

Original paper

Effect of supplement containing *Silybum marianum* extract, soy extract, collagen peptide, bifidobacteria and apple extract on skin: A randomized placebo-controlled, double-blind, parallel group comparative clinical study.

Yuri Ishii¹⁾, Yumika Okada¹⁾, Sayuri Matsuoka¹⁾, Manzheng Shen¹⁾, Kei Yui¹⁾,
Masayuki Yagi²⁾, Yoshikazu Yonei²⁾

1) FANCL Research Institute, FANCL Corporation, Yokohama, Kanagawa

2) Anti-Aging Medical Research Center/Glycative Stress Research Center, Graduate School of Life and Medical Sciences,
Doshisha University, Kyotanabe, Kyoto

Glycative Stress Research 2016; 3 (3): 156-171

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文)

**マリアアザミ抽出物、大豆抽出物、コラーゲンペプチド、ビフィズス菌および
リンゴ抽出物含有サプリメントの皮膚に及ぼす影響
— 無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験 —**

石井有理¹⁾、岡田裕実春¹⁾、松岡小百合¹⁾、申曼珍¹⁾、由井慶¹⁾、八木雅之²⁾、米井嘉一²⁾

1) 株式会社ファンケル総合研究所、神奈川

2) 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、京都

抄録

【目的・方法】 皮膚のたるみ、シワに悩む41歳から69歳の健常な日本人女性を対象に、被験食品を12週間連続摂取した後の皮膚状態の改善について、無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を実施した。被験食品は1日摂取量6粒中にマリアアザミ抽出物462mg(シリピン138mg)、大豆抽出物70mg(サポニンB10mg、イソフラボン25mg)、コラーゲンペプチド900mg、ビフィズス菌32mg(ビフィズス菌BB536を20億個以上)およびリンゴ抽出物83mg(リンゴポリフェノール65mg)を含有する製剤とし、対照食品はプラセボ製剤とした。被験者56名(51.5±8.0歳)を無作為に被験食品群(n=28)、プラセボ食品群(n=28)に分け、試験食品摂取前後において皮膚測定(皮膚粘弾性、シワレプリカ解析、色差、角層水分量、経表皮水分蒸散量)、酸化ストレスマーカー(血液、角層タンパク質)、糖化ストレスマーカー(皮膚、血液)、炎症マーカー(血液)および自覚症状として抗加齢QOL問診票と使用実感アンケート(摂取後のみ)を実施した。

【結果】被験食品群でシワの改善と皮膚粘弾性の低下抑制作用が確認された。酸化ストレスマーカーについては角層のDJ-1 タンパク質の低下抑制が見られたが、糖化ストレスマーカー、炎症マーカーについては被験食品群に優位な結果は得られなかった。試験期間中、重篤な有害事象は認められなかった。

【結語】被験食品は中高年女性の皮膚の弾力性維持およびシワの改善に役立つ食品として期待される事が示された。

KEY WORDS: サプリメント、シワ、弾力性、シリピン、リンゴポリフェノール

はじめに

加齢による身体の変化は、生理的な変化として誰にでも訪れるものである。皮膚は他の内部臓器と異なり、その老化には加齢による生理的老化以外に、紫外線による光老化が大きく影響を及ぼしている事が知られている^{1,2)}。日光や紫外線に慢性的に曝されると、皮膚内部で活性酸素が発生しDNA損傷を与えると共に、チロシンフォスファターゼの酸化阻害により³⁾、最終的に転写因子AP-1の誘導とMMP (matrix metalloproteinase) の転写が亢進され⁴⁾、繊維芽細胞ではコラーゲン産生が減少し、真皮の構成成分であるコラーゲンやエラスチンは分解される^{5,6)}。その結果、コラーゲンは架橋結合により弾力性を失った変性コラーゲンとなり、エラスチンは規則性のないエラスチン繊維ネットワークを形成する為、慢性的な紫外線照射による真皮の機能、構造が次第に失われシワが形成される。また、紫外線による障害から生体を保護する為、紫外線に曝露された皮膚では、表皮角化細胞から分泌される α -MSH (Melanocyte stimulating hormone) を介し色素細胞におけるメラニン生成が促進され⁷⁾、ターンオーバーで代謝しきれないメラニンはシミとして残存する。また、近年では、角層マーカーの研究によって、紫外線刺激からの抗酸化防御力の指標として角層DJ-1タンパク質の有用性が報告されるなど、様々な領域で光老化の研究が進められている⁸⁾。その中で、グルコースなどの糖や蛋白質を修飾する作用を有するカルボニル化合物と蛋白質との酸化触媒反応（非酵素的反応）によって生じる蛋白糖化最終生成物（AGEs: Advanced glycation end products）の1種であるN^ε-carboxymethyl-lysine (CML) が日光性弾力繊維変性部の弾力繊維に存在する事が示され、糖化ストレスも皮膚老化に関与する因子として注目されるようになった⁹⁾。これらの事から、皮膚の老化は酸化と糖化の両方が影響を与えた結果生じる物といえる¹⁰⁻¹²⁾。

女性にとって皮膚の老化は外観上の変化だけではなく、精神にも影響を与えQOLを低下させる要因となる。このような観点から、皮膚のアンチエイジング技術の開発は医療上、美容上重要な課題とされてきた。現在、医療として提供される方法は皮膚科的治療（外用剤、ピーリング、レーザー、ヒアルロン酸注射など）、美容外科的治療（手術療法）、内科的治療（ホルモン療法）、再生医療（自家培養線

維芽細胞の注入剤 isolagen など）が開発、実用化されている。一方、より身近な対処方法としてはサンスクリーン剤の使用や化粧品による予防・改善に加え、抗酸化作用、抗糖化作用および皮膚状態の改善作用を有する食品を利用する方法がある。これらの作用が期待される多種多様の食品素材の中から、我々はマリアアザミ抽出物、大豆抽出物、コラーゲンペプチド、ビフィズス菌およびリンゴ抽出物の5つの食品素材に注目した。マリアアザミは南ヨーロッパ、北アフリカ、アジアに広く生息する植物で、種子にはシリピンなどのフラボノリグナンを含み、抗酸化作用¹³⁾、抗糖化作用¹⁴⁾、真皮のコラーゲン産生促進作用¹⁵⁾、レチノイン酸様活性^{16,17)}が示され、さらに16週間のプラセボ対照二重盲検比較試験においてマリアアザミ抽出物462mg（シリピンとして138mg）の摂取によるシワ改善作用が示唆されている¹⁵⁾。大豆抽出物にはサポニンやイソフラボンなどの成分が含まれている。大豆サポニンは、抗酸化作用¹⁸⁾、血糖上昇抑制作用¹⁹⁾、プロテオソーム活性化によるカルボニル化タンパク低下作用およびサポニンBの55mg、10週間摂取による中高年女性におけるシワ改善作用が報告されている²⁰⁻²²⁾。大豆イソフラボンは抗糖化作用²³⁾、抗酸化作用^{24,25)}を有するほか、閉経前後の女性30名を対象にした試験（イソフラボン100mg、6か月間摂取）で真皮のコラーゲン量、エラスチン量の増加²⁶⁾、30代後半から40代前半の女性を対象にした試験（イソフラボン40mg、12週間摂取）でシワの改善と皮膚弾力性の改善が報告されている²⁷⁾。コラーゲンペプチドはゼラチンをコラーゲナーゼ処理したペプチドを指し、分子量約300のトリペプチドを多く含むコラーゲンペプチドは、非分解コラーゲンと比較してコラーゲン合成促進作用が高いことが報告されている²⁰⁾。ビフィズス菌は腸内に生息するBifidobacterium属の総称で、乳糖やオリゴ糖などを分解して乳酸や酢酸を産生して腸内のpHを顕著に低下させ腸内の環境を整えるほか²⁸⁾、便秘改善²⁹⁾や花粉症などアレルギー症状の緩和³⁰⁾にも貢献していると報告されている。皮膚に対しては、ビフィズス菌（BB536）を20億個含有する飲料の摂取による、はり、毛穴に対する自覚症状の改善が報告されている³¹⁾。リンゴ抽出物にはプロシアニジン、クロロゲン酸、フロリジンなどのポリフェノールが多く含まれており、抗酸化作用^{32,33)}、抗糖化作用³⁴⁻³⁶⁾、メラニン生成抑制作用³⁷⁾が報

告されている。また、ヘアレスマウスを用いた実験で紫外線照射によるシワの生成抑制および改善作用が報告されており、その機序として UV 照射による一重項酸素の作用の抑制と、その酸化ストレスで進行する一連の現象（酸化カルボニル形成、プロテアソーム低下、転写因子 AP-1 活性化、MMP-1 産生増加、TIMP-1 産生低下）の抑制が関与している事が示唆されている³⁸⁾。また、トリペプチドを多く含むコラーゲンペプチド 2.6g とリンゴ抽出物 83mg との併用によるヒト試験で、弾力性の向上など、皮膚状態の改善作用が期待されている³⁸⁾。これまでに述べたように、これらの食品原料は皮膚状態の改善、抗酸化作用、抗糖化作用について in vitro、動物実験もしくは臨床研究において有用な結果が報告されているが、複合摂取した場合の有用性については報告されていない。そこで我々は、これらの原料を複合的に配合したサプリメントを開発し、中高年女性を対象に皮膚状態の変化および酸化ストレスマーカー、糖化ストレスマーカーの変化について評価し、本食品の有用性について無作為化プラセボ対照二重盲検比較試験にて検討した。

方法

1. 対象

被験者は皮膚のたるみやシワが気になる、年齢 41 歳以上 69 歳以下の健康な日本人女性とした。ただし、次の除外基準にあてはまる者は除外した。1) 大豆、コラーゲン、乳製品、リンゴにアレルギーのある者、2) マリアアザミ、大豆サポニン、大豆イソフラボン、コラーゲン、乳酸菌およびリンゴ抽出物を含むサプリメントを摂取している者、3) 肝疾患、腎疾患について、治療および医師による指導をうけている者、4) 2 型糖尿病について、治療および医師による指導をうけている者、5) アトピー性皮膚炎の者、6) その他、重篤な疾患既往歴のある者、7) 治療および医師による指導を受けている疾患がある者、8) 本試験開始時に他の臨床試験に参加中の者、9) 生活習慣（食事・運動・睡眠・スキンケアなど）の維持が困難な者、10) 被験者日誌、食事調査票の記入が困難な者、11) 本人または家族が健康食品を開発・製造もしくは販売する企業に勤めている者、12) その他試験責任医師が被験者として不適当と判断した者。

なお、試験期間中（スクリーニング検査から最終検査終了まで）は以下の事項を注意事項として被験者に遵守させた。①暴食や過激な運動、睡眠不足を避ける、②検査を受診する前日の夜 10 時以降から検査終了まで絶食とする（飲水は可）、③検査前日から、検査終了まで禁酒とする、④検査前日の睡眠時間は、6 時間以上とする、⑤検査当日は、起床後から検査終了まで禁煙とする、⑥生活習慣を変えない（今までしていた運動をやめる、運動を始める、飲酒、

禁酒など）、⑦試験期間中は過度の日焼け、紫外線の強い地域への旅行などは避ける、⑧新たな健康食品（ビタミン剤、栄養ドリンクも含む）の摂取を開始しない。⑨スキンケア用品、方法などを変えない、⑩新たな入浴剤、ボディケア用品の使用を避ける、⑪極度の手足の乾燥のため、保湿クリーム等を新たに使用したい場合は、測定部位（顔、腕）を除き使用することを可能とする。ただし、その場合は日誌に記入を行う、⑫試験期間中は、ピーリングやエステ、垢すりなど皮膚質に影響を及ぼす行為は禁止とする、⑬検査前々日から、顔そりやムダ毛処理は行わない。

2. 試験食品

被験食品は 1 日摂取量中に有効成分として、マリアアザミ抽出物 462mg（シリピン 138mg）、大豆抽出物 70mg（サポニン B10mg、イソフラボン 25mg）、コラーゲンペプチド 900mg、ビフィズス菌 32mg（*Bifidobacterium* BB536 を 20 億個以上）およびリンゴ抽出物 83mg（ポリフェノール 65mg）を含有する錠剤（㈱ファンケル製）とした。対照食品は、それと外観上区別が困難で有効成分を含まない錠剤（以下、プラセボ食品）とした。各々、1 回の摂取量は 6 粒とし、1 日 1 回、夕食後に水と共に摂取させた。試験食品の処方 Table1 に示した。

3. 試験方法

3.1 スクリーニング

被同意が得られた者を対象に、スクリーニング検査として背景調査（年齢、喫煙、飲酒、運動、食生活、健康食品の使用状況、便秘、睡眠、服薬状況、アレルギー、花粉症、月経、夜間勤務、既往症、皮膚悩み、紫外線暴露状況）と皮膚 AGEs 沈着量（以下、AF 値）の測定を実施した。背景調査の内容を責任医師が確認し、選択基準に適合しかつ除外基準に抵触しない者を選定後、選定された集団において AF 値が高い順に上位 56 名を本試験の被験者とした。

3.2 本試験

試験デザイン

試験はプラセボを対照とした無作為化二重盲検並行群間比較試験とした。割付責任者はスクリーニングで選別された 56 名を無作為に 2 群に分け、一方を被験食品摂取群（以下、被験食品群）、もう一方をプラセボ食品摂取群（以下、プラセボ群）とした。割付表はキーオープンまで封緘保管した。試験食品の摂取期間は 12 週間とし、摂取前（0 週）と摂取終了時（12 週）に皮膚測定、酸化ストレスマーカー、糖化ストレスマーカー、炎症マーカー、血液検査（安全性）、基本測定（体組成測定、血圧測定）および医師問診、抗加齢 QOL 問診票による調査を実施した。また、摂取期間中は毎日、日誌を記録させ、摂取終了時には皮膚と体調に関する使用実感アンケートを実施した。

Table 1. Composition of test food

content (active ingredient)	quantity (mg/day)	
	Active	Placebo
<i>Silybum marianum</i> extract (silibin)	462 (138)	0
Soy extract (sapiin B, isoflavon)	70 (10, 25)	0
Collagen peptide	900	0
Bifidobacteria (<i>Bifidobacterium longum</i> BB536)	32 (> 2 billion cell)	0
Apple extract (apple polyphenol)	83 (65)	0
excipient (cellulose, trehalose, erythritol, scallop shell powder, calcium stearate)	853	2,400
total	2,400	2,400

測定項目

(1) 皮膚測定

皮膚測定は、皮膚粘弾性、シワレプリカ解析、角層水分量、経表皮水分蒸散量および色差とした。顔面の測定は洗浄後、恒温恒湿室 ($21 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $50 \pm 5\%$) にて 20 分の馴化後に実施した。皮膚粘弾性、角層水分量、経表皮水分蒸散量および色差は仰臥位にて右頬骨を中心に 5 回測定し、最上値、最下値のデータを削除した 3 回の平均値を採用値とした。皮膚粘弾性はキュートメーター (Courage+khazaka 製 CT580) を用い、単回吸引法により測定し、評価パラメータは R2、R7 とした。R2 は伸展・退縮後の皮膚高さ復元率 ($Ua1/Uf1$) を、R7 は退縮時の弾性部の割合 ($Ur1/Uf1$) を示す。R2、R7 とともに 1.00 に近いほど弾性が高い事を示す。角層水分量はコルネオメーター (Courage+khazaka 製 CM825) を用い、経表皮水分蒸散量はテヴァメーター (Courage+khazaka 製 TM300) を用いた。色差は分光測色計 (コニカミノルタ製 CM-600d) を用い、評価パラメータは Melanin Index、Hb Index、HbSO2 Index、 L^* 、 a^* 、 b^* 値とした。シワレプリカ解析は、仰臥位にて軽く目を閉じた状態で反射用レプリカシリコン液とシリコン凝固液を用い右目尻の目の際から約 5mm 離れた部位から 10mm × 10mm 以上の範囲のレプリカを作成し、3 次元画像解析 (GF Messtechnik GmbH 製 PRIMOS lite 18 × 13mm) を用いシワ面積率、総シワ平均深さ、最大シワ平均深さ、最大シワ最大深さ、シワ総体積を算出した。

(2) 酸化ストレスマーカー、糖化ストレスマーカー、炎症マーカー

酸化ストレスマーカーとして、血中の過酸化脂質濃度 (lipid peroxide: LPO) および角層蛋白質中の DJ-1 濃度を測定した。角層は、右頬の頬骨部位からテープストリッピング法により採取し、DJ-1 濃度は既報に従って ELISA 法により測定した⁸⁾。糖化ストレスマーカーは AF 値および血中の 3-デオキシグルコソン (3-deoxyglucosone: 3-DG)、カルボキシメチルリジン (carboxymethyllysine: CML)、グリセルアルデヒド由来 AGEs (Toxic AGEs: TAGE) の 3 項目を測定した。AF 値は AGE Reader (DiagnOptics B.V. 製 AGE Reader SU) を用い、右上腕内側 (座位、肘頭から肩側へ 10cm) を 3 回測定し、その平均値を採用値とした。評価パラメータは AF 値とした。また、炎症マーカーは腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor α : TNF- α) を測定した。採血は標準採血法ガイドラインに基づき有資格者が実施し、1 回あたり全血として 24ml を採取した。3-DG、CML および TNF- α は LSI メディエンス株式会社、TAGE は株式会社トランスジェニック、LPO は日研ザイル株式会社 日本老化制御研究所、DJ-1 の測定は株式会社ファンケルで実施した。

(3) 抗加齢 QOL 問診票 (自覚症状)

自覚症状の調査は抗加齢 QOL 問診票 (Ant-Aging QOL Common: AAQol) を用いて、身体 (30 項目)、心の症状 (21 項目) を 5 段階 (スコア 1: 全くなし、2: ほとん

どなし、3: 少しあり、4: 中等度あり、5: 高度にあり) で評価させ、睡眠習慣、食習慣、運動習慣および VDT 作業時間について記載させた。

(4) 使用実感アンケート

摂取前と比較した皮膚および身体の状態の変化を 4 段階 (2 点: 改善、1 点: やや改善、0 点: 変化なし、-1 点: 悪化) で自己評価させた。評価項目は皮膚の乾燥 (うるおい)、口元のたるみ (ほうれい線)、目の下のたるみ、きめ、毛穴の開き、シワ・小じわ、くすみ (皮膚の明るさ)、しみ、化粧のり、髪の毛のツヤ・強さ、爪のツヤ・強さ、疲れやすさ (疲労を感じる頻度)、頭が重い感じ、疲労感 (疲労の強さ)、目覚め (起床時のすっきり感)、睡眠の質、排便 (便秘や軟便の解消) とした。

(5) 血液検査 (安全性)

安全性の評価項目としてグルコース、HbA1c、グリコアルブミン、トリグリセリド、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、 γ -GTP、AST、ALT、総ビリルビン、総タンパク、アルブミン、A/G 比、アルカリフォスファターゼ、LDH、CPK、クレアチニン、尿酸および尿素窒素を測定した。測定は LSI メディエンス株式会社に委託した。

(6) 体組成および血圧

体組成は身長、体重、BMI、体脂肪率および基礎代謝量を測定し、身長以外の項目は体成分分析器 (キャノンライフケアソリューションズ製 WELL-SCAN500) を用いて測定した。血圧は安静にした状態 (座位 3 分以上、深呼吸 3 回実施) で自動血圧計 (キャノンシステムアンドサポート製 UDEX-i) を使用して右上腕部を 2 回測定し、その平均値を採用値とした。

(7) 日誌

摂取期間中は「試験食品摂取の有無、1 日の活動量、睡眠時間、ストレス状況、便通、薬または試験食品以外のサプリメント類の摂取とその理由」と食事調査として「3 食の食事時間と食事量を 4 段階 (多い、いつも通り、少ない、食わず) で、主食・副菜の内容、飲酒の有無」について毎日記録させ、その内容を 4 週ごとに確認し、被験者の生活習慣に著しい変動が無い事を確認した。

4. 評価

皮膚粘弾性およびシワのレプリカ解析の結果を主評価項目とし、その他の皮膚評価項目 (AF 値、角層水分量、経表皮水分蒸散量、色差)、酸化ストレスマーカー、糖化ストレスマーカー、炎症マーカーおよび抗加齢 QOL 共通問診票、使用実感アンケートの結果を副次評価項目とした。安全性の評価は一般生化学検査値、体組成、血圧の変動お

よび有害事象について責任医師が問題の有無を判定した。

5. 統計解析

被験者背景は平均値 $\pm$ 標準偏差、評価項目は平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。「試験に組み入れられ、試験食品の使用が開始された被験者」を最大の解析対象集団 (Full Analysis Set) (以下、FAS) とし、「最大の解析対象集団から重大なプロトコル逸脱例を除いた被験者」を試験実施計画書に適合した集団 (Per-Protocol Set) (以下、PPS) とした。被験者の背景および安全性については FAS 解析とし、有効性に関する解析は PPS 解析とした。検定方法は、摂取前後比較は paired-t 検定 (AF 値、色差、皮膚粘弾性、体組成、血圧) あるいはウィルコクソンの符号順位検定 (上記以外の項目) を用い、群間比較は student-t 検定 (AF 値、色差、皮膚粘弾性、体組成、血圧) あるいは Mann-Whitney U- 検定 (上記以外の項目) を用いて実施した。統計解析は、JMP11.1.1 (SAS) を用いて実施し、有意水準は両側検定で 5% 未満とした。

6. 倫理

本試験は、倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から、「東京シナジークリニック倫理委員会」において審査され、承認 (2014 年 10 月 28 日) を得た試験計画書に従って実施した。本試験は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則、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) を尊重して実施した。試験責任医師は CRC の協力を得て、対象者に対して試験実施前に同意説明文書を用いて十分に説明を行い、対象者本人が説明内容を十分に理解した上で、本試験の参加について対象者本人の自由意思に基づいた同意を文書により得た後、被験者として試験に組み込んだ。本試験はエイキッド株式会社スキラボにて 2014 年 11 月から 2015 年 4 月の期間に実施した。

結果

自発的に参加を表明し、文書により同意が得られた 131 名のうち、背景調査の結果より 12 名を除外し、残り 119 名の内、AF 値が外れ値を示した 1 名を除外し 118 名を対象に AF 値の高い順に 56 名を本試験に登録した。選定した被験者の背景因子を [Table 2](#) に示した。本試験の被験者 56 名全員が試験を完了したが、被験食品群の 2 名が試験の脱落基準 (試験食品の未摂取が、連続して 3 日以上あった場合) に該当した為、PPS 解析は被験食品群 26 名、プラセボ群 28 名の計 54 名とした。本試験のフローダイアグラムを [Fig. 1](#) に示した。

Table 2. Background

	Parameter	unit	mean $\pm$ SD	Median	Min	Max
base	n	–	56	–	–	–
	Age	year	51.5 $\pm$ 8.0	49.5	41	68
Skin function	Skin viscoelasticity	R2	0.59 $\pm$ 0.08	0.60	0.35	0.77
		R7	0.32 $\pm$ 0.06	0.32	0.19	0.48
	Wrinkle Replicas using 3D Image Analysis	Area rate	20.9 $\pm$ 4.9	21.4	8.2	31.5
		Average depth (total wrinkle)	43.1 $\pm$ 16.9	37.5	24	113
		Average depth (max wrinkle)	80.3 $\pm$ 57.5	59.0	26	368
		Max depth (max wrinkle)	487.3 $\pm$ 508.1	275.0	51	2199
		Volume (total wrinkle)	0.91 $\pm$ 0.40	0.85	0.21	2.16
	Color difference analysis	Melanin Index	1.19 $\pm$ 0.13	1.18	0.98	1.56
		Hb Index	1.69 $\pm$ 0.37	1.70	0.76	2.68
		Hb SO ₂ Index (%)	57.0 $\pm$ 5.3	56.7	44.2	76.0
		L*	62.1 $\pm$ 2.2	62.2	57.5	68.8
		a*	12.9 $\pm$ 2.1	12.9	7.4	17.7
		b*	16.7 $\pm$ 1.9	16.7	12.0	20.2
	Moisture content		46.6 $\pm$ 11.0	44.7	20.0	72.8
	Transepidermal water loss		19.5 $\pm$ 4.5	19.2	12.1	30.3
marker	Oxidative stress marker	LPO (serum)	3.1 $\pm$ 0.5	3.0	2.2	4.1
		DJ-1 (straum corneum)	4.3 $\pm$ 2.1	3.8	1.4	12.8
	Glycative stress marker	Skin AGE fluorescence	2.14 $\pm$ 0.24	2.12	1.72	2.72
		3-DG (serum)	15.1 $\pm$ 3.9	14.6	7.7	27.6
		CML (serum)	1.12 $\pm$ 1.39	0.91	0.70	11.3
		TAGE (serum)	10.8 $\pm$ 4.1	10.1	3.3	28.6
	Inflammatory marker	TNF- α (serum)	1.09 $\pm$ 0.56	0.99	0.55	3.04

SD, standard deviation; 3D, 3 dimension; Hb, hemoglobin; SO₂, oxygen saturation; LPO, lipid peroxide; AGE, advanced glycation endproduct; 3-DG, 3-deoxyglucosone; CML, carboxymethyl-lysine; TAGE, toxic AGE; TNF, tumor necrosis factor.

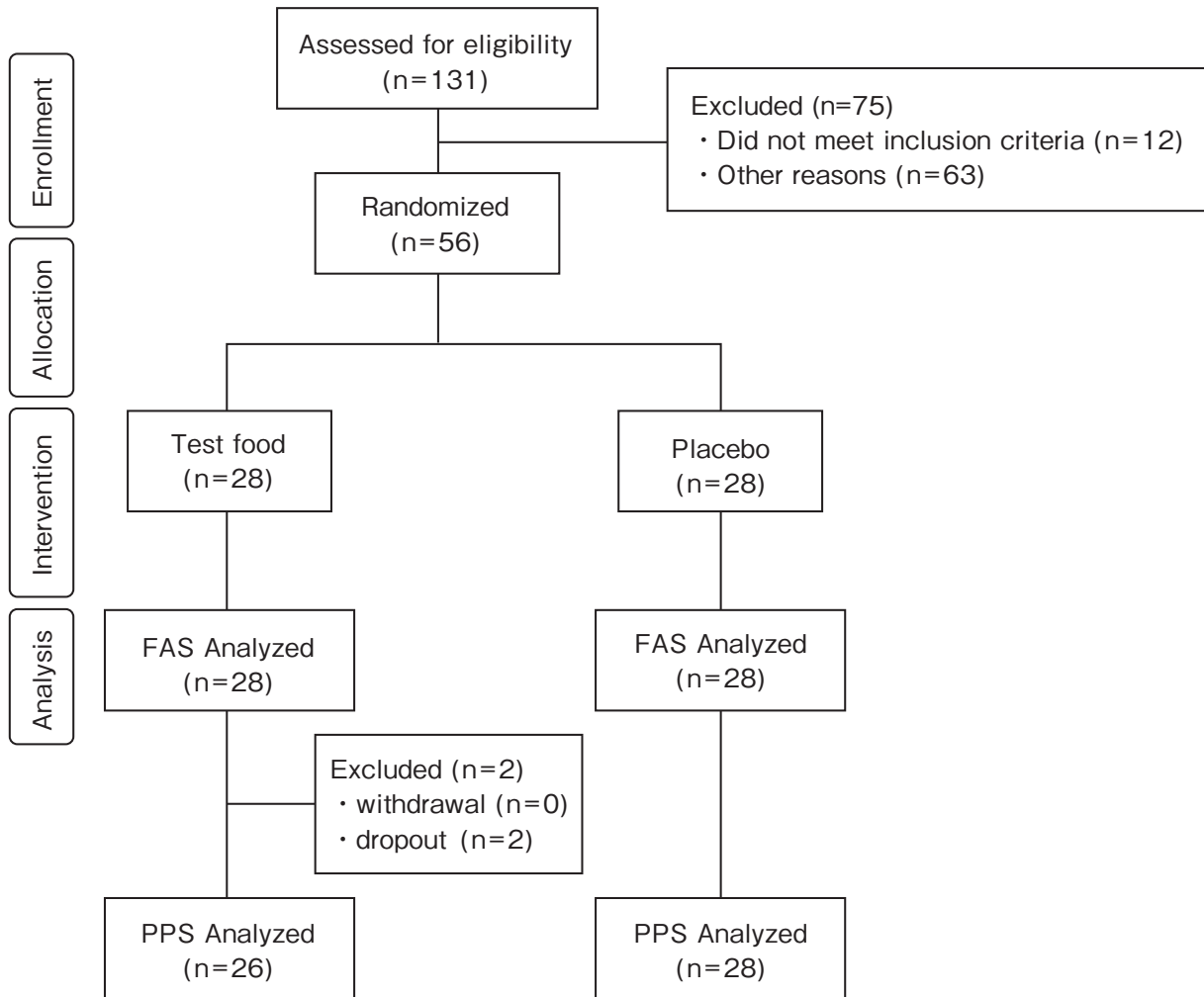


Fig. 1. Flow diagram.

FAS, full analysis set; PPS, per protocol set.

〔有効性評価〕

皮膚評価

皮膚測定とストレス指標の結果を [Table 3](#) に示した。R7 において、プラセボ群は数値が 0.32 ± 0.01 から 0.28 ± 0.01 へと有意に低下したのに対し、被験食品群では 0.31 ± 0.01 から 0.31 ± 0.01 と摂取前後での低下がなく、摂取 12 週でプラセボ群の方が有意に低い結果を示した。一方、R2 においては摂取前後で両群ともに有意に低下し、群間差は見られなかった。シワのレプリカ解析では、シワ面積率において摂取 12 週で被験食品群の方が有意に低値を示し、総シワ平均深さ、最大シワ平均深さおよびシワ総体積において被験食品群のみ摂取前後で有意な低下が確認された。色差についてはいずれのパラメータも群間差はなかったが、摂取前後の比較において、両群ともに Melanin index、Hb index、a* 値の有意な低下と L* 値の有意な上昇および b* 値のプラセボ群において有意な上昇が確認された。角層水

分量は群間差、群内差のいずれも無く、経表皮水分量はプラセボ群のみ有意な低下が見られた。

酸化ストレスマーカー、糖化ストレスマーカー、炎症マーカー

血中、角層および皮膚のマーカーの結果を [Table 4](#) に示した。酸化ストレスマーカーの内、血中 LPO は両群ともに摂取前後で有意に低下し、角層 DJ-1 はプラセボ群のみ摂取前後で有意に低下した。いずれも、摂取 12 週の群間差はなかった。糖化ストレスマーカーの内、AF 値、血中 CML は両群ともに摂取前後で有意に上昇し、血中 TAGE は両群ともに有意に低下した。一方、糖化反応中間体である 3-DG はプラセボ群のみ有意に低下したが、摂取 12 週における群間差はなかった。炎症マーカーである血中 TNF- α は両群ともに摂取前後で有意に低下したが、群間差はなかった。

Table 3. Skin function

	Parameter	Group	unit	mean ± SE				P-value	
						inter-group analysis		Intra-group analysis	
				0w	12w	0w	12w		
Skin viscoelasticity	R2	Active	—	0.59 ± 0.02	0.53 ± 0.02	0.770	0.052	0.002	
		Placebo	—	0.59 ± 0.02	0.50 ± 0.01			<0.001	
	R7	Active	—	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.751	0.030	0.519	
		Placebo	—	0.32 ± 0.01	0.28 ± 0.01			0.003	
Wrinkle Replicas using 3D Image Analysis	Area rate	Active	%	19.9 ± 1.0	19.7 ± 1.0	0.158	0.035	0.449	
		Placebo	%	21.6 ± 0.9	21.9 ± 0.8			0.726	
	Average depth (total wrinkle)	Active	μm	41.9 ± 3.2	38.8 ± 3.2	0.406	0.141	0.003	
		Placebo	μm	43.1 ± 3.1	41.8 ± 2.3			0.803	
	Average depth (max wrinkle)	Active	μm	75.3 ± 9.0	67.9 ± 9.0	0.585	0.275	0.025	
		Placebo	μm	82.8 ± 12.6	74.2 ± 8.2			0.371	
	Max depth (max wrinkle)	Active	μm	426.8 ± 81.9	362.7 ± 81.9	0.527	0.169	0.091	
		Placebo	μm	494.6 ± 94.1	465.3 ± 91.7			0.299	
Color difference analysis	Melanin Index	Active	—	1.18 ± 0.03	1.14 ± 0.02	0.841	0.940	0.012	
		Placebo	—	1.19 ± 0.02	1.14 ± 0.02			0.009	
	Hb Index	Active	—	1.72 ± 0.07	1.45 ± 0.06	0.612	0.296	<0.001	
		Placebo	—	1.67 ± 0.07	1.37 ± 0.05			<0.001	
	Hb SO ₂ Index	Active	%	58.1 ± 0.8	57.0 ± 1.2	0.110	0.427	0.199	
		Placebo	%	55.8 ± 1.1	55.8 ± 1.0			0.993	
	L*	Active	—	62.2 ± 0.4	64.0 ± 0.5	0.537	0.859	<0.001	
		Placebo	—	61.8 ± 0.5	64.1 ± 0.4			<0.001	
	a*	Active	—	13.2 ± 0.4	11.4 ± 0.3	0.300	0.224	<0.001	
		Placebo	—	12.6 ± 0.4	10.8 ± 0.4			<0.001	
	b*	Active	—	16.5 0.4	17.0 0.4	0.767	0.395	0.119	
		Placebo	—	16.7 0.3	17.4 0.2			0.005	
		Moisture content	Active	%	46.6 2.0	49.7 2.0	0.769	0.842	0.068
			Placebo	%	46.6 2.2	49.9 1.7			0.237
	Transepidermal water loss	Active	g/m ² • h	19.6 0.9	18.9 0.9	0.697	0.550	0.666	
		Placebo	g/m ² • h	19.4 0.9	17.9 0.9			0.001	

Bold font, $p < 0.05$; SE, standard error; 3D, 3 dimension; Hb, hemoglobin; SO₂, oxygen saturation.

Table 4.

Parameter	Group	unit	mean ± SE		P-value			
					inter-group analysis		Intra-group analysis	
			0w	12w	0w	12w		
Oxydative stress marker	LPO (serum)	Active	nmol/mL	3.2 ± 0.1	2.7 ± 0.1	0.443	0.715	0.001
		Placebo		3.0 ± 0.1	2.6 ± 0.1			<0.001
	DJ-1 (straum corneum)	Active	pg/ug protein	3.51 ± 0.25	3.54 ± 0.25	0.005	0.106	0.561
		Placebo		5.10 ± 0.47	4.32 ± 0.35			0.039
Glycative stress marker	Skin AGE fluorescence	Active	—	2.13 ± 0.05	2.26 ± 0.05	0.727	0.488	<0.001
		Placebo		2.15 ± 0.05	2.31 ± 0.04			<0.001
	3-DG (serum)	Active	ng/mL	14.9 ± 0.8	14.9 ± 0.8	0.622	0.091	0.796
		Placebo		15.2 ± 0.7	12.9 ± 0.6			0.002
	CML (serum)	Active	µg/mL	1.4 ± 0.4	1.5 ± 0.4	0.008	0.332	0.001
		Placebo		0.9 ± 0.0	1.1 ± 0.0			<0.001
	TAGE (serum)	Active	U/mL	11.0 ± 0.8	7.6 ± 0.8	0.431	0.243	<0.001
		Placebo		10.6 ± 0.8	6.9 ± 0.6			<0.001
Inflamm atory marker	TNF-α (serum)	Active	pg/mL	1.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.488	0.662	0.002
		Placebo		1.0 ± 0.1	0.9 ± 0.1			0.047

Bold font, $p < 0.05$; SE, standard error; LPO, lipid peroxide; AGE, advanced glycation endproduct; 3-DG, 3-deoxyglucosone; CML, carboxymethyl-lysine; TAGE, toxic AGE; TNF, tumor necrosis factor.

抗加齢 QOL 問診票（自覚症状）

抗加齢 QOL 共通問診票の結果を [Table 5](#) に示した。『寝つきが悪い』の項目において、両群ともに摂取前後で有意な変動ははかったが、摂取 12 週で被験食品群の方が有意に高かった。その他、両群で『汗をかきやすい』の有意な上昇、被験食品群のみ『口が渇く』と『むくみ』の有意な上昇、プラセボ群のみ『太りやすい』の有意な低下と『心配ごとでよく眠れない』の有意な上昇がそれぞれ確認されたが、いずれも群間差はなかった。

使用実感アンケート

使用実感アンケートの結果を [Fig. 2](#) に示した。いずれの項目においても群間差は見られなかったが、『くすみ（皮膚の明るさ）』の項目において被験食品群 0.58 ± 0.11 、プラセボ群 0.35 ± 0.09 と被験食品群で改善度が高い傾向（ $p < 0.1$ ）がみられた。

〔安全性評価〕

体組成、血圧測定、一般生化学

体組成、血圧測定および一般生化学検査の結果を [Table 6](#) に示した。いずれの項目も 0 週、12 週ともに群間差はなかった。摂取前後で有意な変動が見られた項目は、拡張期血圧（被験食品群）、HDL-コレステロール、ALB、ALP（プラセボ群）、総タンパク質（両群）の 5 項目であったが、いずれも基準値内の変動であった。また、被験者の個別変動についても、臨床上問題となる異常変動はない事を確認した。

有害事象ほか

試験期間中、両群ともに複数の有害事象が見られたが、全ての事象を確認し、いずれも想定内の症状・重症度であり、試験食品との因果関係はないと判定した。その他、全ての観察項目において安全性に問題はないと判断した。

Table 5-1. AAQoL.

Parameter	Group	mean $\pm$ SE		<i>P</i> -value			
				inter-group analysis		Intra-group analysis	
		0w	12w	0w	12w		
Physical symptoms	Tired eyes	Active	2.58 $\pm$ 0.20	2.65 $\pm$ 0.19	0.540	0.265	0.838
	Placebo	2.36 $\pm$ 0.18	2.39 $\pm$ 0.16	1.000			
	Blurry eyes	Active	2.15 $\pm$ 0.16	2.23 $\pm$ 0.18	0.373	0.541	0.800
	Placebo	1.96 $\pm$ 0.15	2.07 $\pm$ 0.16	0.613			
	Eye pain	Active	1.62 $\pm$ 0.16	1.85 $\pm$ 0.15	0.800	0.239	0.285
	Placebo	1.54 $\pm$ 0.13	1.61 $\pm$ 0.14	0.807			
	Stiff shoulders	Active	2.96 $\pm$ 0.23	3.15 $\pm$ 0.21	0.803	0.165	0.392
	Placebo	2.86 $\pm$ 0.24	2.71 $\pm$ 0.22	0.463			
	Muscular pains/stiffness	Active	2.35 $\pm$ 0.21	2.46 $\pm$ 0.19	0.878	0.302	0.510
	Placebo	2.39 $\pm$ 0.19	2.21 $\pm$ 0.19	0.283			
	Palpitations	Active	1.54 $\pm$ 0.14	1.65 $\pm$ 0.14	0.575	0.537	0.581
	Placebo	1.61 $\pm$ 0.12	1.54 $\pm$ 0.12	0.754			
	Shortness of breath	Active	1.58 $\pm$ 0.15	1.58 $\pm$ 0.15	0.446	0.232	1.000
	Placebo	1.75 $\pm$ 0.16	1.79 $\pm$ 0.14	1.000			
	Tendency to gain weight	Active	2.62 $\pm$ 0.24	2.65 $\pm$ 0.23	0.408	0.915	0.960
	Placebo	2.96 $\pm$ 0.21	2.64 $\pm$ 0.23	0.045			
	Weight loss, thin	Active	1.35 $\pm$ 0.11	1.38 $\pm$ 0.15	0.792	0.518	1.000
	Placebo	1.36 $\pm$ 0.09	1.46 $\pm$ 0.13	0.531			
	Lethargy	Active	1.81 $\pm$ 0.16	2.12 $\pm$ 0.18	0.775	0.964	0.116
	Placebo	1.93 $\pm$ 0.18	2.11 $\pm$ 0.17	0.273			
	Lack of sense of wellness	Active	1.92 $\pm$ 0.15	2.12 $\pm$ 0.15	0.338	0.363	0.180
	Placebo	1.82 $\pm$ 0.19	1.93 $\pm$ 0.16	0.641			
	Thirst	Active	1.77 $\pm$ 0.14	2.04 $\pm$ 0.14	0.410	0.475	0.039
	Placebo	1.68 $\pm$ 0.17	1.89 $\pm$ 0.15	0.291			
	Skin problems	Active	2.23 $\pm$ 0.17	2.12 $\pm$ 0.14	0.463	0.948	0.494
	Placebo	2.07 $\pm$ 0.16	2.18 $\pm$ 0.18	0.816			
	Anorexia	Active	1.46 $\pm$ 0.13	1.38 $\pm$ 0.12	0.879	0.378	0.781
	Placebo	1.39 $\pm$ 0.09	1.46 $\pm$ 0.10	0.688			
	Early satiety	Active	1.54 $\pm$ 0.13	1.73 $\pm$ 0.15	0.837	0.287	0.180
	Placebo	1.54 $\pm$ 0.14	1.50 $\pm$ 0.12	1.000			
	Epigastralgia	Active	1.46 $\pm$ 0.13	1.69 $\pm$ 0.15	0.584	0.091	0.183
	Placebo	1.36 $\pm$ 0.11	1.36 $\pm$ 0.11	1.000			
	Liability to catch colds	Active	1.85 $\pm$ 0.14	1.81 $\pm$ 0.12	0.406	0.575	1.000
	Placebo	1.68 $\pm$ 0.13	1.71 $\pm$ 0.12	1.000			
	Coughing and sputum	Active	1.62 $\pm$ 0.16	1.92 $\pm$ 0.21	0.666	0.661	0.063
	Placebo	1.71 $\pm$ 0.17	1.71 $\pm$ 0.13	0.914			
	Diarrhea	Active	1.38 $\pm$ 0.10	1.50 $\pm$ 0.11	0.127	0.906	0.549
	Placebo	1.64 $\pm$ 0.12	1.54 $\pm$ 0.12	0.375			
	Constipation	Active	2.27 $\pm$ 0.23	2.27 $\pm$ 0.23	0.489	0.280	1.000
	Placebo	2.00 $\pm$ 0.15	1.89 $\pm$ 0.17	0.453			
	Hair loss	Active	2.15 $\pm$ 0.17	2.23 $\pm$ 0.18	0.698	0.678	0.727
	Placebo	2.11 $\pm$ 0.17	2.11 $\pm$ 0.18	1.000			
	Gray hair	Active	3.23 $\pm$ 0.17	3.19 $\pm$ 0.18	0.978	0.948	1.000
	Placebo	3.18 $\pm$ 0.19	3.14 $\pm$ 0.14	1.000			
	Headache	Active	1.96 $\pm$ 0.15	2.19 $\pm$ 0.16	0.941	0.840	0.070
	Placebo	2.11 $\pm$ 0.23	2.25 $\pm$ 0.23	0.367			
	Dizziness	Active	1.50 $\pm$ 0.13	1.62 $\pm$ 0.14	0.890	0.375	0.590
	Placebo	1.57 $\pm$ 0.15	1.82 $\pm$ 0.15	0.145			
	Tinnitus	Active	1.31 $\pm$ 0.09	1.38 $\pm$ 0.11	0.323	0.314	0.688
	Placebo	1.54 $\pm$ 0.16	1.64 $\pm$ 0.17	0.375			
	Lumbago	Active	1.88 $\pm$ 0.17	2.12 $\pm$ 0.19	0.576	0.683	0.148
	Placebo	2.04 $\pm$ 0.17	2.21 $\pm$ 0.17	0.307			
	Arthralgia	Active	1.58 $\pm$ 0.13	1.77 $\pm$ 0.15	0.492	0.679	0.063
	Placebo	1.54 $\pm$ 0.16	1.89 $\pm$ 0.17	0.051			

Bold font, $p < 0.05$; AAQoL, Anti-Aging QOL Common Questionnaire; QOL, quality of life; SE, standard error.

Table 5-2. AAQoL.

	Parameter	Group	mean $\pm$ SE		<i>P</i> -value		
					inter-group analysis		Intra-group analysis
			0w	12w	0w	12w	
Physical symptoms	Edematous	Active	1.77 $\pm$ 0.17	2.08 $\pm$ 0.21	0.683	0.870	0.022
		Placebo	1.86 $\pm$ 0.16	2.07 $\pm$ 0.16			0.146
	Easily breaking into a sweat	Active	1.96 $\pm$ 0.17	2.31 $\pm$ 0.19	0.905	0.431	0.031
		Placebo	2.07 $\pm$ 0.21	2.54 $\pm$ 0.22			0.001
	Frequent urination	Active	1.96 $\pm$ 0.16	2.27 $\pm$ 0.21	0.467	0.391	0.375
		Placebo	1.86 $\pm$ 0.19	2.00 $\pm$ 0.15			0.388
	Hot flashes	Active	1.85 $\pm$ 0.15	1.88 $\pm$ 0.18	0.701	0.501	1.000
		Placebo	1.54 $\pm$ 0.17	1.68 $\pm$ 0.12			0.432
	Cold skin	Active	2.50 $\pm$ 0.23	2.42 $\pm$ 0.22	0.217	0.136	0.796
		Placebo	2.11 $\pm$ 0.20	1.96 $\pm$ 0.18			0.344
Mental symptoms	Irritability	Active	2.15 $\pm$ 0.16	2.04 $\pm$ 0.14	0.752	0.591	0.453
		Placebo	2.07 $\pm$ 0.14	2.14 $\pm$ 0.13			0.754
	Easily angered	Active	1.92 $\pm$ 0.17	1.96 $\pm$ 0.14	1.000	0.865	1.000
		Placebo	1.89 $\pm$ 0.14	1.93 $\pm$ 0.14			1.000
	Loss of motivation	Active	1.85 $\pm$ 0.16	1.92 $\pm$ 0.18	0.813	0.955	0.688
		Placebo	1.75 $\pm$ 0.12	1.86 $\pm$ 0.14			0.590
	Unhappy	Active	1.54 $\pm$ 0.11	1.65 $\pm$ 0.14	0.814	0.938	0.375
		Placebo	1.57 $\pm$ 0.11	1.64 $\pm$ 0.12			0.727
	Nothing to look forward to in my life	Active	1.50 $\pm$ 0.11	1.54 $\pm$ 0.11	0.623	0.913	1.000
		Placebo	1.57 $\pm$ 0.11	1.54 $\pm$ 0.10			1.000
	Daily life is not enjoyable	Active	1.50 $\pm$ 0.10	1.77 $\pm$ 0.13	0.798	0.474	0.065
		Placebo	1.57 $\pm$ 0.12	1.64 $\pm$ 0.12			0.754
	No confidence	Active	1.65 $\pm$ 0.12	1.81 $\pm$ 0.17	0.289	0.740	0.219
		Placebo	1.46 $\pm$ 0.10	1.68 $\pm$ 0.12			0.070
	Reluctance to talk with others	Active	1.54 $\pm$ 0.16	1.65 $\pm$ 0.17	0.856	0.696	0.508
		Placebo	1.43 $\pm$ 0.11	1.50 $\pm$ 0.11			0.727
	Depressed	Active	1.50 $\pm$ 0.13	1.62 $\pm$ 0.12	0.346	0.379	0.375
		Placebo	1.32 $\pm$ 0.09	1.46 $\pm$ 0.11			0.289
	Feeling useless	Active	1.58 $\pm$ 0.11	1.81 $\pm$ 0.16	0.945	0.345	0.109
		Placebo	1.57 $\pm$ 0.10	1.57 $\pm$ 0.10			1.000
	Shallow sleep	Active	1.77 $\pm$ 0.17	2.00 $\pm$ 0.18	0.763	0.301	0.109
		Placebo	1.68 $\pm$ 0.15	1.75 $\pm$ 0.17			0.781
	Difficulty falling asleep	Active	1.85 $\pm$ 0.15	1.88 $\pm$ 0.16	0.143	0.026	1.000
		Placebo	1.54 $\pm$ 0.12	1.43 $\pm$ 0.12			0.375
	Memory lapse	Active	1.92 $\pm$ 0.17	1.85 $\pm$ 0.16	0.361	0.889	0.688
		Placebo	1.68 $\pm$ 0.13	1.79 $\pm$ 0.14			0.549
	Pessimism	Active	2.62 $\pm$ 0.18	2.54 $\pm$ 0.19	0.149	0.494	0.727
		Placebo	2.21 $\pm$ 0.17	2.36 $\pm$ 0.16			0.325
	Inability to concentrate	Active	1.88 $\pm$ 0.19	2.04 $\pm$ 0.19	0.671	0.711	0.289
		Placebo	1.71 $\pm$ 0.12	1.89 $\pm$ 0.14			0.188
Inability to solve problems	Active	1.62 $\pm$ 0.12	1.81 $\pm$ 0.16	0.690	0.327	0.188	
	Placebo	1.54 $\pm$ 0.11	1.57 $\pm$ 0.11			1.000	
Inability to readily make judgments	Active	1.58 $\pm$ 0.13	1.81 $\pm$ 0.15	0.992	0.478	0.217	
	Placebo	1.57 $\pm$ 0.12	1.64 $\pm$ 0.11			0.625	
Inability to sleep due to worries	Active	1.54 $\pm$ 0.11	1.58 $\pm$ 0.11	0.531	0.545	1.000	
	Placebo	1.43 $\pm$ 0.10	1.71 $\pm$ 0.13			0.008	
Feeling tense	Active	1.92 $\pm$ 0.17	1.96 $\pm$ 0.16	0.561	0.826	1.000	
	Placebo	1.79 $\pm$ 0.15	1.93 $\pm$ 0.16			0.439	
Feeling anxious for no particular reason	Active	1.54 $\pm$ 0.11	1.62 $\pm$ 0.12	0.531	0.868	0.688	
	Placebo	1.43 $\pm$ 0.10	1.57 $\pm$ 0.11			0.359	
Vague feeling of fear	Active	1.31 $\pm$ 0.09	1.46 $\pm$ 0.10	0.870	0.301	0.219	
	Placebo	1.29 $\pm$ 0.09	1.32 $\pm$ 0.09			1.000	

Bold font, $p < 0.05$; AAQoL, Anti-Aging QOL Common Questionnaire; QOL, quality of life; SE, standard error.

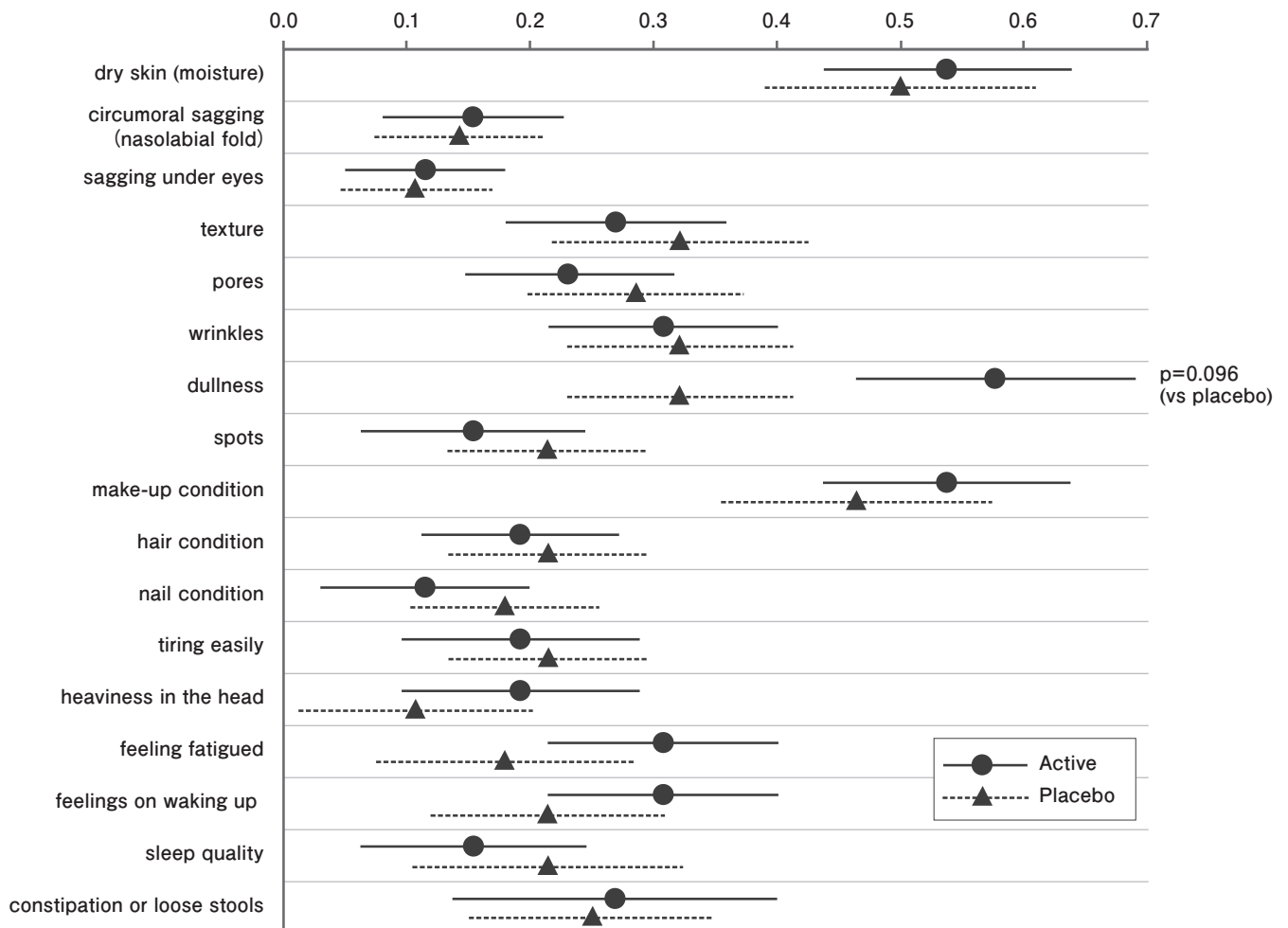


Fig.2. Feelings questionnaire on skin or health
mean ± SE (standard error)

考察

本研究では、皮膚のたるみ、しわに悩む41歳～69歳の女性を対象に、被験食品またはプラセボ食品を12週間摂取させ、皮膚状態に関する有効性と酸化ストレスマーカー、糖化ストレスマーカーおよび自覚症状の変動について検討した。その結果、皮膚については粘弾性の指標の1つであるR7の値がプラセボ食品群では摂取前後で有意に低下(悪化)したのに対し、被験食品群では摂取前の値を維持し、さらに摂取12週間において群間で有意差を示し、被験食品の弾力性低下抑制作用が確認された。また、目元のレプリカ解析において、摂取後のシワ面積率が被験食品群で有意に低値を示し、さらに、総シワ平均深さ、最大シワ平均深さおよびシワ総体積において被験食品群のみ摂取前後で

有意な改善がみられ、総じて被験食品群でシワが改善したと考えられた。また、摂取後に実施した使用実感アンケートにおいて、『くすみ(皮膚の明るさ)』の改善を問う項目で、有意ではないが被験食品群の方が改善度が高かった($p < 0.1$)。被験食品に配合した5つの原料はいずれも皮膚の状態を良好に維持または改善する作用が期待される原料であり、それぞれ単独もしくは2つの組み合わせでの検証は為されているが、それ以上の複合による有効性については検討されていない。本試験では、これらの5つの原料を組み合わせた被験食品を用いて、プラセボを対照としたランダム化比較試験(RCT)で検討した結果、弾力性の低下抑制とシワの改善が確認され、本被験食品の皮膚状態改善作用が確認された。

本試験は11月～4月の期間に、京都・大阪・兵庫に在住する女性を対象に実施した。2015年の京都における1月から4月のUVインデックス（推定値）は1.5（1月）、2.1（2月）、3.1（3月）、4.2（4月）と徐々に上昇している事が確認される³⁹⁾。一方、摂取前後において両群ともにMelanin indexの有意な低下とL*値の有意な上昇が見られており、これらの事実は、摂取期間中における被検者の紫外線対策が十分であり、かつ紫外線被曝量という観点からは両群ともに同程度であった事を示唆する。すなわち、摂取期間中は紫外線刺激による酸化ストレスから保護されていたと考えられ、酸化ストレスマーカーであるLPOが両群で有意に低下した原因であるとも考えられる。また、UV-B照射による酸化ストレスから皮膚細胞を防御する作用や角層Total Antioxidative Capacity (TAC)と正の相関があり、皮膚の抗酸化マーカーとして有用な角層DJ-1¹⁸⁾は、紫外線照射や酸化ストレスによって増加する事が知られている。上述した通り、試験期間中の紫外線刺激による酸化ストレスは両群同レベルであり、かつストレスレベルも低いと推測されることから、角層DJ-1は両群ともに低下または維持される事が予測されたが、実際にはプラセボ群でのみ摂取前後で有意に低下した。これは、被験食品群でDJ-1の産生促進または代謝・分解抑制が生じた可能性を示す。食品摂取によるDJ-1の産生または代謝に対する影響は未研究分野だが、紫外線や酸化ストレスの刺激なしにDJ-1の産生を促進する事が可能であれば、皮膚を酸化ストレスから保護するという観点からは有用であると考えられる。

糖化ストレスを減らす方法にはAGE産生スキームの上流から下流に至るまでの様々な段階へのアプローチが考えられる。糖質過剰摂取の抑制、糖吸収の遅延・抑制はその上流に位置し、これにより下流のAGEs生成の減少につながる。被験食品に配合したマリアアザミ抽出物は血糖やHbA1cの低下作用^{40,41)}があり、その機序としてPPARYの関与^{42,43)}が想定されている。リンゴ抽出物についても小腸における糖吸収抑制^{44,45)}、 α -グルコシダーゼ抑制とインスリン抵抗性の改善⁴⁶⁾、食後高血糖の抑制⁴⁷⁾の報告がある。大豆抽出物に含まれるサポニンBには血糖上昇抑制作用⁴⁸⁾、アグリコン型イソフラボンにはインスリン抵抗性改善作用⁴⁹⁾の報告がある。また、ヒト血清アルブミン-グルコース反応系における3-DG生成阻害活性実験では、被験食品およびプラセボ食品のIC₅₀はそれぞれ1.5mg/mL、>10mg/mLであり（未発表データ）、被験食品は3-DG生成抑制作用を有し血中3-DGを低減する事が期待された。しかし、本試験では糖化反応中間体である3-DGにおいて、プラセボ群では有意に低下したのに対し、被験食品群では変化がみられず、予想に反し被験食品摂取による糖化ストレスマーカーの軽減は確認されなかった。プラセボ群が季節変動による変化であれば、被験食品群でも低下するはずであり、本試験でそれが見られなかった理由として、被験食品が3-DGの生成亢進作用または代謝抑

制作用を有する可能性が考えられるが、前者は3-DG生成阻害活性実験の結果から可能性は低く、どちらかといえば3-DGの代謝抑制、すなわち中間産物から最終代謝物への変化が抑制された可能性が考えられる。この可能性を検証する為には、3-DG由来AGEs（ピラリン、イミダゾロンなど）を測定する必要があるが、これらの検討も含め、被験食品の糖化に及ぼす影響については、被検者条件や評価項目を見直し、再検討すべきと考えている。

なお、抗加齢QOL共通問診票の結果において、『寝つきが悪い』の項目で摂取後群間差が認められたが、群内比較では摂取前後で変動がみられなかったことから、被験食品摂取による増悪ではなく、安全という観点から特に問題点はないと考えられた。被験食品に含まれるすべての素材はこれまでに食品あるいは機能性食品原料として十分な食経験のある食品であり、安全性の高い食品素材であるといえる。今回の試験においても、含有成分に起因する重篤な有害事象はみられず、本被験食品について安全性に問題なしと判断した。

結語

皮膚状態改善、酸化ストレスおよび糖化ストレスの軽減が期待される食品素材を複合的に配合した被験食品は、無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間試験において、中高年女性の皮膚の粘弾性の低下抑制およびシワの改善作用を示すことが明らかとなった。また、自覚症状においてくすみの改善が期待される結果が得られた。一方、酸化ストレスマーカーについては角層のDJ-1タンパク質の低下抑制が見られたが、糖化ストレスマーカーについては明確な結果は得られず、皮膚状態の改善メカニズムの解明と合わせて今後の課題である。また、被験食品摂取による安全性に問題となる点はなく、被験食品が中高年女性の皮膚の弾力性維持およびシワの改善に役立つ食品として期待される事が示された。

利益相反申告

本論文の研究資金は株式会社ファンケルより出資された。

References

- 1) Kligman LH, Akin FJ, Kligman AM. Prevention of UV damage to the dermis of hairless mice by sunscreens. *J Invest Dermatol.* 1982; 78: 181-189.
- 2) Kamide R. Photoaging. *Jpn J Dermatol.* 2012; 122: 3717-3723. (in Japanese)
- 3) Gross S, Knebel A, Tenev T, et al. Inactivation of protein-tyrosine phosphatases as mechanism of UV-induced signal transduction. *J Biol Chem.* 1999; 274: 26378-26386.
- 4) Fisher GJ, Datta SC, Talwar HS, et al. Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature.* 1996; 379: 335-339.
- 5) Fisher GJ, Kang S, Varani J, et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol.* 2002; 138: 1462-1470.
- 6) Quan T, Qin Z, Xia W, et al. Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2009; 14: 20-24.
- 7) Chakraborty AK, Funasaka Y, Slominski A, et al. Production and release of proopiomelanocortin (POMC) derived peptides by human melanocytes and keratinocytes in culture: Regulation by UV B. *Biochem Biophys Acta.* 1996; 1313: 130-138.
- 8) Ishiwatari S, Takahashi M, Yasuda C, et al. The protective role of DJ-1 in UV-induced damage of human skin: DJ-1 levels in the stratum corneum as an indicator of antioxidative defense. *Arch Dermatol Res.* 2015; 307: 925-935.
- 9) Mizutani K, Ono T, Ikeda K, et al. Photo-enhanced modification of human skin elastin in actinic elastosis by N (epsilon)-(carboxymethyl)lysine, one of the glycoxidation products of the Maillard reaction. *J Invest Dermatol.* 1997; 108: 797-802.
- 10) Rittié L, Fisher GJ. UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Res Rev.* 2002; 1: 705-720.
- 11) Funasaka Y. Photoaging and response. *J Dermatol* 2008; 118: 17-21. (in Japanese)
- 12) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Med.* 2011; 8: 23-29.
- 13) Ebrahimpour Koujan S, Gargari BP, Mobasser M, et al. Effects of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (silymarin) extract supplementation on antioxidant status and hs-CRP in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytomedicine.* 2015; 22: 290-296.
- 14) Shin S, Lee JA, Kim M, et al. Anti-glycation activities of phenolic constituents from *Silybum marianum* (Milk Thistle) flower *in vitro* and on human explants. *Molecules.* 2015; 20: 3549-3564.
- 15) Miyata S. Inhibitory effects of silybin, a flavonolignan isolated from *Silybum marianum*, on skin aging. *Medical Science Digest.* 2006; 32: 27-31. (in Japanese)
- 16) Kitajima S. Identification of functional components of silymarin for prevention of skin aging and gene expression profiling in skin-equivalent models treated with silybin. *Fragr J.* 2007; 35: 27-29. (in Japanese)
- 17) Kitajima S, Yamaguchi K. Silybin from *Silybum marianum* seeds inhibits confluent-induced keratinocytes differentiation as effectively as retinoic acid without inducing inflammatory cytokine. *J Clin Biochem Nutr.* 2009; 45: 178-184.
- 18) Katayama S. Soyasaponins mediate antioxidative stress activity via the Nrf2-ARE pathway. *Fragr J.* 2013; 41: 57-63.
- 19) Tanaka M, Watanabe T, Uchida T. et al. The hypoglycemic effects of soyasaponin B. Japan Mibyou System Association. 2006; 12: 1-8. (in Japanese)
- 20) Tsuji T. Trend in development of the dietary supplement for skin care. *Fragr J.* 2003; 12: 46-54. (in Japanese)
- 21) Ono E, Shin M, Yasuda C, et al. Effect of group B soyasaponins for skin ageing. *J Traditional Med.* 2008; 25: 125 (in Japanese)
- 22) Ono E, Kajiwara N, Function of group B soyasaponins for antiageing. *Food Style* 21. 2010; 14: 37-39. (in Japanese)
- 23) Sakata Y. Research on anti glycative component of fermented food. Thesis for Master Degree. Doshisha University Graduate School, Kyoto, Japan, 2015. (in Japanese)
- 24) Esaki H, Shirasaki T, Yamashita K, et al. Absorption and excretion of the 8-hydroxydaidzein in rats after oral administration and its antioxidant effect. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2005; 51: 80-86.
- 25) Mukai R, Terao J. Antioxidant effects of isoflavone. *Funct Food* 2011; 5: 126-129. (in Japanese)
- 26) Accorsi-Neto A, Haidar M, Simões R, et al. Effects of isoflavones on the skin of postmenopausal women: A pilot study. *Clinics.* 2009; 64: 505-510.
- 27) Izumi T, Saito M, Obata A, et al. Oral intake of soy isoflavone aglycone improves the aged skin of adult women. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2007; 53: 57-62.
- 28) Morishita Y. Probiotics and prebiotics activate the intestinal bacteria for one's health. *Luminacoids Research.* 2000; 4: 47-58.
- 29) Xiao JZ, Kondo S, Odamaki T, et al. Effect of yogurt containing *Bifidobacterium lingum* BB 536 on the defecation frequency and fecal characteristics of healthy adults: A double-blind cross over study. *Jpn J Lactic Acid Bact.* 2007; 18: 31-36.
- 30) Xiao JZ, Kondo S, Yanagisawa N, et al. Probiotics in the treatment of Japanese cedar pollinosis: A double-blind placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy.* 2006; 36: 1425-1435.
- 31) Yonezawa S, Xiao JZ, Yamamoto Y, et al. Effect of milk supplemented with Bifidobacteria on skin condition in healthy adult women. *Clinical Allergy.* 2014; 34: 872-875. (in Japanese)
- 32) Hamazu Y, Iijima E, Polyphenolic composition and antioxidative activity of apple flesh extracts. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 1999; 46: 645-651. (in Japanese)

- 33) Sawada Y, Sugimoto A, Sami M, et al. Dietary supplement with Apple Polyphenols and antioxidants decrease the oxidative stress in human. The Journal of Japan Mibyou System Association. 2015; 21: 21-35. (in Japanese)
- 34) Shao X, Bai N, He K, et al. Apple polyphenols, phloretin and phloridzin: New trapping agents of reactive dicarbonyl species. Chem Res Toxicol. 2008; 21: 2042-2050.
- 35) Ma J, Peng X, Zhang X, et al. Dual effects of phloretin and phloridzin on the glycation induced by methylglyoxal in model systems. Chem Res Toxicol. 2011; 24: 1304-1311.
- 36) Parengkuan L, Yagi M, Matsushima M, et al. Anti-glycation activity of various fruits. Anti-Aging Med. 2013; 10: 70-76.
- 37) Shoji T, Masumoto S, Moriichi N, et al. Procyanidin trimers to pentamers fractionated from apple inhibit melanogenesis in B16 mouse melanoma cells. J Agric Food Chem. 2005; 53: 6105-6111.
- 38) Kon T. Photoaging-care factor “Apple Polyphenol” based on beauty from the Inside Out. Fragrance Journal. 2013; 41: 27-33. (in Japanese)
- 39) Japan Meteorological Agency HP (Ministry of Land, Infrastructure, Transport and Tourism). Monthly mean maximum UV index data (estimated). http://www.data.jma.go.jp/gmd/env/uvhp/link_uvindex_month54.html
- 40) Di Pierro F, Putignano P, Villanova N, et al. Preliminary study about the possible glycemic clinical advantage in using a fixed combination of *Berberis aristata* and *Silybum marianum* standardized extracts versus only *Berberis aristata* in patients with type 2 diabetes. Clin Pharmacol. 2013; 5: 167-174.
- 41) Moona MM, Smits R, Kertesz J, et al. Clinical inquiry: Do complementary agents lower HbA1c when used with standard type 2 diabetes therapy? J Fam Pract. 2014; 63: 336-338.
- 42) Pferschy-Wenzig EM, Atanasov AG, Malainer C, et al. Identification of isosilybin A from milk thistle seeds as an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. J Nat Prod. 2014; 77: 842-847.
- 43) Kazazis CE, Evangelopoulos AA, Kollas A, et al. The therapeutic potential of milk thistle in diabetes. Rev Diabet Stud. 2014; 11: 167-174.
- 44) Yokota K, Nishi Y, Takesue Y. Effect of phloretin on Na⁺-dependent D-glucose uptake by intestinal brush border membrane vesicles. Biochem Pharmacol. 1983; 32: 3453-3457.
- 45) Kasagi T, Yoshioka S, Imoto Y. Inhibition of the intestinal glucose absorption by the phlorizin-like substance extracted from the jujuba leaf (*Zizyphus jujuba*). Tottori University College of Medical Care Technology Research Report. 1985; 9: 13-17. (in Japanese)
- 46) Antu KA, Riya MP, Mishra A, et al. Antidiabetic property of *Symplocos cochinchinensis* is mediated by inhibition of alpha glucosidase and enhanced insulin sensitivity. PLoS One. 2014; 9: e105829.
- 47) Shirosaki M, Koyama T, Yazawa K. Apple leaf extract as a potential candidate for suppressing postprandial elevation of the blood glucose level. J Nutr Sci Vitaminol. 2012; 58: 63-67.
- 48) Tanaka M, Watanabe T, Uchida T, et al. Blood glucose suppressive effects of soyasaponin B. The Journal of Japan Mibyou System Association. 2006; 12: 1-8. (in Japanese)
- 49) Pan W. Daidzein-rich aglycone isoflavones improve the insulin sensitivity for prevention of type 2 diabetes. The Journal of Japan Mibyou System Association. 2014; 20: 62-66. (in Japanese)