

図15.  $\gamma$ -GTP値の変動

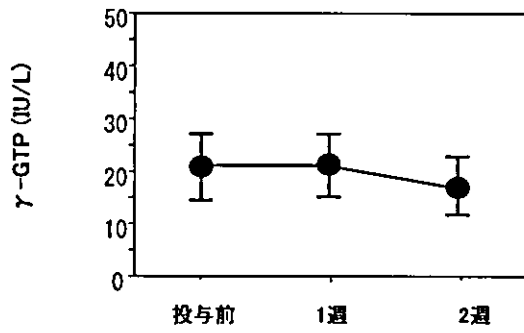


図16. コリンエステラーゼ値の変動

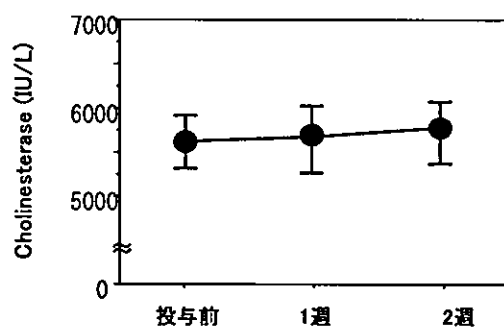


図17. CPK値の変動

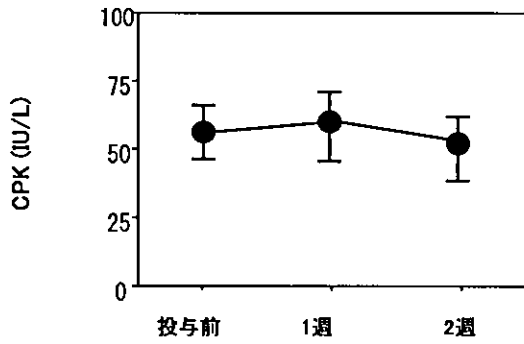


図18. 尿素窒素値の変動

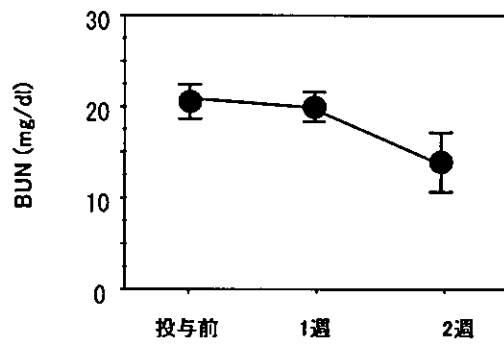


図19. クレアチニン値の変動

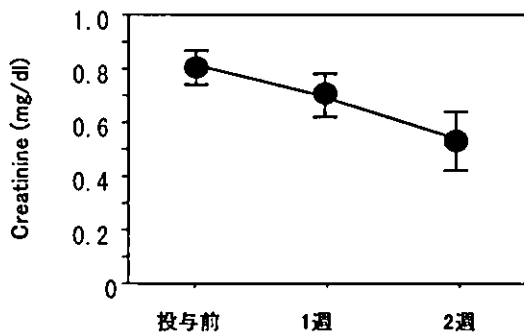


図20. 尿酸値の変動

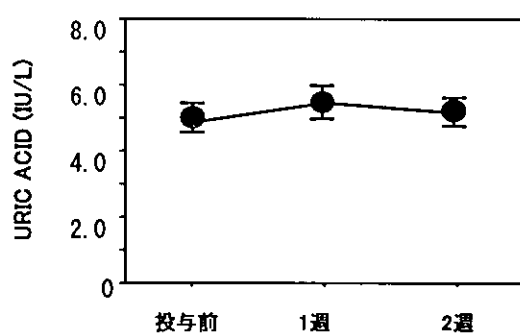


図21. 乳酸値の変動

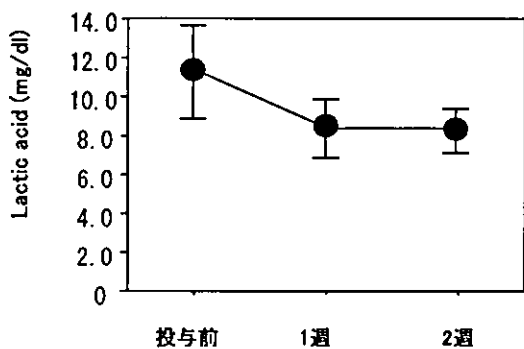


図22. ケトン体の変動

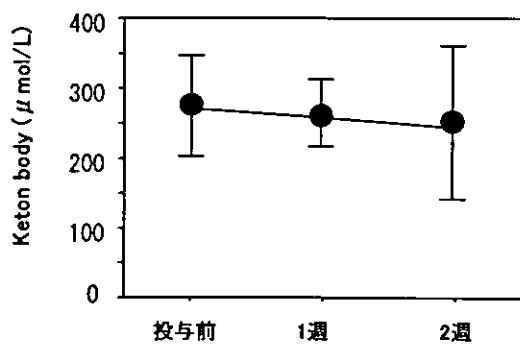


図23. 尿中ケトン体の変動

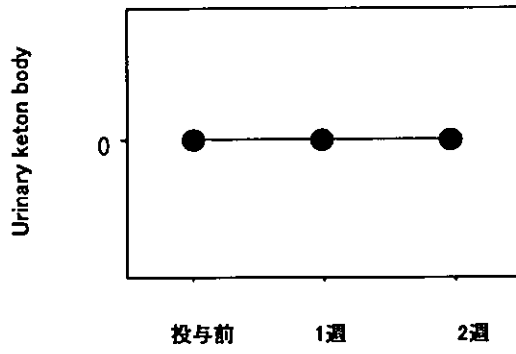
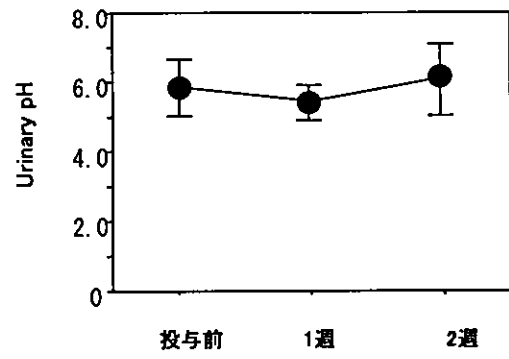


図24. 尿pHの変動



## II 長期検討

表2 患者背景

対象	20名(男性8名、女性12名)
年齢	62.8±8.2歳(39~73歳)
身長	159.2±20.0cm(148.0~174.0cm)
体重	61.5±12.0kg(43.0~89.0kg)
BMI	24.1±3.3kg/cm <sup>2</sup> (18.6~31.5kg/cm <sup>2</sup> )
HbA1c	7.7±1.0%(6.4~9.7%)
総コレステロール	210±39mg/dl(146~280mg/dl)
中性脂肪	228±66mg/dl(65~386mg/dl)
HDLコレステロール	51±13mg/dl(32~81mg/dl)
ケトン体	98.9±95.2 μmol/l (26.7~336 μmol/l)
尿中ケトン体	(-)

図1. 体重の変動

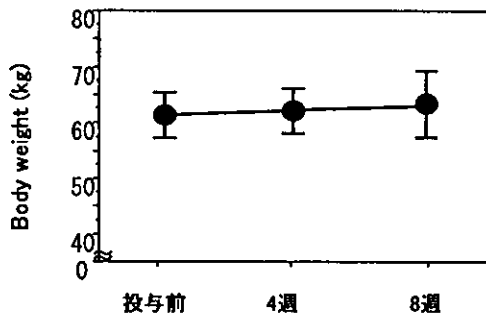


図2. BMI値の変動

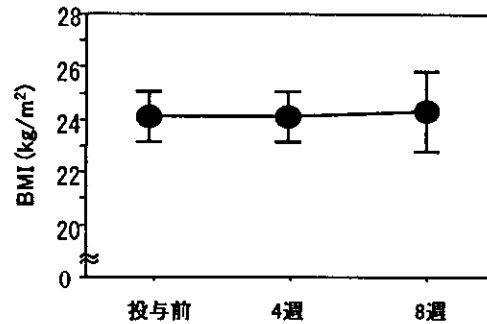


図3. 血糖値の変動

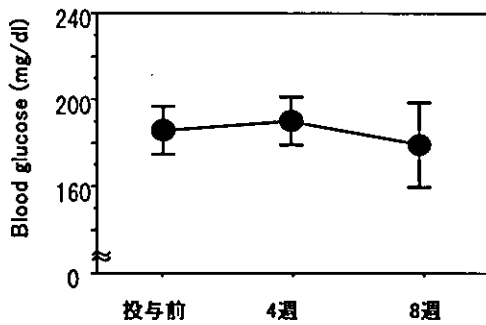


図4. インスリン値の変動

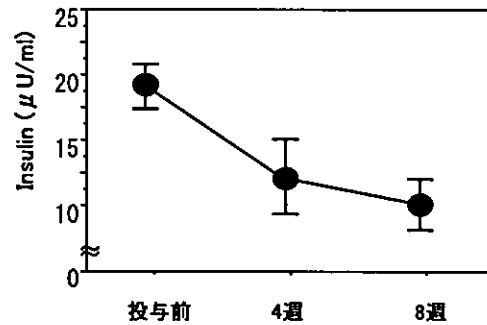


図5. HOMA-R値の変動

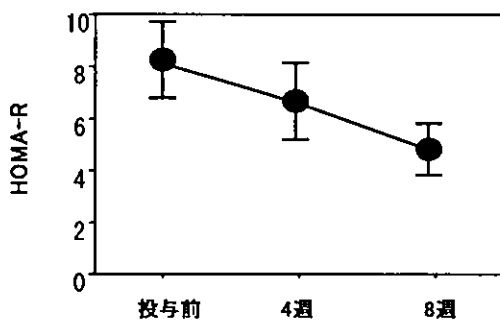


図6. HbA1c値の変動

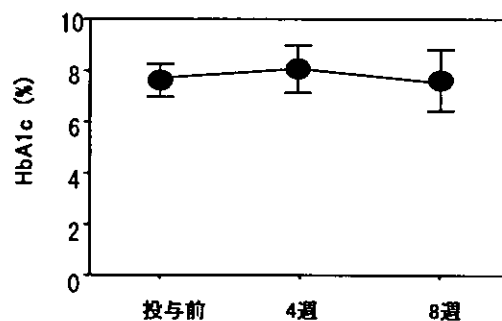


図7. コレステロールの変動

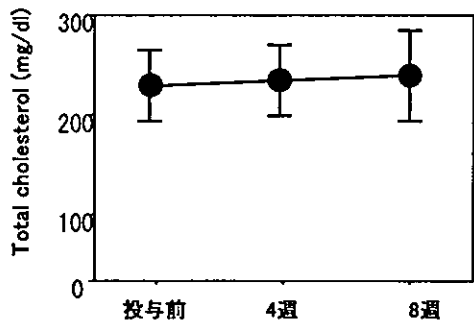


図8. 中性脂肪値の変動

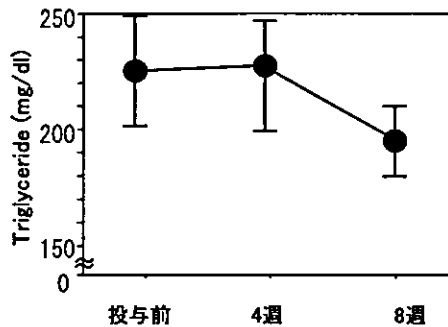


図9. HDL-コレステロール値の変動

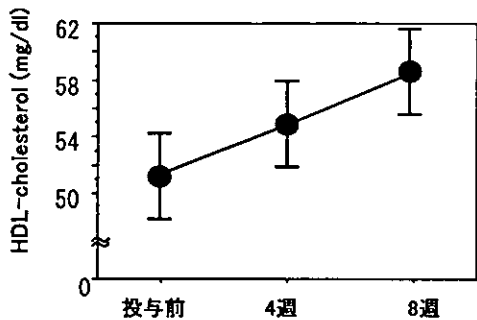


図10. ヘパリン静注前リポ蛋白リパーゼの変動

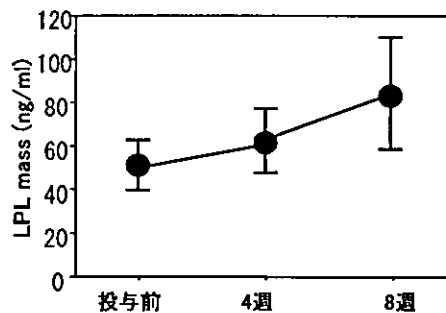


図11. LDLコレステロール値の変動

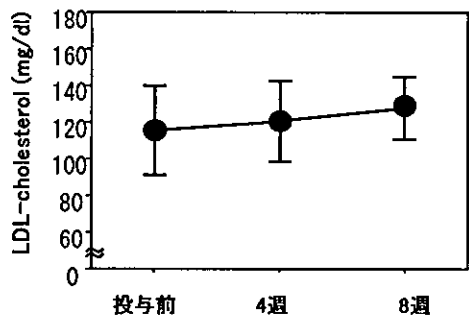


図12. Rm値の変動

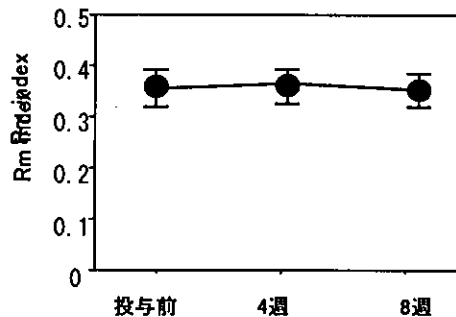


図13. ALT値の変動

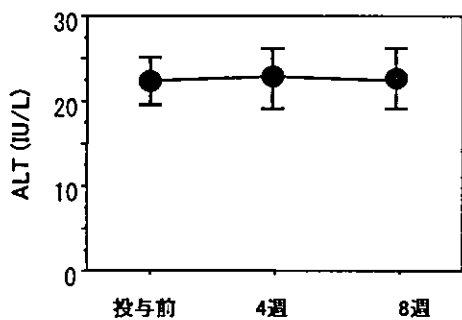


図14. AST値の変動

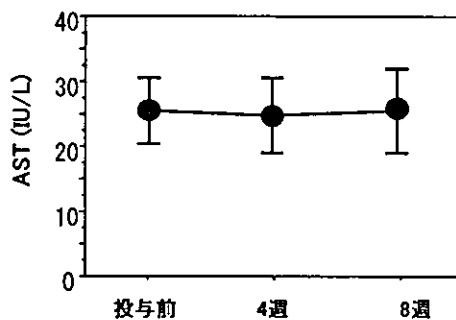


図15.  $\gamma$ -GTP値の変動

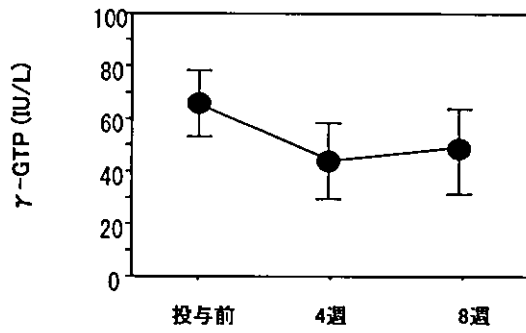


図16. コリンエステラーゼ値の変動

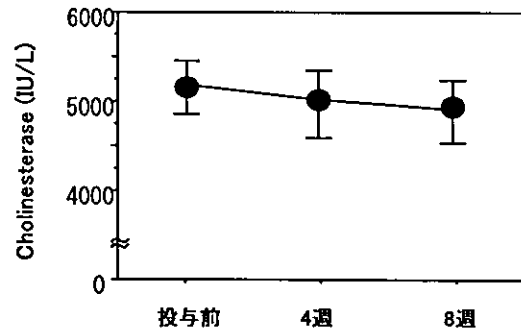


図17. CPK値の変動

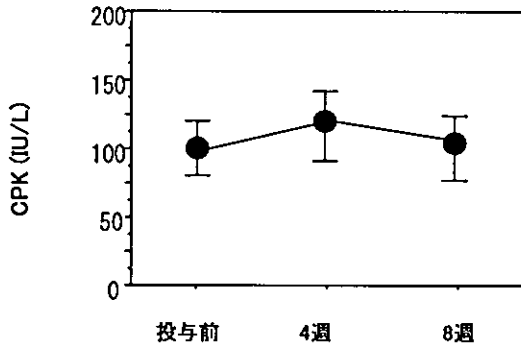


図18. 尿素窒素値の変動

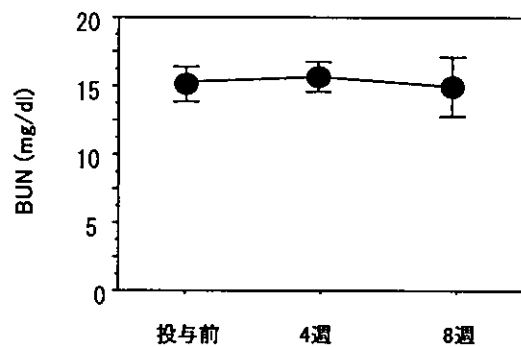


図19. クレアチニン値の変動

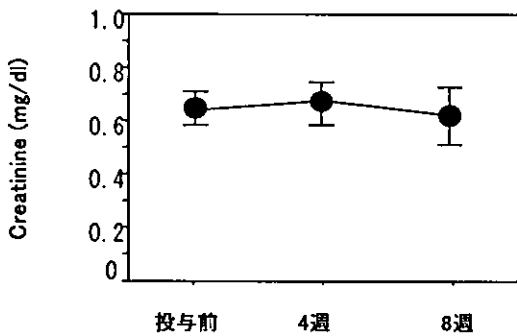


図20. 尿酸値の変動

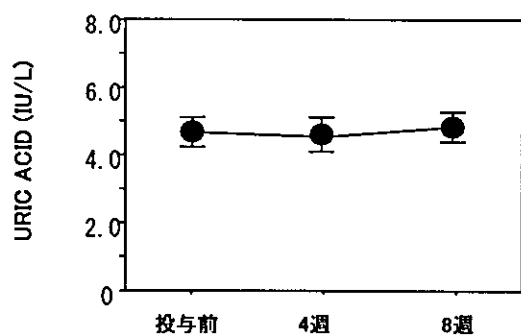


図21. 乳酸値の変動

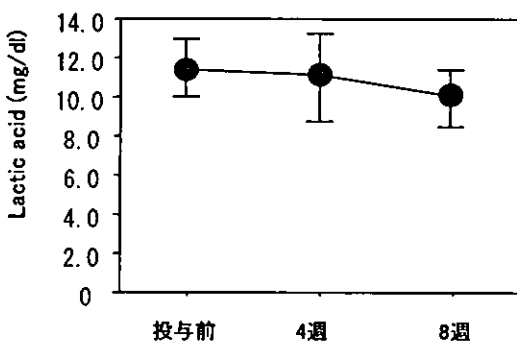


図22. ケトン体の変動

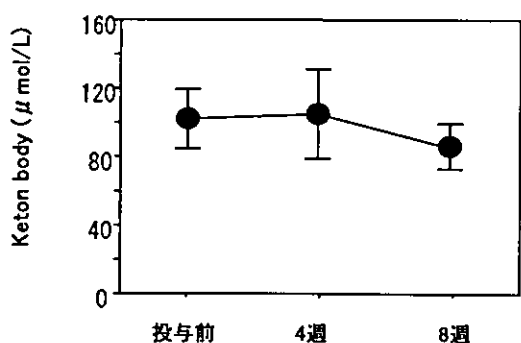


図23. 尿中ケトン体の変動

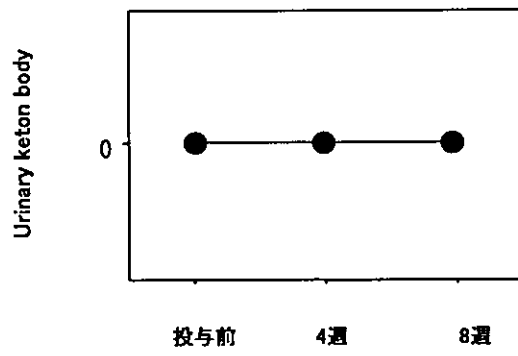
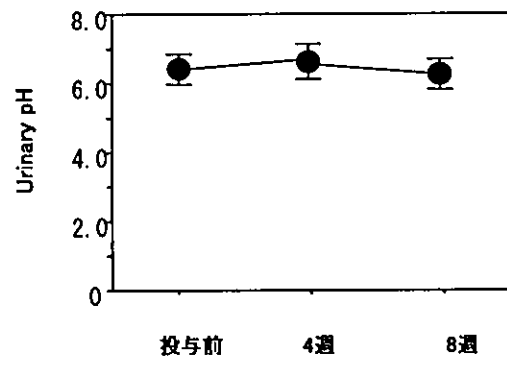


図24. 尿pHの変動



3

厚生労働科学研究補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）  
分担研究報告書

特定保健用食品の組み合わせ摂取による安全性、有効性の検討  
- 大豆蛋白と高濃度カテキン茶の併用-

分担研究者 中村治雄 三越厚生事業団常務理事

安定した高脂血症 20 例（男 4、女 16、平均年齢 62.7 才）に同意を得た上で、大豆蛋白 10g/日を 3 ヶ月、中間の 1 ヶ月にカテキン 540mg 入り緑茶を摂取、その有効性、安全性を評価した。大豆蛋白摂取により、総コレステロール、LDL-コレステロール、トリグリセライドがそれぞれ 3.3%、4.6%、19.5%の減少がみられ、カテキン併用で、ほぼ減少が維持された。MDA-LDL も減少、併用でほぼ減少値を保ち、アディポネクチンは併用で有意に増加した。安全性には問題なく、併用による抗動脈硬化作用の強まることが示唆され

#### A. 研究目的

心臓病、脳卒中などの引き金となる生活習慣病のなかで、肥満、血清脂質の異常などは増えつつあるのが現状である。これらを是正するためには、食生活の注意が重要で、なかでも食品の適切な選択と摂取が望まれている。

そこで、食生活の是正に貢献すべく多くの特定保健用食品が登場するに至り、その選択に幅ができ、個々にとってアプローチしやすくなった反面、それらを組み合わせで摂取する機会も多くなっている。個々の特定保健用食品の有効性、安全性についてはすでに評価を受けているが、組み合わせで摂取した場合の有用性については検討されていない。そこで、われわれはすでにエコーナ油と大豆蛋白の組み合わせ (1)、エコーナ油と高濃度カテキンの組み合わせ (2) について検討し、それぞれ発表してきた。今回、大豆蛋白と高濃度カテキンの併用を臨床的に行い、その有効性、安全性を検討したので、ここにその成績をまとめた。

#### B. 研究方法

対象は三越厚生事業団診療所に通院治療中の平均年齢 62.7±5.6 才の男性 4 名、女性 16 名計 20 名である。食事療法、あるいは一部薬物療法併用中で、比較的安定した総コレステロール値を示し、総コレステロール値が 220mg/dL 以上の例で、本試験の内容説明を理解し、参加の同意を文書にて提出している。

大豆蛋白（豆乳）（不二製油株式会社）、1 日 10g を 3 ヶ月間飲用し、2 ヶ月目 1 ヶ月間高濃度カテキン（ヘルシア緑茶カテキン 540mg/350ml）（花王株式会社）の飲用を併用した。なお、カテキン摂取は、毎朝必ず 1/2 本以上は摂取することにし、採血日も同様の摂取をすすめてある。

大豆蛋白摂取開始時、カテキン併用開始時、カテキン併用終了時、大豆蛋白摂取終了時に来院し、自覚症状の有無を聞くと共に、体重、BMI、体脂肪（%）、血圧、脈拍を測定した。また、採血を実施し総コレステロール、トリグリセライド、HDL-コ

レステロール、LDL-コレステロール（換算による）、HDL 以外のコレステロール（TC-HDL-C）を測定した。さらに血糖、hs CRP、Malondialdehyde (MDA)-LDL、アディポネクチン（Adip）も測定した。また、安全性の指標として肝機能〔AST(GOT)、ALT(GPT)、LDH〕、腎機能（Cr、尿酸）、筋肉障害の有無(CPK)、末梢血液（白血球、赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、血小板数）を測定した。

### C. 研究結果

#### 1) 有効性について

体重、BMI、体脂肪（%）、収縮期血圧（mmHg）、拡張期血圧（mmHg）、脈拍数/分についての変動を表 1 に示してある。体重、BMI、体脂肪率は、試験開始と共に微増を示した。血圧は収縮期、拡張期共に有意の変動はみられず、脈拍数も変化はみられなかった。カテキン併用にて、体重の変動、BMI の変化は認められなかった。表 2 に、血中脂質など代謝物への影響についてまとめてある。総コレステロールは、豆乳摂取後 4 週にて 3.3%（ $p < 0.03$ ）の低下を示し、カテキン併用にて、その減少率は維持されている。トリグリセライドも豆乳摂取後 4 週で 19.5%（ $p < 0.02$ ）の有意の低下が認められ、カテキン併用にてほぼ同様の減少率が維持されている。低比重リポ蛋白（LDL）コレステロールも豆乳摂取 4 週で 4.6%（ $p < 0.07$ ）の減少傾向を示し、カテキン併用にて、ほぼそれに近い減少が認められている。高比重リポ蛋白（HDL）コレステロールは大豆蛋白摂取 4 週後に 7.9%と有意に上昇を示しており、

カテキン併用においても、なお前値に対して高い傾向を示している。総コレステロールから HDL コレステロールを引いたいわゆる非 HDL コレステロールは、豆乳摂取 4 週後には 7.4%と有意に減少を示しており、カテキン併用によっても前値に比較して 5.3%の減少を有意に認めている。

血糖は大豆蛋白摂取ならびにカテキン併用後にやや増加を示したが、特に臨床的には問題とはなっていない。

アディポネクチンは大豆蛋白摂取後、僅かに増加の傾向を認め、カテキン併用により 4.5%有意に上昇している。カテキンを中止してもこの濃度は維持されている。

MDA-LDL については大豆蛋白摂取後 21.8%有意に減少しており、カテキン併用においても軽度ながら前値に復する傾向にあるが、なお前値に対して減少している。

hs CRP は、全期間を通じて有意の変動は認められていない。

以上、大豆蛋白のコレステロール低下効果は確認されており、カテキン併用による、より著しい低下効果はみられなかったが、併用による MDA-LDL の低下より抗酸化効果は確認された。また、アディポネクチンの上昇は併用により有意であり、抗動脈硬化作用があるものと推定される。

#### 2) 安全性について

肝、腎機能、末梢血液所見に対する影響を表 3 に示してある。

AST(GOT)、ALT(GPT)は共に試験期間中、全く有意の変動は認められていない。LDH は大豆蛋白摂取後軽度には上昇の傾向にあるが、正常値の範囲での変化である。CPK の変動についても正常範囲内であるが、試験中に僅かに上昇している。



腎機能においても大豆蛋白、あるいはカテキン併用により変動しているが、これまた正常の範囲内での動きである。

末梢血液所見については、大豆蛋白摂取後、白血球の軽度の減少がみられるが、正常範囲内での変動である。赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットなども正常範囲内での変動である。MCV、MCH、MCHCなども正常範囲内での変動を示している。血小板数は大豆蛋白、カテキン併用により僅かに増加している。しかし、これまた正常範囲内での変動である。

以上、安全性については、特に異常と思われる自覚症状もみられず、安全性の指標としての肝機能、腎機能、末梢血液所見には、全く有害事象と考えられる所見はみられなかった。

#### D. 考察

大豆蛋白 (10g/日) 摂取により総コレステロールで約 3%、トリグリセライドで約 20%の減少を認め、LDL コレステロールで約 5%の低下を認めた。欧米における臨床試験の多くは 1 日 50g 近い大豆蛋白の摂取で 12.9%の LDL コレステロール低下を認めているが (3)、この量は一般に多すぎて日常継続的に摂取するには忍容性が低い。最近では 1 日に 6.0g 以上でも、かなり有効性が高いことがイギリスで報告されるようになったが (4)、この点、今回の日本人での検査でも 10g で有意に低下効果が確認され、忍容性にも問題ないことが認められたことは興味深い。動脈硬化のリスクに対しても、イソフラボンと協調して改善に働くものと思われる (4, 5)。

今回の試験では、この大豆蛋白摂取に加

え 1 日 540mg を含有する高濃度カテキン緑茶を 1 ヶ月間併用している。今回のカテキン併用では大豆蛋白摂取により低下した総コレステロール、LDL コレステロール値を、ほぼその低下した値に維持しており、カテキンを中止すると、両者共やや前値へ復する傾向をみせるので、カテキン併用は、コレステロール低下維持に効果を示したと考えられる。すでに、カテキン長期摂取により約 4%の有意の減少をコレステロールにおいて認めており (6)、この点とほぼ類似した傾向にある。また、中国人において 375mg のテアフラビン類ポリフェノールを摂取した二重盲検試験において、11.3%の LDL コレステロール低下を認めており (7)、これらポリフェノール類の脂質改善効果は明らかと考えられる。

今回は、すでに心筋梗塞のリスクであるとされ (8)、大豆蛋白摂取で上昇する可能性のある (9) アディポネクチンをも測定した。大豆蛋白摂取により僅かに増加する傾向はみられたが、カテキン併用により 11.5%の有意の上昇を認め、カテキンを中止しても、そのまま増加を維持していた。アディポネクチンは大豆蛋白摂取により上昇する傾向にあるもカテキン併用でより明らかに高値となり、心筋梗塞のリスクを低減させる効果をもつものと考えられた。

さらに、カテキンなどの抗酸化効果を臨床的に確認すべく各時期において MDA-LDL を測定した。MDA-LDL は初期値はかなり高値を示していたが、大豆蛋白摂取後約 22%の有意の減少を認めている。カテキン併用後も減少を示しており、カテキンを中止しても同程度に低値を維持していた。つまり、大豆蛋白、およびカテキン

併用による抗酸化効果を確認した。これは、大豆蛋白中のイソフラボンなどの効果も存在していた可能性がある。

なお、血中トリグリセライドと各評価項目との関係を見ると、前値において、トリグリセライド値と MDA-LDL とが正相関 ( $r=0.6780$ ,  $p<0.01$ ) を示すと共に、アディポネクチンとも負相関 ( $r=-0.5105$ ,  $p<0.02$ ) を示しており、トリグリセライドの持つ意義は重要である。

そこで、全症例の前値について、トリグリセライド 150mg/dL 以上と 150mg/dL 未満の例に別けて、他の評価項目を検討した (表 4)。その結果、トリグリセライド 150mg/dL 以上の 11 例では、MDA-LDL は大豆蛋白摂取で有意に低下し、カテキン併用にて低値を保っていた。アディポネクチンは大豆蛋白で増加の傾向を、カテキン併用にて有意に増加した。またトリグリセライドそのものも有意に大豆蛋白で減少、カテキン併用で減少値をほぼ維持していた。総コレステロール、LDL コレステロールには試験中に有意の変化はみられなかったが、非 HDL コレステロールは大豆蛋白で有意に減少し、カテキン併用でほぼその減少値を維持していた。(表 4)

一方、トリグリセライドが 150mg/dL 未満の 9 例では、MDA-LDL においていずれの試験食でも有意の変化はみられず、アディポネクチンは大豆蛋白とカテキン併用で増加の傾向がみられている。トリグリセライドは大豆蛋白、あるいはカテキン併用でも有意の変化はみられなかったが、HDL コレステロールは大豆蛋白で有意に上昇した。また、大豆蛋白により LDL コレステロールの有意の減少 (7.1%)、非 HDL コ

レステロールも有意に減少した (7.2%)。

以上、トリグリセライド値の高低により層別した検討では、トリグリセライド高値例では大豆蛋白が明らかにトリグリセライドを低下させ、カテキン併用でその低値が維持され、アディポネクチンの増加、MDA-LDL も有意に低下した。トリグリセライドの高値を伴わない高コレステロール血症では、MDA には有意の変化はなく、LDL、非 HDL コレステロールの低下を大豆蛋白で認め、アディポネクチンはカテキン併用で上昇の傾向がみられた。

炎症に対する効果を hs CRP で検討したが、前値が比較的低い例が多く、大豆蛋白、カテキン併用による有意の変動は認められなかった。

今回の検討で、安全性の評価として肝機能、腎機能、末梢血液所見を検討した。ALT、AST には全く変動はみられず、大豆蛋白とカテキン併用においても異常変動は認められていない。LDH は正常範囲内で軽度上昇の傾向がみられているがこれまた大豆蛋白とカテキン併用による異常変動は認められていない。CPK も大豆蛋白摂取軽度上昇したが、カテキン併用による悪化はみられず、これまた正常範囲内での変動であった。クレアチニン、尿酸には大きな変動は認められず、大豆蛋白、カテキン併用の異常所見も認めなかった。

末梢血液所見においても、すべて正常範囲内での変動であり、問題は認められない。白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットなど大豆蛋白、カテキン併用で軽度ながら増加の傾向がみられているが、特に臨床的な問題は認められない。MCV、MCH、MCHC の変化も僅かであり、正常

範囲内での変動である。血小板数は僅かながら増加する傾向があるが、これまた正常範囲内での変動である。

#### E. 結論

試験参加に文書にて同意を得た平均年齢 62.7 才の男女 20 名で、比較的血清脂質の安定した状況において、大豆蛋白（豆乳）1 日 10 g を 3 ヶ月、うち中間の 1 ヶ月に 540mg 含有カテキン緑茶を併用し、体重、体脂肪、BMI、血圧、血清脂質、MDA-LDL、アディポネクチン、hs CRP、肝機能、腎機能、末梢血液所見を 1 ヶ月毎に測定し、有効性、安全性を評価した。

体重、BMI は大豆蛋白摂取後の軽度の増加をカテキン摂取が抑制するものと思われた。血圧は収縮期、拡張期共に変化はなかった。大豆蛋白摂取により、総コレステロール、トリグリセライドの有意な減少が認められ、カテキン併用によりその低下が維持された。MDA-LDL は大豆蛋白摂取で低下、カテキン併用で、その低下が維持された。アディポネクチンは、大豆蛋白で増加傾向、カテキン併用で明らかな上昇がみられた。hs CRP には有意な変動はみられなかった。

安全性の指標である自覚症状、肝機能、腎機能、末梢血液所見には全く異常はみられなかった。

以上、大豆蛋白とカテキンの併用は、大豆蛋白の有用性を助長すると共に、動脈硬化のリスクとされているアディポネクチンを増加させるメリットがあると考えられる。

#### <参考文献>

- 1) 津山ひとみ、山下 毅、中村治雄、他. 特定保健用食品の組み合わせ摂取による有効性、安全性の研究 - エコナ油と大豆蛋白の併用-、Prog Med 2002; 22: 2782-2785
- 2) 嘉津山ひとみ、山下 毅、中村治雄、他. : 特定保健用食品の組み合わせ摂取による有効性、安全性の検討 II - エコナ油とヘルシア緑茶の併用-、Prog. Med. 2004; 24: 841-844
- 3) Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. N Engl J Med 1995; 333: 276-282
- 4) Rosell MS, Appleby PN, Spencer EA, et al. Soy intake and blood cholesterol concentrations: a cross-sectional study of 1033 pre- and postmenopausal women in the Oxford arm of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Am J Clin Nutr 2004; 80: 1391-1396
- 5) Sesso HD, Gaziano JM, Liu S, et al. Flavonoid intake and the risk of cardiovascular disease in women. Am J Clin Nutr 2003; 77: 1400-1408
- 6) 上田 隆、板倉弘重、中村治雄、他. カテキン類の長期摂取によるヒトの体脂肪低減作用。Prog Med 2002; 22: 2189-2203
- 7) Maron DJ, Lu GP, Cai NS, et al. Cholesterol-lowering effect of a theaflavin-enriched green tea extract. A randomized controlled

- |  |                 |
|--|-----------------|
| trial. Arch Int Med 2003; 163: 1448-1453   | 2. 実用新案登録<br>なし |
| 8) Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, et al. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. JAMA 2004; 291: 1730-1737 | 3. その他<br>なし    |
| 9) 松沢佑次. 生活習慣病における脂肪細胞の意義と大豆たん白質の効果：体脂肪分布と脂肪細胞機能、特にアディポサイトカイン分泌に及ぼす大豆たん白の影響（第三報）. 大豆たん白質研究 2004 ; 7 : 1-12                                     |                 |
| 10) 宮島恵美子、山下 毅、中村治雄、他. 特定保健用食品の組み合わせ摂取の有効性、安全性の検討- 大豆蛋白と高濃度カテキン茶の併用- Prog. Med. 印刷中  |                 |

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 嘉津山ひとみ、山下 毅、中村治雄、他. : 特定保健用食品の組み合わせ摂取による有効性、安全性の検討 II - エコナ油とヘルシア緑茶の併用-、Prog. Med. 2004; 24: 841-844
- 2) 宮島恵美子、山下 毅、中村治雄、他. 特定保健用食品の組み合わせ摂取の有効性、安全性の検討- 大豆蛋白と高濃度カテキン茶の併用- Prog. Med. 印刷中

### 2. 学会発表

なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

表1. 体格指数、血圧などに対する影響

	前	豆乳1ヶ月	豆乳+カテキン	豆乳
体重 (kg)	58.2±9.5	58.6±9.5	58.7±9.5	56.2±6.8
BMI	23.8±2.4	24.0±2.4	24.0±2.4	23.7±2.2
体脂肪 (%)	27.2±2.8	27.8±3.1	28.4±3.0	28.9±3.4
血圧 収縮期 (mmHg)	130.6±3.8	129.5±4.9	129.8±5.0	130.3±6.8
拡張期 (mmHg)	82.3±3.4	82.2±2.7	83.0±1.9	82.2±2.3
脈拍 (拍/分)	65.7±4.0	65.7±5.2	66.3±4.8	64.7±4.7

平均年齢：62.7±5.6才 男性4名、女性16名

表2. 血中脂質など代謝物への影響

	前	豆乳	豆乳+カテキン	豆乳
TC (mg/dl)	254.5±22.1	246.1±26.0*	246.6±28.2	252.7±29.6
TG (mg/dl)	178.0±107.7	143.3±97.9*	147.5±57.6	144.7±66.3
LDL-C (mg/dl)	151.0±21.9	144.0±21.11	146.1±22.3	151.2±31.0
HDL-C (mg/dl)	69.2±13.1	74.7±14.7***	71.1±16.3	72.6±16.4
TC-HDL (mg/dl)	185.3±24.8	171.6±27.2***	175.5±25.6*	180.1±28.4
Glu (mg/dl)	103.9±23.6	106.6±31.2	107.1±25.6*	103.3±11.8
Adip (μg/mL)	11.33±5.08	11.5±5.35	12.61±5.79**	12.56±4.76*
MDA-LDL (U/L)	182.4±74.1	142.6±51.8***	163.4±49.8	162.2±58.3
hs CRP (mg/L)	0.59±0.48	0.66±0.67	0.59±0.52	0.75±0.90

前に対して : \*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001

n=20

表3. 肝・腎機能、末梢血液に対する影響

	前	豆乳	豆乳+カテキン	豆乳
GOT (IU/l)	22.9±7.9	25.6±9.2	23.8±6.3	28.1±5.6
GPT (IU/l)	31.6±14.0	33.8±17.7	34.1±14.2	30.1±10.8
LDH (IU/l)	331.0±41.4	351.2±60.7	356.7±45.8***	389.7±62.3
CPK (IU/l)	92.0±27.5	104.8±29.6*	116.1±42.9**	97.4±34.0
Cre. (mg/dl)	0.74±0.14	0.67±0.16*	0.78±0.12	0.59±0.15***
UA (mg/dl)	4.34±1.03	4.30±1.09	4.37±0.90	4.02±0.88
WBC (10 <sup>6</sup> /ul)	53.1±10.9	50.5±9.3	54.5±13.3	54.5±12.2
RBC (10 <sup>6</sup> /ul)	454.0±42.4	450.2±44.8	458.9±46.9	452.1±36.1
Hb (g/dl)	13.9±1.4	13.7±1.4	14.0±1.4	13.7±0.9
Ht (%)	41.1±3.9	40.6±3.9	41.7±4.2	40.9±3.0
MCV (fl)	90.6±2.2	90.4±2.3	90.8±2.2	90.6±2.2
MCH (pg)	30.5±0.9	30.6±1.0	30.6±1.1	30.4±1.0
MCHC (%)	33.7±0.5	33.8±0.6	33.6±0.7	33.6±0.7
PLT (10 <sup>6</sup> /ul)	24.4±3.9	24.7±4.9	25.3±4.5*	27.4±5.6**

前に対して：\*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001

n=20

表4. トリグリセライドの高低によるパラメーターの変化

		前	豆乳	豆乳+カテキン	豆乳
MDA-LDL (U/L)	TG>150mg/dL	221.2±64.1	165.7±56.4***	181.4±52.3	201.6±53.4
	TG<150mg/dL	134.8±55.5	114.4±25.3	141.3±36.0	118.0±17.4
Adip (μg/mL)	TG>150mg/dL	9.05±4.53	9.74±5.19	10.29±5.57*	10.86±4.27
	TG<150mg/dL	14.11±4.27	13.66±4.72	15.46±4.68	14.48±4.54
TC (mg/dL)	TG>150mg/dL	258.2±23.4	249.8±26.3	246.9±28.8	254.4±19.2
	TG<150mg/dL	250.0±19.3	241.6±24.9	246.2±27.5	250.8±37.9
TG (mg/dL)	TG>150mg/dL	231.1±119.4	175.0±121.6*	178.3±58.3	170.8±77.0
	TG<150mg/dL	113.0±26.3	104.4±22.4	109.9±25.3	115.3±32.0
LDL-C (mg/dL)	TG>150mg/dL	150.5±22.1	146.9±18.9	146.0±19.1	153.9±27.7
	TG<150mg/dL	151.1±21.7	140.3±23.1*	146.1±25.7	148.3±34.1
HDL-C (mg/dL)	TG>150mg/dL	63.5±10.1	69.8±13.1**	65.3±13.1	66.4±12.9
	TG<150mg/dL	76.2±13.0	80.7±14.4**	78.2±16.9	79.5±17.3
TC-HDL (mg/dL)	TG>150mg/dL	194.7±22.4	180.0±25.9*	181.6±23.5	188.0±17.6
	TG<150mg/dL	173.8±22.5	161.2±25.1*	168.0±26.1	171.3±34.9

前に対して：\*p<0.05 \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001

TG>150mg/dL: n=11

TG<150mg/dL: n= 9



厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）  
分担研究報告書

いわゆる健康食品及び健康食品素材の健康影響の検討（1）  
—シトラスアウランチウムの体脂肪蓄積抑制効果と安全性の検討—

分担研究者 斎藤衛郎 独立行政法人 国立健康・栄養研究所 食品機能研究部長  
研究協力者 久保和弘 独立行政法人 国立健康・栄養研究所 食品機能研究部研究員

肥満に対する有効性を標榜するいわゆるダイエット食品として、シトラスアウランチウム（CA）とその有効成分と考えられているシネフリンを含有する製品が流通していることから、シネフリンの体脂肪減少効果と安全性について検討した。CA を混合した高脂肪食をラットに自由摂取（79 日間）させた結果、CA 大量摂取において血漿アドレナリン濃度が上昇し、体重あたりの腎臓周囲脂肪組織重量が減少した。しかし、心毒性が危惧されたことから、次に血中シネフリン濃度が急激に上昇して影響が出やすいと考えられるサプリメントとしての摂取を想定して胃管チューブ投与により検討した（30 日間）。その結果、CA 大量摂取において、尿中アドレナリンが顕著に増加したが、血漿カテコールアミン濃度、体重および脂肪組織重量には変化がなく、心臓毒性も認められなかった。従って、CA の有効性にはその摂取期間及び投与方法が密接に関与すると推定されるが、安全性の面では特に問題はないことが示唆された。

#### A. 研究目的

シトラスアウランチウム（CA）は多くの痩身を目的としたエフェドラフリー栄養補助食品として用いられている。その有効成分はシネフリン（Fig. 1）とされ[1]、シネフリンのβアドレナリン受容体を介した体脂肪減少効果が期待されている[2,3]。シネフリンはミカン科（Rutaceae）に多く含まれるエフェドリン様のアルカロイドとして知られ[4,5]、ヨーロッパにおいて交感神経興奮剤として使用されている。

ヒトでは、カフェインなどの興奮性・刺激性物質とともに、シネフリンを含有するCA を摂取した場合に体脂肪減少効果がみられるという報告がある [6]。しかし、この報告以外にシネフリンの体脂肪減少効果についてヒトを対象とした研究ならびに調

査は見あたらない。Marcus と Grollman は、ヒトにおけるシネフリンとカフェインの併用は、エフェドラとカフェインの併用と同様に、不整脈、高血圧症、心臓発作を引き起こす可能性があるとの警告している[7]。

2004 年 5 月、カナダ厚生省は、シネフリンを含有するある特定のサプリメントの実質的販売禁止措置をとった [http://www.hc-sc.gc.ca/english/protection/warnings/2004/2004\_30.htm]。その理由は、この製品がシネフリンの効果を増強する高レベルのカフェインおよび他の興奮性・刺激性物質を含有しており、死亡に至るような重度の有害作用を引き起こす可能性があるためとしている。

一方、カフェインのような興奮性・刺激性物質を含まず、CA のみを用いたラット

の研究において、心臓毒性を伴う可能性が報告されている[8]。

従って、本研究で使用した CA の量は、多くのシトラスアウランチウムを含有するいわゆるダイエット食品の 1 日摂取目安量を基に設定した。

本研究では、シネフリンを含有する CA の体脂肪蓄積抑制効果とその安全性について、特に、シネフリンを含有する CA の単独摂取の影響を明らかにすることを目的として実験を行った。

## B. 研究方法

【実験 1】6.4% (w/w) のシネフリンを含有する CA を、AIN93G を基本とした高脂肪食（脂質 20%）に混合して初体重 290 g の SD 系オスラットに 79 日間自由摂取させた。CA 給餌量は、0、40、200、1,000、5,000 mg/kg diet (シネフリン含有量はそれぞれ 0、2.6、13、64、320 mg/kg diet) とした。多くの CA を含有するいわゆるダイエット食品に表示されている CA の 1 日摂取目安量は 100~1,000mg/day の範囲にあることから、ラットの体重から換算した場合、本実験群の CA40 mg/kg diet ないし CA200mg/kg diet がこれにほぼ相当する。

【実験 2】血中シネフリン濃度が急激に上昇して影響が出やすいと考えられるサプリメントとしての摂取を想定して検討した。初体重 280 g の SD 系オスラットに AIN93G を基本とした高脂肪食（脂質 20%）を 30 日間与えた。6.4% (w/w) のシネフリンを含有する CA 乾燥粉末を水に溶かし胃経栄養法によりゾンデを用いて毎日単回投与した。本実験の CA 投与量は 0、12、60、300、1,500 mg/kg body weight (シネフリン投与量

は 0、0.768、3.84、19.2、96.0 mg/kg body weight) とした。ラットの体重から換算した場合、CA12 mg/kg body weight はこれを含有するいわゆるダイエット食品の 1 日摂取目安量にほぼ相当する。

平均値間の有意差検定は、一元配置分散分析 (ANOVA) を行った後、Duncan's multipl-range test を行った。危険率は 5% とした。

## C. 研究結果

【実験 1】飼料摂取量には CA の摂取量の違いによる差は認められなかった (Table1)。体重増加量は、対照群 (0 mg/kg diet) に比べて大量摂取群 (5,000 mg/kg diet) で減少傾向が見られた。心臓の重量は対照群に比べ大量摂取群で有意に減少したが、肝臓、腎臓、睪丸、肺の重量には有意差は見られなかった。心臓の病理組織学的検査には異常は観察されなかった。腎臓周囲脂肪組織重量は対照群に比べ大量摂取群では有意に減少したが、睪丸周囲脂肪組織には有意差は見られなかった。血清の一般生化学的検査値には CA の摂取量の違いによる変化は見られなかった (Table2)。血漿中のアドレナリンおよびドーパミンの濃度は、対照群に比べ大量摂取群で有意に増加したが、ノルアドレナリンの濃度は変化しなかった (Table3)。尿中のアドレナリン量は対照群に比べて大量摂取群で有意に増加したが、ノルアドレナリンおよびドーパミン量は変化しなかった (Table4)。

【実験 2】飼料摂取量、体重増加量、組織重量（肝臓、腎臓、心臓、睪丸、脾臓、肺、腎臓周囲脂肪組織および睪丸周囲脂肪組織）について、対照群と CA 摂取群の間で

統計的な有意差は認められなかった (Table5)。肝臓、心臓および肺の病理組織学的検査には異常は観察されなかった。血清の一般生化学的検査値において、乳酸脱水素酵素 (LDH) の値が対照群に比べて CA300 mg/kg body weight 群および CA1,500 mg/kg body weight 群 (それぞれ 1 日摂取目安量の約 20 倍量および約 100 倍量) で減少した (Table6)。また、遊離脂肪酸量は対照群に比べて CA1,500 mg/kg body weight 群において減少した。その他の一般生化学的検査値には特筆すべき変化は見られなかった。血漿カテコールアミン濃度には変化は認められなかった (Table7)。尿中カテコールアミン濃度については、アドレナリンが対照群に比べて CA300 mg/kg body weight 群で有意に増加し、さらに CA1,500 mg/kg body weight 群ではより有意に増加していた (Table8)。このとき、同様の統計的に有意な増加が尿中ホモバニリン酸濃度にも認められた。一方、尿中のノルアドレナリン濃度およびドーパミン濃度には変化が認められなかった。

#### D. 考察

実験 1 では、ラットに CA を 79 日間大量摂取 (CA5,000 mg/kg diet) させた場合に、体脂肪蓄積抑制に対する有効性が示唆されたが、一方、心臓毒性も危惧された。本研究で観察された体脂肪蓄積抑制は、シネフリンの  $\beta$  受容体を介した作用であると考えられ、細胞内の cAMP 濃度の増加とこれに伴う脂肪組織での脂肪分解が促進された可能性が推察された。同時に、血漿中のアドレナリンおよびドーパミンの濃度上昇も観察されたが、これらのカテコールアミンが

血漿で増加した理由は不明である。

先行研究において、CA (6%シネフリン) を SD 系オスラット (240~280g) に (1 回/日) 一週間胃経栄養法により経口投与した場合、投与量依存的に飼料摂取量と体重増加量が減少することが報告されている [8]。この場合、シネフリン投与量が体重 (kg) あたり 2.5mg のとき一週間後の体重に有意な減少 (有効性) が認められたが、一方、15 日後には死亡率が 10%から 50%に達したとされている。この投与量を本研究に当てはめると、CA200 mg/kg diet ないし CA1,000 mg/kg diet に相当する。しかし、本研究では最大摂取量群 (CA5,000 mg/kg diet) でも飼料摂取量と体重増加量には変化がほとんど認められず、死亡に至ることもなかった。この先行研究と我々の研究では、ラットの系統と性別は同じであり、週齢、体重および与えた CA のシネフリン含有量もほぼ同じであった。二つの研究における主な違いは、CA の摂取方法、そして飼料脂質の含有量およびその摂取レベルだけである。ラットに CA 含有飼料を自由摂取させた場合、腸管からの CA とシネフリンの吸収率は、胃経栄養法による経口投与 (1 回/日) に比べて高いと考えられる。しかし、胃経栄養法による経口投与は、自由摂取に比べて、血中のシネフリン濃度が一過性に急激な上昇を示すと考えられる。よって、先行研究のようにサプリメントの形態としての CA 摂取は、シネフリンの効果が発現しやすかったのかも知れない。このとき、もしシネフリンの影響が閾値を超えて急激に現れるならば、有害性もしくは毒性が容易に発現するだろう。

実験 1 では、20% (w/w) 高脂肪食を 79

日間与えたため、体脂肪の蓄積は顕著であった。β3 アドレナリン受容体はラットの白色ならびに褐色脂肪組織に分布しており [9,10]、この受容体は白色脂肪組織の脂肪分解と、褐色脂肪組織の熱産生をコントロールしていることが知られている。しかし、白色ならびに褐色脂肪組織における β3 アドレナリン受容体 mRNA の発現は、Zucker のような肥満ラットで低下する [9]。さらに、ラットの脂肪分解に対するシネフリンの影響は、主に β1 ならびに β2 アドレナリン受容体によるものであり、よって、β3 アドレナリン受容体への依存は少ない [3]。

従って、本実験条件下では、CA あるいはシネフリンによる体脂肪蓄積抑制作用は発現しにくかったのかも知れない。β3 アドレナリン受容体はげっ歯類の脂肪細胞における主要な受容体であると考えられてきた [9,10,11-13]。しかし、アドレナリンに対する β3 アドレナリン受容体の感受性は β1 および β2 アドレナリン受容体に比べて低いことが報告されている [14,15]。最大 CA 摂取群 (CA5,000 mg/kg diet) ではその他の群に比べて、腎臓周囲脂肪組織重量の有意な減少と体重の減少傾向が認められ、また血漿中のアドレナリンおよびドーパミンの濃度と尿中へのアドレナリン分泌の有意な増加が観察された。血中のシネフリンとカテコールアミンの増加は、腎臓周囲脂肪組織の β1 および β2 アドレナリン受容体に働きかけて、貯蔵脂肪の分解を誘導したのかも知れない。しかし、CA 摂取に伴う血漿中カテコールアミンの増加のメカニズムについては明らかではない。ラットでは、モノアミンオキシダーゼ阻害剤を投与しても、*m*- および *p*-シネフリン は副腎髄質にの

みに検出され、その他の組織には検出されないことが報告されている [16]。副腎髄質がシネフリンの刺激を受けた場合、CA 中の *p*-シネフリンによって血中へアドレナリンとドーパミンの分泌が誘導される可能性があるが明らかではない。CA 摂取による血漿中カテコールアミンの増加のメカニズムについては今後の研究に期待したい。さらに、最大 CA 摂取群 (5,000 mg/kg diet) の血清インシュリンレベルが対照に比べて低下傾向を示したことは、脂肪分解においてインシュリンがアドレナリンと競合することと一致している。加えて、最大 CA 摂取群の血清グルコース濃度は他の群と比べて差がないことから、ラットの貯蔵脂肪の減少はインシュリン感受性を高めたのだろう。しかし、血清中の遊離脂肪酸レベルに変化が見られなかったことについて理由は明らかではない。

β1 アドレナリン受容体は、心臓の心拍数と収縮力をコントロールしている主要な受容体である [17]。ラットの心臓では、カテコールアミンによる β1 アドレナリン受容体の刺激が、心機能および心筋症を亢進させて、乳酸脱水素酵素 (LDH) の漏洩を引き起こす [18]。この現象は、アドレナリンの非生理学的な代謝物質であるアドレノクロームによって引き起こされると考えられている [18]。このことは、本研究で観察された最大 CA 摂取群における血漿アドレナリン濃度の増加と心臓重量の減少に関係していたのかも知れない。

本研究における最大 CA 摂取量 (5,000 mg/kg diet) は、176.1 mg/kg 終体重/day であり、マウスの LD<sub>50</sub> (476.94 mg/kg body weight/day) [19] のおよそ 1/3 に相当する。ヒ