

Original article

Ocular moisturizing effects of rooster comb degradation product containing low-molecular hyaluronic acid and collagen peptides (CRISTA®) in individuals with dry eye-related symptoms: A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study

Masahiko Ayaki ¹⁾, Sachio Wakayama ²⁾, Yoshikazu Yonei ³⁾

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 2023; 10 (3): 110-123

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

高濃度鶏冠分解物 (CRISTA®) 含有食品の目の潤いに及ぼす効果： ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

綾木雅彦 ¹⁾、若山祥夫 ²⁾、米井嘉一 ³⁾

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

抄録

【目的】超低分子ヒアルロン酸 (hyaluronic acid: HA) およびコラーゲンペプチドを主成分とする高濃度鶏冠酵素分解産物含有食品試験品 (CRISTA®) 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、ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を施行し、目の潤いに対する有効性および安全性について評価を行った。

【方法】日常的に目の乾燥を自覚し電子画面を見て作業を行う健康な者 30 名を無作為に被験食品摂取群と対照食品群に 2 群に分け除外基準への抵触が認められた 1 名 (被験食品群 1 名) を除く被験食品群 14 名 (男性 7 名、女性 7 名、 38.2 ± 3.2 歳)、対照食品群 15 名 (男性 8 名、女性 7 名、 38.4 ± 2.7 歳)、全 29 名を有効性評価項目の解析対象とした。

【結果】被験食品の 4 週間の経口摂取により、シルマーテストによる涙液分泌量の有意な増加が認められ、対照食品群とも有意差が見られ、被験食品の目の潤いに対する有効性が明らかとなった。ドライアイ QOL 質問票

(DEQS)、自覚症状の Visual Analogue Scale, 抗加齢 QOL 共通問診票、涙液層破壊時間、視力、眼圧には両群に差がなかった。また、4 週間におよぶ連続経口摂取の安全性も明らかとなった。

【結論】本試験品は、眼球的乾燥予防に有効かつ安全な経口機能性食品として期待できると思われる。

KEY WORDS: 無作為化比較試験、低分子ヒアルロン酸、眼の乾燥、シルマー試験、涙液層破壊時間

はじめに

細胞間マトリックスとは、実細胞の外に存在する様々な分子構造体である。ヒトでは、コラーゲン、プロテオグリカン、フィブロネクチンやラミニンといった糖蛋白質やヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸といったムコ多糖類が含まれる。細胞間マトリックスの量的あるいは質的劣化は、肌の老化や変形性関節症の発症・進展に深く関わっている¹⁾。

我々の研究室では、これまでに、膝関節および腰痛に悩む者を対象に、超低分子ヒアルロン酸 (hyaluronic acid: HA) とコラーゲンペプチドを主成分とする鶏冠酵素分解産物含有食品 (INJUV®) を摂取した時の自覚症状・他覚症状の変化について無対象試験を行ってきた。その結果、膝関節痛・腰痛改善作用、膝関節可動域の開大効果が認められたが、同時に、眼精疲労の症状改善が観察された²⁾。涙液中には HA が含まれ、眼球的乾燥やドライアイに対し予防的に作用することから、次に、目の乾きや疲れ目を自覚する者を対照に無対象試験を施行した。その結果、涙液層破壊時間の有意な改善、眼圧の有意な降下が認められ、眼球的乾燥に対して有効である可能性が示唆された³⁾。

現代社会では、長時間のパソコン作業やエアコンによる乾燥、コンタクトレンズの装着など、眼の状態を悪化させる要因に溢れており、眼の乾き、ざらつき、痛み、かすみ、視界の不鮮明などを訴える患者が増加している。2013 年の Osaka Study によれば、女性の 79.5%、男性の 60.2% がドライアイと診断されている⁴⁾。2020 年からの Covid-19 によるパンデミック下でもドライアイ患者は増えている⁵⁾。こうした眼の状態の悪化は、生活の質を著しく低下させ、また、その状態を放置して重症化すると、角膜・結膜に損傷を与えることがあり、頭痛や眩暈などの体の不調にもつながる。そのため、眼の状態が悪化したときには、早期に処置を行って、改善を図ることが重要になる。

眼の状態を改善する製剤としては、人工涙液、ヒアルロン酸製剤、ムチンの産生または分泌を促進する薬剤または副腎皮質ステロイド等の抗炎症剤を含有する液状薬剤を眼に直接投与する点眼剤が一般的である (特許文献: 特開 201938783 号公報 1)。こうした点眼剤の投与は、手を清潔にした状態で、点眼する方の下瞼を下に引き、点眼剤の容器の先がまつ毛やまぶたに触れないように注意しつつ、薬液を 1 滴程度目に垂らして軽く目を閉じた後、眼のふちや皮膚について余分な点眼液をティッシュ等でふき取ると

いったように、使用手順が煩雑であるだけでなく、開封後の保管条件や有効期限、防腐剤等のアレルギーにも留意する必要がある、使用者側の負担が大きい。従って摂取や保管が簡便な経口摂取の形態で、眼の状態や乾燥を安全且つ有効に改善できる製品の開発が望まれる。これまで、経口摂取することにより効果的に眼の状態や乾燥を改善できると言われる機能性成分はあまり知られていない。

これらの背景を踏まえ、日常生活において眼球的乾燥を自覚する者を対象として、INJUV® を高濃度に濃縮した試験食品 (CRISTA®) のランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を施行した。

対象と方法

1 試験実施体制

本試験は、試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、試験に関与しない第三者で構成される、一般社団法人糖化ストレス研究会「人を対象とする研究」に関する倫理審査委員会での審議、承認 (承認番号 2022-008, 2022 年 12 月 21 日) を経て、2023 年 1 月～3 月にうえのあさがおクリニック (試験責任医師: 院長 中島 温)、本郷三丁目眼科 (試験分担医師: 院長 澁谷 香弥子) にて、試験実施計画書に基づき実施された (UMIN 試験 ID: UMIN000049882)。試験実施にあたり、ヘルシンキ宣言 (2013 年 WMA フォルタレザ総会「ブラジル」で修正) および人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (令和 3 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) に基づく倫理的原則を遵守した。

2 試験参加者

試験者募集時に試験の説明を行い、試験対象者に該当する 58 名に対して事前検査を行い、選択基準に該当し、除外基準に抵触せず、試験責任医師、分担医師の判断により試験参加が妥当と判断された者の中より、試験者選択基準に準じ 30 名を本試験へ選抜した。症例数の設定根拠は以下の通りであった。群間比較試験において主要評価項目の群間比較および摂取前後の比較において統計学的検定および推定を実施できる例数を 13 名/群と推測した。社会情勢や中止・脱落を考慮し、必要症例数を 15 名/群と設定した。

試験者の選択基準は、以下の通りであった。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であった。

除外基準は、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レーシック視力回復手術を受けた者、⑬強度乱視がある者、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体格指数（BMI）が30.0 kg/m²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、機能的表示食品、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分解物、HA、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通年性アレルギー、または試験期間中に花粉症など季節性アレルギー症状を発症する恐れがある者、㉑試験期間中、生活習慣を変更する可能性のある者、㉒夜間勤務者、㉓妊娠中、授乳中あるいは妊娠の可能性のある者、㉔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、㉕本人または家族が健康・機能的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、㉖その他、試験責任医師、分担医師が本試験の対象として不適当と判断した者であった。

3 試験者の選抜、ランダム化と盲検化

摂取前の事前検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、試験責任医師、分担医師（眼科医師）の判断により試験参加が妥当と判断された者の中より、ドライアイQOL質問票（DEQS）におけるQOLスコア高値順に30名を本試験へ選抜した。なお、選抜の際には試験者背景ならびに他指標に関しても考慮した（Fig. 1）。

性別、事前検査における年齢、DEQSにおけるQOLスコアを層別因子とし、層別ブロック化ランダム化法（Stratified Block Randomization）にて2グループに無作為に割り付けた後、最終的に割付グループ間に有意差がないことを確認した。

試験食品は被験食品（高濃度鶏冠分解物含有食品）（CRISTA®）ならびに対照食品（対照として高濃度鶏冠分解物非含有食品、ヒアルロン酸・コラーゲンを含まないもの）の2種とした。試験委託者は、それぞれ外見上識別できないようにし、該当する識別記号を試験食品に印字し、識別記号を厳封して割付責任者に送付した。割付責任者は、試験食品製造者から送付された各試験食品の外観や臭いで試験食品の識別不能性を確認した。識別不能性の確認後、割付責任者は、被験食品ならびに対照食品を別の試験食品管理記号に置き換え盲検化し、試験食品管理者へ渡した。試験食品管理記号は対応表とともに厳封し開錠まで割付責任者が保管した。

4 試験食品

試験食品は、1日の摂取量4カプセルあたり400 mgの高濃度鶏冠分解物を含むカプセルであり、1日2回、1回2カプセルずつを水またはぬるま湯と共に4週間摂取させた。試験食品の全成分は、Table 1に記した。無添加食品販売協同組合検査センターの分析では、1カプセル（100 mg）には、HAが総量として2.375 mg、コラーゲンが総量として43.6 mg含まれる（一日用量としてHA 9.5 mg、コラーゲン174.4 mg）ことが確認されている。

Table 1. Total composition and content of test food (250 mg/1 capsule).

Ingredient name	Test food	Placebo food
INJUV® (mg)	100	—
Vegetable oil (mg)	135	250
Other excipients (mg)	15	—

5 試験デザイン

本試験は、ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験にて行われた。

主要評価項目は、DEQS、自覚症状に関する体感VASアンケート（Visual Analogue Scale: VAS）、涙液層破壊時間検査（Tear film break-up time: BUT）、シルマーテスト（Schirmer's

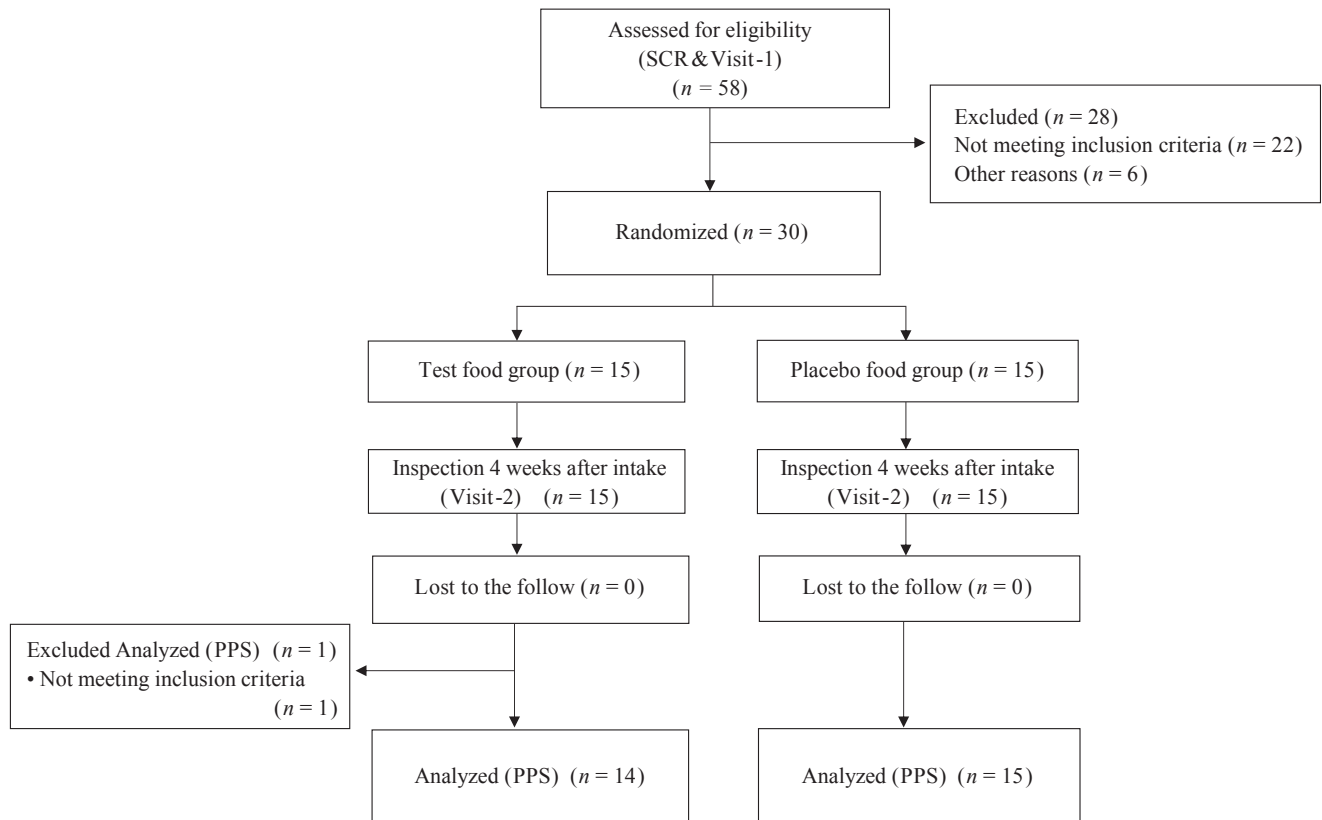


Fig. 1. Flow of analysis from subject enrollment.

PPS, Per Protocol Set.

test)であった。副次評価項目は、視力検査、眼圧検査、抗加齢QOL共通問診票(AAQOL)であった。安全性に関しては、眼底検査、細隙灯顕微鏡検査、屈折検査、血圧/脈拍、医師による問診、副作用の発現有無/有害事象判定の項目が実施された。

試験者には検査前日の飲酒、過度の運動を禁止とし、十分な睡眠をとることとした。また検査当日は検査終了まで人工涙液(点眼剤)の使用を禁止とした。

また試験期間中は、コンタクトレンズの使用を禁止とした。日常生活におけるVDT (Visual Display Terminals) 作業時間(量)に関しては、試験期間中も同様な作業時間(量)を維持させた。現在使用中のドライアイ対策を目的とした点眼剤使用に関して、検査当日以外の制限は設けなかったが、試験期間中の商品の変更は禁止とした。やむを得ず変更した場合は、詳細を試験者日誌に記録させた。なお、HAを含有した点眼剤の使用は禁止とした。

睡眠不足や暴飲暴食など、不規則な生活を避け、食事、運動、睡眠に関して、本試験開始前と同様な量・質を維持するようにした。

医薬品(外用剤を含む)、医薬部外品および漢方薬の使用は原則として禁止とした。やむを得ず使用する場合や使用した場合は、相談窓口に連絡を入れ、使用した商品名およびメーカー名・使用理由を試験者日誌に記録させた。また新たに、機能性表示食品、健康食品、サプリメント類の摂取また

は使用することを禁止とした。試験参加前より健康維持を目的とした健康食品等を常用している場合は、用法・用量を変更せず継続して使用することとした。やむを得ず使用する場合や使用した場合は、使用した商品名およびメーカー名・使用理由を試験者日誌に記録させた。

試験者となった時点から試験終了まで他ヒト臨床試験の参加を禁止とした。

6 検査項目

ドライアイQOL質問票(DEQS)

既報の如く³⁾、DEQSでは、「目の自覚症状」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、試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試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、精神面への影響を調査した。

自覚症状に関する体感VASアンケート(VAS)

既報の如く³⁾、VAS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法を用い100 mmの線分上で回答させた。

抗加齢QOL共通問診票 (AAQOL)

自覚症状の評価はAAQOL^{6,7)}を使用した。身体の状態(33問)、心の症状(21問)を「1. 全くなし」「2. ほとんどなし」「3. 少しあり」「4. 中程度あり」「5. 高度にあり」の5段階で回答、生活習慣(6問)を数値にて回答させた。

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、非優位眼値及び左右平均値、全眼平均にて集計した。すべての眼検査は医療機関で実施し眼科専門医が判定した。

涙液層破壊時間検査 (BUT)

既報の如く³⁾、試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」を秒単位で測定した。

シルマーテスト (Schirmer's test)

既報の如く³⁾、試験者に対して規定の濾紙を下眼瞼にはさみ、5分間でどのくらいの長さまで濡れるかを判定(計測/mm)した。

視力検査

NIDEK ssc-370 TypeD スペースセービングチャートにて右眼、左眼での裸眼視力、矯正視力を測定した。

眼圧検査

TOMEY MR-6000 マルチファンクションレフラクトメーターにて右眼、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った。採用値は外れ値を除く3回の眼圧平均値とした。

その他、眼底検査(NEITZ 充電式ブライトスコープ BSIII LEDを使用)、細隙灯顕微鏡検査(TAKAGI スリットランプマイクロスコープ 700GL 0814040を使用)、屈折検査(TOMEY MR-6000 マルチファンクションレフラクトメーターを使用)を実施し、異常所見の有無を調べた。

統計解析

基本統計量として平均値、標準偏差、標準誤差、最大値、最小値を算出した。検査結果数値はMicrosoft Office Excel 2016 (Microsoft Corp. 製)を用いて累計表に集計し、解析に用いる数値は実測値ならびに摂取前よりの変化量とした。統計解析は、SAS 9.4 (SAS Institute Inc. 製)、SPSS Statistics 26 (IBM 製)の統計解析ソフトを用いて実施し、全ての検定について有意水準は両側検定で5%とし、10%

を傾向とした。算出したデータの表への記載ならびにグラフ化の場合は平均値±標準誤差で示した。

群間比較の解析データは、各検査時の被験食品摂取群と対照食品群の比較を対応のないt検定で統計解析を行った。なお、対応のないt検定については、すべて等分散性ありと仮定したP値を採用した。DEQS、AAQOLより得られるスコアは、ノンパラメトリックとして取り扱い、群間での比較にはMann-WhitneyのU検定を行った。

群内比較の解析データは、摂取前と以降の各観察期との比較を対応のあるt検定で統計解析を行った。DEQS、AAQOLより得られるスコアは、ノンパラメトリックとして取り扱い、群内での比較にはWilcoxonの符号付順位検定を行った。

結果

試験者の分類と内容

本試験は計30名で試験を開始し、中止症例なく全30名にて試験終了となった。試験後の症例検討会において下記の試験者を解析対象とした。

安全性評価/Intention to Treat (ITT) 解析集団は、一度でも試験食品を摂取した試験者、被験食品群15名、対照食品群15名、全30名を安全性評価項目の解析対象とした。

有効性評価/Per Protocol Set (PPS) 解析集団は、ITT解析集団から除外基準への抵触が認められた1名(被験食品群1名)を除く被験食品群14名(男性7名、女性7名、 38.2 ± 3.2 歳)、対照食品群15名(男性8名、女性7名、 38.4 ± 2.7 歳)、全29名を有効性評価項目の解析対象とした。試験者の解析フローはFig. 1に、試験者背景をTable 2に示した。市販の点眼薬使用者は被験食品群3名、対照食品群3名であり、いずれも医薬品成分は微量なので実験への影響はないと考えられた。

ドライアイQOL質問票 (DEQS)

DEQSの結果推移をTable 3に示した。DEQSの「目の自覚症状に関する項目」(6項目)について改善を示した項目は、被験食品群で摂取前と比較して摂取2週後において、A欄の「目が乾く」($p < 0.05$)、「目が疲れる」($p < 0.01$)の2項目、B欄の「目が乾く」($p < 0.01$)、摂取4週後において、A欄の「目が乾く」($p < 0.01$)、「目が疲れる」($p < 0.01$)、「まぶたが重たい」($p < 0.05$)、「目が赤くなる」($p < 0.05$)の4項目、B欄の「目が乾く」($p < 0.05$)、「目が疲れる」($p < 0.05$)の2項目であったが、いずれの項目も両群間に有意差は認められなかった。

DEQSの「日常生活への影響に関する項目」(9項目)について改善を示した項目は、被験食品群で摂取前と比較して摂取2週後において、A欄の「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」($p < 0.05$)、「目の症状のため集中力が低下する」($p < 0.01$)、「目の症状のため仕事・家事・勉強に差し障りがある」(p

< 0.05) の3項目、B欄の「目の症状のため集中力が低下する」(p < 0.05)、摂取4週後において、A欄の「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」(p < 0.05)、「目の症状のため集中力が低下する」(p < 0.01)、「目の症状のため 仕事・家事・勉強に差し障りがある」(p < 0.05) の3項目、B欄の「目の症状のため集中力が低下する」(p < 0.05) であったが、いずれの項目も両群間に有意差は認められなかった。

B欄(程度)スコアを用いて計算したQOLスコアは、被験食品群で摂取前46.3 ± 3.5、摂取2週後29.8 ± 5.0、摂取4週後26.4 ± 4.7と有意に改善した(摂取2週後、4週後ともにp < 0.01)。対照食品群でも摂取前51.3 ± 4.8、摂取2週後30.5 ± 4.2、摂取4週後26.5 ± 4.4と有意に改善した(摂取2週後、4週後ともにp < 0.01)。摂取2週後、4週後ともに両群間に有意差は認められなかった。

自覚症状に関する体感 VAS アンケート (Visual Analogue Scale: VAS)

VASの推移をTable 4 に示した。VAS (9項目) について、改善を示した項目は、被験食品群で摂取前と比較して摂取1週後において、「眼の乾き」(p < 0.01)、「眼の疲れ」(p < 0.01)、「肩こり」(p < 0.05)、「頭痛」(p < 0.05) の4項目、摂取2週後において、「眼の乾き」(p < 0.05)、「眼の疲れ」(p < 0.01)、「肩こり」(p < 0.01)、「頭痛」(p < 0.01) の4項目、摂取3週後において、被験食品群で「眼の乾き」(p < 0.01)、「眼のかすみ」(p < 0.05)、「眼の疲れ」(p < 0.01)、「肩こり」(p < 0.01)、「頭痛」(p < 0.05) の5項目、摂取4週後において、「眼の乾き」(p < 0.01)、「眼のざらつき」(p < 0.05)、「眼のかすみ」(p < 0.05)、「眼の疲れ」(p < 0.01)、「肩こり」(p < 0.01)、「頭痛」(p < 0.01)、「眠りの深さ」(p < 0.05) の7項目であったが、いずれの項目も両群間に有意差は認められなかった。

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

BUTの推移をTable 5 に示した。涙液層破壊時間(非優位眼)について、被験食品群で摂取前と比較して摂取前5.6 ± 0.4 秒から摂取4週後では7.3 ± 0.7 秒へと有意に改善した(p < 0.05)。涙液層破壊時間(全眼)についても、被験

食品群で摂取前5.4 ± 0.3 秒から摂取4週後では6.8 ± 0.6 秒へと有意に改善した(p < 0.05)。対照食品群についてはいずれも有意な差は認められず、両群間での有意な差も認められなかった。

シルマーテスト (Schirmer's test)

シルマーテストによる涙液分泌量の推移をTable 6 に示した。シルマーテストによる涙液分泌量について、被験食品群において優位眼で摂取前7.8 ± 1.3 mmから摂取4週後15.1 ± 2.9 mmへ(p < 0.05)、非優位眼で摂取前では7.9 ± 1.2 mmから摂取4週後13.6 ± 2.8 mmへ(p < 0.05)、左右眼平均値で7.86 ± 1.07 mmから摂取4週後14.39 ± 2.78 mmへ(p < 0.05)、全眼で摂取前7.9 ± 0.8 mmから摂取4週後14.4 ± 2.0 mmへ(p < 0.01)、涙液分泌量の測定全項目について有意に改善した。全眼による比較では被験食品群が対照食品群に対して、摂取4週後で有意に高値を示した(p = 0.030)。

副次評価項目

視力検査、眼圧検査について、被験食品群と対照食品群の群間で有意差は認められなかった。

AAQOLについて、摂取前と比較して摂取4週後において、有意に改善した項目は被験食品群で「目が疲れる」「肩がこる」「筋肉痛・こり」(いずれもp < 0.05) の3項目、対照食品群で「目が疲れる」(p < 0.01)「目がかすみ」(p < 0.05)「肩がこる」(p < 0.01)「肌の不調」(p < 0.05)「胃痛」(p < 0.05) の5項目であった。また「肌の不調」「風邪をひきやすい」の変化量の2項目で対照食品群が被験食品群に対して摂取4週後、有意に低値を示した(p < 0.05)。

安全性の評価

安全性評価項目において、被験食品群、対照食品群ともに異常となる所見は認められなかった。その他、有害事象調査において4例確認(目の痒み、右目充血、鼻炎症状、胃のシクシク感)されたが、いずれも軽度な症状で、試験食品との因果関係ありと判定されたものは認められなかった。以上のことから、試験食品の4週間にわたる摂取の安全性が確認された。

Table 2. Profiles of subjects (PPS).

Group		Total	Male	Female
Test food	n	14	7	7
	Age	38.2 ± 3.2	44.3 ± 4.4	32.1 ± 3.8
	QOL Score (-)	46.3 ± 3.5	43.4 ± 3.9	49.1 ± 5.9
Placebo food	n	15	8	7
	Age	38.4 ± 2.7	40.5 ± 4.2	36.0 ± 3.3
	QOL Score (-)	51.3 ± 4.8	45.0 ± 6.0	58.4 ± 7.0

Data are shown as the mean ± SEM.

Table 3. Results of item (DEQS).

Item	Group	Before	p value (between-group comparison)	2 weeks	p value (vs. Before)	p value (between-group comparison)	4 weeks	p value (vs. Before)
1) Foreign body sensation (Column A)	Test food Placebo	1.9 ± 0.3 2.1 ± 0.2	0.404	1.3 ± 0.2 0.9 ± 0.2	0.101 0.002 **	0.273	1.1 ± 0.3 1.0 ± 0.2	0.087 † 0.003 **
1) Foreign body sensation (Column B)	Test food Placebo	2.3 ± 0.2 2.5 ± 0.3	0.379	1.9 ± 0.2 1.6 ± 0.2	0.236 0.003 **	0.348	1.9 ± 0.3 1.9 ± 0.2	0.317 0.014 *
2) Dry sensation in eyes (Column A)	Test food Placebo	2.9 ± 0.1 2.9 ± 0.3	0.450	1.9 ± 0.3 2.1 ± 0.2	0.011 * 0.032 *	0.475	1.6 ± 0.3 1.7 ± 0.3	0.004 ** 0.004 **
2) Dry sensation in eyes (Column B)	Test food Placebo	2.9 ± 0.2 3.3 ± 0.2	0.089 §	1.9 ± 0.2 2.2 ± 0.2	0.005 ** 0.005 **	0.389	1.7 ± 0.2 1.9 ± 0.2	0.012 * 0.003 **
3) Painful or sore eyes (Column A)	Test food Placebo	1.4 ± 0.3 1.3 ± 0.3	0.735	0.9 ± 0.3 0.9 ± 0.2	0.107 0.164	0.816	0.9 ± 0.3 0.8 ± 0.3	0.114 0.203
3) Painful or sore eyes (Column B)	Test food Placebo	2.2 ± 0.3 3.0 ± 0.3	0.054 §	2.1 ± 0.3 2.0 ± 0.3	1.000 0.066 †	0.713	2.0 ± 0.4 2.0 ± 0.2	0.414 0.046 *
4) Ocular fatigue (Column A)	Test food Placebo	3.4 ± 0.2 3.4 ± 0.2	0.884	2.2 ± 0.3 2.5 ± 0.3	0.003 ** 0.004 **	0.617	2.1 ± 0.3 2.1 ± 0.3	0.004 ** 0.002 **
4) Ocular fatigue (Column B)	Test food Placebo	2.8 ± 0.3 3.4 ± 0.2	0.078 §	2.3 ± 0.2 2.3 ± 0.2	0.124 0.003 **	0.825	2.0 ± 0.3 2.1 ± 0.3	0.039 * 0.003 **
5) Heavy sensation in eyelids (Column A)	Test food Placebo	2.1 ± 0.3 2.1 ± 0.4	0.875	1.4 ± 0.3 1.1 ± 0.3	0.093 † 0.012 *	0.437	1.2 ± 0.3 0.9 ± 0.3	0.016 * 0.006 **
5) Heavy sensation in eyelids (Column B)	Test food Placebo	2.3 ± 0.3 2.5 ± 0.2	0.628	1.7 ± 0.3 2.1 ± 0.3	0.086 † 0.257	0.278	1.8 ± 0.3 2.0 ± 0.4	0.121 0.103
6) Redness in eyes (Column A)	Test food Placebo	1.5 ± 0.3 1.1 ± 0.2	0.347	0.8 ± 0.3 0.4 ± 0.2	0.067 † 0.041 *	0.352	0.6 ± 0.3 0.6 ± 0.2	0.026 * 0.071 †
6) Redness in eyes (Column B)	Test food Placebo	1.7 ± 0.3 1.9 ± 0.3	0.370	1.5 ± 0.2 1.3 ± 0.3	0.458 0.317	0.453	1.6 ± 0.4 1.6 ± 0.3	0.157 0.564
7) Difficulty opening eyes (Column A)	Test food Placebo	0.9 ± 0.2 1.5 ± 0.3	0.179	0.6 ± 0.2 0.9 ± 0.3	0.103 0.011 *	0.595	0.4 ± 0.2 0.7 ± 0.3	0.083 † 0.008 **
7) Difficulty opening eyes (Column B)	Test food Placebo	2.3 ± 0.3 2.4 ± 0.3	0.631	1.8 ± 0.3 2.3 ± 0.4	0.083 † 0.317	0.389	1.8 ± 0.4 2.2 ± 0.4	0.257 0.103
8) Blurred vision when watching something (Column A)	Test food Placebo	1.9 ± 0.3 1.9 ± 0.2	0.926	1.5 ± 0.3 1.0 ± 0.2	0.328 0.010 *	0.169	1.3 ± 0.3 1.2 ± 0.3	0.146 0.038 *

8) Blurred vision when watching something (Column B)	Test food Placebo	2.5 ± 0.2 2.6 ± 0.2	0.704	1.9 ± 0.2 2.3 ± 0.2	0.096 † 0.096 †	0.239	2.1 ± 0.3 2.0 ± 0.3	0.180 0.075 †	0.781
9) Sensitivity to bright light (Column A)	Test food Placebo	1.4 ± 0.3 1.7 ± 0.3	0.457	0.9 ± 0.3 0.7 ± 0.3	0.121 0.011 *	0.981	0.8 ± 0.2 0.5 ± 0.2	0.146 0.007 **	0.362
9) Sensitivity to bright light (Column B)	Test food Placebo	2.3 ± 0.4 2.1 ± 0.2	0.547	1.8 ± 0.4 1.6 ± 0.3	0.180 0.084 †	0.637	2.0 ± 0.4 1.6 ± 0.4	0.180 0.194	0.478
10) Problems with eyes when reading (Column A)	Test food Placebo	1.6 ± 0.3 1.7 ± 0.3	0.716	0.9 ± 0.3 1.1 ± 0.3	0.079 † 0.040 *	0.691	0.9 ± 0.3 0.9 ± 0.3	0.098 † 0.018 *	0.981
10) Problems with eyes when reading (Column B)	Test food Placebo	2.3 ± 0.3 2.5 ± 0.3	0.707	1.9 ± 0.3 2.1 ± 0.2	0.578 0.129	0.494	1.7 ± 0.3 2.1 ± 0.3	0.083 † 0.198	0.325
11) Problems with eyes when watching television or looking at a computer or cell phone (Column A)	Test food Placebo	2.5 ± 0.2 2.7 ± 0.3	0.470	1.6 ± 0.3 1.8 ± 0.3	0.015 * 0.006 **	0.704	1.6 ± 0.3 1.5 ± 0.3	0.022 * 0.004 **	0.822
11) Problems with eyes when watching television or looking at a computer or cell phone (Column B)	Test food Placebo	2.4 ± 0.2 2.9 ± 0.3	0.185	1.9 ± 0.2 2.4 ± 0.2	0.167 0.046 *	0.145	2.1 ± 0.2 1.8 ± 0.2	0.527 0.017 *	0.370
12) Feeling distracted because of eye symptoms (Column A)	Test food Placebo	2.4 ± 0.2 1.9 ± 0.3	0.504	1.3 ± 0.3 1.3 ± 0.3	0.002 ** 0.104	0.909	1.0 ± 0.3 0.9 ± 0.2	0.003 ** 0.024 *	0.677
12) Feeling distracted because of eye symptoms (Column B)	Test food Placebo	2.7 ± 0.2 2.8 ± 0.2	0.742	2.4 ± 0.2 2.2 ± 0.3	0.034 * 0.039 *	0.438	2.1 ± 0.1 2.0 ± 0.4	0.034 * 0.020 *	0.302
13) Eye symptoms affect work (Column A)	Test food Placebo	1.9 ± 0.3 1.6 ± 0.3	0.598	1.0 ± 0.3 0.9 ± 0.2	0.020 * 0.026 *	0.926	0.9 ± 0.3 0.5 ± 0.2	0.014 * 0.006 **	0.153
13) Eye symptoms affect work (Column B)	Test food Placebo	2.4 ± 0.3 2.8 ± 0.2	0.219	2.4 ± 0.3 1.7 ± 0.2	0.103 0.008 **	0.038 #	1.9 ± 0.4 2.0 ± 0.5	0.063 † 0.257	0.937
14) Not feeling like going out because of eye symptoms (Column A)	Test food Placebo	0.1 ± 0.1 0.1 ± 0.1	1.000	0.1 ± 0.1 0.0 ± 0.0	1.000 0.317	0.301	0.1 ± 0.1 0.0 ± 0.0	0.317 0.317	0.136
14) Not feeling like going out because of eye symptoms (Column B)	Test food Placebo	2.0 3.0	0.317	2.0 N/A	1.000 N/A	N/A	1.0 ± 0.0 N/A	0.317 N/A	N/A
15) Feeling depressed because of eye symptoms (Column A)	Test food Placebo	0.7 ± 0.3 1.3 ± 0.3	0.129	1.0 ± 0.3 0.8 ± 0.3	0.234 0.021 *	0.539	0.5 ± 0.3 0.7 ± 0.2	0.450 0.020 *	0.419
15) Feeling depressed because of eye symptoms (Column B)	Test food Placebo	2.2 ± 0.4 2.3 ± 0.3	0.791	1.8 ± 0.2 2.3 ± 0.4	0.157 0.713	0.310	2.3 ± 0.5 1.9 ± 0.3	0.706 0.257	0.418
QOL score	Test food Placebo	46.3 ± 3.5 51.3 ± 4.8	0.678	29.8 ± 5.0 30.5 ± 4.2	0.002 ** 0.001 ***	0.810	26.4 ± 4.7 26.5 ± 4.4	0.004 ** 0.001 ***	0.948

Data are shown as the mean ± SEM

*p < 0.10, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

†Comparisons with "before" were made using Wilcoxon's test; #p < 0.10, #p < 0.05.

**Comparisons between groups at each time point were made by Mann-Whitney's U test; §p < 0.10, # p < 0.05.

Table 4. Visual analogue scale.

Item	Group	Before	p value (between-group comparison)	1 week	p value (vs. Before)	p value (between-group comparison)	2 week	p value (vs. Before)	p value (between-group comparison)	3 week	p value (vs. Before)	p value (between-group comparison)	4 week	p value (vs. Before)	p value (between-group comparison)
1. Eye dryness	Test food	65.7 ± 2.8	0.280	48.9 ± 3.8	0.001 **	0.357	48.1 ± 5.7	0.011 *	0.663	41.1 ± 5.1	0.001 **	0.336	43.5 ± 7.0	0.009 **	0.940
	Placebo	71.3 ± 4.1		54.7 ± 4.9	0.020 *		52.2 ± 7.1	0.025 *		49.9 ± 7.2	0.012 *		44.2 ± 6.1	0.000 ***	
2. Eye irritation	Test food	53.4 ± 5.3	0.698	48.4 ± 4.9	0.511	0.049 #	44.2 ± 5.7	0.178	0.207	43.4 ± 6.2	0.241	0.417	33.1 ± 7.6	0.045 *	0.419
	Placebo	50.1 ± 6.2		32.7 ± 5.8	0.003 **		34.5 ± 5.0	0.012 *		35.9 ± 6.6	0.045 *		25.5 ± 5.5	0.000 ***	
3. Eye pain	Test food	37.6 ± 6.7	0.661	33.7 ± 6.4	0.629	0.493	31.9 ± 7.2	0.527	0.532	29.8 ± 7.2	0.401	0.581	24.4 ± 7.0	0.154	0.885
	Placebo	42.8 ± 9.3		40.3 ± 7.0	0.719		38.2 ± 6.9	0.599		35.3 ± 6.8	0.447		23.1 ± 5.6	0.011 *	
4. Blurred vision	Test food	59.1 ± 6.0	0.591	52.1 ± 5.3	0.269	0.858	47.4 ± 6.4	0.095 †	0.503	42.9 ± 6.5	0.029 *	0.963	39.2 ± 7.5	0.029 *	0.473
	Placebo	64.0 ± 6.6		53.5 ± 5.6	0.088 †		52.8 ± 4.8	0.188		43.3 ± 5.9	0.022 *		31.9 ± 6.8	0.000 ***	
5. Eye fatigue	Test food	73.4 ± 3.5	0.083 §	57.0 ± 5.0	0.006 **	0.348	50.8 ± 6.0	0.003 **	0.256	45.9 ± 6.1	0.003 **	0.422	44.8 ± 7.5	0.005 **	0.824
	Placebo	84.1 ± 4.8		64.9 ± 6.4	0.002 **		60.4 ± 5.7	0.001 **		53.0 ± 6.2	0.001 ***		47.1 ± 7.3	0.000 ***	
6. Visual clarity	Test food	50.0 ± 7.3	0.229	49.6 ± 5.1	0.953	0.412	44.5 ± 5.5	0.371	0.731	41.3 ± 6.3	0.213	0.411	39.7 ± 7.4	0.153	0.279
	Placebo	60.8 ± 5.0		43.1 ± 6.0	0.006 **		41.5 ± 6.4	0.002 **		34.4 ± 5.4	0.002 **		28.7 ± 6.6	0.000 ***	
7. Stiff shoulders	Test food	73.1 ± 4.5	0.257	64.4 ± 5.0	0.042 *	0.099 §	59.0 ± 5.5	0.008 **	0.050 §	50.6 ± 6.4	0.003 **	0.109	53.2 ± 7.1	0.005 **	0.211
	Placebo	61.3 ± 8.9		47.9 ± 8.1	0.029 *		38.4 ± 8.3	0.010 *		32.8 ± 8.5	0.005 **		38.5 ± 8.9	0.019 *	
8. Headache	Test food	56.9 ± 7.2	0.604	37.9 ± 7.1	0.024 *	0.586	34.4 ± 7.3	0.003 **	0.887	31.1 ± 7.2	0.021 *	0.638	28.6 ± 8.4	0.009 **	0.687
	Placebo	51.1 ± 8.3		32.6 ± 6.5	0.002 **		32.9 ± 6.7	0.022 *		25.9 ± 8.0	0.003 **		23.9 ± 8.0	0.002 **	
9. Sleep depth	Test food	55.4 ± 7.2	0.677	55.5 ± 4.8	0.981	0.010 §	48.9 ± 4.9	0.323	0.085 §	37.9 ± 7.3	0.107	0.382	35.6 ± 6.7	0.041 *	0.276
	Placebo	51.1 ± 7.2		33.5 ± 6.2	0.045 *		33.3 ± 7.0	0.017 *		29.1 ± 6.6	0.024 *		24.3 ± 7.7	0.008 **	

Data are shown as the mean ± SEM.

※ Comparisons with "before" were made with a paired t-test; †p < 0.10, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

※ Comparisons between groups at each time point were made with an unpaired t-test; §p < 0.10, #p < 0.05.

Table 5. BUT (Tear film break-up time)

Item	Unit	Group	Before	p value (between-group comparison)	4 week	p value (vs. Before)	p value (between-group comparison)
Dominant eye	second	Test food	5.1 ± 0.5	0.951	6.3 ± 1.1	0.319	0.752
		Placebo	5.2 ± 0.8		5.9 ± 0.8	0.552	
Nondominant eye	second	Test food	5.6 ± 0.4	0.524	7.3 ± 0.7	0.039 *	0.351
		Placebo	6.3 ± 1.0		6.1 ± 0.9	0.889	
Binocular mean	second	Test food	5.36 ± 0.44	0.689	6.79 ± 0.87	0.123	0.496
		Placebo	5.73 ± 0.80		6.00 ± 0.74	0.782	
All eyes	second	Test food	5.4 ± 0.3	0.594	6.8 ± 0.6	0.038 *	0.378
		Placebo	5.7 ± 0.6		6.0 ± 0.6	0.710	

Data are shown as the mean ± SEM.

※ Comparisons with "before" were made with a paired t-test; *: $p < 0.05$

※ Comparisons between groups at each time point were made with an unpaired t-test.

※ all eyes Test food $n = 28$, Placebo $n = 30$

Table 6. Schirmer's test.

Item	Unit	Group	Before	p value (between-group comparison)	4 week	p value (vs. Before)	p value (between-group comparison)
Dominant eye	mm	Test food	7.8 ± 1.3	0.898	15.1 ± 2.9	0.019 *	0.132
		Placebo	7.6 ± 0.7		9.8 ± 2.0	0.175	
Nondominant eye	mm	Test food	7.9 ± 1.2	0.582	13.6 ± 2.8	0.046 *	0.133
		Placebo	7.1 ± 0.8		9.0 ± 1.3	0.136	
Binocular mean	mm	Test food	7.86 ± 1.07	0.698	14.39 ± 2.78	0.026 *	0.121
		Placebo	7.37 ± 0.68		9.40 ± 1.54	0.136	
All eyes	mm	Test food	7.9 ± 0.8	0.623	14.4 ± 2.0	0.002 **	0.030 #
		Placebo	7.4 ± 0.5		9.4 ± 1.2	0.042 *	

Data are shown as the mean ± SEM.

※ Comparisons with "before" were made with a paired t-test; * $p > 0.05$, ** $p < 0.01$.

※ Comparisons between groups at each time point were made with an unpaired t-test; # $p < 0.05$.

※ All eyes; Test food ($n = 28$), Placebo ($n = 30$).

考察

結果の概略

本試験は、試験食品摂取の目の潤いに対する有効性および安全性の検討を目的に、20歳以上60歳未満の日常において目の渇きや疲れ目を自覚する健康な男女を対象に、試験食品を4週間経口摂取することによる目の潤いに関連する指標に及ぼす効果について明らかにすべく、ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験にて実施された。主要評価項目は、DEQS、VAS、BUT、シルマーテストであり、副次評価項目として視力検査、眼圧検査、AAQOLであった。

安全性については、眼底検査、細隙灯顕微鏡検査、屈折検査、血圧/脈拍、医師問診、有害事象/副作用発現有無にて確認した。

試験の結果、涙液分泌量（全眼）が、対照食品群に比べて被験食品群で有意に増加した（群間有意差 $p = 0.030$ ）。BUT（全眼）は、群間有意差はつかなかったが、被験食品群のみで有意に延長した。自覚症状の評価で（DEQS、VAS、AAQOL）は、対照食品群における改善効果（プラセボ効果）が観察され、群間有意差はつかなかった。シルマーテストとBUTはドライアイの主要評価項目であり、客観的指標であることから、これらの結果は被験食品が眼球的乾燥に対して好影響があることを示唆している。

眼の渇きの原因

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、HAなど様々な成分を含む。

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¹²⁾。

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⁸⁾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。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。

ヒアルロン酸 (HA) の役割

HA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。HAは保水性^{9,10)}、関節の潤滑¹¹⁾、細胞間接着^{12,13)}があり、涙液中成分として眼球の乾燥予防^{14,15)}に重要な役割を有する。

血中のHAは、臨床的には関節疾患（変形性関節症 [osteoarthritis: OA]、関節リウマチ [rheumatoid arthritis: RA] など）、肝線維化の指標として用いられている。血中HA濃度は個人差が比較的大きく、報告では松浦ら $30.1 \pm 16 \text{ ng/mL}$ ¹⁶⁾、中園ら $42.2 \pm 45.6 \text{ ng/mL}$ ¹⁷⁾、山田ら $33.7 \pm 24.2 \text{ ng/mL}$ ¹⁸⁾があり、OAやRA患者で高値とある。健常者の関節液中HA濃度は 3.4 ng/mL と血中に比べ低い¹⁹⁾、涙液中HA濃度は、健常者 $18.9 \pm 12.6 \text{ ng/mg}$ 蛋白質（ $3.2 \sim 45.0 \text{ ng/mg}$ 蛋白質の範囲）と血中よりやや高い²⁰⁾。涙液中HA濃度は、コンタクトレンズ装着有無による差はないが、加齢に伴い減少することから²¹⁾、高齢者の方が涙が乾きやすく、ドライアイのリスクが高まる可能性がある。

ドライアイの治療用点眼薬としてHA含有点眼剤が繁用されているが、主成分HAの作用機序については、不明な点が多い。動物実験では、HA含有点眼剤が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²²⁾。コラーゲン分解酵素の matrix metalloproteinases (MMP) は様々な病態で角膜の傷害に関与しているが、これに対しHAにはMMP抑制作用を有し²³⁻²⁶⁾、涙腺や角膜に対し抗炎症性に作用すると考えられる。日本国内の眼科クリニックにおけるドライアイ患者の診療パターン調査においてもHA含有点眼剤は主要な治療薬に位置づけられている²⁷⁾。

糖化ストレスが加わると、血液中および皮膚組織中の終末糖化産物 (advanced glycation endproducts: AGEs) が増え、receptor for AGEs (RAGE) 刺激を介して炎症性サイトカインの産生・分泌が増加、MMP発現も助長され、その結果コラーゲンやHA含有量が低下する。これに対しAGEs分解促進作用を有する機能性成分の経口投与は、AGEs量を減らし、炎症性サイトカインを減らし、MMP発現を低下させ、その結果、皮膚のコラーゲン、HA含有量は増加する²⁸⁾。同様の機序により、糖尿病などによる糖化ストレスはドライアイを増悪させると予想される。

コラーゲンの役割

角膜上皮細胞における内因性コラーゲンは角膜上皮創傷治癒に対し促進的な役割を果たすと考えられている²⁹⁾。糖尿病、緑内障、涙液減少症などの基礎疾患をもつ患者では角膜組織が脆弱であると予想され、角膜創傷治癒遷延の可能性があると考えられている。

慢性涙腺炎患者の涙腺細胞外マトリックスはI型・III型・V型コラーゲンが陽性、ファイブロネクチンは腺房細胞、線維組織で陽性、IV型コラーゲンは基底膜のみ陽性であった³⁰⁾。トランスフォーミング成長因子 β (TGF β) の投与により、TGF β 1のみが腺房細胞、線維組織で陽性となった。以上より、慢性涙腺炎の細胞外マトリックス産生・沈着には、腺房細胞由来のTGF β 1が関与している可能性を示唆されている。

特殊な例であるが、慢性移植片対宿主病 (cGVHD) は造血幹細胞移植の主要な合併症であり、眼症状としてドライアイを伴う。治療には、炎症反応の制御に加えて、涙腺におけるコラーゲンタイプI α 1、コラーゲンタイプIII α 1、およびNF-kB (nuclear factor-k B) のアップレギュレーションが重要であるとしている³¹⁾。また、病的環境下で、角膜上皮細胞、角膜実質細胞、炎症細胞などからコラーゲン分解活性を有するMMPが産生され、涙液中のMMP発現も亢進している³²⁾。

眼瞼結膜のアレルギー反応や炎症などさまざまなネットワークの破綻が生じると、角膜上皮の傷害や創傷治癒の遷延を引き起こす。角膜上皮という外界に対するバリアーが破壊されると涙液や浸潤細胞からの炎症性サイトカインにより角膜線維芽細胞が活性化され、MMP活性の亢進、コラーゲンの分解過剰が生じると考えられている³³⁾。

近年注目されている治療法として、感温性アテロコラーゲン穿刺プラグ法がある^{34,35)}。涙腺から分泌される涙の量が少ないのに涙点から涙が排出されると、涙量が減少して不足傾向になり、眼球表面が乾燥しやすくなる。涙点に栓（プラグ）をすることで眼球表面に溜まる涙液量が十分に保つことを目的とした治療法である。感温性アテロコラーゲンは、冷温では液状で、体温程度に温めるとゼリー状に固まる性質がある。このコラーゲンを穿刺針にて涙点から続く涙小管へ注入することで、涙の排出量を制御する。

本来ならば、涙腺におけるコラーゲン産生系のアップレギュレーションが重要であることから³¹⁾、涙点の下流に位

置する涙小管において、コラーゲンなど細胞外マトリック構築に異常がない状態が望ましい。

作用機序について

(株)らいむが取得している鶏冠酵素分解産物含有食品試験品 (INJUV®) の特許第 6435072 号及び米国特許 US-2019-0307788-A1 の特許公報によれば、INJUV® を添加したヒト線維芽細胞は、対照群 (無添加) に比較して有意な線維芽細胞増殖作用及びコラーゲン産生促進作用が示されている。In-Vitro の所見ではあるものの、INJUV® に含まれる低分子 HA 及びコラーゲンペプチドが、腸管吸収されたのち、細胞マトリクス内で線維芽細胞を増殖させ、結果的に生体内における HA やコラーゲンの産生を促進していることが示唆されている。

今回の用いた被験食品の主成分は、INJUV® と同じ低分子 HA とコラーゲンペプチドである。CRISTA® は INJUV® を高濃度に濃縮した製品であり、被験食品に含まれる HA 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、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おり、低分子 HA が体内に吸収されて、線維芽細胞なんらかの影響 (増殖作用及び HA・コラーゲン合成酵素活性化) を及ぼしたことから考えられる。HA の効能の作用機序については不明な点が多く、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³⁾、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。

次に、コラーゲンペプチドがどのように影響するか、最近の知見について述べる。

コラーゲン加水分解物の摂取によりプロリルヒドロキシプロリン (prolyl-hydroxyproline: Pro-Hyp) とヒドロキシプロリルグリシン (hydroxyprolyl-glycine: Hyp-Gly) は、ヒト血中に出現し、線維芽細胞の増殖と HA 合成を促進する^{36,37)}。その結果、コラーゲン加水分解物を長期間毎日摂取すると、皮膚と関節の状態が改善される³⁸⁾。Pro-Hyp は、線維芽細胞増殖開始因子として、創傷治癒な重要な役割を果たす³⁹⁾。

これらの所見は、被験食品として経口摂取されたコラーゲンが消化、吸収されて、血中にコラーゲン由来ジペプチド (Pro-Hyp, Hyp-Gly) として現れ、涙腺周囲の線維芽細胞へ作用する可能性、さらには涙液中 HA 濃度の上昇に貢献する可能性を示唆している。HA は MMP 活性の抑制を介して、涙腺組織に対し抗炎症的に作用することから、涙液生成機能にも好影響をもたらすと予想される。コラーゲン由来ジペプチドによる線維芽細胞のコラーゲンおよび HA 産生促進作用、内因性および外因性 HA による抗炎症作用 (MMP 活性抑制) により涙腺環境の維持、改善により、涙液産生の増加につながった可能性がある。また涙液中 HA の増加により、涙液の保湿能が高まり、涙液の蒸発による減少予防につながった可能性も考えられる。

研究限界

本試験では、涙液中の HA およびコラーゲン由来ジペプチドの濃度を測定しておらず、被験食品に含まれる機能性成分が実際に涙液中に移行するか否かに関する情報を得ることはできなかった。今後の検証が必要である。また、HA には様々なサイズがあり、涙液中 HA については高分子型が有効とされているが¹⁴⁾、超低分子型 HA の作用に関する情報はなく、今後の検証が待たれる。本試験は症例数が少ないため、さらに大規模な試験を行って結果を検証する予定である。統計解析において、全眼でのデータを使用した、1 名の被験者からの両眼のデータには相関があるので、結果の解釈の際に考慮する必要がある。

結語

本試験では、ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験にて被験食品 (高濃度鶏冠分解物含有食品: CRISTA®) 摂取の目の潤いに対する有効性および安全性について評価を行った。被験食品の 4 週間経口摂取により、シルマーテストによる涙液分泌量の有意な増加が認められ、被験食品の目の潤いに対する有効性が明らかとなった。また、4 週間におよぶ連続摂取の安全性も明らかとなった。本試験食品は、眼球的乾燥対策に有効かつ安全な経口機能性食品として期待できると思われる。

研究費

本試験実施に関わるすべての費用および試験食品は、(株)らいむにより提供された。

利益相反

本試験は第三者機関である (株)アンチエイジングバンク (東京)、(株) TES ホールディングス (東京) により適切に実施された。本試験の著者には、試験食品および試験費用の提供者である (株)らいむの社員が含まれる。それ以外の個人的利益などで申告すべき利益相反はない。

参考文献

- 1) Ogura M, Takabe W, Yagi M, et al. Hyaluronic acid and articular cartilage. *Glycative Stress Res.* 2018; 5: 12-20.
- 2) 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.
- 3) Ayaki M, Wakayama S, Yonei Y. Effects of rooster comb degradation product containing low-molecular hyaluronic acid (INJUV) in individuals with eye dryness: Open-label trial with no control group. *Glycative Stress Res.* 2022; 9: 97-105.
- 4) 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.
- 5) Koh S, Rhee MK. COVID-19 and dry eye. *Eye Contact Lens.* 2021; 47: 317-322.
- 6) Oguma Y, Iida K, Yonei Y, et al. Significance evaluation of Anti-Aging QOL Common Questionnaire. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 177-185.
- 7) 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.
- 8) 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. *日眼会誌.* 2019; 123: 489-592.
https://minds.jcqh.or.jp/docs/gl_pdf/G0001116/4/dryeye_guideline.pdf
- 9) Papakonstantinou E, Roth M, Karakioulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol.* 2012; 4: 253-258.
- 10) Zhang W, Mu H, Zhang A, et al. A decrease in moisture absorption-retention capacity of N-deacetylation of hyaluronic acid. *Glycoconj J.* 2013; 30: 577-583.
- 11) Kaiyama J, Uzuki M. Hyaluronic acid and its characteristic alterations in osteoarthritis synovial fluid. *The Journal of the Iwate Medical Association.* 2006; 58: 9-21.
- 12) Hiramitsu T, Yasuda T, Ito H, et al. Intercellular adhesion molecule-1 mediates the inhibitory effects of hyaluronan on interleukin-1 β -induced matrix metalloproteinase production in rheumatoid synovial fibroblasts via down-regulation of NF- κ B and p38. *Rheumatology (Oxford).* 2006; 45: 824-832.
- 13) Nago M, Mitsui Y, Gotoh M, et al. Hyaluronan modulates cell proliferation and mRNA expression of adhesion-related procollagens and cytokines in glenohumeral synovial/capsular fibroblasts in adhesive capsulitis. *J Orthop Res.* 2010; 28: 726-731.
- 14) Kojima T, Nagata T, Kudo H, et al. The effects of high molecular weight hyaluronic acid eye drop application in environmental dry eye stress model mice. *Int J Mol Sci.* 2020; 21: 3516.
- 15) Guarise C, Acquasaliente L, Pasut G, et al. The role of high molecular weight hyaluronic acid in mucoadhesion on an ocular surface model. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2023; 143: 105908.
- 16) Matsuura G, Kondo T, Chichibu K, et al. Non-invasive diagnosis for the joint disease: Serum concentration of hyaluronic acid in rheumatoid arthritis. *Journal of Joint Surgery.* 1991; 10: 989-996.
- 17) Nakazono K, Murasawa A, Toyama C, et al. Serum hyaluronic acid in the chronic rheumatoid arthritis. *Journal of the Chubu Rheumatism Association.* 1994; 25: 10-11.
- 18) Yamada N, Uzuki M, Rikimaru A, et al. Increased levels of circulating hyaluronate in the sera of patients with rheumatoid arthritis with special reference to joint destruction. *Ryumachi.* 1994; 34: 752-760.
- 19) Nakayama Y, Shirai Y, Yoshihara K, et al. Evaluation of glycosaminoglycans levels in normal joint fluid of the knee. *J Nippon Med Sch.* 2000; 67: 92-95.
- 20) 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)
- 21) Scheuer CA, Rah MJ, Reindel WT. Increased concentration of hyaluronan in tears after soaking contact lenses in bioture multipurpose solution. *Clin Ophthalmol* 2016; 10: 1945-1952.
- 22) 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.
- 23) Julovi SM, Ito H, Nishitani K, Jackson CJ, Nakamura T. Hyaluronan inhibits matrix metalloproteinase-13 in human arthritic chondrocytes via CD44 and P38. *J Orthop Res* 2011; 29: 258-264.
- 24) Hirabara S, Kojima T, Takahashi N, et al. Hyaluronan inhibits TLR-4 dependent cathepsin K and matrix metalloproteinase 1 expression in human fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 430: 519-522.
- 25) Yasuda T. Type II collagen peptide stimulates Akt leading to nuclear factor- κ B activation: Its inhibition by hyaluronan. *Biomed Res.* 2014; 35: 193-199.
- 26) Burgalassi S, Fragai M, Francesconi O, et al. Functionalized hyaluronic acid for "in situ" matrix metalloproteinase inhibition: A bioactive material to treat the dry eye syndrome. *ACS Macro Lett.* 2022; 11: 1190-1194.
- 27) Kawashima M, Yamada M, Suwaki K, et al. A clinic-based survey of clinical characteristics and practice pattern of dry eye in Japan. *Adv Ther.* 2017; 34: 732-743.
- 28) Yoo JH, Lee JS, Jang JH, et al. AGEs Blocker™ (Goji berry, Fig, and Korean mint mixed extract) inhibits skin aging caused by streptozotocin-induced glycation in hairless mice. *Prev Nutr Food Sci.* 2023; 28: 134-140.
- 29) Hashizume N. A Study of Factors on Corneal Epithelial Wound Healing: the roles of endogenous transforming growth factor β (TGF β) and extracellular matrix and the effects of administration of anti-inflammatory drugs. *Journal of the Wakayama Medical Society.* 2001; 52: 171-181.
- 30) Tanaka T, Saika S, Muto T, et al. Histopathological Examination of a Case of Chronic Dacryodentitis. *Folia ophthalmologica Japonica.* 2003; 54 (5): 354-357
- 31) Ogawa Y, He H, Mukai S, et al. Heavy chain-hyaluronan/Pentraxin 3 from amniotic membrane suppresses inflammation and scarring in murine lacrimal gland and conjunctiva of chronic graft-versus-host disease. *Sci Rep.* 2017; 7: 42195.

- 32) 崎元 暢【オキュラサーフェス診療アップデート】基礎研究と臨床とのつながり: 感染症と免疫: 角膜実質融解における MMP. *臨床眼科*. 2012; 66: 341-345.
- 33) Nishida T. The Cornea Stasis and Dynamics. *Nippon Ganka Gakkai zasshi*. 2008; 112: 179-213.
- 34) Kojima T, Yamaguchi M. 新しい治療と検査シリーズ: コラーゲン液状涙点プラグ. *Journal of the Eye*. 2011; 28: 1583-1584.
- 35) Kojima T, Matsumoto Y, Ibrahim OM, et al. Evaluation of a thermosensitive atelocollagen punctual plug treatment for dry eye disease. *Am J Ophthalmol*. 2014; 157: 311-317.
- 36) Sato K. The presence of food-derived collagen peptides in human body-structure and biological activity. *Food Funct*. 2017; 8: 4325-4330.
- 37) Asai TT, Oikawa F, Yoshikawa K, et al. Food-derived collagen peptides, prolyl-hydroxyproline (Pro-Hyp), and hydroxyprolyl-glycine (Hyp-Gly) enhance growth of primary cultured mouse skin fibroblast using fetal bovine serum free from hydroxyprolyl peptide. *Int J Mol Sci*. 2019; 21: 229.
- 38) Shigemura Y, Suzuki A, Kurokawa M, et al. Changes in composition and content of food-derived peptide in human blood after daily ingestion of collagen hydrolysate for 4 weeks. *J Sci Food Agric*. 2018; 98: 1944-1950.
- 39) Sato K, Asai TT, Jimi S. Collagen-derived di-peptide, prolylhydroxyproline (Pro-Hyp): A new low molecular weight growth-initiating factor for specific fibroblasts associated with wound healing. *Front Cell Dev Biol*. 2020; 8: 548975.