差指数 (θ_2) を用いることで式(18)のように簡便に算出できる⁴⁾。

$$n_c = \frac{1}{2(1 + \sigma_B^2 / \sigma_W^2)} n_p = \frac{1}{2(1 + \theta^2)} n_p \quad (18)$$

式 (18) より個人差指数が1, つまり試験参加者間の分散 (σ_B^2) と試験参加者内の分散 (σ_W^2) が等しいときのクロスオーバー比較デザインの症例数は、並行群間比較デザインの症例数 (n_p) の4分の1となる。このように試験参加者間のばらつきが大きい場合にクロスオーバー比較デザインを採用する利点となる。

時期効果を排除できる点や症例数を減少させる可能性があることなどの利点をあげたが欠点もある。この欠点を考えるために、2×2×2クロスオーバー比較デザインの模式図を図2に示した。この模式図から順序効果、時期効果、介入効果がどのように計算されているのかをt検定を利用して考える。順序効果は式 (19) のように時期1 (t_1) と時期2 (t_2) の和を群間比較することで算出できる。

$$\begin{aligned} & (\delta_{I1} + \delta_{I2}) - (\delta_{II1} + \delta_{II2}) \\ &= (2\pi + \alpha + \omega_a + 2\gamma_I + \beta_1 + \beta_2) \\ & - (2\pi + \alpha + \omega_b + 2\gamma_{II} + \beta_1 + \beta_2) \\ &= 2(\gamma_I - \gamma_{II}) + (\omega_a - \omega_b) \end{aligned} \quad (19)$$

式 (19) より順序効果は群1と群2の群効果 (背景因子の差) と、介入Aと介入Bの持ち越し効果を合わせたものであり、2つの効果を分離して検出することはできない。

時期効果は式 (20) のように時期1 (t_1) と時期2 (t_2) のクロス差を群間比較することで算出できる。

$$\begin{aligned} & (\delta_{I2} + \delta_{II1}) - (\delta_{II1} + \delta_{II2}) \\ &= (-\alpha + \omega_a + \beta_2 - \beta_1) \\ & - (-\alpha - \omega_b + \beta_1 - \beta_2) \\ &= 2(\beta_2 - \beta_1) + (\omega_a + \omega_b) \end{aligned} \quad (20)$$

時期効果は、式 (20) や表7のような分散分析表だけではなく、対応のあるt検定でも推定できる。群1と群2を合わせた時期1 (t_1) と時期2 (t_2) の群内比較を対応のあるt検定とした場合は式 (21) となる。

$$\begin{aligned} & \frac{(n_1\delta_{I2} + n_2\delta_{II2}) - (n_1\delta_{II1} + n_2\delta_{II1})}{n_1 + n_2} \\ &= \frac{n_1(\delta_{I2} - \delta_{II1}) - n_2(\delta_{II1} - \delta_{II2})}{n_1 + n_2} \\ &= \frac{n_1(-\alpha + \omega_a + \beta_2 - \beta_1) - n_2(-\alpha - \omega_b + \beta_1 - \beta_2)}{n_1 + n_2} \\ &= \frac{(n_1 - n_2)\alpha + (n_1 + n_2)(\beta_2 - \beta_1) + (n_1\omega_a + n_2\omega_b)}{n_1 + n_2} \end{aligned} \quad (21)$$

ここで、時期効果を対応のあるt検定で推定することの問題点を考える。群1の症例数を n_1 、と群2

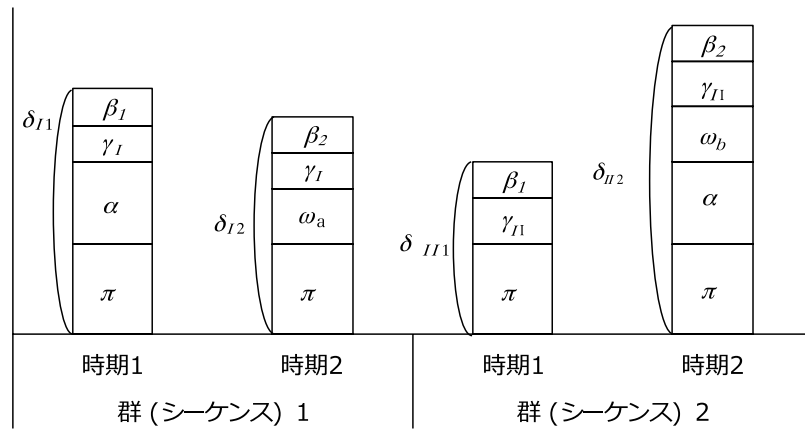


図2 2×2×2クロスオーバー比較デザインの模式図

t_1 : 時期1 / t_2 : 時期2 / μ_{I1} : 群1の時期1 (t_1) における平均値 / μ_{I2} : 群1の時期2 (t_2) における平均値 / μ_{II1} : 群2の時期1 (t_1) における平均値 / μ_{II2} : 群2の時期2 (t_2) における平均値 / π : プラセボ効果 / α : 介入効果 / β_1 : 時期効果 (時期1 (t_1) の効果) / β_2 : 時期効果 (時期2 (t_2) の効果) / γ_I : 群1の群効果 / γ_{II} : 群2の群効果 / ω_a : 介入Aの持ち越し効果 / ω_b : 介入Bの持ち越し効果 / $\delta_{I1} = \mu_{I1} = \pi + \alpha + \beta_1 + \gamma_I$: 群1の時期1 (t_1) の平均 / $\delta_{I2} = \mu_{I2} = \pi + \omega_a + \beta_2 + \gamma_I$: 群1の時期2 (t_2) の平均 / $\delta_{II1} = \mu_{II1} = \pi + \beta_1 + \gamma_{II}$: 群2の時期1 (t_1) の平均 / $\delta_{II2} = \mu_{II2} = \pi + \alpha + \omega_b + \beta_2 + \gamma_{II}$: 群2の時期2 (t_2) の平均

の症例数を n_2 としたとき、各群の症例数が等しいとき ($n_1 = n_2 = n$) は式 (22) が成り立つ。

$$\frac{n\{(\delta_{I2} - \delta_{I1}) - (\delta_{II1} - \delta_{II2})\}}{2n} = \frac{2(\beta_2 - \beta_1) + (\omega_a + \omega_b)}{2} \quad (22)$$

式 (22) より、2つの群の症例数が等しい時に時期効果から介入効果 (α) を排除できる。一方で、2つの群の症例数が異なるとき (式 (21)) は、時期効果に介入効果が紛れ込んでいることがわかる。よって、式 (20) のような時期1 (t_1) と時期2 (t_2) のクロス差の群間比較であれば、2つの群の症例数が異なっても時期効果から介入効果を排除できる。介入効果は式 (23) のように時期1 (t_1) と時期2 (t_2) の差を群間比較することで算出できる。

$$\begin{aligned} & (\delta_{I1} - \delta_{I2}) - (\delta_{II1} - \delta_{II2}) \\ &= (\alpha - \omega_a + \beta_1 - \beta_2) \\ & - (-\alpha - \omega_b + \beta_1 - \beta_2) \\ &= 2\alpha + (\omega_b + \omega_a) \end{aligned} \quad (23)$$

介入効果も時期効果と同様に対応のある t 検定を適用した場合を考えてみる。群1は時期1 (t_1) から時期2 (t_2) を減算し、群2は時期2 (t_2) から時期1 (t_1) を減算すると式 (24) となる。

$$\begin{aligned} & \frac{n_1(\delta_{I1} - \delta_{I2}) + n_2(\delta_{II2} - \delta_{II1})}{n_1 + n_2} \\ &= \frac{n_1(\delta_{I1} - \delta_{I2}) - n_2(\delta_{II1} - \delta_{II2})}{n_1 + n_2} \\ &= \frac{n_1(\alpha - \omega_a + \beta_1 - \beta_2) - n_2(-\alpha - \omega_b + \beta_1 - \beta_2)}{n_1 + n_2} \\ &= \frac{(n_1 - n_2)\alpha + (n_2 - n_1)(\beta_2 - \beta_1) + (n_2\omega_b + n_1\omega_a)}{n_1 + n_2} \end{aligned} \quad (24)$$

各群の症例数が等しいとき ($n_1 = n_2 = n$) は式 (25) が成り立つ。

$$\begin{aligned} & \frac{n\{(\delta_{I1} - \delta_{I2}) - (\delta_{II1} - \delta_{II2})\}}{2n} \\ &= \frac{2\alpha + (\omega_b - \omega_a)}{2} \end{aligned} \quad (25)$$

時期効果と同様に2つ群の症例数が等しい時に介入効果から時期効果 ($\beta_2 - \beta_1$) を取り除くことができる。症例数が異なる場合は、介入効果に時期効果が混在するため対応のある t 検定は不適切となる。そのため、式 (23) のように時期1 (t_1) と時期2 (t_2) の差を群間比較するほうが適切である。

まとめると2×2×2クロスオーバー比較デザインでは持ち越し効果を数学的に排除することはできない。これは2×2×2クロスオーバー比較デザインの限界である。また、群の症例数が異なる場合は対応のある t 検定を適用してしまうと時期効果を排除す

ることができない。また、ヒト試験では、計画時点で解析計画を固定させておくことが望ましいため対応のある t 検定を主解析とすることにはリスクを伴う。

2. クロスオーバー比較デザインに関する規制やガイドライン

特定保健用食品や機能性表示食品のクロスオーバー比較デザインに関する記述は、不十分であることは先述した。本章では、クロスオーバー比較デザインに関する記載がある規制やガイドラインから課題を考えていく。

2-1. ICH-E9 臨床試験のための統計的原則

臨床試験のための統計的原則は、日・米・EU 三極医薬品規制調和国際会議 (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; ICH) における合意に基づき、臨床試験における統計的原則について記載したガイドラインであり、臨床試験から得られる結果の偏りを最小にし、精度を最大にすることを目標としている⁵⁾。このガイドラインでのクロスオー

バー比較デザインの要点をまとめると「①二つ又はそれ以上の試験治療を行う順序をランダムに割付けられる。」「②単純なクロスオーバー比較デザイン(2×2×2 クロスオーバー比較デザイン)では、持ち越し効果が試験治療と時期間の交互作用から統計的に分離できず、どちらの効果の検定も対応する対比が「被験者間」であるため検出力に欠ける。」「③対象とする疾患は慢性的で症状が安定しているべきである。」「④ウォッシュアウト期間は薬剤効果が完全に消失するよう十分長くすべきである。」「⑤最も注意すべきことは、被験者の減失に起因する解析と解釈の複雑さである。」「⑥クロスオーバー計画は、一般に試験からの被験者の減失が少ないと期待できる場合に限定すべきである。」「⑦2×2 クロスオーバー計画が一般的に使用されており、通常その妥当性が満たされているのは、同一薬剤の異なる二つの剤型間で生物学的同等性を示す場合である。」があげられる。

これらの要点が機能性表示食品にも適用できるか考える。まず①と④は、「特定保健用食品の表示許可等について」にもある通り原則として二重盲検査およびランダム化を施す必要があることから適用す

表 9 ICH-E9 臨床試験のための統計的原則におけるクロスオーバー比較デザインに関する記述⁵⁾

III. 試験計画上で考慮すべきこと, 3.1 試験計画の構成, 3.1.2 クロスオーバー計画
クロスオーバー計画では、各被験者は二つ又はそれ以上の試験治療を行う順序をランダムに割付けられる。したがって被験者自身を対照として試験治療比較が行われることになる。この単純な計画上の工夫は、主として、それを行うことが、定められた検出力の達成に必要な被験者数と通常は評価件数を劇的に減少させることがあるという理由から魅力的である。最も単純な 2×2 クロスオーバー計画では、各被験者は、多くの場合ウォッシュアウト期間をはさんで連続した二つの試験治療期間に、二種の試験治療のそれぞれをランダム化された順番で受ける。この計画の最も一般的な拡張では、 $n (>2)$ 個の試験治療を n 期間で各被験者がすべて受け、試験治療を比較することになる。計画の拡張には、各被験者が $n (>2)$ 個の試験治療の一部だけを受ける、同じ試験治療を繰り返す行う、といった様々な変法が存在する。・・・(以下、省略)

ICH-E9 臨床試験のための統計的原則より引用

表 10 「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインに関する質疑応答集 (Q&A) の持越し効果に関する記述⁷⁾

Q-41 持越し効果が有意になった場合には試験をやり直さなければならないか
(A) 一般的には、2 剤 2 期クロスオーバー法では、群効果と持越し効果とは区別がつかない。持越し効果が有意になった場合には結果の解釈が不能であるが、群効果が有意の場合には結果の解釈は可能である。従来は、群間の割付けに偏りがあるなど、持越し効果ではなく群効果による有意差であるという考察が行われた場合には、結果を受け入れてきた。しかし、通常、割付上の偏りがあったことを証明することは困難であり、また、同一薬物のバイオアベイラビリティの比較試験を行う生物学的同等性試験に限っては、プロトコルが遵守されていれば、持越し効果が生じることは本来考えにくいので、持越し効果に関する考察を問わないことにした。

「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインに関する質疑応答集 (Q&A) より引用

ることになる。②, ⑤, ⑥は, 「1-3. クロスオーバー比較デザインの利点と欠点を考える」で示した通り, クロスオーバー比較デザインの欠点である。これらは, デザインの特性上, 避けることができない問題である。よって, ヒト試験を計画する際は, 十分に気をつける必要がある。③は, 原則として疾病を有する者はヒト試験に組み入れることはできないので問題はないと考えられる。最後に⑦である。クロスオーバー比較デザインは, 根本的に②のような欠点を孕んでいる。しかし, 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインに関する質疑応答集 (Q&A) における Q41 の回答にある通り, 「同一薬物のバイオアベイラビリティの比較試験を行う生物学的同等性試験に限っては, プロトコルが遵守されていれば, 持ち越し効果が生じることは本来考えにくいので, 持ち越し効果に関する考察を問わないことにした」とされている^{6,7)}。機能性表示食品制度下におけるヒト臨床試験の対象者は原則として疾病を有する者の組み入れはないことや介入がサプリメント等の食品であることから $2 \times 2 \times 2$ クロスオーバー比較デザインの採用は許容されるべきと考えられるが, 「機能性表示食品の届出等に関するガイドライン」や「特定保健用食品の表示許可等について」でも明示されていないため, 今後の課題としてあげられる。

2-2. CONSORT 2010 Statement の拡張ガイドライン

クロスオーバー比較デザインを採用した臨床試験の報告ガイドラインが, CONSORT 2010 Statement の拡張ガイドラインとして Dwan K ら (2019) より

公表された。この拡張ガイドラインは, クロスオーバー比較デザインの方法論的特徴の要約, 公表済みのクロスオーバー比較デザインのレビュー, クロスオーバー比較デザインのためのチェックリストの提案を目的としている⁸⁾。学術論文を執筆する際に参考にするだけでなく, ヒト試験の計画段階からチームで共有し, 解析計画をはじめとしたプロトコルの執筆にも参照すべきである。

3. 高次デザインへの拡張

式 (19) や ICH E9⁵⁾ より, $2 \times 2 \times 2$ クロスオーバー比較デザインは, 持ち越し効果を分離できていないことがわかった。しかし, 「特定保健用食品の表示許可等について」において保健の用途ごとの試験の留意事項として「作用機序等からみて十分なウォッシュアウト期間をとり, キャリーオーバー効果がないこと。」といった説明がある通り持ち越し効果を分離して介入効果を推定することが望ましい。そこで, 持ち越し効果を分離することができるデザインとして $2 \times 2 \times 2$ クロスオーバー比較デザインを高次なデザインへと拡張することが提案されている⁹⁾。

本章では, 例として図3に示したような2剤2群3期 ($2 \times 2 \times 3$) クロスオーバー比較デザインを紹介する。このデザインは, 時期3において時期2と同様の介入を施す。そのため, $2 \times 2 \times 2$ クロスオーバー比較デザインよりも試験期間が延長されるので試験参加者の脱落率は増大する可能性がある。しかし, 同じ介入を続けて施すことによる持ち越し効果のデータが得られるため, 持ち越し効果を解析モデ

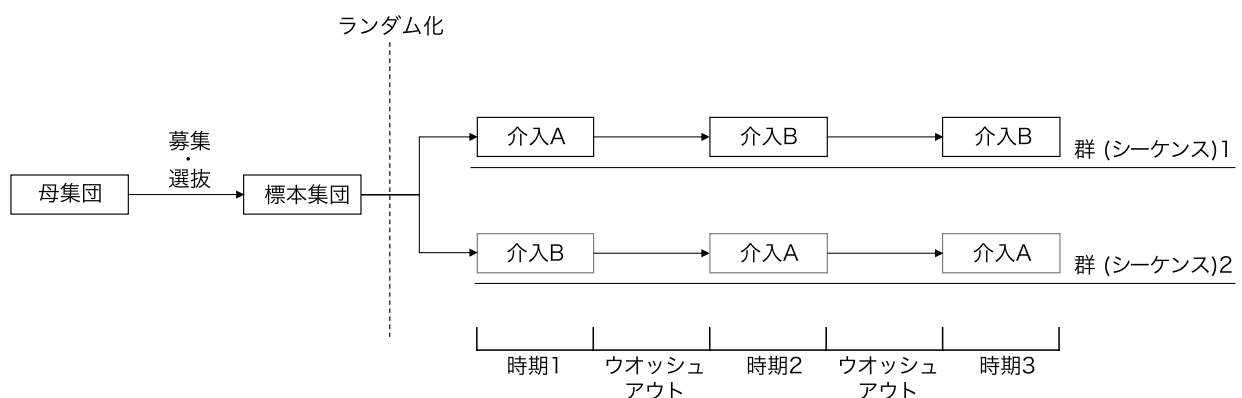


図3 $2 \times 2 \times 3$ クロスオーバー比較デザインの概略図

群 (シーケンス) 1 では時期1に介入 A, 時期2と時期3に介入 Bを施す。群 (シーケンス) 2 では時期1に介入 B, 時期2と時期3に介入 Aを施す。

表 11 「食後の血糖上昇関係」の検証試験を $2 \times 2 \times 3$ クロスオーバー比較デザインで実施した場合の IAUC の模擬データ

群	試験参加者	時期 1	時期 2	時期 3
群 1 (γ_1)	No. 1	125.00	128.00	101.00
	No. 2	51.25	59.00	58.50
	No. 3	102.75	84.00	60.88
	No. 4	65.75	142.75	59.00
	No. 5	138.25	87.00	56.00
群 2 (γ_2)	No. 6	154.75	143.00	99.50
	No. 7	35.31	28.95	70.00
	No. 8	68.25	140.00	79.00
	No. 9	77.25	85.75	122.75
	No. 10	145.75	80.75	129.50

表 12 $2 \times 2 \times 3$ クロスオーバー比較デザインの模擬データにおける分散分析表

要因	平方和 (S)	自由度 (ϕ)	平均平方和 (分散) (V)	分散比 (F)	有意確率
群効果	325.189	1	325.189	0.145	0.714
試験参加者残差	19745.806	9	2247.343	2.399	1.000
試験参加者	20070.995	10	2050.991	2.189	0.078
持ち越し効果	1974.799	2	987.400	1.054	0.370
介入効果	357.449	1	357.449	0.382	0.545
残差	15927.872	17	936.934	1.000	
全体	38331.115	30			

ルに組み込むことができる。具体的には、時期 1 では各群の持ち越し効果はないものとする。時期 2 では群 1 で介入 A の持ち越し効果、群 2 で介入 B の持ち越し効果が発生する。時期 3 では群 1 で介入 B の持ち越し効果、群 2 で介入 A の持ち越し効果が発生する。これらの持ち越し効果を解析モデルに組み込むが、時期効果をモデルに組み込むと持ち越し効果を推定できないことに注意する。表 11 の模擬データを実際に解析した結果が表 12 である。この分散分析表に示す通り、群効果とは別に持ち越し効果を残差から分離させている。

このように高次のデザインに拡張することで、持ち越し効果を排除することができる。ウォッシュアウト期間の設定根拠がない場合など介入効果が持ち越し効果の影響を受けている可能性があるヒト試験でも、持ち越し効果を排除することにより介入効果の有意差を検出しやすくなることができる。しかし、持ち越し効果が発生しないように十分なウォッシュアウト期間を設けることが重要であることに変わりはない。

まとめ

本稿は、機能性表示食品制度下におけるクロスオーバー比較デザインについて統計学的留意事項をまとめた。時期効果を排除できることや、症例数を減少させることなどのメリットが目立つが、試験期間の延長による脱落率の上昇や持ち越し効果の推定が困難であることが問題点としてあげられる。特に持ち越し効果は、重要な課題となる。ヒト試験の対象者が疾病者ではないことや、介入がサプリメントなどの食品であり、医薬品ほどの介入効果に及ばない可能性があることから推察すると、ウォッシュアウト期間を適切に設けておけば、持ち越し効果が生じることは考えにくい。とくに食後の血中濃度関係のような単回摂取を想定しているヒト試験は、持ち越し効果が生じることは考えにくい。しかし、「特定保健用食品の表示許可等について」にある通り、ヒト試験でクロスオーバー比較デザインを採用した場合には、持ち越し効果がないことが推奨されていることから、持ち越し効果の推定方法や結果の報告、考察の有無は、機能性表示食品制度の今後の課題である。

参考文献

1. 消費者庁. 機能性表示食品の届出等に関するガイドライン (2020 年 4 月 1 日消食表第 123 号)
(2020 年 10 月 13 日アクセス可能: https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/foods_with_function_claims/pdf/foods_with_function_claims_200401_0002.pdf)
2. 消費者庁. 特定保健用食品の表示許可等について (2020 年 4 月 1 日消食表第 109 号)
(2020 年 10 月 13 日アクセス可能: https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/health_promotion/pdf/food_labeling_cms206_200401_01-6.pdf)
3. 折笠秀樹. クロスオーバー試験の計画および解析. 薬理と治療, **44** (9): 1261-76, 2016.
4. 丹後俊郎. 無作為化比較試験—デザインと統計解析 (医学統計学シリーズ) 初版. 朝倉書店, 179-83p. 2003.
5. 厚生労働省. ICH E9 臨床試験のための統計的原則
(2020 年 10 月 13 日アクセス可能: <https://www.pmda.go.jp/files/000156112.pdf>)
6. 厚生労働省. 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン (令和 2 年 3 月 19 日薬生薬審発 0319 第 1 号, 別紙 1)
(2020 年 10 月 13 日アクセス可能: <https://www.pmda.go.jp/files/000234565.pdf>)
7. 厚生労働省. 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン質疑応答集 (Q&A) (令和 2 年 3 月 19 日事務連絡, 別紙 1)
(2020 年 10 月 13 日アクセス可能: <https://www.pmda.go.jp/files/000234569.pdf>)
8. Dwan K, Li T, Altman DG, Elbourne D.: CONSORT 2010 statement: extension to randomised crossover trials. *BMJ*. **366**: 14378, 2019. (PMID: 3136659)
9. Jones B, Kenward MG.: Design and Analysis of Cross-Over Trial. 3rd edition, Chapman and Hall, 113-7p. 2014. (DOI: <https://doi.org/10.1201/b17537>)

新解説

グルテンフリー穀物製品のマーケットについて (2)

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)^{1, 2}

竹内 美貴 (TAKEUCHI Miki)³ 中村 智英子 (NAKAMURA Chieko)³

Key Words: グルテンフリー穀物製品, マーケット

本論文「新解説 グルテンフリー穀物製品のマーケットについて (2)」は“Gluten-Free Cereal Products and Beverages” (Edited by E. K. Arendt and F. D. Bello) 2008 by Academic Press (ELSEVIER) の第 17 章 The marketing of gluten-free cereal products by J.Bogue and D.Sorenson の一部を翻訳紹介するものである。

グルテンフリー穀物製品；消費者研究技術の応用

初期段階, NPD (New Product Development, 新製品開発) プロセスの開発前段階で消費者をまとめる方法の 1 つは, いろいろなマーケット研究技術の利用だが, 例えばエスノグラフィーやデプスインタビュー, フォーカスグループ, コンジョイント分析, 官能分析のようなマーケット研究技術の利用である。

これらの研究技術の目的は, 消費者組織研究方法を通して消費者から生まれた情報を利用することであり, 関連のある消費者区分同様その製品のアイデアを確認することであり, 最後に消費者に受諾されるグルテンフリー製品のデザインとマーケットを助けることである。生まれたマーケット情報は, そこで消費者の新製品概念への消費者嗜好のモデルを作ることや, 消費者の受諾を予測することに用いる事ができ, そしてこれらの考えの消費者区分の違いとマーケットの機会を確認する。もし新しいグルテンフリー製品が商業的にも成功し, 消費者の受諾も得られるならば, この消費者誘導によるアプローチは, 極めて重要である。さらに消費者統一を通して, 会社は多分新しい, あるいは修正したグルテンフリー穀物製品のマーケット作成にスピードアップする事ができるだろう。

例えばエスノグラフィーやデプスインタビューのような定性的消費者調査手法は, グルテンフリー食

品の NPD プロセスでの概念のアイディエーションと生成段階において大切な役割りを演じる。例えば, エスノグラフィーやデプスインタビューは人生経験に多くのデータを生じ, さらに情報提供者に関する情報の豊かさを明らかにする (McDaniels and Gates, 1991)。Hill (1993) のコメントによると; “高低の情報提供者を通じて生きぬくことで, 研究者はある意味で他の方法論では殆ど認められないような方法で研究した現象を知ることができる。” Elliott and Jankel-Elliott (2002) は, ある条件下で挙動の信憑性を崩すことなく真の消費者と参加することは困難であると述べた。その意味では, エスノグラフィーは, 消費者らの行動を研究するのに使われ, 消費者が普通に生活している場合と, 特に毎日の生活の中にセリアック病, あるいは食品不耐性の経験の消費者が食品の調製と採択の面で問題と工夫の行動をしている場合を研究するのに用いられる。一方, あらわれる行動のパターンはデプス インタビューを通し, より良く早く認識ができ, 多面的な性質, 状況, さらに反響に対するやる気に大きな見通しを与え, さらに新しい製品やマーケットの機会の認識を導く事ができる (Kiener, 1995; Krueger and Casey, 2000)。

製品デザインの消費者の必要性の理解の面では, フォーカスグループは明らかに最も適した初めの

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会前会長, ³ 神戸女子短期大学

NPD 出発点である (Van Trijp and Steenkamp, 1998; Sultan and Barczak, 1999)。NPD に対するフォーカスグループの主な利点の1つは、消費者が自分の言葉で自分自身を表現できるようにし、社会的交流をグループ設定で可能にする。製品開発者は次にこの“消費者の声”情報を受け取らねばならぬ。フォーカスグループの技術はそこで十分に適したユニークな力を発揮し；革新の可能性を決定する；新しい技術と製品を消費者に出す；異なった製品への認識を提供する；新しい概念、サービス、製品に対する消費者の印象を集める；そして新しいアイデアを刺激する (McDonagh-Philip and Bruseberg, 2000; Sorenson and Bogue, 2005)。フォーカスグループは、消費者のグルテンフリー製品のアイデアと考える認識に対するユニークな洞察を得るために利用され；そこにはパッケージの変更、重量クレーム、新規変更成分の了解、さらに変更のポジション、値段の戦略が含まれる。全体的に、定性的な消費者研究技術を通じ生まれたデータは、そこで消費者が期待するグルテンフリー穀物製品の食品デザインする製品開発者を助け、さらに成功へのマーケット戦略の真の開発につながるものである。

差別化されたマーケットが、消費者の価値、必要性、信念、好みの異質性の認識にもとづいて、よりあたりまえのものとして認識される (Moriarty and Reibstein, 1986)。コンジョイント分析は、多変量技術であり、仮想多属性製品の中、消費者トレードオフの分析を通じて購入者決定プロセスのモデル化を行う (Green and Srinivasan, 1978)。コンジョイント分析は、グルテンフリー穀物製品のマーケット、および開発に取り込まれる市場担当者と R&D (研究開発) 担当者の両方に関係する多くの商業的用途に利用される。

マーケットの観点から、コンジョイント分析は広く使われた。それは；消費者による特定の付加価値の加わった製品の様相に結びつく価値を見積るため；消費者により採される異なった価値に基づくマーケットの区分のため；さらにいろいろなデザインの様相の中で、消費者のトレードオフの決定に基づく効果的な製品の価格設定と、ポジショニング戦略設計のためである (Green and Krieger, 1991, Herrmann *et al.*: 2000; Sorensen and Bogue, 2005)。ある R&D の見通しから、コンジョイント分析は次第

に次の点を重要にする；至適の機能のコンビネーションで消費者誘導の新しい製品の決定；新しい考え方の様相に対する消費者嗜好の予言；マーケットでこれまでにない新しい製品の実行可能マーケットの機会の確認である (Hair *et al.*: 1998; Kamakura, 1998; Sorensen and Bogue, 2006)。コンジョイント分析は、そこで極めて都合のいい消費者研究技術であり、R&D 担当者を“消費者の声”理解により近づけ、グルテンフリー食品・飲料の新しい製品デザインプロセスの目的のために、マーケティングと R&D 担当者の効果的な集合を促進する。

健康と健全マーケットの開発は、従来からあった製品との同等の味覚の点から消費者の感覚の納得にもとづいて行われた (Gray *et al.*: 2003)。しかしながら Wennstrom (2000) は、多くの新しい健康と健全食品・飲料は貧弱な消費者の納得であったと報告した。その意味では、食品選択とは官能的受け止め方によるものであるため、官能分析はグルテンフリー穀物製品の開発に重要で、さらに次第に大きくなる競争マーケットにおいても、官能分析は会社には彼らの製品とその競争者の製品に関する“実行可能な”情報競争を供給する。もっと具体的には、食品の官能的性質は食品製品開発者とマーケット担当者にとり極端に重要であり、それは彼らが直接製品の品質と消費者の納得に関係しているからだ。Bogue *et al.*: (1999) は、統合されたマーケットと官能分析は、消費者の要求と彼ら自身の高級感を認めると議論した。その意味では、官能分析はマーケットと技術的 R&D の間に自然な結びつきを与え、より完全な消費者の好みのイメージを与えてくれる (Biedekarken, 1993)。そこで官能分析は消費者と製品の間に結びつきを与える。さらに、最高のパフォーマンスで製品開発の方向性を与えてくれ、効果的なポジショニング戦略を与えてくれる (Goldman, 1994)。官能分析は、本質的にその元の製品の役割から品質管理上開発され、製品開発に用いられ、消費者の官能的嗜好を理解する事に寄与し、さらに官能観点から競争製品の評価に寄与する (Bogue *et al.*: 1999)。最近になって官能科学の開発が進み、消費者の食品納得詳細情報が得られ、そしてはっきりしたマーケット研究技術となった (Bogue *et al.*: 1999)。そこで官能分析は、マーケット担当者に次のことを与える；グルテンフリー穀物

製品の官能品質のより大きな理解；消費者向け製品品質；消費者による新グルテンフリー製品の考えの官能評価；消費者の観点による競争他社のグルテンフリー穀物製品の官能プロフィールである。

グルテンフリーマーケットのブランディングと食品プロモーション戦略

消費者は、平均してブランド選択にわずか 12 秒しかかけない (Moorman, 1995)。ブランディングは消費者の製品識別を助け、一方会社の方はイメージ構築とマーケットミックスの他の要素の計画を支援する。消費者がブランド名を聞いた時、それが彼らに競争品と違うイメージの視覚化を助け、丁度、消費者の中にブランド名で納得、好み、信頼性を生むようになる。その意味で、消費者はこれらの製品を競争者の製品と同じであるとは考えず、それらは会社の評判あるいはブランド名と評価する (Hisrich and Peters, 1991)。Jones (2001) は、今日のマーケットプレースをアイデアの戦争と視覚化し、もし会社が何かのために目立たないならば彼らは目立とうとしない会社とした。特に、彼はその会社がブランドよりも何かもっと別の深いものを必要としていたと感じた：会社がスペースを確保しライバルを守るような感情的な大きなアイデアである。そこでは、セリアック病の人々がどう購入決定するか、購入決定時に結びつくリスクを低下して安心を求めるか、購入決定プロセスの中でのブランドの重要性を理解する事はできない。

全生涯で永遠にグルテンフリー穀物製品を消費するセリアック病の人々にとり、食品製品に関係する購入決定は重要なことである。非常に低いグルテンレベル、1 日 0.1g ほどの低さはそれらに悪影響するため、グルテンフリー穀物製品の販売戦略としては消費者受諾にとり重要である (Palmer, 2004)。さらに、これらの製品がマーケットプレースでいかに位置どりするか、いかに促進されるかの問題と同様、誤った購入決定に結びつく危険性は、セリアック病をもつ人々にブランド認知の重要性を示す。これらのグルテンフリー穀物製品のマーケットにとり、会社はセリアック病の人々にどんな製品を供給するのがいいかを区別するチャンスであり、さらにグルテンフリー穀物製品を消費したいと思う人々に対してもチャンスである。Jones (2001) は、会社が彼ら

のブランドの後方に大きなアイデアをもつことにより、彼らの供給する競争上の優位性と差別化を市場に展開ができると感じた。

ブランド、製品プロモーション戦略に対する消費者の態度と即応性は、様々な消費者へのアピール、様々なブランドとプロモーション戦略により、認知集団、社会人口統計集団により異なる。例えば健康上の恩恵に関し、オンパックプロモーションや情報で、大人 35-59 才の健康・健全マーケット中より若年齢 20-34 才の方が正直な情報の位置と連絡メッセージ内容でより効果的影響を与える (Boyle and Emerton, 2002)。しかし重要な事は、グルテンフリー穀物製品の価値を消費者に伝えることで、そのときにマーケットの中には他の潜在的周縁区分を入れないことである。これは特にグルテンフリーマーケットにとり真実であり、そこでは会社はグルテンフリー製品をより大きな主流の魅力あるものに育てたいと思っているが、しかしセリアック病をもつ人々を独占のターゲットにはしない。このことを達成するため、会社はグルテンフリー製品の位置を決めようとするが、製品のライフサイクルの中のいろいろな時点に位置させようとし、はじめにセリアック病をもつ人々がすぐに必要とするような位置、次にはこれらの製品の位置を変えて主流の消費者にアピールするような確かな方法でその位置を変える。Wennstrom と Mellentin (2003) が主張するのは、[健康と健全な食品のため] 勝つための戦略の鍵は、主流マーケットで実際の消費者との唯一の足がかりを得るための架け橋を探すことであり、彼らの全製品による 100% の陣形をとり、そのゴールはできるだけ早く主流中のニッチな足場取りに勝つことである。これはより大きな主流のアピールを抱えたグルテンフリー製品マーケットの開発のためにマーケティング・ミックスの調整によって、セグメントごとのいろいろな消費者ニーズに応えることを必要とする。

流通経路とグルテンフリー穀物製品

良好な流通経路は、製品がうまくすすむのに不可欠であり、流通システムはいつもの顧客に流れやすくせねばならず、新しいターゲットマーケットの開発の可能性を大きくする (Hisrich and Peters, 1991)。健康と健全な食品・飲料のために 5 つの鍵に成る

流通経路があり、それはしばしば特別な製品カテゴリーにとり特異的である。これらの鍵になる流通経路とは；オンライン経路；通販/直販；薬屋；健康食品特別店；スーパーマーケットである（Moosa, 2002）。伝統的には、専門店、健康ショップ、オーガニックストアでグルテンフリー穀物食品の先駆店である。米国の2006年のグルテンフリー穀物製品販売では、未だ特別マーケットチャンネルが主体であり：健康食品と自然食品店（40%）；専門食料品ウェブサイトあるいはカタログ購入（20%）；主流スーパーマーケット（14%）であった。例えば米国の会社‘Cause You’re Special!は、オンラインでグルテンフリー食品をグルメの人に提供し、さらにまた健康食品店、専門食料品店を通して米国、アジア、ヨーロッパ中に提供した（Chase, 2006）。

グルテンフリー流通経路の大部分のもののうちの1つは、製品がニッチ（すき間市場）から主流の小売り店に移動してゆく。しかしながら、グルテンフリー穀物製品を選択しストックしているスーパーマーケットの数の増加は、グルテンフリー主流の流通に対しに大きな光を与える。その状況下で、Moosa (2002) は次のように述べた。グルテンフリー製品を含めた健康と健全マーケットの発展は、専門の小規模から主流の流通チャンネルに依存する；それは主流の消費者による需要の増加に基づき；大型食品、飲料会社と成分材料会社がニッチな（小さな）カテゴリー内で成長を刺激することに対する関心に基づき；彼らの競争者と自分自身の差別化を求める小売業者に基づき；さらに重要な点は、持続可能な価格戦略の特定に基づき行われている。

グルテンフリー食品の値段

Challener (2000) と Hasler (1996) は、健康と健全製品を特徴づけ、その中に機能的、有機的、グルテンフリー食品・飲料をある意味で消費者に付加価値のある“ブレイクスルー”食品として特徴付けして含め、一方でマーケットに大きな新しい成功製品として送り届けた。健康・健全のマーケットは、長期的成長と有益性のための価値創造の点で生産者と小売り店の両方の戦略的競争上の優位性を実現のため、事実上大きな可能性を持っている（Mark-Herbert, 2004）。Weststrate *et al.*: (2002) and Shah (2001) らは、健康・健全マーケットが会社の魅力を与えたの

は、一般の食品マーケットの平均成長率が年2-4%のスピードに比べて、平均成長率が年15-20%であるためと断言した。健康・健全マーケットの真の魅力は、値段の下落圧力に反応する従来の食品・飲料にも価値を与え、消費者は彼らの食品や飲料を選択するときに次第により大きな価値を金銭に求めるように成る（Longman, 2001; Moosa, 2002）。事実、グルテンフリーマーケットの発展が欠ける主な理由の1つは、会社はそこには入らぬが、グルテンフリー穀物製品を作るコストである。グルテンフリー食品の価格戦略はその技術に結びつき、そして時にこの食品の開発に使われる長い成分リストである。そこでグルテンフリー穀物製品は、賞金レベルの値段になる傾向があり、これはしばしばセリアック病の人々がグルテンフリー食事に対してきっかり反目することになる（Food Navigator USA, 2006b）。さらにそうすると、グルテン除去の食品の価値は高くなり、グルテンフリー食品・飲料のターゲット市場は制限され、特に消費者が食事からグルテン除去の価値、あるいは恩恵をすぐには受けられなくなる。例えば、Heasman and Mellentin (2001) および Hilliam and Young (2000) は、比較的業績不振、あるいは多くの注目を集める健康と健康ブランドの撤退もあり得ると考えた。例えば Novartis’ Aviva, Raisio’s Benecol, and General Mills’ Maval のオーバーな値段、そして特に高級値段戦略を通して巨大マーケット製品の遂行である。

Hilliam and Young (2000) は、そこで標準の従来からの製品以上に高い値段価格戦略の持続可能性に対して疑問視した。それらのベースに基づいて、Heasman and Mellentin (2001) と Von Ivensleben (2001) は、将来、健康と健全製品の高価格への消費者トレランス（我慢）については、意図されたターゲット市場；健康命題の強さ；ポジショニング戦略；例えば自然さ、便利、官能的楽しさのような製品のフォーマット（型）に関係する問題；等にかかわると議論した。

Wennstrom and Mellentin (2003) は、将来、マーケットに競争原理を残すため、会社は最もよい特別な健康・健全製品に対し、消費者が喜んで支払う値段戦略と割増をきめる必要があると結論した。グルテンフリー食品は、もし製品がよりメインストリームを流れるならば、多分より低いプレミアム価格戦略がうまく働くであろう。

結論

健康・健全マーケットの競争力の増加、および固有の新しい食品製造の開発プロセスに結びつく危険性は、グルテンフリー食品・飲料の開発と戦略的マーケットに消費者を巻き込む重要性にハイライトを与える。グルテンフリーマーケットは、健康・健全マーケットとして将来成長するための長期戦略と考へ、さらに高収益性の短期戦略を弱めるべきであるが、その原因は現在のグルテンフリーマーケットがニッチ（すき間市場）の性質によるためである。しかしながら、多分グルテンフリー穀物製品のターゲットマーケットは、これからセリアック病の人々を含むだけではなく、アレルギーや健康にネガティブの影響を与えられ他成分を除去したものを望む人々にも広がってゆくだろう。この点で、消費者の受諾に影響を与える鍵となる外因性（マーケット）、そして内因性（官能）の製品属性の同定は、それを特定することが必要で新しいグルテンフリー食品の開発には組み込む必要がある。グルテン

フリー穀物製品の開発とマーケティングは、そこで将来には消費者のライフスタイルに影響しながら変化する必要がある、そのためグルテンフリー穀物製品は消費者を念頭においてデザインされることは確かである。グルテンフリー食品の開発とマーケティングプロセス中に、消費者をマーケット研究を通し巻き込む事は、新しい食品製造開発に消費者の知識を管理するというよりも系統だった手段を提供する。この市場指向のアプローチをビジネスに採用する会社は、消費者の選択動機と価値システムのより深い理解から利益を得るであろう。より市場指向することは、研究開発担当者を助け、より消費者誘導の製品デザインになり、マーケット担当者の助けとなり、新しく現れるマーケット区分を認め、そしてより正確な情報戦略マーケットデザインをしてグルテンフリー食品・飲料をマーケットにもたす。これは順に食品・飲料両製造メーカー、小売店の競争力を改良し、グルテンフリーマーケットでの新しい製品の成功のチャンスを増す。

References

- Biedekarken, O. (1993). *Successful Food Marketing to the European Consumer*. European Sensory Network Symposium, 23-24 September, Rome, 1999.
- Bogue, J. C., Delahunty, C. M., Henry, M. K., and Murray, J. M. (1999). *Br. Food J.* 101: 301-316.
- Boyle, C. and Emerton, V. (2002). *Food and Drinks through the Lifecycle*. Surrey: Leatherhead International.
- Challener, C. (2000). *Chem. Market Report*. 257: 16.
- Chase, K. (2006). www.glutenfreegourmet.com
- Elliott, R. and Jankel-Elliott, N. (2002). Using ethnography in strategic consumer research, Discussion Paper No. 02/02. Exeter, UK: School of Business and Economics.
- Goldman, A. (1994). *Cereal Foods World* 39: 822-825.
- Gray, J., Armstrong, G., and Farley, H. (2003). *Nutr. Food Sci.* 33: 213-218.
- Green, P. E. and Krieger, A. M. (1991). *J. Product Innovation Manage.* 55: 20-31.
- Green, P. E. and Srinivasan, V. (1978). *J. Consumer Res.* 5: 103-123.
- Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. L., and Black, W. C. (1998). *Multivariate Data Analysis*, 5th edn. New Jersey: Prentice-Hall.
- Hasler, C. M. (1996). *Nutr. Rev.* 54: 6-10.
- Herrmann, A., Huber, F., and Braunstein, C. (2000). *J. Product. Econ.* 66: 7-96.
- Hill, R. (1993). *Ethnography and Marketing Research: A Post-modern Perspective*. Chicago: American Marketing Association.
- Jones, R. (2001). *The Big Idea*. London: Harper Collins Business.
- Kamakura, W. (1998). *J. Market. Res.* 25: 157-167.
- Kiener, S. (1995). *Direct Marketing* 57: 17-22.
- Krueger, R. A. and Casey, M. A. (2000). *Focus Groups: A Practical Guide for Applied Research*. California: Sage Publications.
- Longman, B. (2001). *Future Innovations in Food 2001: Forward-focused NPD and Maximizing Brand Value*. London: Reuters Business Insight.
- Mark-Herbert, C. (2004). *Technovation* 24: 713-719.
- McDaniels, C. and Gates, R. (1991). *Contemporary Marketing Research*. Minnesota: West.
- McDonagh-Philip, D. and Bruseberg, A. (2000). *Using Focus Groups to Support New Product Development*. London: Institution of Engineering Designers.
- Moosa, S. (2002). *Wellbeing: A Cross Category Approach to Nutrition, Health and Beauty*. London: Reuters Business Insight.
- Moriarty, R. T. and Reibstein, D. J. (1986). *J. Business Res.* 14: 463-486.
- Shah, N. P. (2001). *Food Technol.* 55: 43-46.
- Sorenson, D. and Bogue, J. (2006). *Int. J. Food Sci. Technol.* 41: 704-711.
- Stagnito Communications (2006b). www.stagnito.com
- Sultan, F. and Barczak, G. (1999). *Marketing Management Winter*.
- Van Trijp, J. C. M. and Steenkamp, J. E. B. M. (1998). *Innovation of Food Production Systems*. Wageningen: Wageningen Press.
- von Alvensleben, R. (2001). *Food, People, and Society—A European Perspective of Consumer's Food Choices*. Berlin: Springer-Verlag.
- Wennström, P. (2000). *Scand. J. Nutr.* 44: 30-33.
- Weststrate, J. A., van Poppel, G., and Verschuren, P. M. (2002). *Br. J. Nutr.* 88: 233-235.



健康長寿とコーヒーの関係 / 知識は力

東京薬科大学名誉教授 岡 希太郎

はじめに

コーヒーと健康の疫学研究では、「毎日コーヒーを飲んでいる人の寿命は長い」となっていて、その理由は「三大死因病で死亡するリスクが下がるから」です。三大死因病とは、心臓病、脳卒中、呼吸器疾患のことです。どれも高齢者が罹り易い老化関連疾患と呼ばれる病気です。これらの病気による死亡リスクが下がるのですから、寿命が延びることは容易に想像できます。国立がん研究センターが公開している日本人データを図1に示します¹⁾。

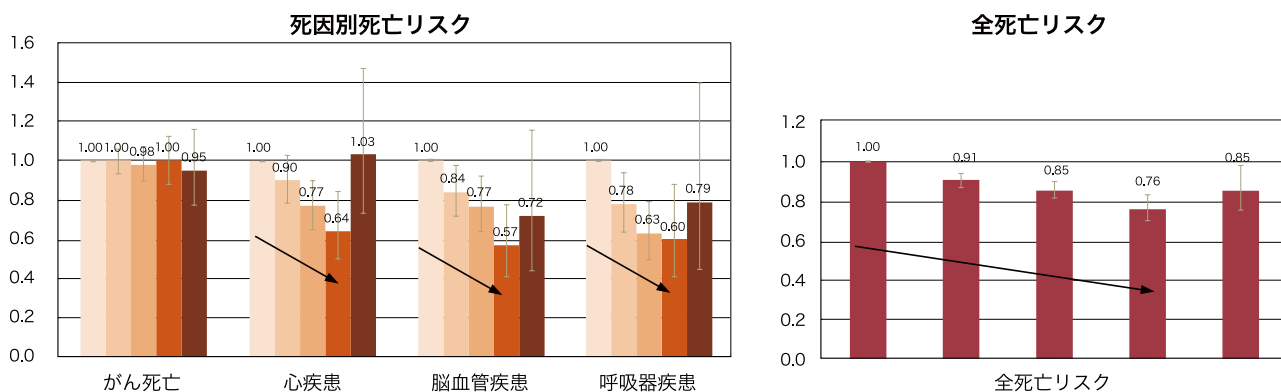


図1 コーヒー摂取と死亡リスクの関係

このコーヒーと寿命の関係は、日本人だけでなく、世界各地の人種差によらず、食べ物や生活習慣などの文化の違いにもよらず、何処でもほぼ同じデータが得られています。つまり、コーヒーと寿命の正の相関をもたらしている生命の仕組みは、ある特別な1つではなく、複数のメカニズムが関与している可能性が高いのです。一方、コーヒーに含まれている多くの成分のうち、特定の1つだけが関わっているのではなく、多数の成分が同時にまたは別々に係っているはずで、つまり生命のメカニズムとコーヒー成分の間には巨大なネットワークができていると考えられるのです。

コーヒーで死亡リスクが下がって寿命が延びる分子メカニズムは複雑に違いありません。どれか特別な長寿遺伝子があって、それが寿命をコントロールしているというものではなさそうです。それでも世界の製薬会社の中には、それぞれの考えで、ある特別な標的遺伝子またはタンパク質に照準を合わせて「不老長寿の新薬」を開発する動きが出はじめています²⁾。その切っ掛けは、「赤ワインのレスベラトロールがサーチュ

イン遺伝子（SIRT1）を活性化する」という発見や、大隅博士のノーベル賞のテーマになった「細胞を若返らせるオートファジー」の発見が挙げられます。そして疫学研究が示した「コーヒーと寿命の関係」が夢の新薬開発にさらなる拍車を掛けているように見えるのです。

1. 寿命と関連する遺伝子と生命現象

人は何故死ぬのか・・・生物学的な説明に定説はありません。神様がそうしたとしか言いようがありません。科学では、老化に関する複数の遺伝子が見つっています。まずそれらをまとめた総説論文を紹介しましょう³⁾。

図2をご覧ください。円の内側には、寿命に関連する因子（タンパク質または遺伝子と主な生命現象）が書いてあります。そのうち寿命を延ばす因子には↑、逆に寿命を縮める因子には↓が付けてあります。円の外側には、寿命を延ばす食べ物と生活習慣が書いてあります。ここで驚くべきことに、筆者の文献調査によれば、コーヒーはすべての因子を矢印の方向に修飾するということです。つまり、毎日コーヒーを飲んでいると、円の中の全ての因子の矢印が長寿の方向に修飾されて、元気で長生きするのです。コーヒーを飲む生活習慣が、断食や食事制限と似た影響を寿命に及ぼしているのです。

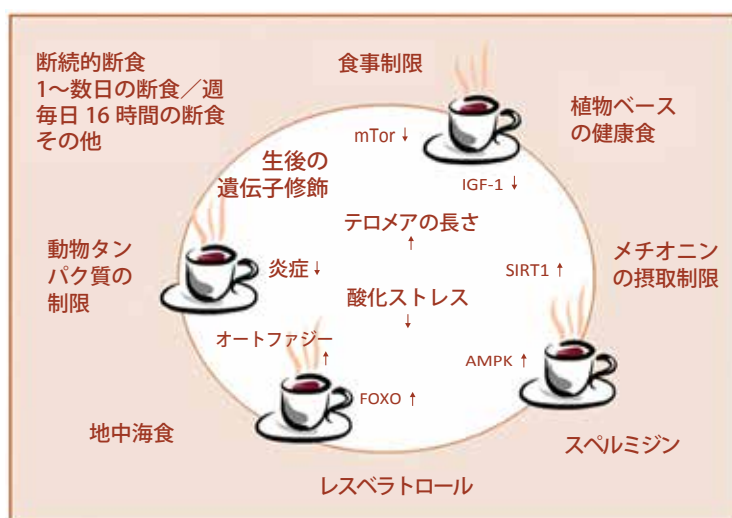


図2 寿命と関連する遺伝子（タンパク質）と主な生命現象

では、長寿関連遺伝子またはタンパク質が矢印とは反対に向いたら何が起ころうでしょうか？答えは「老化」です。人の寿命が個人個人で異なるのは、人それぞれに矢印の向きが違うからです。不健康な環境と食事が原因で、矢印が老化の方向に修飾されている遺伝子があれば、その遺伝子を逆の方向に修飾する・・・それが出来れば「寿命を延ばす新薬」が作れる・・・との考えに繋がってくるのです。

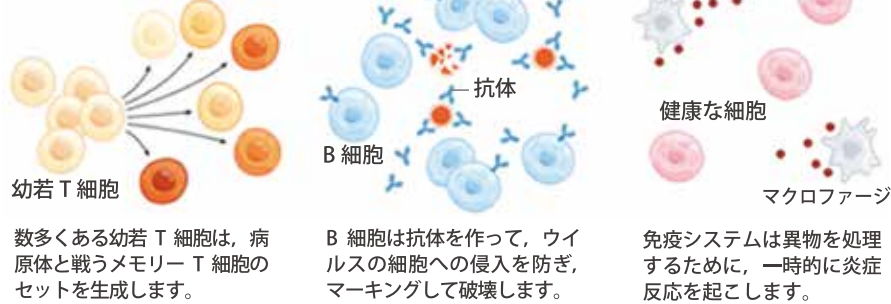
図2の円の中に書かれている生命現象のうち、テロメアの長さは別格として、炎症と酸化ストレスは表裏一体の関係で、オートファジーの影響を受けつつ寿命と関係しています。炎症は酸化ストレスによって生じ、免疫反応を刺激しますが、その免疫反応が更なる炎症に繋がります。そしてほぼ全ての疾患の基礎に慢性炎症があると考えられています。肥満が糖尿病や心臓病などの原因になっている背景には、過剰な脂肪細胞が放出する炎症性サイトカインがありますし、慢性化した歯周病が全身の慢性炎症を引き起こして、脳においてはアルツハイマー病とも関連すると言われています。オートファジーは、老化した細胞に蓄積する不用のタンパク質や小器官が細胞死を招く前に、細胞の自食機能を活性化して栄養素をリサイクルするメカニズムです。それによって老化した細胞の炎症が抑えられて、寿命を延長する方向に矢印が向いてくるのです。

では、ごく最近のNature誌から、年を取って劣化した免疫機能を、若い頃の健康な状態に若返らせる戦略を紹介しましょう。この解説記事は、今回のパンデミックで注目されている「子供と若者は感染しても無症状か軽症である」という事実を考察したものです（図3）⁴⁾。

防御機能の低下

免疫機能はさまざまな理由で年齢とともに低下する。例えば、一部の免疫細胞の働きが鈍化したり数が減ったりする。老化はしばしば過剰な炎症を引き起こし、免疫機能を破壊する（免疫加齢）。

若者の免疫系



高齢者の免疫系

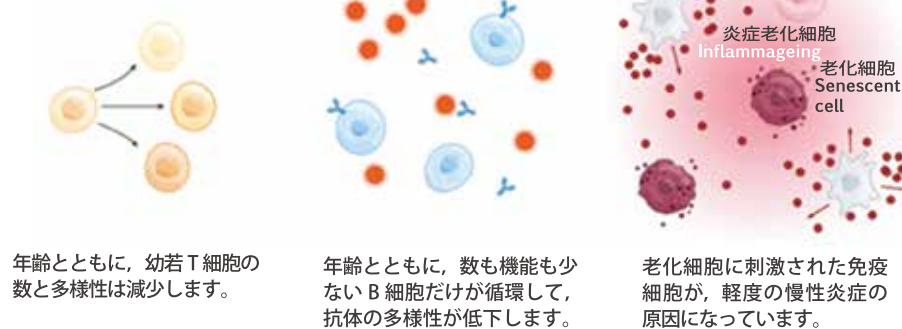


図3 若者と高齢者の免疫系の違い

先ず図3を見てください。炎症と免疫は表裏一体の関係にあつて、炎症が起これば免疫系は破壊され、免疫が亢進すれば炎症が起こります。炎症が老化を促進し、老化細胞は免疫細胞を刺激して、慢性的な炎症の持続が日常的になります。図3の上は若者の免疫模式図です。新たなT細胞を作る胸腺では、毎日多くの幼若T細胞が作られて血中に放出され、全身に分布します。その間に周囲の化学物質との接触を繰り返し、それぞれ特別な役割をもつ成熟細胞に育ちます。これらのT細胞は別途に作られたB細胞と協力して、病原体を撃退する能力を獲得するのです。実際に感染が起これば、一時的な炎症が起こりますが、戦いが終われば終息して元に戻ります。

次に図3の下は高齢者の場合です。毎日できるはずのT細胞の数が極端に減って、全身に分布しているのは若い頃にできた古い細胞がほとんどです。抗体を作るB細胞も同じです。老化した免疫細胞は数も少なく、多様性も乏しいので、限られた抗原にしか対応できません。しかも老化細胞がもっている変性したタンパク質などが異物となって免疫細胞を刺激するので、身体は常に慢性炎症の状態になっているのです。高齢者の慢性炎症のことを、炎症老化現象“*Inflammageing*”と呼ぶことがあります。

2. mTORの抑制とオートファジーの亢進

2016年のノーベル生理学賞は大隅良典先生に授与されました。業績内容は「細胞のmTORを抑制すれば、オートファジーを起こして細胞が若返る」というものでした⁵⁾。オートファジーとは、図1の円内に書かれているように、寿命を延長する生命現象の1つです。簡単に言えば細胞再生の栄養素リサイクルのことで、古くなったタンパク質やミトコンドリアなど小器官を、自ら消化分解（自食）してアミノ酸に戻し、それらを再利用すると細胞は若返るという現象です。断食や食事制限が健康と長寿に繋がる理由は、オートファジー回路の活性化にあることが解っています。

文献4で引用した*Nature*誌の解説では、mTORを抑制する糖尿病治療薬メトホルミンを、寿命延長の新薬候補にリポジショニングする開発事例が紹介されています。メトホルミンは、高齢者で上向きになっている

mTOR の矢印を下向きに変えるので、健康な免疫系を取り戻して若返るはずである・・・そういう大胆な仮説を臨床試験で実証できるか否か、非常に興味湧くところです。

大隅博士のノーベル賞受賞に先駆けて、コーヒーを飲ませたマウスでオートファジーが起こることが確認されています。マウスにコーヒーを飲ませると、カフェインの有無にかかわらず、全身の臓器にオートファジーが起こるのです⁶⁾。調べたすべての臓器でオートファジーによる変化が観察されました。しかもこれらの変化が mTOR の酵素活性の阻害によって起こることも解りました。カフェインはこの変化と無関係で、mTOR を阻害したコーヒー成分はポリフェノールであると推測されています。ポリフェノールはその抗酸化作用が健康を促進すると言われていますが、それとは別にオートファジーを刺激することで老化関連疾患を予防して寿命を延ばす可能性があるのです。

世界中で飲まれているコーヒーが、哺乳類の寿命を延ばすという発見は衝撃的で、Cell Cycle 誌の編集委員会は、インパクトの大きさを解説する記事に挿絵を付けて掲載しました⁷⁾。記事の表題は「The cup of youth: 若返りの一杯」という大胆なもので、その挿絵は生命科学の真面目な国際誌としては異例のものでした。「コーヒーカップをバスタブに見立てて、二人の若い女性がコーヒーを飲んでいる」という図柄は、有名学術誌としては珍事とも思えることでした。

この論文には、有効成分はカフェイン以外のもので、ポリフェノールが候補のように書いてありますが、その後の論文を検索してみると、コーヒーの成分で mTOR を抑制する化合物が次々に見つかっています。第 1 にはポリフェノールであるクロロゲン酸とフェルラ酸、メイラード反応の初期産物である 5-ヒドロキシメチルフルフラール、深く煎った豆だけに含まれるビタミン B₃ のニコチン酸といった具合です。恐らくこれらの化合物の相加・相乗作用が働いて、老化細胞のオートファジーが進行するものと考えられます。

おわりに

今回は図 2 の mTOR とオートファジーに焦点を当てましたが、コーヒーはその他の標的 (IGF-1, SIRT1, AMPK, FOXO) にも作用することが解っています。さらには酸化ストレスを減らしテロメアを長く保つ働きも見つかっています。コーヒーというたった 1 つの嗜好品が、これほど多くの標的に作用して、寿命を延長する生命現象を改善するなどとはとても信じられないことです。しかし、それらが科学的に解明されるのを見ていると信じないわけには行かなくなります。不思議なことに、古くから世界各地で発祥して現代に繋がる伝承医学に、コーヒーの記述は一切残っていません。中医学にさえコーヒーの処方はありません。考えてみると、文明とは距離を置いてエチオピアの山奥に密かに生えていたコーヒーノキが、人類の前に現れたとき、伝承医学は既に形を整えていて、そこにコーヒーが入り込む余地がなかったのです。コーヒーの効き目の解明と、飲み方の開発は、21 世紀になって始まったばかりです。

参考文献

1. Saito E, *et al.*: Association of coffee intake with total and cause-specific mortality in a Japanese population: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am J Clin Nutr.* **101**: 1029-1037, 2015.
2. 株式会社クイック (Nov 24, 2020 に閲覧) <https://answers.ten-navi.com/pharmanews/19277/>
3. Ekmekcioglu C.: Nutrition and longevity – From mechanisms to uncertainties. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **60**: 3063-3082, 2020.
4. Willyard C.: Ageing and COVID vaccines. *Nature* **586**: 352-354, 2020.
5. Kamada Y, *et al.*: Tor directly controls the Atg1 kinase complex to regulate autophagy. *Mol Cell Biol.* **30**: 1049-58, 2010.
6. Pietrocola F, *et al.*: Coffee induces autophagy *in vivo*. *Cell Cycle* **13**: 1987-1994, 2014.



図4 論文のインパクトの大きさを物語る専門学術誌の挿絵

バクチオール, オランダビュ果実油およびその製剤 フィトレチノール™の表皮・真皮におけるシワ改善メカニズム

Anti-wrinkle Mechanism of Bakuchiol, *Psoralea corylifolia* Fruit Oil and
PhytoRetinol™ on Epidermis and Dermis

宮坂 賢知 (MIYASAKA Kenchi) 竹田 翔伍 (TAKEDA Shogo)

山田 和佳奈 (YAMADA Wakana) 下田 博司 (SHIMODA Hiroshi)

Key Words: バクチオール, オランダビュ果実油, フィトレチノール™, シワ改善

はじめに

年を重ねれば必ず「見た目年齢」(外観から受ける印象を基にした年齢)も増加していく。「見た目年齢」を決める大きな要因は、加齢とともに増加するシワ、たるみなどの顔面の変化である。若年層の肌トラブルでは目立つ毛穴、ニキビや肌荒れが上位に挙げられるが、年齢が上がるに伴い、たるみやほぐれい線といった表情の変化にまで至る悩みが増えてくる。日本は、世界でも有数の長寿国であり、レチノール(ビタミンA)を主成分とする多くのシワ改善クリーム(医薬品)が使用されている。しかし、レチノールは安全性や安定性に問題があることから、これに代わる抗シワ成分として、植物由来の成分バクチオールが化粧品に使用されつつある。しかし、これまでのところ経口摂取でシワ改善作用が期待できる原料素材は少ない。

オランダビュ(*Psoralea corylifolia* Linn.)はマメ科オランダビュ属の植物で、インドや中国などの熱帯・亜熱帯地域に広く分布している。オランダビュの果実(補骨脂)はアユルヴェーダを発祥とし、中国薬局方にも記載されている。インドでは「バクチャー」などと称されており、民間薬として乾癬、ハンセン病、白斑などの皮膚疾患に適用されている。含有成分は、主成分であるバクチオールをはじめ、フラボノイドやステロイドなどが報告されている^{1,2)}。一方、日本では食薬区分上で食品扱いであり、ノコギリヤシ製剤やエナジー系サプリメ

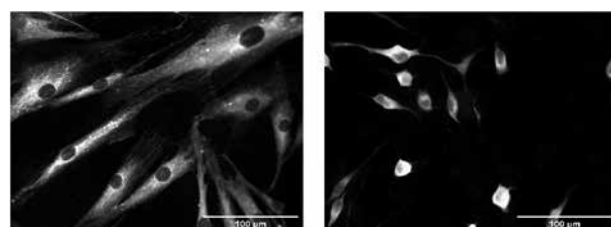
ントに使用されている。

そこで著者らは飲む(食べる)シワ改善素材として、オランダビュ果実油を原料とし、レチノイド様作用を有する成分バクチオールを規格化した「フィトレチノール™」を開発した。

本稿では、「フィトレチノール™」の原料であるオランダビュ果実油およびバクチオールの抗シワ作用に関する研究を紹介する。

1. UVA 照射による線維芽細胞骨格委縮の抑制作用

真皮は主に細胞外マトリックス(コラーゲン、ヒアルロン酸、エラスチンなど)と線維芽細胞で構成されている。線維芽細胞は細胞外マトリックス(ECM)を産み出す細胞である。通常、線維芽細胞(NB1RGB)を単層上に培養すると図1の左側のように骨格を広げる。その理由は、細胞間ネットワークを構築するためである³⁾。これに、UVAを照射



NB1RGB 細胞
(UVA 非照射時)

NB1RGB 細胞
(UVA 照射時)

図1 紫外線照射による線維芽細胞の形態変化
(アクチン免疫染色)

¹ オリザ油化株式会社 研究開発本部 新商品開発部 email: kaiatsu@mri.biglobe.ne.jp
〒493-8001 愛知県一宮市北方町沼田1

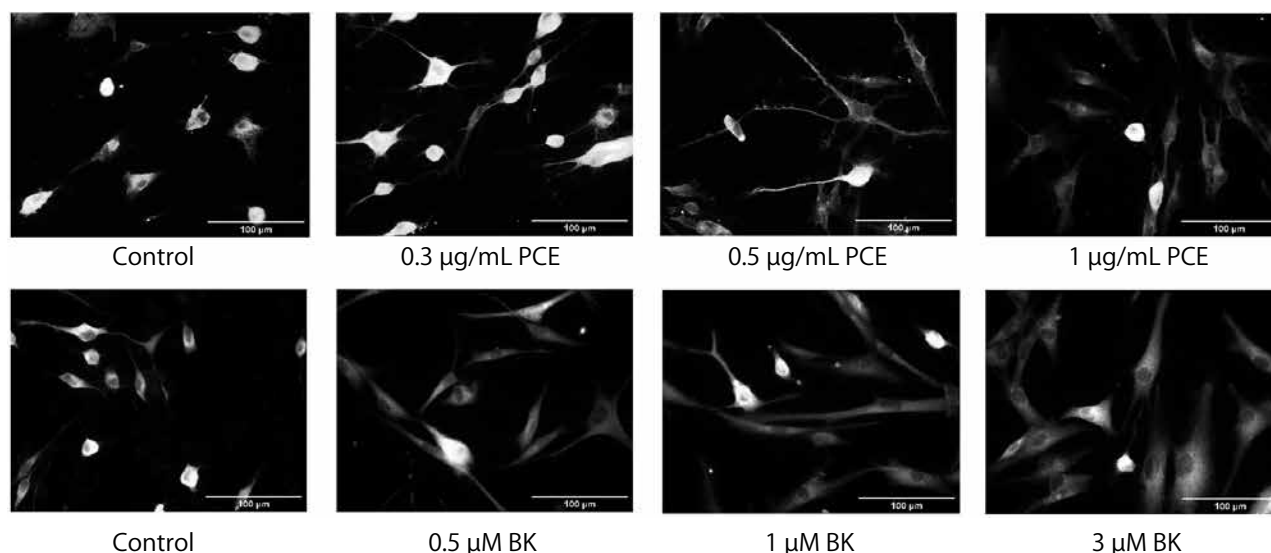


図2 オランダビユ果実油 (PCE) およびバクチオール (BK) の紫外線照射による細胞骨格の委縮抑制作用

すると図1の右側のように骨格が委縮することが確認された。この現象の弊害として委縮した線維芽細胞は、ECMのコラーゲン線維と解離し、コラーゲン線維構造の脆弱化や細胞活性の減弱〔コラーゲン産生量の低下、コラーゲン分解酵素である matrix metalloproteinase 1 (MMP1) の活性化〕が起こることが報告されている⁴⁾。

実験ではこの培養系にオランダビユ果実油 (0.3, 0.5 および 1 µg/mL) またはバクチオール (0.5, 1 および 3 µM) を添加して2日間培養し、培地をPBS (-) に交換した。UVA (10 J/cm²) を照射した後、血清不含有培地中で3時間培養し、蛍光免疫染色によって細胞骨格の構成タンパクである actin を染色した。結果として、オランダビユ果実油 (0.3, 0.5 および 1 µg/mL) およびバクチオール (0.5, 1 および 3 µM) を UVA 照射前に添加することで、UVA 照射による細胞骨格の委縮が濃度依存的に抑制された (図2)。これらの結果より、オランダビユ果実油およびバクチオールは、UVA 照射による線維芽細胞の障害 (コラーゲン産生量の低下、MMP1 の活性化) や真皮の構造維持の効果が期待できる。

2. ECM モデルでのコラーゲン構造強化作用

老化に伴う線維芽細胞のコラーゲン産生低下の原因として、細胞とコラーゲン線維の接着力の減衰が挙げられる。線維芽細胞は多数の点でコラーゲン線維に接

着・伸展した状態で真皮に存在している⁵⁾。しかし、光老化した皮膚では線維芽細胞は、その重要な足場となるコラーゲン線維から解離し、ECMの産生や細胞分裂などの正常な機能が減弱する。細胞とコラーゲンの接着剤として機能しているのがインテグリンという細胞膜表面に存在するタンパクである^{6,7)}。インテグリンは細胞外マトリックスだけでなく後述するラミニン5などにも接着し、真皮の構造を維持する働きを持つ⁸⁾。しかし、このインテグリンはUVAを照射すると減少し、細胞とコラーゲンなどのECMとの結合が弱くなることが報告されている⁹⁾。コラーゲン線維への接着点の減少が原因で発生する細胞形状の委縮は皮膚のたるみやシワの原因となる。

そこでオランダビユ果実油とバクチオールの線維芽細胞とECMとの接着性を評価する系として、コラーゲングルを用いた収縮実験を実施した。線維芽細胞をコラーゲングル中に包埋して培養すると、細胞が周囲のコラーゲン線維と接着し、細胞同士の相互作用により経時的にゲルが収縮する (図3)。細

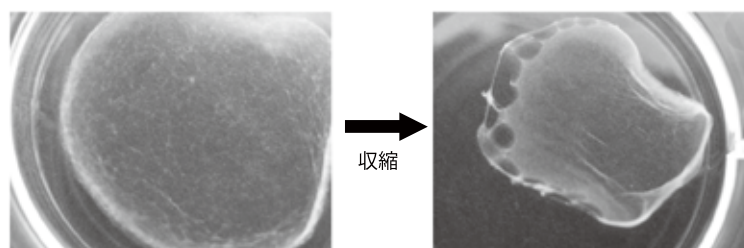


図3 線維芽細胞含有コラーゲングルの収縮

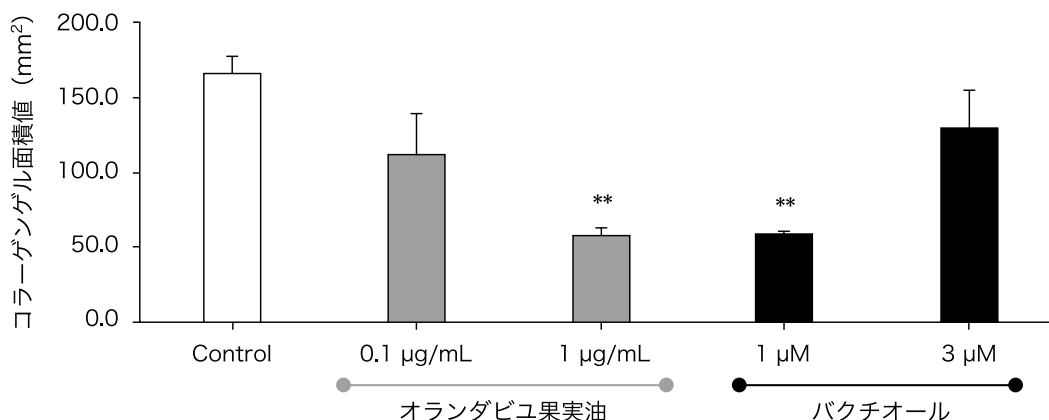


図4 オランダビユ果実油およびバクチオールのコラーゲンゲル収縮能の増強作用
 平均値±標準偏差 (n=3), **: P<0.01

胞がコラーゲン線維と強く接着しているほど収縮の程度は強くなる。一方、収縮強度は老化による酸化ストレスなどで低下することも報告されている¹⁰⁾。さらに、コラーゲンゲルの収縮度を確認した後に、蛍光免疫染色によるインテグリン $\alpha 1$ の検出を行った。実験では、この系にオランダビユ果実油 (0.1 および 1 µg/mL)、バクチオール (1 および 3 µM) を添加して、培地交換をしながら計 5 日間培養した後、コラーゲンゲルの面積測定およびインテグリン $\alpha 1$ の蛍光免疫染色を実施した。

実験の結果、オランダビユ果実油およびバクチオールを添加することで、有意なコラーゲンゲルの収縮が認められた (図 4)。さらに、インテグリン $\alpha 1$ を対象として蛍光免疫染色を行った結果、オランダビユ果実油およびバクチオールを作用させ

たゲルに強いインテグリン $\alpha 1$ の増加作用が認められた (図 5)。この結果より、オランダビユ果実油およびバクチオールは、インテグリン $\alpha 1$ の増加を伴って ECM を引き締め、老化により低下した皮膚の弾力性を向上させることで、皮膚のたるみの抑制やハリの維持、皮膚の引き締めに寄与するものと考えられる。

3. 表皮細胞でのラミニン 5 増加作用

皮膚は、外側から順に表皮、真皮、皮下組織と大きく 3 つの構造に分けられる。表皮と真皮は表皮基底膜構造によって密着に接しており、皮膚を摩擦しても表皮と真皮が解離しない理由は、表皮基底膜が正常に機能しているためである¹¹⁾。この基底膜構造の強度が減弱すると、表皮と真皮の接着性が弱く

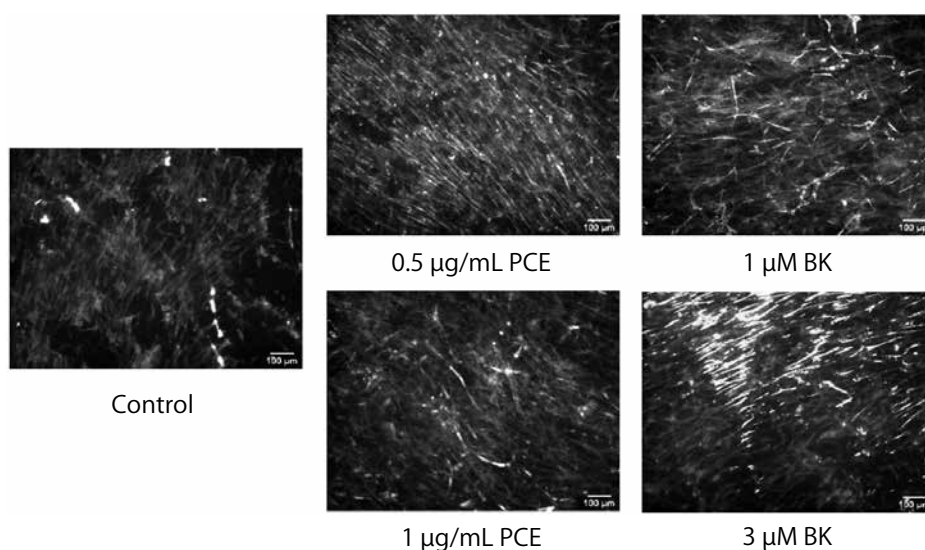


図5 オランダビユ果実油 (PCE) およびバクチオール (BK) の線維芽細胞含有コラーゲンゲルにおけるインテグリン $\alpha 1$ 増加作用

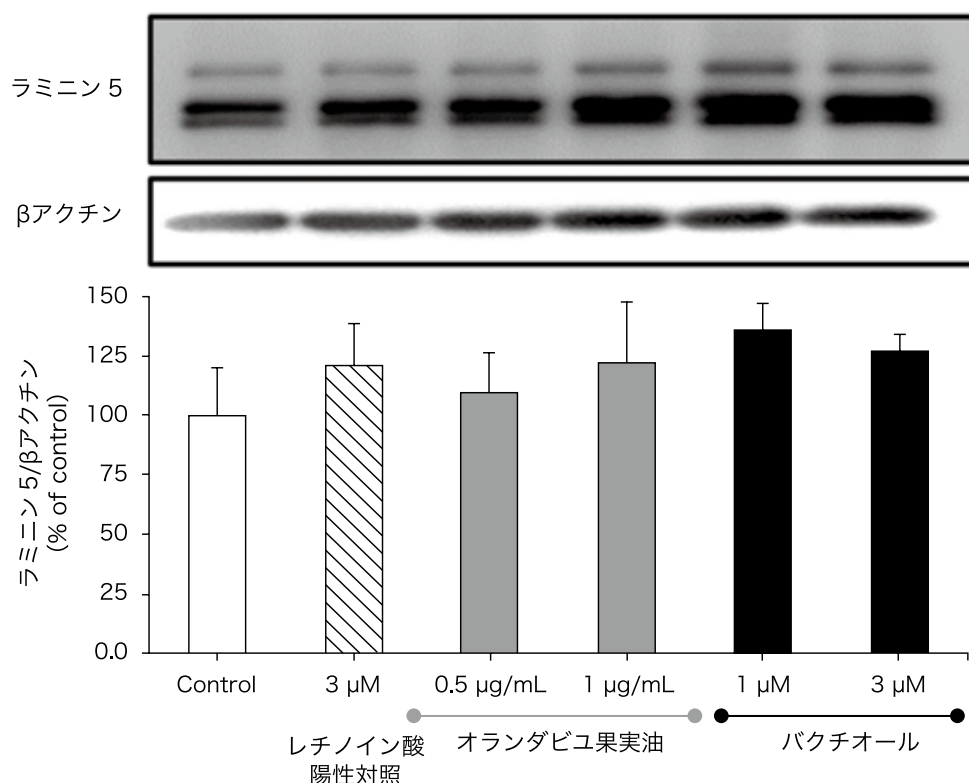


図6 オランダビュ果実油およびバクチオールの表皮細胞におけるラミニン5増加作用
平均値±標準偏差 (n=3, 4)

なり、皮膚のたるみや深いシワなどの原因となる。この接着剤としての役割を果たすタンパクがラミニン5である。そこで、この表皮基底膜に存在するラミニン5に着目し、オランダビュ果実油およびバクチオールの評価を実施した。陽性対照にはレチノイン酸（ビタミンA）を使用した。NHEK細胞（ 2.0×10^5 個）にレチノイン酸（3 μM）、オランダビュ果実油（0.5 および 1 μg/mL）、バクチオール（1 および 3 μM）を添加し、2日間培養した。培養後の細胞からタンパクを抽出し、Western Blotting 法によってラミニン5のタンパク発現量を確認した。

実験の結果、レチノイン酸と同様にオランダビュ果実油、バクチオールにラミニン5発現量の増加傾向が認められた（図6）。バクチオールの作用はレチノイン酸と同等であった。従って、オランダビュ果実油およびバクチオールは、表皮と真皮の接着性を高めることで、たるみやシワを改善する可能性が示唆された。

4. フィトレチノール™のシワ改善作用(臨床試験)

本試験は健康人男女19名（36～61歳）を対象としたオープン試験とし、バクチオールを3%含む

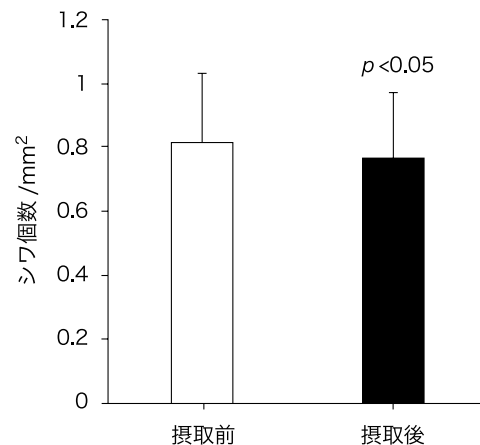


図7 シワグレード2～3のシワ個数の結果 (n=13)

フィトレチノール™-3（35 mg/day）を4週間継続摂取した。摂取前と4週後に、目尻のシワの写真撮影およびシワレプリカの採取を行い、シワの状態を評価した。その結果、浅いシワを示すシワグレード2～3（抗シワ製品評価ガイドライン参照）の被験者群において、摂取前と比較してシワ個数が有意に改善した（図7）。一方、深いシワを示すシワグレード4以上の被験者において、全体積率、シワ面積率、シワ体積率、シワ最大幅において改善傾向が認められた。顕著に目尻のシワに対して効果がみられた一

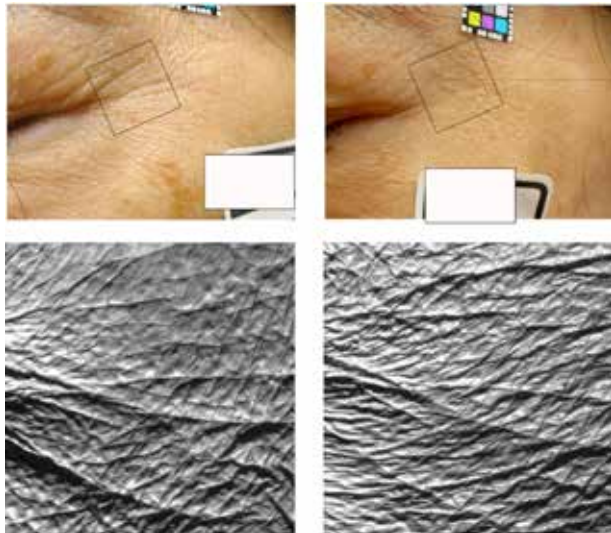


図8 被験者の目尻のシワにおける摂取前後の比較

例を図8に示す。よって、「フィトレチノール™」は浅いシワだけでなく、グレード4以上の深いシワの改善効果もあることが示唆された。

おわりに

本稿ではオランダビュ果実油とバクチオールTMの線維芽細胞および表皮細胞に与える影響と、臨床試験におけるフィトレチノールTMのシワ改善作用について述べた。肌のシワ・たるみ改善に関する消費者のニーズは老若男女問わず高まっており、明確なエビデンスに基づく素材を市場が求めるようになってきている。加齢によるECMの変化は既に知られているが、ECMとその生産者である線維芽細胞との相互作用についてはあまり焦点が当てられていない。フィトレチノールTMには真皮だけでなく、表皮細胞と基底膜の関係を強固にする作用も認められ、浅いシワ（表皮が原因）と深いシワ（真皮が原因）の両者に効果があることが示唆された。臨床試験の結果、浅いシワだけでなく深いシワに対しても改善作用が認められ、*in vitro*試験の結果に基づく作用であると考えられる。この機能性の特徴から、フィトレチノールTMはコラーゲンやエラスチンの産生を高める他の機能性素材との組み合わせにも有用と考えられる。

参考文献

1. Matsuda H., *et al.*: *Chem. Pharm. Bull.*, **55**: 106-110, 2007.
2. Matsuda H., *et al.*: *Biol. Pharm. Bull.*, **32**: 147-149, 2009.
3. 赤木隆美ら：薬剤学, **76** (5): 294-300, 2016.
4. Yamada H., *et al.*: *Exp. Derma.*, **25**: 45-51, 2016.
5. Nishiyama T., *et al.*: *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan*, **21**: 111-118, 1987.
6. 関口清俊：実験医学増刊「プロテオミクス時代のタンパク質研究」, 羊土社, 124-132, 2005.
7. 関口清俊：多細胞の構築と細胞接着システム, 共立出版, 100-123, 2001.
8. Carter W. G., *et al.*: *Cell*, **65**: 599-610, 1991.
9. Nakayai W., *et al.*: *Photoche. Photobio.*, **94**: 715-724, 2018.
10. 林 利彦：生物物理, **32**: 44-47, 1992.
11. 清水 宏：新しい皮膚科学 第2版, 中山書店, 5-6, 2011.

New Business Models and Lifestyle Choices Triggered by COVID-19:

Ryusuke Oishi*

*Correspondence to: Faculty of Economics, Meikai University
1 Akemi Urayasu Chiba 279-8550, Japan. e-mail: r-o@meikai.ac.jp

Key Words: COVID-19, Food Business, Food and Restaurant Industries,

Abstract

Owing to the spread of COVID-19, our lives have changed dramatically. Consumer demand has shifted substantially from eating out to eating at home. As a result, restaurants and businesses are at a crossroads. To meet consumer demand, restaurants have started to actively develop takeout menus. Moreover, a new format of delivery is now attracting attention. In this study, we consider the current situation and future prospects for restaurants because of the influence of COVID-19.

1. Introduction

At the end of 2019, the novel coronavirus (COVID-19) was first identified in Wuhan—a city located in Hubei Province, China—and has since spread to the rest of the world¹⁾. Its impact has been immeasurable, and in less than a year, our lives have changed dramatically. Specifically, to prevent the spread of the disease, people began to avoid having physical contact with each other, which made it difficult to carry out activities that they had taken for granted in their lives. One example of this is the restrictions placed on office workers who would normally commute to their jobs as well as on some students who are now restricted from going to school to attend classes in person. Moreover, owing to restrictions placed on restaurants or people voluntarily refraining from eating out, restaurants and food producers have suffered a major blow²⁾.

In the midst of these difficulties, however, people have begun to adapt to new lifestyles and new ideas are continuously emerging. For example, restaurants are actively developing takeout menus, and new home delivery businesses such as Uber are attracting growing attention. Thus, these new attempts to adapt are expected to be utilised even after COVID-19 infections are brought under control.

In this study, we consider how the new initiatives

triggered by COVID-19 will affect our lives in the future, with a specific focus on new approaches being taken by restaurants. The remainder of the study is structured as follows. Section 2 briefly discusses the situation of restaurants against the backdrop of the spread of COVID-19; Section 3 discusses how food delivery systems have adapted in recent months; Section 4 summarises our findings.

2. Changes in the Japanese Food Service Industry Following the Spread of COVID-19

The food service industry is one industry that has been most substantially impacted by COVID-19. Since COVID-19 is believed to spread to others mainly via droplets produced from the mouths of infected individuals, many people have chosen to refrain from eating and drinking in places where others gather. Table 1 shows the changes in percentage point of consumer expenditures on food in August and September 2020.

The data in **Table 1** presents the changes in consumer behaviour following the spread of COVID-19. In particular, to prevent COVID-19 infections, consumers began eating and drinking more at home rather than going out to crowded locations. Therefore, in August and September of 2020, consumer spending on at-home cooking ingredients (i.e. pasta, Instant Noodles, Fresh

Table 1: Changes in Percentage Point of Consumer Food Expenditures in August and September 2020

Item	2020 August	2020 September
Pasta	17.0	20.5
Instant Noodles	18.7	16.9
Fresh Meat	16.0	8.1
Frozen Cooked Food	21.6	16.3
Shochu Highball, Cocktail	44.4	20.2
Meal	▲ 33.4	▲ 21.3
Drink	▲ 64.7	▲ 54.6

Source: Statistics Bureau of Japan, 6 November 2020, Family Income and Expenditure Survey (Reference [3])^{*1}.

Meat, Frozen Cooked Food and Shochu Highballs and Cocktails) increased. By contrast, consumer spending on dining out (denoted ‘Meal’ and ‘Drink’) fell sharply.

The changes in consumer behaviour have had a significant impact on restaurants. In part, this is because even if sales decrease, restaurants must continue expensing their fixed costs (i.e. rent and labour), which can make business continuity difficult in cases where no new income is generated.

3. Emergence of New Demand despite Spread of COVID-19

As stated in the previous section, consumer demand has shifted considerably from eating out to eating at home. However, consumer demand for restaurants has not completely disappeared. Many consumers, including the author of this paper, have begun picking up takeout orders from restaurants to enjoy at home. This new mode of food delivery has attracted attention as a way to replace revenue streams from dine-in customers, thus encouraging many restaurants to actively develop takeout menus that meet such consumer demands.

In addition, a major change in the food industry has been the dramatic increase in food delivery services. To enjoy a restaurant’s meals at home, however, patrons must find a method to transport the food to their homes, which some consumers find difficult. For restaurants

to make sufficient profits from takeout menus, it is necessary to meet the needs of consumers who are unable to take food home.

Traditionally, restaurants in Japan have been hesitant to offer full-scale delivery services as doing so would be inefficient, implying a time-based opportunity cost along with a labour-based cost associated with not having an employee present in the restaurant to prepare food. Furthermore, consumers have often been reluctant to place such orders owing to expensive surcharges that restaurants must include to account for the aforementioned costs.

Under these circumstances, new delivery formats (i.e. Uber Eats) are attracting the attention of consumers and restaurateurs. At Uber Eats, registered restaurants receive delivery orders and Uber Eats-registered employees, called delivery partners, deliver the meals after picking them up from the restaurants^{5)*2}. This system has several advantages over traditional food delivery services conducted by restaurants individually. First, the burdens placed upon restaurants as mentioned above (sending employees to deliver and making business inefficient) can be eliminated. Second, small restaurants that would not otherwise be able to carry out delivery services can now deliver their meals. Third, new employment opportunities (i.e. delivery partners) are created.

In addition, the awareness of businesses and customers regarding infection prevention has increased. For example, restaurants have started to actively take measures against the spread of COVID-19 through the installation of disinfection units, spacing between seats, the installation of partitions to prevent contagion via droplets, etc. In Tokyo, to balance economic activities and the prevention of COVID-19, the Tokyo Metropolitan Infection Prevention Guidelines for Businesses were created⁶⁾. Restaurants that abide by these guidelines in implementing infection prevention measures are subsequently allowed to put a ‘Thorough Infection Prevention Declaration’ sticker in their stores⁶⁾, lending added credibility to the restaurants and giving customers peace of mind.

^{*1} ▲ indicates a decrease. The author provided Table 1 by using information in reference [3]. Reference [3] is in Japanese and was translated to English by the author. Among the items, ‘meal’ and ‘drink’ represent the changes in dining out. The values in table 1 are the fluctuation adjusted values. For the calculation method of fluctuation adjusted values, refer reference [4]. However, note that reference [4] is in Japanese.

^{*2} Reference [5] is in Japanese.



Picture (left): Image of delivery partner^{*3}. Picture (Right): Alcohol disinfection effective against COVID-19 infection.

4. Conclusion

COVID-19 has had an immense impact on the economy and on our lives. The impact on restaurants has been particularly noteworthy, as have been the struggles that many face in continuing to generate new revenue streams. Under these circumstances, society has generated new demands, and new businesses are beginning to be created to meet them. Given that opportunities exist for

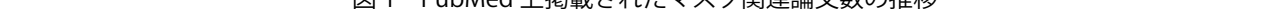
restaurants to capitalise on lifestyle shifts and for the ways in which people conduct business to change, we can expect to observe continuous adaptation long after the spread of COVID-19 has subsided. Thus, it may be said that the measures created to overcome the current situation, in the midst of difficulties, will improve our lives in the future.

^{*3} Picture (left) is to show the image, not the official delivery partner of Uber Eats.

List of References

1. World Health Organization. Rolling updates on coronavirus disease (COVID-19). <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen> Accessed on 18/04/2020.
2. Oishi, R.: 'Effect of New Coronavirus (COVID-19) on Food and Restaurant Industry'. *New Food Indust.*, **62**(11): 2020.
3. 総務省統計局：家計調査 新型コロナウイルス感染症により消費行動に大きな影響が見られた主な品目など 令和2年11月6日 Somusho Tokei Kyoku Kakei Chosa Shingata Korona Wirusu Kansensho Niyori Shohi Kodo Ni Okina Eikyo Ga Mirareta Omona Hinmoku Nado Reiwa 2 Nen 11Gatu 6 Nichi. Statistics Bureau of Japan, 6th of November 2020, Family Income and Expenditure Survey, 'Major Items Whose Consumption Behaviour was Significantly Affected by the New Coronavirus Infection'. https://www.stat.go.jp/data/kakei/sokuhou/tsuki/pdf/fies_rf1.pdf Accessed on 2020/11/09
4. 総務省統計局：統計 Today No. 140 家計調査の「変動調整値」とは？—2018年調査方法変更による影響について— Somusho Tokei Kyoku Tokei Today No. 140 Kakei Chosa No 「Hendo Chosei Chi」 Toha?—2018 Nen Chosa Hoho Henko Ni Yoru Eikyo Ni Tuite—. Statistics Bureau of Japan, Statistics Today No. 140, 'What is the Fluctuation Adjustment Value of the Family Income and Expenditure Survey? Impact of the 2018 Survey Method Change. <http://www.stat.go.jp/info/today/140.html> Accessed on 2020/11/15.
5. Uber Eats レストラン用ダッシュボードご利用ガイド Uber Eats Resutoran Yo Dasshu Bo-do Goriyo Gaido. Uber Eats, Restaurant Dashboard User's Guide. https://uber.app.box.com/s/45fq3wzfw24otcse49ysdrbtvuqf78id?_ga=2.160986174.2032088996.1604999552-1984323572.1604999552&uclid_id=ff455df4-6a85-4b90-8d6b-831c8523897c Accessed on 2020/11/09.
6. 東京都防災ホームページ：事業者向け東京都感染拡大防止ガイドラインの取組の流れ Tokyo To Bosai Homu Pe-ji Jigyosha Muke Tokyo To Kansan Kakudai Boshi Gaidorain No Torikumi No Nagare. Disaster Prevention Division, Bureau of General Affairs, Tokyo Metropolitan Government Management Section, Process of Efforts to Prevent the Spread of Infection in Tokyo for Businesses. https://www.bousai.metro.tokyo.lg.jp/_res/projects/default_project/_page_001/008/420/2020073001.pdf Accessed on 2020/11/09.

Weapons for fighting COVID-19 ----Evidence shows us how useful masks are



ない新型コロナウイルス感染症に対して、戦う武器はないだろうか。そこで本稿では、マスクに関する最新研究結果を紹介する。PubMed 上でマスクとウイルスをキーワードで検索すると、国際誌に掲載された論文数が 2062 報あった。図 1 で示したように、2019 年まで論文数はせいぜい年間数十報だったが、2020 年に入ってから、その数が急増し、1053 報に昇った（中には 6 報が 2021 年の発表）。それは新型コロナウイルス感染症のパンデミックと戦うために、世界中の研究者がマスクの研究を急スピードで進めたことだ。我々も 2020 年 4 月からマスクの研究を始めて、論文 2 報を掲載した。では、この 1000 報超の論文データは何を語るのか、その知見を下記のように示した。

1. マスクの有用性

感染症の予防対策として、マスクの有用性を疑う必要はないが、アメリカの大統領トランプ氏とその支持者らはマスクの有用性を軽蔑する言動が度々あり、アメリカの感染拡大の一因といっても過言ではない。最新の研究結果によると、マスクの使用はウイルスの伝播を防ぐだけではなく、マスク着用者は吸入したウイルス量が大幅に減少するため、感染しても重症化にしにくい効果も観察された¹⁾。2020 年 5 月、アメリカのミズーリ州の 2 人の美容師が新型コロナウイルスに感染した事例がマスクの有効性を実証した。感染した美容師達が仕事時 2 層の布マスクか外科マスクを着用していたため、濃厚接触者に該当する 139 人の客は 1 人も感染しなかった。その一方で、美容師達の家族は感染した²⁾。アメリカの IHME COVID-19 Forecasting Team の試算では、2021 年 2 月末までにアメリカの新型コロナウイルス感染症の死亡人数は 51 万人を超える見込みだが、2020 年 9 月 22 日から 2021 年 2 月末までの間に、マスクの着用と社交距離の保持によって、約 13 万人の命が救われるということだ³⁾。さらに、Leffler らは世界中 200 カ国の中で、マスク着用の効果と新型コロナウイルス感染症の死亡率の関連性を分析した。その結果、政府がマスク着用を推奨する国あるいは国民が習慣的にマスクを着用する国では、マスク不着用の国と比べて、毎週死亡率の上昇幅が後者の四分の一しかなかった⁴⁾。香港大学の研究チームはハムスターを用いて、マスクの新型コロナウイルス感染予防効果を調べた。結果として、新型コロナウイルス感染リスクがある環境下で、マスクを着用したハムスターの 25% は新型コロナウイルスに感染したのに対して、マスク未着用のハムスターの 66.7% は感染した。そして、コロナに感染したマスク着用のハムスターは未着用のハムスターより症状が軽かったことが分かった⁵⁾。

2. マスクの選び方

N95 マスクは医療現場で標準的に用いられる防護ツールの一つとして、長径 $>0.3 \mu\text{m}$ のウイルス粒子を含むエアロゾルの通過を最も効率よくブロックする⁶⁾。我々の研究では、外科マスク、2 層の T シャツ用 100% 綿、4 層のシルク、4 層のリンネのいずれか、長径 $0.78 \mu\text{m}$ の粒子を 6 割以上遮断できることが明らかになった。中には遮断率が最も高かったのは 4 層のシルク (93.8%) である⁷⁾。

アメリカの CDC が一般用として推奨されたマスクは次の通りである⁸⁾。

- ①市販使い捨てマスク：不織布で作られたマスクで、防護性と利便性が高いが、ごみの量が増加し、環境への負担が高い。また、不織布マスクの着用による皮膚炎の発症も増加している。
- ②ユニバーサル布マスク：以下の基準に満たせば防護性が高いとされる。

- a. 顔にフィットし、隙間を作らない、
- b. 呼吸しやすい、
- c. 布の繊維密度が高い（繊維密度が高ければ高いほどウイルスの遮蔽率が良い）、
- d. 2 層以上の生地がある、異なる生地で作った布マスク（例：T シャツ用 100% 綿 + シルクあるいは T シャツ用 100% 綿 + サテン）のほうが単一生地のマスクよりエアロゾルをブロックする効率が高い⁶⁾。また、布マスクは洗濯可能なので、環境への影響が少ない。

筆者は自宅で実施可能な布マスクのフィルター性能簡易評価法を発明した⁹⁾、その方法を利用して、各種マスクの防護性能を評価することができる。

参考文献

1. Chu DK, Akl EA, Duda S, Solo K, Yaacoub S, Schünemann HJ: COVID-19 systematic urgent review group effort (SURGE) study authors. Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2020; **395**(10242):1973-1987. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31142-9.
2. Hendrix MJ, Walde C, Findley K, Trotman R.: Absence of apparent transmission of SARS-CoV-2 from two stylists after exposure at a hair salon with a universal face covering policy - springfield, Missouri, May 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020; **69**: 930-932. doi: 10.15585/mmwr.mm6928e2.
3. IHME COVID-19 Forecasting Team.: Modeling COVID-19 scenarios for the United States. *Nat Med*. 2020 Oct 23. doi: 10.1038/s41591-020-1132-9.
4. Leffler CT, Ing E, Lykins JD, Hogan MC, McKeown CA, Grzybowski A.: Association of country-wide coronavirus mortality with demographics, testing, lockdowns, and public wearing of masks. *Am J Trop Med Hyg*. 2020 Oct 26. doi: 10.4269/ajtmh.20-1015.
5. Chan JF, Yuan S, Zhang AJ, Poon VK, Chan CC, Lee AC, Fan Z, Li C, Liang R, Cao J, Tang K, Luo C, Cheng VC, Cai JP, Chu H, Chan KH, To KK, Sridhar S, Yuen KY.: Surgical mask partition reduces the risk of noncontact transmission in a golden syrian hamster model for coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020; **71**: 2139-2149. doi: 10.1093/cid/ciaa644.
6. Konda A, Prakash A, Moss GA, Schmoldt M, Grant GD, Guha S.: Aerosol filtration efficiency of common fabrics used in respiratory cloth masks. *ACS Nano*. 2020; **14**: 6339-6347. doi: 10.1021/acsnano.0c03252.
7. Xiao L, Sakagami H, Miwa N.: A new method for testing filtration efficiency of mask materials under sneeze-like pressure. *In Vivo*. 2020; **34**: 1637-1644. doi: 10.21873/invivo.11955.
8. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/cloth-face-cover-guidance.html>
9. 肖 黎：手作りマスク安全なの？マスク用生地のフィルター性能簡易測定法の開発, *New Food Industry*, 2020; **62**: 412-414.

城西大学薬学部 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)

オモト *Rohdea japonica* (Thunb.) Roth
[ユリ科 Liliaceae APG 体系：
キジカクシ科 (クサスギカズラ科) Asparagaceae]

連絡先：城西大学薬学部
shiratak@josai.ac.jp

年の始めに縁起物としてナンテン、フクジュソウ、ヤブコウジなどとともに、しばしばオモトが飾られます。オモト（万年青）は、関東以西の日本、中国に分布し、観賞用にも栽培される常緑の多年生草本です。根茎は太く、根際から長さ 15 ～ 50cm、幅約 5cm の葉を数枚出し、葉は厚く、艶があります。春から初夏にかけて葉の間から長さ 5 ～ 20cm で淡黄色の太い花茎を伸ばし、その先に長さ 3cm 前後の穂状花序をつけます。花穂には直径 5mm ほどの花が密生し、各花の基部に広卵形で長さ 2 ～ 3mm の薄い膜のような苞がついています。花の構造は、花被片 6 枚、雄しべ 6 個で花糸はほとんど花被片に合着し葯は卵形です。子房は 3 室で各室には 2 胚珠があり、花柱は短く柱頭は 3 裂し、花粉は、カタツムリやナメクジなどの有肺類によって媒介されます。オモトはその重厚感のある植物体に比べ、花は地味で目立ちませんが、果実は直径約 1cm、球形の液果で晩秋に赤く熟し、冬の林床ではひととき目立ちます。また、昔から広く人々に愛好されている植物なので数多くの園芸品種があります。

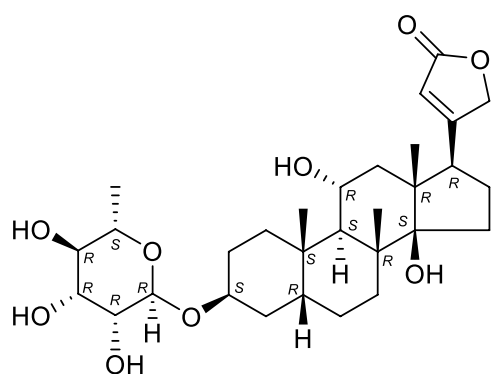
根茎をマンネンセイコン（万年青根）、葉をマンネンセイヨウ（万年青葉）といい、強心配糖体の rhodexin A, B, C, D, スピロスタン系サポニンの rhodeasaponin など（4 種：CAS No. 20815-01-04, 20815-00-3, 20814-99-7, 20814-98-6）を含み、これらはジギトキシン類似の強心作用を示します。強心配糖体は心筋細胞膜にある Na^+ , K^+ -ATP アーゼ（Na ポンプ）に結合してその作用を阻害し、 Na^+ と K^+ の能動輸送を阻害します。その結果、細胞内 Na^+ 濃度が増加し、それに共役して細胞内 Ca^{2+} 濃度も上昇して心筋の収縮力が高まります。強心配糖体は心臓の収縮力が低下し、全身に十分な血液が送れなくなるうっ血性心不全あるいは心臓の拍動が早くて血液を十分に送り出せない心房細動の治療に使われます。しかし、有効域と中毒域の間が狭いという大きな問題があります。オモトを誤って食べると、悪心、嘔吐、不整脈を起こし、重症になると全身麻痺、呼吸



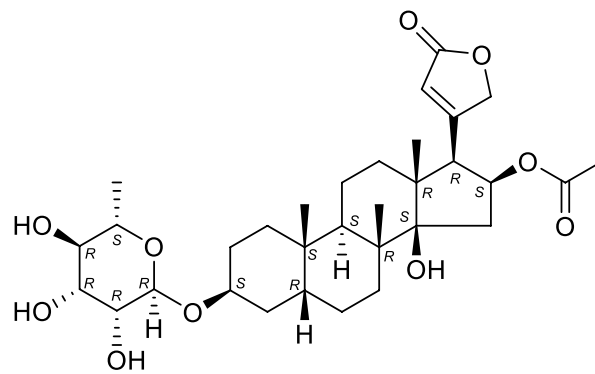
写真 1 オモト（花）



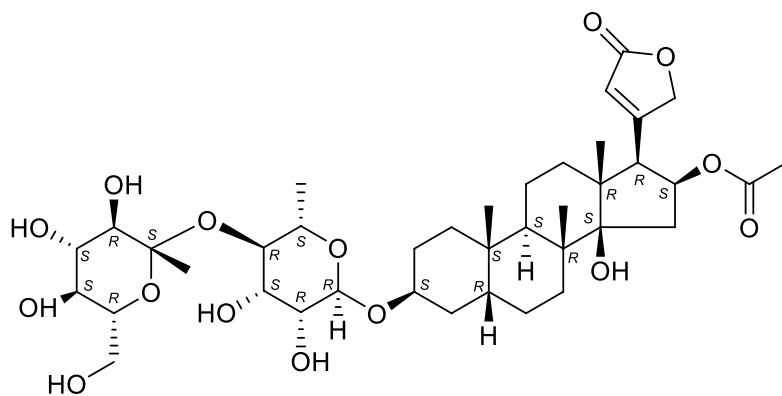
写真 2 オモト（果実）



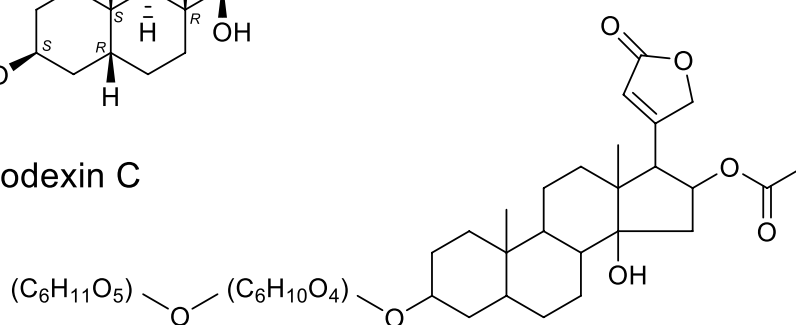
rhodexin A



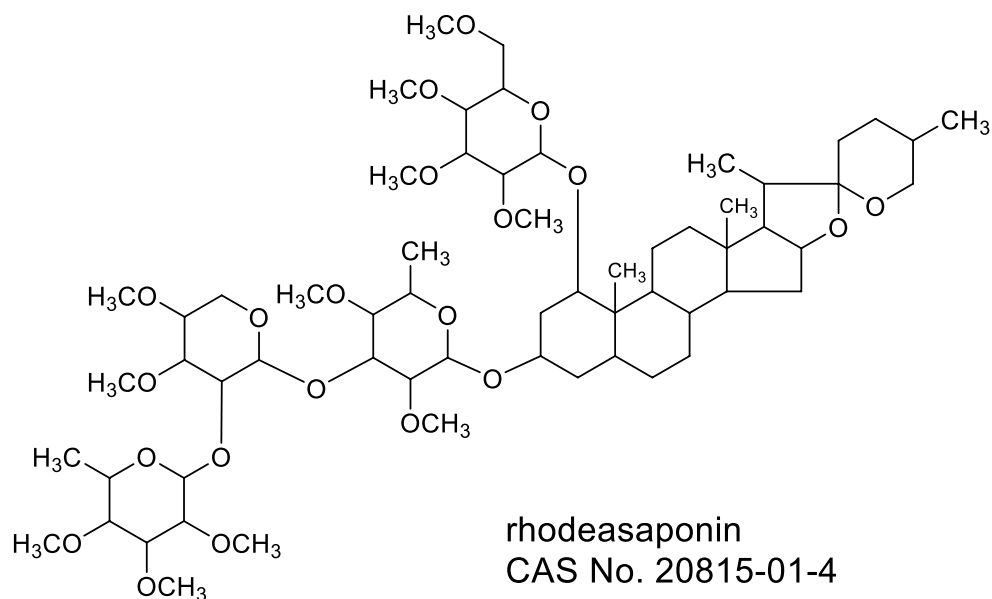
rhodexin B



rhodexin C



rhodexin D



rhodeasaponin
CAS No. 20815-01-4

図1 成分の構造式



写真3 オモト（全草）



写真4 キチジョウソウ（花）

異常などによって命を危険にさらすことになりますので家庭では、絶対に用いないでください。

近い仲間にキチジョウソウ（吉祥草）*Reineckea carnea* があります。キチジョウソウは、一属一種の常緑多年草で関東以西の日本、中国に分布しています。根茎がよく発達して地表を長くはい、伸びた先から細長い葉を叢生し、秋、花茎が直立し穂状花序をつけます。花茎の上部の細い茎には雄花、下部の太い花茎には両性花をつけることが多く、雄花の脱落后、やや短くなった花茎に紅紫色の球形の液果をつけ、果実は翌年になっても残っています。キチジョウソウの名は、花が咲くと、その家に吉事がある（その家に吉事があると花をつける）という言い伝えによるそうです。



写真5 生薬 マンネンセイコン（万年青根）（左）
マンネンセイヨウ（万年青葉）（右）



野山の花

— 身近な山野草の食効・薬効 —

(これまでのまとめ)

白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)*

* 城西大学薬学部薬学科 e-Mail: shiratak@josai.ac.jp

Key Words : 野山の花, 薬用植物, 生薬

はじめに

10月のある日、明海大学、坂上教授から突然の電話があった。「コロナの発生からそろそろ1年が経とうとする今、我々の経済、日常生活、メンタルヘルスは大きな痛手を受け続けております。これからのコロナ社会で新しい人生設計、環境設定を考える良い機会です。これまでの自身の仕事を振り返り、現在の弊害を乗り越え、私たちが築いてきた仕事、人間関係などをどのようにして継続し、発展していくかを力強い思いを込めた原稿を募集します。」とのことであった。おりしも、オンライン授業の準備で多忙を極めており、適当に返事をして電話を切ったのが運の尽きとなり原稿を書くことになった。そこで、これまで、本誌 (New Food Industry) に連載してきた《野山の花 (5年9ヶ月分, 植物種: 69種, 【カタクリ [57(5), 51 (2015)] ~ オモト [63(1), 72-74 (2021)]】》をまとめることにした。

「野山の花」を執筆するにあたり、記載事項は、植物名 (和名)、植物名 (学名: ラテン名)、科名 (和名)、科名 (学名: ラテン名)、生薬名 (和名)、生薬名 (学名: ラテン名)、薬効・用途、成分、化学構造式、漢方薬、その他トピックス等、じつに多方面にわたる。その中で最も気を使うのが植物の写真である。つまり、その植物の特徴をよく表している写真を探すことが何よりも大切で、さらに植物全体の写真、花、果実、葉、根の写真など、満足のいくものは、なかなか得られない。特に花の写真は、天候と開花時期がうまく合っていないとよい写真は撮れない。中には、数年に渡って観察し、その採集場所へ何度も通い、ようやく、撮影に成功したものもある。誰もいない山で、花と向き合うのは、とても楽しい苦労です。植物の分類については、かつての植物の形態を主とした新エングラー分類から、最近では、遺伝子情報を加味した APG 分類が主流となり、科名や学名が変わってきている。調べれば調べるほど、未知の事柄に出会い、時の経つのも忘れてしまうほどである。

自然を探究する場合、特に植物に関して、植物の分類や分布については植物を専門とする生物学者、成分の化学構造については有機化学者、成分の生理活性については薬理学者や生化学者、漢方薬については医師、薬剤師、生薬学、生薬薬理を専門とする薬学者等、さらに、栽培に関する農業や林業などの考察、また、歴史的な考察を必要とする場合もある。それぞれの専門分野の人たちの協力なくして、生薬や漢方薬の科学研究は困難と思われます。何よりも大切なのは、いろいろな分野の人達と共同して研究を進めることでしょう。今、その重要性を痛切に感じています。地球が誕生し 46 億年、生物が誕生し 39 億年、そして人類が誕生し 800 万年の時間が過ぎました。我々の祖先もこれまでに幾多の困難に遭遇したと思われます。その度に、困難を乗り越え、今を迎えています。幾多の難局を乗り越えてきた人類の英知を結集すれば、きっと、道は開けるでしょう。いえ、人類はこの難局を乗り越えると信じています。今の「コロナ渦」、人間関係が希薄になりがちです。私達は、コロナ渦の弊害を乗り越え、これまで築いてきた人間関係をより一層深くして研究を継続、発展していくべきではないでしょうか。

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
1. アケビ 	木通	茎	利尿	サポニン： akeboside Ste	58(4) 38-39 (2016)	
2. アミガサユリ 	貝母	鱗茎	鎮咳, 去痰, 排膿	ステロイダルアルカロイド： peimine (verticine), peiminoside	61(3) 244-246 (2019)	
3. イカリソウ 	淫羊藿	茎葉	補精, 強壯	フラボノイド： icariin, アルカロイド： magnoflorine	59(4) 92-93 (2017)	
4. イチョウ 	白果	種子	夜尿症, 咳止め	(葉) セスキテルペノイド： bilobalide, ジテルペノイド： ginkgolide A, フラボノイド： ginkgetin, (種子) ginkgotoxin	61(12) 946-950 (2019)	
5. イワタバコ 	苦苣苔	葉	胃弱, 食欲 不振	苦味配糖体： conandroside	62(8) 612-614 (2020)	
6. ウスバサイシン 	細辛	根, 根茎	鎮咳, 去痰, 鎮痛	精油： methyleugenol, リグナン： (-)-asarinin	60(5) 76-78 (2018)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
7. ウツボグサ 	夏枯草	花穂	消炎 利尿	トリテルペン： ursolic acid, タンニン, 無機塩類	61(6) 462-464 (2019)	
8. ウメ 	烏梅	未熟 果実 (燻蒸)	健胃 整腸	有機酸： citric acid, トリテルペン： oleanolic acid	62(1) 76-78 (2020)	
9. エンジュ 	槐花	蕾	止血, 高血圧 予防	フラボノール配糖体： rutin	61(8) 618-621 (2019)	
10. オウレン 	黄連	根茎	下痢, 腹痛, 消化 不良	ベンジルイソキノリン アルロイド： berberine	58(1) 96-97 (2016)	
11. オオバコ 	車前子, 車前草	種子, 葉	鎮咳, 去痰, 消炎, 利尿	(車前子) 粘液多糖： plantasan, イリドイド配糖体： aucubin, フラボノイド配糖体： plantaginin, (車前草) イリドイド配糖体： aucubin, フラボノイド配糖体： plantagin	60(12) 72-74 (2018)	
12. オキナグサ 	白頭翁	根	消炎, 収斂, 止血	2- プテノライド： protoanemonin, トリテルペン： pulsatillilic acid	61(4) 326-328 (2019)	有毒

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
13. オケラ 	白朮	根茎	健胃, 整腸, 利尿	セスキテルペン: atractylon	57(12) 72-73 (2015)	
14. オニユリ 	百合	鱗片葉	消炎, 鎮咳, 利尿, 鎮静	フェノールグリセリド: 1-O-p-coumaroylglycerol, 3,6'-O-diferuloylsucrose	60(8) 28-31 (2018)	
15. オモト 	万年青根, 万年青葉	根茎, 葉	強心	強心配糖体: rhodexin A, スピロスタン系サポニン: rhodeasaponin	63(1) 72-74 (2021)	有毒
16. カタクリ 	片栗	鱗茎	デンプン: すり傷, 湿疹, 糊液: 滋養 強壯剤, 賦形剤	デンプン	57(5) 51 (2015)	
17. ガマ 	蒲黄	花粉	止血, 通経, 利尿	フラボノイド: isorhamnetin, 脂肪油: palmitic acid	62(9) 664-667 (2020)	
18. カラスウリ 	王瓜根, 王瓜仁	根, 種子	下血, 黄疸, 月経 不順, 咳止め, 小児の 皮膚病	(根) デンプン, タンパク質, (種子) 脂肪油, タンパク質	57(8) 80-81 (2015)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
19. カラスビシャク 	半夏	塊茎	鎮嘔 鎮吐薬, 鎮咳去痰	フェノール化合物: homogentisic acid, 3,4-diglycosylic benzaldehyde, シュウ酸カルシウム	59(7) 76-77 (2017)	
20. キキョウ 	桔梗	根	消炎 排膿, 鎮咳去痰	サポニン: platycodin A	59(8) 76-77 (2017)	
21. キササゲ 	梓実	果実	利尿	イリドイド配糖体: catalpol, catalposide, カリウム塩	60(11) 80-81 (2018)	
22. キダチアロエ 	蘆薈	葉から 得た液 汁を乾 燥した もの	緩下	アントロン配糖体: barbaloin	60(1) 68-70 (2018)	局方の アロエ: <i>A. ferox</i> , または <i>A. africana</i> と <i>A. spicata</i> との雑種
23. キハダ 	黄柏	樹皮	苦味 健胃	イソキノリンアルカロイド: berberine	62(6) 420-423 (2020)	
24. クコ 	枸杞子, 地骨皮, 枸杞葉	果実, 根皮, 葉	枸杞子: 肝腎の 滋補, 地骨皮: 血糖 降下, 血圧降下, 枸杞葉: 血圧降下	(果実) アミノ酸: betaine, カロテノイド: zeaxanthin, physalien, (根皮) betaine, アルカロイド: kukoamine A, B, (葉) フラボノイド: rutin	60(9) 52-54 (2018)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
25. クズ 	葛根	根	発汗, 解熱, 緩和, 関節痛	デンプン, イソフラボノイド: daidzein, daizin, puerarin	58(8) 40-41 (2016)	
26. クチナシ 	山梔子	果実	消炎, 止血	イリドイド化合物: genipin, geniposide, カロチノイド色素: crocin	60(7) 56-58 (2018)	
27. クララ 	苦参	根	苦味 健胃, 解熱, 利尿, 駆虫	アルカロイド: (+)-matrine, フラボノイド: kuraridin, サポニン: sophoraflavosides I	60(6) 72-74 (2018)	
28. ゲンノショウコ 	老鶴草, 玄草	地上部	整腸 止瀉	タンニン: geraniin, フラボノイド: quercetin	58(9) 76-77 (2016)	
29. コウホネ 	川骨	根茎	健胃, 強壯, 止血, 駆瘀血	キノリチジンアルカロイド: nupharidine	57(7) 84-85 (2015)	
30. コブシ 	辛夷	蕾	鼻炎, 蓄膿症, 頭痛 (鎮静, 鎮痛)	精油 (モノテルペン): limonene, citral, アルカロイド: coclaurine, リグナン: fargesin	59(3) 92-93 (2017)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ 発行年	備考
31. サネカズラ 	南五味子	果実	鎮咳, 滋養 強壮薬	(北五味子) リグナン: gomisin A, 精油: citral	57(10) 60-61 (2015)	五味子 (北五味子): チョウセンゴミシの果実で鎮咳, 鎮静作用あり
32. サフラン 	番紅花	柱頭	鎮静, 鎮痛, 通経	カロテノイド (黄色色素): crocin, モノテルペン配糖体 (苦味成分): picrocrocin, 精油: safranal	59(12) 64-66 (2017)	
33. サラシナショウマ 	升麻	根茎	解熱, 解毒, 浮腫 抑制	トリテルペン: cimigenol, クロモン誘導体, 桂皮酸誘導体	58(10) 48-49 (2016)	
34. サンシュユ 	山茱萸	果実	滋養, 強壮, 収斂	イリドイド配糖体: loganin, セコイリドイド配糖体: sweroside, タンニン: trapain	58(3) 38-39 (2016)	
35. サンショウ 	山椒	果皮	芳香性 辛味性 健胃, 駆虫	辛味成分 (不飽和脂肪酸アミド): α -sanshool (sanshool I), 精油成分: ($\pm$)-limonene, フラボノイド: quercitrin, hesperidin	61(1) 58-61 (2019)	
36. シャクヤク 	芍薬	根	鎮痛, 鎮痙	変形モノテルペン配糖体: paeoniflorin, oxypaeoniflorin, ガロタンニン類	61(5) 406-409 (2019)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
37. ジャノヒゲ 	麦門冬	根の膨大部	鎮咳, 去痰	ステロイドサポニン： ophiopogonin A, ホモイソフラボノイド： ophiopogonone A	60(10) 38-40 (2018)	
38. ショウガ 	生姜	根茎	健胃, 発汗, 鎮吐	辛味成分： [6]-gingerol, 精油： zingiberene	61(1) 58-61 (2019)	
39. スイカズラ 	金銀花, 忍冬	花, 茎葉	解熱, 解毒	フェノール化合物： chlorogenic acid, イリドイド配糖体： loganin, フラボノイド： luteolin	59(6) 92-93 (2017)	
40. セツブンソウ 	節分草	全草	嘔吐, 頭痛, 麻痺	アルカロイド： aconitine	58(2) 84-85 (2016)	薬効 (有毒), 成分等はキバナセツブンソウのもので, セツブンソウは薬用には用いない
41. センブリ 	当薬	開花期の全草	苦味 健胃	セコイリドイド配糖体： swertiamarin, フラボノイド： swertisin, キサントン系化合物： swertianin	59(9) 38-39 (2017)	
42. チャノキ (チャ) 	茶葉	若葉	清熱, 去痰, 利尿	プリン塩基： caffeine, タンニン： (+) -catechin, vitamin C, アミノ酸： theanin	61(10), 594-597 (2019)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
43. トウガラシ 	蕃椒	赤熟した果実	辛味性 健胃, 筋肉痛, 局所 刺激	辛味成分: (E)-capsaicin, dihydrocapsaicin, カロテノイド: capsanthin, β -carotene	62(11) 832-835 (2020)	
44. ドクダミ 	十薬	花期の 地上部	利尿, 緩下, 解毒	フラボノール配糖体: quercitrin, 特異臭: decanoylacetaldehyde	58(6) 24-25 (2016)	
45. トチノキ 	枳の実	種子	食用	サポニン: escin, isoescin	58(5) 44-45 (2016)	
46. トチバニンジン 	竹節人參	根茎	健胃, 去痰, 解熱	オレアナン系サポニン: chikusetsusaponin IV	58(7) 70-71 (2016)	
47. ナツメ 	大棗	果実	緩和, 強壯, 利尿	トリテルペノイド: betulinic acid, ダマラン系サポニン: zizyphussaponin I, cyclic AMP, 糖類	59(10) 54-56 (2017)	
48. ナルコユリ 	黄精	根茎	滋養 強壯, 抗高 血圧	polygonaquinone, 粘液多糖質: falcatan, [(カギクルマバナルコユリ) ステロイドサポニン: sibiricoside A, B, アルカロイド: polygonatine A, B]	62(4) 268-270 (2020)	黄精は 本来, 中国産 のカギ クルマ バナル コユリ を指す

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
49. ナンテン 	南天実, 南天葉	果実, 葉	鎮咳, 健胃, 解熱	アルカロイド: domestine, nandinine, magnoflorine, [(葉) フェノール配糖体: nantenoside B]	59(1) 44-45 (2017)	
50. ニワトコ 	接骨木	枝, 花, 葉	打ち身, 打撲, 鎮痛, 消炎, 利尿	青酸配糖体: sambunigrin, フラボノド: quercetin, トリテルペン: ursolic acid, 硝酸カリウム	59(5) 44-45 (2017)	
51. ノイバラ 	宮実	果実 (偽果)	瀉下, 利尿	フラボノール配糖体: multiflorin A, B, multinoside A, B, タンニン類: methyl gallate, カロテノイド: lycopene	61(9) 712-714 (2019)	
52. ハシリドコロ 	莨菪根	根茎 および 根	副交感 神経 遮断, 鎮痛, 鎮痙, 消化液 分泌 抑制	トロパンアルカロイド: (-) -hyoscyamine, atropine, (-) -scopolamine	60(4) 36-38 (2018)	有毒
53. ハス 	蓮肉	種子	強壮薬, 婦人病	ベンジルイソキノリン アルカロイド: lotusine, higenamine, liensinine, isoliensinine, neferine	62(7) 536-539 (2020)	
54. ハトムギ 	薏苡仁	種皮を 除いた 種子	解熱, 鎮痛, 消炎, 利尿, 排膿	デンプン, タンパク質, 脂肪, ステロール, 多糖類	61(11) 872-874 (2019)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
55. ヒガンバナ 	石蒜	鱗茎	炎症, 腫れ物 (外用)	アルカロイド: lycorine	57(9) 52-53 (2015)	有毒
56. ビワ 	枇杷葉	葉	鎮咳, 去痰, 鼻炎	アルコール: nerolidol, 青酸配糖体: amygdalin	58(12) 44-45 (2016)	
57. フキ (フキノトウ) 	和款冬花	幼若な花茎	鎮咳, 去痰, 苦味健胃	フラボノイド: quercetin, kaempferol, 脂肪族カルボン酸: angelic acid, ピロリジジナルカロイド: petasitenine, 苦味質, 精油	62(3) 218-221 (2020)	
58. フクジュソウ 	福寿草	根	強心利尿	強心配糖体: cymarin	59(2) 62-63 (2017)	有毒
59. ベニバナ 	紅花	管状花	通経, 駆瘀血, 赤色素	フラボノイド: carthamin, safflor yellow, carthamidin, neocarthamin, 脂肪油	61(7) 540-542 (2019)	
60. ホオノキ 	厚朴	樹皮	芳香性健胃, 収斂, 利尿, 去痰	精油: α-eudesmol, ネオリグナン: magnolol, honokio, アルカロイド: magnocurarine, magnoflorine	62(5) 378-380 (2020)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
61. マムシグサ 	天南星	塊茎	鎮痛, 鎮痙, 去痰	安息香酸, 3,4-dihydroxybenzaldehyde	57(6) 50-51 (2015)	
62. ヤブコウジ 	紫金牛	根茎と根	鎮咳, 消炎, 解毒	イソクマリン誘導体: bergenin, ベンゾキノン: rapanone, トリテルペノイド: α -amyrine, フラボノイド: quercetin	62(2) 130-132 (2020)	
63. ヤマトリカブト 	附子	塊根	興奮, 鎮痛, 強心, 利尿	ジテルペンアルカロイド: aconitine	58(11) 2-3 (2016)	猛毒
64. ヤマノイモ 	山薬	根茎 (担根体)	滋養 強壯, 止瀉, 止渴	ステロイド配糖体: dioscin, allantoin, デンプン, 糖タンパク, スチルベン誘導体: batatasin III	59(11) 62-64 (2017)	
65. ユズ 	柚子	果皮	鎮咳, 去痰, 口渇	セスキテルペン: germacrene B, フラバノン配糖体: hesperidin, 精油: citral, vitamin C, 有機酸	62(12) 906-908 (2020)	
66. ヨモギ 	艾葉	葉 および 枝先	止血, 腹痛, 下痢, 貧血, 冷え性, もぐさ	精油: 1, 8- cineole, ケイヒ酸類誘導体: chlorogenic acid, フラボノイド: eupatilin, クマリン: umbelliferone, 脂肪酸: palmitic acid	62(10) 756-760 (2020)	

◆ 野山の花リスト (植物名順) ◆

No. 植物名	生薬名	薬用部位	薬効・利用	主要成分	Vol (No) ページ (発行年)	備考
67. リンドウ 	竜胆	根と根茎	苦味 健胃	セコイリドイド配糖体： gentiopicroside, キサントン系化合物： gentisin	57(11) 26-27 (2015)	
68. レンギョウ 	連翹	果実	消炎, 利尿, 解毒, 排膿	トリテルペン： oleanolic acid, シクロヘキシルエタン誘導体： rengyol, リグナン配糖体：arctiin, フェニルエタノド配糖体： forsythiaside, フラボノール配糖体：rutin	60(3) 48-50 (2018)	
69. ロウバイ 	蠟梅花	花蕾	解熱, 鎮咳, 鎮痛	精油： cineol, borneol, linalool, camphor, 〔(種子) アルカロイド： calycanthine〕	60(2) 60-61 (2018)	

2019 年夏のスコットランド紀行 ービフォーコローナ (3) スコティッシュボーダーズ

林田 千代美 (HAYASHIDA Chiyomi) *

Key Words: スコットランド南東部, スコティッシュボーダーズ, メルローズ修道院, フロアーズ城

はじめに

本スコットランド紀行最終回は、スコティッシュボーダーズ地区（ボーダーズという名の通り、イングランドとの境に広がる地域）について述べたい。この日も朝から車で移動した。エディンバラは大都市だが、一時間ほど南に行くと、スコティッシュボーダーズ地区に入り、羊がたくさんいる牧草地や丘陵地ののどかで雄大な景色が広がる。草原や雑木林が広がる中、ツイード川が流れ（毛織物のツイード生地はこの川の流域で開発された）、農村の住居や小さなお城、そして、イングランドとの国境線付近であったため度重なる戦争で壊された修道院の遺跡が点在する。車中から見た景色は、ひたすら牧草地と羊や牛、畑、川だったが、Google map の航空写真を見ても、牧草地や畑がボーダーズの全域に広がっている。

エディンバラ出身の文豪として前回ご紹介したウォルター・スコット氏は晩年、スコティッシュボーダーズのメルローズ近郊の邸宅で暮らした。スコット氏はスコットランド銀行の紙幣に描かれる偉人であり、エディンバラ大学卒、弁護士資格を有し頭脳明晰だが、幼少期には小児麻痺の療養のため数年間ボーダーズ地方で祖父母のもとで育った。その影響で、ボーダーズの自然をこよなく愛し、作品の中でも静かな美しい風景が多く描写されているのだという。

1. メルローズ修道院（遺跡）

エディンバラ中心から南東に直線距離で約 40 マイル、車で 1 時間強行くと、スコティッシュボーダーズの小さな町、メルローズがある。メルローズは 7 人制ラグビーの発祥地であり、ラグビーワールドカップセブンスの優勝カップはメルローズカップと呼ばれる。7 人制は 2016 年のリオデジャネイロ大会からオリンピック種目になっている。

メルローズには、メルローズ修道院の遺跡がある（写真 1-1）。この修道院は、1136 年から当時のスコットランド王（アサール王家の）デイヴィッド 1 世の命令により 10 年かけて建てられたスコティッシュボーダーズの 4 大修道院のひとつである。現在は一部しか残っていない廃墟の遺跡だが、残った部分が、ゴシック様

* 明海大学歯学部 形態機能成育学講座 口腔解剖学分野
〒350-0283 埼玉県坂戸市けやき台 1-1
e-mail: hayashida@dent.meikai.ac.jp



写真 1-1 メルローズ修道院（遺跡）

式建築の片鱗を示し、高さ 25 メートル近い大きな窓がとても印象的である。使用されていた頃は、おそらく大きな窓には幻想的なステンドラスが埋め込まれ、大変美しかったであろう。最盛期には 100 人以上の修道士達が、この場所で祈りと労働、共同生活をしていた。近くにはツイード川が流れているのでサケが獲れ、周辺には畑や墓地があり、地域の学校のような場所の役目もしていたと思われるので、ここで生活の全てが成り立っていたのだと、目を閉じて当時の様子を想像してみた。国境付近ということで、陸の戦争になれば最前線になる地域だが、神聖な場所は攻撃するのに躊躇しそうなので、この国境地域に大きな修道院を建てたことは、国を守るための王様の策のひとつだったのかもしれない。しかし、イングランドとの戦争では幾度も攻撃に合い大砲が撃ち込まれ、それでも修復しつつ使用し続けられたが、16 世紀には宗教改革の影響を受け、修道院から教会になり、1810 年まで使用された。



写真 1-2 ロバート 1 世の心臓が埋葬されている場所

イングランドとの戦争は何度も起こっているが、なかでも、1297 年頃から 1318 年頃までの第一次スコットランド独立戦争は壮絶な戦いだったようだ。1290 年にアサル王家（メルローズ修道院を建てた王様デイヴィッド 1 世の家系）の直系の後継者がいなくなり、スコットランドは次の王が決まらない状況が続き、それを狙ったイングランド国王に統治されてしまうが、この統治からの独立戦争（第一次スコットランド独立戦争）を描いたフィクション映画「ブレイブハート」が 1995 年のアカデミー賞作品賞を受賞している。この映画は、1998 年のスコットランド自治政府と議会復活に貢献したとも言われている。このフィクション映画ではわき役で登場するロバート 1 世は、映画でない現実社会ではスコットランド勝利時の王でスコットランド独立の象徴であり、その心臓がメルローズ修道院に埋葬されている（写真 1-2）（御遺体は歴代王と同様にダンファームリン修道院に埋葬されている）。

イングランドとの戦争は何度も起こっているが、なかでも、1297 年頃から 1318 年頃までの第一次スコットランド独立戦争は壮絶な戦いだったようだ。1290 年にアサル王家（メルローズ修道院を建てた王様デイヴィッド 1 世の家系）の直系の後継者がいなくなり、スコットランドは次の王が決まらない状況が続き、それを狙ったイングランド国王に統治されてしまうが、この統治からの独立戦争（第一次スコットランド独立戦争）を描いたフィクション映画「ブレイブハート」が 1995 年のアカデミー賞作品賞を受賞している。この映画は、1998 年のスコットランド自治政府と議会復活に貢献したとも言われている。このフィクション映画ではわき役で登場するロバート 1 世は、映画でない現実社会ではスコットランド勝利時の王でスコットランド独立の象徴であり、その心臓がメルローズ修道院に埋葬されている（写真 1-2）（御遺体は歴代王と同様にダンファームリン修道院に埋葬されている）。

2. フロアーズ城

メルローズ修道院からツイード川沿いに東へ約 15 マイル、車で 30 分弱行くと、ケルソーという町に、フロアーズ城がある。西洋のお城という、おとぎ話で見るとんがり三角屋根のものを期待してしまうが、スコットランドやイングランドにあるお城は、だいたい四角く角ばった薄茶色のお城である。地味だが美しい。フロアーズ城は、宗教改革後、修道院のあった土地を与えられたロクスバラ公爵家（スコットランド貴



写真 2-1 フロアーズ城



写真 2-2 フロアーズ城の中庭

写真 2-3 フロアーズ城のガーデンカフェ

族) がその地にお城を建て、代々住む本邸宅である。現在は維持費の確保や民衆・公共への開放のため、お城の内部の一部や調度品の有料公開を見学でき、広大な敷地の庭園見物や、カフェやレストランの利用ができる。ロクスバラ公爵家は、16 世紀にスコットランド貴族の爵位を与えられ、1707 年から英国貴族の公爵家となられた。英国貴族階級は世襲貴族であり、世襲で貴族院議員にもなれる。公爵というのは最上位の爵位であるが(爵位は上から公爵、侯爵、伯爵、子爵、男爵の順で5つある)、同じ爵位の場合はイングランド貴族の方が上ということらしい。私が訪れたときには第 10 代ロクスバラ公爵閣下のお城であったが、2019 年 8 月末に薨去され、現在はそこち長男の第 11 代ロクスバラ公爵のお城である。見学できた部屋には、築 400 年の間に収集された調度品がびっしりと飾られていた。お城にはかわいい中庭とレストランがあった。敷地も大変広く、お城を出て雑木林を 10 分ほど歩くと整備されたイングリッシュガーデン(スコティッシュガーデンの方が正しいのかもしれないが)や、畑や馬小屋などが見られた。全体的に、「不思議の国のアリス」を思い出す光景であった。Terrace Cafe というガーデンカフェで、お花畑に蜂が飛び回るのを見ながら、軽い昼食をとった。植木鉢のような器で焼いたパンと温かいスープを頂き、とても美味しかった。(写真 2)

3. トラクエアハウス

フロアーズ城から約 30 マイル車で 50 分ほど、エディンバラ寄りに戻りつつ西へ行くと、トラクエアハウスという 50 室を有する邸宅がある。お城ではないが、スコットランドで人が継続的に住んでいる家として最古のものとされている。昔は、スコットランド王が狩猟の途中に立ち寄り、スコットランド・イングランドのそれぞれの王が往来の途中に宿泊もした家。ブラッディ・マリーというカクテルの名前は、16 世紀の



写真 3-1 トラクエアハウス



写真 3-2 整えられた庭



写真 3-3 ガーデンカフェ

イングランド女王メアリー 1 世に由来するが、このメアリー 1 世も宿泊したのだとか。現在は主に、地ビールの醸造販売所となっているが、B&B (Bed and Breakfast) として観光宿泊客の受け入れも行っている。お土産物店に、おもちゃの万華鏡が売っており、同行した夫の友人が私達の娘に買ってくれた。一緒に観たエディンバラロイヤルミリタリータトゥーの 2019 年のテーマが万華鏡だったので、思い出にも残るととても良いプレゼントを頂いた。お土産物店の前には、大型のチェス駒の置物が置いてあり、ハリーポッターにでてくる場面を思い出した。ガーデンカフェ、放し飼いの孔雀が見られる庭園、緑の木々で作った迷路、アスレチック広場があり、子供も嬉しそうに走り回って楽しんでいた。夜の乾杯用に地ビールを買って帰った。オーク樽で熟成発酵させた手作りビールは、深みのあるまろやかな味がした。(写真 3)



写真 3-4 大きなチェス駒と放し飼いのクジャク

おわりに

本稿執筆中に英国では、イングランドで新型コロナウイルスの感染が再拡大しており、毎日一日 1 万人以上の新規感染者が発生し千人の患者が人工呼吸器を装着という状況になったため、イングランドで 11 月 5

日から12月初めまでロックダウン中である。英国の総人口は日本の約半分なので、日本と比較してかなり深刻である。スコットランドでのロックダウン等制限の有無はボリス・ジョンソン英首相ではなくニコラ・スタージョン・スコットランド自治政府首相が決定するのだが、スコットランドではこの時期ロックダウンは行われておらず、イングランドには行くなという制限のようだ。スコットランド大都市のエディンバラとグラスゴーでは、自分の住む自治体以外へは不要不急の移動が禁じられている。スコットランドを旅して、その歴史や景色のすばらしさに心から感動したが、昨年、旅に出る前は私は2歳児連れのヨーロッパ行きに乗り気ではなかった。日本ほど便利で衛生的ではないため、記憶にも残らないような小さい子供連れで行く必要はないのではと迷いながら出発した旅だった。しかし、2020年、このようなCOVID-19がパンデミックになり、今後、いつ自由に気兼ねなく海外に旅行する気持ちになれるのか、まったくわからない状況になってみると、貴重な機会だったと思い、旅に連れ出してくれた夫に感謝している。コロナ禍は本当につらい。感染し発症した人々を思うと心が痛み、明日は我が身と常に警戒する生活には辟易している。しかし、なにか日常の近くに小さな楽しみを見つけ、コロナ禍でもできることを継続し、乗り越えたい。感染症の脅威のない状態で日々の仕事、生活を行い、余暇に向けて旅の計画を自由に立てられる日々が早く来て欲しい。子供が大きくなったら、今回の紀行文を手にもう一度、家族でスコットランドを訪れたいと願っている。

連載を終えて（著者雑感）

私は明海大学歯学部・口腔解剖学分野で教員をしています。コロナ禍になり、学生教育では、キャンパスに通えない学生のためにオンライン講義を行い、以前にも増して伝え方、教授法を常にアップデートする必要があります。IT機器を使った双方向授業の強化と最新の情報を取り入れそのツールを活用しなければなりません。当キャンパスの学生は、全員が歯科医師国家試験合格という目標で学んでいます。医療を志す学生に実習は不可欠であり、技術指導を伴う実習は、教員も学生も万全の感染防止対策をしながら対面で取り組んでおります。

私の研究メインテーマは、大学院時代から10年以上継続して「骨細胞による骨代謝調節機構を解明する」ことです。高齢者の歯周病による骨減少や、骨粗鬆症治療に役立つと考えています。動物実験や細胞培養を伴う実験を行います。思うように実験を再開することができませんでした。しかし、現在は順調に実験と研究ができる喜びを感じています。まだまだCOVID-19の恐怖があり、コロナ禍でも発展することがあるとポジティブに考えています。

今回、先行き不安の多い時期に、輝く未来を信じたいと思いこの原稿を書くことができました。機会があれば研究テーマである「骨代謝調節機構」の論文を執筆・投稿したいと考えています。

New Food Industry 投稿規定

1. 本誌 New Food Industry は、食品に関する原著論文、総説、ノート、解説、特集原稿、国内新製品紹介、海外レポート、随想および各種研究会会告等を掲載します。
2. 投稿原稿は、日本語または英語を標準とし、欧語は使用しないでください。

和文原著論文、総説、ノート、解説には、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、次に英文タイトル、著者名、所属機関名（所在地）をつけ、本文の前に必ず7つ以内のキーワード（英語と日本語）を加える。原著論文、総説、ノートには、400単語程度の英文 Abstract をつけます。また、総説、解説等については出来れば Graphic abstract で本文の概要を説明してください。

英文原稿には、7つ以内の英語のキーワード、末尾に、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、7つ以内の和文キーワードおよび和文要約を書き入れてください。
3. 原著論文、ノート、総説については編集委員会にて査読者を選出し査読を行います（総説は査読希望があるものについて査読をします）。また、研究解説、特集等に関しては各著者の責任において投稿いただきます。

査読される原著論文は、未発表の新規知見を含み食品科学・食品の機能性等の発展に寄与するものとし、ノートは、食品業界の発展に寄与する短報とします。総説はすでに発表されたもので新たに加筆、修正をし、食品科学の知見に基づいた機能、官能評価、開発のための価値の高い研究論文などを対象とします。また、研究論文の著者が複数の場合、その責任者（研究室長・教授）等の責任において発表し、査読希望の場合に限り査読を行います。

原稿の取扱いは、編集委員会に一任され、査読を行う原稿は、編集委員会の判断で査読者を2人以上選出し掲載可の判断がされた後、編集作業にかかります。
4. 原稿はすべて A4 ワードドキュメントに、和文は横書きで40字×35行、英文の場合は72字×35行を標準とします。
5. 論文の長さは、本誌印刷時に原著論文では8～12頁（ワード頁で10～20）以内、ノートでは4頁以内とします。
6. 和文原稿はひらがな、新仮名遣いとし、物質名や学術用語などに対して欧語を用いないこと。研究に用いた機器試薬名は一般名と商標登録名、メーカー名、所在地を記載します。
7. 本文および文献中の学名やジャーナル名はイタリック、ジャーナルの巻数はボールドとします。
8. 図・写真・表並びに説明文は、別稿で提出してください。
9. 図表の挿入希望位置は、原稿欄外に指示してください。
10. 数字はすべてアラビア数字を用い、数量の単位は SI 単位を基本とする。単位および述語の略字例は次の通り。
km, m, cm, mm, L, mL, m², kg, g, mg, mol, mmol, mM, μM, pH, b.p., f.p., MW, V, A, N, M, Rf 等
11. 引用文献は、本文中での引用順に片括弧付きの上付き番号を付して記載します。
12. 引用文献リストは、本文の後に番号順にまとめて記載します。
13. 原稿の校正は、初校・再校まで著者が行い、大幅な修正、加筆は不可。三校以降は希望があれば行います。
14. 掲載された論文は、論文公開検索システム等に採択されます。掲載論文の著作権は、エヌエフアイ合同会社に帰属します。
15. 掲載された論文は、出版元の許可を得れば頒布、複製、著者 HP での公開をしてもよい。



New Food Industry

エヌエフアイ合同会社

本社：〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302
電話 042-312-0836 FAX 042-312-0845

