

Online edition: ISSN 2188-3610 Print edition: ISSN 2188-3602 Received: April 13, 2020 Accepted: May 31, 2021 Published online: June 30, 2021 doi:10.24659/gsr.8.2_87

Original article

An exploratory clinical trial on the effects of mixed herb extract on the inhibition of glycative stress

Eiji Yuasa¹⁾, Naoki Matsuo¹⁾, Hiroshige Kawai¹⁾, Kaori Ishizaki²⁾, Masayuki Yagi²⁾, Sumio Kondo³⁾

- 1) Karada Lab Inc. (Arkray Group)
- 2) Anti-Aging Medical Research Center/Glycative Stress Research Center, Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University
- 3) Medical Corporation Kenshokai Fukushima Healthcare Center

Glycative Stress Research 2021; 8 (2): 87-97 (c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文:日本語翻訳版)

探索的臨床試験における混合ハーブエキスの糖化ストレス抑制作用

湯浅英司¹⁾、松尾直紀¹⁾、河合博成¹⁾、石崎香²⁾、八木雅之²⁾、近藤澄夫³⁾

- 1) 有限会社からだサポート研究所 (アークレイグループ)
- 2) 同志社大学大学院 生命医科研究科 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
- 3) 医療法人健昌会福島健康管理センター

抄録

[目的] 糖化ストレスによって糖化最終生成物 (AGEs) が増加すると、加齢に関係する疾患が進行する。本研究では生体内の酸化蛋白質分解酵素 (OPH) を増強する作用と、蛋白のAGEsの架橋を切断する作用を共に有するハーブを組合せたエキスを用いてヒト試験を探索的に実施した。

[方法] 対象は40歳以上65歳未満の皮膚AGEs沈着量の多い女性24名とした。ハーブは、フェヌグリーク (*Trigonella foenum-graecum*) 種子、フェネル (*Foeniculum vulgare*) 種子、ハイビスカス (*Hibiscus sabdariffa*) 萼および苞の3種を熱水抽出し、エキス固形分6に対してデキストリン4の割合で混合した混合ハーブエキス 粉末とした (商品名:サトナシール)。試験食はカプセル状の食品とした。試験食の摂取量は混合ハーブエキス粉末として100 mg/day 群(L群)12名および300 mg/day 群(H群)12名とした。摂取期間は12週間で摂取前、摂取6、12週間後に理学的検査、血液検査、尿検査、皮膚検査およびアンケートを行った。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: UMIN000025986)。

連絡先:湯浅英司 有限会社からだサポート研究所(アークレイグループ) 〒602-0008 京都市上京区岩栖院町59 擁翠園内 TEL: 080-5781-9033 FAX: 075-431-1253 e-mail: yuasa.al@arkray.co.jp 共著者: 松尾直紀 matsuo.hv@arkray.co.jp; 河合博成 kawaih@arkray.co.jp; 石崎 香 ko-sei12@mail.doshisha.ac.jp; 八木雅之 myagi@mail.doshisha.ac.jp; 近藤澄夫 drc shokuhin@drc-web.co.jp **[結果]** 被験者の2名が開始後に除外基準に抵触したため、解析対象被験者数はL群、H群共に11名となった。 摂取前と12週間後の比較では、ペントシジンおよび空腹時血糖が両群で有意に低下した。また、VISIAのシワ (左右) はL群で、HOMA-IR はH群で有意に低下した。他に3-デオキシグルコソン (3DG)がL群で、カルボキシメチルリジン (N^{ϵ} -(carboxymethyl)lysine: CML) がH群で低下の有意傾向となった。なお、複数の肝機能関連項目で有意な低下が認められた。安全性の評価では、試験食に起因する有害事象または検査値の異常変動は認められなかった。

[結論] 糖化ストレスに関連する項目が低下あるいはその傾向を示したことから、混合ハーブエキスを摂取することで基礎検討において認められた AGEsを減少させる作用が、ヒトにおいても期待されることが示された。また、安全に摂取できることも確認された。

KEY WORDS: 混合ハーブエキス、抗糖化、美肌、

糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs)、ペントシジン (pentosidine)

はじめに

糖化最終生成物(advanced glycation end products: AGEs) は皮膚老化、アルツハイマー病、高血圧、動脈硬化症、骨粗鬆症などの老化や老化に伴う疾患に関与する¹⁾。既に体内に蓄積したAGEsを減少させる方法としては、1) 体の新陳代謝を活発にする、すなわち生体内の酸化蛋白分解酵素(oxidized protein hydrolase: OPH)を増強し、AGEs 化蛋白の分解を促進させること、2) 生体内で直接AGEs の架橋を切断させることなど、が示されている²⁾。

我々のグループは先行研究において、Trigonella foenum-graecum(フェヌグリーク)種子、Foeniculum vulgare (フェネル)種子、Hibiscus sabdariffa (ハイビスカス) 夢および苞の熱水抽出物がOPH 活性増強とAGEs 架橋切断の作用を併せ持つということを報告した 3 。今回の研究では、我々はフェヌグリーク、フェネルおよびハイビスカスを熱水抽出した混合ハーブエキス(商品名: サトナシール)を作製し、探索的臨床試験を実施した。

方法

対象

対象は株式会社 TTC (東京都新宿区) が公募した有償ボランティア 40歳以上65歳未満の日本人女性で、探索的ヒト試験であることを考慮し、統計学的に評価できるよう各群10名としたが、脱落を見込んで低用量群 (L群)12名、高用量群 (H群)12名の各群12名で実施した。

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、選抜された24名を無作為に各12名の2群に分けた。除外基準として、1) 喫煙習慣のある者、2) 平均睡眠時間が5時間未

満の者、3) 抗糖化食品および抗糖化化粧品を常用している者、4) 美肌に影響を及ぼす可能性のある医薬品、健康食品、特定保健用食品、機能性表示食品等を常用している者、など31項目を設定した。また、試験期間中は、日常範囲を大きく逸脱する過度な運動、節食や過食を制限し、睡眠、入浴等の生活習慣も極力変えず、規則的な生活を維持する、など11項目の制限事項を設けて被験者に順守させた。

試験食

フェヌグリークの種子、フェネルの種子、ハイビスカスの萼および苞の3種を熱水抽出し、エキス固形分6に対してデキストリン4の割合で混合して混合ハーブエキスとした。試験食はカプセル状の食品で、試験食は、混合ハーブエキスを含有するカプセル状食品(100 mg/カプセル)とした。試験食の組成および栄養成分をそれぞれ Table 1、Table 2 に示した。

Table 1. Test food composition (Compounded amount: mg/capsule).

Dextrin	143
Mixed herb extract (as Satonaceil)	100
Total	243

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

		L group	H group
Energy	(kcal)	0.86	2.57
Protein	(g)	0.06	0.18
Lipid	(g)	0.00	0.00
Carbohydrate	(g)	0.15	0.46
Sodium	(mg)	0.44	1.31

試験デザイン

試験食はカプセル状の食品を用い、1日あたり L 群 100 mg (1粒)、H 群 300 mg (3粒)を摂取した。被験者は12 週間にわたり、試験食を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6,12週間の計3回、理学的検査、血液検査、尿検査、皮膚検査、身体計測、アンケートおよび問診を受けた。

被験者は検査前日に入浴をすませ夜 12 時までに就寝し、検査当日はシャワーおよび入浴を禁止とした。また、検査前日午後 10 時から当日検査終了まで水以外は絶飲食とし、来院時刻は毎回同様の時刻として検査実施の時刻が毎回同様となるようにするよう設定した(±2時間以内)。

試験期間は2017年1月から2017年5月までとし、美容検査および身体計測をDRC株式会社評価センター(大阪市北区)、採血をいきいきクリニック(大阪市北区)にて実施した。

評価項目

探索的な有効性試験の為、主要評価項目及び副次評価項目は設定しなかった。

糖化関連評価項目として、血液検査(ペントシジン、3-デオキシグルコソン (3DG)、カルボキシメチルリジン (N^{ϵ} -(carboxymethyl)lysine: CML))、皮膚関連検査 (皮膚 AGEs 沈着量、体内 AGEs、角層 CML) を実施した。

美容関連評価項目として、皮膚関連検査(皮膚粘弾性、 色差、肌画像解析)を実施した。

その他有効性評価項目として、血液検査(総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、nonHDLコレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸、動脈硬化指数、グルコース(GLU)、HbA1c、インスリン、HOMA-IR、AST、ALT、γ-GTP、ALP、LDH、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、総蛋白、アルブミン、A/G 比、クレアチニン、尿素窒素、尿酸、Na、K、C1、Ca、Fe)、アンケート(抗加齢 QOL共通問診票)を実施した。

安全性項目として血液学的検査(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)、 尿検査を実施した。

身体計測として体重、BMI、体脂肪率、腹囲およびヒップ周囲径、ウエスト・ヒップ比、収縮期血圧、拡張期血圧を測定した。

被験者は生活日誌に、試験食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) に変化がないか等を記録した。

検査方法

自覚症状 (アンケート項目)

自覚症状の評価は抗加齢 QOL共通問診票4 (Anti-Aging

QOL Common Questionnaire: AAQol)を用いて、「身体の症状」33項目と「心の症状」21項目に分け、最も状態が良い場合を1点、最も状態が悪い場合を5点とした5段階に分けて評価した。

身体計測・理学的検査

身長、体重、血圧、脈拍数のほか、体脂肪率は生体電気インピーダンス法による体成分分析装置 Inbody 720(株式会社インボディ・ジャパン、東京都江東区)を用いた。

血液検査

血液検査のうち糖化関連項目であるペントシジンは同志社大学生命医科学部糖化ストレス研究センター(京都府京田辺市)、3DGは株式会社ビー・エム・エル総合研究所(東京都渋谷区)、それ以外の項目は株式会社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、肌測定部位を洗浄後、室温にて10分の馴化を行い、体内AGEsとVISIAの撮影を行った。その後、恒温恒湿の環境室(20~22°C、50±5%)内で20分間程度、座位安静状態で待機させた。馴化後、同環境室内で色差、皮膚粘弾性を測定し、環境室外で皮膚AGEs沈着量の測定、角層CML測定用の検体採取のためのテープストリッピングを行った。

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⁵に従い、測定部位は上腕内側 (肘頭から肩側に向かって10 cm位) とした。

2) 体内 AGEs

体内 AGEs は、AGEs センサ (エア・ウォーター・バイオデザイン株式会社、兵庫県神戸市)を用いて測定した。マニュアルに従い、測定部位は左手中指とした。

3) 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 は上腕内側とした。

4) 角層 CML

既報⁶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。採取部位は上腕内側とした。測定はエイキット株式会社(岐阜県大垣市)にて実施した。

5) 皮膚色差

皮膚色差測定は分光測色計 CM-2600d 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 港区) を用いた。測定部位は頬および上腕内側とした。

6) 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 23 (日本 IBM 株式会社、東京都中央区)を用いて実施した。検査値は、各群で摂取後各時点の事前検査からの変化量を、1標本 t 検定を用いて評価した。なお、摂取前後の変化量について、2標本 t 検定を用いて L 群と H 群との群間比較を行った。アンケートは、各群で摂取後各時点のスコアを、Wilcoxon 符号付順位検定を用いて事前検査と比較した。また、摂取後各時点の事前検査からのスコアを、Mann-Whitneyの U 検定を用いてL 群と H 群との群間比較を行った。

また、これらの評価項目は、各群について摂取後各時点と事前検査の値の比較には、多重性の調整としてBonferroniの方法を用いた。有意水準はいずれも両側検定で危険率5%未満を有意、10%未満を有意傾向ありとした。

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に則り、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)を遵守して実施した。また、本研究は上野クリニック倫理審査委員会(東京都台東区)へ事前に審査書類を提出し、2017年1月12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。本研究の概要はUMIN 臨床試験登録システム(UMIN-CTR)に登録された(UMIN試験ID:UMIN000025986)。

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2017年1月から開始し、2月7日にスクリーニング検査をした後、24名がL群12名とH群12名へランダムに割付けられ本試験に参加した。その後、1名が貧血と診断され、12週検査で臨床検査を実施できなかった。また1名が花粉症を発症し、長期間鼻炎薬を服用した。以上2名は組入れ後に除外基準に抵触した為、有効性解析対象者から除外した。したがって、L群11名、H群11名の計22名を解析対象者とした。これら被験者の背景をTable 3 に示す。

糖化関連評価項目

糖化関連評価項目の結果を $Table\ 4$ に示す。ペントシジンにおいては L 群、 H 群の摂取 12 週間後で有意な低下が認められた (L 群: p=0.022、 H 群: p=0.011) ($Fig.\ 2$)。 3DG は L 群の摂取 12 週間後で低下の有意傾向がみられ (p=0.052)、基準範囲外 (3DG>18.14 ng/mLの7名) でのサブグループ解析においては L 群の摂取 12 週間後で有意な低下が認められた (p=0.042)。 CML は H 群の摂取 12 週間後で低下の有意傾向がみられた (p=0.086)。

美容関連評価項目

美容関連評価項目の結果を $Table\ 5$ に示す。皮膚の画像診断においては、L 群の摂取 12 週間後でシワの有意な改善(左側:p=0.011、右側:p=0.011) が認められた (Fig.3)。皮膚 (上腕) の色差 b^* (黄色) においては、L 群の摂取 12 週間後で低下の有意傾向 (p=0.078) がみられた。頬の色差 a^* (赤色) においては、L 群および H 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (L 群:p=0.036、H 群:p=0.004) が認められた。

その他有効性評価項目

その他有効性評価項目の結果を Table 6 に示す。

1) 糖代謝関連項目

空腹時血糖においては L 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (p=0.024)、H 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (p=0.016) が認められた (Fig.4)。 HOMA-IR においては H 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (p=0.038) が認められ、L 群の摂取 12 週間後で低下の有意傾向 (p=0.080) がみられた (Fig.5)。インスリンにおいては H 群の摂取 12 週間後で低下の有意傾向 (p=0.092) がみられた。

2) 肝機能関連項目

AST (GOT) においては H 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (p=0.004) が認められた (Fig.6)。 ALT (GPT) においては H 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (p=0.006) が認められた (Fig.7)。 γ -GTPにおいては、基準範囲外 (γ -GTP > 100 U/L の 1名) を除いたサブグループ解析においては H 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (p=0.011) が認められた。また、ALPにおいては H 群の摂取 12 週間後で有意な低下 (p<0.001)、LDHにおいては L 群、 H 群の摂取 12 週間後で有意な低下が認められた (L 群: p=0.014、H 群: p<0.001)。

安全性評価項目

研究期間中に発現した有害事象のうち、重篤な有害事 象はなかった。

L群1件において「鉄欠乏性貧血」の程度が「中等度」であった以外は、いずれの有害事象もすべて「軽度」であった。また、これらすべての有害事象は、試験食との関連性は「なし」または「多分なし」と実施医師責任者が判定し、試験食に起因する有害事象はなかった。

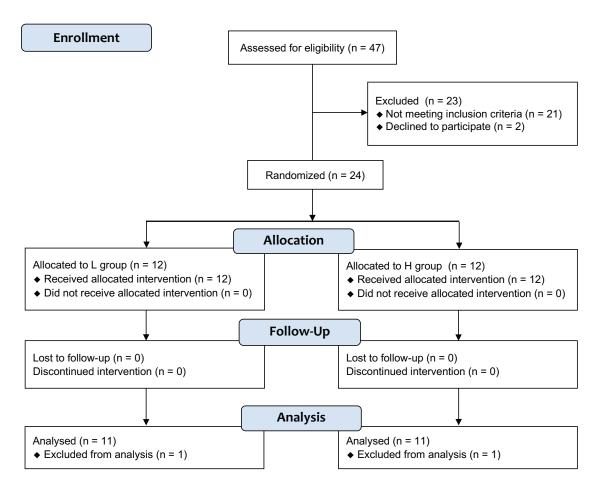


Fig. 1. Tracking flow diagram for trial subjects.

Table 3. Baseline demographic and clinical characteristics (Target group for analysis).

	Unit	Total	L group	H group	p-value
Target size		22	11	11	(t-test)
Age	years of age	47.5 ± 7.4	49.2 ± 8.6	45.8 ± 5.9	p = 0.300
Height	cm	156.3 ± 4.8	156.8 ± 5.3	155.8 ± 4.4	p = 0.629
Weight	kg	51.08 ± 7.77	50.91 ± 7.14	51.25 ± 8.70	p = 0.922
BMI	kg/m^2	20.84 ± 2.43	20.65 ± 2.22	21.03 ± 2.72	p = 0.719
Body fat	%	29.95 ± 3.49	30.88 ± 3.33	29.01 ± 3.55	p = 0.217
Systolic blood pressure	mmHg	116.1 ± 17.3	113.8 ± 13.3	118.4 ± 20.9	p = 0.550
Diastolic blood pressure	mmHg	70.6 ± 12.5	68.1 ± 8.5	73.2 ± 15.6	p = 0.353
Pulse rate	bpm	69.7 ± 11.8	69.6 ± 7.6	69.8 ± 15.3	p = 0.972
Skin AGEs deposit level		2.189 ± 0.191	2.206 ± 0.180	2.171 ± 0.209	p = 0.680

 $Measured\ values:\ Average\ \pm\ standard\ deviation.\ BMI,\ body\ mass\ index;\ AGEs,\ advanced\ glycation\ end\ products.$

Table 4. Glycation-related testing.

Parameter		Unit	Reference range	Group	0W	6W	12W
AGEs in blood	Pentosidine	ng/mL	9.15 - 4.31	L	3.75 ± 2.26	-	3.30 ± 2.39 #
				Н	2.64 ± 0.24	-	2.17 ± 0.27 #
	3DG	ng/mL	3.76 - 18.14	L	19.47 ± 2.96	-	16.82 ± 2.43
				Н	16.20 ± 4.15	-	15.42 ± 2.68
	CML	μg/mL	-	L	1.94 ± 0.26	-	1.85 ± 0.33
				Н	2.67 ± 1.52	-	2.25 ± 1.12
Skin AGEs accumulation level	AF		-	L	2.21 ± 0.18	2.20 ± 0.21	2.18 ± 0.20
				Н	2.17 ± 0.21	2.25 ± 0.24 ##	2.21 ± 0.21
	CML	μg/mg	_	L	96.1 ± 31.4	-	81.6 ± 23.1
	in stratum corneum	protein		Н	93.3 ± 26.7	-	95.4 ± 38.3
Internal body AGEs level	AF			L	0.532 ± 0.067	0.559 ± 0.080	0.525 ± 0.073
	VI.			Н	0.513 ± 0.072	0.554 ± 0.064 #	0.514 ± 0.048

Subjects: n = 11 (L group), n = 11 (H group). Values: Average \pm standard deviation. * p < 0.05, ** p < 0.01: Comparison of two groups (t-test), # p < 0.05, ## p < 0.01: Comparison with before administration (Bonferroni (3 times), paired t-test (twice)). AGEs, advanced glycation end products; 3DG, 3-deoxyglucosone; CML, N^{ε} -(carboxymethyl)lysine; AF, skin autofluorescence.

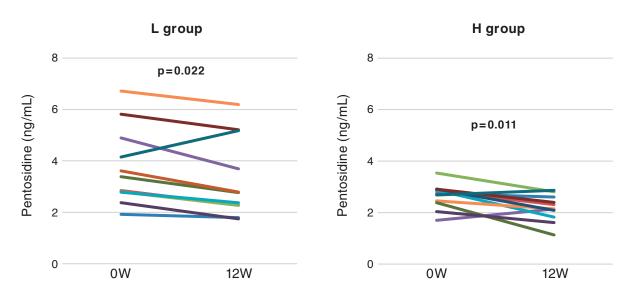


Fig. 2. Changes in the blood pentsidine levels.

a) L group, b) H group. Analysis: Paired t-test (twice).

Table 5. Beauty-related testing.

Parameter		Unit	Group	0W	6W	12W	
Imaging analysis	Skin wrinkles		L	0.134 ± 0.128	-	0.105 ± 0.113 #	
	(left cheek)		Н	0.118 ± 0.147	-	0.085 ± 0.079	
by VISIA	Skin wrinkles		L	0.144 ± 0.106	-	0.112 ± 0.072 #	
	(right cheek)		Н	0.136 ± 0.148	-	0.110 ± 0.106	
	D.2		L	0.815 ± 0.055	0.823 ± 0.046	0.826 ± 0.062	
Skin viscoelasticity	R 2		Н	0.835 ± 0.037	0.830 ± 0.043	0.829 ± 0.038	
(Cheek)	D.7		L	0.533 ± 0.070	0.527 ± 0.059	0.538 ± 0.064	
	R7		Н	0.557 ± 0.050	0.547 ± 0.059	0.552 ± 0.049	
	1 *		L	66.46 ± 2.71	66.55 ± 2.81	66.41 ± 2.66	
	L*		Н	65.01 ± 2.72	65.85 ± 2.07	66.15 ± 1.65	
			L	10.91 ± 2.29	10.32 ± 1.89	9.76 ± 1.56 #	
	a*		Н	12.72 ± 3.19	11.14 ± 2.66 #	10.56 ± 2.67 ##	
Color difference			L	17.33 ± 2.06	17.06 ± 2.14	17.47 ± 2.06	
(Cheek)	b*		Н	15.62 ± 3.28	16.58 ± 3.05	16.75 ± 2.71	
			L	1.052 ± 0.164	1.035 ± 0.202	1.055 ± 0.203	
	Melanin Index		Н	1.054 ± 0.104	1.050 ± 0.136	1.049 ± 0.117	
	Hb SO ₂ Index		L	62.11 ± 8.38	59.72 ± 8.69	57.90 ± 7.50 #	
		%	Н	56.65 ± 7.63	57.97 ± 8.40	55.25 ± 5.67	
	T. di		L	69.90 ± 1.78	69.77 ± 1.96	69.99 ± 1.93	
	L*		Н	70.36 ± 1.62	70.35 ± 1.36	70.57 ± 1.53	
			L	5.61 ± 1.00	5.96 ± 1.34	5.78 ± 1.28	
Color difference (Upper arm)	a*		Н	5.75 ± 1.34	5.85 ± 0.97	5.76 ± 1.22	
			L	16.08 ± 1.79	15.73 ± 1.37	15.56 ± 1.65	
	b*		Н	15.99 ± 1.67	15.58 ± 1.76	15.67 ± 1.58	
			L	0.802 ± 0.156	0.802 ± 0.146	0.792 ± 0.159	
	Melanin Index		Н	0.794 ± 0.121	0.787 ± 0.125	0.774 ± 0.127	
	Hb SO ₂ Index		L	62.95 ± 7.12	57.77 ± 9.01 #	62.98 ± 10.94	
		%	Н	59.86 ± 7.20	57.55 ± 5.79	57.42 ± 8.35	

Subjects: n = 11 (L group), n = 11 (H group). Values: Average \pm standard deviation. * p < 0.05, ** p < 0.01: Comparison of two groups (t-test). # p < 0.05, ## p < 0.01: Comparison with before administration (Bonferroni (3 times), paired t-test (twice)). Hb, hemoglobin; SO₂, oxygen saturation.

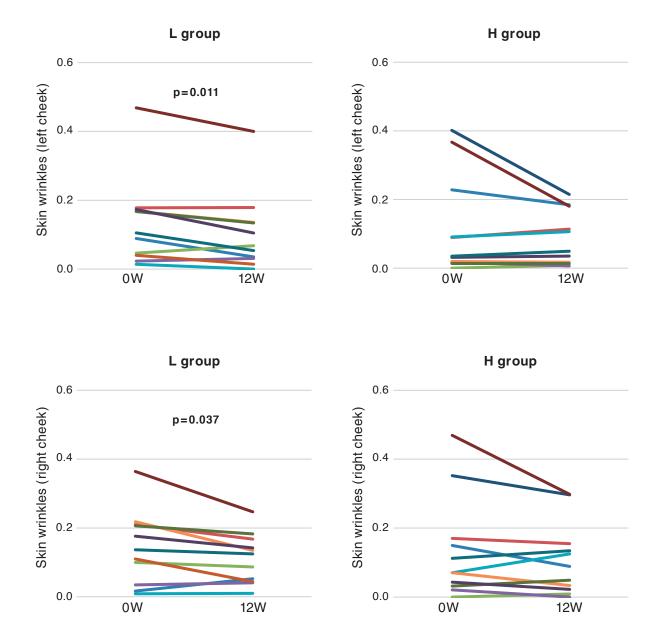


Fig. 3. Changes in the skin wrinkles.

a) L group, left cheek, b) H group, right cheek, c) L group, right cheek, d) H group, right cheek. Analysis: Paired t-test (twice).

Table 6. Other outcomes.

Parameter		Unit	Reference range	Group	0W	6W	12W
	Glucose	mg/dL	70 - 109	L	83.0 ± 5.9	79.0 ± 5.1	76.4 ± 5.0 #
				Н	78.9 ± 8.0	77.7 ± 5.9	74.3 ± 4.6 #
Change motabalism	HOMA ID			L	0.920 ± 0.575	0.793 ± 0.230	0.589 ± 0.213
Glucose metabolism	HOMA-IR		1.6 or below	Н	0.793 ± 0.457	0.730 ± 0.385	0.557 ± 0.351 #
	Insulin	μU/mL	1.7 - 10.4	L	4.42 ± 2.63	4.06 ± 1.16	3.11 ± 1.11
				Н	4.08 ± 2.27	3.72 ± 1.76	3.00 ± 1.76
	AST (GOT)	U/L	10 - 40	L	20.3 ± 3.4	21.7 ± 4.4	18.9 ± 3.2
				Н	19.6 ± 5.3	18.5 ± 3.9	16.7 ± 4.2 ##
	ALT (GPT)	T T / T	5 - 45	L	15.8 ± 3.5	18.4 ± 9.8	15.6 ± 3.9
		U/L		Н	14.9 ± 6.4	11.4 ± 4.8	10.8 ± 3.3 ##
Liver function	CED 11/1	T T / T	30 or below	L	18.5 ± 5.4	25.1 ± 26.8	17.5 ± 8.1
	γ-GTP	U/L		Н	24.5 ± 35.2	15.5 ± 10.0	14.1 ± 8.0
	ALP U/	T T / T	100 225	L	181 ± 28	179 ± 38	173 ± 33
		U/L	100 - 325	Н	202 ± 65	194 ± 50	181 ± 57 ##
	LDH U/L	11/1	120 - 240	L	189 ± 24	181 ± 21	176 ± 24 #
		U/L		Н	164 ± 18	157 ± 16	153 ± 17 ##

Subjects: n=11 (L group), n=11 (H group). Values: Average \pm standard deviation. * p<0.05, ** p<0.01: Comparison of two groups (t-test). # p<0.05, ## p<0.01: Comparison with before administration (Bonferroni (3 times), paired t-test (twice). HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; AST (GOT), aspartate aminotransferase (glutamic oxaloacetic transaminase); ALT (GPT), alanine aminotransferase (glutamic pyruvic transaminase); γ -GTP, γ -glutamyltransferase; ALP, alkaline phosphatase; LDH, lactate dehydrogenase.

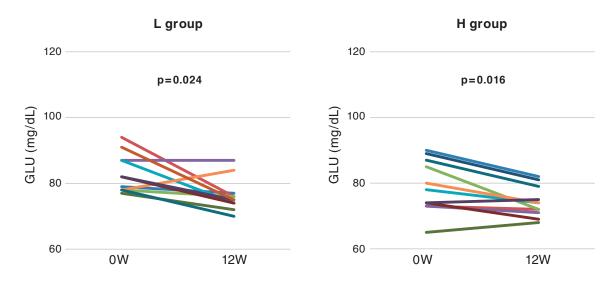


Fig. 4. Changes in the blood glucose levels.

 $\boldsymbol{a})$ L group, $\boldsymbol{b})$ H group. Analysis: Bonferroni (3 times). GLU, glucose.

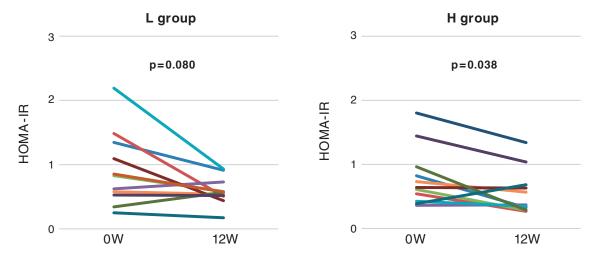


Fig. 5. Changes in HOMA-IR levels.

a) L group, b) H group. Analysis: Bonferroni (3 times). HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance.

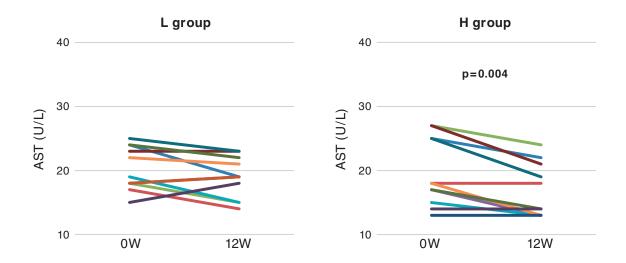


Fig. 6. Changes in AST levels.

a) L group, b) H group. Analysis: Bonferroni (3 times). AST, aspartate aminotransferase.

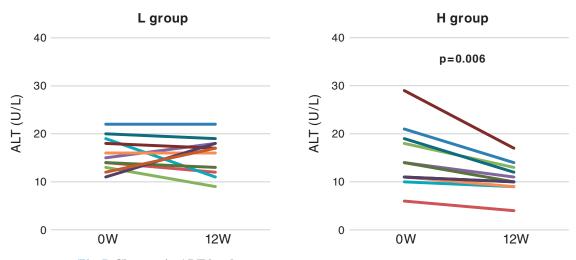


Fig. 7. Changes in ALT levels.

a) L group, **b)** H group. Analysis: Bonferroni (3 times). ALT, alanine aminotransferase.

考察

1. 安全性

混合ハーブエキスの摂取に起因する重篤な有害事象がなかったことは、各ハーブが、古来、スパイス、漢方薬、ハーブティーに使用されている⁷⁻⁹⁾、長い食経験を有する素材であるためと考えられた。このため混合ハーブエキスは食品素材として十分な安全性を有すると推定された。

2. 糖化ストレス抑制作用

試験食の摂取により、L群およびH群の両群でペントシジンが摂取前と比較して12週間後に有意に低下した。またL群において3DGが摂取前と比較して12週間後に低下の有意傾向がみられ、H群においてCMLが摂取前と比較して12週間後に低下の有意傾向がみられた。

これらの血中 AGEs および糖化反応中間体の低減作用は、先行研究 3)におけるフェヌグリーク、フェネル、ハイビスカスの 1) OPHを増強して AGEs 化蛋白分解作用を促進させる、2) 直接 AGEs の架橋に作用して切断させる、という効果による作用の可能性が示唆された。

また本研究ではL群において皮膚画像診断による左右のシワが摂取前と比較して12週間後に有意に低下した。また皮膚上腕部の色差 b^* (黄色) についてはL群において低下傾向がみられた。これまでに、皮膚を形成するコラーゲン等の糖化が肌弾力の低下やシワ形成に関与していること 10 、皮膚蛋白のカルボニル化による肌の黄色化 1 など、糖化による皮膚への影響が報告されている。したがって、混合ハーブエキス摂取によるシワ改善効果および肌の黄色化抑制は体内のAGEsおよび糖化反応中間体の低下作用が寄与している可能性が示唆された。頬の色差 a^* (赤色) については、季節変動の可能性を排除できないため、さらなる評価が必要と考える。

一方で糖代謝関連項目(空腹時血糖および HOMA-IR)ならびに肝機能関連項目(AST(GOT)および ALT (GPT)、他複数項目)において、混合ハーブエキスの摂取による変化が認められた。混合ハーブエキスに含まれるフェヌグリーク種子は、血糖値低下効果についてはヒト臨床試験で報告 11)されており、肝機能改善効果についてはラットでの報告 12)やヒトでの有効性が示唆されていることから、それらの成分が作用して糖代謝および肝機能の変化をもたらした可能性が考えられる。特に糖代謝改善に関しては体内の糖化リスクを低減することが期待される。

結語

混合ハーブエキスの摂取により、糖化ストレスに関連する項目(ペントシジン、3DG、CML)において有意な低下あるいは低下傾向を示したことから、フェネル、フェヌグリークおよびハイビスカスを用いた基礎検討で認められた、AGEsを減少させる作用がヒトにおいても現れている可能性が確認された。また今回の試験における美容関連評価項目の改善はそれらの作用が寄与している可能性が考えられる。したがって本研究により、混合ハーブエキスの摂取は糖化ストレスによりAGEsを体内に既に蓄積した人においてAGEs量を減らしていることが示唆され、同時に美容分野での応用が期待される。

また、本混合ハーブエキスは安全に摂取できることも 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、株式会社TTCの管理のもと適切に実施された。近藤澄夫は医療法人健昌会福島健康管理センターに所属する本試験の実施医師責任者であり、委託業務を遂行したが開示すべき利益相反事項はない。

謝辞

本研究の発表にあたり(一般財団法人)医食同源生薬研究財団より支援を受けた(IDF#21004)。

参考文献

- 1) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 1. What is glycative stress? *Glycative Stress Res*. 2016; 3: 152-155.
- Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 14. Regulation of glycative stress. 2. Inhibition of the AGE production and accumulation. *Glycative Stress Res*. 2019; 6: 212-218.
- 3) Kawai H, Matsuo N, Yuasa E, et al. Investigation of herbal extracts that have both OPH activity enhancing action and AGE crosslink cleaving activity. *Glycative Stress Res*. 2019; 8: 39-44.
- Oguma Y, Iida K, Yonei Y, et al. Significance evaluation of Anti-Aging QOL Common Questionnaire. Glycative Stress Res. 2016; 3: 177-185.
- 5) 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.
- 6) 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.
- Yadav UC, Baquer NZ. Pharmacological effects of Trigonella foenum-graecum L. in health and disease. Pharm Biol. 2014; 52: 243-254.
- 8) Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH. *Foeniculum vulgare* Mill: A review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. *Biomed Res Int*. 2014; 842674.
- 9) Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, et al. *Hibiscus sabdariffa* L.: A phytochemical and pharmacological review. *Food Chem.* 2014; 15; 165: 424-443.
- 10) YagiM, YoneiY. Glycative stress and anti-aging:7. Glycative stress and skin aging. *Glycative Stress Res*. 2018; 5: 50-54.
- 11) Neelakantan N, Narayanan M, de Souza RJ, et al. Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) intake on glycemia: a meta-analysis of clinical trials. *Nutr J*. 2014; 13.
- 12) El-Wakf AM, Hassan HA, Mahmoud AZ, et al. Fenugreek potent activity against nitrate-induced diabetes in young and adult male rats. *Cytotechnology*. 2015; 67: 437-447.