Glycative Stress Research

Online edition : ISSN 2188-3610
Print edition : ISSN 2188-3602
Received : April 8, 2016
Accepted : June 9, 2016
Published online : June 30, 2016

Original article

Physical effects of a 12-week protocol of daily *gyudon* (beef bowl) ingredients consumption: Implications for fast food research

Mari Ogura [1,2], Wakako Takabe [1], Yuichi Nagano [3], Ken-ichi Onodera [3], Yoshikazu Yonei [1]

1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan
2) Department of Food Science and Nutrition, Kyoto Bunkyo Junior College, Kyoto, Japan
3) Yoshinoya Holdings Ltd., Tokyo, Japan

Glycative Stress Research 2016; 3 (2): 99-109

（原著論文）

牛丼の具12週間連続摂取時の身体への影響：ファストフード研究における位置づけ

小椋真理 [1,2]、高部稚子 [1]、長野裕一 [3]、小野寺健一 [3]、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、京都
2) 京都文教短期大学食物栄養学科、京都
3) 吉野家ホールディングス、東京

抄録

［目的］ 牛丼はファストフードの一つである。牛丼の具を 12 週間連続して 1 日 1 回摂取した時の身体への影響、安全性について検証した。

［方法］ 対象は成人男女 24 名（男性 12 名、女性 12 名、年齢 44.8 ± 8.5 歳）とし、試験食品「冷凍牛丼の具」（規定に従い加熱調理）を毎日必ず 1 食、12 週間連続摂取した。試験食品は吉野家ホールディングス（東京都中央区）より提供を受け、店舗で提供される牛丼（並盛）と同等品とした。被験者は試験前、摂取開始 4、8、12 週後、摂取終了 4 週後に理学的所見、血液生化学検査を行った。本試験は本試験食品と他の開発商品との比較を目的とした二重盲検群間比較試験として倫理委員会の承認を得て施行し、本論文においては、本試験食品を摂取した単群のみの結果を示した。

［結果］ 観察期間中の試験食品摂取率は 94％以上で脱落者はなかった。体重（前値 63.1 ± 13.9 kg）、体脂肪率（前値 23.2 ± 6.4％）には試験品の摂取期間中に有意な変化はなかった。血圧については、収縮期血圧に変化なく、拡張期血圧が前値 70.4 ± 9.5 mmHg から摂取 4 週後 4.7% 増加したが（$p < 0.05$）、8 および 12 週後の値

連絡先：教授　米井嘉一
〒 610-0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
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
電話 FAX：0774-65-6394　メール：yyonei@mail.doshisha.ac.jp
共著者：小椋真理 m-ogura@po.kbu.ac.jp、
高部稚子 wtakabe@mail.doshisha.ac.jp、
長野裕一 y.nagano@ysn.yoshinoya.com、
小野寺健一 k.onodera@ysn.yoshinoya.com

Glycative Stress Research 2016; 3 (2): 99-109
本論文を引用する際はこちらを引用してください。

は前値と有意差がなかった。脂質代謝検査では、総コレステロールは前値 197.3 ± 27.8 mg/dL から 8 週後 4.4 % 増加したが（$p < 0.05$）12 週後は前値と有意差なく、LDL コレステロールおよび HDL コレステロールは摂取期間中の変化はなく、中性脂肪（トリグリセリド）は前値 76.3 ± 33.2 mg/dL から 8 週後 30.3 % 増加したが（$p < 0.05$）12 週後は前値と有意差はなかった。空腹時血糖は前値 85.4 ± 9.2 mg/dL から 4 週後 3.5% 増加したが（$p < 0.05$）、8 および 12 週後は前値と有意差はなかった。観察期間中の試験食品に起因する有害事象は認められなかった。

［結論］ 今回の試験条件では、試験食品（牛丼の具）を 12 週間連続摂取しても糖脂質代謝関連の測定項目に有意な変動や有害事象は認められなかった。試験食品の安全性の確認のためにはさらに条件を整えた検証が必要である。

KEY WORDS: 牛丼、連即摂取、ファストフード、トランス脂肪酸、糖化ストレス

はじめに

牛丼とは、薄く切った牛肉（切り落とし、小間切れなど）とタマネギなどを甘辛く煮込み、丼に盛った飯の上に載せた料理である。多くの日本人が好む甘みのある醤油味で、うまみのある牛脂の風味が魅力の牛丼は日本人の国民食の一つである。

一方、近年わが国では、メタボリックシンドロームの罹患率が増加し、それに伴い生活習慣病が急増している。その原因は身体活動量の低下と食の欧米化に伴う摂取カロリー量の増加であるが、欧米化食のイメージを畜肉の摂取と関連付けて考える傾向が強い。その影響を受け、日本固有の牛肉の食べ方を提示するメニューである牛丼までも、不健康なイメージを払拭できずにいる。

我々の研究室では様々な食材について食後の血糖変化について検討を行い[1,2]、白飯の単独摂取に比べ牛丼として摂取した方が食後高血糖が緩和されることを報告した[3]。しかし牛丼の具を連続摂取した時の身体への影響についての報告はこれまでにない。今回我々は、現状の商品の健康への影響を評価することを目的に、牛丼を 12 週間連続して摂取した時に身体にどのような影響を及ぼすのか、特に糖化ストレスに関連のある脂質代謝指標の変化について検討した。本試験は本試験品と他の開発商品の二重盲検群間比較試験として施行したが、今回は本試験食品（牛丼の具）を摂取した群のみの結果を示した。

方法

対象

被験者の対象は 20 歳から 65 歳未満の成人男女 24 名（男性 12 名、女性 12 名、年齢 44.8 ± 8.5 歳）とした。被験者の選択にあたりは以下[1-5]の基準該当する者は除外された。1) 試験結果に影響する可能性のあると思われる医薬品、特定保健用食品、健康食品などを常用している者常食している者。2) 心臓、肝臓、腎臓、消化器に重篤な疾患の罹患歴および現病歴がある者。3) 妊娠中または妊娠している可能性のある者および授乳中の者。4) アルコール多量飲酒者。「健康日本 21（第 2 次）の推進に関する参考資料」における多量飲酒者の定義（多量飲酒者を「1 日平均 60 g を超える飲酒者」と定義した。5) 食生活が極度に不規則な者、交代制勤務者・深夜勤務者など生活リズムが不規則な者。

被験者背景のうち糖代謝については、24 名のうち 5 名は事前検診時の空腹時血糖（fasting plasma glucose: FPG）が正常高値～境界域または 75 g 経口糖負荷試験（OGTT）2 時間値が 140 ～ 199mg/dL であった。脂質異常症については、低比重リポ蛋白コレステロール（LDL-C）が境界領域の者は 24 名のうち 8 名（123 ～ 139 mg/dL）、異常値の者は 4 名（140 ～ 187 mg/dL）であった。高比重リポ蛋白コレステロール（HDL-C）が 40mg/dL 未満の者、中性脂肪（triglyceride: TG）が 150 mg/dL 以上の者は含まれなかった。生活習慣については 24 名中 15 名に飲酒の習慣（日本酒換算で 2 合 / 日以上）、4 名に喫煙習慣（20 本 / 日以上）、2 名に過去の喫煙歴があった。運動習慣（2 回 / 週以上）があるものは 24 名中 7 名であった。

被験者は通常通りの日常生活の中で試験食品「冷凍牛丼の具」（規定に従い加熱調理）を毎日、いずれかの食事時に、必ず 1 食を加えて摂取することを 12 週間継続した。試験食品「冷凍牛丼の具」は株式会社吉野家ホールディングス（東京都中央区）より提供を受けた。これは店舗で提供している牛丼（並盛）の具と同等である。

試験期間は 2015 年 4 月～ 2015 年 10 月とし、チヨダパラメディカルケアクリニック（東京都千代田区）にて実施した。被験者には十分な説明を行い文書にて同意を得た。

試験食品

吉野家冷凍牛丼の具（135 g/ 袋）を 1 食とした。試験食品の原材料は ***Table 1*** に、栄養成分分析結果を ***Table 2*** に示した。

Table 1. Component of the test sample in 1 package for 1 day.

Item	Unit	Amount
Beef	g	65
Onion	g	30
Sauce (Tare)	g	40

Table 2. Nutrition analysis of the test sample.

Item	Unit	Amount per 100 g
Energy	kcal	249
Protein	g	9.6
Lipid	g	20.8
Carbohydrate	g	5.8
Sodium	mg	696

※135 g per package

検査項目

背景調査、身体計測および理学的検査

被験者背景として性別、生年月日、年齢、飲酒習慣、食習慣、既往歴、合併症（自他覚症状）、アレルギー（食物・薬物）、排便状況、使用医薬品名、常用している医薬品・特定保健用食品・健康食品、12ヶ月以内の採血量を調査し、身体状況に関する問診を行った。身体計測として身長、体重（In Body 3.2: インボディ・ジャパン、東京都江東区）、体脂肪率（bioelectrical impedance [BI] 法）（In Body 3.2; インボディ・ジャパン）、体格指数（body mass index: BMI）を測定、理学的検査として収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍数を測定した。

試験期間中には日誌調査を行い、食事の内容（回数･量）、飲酒量、運動量、便通、睡眠時間、自覚症状、医療機関の受診･治療内容、医薬品・健康食品の使用状況を記録した。

血液生化学検査

安全性確認のため以下の血液生化学検査を施行した。血液検査項目としては白血球数（WBC）（/μL）、赤血球数（RBC）（x10^4/μL）、ヘモグロビン（Hb）（g/dL）、ヘマトクリット値（Hct）（%）、血小板数（Plt）（x10^4/μL）、一般生化学的検査項目としては、総蛋白（g/dL）、アルブミン（g/dL）、AST（GOT、IU/L）、ALT（GPT、IU/L）、LDH（IU/L）、ALP（IU/L）、γ-GTP（IU/L）、CPK（IU/L）、尿素窒素 BUN（mg/dL）、クレアチニン（mg/dL）、尿酸（mg/dL）、血清電解質：Na、K、Cl（mEq/L）、Ca（mg/dL）、糖脂質代謝指標として FPG（mg/dL）、総コレステロール（TC）（mg/dL）、HDL-C（mg/dL）、LDL-C（mg/dL）、TG（mg/dL）を測定した。血液生化学検査は、株式会社 LSI メディエンス（東京都品川区）にて実施した。尿検査では蛋白、糖、ウロビリノーゲン、ビリルビンの定性検査を行った。

検査日前日21時以降、検査終了まで絶食し、水以外の飲水も禁止とした。試験当日は起床時より検査終了まで禁煙とした。朝に来院させ、順次検査を実施し医師による問診を受けた後、採血を行った。なお、来院後は安静状態を保つこととし、検査終了まで院内にて過ごさせた。

事前検診時の FPG が血糖正常高値～境界型と思われる被験者には OGTT を実施、測定は2時間後のみとした。

試験スケジュール

当該試験は事前検査、本試験より構成した。事前検査では、同意を取得した被験者を対象に本試験実施前4週以内に来院させ、検査を実施した。本試験では被験者は5回（摂取開始前、摂取開始4、8、12週後、摂取終了4週後）来院し、所定の検査を受けた。

統計解析

各項目について、例数、平均値、標準偏差を算出し、以下に示す有意差検定を行った。統計学的な有意水準は5％とした。身体計測値、生理学的検査値、血液生化学検査、血液学的検査結果は、摂取開始前の実測値に対する各測定ポイント（4、8、12週後、後観察開始4週後）の実測値についてDunnett検定を行った。各測定時点の尿検査値（蛋白、糖、ウロビリノーゲン、ビリルビン）の摂取開始前との比較についてはWilcoxonの一標本検定を行った。

倫理

試験食品摂取に起因する体調の変化の有無を医師が観察した。当試験は「ヘルシンキ宣言」および「人を対象とする医薬系研究に関する倫理指針」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）」を参照しつつ、常に被験者の人権保護に配慮して実施した。当試験は二重盲検並行群間比較試験として、チヨダパラメディカルケアクリニックで開催される倫理審査委員会において、試験計画の倫理性および妥当性について審議を行い、承認された試験計画書に準じて実施した。本論文では試験食品（牛丼の具）を摂取した群のみの成績を示した。

結果

試験食品の摂取状況

被験者における試験食品の摂取率は、99.6 ± 1.1％であった。また、個々の被験者における試験食品の摂取率の範囲は94.0 ～ 100％で、すべての被験者において90％以上であった。摂取率に男女差はみられなかった。脱落例はなく24名すべてを解析対象とした。

身体計測および理学的検査結果（*Table 3*）

体重は、摂取開始前63.1 ± 13.9 kgと比較して4、8、12週後には有意な変化はなかったが、後観察開始4週後62.3 ± 13.5 kg（－1.3％）となり統計学的に有意な低下が認められた（$p < 0.01$）。個々の被験者の変動範囲は対照食品群では－4.5 ～1.6 kgであった。

BMIは、摂取開始前22.6 ± 3.6 kg/m^{2}と比較して4、8、12週後に有意な変化はなく、後観察開始4週後22.3 ± 3.6 kg/m^2（－1.3％）に有意に低下した（$p < 0.01$）。個々の被験者の変動範囲は－1.5 ～0.6 kg/m^{2}であった。

体脂肪率は、摂取開始前23.2 ± 6.4％と比較して4、8、12週後に有意な変化はなかったが、後観察開始4週後22.5 ± 7.1％（－ 2.2％）で有意な低下が認められた（$p < 0.05$）。個々の被験者の変動範囲は、－4.4 ～2.3%であった。

血圧は、拡張期血圧が摂取開始前70.4 ± 9.5 mmHgから摂取4週後73.7 ± 9.7 mmHg（+4.7％）へ有意に上昇したが（$p < 0.05$）、8、12週後は前値に比べ有意差がなかった。収縮期血圧には有意な変化はみられなかった。個々の被験者の変動範囲は収縮期血圧で－13 ～16 mmHg、拡張期血圧で－13 ～17 mmHgであった。

脈拍数には有意な変化はみられなかった。

摂取開始前の体重、BMIには男女差がみられたが、摂取後の変化率には男女差がみられなかった。その他の項目には男女差が認められなかった。

血液生化学検査（*Table 4,5*）

血液生化学検査項目に関して、実測値を使用した摂取開始前との経時的な比較を行った結果、以下の項目について統計学的に有意な変動が認められた。摂取開始前のRBC、Hb、Ht、γ-GTP、CPK、Creには男女差がみられたため、男女別の値を示した。その他の項目には男女差が認められなかった。

Table 3. Physical information.

Item	Unit	Before	4 weeks	8 weeks	12 weeks	4 weeks after the test
Weight	kg	63.1 ± 13.9	62.8 ± 13.7	62.9 ± 14.0	63.0 ± 13.5	62.3 ± 13.5 **
BMI	kg/m^2	22.6 ± 3.6	22.5 ± 3.6	22.5 ± 3.7	22.6 ± 3.6	22.3 ± 3.6 **
Body fat	%	23.2 ± 6.4	22.7 ± 6.5	22.9 ± 6.6	22.8 ± 7.0	22.5 ± 7.1 *
Blood pressure (systolic)	mmHg	115.2 ± 13.7	117.0 ± 14.1	116.9 ± 13.9	115.4 ± 15.7	115.9 ± 13.7
(diastolic)	mmHg	70.4 ± 9.5	73.7 ± 9.7 *	72.2 ± 10.4	73.3 ± 12.0	72.5 ± 9.7
Pulse rate	Bpm	73.6 ± 10.3	75.4 ± 9.2	73.3 ± 9.7	73.5 ± 9.5	74.5 ± 9.6

Data are expressed as mean ± standard deviation. *p<0.05, **p<0.01 vs Pre values by Dunnett’s test, n = 24. BMI, body mass index.

Table 4. Peripheral blood examination.

Item	Unit	Sex	Before	4 weeks	8 weeks	12 weeks	4 weeks after the test
WBC	/μL	–	5741.7 ± 1657.1	5729.2 ± 1503.5	5208.3 ± 1468.8	5358.3 ± 1472.6	5391.7 ± 1410.5
RBC	10^4/μL	Male	493.7 ± 27.0	499.3 ± 34.6	498.5 ± 27.1	489.7 ± 25.7	492.8 ± 28.7
		Female	428.2 ± 38.7	428.2 ± 35.3	430.3 ± 40.7	421.0 ± 40.8	435.8 ± 27.9
Hb	g/dL	Male	15.1 ± 1.0	15.1 ± 1.0	15.2 ± 0.9	15.0 ± 0.8	14.9 ± 1.0
		Female	12.6 ± 0.9	12.6 ± 0.9	12.7 ± 1.1	12.5 ± 1.1	12.7 ± 0.9
Ht	%	Male	47.3 ± 2.2	46.3 ± 2.8	46.5 ± 2.0	47.0 ± 2.2	46.4 ± 2.7
		Female	40.7 ± 2.9	39.1 ± 2.4 **	39.8 ± 3.1	39.8 ± 3.0	40.6 ± 2.6
Plt	10^4/μL	–	25.1 ± 3.4	25.8 ± 3.8	25.4 ± 3.4	24.6 ± 3.4	26.1 ± 4.3

Data are expressed as mean ± standard deviation. **p<0.01 vs Pre values by Dunnett' s test, n = 24.

Table 5. Peripheral blood examination.

Item	Unit	Sex	Before	4 weeks	8 weeks	12 weeks	4 weeks after the test
TP	g/dL	–	7.08 ± 0.35	7.06 ± 0.31	7.18 ± 0.36	7.18 ± 0.41	7.21 ± 0.30 *
ALB	g/dL	–	4.36 ± 0.24	4.38 ± 0.18	4.40 ± 0.23	4.42 ± 0.24	4.43 ± 0.20
AST (GOT)	U/L	–	17.5 ± 3.6	17.3 ± 4.1	18.0 ± 4.4	17.9 ± 4.3	18.4 ± 5.2
ALT (GPT)	U/L	–	16.7 ± 8.7	16.5 ± 8.5	17.5 ± 8.9	16.3 ± 8.3	18.1 ± 9.3
LDH (LD)	U/L	–	154.5 ± 21.5	155.5 ± 24.5	155.3 ± 24.5	164. ± 28.2 **	159.0 ± 24.0
T-BIL	mg/dL	–	0.76 ± 0.25	0.78 ± 0.24	0.80 ± 0.29	10.78 ± 0.28	0.83 ± 0.26
ALP	U/L	–	166.8 ± 45.2	171.4 ± 46.8	173.7 ± 49.6	173.4 ± 54.4	173.9 ± 49.9
γ-GTP	U/L	Male	31.7 ± 18.2	32.6 ± 19.8	34.5 ± 22.4	36.6 ± 32.2	37.2 ± 25.8
		Female	14.3 ± 3.5	14.9 ± 5.3	15.4 ± 5.4	15.0 ± 6.0	17.3 ± 7.2 *
CPK	U/L	Male	138.3 ± 53.1	123.3 ± 33.3	110.0 ± 32.0	180.0 ± 144.9	151.6 ± 67.2
		Female	74.2 ± 30.6	76.8 ± 30.6	93.5 ± 56.0	82.6 ± 42.2	74.2 ± 31.1
BUN	mg/dL	–	11.4 ± 3.1	11.6 ± 2.8	11.1 ± 2.8	11.6 ± 3.0	12.2 ± 4.4
Cre	mg/dL	Male	0.862 ± 0.103	0.833 ± 0.104	0.859 ± 0.128	0.858 ± 0.127	0.848 ± 0.142
		Female	0.592 ± 0.068	0.566 ± 0.049	0.600 ± 0.062	0.601 ± 0.075	0.614 ± 0.055
Na	mEq/L	–	140.3 ± 1.8	139.8 ± 1.5	140.5 ± 1.6	140.3 ± 1.7	140.3 ± 1.3
Cl	mEq/L	–	104.4 ± 1.8	104.0 ± 1.8	104.5 ± 1.9	103.7 ± 2.0	104.0 ± 1.4
K	mEq/L	–	4.13 ± 0.25	4.27 ± 0.37	4.30 ± 0.41 *	4.30 ± 0.34	4.24 ± 0.32
Ca	mg/dL	–	9.42 ± 0.38	9.45 ± 0.38	9.48 ± 0.35	9.47 ± 0.37	9.53 ± 0.30
TC	mg/dL	–	197.3 ± 27.8	202.5 ± 34.4	206.0 ± 31.3 *	199.0 ± 29.9	205.2 ± 28.4 *
LDL-C	mg/dL	–	116.8 ± 26.9	120.8 ± 28.7	120.8 ± 30.2	117.1 ± 27.2	121.0 ± 22.5
HDL-C	mg/dL	Male	59.8 ± 8.7	59.1 ± 10.8	60.0 ± 8.9	61.3 ± 7.4	59.7 ± 8.3
		Female	67.0 ± 19.5	67.1 ± 18.5	70.4 ± 21.8	64.7 ± 20.0	65.8 ± 23.3
TG	mg/dL		76.3 ± 33.2	77.9 ± 38.1	99.4 ± 71.1 *	84.5 ± 37.6	92.5 ± 56.0
FPG	mg/dL		85.4 ± 9.2	88.4 ± 8.2 *	86.1 ± 7.5	86.6 ± 8.1	85.0 ± 9.8

Data are expressed as mean ± standard deviation. *p<0.05, **p<0.01 vs Pre values by Dunnett' s test, n = 24.

血液検査では、Ht は女性で摂取開始前 40.7 ± 2.9 % と比較して、摂取 4 週後 39.1 ± 2.4 %（－3.9 %）と有意に低下したが（$p < 0.05$）、摂取 8 週後以降は前値と有意差がなかった。WBC、RBC、Hb、Plt には有意な変化は認められなかった。

生化学検査では、TP は摂取開始前 7.08 ± 0.35 g/dL と比較して、4、8、12 週後に有意な変化はなかったが、後観察開始 4 週後 7.21 ± 0.30 g/dL（＋1.8 %）に統計学的に有意な上昇が認められた（$p < 0.05$）。LDH は摂取開始前 154.5 ± 21.5 U/L から摂取 12 週後 164.1 ± 28.2 U/L（＋ 6.2 %）に有意に上昇したが（$p < 0.01$）、後観察 4 週後は前値と有意差がなかった。γ-GTP は女性で摂取開始前 14.3 ± 3.5 U/L と比較して 4、8、12 週後に有意な変化はなかったが、後観察 4 週後 17.3 ± 7.2 U/L（＋ 21.0 %）に有意に上昇した（$p < 0.05$）。

電解質検査では、K は摂取開始前 4.13 ± 0.25 mEq/L から摂取 8 週後 4.30 ± 0.41 mEq/L（＋ 4.1 %）に有意に上昇したが（$p < 0.05$）、12 週後は前値と有意差がなかった。

糖化ストレスに影響を及ぼす糖脂質代謝検査では、TC は摂取開始前 197.3 ± 27.8 mg/dL から摂取 8 週後 206.0 ± 31.3 mg/dL（＋ 4.4 %）に上昇したが（$p < 0.05$）、12 週後は前値と有意差はなかった。TC は後観察開始 4 週後 205.2 ± 28.4 mg/dL（＋ 4.0 %）に有意に上昇していた（$p < 0.05$）。LDL-C、HDL-C には有意な変動は認められなかった。TG は開始前 76.3 ± 33.2 mg/dL から摂取 8 週後 99.4 ± 71.1 mg/dL（＋ 30.3 %）へ有意に上昇したが（$p < 0.05$）、12 週後は前値と有意差がなかった。FPG は摂取開始前 85.4 ± 9.2 mg/dL から摂取 4 週後 88.4 ± 8.2 mg/dL（＋ 3.5 %）に有意に上昇したが（$p < 0.05$）、8 週後以降は前値と有意差がなかった。

尿定性検査（*Table 6*）

尿定性検査では、摂取 8 週後に 3 名の被験者で（±）への変動（摂取開始前（－））、摂取 12 週後に 3 名の被験者で（±）への変動、1 名の被験者で（＋）への変動（摂取開始前（－））、後観察開始 4 週後に 4 名の被験者で（±）への変動、1 名の被験者で（＋）への変動（摂取開始前（－））が認められた。判定性値を使用した摂取開始前との経時的な比較を行った結果、有意な変動が認められなかった。なお、糖定性、ウロビリノーゲンおよびビリルビンについては、異常変動を示した被験者は認められなかった。

有害事象

試験期間中に観察された有害事象の件数を *Table 7, 8* に示した。有害事象の発現率は 16.7 %（24 名中 4 名）であった。本試験では重篤な有害事象は認められなかった。

自覚症状における有害事象の内容としては、「急性咽頭炎」（男性 1 名）、「感冒症状（咳、倦怠感、食欲不振）」（男性 1 名、女性 1 名）であった。試験食品との関連については因果関係なしと判断した。

臨床検査における有害事象としては、尿蛋白の変動 1 件（女性）、γ-GTP 上昇 1 件（男性）が認められた。尿蛋白およびγ-GTP 上昇の有害事象において、試験食品との因果関係はなしと判断された。

1 例目：後観察 4 週後の尿蛋白が（+）を示したため為、有害事象とした。後観察 4 週後の検査結果であること、また、生理中であったことから、試験食品との因果関係はなしと判断した。また、月経による変動であることから、追跡調査はなしと判断した。

Table 6. Physical information.

Item	Judgement	Before	4 weeks	8 weeks	12 weeks	4 weeks after the test
Protein	(-)	21	22	19	17	17
	(+-)	1	2	4	6	6
	(1+)	2	0	0	1	1
Sugar	(-)	24	24	24	24	24
	(+-)	0	0	0	0	0
	(1+)	0	0	0	0	0
Urobilinogen	(-)	0	0	0	0	0
	(+-)	24	24	24	24	24
	(1+)	0	0	0	0	0
Bilirubin	(-)	24	24	24	24	24
	(+-)	0	0	0	0	0
	(1+)	0	0	0	0	0

No significant difference from pre-values “Before” is analyzed by Wilcoxon test.

2例目：摂取前のγ-GTPの値72 U/Lと比較して、摂取4週後より次第に数値の上昇が認められ、摂取12週後が125 U/Lと試験期間中で最も高い数値を示し、後観察4週後では若干の数値の低下が認められたため、有害事象とした。詳細の聞き取りにより、例年夏場は飲酒回数、飲酒量の増加があるとのことから、被験者の飲酒習慣の変化による数値上昇と考えられ、試験食品との因果関係はなしと判断した。また、後観察4週後で数値の低下が認められたことから、追跡調査はなしと判断した。

考察

本研究は、日本の代表的な国民食である牛丼をより健康なメニューとして改良していくために、第一段階として現状の商品の健康への影響を評価することが目的である。店舗での牛丼を用いた試験は、被験者管理上実施が困難であるため、栄養成分として同等な冷凍食品を用いて試験を実施した。牛丼の具の安全性と健康影響を評価する方法として、牛丼の具を12週間連続摂取した時の摂取前、後、そ

Table 7. Adverse event in subjective symptoms.

Sex	Intake start date	Manifestation date to disappearance date	Event	Treatment	Treatment content	Degree	Follow-up	Outcome	Seriousness	Test continuation	Causal relationship
Female	May 13	July 31 to August 7	Acute pharyngitis	Doctor consultation and medication	PL 3 tablet/day Flomox 3 tablet/day Transamine 3 tablet /day	Moderate	No	Recovered	Not serious	Yes	No
Male	May 14	July 14 to 22	Cold-like symptoms (cough, fatigue and appetite loss)	Medication	Pabron Gold A 3 tablet/day	Mild	No	Recovered	Not serious	Yes	No

Degree is divided into “mild”, “moderate” and “severe”, and seriousness into “not serious” and “serious”.

Table 8. Adverse event in examination data.

Sex	Event	Time course					Treatment	Degree	Outcome	Follow-up	Seriousness	Test continuation	Causal relationship
		Before	4 weeks	8 weeks	12 weeks	4 weeks after the test							
Female	Proteinuria (+)	(−)	(−)	(±)	(±)	(+)	No	Mild	Unknown	No	Not serious	Yes	No
Female	γ-GTP elevation	72	75	83	125	101	No	Mild	Unknown	No	Not serious	Yes	No

Degree is divided into “mild”, “moderate” and “severe”, and seriousness into “not serious” and “serious”.

のあと4週間の観察期間後の身体計測、血液性化学検査、尿検査を実施し、生理的変動の範囲を超える変化の有無を調べた。その結果、体重、体脂肪に変化なく、拡張期血圧の4.7%上昇といった身体所見の変化は軽微であった。糖脂質代謝指標もLDL-Cには変化なく、一部のデータに影響を受けたTG増加（+30.3%）以外はTC 4.4%増加、FPG 3.5%増加と軽微で、いずれも一過性の変化であった。また観察期間中に試験食品に起因する重篤な有害事象は認められなかった。

ファストフードと健康

1990年頃から日本人の脂肪摂取量が増加しつつあり、平均総コレステロール値は米国人と同等になり、近年では、日本人女性は米国人男女の平均値を上回っている[4)]。その原因としては食生活の欧米化とファストフード店、ファミリーレストラン、コンビニエンスストアの普及が挙げられている。

地理的に近くにスーパーマーケット、ファストフード店、フードアウトレット店、コンビニエンスストアがあると食習慣に影響を及ぼすことがわかっている[5)]。スーパーマーケットは野菜・果物摂取量との正の関連、ファストフード店、コンビニエンスストアはアイスクリーム、塩味のスナック、肉類、菓子類、砂糖入り飲料摂取量との正の関連、野菜・果物、低脂肪食品摂取量との負の関連が報告されている。

ファストフード店の存在は野菜摂取量にも影響を及ぼす。都道府県別ファストフード店数と野菜摂取量の関連性を検討した結果、野菜摂取量とファストフード店数との間に有意な負の相関を認めている[6)]。

一般の日本人はどのくらいの頻度でファストフードを利用するのであろうか。ファストフード店利用頻度に関する情報は際めて限定的であるが、いわゆるジャンクフードの摂取量は摂取標準カロリーの約1/3を占め、低年齢層ほどその割合は大きいと言われている。小児ではファストフードや外食などの利用頻度月に約8回と高頻度であった[7)]。中学生におけるファストフード摂取頻度は「ほぼ毎日」1.0%、「週に3～4回」2.3%、「週に1～2回」17.3%、「月に数回」70.0%、「食べない」9.3%であった[8)]。特殊な状況ではあるが、人工透析を受けていない慢性腎臓病(chronic kidney disease: CKD)患者45例の調査では、ファストフードを月に1回利用していた患者は26.7%、週1回利用は8.9%であった[9)]。また、家族同居者が単身赴任すると、ファストフード店などの外食やテイクアウト食品への依存度が高くなる。その結果、肥満・脂質異常症・糖尿病については差がなかったが、高血圧症の有所見率を比較すると、単身赴任群と家族同居群でそれぞれ20歳代：0%と1.6%、30歳代：14.9%と4.1%、40歳代：21.4%と13.8%、50歳代：27.6%と23.2%で、30歳代および40歳代で両群間に有意差が認められた[10)]。

ファストフード店利用頻度と生活習慣病との関連についてもいくつか報告がある。

ファストフードと妊娠との関連についての報告では、非妊娠時のファストフード利用頻度と子供の出生体重には有意差はなかったが、非妊娠時のファストフードに対する嗜好と子供の出生体重については有意な関連を認めた[11)]。すなわち、出生体重が2,500 g未満の子供を出産した母親は「ファストフードが好き」と答える割合が低く、ファストフードが高カロリーであるとの認識を持ち、ファストフードを避ける傾向がある。

幼児についてはファストフード摂取と向社会的行動との関連に関する報告がある。中国上海市の日本人幼稚園、和歌山県および大阪府の幼稚園の園児（5～6歳）246例を対象に、向社会的行動の関連因子の一つ「子供が反抗的な時は子育てが不安になったり面倒になる」とファストフード摂取頻度との関連についてのロジスティック回帰分析では、上海でのみファストフードの摂取頻度との関連がみられた[12)]。和歌山ではテレビの視聴時間との関連がみられ、大阪では屋外遊戯時間が関連する因子であった。ファストフードの問題は生活環境を構成する数多くの因子の一つであり、健康状態や生活習慣病とファストフードとの関連について解析する際には、できるだけ高い視野から広い範囲を見渡す必要があるだろう。

肥満傾向児の比率は、2006年をピークにやや減少傾向にあるが、約8%と依然高い水準にあり、ジャンクフード摂取やファストフードとの関連が指摘されている。子供はいつでもどこでも容易に好きなものを安価で手に入れることができる環境にある[7)]。子供の生活習慣は親や家族の生活習慣に大きく影響されることから、その家族に適した指導や支援が必要である。

中学校全生徒を対象に痩身志向およびダイエット情報、食生活、骨量、運動、生活習慣の調査を行っている。その結果、女子に痩身志向が強いこと、標準体重女子の半数以上が痩身志向を持っていること、標準体重でありながら痩身志向を「持っている」女子と「持っていない」女子を比較した分析では、痩身志向との関連深い因子として、ダイエット情報・一日の運動時間・朝食の有無と並んでファストフード摂取状況が示された[13)]。健康増進や健康維持のためには健康情報について正しく理解することが重要である。

女子中学・高校生997例の調査では口腔の衛生状態とファストフードの関連が指摘されている。これは質問票により、口腔内自覚症状「口やのどの乾燥感」「口中のネバネバ感」「水分がないときの嚥下困難感」と影響するリスク要因：1) コーヒー、紅茶、緑茶を飲む、2) 食事を抜く、3) ファストフードを食べる、4) 水やお茶を飲みながら食事をする、5) 食事は10分以内で食べ終わる、6) 鼻づまり、7) 口呼吸、8) ストレスとの関連を調べた報告である[14)]。ロジスティック回帰分析の結果、「口中のネバネバ感」に関して有意な関連要因は「鼻づまり」「口呼吸」「ストレス」であったが、「水分がないときの嚥下困難感」に関して有意な関連要因には「中高生別」「食事を抜く」「水やお茶を飲みながら食事をする」「鼻づまり」および「ストレス」

と並んで「ファストフードを食べる」が抽出されていた。但しファストフード店の利用頻度についての言及はない。

社会環境の変化とともに児童生徒の食習慣も変化した結果、個食や欠食などの問題も現れており、ファストフードと生活習慣との関連について精神心理学的検討もなされている。ファストフードや高飽和脂肪食などの食習慣がうつ病のリスクを上昇させるとの報告もある[15)]。

小学校4年から高校3年までの児童生徒114名を対象としたストレス反応（心理的ストレス・身体的ストレス）と生活習慣についての調査では、インスタント食品を週1回以上食べる群ではそうでない群（1回未満群）に比べて、身体的ストレス反応、不機嫌・怒り、無気力、抑うつ・不安感情の項目が有意に高かった[16)]。またファストフードを週1回以上食べる群では1回未満群に比べて、無気力、抑うつ・不安感情の項目が有意に高かった。

男子高校生244名（1年生89名、2年生81名、3年生74名）を対象に、東大式健康調査票による心身の状態を調査し、以下の結果が得られている[17)]。コンビニエンスストア、ファストフードの高頻度利用群では、1年生では「生活の不規則」、2年生では「多愁訴」、3年生では「口と肛門」「生活の不規則」の得点が有意に高かった。本所見はファストフードの利用頻度が男子高校生の精神状態に関連することを示している。

病院看護師331名（男性108名、女性223名）を対象とした食習慣と抑うつ症状についてのロジスティック回帰分析では、インスタント食品、夜食に関しては摂取頻度が増えるほど年齢調整オッズ比が上昇するという所見が得られた[18)]。反対に、濃色野菜、海藻類、きのこ類に関しては摂取頻度が増えるほど年齢調整オッズ比が低下していた。

その他の疾患との関連については、ファストフードの摂取が少ないほど前立腺癌リスクを軽減させる可能性[19)]、ファストフード摂取頻度が高いほど前立腺特異抗原（prostate specific antigen: PSA）が基準値を超えやすい[20)]ことが報告されている。

一方、ファストフード店にも利点はある。愛知県における飲食店の業種別受動喫煙対策をみると、ファストフード店やカレー専門店では禁煙が進んでおり、バー、焼肉店、居酒屋、お好み焼き店などではほとんど禁煙化が進んでおらず、飲食店の受動喫煙対策は二極化している[21)]。ファストフード店での提供メニューの栄養素について理解を深め、上手な付き合い方を模索する必要がある[22)]。

これまでファストフードを一括りにして議論してきたが、その内容はハンバーガー、フライドチキン、回転寿司、うどん、そば、カレーライス、牛丼と多岐にわたる。これからは個々の食材について安全性や健康管理の面から議論する時代になったと言えよう。

データの解釈

血液検査ではHtの一過性の減少（女性：4週後－3.9%）がみられた。我々が施行した14件の臨床試験データ[23-36)]をみると、4週後採血のある6件[23,25,27,30,32,33)]のうち3件[23,27,30)]でRBC、Hb、Htのいずれかに4週後2～4%の低下を認め、1件では4週後Htに有意差はないものの8週後に有意な低下を認めている[33)]。性差をみると、これらの4件はすべて対象が女性で、閉経後1件[30)]、閉経前閉経後混合3件[23,27,33)]であった。4週後に有意差のみられなかった2件[25,32)]は対象が男女であった。

4週目に採血せずに8週目に採血した8件[24,26,28,29,31,34-36)]のうち8週後にHtが低下したのは1件（対象は女性）[31)]で、他の7件[24,26,28,29,34-36)]で有意差はなかった。この7件の性別は、対象は男女であったのが6件[24,26,28,29,34,35)]、対象は女性（閉経前閉経後混在）が1件[36)]であった。

採血量が10～20 mLによるわずかな変動であっても、同じ方向に変化すれば、paired t testでは有意差として現れる場合がある。このような現象は対象が女性の場合に多く、おそらく年齢、生理の有無と量、潜在的鉄欠乏といった因子が関連すると思われる。今回の試験では4週後のみでHtの軽微な低下を認めたが、8、12週では有意差がなかった理由は明らかにしえなかった。

生化学検査ではLDHの増加（12週後＋6.2%）を認めた。これについては、生理的な変動の範囲であるが、その原因は特定できなかった。TP、γ-GTP（女性）の増加は摂取終了後のみに認めたものであり、試験食品との関連はないと判断した。

電解質はKの一過性増加（8週後＋4.1%）がみられた。Kの増加については一過性で軽微かつ生理的変動範囲内であり、特に問題なしと判断した。試験食品におけるK供給源は玉ねぎ（可食部100 g当たりK 150 mg含有）で、1食につきKが約30 mg含まれている。一方、試験食品のNa含有量は約940 mgと日本食メニューの中では比較的Na/K比が少ない部類に属する。一般的日本人はNa摂取過剰傾向にあり、平均塩分摂取量は約10.0 g/日と（厚生労働省）[37)]、高血圧学会の推奨値（6 g/日未満）やWHOの推奨値（5 g/日未満）を大きく上回っている。このような状況下ではNa/K比の少ない食品はむしろ好ましいと考えられる。

栄養バランス指標として、食事の三大栄養素（蛋白質・脂質・炭水化物）の摂り方の目安にPFCバランスというものがある。前回の検討では牛丼のPFCバランスは、P=12.45%、F=31.74%、C=55.82%であった[3)]。PFCバランスは食事の摂取エネルギーの内、P（蛋白質）：20%、F（脂質）：25%未満、C（炭水化物）：50～60%が理想的と言われている[38-40)]。PFCバランスとは食事全体の評価尺度であり、料理単品のバランスについて述べるのは大きな意味がないかもしれない。栄養バランスは一つ一つの食材を総合して得られた結果としてとらえ、一つ一つの食材のPFCバランスが大きく外れていない方が全体のPFCバランスを整えやすい可能性がある。牛丼は、理想的なバランスに比較すると、Pがやや少なく、Fが多いが、主食の単独摂取に比べれば、大きくははずしていないと言えるだろう。

今回の試験における食生活の影響を強く受ける糖脂質指標は、TC の一過性増加（＋4.4％）、TG の一過性増加（8 週後＋30.3％）、FPG の一過性増加（4 週後＋3.5％）を認めた。牛丼の PFC バランスは F がやや多めであり、TC と TG の増加に寄与している可能性は否定できない。TC の変化は一過性で軽微かつ生理的な範囲内の変動であること、LDL-C には有意な変化がなかったことを考慮すれば、一般的な牛丼の摂取頻度が月に 2～8 回程度と予想され、本試験の条件に比べ低頻度であり、特に大きな問題にならないと考えられる。

TG の変化はやや大きく見えるが、一過性のもので、生理的な変動の範囲内であると考えられる。標準偏差が大きいことから、一部の被験者における試験品以外の食品による影響である可能性が高い。しかし、通常の食生活においては色々な食物と一緒に牛丼の具を摂取する事もあるので、バランスの良い食事をすることが必要と考える。FPG の増加についても一過性で軽微かつ生理的な範囲における変動である。

これらの糖脂質代謝指標の成績は、試験品を 12 週間連続摂取しても糖化ストレスに影響する因子の増加がみられないことを示している。むしろ牛丼は、炭水化物が主体の白飯単独に比べて食後のピーク血糖が低く抑えられることで、白飯単独といった主食に偏った炭水化物主体のメニューに比べて糖化ストレスが少ないことが指摘されている [3]。

今後の課題：トランス脂肪酸

植物性脂肪（不飽和脂肪酸）中の二重結合を部分的に水素化したものをトランス脂肪酸という。天然の多価不飽和脂肪酸が概して液状を示すのに対し、この「人工合成の多価不飽和脂肪酸＝トランス脂肪酸」は半固形状を呈し、日持ちがよく、揚げ物などの風味や口当たりをよくする [41]。実際のトランス脂肪酸の多くは硬化油の製造工程で水素添加によって生成されるものであり、多量摂取により心臓病罹患の危険性が増加する。世界保健機構（World Health Organization: WHO）はトランス脂肪酸の摂取量をエネルギー比 1% 未満が望ましいとしている。

2015 年に、これまでの食品表示に関する 3 つの法律規定が一元化され、食品表示法が成立した。この新しい食品表示制度については、コレステロール、トランス脂肪酸、カリウムの位置付け、酒類の栄養表示の義務化の可否などいくつかの課題が残されている。日本ではトランス脂肪酸含有量の表示義務がないため、子供も成人もトランス脂肪酸を多数の人が無意識に摂取している可能性がある [42, 43]。工業製品由来のトランス脂肪酸の平均摂取量は 1 日あたり 0.82 g と推定されている。関東地区と沖縄の日本人大学生 118 名（男性 57 名、女性 61 名）の 6 日間連続の食事調査から再現されたトランス脂肪酸摂取量は、関東地区の男性 0.43 g/ 日、沖縄の男性 0.30 g/ 日、関東地区の女性 0.49 g/ 日、沖縄の女性 0.73 g/ 日であった [44]。

トランス脂肪酸摂取量はクッキー、ケーキおよびペストリーといった非必須食品摂取量と正の相関を認めている。大部分の日本食はトランス脂肪酸含有量が少なく、一日摂取量は米国で一食当たりの規制値として設定されている 500 mg を大幅に超過することはない [45]。しかしファストフードなど一部の食材は許容範囲を消える可能性があり注意を要する。若年者においても非アルコール性脂肪肝炎（non-alcoholic steatohepatitis: NASH）患者 [46] や冠動脈疾患患者 [47] では血清トランス脂肪酸濃度が高値を示したとの報告もある。

幼児から高校生 467 例を対象としたトランス脂肪酸摂取量の実態調査では、トランス脂肪酸摂取量は平均 0.63 ± 0.37 g/ 日（推定）であったが、幼児は、他の年齢の児童と比較し身体の大きさに対して、嗜好食品から多量のトランス脂肪酸を摂取していることが示されている [48]。トランス脂肪酸の摂取源としてファストフードが推測されており、その利用状況はモスバーガー、ロッテリア、ミスタードーナツ、ケンタッキーフライドチキンの 4 店はほぼ同様の利用頻度であったが、マクドナルドは他の 4 店と比べ利用頻度が高かった。

トランス脂肪酸含有量の多いファストフードとしてはドーナツ、から揚げ、フライドポテト、パイ、フライドチキン、ピザ、トンカツ、メンチカツ、エビカツ、天ぷら、揚げ物全般が挙げられる。これらに比べ牛丼は、もともとの牛肉由来の脂肪分のみしか含まれず、脂肪酸の約半分が飽和脂肪酸、残りがオレイン酸（オリーブオイルに多く含まれるオメガ 9 系脂肪酸）で、オメガ 6 系脂肪酸はほとんど含まれていない（社内データ（並盛：牛肉 65 g 含有）当たり約 240 mg）。有害な添加物由来のトランス脂肪酸は存在しない。牛丼はトランス脂肪酸含有量の少ないファストフードと言えるだろう。この点は今後さらに明確にしてゆく必要がある。

研究限界

今回の試験では糖脂質代謝関連の指標が HbA1c の測定もなく十分ではなかった。LDL についても酸化 LDL、糖化 LDL、さらには糖化ストレス指標として蛋白糖化最終生成物（advanced glycation end products: AGEs）についての解析も必要であろう。

また、介入期間中の食事摂取量および運動量の管理と評価が不十分であった。食事の内容については被験者が日記形式で記載したが、定量的解析は不可能であった。運動量の評価についても同様である。今後は食事摂取量および運動量について適正に評価できる計画が望まれる。

今回は、店舗と同等の条件の牛丼の具を試験食品として 1 日 1 回食べることを基本とし、試験食品率は 99％以上完食であり、摂取率の下限者でも 94％であった。しかし、脂質のやや多いメニューである牛丼を朝、昼、夕のうちいつ摂取するかについては条件を定めず、食事内容調査にも限界があったため、時間栄養学的解析までには至らなかった。

結論

今回の試験食品（牛丼の具）の 12 週間連続摂取試験によっても、メタボリックシンドロームなどの生活習慣病の原因となる体重、体脂肪率、血圧、TG、LDL-C、FPG の有意な変動や有害事象は認められなかった。今回の検証は食品の安全性を追求する取り組みとして意義があると思われるが、牛丼の安全性の確認のためにはさらなる検証が必要である。

利益相反申告

本研究を遂行するにあたり主に吉野家ホールディングスにより支援を受けた。

References

1) Matsushima M, Yagi M, Hamada U, et al. Effects of choice of staple food and the addition of dietary fiber on changes in postprandial blood glucose level. Glycative Stress Research. 2014; 1: 46-52.
2) Matsushima M, Yagi M, Hamada U, et al. Prevention of postprandial hyperglycemia by the combination of a staple food and a side dish. Glycative Stress Research. 2014; 1: 53-59.
3) Kawabata A, Yagi M, Ogura M, et al. Postprandial blood glucose level after intake of a bowl of rice topped with beef. Glycative Stress Research. 2015; 2: 67-71.
4) Nishi K. Clinical nutritional pathology and management of dyslipidemia. Adult Diseases and Lifestyle-related Diseases (Seijinbyo To Seikatsu Shukanbyo). 2012; 42: 172-175. (in Japanese)
5) Ishikawa M, Yokoyama T, Murayama N. Relationship between geographical factor-induced food availability and food intake status: A systematic review. Jpn J Nutr Diet. 2013; 71: 290-297. (in Japanese)
6) Dokai K, Miyatake N, Katayama A, et al. A study of low level of vegetable intake in Kagawa Prefecture, Japan. Journal of Preventive Medicine. 2013; 8: 129-132. (in Japanese)
7) Hidaka H, Hirota N, Hongo M. Obesity in children: High calorie fast food and snacks. Adult Diseases and Lifestyle-related Diseases (Seijinbyo To Seikatsu Shukanbyo). 2014; 44: 101-105. (in Japanese)
8) Niinuma M, Hayashi M. Physical and mental effects of eating habits among junior high school students: Correlation between convenience food consumption, dietary restrictions and constipations. Bulletin of International Pacific University Published by International Pacific University. 2015; 9: 35-44. (in Japanese)
9) Shutto Y, Yamabe H, Shimada M, et al. Lack of awareness of phosphate in processed food and drinks among patients with chronic kidney disease. Progress in Medicine. 2013; 33: 2255-2259.
10) Hiraga H, Yasuda K, Sano T, et al. Relationship between hypertension and men living separated from their family. Heart's Original. 2006; 38: 437-442. (in Japanese)
11) Yagyu T, Tanabe K. Relationship between the preference to and frequency to eat fast food in mothers, weight gain during pregnancy, and birthweight. Aichi Journal of Maternal Health. 2011; 29: 15-21. (in Japanese)
12) Onishi S, Okawa N, Utsumi M, et al. Social development conditions and related factors for children in Japanese kindergarten in Shanghai, China. Environ Health Prev Med. 2013; 18: 40-48.
13) Okazaki K, Asakawa F. Body slimming intention in the junior high school female students and its related factors. Education Health and Research (Kyoiku Hoken Kenkyu). 2012; 17: 85-91. (in Japanese)
14) Kanehira T, Takehara J, Nakamura K, et al. Common factors associated with subjective symptoms of oral dryness and thirst in junior and senior high school girls. Journal of Oral Health. 2010; 60: 233-238. (in Japanese)
15) Sakuta E, Ito T. Depression and intestinal microflora: A good meal for mental health. National Defense Medical Journal. 2015; 62: 61-70. (in Japanese)
16) Kurotani M, Nakade M. The relationship between eating habits and stress response in young students. The Journal of Child Health. 2014; 73: 728-736. (in Japanese)
17) Ohmori Y, Sato I, Mori C. Relationship between frequency of fast food and mental and physical health. Transactions of Japanese Nursing Association: Mental Nursing. 2011; 41: 30-32. (in Japanese)
18) Kawamoto T, Hayashi N, Okaze J. Dietary patterns associated with depressive symptoms of nurses working in a Japanese psychiatric hospital. Psychiatry (Seishinka). 2014; 25: 666-672. (in Japanese)
19) Kumasaka F, Kase Y, Yamanaka H, et al. Food survey in 51,077 prostate cancer examinees at Kurosawa Hospital Ningen Dock: Relationship between obesity, serum lipid profiles and food intake. Gunma Igaku. 2013; 98: 5-8. (in Japanese)
20) Kumasaka F, Kase Y, Yamanaka H, et al. Relationship between PSA standard value exceeding rate and food intake in mid forrties. Gunma Igaku. 2014; 100: 155-157. (in Japanese)

21) Usami T, Inaba A, Yoshida H, et al. A survey examining the countermeasures taken by restaurants to prevent passive smoking and an analysis of the economic impact of smoking prohibition in restaurants. Nihon Koshu Eisei Zasshi. 2012; 59: 440-446.
22) Kobayashi S. Skillful way to eat fast food and prepared food. Pediatrics (Shonika). 2000; 41: 1887-1891. (in Japanese)
23) Yonei Y, Mizuno Y, Katagiri E. Effects of cosmetics therapy using isoflavone and pine bark extract on the skin and QOL:A double-blind placebo-controlled trial. Anti-Aging Medical Research. 2004; 1: 48-58.
24) Yonei Y, Takahashi Y, Matsushita K, et al. Double blind study of health claims for food containing extract of kabanoanatake (Charga: Fuscoporia obliqua) (RCT: randomized controlled trial). Anti-Aging Medicine. 2007; 4: 1-10.
25) Yonei Y, Takahashi Y, Shionoiri Y, et al. Evaluation of the effect of αgel embedded mattresses as bedding on the mind and body. Anti-Aging Medicine. 2007; 4: 11-18.
26) 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.
27) Yonei Y, Takahashi Y, Takahashi H, et al. A double-blind clinical study of rokkaku reishi essence in women. Anti-Aging Medicine. 2007; 4: 28-37.
28) Yonei Y, Takahashi Y, Hibino S, et al. The effects of walking on quality of life and various symptoms and issues relating to aging. Anti-Aging Medicine. 2008; 5: 22-29.
29) Yonei Y, Takahashi Y, Hibino S, et al. Effects on the human body of a dietary supplement containing l-carnitine and Garcinia cambogia extract: A study using double-blind tests. J Clin Biochem Nutr. 2008; 42: 89-103.
30) Iwabayashi M, Fujioka N, Nomoto K, et al. Efficacy and safety of eight-week treatment with astaxanthin in individuals screened for increased oxidative stress burden. Anti-Aging Medicine. 2009; 6: 15-21.
31) Mochizuki T, Amenomori Y, Miyazaki R, et al. Evaluation of exercise programs at a fitness club in female exercise beginners using anti-aging medical indicators. Anti-Aging Medicine. 2009; 6: 66-78.
32) Yonei Y, Miyazaki R, Takahashi Y, et al. Anti-glycation effect of mixed herbal extract in individuals with pre-diabetes mellitus: A double-blind, placebo-controlled, parallel group study. Anti-Aging Medicine. 2010; 7: 26-35.
33) Hori M, Kishimoto S, Tezuka Y, et al. Double-blind study on effects of glucosyl ceramide in beet extract on skin elasticity and fibronectin production in human dermal fibroblasts. Anti-Aging Medicine. 2010; 7: 129-142.
34) Yonei Y, Kitano T, Ogura M, et al. Effects of health food containing Cistanche deserticola extract on QOL and safety in elderly: An open pilot study of 12-week oral treatment. Anti-Aging Medicine. 2011; 8: 7-14.
35) Yonei Y, Yagi M, Ogura M, et al. Anti-glycation activity and safety of foods containing lingonberry extract and cherry blossom extract and chewable tablets containing citric acid and calcium: A placebo-controlled randomized single-blind parallel group comparative study. Anti-Aging Medicine. 2013; 10: 21-35.
36) Yonei Y, Takabe W, Yagi M, et al. An open-label clinical trial of Geranium dielsianum extract administered for 12 weeks: Anti-glycative actions, skin quality, and intestinal environment. Glycative Stress Research. 2016; 3: 44-55.
37) Ministry of Health, Labour and Welfare. Summary of National Health and Nutrition Examination Survey in 2014. http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/0000106547.pdf (in Japanese)
38) Ministry of Health, Labour and Welfare. Results of National Health and Nutrition Examination Survey in 2012. http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000032074.html (in Japanese)
39) Ministry of Health, Labour and Welfare (Ed). Dietary Reference Intakes for Japanese 2010. Daiichi Shuppan, Osaka, 2009. (in Japanese)
40) Kadowaki T. Proporsal of the diet therapy for diabetes in Japanese from the Japan Diabetes Society. March 18, 2013. http://www.jds.or.jp/modules/important/?page=article&storyid=40 (in Japanese)
41) Sakuta E. Hazardous property of trans fatty acids. National Defense Medical Journal. 2008; 55: 125-133. (in Japanese)
42) Fujisawa A, Muramatsu T. Survey and experimental studies on trans fatty acids. Japanese Journal of Psychosomatic Medicine. 2013; 5: 23-35. (in Japanese)
43) Yoshiike N. Problems in food safety surrounding children. Japanese Journal of Pediatric Medicine. 2014; 46: 1009-1013. (in Japanese)
44) Kawabata T, Shigemitsu S, Adachi N, et al. Intake of trans fatty acid in Japanese university students. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2010; 56: 164-170.
45) Watanabe T, Maitani T, Matsuda R. Analysis of trans-fat levels in total diet and one-serving samples using the verified GC-method and estimation of the intake in Japan. Shokuhin Eiseigaku Zasshi 2011; 52: 167-177.
46) Tabuchi M, Tomioka K, Hiramatsu M. Increase of the plasma trans-fatty acid level in middle-aged Japanese men with non-alcoholic fatty liver disease. Eiyo To Shokuryo. 2014; 67: 137-143. (in Japanese)
47) Mori K, Ishida T, Yasuda T, et al. Serum trans-fatty acid concentration is elevated in young patients with coronary artery disease in Japan. Circ J. 2015; 79: 2017-2025.
48) Matsuoka H, Ohno M. Trans fatty acid intake during childhood in Japan: 1. Presumed estimation from inventory survey. Kyoto Women's University Academic Information Repository Bulletin Paper. 2009; 5: 41-50. (in Japanese)