

Original article

## Effects of rooster comb degradation product containing low-molecular hyaluronic acid (INJUV) in individuals with eye dryness; open-label trial with no control group.

Masahiko Ayaki<sup>1)</sup>, Sachio Wakayama<sup>2)</sup>, Yoshikazu Yonei<sup>3)</sup>

1) Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

2) Laimu Corporation, Yokohama, Kanagawa, Japan

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

Glycative Stress Research 2022; 9(2): 97-105

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

## 鶏冠酵素分解物 (INJUV) 含有食品摂取による目の潤い改善の検討試験：無対照オープンラベル試験

綾木雅彦<sup>1)</sup>、若山祥夫<sup>2)</sup>、米井嘉一<sup>3)</sup>

1) 慶應義塾大学医学部眼科学教室

2) 株式会社らいむ

3) 同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター

### 抄録

**【目的】** 低分子ヒアルロン酸 (hyaluronic acid: HA) を主成分とする鶏冠酵素分解産物含有食品試験品 (INJUV) を摂取した時の自覚症状・他覚症状の変化と安全性を確認するために、無対照オープンラベル試験を施行した。

**【方法】** 目の乾きや疲れ目を自覚する健康な者 25 名から症状の強い者 12 名 (男性：6 名、女性：6 名、年齢：37.8 ± 10.1 歳) を選択し対象とした。対象は INJUV を 4 週間経口摂取し、摂取前後に眼検査とアンケート調査を行い、結果を比較した。

**【結果】** 自覚症状として「目が乾く」、「目が痛い」、「目が疲れる」、「まぶたが重たい」などが有意に改善した。抗加齢 QOL 共通問診票の中で「目が疲れる」「目がかすむ」「眼痛」「肩がこる」「筋肉痛・こり」「だるい」「肌の不調」「頭痛」「めまい」の 9 項目が有意に改善した。涙液層破壊時間が 3.6 秒から 5.5 秒に改善 ( $p < 0.05$ )、

眼圧が 13.0 mmHg から 11.7 mmHg に下降し ( $p < 0.01$ )、拡張期血圧が 73.3 mmHg から 68.9 mmHg に低下した ( $p < 0.05$ )。試験期間中に有害事象はみられなかった。

**【結論】** INJUV 摂取による眼症状と QOL の改善効果、眼表面の改善効果、さらに眼圧と拡張期血圧の下降効果および安全性が示された。本試験品は吸収効率の良い低分子 HA が眼表面の細胞ならびに環境に好影響をもたらした可能性があり、不快なドライアイ症状の軽減を介して眼圧と拡張期血圧も下降したと推測された。本試験品の有効性評価および作用機序については今後さらなる検討が必要である。

**KEY WORDS:** 低分子ヒアルロン酸、ドライアイ、ドライアイ QOL 質問票 (DEQS)、涙液層破壊時間、眼圧、血圧

## はじめに

今回の研究で用いた試験の有用成分インジュヴ (INJUV、以下試験食品とする) は、鶏冠酵素分解物を凍結乾燥処理した粉末状の物質で、高分子型ヒアルロン酸を含む鶏冠を丸ごと常温酵素分解により超低分子化したものが主要成分である。過去に関節痛と腰痛に関するオープンパイロット試験を施行した結果、腰痛・膝関節痛の自覚症状改善、膝関節可動域の開大を認めた<sup>1)</sup>。自覚症状の推移について抗加齢 QOL 共通問診票 (AAQol) を解析したところ、「関節痛」「腰痛」に加えて、眼症状「目が疲れる」「目がかすむ」のスコアの有意な改善を認めた。これらの症状は眼科疾患ドライアイとの関連することから、今回の試験実施に至った。ドライアイは通常点眼薬で治療され、ピロカルピン塩酸塩内服や乳酸菌・ラクトフェリン配合サプリメントも使われるがあまり一般的ではない。試験食品のドライアイ症状に及ぼす影響について検証する目的で、「目の渇きや疲れ目を自覚する者」を対象に対照群なしのオープン試験を実施した。

## 方法

### 対象

対象は、日常生活において目の渇きや疲れ目を自覚する 20 歳以上 60 歳未満の健康な男女 25 名を募集、事前調査において、選択基準に該当し、除外基準に抵触しておらず、DEQS (ドライアイ QOL 質問票)<sup>2)</sup> における QOL スコア高値順に 12 名を本試験へ選抜した。本試験は、上記のように 12 名で試験を開始し、中止症例なく全 12 名にて試験終了、全被験者を解析対象とした。被験食品 (INJUV 含有食品) 群 12 名 (男性: 6 名、女性: 6 名) の年齢は、 $37.8 \pm 10.1$  歳 (男性:  $37.8 \pm 8.9$  歳、女性:  $37.7 \pm 12.0$  歳)

であり、割付時の DEQS の QOL スコアは、 $52.4 \pm 13.6$  (男性:  $56.5 \pm 15.7$ 、女性:  $48.3 \pm 10.9$ ) であった。選択基準および除外基準を次に示した。

### 選択基準

- 1) 試験参加の同意取得時点での年齢が 20 歳以上 60 歳未満の男女
- 2) 健康な者で、眼・皮膚疾患を含む、慢性身体疾患がない者
- 3) 日常生活においてドライアイ様症状 (目が疲れる、目がゴロゴロする、目が乾いた感じがする、目に不快感がある、目がヒリヒリ痛い、目が赤い、朝、目が開けにくい、目がくしゃくしゃするなど) を自覚する者
- 4) 日常生活において、VDT (visual display terminals) 作業を週に 5 日、週に 20 時間以上行っている者 (テレビゲーム、パソコンや携帯電話の操作時間を含む)
- 5) 矯正視力が両眼視力 1.0 以上で、コンタクトレンズを使用していない者、または試験期間中に眼鏡に変更できる者
- 6) 本試験の目的、内容について十分な説明を受け、同意能力があり、よく理解した上で自発的に参加を志願し、書面で本試験参加に同意できる者
- 7) 指定された検査日に来所でき、検査を受けることのできる者
- 8) 試験責任医師が本試験への参加を適当と認めた者

### 除外基準

- 1) 現在、何らかの疾患を患い薬物治療を受けている者
- 2) 過去 1 ヶ月において、疾患治療を目的とした、薬物の摂取、塗布習慣のある者 (頭痛、月経痛、感冒などの頓服歴は除く)
- 3) 精神疾患、睡眠障害、高血圧、糖尿病、脂質異常症や重篤な疾患の既往歴・現病歴のある者

- 4) 肝、腎、心、肺、血液等の重篤な障害の既往歴・現病歴のある者
- 5) 消化器官に併存疾患および重篤な既往歴のある者
- 6) 日常において、人工涙液 (点眼剤) を1日6回以上使用している者
- 7) 老眼と診断された者、または老眼を自覚している者
- 8) 眼表面疾患、眼瞼内反症、睫毛乱生症のある者
- 9) ドライアイ確定診断をされた者
- 10) 眼疾患治療のために点眼薬を使用している者
- 11) 屈折異常があり、適切な矯正を行っていない者
- 12) レーシックなどの角膜手術を受けた者
- 13) 強度乱視 (> 2.0D) がある者
- 14) 目の疲れの原因が、神経症等、調節機能障害にあると思われる者
- 15) BMIが30.0 kg/m<sup>2</sup>以上の者
- 16) 薬物および食品アレルギーを有する者
- 17) 現在、ならびに過去3ヶ月以内において眼関連機能改善を標榜する、機能性表示食品、健康食品、サプリメント類の継続的な摂取習慣のある者、また試験期間中に摂取予定のある者
- 18) 現在、ならびに過去3ヶ月以内において鶏冠酵素分解物、ヒアルロン酸、コラーゲン、プロテオグリカン、エラスチン、またはそれらの前駆体を含有した健康食品などの継続的な摂取習慣のある者、また試験期間中に摂取予定のある者
- 19) 日常的な飲酒量が純アルコール換算で平均60 g/日を超える者
- 20) 試験期間中、生活習慣を変更する可能性のある者
- 21) 夜間勤務者
- 22) 妊娠中、授乳中あるいは妊娠の可能性のある者
- 23) 現在、他ヒト臨床試験に参加している者、他ヒト臨床試験参加後、3ヶ月間が経過していない者
- 24) 本人または家族が健康・機能性食品および化粧品を開発・製造もしくは販売する企業に従事している者
- 25) その他、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

## 被験食品

被験食品は「インジュヴ・カプセル」とし、株式会社らいむ (神奈川県横浜市) より提供を受けた。インジュヴ (以下 INJUV) は、鶏冠酵素分解物を凍結乾燥処理した粉末状の物質である。本被験食品には、特徴的主成分として超低分子化 (分子量380~5,000) されたヒアルロン酸、その他コラーゲンペプチドが関与成分として含まれている。ヒアルロン酸は全身臓器に分布するが、関節では関節滑膜から産生されて関節液の主成分となっている他、関節軟骨アグリカンの構成成分である<sup>3)</sup>。ヒアルロン酸は保水<sup>4,5)</sup>、関節の潤滑<sup>6)</sup>、細胞間接着<sup>7)</sup>、免疫調整作用<sup>8)</sup>に重要な役割を有する。ドライアイに対してはヒアルロン酸点眼剤がしばしば用いられている<sup>9)</sup>。

本試験では INJUV 150 mg を含有するカプセルを1日

2回、4カプセルずつを水又はぬるま湯と共に4週間摂取させた (INJUVとして1回600 mg × 2回 = 1,200 mg/日)。

## 試験デザイン

試験形態は無対照オープン試験とした。

本試験では被験食品摂取前、摂取4週間後に目の潤いに関連する指標として、DEQS (ドライアイQOL質問票)、自覚症状に関するVASアンケート (Visual Analogue Scale)、BUT (Tear film breakup time) 涙液層破壊時間検査、シルマーテスト (Schirmer's test)、視力検査、眼圧検査を実施した。また、被験食品摂取によるQOLへ与える影響について抗加齢QOL共通問診票 (AAQoI) を用い調査を実施した。

被験食品4週間連続摂取の安全性については、眼底検査、細隙灯顕微鏡検査、血圧/脈拍、医師問診、有害事象/副作用発現有無、被験者日誌にて確認した。なお、事前検査において被験者背景調査、優位眼判定、屈折検査を実施した。

試験実施期間は2021年9月~2021年11月であった。

## 評価項目

### ・自覚症状

#### DEQS (ドライアイQOL質問票)

DEQS (ドライアイQOL質問票) では、「目の症状」に関する6項目と「日常生活への影響」に関する9項目の全15項目について、被験者はまずその症状の頻度を尋ねた質問に回答した後 (A欄)、その症状が少しでもあったと答えた被験者に対しては症状が気になったか、どの程度困ったかという回答 (B欄) を記載し、B欄スコア合計/有効回答数\*25で「QOLスコア」を計算し、ドライアイの症状の重症度や日常生活への影響、精神面への影響を被験食品摂取前と摂取4週後の前後比較で評価した。

### 自覚症状に関する体感VASアンケート

#### (Visual Analogue Scale)

自覚症状に関する体感VASアンケートでは、「眼の乾き」「眼のざらつき」「眼の痛み」「眼のかすみ」「眼の疲れ」「視界の鮮明さ」「肩こり」「頭痛」「眠りの深さ」について過去1週間の程度について、左端を最も良い状態 (症状なし)、右端を最も悪い状態 (過去最大の症状) とし、VAS (Visual Analogue Scale) 法を用い100 mmの線分上で回答させ、被験食品摂取前と摂取1週後、摂取2週後、摂取3週後、摂取4週後の前後比較で評価した。

### 抗加齢QOL共通問診票

自覚症状の評価は、AAQoIを使用した<sup>10,11)</sup>。「身体の症状」と「心の症状」に分け、ポイント1~5の5段階に分けてそのスコアを被験食品摂取前と摂取4週後の前後比較で評価した。

## ・眼検査

以下眼検査については、優位眼判定を実施し、いずれの項目も優位眼値、非優位眼値にて集計し、被験食品摂取前と摂取4週後の前後比較で評価した。すべての眼検査は医療機関で実施し眼科専門家が判定した。

### 涙液層破壊時間検査 (Tear film break-up time: BUT)

被験者には瞬きを我慢させ、涙液層の破綻(涙が角膜上を覆っていない部分が出現し、次第に拡大してゆく現象)されるまでの時間「涙液層破壊時間」を測定した。

### シルマーテスト(Schirmer's test)

被験者に対して規定の濾紙を下眼瞼にはさみ、5分間でのくらの長さまで濡れるかを判定(計測/mm)した。

### 視力検査

右眼、左眼での裸眼視力、矯正視力を測定した。優位眼を決定して解析した。裸眼視力と矯正視力は測定で得られた小数視力値を対数視力であるLogMAR(Logarithm of Minimum Angular Resolution)に換算して統計解析を行った。換算式は $\text{LogMAR} = -\text{Log}_{10}$ (小数視力値)である。小数視力は2点を識別できる最小視角の逆数であり、そのままの数値では統計処理ができないからである。たとえば小数視力1.2はLogMARでは-0.08、1.0は0.00、0.8は0.10に換算されるので、LogMAR視力値が小さいほど視力は良好ということになる。結果はLogMARならびにLogMARを小数視力値に再度換算して表示した小数視力値の両方を表示した。

### 屈折検査

暗所または準暗所(窓には遮光カーテン)にて検査を実施した。

### 眼圧検査

空気圧式眼圧計を使用して、右眼、左眼ともに3回の測定を実施した。なお、瞬目などにより外れ値が出た場合は再測定を行い、外れ値を除く3回の眼圧平均値を算出した。

### 安全性

眼底検査、細隙灯顕微鏡検査、血圧/脈拍測定、医師による問診/副作用の発現有無/有害事象判定を実施した。

### 統計解析

統計解析には、統計解析ソフトSAS(SAS 9.4; SAS Institute Japan、東京都港区)またはSPSS(Statistics 26; 日本アイ・ビー・エム、東京都中央区)を用い、摂取前との比較についてpaired-t testを施行した。DEQS(ドライアイQOL質問票)、抗加齢QOL共通問診票より得られるスコア、視力検査結果は、ノンパラメトリックとして取り

扱い、摂取前との比較についてWilcoxonの符号付順位検定を行った。すべての検定について有意水準は両側検定で5%とした。

### 倫理基準

本試験は「一般社団法人糖化ストレス研究会」(東京都中野区)にてヒト試験倫理委員会の承認のもとに施行した(GSE #2021010)。本試験については臨床試験事前登録を行った(UMIN #000045484)。

## 結果

### 自覚症状評価

4週間の被験食品の摂取により以下の如く自覚症状の改善がみられた。

### DEQS(ドライアイQOL質問票)

DEQSの「目の症状」に関する項目(6項目)について、被験食品摂取前と比較して摂取4週後において、A欄は「目がごろごろする」、「目が乾く」、「目が痛い」、「目が疲れる」、「まぶたが重たい」、「目が赤くなる」の全6項目について有意に改善した( $p < 0.05$ )。B欄についても「目が乾く」、「目が痛い」、「目が疲れる」、「まぶたが重たい」の4項目について、有意に改善した( $p < 0.05$ )。

「日常生活への影響に関する項目」(9項目)について、被験食品摂取前と比較して摂取4週後において、A欄は「目を開けているのがつらい」、「目を使っていると物がかすんで見える」、「新聞、雑誌、本などを読んでいる時、目の症状が悪くなる」、「テレビを見ている時、パソコン・ケータイを使っている時に目の症状が悪くなる」、「目の症状のため集中力が低下する」、「目の症状のため仕事・家事・勉強に差し障りがある」の6項目について有意に改善した( $p < 0.05$ )。B欄についても「テレビを見ている時、パソコン・ケータイを使っている時に目の症状が悪くなる」、「目の症状のため集中力が低下する」の2項目について、有意に改善した( $p < 0.05$ )。

B欄(程度)スコアを用いて計算したQOLスコアは、被験食品摂取前の $52.4 \pm 13.6$ から摂取4週後に $23.6 \pm 10.6$ へと有意に改善した( $p < 0.01$ , [Table 1](#))。

### 自覚症状に関するVASアンケート (Visual Analogue Scale: VAS) ([Table 1](#))

VASアンケート(9項目)について、被験食品摂取前と比較して摂取1週後において、「眼の乾き」、「眼のかすみ」、「眼の疲れ」、「視界の鮮明さ」、「肩こり」の5項目で有意に改善した( $p < 0.05$ )。摂取2週後、3週後には1週後で有意に改善した5項目に加え、「眠りの深さ」も有意に改善した( $p < 0.05$ )。摂取4週後には、「眼のざらつき」、「眼の痛み」を加えた8項目で有意に改善した( $p < 0.05$ )。

## 抗加齢QOL共通問診票 (Table 2)

抗加齢QOL共通問診票について、被験食品摂取前と比較して摂取4週後において、身体の症状「目が疲れる」「目がかすむ」「眼痛」「肩がこる」「筋肉痛・こり」「だるい」「肌の不調」「頭痛」「めまい」で有意に改善した ( $p < 0.05$ )。

## 眼検査 (Table 1)

### 涙液層破壊時間検査

(Tear film break-up time: BUT)

BUTは、目の表面を覆っている涙が、どのくらいの時間で乾燥し始めるかを調べる検査である。瞬目(まばたき)を止めて正面を見ていると、次第に目の表面が乾いて表面の形状が不均一になってくるが、この時間をBUTとして測定する。BUTの正常値は10秒以上で、5秒以下の場合、ドライアイと診断される。BUT(両眼平均値)は12名中9名が5秒未満であった。被験食品摂取前と比較して摂取4週後において、優位眼で摂取前  $4.1 \pm 2.6$  から摂取4週後に  $5.6 \pm 2.6$  ( $p = 0.194$ )、非優位眼で摂取前  $3.2 \pm 1.3$  から摂取4週後に  $5.5 \pm 2.3$  ( $p < 0.01$ )、両眼平均では摂取前  $3.63 \pm 1.72$  から摂取4週後に  $5.54 \pm 2.36$  へ有意に改善した ( $p < 0.05$ )。

### シルマーテスト (Schirmer's test)

シルマーテストは涙の分泌量を測る検査である。正常な場合は10 mm以上、5 mm以下だと涙液量が少ないと判定される。被験者の前値(両眼平均値)は12例中5例が正常範囲(10 mm以上)で、最低値は2.0 mmであった。被験食品摂取前と比較して摂取4週後において涙液量に有意な変化は認められなかった。

### 視力検査

両眼平均矯正視力は12名中12名が1.2以上で、最小値は1.2であった。裸眼視力、矯正視力ともに両眼平均は摂取4週後に前に比べ有意な変化は認められなかった。Table 1には小数視力とLogMAR視力の両方を示した。

### 眼圧検査

眼圧検査は、眼球の硬性を調べる検査である。基準値は10~21 mmHgとされるが、日内変動がある。眼圧検査では12名中11名が基準範囲であった。眼圧は、被験食品摂取前と比較して摂取4週後において、優位眼で摂取前  $13.0 \pm 2.4$  から摂取4週後に  $11.7 \pm 2.2$  ( $p < 0.05$ )、非優位眼で摂取前  $13.0 \pm 2.3$  から摂取4週後に  $11.7 \pm 1.8$  ( $p < 0.05$ )、両眼平均は摂取前  $13.0 \pm 2.2$  から摂取4週後に  $11.7 \pm 1.9$  ( $p < 0.01$ ) へそれぞれ有意に下降した。

### 安全性評価項目

眼底検査、細隙灯顕微鏡検査において、被験食品摂取前に比較して摂取4週後に異常となる所見は認められなかった。拡張期血圧について、被験食品摂取前と比較して摂

取4週後において、摂取前  $73.3 \pm 10.7$  から摂取4週後に  $68.9 \pm 9.7$  へ有意に低下した ( $p < 0.05$ )。収縮期血圧、脈拍については有意な変化は認められなかった。その他、有害事象調査において、試験食品と因果関係ありと判定されたものは認められなかった。

## 考察

### 結果概要

眼球が乾き気味の男女12名の特徴として、BUTは低値(5 mm)、涙液量は正常、矯正視力は概ね正常、眼圧は正常基準範囲であった。2016年の新診断基準『BUT5秒以下かつ自覚症状(眼不快感または視機能異常)を有する』に全例が該当した。4週間の試験食品摂食試験を施行した結果、ドライアイ関連症状の改善、BUTの延長(両眼平均+34.5%)、眼圧の低下(両眼平均-9.9%)を認めた。有害事象は認められなかった。

### 涙器の構造と涙液の動態

涙は、目の表面の細胞を乾燥から守り、組織に栄養や酸素を供給し、外界からの異物や菌が侵入するのを防ぐ役割を担う。また、角膜の表面を滑らかな曲線にすることで、鮮明な画像を脳に送り届ける。従って、涙液減少や涙液機能の低下は、実際に見えている視力(1分間の連続測定値で表される実用視力値)の低下がおこる場合がある。

涙液は、深部(角膜上皮の表面)からムチン層、水層、油層の三層から構成される。

ムチン層: 結膜のゴブレット細胞より分泌される粘液。ムチン層が欠如すると、涙液が喪失しやすい。

水層: 涙腺より分泌される涙の主成分。水層は涙の95%を占める層で、蛋白質、ヒアルロン酸など様々な成分を含む。角膜への栄養補給や感染予防、傷の治癒など、涙の重要な働きを担っている。

油層: マイボーム腺より分泌され、油成分に富んでいる。涙液の表面を覆い、涙の蒸発を防ぐ役割と感染防御の役割を果たす。油層に存在する脂質はマイバムと呼ばれる鎖のような分子で、主成分はコレステロールエステルとワックスエステルである<sup>12)</sup>。

これら三層からなる涙液は、瞬目により駆動力を受け、一定方向の流れに従い、眼球表面を潤した後、眼瞼縁内側の上下の涙点へ流入し、上下涙小管、涙囊、鼻涙管、鼻腔を経由して、流れる。ドライアイ診療ガイドライン<sup>13)</sup>によれば、以下の機序が想定されている。上流のさまざまなリスクファクターによって涙液層の安定性が低下すると、乾燥ストレスによる角結膜の上皮障害を生じ、その結果、上皮表面にあるムチンが障害されて水濡れ性が低下することで、さらに涙液層の安定性が低下するという悪循環(コア・メカニズム)が生じる<sup>14-18)</sup>。さらにこの悪循環が結果として、炎症を引き起こし、上皮障害を助長する。

Table 1. Results

Item	Before	4 weeks	p value
Age (years)	37.8 ± 10.1		
<b>Blood pressure</b>			
Systolic (mmHg)	117.7 ± 13.0	113.4 ± 13.0	0.219
diastolic (mmHg)	73.3 ± 10.7	68.9 ± 9.7	<b>0.013*</b>
Pulse (/min)	76.5 ± 11.3	81.1 ± 14.8	0.241
DEQS	52.4 ± 13.6	23.6 ± 10.6	<b>0.002*</b>
<b>Visual Analogue Scale</b>			
Eye dryness	67.7 ± 18.9	34.7 ± 17.2	<b>0.001*</b>
Eye irritation	46.5 ± 28.8	25.1 ± 19.4	<b>0.021*</b>
Eye pain	51.9 ± 28.3	27.7 ± 20.0	<b>0.017*</b>
Blurred vision	68.6 ± 25.1	32.0 ± 24.4	<b>0.002*</b>
Eye fatigue	84.8 ± 10.1	44.2 ± 19.8	<b>&lt;0.001*</b>
Visual clarity	60.5 ± 22.6	28.8 ± 21.6	<b>0.007*</b>
Stiff shoulders	75.3 ± 23.1	37.6 ± 21.3	<b>&lt;0.001*</b>
Headache	46.9 ± 40.5	22.9 ± 21.4	0.058
Sleep depth	65.3 ± 25.8	31.9 ± 18.6	<b>0.013*</b>
<b>Eye examination</b>			
<b>BUT (second)</b>			
Dominant eye	4.1 ± 2.6	5.6 ± 2.6	0.194
Nondominant eye	3.2 ± 1.3	5.5 ± 2.3	<b>0.001*</b>
Binocular mean	3.6 ± 1.7	5.5 ± 2.4	<b>0.023*</b>
<b>Schirmer's test (mm)</b>			
Dominant eye	10.7 ± 9.1	12.5 ± 7.8	0.280
Nondominant eye	11.4 ± 10.5	11.3 ± 6.9	0.972
Binocular mean	11.0 ± 9.4	11.9 ± 7.0	0.632
<b>Visual acuity (uncorrected)<sup>A</sup></b>			
Dominant eye	0.43 ± 0.30 (0.36 ± 0.53)	0.46 ± 0.27 (0.34 ± 0.57)	0.43 ± 0.30 (0.36 ± 0.53)
Nondominant eye	0.42 ± 0.31 (0.38 ± 0.51)	0.43 ± 0.30 (0.37 ± 0.52)	0.42 ± 0.31 (0.38 ± 0.51)
Binocular mean	0.54 ± 0.52 (0.26 ± 0.29)	0.35 ± 0.22 (0.46 ± 0.65)	0.54 ± 0.52 (0.26 ± 0.29)
<b>Visual acuity (corrected)<sup>A</sup></b>			
Dominant eye	1.22 ± 0.94 (-0.09 ± 0.03)	1.29 ± 0.90 (-0.11 ± 0.04)	0.250
Nondominant eye	1.22 ± 0.94 (-0.09 ± 0.03)	1.27 ± 0.90 (-0.10 ± 0.04)	0.500
Binocular mean	1.28 ± 0.94 (-0.11 ± 0.03)	1.22 ± 0.93 (-0.09 ± 0.04)	0.375
<b>Spherical refraction (D)</b>			
Dominant eye	-1.52 ± 2.85	-1.56 ± 2.78	0.658
Nondominant eye	-1.40 ± 2.75	-1.52 ± 2.77	0.082
Binocular mean	-1.46 ± 2.79	-1.54 ± 2.76	0.207
<b>Cylindrical refraction (D)</b>			
Dominant eye	0.56 ± 0.66	0.58 ± 0.55	0.845
Nondominant eye	0.60 ± 0.52	0.52 ± 0.36	0.474
Binocular mean	0.58 ± 0.57	0.55 ± 0.43	0.771
<b>IOP (mmHg)</b>			
Dominant eye	13.02 ± 2.35	11.74 ± 2.18	<b>0.014*</b>
Nondominant eye	12.96 ± 2.30	11.66 ± 1.75	<b>0.015*</b>
Binocular mean	12.99 ± 2.20	11.70 ± 1.86	<b>0.004*</b>

Results are expressed as mean ± SD, n = 12, \*p < 0.05, paired-t test or Wilcoxon test. <sup>A</sup>LogMAR in parenthesis; Decimal visual acuity was converted to LogMAR (logarithm of minimum angular resolution; DEQS, Dry Eye-related Quality of life Score; BUT, tear film breakup time; IOP, intraocular pressure; SD, standard deviation.

Table 2. AAQol scores.

Physical symptoms				Mental symptoms			
Item	Before	4 weeks	p value	Item	Before	4 weeks	p value
Eye fatigue	4.3 ± 0.6	2.9 ± 0.5	<b>0.003*</b>	Irritability	2.6 ± 1.2	2.1 ± 1.2	0.059
Blurred vision	3.4 ± 1.2	2.2 ± 0.7	<b>0.006*</b>	Easily angered	2.3 ± 1.1	2.1 ± 2.1	0.18
Eye pain	3.1 ± 1.2	1.8 ± 0.7	<b>0.006*</b>	Loss of motivation	2.3 ± 1.1	2.1 ± 1.0	0.578
Stiff shoulders	4.1 ± 1.2	3.1 ± 0.8	<b>0.025*</b>	No feeling of happiness	2.0 ± 1.0	1.9 ± 0.9	0.564
Masclular pain/stiffness	3.4 ± 1.3	2.6 ± 1.2	<b>0.039*</b>	Nothing to look forward to in life	1.8 ± 0.9	1.7 ± 1.0	0.157
Palpitations	1.5 ± 0.7	1.4 ± 0.7	0.564	Daily life is not enjoyable	1.8 ± 1.1	1.6 ± 0.8	0.157
Shortness of breath	1.6 ± 0.7	1.5 ± 0.7	0.564	Loss of confidence	1.8 ± 0.9	1.8 ± 0.9	0.564
Tendency to gain weight	2.0 ± 1.0	2.1 ± 1.2	0.739	Reluctance to talk with others	2.0 ± 1.2	1.8 ± 1.0	0.18
Weight loss/; thin	1.6 ± 0.9	1.3 ± 0.5	0.48	Depressed	1.9 ± 1.2	1.8 ± 1.0	0.564
Lethargy	3.2 ± 1.4	2.3 ± 0.9	<b>0.026*</b>	Feeling of usefulness	1.6 ± 0.7	1.7 ± 0.8	0.564
No feeling of good health	2.5 ± 1.0	1.9 ± 0.8	0.143	Sallow sleep	2.8 ± 1.1	2.3 ± 0.8	0.196
Thirst	2.1 ± 0.8	1.8 ± 0.8	0.083	Difficulty in falling asleep	2.3 ± 1.1	2.1 ± 0.9	0.366
Skin problems	2.5 ± 0.7	1.9 ± 0.9	<b>0.020*</b>	Pessimism	1.8 ± 0.9	1.8 ± 1.1	1
Anorexia	1.7 ± 0.7	1.3 ± 0.5	0.059	Lapse of memory	2.3 ± 0.8	1.8 ± 0.8	0.16
Early satiety	1.9 ± 1.1	1.4 ± 0.7	0.109	Inability to concentrate	2.3 ± 1.1	2.1 ± 1.0	0.18
Epigastralgia	1.8 ± 1.0	1.3 ± 0.6	0.131	Inability to solve problems	1.8 ± 0.9	2.1 ± 1.0	0.408
Liable to catch cold	1.4 ± 0.5	1.6 ± 0.9	0.706	Inability to make judgments readily	2.0 ± 1.0	2.0 ± 1.0	1
Coughing and sputum	1.7 ± 1.0	1.58 ± 0.8	0.578	Inability to sleep because of worries	1.9 ± 0.9	1.8 ± 1.0	0.564
Diarrhea	1.7 ± 0.8	1.6 ± 0.8	0.739	A sense of tension	2.1 ± 1.0	2.0 ± 1.0	0.706
Constipation	1.8 ± 1.0	1.6 ± 0.7	0.257	Feeling of anxiety for no special reason	1.7 ± 0.7	1.8 ± 1.0	0.414
Gray hair	1.9 ± 1.2	1.5 ± 0.7	0.103	Vague feeling of fear	1.3 ± 0.5	1.5 ± 0.8	0.527
Hair loss	2.0 ± 1.2	1.8 ± 1.2	0.083				
Headache	2.8 ± 0.8	2.1 ± 0.9	<b>0.014*</b>				
Dizziness	2.3 ± 1.0	1.3 ± 0.5	<b>0.016*</b>				
Tinnitus	1.8 ± 0.8	1.8 ± 0.7	1				
Lumbago	2.8 ± 1.1	2.7 ± 0.9	0.763				
Arthralgia	1.7 ± 0.9	1.8 ± 0.8	0.706				
Edematous	2.2 ± 1.1	1.9 ± 0.7	0.257				
Easily breaking into a sweat	2.6 ± 1.2	2.4 ± 0.9	0.581				
Frequent urination	1.8 ± 1.0	1.8 ± 0.8	1				
Hot flush	1.5 ± 0.7	1.5 ± 0.8	1				
Cold skin	2.5 ± 1.4	2. ± 1.4	0.748				

Results are expressed as mean ± SD, n = 12, \*p < 0.05, Wilcoxon test. AAQol, Anti-Aging QOL Common Questionaries; SD, standard deviation.

## ヒアルロン酸の役割

ドライアイの治療用点眼薬と繁用されるヒアルロン酸含有外用剤の主成分ヒアルロン酸の作用機序については、不明な点が多い。ヒアルロン酸含有人工涙液外用剤の作用については、動物実験では角膜の上皮剥離傷害後の角膜再上皮化能の改善作用の報告がある<sup>19)</sup>。生化学的には、リン脂質-ヒアルロン酸相互作用が、老化に伴う硝子体液化、ドライアイ疾患の治療、スキンケア製品および滑膜関節の潤滑に関連している可能性が推測されている<sup>20)</sup>。他の物質とヒアルロン酸の親和性は、ホスファチジルコリンスフィンゴミエリン、ホスファチジン酸で最も強く、次いでモノグリセリド、パルミトイルパルミテートであり、コレステロールとの親和性がもっとも弱い<sup>21)</sup>。

ヒトでは無作為化二重マスクプラセボ対照試験にて、涙液膜厚 (TFT) を増加させる効果が報告されている<sup>22)</sup>。しかし、ヒアルロン酸含有人工涙液はドライアイの症状を一過性に緩和するだけとの意見もあり、ガラクトキシログルカンとの組み合わせ剤も提案されている<sup>23)</sup>。

近年、パソコンの普及や空調管理などで現代生活は大変便利になったが、眼球を取り巻く環境は改善したとは言えない。2013年に報告されたOsaka Studyによれば、561名の会社員を対象としてドライアイの検査とアンケートを行った結果、女性の79.5%、男性の60.2%がドライアイと診断され、1日8時間以上DVTを使用する群で顕著であったとしている<sup>24)</sup>。2020年からのCovid-19によるパンデミック下でもドライアイは増えている<sup>25)</sup>。このような状況下で、ドライアイの病態に迫る、ドライアイの有効で安全な治療法が切に望まれている。

ドライアイを生活習慣病であることを考慮すれば、生活習慣の改善が予防と治療の前提となる。食事の修正、身体活動増加、ポジティブシンキングの奨励による生活指導によりドライアイに伴う自覚症状の改善することが示されている<sup>26)</sup>。

今回の用いた試験品のヒアルロン酸含有食品は、主要成分のヒアルロン酸が、超低分子化 (分子量380~5,000) されているのが特徴である。オープンパイロット試験ではあるが、自覚症状の改善のみならず、涙液層破壊時間、眼圧検査、視力検査が有意に改善していた。これは、試験品に含まれる低分子ヒアルロン酸が体内に吸収されて、なんらかの影響を及ぼしたことによると考えられる。ヒアルロン酸の効能の作用機序については現在不明であり、今後さらなる検討を要するが、経口摂取により自覚症状がともに改善したのは画期的なことである。既報ではINJUV服用により膝と腰の症状が改善しており<sup>1)</sup>、同様の経路によって眼部への効果が発現したと推測される。

眼圧と拡張期血圧低下の仮説として、以下を考える。ドライアイは心身ストレス<sup>27)</sup>や自律神経系<sup>28)</sup>と密接な関連があり、ヒアルロン酸含有食品の眼球表面への効果でまずBUTが改善し、それによって眼球表面の光学的機能が改善して見え方が改善する。これらのドライアイと視覚の改

善の結果ストレスが軽減し、眼圧<sup>29,30)</sup>や拡張期血圧が低下したと考えることもできよう。眼圧も血圧と同様にカテコールアミンを介した季節変動があるとされ<sup>31)</sup>、ドライアイの改善もしくは他の作用によってこれらが低下することはINJUVの新たな効果として期待できるかもしれない。

涙液中にもヒアルロン酸が検出される。ヒアルロン酸濃度の平均値は、健常者で $18.9 \pm 12.6$  ng/mg 蛋白 (3.2~45.0 ng/mg 蛋白の範囲) との報告がある<sup>32)</sup>。男女差やコンタクトレンズ装着者と非装着者の間に差はないとされる<sup>33)</sup>。バセドー氏病 (甲状腺機能亢進症) 患者では増加する ( $35.1 \pm 34.7$  ng/mg 蛋白<sup>32)</sup>)。片側性急性アデノウイルス性結膜炎 (UAAC) 患者、正常ドナー (対照) およびアレルギー性結膜炎患者の涙液を分析した成績では、UAAC患者のヒアルロン酸涙液量は、対照およびアレルギー性結膜炎患者と比較して、大幅に増加していた<sup>34)</sup>。これらの所見は、眼球の恒常性維持のために、なんらかの刺激によって涙液中ヒアルロン酸が増加する機構が存在する可能性を示唆している。

## 研究限界

本研究は対照の無いオープンラベル試験であるため、本試験のドライアイに関する有効性についてのエビデンスレベルは高くない。試験食品の主要成分の超低分子ヒアルロンの体内動態については不明な点が多い。試験食品の摂取により涙液中ヒアルロン酸濃度が上昇するか否かについては、今後の検証課題である。眼圧と拡張期血圧が有意に低下した理由については、仮説を述べるにとどまり証明には至っていない。

## 安全性

眼底検査、細隙灯顕微鏡検査において、被験食品摂取前に比較して摂取4週後に異常となる所見は認められなかった。拡張期血圧について、被験食品摂取前と比較して摂取4週後において、摂取前 $73.3 \pm 10.7$ から摂取4週後に $68.9 \pm 9.7$ へ有意に低下した ( $p < 0.05$ )。これは基準範囲内の変動である。収縮期血圧、脈拍については有意な変化は認められなかった。その他、有害事象調査において、試験食品と因果関係ありと判定されたものは認められなかった。

## 結論

低分子ヒアルロン酸 (hyaluronic acid: HA) を主成分とする鶏冠酵素分解産物含有食品試験品 (INJUV) を摂取した時の自覚症状・他覚症状の変化と安全性を確認するために、目の乾きや疲れ目を自覚する健康な者12名 (男性: 6名、女性: 6名、年齢:  $37.8 \pm 10.1$  歳) を対象として無対照オープンラベル試験を施行した。その結果、自覚症状として「目が乾く」、「目が痛い」、「目が疲

れる」、「まぶたが重たい」などが有意に改善した。抗加齢QOL共通問診票の中で「目が疲れる」「目がかすむ」「眼痛」「肩がこる」「筋肉痛・こり」「だるい」「肌の不調」「頭痛」「めまい」の9項目で有意に改善した。眼検査では涙液層破壊時間が改善、眼圧が下降し、拡張期血圧が低下した。試験期間中に有害事象はみられず安全性を確認した。本試験は無対象オープン試験であるため、結果にはプラセボ効果が含まれる。試験品の有効性評価ならび作用機序についてはランダム化比較試験(Randomized Controlled Trial: RCT)でさらに詳細な検討が必要である。

## 利益相反申告

本研究を遂行するにあたり、株式会社らいむより支援を受けた。

## 参考文献

- Ogura M, Takabe W, Yagi M, et al. Study for investigation of symptomatic improvement and safety of the ingestion of rooster comb degradation product containing low-molecular hyaluronic acid (INJUV) in individuals with knee and lower back pain; Open-label trial with no control group. *Glycative Stress Res.* 2018; 5: 55-67.
- Sakane Y, Yamaguchi M, Yokoi N, et al. Development and validation of the dry eye-related quality-of-life score questionnaire. *JAMA Ophthalmol.* 2013; 131: 1331-1338.
- 村田英明, 村上恒二, 生田義和, 他. 関節軟骨細胞の基質代謝に及ぼすHAとIL-1の影響. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌.* 1993; 36: 439-440.
- Sasaki A, Sasaki K, Kontinen YT, et al. Hyaluronate inhibits the interleukin-1beta-induced expression of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 in human synovial cells. *Tohoku J Exp Med.* 2004; 204: 99-107.
- Yasuda T. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase is inhibited by hyaluronan via intercellular adhesion molecule-1 in articular chondrocytes stimulated with type II collagen peptide. *J Pharmacol Sci.* 2012; 118: 25-32.
- Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K, et al. Effects of hyaluronan on the production of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in bovine articular chondrocytes. *Biomedical Research.* 1992; 13: 343-348.
- Tajima I, Endo K, Mizusawa N, et al. Upregulation of RHAMM mRNA expression by interleukin 1 $\beta$  and tumor necrosis factor  $\alpha$  in cultured rabbit articular chondrocytes. *Connective Tissue.* 1999; 31: 1-6.
- Goto H, Onodera T, Hirano H, et al. Hyaluronic acid suppresses the reduction of alpha2(VI) collagen gene expression caused by interleukin-1beta in cultured rabbit articular chondrocytes. *Tohoku J Exp Med.* 1999; 187: 1-13.
- Yang YJ, Lee WY, Kim YJ, et al. A meta-analysis of the efficacy of hyaluronic acid eye drops for the treatment of dry eye syndrome. *Int J Environ Res Public Health.* 2021; 18: 2383.
- Oguma Y, Iida K, Yonei Y, et al. Significance evaluation of Anti-Aging QOL Common Questionnaire. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 177-185.
- Yonei Y, Takahashi Y, Hibino S, et al. Effects on the human body of a dietary supplement containing L-carnitine and Garcinia cambogia extract: A study using double-blind tests. *J Clin Biochem Nutr.* 2008; 42: 89-103.
- Sassa T, Tadaki M, Kiyonari H, et al. Very long-chain tear film lipids produced by fatty acid elongase ELOVL1 prevent dry eye disease in mice. *FASEB J.* 2018; 32: 2966-2978.
- Committee for the Development of Medical Guidelines, Japan Dry Eye Society. Guidelines for Dry Eye Treatment. 2019. [https://minds.jcqh.or.jp/docs/gl\\_pdf/G0001116/4/dryeye\\_guideline.pdf](https://minds.jcqh.or.jp/docs/gl_pdf/G0001116/4/dryeye_guideline.pdf) (邦題)ドライアイ研究会診療ガイドライン作成委員会. ドライアイ診療ガイドライン. 2019.
- Yokoi N, Uchino M, Uchino Y, et al. Importance of tear film instability in dry eye disease in office workers using visual display terminals: The Osaka Study. *Am J Ophthalmol.* 2015; 159: 748-754.
- Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* 1995; 21: 221-232.
- Murube J, Németh J, Höh H, et al. The triple classification of dry eye for practical clinical use. *Eur J Ophthalmol.* 2005; 15: 660-667.
- Behrens A, Doyle JJ, Stern L, et al. Dysfunctional tear syndrome: A Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea.* 2006; 25: 900-907.
- 横井則彦. 水濡れ性低下型ドライアイ. *Frontiers in Dry Eye.* 2018; 13: 15-19.
- Carlson E, Kao WWY, Ogundele A. Impact of hyaluronic acid-containing artificial tear products on reepithelialization in an *in vivo* corneal wound model. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2018; 34: 360-364.
- 清水翔太, 有田玲子, 井上佐智子, 他. 著明なマイボーム腺脱落を認めた前立腺肥大症患者の1例. *あたらしい眼科.* 2020; 37: 480-483.
- Ewurum A, Alur AA, Glenn M, et al. Hyaluronic acid-lipid binding. *BMC Chem.* 2021; 15: 36.
- Kaya S, Schmidl D, Schmetterer L, et al. Effect of hyaluronic acid on tear film thickness as assessed with ultra-high resolution optical coherence tomography. *Acta Ophthalmol.* 2015; 93: 439-443.

- 23) Molina-Solana P, Domínguez-Serrano FB, Garrido-Hermosilla AM, et al. Improved tear film stability in patients with dry eye after hyaluronic acid and galactoxyloglucan use. *Clin Ophthalmol*. 2020; 14: 1153-1159.
- 24) Uchino M, Yokoi N, Uchino Y, et al. Prevalence of dry eye disease and its risk factors in visual display terminal users: The Osaka Study. *Am J Ophthalmol*. 2013; 156: 759-766.
- 25) Koh S, Rhee MK. COVID-19 and dry eye. *Eye Contact Lens*. 2021; 47: 317-322.
- 26) Kawashima M, Sano K, Takechi S, et al. Impact of lifestyle intervention on dry eye disease in office workers: A randomized controlled trial. *J Occup Health*. 2018; 60: 281-288.
- 27) Wang MT, Muntz A, Wolffsohn JS, et al. Association between dry eye disease, self-perceived health status, and self-reported psychological stress burden. *Clin Exp Optom*. 2021; 104: 835-840.
- 28) Sano K, Kawashima M, Ikeura K, et al. Abdominal breathing increases tear secretion in healthy women. *Ocul Surf*. 2015; 13: 82-87.
- 29) Abe RY, Silva TC, Dantas I, et al. Can psychologic stress elevate intraocular pressure in healthy individuals? *Ophthalmol Glaucoma*. 2020; 3: 426-433.
- 30) Keren S, Waisbourd M, Gomel N, et al. Influence of mental stress on intraocular pressure and visual field testing: Is there a white coat syndrome in glaucoma? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2022; 260: 209-214.
- 31) Kuze M, Ayaki M, Yuki K, et al. Seasonal variation of intra-ocular pressure in glaucoma with and without dry eye. *Sci Rep*. 2020; 10: 13949
- 32) Paves L, Martins JRM, Manso PG, et al. Tear concentration of hyaluronic acid in normal subjects and patients with graves ophthalmopathy. ARVO Annual Meeting, May 2006. (abstract)
- 33) Scheuer CA, Rah MJ, Reindel WT. Increased concentration of hyaluronan in tears after soaking contact lenses in biotruie multipurpose solution. *Clinical Ophthalmology*. 2016; 10: 1945-1952.
- 34) Dreyfuss JL, Regatieri CV, Coelho B, et al. Altered hyaluronic acid content in tear fluid of patients with adenoviral conjunctivitis. *An Acad Bras Cienc*. 2015; 87: 455-462.