

表5. 子どものサプリメント利用の実態

	利用の種類		p値
	VM群 (n=154)	非VM群 (n=74)	
形態 (M.A)			
錠剤	40.0	48.5	ns
カプセル	4.3	30.4	p<0.01
粉末	6.2	15.9	p<0.05
顆粒	15.9	11.6	ns
エッセンス	0.7	1.4	ns
チュアブル・タブレット	55.2	43.5	ns
利用の目的 (M.A)			
栄養補給	70.1	57.4	ns
健康増進	20.8	41.2	p<0.01
病気予防	12.5	35.3	p<0.01
体質改善	9.7	19.1	ns
便秘改善	7.6	4.4	ns
体格改善	4.9	8.8	ns
能力アップ	2.8	5.9	ns
持病対策	1.4	2.9	ns
なんとなく	4.9	1.5	ns
購入時注意点 (M.A)			
JAFマークの有無	12.1	6.0	ns
昔からある	8.5	7.5	ns
有名メーカーの商品	24.1	14.9	ns
天然・自然素材	33.3	49.3	p<0.05
安価	18.4	17.9	ns
栄養表示の有無	41.8	43.3	ns
添加物未使用	35.5	40.3	ns
アレルギーがない	10.6	11.9	ns
栄養機能食品	34.0	28.4	ns
特になし	12.1	11.9	ns
相談者 (M.A)			
薬剤師	11.8	11.8	ns
栄養士	3.5	1.5	ns
医師	6.3	10.3	ns
店員	15.3	8.8	ns
家族・親戚	17.4	16.2	ns
知人・友人	17.4	29.4	p<0.05
なし	45.8	42.6	ns
効果の実感 (S.A)			
あった	37.9	53.7	p<0.05
特になし	62.1	46.3	

M.A:複数回答(選択した人の割合)、S.A:単数回答、 χ^2 検定、
ns: not significant

表6. サプリメント利用経験がない子どもの保護者におけるサプリメント利用に対する態度

(%), (平均±SD)

	子ども用サプリメントの認知度		p値
	認知群 (n=359)	非認知群 (n=818)	
許容年齢	13.09±5.690	14.68±5.945	p<0.01
子どもの利用の認識			p<0.01
利用しても良い	19.0	12.1	
どうしても必要なら	70.3	74.4	
利用すべきではない	10.6	13.6	
利用の可能性			p<0.01
ある	44.6	32.2	
ない	55.4	67.8	

許容年齢 t検定

子どもの利用の認識, 利用の可能性: χ^2 検定

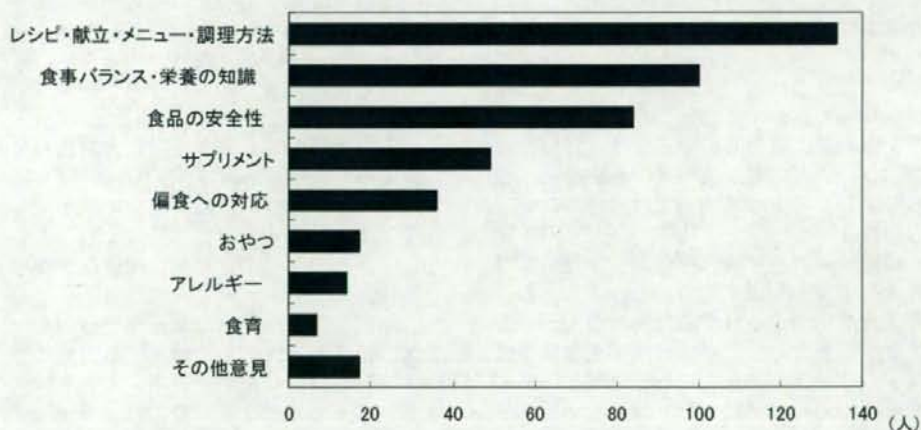


図2 子どもの食に関して欲しい情報

厚生科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

（分担）研究報告書

いわゆる健康食品の安全性に影響する要因分析とそのデータベース化・情報提供に関する研究

科学的根拠に基づく「健康食品」論文の自動データベース化

および情報収集支援サイト運用システムの構築

分担研究者 廣田晃一 独立行政法人国立健康・栄養研究所

研究協力者 古池直子 独立行政法人国立健康・栄養研究所

研究協力者 海老原美樹 独立行政法人国立健康・栄養研究所

研究要旨

健康食品 240 素材について、PubMed からの最新文献自動取得データベース及び Web 公開システム (EBIS) を開発した。2008 年 12 月 31 日現在、登録された健康食品文献数は 47,586 件であり、うちヒト文献は 2,611 件であった。PubMed に登録されたばかりの文献にはヒト試験を区別するタグ (標識) が付けられていないため、手作業によって選別する必要があったことから、自動的にヒト試験を選別するための方法について検討し良好な再現性を得た。ダイズを例として PubMed でヒト・タグが付されている文献との比較を行った結果、今後実用化していく上でいくつかの問題点が明らかになった。

A. 研究目的

いわゆる「健康食品」については医薬品のような規制がないため、どのような製品であるのかの判断は、ほとんど一般消費者に委ねられている。しかも、その種類が多様多様であり、一見食品とも医薬品とも思えないようなものさえ多いことから、健康食品素材に関する科学的に正確な情報を入手することが、製品そのものの品質同様きわめて重要になる。実際あまりにも多様な健康食品が存在することから、それらの情報を網羅的に収集しているサイトは限られており、さらに最新情報までを完全に採録しているサイトは日本語では存在しないと思われる。

通常最新の科学情報を収集するためには 2 次文献誌を利用するのが一般的である。健康食品に関する科学的な情報を入手しようとする場合にも、米国立医学図書館が運営するオンライン版 Medline である PubMed サイトの利用が無料であり便利であると思われる。しかし、PubMed は英語のサイトであるため、日本人の一般利用者にとっては、たとえば健康食品素材を英語で何と言うかを知らなければ使うことができない。それは全ての検索語句について言えることでは

あるが、健康食品については日本語の信頼できる情報が少ないために、正確な英名を見つけることにさえも困難が伴うことが多い。

本分担研究者らは、健康食品に関する科学的な情報収集を支援するための日本語サイトの構築運用を試みた (Evidence-Based Information System, EBIS, 図 1) が、検索される文献のうちヒト試験の文献が占める割合は全体の 5% 程度であった。

ヒトを対象にした研究文献は、実践分野では極めて重要性が高いが、PubMed に登録されたばかりの文献にはキーワードが附されていないため、簡単には検索することができず、その部分の自動化、機械化が課題であった。

昨年度は、ヒト試験であるかどうかを、論文の題名から機械的に検索する方法について検討し良好な結果を得た。本年度はプログラム上の実装を視野に入れ、新規文献についても同様の結果が成立するかを追加検証するとともに、PubMed でヒト文献を検索した場合との差異について検討した。

B. 研究方法

1. 健康食品文献データベース (EBIS) の構築

1) 昨年度報告した方法によって、240 品目の健康食品素材(ただしアミノ酸、ビタミン等健康食品以外での研究が多い素材を除く)について、PubMed から Perl スクリプトによる関連文献の自動取得を行い、データベースに登録した(図 1)。

2) PubMed に登録されたばかりの文献にはキーワードが附されていないため、実験対象別による分類を手作業で行い、ヒトを対象とするもの(以下「ヒト文献」)を選別した。

2. ヒト文献の自動検索のための検討

データ範囲: 2008 年 12 月 31 日までの間にデータベースに登録された全文献を対象とした(以下「総文献」)。

昨年度の、テキスト解析ツールを用いて使用単語の頻度を解析した(ただし、ヒト文献については 2006 年登録の全データを、非ヒト文献については、2006 年 1 月-1 月分のデータのみを使用した)結果に基づき、ヒト文献から得られた使用頻度の高い単語から、非ヒト文献と重なる単語及び特殊な単語を除いた単語の組み合わせを用いて、全文献及びヒト文献の OR 検索を行い、検索数から、検索の精度と再現率を計算した。

3. EBIS データベースと PubMed の比較

健康食品の一例として、「ダイズ」に関するヒト文献の登録状況を、EBIS と PubMed の各々についてリストアップし、EBIS への登録の遺漏の程度について検討した。

C. 研究結果

1. 健康食品文献データベース (EBIS) の構築

2008 年 12 月 31 日までに登録された総文献数は、47,586 件であった(表 1)。2005 年度分は 2006 年のデータベース開発時に取得したもの)。

そのうち、文献題名と要約から手作業で選別したヒト文献数は、2,611 件(5.5%)であった。これを各年別に食品素材ごとに集計したのが表 2 である。ヒト文献の多かった素材の 1 位は、2006 年はカルニチン(52 件)、2007 年はカルニチン(31 件)、2008 年はダイズ(107 件)であった。また、上位 10

素材だけで、605 件(58.5%)と半数以上を占めた(2008 年)。

2. ヒト文献の自動検索のための検討

昨年度の検討から得られたヒト文献で使用頻度の高い語彙の組み合わせを用いて、登録した全文献の OR 検索を行った場合の総文献における精度と再現率を示したのが表 3 である。極めてヒト特異性の高い単語(Patients, Women, Children)を使用した場合、精度は高かった(90%)が、再現率は低かった(50%)。組み合わせる単語の数を増やすと、再現率は上がったが精度は低くなった。

単語数 26-29 語の組み合わせを用いて、精度 30%以上、再現率 85%程度を実現することが可能であった(表 4)。

3. EBIS データベースと PubMed の比較

PubMed に登録される文献は、3 ヶ月から半年のうちに詳細なキーワードが付され、ヒト文献かどうか簡単に検索できるようになる。EBIS の目的は、いち早く健康食品関連文献(特にヒト文献)を検索することであるから、どの程度その目的を達しているかを検討した。

その方法として、2008 年にヒト文献が最も多く登録された「ダイズ」を具体例として、EBIS への登録状況、及び PubMed でヒト文献としてのタグ付けの状況を比較した。その結果を表 5 に示す。

2008 年に登録されたダイズのヒト文献は、EBIS で 107 件、PubMed で 105 件であった。しかし、具体的な内訳を調べると、各々半数は、他方のデータベースとは異なる文献であった。PubMed が大本のデータベースであり、EBIS においてヒト文献として検索されないということは、登録漏れが考えられるが、検索されなかった 53 件中、26 件は EBIS データベース自体に登録されておらず、残り 27 件は、登録はされていたが、ヒト文献としてのタグ付けがされていないであった。

EBIS のほうでのみヒト文献と認識された 55 文献は、PubMed でキーワードが未登録の新しい文献であった。

D. 考察

ヒトを対象にした文献の題名によく使われる語彙が、ヒト以外を対象にした文献(培

養ヒト細胞も含む)の題名によく使われる語彙とは異なっているという仮定は、文献の内容を判断する最初の指標が文献題名であることから充分あり得るものであり、実際、昨年度の報告書に述べたように、ヒト文献と非ヒト文献では題名の使用語彙に差異が認められた。しかし、その差異だけでは明確にヒト文献と非ヒト文献が弁別可能とはいえなかった。EBIS データベースに登録されたすべてのデータについて再検討を行った結果、再現率は86%が最高で、これより高い再現率を得るのは題名からだけでは困難であった。

しかし、40%近い精度を得ることは可能であることが示唆され、これは検索された文献の4割はヒト文献であることを意味し、省力化の助けにはなると思われた。また今回得られたほかの知見とあわせて、健康食品のヒト文献選別の自動化に役立つと思われる。

結果の3.から明らかなように、EBISに2008年に登録されたヒト文献のうち、半分程度は、2008年末の時点ではPubMedでのヒト文献検索によって検索できない(キーワードが付されていない)ものであり、どうしても検索する必要がある場合は、EBISで検討したようなヒトに関連するキーワードのOR検索をするしかない。

しかし、実装されたシステムは完全なものではないことも3.の結果から明らかになった。まず第一に、PubMedの文献をEBISが100%取得していなかった問題である。プログラムやネットワークの不具合によるものと思われるが、サーバの負担軽減のためでもあり、実用化するためにはもっと堅牢なシステム構築の必要があると思われる。

また、第二に、EBISに登録はされていたが、ヒト文献と認識されていなかった文献がかなりあった。単純に見逃したものとタイトルからは判別不能なもの両方の場合があり、前者はヒト文献の自動検索システムによって回避できるが、最終的には人手による選別作業があるため、このヒューマン・エラーをどうするかは最終的に問題になると思われる。

実用システムを構築することが本分担研究の目的ではなかったため、完全な自動化

システムとして実装するまでにいたらなかったが、今回得られた種々の知見を基盤として、今後、文献要約やその他の指標を含めた検討を行うことで、よりよいヒト文献の選別法に基づく自動化システムの確立が期待される。

E. 結論

健康食品240素材について、PubMedからの最新文献自動取得データベース及びWeb公開システムを開発した。2008年12月31日現在、登録された健康食品文献数は47,586件であり、うちヒト文献は2,611件であった。PubMedに登録されたばかりの文献にはヒト試験を区別するタグ(標識)が付けられていないため、手作業によって選別する必要があったことから、自動的にヒト試験を選別するための方法について検討し良好な再現性を得た。ダイズを例としてPubMedでヒト・タグが付されている文献との比較を行った結果、今後実用化していく上でのいくつかの問題点が明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし



図1 「健康食品」論文情報収集支援サイト

①メニュー

②総説のみを表示するページへのリンク

③動物実験のみを表示するページへのリンク

④ヒトの試験のみを表示するページへのリンク

⑤インビトロ実験のみを表示するページへのリンク

⑥最新論文リスト一覧：登録された論文の一覧。

掲載内容は食品素材名・タイトルの和訳・著者・原文タイトル・出典・PMID・登録日、実験対象別の分類とした。日本語訳されたタイトルをクリックすると、論文要約の日本語訳が、原文タイトルをクリックすると、論文要約の原文を表示できるようにした。

⑦翻訳ボタン：OFFだと論文タイトルは原文のまま表示され、ONにすると、和訳されたものと原文が両方表示されるようにした。

⑧健康食品名インデックス：

健康食品名をあいいうえお順にリストアップした。食品名をクリックすると、その食品に関する論文リストのページにジャンプするようにした。

⑨健康食品名：クリックすると、食品ごとの論文リストページにジャンプ

⑩論文の機械翻訳タイトル：機械翻訳した論文のタイトルをクリックするとPub Med上の論文要約を機械翻訳したものを閲覧可能。

⑪論文の原文タイトル：クリックするとPub Med上の論文要約の英語原文を閲覧可能。

⑫カテゴリ：総論・動物実験・ヒトの試験・インビトロ実験のいずれかに該当する論文の場合、マークを付与。

表1 EBIS取得文献数年次推移

Year	Total	Human
2005	6,543	401
2006	14,248	673
2007	11,765	503
2008	15,030	1,034
Total	47,586	2,611

表2 ヒト文献登録数順位

順位	2006年		2007年		2008年	
	食品名	出現回数	食品名	出現回数	食品名	出現回数
1	カルニチン	52	カルニチン	31	ダイズ	107
2	乳酸菌	39	食物繊維	30	食物繊維	88
3	ヒアルロン酸	38	ヒアルロン酸	29	オオムギ(バクガ)	81
4	オオムギ(バクガ)	37	コエンザイムQ10	24	オリーブ	69
5	オリーブ	32	オオムギ(バクガ)	21	ヒアルロン酸	60
6	食物繊維	30	オリーブ	20	茶	58
7	イチョウ	25	乳酸菌	17	カルニチン	46
8	茶	22	イチョウ	14	乳酸菌	37
9	ダイズ	17	ダイズ	13	ルテイン	36
10	コエンザイムQ10	5	茶	10	コエンザイムQ10	23

表3 検索単語の組み合わせによるヒト文献検索の精度と再現率(1)

検索単語	語数	総文献ヒット件数 (L)	ヒト文献ヒット件数 (R)	精度 (R/L×100)%	再現率 (R/C×100)%
patients, women, children	3	1449	1301	90	50
patients, women, children, trial, controlled	5	1904	1505	79	57.6
patients, women, children, trial, controlled, healthy, randomized, blind, subjects, patient, placebo	11	2349	1765	75.1	67.6
patients, women, children, trial, controlled, healthy, randomized, blind, subjects, patient, placebo, clinical, efficacy, double, risk, intake, chronic, health, supplementation	19	4430	2072	46.8	79.4
patients, women, children, trial, controlled, healthy, randomized, blind, subjects, patient, placebo, clinical, efficacy, double, risk, intake, chronic, health, supplementation, treatment, carnitine, cancer, plasma	23	6679	2175	32.6	83.3

表4 検索単語の組み合わせによるヒト文献検索の精度と再現率(2)

検索単語	語数	総文献ヒット 件数 (L)	ヒト文献ヒット 件数 (R)	精度 (R/L×100)%	再現率 (R/C×100)%
women, trial, controlled, healthy, randomized, blind, subjects, patient, placebo, clinical, efficacy, double, risk, intake, chronic, health, supplementation, treatment, carnitine, cancer, plasma, child, consumption, males, humans, cohort, prospective, adults, complementary	29	7057	2260	32	86.6
women, trial, controlled, healthy, randomized, blind, subjects, patient, placebo, clinical, efficacy, double, risk, intake, chronic, health, supplementation, treatment, cancer, plasma, child, consumption, males, humans, cohort, prospective, adults, complementary.	28	6863	2252	32.8	86.3
women, trial, controlled, healthy, randomized, blind, subjects, patient, placebo, clinical, efficacy, double, risk, intake, chronic, health, supplementation, cancer, child, consumption, males, humans, cohort, prospective, adults, complementary,	26	5742	2193	38.2	84

(注) C(ヒト文献総数) = 2,611件

表5 EBISにおけるダイズの
ヒト文献数のPubMedとの比較

Item	総数	他方のDBには未登録の文献数	EBISには登録されていたがヒト・タグがついてなかった文献数
2008年(取得日)のEBISにおけるヒト文献数(主として題名で確認したもの。マニュアルでタグ付)	107	55	<u>27*</u>
2008年[EDAT]のPubMedの対象が年齢別のヒトにタグ付られている文献数(Limitで制限)	105	53	

* PubMedだけにあった53件の内訳:

1. EBISには登録されていたがヒト・タグがついてなかった文献: 27件
2. EBISに登録されなかったヒト文献: 26件

厚生科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

（分担）研究報告書

いわゆる健康食品の安全性に影響する要因分析とそのデータベース化・情報提供に関する研究

健康食品の摂取に伴う安全性情報の因果関係判定のための評価分類基準の改良と臨床への有用性の検討

分担研究者 山田 浩 静岡県立大学薬学部

研究要旨

健康食品の摂取に伴う安全性情報として報告される情報は種々雑多であり、必ずしも科学的に十分吟味された状況で医療従事者や消費者に提供されているとは言えず、またその正確な情報を把握し科学的に吟味するための臨床上有用な方法論も未だ確立されていない。本研究では、平成19年度に作成した有害事象の因果関係評価分類アルゴリズムに改良を加え、健康食品の有害事象に適用することにより、評価分類基準の信頼性と妥当性を検討した。有害事象例として、評価委員会において因果関係判定を受けた30事例を対象とし、薬剤師8名により独立して評価後、多評価者間 κ 係数を解析した。その結果、信頼性および妥当性の κ 係数は、それぞれ 0.3795、0.2603 であり、臨床的有用性においては更なる検討を要すると考えられた。

A. 研究目的

健康食品の摂取に伴う安全性情報として報告されている情報は種々雑多であり、必ずしも科学的に十分吟味された状況で医療従事者や消費者に提供されていると言いき難く、またその正確な情報を把握し科学的に吟味するための臨床上有用な方法論も未だ確立されていない。既に我々は平成19年度の研究において、医薬品の有害事象の因果関係評価分類アルゴリズムを改変することにより、健康食品の摂取に伴う有害事象の因果関係判定にも応用が可能であることを示した。そこで今回、改変アルゴリズムに更に改良を加え、健康食品の有害事象に適用することにより、評価分類基準の信頼性と妥当性を検討することとした。

B. 研究方法

医薬品における有害事象の因果関係評価のためのアルゴリズムを健康食品用に改変した。改変にあたっては、用語で曖昧表現がある部分に注釈をつけ具体的にし、評価すべき健康食品や併用医薬品の記載欄等を追加した。評価項目は10項目の質問から成り、その評価点の合計に基づき、highly probable（非常に確からしい）9点以上、probable（確からしい）5-8点、possible

（可能性がある）2-4点、remote（ほぼ関連なし）2点未満の4段階のカテゴリーに分類した。

有害事象例として、評価委員会において因果関係判定を受けた30事例を対象とし、薬剤師8名によりアルゴリズムを用い、それぞれ独立して評価し、信頼性および妥当性の検討を行った。信頼性に関しては、各評価者の評価合計点に対して評価者間信頼性係数、4段階のカテゴリー分類に対して多評価者間 κ 係数を算出した。妥当性に関しては、評価委員会において行った因果関係判定を基に、多評価者間 κ 係数を算出した。

C. 研究結果

信頼性評価では、評価合計点に対する評価者間信頼性係数は0.635 [95%信頼区間 (0.471-0.799)]、カテゴリー分類に対する多評価者間 κ 係数は0.3795であった。一方、妥当性評価での κ 係数は0.2603であった。

D. 考察

信頼性の検討に関しては、医薬品の有害事象判定と比べ遜色ない結果が得られた。

一方、妥当性の検討においては未だ十分な結果とはいえず、更なる検討の必要性が示唆された。

E. 結論

医薬品で利用されているアルゴリズムは健康食品に伴う有害事象の評価分類として応用性が期待されるが、その臨床的使用においてはアルゴリズムの更なる改良と、信頼性および妥当性の検討が必要であると考ええる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 清水雅之、進士三明、松本圭司、吉川俊博、朴美貞、大門貴志、梅垣敬三、山田浩：健康食品と医薬品の併用における有害事象の因果関係判定のための評価分類基準の検討。臨床薬理 39(5):169-172, 2008.

2) 山田浩。健康食品の有害事象の事例と解説；ダイエット関連事例。

Functional Food: 2(1): 96-99, 2008.

2. 学会発表

1) Yamada H, Daimon T, Matsuda K, Yoshida M, Takuma N., Hara Y. Gargling with Tea catechin extracts for the prevention of influenza infection. The 9th World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics. Québec, Canada, July 27-August 1, 2008

2) 脇昌子、山田浩、山田薫、篠谷雄二、秋山礼子、大門貴志、内田信也、山田静雄、梅垣敬三。血糖コントロールとビタミンC値：抗酸化マーカーとしてのリンパ球中ビタミンC測定の意義。第51回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2008年5月22-24日。

3) 吉川俊博、山田浩、松田捷彦、小菅和仁、新納仁、提坂裕子、角田隆巳、内田信也、尾上誠良、山田静雄、梅垣敬三。茶カテキンの摂取が細胞質分裂阻害小核試験へ及ぼす影響：健康成人を対象としたランダム化二重盲検比較試験。第29回日本臨床薬理学会年会、新宿、2008年12月4-6日

4) 朴美貞、藤本雅宣、後藤貴裕、松下久美、北川俊朗、小菅和仁、山田浩。茶農産地児童のインフルエンザ罹患状況と予防対策に関するアンケート調査：菊川市小学校にお

ける全数調査。第29回日本臨床薬理学会年会、新宿、2008年12月4-6日

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究要旨

セントジョーンズワート (SJW) は抗うつ作用を有するハーブとして広く用いられている。SJW の主要な活性成分である hyperforin は脂溶性が高く水に難溶であることが知られている。本研究では、食品に使用可能な添加剤を用いて SJW 抽出物のエマルジョン製剤を調製し、hyperforin の体内動態および抗侵害作用を評価した。マウスに SJW エマルジョン製剤および SJW 懸濁液を経口投与した。エマルジョン製剤投与後の血漿および脳内 hyperforin 濃度の時間曲線下面積は SJW 懸濁液に比べ、それぞれ 2.9 倍および 1.3 倍有意に高値を示した。さらに、抗侵害作用をホルマリンテストにより評価したところ、SJW エマルジョン製剤投与後における作用時間曲線下面積は懸濁液投与に比べ 1.7 倍高値を示した。以上の結果、SJW を可溶化することによりその活性成分である hyperforin の吸収量が増大し、その薬理作用である抗侵害作用を増強させることが示唆された。

A. 研究目的

近年、健康増進や疾患の予防・治療を目的として、健康食品やサプリメントへの関心が高まっている。セントジョーンズワート (SJW) は抗うつ作用を有するハーブとして広く用いられており、大規模臨床試験において軽度から中程度の抑うつに対する有効性が報告されている¹⁾。さらに最近我々は、SJW が抗うつ作用に加え抗侵害作用を有することを明らかにした²⁾。SJW は三環系抗うつ薬と同様にセロトニンやノルアドレナリン等のモノアミン再取り込み阻害作用を有しており、主要な活性成分として hyperforin や hypericin 等が知られている。その中でも hyperforin は SJW 抽出物の含有量が多く、作用発現において重要な成分であると考えられている。また、hyperforin は高脂溶性で水に難溶であることが知られている³⁾。SJW のような難溶性の機能性食品素材を可溶化することにより、その食品を他の食品や飲料へ配合することが可能となるだけでなく、吸収性の増大が期待される。一般に可溶化の方法には、エマルジョンの生成やリポソームへの封入、PEG などにより化学的修飾等がある。しかし、食品素材を可溶化する場合、食品に使用可能な添加剤は法的に定められていることから、医薬品の場合と比較してその方法は限られる。

SJW のような薬理学的活性を持つ物質の評価には、その体内動態および薬理作用の総合的な解析が重要である。しかしながら SJW を食品に使用可能な添加剤を用いて可溶化し、薬理作

用を活性成分の体内動態と関連させて解析した報告はこれまでにほとんどない。本研究では、SJW の薬理作用として抗侵害作用に着目し、SJW の可溶化がその抗侵害作用および活性成分である hyperforin の体内動態に与える影響を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. SJW エマルジョン製剤の調製

食品添加物であるグリセリン脂肪酸エステルおよび大豆レシチンを混合した水相を 80℃ で加熱しながら、中鎖脂肪酸トリグリセリド (MCT) および粉砕した SJW 抽出物を加え、ホモミキサーで 10,000rpm、15 分間攪拌し、SJW 抽出物を重量パーセント濃度として 5% 含むエマルジョン製剤を調製した。

2. 血漿および脳内 hyperforin 濃度の測定

SJW エマルジョン製剤および対照として SJW 抽出物を水に懸濁させた SJW 懸濁液を、hyperforin 用量が 5.2mg/kg となるようにマウスに経口投与し、投与後 0.5、1、3、6 時間における血漿および脳内 hyperforin 濃度を HPLC により測定した。

3. ホルマリンテストによる抗侵害作用の評価

SJW エマルジョン製剤および懸濁液を経口投与後 0.5、1、3、6 時間において、2.5% formalin 溶液 20μL をマウスの右後肢足趾に皮下投与し、マウスが投与した足をなめたり (licking) かんだり (biting) する行動の継続

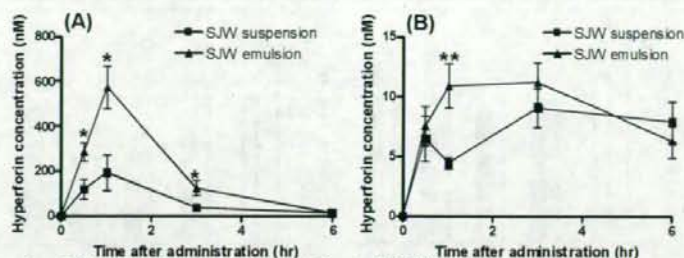


Fig. 1 SJW 懸濁液およびエマルジョン製剤経口投与後における血漿 (A) および脳内 (B) hyperforin 濃度の時間推移

時間 (licking/biting 時間) を測定した。ホルマリン投与後 licking/biting 反応は 2 相性を示し、0-5 分を第 1 相、10-30 分を第 2 相とした。

C. 研究結果

1. SJW エマルジョン製剤の調製

SJW エマルジョン製剤の粒子径を動的光散乱法により測定したところ、180 nm となった。

2. 血漿および脳内 hyperforin 濃度の測定

血漿中 hyperforin 濃度はエマルジョン製剤および懸濁液ともに投与後 1 時間において最高値を示した。さらに SJW をエマルジョン製剤とすることにより血漿中 hyperforin 濃度は著しく上昇し、投与後 0.5、1、3 時間において懸濁液に比べ有意に高値を示した。脳内 hyperforin 濃度はいずれの投与群においても投与後 3 時間において最高値を示し、エマルジョン製剤は懸濁液に比べ投与後 1 時間において有意に高値を示した (Fig. 1)。

血漿および脳内 hyperforin 濃度推移より薬物動態学的パラメータを算出したところ、懸濁液と比較してエマルジョン製剤では、血漿中 hyperforin 濃度の時間曲線下面積 (AUC) が

2.9 倍有意に高値を示した。また、経口クリアランスおよび分布容積は低値を示す傾向が認められた。さらに脳内濃度の AUC においてもエマルジョン製剤では懸濁液に比べ 1.3 倍有意に高値を示した (Table. 1)。

3. ホルマリンテストによる抗侵害作用の評価

ホルマリンテストの第 1 相の licking/biting 時間は、SJW エマルジョン製剤および懸濁液投与群とも投与後 0.5 時間から減少する傾向が認められ、6 時間には対照値に回復した。また、第 2 相における licking/biting 時間は投与後 1 時間および 3 時間において有意に減少し、第 1 相同様 6 時間には回復した (Fig. 2 A, B)。また、SJW エマルジョン製剤投与後、第 1 相では投与後 3 時間において、第 2 相では投与後 0.5 時間において懸濁液に比べ、licking/biting 時間の有意な減少が認められた。

さらに投与後各時間における licking/biting 時間の対照値に対する抑制率を求め、その時間推移より、作用-時間曲線下面積 (AUEC) を求めた (Fig. 2 C, D)。ホルマリンテスト第 1 相における AUEC はエマルジョン製剤では懸濁液に比べ 1.7 倍有意に高値を示した。

Table. 1 SJW 懸濁液およびエマルジョン製剤経口投与後における血漿および脳内 hyperforin 濃度の薬物動態学的パラメータ

Pharmacokinetic parameters	SJW suspension	SJW emulsion
Plasma		
AUC ₀₋₄ (nM · hr)	388 ± 34	1117 ± 41**
t _{1/2} (hr)	1.51 ± 0.32	0.90 ± 0.08
CL/F (L/hr/kg)	25.0 ± 2.2	8.7 ± 0.3
Vd/F (L/kg)	54.2 ± 7.8	11.3 ± 1.0
Brain		
AUC ₀₋₄ (nM · hr)	41.6 ± 1.5	52.9 ± 1.6**

AUC:濃度-時間曲線下面積、t_{1/2}:生物学的半減期、CL:クリアランス、Vd:分布容積

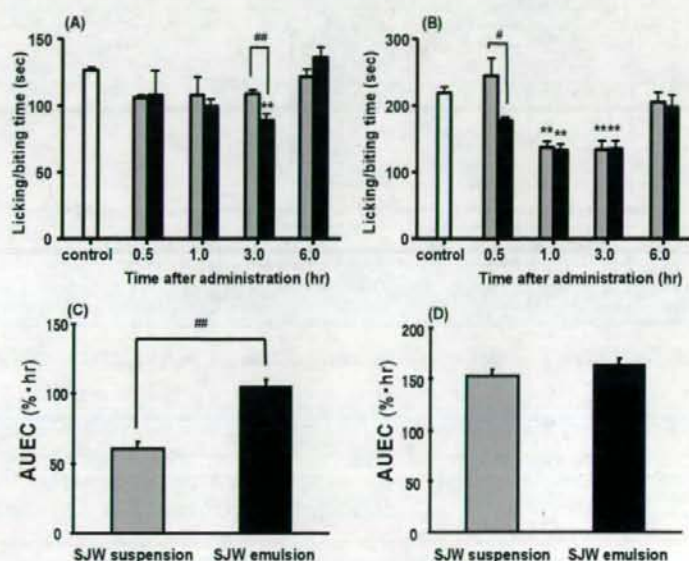


Fig. 2 SJW 懸濁液およびエマルジョン製剤経口投与後のホルマリンテストの第1相 (A)、第2相 (B) のLicking/biting時間、ならびにホルマリンテスト第1相 (C) と第2相 (D) におけるlicking/biting時間減少率の時間曲線下面積

D. 考察

SJWの活性成分である hyperforin は難溶性であることが知られている。今回エマルジョン製剤を調製しマウスに経口投与した。エマルジョン製剤投与後の血漿および脳内 hyperforin 濃度は懸濁液投与と比べ、著しく上昇した。したがって、SJW をエマルジョン製剤とすることにより、その活性成分である hyperforin の吸収量が増加し脳内の hyperforin 濃度が上昇したと考えられる。

次に SJW の薬理作用として抗侵害作用をホルマリンテストにより評価した。ホルマリン投与後licking/biting反応は2相性を示し、第1相反応は、A δ 線維やC線維といった求心性の神経を直接刺激することにより引き起こされる反応であり、第2相反応はホルマリン誘発性の炎症反応に伴う末梢神経からの入力や中枢神経の感受性の亢進によるものであることが知られている⁴⁾。SJW 懸濁液およびエマルジョン製剤投与により第1相および第2相のlicking/biting時間は溶媒投与群のそれらに比べ減少したことから、SJWは中枢性および末梢性の侵害刺激に対して抑制作用を有すると推察される。SJWは三環系抗うつ薬同様、セロトニンやノルアドレナリン再取り込みを阻害する作用を有する⁵⁾ことから、SJWの抗侵害作

用発現にはセロトニンおよびノルアドレナリン神経系下行性疼痛抑制系が関与しているのではないかと考えられる⁶⁾。そのため抗うつ作用を有し、ことが知られているSJWも同様な機序が関与しているのではないかと考えられる。

さらに、SJWエマルジョン製剤におけるlicking/biting時間は、第1相では投与後3時間で、第2相では投与後0.5時間で懸濁液のlicking/biting時間に比べ有意に低値を示した。それより算出したlicking/biting時間の減少率のAUECは、エマルジョン製剤において第1相で懸濁液に比べ1.7倍有意な増加が見られた。したがって、SJWをエマルジョン製剤とすることで血漿および脳内 hyperforin 濃度の上昇に加え、抗侵害作用が増強することが明らかとなった。

E. 結論

以上より、SJWを可溶化することによりその活性成分である hyperforin の吸収量が増大し、その薬理作用である抗侵害作用を増強させることが示唆された。

参考文献

- 1) Whiskey E, Werneke U, Taylor D. A

systematic review and meta-analysis of *Hypericum perforatum* in depression: a comprehensive clinical review Int. Clin. Psychopharmacol 16: 239-252, 2001

2) Uchida S, Hirai K, Hatanaka J, Hanato J, Umegaki K, Yamada S. Antinociceptive effects of *St. John's wort*, *Harpagophytum procumbens* extract and Grape seed proanthocyanidins extract in mice. Biol Pharm Bull 31 (2): 240-5, 2008.

3) Ludger B. Hyperforin. Phytochemistry 67: 2201-2207, 2006

4) Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. Pharmacol Rev 53: 597-652, 2001

5) Hirano K, Kato Y, Uchida S, Sugimoto Y, Yamada J, Umegaki K, Yamada S. Effects of oral administration of extracts of *Hypericum perforatum* (*St. John's wort*) on brain serotonin transporter, serotonin uptake and behaviour in mice. J Pharm Pharmacol 56: 1589-1595, 2004

6) Pacher P, Kecskemeti V. Trends in the development of new antidepressants. Is there a light at the end of the tunnel. Curr Med Chem 11: 925-943, 2004

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Takashi Okura, Tadahiro Ozawa, Yoshihiko Ito, Midori Kimura, Yoshiyuki Kagawa and Shizuo Yamada: Enhancement by grapefruit juice of morphine antinociception. Biol. Pharm. Bull., 31, 2338-2341 (2008)

2) Shinya Uchida, Keita Hirai, Junya Hatanaka, Junko Hanato and Shizuo Yamada: Antinociceptive Effects of *St. John's Wort*, *Harpagophytum Procumbens* Extract and Grape Seed Proanthocyanidins Extract in Mice. Biol. Pharm. Bull., 31, 240-245 (2008)

3) Mayumi Suzuki, Yoshihiko Ito, Tomomi Fujino, Masayuki Abe, Keizo Umegaki, Satomi Onoue, Hiroshi Noguchi and Shizuo Yamada: Pharmacological effects of saw palmetto extract in lower urinary tract. Acta Pharmacologica Sinica (in press)

2. 学会発表

1) 阿部 真之、藤野 知美、Luvsandorjj Oyunzul、伊藤 由彦、関 将直、山田 静雄: ノコギリヤシ果実抽出液のラット下部尿路受

容体結合活性成分に関する検討. 日本薬学会第128年会(横浜), 要旨集(3) p113, 2008年3月27日

2) Yuko Taki, Yuko Yamazaki, Fumio Shimura, Keizo Umegaki and Shizuo Yamada: Identification and characterization of substance in ginkgo biloba extract (GBE) that induces hepatic CYPs. ISSX 2nd Asian Pacific Regional Meeting (Shanghai, China), Abstr. p.89, 2008, May 11-13

3) Masayuki Abe, Luvsandorjj Oyunzul, Yoshihiko Ito, Tomomi Fujino, Msanao Sekim, Satomi Onoue and Shizuo Yamada: Analysis of active constituents of saw palmetto extract, a medical herb. ISSX 2nd Asian Pacific Regional Meeting (Shanghai, China), Abstr. p.201, 2008, May 11-13

4) 新名 由季子、内田 信也、畑中 順也、尾上 誠良、山田 静雄: セントジョーンズワートの薬理作用およびその活性成分の体内動態に及ぼす可溶性の影響 日本薬剤学会第23年会(札幌), 要旨集 p.207, 2008年5月21日

5) 阿部真之、伊藤由彦、藤野知美、尾上誠良、山田静雄: ノコギリヤシ果実抽出液の経口投与ラットにおける血漿および尿のメタボローム解析. 第15回クロマトグラフィースンポジウム(静岡), 講演要旨集, p.121-122, 2008年5月31日

6) 内田信也、畑中 順也、新名 由季子、尾上 誠良、山田 静雄: 機能性食品の作用及びその活性成分の体内動態に及ぼす可溶性の影響. 第24回日本DDS学会(東京), 要旨集 p.401, 2008年6月29-30日

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト (参考)

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	書籍
							ページ
藤野知美、木苗直秀、 山田静雄	健康食品・サプリメントと医薬品との相互作用 (2). 脂溶性ビタミンとの相互作用	荒井綜一編集	Functional Food	フジメデイカル出版	大阪	2008	2, 203-208
			Functional Food,	フジメデイカル出版	大阪	2008	2, 311-319
藤野知美、木苗直秀、 山田静雄	健康食品・サプリメントと医薬品との相互作用 (3). 水溶性ビタミンとの相互作用	荒井綜一編集					

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takashi Okura, Tadahiro Ozawa, Yoshihiko Ito, Midori Kimura, Yoshiyuki Kagawa and Shizuo Yamada	Enhancement by grapefruit juice of morphine antinociception	Biol. Pharm. Bull.	31	2338-2341	2008

Shinya Uchida, Keita Hirai, Junya Hatanaka, Junko Hanato and Shizuo Yamada	Antinociceptive Effects of St. John's Wort, Harpago-phytum Procumbens Extract and Grape Seed Proantho- cyanidins Extract in Mice	Biol. Pharm. Bull.,	31	240-245	2008
Mayumi Suzuki, Yoshihiko Ito, Tomomi Fujino, Masayuki Abe, Keizo Umegaki, Satomi Onoue, Hiroshi Noguchi and Shizuo Yamada:	Pharmacological effects of saw palmetto extract in lower urinary tract	Acta Pharmacolo- gica Sinica			In press
Masayuki Abe, Yoshihiko Ito, Luvsandorj Oyunzu., Tomomi Fujino and Shizuo Yamada	Pharmacologically relevant receptor binding character- istics and 5 α -reductase inhibitory activity of free fatty acids contained in Saw palmetto extract	Biol. Pharm. Bull			In press

厚生労働省科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

（分担）研究報告書

いわゆる健康食品の安全性に影響する要因分析とそのデータベース化・情報提供に関する研究

分担研究課題 食薬区分を視点とした危害要因の解析

分担研究者 大塚 英昭 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究協力者 松浪 勝義 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 講師

研究協力者 末吉恵津子 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 助教

研究要旨

パンレシシ科植物はクロボウモドキを除いて、基本的には本邦に産しないが、移入植物として石垣島、西表島で栽培され、*Annona squamosa* の果実は釈迦頭として食用に供されている。イランイランノキ(*Cananga odorata*)は主として熱帯、亜熱帯アジア地域生育しており、その花の精油はイランイラン (Ylang Ylang) と称して、ひろくアロマセラピーに用いられている。よってその精油成分の検索は広く行われているが、その他の成分については全く手をつけられていない。本調査ではイランイランノキの葉部の配糖体成分の検討を行った。その結果、変形モノテルペンの配糖体を単離した。

A. 研究目的

イランイランノキは学名を *Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thoms. といい、パンレシシ科 (Annonaceae) の高木である (写真1)。その花の精油はアロマセラピーに世界で広く用いられており、それゆえこれまでの成分研究は主に花の精油成分に限られて行われている。*Annona* 属植物の摂取によりパーキンソン病様症状を呈することがある事例も報告されており今回精油以外の成分の検索を試みた。



写真1 イランイランノキの花

B. 研究方法

タイ国 Chiang Mai 大学薬草園で栽培されているイランイランノキの乾燥葉 1.00 kg を MeOH で抽出した。MeOH エキスは Chart 1 に示すように溶媒分配を行い、1-BuOH 可溶画分 75.4 g を得た。本画分を Diaion HP-20, 順層、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィ、DCCC、高速液体クロマトグラフィを用いて分離、精製を行い、化合物 1 を 2.9 mg、化合物 2 を 16.1 mg、化合物 3 を 17.7 mg および化合物 4 を 25.0 mg 得た。精製した化合物の核磁気共鳴スペクトルや質量分析スペクトルを測定して構造を解析する。

Dried leaves (1.00 kg) of *Canaga odorata*
 | extracted with MeOH
 MeOH Ext.
 | concentrated
 MeOH layer
 | washed with n-hexane (36.3 g)
 MeOH layer
 | concentrated
 suspended in H₂O
 extracted with EtOAc
 EtOAc layer (235 g) H₂O layer
 | extracted with 1-BuOH
 n-BuOH layer (75.4 g) H₂O layer (173 g)

Chart 1

C. 研究結果

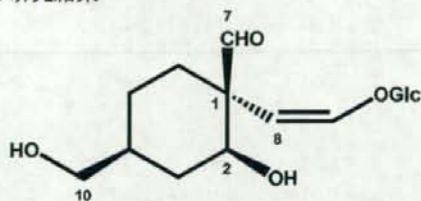


図1 化合物 1

化合物 1 の NMR スペクトルを詳細に検討した結果、図 1 に示す構造を有すると結論された。この結果は図 2 に示す二次元 NMR スペクトルからも支持された。

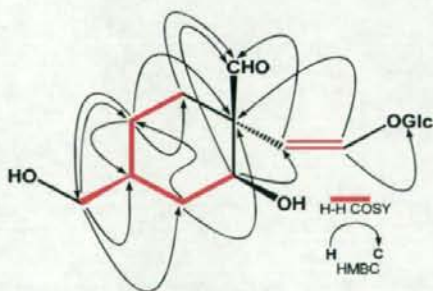


図 2 HH COSY および HMBC 相関



図 3

本構造中には図 3 に示すエノールが存在し、そのエノールはグルコシドとして保護されている。さらにこのエノールの 2 重結合はシス型であり、生合成的にはまずカルピノールのグルコシドが形成し、そこに不飽和酵素により二重結合が導入されたものと考えられる。さらに、本化合物は炭素 5 個からなるイソプレンユニットが 2 個導入されて形成される炭素 10 個のテルペノイドである。しかし、この二つのイソプレン単位はグラニル 2 リン酸を経る、いわゆるモノテルペンではなく、イソプレン単位が図 4 もしくは図 5 のように導入された炭素 10 個を有する変形モノテルペンである。

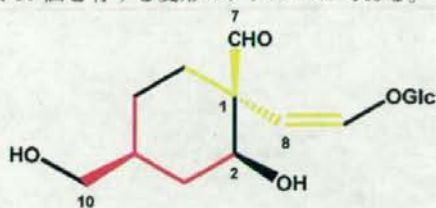


図 4

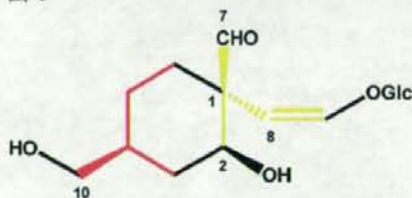


図 5

さらに絶対構造についてであるが、本化合物のグルコースを切断するとエノールはアルデヒド等価であり二つのアルデヒドと環化をすると予想された。

その後上記化合物と等価と考えられる化合物 2 が単離され (図 6)、本化合物にモシヤー変法を適用すればよいと判断された。しかしながら本化合物は MTPA (・-methoxy-・-trifluoro-methylphenyl acetic acid・DCC (dicyclohexylcarbodiimide) さらに強い条件の MTPACl・pyridine に対しても抵抗性を示し、望まれたエステ