

*Original article***Anti-glycation and skin beautification properties from ingestion of mixed herb extract: A placebo-controlled, double-blind, randomized, parallel-group study.**Hiroshige Kawai<sup>1)</sup>, Masako Shoshihara<sup>1)</sup>, Hirosato Kawakami<sup>1)</sup>, Junko Naito<sup>2)</sup>, Umenoi Hamada<sup>2,3)</sup>, Masayuki Yagi<sup>3)</sup>, Keiji Ohbayashi<sup>4)</sup>

1) Karada Lab, ARKRAY, Inc., Kyoto, Japan

2) Life and Medical Sciences Inspection Center, A-Kit, Inc., Gifu, Japan

3) Antiaging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

4) Ohbayashi Clinic, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2016; 3 (4): 236-245

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文)

**混合ハーブエキスの摂取による抗糖化と美肌作用の評価  
— プラセボ対照二重盲検ランダム化並行群間比較試験 —**河合博成<sup>1)</sup>、所司原雅子<sup>1)</sup>、川上宏智<sup>1)</sup>、内藤淳子<sup>2)</sup>、濱田梅之井<sup>2,3)</sup>、八木雅之<sup>3)</sup>、大林敬二<sup>4)</sup>

1) アークレイ株式会社・からだサポート研究所

2) エイキット株式会社 生命医科学検査センター

3) 同志社大学 生命医科学部 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

4) 医療法人社団大林医院

**抄録**

**【目的】** *Chamaemelum nobile* (ローマカミツレ)、*Crataegus laevigata* (セイヨウサンザシ)、*Houttuynia cordata* (ドクダミ) および *Vitis vinifera* (ブドウ葉) からなる混合ハーブエキス (MHE) は、ヒト試験で種々の抗糖化作用が報告されているが、それらは高用量や他の機能性素材との複合品であったことから、新たに低用量かつ単独にて抗糖化作用と美肌作用について評価を行った。

**【方法】** 対象は皮膚 AGEs 沈着量 (AGE Reader による) が多い 40 歳以上 65 歳未満の日本人女性 24 名 (MHE 群: 12 名、Placebo 群: 12 名) とした。被験食は MHE として 1 日 100mg でカプセル状の食品を用い摂取期間 12 週間にて、摂取前、摂取 8、12 週間後に血液検査、皮膚関連測定および問診を行う Placebo 対照二重盲検ランダム化並行群間比較試験を実施した。なお本試験は倫理審査委員会の承認を経て行われた (臨床試験登録 ID: UMIN000015242)。

連絡先: 河合博成

〒602-0008 京都市上京区岩栖院町 59 擁翠園内

アークレイ株式会社・からだサポート研究所

電話: 050-5830-0973 FAX: 075-431-1253 メール: kawaih@arkray.co.jp

共著者: 所司原雅子 shoshiharam@arkray.co.jp、

川上宏智 kawakamih@arkray.co.jp、内藤淳子 j-naito@a-kit.co.jp、

濱田梅之井 hamada@yonei-labo.co.jp、八木雅之 myagi@mail.doshisha.ac.jp、

大林敬二 keiji-ob@grape.plala.or.jp

**【結果】** 全例では、上腕皮膚のメラニン量指数（MHE 群：-0.04、Placebo 群：+0.01、 $p=0.009$ ）および上腕皮膚の色差  $b^*$ （黄色）（MHE 群：-0.66、Placebo 群：+0.16、 $p=0.025$ ）において、MHE 群は Placebo 群と比較して有意に低下した。また、顔面皮膚の褐色のシミにおいて、MHE 群は摂取前と比較して 12 週間後が有意に低下した（48.39 → 46.49、 $p=0.005$ ）。糖尿病の疑いがある 2 名を除いた健常者のサブグループ（MHE 群：10 名、Placebo 群：12 名）では、3-デオキシグルコソン（3DG）において MHE 群が摂取前と比較して 12 週間後に有意に低下した（16.96 → 13.73 ng/mL、 $p=0.043$ ）。また、頬皮膚の血中酸素飽和度指数（血色の指標の 1 つ）において、MHE 群は Placebo 群と比較して有意に上昇した（MHE 群：+7.38、Placebo 群：+4.36、 $p=0.020$ ）。

**【結論】** MHE は皮膚色の黄色化および褐色化を抑えた。これは 3DG の生成が抑えられたことによる、カルボニル化の減少の可能性が考えられた。また、血色を改善したことはハーブ成分による可能性が考えられた。

**KEY WORDS:** 混合ハーブエキス、抗糖化、美肌、糖化最終生成物（advanced glycation endproducts: AGEs）、3-デオキシグルコソン（3-deoxyglucosone: 3DG）

## はじめに

皮膚蛋白のカルボニル化が、肌の黄色化や透明感低下に関与することが報告されている<sup>1)</sup>。また、*Chamaemelum nobile*（ローマカミツレ）、*Crataegus laevigata*（セイヨウサンザシ）、*Houttuynia cordata*（ドクダミ）および *Vitis vinifera*（ブドウ葉）からなる混合ハーブエキス（Mixed Herb Extract: MHE）（商品名：AG ハーブ MIX）は、*in vitro* で 3-デオキシグルコソン（3DG）<sup>2)</sup>、グリオキサール、メチルグリオキサールなどカルボニル化の原因となる化合物の生成を抑制する。

MHE は、ヒト試験で種々の抗糖化作用が報告されているが、それらの評価は高用量によるものや他の機能性素材との複合品であった<sup>3-6)</sup>。そこで今回は低用量かつ単独にて、抗糖化作用および美肌作用に関して評価を行った。

## 方法

### 対象

対象は 40 歳以上 65 歳未満の日本人女性で、被験者数は 1 群の解析数を 10 名以上にするため、脱落の可能性を見込んで 24 名（MHE 群：12 名、Placebo 群：12 名）とした。スクリーニング検査を実施して、選択基準および除外基準で適合した応募者のうち、皮膚 AGEs 沈着量（AGE Reader による測定）が相対的に多い被験者から選択した。割付担当者は、乱数を用いて割付表を作成した。割付に際しては、皮膚 AGEs 沈着量のマッチングを最優先とし、年齢および BMI の平均値と標準偏差に偏りが無いことを確認して決定した（Table 1）。

### 試験デザイン

ヒト試験のデザインは、Placebo 対照二重盲検ランダム化並行群間比較試験とした。

被験食は MHE として 1 日 100 mg でカプセル状の食品を用いた。被験者は 12 週間にわたり、MHE 食品または Placebo を 1 日 1 回原則として空腹時に摂取し、摂取前および摂取後 8、12 週間の計 3 回、血液検査、皮膚関連検査、理学的検査および問診を受けた。なお、アンケート項目のみ摂取後 4 週間に追加して郵送で行った。

被験者は検査前日午後 10 時から当日検査終了まで水以外は絶食とし、当日午前 9 時から 14 時の間に採血、角層の採取および他の全ての検査を完了した。

主要評価項目は抗糖化作用に関連する評価項目で、皮膚 AGEs 沈着量、皮膚粘弾性、角層カルボキシメチルリジン（CML）、血液検査（CML、3DG）とした。

副次的評価項目は、皮膚の色差、VISIA による皮膚の画像診断、血液検査（空腹時血糖、HbA1c、インスリン）、問診（抗加齢 QOL 共通問診票、肌アンケート）とした。

その他の血液検査は安全性項目として、総ビリルビン、AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 $\gamma$ -GTP、CPK、総蛋白、アルブミン、A/G 比、クレアチニン、尿素窒素、尿酸、中性脂肪、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、Na、K、Cl、Ca、Fe および血液学的検査（白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、血液像）を実施した。

基本測定として、身長（初回のみ）、体重、体脂肪率、体脂肪量、除脂肪量、BMI、基礎代謝量、血圧、脈拍数を測定した。診察は医師により実施した。

被験者は生活日誌に、試験食品の摂取状況や有害事象の

有無および生活習慣（食事、運動、アルコール摂取等）に変化がないかを記録した。

試験期間は2014年9月25日から12月19日までとし、医師の問診、血圧測定および採血を医療法人千里丘協立診療所にて実施し、その直後に皮膚関連の検査をエイキット株式会社生命医科学検査センターにて実施した。

### 試験食品

試験食品は、MHE（商品名：AGハーブMIX）を含有するカプセル状食品（100mg/カプセル）およびそのPlaceboとした。MHE食品とPlaceboは、外観、味、香りなどにおいて、できうる限り区別ができないものとした。試験食品の組成および栄養成分をそれぞれ **Table 2, Table 3** に示した。

### 検査方法

#### 自覚症状（アンケート項目）

自覚症状の評価は、「身体の症状」と「心の症状」に分け、抗加齢QOL共通問診票（Anti-Aging QOL Common Questionnaire: AAQol）を用いて既報<sup>3)</sup>のようにポイント1～5の5段階に分けて評価した。また、「肌アンケート」を同時に実施した。

#### 身体計測・理学的検査

身長、体重、血圧、脈拍数のほか、体脂肪率、除脂肪量等は生体電気インピーダンス法による体成分分析器WELL-SCAN500（キャノンライフケアソリューションズ株式会社、東京都文京区）を用いた。

#### 血液検査

血液検査のうち3DGは株式会社エスアールエル（東京都立川市）で、それ以外は株式会社LSIメディエンス（東京都千代田区）にて実施した。

#### 皮膚関連検査

以下の皮膚関連検査は、測定部位の洗浄および洗顔をした後、恒温恒湿室（ $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $50 \pm 5\%$ ）にて20分の馴化後に測定を開始した。

##### 1) 皮膚 AGEs 沈着量

皮膚 AGEs 沈着量は、AGE Reader (Diagnoptics Technologies B.V., Groningen, Netherlands) を用いて測定した。既報<sup>7)</sup>に従い、測定部位は右上腕内側部（肘頭から肩側へ10cm位）とした。

##### 2) 皮膚粘弾性

皮膚粘弾性は皮膚粘弾性測定装置キュートメーター (Cutometer) MPA580 Dual (Courage + Khazaka electronic GmbH, Cologne, Germany) を用いて測定した。測定部位は左頬（耳朶下と口角の中間位置）および右上腕内側部とした。

##### 3) 角層 CML

既報<sup>8)</sup>に従い、角層 CML 量を測定した。粘着性のあるフィルムを皮膚に密着させ、角質を採取した（テープストリッピング法）。同一部位にて3回実施し、角層の CML 量を測定するためのサンプルとして冷凍保管した。採取部位は右上腕内側部とした。測定はエイキット株式会社（岐阜県大垣市）にて実施した。

##### 4) 皮膚色差

皮膚色差測定は分光測色計 CM-600d および肌解析ソフトウェア CM-SA（コニカミノルタ株式会社、東京都千代田区）を用いた。測定部位は左頬および右上腕内側部とした。

##### 5) 顔面皮膚の画像解析

顔面皮膚の画像解析は VISIA Evolution (Canfield Imaging Systems, Inc., NJ, USA) を用いた。

### 統計解析

解析は IBM SPSS Statistics 22（日本 IBM 株式会社、東京都中央区）を用いて実施した。計測項目の検定方法は、摂取前、摂取 8 週間後、摂取 12 週間後の前後比較として Dunnett の多重比較を行った。群間比較については対応のない t 検定（2 群比較）を用いた。アンケート項目の検定方法は、摂取前、摂取 4 週間後、摂取 8 週間後、摂取 12 週間後の前後比較として Friedman の多重比較を行った。群間比較については Mann-Whitney の検定を行った。有意水準はいずれも両側検定で危険率 5% 未満とした。

### 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) を尊重して実施した。医療法人社団健昌会倫理審査委員会（大阪市福島区）へ事前に審査書類を提出し、2014 年 8 月 27 日に審査され承認を受けた。被験者へのインフォームドコンセントはスクリーニング検査前に行われ、被験者は試験計画の内容を十分に理解した後、同意書を提出して自主的に試験の参加を希望した。本研究の臨床試験登録 ID は UMIN000015242 であった。

## 結果

### 解析対象集団

**Fig.1** に試験参加者の追跡フローチャートを示した。被験者募集は 2014 年 8 月 28 日から 9 月 7 日まで行い、9 月 9 日と 10 日にスクリーニング検査をした後、24 名が MHE 群 12 名と Placebo 群 12 名へランダムに割付けられ本試験に参加した。全ての被験者が試験を完遂し、脱落者

**Table 1. Baseline demographic and clinical characteristics.**

	MHE group	Placebo group	p-value
Target size	12	12	(t-test)
Age (years of age)	51.5 ± 6.3	51.4 ± 5.5	p = 0.973
Height (cm)	155.40 ± 5.15	158.38 ± 4.68	p = 0.153
Weight (kg)	55.00 ± 6.81	56.76 ± 4.99	p = 0.478
Body fat (%)	29.38 ± 3.51	28.60 ± 3.62	p = 0.596
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.77 ± 2.46	22.64 ± 2.07	p = 0.894
Skin AGEs deposit level	2.43 ± 0.17	2.41 ± 0.18	p = 0.791
Glucose (mg/dL)	88.8 ± 11.0	83.7 ± 6.3	p = 0.173
HbA1c [NGSP] (%)	5.71 ± 0.59	5.58 ± 0.24	p = 0.473
Insulin (μU/mL)	5.77 ± 1.65	4.83 ± 1.86	p = 0.203

Measured value: Average ± standard deviation. MHE, mixed herb extract; BMI, body mass index; AGEs, advanced glycation end products; NGSP, National Glycohemoglobin Standardization Program.

**Table 2. Test food composition (Compounded amount: mg/capsule).**

	MHE food	Placebo
Dextrin	117.5	217.5
MHE (as AG Herb MIX)	100.0	0.0
Starch	25.0	25.0
Calcium stearate	7.5	7.5
Total	250.0	250.0

MHE, mixed herb extract.

**Table 3. Test food nutritional constituents (Administration amount per day: per capsule).**

	MHE food	Placebo
Energy (kcal)	1.2	1.2
Protein (g)	0.003	0
Lipid (g)	0.001	0
Carbohydrate (g)	0.276	0.287
Sodium (mg)	0.243	0.139

MHE, mixed herb extract.

はいなかった。また、解析に不適とされた被験者もなく、全てを解析対象とした。

なお、理学的検査の変化を **Table 4** に示した。

#### ベースライン・データ

各群のベースラインにおける人口統計学的、臨床的な特性を **Table 1** に示した。なお、人種は全てモンゴロイド（日本人）で女性のみとした。

#### 主要評価項目

主要評価項目である皮膚 AGEs 沈着量、皮膚粘弾性、角層 CML、血液検査（CML、3DG）においては、摂取前から 12 週後の変化量で MHE 群と Placebo 群の間に有意差があるか、MHE 群の摂取前後で有意差がある項目はなかった (**Table 5, Table 6**)。ただし、改善とは逆の変動が認められた項目については後述の安全性評価項目に記載した。

なお、HbA1c が基準範囲よりも高い 2 名を除いた、健常者サブグループでの血中 3DG の変化を **Fig.2** に示した。MHE 群で摂取前  $16.96 \pm 2.92 \rightarrow 12$  週後  $13.73 \pm 4.00$  ng/mL ( $p=0.043$ ) と有意な減少であったが、Placebo 群で摂取前  $15.09 \pm 3.59 \rightarrow 12$  週後  $13.15 \pm 3.63$  ng/mL ( $p=0.191$ ) と有意な変動ではなかった。群間比較では有意な群間差は認められなかった ( $p=0.456$ )。

#### 副次的評価項目

副次的評価項目である皮膚の色差、VISIA による皮膚の画像診断 (**Table 6**)、血液検査（空腹時血糖、HbA1c、インスリン）(**Table 5**)、問診（抗加齢 QOL 共通問診票、肌アンケート）(*data not shown*) においては、次の 1) - 3) の 3 項目で改善が認められた。ただし、改善とは逆の変動が認められた項目については後述の安全性評価項目に記載した。なお、サブグループの解析を 4) に示した。

##### 1) 皮膚（上腕）のメラニン量指数

皮膚（上腕）のメラニン量指数の変化を **Fig.3** に示した。

MHE 群は摂取前  $0.70 \pm 0.09 \rightarrow 12$  週後  $0.66 \pm 0.10$  ( $p=0.001$ ) と有意な低下であったが、Placebo 群は摂取前  $0.70 \pm 0.06 \rightarrow 12$  週後  $0.70 \pm 0.09$  ( $p=0.727$ ) と有意な変動はなかった。群間比較では MHE 群の変化は Placebo 群のそれに対して、有意に低下した ( $p=0.009$ )。

##### 2) 皮膚（上腕）の色差 b\*（黄色）

皮膚（上腕）の色差 b\*（黄色）の変化を **Fig.4** に示した。

MHE 群は摂取前  $14.84 \pm 1.31 \rightarrow 12$  週後  $14.18 \pm 1.72$  ( $p=0.005$ ) と有意な低下であったが、Placebo 群は摂取前  $14.78 \pm 1.31 \rightarrow 12$  週後  $14.93 \pm 1.42$  ( $p=0.819$ ) と有意な変動はなかった。群間比較では MHE 群が Placebo 群と比較して、変化量が有意に低かった ( $p=0.025$ )。

##### 3) 皮膚（顔面）の褐色シミ

皮膚（顔面）の褐色シミの変化を **Fig.5** に示した。

MHE 群は摂取前  $48.39 \pm 4.95 \rightarrow 12$  週後  $46.49 \pm 5.31$  ( $p=0.005$ ) と有意な低下であったが、Placebo 群は摂取前  $48.08 \pm 6.62 \rightarrow 12$  週後  $47.35 \pm 7.41$  ( $p=0.396$ ) と有意な変動はなかった。群間比較ではこれらの変化量に有意な群間差は認められなかった ( $p=0.171$ )。

##### 4) 皮膚（頬）の血中酸素飽和度指数（血色の良さ）

HbA1c が基準範囲よりも高い 2 名を除いた、健常者サブグループでの皮膚（頬）の血中酸素飽和度指数の変化を **Fig.6** に示した。

MHE 群は摂取前  $52.70 \pm 7.34 \rightarrow 12$  週後  $60.08 \pm 6.68$  ( $p<0.001$ ) と有意に上昇し、Placebo 群も摂取前  $54.45 \pm 4.48 \rightarrow 12$  週後  $58.81 \pm 4.15$  ( $p<0.001$ ) と有意に上昇した。群間比較では MHE 群が Placebo 群と比較して、変化量が有意に高かった ( $p=0.020$ )。

なお、血中酸素飽和度指数は「血色の良さ」の指標の 1 つとして使われている。

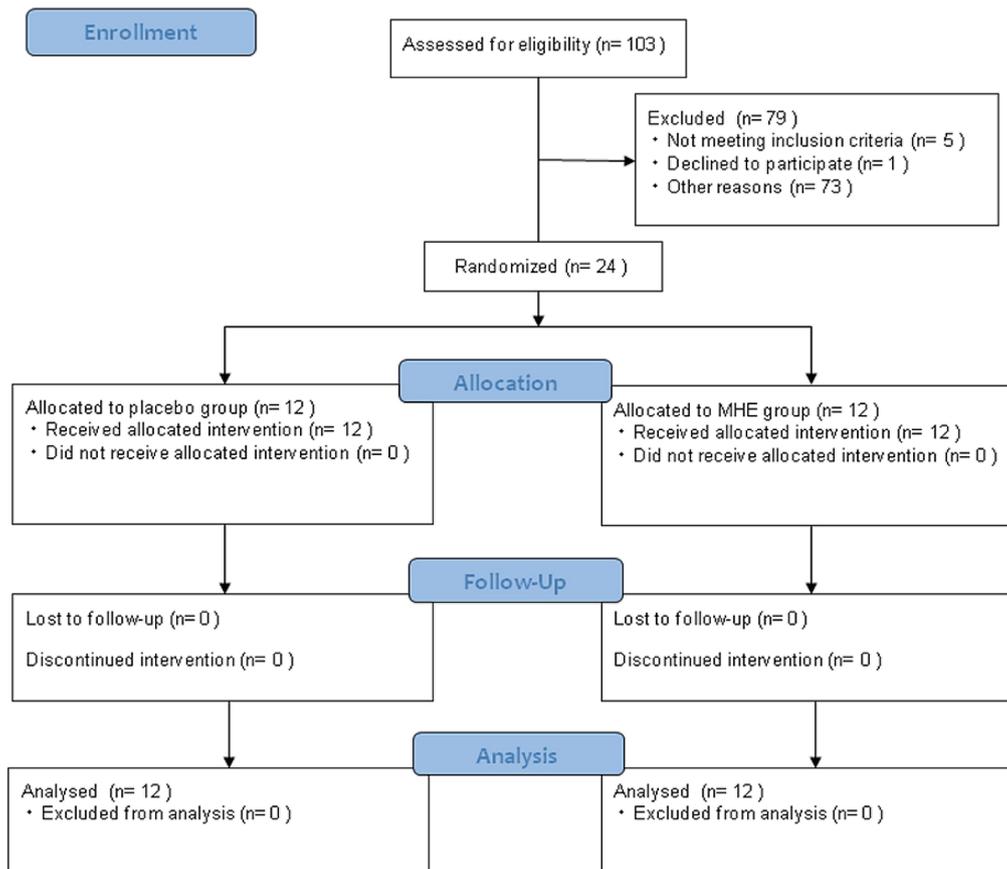
#### 安全性評価項目

試験期間中の有害事象として、「風邪」、「発熱」、「頭痛」、「鼻炎」、「膀胱炎（疑い）」、「嘔吐」、「下痢」、「軟便」、「腹痛」、「胃痛」、「便秘」、「生理痛」が発生したが、いずれも摂取期間中に軽快または回復したことから被験食との因果関係はないものと医師により判断された。

検査項目は、有効性評価項目以外の項目および有効性評価項目であっても改善とは逆の変動であった項目を対象とした。

個々の被験者の変動で、摂取前に逸脱値ではなく 12 週後に逸脱値となった項目は、白血球数、ヘマトクリット、MCHC、好中球、リンパ球、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、クレアチニン、中性脂肪、総コレステロール、LDL コレステロール、K、Fe であったが、偶発的にボーダーラインを少し超えて逸脱値となったか、摂取前にボーダーライン付近の基準範囲内であったために若干の変動で逸脱値となったものであった。いずれも生理的な変動内と判断された。

群間、または MHE 群内で摂取前に対して、12 週後に有意な変動が認められた計測項目は、血中 CML、LDH、ALP、K で有意な増加、上腕皮膚弾力 (R2)、Fe で有意な減少であったが (**Table 5, Table 6**)、いずれも基準範囲内の比較的小さな変動、Placebo 群よりも小さな変動、または健常者のサブグループでの有意差がなかったことから、臨床的問題のないものと判断された。アンケート項目では、「くよくよする」、「汗をかきやすい」、「化粧くずれしやすい」が MHE 群との比較で Placebo 群が有意に改善したが、MHE 群で増悪していないことから問題のないものと判断された。



**Fig. 1. Tracking flow diagram for trial subjects.**

MHE, mixed herb extract.

**Table 4. Physical testing.**

Parameter	Unit	Group	0W	8W	12W
Weight	kg	MHE	55.0 ± 6.7	55.4 ± 6.7	55.1 ± 6.9
		Placebo	57.0 ± 5.1	57.0 ± 5.2	57.2 ± 5.2
Body fat	%	MHE	29.9 ± 3.0	29.8 ± 3.9	28.9 ± 4.3
		Placebo	28.7 ± 3.6	29.1 ± 3.3	28.2 ± 3.3
Fat mass	kg	MHE	16.5 ± 3.3	16.7 ± 3.9	16.0 ± 3.7
		Placebo	16.4 ± 3.1	16.7 ± 3.0	16.2 ± 2.8
Lean body mass	kg	MHE	38.5 ± 3.9	38.8 ± 3.7	39.1 ± 4.5
		Placebo	40.5 ± 3.3	40.4 ± 3.1	41.0 ± 3.6
BMI	kg/m <sup>2</sup>	MHE	22.8 ± 2.4	22.9 ± 2.4	22.8 ± 2.5
		Placebo	22.7 ± 2.1	22.7 ± 2.1	22.8 ± 2.0
Basal metabolic rate	kcal/day	MHE	1072 ± 64	1074 ± 62	1076 ± 68
		Placebo	1097 ± 52	1095 ± 49	1101 ± 50
Blood pressure	systolic	MHE	121 ± 14	121 ± 17	122 ± 12
		Placebo	124 ± 17	128 ± 16	125 ± 18
	diastolic	MHE	81 ± 10	79 ± 10	79 ± 11
		Placebo	76 ± 6	80 ± 8 #	80 ± 8 #
Pulse rate	bpm	MHE	78 ± 11	74 ± 8	74 ± 11
		Placebo	70 ± 11	67 ± 8	68 ± 12

Subjects: n = 12 (MHE group), n = 12 (Placebo group). Values: means ± standard deviation. \* p < 0.05, \*\* p < 0.01 : Comparison with the Placebo group (t-test). # p < 0.05, ## p < 0.01: Comparison with before administration (Dunnett). MHE, mixed herb extract; BMI, body mass index.

Table 5. Clinical chemistry testing.

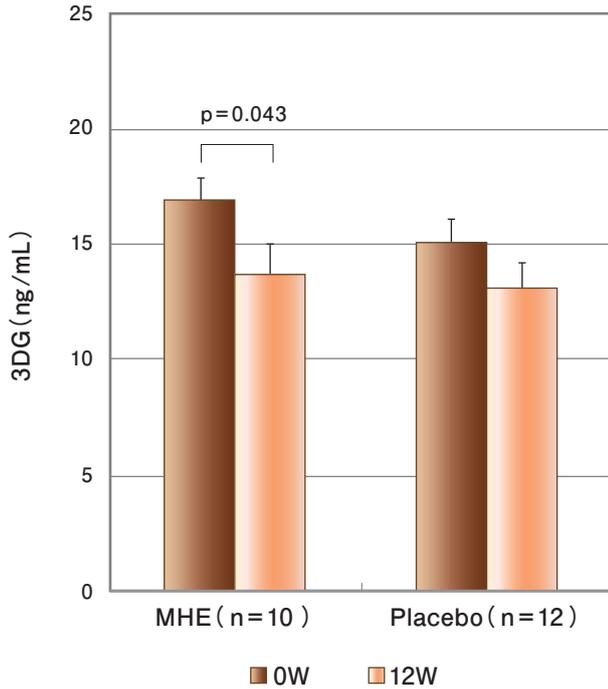
Parameter	Unit	Reference range	Group	0W	8W	12W
CML in stratum corneum	μg/mg protein	-	MHE	36.7 ± 4.9	-	37.8 ± 14.9
			Placebo	39.0 ± 16.0	-	42.7 ± 11.0
CML	μg/mL	-	MHE	0.65 ± 0.05	-	0.88 ± 0.16 ##
			Placebo	0.71 ± 0.23	-	0.96 ± 0.32 ##
3-deoxyglucosone	ng/mL	3.76 - 18.14	MHE	18.0 ± 3.9	14.6 ± 3.8 #	15.1 ± 5.1
			Placebo	15.1 ± 3.6	15.0 ± 3.0	13.1 ± 3.6
Glucose	mg/dL	70 - 109	MHE	88.8 ± 11.0	84.6 ± 10.3	88.3 ± 13.0
			Placebo	83.7 ± 6.3	80.0 ± 5.7 ##	81.0 ± 6.1 #
HbA1c/NGSP	%	4.6 - 6.2	MHE	5.71 ± 0.59	5.60 ± 0.44	5.64 ± 0.46
			Placebo	5.58 ± 0.24	5.52 ± 0.22	5.57 ± 0.17
Insulin	μU/mL	1.7 - 10.4	MHE	5.77 ± 1.65	5.27 ± 1.48	5.63 ± 1.58
			Placebo	4.83 ± 1.86	4.84 ± 1.56	3.59 ± 1.05 #
Total protein	g/dL	6.7 - 8.3	MHE	7.3 ± 0.4	7.2 ± 0.3	7.3 ± 0.2
			Placebo	7.3 ± 0.3	7.3 ± 0.3	7.2 ± 0.3
Albumin	g/dL	3.8 - 5.2	MHE	4.3 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.3 ± 0.2
			Placebo	4.4 ± 0.3	4.4 ± 0.3	4.4 ± 0.3
A/G ratio		1.1 - 2.0	MHE	1.48 ± 0.23	1.50 ± 0.21	1.47 ± 0.21
			Placebo	1.57 ± 0.27	1.55 ± 0.19	1.57 ± 0.27
CPK	U/L	40 - 150	MHE	67.3 ± 42.0	82.1 ± 64.2	64.2 ± 23.7
			Placebo	100.2 ± 33.4	121.1 ± 54.3 #	112.2 ± 57.1
AST (GOT)	U/L	10 - 40	MHE	18.0 ± 3.7	21.5 ± 4.4 ##	19.6 ± 3.9
			Placebo	19.2 ± 3.8	20.5 ± 3.8	20.5 ± 3.7
ALT (GPT)	U/L	5 - 45	MHE	15.3 ± 7.9	19.3 ± 10.4	15.9 ± 7.0
			Placebo	15.9 ± 5.3	16.0 ± 3.9	15.4 ± 3.7
LDH	U/L	120 - 240	MHE	175.0 ± 24.7	176.4 ± 27.3	190.3 ± 28.8 #
			Placebo	181.1 ± 35.4	186.2 ± 32.3	196.3 ± 29.9 ##
ALP	U/L	100 - 325	MHE	207.3 ± 69.9	212.7 ± 70.4	223.8 ± 69.7 #
			Placebo	182.8 ± 59.0	187.0 ± 58.2	184.2 ± 58.0
γ-GTP	U/L	30 以下	MHE	26.3 ± 15.0	27.7 ± 17.7	26.7 ± 18.7
			Placebo	20.8 ± 10.5	20.3 ± 8.7	22.5 ± 17.0
Creatinine	mg/dL	0.47 - 0.79	MHE	0.65 ± 0.08	0.63 ± 0.10	0.63 ± 0.10
			Placebo	0.69 ± 0.07	0.66 ± 0.07 #	0.65 ± 0.09 ##
Uric acid	mg/dL	2.5 - 7.0	MHE	4.66 ± 1.26	4.49 ± 1.19	4.60 ± 1.15
			Placebo	4.98 ± 0.95	4.68 ± 0.68	4.74 ± 0.72
Urea nitrogen	mg/dL	8.0 - 20.0	MHE	11.8 ± 2.5	10.9 ± 2.4	12.7 ± 2.8
			Placebo	10.9 ± 3.1	11.5 ± 3.1	11.6 ± 3.1
TG (Triglyceride)	mg/dL	30 - 149	MHE	124.1 ± 50.1	108.7 ± 44.4	114.2 ± 52.6
			Placebo	96.8 ± 43.3	93.0 ± 41.3	86.0 ± 36.5
Total cholesterol	mg/dL	120 - 219	MHE	248.3 ± 47.3	235.7 ± 36.9	243.2 ± 43.4
			Placebo	218.9 ± 29.3	222.3 ± 28.8	216.4 ± 28.7
HDL cholesterol	mg/dL	40 - 95	MHE	61.3 ± 12.8	61.6 ± 12.3	63.4 ± 11.5
			Placebo	64.1 ± 8.6	68.5 ± 11.3	68.5 ± 11.1
LDL cholesterol	mg/dL	65 - 139	MHE	159.3 ± 45.0	149.0 ± 38.4	154.2 ± 41.6
			Placebo	133.4 ± 27.3	134.7 ± 26.3	127.0 ± 26.2
Sodium	mEq/L	137 - 147	MHE	141.3 ± 1.4	140.7 ± 1.6	140.8 ± 2.0 *
			Placebo	142.2 ± 0.8	141.3 ± 1.2 #	140.5 ± 1.5 ##
Potassium	mEq/L	3.5 - 5.0	MHE	4.25 ± 0.39	4.23 ± 0.36	4.50 ± 0.49 ##
			Placebo	4.12 ± 0.20	4.28 ± 0.16	4.48 ± 0.26 ##
Chloride	mEq/L	98 - 108	MHE	104.7 ± 1.5	104.1 ± 1.6	104.5 ± 1.6
			Placebo	105.0 ± 1.7	104.6 ± 1.6	104.1 ± 1.6
Calcium	mg/dL	8.4 - 10.4	MHE	9.53 ± 0.39	9.33 ± 0.31	9.47 ± 0.38
			Placebo	9.47 ± 0.39	9.53 ± 0.32	9.38 ± 0.24
Serum iron	μg/dL	40 - 180	MHE	93.9 ± 42.0	83.2 ± 46.5	73.8 ± 39.2 ## *
			Placebo	83.1 ± 44.4	94.7 ± 49.3	88.9 ± 38.9
Total bilirubin	mg/dL	0.2 - 1.2	MHE	0.79 ± 0.24	0.78 ± 0.34	0.68 ± 0.16 *
			Placebo	0.69 ± 0.17	0.68 ± 0.12	0.71 ± 0.17

Subjects: n = 12 (MHE group), n = 12 (Placebo group). Values: means ± standard deviation. \* p < 0.05, \*\* p < 0.01 : Comparison with the Placebo group (t-test). # p < 0.05, ## p < 0.01 : Comparison with before administration (Dunnett [3 times], paired t-test [twice]). MHE, mixed herb extract; CML, carboxymethyl lysine; NGSP, National Glycohemoglobin Standardization Program; A/G, albumin/globulin; CPK, creatine phosphokinase; AST (GOT), aspartate aminotransferase (glutamic oxaloacetic transaminase); ALT (GPT), alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; γ-GTP, γ-glutamyltransferase; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein.

Table 6. Skin-related testing.

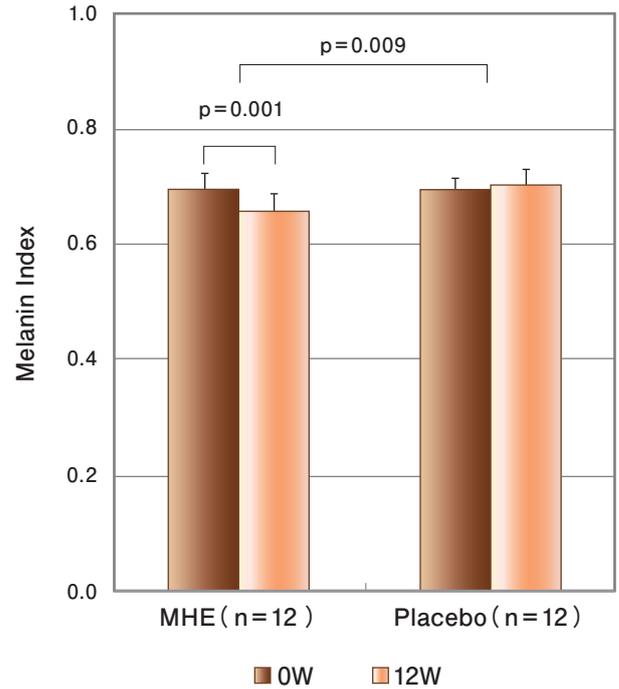
Parameter		Unit	Group	0W	8W	12W	
Skin AGEs deposit level	AF		MHE	2.36 ± 0.21	2.29 ± 0.18	2.23 ± 0.26 #	
			Placebo	2.45 ± 0.21	2.37 ± 0.23	2.27 ± 0.23 ##	
Skin viscoelasticity ( Upper arm )	R2		MHE	0.90 ± 0.02	0.88 ± 0.03 #	0.88 ± 0.03 *	
			Placebo	0.90 ± 0.02	0.88 ± 0.03 #	0.90 ± 0.02	
	R7		MHE	0.66 ± 0.04	0.65 ± 0.06	0.66 ± 0.05	
			Placebo	0.68 ± 0.05	0.66 ± 0.05 #	0.69 ± 0.05	
Skin viscoelasticity ( Cheek )	R2		MHE	0.72 ± 0.07	0.73 ± 0.05	0.75 ± 0.06	
			Placebo	0.75 ± 0.08	0.73 ± 0.07	0.77 ± 0.06	
	R7		MHE	0.37 ± 0.07	0.40 ± 0.05	0.39 ± 0.06	
			Placebo	0.41 ± 0.08	0.39 ± 0.07	0.43 ± 0.06	
Color difference ( Upper arm )	Melanin Index		MHE	0.70 ± 0.09	0.68 ± 0.09	0.66 ± 0.10 ###**	
			Placebo	0.70 ± 0.06	0.69 ± 0.09	0.70 ± 0.09	
	Hb Index		MHE	0.77 ± 0.13	0.84 ± 0.19	0.89 ± 0.21	
			Placebo	0.79 ± 0.17	0.92 ± 0.27	0.87 ± 0.25	
	Hb SO <sub>2</sub> Index	%		MHE	56.4 ± 9.1	52.7 ± 7.4	53.2 ± 5.7
				Placebo	57.8 ± 7.2	53.9 ± 10.6	57.5 ± 8.4
	L*		MHE	70.0 ± 1.4	70.1 ± 1.5	69.9 ± 1.6	
			Placebo	70.1 ± 1.5	69.6 ± 1.8	70.1 ± 1.9	
	a*		MHE	4.82 ± 0.61	4.95 ± 0.87	5.21 ± 1.19	
			Placebo	5.04 ± 0.90	5.43 ± 0.91	5.45 ± 1.36	
	b*		MHE	14.8 ± 1.3	14.7 ± 1.4	14.2 ± 1.7 ###*	
			Placebo	14.8 ± 1.3	14.7 ± 1.6	14.9 ± 1.4	
Color difference ( Cheek )	Melanin Index		MHE	1.11 ± 0.12	1.06 ± 0.13 ##	1.04 ± 0.12 ##	
			Placebo	1.15 ± 0.13	1.11 ± 0.14 #	1.10 ± 0.10 ##	
	Hb Index		MHE	1.08 ± 0.22	1.06 ± 0.27	1.14 ± 0.22	
			Placebo	1.01 ± 0.15	1.06 ± 0.23	1.11 ± 0.23	
	Hb SO <sub>2</sub> Index	%		MHE	51.7 ± 7.0	56.2 ± 7.1 ##	58.5 ± 7.1 ##
				Placebo	54.5 ± 4.5	59.1 ± 5.0 ##	58.8 ± 4.2 ##
	L*		MHE	64.6 ± 2.6	65.8 ± 2.4 ##	65.8 ± 2.4 ##	
			Placebo	65.1 ± 2.0	65.6 ± 2.1	65.8 ± 2.0 #	
	a*		MHE	8.44 ± 1.07	8.40 ± 1.55	8.83 ± 1.31	
			Placebo	8.53 ± 0.85	8.80 ± 0.99	9.09 ± 1.22	
	b*		MHE	18.5 ± 1.5	18.2 ± 1.6	17.8 ± 1.5 ##	
			Placebo	19.2 ± 1.6	18.8 ± 1.9	18.5 ± 1.6 #	
Imaging analysis by VISIA	Brown Spots	Score × 100		MHE	48.4 ± 4.9	47.2 ± 4.8	46.5 ± 5.3 ##
				Placebo	48.1 ± 6.6	47.4 ± 8.2	47.3 ± 7.4
	Pores	Score × 100		MHE	18.4 ± 9.9	20.0 ± 10.8	20.6 ± 11.9
				Placebo	17.7 ± 9.0	18.1 ± 8.5	18.2 ± 9.5
	Porphyrin	Score × 100		MHE	10.7 ± 8.5	8.9 ± 7.6	8.0 ± 6.7
				Placebo	8.5 ± 9.2	6.2 ± 7.4	6.6 ± 9.2
	Red	Score × 100		MHE	25.9 ± 5.1	26.4 ± 6.0	28.2 ± 7.1
				Placebo	26.8 ± 5.1	29.1 ± 6.7	31.7 ± 10.7
	Spots	Score × 100		MHE	38.9 ± 6.3	39.4 ± 7.2	37.7 ± 8.1
				Placebo	39.2 ± 8.8	38.8 ± 10.0	38.2 ± 9.8
	Texture	Score × 100		MHE	12.2 ± 5.8	12.1 ± 5.5	12.7 ± 7.0
				Placebo	13.6 ± 5.3	12.5 ± 6.0	12.5 ± 6.1
	UV Spots	Score × 100		MHE	30.4 ± 9.2	32.0 ± 9.4	31.0 ± 8.2
				Placebo	32.3 ± 3.7	33.1 ± 2.8	33.9 ± 5.9
	Wrinkles	Score × 100		MHE	11.6 ± 8.8	11.7 ± 7.2	11.0 ± 7.8
				Placebo	16.8 ± 10.2	13.8 ± 16.4	15.3 ± 14.1

Subjects: n = 12 (MHE group), n = 12 (Placebo group). Values: means ± standard deviation. \* p < 0.05, \*\* p < 0.01: Comparison with the Placebo group (t-test). # p < 0.05, ## p < 0.01: Comparison with before administration (Dunnett). MHE, mixed herb extract; AGEs, advanced glycation end products; AF, auto fluorescence; Hb, hemoglobin; SO<sub>2</sub>, oxygen saturation; UV, ultraviolet.



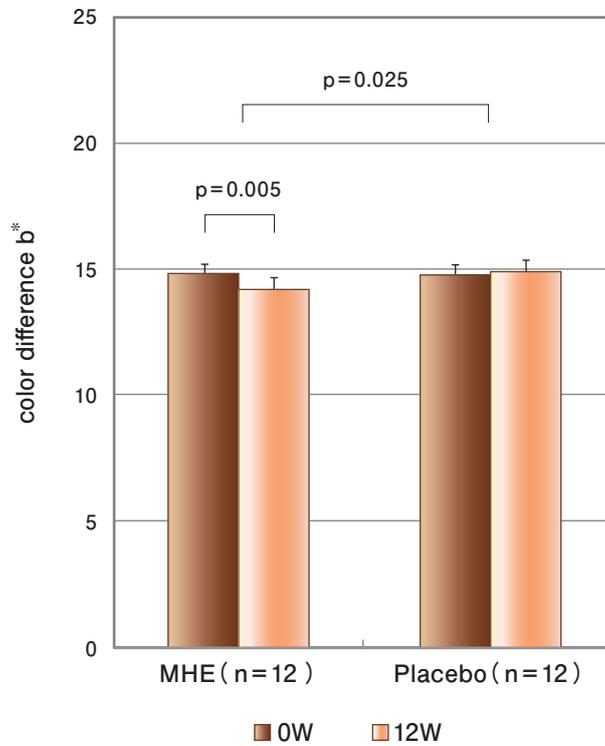
**Fig. 2. Changes in the blood 3DG levels (Healthy subjects).**

Measured value: Average  $\pm$  standard error mean (SEM). Analysis: Dunnett (intra-group) and t-test (inter-group). 3DG, 3-deoxyglucosone; MHE, mixed herb extract.



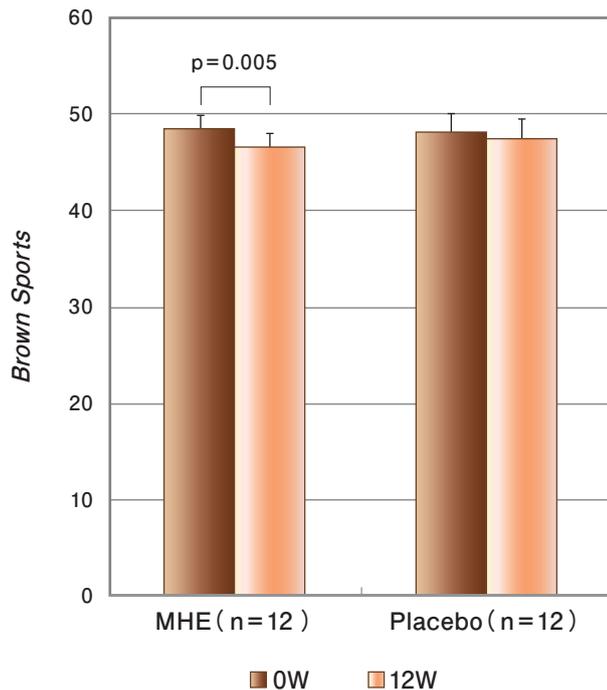
**Fig. 3. Changes in the skin (upper arm) Melanin Index.**

Measured value: Average  $\pm$  standard error mean (SEM). Analysis: Dunnett (intra-group) and t-test (inter-group). MHE, mixed herb extract.



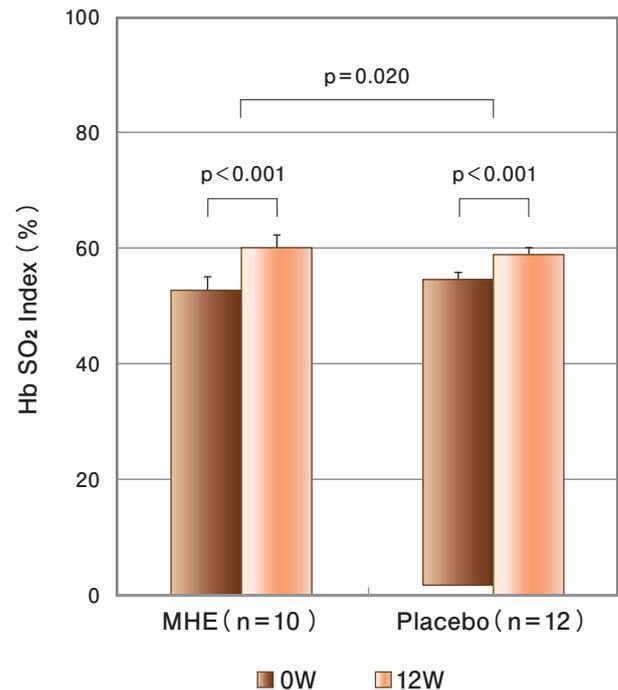
**Fig. 4. Changes in the skin (upper arm) color difference b\* (yellow).**

Measured value: Average  $\pm$  standard error mean (SEM). Analysis: Dunnett (intra-group) and t-test (inter-group). MHE, mixed herb extract.



**Fig. 5.** Changes in *Brown Spots* on the skin (face).

Measured value: Average  $\pm$  standard error mean (SEM). Analysis: Dunnett (intra-group) and t-test (inter-group). MHE, mixed herb extract.



**Fig. 6.** Changes in *Hb SO<sub>2</sub> Index* in the skin (cheek) (Healthy subjects).

Measured value: Average  $\pm$  standard error mean (SEM). Analysis: Dunnett (intra-group) and t-test (inter-group). MHE, mixed herb extract.

## 考察

MHE 含有食品の摂取により、全例の集計で皮膚の黄色化および褐色化を抑制した。また、糖尿病が疑われる被験者を除いた健常者のサブグループにおいては、血中の 3DG が摂取前と比較して 12 週間後に有意に低下した。

先行する研究により、MHE の *in vitro* での 3DG 生成阻害は、4 種類のハーブそれぞれ単独と、4 種類の混合物として報告されている<sup>2)</sup>。また、今回の試験の 6 倍にあたる用量 600mg/day で 2 型糖尿病患者を対象としたオープン試験では、摂取 8 週間後および 12 週間後において、摂取前と比較して血中 3DG の有意な減少が認められた<sup>4)</sup>。従って、今回の試験結果からは、100mg/day では血糖値が高い被験者には用量が足りない可能性が考えられた。

皮膚のメラニン量指数で摂取前後と Placebo 群との比較において有意差が認められたのは、上腕内側の露出していない皮膚で日焼けの影響を受けにくい部分であり、また、測定原理からは糖化反応生成物を含んだ数値になると考えられたことから、糖化反応生成物の減少がメラニン量指数として表れた可能性が考えられた。さらに先行研究により、紫外線や糖化による皮膚中カルボニル化合物は皮膚の黄色化の進展に関連していることが報告されている<sup>1,9)</sup>。

一方、健常者のサブグループによる比較では、血色が Placebo 群と比較して有意に改善された。これは、MHE

のドクダミ<sup>10)</sup>、セイヨウサンザシ<sup>11)</sup> およびブドウ葉<sup>12)</sup> に含まれるフラボノイドやポリフェノールに血管拡張作用や抗酸化作用があることから、それらの成分が作用して血流を改善したものと考えられた。また、既報の MHE 配合酢飲料と同様の結果<sup>6)</sup> であり、その作用が再現したものと推測された。

## 結語

MHE は皮膚色の黄色化および褐色化を抑えた。これは 3DG の生成が抑えられたことによる、カルボニル化の減少の可能性が考えられた。また、血色を改善したことはハーブ成分による可能性が考えられた。なお、連続摂取においても高い安全性を有することが確認された。

## 利益相反申告

本研究はアークレイ株式会社が研究費を出資し、エイキット株式会社が受託して実施した。

## References

- 1) Ogura Y, Kuwahara T, Akiyama M, et al. Dermal carbonyl modification is related to the yellowish color change of photo-aged Japanese facial skin. *J Dermatol Sci*. 2011; 64: 45-52.
- 2) Yonei Y, Yagi M, Hibino S, et al. Herbal extracts inhibit Maillard reaction, and reduce chronic diabetic complications risk in streptozotocin-induced diabetic rats. *Anti-Aging Medicine*. 2008; 5: 93-98
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) Tamura T, Yagi M, Nomoto K, et al. Anti-glycation effect of a novel herbal mixture made of mixed herbal extract and two crude drugs: Short and long term effect. *The Science and Engineering Review of Doshisha University*. 2012; 52: 244-252. (in Japanese)
- 6) Yagi M, Shimoide A, Hamada U, et al. Evaluation of the anti-glycation effect and the safety of a vinegar beverage containing indigestible dextrin and a mixed herbal extract: A placebo-controlled, double-blind study. *Glycative stress research*. 2014; 1: 14-24.
- 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) 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.
- 9) Ohshima H, Oyobikawa M, Tada A, et al. Melanin and facial skin fluorescence as markers of yellowish discoloration with aging. *Skin Res Technol*. 2009; 15: 496-502.
- 10) Jiangang Fu, Ling Dai, Zhang Lin, et al. *Houttuynia cordata* Thunb: A review of phytochemistry and pharmacology and quality control. *Chinese Medicine*. 2013; 4: 101-123.
- 11) Dahmer S, Scott E. Health effects of hawthorn. *Am Fam Physician*. 2010; 81: 465-468.
- 12) European Medicines Agency. Assessment report on *Vitis vinifera* L., folium (Final). 2010. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_HMPC\\_assessment\\_report/2011/01/WC500100390.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2011/01/WC500100390.pdf)