

Original Article

**Anti-glycation effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) extract:
An open clinical study**

Masayuki Yagi¹⁾, Lanny Parengkuan¹⁾, Haruhi Sugimura²⁾, Nobuhiko Shioya³⁾,
Yoichi Matsuura⁴⁾, Norihisa Nishida⁴⁾, Akifumi Nagatomo⁴⁾, Yoshikazu Yonei¹⁾,

1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycation Stress Research Center, Graduate School of Life and Medical Sciences,
Doshisha University, Kyotanabe, Kyoto, Japan

2) Medical Corporation Shinkokai C'est La Vie Shinbashi Clinic, Minato-ku, Tokyo, Japan

3) KSO Co., Ltd., Minato-ku, Tokyo, Japan

4) Morishita Jintan Co., Ltd., Chuo-ku, Osaka, Japan

Glycative Stress Research 2014; 1 (3): 60-67

Published online : September 30, 2014

(原著論文)

**ザクロエキス含有カプセルの抗糖化作用
ー オープンパイロット試験 ー**

八木雅之¹⁾、Parengkuan Lanny¹⁾、杉村春日²⁾、塩谷順彦³⁾、松浦洋一⁴⁾、西田典永⁴⁾、長友暁史⁴⁾、米井嘉一¹⁾

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

2) 医療法人社団進興会 セラヴィ新橋クリニック、東京都港区

3) 株式会社ケイ・エス・オー、東京都港区

4) 森下仁丹株式会社、大阪市中央区

抄録

【目的】 *in vitro* 試験で糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs) 生成抑制作用が確認されているザクロ (*Punica granatum* L.) 抽出物 (PE) を用いて、ヒトにおける糖化ストレス軽減作用の有無を無対照オープンパイロット試験として検討した。

【方法】 閉経後女性 10 例 (58.5 ± 3.9 歳) を対象とした。PE 100mg を 12 週間経口摂取し、試験前、8 週後、12 週後に糖化ストレス指標の評価を行った。指標として血中の HbA1c、グリコヘモグロビン、3 デオキシグルコソン (3DG)、カルボキシメチルリジン (CML)、ペントシジン、皮膚蛍光性 AGEs 量を測定した。本研究は倫理審査に従い、被検者の同意を得て施行した。

【結果】 血中糖化ストレス指標については、HbA1c は前値に比べ PE 摂取後 8 週、12 週で有意に低下した。グリコアルブミン、3DG、ペントシジンは 8 週後で有意に低下したが、12 後には有意差はなかった。CML は 12 週後が有意に高かった。皮膚の蛍光 AGEs 量および粘弾性指標には有意な変化はみられなかった。

【結論】 閉経後健康女性に PE を 12 週間内服投与した結果、いくつかの糖化ストレス指標が低下していたことから、PE が何らかの糖化ストレス改善作用を有する可能性が示唆された。

KEY WORDS: 糖化ストレス、ザクロ (*Punica granatum* L.)、糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs)、3 デオキシグルコソン (3-deoxyglucosone: 3DG)、カルボキシメチルリジン (*N*^ε-(carboxymethyl) lysine: CML)、ペントシジン

はじめに

糖化反応とはその発見者にちなんでメイラード (Maillard) 反応とも呼ばれ、加齢や糖尿病の進行に伴って起こる糖と蛋白との化学反応 (糖化反応) の一つで、近年、老化危険因子の一つとして考えられている^{1,2)}。

著者らの研究室では様々な果実抽出成分について AGEs 生成抑制を検討した結果、果実の中でもザクロ (*Punica granatum* L.) 抽出物 (PE) が極めて高い抗糖化活性を有することが示されている³⁾。キットによる糖化コラーゲンの生成率を比較した *in vitro* 試験の結果、抗糖化作用があると言われる他の原料と比較して3倍以上の力価が確認されている⁴⁾。そのため、ヒトでどの程度の抗糖化作用があるかを検証するために今回の試験を行った。本試験では PE 含有カプセルの連続摂取による抗糖化作用を無対照オープンパイロット試験として確認することにある。

方法

対象

試験参加を事前に文書で同意した者で、30 歳から 65 歳の閉経後女性 10 例 (58.5 ± 3.9 歳、BMI 22.3 ± 3.2) を対象とした。下記の除外基準に該当する者は除外した。

- 1) 糖尿病や腎障害、消化器系疾患による手術歴がある者。
- 2) 抗酸化剤または物質を摂取している者。
- 3) ヒト試験統括医師が不適当と判断する者。

試験参加者には試験の意義、方法、参加者の権利、途中脱落によっても不利益を被らないことについて十分な説明の上、文書による同意を得た。

試験デザイン

本試験は対照の無いオープン試験とした。試験参加者は PE 100mg 含有ハードカプセルを 1 日 2 カプセル、12 週間、1 日 1 回摂取した。

試験開始前、試験開始 8 週間後、12 週間後に下記の検査を行った：抗加齢 QOL 共通問診票検査 (AAQol)、理学的検査 (血圧、脈拍数、体重、BMI)、血液生化学検査 (空腹時血糖 (FPG)、HbA1c、インスリン (IRI)、グリコアルブミン、カルボキシメチルリジン (*N*^ε-(carboxymethyl) lysine: CML)、3-デオキシグルコソン (3-deoxyglucosone: 3DG)、ペントシジン)、皮膚蛍光性 AGEs 量測定、皮膚粘弾性検査。

安全性の評価のために、試験開始 12 週間後に下記の検査を行った：血液学検査 (白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、MCV、MCH、MCHC、白血球像)、生化学検査 (総蛋白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、LDH、総ビリルビン、ALP、 γ -GTP、尿素

窒素 (UN)、クレアチニン、尿酸 (UA)、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、総コレステロール (TC)、LDL-コレステロール (LDL-C)、HDL-コレステロール (HDL-C)、中性脂肪 (TG))。

試験参加者は生活日誌に試験期間中の有害事象の有無・程度、試験食摂取状況、生活習慣、食事・運動習慣について記録した。試験は 2012 年 11 月 1 日～2013 年 5 月 31 日の期間、新橋セラヴィクリニック (東京都港区) で施行した。

試験品性状

試験食品の概要を [Table 1](#)、試験食品の処方 (1 粒あたり) [Table 2](#) に示した。試験品は森下仁丹株式会社 (大阪府中央区) より供与を受けた。

Table 1. Test product profile.

Test product	Pomegranate extract-containing capsule
Lot number	Lot.No.20121017
Production date	2012/10/12
Active ingredients per capsule	50 mg
Active ingredients per day	100 mg/2capsule
Type	Hard capsules
Amount	199.5 mg/capsule
Reserve condition	Room temperature
Date limit	1 year

Table 2. Ingredients in the test product per one capsule.

Ingredients	Test product	
	Amount (mg/capsule)	Ratio (%)
Pomegranate extract	50.0	25.1
Cellulose	94.0	47.1
Silicon dioxide	3.0	1.5
Calcium stearate	3.0	1.5
Gelatin	48.0	24.1
Caramel color	1.5	0.7
Total	199.5	100.0

検査方法

(1) 自覚症状・身体情報

自覚症状の評価は、「身体の症状」と「心の症状」に分け、既報の如く抗加齢 QOL 共通問診票 (Anti-Aging QOL Common Questionnaire: AAQol) を用いてポイント 1～5 の 5 段階に分けて評価した^{5,6)}。また、身長 (cm)、体重 (kg)、収縮期および拡張期血圧 (mmHg)、脈拍 (/分) の身体情報の測定を行った。

(2) 血液生化学検査

糖化ストレスに関連する血液生化学検査として以下の項目を測定した：空腹時血糖、HbA1c、インスリン、グリコアルブミン、3DG、CML、ペントシジンを測定した。CMLと3DGは伏見製薬株式会社（香川県丸亀市）にて測定した。CML、3DG以外の項目はLSIメディエンス株式会社（東京都千代田区）で測定した。

(3) 皮膚 AGEs 由来蛍光測定

糖化の指標として皮膚 AGEs 沈着量を、AGE reader™ (DiagnOptics, Groningen, Netherlands)を用いて評価した^{7,8)}。本法は、皮膚組織へ蓄積した AGEs が紫外線照射により励起されて特有の蛍光 (auto fluorescence; AF)を発する性質があることを利用した、非侵襲的評価法である^{9,10)}。糖尿病患者、透析患者に対する皮膚生検の検討から、皮膚 AF は pentosidine (蛍光性)、CML (非蛍光性)などの代表的な AGEs の皮膚における蓄積量とよく相関することが確認されている^{9,10)}。被検者は、頬杖をついた姿勢をとり、右上腕背側部の肘から10cmの部位にて測定した。測定部をアルコールで洗浄し、同一個所で AF 強度を3回測定し、結果はその平均値として表した。

(4) 皮膚粘弾性検査

皮膚粘弾性評価にはキュートメーター (Cutometer) (MPA580; Courage & Khazaka, Cologne, Germany)を用いた^{11,12)}。右上腕内側部の肘から10cmの部位にて測定した。皮膚表面を陰圧でプローブ開口部に引き込み、開口部に引き込まれた皮膚長を、プリズムを用いて測定した。指標 R2 は伸展・退縮後の皮膚高さ復元率 (Ua1/Uf1) として求めた。R2 は 1.00 に近いほど弾性があり、完全弾性体では 1.000 で、皮膚はおおよそ 0.3 ~ 0.5 である。指標 R7 は退縮時の弾性部の割合 (Ur1/Uf1) として求めた。R7 は 1.00 に近いほど弾性がある。R2 および R7 は Cutometer 法における重要な弾性指標で、著者らは R2 および R7 が加齢に伴い低下すること、糖尿病患者ではこの加齢曲線が下方シフトすることを報告している¹³⁾。検査結果は右頬中央部において4回測定を行い、R2 が最も高い値と低い値を削除した2回の平均値を示した。

倫理基準

本試験はヘルシンキ宣言に基づく倫理原則および個人情報保護法を遵守し、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令 (GCP)」(平成9年3月27日厚生省令第28号)を参考にして、第三者機関において実施した。試験実施機関である医療法人社団進興会 セラヴィ新橋クリニック (東京都港区) および KSO 株式会社 (東京都港区) にてヒト試験倫理委員会を開催し、試験の倫理性および妥当性について審議を行い、承認のもとに開始され、承認された試験計画書に準じて実施した。

統計解析

結果は平均値 ± 標準偏差 (standard deviation: SD) として表した。試験開始時 (前値) との比較解析 (摂取前後の比較) には、Wilcoxon 検定あるいは Dunnett 検定を行った。統計解析には、統計解析ソフト SPSS (日本 IBM、東京都中央区) を使用し、両側検定で危険率 5% 未満を有意差ありとした。

結果

抗加齢 QOL 共通問診票による心と身体の自覚症状

脱落例は1例もなく、全症例が試験プロトコルに適合したので、10例すべてを解析対象とした。身体症状34項目中、PE 摂取12週後に有意に改善した項目はなかった (**Table 3**)。「目がかすむ」が前値 1.6 ± 0.7 、12週後 2.5 ± 0.5 ($p = 0.016$)、「動悸」が前値 1.4 ± 0.5 、12週後 2.0 ± 0.5 ($p = 0.031$) と有意にスコア増加を認めた。個々の症例について検討したが、「目がかすむ」「動悸」を有害事象として自覚した例はなかった。心の症状21項目中、アコアに有意な変化は認められなかった (**Table 4**)。

血液生化学検査

血液中の糖化ストレス指標の変動について **Table 5** に示した。12週の観察期間中に空腹時血糖、インスリンに有意な変化はみられなかった。HbA1c は、前値 ($5.73 \pm 0.27\%$) に比べ8週後 ($5.56 \pm 0.16\%$, $p = 0.001$)、12週後 ($5.53 \pm 0.17\%$, $p = 0.001$) で有意に低い値を示した (**Fig.1**)。グリコアルブミンは、前値 ($14.9 \pm 0.7\%$) に比べ8週後 ($14.2 \pm 0.6\%$, $p = 0.005$) で有意に低い値を示したが、12週後 ($14.4 \pm 0.5\%$, $p = 0.054$) では有意差は認められなかった (**Fig.2**)。3DG は、前値 (24.19 ± 4.80 ng/mL) に比べ8週後 (16.92 ± 2.14 ng/mL, $p < 0.001$) で有意に低い値を示したが、12週後 (22.79 ± 5.30 ng/mL, $p = 0.485$) では有意な差は認められなかった (**Fig.3**)。ペントシジンは、前値 (96.84 ± 18.25 pmol/mL) に比べ8週後 (83.66 ± 12.66 pmol/mL, $p = 0.036$) で有意に低い値を示したが、12週後 (106.12 ± 15.40 pmol/mL, $p = 0.154$) では有意な差は認められなかった (**Fig.4**)。CML は、前値 (4.27 ± 0.54 μ g/ml) に比べ12週後 (5.08 ± 0.98 μ g/ml, $p = 0.036$) で有意に高い値を示した (**Fig.5**)。

Table 3. Physical subjective symptom score in AAQol.

Parameter	0 W			8 W				12 W			
	mean	±	SD	mean	±	SD	p value	mean	±	SD	p value
Tired eyes	2.20	±	1.03	2.20	±	0.79	1.000	2.50	±	0.71	0.563
Blurry eyes	1.60	±	0.70	2.10	±	0.99	0.313	2.50	±	0.53	0.016*
Eye pain	1.20	±	0.42	1.50	±	0.53	0.250	1.70	±	0.48	0.063
Stiff shoulders	2.50	±	1.35	2.60	±	1.35	1.000	2.70	±	1.34	0.625
Muscular pain/stiffness	1.80	±	0.79	2.10	±	0.99	0.500	2.30	±	0.95	0.250
Palpitations	1.40	±	0.52	1.70	±	0.48	0.250	2.00	±	0.47	0.031*
Shortness of breath	1.70	±	0.82	1.90	±	0.57	0.750	2.10	±	0.57	0.344
Tendency to gain weight	2.30	±	1.42	2.30	±	1.42	1.000	2.60	±	1.17	0.375
Weight loss; thin	1.40	±	0.52	1.50	±	0.53	1.000	1.90	±	0.99	0.375
Lethargy	2.00	±	1.05	2.10	±	0.99	1.000	2.00	±	0.67	1.000
No feeling of good health	1.80	±	0.92	2.00	±	0.47	0.727	2.10	±	0.88	0.375
Thirst	1.60	±	0.84	2.10	±	0.99	0.250	2.30	±	0.82	0.109
Skin problems	1.80	±	0.42	2.00	±	0.67	0.500	2.00	±	0.82	0.688
Anorexia	1.50	±	0.53	1.80	±	0.63	0.375	1.60	±	0.52	1.000
Early satiety	1.70	±	0.67	1.80	±	0.79	1.000	2.00	±	0.94	0.250
Epigastralgia	1.50	±	0.71	1.80	±	0.63	0.250	2.00	±	0.67	0.063
Liable to catch colds	1.80	±	0.79	2.20	±	0.79	0.125	2.00	±	0.67	0.500
Coughing and sputum	1.80	±	0.79	1.70	±	0.82	1.000	2.30	±	0.82	0.125
Diarrhea	1.50	±	0.53	1.60	±	0.52	1.000	1.70	±	0.48	0.500
Constipation	2.20	±	1.03	2.40	±	0.97	0.500	2.50	±	0.97	0.375
Hair loss	2.20	±	0.79	2.50	±	1.08	0.250	2.80	±	1.03	0.148
Gray hair	3.60	±	0.97	4.00	±	0.82	0.125	3.70	±	0.82	1.000
Headache	1.60	±	0.70	1.70	±	0.67	1.000	1.90	±	0.57	0.250
Dizziness	1.20	±	0.42	1.30	±	0.48	1.000	1.70	±	0.48	0.063
Tinnitus	1.70	±	1.06	1.90	±	1.29	0.625	2.20	±	1.32	0.063
Hearing difficulty	1.70	±	0.82	2.00	±	0.82	0.250	2.20	±	0.92	0.125
Lumbago	2.20	±	0.79	2.50	±	1.35	0.531	2.50	±	0.85	0.375
Arthralgia	1.80	±	0.92	1.70	±	0.67	1.000	2.10	±	0.88	0.453
Edematous	1.40	±	0.52	1.50	±	0.71	1.000	1.70	±	0.67	0.375
Easily breaking into a sweat	2.10	±	0.99	2.50	±	1.08	0.500	2.10	±	0.99	1.000
Frequent urination	2.10	±	0.88	2.50	±	0.97	0.289	2.70	±	0.95	0.109
Hot flash	1.40	±	0.52	1.50	±	0.53	1.000	1.70	±	0.48	0.250
Cold skin	2.50	±	0.85	2.90	±	1.37	0.313	3.00	±	1.25	0.180

*p < 0.05, vs.0W, n = 10, by Dunnet's Wilcoxon test. AAQol, Anti-Aging QOL Common Questionnaire; SD, standard deviation.

Table 4. Mental subjective symptom score in AAQol.

Parameter	0 W			8 W				12 W			
	mean	±	SD	mean	±	SD	p value	mean	±	SD	p value
Irritability	1.90	±	0.74	2.00	±	0.82	1.000	2.00	±	0.67	1.000
Easily angered	1.60	±	0.52	1.90	±	0.57	0.375	2.00	±	0.67	0.313
Loss of motivation	1.80	±	0.42	1.80	±	0.63	1.000	2.00	±	0.94	0.766
No feeling of happiness	1.50	±	0.53	1.50	±	0.71	1.000	1.60	±	0.70	1.000
Nothing to look forward to in life	1.50	±	0.53	1.50	±	0.53	1.000	1.80	±	0.92	0.750
Daily life is not enjoyable	1.70	±	0.48	1.40	±	0.52	0.250	1.50	±	0.53	0.625
Lose confidence	1.70	±	0.48	1.60	±	0.70	1.000	1.80	±	0.63	1.000
Reluctance to talk with others	1.50	±	0.71	1.70	±	0.95	0.500	1.80	±	0.63	0.250
Depressed	1.40	±	0.52	1.50	±	0.71	1.000	1.70	±	0.67	0.250
Feeling of uselessness	1.70	±	0.67	1.80	±	0.42	1.000	1.80	±	0.42	1.000
Shallow sleep	2.30	±	1.25	2.30	±	0.82	1.000	2.40	±	0.84	0.984
Difficulty in falling asleep	1.50	±	0.71	2.00	±	1.05	0.063	2.20	±	1.23	0.031
Pessimism	1.70	±	0.67	2.10	±	0.99	0.219	2.30	±	0.67	0.063
Lapse of memory	2.60	±	0.70	2.80	±	0.63	0.625	3.00	±	0.82	0.313
Inability to concentrate	1.80	±	0.63	2.30	±	0.48	0.125	2.40	±	0.52	0.125
Inability to solve problems	1.80	±	0.42	2.10	±	0.74	0.375	2.20	±	0.63	0.250
Inability to make judgments readily	2.10	±	0.74	2.20	±	0.79	1.000	2.30	±	0.82	0.625
Inability to sleep because of worries	1.90	±	0.74	2.20	±	0.79	0.375	2.00	±	0.67	1.000
A sense of tension	2.10	±	0.99	1.80	±	0.63	0.500	2.20	±	0.63	1.000
Feeling of anxiety for no special reason	1.20	±	0.42	1.70	±	0.48	0.063	1.50	±	0.53	0.250
Vague feeling of fear	1.10	±	0.32	1.20	±	0.42	1.000	1.30	±	0.48	0.500

p Value vs. 0W, n = 10, by Dunnett's Wilcoxon test. AAQol, Anti-Aging QOL Common Questionnaire; SD, standard deviation.

Table 5. Blood glycativ stress markers.

Parameter	0 W			8 W				12 W			
	mean	±	SD	mean	±	SD	p value	mean	±	SD	p value
FPG (mg/dL)	86.3	±	6.5	83.8	±	5.9	0.130	87.6	±	6.4	0.523
HbA1c (%)	5.73	±	0.27	5.56	±	0.16	0.001**	5.53	±	0.17	<0.001**
IRI (mU/mL)	3.12	±	1.06	2.79	±	1.20	0.408	3.63	±	0.88	0.148
Glycoalbumin (%)	14.9	±	0.7	14.2	±	0.6	0.005**	14.4	±	0.5	0.054
CML (mg/mL)	4.27	±	0.54	4.87	±	0.76	0.133	5.08	±	0.98	0.036*
3DG (ng/mL)	24.19	±	4.80	16.92	±	2.14	<0.001**	22.79	±	5.30	0.485
Pentosidine (pmol/mL)	96.84	±	18.25	83.66	±	12.66	0.036*	106.12	±	15.40	0.154

*p < 0.05, **p < 0.01 vs. 0W, n = 10, by Dunnett's test.

FPG, fasting plasma glucose; IRI, immune reactive insulin; 3DG, 3-deoxyglucosone; CML, N^ε-(carboxymethyl)lysine; SD, standard deviation.

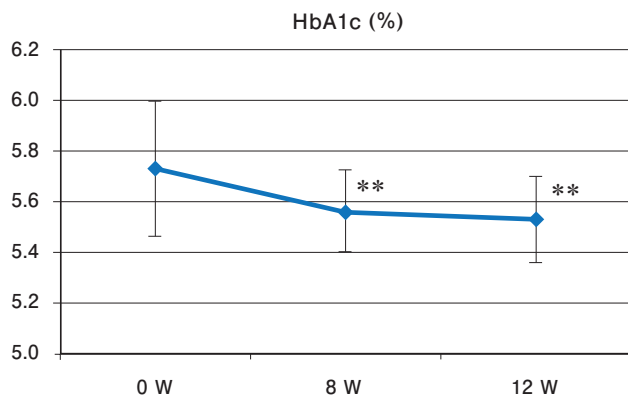


Fig.1. Serum HbA1c

**p < 0.01 vs. 0W, n = 10, by Dunnett's test.
Bar indicates standard deviation.

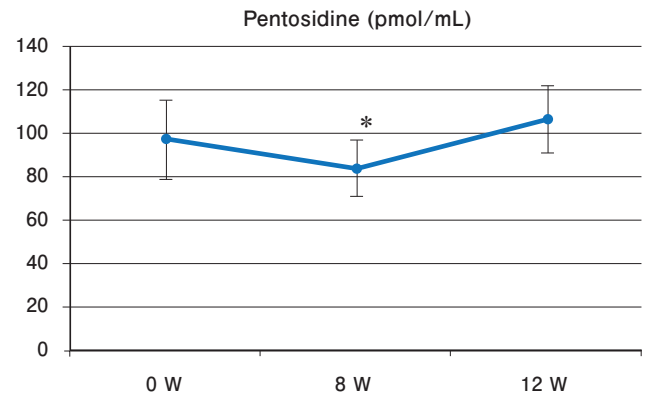


Fig.4. Serum pentosidine

*p < 0.05 vs. 0W, n = 10, by Dunnett's test.
Bar indicates standard deviation.

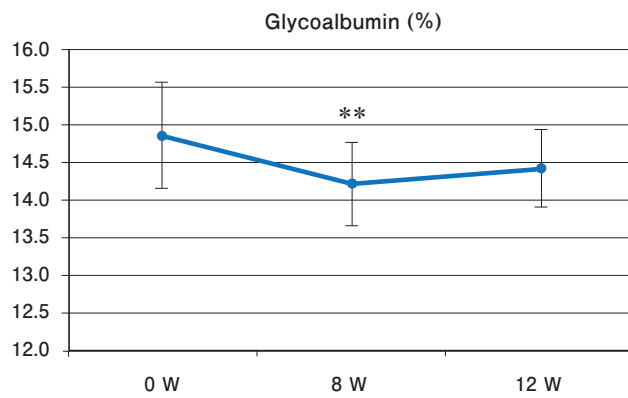


Fig.2. Serum glycoalbumin

**p < 0.01 vs. 0W, n = 10, by Dunnett's test.
Bar indicates standard deviation.

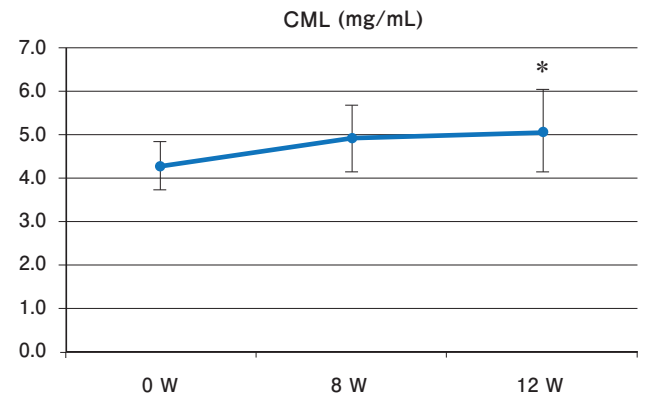


Fig.5. Serum CML

*p < 0.05 vs. 0W, n = 10, by Dunnett's test.
CML; N^ε-(carboxymethyl) lysine.
Bar indicates standard deviation.

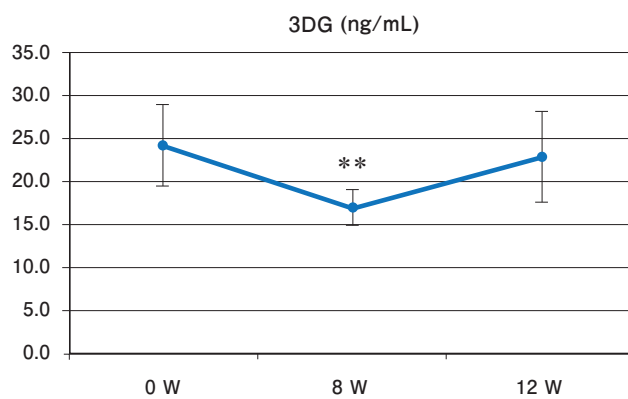


Fig.3. Serum 3DG

**p < 0.01 vs. 0W, n = 10, by Dunnett's test. 3DG; 3-deoxyglucosone.
Bar indicates standard deviation.

Table 6. Skin fluorescent AGEs and elasticity index.

Parameter	0 W			8 W				12 W			
	mean	±	SD	mean	±	SD	p value	mean	±	SD	p value
Skin fluorescent AGEs	2.37	±	0.39	2.33	±	0.31	0.811	2.35	±	0.20	0.965
Skin elasticity test (R2)	0.817	±	0.038	0.830	±	0.033	0.291	0.816	±	0.031	0.998
Skin elasticity test (R5)	0.609	±	0.073	0.643	±	0.055	0.151	0.636	±	0.050	0.278
Skin elasticity test (R6)	0.367	±	0.040	0.384	±	0.038	0.498	0.374	±	0.030	0.867
Skin elasticity test (R7)	0.446	±	0.055	0.465	±	0.044	0.251	0.463	±	0.034	0.334

p Value vs. 0W, n = 10, by Dunnett's test. AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

皮膚蛍光性 AGEs 量検査

皮膚蛍光性 AGEs 量は 12 週間の試験期間中に有意な変動は認められなかった (Table 6)。

皮膚粘弾性検査

皮膚粘弾性検査では、粘弾性指標 R2、R5、R6、R7 は試験期間中に有意な変動は認められなかった (Table 6)。

考案

ザクロエキス (PE) の効能

有効成分は PE である。ザクロの種、実、皮の抽出物は *in vitro* 試験や動物および培養細胞を用いた実験において抗酸化作用^{14,15)}、抗炎症作用¹⁶⁻¹⁹⁾、抗菌作用²⁰⁻²³⁾、抗腫瘍作用²⁴⁻²⁷⁾、抗糖尿病作用²⁸⁻³⁰⁾ など様々な効能が報告されている。PE の抗菌作用はリステリア (*Listeria monocytogenes*)²¹⁾、スードモナス (*Pseudomonas stutzeri*)²²⁾、スタフィロコッカス (*Staphylococcus aureus*)²³⁾ について示されている。抗腫瘍作用については乳癌²⁴⁾、卵巣癌²⁴⁾、子宮内膜癌²⁴⁾、骨肉腫²⁵⁾、大腸癌²⁶⁾、前立腺癌²⁷⁾ に由来する細胞系で示されている。その他、臓器保護作用として、メトトレキセート起因性骨髄障害³¹⁾、腎臓の虚血再灌流障害³²⁾、ジエチルニトロサミン (diethylnitrosamine) およびフェノバルビタール (phenobarbital) 起因性薬剤性肝障害³³⁾、ブレオマイシン起因性肺線維症³⁴⁾ の報告がある。

PE は糖代謝に対し好影響を及ぼし抗糖尿病作用を示す²⁸⁻³⁰⁾。作用機構に関する研究も進みつつあり、糖尿病ラットを用いた実験では、インスリン分泌刺激作用³⁵⁾、 α -amylase および α -glucosidase 抑制作用³⁶⁾ が示されている。糖代謝の改善作用は PE による PPAR γ 活性化³⁷⁾ が関与している可能性がある。結果として、脂肪肝の改善³⁸⁾、降圧作用³⁹⁾、創傷治癒の促進作用^{40,41)}、認知機能の改善効果⁴²⁾ が期待できる。

PE ザの抗糖化活性に関しては、アルブミンの糖化を抑制すること⁴³⁾、AGEs 生成^{3,44,45)} が抑制されることが近年報明らかにされ、PE による糖尿病の合併症の改善作用の本質は抗糖化作用に基づくものであろう。

データ解釈

今回の試験で PE を 12 週間服用した結果、糖化ストレス指標の空腹時血糖値、インスリンについては有意な変化はなかったが、HbA1c、グリコヘモグロビン、3DG、ペントシジンが 8 週後に有意に低下し、HbA1c は 12 週後も有意差を保ち続けた。前述のように実験的に示された PE の抗糖化作用が体内で発揮され、AGEs 生成が抑制されたことを示唆している。CML が増加傾向を示した理由は不明である。次回の臨床試験の時には、テープストリッピング法による皮膚角質 CML 量⁴⁶⁾ の変化をみれば新たな知見が得られるであろう。

本試験は安全性確認に焦点をおいた無対照オープンパイロット試験であるため、対象は健常者に限って行われた。健常者の中には糖化ストレスが強い者と正常レベルの者が混在している。糖化ストレスが正常レベル者では、皮膚蛍光性 AGEs 量も含め糖化ストレス指標は正常レベルを保ち、PE を服用してもこれ以上改善の余地はない。次回の臨床試験の時には、事前スクリーニングによる皮膚蛍光性 AGEs の高めの例を集めるといった工夫が必要である。

2 型糖尿病のある肥満者と健常者を対象に PE を投与した臨床試験では、malondialdehyde (MDA) と hydroxynonenal (HN) が糖尿病患者のみ改善し、健常者では変化が見られなかった⁴⁷⁾。健常者では MDA も HN もほぼ正常で改善の余地がなかったことが理由である。健常者を対象とした今回で試験でも、同様の理由で皮膚蛍光性 AGEs などに有意な変化がなかったと考えられる。

本試験では有害事象は指摘されず、安全性の面では特に問題ないと思われる。安全性の評価については別途詳細に報告する予定である。

結語

閉経後健常女性ボランティア10名を対象とし、PE 100mg／日、12週間内服投与した際の抗糖化作用について無対照オープン試験として検討した結果、いくつかの糖化ストレス指標が低下していたことから、何らかの糖化ストレス改善作用を有する可能性が示唆された。PEの抗糖化作用を検証するためには、蛍光性 AGEs 量によりスクリーニングを行ない糖化ストレスの強めの健常者を集めた上での二重盲検法臨床試験が実施することが望ましい。

利益相反申告

農林水産省食料産業局、「平成24年度緑と水の環境技術革命プロジェクト事業（新技術の確立・実証（技術実証等）」）、課題名「ザクロの新たな機能性研究および栽培条件等の検討」の中の実証課題としてヒト試験を実施した。

松浦、西田、長友は森下仁丹株式会社の社員である。今回のデータ解析には関与しなかった。

References

- 1) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significant of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Medicine*. 2010; 7: 112-119.
- 2) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Medicine*. 2011; 8: 23-29.
- 3) Parengkuan L, Yagi M, Matsushima M, et al. Anti-glycation activity of various fruits. *Anti-Aging Medicine*. 2013; 10: 70-76.
- 4) Morishita Jintan Co., Ltd. Patent: Maillard reaction inhibitor. WO 2013/100105 A1. 2013 July 4.
- 5) Yonei Y, Mizuno Y, Togari H, et al. Muscular resistance training using applied pressure and its effects on the promotion of growth hormone secretion. *Anti-Aging Medical Research*. 2004; 1:13-27.
- 6) Yonei Y, Takahashi Y, Watanabe M, et al. A double-blind, randomized controlled trial (RCT) of L-carnitine and conjugated linoleic acid-based health food with health claims. *Anti-Aging Medicine*. 2007; 4:19-27.
- 7) Nomoto K, Yagi M, Arita S, et al. A survey of fluorescence derived from advanced glycation end products in the skin of Japanese: Differences with age and measurement location. *Anti-Aging Medicine*. 2012; 9: 119-124.
- 8) Nomoto K, Yagi M, Arita S, Ogura M, Yonei Y. Skin accumulation of advanced glycation end products and lifestyle behaviors in Japanese. *Anti-Aging Medicine*. 2012; 9: 165-173.
- 9) Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PH, et al. Simple non-invasive assessment of advanced glycationendproduct accumulation. *Diabetologia*. 2004; 47: 1324-1330.
- 10) Meerwaldt R, Hartog JW, Graaff R, et al. Skin autofluorescence, a measure of cumulative metabolic stress and advanced glycation end products, predicts mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16: 3687-3693.
- 11) Enomoto DN, Mekkes JR, Bossuyt PM, et al. Quantification of cutaneous sclerosis with a skin-elasticity meter in patients with generalized scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. 1996; 35: 381-387.
- 12) Rennekampff HO, Rabbels J, Pfau M, et al. Evaluating scar development with objective computer-assisted viscoelastic measurement. *Kongressbd Dtsch Ges Chir Kongr*. 2002; 119: 749-755. (in German)
- 13) Kubo M, Yagi M, Kawai H, et al. Anti-glycation effects of mixed-herb-extracts in diabetes and pre-diabetes. *J Clin Biochem Nutr*. 2008; 43(Suppl 1): 66-69.
- 14) Cerdá B, Espín JC, Parra S, et al. The potent *in vitro* antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolised into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans. *Eur J Nutr*. 2004; 43: 205-220.
- 15) Henning SM, Zhang Y, Rontoyanni VG, et al. Variability in the antioxidant activity of dietary supplements from pomegranate, milk thistle, green tea, grape seed, goji, and acai: Effects of *in vitro* digestion. *J Agric Food Chem*. 2014 Apr 29. [Epub ahead of print]
- 16) Khan N, Syed DN, Pal HC, et al. Pomegranate fruit extract inhibits UVB-induced inflammation and proliferation by modulating NF- κ B and MAPK signaling pathways in mouse skin. *Photochem Photobiol*. 2012; 88: 1126-1134.
- 17) Rosillo MA, Sánchez-Hidalgo M, Cárdeno A, et al. Dietary supplementation of an ellagic acid-enriched pomegranate extract attenuates chronic colonic inflammation in rats. *Pharmacol Res*. 2012; 66: 235-242.
- 18) Ismail T, Sestili P, Akhtar S. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *J Ethnopharmacol*. 2012; 143: 397-405.
- 19) Winand J, Schneider YJ. The anti-inflammatory effect of a pomegranate husk extract on inflamed adipocytes and macrophages cultivated independently, but not on the inflammatory vicious cycle between adipocytes and macrophages. *Food Funct*. 2014; 5: 310-318.
- 20) Al-Zoreky NS. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Int J Food Microbiol*. 2009; 134: 244-248.
- 21) Li G, Xu Y, Wang X, et al. Tannin-rich fraction from pomegranate rind damages membrane of *Listeria monocytogenes*. *Foodborne Pathog Dis*. 2014; 11: 313-319.
- 22) Devatkal SK, Jaiswal P, Jha SN, et al. Antibacterial activity of aqueous extract of pomegranate peel against *Pseudomonas stutzeri* isolated from poultry meat. *J Food Sci Technol*. 2013; 50: 555-560.
- 23) Su X, Howell AB, D'Souza DH. Antibacterial effects of plant-derived extracts on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathog Dis*. 2012; 9: 573-578.
- 24) Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, et al. Pomegranate fruit as a rich source of biologically active compounds. *Biomed Res Int*. 2014;2014:686921. Epub 2014 Apr 10.

- 25) Li J, Zhang F, Wang S. A polysaccharide from pomegranate peels induces the apoptosis of human osteosarcoma cells via the mitochondrial apoptotic pathway. *Tumour Biol.* 2014 May 2. [Epub ahead of print]
- 26) Jaganathan SK, Vellayappan MV, Narasimhan G, et al. Role of pomegranate and citrus fruit juices in colon cancer prevention. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 4618-4625.
- 27) Ming DS, Pham S, Deb S, et al. Pomegranate extracts impact the androgen biosynthesis pathways in prostate cancer models *in vitro* and *in vivo*. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014 Feb 22;143C:19-28. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.02.006. [Epub ahead of print]
- 28) Das AK, Mandal SC, Banerjee SK, et al. Studies on the hypoglycaemic activity of *Punica granatum* seed in streptozotocin induced diabetic rats. *Phytother Res.* 2001; 15: 628-629.
- 29) Bagri P, Ali M, Aeri V, et al. Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food Chem Toxicol.* 2009; 47: 50-54.
- 30) Parmar HS, Kar A. Antidiabetic potential of *Citrus sinensis* and *Punica granatum* peel extracts in alloxan treated male mice. *Biofactors.* 2007; 31: 17-24.
- 31) Şen V, Bozkurt M, Söker S, et al. The effects of pomegranate and carvacrol on methotrexate-induced bone marrow toxicity in rats. *Clin Invest Med.* 2014; 37: E93-E101.
- 32) Sancaktutar AA, Bodakci MN, Hatipoglu NK, et al. The protective effects of pomegranate extracts against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Urol Ann.* 2014; 6: 46-50.
- 33) Shaban NZ, El-Kersh MA, Bader-Eldin MM, et al. Effect of *Punica granatum* (pomegranate) juice extract on healthy liver and hepatotoxicity induced by diethylnitrosamine and phenobarbital in male rats. *J Med Food.* 2014; 17: 339-349.
- 34) Hemmati AA, Rezaie A, Darabpour P. Preventive effects of pomegranate seed extract on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rat. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* 2013; 8: 76-80.
- 35) Nekooeian AA, Eftekhari MH, Adibi S, et al. Effects of pomegranate seed oil on insulin release in rats with type 2 diabetes. *Iran J Med Sci.* 2014; 39: 130-135.
- 36) Kam A, Li KM, Razmovski-Naumovski V, et al. A comparative study on the inhibitory effects of different parts and chemical constituents of pomegranate on α -amylase and α -glucosidase. *Phytother Res.* 2013; 27: 1614-1620.
- 37) Li Y, Qi Y, Huang TH, et al. Pomegranate flower: a unique traditional antidiabetic medicine with dual PPAR- α /- γ activator properties. *Diabetes Obes Metab.* 2008; 10: 10-17.
- 38) Xu KZ, Zhu C, Kim MS, et al. Pomegranate flower ameliorates fatty liver in an animal model of type 2 diabetes and obesity. *J Ethnopharmacol.* 2009; 123: 280-287.
- 39) Mohan M, Waghulde H, Kasture S. Effect of pomegranate juice on angiotensin II-induced hypertension in diabetic Wistar rats. *Phytother Res.* 2010; 24(Suppl 2): S196-203.
- 40) Yan H, Peng KJ, Wang QL, et al. Effect of pomegranate peel polyphenol gel on cutaneous wound healing in alloxan-induced diabetic rats. *Chin Med J (Engl).* 2013; 126: 1700-1706.
- 41) Pirbalouti AG, Azizi S, Koohpayeh A, et al. Wound healing activity of *Malva sylvestris* and *Punica granatum* in alloxan-induced diabetic rats. *Acta Pol Pharm.* 2010; 67: 511-516.
- 42) Cambay Z, Baydas G, Tuzcu M, et al. Pomegranate (*Punica granatum* L.) flower improves learning and memory performances impaired by diabetes mellitus in rats. *Acta Physiol Hung.* 2011; 98: 409-420.
- 43) Dorsey PG, Greenspan P. Inhibition of nonenzymatic protein glycation by pomegranate and other fruit juices. *J Med Food.* 2014; 17: 447-454.
- 44) Mesías M, Navarro M, Gökmen V, et al. Antiglycative effect of fruit and vegetable seed extracts: Inhibition of AGE formation and carbonyl-trapping abilities. *J Sci Food Agric.* 2013; 93: 2037-2044.
- 45) Ito H, Li P, Koreishi M, Nagatomo A, et al. *Ellagitannin oligomers* and a neolignan from pomegranate arils and their inhibitory effects on the formation of advanced glycation end products. *Food Chem.* 2014; 152: 323-330.
- 46) Kamitani Y, Yagi M, Nomoto K, et al. Non-invasive collection of stratum corneum samples by a tape-stripping technique. *Anti-Aging Medicine.* 2013; 10: 55-59.
- 47) Basu A, Newman ED, Bryant AL, et al. Pomegranate polyphenols lower lipid peroxidation in adults with type 2 diabetes but have no effects in healthy volunteers: A pilot study. *J Nutr Metab.* 2013;2013:708381. doi: 10.1155/2013/708381. Epub 2013 Jul 10.