

*Original article***Effect of mangosteen pericarp extract on skin moisture and arterial stiffness: Placebo-controlled double-blinded randomized clinical trial**Kazuhiro Maejima¹⁾, Rei-ichi Ohno²⁾, Ryoji Nagai^{2,3)}, Shuji Nakata⁴⁾

1) Food Development Laboratories, Nippon Shinyaku Co., Ltd., Kyoto, Japan

2) Laboratory of Food and Regulation Biology, Graduate School of Bioscience, Tokai University, Kumamoto, Japan

3) Laboratory of Food and Regulation Biology, Department of Bioscience, School of Agriculture, Tokai University, Kumamoto, Japan

4) Medical Corporation Bokushinkai Clintex Clinic, Tokyo, Japan

Glycative Stress Research 2018; 5 (2): 095-103

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

マンゴスチン果皮熱水抽出物の皮膚ならびに血管機能に対する改善効果：プラセボ対照二重盲検ランダム化並行群間比較試験前嶋一宏¹⁾、大野礼一²⁾、永井竜児^{2,3)}、中田秀二⁴⁾

1) 日本新薬株式会社 機能食品カンパニー 食品開発研究所

2) 東海大学大学院生物科学研究科 食品生体調節学研究室

3) 東海大学農学部バイオサイエンス学科 食品生体調節学研究室

4) 医療法人社団穆心会クリントエグゼクティブクリニック

抄録

【目的】糖化ストレスは加齢によって進む皮膚や血管の機能低下をさらに亢進させる。本研究では、既に抗糖化作用が確認されているマンゴスチン果皮熱水抽出物（WEM）摂取による皮膚および血管機能に及ぼす影響について検証した。

【方法】25歳から59歳の健康女性40名（WEM群20名、プラセボ群20名）を対象とし、WEM 200 mg/日あるいはプラセボを12週間摂取させ、摂取前、摂取4, 8, 12週後に血液検査、皮膚機能検査、血管機能検査を実施するプラセボ対照二重盲検ランダム化並行群間比較試験を行った。

【結果】 WEM 群（試験完遂者 19 名）において、摂取前に比べ血糖値および HbA1c は減少しなかった。血清中のペントシジン濃度は、WEM 群とプラセボ群（試験完遂者 19 名）の間に有意差は認められなかったものの、摂取前と比較して WEM 群は摂取 8 週後に有意に低下したのに対し、プラセボ群では有意な変化はなかった。頬の皮膚水分量は、WEM の摂取によって 8, 12 週後でプラセボ群に比べて有意に増加した。また WEM の摂取により、8 週目でプラセボ群に比べて血管の柔軟性の指標である API (Arterial Pressure volume Index) の値が低値を示した。

【結論】 健常な女性において、WEM の摂取は糖化ストレスを低減し、皮膚の水分量を改善し、血管の硬度を改善することが示唆された。

KEY WORDS: マンゴスチン (*Garcinia mangostana*)、糖化ストレス、advanced glycation endproducts (AGEs)、皮膚水分量、動脈硬化

緒言

蛋白質は糖質と非酵素的に反応し、アマドリ化合物を経て AGEs (Advanced Glycation Endproducts) を生成する¹⁾。代謝異常に伴う過剰な還元糖やカルボニル化合物の産生による生体へのストレスは「糖化ストレス」とよばれ^{2, 3)}、老化の憎悪因子の一つと考えられている。ヒトの体内において AGEs は年齢依存的に^{4, 5)}、また糖尿病合併症⁶⁻¹⁰⁾、動脈硬化¹¹⁻¹⁵⁾などの発症によって蓄積が促進することが知られている。AGEs の一種であるペントシジンは架橋性 AGEs 構造で、皮膚、血管、骨を形成する主要な構造蛋白質であるコラーゲンなどの寿命の長い組織蛋白質に加齢に伴い蓄積する¹⁶⁾。ペントシジンはコラーゲン分子間に非特異的に架橋を形成することから¹⁷⁾、コラーゲンの柔軟性を失わせ、皮膚や血管の機能に大きく影響を及ぼすと考えられる。

AGEs の蓄積を避けるためには、日頃の運動習慣や食生活を改善するのみならず、AGEs の生成を防ぐ食品成分の摂取も効果的と考えられる。野菜や果物に含まれるフラボノイドやカテキン、プロシアニジンのような抗酸化化合物は、*in vitro* においてメイラード反応を阻害し、AGEs の生成を抑制することが知られている¹⁸⁻²⁰⁾。Parengkuan らは食用果実の抽出物のメイラード反応阻害活性を評価し、マンゴスチンの果皮抽出物に強い活性があることを報告している²¹⁾。マンゴスチンはタイなど東南アジアで栽培される果樹で、果物の女王と呼ばれている²²⁾。マンゴスチンの果皮には抗酸化力のある α -mangostin に代表されるキサントン類や、アントシアニン、エピカテキン、プロシアニジン B2 など多様な種類のポリフェノールを含む²²⁻²⁴⁾。アメリカでは果皮を含んだ全果ジュースや、果皮のアルコール抽出物が、健康食品として利用されている^{25, 26)}。特にマンゴスチン果皮の水溶性成分は抗酸化作用が強いことが報告され²⁷⁾、その抽出物は日本市場において健康食品素材としての利用が進んでいる。

これまでに、30-40 歳代健常女性がマンゴスチン果皮

熱水抽出物 (water extract of mangosteen: WEM) を摂取した結果、摂取前に比べて AGEs 蓄積レベルの指標となる皮膚蛍光値が低下し、血中のペントシジン濃度が減少していることが確認されている²⁸⁾。本研究では、糖化ストレスを低減させる WEM の摂取が、皮膚および血管機能にどのような影響を及ぼすか検証した。25 歳から 59 歳健常女性を対象とし、WEM 200 mg/日を 12 週間摂取し、摂取前、摂取 4, 8, 12 週後に血液検査、皮膚機能検査、血管機能検査を実施するプラセボ対照二重盲検ランダム化並行群間比較試験を行った。

方法

対象

被験者は皮膚のたるみやくすみなどの状態に自覚症状のある、20 歳代から 50 歳代の健常な日本人女性を対象とした。臨床試験ボランティア会登録者に対し、被験者募集時に電話で聞き取り調査を行い、被験者の選抜にあたっては以下の除外基準を設定した。1) 現在、薬剤やサプリメントを摂取している者、2) 肝臓、腎臓、心臓、肺、血液等に重篤な障害の既往歴、現病歴がある者、3) アトピー性皮膚炎など皮膚疾患症状を有する者、4) 現在、他のヒト臨床試験に参加している者、または他のヒト臨床試験に参加後、3 ヶ月を経過していない者、5) 試験期間中、生活習慣を変更する可能性のある者（夜間勤務、長期の旅行など）、6) 試験責任医師が本試験の対象として不適当と判断した者。

試験期間中は下記の事項を注意事項として被験者に遵守させた。1) 暴飲暴食や睡眠不足など不規則な生活を避ける、2) 採血時の 4 時間前から検査終了までを絶食とする、3) 生活習慣を変えない、4) 野外で長時間直射日光にあたる行為を禁止し、日常生活でも測定部位が紫外線に直接曝

されないようにする、5) 新たに健康食品を摂取しない、6) スキンケア用品の種類や使用方法を変えない。

試験食品

WEMとしてマンゴスチンアクア（日本新薬、京都府京都市）を使用した。マンゴスチン果皮を2分間煮沸した後、70℃で8時間乾燥させた。乾燥したマンゴスチン果皮を熱水で抽出し、ろ過後、濃縮し、固形分重量の33%のデキストリンを加えた後、スプレードライで粉末化し、rhodanthone Bを0.078%含有するWEMを得た。試験食品はWEMを1カプセル当たり100 mg含有するゼラチンカプセル状食品およびWEMの代わりに結晶セルロースを100 mg含有する外見上区別のつかないプラセボカプセルとした（Table 1）。1日摂取量は2カプセルとし、その栄養成分をTable 2に示す。

Table 1. Test food composition
(Compound amount: mg/2 capsules)

	WEM	Placebo
Water extract of Mangosteen	200	0
Safflower oil	340	340
Bees wax	30	30
Glycerine fatty acid ester	30	30
Crystalline cellulose	0	200

WEM, water extract of mangosteen.

Table 2. Test food nutritional constituents
(Administration amount per day)

	WEM	Placebo
Energy (Kcal)	5.5	5.5
Protein (g)	0.21	0.21
Lipid (g)	0.40	0.40
Carbohydrate (g)	0.27	0.28
Sodium (mg)	0.87	0.66

WEM, water extract of mangosteen.

試験デザイン

ヒト試験のデザインは、プラセボ対照二重盲検ランダム化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抜された40名を無作為に2群に分け、一方をWEM群、もう一方をプラセボ群とした。割付表はキーオープンまで厳密封保管した。被験食品は1日2カプセル（WEMとして200 mg）、12週間摂取し、摂取前（0週）、摂取4、8、12

週後に評価項目の測定および医師問診を実施した。摂取期間は2016年2月から4月とした。

評価項目

・皮膚機能指標

皮膚機能指標として経表皮水分蒸散量と角層水分量を測定した。測定は皮膚洗浄後、恒温恒湿室（21℃±1℃、50%±10%）にて20分馴化後に実施した。経表皮水分蒸散量はテヴァメーター（TM-300; Courage-Khazaka, Köln, Germany）を用い、角層水分量はコルネオメーター（CM825; Courage-Khazaka）を用いた。いずれも左顔の頬骨頂点部を測定した。

・血管機能指標

血管機能指標として、API（Arterial Pressure Index）およびAVI（Arterial Velocity pulse Index）を測定した²⁹⁾。測定はPASESA AVE-1500（志成データム、東京都町田市）を用い、右上腕部にて測定を行った。

・血中のペントシジン定量

血清（0.2 mL）を塩酸加水分解（6N HCl, 100℃, 24時間）後、減圧下で乾固したのち1 mLの蒸留水で溶解した。これを平衡化させた陽イオン交換カラム（Strata-X-Cv Polymeric Strong Cation, 30 mg/mL; Phenomenex, Torrance, CA, USA）に加え、3 mLの0.1 M HClで洗浄し、3 mLの7% アンモニア水で溶出した後、減圧下にて乾固した。これを0.3 mLの16%アセトニトリル0.26% ヘプタフルオロ酪酸（heptafluorobutyric acid: HFBA）水溶液に再溶解し、0.20 μmでろ過した後高速液体クロマトグラフ（high performance liquid chromatography: HPLC）法にて定量した²⁸⁾。

安全性指標

安全性指標として血圧／脈拍、体重／体脂肪率／体格指数（body mass index: BMI）、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を実施した。血圧／脈拍はPASESA AVE-1500を用いて測定した。体重／体脂肪率／BMIは体組成計DC-320（タニタ、東京都板橋区）で測定した。血液学検査項目を以下に示す：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球恒数（MCV、MCH、MCHC）、血小板数。血液生化学的検査項目を下記に示す：総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、尿素窒素（UN）、クレアチニン（CRE）、尿酸（UA）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、γ-グルタミントランスペプチダーゼ（γ-GT）、クレアチンキナーゼ（CK）、CRP 定量（CRP）、総コレステロール（T-C）、トリグリセライド（TG）、LDLコレステロール（LDL-C）、HDLコレステロール（HDL-C）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、クロール（Cl）、鉄（Fe）、空腹時血糖、HbA1c。

統計解析

結果は平均値±標準偏差で示した。検定方法として、摂取前後比較は多重検定（Sidak 法）を用い、群間比較は対応のない t 検定（両側検定）で実施した。有意水準は 5% 未満とした。

倫理指針

本試験は、ヘルシンキ宣言（2013 年 WMA フォルタレザ総会で修正）および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省告示）に遵守した。被験者の人権および安全性と試験データの信頼性の確保を図るため、オリエンタル上野検診センター倫理審査委員会（2016-01-06）、日本新薬株式会社研究倫理委員会（No. A151005）、東海大学「人を対象とする研究」に関する倫理委員会（No. 15132）での審議、承認の下に実施された。本試験は大学病院医療情報ネットワーク臨床試験システム（UMIN-CTR）に登録され実施された（登録番号：UMIN000032310）。

結果

皮膚の糖化はさまざまな皮膚老化に関与する。加齢や 25 歳から 59 歳の 40 名の同意を取得し、WEM 群 20 名、プラセボ群 20 名で試験を開始したが、本人の意思により 2 名が脱落したため、WEM 群 19 名、プラセボ群 19 名となった。これら被験者の背景を Table 3 に示す。

Table 3. Clinical characteristics

	WEM (n=19)	Placebo (n=19)
Age	43.1 ± 10.3	42.9 ± 10.2
Weight (kg)	51.8 ± 6.8	51.6 ± 6.1
Height (cm)	158.5 ± 5.0	156.0 ± 6.8

Values: means ± standard deviation. WEM, water extract of mangosteen.

摂取前における血清のペントシジン濃度は WEM 群のほうが有意に高かった（94.0 fmol /μL vs. 79.3 fmol /μL, $p = 0.036$ ）。WEM 群において、血清ペントシジン濃度は摂取前に比べ摂取 8 週後に有意に減少したが、プラセボ群では摂取前に比べて試験期間を通して有意な変化は認められなかった（Table 6）。血糖値は試験期間を通して摂取前後でも両群間でも有意な差は認められなかった。WEM 群の HbA1c は摂取 8 週後にプラセボ群よりも有意に低かったが、摂取前と比較して顕著な変動は認められなかった（Table 6）。

頬の皮膚の経皮水分蒸散量は、摂取前において WEM 群およびプラセボ群でそれぞれ 18.0 および 16.9 で、群間の有意差はなかった（ $p = 0.468$ ）。摂取前と比較すると摂取 4, 8, 12 週後では、WEM 群において -3.0%, 4.5%, -5.3% で、プラセボ群の 1.0%, 9.9%, 1.7% に比べて低かったが、いずれも群間有意差はみられなかった（Fig. 1-A）。皮膚水分量は摂取前において WEM 群およびプラセボ群でそれぞれ 56.8, 56.4 であり、群間において有意差はなかった（ $p = 0.865$ ）。摂取前と比較すると、摂取 4, 8, 12 週後は WEM 群において 3.6%, -2.7%, 7.4% で、プラセボ群においては -3.0%, -8.4%, -3.9% であり、WEM 群の皮膚水分量はプラセボ群に比べ摂取 8 週後および 12 週後において有意に高かった（Fig. 1-B）。

摂取前における API は WEM 群およびプラセボ群は、それぞれ 23.0 および 22.2 であり、群間の有意差はなかった（ $p = 0.674$ ）。摂取前と比較すると、摂取 4, 8, 12 週後では WEM 群において -7.4%, -13.4%, -8.7% で、プラセボ群において 5.2%, 7.5%, 1.9% であり、摂取 8 週後において、プラセボ群と比較しても、摂取前と比較しても有意に低かった（Fig. 2-A）。摂取前における AVI は WEM 群およびプラセボ群で、18.7 および 17.6 であり群間の有意差はなかった（ $p = 0.540$ ）。摂取前と比較すると摂取 4, 8, 12 週後は WEM 群において -14.9%, -9.8%, -0.7% で、プラセボ群において -0.7%, 5.2%, 9.9% であり、摂取前に比べ摂取 4 週後において有意に低かった（ $p = 0.010$ ）。

被験者の体重、体脂肪率、BMI については WEM 摂取による群間有意差は認められず、また、WEM 群の摂取 4 週間後の体脂肪率が摂取前に比べて有意に低かった以外は、摂取前からの変化は認められなかった（Table 4）。収縮期血圧、拡張期血圧および脈拍は試験期間を通して WEM 群およびプラセボ群で有意な変化はなかった（Table 4）。摂取前からの減少が摂取 4 週および 8 週後の赤血球ならびに摂取 8 週後のヘモグロビンに認められた。WEM 群のヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、血小板数は摂取前からプラセボ群と有意差が認められた（Table 5）。また、TP、CRE、 γ -GT、T-C、LDL-C、HDL-C、Na、K、Cl が摂取後に摂取前に比べて値が変化した、基準値から逸脱しなかった。WEM 群の CK は摂取 12 週後にプラセボ群に比べ低かったが、基準値に範囲内であった（Table 6）。尿検査の結果も基準範囲内であり、WEM 摂取と因果関係がある有害事象もなかった。

Table 6. Hematologic testing

Parameter	Unit	Reference range	Group	0W	4W	8W	12W
Pentosidine	fmol/ μ L	—	WEM	94.0 $\pm$ 20.8*	94.0 $\pm$ 23.9	80.7 $\pm$ 21.8 ^{##}	97.2 $\pm$ 23.0
			Placebo	79.3 $\pm$ 20.9	83.3 $\pm$ 26.8	70.8 $\pm$ 19.8	83.5 $\pm$ 19.7
Glucose	mg/dL	70 – 109	WEM	89 $\pm$ 6	88 $\pm$ 8	90 $\pm$ 7	90 $\pm$ 6
			Placebo	89 $\pm$ 6	90 $\pm$ 6	89 $\pm$ 6	87 $\pm$ 6
HbA1c	%	4.6 – 6.2	WEM	5.2 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.2 ^{##}	5.3 $\pm$ 0.2 ^{##*}	5.3 $\pm$ 0.2 [#]
			Placebo	5.3 $\pm$ 0.2	5.3 $\pm$ 0.3	5.5 $\pm$ 0.2 [#]	5.4 $\pm$ 0.3
Total protein	g/dL	6.7 – 8.3	WEM	7.7 $\pm$ 0.4	7.4 $\pm$ 0.5 [#]	7.5 $\pm$ 0.4	7.6 $\pm$ 0.4
			Placebo	7.7 $\pm$ 0.4	7.4 $\pm$ 0.3 [#]	7.4 $\pm$ 0.5 [#]	7.5 $\pm$ 0.4
Albumin	g/dL	3.8 – 5.3	WEM	4.7 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 0.2
			Placebo	4.6 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.2
Urea nitrogen	mg/dL	8 – 22	WEM	12 $\pm$ 3	13 $\pm$ 4	12 $\pm$ 4	13 $\pm$ 3
			Placebo	11 $\pm$ 3	12 $\pm$ 3	11 $\pm$ 3	12 $\pm$ 3
Creatinine	mg/dL	0.47 – 0.79	WEM	0.59 $\pm$ 0.07	0.61 $\pm$ 0.08	0.62 $\pm$ 0.09	0.64 $\pm$ 0.08 ^{##}
			Placebo	0.55 $\pm$ 0.09	0.57 $\pm$ 0.09	0.58 $\pm$ 0.09	0.61 $\pm$ 0.09 ^{##}
Uric acid	mg/dL	2.5 – 7.0	WEM	4.3 $\pm$ 0.9	4.5 $\pm$ 1.1	4.3 $\pm$ 0.8	4.4 $\pm$ 1.0
			Placebo	4.0 $\pm$ 0.7	4.0 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 0.5	4.1 $\pm$ 0.6
AST (GOT)	U/L	10 – 40	WEM	21 $\pm$ 6	21 $\pm$ 6	20 $\pm$ 6	20 $\pm$ 6
			Placebo	20 $\pm$ 5	20 $\pm$ 4	19 $\pm$ 3	21 $\pm$ 5
ALT (GPT)	U/L	5 – 45	WEM	17 $\pm$ 4	16 $\pm$ 6	16 $\pm$ 5	15 $\pm$ 4
			Placebo	17 $\pm$ 6	15 $\pm$ 5	16 $\pm$ 4	16 $\pm$ 4
γ-GT	U/L	< 45	WEM	21 $\pm$ 11	22 $\pm$ 11	22 $\pm$ 12	22 $\pm$ 12
			Placebo	24 $\pm$ 11	21 $\pm$ 10	20 $\pm$ 7 [#]	18 $\pm$ 6 ^{##}
CK	U/L	45 – 210	WEM	101 $\pm$ 63	81 $\pm$ 20	85 $\pm$ 26	86 $\pm$ 32*
			Placebo	105 $\pm$ 48	104 $\pm$ 57	100 $\pm$ 42	126 $\pm$ 73
CRP	mg/dL	< 0.30	WEM	0.04 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.10	0.05 $\pm$ 0.04
			Placebo	0.04 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.28	0.08 $\pm$ 0.10	0.04 $\pm$ 0.02
T-C	mg/dL	130 – 219	WEM	217 $\pm$ 39	205 $\pm$ 38 ^{##}	210 $\pm$ 40	211 $\pm$ 33
			Placebo	232 $\pm$ 34	222 $\pm$ 29	225 $\pm$ 26	226 $\pm$ 28
TG	mg/dL	35 – 149	WEM	70 $\pm$ 31	68 $\pm$ 21	61 $\pm$ 20	71 $\pm$ 21
			Placebo	76 $\pm$ 33	74 $\pm$ 37	78 $\pm$ 33	73 $\pm$ 33
LDL-C	mg/dL	70 – 139	WEM	118 $\pm$ 32	111 $\pm$ 29 [#]	111 $\pm$ 31	110 $\pm$ 27 [#]
			Placebo	136 $\pm$ 36	127 $\pm$ 31	126 $\pm$ 33	127 $\pm$ 32
HDL-C	mg/dL	40 – 96	WEM	89 $\pm$ 19	81 $\pm$ 19 [#]	88 $\pm$ 20	84 $\pm$ 17
			Placebo	85 $\pm$ 17	81 $\pm$ 19	85 $\pm$ 17	84 $\pm$ 17
Sodium (Na)	mEq/L	135 – 147	WEM	139 $\pm$ 1	141 $\pm$ 2 ^{##}	141 $\pm$ 1 ^{##}	141 $\pm$ 2 [#]
			Placebo	140 $\pm$ 1	141 $\pm$ 1 ^{##}	141 $\pm$ 1 ^{##}	141 $\pm$ 1 [#]
Potassium (K)	mEq/L	3.6 – 5.0	WEM	3.9 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.2 [#]	4.0 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.2
			Placebo	4.0 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.4
Chloride (Cl)	mEq/L	98 – 108	WEM	101 $\pm$ 2*	104 $\pm$ 2 ^{##}	105 $\pm$ 2 ^{##}	104 $\pm$ 2 ^{##}
			Placebo	103 $\pm$ 2	104 $\pm$ 2 [#]	105 $\pm$ 2 ^{##}	105 $\pm$ 2 ^{##}
Serum Iron (Fe)	μ g/dL	40 – 170	WEM	98 $\pm$ 41*	94 $\pm$ 32	96 $\pm$ 35	91 $\pm$ 38
			Placebo	70 $\pm$ 40	80 $\pm$ 42	79 $\pm$ 38	82 $\pm$ 44

Values: means $\pm$ standard deviation. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: Comparison with the Placebo group by t-test. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$: Comparison with before administration by Sidak. WEM, water extract of mangosteen.

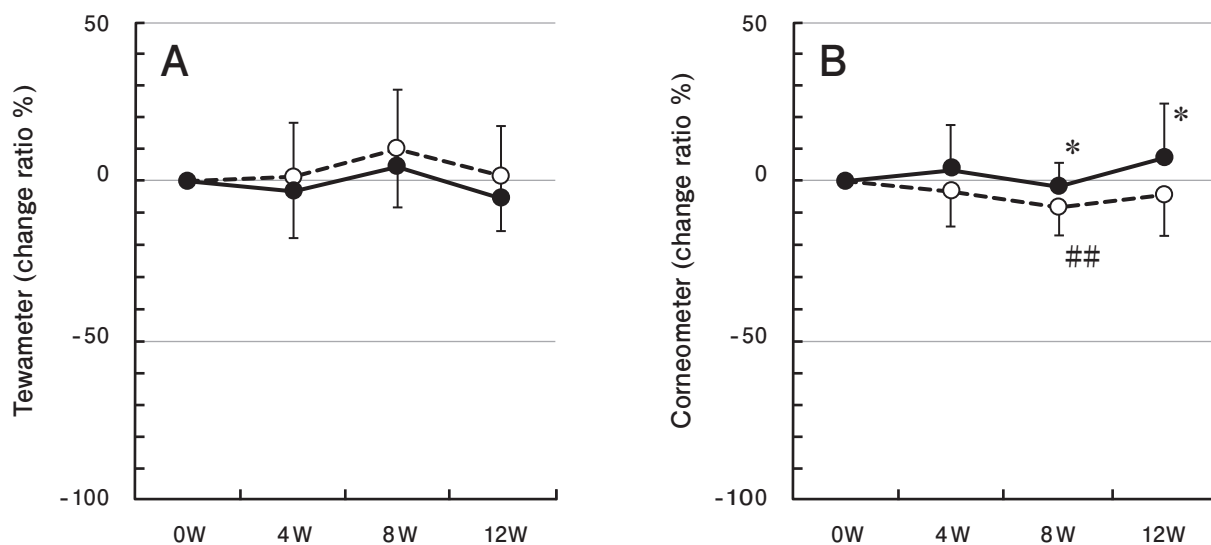


Fig. 1. Values of percutaneous water transpiration quantity measured with Tewameter (A) and skin moisture measured with Corneometer (B).

Results of change ratio (%) of WEM group (●) and Placebo group (○) are expressed as mean $\pm$ standard deviation.

* $p < 0.05$: Comparison with the Placebo group by t-test. # $p < 0.01$: Comparison with before administration by Sidak.

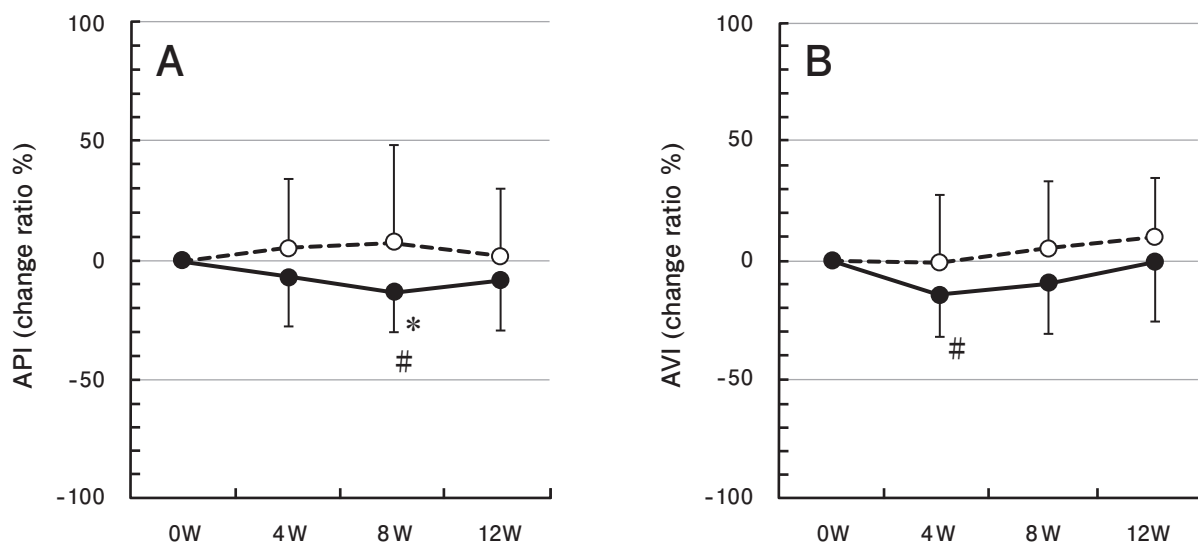


Fig. 2. Values of API (A) and AVI (B) measured with the PASESA.

Results of change ratio (%) of WEM group (●) and Placebo group (○) are expressed as mean $\pm$ standard deviation.

* $p < 0.05$: Comparison with the Placebo group by t-test. # $p < 0.05$: Comparison with before administration by Sidak. API, Arterial Pressure Index; AVI, Arterial Velocity pulse Index.

Table 4. Physical testing

	Parameter	Unit	Group	0W	4W	8W	12W
Body composition	Weight	kg	WEM	51.8 ± 6.7	51.9 ± 6.8	52.1 ± 6.7	52.1 ± 6.9
			Placebo	51.6 ± 6.1	51.9 ± 6.4	52.1 ± 6.4	51.8 ± 6.4
	Body fat	%	WEM	29.2 ± 5.4	28.7 ± 5.5 [#]	28.9 ± 5.5	28.9 ± 5.1
			Placebo	29.7 ± 5.2	30.4 ± 4.6	30.3 ± 4.7	30.1 ± 4.4
	MBI	kg/m ²	WEM	20.6 ± 2.7	20.7 ± 2.7	20.8 ± 2.7	20.7 ± 2.7
			Placebo	21.2 ± 2.4	21.4 ± 2.5	21.4 ± 2.4	21.3 ± 2.4
Blood pressure	Systolic	mmHg	WEM	110 ± 12	105 ± 13	107 ± 12	108 ± 13
			Placebo	108 ± 18	106 ± 17	113 ± 21	108 ± 17
	Diastolic	mmHg	WEM	67 ± 10	63 ± 10	68 ± 9	67 ± 10
			Placebo	63 ± 11	63 ± 11	69 ± 12	67 ± 10
Pulse rate		bpm	WEM	63 ± 9	63 ± 9	68 ± 9	65 ± 10
			Placebo	66 ± 9	69 ± 9	71 ± 13	68 ± 8

Values: means ± standard deviation. [#] p < 0.05: Comparison with before administration by Sidak. WEM, water extract of mangosteen; BMI, body mass index.

Table 5. Hematologic testing

	Parameter	Unit	Reference range	Group	0W	4W	8W	12W
Leukocyte count		/μL	3500 – 9100	WEM	5958 ± 1245	5568 ± 1818	5826 ± 1505	5658 ± 1060
				Placebo	6132 ± 1812	6053 ± 2001	6026 ± 1707	5984 ± 1605
Erythrocyte count	× 10 ⁴ /μL		376 – 500	WEM	452 ± 28	447 ± 28 [#]	441 ± 26 [#]	440 ± 29
				Placebo	453 ± 22	443 ± 18	443 ± 23	443 ± 21
Hemoglobin	g/dL		12.3 – 15.2	WEM	13.6 ± 0.7*	13.5 ± 0.8**	13.3 ± 0.6 ^{###}	13.3 ± 0.9*
				Placebo	12.7 ± 1.5	12.4 ± 1.3	12.3 ± 1.3	12.4 ± 1.4
Hematocrit	%		33.4 – 44.9	WEM	42.1 ± 1.9*	41.3 ± 2.3*	40.7 ± 1.9 ^{###}	41.2 ± 2.4
				Placebo	40.1 ± 3.5	39.1 ± 3.1	38.9 ± 3.1 [#]	39.4 ± 3.4 [#]
MCV	fL		79 – 100	WEM	93 ± 5*	93 ± 4*	93 ± 4*	94 ± 4*
				Placebo	89 ± 7	88 ± 7	88 ± 7	89 ± 7
MCH	pg		26.3 – 34.3	WEM	30.1 ± 1.4**	30.2 ± 1.4**	30.1 ± 1.4**	30.3 ± 1.5**
				Placebo	28.1 ± 2.9	28.0 ± 2.9	27.9 ± 2.9	28.0 ± 2.8
MCHC	%		30.7 – 36.6	WEM	32.3 ± 0.6*	32.7 ± 0.5**	32.6 ± 0.5**	32.3 ± 0.7*
				Placebo	31.6 ± 1.2	31.7 ± 1.1	31.7 ± 1.0	31.5 ± 1.2
Platelet count	× 10 ⁴ /μL		13.0 – 36.9	WEM	23.6 ± 3.7**	23.2 ± 3.8**	23.7 ± 3.6**	24.0 ± 4.3*
				Placebo	30.2 ± 6.4	29.2 ± 6.9	28.7 ± 6.9	29.1 ± 7.2

Values: means ± standard deviation. * p < 0.05, ** p < 0.01: Comparison with the Placebo group by t-test. [#] p < 0.05, ^{##} p < 0.01: Comparison with before administration by Sidak. WEM, water extract of mangosteen.

考察

WEM 群の血中ペントシジン濃度は摂取前に比べ摂取 8 週間後に有意に低下しており、この結果は前報と一致する²⁸⁾。しかしながら、摂取 12 週後に WEM 群とプラセボ群の双方において血中ペントシジン濃度が上昇している。健常者における血中ペントシジン濃度の変動要因については十分な情報がなく、摂取 12 週後のペントシジン濃度の変化の原因については不明である。

皮膚の水分量は摂取 8, 12 週後においてプラセボ群に比べ有意に高かったことから、WEM の摂取によって皮膚の水分保持機能が改善したと考えられる。ペントシジンは真皮のコラーゲン分子間に非特異的に架橋する AGEs である¹⁷⁾。糖化ストレスの改善は、コラーゲン分子間の架橋の生成量を減らして皮膚のターンオーバーが充進し、皮膚のコラーゲンにおける立体構造の改善をもたらすと考えられる。また、AGEs の一種である *N*^ε-(carboxymethyl)lysine (CML) は、皮膚において保水能に寄与するヒアルロナンを分泌する線維芽細胞のアポトーシスを誘導することが報告されていることから^{30, 31)}、糖化ストレスの低減は、真皮の線維芽細胞の働きを改善させた可能性も考えられる。

API は測定部位である上腕動脈の血管の硬さ (Stiffness) を反映している²⁹⁾。WEM 摂取により、8 週後にプラセボ群に比べて API の値が低かったことから (Fig. 2-A)、WEM 摂取により血管の柔らかさが向上していると考えられる。Reddy GK の報告ではウサギの腱を糖化反応させると腱の硬さが増大された³²⁾。これは腱におけるコラーゲンに架橋性 AGEs であるペントシジンが形成されたことが原因であるが³²⁾、WEM 摂取が血中ペントシジン値を低減させたことから、血管におけるコラーゲンの硬さも改善できる可能性を有してしている。一方、AVI 値は血管内皮機能を反映していることが示されている^{33, 34)}。AGEs は RAGE (Receptor of AGEs) を介して炎症を惹起し、NO (nitric oxide) 活性を抑制することで血管に損傷を与えることが報告されている^{35, 36)}。疫学調査に

より API および AVI の値と将来の動脈硬化のリスクとの関係が報告されている³⁷⁾。Fig. 2-B に示された結果では、WEM 群で血管内皮機能が改善されており、WEM 摂取による AGEs 蓄積の低減は、RAGE を介した血管損傷を軽減させ、将来の動脈硬化のリスクを低減することにつながる事が期待される。

Saito らは骨のコラーゲン中のペントシジン濃度が、骨の強度に関係していることを示した³⁸⁾。また、Arai らは血中ペントシジン濃度と統合失調症との相関について報告している³⁹⁾。このように日々の AGEs レベルをモニタリングすることにより、通常健康診断では分からない健康状態の変化を知ることができる可能性がある。生活習慣から生じる AGEs の生成を抑制することは、日々の心と体の健康に大きく寄与し、将来の疾病リスクを低減させることが期待できる。

結語

WEM の摂取は糖化ストレスを低減させ、皮膚の水分量を改善し、皮膚の潤いの保持に寄与することが示唆された。また、血管の柔軟性を改善するとともに、将来の動脈硬化のリスクも低減させる可能性があることが示唆された。糖化ストレスを低減させる WEM の摂取は、将来の疾病リスクを低減させる安全な健康食品としての大きな可能性を有していると考えられる。

利益相反申告

本研究の臨床試験は日本新薬株式会社が出資し、TES ホールディングス (東京都文京区) にて実施された。また血中ペントシジンの定量は日本新薬株式会社が研究費を出資し、東海大学農学部で実施された。

参考文献

- 1) Nagai R, Matsumoto K, Ling X, et al. Glycolaldehyde, a reactive intermediate for advanced glycation endproducts, plays an important role in the generation of an active ligand for the macrophage scavenger receptor. *Diabetes*. 2000; 49: 1714-1723.
- 2) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Med*. 2010; 7: 112-119.
- 3) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Med*. 2011; 8: 23-29.
- 4) Araki N, Ueno N, Chakrabarti B, et al. Immunochemical evidence for the presence of advanced glycation end products in human lens proteins and its positive correlation with aging. *J Biol Chem*. 1992; 267: 10211-10214.
- 5) Kimura T, Takamatsu J, Ikeda K, et al. Accumulation of advanced glycation end products of the Maillard reaction with age in human hippocampal neurons. *Neurosci Lett*. 1996; 208: 53-56.
- 6) Makino H, Shikata K, Hironaka K, et al. Ultrastructure of nonenzymatically glycosylated mesangial matrix in diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 1995; 48: 517-526.

- 7) Yamada K, Miyahara Y, Hamaguchi K, et al. Immunohistochemical study of human advanced glycosylation end-products (AGE) in chronic renal failure. Clin Nephrol. 1994; 42: 354-361.
- 8) Imai N, Nishi S, Suzuki Y, et al. Histological localization of advanced glycosylation end products in the progression of diabetic nephropathy. Nephron. 1997; 76: 153-160.
- 9) Hammes H-P, Weiss A, Hess S, et al. Modification of vitronectin by advanced glycation alters functional properties *in vitro* and in the diabetic retina. Lab Invest. 1996; 75: 325-338.
- 10) Murata T, Nagai R, Ishibashi T, et al. The relationship between accumulation of advanced glycation end products and expression of vascular endothelial growth factor in human diabetic retinas. Diabetologia. 1997; 40: 764-769.
- 11) Kume S, Takeya M, Mori T, et al. Immunohistochemical and ultrastructural detection of advanced glycation end products in atherosclerotic lesions of human aorta with a novel specific monoclonal antibody. Am J Pathol. 1995; 147: 654-667.
- 12) Nakamura Y, Horii Y, Nishino T, et al. Immunohistochemical localization of advanced glycosylation endproducts in coronary atheroma and cardiac tissue in diabetes mellitus. Am J Pathol. 1993; 143: 1649-1656.
- 13) Meng J, Sakata N, Takebayashi S, et al. Advanced glycation end products of the Maillard reaction in aortic pepsin-insoluble and pepsin-soluble collagen from diabetic rats. Diabetes. 1996; 45: 1037-1043.
- 14) Nagai R, Hayashi CM, Xia L, et al. Identification in human atherosclerotic lesions of GA-pyridine, a novel structure derived from glycolaldehyde-modified proteins. J Biol Chem. 2002; 277: 48905-48912.
- 15) Sell DR, Monnier VM. Structure elucidation of a senescence cross-link from human extracellular matrix. Implication of pentoses in the aging process. J Biol Chem. 1989; 264: 21597-21602.
- 16) Dunn JA, McCance DR, Thorpe SR, et al. Age-dependent accumulation of N epsilon-(carboxymethyl)lysine and N epsilon-(carboxymethyl)hydroxylysine in human skin collagen. Biochemistry. 1991; 30: 1205-1210.
- 17) Couppé C, Svensson RB, Grosset JF, et al. Life-long endurance running is associated with reduced glycation and mechanical stress in connective tissue. Age (Dordr). 2014; 36: 9665.
- 18) Urios P, Grigorova-Borsos AM, Sternberg M. Flavonoids inhibit the formation of the cross-linking AGE pentosidine in collagen incubated with glucose, according to their structure. Eur J Nutr. 2007; 46: 139-146.
- 19) Yokozawa T, Nakagawa T. Inhibitory effects of Luobuma tea and its components against glucose-mediated protein damage. Food Chem Toxicol. 2004; 42: 975-981.
- 20) Cai Q, Li BY, Gao HQ, et al. Grape seed procyanidin b2 inhibits human aortic smooth muscle cell proliferation and migration induced by advanced glycation end products. Biosci Biotechnol Biochem. 2011; 75: 1692-1697.
- 21) Parengkuan L, Yagi M, Matsushima M, et al. Anti-glycation activity of various fruits. Anti-Aging Med. 2013; 10: 70-76.
- 22) Obolskiy D, Pischel I, Siriwanametanon N, et al. *Garcinia mangostana* L.: A phytochemical and pharmacological review. Phytother Res. 2009; 23: 1047-1065.
- 23) Fu C, Loo AE, Chia FP, et al. Oligomeric proanthocyanidins from mangosteen pericarps. J Agric Food Chem. 2007; 55: 7689-7694.
- 24) Yoshimura M, Ninomiya K, Tagashira Y, et al. Polyphenolic constituents of the pericarp of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). J Agric Food Chem. 2015; 63: 7670-7674.
- 25) Udani JK, Singh BB, Barrett ML, et al. Evaluation of Mangosteen juice blend on biomarkers of inflammation in obese subjects: A pilot, dose finding study. Nutr J. 2009; 8: 48.
- 26) Balunas MJ, Su B, Brueggemeier RW, et al. Xanthones from the botanical dietary supplement mangosteen (*Garcinia mangostana*) with aromatase inhibitory activity. J Nat Prod. 2008; 71: 1161-1166.
- 27) Ngawhirunpat T, Opanasopi P, Sukma M, et al. Antioxidant, free radical-scavenging activity and cytotoxicity of different solvent extracts and their phenolic constituents from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana*). Pharm Biol. 2010; 48: 55-62.
- 28) Ohno R, Moroishi N, Sugawa H, et al. Mangosteen pericarp extract inhibits the formation of pentosidine and ameliorates skin elasticity. J Clin Biochem Nutr. 2015; 57: 27-32.
- 29) Komine H, Asai Y, Yokoi T, et al. Non-invasive assessment of arterial stiffness using oscillometric blood pressure measurement. Biomed Eng Online. 2012; 11:6.
- 30) Sayo T, Sugiyama Y, Takahashi Y, et al. Hyaluronan synthase 3 regulates hyaluronan synthesis in cultured human keratinocytes. J Invest Dermatol. 2002; 118: 43-48.
- 31) Alikhani Z, Alikhani M, Boyd C M, et al. Advanced glycation end products enhance expression of pro-apoptotic genes and stimulate fibroblast apoptosis through cytoplasmic and mitochondrial pathways. J Biol Chem. 2005; 280: 12087-12095.
- 32) Reddy GK. Cross-linking in collagen by nonenzymatic glycation increase the matrix stiffness in rabbit achilles tendon. Exp Diabetes Res. 2004; 5: 143-153.
- 33) Manco M, Nobili V, Alisi A, et al. Arterial stiffness, thickness and association to suitable novel markers of risk at the origin of cardiovascular disease in obese children. Int J Med Sci. 2017; 14: 711-720.
- 34) Hitsumoto T. Arterial velocity pulse index as a novel marker of atherosclerosis using pulse wave analysis on high sensitivity troponin T in hypertensive patients. Cardiol Res. 2017; 8: 36-43.
- 35) Farmer DGS, Kennedy S. RAGE, vascular tone and vascular disease. Pharmacol Ther. 2009; 124: 185-194.
- 36) Goldin A, Backman JA, Schmidt AM, et al. Advanced glycation end products: Sparking the development of diabetic vascular injury. Circulation. 2006; 114: 597-605.
- 37) Yamanashi H, Koyamatsu J, Nagayoshi M, et al. Screening validity of arterial pressure-volume index and arterial velocity-pulse index for preclinical atherosclerosis in Japanese community-dwelling adults: The Nagasaki islands study. J Atheroscler Thromb. 2018 Feb 3.
- 38) Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: A possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. Osteoporos Int. 2010; 21: 195-214.
- 39) Arai M, Yuzawa H, Nohara I, et al. Enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2010; 67: 589-597.