

## Nutritional Supplements Trends in the United States



**Fred Pescatore, M.D.**

Partners in Integrative Medicine, New York

According to the latest research, more than 64% of all Americans used nutritional supplements in 2003. While the tremendous growth in the marketplace cannot be expected to continue, nutritional supplementation has gained a foothold in the mind and medicine cabinets of the consumer for those looking for safer alternatives and complementary strategies in the quest for better health.

The combined sales figures for all types of nutritional supplements was 16.8 billion US dollars in the year 2000-the latest figure available. The specific types of nutritional supplements for which data was available includes: vitamins, herbals and botanicals (AHCC and GCP fall in this category), meal supplements, specialty supplements, sports nutrition products and minerals.

The latest trend to emerge is the industry surrounding low carbohydrate dieting. With the increasing popularity of The Hamptons Diet, The South Beach Diet and the still popular although declining rapidly, Atkins Diet; this is a category that is not going to diminish any time soon, although it is estimated that only 7% of the US population is currently on a low carbohydrate diet; whereas the figure in January was 9%. However, this may be somewhat misleading as figures for those who are dieting are traditionally highest in the winter months.

The history of nutritional supplementation from that of a fringe movement to one of mainstream is an important corollary to the low carbohydrate movement. What was once seen as outside the box is now fully established in the mainstream community. Increasingly, major medical centers throughout the United States are establishing integrative medicine departments to handle the onslaught of medical research and interest from the population.

Alternative or complementary medicine in the United States is still in its infancy but is growing rapidly as the science catches up to the interest. Many nutritional supplement companies, in order to distinguish themselves in the very crowded field are funding research which will allow them to make claims. The Federal Trade Commission which governs advertising to consumers is very closely watching the next steps that the nutritional supplement industry is taking.

This next step which is the scientific step should include both mainstream and alternative communities, but it is necessary to understand that the paradigm for examining nutritional supplements must be different from those that govern traditional drug research.

The nature of these many multifaceted positions on the complex issues surrounding the current and future state of nutritional supplementation in the United States will be discussed.

## アメリカにおけるニュートリションサプリメントの動向

フレッド ペスカトーレ, M.D.

最新の調査報告によれば、2003 年の 1 年間で 64%以上のアメリカ国民がサプリメントを使用したという。サプリメント市場の持続的な急成長は難しいかもしれないが、サプリメントの使用基盤はほぼ築かれており、より健康になりたいと願い安全な代替療法を模索している消費者たちの薬箱にはサプリメントが並んでいる。

いわゆるサプリメントと呼ばれるもの全てを合わせた売上高は、最新情報として得られる 2000 年の数字で 160 億 8,000 ドルである。このデータに含まれているものは、具体的にはビタミン、ハーブ、植物抽出物（AHCC や GCP はこれに分類される）、食事補助食品、特別機能性食品、スポーツニュートリション、その他ミネラルなどである。

最近の市場傾向として挙げられるのは、低炭水化物ダイエット関連であろう。Hampton ダイエットや South Beach ダイエットを行っている人は多く、また、一時の勢いはないが今だに知名度のある Atkins ダイエットなどがある。アメリカにおいてこれらのダイエットを行っている人は、1 月には国民の 9%、現在では 7%まで減少しているの見込まれているが、冬場はダイエット人口が増える傾向にあり、一概にはこれらのダイエット方法がすぐに下火になるとは言い切れない。

サプリメントというものがほんの初歩的な動向から現在のような潮流にのった時代の流れは、低炭水化物ダイエットが展開して行くうえで重要かつ当然の結果であると言える。かつて土俵の外におかれていたものが、今は完全に社会の主流に入っている。人々の関心の高まりと医学的調査の必要性を受け、全米の主要メディカルセンターは挙って統合医療部門を立ち上げている。

アメリカにおける補完代替医療はまだ初期段階であるが、高まる関心と科学的裏付けに伴って急成長している。多くのサプリメント会社が調査研究に資本を投入してヘルスクレームを獲得し、ひしめく競合他社との差別化を図ろうとしている。消費者への広告宣伝を治める連邦商業委員会では、サプリメント業界の動向をつぶさに注目している。

我々が踏む次のステップは、科学的ステップである。そこでは、時代の主流と代替療法の双方を取り入れなければならない。しかし、重要なことは、サプリメントを審査するパラダイムは、従来の医薬品研究を管理してきた方法とは異なったものでなくてはならないということを理解することである。

アメリカにおけるサプリメントの現在と未来をめぐって、複雑な問題の多面的なとらえかたを検討する。

## **Functional Foods in Europe, Regulatory aspects at present and in the future**

**Prof. Dr. P. Rohdewald,**

University of Münster, Germany



The European Union consists now of more than 20 member states. Functional foods, dietary supplements and nutraceuticals are regulated both by European law and national legislation. Consequently, there is no free European market for food supplements or functional foods in Europe.

Food supplements are defined by the EU legislation as:

Foodstuffs the purpose of which is to supplement the normal diet and which are concentrated sources of nutrients or other substances with a nutritional or physiological effect, alone or in combination, marketed in dose form, namely forms such as capsules, pastilles, tablets, pills and other similar forms, sachets of powder, ampoules of liquids, drop dispensing bottles and other similar forms of liquids and powders designed to be taken in measured small unit quantities.

A directive on food supplements came into force in 2002, but is only concerned with supplements containing vitamins and minerals, but it is intended that in the future it will be extended to cover other active substances commonly used in supplements such as amino acids, fatty acids and plant extracts.

The difficulties for trade with food supplements in Europe can be highlighted on the example of Pycnogenol®. Pycnogenol®, an extract from the bark of the French maritime pine, does not fall under the strict European regulation, because it presents no vitamin or mineral, but a plant extract. Consequently, its is handled in each member state according to national regulations. Herbal extracts are considered to be drugs, not food supplements in some European countries. The extracts could be prescriptional drugs or over the counter, non-prescriptional drugs. They can be re-imbursed by health insurances or not. In other member states, Pycnogenol® is available as a food supplement without a formal registration procedure, in France it has to undergo a registration procedure. In Denmark Pycnogenol® is considered to be a food constituent.

It is likely to be at least another 3 - 5 years before there are common rules for herbal products across the EU and until then companies will have to continue to adjust their products to the requirements of each European country.

## 欧州における機能性食品 - 現在と将来における規制

今日、EU（欧州連合）の構成メンバーは 20 ヶ国を超えている。機能性食品や栄養補助食品、栄養補給食品はヨーロッパ法の規則と自国の法規制の両方を受けている。その結果、欧州では栄養補助食品や機能性食品の自由市場は存在していない。

EU の法規制による栄養補助食品の定義は以下の通りである：

その目的が通常の食事を補助し、栄養素や栄養的效果または生理学的効果を有するその他の物質が濃縮して入っており、単独または併用で用いられ、服用形態、すなわち、カプセル、トローチ、錠剤、ピルといった形で、あるいは小袋入り粉末、アンプル入りの液、滴下ボトルといった少量単位で摂取するように考案された液や粉末の形で市販されている食品。

栄養補助食品に関する EU 指令は 2002 年に発効した。その対象はビタミン類やミネラル類を含む補助食品のみであるが、将来的にはアミノ酸や脂肪酸、植物抽出物といった補助食品に一般的に使用される他の作用物質にも広げられる予定である。

欧州における栄養補助食品の取引の難しさは、ピクノジェノール(Pycnogenol)<sup>®</sup>の例に浮き彫りにされている。フランス海岸松の樹皮抽出物であるピクノジェノール<sup>®</sup>は、ビタミンもミネラルも含まない単なる植物抽出物であるため厳しい欧州の法規制は受けない。その結果、各加盟国では自国の法規制に従って取引されている。欧州諸国の一部では植物抽出物は栄養補助食品ではなく薬剤とみなされている。植物抽出物を処方薬としている国もあれば、処方箋不要の OTC（市販薬）としている国もある。また、健康保険から償還される場合もあればされない場合もある。加盟国の中にはピクノジェノール<sup>®</sup>は正式登録の必要がない栄養補助食品として入手可能な国もあるが、フランスでは登録手順が必要である。デンマークではピクノジェノール<sup>®</sup>は食品成分の一種とみなされている。

植物抽出物由来の製品に関する EU の共通規則が成立するまで少なくとも今後 3～5 年を要すると思われる。それまでは各企業は欧州各国のそれぞれの要件に合うよう製品の調整を継続する必要がある。

## 機能性食品の EBM 確立を目指して

**Brian Brandley**

アメリカ バイオポリマーエンジニアリング社



### プロフィール

1979 年 University of Miami 大学院修了

1982 年 University of Sydney にて博士号取得

学位取得後研究として Medical University of South Carolina 及び The Johns Hopkins University School of Medicine-Department of Pharmacology and Molecular Science にて生体内における分子レベルでの炭水化物の働き等を研究後、製薬メーカー研究所及びバイオ関連企業において管理職として実務を経験し、現在 Biopolymer Engineering, Inc. 研究開発担当副社長。

## ドイツにおけるハーブの現状について



**Egon Koch**

ドイツ シュワーベ製薬

**Work address:** Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co. KG  
Willmar-Schwabe-Strasse 4  
76229 Karlsruhe, Germany

**Education:**

1975	Dipl. Ing. agr., Agriculture Sciences, University of Kassel, F.R. Germany.
1980	Veterinary Surgeon, Hanover School of Veterinary Medicine, F.R. Germany
1983	Dissertation, Dr. med. vet., Hanover School of Veterinary Medicine, F.R. Germany. Thesis: Early Pregnancy Factor Activity in the Pig
1986	State Veterinary Association approved Expert in Animal Reproduction
1996	State Veterinary Association approved Expert in Pharmacology and Toxicology

**Professional Experience:**

1981	Veterinary Surgeon in practices in Germany and the USA
1981 - 1984	Research Assistant, Dept. of Endocrinology and Neuroendo- crinology, Institute of Animal Science and Animal Behaviour, FAL, Mariensee, F.R. Germany
1984 - 1986	Postdoctoral Fellow, AFRC Institute of Animal Physiology, Babraham, Cambridge, UK
1986 - 1987	Research Scientist, Institute of Animal Science and Animal Behaviour, FAL, Mariensee, F.R. Germany
1988 - 2002	Group Leader, Laboratory of Inflammation and Immuno- pharmacology, Dept. of Pharmacology, Dr. Willmar Schwabe GmbH, Karlsruhe, Germany
2003 -	Head, Dept. of Pharmacology, Dr. Willmar Schwabe GmbH, Karlsruhe, Germany

**Awards and Fellowships:**

Predoctoral Training Grant, 1981-1984, German Research Council (via  
supervisor)  
Postdoctoral Fellowship, 1984-1986, Grant Ko 848/1-1, German Research  
Council

**Memberships:** British Society for Immunology  
German Society for Experimental and Clinical  
Pharmacology und Toxicology  
International Society for Immunopharmacology  
German Society for Immunology

## Current trend of dietary supplement and their future

Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd.

**Yasuo Nagata, Ph.D**



Recent intervention and epidemiological studies have shown that in addition to basic role and function, vitamins and minerals are involved in the prevention of various diseases. For example, additional intake of vitamin C and E may reduce the risk of cardiovascular diseases. Dietary intake of calcium may be negatively related to risks of colon cancer and hypertension. Furthermore, social factors such as changes in lifestyle, aging and an increase in medical cost have changed people's sense of well being and more people show an interest on products with health benefits. However, it is not easy to take enough amounts of nutrients from daily diets only, to get the expected health benefits. Thus, people choose dietary supplement and functional foods as a convenient tool. In Japan, two categories of foods with health claims have existed in which health claims can be made, although area of claim is limited. Those two categories are,

- 1 . Food for specified health uses (FOSHU)
- 2 . Food with nutrient function claims.

As a result, consumers can easily choose foods because of health claims and expected health benefits. However, too much information about health claims through Internet, company's brochure, etc can sometimes confuse consumers and mislead them.

The market of vitamin and minerals in the US is about \$9 billion (mail order and door to door sales are not included). Although the market in Japan is one tenth that of the United State, sales of dietary supplement have been increasing for the last ten years, reaching to about \$800 million. Multivitamins have the highest sales, followed by iron and vitamin C. Sales of dietary supplement and functional foods have doubled to \$15 billion in ten years. This reflects current consumer trend because now consumers can expect to prevent chronic diseases, using FOSHU products. FOSHU products require clinical studies to make health claims. Likewise, household expenses on dietary supplement and functional foods have increased two folds in the last eight years.

In this presentation, the future of dietary supplement will be discussed, studying the current situation of nutrition and health in Japan.

## 「サプリメントの現状と今後の動向」

大塚製薬㈱ヘルスケア事業部

永田保夫

最近の介入試験や疫学調査の知見から、ビタミン、ミネラルはこれまでに知られていた役割、機能に加えて、疾病の発現、進展に深く関与すること

が明らかになりつつある。例えば、ビタミンC、Eの積極的な摂取は心臓病など血管系疾患を予防し、また、カルシウムの摂取と大腸がん、高血圧のリスクの間に負の相関があることが示唆された。また、生活スタイルの変化、高齢化、医療費の高騰など社会的要因が人々の健康意識を変化させ、同時に健康志向食品への関心を高めた。しかしながら、ビタミン、ミネラルの効果が期待できる量を食事のみから摂取することは困難であることが多い。したがって、簡便に摂取できる形態としてサプリメントあるいは機能食品が利用できる。

日本では食品の中にトクホ、栄養保健機能食品の範疇があり（栄養機能食品、特定保健用食品）、限定的ではあるが、種々の食品、サプリメントにクレーム（効能表示）が可能になった。消費者は効能が表示されているために、健康維持、病気の予防効果を期待できる食品を選びやすくなった。一方、インターネットなどによる情報過多も見られ、人々を混乱させ、ミスリードさせる可能性もある。

アメリカのビタミン、ミネラルの市場は約1兆円である（本発表では通販、家庭訪問販売を除く）。日本の市場はアメリカの約十分の一であるが、ここ10年右肩上がりに上昇し、900億円市場となった。マルチビタミンの売り上げが第一位を占め、鉄、ビタミンCと続く。また、日本では製品を用いた臨床試験の結果を持って健康表示ができる特定保健用食品の制度があり、生活習慣病予防などに日常的に利用できる。サプリメントに加え、健康志向食品を含む販売高も同様にここ10年で8300億から1兆6800億と2倍に増加した。サプリメント、健康食品への家計支出はこの8年間で2倍の伸びを示し、一家族1万3千円余となっており、健康意識の高まりがうかがえる。

本発表では、日本の栄養の現状も紹介しながら、サプリメントの今後の動きを推察する。

また、サプリメントの利用例、使用上の留意点にも言及する。

### 略歴

永田 保夫

農学博士

1982年九州大学大学院農学研究科にて博士号取得

ポストドクトラルフェローとしてコーネル大学、スタンフォード大学にて食事由来のコレステロール代謝の研究に携わる。その後、大塚製薬㈱佐賀研究所にて栄養製品開発の研究に従事し、95年よりロスアンジェルスファーマバイト社でサプリメントの処方、学術活動を行う。現在、ヘルスケア事業部開発部R&D室を担当する。



## 特別講演

### がんのアジュバント免疫療法：有効性の分子基盤 - 微生物成分と Toll-like receptor (TLR) -

瀬谷 司

北海道大学大学院医学研究科 教授・大阪府立成人病センター



始めに： ウイルス，細菌などの微生物成分は多く受容体を介して樹状細胞を成熟化し，リンパ球の抗体産生，抗原提示，NK 細胞活性化を効果的に誘導する。一方，キノコを含む菌類，藻類などの成分もそれぞれ特異的な樹状細胞応答を誘導する。最近これらの宿主応答は各 TLR の微生物特異的なシグナル系の活性化と細胞応答によることが判明してきた。TLR は哺乳類では 10 種類以上から成る受容体ファミリーである。さらに樹状細胞には種々の subsets があり応答も異なる。TLR は抗体産生，細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 誘導，NK 活性化などを成分特異的に調節するアジュバントレセプターと考えられる。アジュバントや代替療法の成分はこれまで科学的根拠に乏しい民間療法と軽視されてきたが，これら最近の知見は代替療法に科学的根拠を与えつつある。特に汎用されてきた微生物成分がどの TLR のリガンドであるかはそれらの有効性や適応性と相俟って今後解明されるべき問題である。本講演ではアジュバントや代替療法の成分とそれら受容体の機能について我々の研究成果を総説し，がん，ウイルス感染など難治性疾患への治療応用への適用の可能性を論じる。

PAMP 提示仮説： 感染において微生物は宿主に無い特有な分子パターン (pathogen-associated molecular pattern, PAMP) を樹状細胞に提示しこれを活性化させる。次に樹状細胞は微生物抗原を提示し，リンパ球を活性化する (抗原提示)。PAMP 提示，抗原提示の 2 段階反応がスムーズに進んだ場合，宿主免疫はアナジーに陥ることなく，強力な免疫応答を惹起する。PAMP 提示を欠く (例としてがん) 場合，抗原応答は不全になりやすい。PAMP 提示から樹状細胞成熟化の過程を自然免疫と通称するが，多少の語弊をはばからず自然免疫を概観すると以上のような仮説が容認されるように見える。樹状細胞に発現する PAMP のレセプターのうち代表的なシグナルレセプターが TLR である。この他に微生物のパターン認識受容体としてはレクチン系，インテグリン系などの受容体ファミリーがある。本講演では TLR 活性化と樹状細胞の成熟化の様式の多様性を示し，代替療法への適用を解説する。

TLR と樹状細胞応答： 一般に樹状細胞の微生物応答は多様で多彩である。樹状細胞の成熟化も単純に画一化できない。これは，1) DC に複数の subset があり均一でないこと，2) DC の表現する TLR の repertoire も subset ごとに異なること，3) 各 TLR のシグナル伝達系が TLR ごとに相違すること，の 3 点に集約される。ヒトとマウスの TLR の機能的相違もあるが，TLR ノックアウトマウスの結果は概ねこの概念を支持している。従って微生物はそれぞれ異なった TLR セットを介して，遭遇した樹状細胞を活性化し特有の成熟ステージに向かわせるという構図が感染免疫の初期応答として想像される。この応答は宿主免疫を強力に増強するため，非感染性成分で免疫活性化を代行させて治療を指向する概念は是認される。では何を如何なる疾患にどのように用いるのが適性か？

TLR-アダプター分子によるシグナル選別： 我々はヒト TLR の単クローン抗体を順次作製し，ヒ

ト DC subsets における TLR の分布, 機能, 局在等を解析してきた。また, TLR のアゴニスト刺激による細胞応答が TLR とそのアダプター分子群の組合わせによって選択されうるものであることを示してきた。ヒト DC の活性化ステージ, サイトカイン(IL-12, IL-6, TNF- など), ケモカインの分泌プロフィールを規定するのはこの TLR-アダプターの組み合わせによる事象かも知れない。最近, MyD88 以外に TICAM-1(TRIF) という TLR-アダプターが発見され, TLR が TICAM-1 と会合した場合, 骨髄性樹状細胞は interferon(IFN)- を優位に発現することが判明した。樹状細胞の成熟化はこの 2 種のアダプター-MyD88 と TICAM-1 の協調作用によって特有の活性化プロフィールが付与される。さらに MyD88 と類似の機能アダプターMal/TIRAP, ごく最近発現された TLR4 に特異結合するアダプター TICAM-2 の計 4 種のアダプターが TLR との相補性, 機能との相関が明らかにされるに到っている。例えば MyD88 を欠く樹状細胞は CTL 誘導能を著しく損なう。また, TICAM-1 欠損は Type1 IFN を誘導できず, NK 活性化に支障をきたすことが推定される。これらの知見は DC の先行的活性化が TLR とアダプターによって誘起され, 獲得免疫を起動する要因になることを支持する。代替療法の成分がどの TLR とアダプターを使うかが分かれば如何なる疾患にどのように用いるのがよいかの試金石となる。これら基礎知見から難治性疾患対策への解説を試みる予定である。

## 招聘講演

### Maximising access to medical research information published in online journals

**Martin Richardson**

Managing Director, Oxford University  
Press, Great Clarendon St, Oxford OX2 6DP, UK



Over the past decade, the Internet has transformed the way that medical research information is disseminated. A powerful combination of technology and new business models is providing efficient and cost-effective ways for medical research information to be accessed online by researchers, clinicians and patients across the globe.

*Evidence-based Complementary and Alternative Medicine (eCAM)* is a new, international, peer-reviewed journal that was launched in June 2004 as a joint project between Oxford University Press and the Ishikawa Natural Medicinal Products Research Centre (INMPRC), assisted by an international editorial board led by Professor Edwin Cooper from UCLA.

In collaboration with our technical partner, Stanford University's HighWire Press, OUP and INMPRC have employed the latest technologies, together with a policy of 'Open Access'; to order to ensure that the high-quality research information published in eCAM is available to the widest possible audience.

## CAM can benefit from *eCAM*

**Cooper Edwin L.**

Laboratory of Comparative Neuroimmunology,  
Department of Neurobiology, David Geffen School of Medicine at UCLA,  
University of California, Los Angeles, Los Angeles 90095-1763



As November 2004 is fast approaching, we witness the unusual and interesting birth one year ago of the new journal: *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine (eCAM)* published by Oxford University Press. Our journal *eCAM* a well conceived chimera, was conceived through fertilization from several sources: immunological, linkages between Traditional Chinese Medicine and western medicine, a genuine interest in viewing CAM as a discipline in need of an infusion of pure science. At the outset, our name *eCAM* urges insistence of scientific rigor. ‘The first objective in a serious approach to complementary and alternative medicine (CAM) should be to obtain a broad understanding, with a minimum of detail, of how CAM fits into the pattern of biology—of the way in which the neuroendocrineimmune system evolved, its function and coordination with other body systems, and its development from the embryo onwards. At the same time, such an outline should provide an adequate background for easy application of CAM ideas to the detail of practical CAM work in public health, clinical and medical practice, and yet not stray far away from the very biology that under girds it. CAM is organismic, inclusive and not exclusive whereas western medicine tends to be reductionist and somewhat exclusive with respect to approaches to the infirm. We began in China in an historical context, laying a foundation for CAM and Western medicine with the inference that bridges could be built. So where are we? We began in China in a historical context, laying a foundation for CAM and Western medicine with the inference that bridges could be built. By linking the scientific basis of CAM with another discipline that too was once fledgling, now free from lack of empiricism, a foundation of hope was laid and the suggestion of animal models and natural products inferred. Turning to products from animals, particularly those from the sea, according to Haefner, in recent years marine natural product bioprospecting has yielded a considerable number of drug candidates. Most of these molecules are still in preclinical or early clinical development but some are already on the market, such as cytarabine, or are predicted to be approved soon, such as ET743 (Yondelis). Research into the ecology of marine natural products has shown that many of these compounds function as chemical weapons and have evolved into highly potent inhibitors of physiological processes in the prey, predators or competitors of the marine organisms that use them. Some of the natural products isolated from marine invertebrates have been shown, or are suspected, to be of microbial origin and this is now thought to be the case for the majority of such molecules. Marine microorganisms, whose immense genetic and biochemical diversity is only beginning to be appreciated, look likely to become a rich source of novel chemical entities for the discovery of more effective drugs. Lombrakinase is a product isolated from earthworms and sold on the market as a fibrinolytic agent. We must remember that these products are often associated with the immune systems of these creatures and that they evolved millions of years ago—thus their

immune systems have been an effective survival strategy. And if it has worked for them, then humans should harness these as new-wave antibiotics or anticancer molecules, just to offer two biomedical (CAM) applications. Indeed our first cover is a woodblock print by Hiroshige of travelers on a bridge. It reflects our hope that *eCAM* will bridge cultures as well as CAM and modern biomedicine. Thus we do not wish for *eCAM* to be entirely a journal that encompasses Asian countries. Instead *eCAM* will be universal in the broadest context.

## 補完代替医学が雑誌 *eCAM* から受ける恩恵

E. L. クーパー

比較神経免疫学，カリフォルニア大学ロスアンジェルス校，米国

間もなく訪れる 2004 年 11 月，これまでにないような大変興味深い新雑誌，Evidenced Based Complementary and Alternative Medicine (*eCAM*, Oxford University Press 社)の発刊一周年を迎える。私たちのこの雑誌は様々な研究分野からの成果を取りまとめたキメラと言えよう。すなわち，免疫学，伝統的中国医学と西洋医学との連鎖，純粋科学の注入に必要な指標として代替医療を捉える試みである。

*eCAM* という雑誌名は科学的厳密性を追求する立場を示している。補完代替医学に厳密にアプローチしていく上でまず初めの目標としては，補完代替医学が生物学上どのように位置づけられるか，すなわち補完代替医学において神経内分泌免疫系を例にあげれば，このシステムがどのように進化し身体にどのように作用しまたは協調しているか，また，このシステムの胎生期からの発生の過程などの詳細な解析は最小限にして，人々に広く総合的に理解されるべきである。同時に，このような理解が進めば公衆衛生，臨床医学，医療行為の分野に補完代替医学の概念の応用が容易となるような十分な背景を生物学を参考にしながら提供することになる。西洋医学が還元法的で説得力に欠ける内容に対しては排他的な傾向があるのに対して，CAM は全体論的で包括的である。

では，私たちは一体どの辺りに位置しているのだろうか？私たちは歴史的観点から中国にて補完代替医学と西洋医学との橋渡しがなされることを予測してこれらの基盤造りを始めた。補完代替医学の科学的根拠を他の指標，すなわちかつて未熟とされた領域にリンクさせることにより，医学的経験主義の弊害から脱却することが可能となることで望みの基盤が創設され，動物モデルや自然産物からの提案が示唆された。

動物から得られる原料，とりわけ海の動物から得られる原料に話を戻すと，Haefner によると海から得られる自然産物について近年多くの薬剤化の可能性が指摘されている。これらの多くの産物は前臨床段階，または早期臨床段階にあるが，シタラピンなど既に商品化されているものもあるし，ET743 (Yondelis)のようにまもなく認可されるものもある。自然海産物の生態学に関する研究によると，これらの化合物の多くが化学兵器の役割を持っており獲物，捕食者またはそれらの競合者の体内で生理学的機能の強力な制御因子となっているということだ。海の無脊椎動物から採取された産物は微生物由来であり今日では上述の分子の大半を形成していること，またはその可能性が推測されている。

遺伝学的かつ生物学的な多様性についての解明が始まったばかりである海洋微生物はより効果のある薬剤発見につながる可能性のある化学物質の宝庫なのではないだろうか。ロンブロキナーゼはミミズから採取された物質であるがフィブリン溶解剤として販売されている。私たちはこれらの物質がこうした生物の免疫系としばしば関わっていること，そしてこの免疫系は何百万年もかけて進化して

きたものであり生命の生き残りのための優れた策略を保有するものであることを忘れてはならない。彼らにとって上手く作用するのであるから、人類はこれらの物質を補完代替医学として新たな抗生物質、抗癌剤として活用すべきではないだろうか。

初刊の表紙は安藤広重の浮世絵、橋の上の旅人たちである。これは eCAM が文化のみならず補完代替医学と現代医学とを結びつけるという私たちの希望を反映している。このように私たちは eCAM がアジア諸国のみならず広く世界に発信されることを願っている。

## Writing an acceptable paper for *eCAM* even before peer review: some clues

Cooper Edwin L.

Laboratory of Comparative Neuroimmunology, Department of Neurobiology, David Geffen School of Medicine at UCLA, University of California, Los Angeles, Los Angeles 90095-1763

In our quest for excellent science we all work in laboratories for the excitement that it offers, however, our work exists within the context of an established order—the order of rigorous science. And it is our obligation to the discipline to publish our works to give credit because of the various funds. There are some cardinal rules that define the usual paper for most biomedical journals: 1) The regular paper; 2) The review paper (this can take the form of e.g. commentary; editorial). In any sense, clarity of writing is the watchword for any of several publications that are readily accepted for peer review by *eCAM*. Authors should decide what they would like to tell readers and make every effort to write up their findings in the most clear and imaginative fashion as is possible. Beginning with the title, authors should tell the readers through an imaginative choice of words what the paper contains. Here is an example: **BAD TITLE:** Effects of drug X on Phagocytosis. **IMAGINATIVE title:** *Drug X reduces Phagocytosis of beads as measured by FACS analysis.* Moreover in the Results section, there should be more than ample divisions of the text into several interesting paragraphs that are headlined by imaginative subheadings. **FIVE BAD** subheadings that all begin with: *Effects of drug X on Phagocytosis.* **IMAGINATIVE** subheadings: *These should be different using key words from the relevant paragraph that best describes what each paragraph contains.* These precautionary measures will do much to catch the eye of the referees who after all are fellow scientists and who enjoy reading a paper and its contents especially those that capture the imagination and excite the reader's intellect. When we arrive at the Discussion every paragraph should contain a discussion fashioned in the order of the Results. Excellent Discussions should not just repeat the results but they should critically amplify, extend, embellish the results or counter them with substantiation by proper citations. The Literature Cited should be as current as possible. No one would like to read a paper proposing an idea that was done many times between 1950 and 1960. Citing these papers can be done as rapidly as possible with clarifying phrases that do much to set the stage for the later work and how it emanates from the more, prescient earlier works. Papers that propose an idea without showing that their work is old, will not receive excellent reviews by the referees. Excellent review papers should follow similar guidelines but at the same time every effort should be devoted to creating interesting diagrams that best explain certain written concepts in colorful graphic forms. Tables should be kept to a minimum and where possible tabular material should be converted to easier and more quickly interpreted histograms. Tables do not capture the attention of

busy referees if they are too tedious and lengthy. The take home message of this exposition is to provide a few simple rules that will assist that manuscripts receive more than boring evaluations by the editorial office and by qualified referees.

## 雑誌 eCAM に投稿するに当たっての留意点

E. L. クーパー

比較神経免疫学，カリフォルニア大学ロスアンジェルス校，米国

科学探求のため私たちは研究室にて一種の興奮を持って研究を重ねるのであるが，そうした研究内容は科学の厳密性においてのみ評価されるものである。そして，様々な研究資金獲得のためのクレジットを与えるべく研究論文を出版することも私たちの勤めである。

多くの生物医学系雑誌においてはいくつかの基本的な決まりがある。1) regular paper, 2) review paper( commentary, editorial などの形をとるもの)。いずれにせよ，明確に書かれた論文であることが，他の雑誌におけるのと同様 eCAM でも重要である。著者は読者に対して何を伝えたいかを決定し，最も明確で容易に想像できるような内容に仕上げるようあらゆる努力をすべきである。論文の題名について言えば，題名から論文の内容が想像できるものであることが望ましい。悪い例を挙げると，「貪食能における薬剤 X の作用」となる。これに対して，好ましい題名としては「FACS 解析によって確認された薬剤 X によるマクロファージの貪食能低下作用」となる。“結果”については，各々副題をとった興味深い項目ごとにまとめられるのが望ましい。たとえ 5 つの項目に分けられていたとしても全てが「貪食能における薬剤 X の作用」という副題で始まるのであれば悪い例である。好ましい例としては，相互に関連する項目においても各項目の内容を最も的確に反映するキーワードを副題として用いることである。このような配慮が科学者の同僚であり論文の内容に興味深く受け止める審査員の目に留まり，読者の想像力を捕らえ知性の興奮に響くことにつながるのである。“考察”については，全ての項目が“結果”から導きうる内容から構成されていることが必要である。優れた“考察”とは結果で述べられた内容を繰り返すのではなく，結果を批判的に拡充し装飾するものであるか，あるいは，適切な引用を基にその科学的論拠に基づいて結果を否定するものでなくてはならない。“引用論文”については出来る限り最近のものをを用いるべきである。1950年から1960年に提唱されたようなアイデアを読みたいと思う者はいないはずである。研究内容が古いことを示さずに報告された論文は審査員によって受け入れられることはない。総説についても同様のことが当てはまる。総説では同時に興味深い図表を用いること，最も良いのは色彩豊かな図表の中に文章で説明が加えられることである。図表には最小限のことが記載され，可能であれば平易で一目で理解できるようなヒストグラムで表されることが望ましい。図表が単調であったりややこしい場合には忙しい審査員の目に留まりにくいであろう。

これらの留意点により編集部，審査員からの投稿論文に対する批評ではなく論文受理の返事が皆様に届くよう願っています。

## シンポジウム 1

### 無作為割付臨床試験による機能性食品の有効性の評価

石川 秀樹

兵庫医科大学 家族性腫瘍部門 学内講師



In order to put nutrition advice on cancer preventive or gastrointestinal treatment agents on an evidence basis, appropriate intervention studies in cancer high risk human populations or patients are necessary. Although epidemiological observations are clearly very important in providing pointers to beneficial components of foods, as illustrated by the adverse effects apparent with smokers receiving beta-carotene supplementation, they are not necessarily able to predict actual effects and require confirmation in a defined human setting. The results from our study suggest that supplementation of dietary fiber with wheat bran promoted the enlargement of colorectal tumors and that *Lactobacillus casei* prevented atypia of colorectal tumors.

機能性食品は数多くあるが、無作為割付臨床試験によりその有用性が示されたものはきわめて少ない。機能性食品は食品であり薬のような臨床試験は必要ないとする意見もあるが、私は食品でも病気の治療効果を求めるのであれば、臨床試験によりその効果を検証する必要があると考えている。その理由として、試験管レベルや動物実験レベルで効果が示唆されてもヒトでは効果がないことを数多く経験していること、通常の摂取ならば安全な食品でも、効果を求めた場合には、味覚や食欲などの生理的な摂取コントロールが効かない状態になるため、過剰摂取や偏った摂取になり、害をもたらす可能性があること、食品でもプラセボ効果は十分に起こり得ること、などがあげられる。

私たちは、発癌予防や消化器疾患治療に有効な食品成分を見いだすため、無作為割付臨床試験を実施している。大腸癌予防のために、多発性大腸腫瘍患者、家族性大腸腺腫症患者、遺伝性非ポリポーシス大腸癌患者に対し、小麦ふすまビスケット、乳酸菌製剤、DHA 濃縮カプセル、緑茶抽出物、熟成ニンニク抽出物を、肝癌予防のために、C 型慢性肝疾患患者に対し薬用ニンジン、潰瘍性大腸炎の治療のためにビフィズス菌発酵乳などの無作為割付臨床試験を行い、小麦ふすまビスケットは大腸腫瘍の増大を促進すること、乳酸菌製剤は大腸腫瘍の悪性化を抑制すること、ビフィズス菌発酵乳は潰瘍性大腸炎の寛解期維持に有用であることなどを明らかにしてきた。

本学会では、これらの臨床試験の結果を紹介するとともに、食品の臨床試験における注意点や問題点を述べる。



## 日常生活に関わりの深い有機化合物に 焦点をあてたアルツハイマー病予防・ 治療薬の開発



山田 正仁（教授）・小野賢二郎  
金沢大学大学院医学系研究科 脳老化・神経病態学（神経内科）

Cerebral deposition of amyloid  $\beta$ -peptide ( $A\beta$ ) in the brain is an invariant feature of Alzheimer's disease (AD). Inhibition of the accumulation of  $A\beta$  and the formation of  $\beta$ -amyloid fibrils (f $A\beta$ ) from  $A\beta$ , as well as the destabilization of preformed f $A\beta$  in the brain would be attractive therapeutic targets for the treatment of AD. We demonstrated that wine-related polyphenols and curcumin, a major component of curry spice, dose-dependently inhibited f $A\beta$  formation from  $A\beta(1-40)$  and  $A\beta(1-42)$ , as well as their extension. Moreover they dose-dependently destabilized preformed f $A\beta$ s, showing attenuation of f $A\beta$ -induced cytotoxicity. These compounds could be key molecules for the development of preventives and therapeutics for AD.

痴呆は加齢と共に増加し、85歳以上では30%近くの人にみられる。痴呆をおこす疾患には様々なものがあるが、その中で、アルツハイマー病と脳血管性痴呆の2つが多い。わが国では従来、脳血管性痴呆の方がアルツハイマー病よりも多かったが、近年、アルツハイマー病の方が優位になったとされている。

現在わが国では、アルツハイマー病治療薬としてコリン作動性神経細胞を活性化する薬（ドネペジル）のみが認可されている。こうした薬は症状を軽減する効果はあるが、残念ながら病気の進行を本質的に阻止することはできない。アルツハイマー病の根本的な予防・治療のためには、アルツハイマー病の発症のメカニズムを解明し、それを制御する方法を開発する必要がある。

アルツハイマー病の発症機構の中で、最も中心に位置すると考えられているのはアミロイド 蛋白（ $A$ ）の脳への沈着である。その前駆体蛋白 APP が切断されて  $A$  が産生され、 $A$  が重合し線維化して沈着していく過程はアミロイド（ $A$ ）カスケードと呼ばれている。この  $A$  カスケードを修飾することによって、脳への  $A$  沈着を阻止し、あるいは既に沈着した  $A$  を分解除去することが、予防治療薬開発上の重要な戦略となっている。

我々は  $A$  の重合・線維形成過程を阻止、あるいは既に形成された  $A$  線維を分解する分子を探索しており、その中でも特に、日常生活に関わりの深い有機化合物に注目してきた。本シンポジウムでは、赤ワイン関連ポリフェノールおよびカレースパイスの主成分であるクルクミンが、強力に  $A$  線維の形成・伸長を抑制するばかりでなく、既存の  $A$  線維を強力に分解する作用があり、これらの化合物がアルツハイマー病の予防・治療薬開発における有力な基本分子になる可能性があることを呈示する。

## アトピー性皮膚炎に対する漢方治療のエビデンス

Evidence for the efficacy of 'Diet and Kampo' for atopic dermatitis

小林 裕美

大阪市立大学大学院医学研究科皮膚病態学 助教授



Atopic dermatitis (AD) is a complex, multifactorial disease for which definite guidelines of treatment have yet to be established. Substantial portion of AD patients treated with conventional therapy become intractable after cycles of recurrences. We have treated many of those patients by diet and Kampo herbal medicine. However, as our approach is highly individualized and the Kampo formulae sometimes complicated, it is not easy to provide evidence to establish usefulness of this approach. To demonstrate the effectiveness of the method of individualized Kampo therapy, results are presented for a series of patients who had failed conventional therapy but were treated afterwards by utilizing diet and Kampo. Based on these data, we contend that there exist a definite subgroup of AD patients whom conventional therapy fails, but 'Diet and Kampo' approach succeeds, to heal (Kobayashi H et al: eCAM 2004; 1(1): 49-62).

アトピー性皮膚炎 (AD)は多病因的疾患で、通常の治療にても難治の一群が存在する。このような例に私達は、食養などの生活習慣指導と漢方方剤内服を利用し治療効果を高めてきた。方剤の選択は、病態を重視し、症例毎に、また、同一症例においても時間経過とともに変更していく。従って、AD治療に用いる方剤は複数あり、従来 EBM のランクが高いとされてきた方法では正しい評価は困難である。

このような特徴を有する漢方の評価法としては、N-of-1 試験を応用した方法が考えられる。これは 1 症例を対象に、漢方投与期間と偽薬投与期間をランダムに割り付け、その効果を判定するものであるが、偽薬作成の困難が問題点として存在する。

診療現場においては、ある薬剤が有用か否か、投与中と非投与時、あるいは別の方剤投与時の変化を比較することにより、最適の薬剤を決定しており、偽薬のない一種の N-of-1 試験を行なっていることになる。このような症例の集積による漢方の有用性の評価を試みた。方法としては、標準的治療をまず行ない、治癒しない例を対象に、漢方の食事指導、すなわちバランスのとれた和食中心の食事推奨を行なう。それでもなお治癒しない例に漢方方剤内服を加える。という形で、標準治療以外の方法が必要な群を明らかにし、その群における効果を、6 か月以上の経過を重視して評価した。この方法においては容易に治癒しやすい軽症例は全て除去される。さらに脱落例の来院中断理由も調査し、副作用の有無を記録し、本療法の長所短所を明らかにした。

また、一方剤についての検討例として、生体防御能を高める補中益気湯を対象に、それまでの治療による経過観察期間を設けたのち、本剤のみを加え、検査値の変動、外用剤の量の変化など種々の角度から本剤の効果を明らかにした。

いずれも、不必要な投薬のリスクを軽減できる倫理的な方法であり、今後も検討を重ねていきたいと考えている。

## 補完代替医療のエビデンスの確立

IMPROVED PORGNOSIS OF POSTOPERATIVE HEPATOCELLULAR CARCIOMA  
PATIENTS WHEN TREATED WITH FUNCTIONAL FOODS

上山 泰男

関西医科大学 外科 教授



Complementary and alternative therapies are used in an effort to prevent illness, or control, or cure disease. Some commonly used complementary therapy for cancer includes functional foods. Active hexose correlated compound (AHCC) is a newly developed functional food. A prospective cohort study on patients with HCC using AHCC was performed in our department. A total of 269 consecutive patients with HCC were studied. All of the patients underwent resection of a liver tumor. Of the 269 patients, 113 received AHCC orally after curative surgery (AHCC group). The AHCC group had a significantly longer no recurrence period and increased overall survival rate when compared to the control group (J. Hepatology 37:78-86, 2002). These findings alert us to important new possibilities that functional food could be available for effective cancer treatment and prevention.

現在の日本の医療は西洋医学 (school medicine) に基づいて行われている。しかし、疾患によっては西洋医学が個々の患者さんの求めている治療を十分に提供できていないわけではない。診断がいかに正確であっても、現実には、西洋医学でエビデンスが不十分な治療方法もあり、患者さんは個人の判断に基づいて、エビデンスのはっきりしない、いわゆる民間療法を用いている。これらの民間療法は補完代替医療 (complementary and alternative medicine) に含まれるもので、いわゆる健康食品による健康維持、病気予防、症状の改善、処置等もこの補完代替医療に含まれる。

食物や食品には健康維持、生活習慣病の予防・治療、癌の予防等に科学的データに基づいて有用と考えられる物質が含まれている。構造式の決定された物質もあり、生体内での作用機序も分子レベルで明らかにされている。

私共は細胞レベル、動物実験レベルで基礎的データが報告されている機能性食品 Active Hexose Correlated Compound の摂取が肝細胞癌患者の術後再発を抑え、術後生存率を改善することを Cohort Study で明らかにした。(J. Hepatology, 2002, vol. 37, p78-86)

今後も発病の機構が科学的に解明された疾患に対して、個々の患者の病態に対応した新しい医薬品が開発され、臨床利用されていくと考えられる。一方、医療従事者はすでに自然界に存在している物質や個々の民間療法の臨床的有用性も科学的に明らかにしていかなければならない。

## シンポジウム 2

### 酸化ストレスと動脈硬化性疾患

近藤 和雄

お茶の水女子大学生活環境研究センター 教授・センター長



動脈硬化の発症には、様々な危険因子（高脂血症、高血圧、喫煙、糖尿病、肥満など）が関与している。なかでも、高脂血症は最も強い危険因子として知られているが、最近になり、活性酸素やフリーラジカルによる生体への酸化的障害が注目されるとともに、これまで考えられていたリポ蛋白の“量”に加えて、リポ蛋白の“質”の重要性がクローズアップされるようになった。したがって、食事因子に関しても、リポ蛋白の“質”に影響を及ぼすものに関心が向けられている。特に LDL の酸化を抑制する抗酸化物を含む食品の存在は重要である。

こうした検討のなかで、抗酸化物のなかでもビタミン E、ビタミン C、カロテノイドなど従来からの抗酸化物に加えて、食品の色素成分や苦味、渋味成分であるポリフェノールが注目を集めるようになってきた。筆者らの検討では、健康人にポリフェノールを多く含む赤ワインを 2 週間投与して、LDL 抗酸化能が有意に亢進していることが確かめられている。さらに、ココア投与、緑茶投与でも LDL 抗酸化能の亢進していることが明らかになった。

この他にも、Zutphen elderly study では、一日 30mg 以上のポリフェノールの摂取者に動脈硬化性心疾患の発症率の有意の低下、Seven countries study では、ポリフェノールの摂取量と動脈硬化性心疾患の間には、負の相関が認められている。またフィンランドの研究でも、ポリフェノールが動脈硬化に予防的に働くことを示す結果が得られていて、抗酸化物を摂取することの重要性が現実のものとなっている。

振り返って日本の食生活をみると、ポリフェノールを多く含む抗酸化食品を多く摂取していることに気づく。酸化ストレスに対抗する食生活は、日本の食生活かもしれない。

## 酸化ストレス・炎症発がんの分子メカニズム

Molecular mechanism for oxidative stress- and inflammation-induced carcinogenesis

赤池 孝章

熊本大学大学院医学薬学研究部 微生物学分野 助教授



In recent years, accumulated evidences indicate that free radical species and nitric oxide (NO) or its derivatives are the key denominators in carcinogenesis. Reactive molecular species derived from NO exhibits unique chemical reactivities such as guanine nitration, leading to mutagenesis. For example, formation of 8-nitroguanosine is best characterized as a nucleic acid modification induced by NO that is overproduced in inflammation and infections. Moreover, the inflammatory responses thus induced by infectious pathogens accelerate tumorigenesis as well as mutagenesis. The present topics will focus on the unique mechanism of carcinogenesis induced by oxidative and nitrative stress occurring during inflammation.

近年、消化管、肝・胆道系などの固型がんの半数以上の例で、慢性感染・炎症が、がん発症の主要な要因になることが指摘されている。炎症病態においては、炎症細胞や各臓器の上皮・実質細胞に由来するいわゆる活性酸素や一酸化窒素（NO）の過剰な生成が起こり、生体分子に可逆的にあるいは非可逆的な様々な化学修飾（主として酸化・ニトロ化反応）をもたらすことにより、生体に酸化・ニトロ化ストレスをきたす。例えば、NO は炎症局所で活性酸素と反応し、二酸化窒素や過酸化亜硝酸などの活性酸化窒素種に変化し興味深い生物活性を示す。実際、最近我々は、NO に由来する活性酸化窒素種に特徴的な修飾塩基として8-ニトログアノシンの生体内生成を報告した。また、8-ニトログアノシンそのものに強力なレドックス活性があり、NO 合成酵素や P450 レダクターゼにより活性化を受けスーパーオキシドを産生するというユニークな化学的特性があることを見出している。一方で、8-ニトログアノシンが heme oxygenase-1 の誘導を介して細胞死の制御効果をもたらし、腫瘍増殖を支えることもわかってきた。これらの知見は、NO が8-ニトログアノシン生成を介して変異原性を誘発し、さらに、細胞死・細胞増殖に関わる因子の発現調節異常をもたらし、感染・炎症による発がん・プログレッションに深く関わることを示唆している。炎症発がんにおいて、NO・活性酸素などの活性分子種は、21 世紀のがん予防戦略の重要な標的分子であるといえる。

## 消化器疾患とフリーラジカル

松崎 靖司

筑波大学臨床医学系 助教授



Recently, it is reported that free radical is associated with pathophysiology and the progression of gastrointestinal and liver diseases. We observed that in gastric cancer cell, iNOS expression was significantly increased and NO generation was increased compared to normal gastric cell. On the other hand, we indicated that ursodeoxycholic acid (UDCA), which is one of the useful therapeutic agents for gallstone, primary biliary cirrhosis and chronic hepatitis, has a strong potentiality as free radical scavenger. I would like to demonstrate the importance of examining the relationship between free radical and gastrointestinal and liver diseases, in order to elucidate the pathophysiological mechanism of diseases and the development of novel therapy.

消化器疾患の代表である、胃癌、C型肝炎・肝臓癌においてもその発症および進展機序においてフリーラジカルが関与している。

胃癌においては、我々を含む複数の研究成果より、*H.pylori* による慢性炎症などによって惹起された一酸化窒素 (NO) が、その発症に大きく関与していることが示唆されている。我々の研究においても、胃癌由来の培養細胞系では、正常胃粘膜細胞由来の培養細胞系と比較し、誘導型 NO 産生酵素 (iNOS) の発現が有意に増加していること、蛍光色素を用いた検討で細胞内 NO 濃度が有意に増加していることが明らかになった。iNOS/NO 増加は、胃粘膜血流の増加をもたらすため、慢性胃炎においては胃粘膜保護の観点から合目的的であるが、一方で、NO から産生される ONOO-などの窒素酸化物は強い carcinogen であることから、DNA 障害をもたらす、発癌をもたらすと考えられる。

一方、近年 C 型肝炎・肝臓癌においては、肝炎の進展とその後の肝癌発症を、瀉血および鉄制限食が有意に抑制するという報告がある。鉄はそれ自身がフリーラジカルであり、いわゆる Fenton 反応により周囲の過酸化水素と反応して細胞障害性の高い OH ラジカル (OH-) を放出し細胞・DNA 障害を引き起こすことがその機序として考えられている。また、胆石症・PBC(原発性胆汁性肝硬変)・慢性肝炎の治療薬である UDCA (ウルソ) は我々の研究などからフリーラジカル消去能を持つことが明らかになった。これらの結果も、慢性肝炎から肝硬変、さらには肝細胞癌発症にかけての肝細胞障害にフリーラジカルが関与している可能性を強く示唆している。さらに、鉄自体が癌の DNA 増殖に関わっている可能性もあり、現在我々はこの観点から細胞内鉄代謝の研究を進めている。

以上本演者の発表では、消化器疾患とフリーラジカルの関係の検討が、種々の疾病の発症機序解明や治療法開発にきわめて重要であることの証左を示したい。

## 血管機能と抗酸化物質

橋本 正良

神戸大学医学部附属病院 総合診療部 助教授



Non-invasive techniques for examining endothelium-dependent vasodilatation using sonography have been widely applied in human studies. Anti-oxidants such as red wine and estrogen are thought to improve endothelial function. Improvement of flow-mediated vasodilatation was observed after red wine intake. Improvement was also observed after intake of red wine without alcohol. The constituent(s) of red wine, not alcohol, improves endothelial function. The effects of long-term hormone replacement therapy (HRT) on vasomotor function and on the progression of carotid intima-media thickness (IMT) are also examined in this study. The results indicate that long-term administration of HRT may exert a positive effect on endothelium-dependent vasodilatation and may prevent the progression of carotid IMT in postmenopausal women while they are on HRT.

Zuphen Study, Seven Countries Studyなどの結果から、食物中に含まれる抗酸化物質の抗動脈硬化作用が注目を集めている。フランスにおいては動物性脂肪を大量に摂取する典型的欧米型の食生活が営まれているにも関わらず、動脈硬化を基盤とする冠動脈疾患や脳血管障害の発症頻度が、他の欧米諸国と比べて低いことが疫学的調査により知られている。その現象は“フレンチパラドックス”として広く注目を集め、その原因の1つとして赤ワインの消費が多いこととの関連が既に疫学的事実として示されている。

近藤らは赤ワインの服用により一般健康成人において、動脈硬化形成に重要な low-density lipoproteinの酸化が抑制されたことを明らかにし(Lancet. 1994; 344: 1152)、この抗酸化作用には赤ワイン中のポリフェノールが重要であると指摘している。我々は赤ワイン（またはポリフェノール）の抗動脈硬化作用の機序の一つとして血管内皮機能を改善するかを検討した。

また、Framingham疫学研究より、閉経後女性は動脈硬化性疾患の発症が男性に近づく事実から、女性ホルモンが抗動脈硬化作用を有すると考えられる。閉経後女性の骨塩量減少に対して女性ホルモンが治療に用いられている。閉経後1年以上を経過した無症候性女性で、骨粗鬆症と診断され女性ホルモン補充療法を開始した患者を対象とし、血管内皮機能がどのような影響を受けるかを中長期にわたって経時的な検討を行った。女性ホルモン補充療法を受けている患者における内皮依存性血管拡張能は改善傾向を認め、治療期間中にその効果の減弱は認められなかった。女性ホルモン補充療法による動脈硬化性疾患の発症抑制には、女性ホルモンの内皮機能改善が関与している可能性が示唆された。また上記治療24ヶ月以上を経過した6名の患者に対して従来の半量を投与し、半量投与を開始した後、平均12ヶ月において内皮依存性血管拡張能を検討したところ、血管内皮機能は改善の傾向が認められた。

## 酸化ストレスとアレルギー疾患

神林 康弘

金沢大学大学院医学系研究科環境生態医学 講師



Oxidative stress including nitrative stress has been attracted much attention on its implication in various diseases. Active nitrogen species (ANS) induce various reactions, such as formation of nitrotyrosine and nitrosothiol, which might induce damage to tissue. On the other hand, there are many reports which showed implication of ANS in inflammatory diseases and allergic diseases, however, that in atopic dermatitis remained to be elucidated. It is important to understand pathophysiology of disease for its prevention. To elucidate the pathophysiology of some allergic diseases, we used murine atopic dermatitis model and asthma model using NC/Nga mouse. In this symposium, our study on relationship of oxidative stress including nitrative stress to allergic disease is introduced and its prevention is discussed.

種々の疾患に酸化ストレスが関与していると考えられているが、近年、活性窒素種 (RNS) によるストレスにも注目が集まってきた。炎症などで誘導される誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) による一酸化窒素 (NO) の産生が様々な病態に関与することが示唆されている。産生された NO は速やかに代謝され、安定な亜硝酸イオン ( $\text{NO}_2^-$ ) と硝酸イオン ( $\text{NO}_3^-$ ) に変換される。また、NO は活性酸素種の一つであるスーパーオキシドと反応し、反応性の高いペルオキシナイトライトに変換され、チロシンのニトロ化を行ったりする。この RNS が関わる疾患のバイオマーカーと考えられているニトロチロシンは、炎症性疾患やアレルギー性疾患に関わりのある好中球や好酸球が持つペルオキシダーゼの反応によっても生成される。さらに、NO や  $\text{N}_2\text{O}_3$  などの RNS は、蛋白質中のシステインのニトロソ化を行う。これらの蛋白質修飾の一部は、蛋白質の機能障害につながると考えられる。

一方、炎症性疾患への RNS の関与が示唆されているが、アレルギー性疾患のひとつであるアトピー性皮膚炎に関しての報告は無いに等しい。そこで、我々はコンベンショナル環境下で飼育するとヒトアトピー性皮膚炎様症状を自然発症する NC/Nga マウスを用いて、本疾患における ANS の関わりについて検討した。疾患発症機構を解明することは、疾患予防を考えるときに重要である。本シンポジウムでは、アトピー性皮膚炎における RNS の関与に注目して行った我々の研究（アトピー性皮膚炎未発症の NC/Nga マウスと比較して、発症したマウスでは、血清中  $\text{NO}_2^-$  と  $\text{NO}_3^-$  濃度が高かったが、それらの皮膚中濃度は低かったなど）について紹介する。また、このデータをもとに疾患予防について考察する。さらに、NC/Nga マウスを用いて我々が作成した喘息モデルにおける RNS の関わりについての検討も紹介する。



## シンポジウム 3

### 食物成分による発癌予防 ー細胞内シグナル伝達の制御ー

野村 政明

金沢大学医学部附属病院薬剤部 助手



Number of dietary constituents called food factors have been reported to block initiation or suppress promotion stage of multistep carcinogenesis. However, the mechanisms of which the food factors have anti-carcinogenic effects are still unclear. Recent investigations have indicated that growth-related signal transduction pathways might be the molecular targets of the food factors. We used the JB6 mouse epidermal cell system of clonal genetic variants, which are promotion sensitive (P+) or promotion resistant (P-), because this model provides a well-developed cell culture system for studying the signal transduction pathways in cancer promotion. We demonstrated that several food factors, including tea components, (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and theaflavins, modulate the signal transduction pathways, such as mitogen-activated protein kinases and phosphatidylinositol 3-kinase, which are involved in malignant transformation of the JB6 cells.

発癌の原因因子のうち食事に起因するものは全発癌因子の約 35%にも及ぶと指摘されている。一方、緑黄色野菜や果物の摂取が種々の癌の発癌リスクを減少させることも示されており、食物が発癌の予防においても重要な働きをしていることが示唆されている。これら発癌リスクを減少させる食物より、いくつかの発癌予防効果を持つ成分が分離、同定されており、それらは、food factor と呼ばれ、種々の発癌抑制メカニズムが報告されている。近年、発癌過程において、いくつかの細胞内シグナル伝達に関わっていることが明らかにされてきており、これらの食物成分による発癌抑制作用に、これら細胞内シグナル伝達の制御に関わっていることが示唆されている。

マウス上皮細胞 JB6 Cl 41 細胞は、発癌プロモーターであるホルボールエステル (TPA) や上皮増殖因子 (EGF) 等の刺激により形質変換 (transformation) し、軟寒天中でコロニーを形成する性質を持つ細胞であり、発癌のプロモーション過程を分子レベルで研究するのに有用な細胞である。この細胞の transformation には、転写因子の一つである activator protein-1 (AP-1) の活性が必要であることが報告されている。また、AP-1 の構成蛋白質である JUN, FOS は mitogen-activated protein kinases (MAPK) によるリン酸化を介して転写活性化されることが示されている。さらに我々は、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt 経路が、JB6 Cl 41 細胞の transformation に関わっていることを明らかにしており、いくつかの食物成分について、JB6 Cl 41 細胞のこれら細胞内シグナル伝達に対する影響を検討している。このうち特に、緑茶成分である (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) や紅茶成分である theaflavins について詳細な検討を行っており、これらの成分が外的刺激の種類によって MAPK や PI3K に対し異なった作用を及ぼすことが示された。これらの細胞内シグナル伝達は、発癌過程での細胞内シグナル伝達においても重要な役割を果たしていることが示唆されており、食物成分によるこれら細胞内シグナル伝達の制御がそれらの発癌抑制作用に関わっている可能性が示唆された。

## 生体防御蛋白チオレドキシンの誘導食品による疾病予防

中村 肇

京都大学医学部附属病院探索医療センター探索医療開発部 助教授



Thioredoxin is a small protein composed of 105 amino acids with scavenging functions of reactive oxygen species which are thought to cause aging and life-style related diseases such as atherosclerosis, hypertension and diabetes mellitus. Thioredoxin is secreted from cells to attenuate oxidative stress and shows anti-apoptotic and anti-inflammatory effects. Thioredoxin-transgenic mice are more resistant to various oxidative stresses and live longer than control mice. Therefore, the induction of endogenous thioredoxin by thioredoxin-inducing foods or the administration of thioredoxin by thioredoxin-containing foods may be beneficial to attenuate oxidative stress and to prevent inflammation, aging and life-style related diseases.

チオレドキシンは 105 個のアミノ酸からなる小さな蛋白で、動脈硬化、高血圧、糖尿病などの生活習慣病や老化の原因として注目されている活性酸素を消去する抗酸化機能を有する。チオレドキシンは酸化ストレスを緩和するため細胞から放出され、細胞死や炎症を抑制する作用を示す。チオレドキシンを過剰発現したマウスは種々の酸化ストレス疾患に抵抗性を示し、対照マウスと比較して約 25% も寿命が長いことが明らかになった。したがって、チオレドキシンを誘導する食品により体内のチオレドキシンを誘導することやチオレドキシ含有食品によりチオレドキシンを投与することは、種々のストレスの緩和に役立つのみならず、炎症、老化、生活習慣病などの予防にも有効であると考えられる。

## 補完代替医療のエビデンス

### ーその科学的検証（食品によるがん予防）ー

田中 卓二

金沢医科大学 学生体機能形態医学分野・基礎系・  
腫瘍病理学部門（旧病理学第一） 教授



Certain natural compounds in foods and synthetic compounds can inhibit chemically induced carcinogenesis. Our group recently demonstrated an inhibitory effect of a peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) $\gamma$  ligand troglitazone on azoxymethane (AOM)-induced rat colon carcinogenesis. Since conjugated linolenic acid (CLN) in foods are known to act as a PPAR $\gamma$  ligand, we conducted an *in vivo* experiment to know cancer chemopreventive ability of bitter melon seed oil (BGO) containing a high amount of CLN. Male F344 rats were given AOM to induce colonic neoplasms and fed 0.01%, 0.1% or 1% BGO containing diets for 32 weeks. Feeding with 0.01% BGO (44%,  $p<0.05$ ), 0.1% BGO (50%,  $p<0.05$ ), and AOM+1% BGO (60%) lowered the incidence of colonic adenocarcinoma when compare with the AOM alone group (83%), suggesting cancer chemopreventive action of BGO in colon carcinogenesis. Thus, the food material rich in CLN might be a candidate of cancer chemopreventive agent against colon carcinoma.

我々はこれまで食品中に含有される化合物や合成化合物（薬剤など）による発がん予防・阻止に関する動物実験を行い、臨床応用に向けた基礎的資料を提示してきた。最近では、ペロキシゾーム増殖活性受容体(PPAR)  $\gamma$  のリガンド（troglitazone など）が azoxymethane (AOM) 誘発ラット大腸発がんを抑制することを報告した。我々の結果は、その後他の研究グループにより追認されたことにより、PPAR  $\gamma$  リガンドを利用した大腸発がん予防の可能性が示唆されている。一方、いくつかの食品成分はがん発生の修飾、特に発がん抑制に関与しているとされている。食品中の成分による発がん抑制に関する検討は、臨床応用が比較的容易であることから、発がん予防・阻止研究における重要な研究対象と考えられる。

そこで、食品成分中で PPAR  $\gamma$  リガンドとして作用する共役リノレン酸 (CLN) を豊富に含有するニガウリ種子油 (BGO) に着目し、その AOM 誘発ラット大腸発がん修飾効果を検討した。尚、予備実験では、BGO の AOM 誘発ラット ACF 抑制作用を確認している。実験では、雄性 F344 ラットを以下の 6 群に分けた。AOM (20 mg/kg 体重を週 1 回、計 2 回、皮下注射) 群、AOM+0.01% BGO 群、AOM+0.1% BGO 群、AOM+1% BGO 群、1% BGO 群、無処置群。BGO は AOM 投与の 1 週間より 32 週間混餌投与した。実験期間は 32 週とし、病理組織学的解析、肝・大腸粘膜の脂肪酸組成分析、大腸粘膜における PPAR  $\gamma$  発現解析を行った。その結果、大腸腺がんの発生頻度は、AOM 群:83%、AOM+0.01% BGO 群:44%、AOM+0.1% BGO 群:50%、AOM+1% BGO 群:69%であり、AOM+0.01% BGO 群、AOM+0.1% BGO 群で有意 ( $P<0.05$ ) に低下していた。この BGO による大腸発がん抑制作用には、大腸粘膜における PPAR  $\gamma$  発現の増加や肝・大腸粘膜の脂肪酸組成の変化が関与していると考えられた。また、別に、CLN を豊富に含むザクロ種子油についても大腸発がん抑制作用を確認しており、CLN を豊富に含む食品素材は大腸発がん抑制物質として有用であると考えられる。（本研究は、北海道大学宮下和夫教授との共同研究であり、厚生労働省がん研究助成金の助成を受けた）

## 小胞体ストレスと生活習慣病 ー食品による疾患制御のメカニズムー

Stress in the Endoplasmic Reticulum Contributes Life-style Related Diseases.



小川 智

金沢大学大学院医学系研究科神経分子標的学講座 教授

We have demonstrated that the dysfunction of a cellular organelle, the endoplasmic reticulum (ER), contribute the pathogenesis of neurodegenerative diseases, including ischemic cerebrovascular accident, Parkinsonism, and Alzheimer's disease. Further, not only neuronal diseases, recent studies indicate the failure of the maintenance of ER homeostasis play a crucial role in life-style related diseases, such as atherosclerosis, diabetes, and ischemic heart disease. We have established a cell line which is sensitive to the stress in the ER, which enables us to screen wide variety of reagent or functional food that can maintain the function of the ER. In this symposium, we provide evidence that the ER dysfunction causes these diseases and mention to the possibility to maintain the ER function by functional food.

細胞内小器官である小胞体は、虚血、アルツハイマー病やパーキンソン病など、神経変性疾患の病態生理上、重要な役割を担っていることが分かってきた。また、小胞体環境の維持は神経細胞の生存だけでなく、神経細胞としての機能維持にとってきわめて重要である。小胞体に虚血などの環境ストレスが加わった場合、小胞体内には多くのストレス蛋白が誘導され、その機能を守ろうとする。これら小胞体ストレス蛋白の抗体を使った免疫組織学的検索、およびこれらの小胞体ストレス蛋白のノックアウトマウスによる疾患モデルの検索から、さらに、神経疾患だけでなく小胞体環境の悪化に伴う細胞死が、糖尿病や動脈硬化、心臓虚血など多くの生活習慣病でもその病態に深く関与することが分かってきた。たとえば、小胞体ストレス蛋白 ORP150 (150 kDa oxygen regulated protein)の発現量の少ないノックアウトマウスでは、虚血に弱いだけでなく、アルツハイマー病やパーキンソン病のモデルにおいても神経変性が明らかである。また、このノックアウトマウスは糖尿病を導入することによって耐糖能の悪化も加速されることが分かっている。われわれは、小胞体ストレス蛋白の一部を欠損した細胞株を作成し、小胞体環境の維持を可能とする薬剤のスクリーニングを開始した。本シンポでは神経系だけでなく疾患における小胞体環境維持の重要性を示し、代替医療による小胞体環境制御法についても議論する。

## 柴胡清肝湯や三黄瀉心湯の皮膚科領域少数派菌種に対する抑制作用

The inhibitory effects of *Saiko-seikan-to* and *Sano-shashin-to*  
against minor species in the dermatological field

○檜垣 修一, 日野 孝之, 諸橋 正昭

富山医科薬科大学皮膚科

We examined the MICs and anti-enzymatic activity of *Saiko-seikan-to* (*SSeT*) and *Sano-shashin-to* (*SShT*) against some minor species. Typical difference of MIC among *SSeT* and *SShT* was not seen, but the anti-enzymatic effect to anaerobes in *SSeT* and *SShT* were recognized. Between *SSeT* and *SShT*, the arithmetic activity of anti-enzymatic effect were existed. We expect that extend use of *SSeT* and *SShT* in the dermatological field.

### 〔目的〕

*Coptidis Rhizoma* (*CR*), *Phellodendri Cortex* (*PC*), *Scutellariae Radix* (*SR*)は antibacterial effect を有する代表的漢方生薬である。今回, *CR*, *PC*, *SR* 中 2 種類以上を含む漢方方剤の *Saiko-seikan-to* (*SSeT*) と *Sano-shashin-to* (*SShT*) を用い, 皮膚科領域少数派菌種に対する抑制作用を検討した。

### 〔方法〕

被験薬剤に *SSeT*, *SShT* や cefazolin (*CEZ*), 被験菌に genus *Staphylococcus* (minor CNS), minor genus *Propionibacterium* 及び  $\beta$ -hemolytic streptococci (Group B)等を用いた。同定に Rapid ANA II System 等を用い, MIC 測定は JSC 標準法に準拠し併せて anaerobes に対する被験薬剤の anti-enzymatic activity を検討した。

### 〔結果〕

被験菌に対し, *SSeT* や *SShT* の MIC はおよそ 25-200mg/ml を示したのに対し, *SEZ* では 0.10-12.5  $\mu$ g/ml を示し, 顕著な差異がみられた。*SSeT* や *SShT* は anaerobes に対し anti-enzymatic effect を有した。

### 〔結論〕

*SShT* は *Rhei Rhizoma* を含め構成生薬すべて antibacterial effect を有する。又, *SSeT* や *SShT* 間で anti-enzymatic effect の arithmetic activity が確認された。今後, *SSeT* や *SShT* の皮膚科領域での拡大使用が期待される。

## プロポリス（CB プロポリス）のヒト腫瘍細胞における 殺細胞作用と発現機構

Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer  
cell lines by Propolis (CB Propolis).

○石川 正明<sup>1)</sup>, 菅野 秀一<sup>1)</sup>, 氏部真優子<sup>1)</sup>, 荻野 元平<sup>2)</sup>, 只野 武<sup>3)</sup>

1) 東北薬科大学癌研究所第二, 2) (株)シャブロン, 3) 東北薬科大学薬理

In order to study the biological activities of propolis (CB Propolis), its growth inhibitory effects were investigated using human cancer (leukemia, stomach, liver, breast and cervix) cell. We found that propolis strongly inhibited the growth of the cells and macromolecular synthesis in a dose- and time-dependent manner by apoptosis. Furthermore, propolis exhibited antitumor activity against S180 tumor on oral administration to mice. Propolis may be useful as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent.

### 【目的】

民間療法において制がん物質として利用されているCBプロポリスの有効性をヒト白血病細胞と固形癌（胃癌，肝癌，乳癌，子宮癌）の培養細胞を用いて評価することを目的とした。

### 【方法】

常法に従いヒト癌細胞を培養した。殺細胞作用はMTT法と trypan blue 法，DNA・RNA・タン白質の合成はRI法，アポトーシスは，Hoechst 33342による核の蛍光染色法，電気泳法による ladder 観察とコメット法により測定した。さらに，アポトーシス阻害薬，キナーゼ阻害薬を用いてシグナル伝達について検討した。S180 固型担癌マウスを用いた抗腫瘍作用は，プロポリスを粉末飼料(CE-2)に混合して投与した。

### 【結果・考察】

プロポリス(0.05～5  $\mu$  L/mL) は，ヒト癌細胞（U937, HL-60, KATO-III, Hep 3B, Hela, MCF-7）に対し，用量と時間に依存した殺細胞作用が観察された。しかしながら，ヒトリンパ球細胞に対しては，1.5  $\mu$  L/mL においてのみ，殺細胞作用が観察された。U937 細胞において，プロポリスは，DNA 合成に対してRNAあるいはタン白質合成よりも強く抑制した。さらに，プロポリス処置により核の蛍光染色法，電気泳法およびコメット法においてアポトーシスが観察された。プロポリスによるアポトーシスは，アポトーシス阻害薬により抑制された。1 および 10%プロポリス含有粉末飼料投与により，S180 腫瘍重量は，対照群に比較して41 および 79%の抑制が観察された。以上のことから，CBプロポリスの抗腫瘍作用を明らかとし，その抗腫瘍作用はアポトーシスに起因することが示唆された。

## P3

### プロポリスの代替医療適用を検証するための行動薬理学的研究

Behavioral pharmacological study to apply propolis on alternative medicine

○只野 武<sup>1)</sup>, 丹野 孝一<sup>1)</sup>, 中川西 修<sup>1)</sup>, 石川 正明<sup>2)</sup>, 庄子 武宏<sup>1)</sup>, 中嶋 丈晴<sup>1)</sup>,  
遠藤 康男<sup>3)</sup>, 齋藤 卓也<sup>4)</sup>, 縣 昌宏<sup>5)</sup>, 相坂麻紗子<sup>5)</sup>, 荻野 元平<sup>5)</sup>, 佐藤 進<sup>1)</sup>

1) 東北薬科大学薬理学教室, 2) 東北薬科大学癌研第二部, 3) 東北大学歯学部口腔,  
4) 齋藤医院, 5) (株) シャブロン

The present study was undertaken to investigate the behavioral pharmacological effects of propolis such as anti-fatigue, anti-depressant and anti-inflammatory effect on animal disease models. Chronic treatment with propolis increased the locomotor activity and decreased the immobility time as measured a forced swimming test whereas acute administration of propolis inhibited the paw edema after carra-geenin injection. These results suggest that propolis may reflect to a better condition of therapeutical effects on fatigue, depressant and inflammatory.

**【目的】**プロポリスは癌, 炎症, 痛み, 消化性潰瘍, 高血圧及び糖尿病等に改善効果を有することが知られている。さらに, それらの疾患に対する有効性を示唆する研究も数多く報告されている。しかし, その殆どの報告は *in vitro* で行われており, *in vivo*, 特に丸ごと動物に対する報告は極めて少ない。我々はできるだけヒトに対応できる条件下で検討した。即ち, マウスを用いて, うつ状態, 疲労状態および炎症を誘発させたモデルを作製し, それら病態モデル動物に対してプロポリスを経口摂取させた場合の有効性を行動薬理学的に検討した。

**【方法】**実験には体重 22～25g の ddY 系雄性マウスを使用した。病態モデル動物はうつ状態 (ビタミン B<sub>1</sub> 欠乏食で飼育後, 強制水泳試験により無動時間の延長としてとらえる), 疲労状態 (電動式回転籠で 1 回転 25 秒の速度で長時間強制的に歩行させる) 及び炎症性浮腫 (2%カラゲニン, 30  $\mu$ l をマウスの右後肢足跡内に投与し, 誘発される浮腫面積率及び面積値として表示) の 3 種を作製した。プロポリスは (株) シャブロン社製の液を蒸留水で希釈し, 経口摂取させた。

**【結果】**うつ様症状モデルマウスはビタミン B<sub>1</sub> 欠乏飼育 20 日目に強制水泳試験で無動時間を延長させるが, プロポリスを欠乏食と同時に 20 日間 1/27 及び 1/87 希釈濃度で摂取させると無動時間は有意に短縮された。疲労様症状モデルマウスは 3 及び 6 時間強制歩行後, 自発運動量は著明に減少するが, 1/243 希釈濃度のプロポリスをあらかじめ 10 日間摂取後では自発運動量を増加させた。カラゲニン誘発性浮腫モデルマウスに 1/100 希釈濃度のプロポリスを 1 回経口と投与すると浮腫面積率は減少し, ジクロフェナク 50 mg/kg とほぼ同程度の効果であった。

**【結論】**プロポリスの連続的経口摂取により抗うつ効果及び抗疲労効果が発現され, 経口 1 回投与により抗炎症作用が発現された。このようにプロポリスは 3 種の病態モデル動物に対して極めて低用量で有効性が認められた。

## **AHCC の抗腫瘍効果及び作用機序**

Anti-tumor effects of AHCC and its mechanisms

○孫 歩祥, 廣瀬 亜矢

(株) アミノアップ化学 生物化学研究室

We fractionated AHCC into low and high molecular weight (MW) fractions to identify the functional characteristics of the both fractions in anti-tumor effects. The low MW fraction was stronger than AHCC in inhibitory effect on tumor cell proliferation. On the other hand, AHCC and the high MW fraction stimulated the immune system by enhancing NO production. In tumor-bearing mice, the low and high MW fractions significantly induced IL-12 and IL-1  $\beta$  mRNA expressions, respectively, but all the treatments of AHCC and the two fractions suppressed TGF- $\beta$  mRNA level. These results demonstrated that AHCC and its fractions enhanced the immune responses that may result in inhibition of tumor growth.

### **【目的】**

AHCC はサイトカイン活性を上昇させ、免疫賦活作用を示すことが既に動物実験及び臨床知見から示されている。今回、AHCC の分画物について抗腫瘍効果及び作用機序の検討を行なったので報告する。

### **【方法】**

実験 1 : AHCC 濃縮液を低分子画分及び高分子画分に分画後、Balb/c マウスに 3 日間経口投与し、血清と腹腔内マクロファージを採取した。血清を 3LL 及び colon-26 細胞に添加し、増殖抑制活性を MTT 法で評価した。さらにマクロファージの NO 産生量も測定した。実験 2 : AHCC 及びその低分子、高分子画分を各々 3LL 細胞担癌 C57BL/6j マウスに投与し、サイトカインの遺伝子発現を PCR 法で評価した。

### **【結果及びまとめ】**

実験 1: 低分子画分群の血清は AHCC 群より強い癌細胞増殖抑制が認められ、高分子画分及び AHCC 群においては免疫賦活作用が認められた。実験 2 : AHCC, 低分子及び高分子画分は正常状態においてサイトカイン産生を高めた。担癌マウスにおいては高分子画分で IL-1  $\beta$  mRNA を、低分子画分においては IL-12 mRNA の発現を誘導した。AHCC, 高分子画分, 低分子画分は腫瘍組織の TGF- $\beta$  mRNA の発現を抑制した。以上より AHCC がもつ癌細胞増殖抑制作用と免疫賦活作用の機序の一端を明らかにした。



## アガリクス・冬虫夏草混合物の抗疲労および免疫活性化作用

Anti-fatigue and Immunoactivating Effects of the combination of *Agaricus blazei*  
and *Cordyceps militaris*

○安達 浩司, 山岡 康利, 森元 康夫

カネボウ株式会社 漢方ヘルスケア研究所

Anti-fatigue and immunoactivating effects of the combination of *Agaricus blazei* and *Cordyceps militaris* (“mixture”) were compared with those of *Agaricus blazei* alone (AG) in forced swimming, restraint stress, and bacterial infection experiments. Mice were given “mixture” or AG by oral administration for 7 days in these experiments. In the present study, the combined AG with *Cordyceps militaris* prolonged the forced swimming period and inhibited the elevation of blood lactate and enhanced the natural killer activity. Although AG also showed these activities, it was lower than that of the “mixture”. In addition, the “mixture” and AG showed the same potential to protect against *Listeria monocytogenes* infection in mice. However, they did not inhibit the elevation of blood corticosterone in restraint stress experiment. These results suggest that the combined AG with *Cordyceps militaris* has a synergistic effect in anti-fatigue and immunoactivating.

### 【目的】

ストレスは心身の疲労や免疫力の低下を引き起こし、またそれらが原因となって起こる感染症のリスクを増大させる。アガリクスについてはこれまでに抗腫瘍作用や免疫増強作用に関する報告があり、同じく菌類の冬虫夏草には免疫増強作用の他に抗疲労や抗ストレス作用などが知られている。従って、この両者を併用することでストレスやそれに伴う疲労、免疫低下に対する改善効果が期待できる。そこで今回、酵素処理アガリクス菌糸体と冬虫夏草の混合物（以下「混合物」）の疲労、免疫能および細菌感染に対する作用をアガリクス単独（以下 AG）と比較検討した。

### 【材料と方法】

「混合物」；酵素処理アガリクス菌糸体：冬虫夏草菌糸体＝7：3（重量比）  
方法；マウスに「混合物」を1日1回、7日間経口投与した後、強制水泳、拘束ストレス、リステリア菌感染に対する作用を検討した。

### 【結果と結論】

#### 1. 強制水泳に対する作用

強制水泳とその後の懸垂の持続時間は「混合物」で延長した（ $p<0.05$ ）。血中乳酸値は運動負荷により上昇したが、「混合物」はこの上昇を抑制した（ $p<0.05$ ）。これらの効果はいずれも AG よりも強かった。

#### 2. 拘束ストレスに対する作用

拘束ストレス負荷により血中コルチコステロン値が有意に上昇したが、これに対して「混合物」は作用を示さなかった。また、ストレス負荷により NK 活性が低下したが、「混合物」はこの低下を抑制し、その効果は AG よりも強かった。尚、「混合物」は非ストレス動物においても NK 活性を上昇させた（ $p<0.01$ ）。

#### 3. リステリア菌感染に対する作用

「混合物」はリステリア菌感染後の脾臓内菌数を減少させ（ $p<0.05$ ）、その効果は AG と同等であった。

今回の結果から、「混合物」は AG よりも優れた抗疲労、NK 活性増強作用および AG と同等の細菌感染防御作用を有することが確認された。尚、今回の検討では「混合物」の抗ストレス作用を確認することは出来なかったが、今後はストレス負荷の条件を変えてさらに検討する予定である。

## P6

### 血圧上昇抑制に及ぼすアルギン酸とC12ペプチドの併用効果

#### Synergistic Effect of Alginic acid and C12 peptide on Inhibiting Increase in Blood Pressure

○高橋 隆二<sup>1)</sup>, 与茂田 敏<sup>1)</sup>, 森元 康夫<sup>1)</sup>, Jenny Cadée<sup>2)</sup>

1) カネボウ株式会社 漢方ヘルスケア研究所, 2) DMV International

C12 Peptide is a natural milk protein-derived hydrolysate with antihypertensive effects as shown in animal and human studies. C12 refers to a bioactive 12-amino acid long peptide present in the casein part of milk protein. C12 and its metabolites inhibit Angiotensin Converting Enzyme (ACE), which is a key enzyme in the regulation of blood pressure. Alginic acid is a natural extract of seaweed which may have a modest natriuretic effect. In this study, we investigated whether alginic acid enhances the antihypertensive effect of C12 Peptide. The results showed that the combination of C12 Peptide and alginic acid induces an excellent synergistic blood pressure lowering effect.

#### 【目的】

アルギン酸は海藻に含まれる水溶性食物繊維であり、その主な働きとしては、食物中のナトリウムと結合し速やかに便中に排出させること、血中コレステロールの低下作用、腸内細菌のバランスを整える作用などが知られている。また、C12ペプチドは、牛乳中に含まれるカゼインを酵素で加水分解することにより得られるアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害ペプチドで、経口投与による血圧上昇抑制作用が確認されている。今回、C12ペプチドの経口投与による血圧上昇抑制作用に関し、アルギン酸との併用効果について検討を行った。

#### 【方法】

高血圧自然発症ラット（SHR）にアルギン酸単独、C12ペプチド単独、並びに、アルギン酸及びC12ペプチドを添加した混餌飼料を1ヶ月間自由摂食させ、尾動脈収縮期血圧の推移を測定した。更に、ペンシルバニア大学にて中等症高血圧の10名を被験者とし、二重盲検試験法により、C12ペプチド単独時とアルギン酸併用時での血圧変化を測定した。試験はプラセボ6日間服用後に実施した。血圧測定は被験者に血圧モニターを着用させ、服用後1時間おきに9時間実施した。

#### 【結果】

SHRを用いた実験において、アルギン酸との併用で、C12ペプチドの血圧上昇抑制作用が増強された。更に、10名の中等症高血圧の被験者において、C12ペプチドは濃度依存的に血圧を低下させた。また、アルギン酸との併用でC12ペプチドの血圧効果作用が増強された。

#### 【結論】

アルギン酸とC12ペプチドを併用することにより、C12ペプチドの血圧上昇抑制効果が増強されることが示された。今回の結果より、アルギン酸とC12ペプチドの併用が、高血圧の発症を防ぐ上で有効であることが示唆された。

## マウスⅡ型コラーゲン誘発関節炎モデルにおける Methylsulfonylmethane (MSM) の関節炎軽減作用

Suppressive effect of methylsulfonylmethane (MSM) on type II  
collagen-induced arthritis in DBA /1J mice

○菅野 敏博<sup>1)</sup>, 長谷川 節<sup>1)</sup>, 上野 すぎ<sup>1)</sup>, 隈本正一郎<sup>1)</sup>, 吉開 泰信<sup>2)</sup>

1) クロレラ工業株式会社, 2) 九州大学生体防御医学研究所・感染防御研究センター

We investigated the effect of MSM on type II collagen-induced murine arthritis as an animal model of rheumatoid arthritis. In the MSM drinking mice, the arthritic score and the total number of leukocytes in inguinal lymph nodes was significantly lower than that in the control mice. An expressions level of IL-12 mRNA was reduced in spleen of the MSM drinking mice as compared with control mice. These results suggested that MSM administration was able to modify the immune responses to the type II collagen, resulting in protection of the development of arthritis of type II collagen induced arthritis in DBA/1J mice.

### 【目的】

Methylsulfonylmethane (MSM)は多くの動植物に含まれている生体物質である。MSMにはアレルギー性鼻炎に対する抗アレルギー作用、自己免疫疾患マウスのリンパ球増多症を軽減する作用、自然発症性関節炎の病状を軽減させる作用等が報告されている。今回、MSMがⅡ型コラーゲン誘導関節炎の症状を軽減させるかどうかを検討した。

### 【方法】

コラーゲン誘発関節炎モデルはDBA/1JマウスにⅡ型コラーゲンをマウス尾の付け根に2回皮内投与することにより作製した。MSMは飲料水に2.5%になるように溶解してマウスに自由に与えた。Ⅱ型コラーゲン処置後、経時的に関節炎スコアを記録した。

### 【結果】

Ⅱ型コラーゲン処置により関節炎スコアが上昇した。一方、MSM投与マウスでは関節炎スコアの上昇が抑えられた。このことからMSMはⅡ型コラーゲン誘発関節炎の症状を軽減することが示された。また、Ⅱ型コラーゲン処置により、ソケイ部リンパ節細胞数が増加した。一方、MSM投与マウスではソケイ部リンパ節細胞数の増加は抑えられた。FACS解析によりソケイ部リンパ節細胞のポピュレーションを調べた結果、Ⅱ型コラーゲン処置によりB220+細胞数が増加した。一方、MSMの投与はソケイ部リンパ節細胞のB220+細胞数の増加を抑えた。以上のことからⅡ型コラーゲン処置マウスに対するMSMの投与は関節炎の症状を軽減させることが示唆された。

## P8

### X 線照射マウスにおけるリステリア感染抵抗性の低下と *Chlorella vulgaris* CK-5 熱水抽出物 (CVE-A) の影響

Decrease of the resistance against *Listeria monocytogenes* in X-ray irradiated mice and the augmentation by administration of hot water extracts of *Chlorella vulgaris* CK-5(CVE-A)

○小西 史子, 菅野 敏弘, 上野 すぎ, 隈本 能光, 長谷川 節, 隈本正一郎

クロレラ工業株式会社

The effect of hot water extracts obtained from *Chlorella vulgaris* CK-5 (CVE-A) on the resistance against *Listeria monocytogenes* infection were examined in X-ray irradiated mice. CDF1 mice were administered 50 mg/kg of CVE-A every other day from the following day after the X-ray irradiation (450 Rad). The mice became highly susceptible to an intraperitoneal infection with *L.monocytogene* on day 14 after X-ray irradiation, whereas the mice given CVE-A showed an enhanced resistance against *L.monocytogenes* infection. The bacterial number in X-ray irradiated mice increased explosively on day 3 after inoculation, resulting in death within 6 day. A progressive elimination of bacteria was observed on day 3 in the peritoneal cavity of X-ray irradiated mice given CVE-A. These results suggested that CVE-A may be beneficial for the alleviation of side effects in cancer radiotherapy and chemotherapy.

【目的】 がん患者への制癌剤や放射線照射等の治療は、外科的切除に続く治療法としてしばしば用いられる。しかしこのような治療は、生体防御能の低下をもたらし不顕性感染等の重篤な感染症を招く恐れがある。生体防御能の低下を招くことなく、最大限の制がん効果が得られる治療法が求められる。われわれは、*Chlorella vulgaris* CK-5 株から得られた抽出物 (CVE-A) の投与により、感染抵抗性等の生体防御能が亢進することをすでに報告している。今回 X 線照射によりリステリア感染抵抗性を低下させたマウスを用いて CVE-A 投与による影響を調べた。

【方法】 CDF1 マウス(9 週齢, 雌)に 450Rad の X 線を照射し、翌日より CVE-A(50 mg/kg)を隔日投与した後、*Listeria monocytogenes* EGD 株を腹腔内感染させ、死亡率・臓器内菌数等を調べた。

【結果】 X 線照射の 14 日後に LD<sub>50</sub> 程度のリステリアを感染させると、X 線照射群は全例死亡したが、照射+CVE-A 群は高い生存率を示した。正常マウスが死なない量のリステリアで感染後に臓器内菌数をみると、正常群では感染 1 日後に比べ 3 日後の腹腔内菌数は約 10 倍に増加したが、X 線照射群では 10<sup>3</sup> 倍の増加を示した。一方、照射後 CVE-A を投与した群においては感染 3 日後の増加はほとんど観られなかった。

【結論】 X 線照射によりリステリア感染抵抗性が低下し、その回復には時間を要するが、CVE-A を投与することにより、白血球の回復を早め感染抵抗性を高めることが示された。CVE-A は放射線照射や抗がん剤処置による副作用を軽減させることが期待できる。

## 自己消化させたアガリクスによる抗腫瘍効果の向上

Improvement of Anti-tumor Effect of Autolyzed-Agaricus blazei Murill.

○尾上 伸二, 井口 隆文, 渡辺 敏郎, 永井 史郎

ヤエガキ醗酵技研株式会社

The anti-tumor effect of autolyzed *Agaricus blazei*(autolyzed-AG) was studied. The autolyzed -AG extracts or native AG extracts were orally administrated for 10 days to mice which were implanted sarcoma-180 cell. After 19 days, the incidence and weight of tumor were investigated. Autolyzed-AG had stronger anti-tumor effect than native AG. These results suggested that anti-tumor effect of AG was improved by autolysis treatment.

### 【目的】

アガリクスをはじめ、キノコ類の中には、それを摂取することにより、抗腫瘍作用を示すことが知られているが、キノコの種類や性質によって、抗腫瘍作用の程度に差が認められている。我々は、アガリクスを自己消化処理させることによって、マウスの抗腫瘍作用に対して効果に違いが認められるか否かを検討した。

### 【方法】

アガリクスの粉末を蒸留水に懸濁し、その pH を 5.5 に調整した後、37℃で4時間、更に、100℃で1時間抽出させたものをアガリクス自己消化抽出物(autolyzed-AG)とした。一方、同じ原料を蒸留水に懸濁した後、ただちに100℃で1時間抽出させたものを、アガリクス抽出物(AG)とした。1日あたり10mgの各抽出物を、サルコーマ-180細胞を背部に移植した1群10匹のICRマウスに対して、10日間経口投与し、移植後19日目で、背部の固形ガンを取り出し、その重量測定により、抗腫瘍作用を評価した。

### 【結果】

蒸留水を投与した(対照群)マウスに対して、AG投与群のマウスの腫瘍重量は、約54%、Autolyzed-AG投与群のマウスの腫瘍重量は、約71%抑制されていた。

### 【結論】

アガリクスは、それ自体でも、抗腫瘍作用を有するが、自己消化処理を施すことによって、抗腫瘍作用が更に向上することが示された。

## 椎茸エキス中に含まれる多様な免疫調節成分の分画と解析

### Separation and Analysis of Various Immune Regulatory Fractions in Shiitake Mushroom Extract

○府中麻衣子<sup>1)</sup>, 湯浅 明男<sup>1)</sup>, 福田 和弘<sup>2)</sup>, 西澤 孝志<sup>3)</sup>  
稲川 裕之<sup>3)4)</sup>, 河内 千恵<sup>3)</sup>, 柚 源一郎<sup>3)</sup>

1) 有限会社 丸浅苑, 2) 徳島県立工業技術センター 食品技術課

3) 徳島文理大学 健康科学研究所, 4) 水産大学校 生物生産科

We developed a technique to process Shiitake mushroom extract having new bioactivity. Until now, it has been reported that Shiitake contained substances to stimulate immune system, such as Lentinan. However, Our Shiitake mushroom extract showed to suppress NO production in response to LPS by RAW264, a mouse macrophage cell line. Our results showed that Shiitake mushroom contain both immune stimulative and suppressive properties, and they could be successfully segregated by the methods of Shiitake processing.

**【目的】**近年、椎茸に含まれているレンチナン（ $\beta$ -1-3 グルカン）の免疫賦活効果が喧伝された経緯もあり、消費者においては健康食材として認識が高い。しかし、主に生鮮食材として生椎茸で流通消費されており、高度な加工や機能性に着目した食品はほとんどない。そこで、本研究では椎茸の機能性に着目し、新規で安全な免疫機能修飾椎茸エキスを開発することを目的とした。

**【方法】**生及び干椎茸を原料として各種抽出方法により得られたエキスを、マウスマクロファージ細胞株 RAW264 のけんだく液（ $8 \times 10^5$  cell/100  $\mu$ l）に 100  $\mu$ l 添加し、24 時間後の培養上清の産生された一酸化窒素（NO）濃度を Griess 試薬にて測定した。更に同様の系に LPS（1  $\mu$ g/ml）を加えて、同様に NO 濃度を測定した。

**【結果】**RAW264 細胞株に乾燥椎茸熱水抽出エキスを加えると、NO 産生が促進されることが認められた。一方、LPS で刺激された RAW264 細胞に椎茸低温抽出エキスを加えた場合には、NO 産生が抑制されることが認められた。

**【考察】**われわれは生椎茸から従来にない椎茸エキスを製造する技術を開発した。これまで椎茸は免疫を活性化することが報告されているが、われわれが製造した椎茸エキスは LPS によって活性化されたマウスマクロファージ細胞 RAW264 からの NO 産生を抑制すること、すなわち免疫抑制活性を持つことが示された。本研究により、椎茸は免疫を活性化する成分と抑制する成分を含有すること、そしてそれぞれの成分は処理法を変えることによって分離可能であることが示された。

## 実験的糖尿病に付随する食食細胞の機能的変動

## Functional change of macrophage in experimental diabetes

○松葉慎太郎<sup>1)</sup>, 松野 栄雄<sup>1)</sup>, 清水 昌寿<sup>1)</sup>, 村山 次哉<sup>2)</sup>, 泉 久子<sup>3)</sup>, 山口 宣夫<sup>1)</sup>

1) 金沢医科大学代替基礎医学, 2) 鹿児島大学難治ウィルス病態制御研究センター,  
3) (財)石川天然薬効物質研究センター

We studied functional change of macrophage in experimental diabetes. Experimental diabetes group was used streptozotocin(200mg/kg, i.p.:STZ) induced diabetic mice(ddY, 8w, ♀). The mice were regularly bred on 6 or 12 weeks, and were collected peritoneal macrophage. This macrophage was investigated phagocytosis and bactericidal ability. As a result, STZ-mice's macrophage was lower than normal mice's in bactero-static ability. These results suggested that high blood glucose in diabetes was induced functional defect of macrophage.

## 【目的】

近年, わが国の糖尿病患者数は顕著に増大しており, 糖尿病実態調査(厚生労働省, 2002 年)によれば, 糖尿病が「強く疑われる人」は約 740 万人, 予備軍に当たる「可能性が否定できない人」を含めると, 成人の 6.3 人に 1 人に当たる約 1620 万人に上ると推定されている。これは 1997 年に比べ, 患者が含まれる「疑われる人」は 50 万人, 予備軍を含めた全体では 250 万人の増加である。糖尿病は様々な症状を引き起こすが, 特に細菌に対する易感染は患者の生命維持に関わるだけでなく, 感染症流行の引き金にもなりかねない。また, 軽度の場合でも当事者の QOL を著しく低下させる大きな要因の一つである。本研究では, その易感染の誘発機序の解明と治療方針の策定を目的に, 免疫担当細胞の量的・質的変動を検討した。

## 【方法】

8 週令の ddY 系雌性マウスにストレプトゾトシン(STZ) 200mg/kg を腹腔投与し, 通常の方法で 6 週間または 12 週間飼育した。この STZ 誘発糖尿病マウスの腹腔マクロファージを回収し, その機能性(走化性能, 食食能, 殺菌能)を評価した。走化性能はチャンバー法(走化性因子: 10% ヒト血清)により検討し, 食食能は綿羊赤血球(SRBC)を食食する細胞を顕微鏡下で確認した。殺菌能の測定には *Candida Albicans* (カンジダ) を用い, 食食されたカンジダを 72 時間培養し, そのコロニー数を測定した。

## 【結果】

カンジダ殺菌能試験において, STZ 投与 6 週間経過群のカンジダコロニー数に差はほとんど見られなかったが, STZ 投与 12 週間経過群におけるその数は有意に増加した。この方法によるカンジダコロニーは, 食食されながらも殺菌を免れたものであることから, この結果より食食細胞の殺菌能低下が示唆された。

## 【結論】

高血糖の持続により, 食食細胞の機能性, 特に殺菌能が低下することが示唆された。

## P12

### ジュアール茶のテアフラビン含量とヒアルロニダーゼ阻害活性

#### Theaflavin content of Juar Tea Extracts and the Inhibitory Effect of Juar Tea Extracts on Hyaluronidase

○八並 一寿<sup>1)</sup>, 矢島 勉<sup>2)</sup>, 寺沢 充夫<sup>3)</sup>

1) 玉川大学農学部応用生物化学, 2) 株式会社サンフィールド, 3) 玉川大学工学部電子工学科

The contents of theaflavin in Juar tea (JurT) were determined by HPLC. Four main theaflavins; theaflavin (TF), theaflavin-3-monogallate (TF-1), theaflavin-3'-monogallate (TF1'), theaflavin -3,3'-digallate in juar tea and commercial tea products were determined. The order of total theaflavins was followed; JurT > Ceylon-tea > India-tea > Oolong-tea > Green-tea. JurT also showed hyaluronidase inhibitory activity.

【目的】 ジュアール茶 (JurT) は、ケニアの特殊な地域でのみ入手可能なお茶である。JurT は、赤道直下でしかも高所のみ栽培されるため、そのお茶には高い抗酸化性がある。

SOD 様作用は、赤ワインの 167 倍、生ブドウの 209 倍、ルイボスティーの 36 倍に相当する。JurT には、カテキン類やテアフラビン類などのポリフェノールが含まれ、花粉症やアトピー性皮膚炎の軽減例も見られる。そこで本研究では、JurT の抗アレルギー成分の一つである可能性があるテアフラビン量を測定するとともに、アレルギー症状を軽減する可能性を検討するため JurT のヒアルロニダーゼ阻害活性を検討した。

【材料】 ケニア産 JurT 粉末はサンフィールド(株)より、黒紅茶抽出物 (純度 80%) は Sigma, 標準テアフラビン類は東京化成より入手した。セイロン紅茶, インド紅茶, ウーロン, 緑茶は市販品を使用した。

【方法】 テアフラビンは、40%アセトン抽出、遠心後、0.45  $\mu$ m のフィルターでろ過し、カラム Hypersil BDSC18 5u(260×4.6mm), 温度 57℃, 移動相 (アセトン:リン酸:水=110:1.5:385v/v, 流速 1.0ml/min, 波長 375nm) の HPLC にて定量した。ヒアルロニダーゼ阻害活性は、熱水抽出後 Morgan-Elson 変法により測定した。

【結果】 JurT のテアフラビン類は、テアフラビン(TF), テアフラビン-3-モノガレート(TF1), テアフラビン-3'-モノガレート(TF1'), テアフラビン-3,3'-ジガレート(TF2)が検出された。標品の黒紅茶抽出物と JurT の各テアフラビン類の含量を比較したところ、いずれも JurT が 2.9~5.4 倍多かった。テアフラビン類総量は、JurT > セイロン紅茶 > インド紅茶 > ウーロン > 緑茶の順で JurT が明らかに多かった。JurT は、ヒアルロニダーゼ阻害活性を示し、IC<sub>50</sub> 値を阻害活性の極めて強いレモンバームと比較したところ、JurT は 3.7~4.3mg/ml, レモンバームは 2.2~2.5mg/ml であった。

【結論】 JurT には、ヒアルロニダーゼ阻害活性がある。その有効成分の一つは、JurT 中に他の茶葉より豊富に含有するテアフラビン類と予想され、JurT の摂取は花粉症などのアレルギー症状を軽減する可能性が示唆された。



## P13

### ジュアール茶の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性ならびにプラスイオン環境下でのジュアール茶投与がラットの血糖値に与える影響

$\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity of Juar Tea Extracts and the Effects on blood glucose level of Rats fed Juar Tea Extracts in the Positive Ion Environment

○矢島 勉<sup>1)</sup>, 八並 一寿<sup>2)</sup>, 寺沢 充夫<sup>3)</sup>

1) 株式会社サンフィールド, 2) 玉川大学農学部応用生物化学, 3) 玉川大学工学部電子工学科

Juar tea (JurT) showed  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in the rat intestine. The effects on blood glucose level of rat fed JurT Extracts were studied. The rats were fed 0.1%, .3% JurT in the positive ion environment. 0.15% of the tea fed to the rats fed in the positive environment (3 month 2hr exposure/day) significantly reduced the blood glucose.

**【目的】** ジュアール茶 (JurT) は、ケニアで栽培されているツバキ科の植物 (*Camellia sinensis*) より製造され、ジュアール紅茶ともいわれている。ジュアール茶には、抗酸化作用、抗ウイルス作用、インフルエンザ感染予防作用、 $\alpha$ アミラーゼ阻害作用、ラットにおける肝癌抑制作用、虫歯予防作用、食中毒菌に対する抗菌作用などがある。プラスイオンは、排気ガス、タバコの煙、電磁波などに多く含まれ、体内に吸収されるとマイナスイオンを中和して減少させる。不安定となった生体内電子は、多くの活性酸素を発生させる。プラスイオン環境は、コントロールに比べて有意に血糖値を上昇させる。そこで、本研究では、ジュアール茶の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性ならびにプラスイオン環境下で飼育したラットに対して、JurT 投与が血糖値に与える影響を検討した。

**【材料】** ケニア産 JurT 粉末を、サンフィールド(株)より入手した。

**【方法】** ラット小腸粉末を  $\alpha$ -グルコシダーゼ酵素液として、マルトース基質に対する阻害を測定した。以下の3群のラット、①1ヶ月間プラスイオン2時間曝露、0.1%JurT 投与、②1ヶ月間プラスイオン4時間曝露、0.3%JurT 投与、③3ヶ月間プラスイオン2時間曝露、0.15%JurT 投与、について検討した。血糖値はデキスターZ センサー (バイエルメディカル(株)製) で測定した。

**【結果】** JurT は、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を示した。各群のコントロールと JurT 投与群での体重増加に有意な差はなかった。①群と②群では血糖値に有意な降下が認められなかった。③群では JurT 投与群の血糖値に有意な降下が認められた。

**【結論】** JurT は、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性があり、比較的長期間プラスイオン曝露時に血糖降下作用を確認したので、長期間のストレス付加時に適量の JurT を摂取すると血糖値を降下させることが示唆された。

## センシンレンの細胞増殖と炎症性メディエーターへの作用

The effect of Senshinren on cell growth and inflammation mediator

○花井 三枝<sup>1)</sup>, 鈴木 一春<sup>2)</sup>, 鈴木貴美子<sup>1)</sup>, 小出 直<sup>1)</sup>

1) 福友医学研究所, 2) (株) トーカイ企画

The effect of Senshinren on cell growth and inflammation mediator was studied. Senshinren is a kind of herb, *Andrographis paniculate*. Senshinren decreased the number of cells in dose-dependent manner on five kinds of cancer cells including RAW264.7 by causing cell death. According to the result of analyzing the cell death, the possibility by necrosis was suggested rather than apoptosis. It was suggested that non-toxic low concentration of Senshinren has an inhibitory effect on the production of inflammatory mediator like nitric oxide.

### 【目的】

センシンレンは、ハーブの一種でキツネノマゴ科に属し、学名は *Andrographis paniculate* である。中国やタイなどでは、薬草として用いられ抗炎症作用や抗菌作用があるといわれている。今回我々は、センシンレンのエタノール抽出物を用いて、数種類の培養細胞の細胞増殖に及ぼす影響と、炎症性メディエーターへの作用を検討した。

### 【方法】

使用した細胞は、マウスマクロファージ RAW264.7 細胞(RAW), 子宮頸癌 Human HeLa 細胞, 大腸癌 Human DLD-1 細胞, 神経膠芽腫 Human A172 細胞, メラノーマ Human SK-MEL-28 細胞の 5 種類を用いた。細胞増殖の測定には、MTT を用いた。細胞死の判定に、色素排除試験を用いた。サイトカインの測定には、ELISA 法を用いた。一酸化窒素 NO の測定に Griess 法を用いた。

### 【結果と考察】

5 種類の細胞全てにおいて、濃度依存的に細胞死が誘導され、細胞増殖が抑制された。RAW を用いた色素排除試験では、培養 6 時間 (0.5%) で、約 30% の細胞死が認められた。Caspase3 の活性を調べたところ、未処理に比べて、センシンレンを処理した RAW では、Caspase3 活性が上昇した。しかしながら、センシンレンを処理した RAW にて、断片化 DNA を調べたが、laddering は検出されなかった。また、AnnexinV(AV)と Propidium iodid(PI)を用いて FACS 解析にて、センシンレンを処理した RAW をしらべたところ、AV(-)PI(+)であった。このことから、センシンレンによる細胞死は、apoptosis よりもむしろ necrosis によると考えられた。一方、細胞増殖抑制のない低濃度で、RAW における、センシンレンのリポ多糖(LPS)誘導の炎症性メディエーター (TNF-alpha, IL-12, NO) 産生への作用を調べたところ、センシンレンは TNF-alpha, IL-12 産生には明らかな作用は示さなかったが、NO 産生は有意に抑制された。

## 当帰エキスの表皮角化細胞に対する脂質合成能についての検討

The study on the effect of Angelicae radix on the lipogenesis of keratinocyte

○日野 孝之，檜垣 修一，諸橋 正昭

富山医科薬科大学 医学部 皮膚科

The stratum corneum is the upper most layer of the skin. The lipids of the stratum corneum contain ceramides, cholesterol and fatty acid. They play an important role in structuring and maintaining the water permeability barrier function of the skin. Ceramides are the major lipid constituent. We have been investigating the effect of Angelicae radix (kampoh crude drug) on the lipogenesis of epidermis. Our study suggests the effect of kampoh crude drugs for lipogenesis of epidermis.

### 目的

皮膚の水分透過性の調節機能（バリア機能）に角質細胞が重要なことが明らかにされている。角質細胞層は角質細胞と角質細胞間脂質から構成されており表皮のバリア形成においては後者が重要な働きを担っている。セラミドは角質細胞間脂質の約45%を占め、コレステロール，遊離脂肪酸の存在下に安定した脂質多層構造を形成し角質と結合することによって保水機能を保持している。セラミドの生合成とバリア機能は密接に関連し様々な検討が行なわれている。今回，我々は漢方生薬である当帰の培養表皮角化細胞に対する作用を，セラミド産生能を指標に検討を行なった。

### 方法

当帰エキスを3次元培養皮膚シート（TEST SKIN®）に添加し培養した。positive controlとしてビタミンD3，negative controlとして80% DMSO（PH7.0）をそれぞれ20  $\mu$ l添加した。培養した細胞を採取しBligh & Dyer法にて脂質を抽出した。各試料は薄層クロマトグラフィー（TLC）にて分離した。セラミドの定量は，あらかじめ10  $\mu$ gの標準物質（Sigma）を含むように調整したmixtureを外部標準とし各スポットの面積比により算出した。

培養終了後の3次元培養皮膚モデルをホルマリン固定しパラフィン包埋切片を作成し組織学的に検討を行なった。

### 結果

トウキは低濃度でセラミド合性能を亢進するが高濃度ではセラミド産生が低下した。

培養した3次元培養細胞の組織学的な検討では高濃度では不全角化を認め分化の異常が示唆された。低濃度投与群では角化に異常は認められなかった。

## 抗肥満作用を有する生薬混合物の検証

### The Anti-obesity Effect of Mixed Herbal Medicines

○高野 文英<sup>1)</sup>, 島野 康子<sup>1)</sup>, 太田 富久<sup>1)</sup>, 宮本 英和<sup>2)</sup>, 牧野 公博<sup>2)</sup>, 別府 邦英<sup>3)</sup>

1) 金沢大学 薬学部, 2) 日華化学株式会社 研究開発本部, 3) NPO 法人代替医療科学研究センター

The anti-obesity effect of mixed herbal medicines as an external application was studied by using a nude mouse. It was suggested that the mixed herbal medicine is effective to prevent or improve for the hyperglycemia and hyperlipemia when it is used as an external application. It was also suggested that the body weight and the size of body perimeter decrease effectively.

#### 【目的】

日常生活の中で過食と運動不足が原因となって起きる肥満は、糖尿病、高脂血症、高血圧症を誘発し、いわゆる生活習慣病の罹患率を引き上げている。近年、これらの疾病予防薬の開発がなされているが、その多くは内用剤である。

そこで、我々は外用で抗肥満効果を発現しうる薬の開発を目的に研究を進めている。今回は、高脂肪・高カロリー食を与え続けたマウスに、特定生薬の混合物を経皮投与しその効果について検証した。

#### 【方法】

本実験では、検体を経皮吸収させることと、マウスの側腹ならびに下腹部肥厚を正確に計測するためヌードマウスを用いた。

実験期間は約4週間とし、この期間中の飼料は Quick Fat<sup>TM</sup>（高脂肪・高カロリー）飼料を与えた。期間後半の2週間に、被験物を一日一回経皮投与した。

体重、胴囲、摂食量のほか、最終日には全採血して血糖、中性脂肪(TG)を測定した。さらに、肝障害、血液毒性についても併せて評価した。

#### 【結果】

コントロール群では、高脂肪・高カロリー飼料の摂食により、血糖、中性脂肪(TG)ともに顕著な上昇を示した。一方、生薬混合物投与群の血糖、中性脂肪は、コントロール群に比べ、ともに有意に低下した。胴囲においては、生薬投与群に減少傾向が認められた。

本試験を通じて、生薬混合物投与群マウスでの皮膚刺激、肝障害、血液毒性などの毒性やそれらの兆候は一例も認めなかった。

#### 【結論】

特定生薬混合物の経皮投与によって、血中の糖ならびに中性脂肪を有意に減ずることが示された。今回の結果は、特定生薬の外用適用が高血糖、高脂血症の予防あるいは改善に有効であることを示唆するものである。さらに、体重や胴囲の経時挙動も鑑みると、部分痩身にも有効であることを示唆するものである。

## CoQ10 のマウス脳血管内皮細胞の増殖，アポトーシスへの影響

Effect of CoQ10 on apoptosis and proliferation of cultured vascular endothelial cell

森 昌夫<sup>1)</sup>，王 中<sup>1)</sup>，金 恵銘<sup>2)</sup>

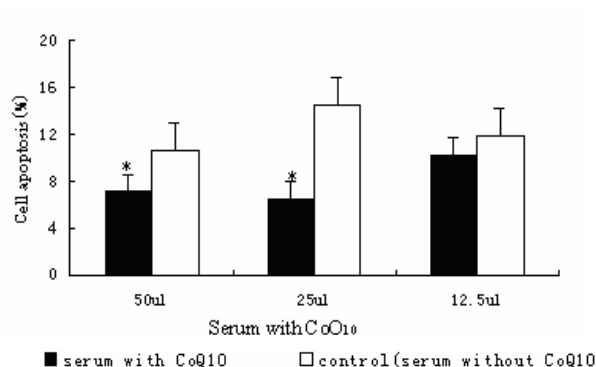
1) 株式会社 和漢生薬研究所，2) 復旦大学上海医学院

**[Abstract] Objective** To study the inhibitory effect of CoQ10 on the apoptosis of vascular endothelial cell and it's probable mechanism. **Methods** Using serum pharmacology method and cytoflowmetry the effect of CoQ10 with different concentrations on the changes of apoptosis and proliferation in cultured mice vascular endothelial cells (bEnd.3) was investigated. The expression of Fas protein and Bcl-2 protein were observed with immunocytochemical method. **Results** The cell apoptosis was inhibited significantly in CoQ10 groups in cultured bEnd.3 cells. The results of immunocytochemical stains showed that in CoQ10 group with above concentrations the expressions of Fas protein was inhibited and Bcl-2 protein was stimulated significantly. But there was no significant change in cell proliferation. **Conclusions** CoQ10 may inhibit apoptosis of vascular endothelial cells (bEnd.3) Via up-regulation of Bcl-2 and down-regulation of Fas. Authors suggest that this is one of the protection mechanisms of CoQ10 from dysfunction of vascular endothelial cells.

**[目的]** CoQ10 の血管内皮細胞のアポトーシス，増殖への影響の可能性及びメカニズムを検討するものである。血清薬理学及びフローサイトメーター測定法で，CoQ10 の異なる濃度にてマウス脳血管内皮細胞 (bEnd.3) の増殖とアポトーシスへの影響を観察する。さらに免疫組織化学 ABC 法で Fas 蛋白及び Bcl-2 蛋白の expression の変化を測定する。

**[方法]** 和漢生薬研究所より提供，ロット番号：CML0102，50 mg/カプセル。100 mgの CoQ10 をソフトカプセルから取り出し，4ml の落花生油で希釈，ラットに 25 mg/日，2 回/日で経口投与し，4 回目投与 3 時間後に，ラットの血液を取り出し，CoQ10 血清を作成する。マウスの脳血管内皮細胞 (bEnd.3)，中国復旦大学遺伝研究所より提供。フローサイトメーターで細胞のアポトーシスと細胞周期を測定。各期の細胞をパーセンテージで表示する。PI 染色でアポトーシス細胞を測定する。実験結果を細胞周期曲線でアポトーシスピークと細胞周期各期ピークの形に表わし，アポトーシス細胞と細胞周期中の G0-G1, S, G2-M 期の細胞パーセンテージを計算する。アポトーシス促進遺伝子 Fas と抑制遺伝子 Bcl-2 の expression を免疫組織化学法で測定する。

**[結果]** 対照組と比べ，細胞培地に 50  $\mu$ l, 25  $\mu$ l, 12.5  $\mu$ l の CoQ10 を含ませて血清で培養した bEnd.3 細胞はアポトーシスの抑制が見られた (P<0.05)。免疫組織化学検査結果も Fas 蛋白の expression は弱くなって，Bcl-2 蛋白の expression が活発になった (P<0.05)。当実験は一定濃度の CoQ10 は Bcl-2 蛋白の expression を高め，Fas 蛋白の expression を弱めることによって，血管内皮細胞を保護することを証明した。



P&lt;0.05 vs control group

組分け	実験組		対照組	
	Fas	Bcl-2	Fas	Bcl-2
50 $\mu$ 組	29.16 $\pm$ 3.76*	43.17 $\pm$ 3.73*	42.25 $\pm$ 3.61	32.54 $\pm$ 3.74
25 $\mu$ 組	33.00 $\pm$ 5.42*	39.42 $\pm$ 1.02*	45.92 $\pm$ 2.01	35.50 $\pm$ 1.50

## 各種癌細胞に対する混合代替医療物質の増殖抑制効果

○唐崎 裕治<sup>1)</sup>, 杉 正人<sup>2)</sup>, 吉田 文人<sup>2)</sup>, 宇住 晃治<sup>2)</sup>, 松永 政司<sup>2)</sup>

1) 産業医科大学, 2) NPO 法人遺伝子栄養学研究所

We reported previously that *Phellinus linteus* (Mesimakobu) and nucleic acids exhibited an antigrowth effect on U937 cells. In this study, we prepared two kinds of mixed substances and examined their antiproliferative effects on several kinds of human cancer cells. Synergistic antigrowth effects of both the mixed substances on those cancer cells were observed as compared with the individual effect of each component.

### 【目的】

我々は4種混合物（メシマコブ，ベニクスノキタケ，核酸 [DNA，RNA混合物]）とイムノタス（メシマコブ，ベニクスノキタケ，霊芝，アガリクスの混合物）を作成し，各種ヒト癌細胞に対する増殖抑制効果を測定し，それぞれの物質単独の場合の癌細胞に対する効果と比較した。

癌細胞としては，ヒトリンパ球系癌細胞 U937，ヒト胃癌細胞 KATOⅢ，ヒト大腸癌細胞 WiDr およびヒト食道癌細胞 YSKE140 を使用した。

### 【方法】

ヒトリンパ球系癌細胞 U937 は培養液 RPMI1640 + 5% FCS，ヒト胃癌細胞 KATOⅢ は EMEM，50% + RPMI1640，50% + 10% FCS，ヒト大腸癌細胞 WiDr は DMEM + 10% FCS，およびヒト食道癌細胞 YSKE140 は HamF12 + 5% FCS をそれぞれ用いて，37℃で培養する。

細胞増殖抑制活性は試薬で処理した群と非処理群で，顕微鏡下で測定した細胞数の比較により求めた。

### 【結果と考察】

1. 4種混合物およびイムノタスともに上記した4つの癌細胞に対して強い増殖抑制活性を示した。
2. 4種混合物およびイムノタスを構成するそれぞれの単独成分の各種癌細胞に対する増殖抑制効果も測定したが，各成分を混合する事による相乗効果が観察された。
3. 今後これらの混合物が各種癌細胞にどのようなメカニズム（遺伝子の発現調節あるいは特定蛋白質の発現など）で細胞の増殖抑制を行っているのかを調べて行きたい。

## タバコ主流煙中の有害物質の除去

### Removal of Carcinogens and Poly-Aromatic Hydrocarbons (PAHs) from Tobacco Smokes

○井上 太一<sup>1)</sup>, 劉 向東<sup>1) 2)</sup>, 浜田 雄介<sup>1)</sup>, 吉田 文人<sup>1)</sup>,  
杉 正人<sup>1)</sup>, 松永 政司<sup>1)</sup>, 西 則雄<sup>2)</sup>

1) 日生バイオ株式会社, 2) 北海道大学大学院地球環境科学研究科

We reported at the last meeting that double stranded DNA (dsDNA), extracted from salmon milt promotes intercalation of distinctive aromatic compounds such as endocrine disruptors and dioxins. This year we produced a sample of DNA added tobacco filter and studied the effectiveness of dsDNA against carcinogens and PAHs from main stream smokes.

#### 【目的】

昨年度の本学会でわれわれは、鮭の白子から抽出した二重らせん DNA が、環境中に存在するダイオキシン類や多環式芳香族化合物などの、微量で内分泌攪乱作用のある物質や発がん性を有する有害物質をインターカレーションによって有意に除去することを発表した。

今回は、タバコ主流煙中の有害物質除去が、当該二重らせん DNA 技術によって可能であるかの応用について検討した。

#### 【方法】

① ケンタッキー大学 Research Cigarettes のフィルター中間部を切断、その間に二重らせん DNA、活性炭をそれぞれ入れ込んだもの及び何も入れないものの 3 種類を作り、自動喫煙機（ハンプブルグ II）で吸引、インピンジャーで主流煙を捕集、主流煙中の多環式芳香族濃度を調べた。

② 微量のダイオキシン類の測定は困難であるため、塩素のない安全なジベンゾフラン（DF）とジベンゾダイオキシン（DD）を溶かした有機溶剤を、ケンタッキー大学 Research Cigarettes の葉に注入後、乾燥、二重らせん DNA による主流煙中の DF と DD の除去率を評価した。

#### 【結果】

上記①の結果： DNA を添加したタバコは、何も添加しないタバコに比べ、主流煙中のベンゾピレンを代表とする多環式芳香族化合物を 53%カットした。活性炭をフィルターに添加したものではカット率が 14%と低く、二重らせん DNA が活性炭に比し有意に除去した。

上記②の結果： DNA なしフィルター付きタバコの主流煙中の HPLC 分析での DF のピークは、DNA 入りフィルター付きタバコでは消滅した。DD のピークも大幅に減少した。

#### 【結論】

DNA を添加したタバコフィルターは、タバコの主流煙中のダイオキシン類や多環式芳香族化合物などの有害物質の除去に有効であることが示唆された。

## P20

### ベニクスノキタケのマウスに移植したガン細胞(H22)の 増殖抑制効果について

Effect of *Antrodia camphorata* on the growth of hepatoma cell(H22) in mice.

○杉 正人<sup>1)</sup>, 李 蓉<sup>2)</sup>, 井上 太一<sup>1)</sup>, 吉田 文人<sup>1)</sup>, 浜田 雄介<sup>1)</sup>, 松永 政司<sup>1)</sup>

1) N P O 法人遺伝子栄養学研究所, 2) 中国国立食品栄養研究所

Effect of *Antrodia camphorata* on the growth of hepatoma cell (H22) in mice was studied. *Antrodia camphorata* enhance immunological activity such as NK cell in mice. As the result, the growth of hepatoma cell in mice was suppressed. We conclude the possibility of the effectiveness in human immunotherapy.

【目的】ベニクスノキタケ（和名）は台湾では樟芝（しょうし）と呼ばれ、台湾の高山地帯にのみ自生する楠の一種、牛樟樹（ぎゅうしょうじゅ）に寄生するサルノコシカケと同じ科の鮮紅色から褐色の多年生キノコで肝臓に良いと言われている。このきのこの有効性をガン細胞(H22)移植マウスで、ガン細胞増殖抑制効果、及び、免疫指標で評価した。

#### 【方法】

マウスにガン細胞(H22)を移植し、同時にベニクスノキタケを一日当り低濃度(40mg/kg), 中濃度(200mg/kg), 高濃度(1000mg/kg)で経口投与した。その後、体重変化、腫瘍重量、各種免疫マーカーの値を測定した。

#### 【結果】

移植後36日後の腫瘍重量は、対照群(無投与群)が平均6.5mgに対し、低濃度で4.7mg, 中濃度で4mg, 高濃度で1.4mgであった。これを腫瘍阻止率で見ると低濃度29%, 中濃度40%, 高濃度78%であり、濃度依存的にがん細胞の増殖を抑制していた。

免疫マーカーとして、T-リンパ球の表面マーカーであるCD4(ヘルパーT-細胞)とCD8(サブプレッサーT-細胞)の比を見た。がん細胞を移植していない健常マウスでは、CD4/CD8が2.8であるのに対し、担がんマウスでは、0.7と1以下に低下していた。しかし、ベニクスノキタケを投与した群では、1.4～2.2へと回復していた。

更に、ナチュラルキラー細胞(NK cell)について殺がん細胞活性を見た。その結果、健常マウスが40%に対し、ベニクスノキタケ投与群では、47%, 53%, 63%と濃度依存的にNK活性が上昇していた。

また、NK細胞の活性化の他、インターフェロン $\gamma$ の生産を増大させる引き金となるリンフォカイン、IL-12の量を調べた結果、対照群に比べ1.5～2.5倍の上昇がみられた。

#### 【結論】

以上のことから、ベニクスノキタケの経口投与により、NK細胞を含む免疫能が上昇、活性化された結果、がん細胞の増殖が抑制されたと推測される。ベニクスノキタケは、動物実験の結果、癌などの増殖抑制、免疫機能促進機能があることが示唆された。



## 核蛋白による更年期障害 QOL に与える影響

The effect of Nucleoprotein related to the quality of life for menopausal patient.

○吉田 文人<sup>1)</sup>, 浜田 雄介<sup>1)</sup>, 井上 太一<sup>1)</sup>, 阿部 良一<sup>1)</sup>,  
宇住 晃治<sup>1)</sup>, 李 蓉<sup>2)</sup>, 斉藤 俊一<sup>3)</sup>, 松永 政司<sup>1)</sup>

1) NP0 法人遺伝子栄養学研究所, 2) 中国国立食品栄養研究所, 3) 日産化学工業株式会社

As a complementary and alternative medicine for hormone treatment against menopausal symptom, we have researched how intake of nucleoprotein improves their quality of life. We asked 25 postmenopausal women (average 57.3 years old) to intake 6 capsules of nucleoprotein per day for 60 days and measured their Kuppermann index. The number improved significantly to 9.48 from 14.25.

### 【目的】

近年、若年層での更年期障害の発現や、ホルモン補充療法が乳がんの原因になることなどから代替療法に対する期待が高まっている。われわれは、核蛋白が多く基礎代謝にかかわる症例に対し有効であることを研究し発表してきている。閉経を迎えた 25 名の女性を対照に更年期障害の核蛋白摂取による症状の改善を、クッパーマン・インデックスにより評価した。

### 【方法】

53 歳から 68 歳の閉経後の女性（平均 57.3 歳）25 名に対し、核蛋白入りカプセル（1 カプセル当り、鮭白子由来核蛋白酵素分解物 166mg、ビタミン C84mg、ほか）を作り、6 カプセル／1 日を 60 日間摂取してもらい、使用前及び使用後のクッパーマン・インデックス及び血液成分の変化をモニターからの聞き取りと血液採取で行った。

### 【結果】

クッパーマン・インデックスの結果は次のとおりであった。

(100－摂取後インデックス／摂取前インデックス×100)

	改善率		改善率
①血管運動障害	33%	⑥目眩	67%
②知覚障害様症状	56%	⑦全身倦怠	36%
③不眠	37%	⑧関節痛・筋肉痛	25%
④神経質	21%	⑨頭痛	50%
⑤憂鬱	40%	⑩心悸更新	62%
		平均	42.7%

### 【結論及び考察】

核蛋白食は、更年期障害の改善に有効であることが示唆された。今後は、二重盲検試験、作用機作について更に研究を行う予定である。

## *Agaricus blazei* Murrill H1 株菌糸体の経口投与による マウス NK 活性の増強

Oral administration of *Agaricus blazei* Murrill myceria (H1 strain) enhanced mouse NK cell activity.

○小池 泰介<sup>1)</sup>, 竹田 和由<sup>2)</sup>, 名取 貴光<sup>1)</sup>, 平間 稔<sup>1)</sup>, 堀内 勲<sup>1)</sup>, 奥村 康<sup>2)</sup>

1) 株式会社応微研 試験研究センター, 2) 順天堂大学 免疫学講座

It was tested if orally administrated *A.blazei* myceria has stimulation effect on mouse NK cells. Optimum dose and term of *A.blazei* myceria administration was investigated as for NK cell activity. It was also tested whether LPS, T cell, B cell and IFN-gamma has any effect to NK cell activation triggered by *A.blazei* myceria. As a result, enhancement of NK cell activity by *A.blazei* mycelia was dose dependent and dependent to IFN-gamma, too.

### 【目的】

担子菌類の *A.blazei* は、免疫機能を高める食品として知られ、その有効成分として  $\beta$ -グルカンが考えられている。*A.blazei* の機能についての研究の一環として今回は、菌糸体をマウスへ経口投与し NK 活性に及ぼす影響を解析する。

### 【方法】

C57BL/6 マウスを用いて、NK 活性に影響の出るまでの経口投与量と投与期間の検討を行った。また、経口投与後の肝リンパ球に占める NK 細胞と NKT 細胞の割合を FACS にて測定した。次にマウス系統間での *A.blazei* 菌糸体に対する反応性の違いと T 細胞、B 細胞の関与や IFN- $\gamma$  への依存性を調べるために、4 系統の野生型マウスと C57BL/6 を野生型とする RAG-2<sup>-/-</sup>マウスと IFN- $\gamma$  <sup>-/-</sup>マウスを用いて *A.blazei* 投与による NK 活性への影響を測定した。なお、全ての NK 活性の測定は 4 時間培養の Cr 遊離試験法で行い、エフェクター細胞に被験動物の肝リンパ球を用い、ターゲット細胞には Yac-1 細胞を用いた。

### 【結果】

*A.blazei* 菌糸体の経口投与により、肝リンパ球に占める NK 細胞、NKT 細胞の割合は変化しなかった。しかし、投与 2 週間目に投与量依存的に有意な NK 活性の増強が示された。また、この NK 活性の増強は Th1/Th2 有意で示されるような T 細胞反応性に依存するものでなく、LPS 反応性にも依存しないことが示唆された。しかしながら、IFN- $\gamma$  に依存する結果が示された。

### 【結論】

*A.blazei* 菌糸体の経口投与により、有意な NK 活性の増強が示された。また、この NK 活性の増強は投与濃度と IFN- $\gamma$  に依存的であり且つ、T 細胞、B 細胞非依存的であることが示された。

## 赤色プロポリスの抗菌作用

### The antibacterial activity of red propolis

○久世 直美, 川口 正人, 石合 忍, 平間 稔, 堀内 勲

株式会社応微研

It has been said that the red propolis among varieties of propolis has stronger antibacterial activity. Here, It is reported that the red propolis has relatively stronger antibacterial activity. The activity was tested by the paper disc method, the liquid dilution method, and the agar dilution method. Results showed that the antibacterial activity of Brazilian red propolis was more than that of Cuban red propolis. Difference of both propolis with respect to antibacterial activity may due to the different materials in the origin of the products. The characteristics of red propolis should be clarified by analyzing and specifying the ingredients which show an antibacterial action.

#### 【目的】

プロポリスが有する多くの薬効の中でも抗菌作用は、良く知られているところである。その原塊は産地における起源植物などの違いから、様々な色相を呈する。中でもブラジル、キューバ等で産する赤色を呈するプロポリスの抗菌作用はより強いとされている。本試験では赤色プロポリスの抗菌作用について検証したので報告する。

#### 【方法】

菌を塗布した寒天平板培地にプロポリス溶液を染込ませたペーパーディスクを置き、阻止帯から抗菌作用を調べた(ディスク拡散法)。また、異なる濃度に調整したプロポリス溶液を混釈した寒天平板培地および液体培地に菌液を塗布し、生育状況を調べた(液体希釈法と寒天平板希釈法)。

#### 【結果】

赤色プロポリスは、黄色プロポリスより強い抗菌作用を示した。また、ブラジル産プロポリスはキューバ産プロポリスより抗菌作用が強かった。

#### 【考察】

赤色プロポリスは抗菌作用を有した。ブラジル産の赤色プロポリスがキューバ産のものより、その作用を強く示したことについては、産地の違いによるものと考えられた。赤色プロポリスの特徴付ける成分が抗菌作用にどのように関与しているかは、今後、抗菌作用を示す成分を特定することで明らかにしていく予定である。

## P24

### 「にがり水」の短期及び長期飲用に於ける生体効果について

Short-, long- term biological effects in taking nigari(magnesium-rich) water

○野崎 豊<sup>1)</sup>, 野崎 高史<sup>1)</sup>, 端口 佳宏<sup>2)</sup>, 太井 秀行<sup>2)</sup>, 中川 光司<sup>2)</sup>

1) ノザキクリニック, 2) 赤穂化成(株)技術開発部

Nigari water is a magnesium-rich water and is also very famous traditional water in Japan which is used in making Tofu. On short term-trial of a lard-loading test, Nigari water-drinking in comparison with tap water-drinking improved significantly ( $P<0.05$ ) in plasma AUC of chylomicron and plasma levels of chylomicron, VLDL on 2hrs after a lard-loading. On long-term trial for one month, drinking of nigari water showed significant improvements ( $P<0.01$ ) of BMI, plasma levels of total cholesterol, triglyceride and liver function (ASL, ALT,  $\gamma$ GTP). These results suggest us nigari-water is very useful in diet and the supplement of magnesium.

**【目的と方法】**短期効果はラード等（カロリー663 ㏞, 炭水化物 132.9g, 蛋白質 21.2 g, 飽和脂肪酸 8.3g, 不飽和脂肪酸 11.8g）負荷下に「にがり希釈水」（Mg238, Na83, K80, Ca15 mg/L）又は「水道水」500ml 投与を行い同一人で比較した。長期効果は「にがり濃縮水」（Mg8500mg/L, Na4700mg/L, K 2900mg/L）10-20ml/日の1ヶ月投与前後で比較した。観察項目は、体脂肪率, BMI, Mg, 血糖, 血中脂肪（コレステロール, 中性脂肪）, 肝機能, 腎臓機能, CPK, IgE とした。

**【対象】**短期効果は健常な赤穂化成従業員 7 名, 長期効果はノザキクリニック患者 31 名である。患者全体像は体脂肪率（30%以上）高値が 15 名, BMI(25 以上)高値が 14 名, 高コレステロール血症（220mg/dl 以上）9 名, 高中性脂肪血症（150mg/dl 以上）が 6 名, 肝機能異常者（AST 40IU/ml 以上, ALT 43IU/ml 以上  $\gamma$  GTP 50IU/ml 以上）が 8 名, 高 IgE（170 以上）血症が 10 名である。データは paired student t 検定にて分析した。

**【結果】**短期効果では「水 vs にがり」でカイロミクロン AUC に 316vs237mg/min/dl, 血中 2 時間値でカイロミクロンに 107vs61mg/dl, VLDL に 138vs71mg/dl と有意な ( $P<0.05$ ) 低下を認めた。長期効果では「にがり」の飲用にて Mg は 2.32 より 2.53mg/dl と上昇し, 生体効果としては BMI は 28.1 より 27.7, 体脂肪は 37 より 35.6%, 高コレステロール血症は 242 より 219mg/dl, 中性脂肪は 249 より 166mg/dl と改善を認めた。以上は全て有意 ( $P<0.01$ ) であった。肝機能異常者全員に肝機能〔AST（5 名）, ALT（6 名）,  $\gamma$  GTP（3 名）〕の改善を見た。高 IgE 血症では 820 より 784IU/ml と平均値の改善を認めたが有意差はなく, その他の検査指標にも有意差を認めなかった。

**【結語】**ラード等負荷試験では水道水と比較してにがり希釈水投与グループに脂肪吸収抑制を認めた。にがりの長期摂取では体脂肪率, BMI, 血中脂質及び肝臓機能に改善を認めた。

## 進行癌(ステージⅣ)に対する低分子水溶性キトサン (畠中キトサン)を用いた統合医療

○恒川 洋<sup>1)</sup>, 畠中 富生<sup>2)</sup>

1) 恒川消化器クリニック, 2) 畠中製薬株式会社

Patients with intractable and progressive stage IV cancer received integrated medical treatment comprising immunomodulatory therapy combining Low molecule water solubility chitosan (Hatanaka Chitosan) and various regimens in combination with conventional therapy. As a result, activation of immune function including regulation of NK activity and an anti-cancer effect (reduction in tumor markers) were observed. Prolongation of mean survival time and a remarkable improvement in QOL (PS) were also observed. In conclusion, the result that this integrated medical treatment has a life-prolonging effect and maintains good QOL suggests that Hatanaka Chitosan may become a superior BRM that will complement conventional therapy.

### 【目的】

我々は、癌の標準治療後に再発・転移したり、西洋医学的に治療困難と判定された進行癌患者に対して、標準的な治療に加えてホリスティックな「補完・代替医療」と各種の「養生法」に様々な機能性食品を組み合わせた多彩な「統合医療」を行ってきた。特に、抗癌化学療法には抗癌作用と同時に免疫力の低下作用があるため、免疫活性化を目的とした補完医療を併用することにより副作用の軽減が可能となった。今回は、ステージⅣの進行癌患者に対して免疫活性化作用、有害物質排泄作用など様々な作用がある低分子水溶性キトサン（以下、畠中キトサン）を用いた統合医療の成績について報告する。

### 【方法】

ステージⅣの各種進行癌患者 17 名に標準治療と並行して漢方服用、ビタミンC大量点滴などに畠中キトサンを加えた免疫活性化療法と食・体・心の養生法を行った。免疫活性化の指標としては全例でNK細胞活性（NK活性）の推移を腫瘍マーカーと共に経時的(6～23ヶ月間)に測定した。また一部の症例でTh1/Th2比も測定した。

### 【成績及び症例呈示】

経過観察中17名中15名（88%）にNK活性の上昇が、14名（82%）に腫瘍マーカーの低下が認められた。同時に生存期間の延長、PSの改善（88%）などQOLの向上も確認された。症例を呈示する。

### 【まとめ】

今回、我々が治療困難な進行癌患者に現代西洋医学と並行して行った養生法と畠中キトサンを加えた統合医療には免疫活性化作用と同時に抗癌作用が認められた。さらに延命効果とQOLを良好に保つ点からも畠中キトサンは標準治療を補完する優れたBRMになりうる可能性が示唆された。

### ヤマブシタケの老年痴呆に対する臨床効果

A clinical study of the YAMABUSI mushroom on the elderly with dementia

笠原浩一郎

宏愛会第二リハビリテーション病院

To investigate the effects of the YAMABUSI mushroom(*Hericium erinaceum*) on senile dementia, 15 physical disabled patients ( $82.8 \pm 4.1$  years old) with dementia of Alzheimer's type (6), cerebrovascular dementia (7), mixed type of dementia (1), Pick disease (1) were given with 3g / day of the powdered YAMABUSI mushroom for 3 months. At the termination of the study, FIM scores increased significantly, in particular, the scores of social cognition item and locomotion item increased. MMSE scores also increased but not significantly.

#### 【目的】

嘗て我々はヤマブシタケが老年痴呆に対してその認知障害を改善させる効力のあることを発表した。今回は更に症例数を増やし、国際的な評価方法とされているMMSE及びFIMを組み合わせる再評価を試みた。

#### 【対象及び方法】

対象は宏愛会第二リハビリテーション病院入院中の身体障害を持つ老年痴呆者（アルツハイマー型痴呆，脳血管性痴呆及びその混合型）の15名（男5名，女10名，平均年齢82.8才）である。栄養補助食品として市販されているヤマブシタケ（商品名；山伏乃賜玉，（株）三富産業～東京都中央区日本橋茅場町2-8-5～販売）一日3g（朝，夕の食後それぞれ1.5gずつ）を服用させて，3ヵ月後に痴呆重症度を投与前のそれと比較検討した。痴呆重症度のスケールにはFIM(Functional Independence Measure)及びMMSE(Mini-Mental State Examination)を用いて判定した。

#### 【結果】

ヤマブシタケ3ヶ月投与により，MMSE値は上昇傾向を示すが有意差はなく，FIM値が有意に上昇した（ $P < 0.05$ ）。なかでもFIMの運動項目のうちの移動項目，認知項目のうちの社会認知項目が共に有意に上昇した。（ $P < 0.05$ ）

#### 【結論】

身体障害のある老年痴呆に対して，ヤマブシタケは認知能力を向上させ，併せて運動能力をも上昇させる効力のあることが示唆された。

## ウロデール®プラスの前立腺疾患に対する有用性

The effectiveness of URODEL® PLUS in prostatic disease

○久保田 毅, 深澤 洋子, 谷田貝浩三, 市川 文雄

日水製薬株式会社

The effectiveness of URODEL® PLUS, which contains *Serenoa repens* fruit Extract, Phytosterol, and Tomato Extract, in prostatic disease was investigated. In the effect for cultured human prostate cancer cells PC-3, URODEL® PLUS significantly reduced the number of cells of PC-3. In the effect for dysuria, URODEL® PLUS improved urinary flow rate and reduced IPSS (International Prostatic Symptom Score). These results suggested that URODEL® PLUS is useful in the treatment of dysuria and the prevention of prostate cancer.

### 【目的】

ウロデール®プラスは、ノコギリヤシ果エキスを配合した健康食品である。ノコギリヤシ果エキス・植物ステロールは、前立腺肥大の排尿障害や炎症に対する有用性が報告されており、また、トマト抽出物は前立腺ガン細胞増殖抑制効果を *in vitro* で検討し、また、ウロデール®プラスの摂取が前立腺疾患のヒトの排尿状態に及ぼす作用を評価したので報告する。

### 【方法】

- ①ヒト前立腺ガン細胞 PC-3 にウロデール®プラスを 300, 400, 500  $\mu$ g/mL 添加し、72 時間培養後、生細胞数を測定した。
- ②ウロデール®プラスを軽度な前立腺肥大及び前立腺炎の被験者に 1 日 2 粒ずつ 1 か月間摂取させた。摂取前及び摂取 1 か月後に、尿流率測定及び IPSS (国際前立腺症状スコア) による評価を行った。

### 【結果】

- ①ウロデール®プラスは濃度依存的にヒト前立腺ガン細胞 PC-3 の増殖を抑制し、500  $\mu$ g/mL 添加群では増殖を 77%抑制した ( $p<0.01$ )。
- ②ウロデール®プラスを 1 か月摂取した後、被験者の尿流率および IPSS に改善傾向がみられ、最大尿流率は 28%増加し、IPSS は 2.5 点改善した。

### 【結論】

前立腺疾患として重要な前立腺肥大、前立腺炎及び前立腺ガンに対する、ウロデール®プラスの有用性が示された。

従って、ウロデール®プラスの摂取は、前立腺肥大等による排尿障害を改善するのみならず、加齢とともにリスクが高まる前立腺ガンの予防及び治療効果が期待できると考えられる。

## 「緑効青汁®」の抗酸化作用について

## Antioxidant Activity of RYOKKO AOJIRU in healthy volunteer

○池口 主弥<sup>1)</sup>, 岩本 邦彦<sup>1)</sup>, 立部 誠<sup>1)</sup>, 高垣 欣也<sup>1)</sup>, 大内 尉義<sup>2)</sup>

1) 株式会社東洋新薬研究開発本部, 2) 東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座

Antioxidant activity and effect on red cell deformability of RYOKKO AOJIRU (RA) were studied in 15 healthy volunteers. Three packages of the RA were daily given to the subjects for 10 weeks. In the result, the administration of the RA improved red cell deformability, reduced 8-OHdG levels in the urine. These results suggested that intake of the RA was effective for improving blood stream in capillary due to enhancing antioxidant activity.

## 【目的】

大麦若葉末はポリフェノールを含み、抗酸化作用を示すことが知られているが、実際にヒトでの効果を検討した報告はない。そこで本研究では、大麦若葉末を主原料とし、水溶性食物繊維、オリゴ糖、乳酸菌などを配合した「緑効青汁®」を用いてヒトにおける抗酸化性に関する試験を行った。評価項目としては、DNAの酸化的損傷の指標として用いられている尿中の8-ヒドロキシデオキシグアニン含量（以下8-OH-dG）を測定した。また、酸化により低下することが知られている赤血球変形能の測定を行った。赤血球変形能は末梢血管における赤血球の通過性の指標であり、細動脈以下の円滑な循環には正常な赤血球変形能を保つ必要があるといわれている。

## 【方法】

健康者15名を対象に、試験食品として「緑効青汁®」を1日あたり3袋、10週間連続して摂取させ、摂取前、摂取3、6、10週後の4回、採血および採尿を行った。採血によって得られた検体は赤血球変形能の測定に供した。採尿によって得られた検体は8-OH-dG測定に供した。

## 【結果】

全被験者において赤血球変形能は試験食品摂取前と比較して摂取3、6、10週後に有意な増加を示した。また、8-OH-dGは試験食品を摂取することで経時的に減少する傾向にあり、摂取6、10週後には摂取前と比較して有意に減少した。

## 【結論】

「緑効青汁®」の10週間の摂取により赤血球変形能が改善することが示された。このことは、酸化ストレスの指標である8-OH-dGの低下が認められていることから、「緑効青汁®」の摂取により、生体内における抗酸化作用が高まり、赤血球の酸化が抑制され、変形能が向上したことによるものと考えられた。これらのことから、「緑効青汁®」を連続して摂取することは、生体内の抗酸化力を高め、末梢血管の血流の改善効果をもたらすことが示唆された。



## 膀胱瘤に対する補中益気湯の使用経験

### Clinical Study of Kampo Medicine Hochu-ekki-to for Cystocele

○松崎 敦<sup>1)</sup>, 森田 辰男<sup>2)</sup>, 松崎 茂<sup>3)</sup>, 小林 裕<sup>4)</sup>

1) 国保 依田窪病院 泌尿器科, 2) 自治医科大学 泌尿器科学教室,  
3) まつぎクリニック, 4) 自治医科大学附属大宮医療センター 泌尿器科

Effect of Kampo medicine Hochu-ekki-to on urinary symptoms due to cystocele was studied. Symptoms and findings of chain urethrocytography were evaluated before and after the administration of Hochu-ekki-to. Their symptoms improved significantly without significant improvement in the findings of chain urethrocytography. These results suggest that Hochu-ekki-to is useful as the treatment of choice for the non-surgical management of patients with cystocele.

#### 【目的】

分娩歴のある高齢女性にみられる尿失禁や排尿困難は、膀胱瘤が原因であることが多い。その発生機転は、主に加齢や分娩による骨盤底筋群の支持組織機能の低下と考えられている。膀胱瘤に対しては様々な治療法があるが、既往歴や合併症を考慮した治療法の選択が必要である。

今回、膀胱瘤の保存的治療として漢方薬である補中益気湯を使用し、症状の改善を試みるとともに、チェーン尿道膀胱造影にて効果を他覚的に検討した。

#### 【方法】

膀胱瘤に伴う排尿障害を主訴とした分娩歴のある女性 30 名を対象とした。初診時にチェーン尿道膀胱造影を施行後、補中益気湯の内服を開始した。症例により抗コリン剤などを短期間併用した。内服 2 ヶ月から 6 ヶ月後、自覚症状を評価するとともに、再度チェーン尿道膀胱造影を施行し他覚的にも評価した。

#### 【結果】

高度の子宮下垂を伴う症例は、ペッサリーの使用で症状の改善がみられた。尿失禁を伴う症例では、抗コリン剤を 1,2 週間内服した後、補中益気湯単独で治療を継続したが、尿失禁の増悪はみられなかった。また、チェーン尿道膀胱造影の改善が有意でない症例でも、症状は有意に改善した。

#### 【結論】

他覚所見の改善に比べ、自覚症状が有意に改善する症例があり、膀胱瘤に伴う排尿障害の保存的治療として補中益気湯は有用であることが示唆された。

## ベニバナインゲンの各種代謝異常状態に於ける臨床効果

Clinical effectiveness of Phaseolus coccineus in abnormal metabolic conditions

野崎 豊<sup>1)</sup>, 野崎 高史<sup>1)</sup>, 岡本 一郎<sup>2)</sup>, 森 光弘<sup>2)</sup>

1) ノザキクリニック, 2) (株)小倉屋柳本 開発研究室

Phaseolus coccineus is famous bean as “butter bean” which is also anthocyanin-rich, carbohydrate-rich and low protein bean. Clinical effectiveness of Phaseolus coccineus was studied in abnormal metabolic conditions. It's non-caloric juice was given in 46 volunteers for 3 months. Remarkable improvements ( $P < 0.005$ ) were shown in their plasma total cholesterol, triglyceride, uric acid and diastolic blood pressure which reflected the arteriosclerosis. These data shows us this juice is useful to the arteriosclerosis and diet therapy.

**【目的】**大黒花芸豆〔ベニバナインゲン (phaseolus coccineus)〕はメキシコなど中南米が原産地と考えられており、2000m以上の高地で生育している豆である。蛋白が少なく糖が多い事 (333kcal, 蛋白 19.4g, 脂質 1.9g, 糖質 59.5g/100g), アントシアニンの豊富な (300mg/100g) 事で知られている。漢方では類似の白飯豆 (phaseolus vulgaris) の煮汁が解熱, 利尿効果により, 風邪やむくみに使われている。むくみは漢方では肥満を指す事が多い。近年アントシアニンに活性酸素や血中脂質や腹部脂肪の改善効果が認められている。抗肥満, 抗加齢製品開発の可能性を探るため, 健常人 (46 名) に煮汁を飲用してもらい, その効果を分析した。

**【方法】**ボランティア 46 名に 3 か月間, 1 杯の水に 12 時間浸水した 50g の豆を潰け汁ごと約 20 分間沸騰させて作成した煮汁を朝夕の空腹時に飲んでもらい, BMI, 各種血中脂質指標, 肝機能, 腎機能, CPK と血糖を測定し, 生体効果を paired student t 検定で分析した。

**【結果】**血中脂質に就いては 24 名に高コレステロール値 (220mg/dl 以上) を認め, 平均 258 より 242 へ, 26 名に高中性脂肪値 (150mg/dl 以上) を認め, 平均 273 より 173 へ, 14 名に高尿酸値 (7mg/dl 以上) を認め, 平均 8 より 7.1 へと飲用後改善を見た。13 名の血圧異常者中, 収縮期血圧 (145mmHg 以上) が 1 名, 拡張期血圧 (90mmHg 以上) が 13 名であった。飲用中 2 名に収縮期血圧が正常範囲内での上昇を見た。飲用後, 拡張期血圧は平均 95 より 82.7 へ改善を認めた。以上の結果は全て 5 % で有意差を認めた。これら改善指標は動脈硬化や腹部肥満と関係している。その他の指標には有為差を認めなかった。

**【結語】**ベニバナインゲン煮汁の長期飲用で拡張期血圧, 脂質, 尿酸値に改善が見られた。これらにはアントシアニン効果も寄与していると思われる。

## P31

### 月経困難症に対するピクノジェノールの有用性についての検討

The effect of Pycnogenol for women with dysmenorrhea

○井上 明子, 西谷 雅史, 三國 雅人, 日下 真純

札幌厚生病院 産婦人科

We studied the effect of Pycnogenol on women with dysmenorrhea. Two types of Pycnogenol, Pdr and VOS were randomly given for 2 months to 18 women suffering from dysmenorrhea, and detailed symptoms were written down. CA125 (marker for endometriosis) were measured before and after the study. Both Pdr and VOS turned out to be effective for dysmenorrhea especially for those without endometriosis, and CA125 decreased in 5 patients out of 6 who had a high score of CA125 before the study. These results suggested that Pycnogenol could be one alternative way in dealing with dysmenorrhea.

#### 【目的】

ピクノジェノールはフランス海岸松の樹皮から抽出された機能性食品であり、その抗酸化作用、血流改善作用、抗炎症作用により様々な効果が期待されている。今回我々は、ピクノジェノールの月経痛に対する効果を検討した。

#### 【方法】

ピクノジェノールは、Pdr（ピクノジェノール、有機セレンウム、ビタミンE・A・C含；株式会社トレードピア）、VOS（ピクノジェノール、有機ゲルマニウム、セレンウム、亜鉛、クロム含；株式会社セラ）を使用し、それぞれを対象患者18名にランダムに割り当てた。内服期間は月経終了日から2ヶ月間（月経2周期）とし、痛みの程度や種類、期間などを経過表に記入し解析した。また、各周期において子宮内膜症の腫瘍マーカーであるCA125を測定しその推移を追った。

#### 【結果】

効果の判定は、Pdr群では6例中著効3例、有効2例、無効1例、VOS群では12例中著効3例、有効5例、無効4例であった。著効した6例はいずれも明らかな子宮内膜症の病巣を認めない月経困難症であった。その他、冷えの改善、排卵痛の軽減、美肌効果などの効果も認めた。副作用は18例中4例に口内炎、2例に胃もたれ、1例に嘔気、眼周囲掻痒を認めたがいずれも軽度であった。CA125の値は内服開始前高値を示した6例中、5例に内服後の低下を認めた。

#### 【結論】

子宮内膜症の病巣を認めない月経困難症においてピクノジェノールはその月経痛の緩和に有効であると考えられる。今回、無効であった症例においても継続投与により改善が期待される可能性が示唆された。

### 長野県の一市中病院における補完代替医療に対する職員の意識調査

An opinion poll of the personnel to the complementary and alternative medicine  
in one in-the-city hospital of Nagano.

八重樫弘信

中信勤労者医療協会 塩尻協立病院 内科

The consciousness to the complementary and alternative medicine (CAM) in medical workers was investigated. The self-entry formula questionnaire survey about CAM was conducted. The number of the personnel for investigation was 123, and obtained the effective reply from 116 persons. It was 11% which answered "It is" to the question "whether the word "CAM" has been heard."; by medical doctors 67%(2/3 persons), pharmacists 0%(0/6), nurses 16%(5/51), the care workers 10%(4/25), physiotherapists, occupational therapists, and a masseur 25%(2/8), dietitians and chefs 0%(0/7), and clerks 0%(0/13). CAM is carrying out by 78 persons(67%). Contents of CAM were massage(33%), use of supplements(28%), Kampo medicine(23%), acupuncture(14%), chiropractic(11%), and aromatherapy(10%). Although the language itself called CAM was seldom known in our hospital, many workers are carried out the acts actually considered that is CAM.

#### 【目的】

医療従事者における補完代替医療（以下 CAM）に対する意識を調査した。

#### 【方法】

2004 年 7 月 1 日から 14 日にかけて、当院職員に対して CAM に関する自己記入式アンケートを行った。

#### 【結果】

調査対象職員数は 123 人で、アンケートの回収率は 96.7%(119 名)であり、116 名から有効回答を得た。

「CAM という言葉を聞いたことがあるか」という質問に対して、「ある」と答えたものが 11%、「ない」と答えたものが 85%であった。「ある」と答えたものを職種別にみると、医師で 67%(2/3 名)、薬剤師で 0%(0/6 名)、看護師で 10%(5/51 名)、介護福祉士・看護助手で 16%(4/25 名)、理学療法士・作業療法士・マッサージ師で 25%(2/8 名)、栄養士・調理師で 0%(0/7 名)、事務職員で 0%(0/13 名)であり、職種による違いが認められた。

また、年齢別にみると、20 歳代では 7%(3/42 名)、30 歳代 12%(4/34 名)では、40 歳代では 14%(4/28 名)、50 歳代では 17%(2/12 名)が「ある」と答えており、年代が高くなるにつれて CAM という言葉が知られている傾向にあった。さらに男女別にみると男性 17%(4/24 名)、女性 10%(9/92 名)と、男性の割合が高かった。

CAM の利用の経験があるものは 78 名(67%)あり、CAM という言葉を聞いたことがない者でも CAM と意識せずに CAM を利用していた。CAM の内容としては、マッサージの利用者が最も多く 38 名(33%)、次いで栄養補助食品の利用者が 32 名(28%)、漢方薬 27 名(23%)、鍼 16 名(14%)、カイロプラクティック 13 名(11%)、アロマセラピー 12 名(10%)の順であった。

#### 【結論】

当院職員においては、CAM という言葉自体はあまり知られていないものの、実際には CAM とみなされる行為を実施している者が 3 分の 2 にものぼることがわかった。

## 小青竜湯の開始直後より好酸球が減少し，5ヶ月後から 皮膚症状の改善を認めたアトピー性皮膚炎の1例

Sho-seiryu-to improved skin itching and atopic dermatitis after long-term administration

○村田 幸治<sup>1)2)3)</sup>，鈴木 信孝<sup>2)</sup>，亀井 勉<sup>1)2)</sup>

1) 島根難病研究所，2) 金沢大学大学院医学系研究科補完代替医療学，

3) 金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻分子移植学分野

Sho-seiryu-to [ETK-19] is known to be effective against allergic diseases, and has recently been used on atopic dermatitis (AD). We observed the effects of ETK-19 on a patient with AD who, despite using steroid drugs, had skin itching and eruption, elevated serum IgE levels and peripheral eosinophilia. Despite an improvement of the peripheral eosinophilia, the skin condition was not improved after 5 months. Then, after 7 months, skin itching and eruption had almost disappeared. We suggest that long-term (more than several months) administration of ETK-19 could be effective for a patient with AD whose peripheral eosinophil level has decreased in advance.

### 【目 的】

アトピー性皮膚炎の治療には，炎症に対する外用療法としてステロイド剤が使用され，全身療法として掻痒の軽減と痒みによる掻破のための悪化を予防する目的で抗ヒスタミン剤などが使用されている（日皮会誌：ガイドライン 2004）が，掻痒のコントロールが困難なことが少なくない。一方，小青竜湯は，アレルギー性鼻炎や気管支喘息などのアレルギー疾患に対して用いられ，末梢単核球の IgE 産生や好酸球機能への抑制作用があることが報告されている。われわれは，小青竜湯（テイコク小青竜湯エキス細粒[7.5g/日]→5ヶ月後に薬局の都合にてカネボウ小青竜湯エキス細粒[6.0g/日]に変更，以下 ETK-19）を開始直後から好酸球数（Eos）が減少を示していたため投与を続けたところ，5ヵ月後から徐々に掻痒が軽減し，7ヶ月後には皮疹の軽快も認められたアトピー性皮膚炎の症例を経験したので報告する。

### 【症 例】

病歴：26歳女性。23歳頃から指先に皮疹が出現。24歳時には両下肢，25歳時には下腹部と両肘にも皮疹が出現。指先と両下肢に著明な掻痒を自覚。23歳時から近医皮膚科を受診しステロイド外用剤を使用していたが，皮疹と掻痒は改善を認めなかった。

経過：26歳時に初診。両下肢前面と指先にやや湿潤した皮疹が散在し，検査所見では，血清 IgE 値（RIST）207IU/ml，Eos 14%(826/ $\mu$ l)を認め，ETK-19を開始したところ，当初皮膚症状に改善を認めなかったが，Eos は1ヵ月後 6%(336/ $\mu$ l)，3ヵ月後 8%(376/ $\mu$ l)，5ヵ月後 2%(128/ $\mu$ l)と著明に減少した。以後，5ヶ月後からは両下肢の掻痒が軽減し，7ヵ月後には指先と両下肢の掻痒がほぼ消失し両下肢皮疹も軽快した。経過中，他の抗アレルギー剤やステロイド外用剤などは使用していない。

### 【結 論】

アトピー性皮膚炎の漢方治療として，最近では ETK-19 の使用報告も散見される。これまでの報告では，ETK-19 開始後の数週間で皮膚症状の改善を認めた報告や，3～4ヶ月の投与にて皮膚症状の改善を認めない場合には投与を再検討すべきとの指摘もみられる。今回の症例から，ETK-19 開始後に臨床症状がすぐには改善しない場合でも，Eos に減少を認めた場合には，数ヶ月以上の投与によって ETK-19 が有効性を示す可能性が考えられた。

## P34

# マツタケ菌糸体(マツマックス)の頭頸部がん患者への使用経験

## Matsumax Treatment in Head and Neck Cancer Patients

○平田 章二

札幌平田口腔顎顔面外科がんヴィレッジ

We here describe the study of Matsumax Treatment in advanced head and neck cancer patients who orally received Matsumax to complement their immune function and QOL. Matsumax, as the adjuvant therapy of low-dose chemotherapy for advanced head and neck cancer, inhibited the degradation of the immune function and QOL.

### 【目的】

がん患者はがんの進行につれ、また抗がん治療によりがんに対する免疫能が低下する。免疫低下により、進行がん患者は、腫瘍が急速に増大し、QOLはますます低下する。また抗がん治療による免疫能の低下は、その後の再発、転移に大きくかかわってくる。そこで、今回マツマックスを飲用した進行頭頸部がん患者の免疫能とQOLを調べる機会を得たので、マツマックスのその有用性について検討した。

### 【対象】

マツマックスを飲用した手術不能頭頸部がん患者7名のうち、飲用前、飲用中、飲用後に採血を行い得た4名（咽頭癌、下顎顎骨中心癌、舌癌、頬粘膜癌）を対象とした。

### 【方法】

すべての患者に、低用量抗癌剤（CDDP+BLM）を行っている。

今回これに、マツマックスを3～6ヶ月間併用し、以下の項目についてマツマックスの有用性を検討した。

1. マツマックス飲用前、飲用中、飲用後の、患者より採血を行い以下の項目を調べた。
  - ①血算、②生化学、③腫瘍マーカー（SCC）、④免疫学的パラメーター（CD4/8, IL-6, 10, 12, IFN, SOD）
2. がん患者のQOLの変化；倦怠感、食欲、意欲、

### 【結果】

1. 採血による血算、生化学、腫瘍マーカー、免疫パラメーターの変化；
  - ①血算；大きな変化は見られなかった。
  - ②生化学；大きな変化は見られなかった。
  - ③腫瘍マーカー；2例で低下し、2例は変化がなかった。
  - ④免疫パラメーター；
    - ・CD4/8は3例で増加し、1例は変化がなかった。
    - ・SODは、2例で上昇した。
    - ・IL-6、10は、各1例で上昇した。
    - ・すべての症例でIFN- $\gamma$ 、IL-12に変化は見られなかった。
2. QOL；いずれの症例も維持、改善された。

### 【結語】

以上より、低用量抗癌剤（CDDP+BLM）を行っている進行頭頸部癌患者がマツマックスを併用飲用した時、免疫能にプラス作用が働いていることが示唆された。それに伴い、QOLにもプラスに働きかけることが考えられた。

## 大豆イソフラボン類の血中および尿中濃度測定法について

Determination of soybean isoflavones in human serum and urine

○山崎 典子, 榎藤 一美, 宮川 秀則, 川越 信秀, 榎 佐和子, 久保野勝男

株式会社エスアールエル 医科学分析センター

Soybean isoflavones being included in an soybean etc. is known as a natural substance with the estrogen action, and research is done about the relation with a breast cancer, a prostate cancer, menopausal disorders, etc. We performed fundamental examination about the soybean isoflavones measuring method.

Concentration analysis in blood was performed by the LC-MS/MS method, and concentration analysis in urine was performed by the HPLC method. Consequently, we report that each fixed quantity method was established.

### 【はじめに】

大豆イソフラボンは大豆等に含まれるエストロゲン作用をもつ天然物質として知られており、乳がん、前立腺がんや更年期障害などとの関係について研究が行なわれている。今回、我々は LC-MS/MS による大豆イソフラボン類の血中濃度測定法、および HPLC による尿中濃度測定法について基礎的検討を行なった。

### 【方法】

血清または尿に  $\beta$ -Glucuronidase を加え加水分解した後、有機溶媒で抽出したものを測定試料とした。血中濃度は LC-MS/MS を用い、分析カラムを PEGASIL ODS (2×150 mm, センシュウ科学), 移動相をアセトニトリル/メタノール (1:2) と精製水によるリニアグラジェントとし、ESI - 法による MRM モードにてダイゼイン, ゲニステインおよびエクオールを測定した。尿中濃度では HPLC を用い、プレカラムに Wakosil- II RS (4.6×50 mm, 和光純薬工業), メインカラムに CAPCELL PAK AQ (4.6×250 mm, 資生堂) を用いたカラムスイッチング法にてダイゼイン, ゲニステイン, グリシテインおよびエクオールを測定した。

### 【結果および結論】

血中および尿中濃度測定ともに添加回収率, 直線性, 再現性などの検証実験では良好な結果が得られた。定量限界は血中 3 成分では 0.5 ng/mL, 尿中ではエクオールのみ 250 ng/mL, その他 3 成分は 100 ng/mL であった。

血中および尿中濃度測定におけるそれぞれの大豆イソフラボン類について, 一斉分析することが可能な測定法を確立することができた。本法は大豆イソフラボン類の研究をおこなう上で有用な方法であると思われる。

## ヒト血漿中カテキン類(エピガロカテキンガレート およびエピカテキン)の測定について

Analytical method for Epigallocatechin Gallate(EGCg) and Epicatechin(EC) in Human plasma

○川原 秀喜, 榎藤 一美, 宮川 秀則, 川越 信秀, 榎 佐和子, 久保野勝男

株式会社エスアールエル 医科学分析センター

We examined measuring method of the EGCg and EC concentration in human plasma by using high-performance liquid chromatography with electrochemincal detector(HPLC-ECD). This analytical method was adopted column switching technique with HPLC system. We submit good result data on the standard material and human plasma in tests of the linearity, addition-recovery and reproducibility.

### 【はじめに】

機能性物質として注目を集めているカテキンは、フラバン-3-オール型ポリフェノール化合物の総称である。緑茶中に多く含まれエピカテキン (EC), エピガロカテキン (EGC), エピカテキンガレート (ECg) およびエピガロカテキンガレート (EGCg) の4種が主に存在する。

我々は、ヒト血漿中カテキン類として、EGCg および EC のフリー体の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた迅速測定法について検討した。

### 【方法】

HPLC システムには島津製作所 LC-10Avp シリーズを用い、エイコムの電気化学的検出器 ECD-300 を装着し検討した。

迅速測定法開発のため複雑な前処理を避け、HPLC システムでのカラムスイッチング法を採用した。

#### 1. 前処理

ヒト血漿に試料安定剤を加え攪拌後、さらにアセトニトリルを加え5分間攪拌した。その後、遠心分離しその上清を分取し、窒素気流下にて濃縮乾固後、プレカラム移動相にて再溶解して測定試料とした。

#### 2. HPLC 分析条件

プレカラム : Pegasil ODS 4.6×50mm (センシュエ科学)

メインカラム : Pegasil ODS 4.6×250mm (センシュエ科学)

カラム温度 : 40℃

移動相流量 : 0.8mL/min

プレカラム移動相 : 15mmol/L リン酸緩衝液 (pH=2.2) /アセトニトリル/メタノール (450/43/45)

メインカラム移動相 : 25mmol/L リン酸緩衝液 (pH=2.2) /テトラヒドロフラン/アセトニトリル/メタノール (750/42/76/136)

ECD 加電圧 : 450mV

### 【結果および結論】

測定精度の検証のため希釈直線性試験、添加回収試験および再現性試験を実施し、それぞれが良好な結果であることを確認した。

本法では、HPLC のインジェクション間隔を16分とする迅速測定が可能となった。今後は、他のカテキン類についても安定した精度を備えた迅速測定系を検討して行きたい。



## P37

# 新中医学研究：現代中国の新たな腎臓病治療薬「トロロアオイ花（甲花）」および肝保護療法における「垂盆草」の研究

Effects of New Chinese Traditional Herbal Medicines, *Abelmoschus manihot* (L.) Medic and *Sedum sarmentosum* Bunge, on Renal Disease and Hepatitis.

○野村 正和<sup>1)</sup>，熊 宁宁<sup>2)</sup>，張 岫美<sup>3)</sup>

1) 新中医学研究所，2) 南京中医薬大学，3) 山東大学医学院薬理学研究所

In China, both of the traditional and the western medicals are officially recognized and they have been kept efforts for fusion of them. As a result, many traditional herbal medicines are newly developed and applied on the treatment in the hospitals. The effects of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic on the renal disease and *Sedum sarmentosum* Bunge on the hepatitis were examined and the usefulness was recognized as the alternative medicine.

### 【緒言】

現在中国の医療制度は西洋医学（西医学）と東洋医学（中医学）が両立していて、それぞれの医大があり異なる医師資格が認められている。両医学は過去 20 年間以上に渡り融合が計られ、その結果多数の中国独自の医薬品が開発されて広く医療現場で用いられているが日本ではほとんど知られていない。今回、トロロアオイ花（甲花）の糖尿病性腎症および垂盆草の肝保護療法への応用の可能性について検討を加えた。

\*トロロアオイ：*Abelmoschus manihot* (L.) Medic

\*垂盆草：*Sedum sarmentosum* Bunge

### 【方法】

①一般的な経口糖尿病治療薬(Gliclazide)およびレニン-アンジオテンシン系降圧剤(Captopril)により治療中の糖尿病性腎症を伴う非インスリン依存型糖尿病患者を無作為に 2 群に分け、治療群にはトロロアオイ花部アルコール抽出物製剤(1.2g/day)を 8 週間経口投与した。治療前と比較して尿蛋白量が 50%以下に減少した場合に有効と判定し、Ridit 分析法により統計処理を行った。

②マウスに垂盆草熱水抽出物(1,404mg/kg, 468mg/kg, 156mg/kg)を 2 週間連日経口投与した後に、落花生油で 0.3%に調製した四塩化炭素溶液を皮下投与(10ml/kg)し、四塩化炭素溶液投与 20 時間後に眼球より採血して市販の測定キットを用いて ALT, AST 値を測定した。

### 【結果】

①トロロアオイ花部抽出エキスを投与した群では 31 例中 26 例が有効(83.87%)であったのに対し、対照群では 29 例中 9 例(31.03%)に過ぎず、対照群と比べてトロロアオイ投与群では明らかに尿蛋白量が改善された。(U=4.02, P<0.01)

②垂盆草熱水抽出物は急性肝障害モデルにおいて肝臓毒投与後のマウス肝障害を用量依存的に軽減した。

### 【結論】

トロロアオイ花部(甲花)と垂盆草には、それぞれ国内の糖尿病性腎症治療法および肝保護療法を補完しうる優れた効果が認められた。

## こんにゃくセラミド摂食がアトピー性皮膚炎の肌状態に及ぼす影響

The effects of oral intake of Konjac-Ceramide on dry skin of Atopic Dermatitis

○宮西 健次<sup>1)</sup>, 塩野 菜美<sup>1)</sup>, 白井 宏政<sup>1)</sup>, 木俣 肇<sup>2)</sup>

1) ユニチカ株式会社中央研究所, 2) 宇治武田病院アレルギー科

We investigated the effects of oral intake of Konjac-Ceramide containing glucosylceramides richly on dry skin of patients with Atopic Dermatitis (N=14). All patients took soft capsules which were designed to contain glucosylceramides 1.8mg per day, and they continued to take capsules for 8 weeks. Before and after 2, 4, and 8 weeks of intake of soft capsules, we measured water content (Corneometer), TEWL values (Tewameter) and elasticity (Vinustron). Among all parameters tested, TEWL values were significantly decreased ( $p<0.05$ ).

### 【目 的】

こんにゃくセラミドは、こんにゃく芋由来のグルコシルセラミドを豊富に含む食品素材として、すでに、健常人を対象とした二重盲検の摂食試験において、容量依存的に肌からの水分蒸散量（TEWL値）の低下を有意にもたらしことが示されている<sup>1)</sup>。今回は対象をアトピー性皮膚炎患者とし、肌状態への影響を調べた。また、自覚症状等についてのアンケート調査も行ったので、併せて報告する。

### 【方 法】

被験者は、インフォームドコンセントの得られた、軽微～中度のアトピー性皮膚炎患者計 14 名（女性 9 名、男性 5 名）で、すべての被験者に、グルコシルセラミドとして 1.8mg/日摂取してもらう単一群試験とした。摂食期間は 8 週間とし、摂食開始前、摂食開始 2, 4, 8 週間後の計 4 回、肌状態の測定と、アンケート調査を行った。なお、肌状態の測定項目は、水分率（Corneometer）、水分蒸散量（Tewameter）、柔軟性（Vinustron）で、恒温恒湿室（20℃, 50%）で、45 分間安静待機後に測定を行った。

### 【結果と考察】

測定結果を、開始前の測定値を基準に、特に層別を考慮せず有意差検定（student's t 検定）を試みたところ、水分蒸散量で有意な低下（ $p<0.05$ ）が見られた。他に有意な変化を示す項目はなかったが、健常人同様、アトピー性皮膚炎の患者でも、こんにゃくセラミドの継続摂取により、肌からの水分蒸散量の低下、すなわちバリア性の向上が確認できた。また、アンケート結果でも、肌のきめが整い、塗布薬がよく伸びるようになり、薬の使用量が減ったと実感できたという意見があった。

### 【結 言】

こんにゃくセラミド摂食により、アトピー性皮膚炎患者の肌において、水分蒸散量の低下が有意に見られた。アトピー性皮膚炎治療の補完として、肌バリア性に特に関与する、こんにゃくセラミド摂食は有効であると考えられる。

1) 向井 克之, バイオインダストリー, 第 19 巻第 8 号, pp16-25 (2002)

## P39

### 鼻の閉塞感に対する辛夷・艾葉・竜脳・ユーカリを 含有する香の効果について

Effects of the incense including Magnoliae Flos, Artemisiae Folium, Camphora and  
Eucalyptus for nose stuffing

木下 優子<sup>1)</sup>, 矢久保修嗣<sup>1)</sup>, 横瀬 友好<sup>1)</sup>, 室賀 一宏<sup>1)</sup>,  
積田 正浩<sup>2)</sup>, 福永 稔<sup>2)</sup>, 荒川 泰行<sup>1)</sup>

1) 日本大学医学部東洋医学講座, 2) 株式会社薫寿堂

We made the incense that include Magnoliae Flos, Artemisiae Folium, Camphora and Eucalyptus, so as to improve nose stuffing. This study was performed in 6 volunteers who had nose stuffing. About the symptoms of nose stuffing, 5 cases(83.3%) felt better, 1 case (17.7%) felt nothing. And 3 cases (50%) felt better about headache. So this incense is thought to be effective for nose stuffing.

【目的】香は日本に古来から伝わるものであり、日本人の日常生活においてもなじみのあるものである。我々は、香りを楽しむだけでなく、様々な症状緩和に使うことを目的とした香のシリーズ「漢健香」の開発を行っている。この漢健香シリーズの一つとして鼻閉を改善する香を作成したので報告する。

【方法】香の内容：鼻閉感のある人に使ってもらうため、香の基材には煙の少ない素材を選択した。中に入れる素材は鼻閉感に効果があるとされる、辛夷・艾葉・竜脳・ユーカリとした。これを鼻閉感があるとされる人6名に使用してもらい、症状についてアンケート調査を行った。対象は27歳から47歳の成人、(男性2名、女性4名)使用期間は5日以上とした(実際の日数は5日から15日間)。

【結果】香を使用して鼻がすっきりしたと感じたものは、よく感じたが2例、ときどき感じたが3例、一度も感じなかったが1例であった。煙による症状増悪や不快感を訴えたケースは見られなかった。また3例で頭痛の改善が見られた。

【考察】6例中5例で鼻のすっきりした感じがみられた。また当初懸念していた煙による症状増悪や不快感はみられなかった。また、3例で頭痛に効果があり、今後の検討次第では頭痛の香としても使える可能性が示唆された。

## 超高純度半導体ゲルマニウムが上腕二頭筋の筋持久力に及ぼす効果

The effect of purity semiconductor Germanium application  
on the muscle endurance of biceps brachii

○伊藤マモル<sup>1)</sup>, 吉富 賢一<sup>2)</sup>, 河本 悦子<sup>2)</sup>, 坪井 友里<sup>2)</sup>, 川村 久洋<sup>2)</sup>, 山本 利春<sup>3)</sup>

1) 昭和大学保健医療学部, 2) 日本キネシオン協会, 3) 国際武道大学体育学部

It sticks amount purity semiconductor germanium (GE) and a pain and the effect which improves the physical function decline are reported to meridian points. They are the method of being based on the Oriental medical theory. However, GE doesn't find whether or not there is an effect to the physical function. Because, there is not sufficiently examined scientific evidence. Therefore, purpose of this study whether the effect of GE application on the muscle endurance of biceps brachii. Consequently, it was suggested that it is more better to stick GE in consideration of the influence of other muscles.

### 【目的】

超高純度無機ゲルマニウム粒（以下、GE）を使用した、いわゆるダイナミックキネシオシナジー（以下、DKS）において、近年、筋力バランスの調整による疼痛軽減、筋肉痛軽減、運動能力の向上などの臨床報告がみられる。本研究では健康増進やリハビリテーションなどの運動療法に応用するための体力科学的研究の一環として、GEが運動能力に及ぼす効果を検討する目的で、反復連続的な上腕二頭筋の筋持久力を向上させるためのGE貼付方法を検討した。

### 【方法】

男性2名（いずれも年齢21歳）を対象とした。測定項目は、非利き腕側の上腕部の周囲径、筋硬度、血中乳酸濃度、握力、肘関節90度まで屈曲挙上できる最大挙上重量、最大挙上重量の60～70%を負荷とした肘関節屈曲伸展運動時の最高反復回数（運動負荷）、およびVASであった。これらの測定を1日目は何も貼付しない状態で、その7日後は一方の被験者にGE（DKSゲルマ）を、他方はプラセボ粒を使用して行った。さらにその7日後はGEとプラセボ粒を入れ替えて使用した。いずれの場合も測定は、貼付前、貼付後、1回目の運動負荷後、2回目の運動負荷後、3回目の運動負荷後に実施した。GEおよびプラセボ粒の貼付はDKSに精通したDK療法士が行い、いずれの場合もDKSにおける上腕二頭筋の反射点（計3ヵ所）に貼付した。また、アームテストに反応した筋の反射点の全てにGEを貼付して同一の測定を実施した。

### 【結果と考察】

DKSにおける上腕二頭筋の反射点にGEを使用した場合、一方の被験者では肘関節屈曲伸展運動時の最高反復回数がプラセボ粒使用時よりも多かったが、他方の被験者ではGE使用時の方が少なかった。しかし、両被験者の筋の反応点の全てにGEを貼付した後では、両被験者ともにその回数が増加し、最大挙上重量も増加していた。本研究の結果、直接関係する筋反射点へのGE貼付だけでなく、全身的な筋の影響を考慮し、DKS検査上弱化している筋反射点を全て補う貼付法でより高い効果を示す可能性が示唆された。

## 低分子フコイダンを中心とした癌の総合医療臨床報告

Clinical improvement in cancer patients through integrative medicine,  
mainly low molecular weight fucoidan

西本 真司

西本第2クリニック

I report the cases of various cancer patients treated with alternative therapies, mainly treatment with low molecular weight fucoidan. There data show that low molecular weight fucoidan is useful to treat cancer patients.

### 【目的】

モズク由来の低分子フコイダンとビタミン，ミネラル，アミノ酸，酵素入り低分子水溶性サプリメント等を中心とした代替医療で，平成15年3月から平成16年7月まで来院の65名の癌，肉腫，多発性骨髄腫等難治性疾患の治療実績を呈示する。

### 【方法】

性別，年齢，診断からの年数，原発部位，病期別の患者数，治療効果についてのデータを解析した。男性は26名，女性は39名。年齢は20～80歳代で60歳代が24名と最も多かった。診断からの年数は3年までが49名と最も多く，10年以上は5名いた。原発部位は胃（13名），大腸（9名），乳房（8名），その他（35名）。病期はⅠ期（11名），Ⅱ期（8名），Ⅲ期（5名），Ⅳ期（37名）であった。

### 【結果】

評価としては腫瘍抑制効果，腫瘍免疫の改善，QOLの改善等61%の症例に何らかの改善傾向が見られた。

### 【結論】

低分子フコイダンを中心とした治療法は癌の補助療法として有効であると示唆された。

## おから含有食品のヒトにおける機能性試験

ーランダム化比較クロスオーバー試験による評価ー

Human study of the function on the bowel movement and glycemic index by the bean-curd refuse containing foods

-evaluation of the effect by the placebo controlled randomized cross over clinical study-

○上馬場和夫<sup>1)</sup>, 仲井 培雄<sup>2)</sup>, 許 鳳浩<sup>1)</sup>, 西尾由起夫<sup>3)</sup>

1) 富山県国際伝統医学センター, 2) 辰口芳珠記念病院, 3) 豊フーズ産業

The function of the bean-curd refuse containing foods was studied by the placebo controlled random-ized cross over clinical study. The effects on the bowel movement and glycemic index by bean-curd refuse containing breads were evaluated. 30 females who had been suffering from constipation participated in the study of bowel movement, and they were assigned randomly into active (refuse bread:4.3g/100g fiber) or placebo (white bread:2.8g/100g fiber) group. They had bean-curd refuse containing (30 % in total) bread for 2 weeks in a cross over study with 2 week-washout period. Other 12 healthy adults were divided into 3 groups who had bean-curd refuse containing bread (50 g carbohydrate), white bread (50 g carbohydrate) or glucose (50 g) in a random sequence with 1 week-washout period. The active group with more fiber had significantly more and smoother bowel movements than placebo bread, and active bread had less glycemic index than placebo bread.

### 【目 的】

おからは、産業廃棄物として毎年数百万トンが排出されており、大きな環境問題ともなっている。我々は、生のおからをペースト状にした後、各種食材にまぜて作ったおから食品の機能性を調査した。特に便通促進効果とグライセミック・インデックス(GI)の比較を行った。なお、本研究は、芳珠記念病院倫理委員会並びに富山県国際伝統医学センター倫理委員会の承認を得た後に開始した。

### 【方 法】

＜便通促進効果＞対象：便通で悩む成人女性30名を、文書による同意を取得した後、無作為に2群（A群：年齢 32±5歳，BMI 20.9±2.2），B群：年齢 36±8歳，BMI 21.0±3.6）に割付した。摂取：4.3g食物繊維含有おからパン摂取（実験群）の期間は、2週間。2.8g食物繊維含有精白パン摂取（プラセボ群）期間も2週間として、その間に、2週間のウォッシュアウト期間を入れて、クロスオーバー法で行った。被験者は、どちらが実験パンでプラセボパンかは知らされておらず、味や外観も類似はしていたが、実験パンとプラセボパンの識別不能性は十分ではなかった。パンは、冷凍庫で保存し、食す前に電子レンジで加温し、そのまま摂取した。評価項目：2週間毎日の便通記録（回数と便性、腹部の自覚的調子に関するVisual analogue score）を書かせた。

＜GIの測定＞対象：健康成人男女12名（年齢 28±10歳，BMI 20.7±2.2）を、無作為に3群（実験パン糖質50 g 相当量摂取群，精白パン糖質50 g 相当量摂取群，50 g グルコース摂取群）に割り付けし、1週間のウォッシュアウト期間において、無作為順序で、3種類の食品を摂取し、それぞれの摂取前、摂取後15,30,45,60,90,120分目の血糖値とIRIを測定した。Jenkinsらの原法に従ってGIを求めた。

### 【結 果 と 結 論】

おから含有パンの摂取により、プラセボの精白パン摂取時と比較して、有意に排便回数が増加し、便性も改善傾向を認めた。また腹部の張りなどの自覚的所見も有意に改善した。GIでは、おからパンが一番低いものであった。おからパンに含有される食物繊維の量と質が、効果の差に最も関与していると推定された。

## 緑茶カテキンの生体内抗酸化と透析患者への試み

Antioxidative effect of green tea catechins and their clinical efficacy in hemodialysis patients

○大久保 勉<sup>1)</sup>, レカ・ラジ・ユ・シ・ユネシヤ<sup>1)</sup>, 横澤 隆子<sup>2)</sup>, 柴田 透<sup>3)</sup>, 長谷川眞常<sup>3)</sup>

1) 太陽化学株式会社バイオニュートリション事業部,

2) 富山医科薬科大学和漢薬研究所, 3) 長谷川病院透析医療センター

We investigated the effects of green tea catechin supplementation on the antioxidative capacity of human plasma. Eighteen healthy male volunteers who orally ingested green tea catechins (254mg/subject) showed a decrease in plasma phosphatidylcholine hydroperoxide (PCOOH) levels with an increase in plasma catechin levels. The clinical efficacy of SUNPHENON<sup>®</sup> (catechins 300mg/patient) in the suppression of creatinine and methylguanidine production was observed in 50 dialysis patients for 6 months. These results suggest that SUNPHENON<sup>®</sup> is beneficial for patients with high oxidative stress.

### 【目的】

緑茶の渋み成分であるカテキン類は、生体内においてオーラルケアや抗酸化など様々な生理効果が確認されている。今回は、ヒトの緑茶カテキン摂取による抗酸化効果の確認と、酸化亢進状態にある透析患者が摂取した時のフリーラジカル活性の推移を検討することを目的とする。

### 【方法】

18名の健常人に緑茶より抽出精製した緑茶カテキン（太陽化学㈱製，商品名：サンフェノン<sup>®</sup>）を、緑茶カテキンとして254mg摂取してもらい、1時間後の血漿中のカテキン量（エピガロカテキンガレート EGCg として）と Phosphatidylcholine hydroperoxide (PCOOH)量を測定した。

また、透析患者50名を対象に、サンフェノン<sup>®</sup>を1日当たり緑茶カテキンとして300mgとなるように6ヶ月間摂取いただいた。クレアチニン（Cr）からOHラジカルによって産生されるメチルグアニジン（MG）値について経時的に測定した。

### 【結果】

健常人での摂取試験の結果、摂取前と比較して有意な血漿 EGC g 量の増加と PCOOH 量の減少を確認した。また、透析患者での摂取試験の結果、摂取前と比較して MG の有意な低下を確認した。

### 【結論】

ヒトへの摂取試験において緑茶カテキン（サンフェノン<sup>®</sup>）は生体内で抗酸化効果を発揮、また透析患者の亢進した酸化状態を改善した。今後もラジカルが関与する疾患などへの積極的なアプローチをしていきたい。

## *Agaricus blazei* murill H1 strain の癌浸潤抑制作用

Direct inhibition of tumor invasion by *Agaricus blazei* murill H1 strain

古我 匠<sup>1)2)</sup>, 名取 貴光<sup>1)</sup>, 石合 忍<sup>1)</sup>, 向井 睦子<sup>2)</sup>, 平間 稔<sup>1)</sup>,  
堀内 勲<sup>1)</sup>, 井上 正宏<sup>2)</sup>

1) 株式会社応微研, 2) 大阪府立成人病センター研究所生化学部

Metastasis and invasion of tumor cells are the most critical issue in cancer treatment. *Agaricus blazei* murill is a basidiomycete that has polysaccharide such as beta-glucan, which is well known to act as immunostimulant and exert anti-tumor activity. Here, we investigated the inhibitory effect of *Agaricus blazei* murill on tumor invasion, using *in vitro* bio-assay. The extract inhibited tumor cell invasion depending on its dose, suppressing the LPA-induced activity of RhoA in tumor cells. It is suggested that *Agaricus blazei* murill has inhibitory effect on cancer cell invasion.

【目的】 癌は日本人の三大死因の一つを占めている。現時点では癌の浸潤・転移に対する有効な治療法がないため、進行癌の治療成績は依然として不良である。*Agaricus blazei*, *Phlinius linteus* などの担子菌に抗癌作用があることが知られているが、一般にはその細胞壁構成成分である  $\beta$ -glucan による宿主の免疫賦活作用が抗癌効果の主体であると考えられている。しかし浸潤・転移などの癌の悪性形質に対する作用についてはほとんど報告がない。そこで、我々は担子菌 *Agaricus blazei* が癌浸潤に及ぼす直接作用について検討した。

【方法】 *Agaricus blazei* murill H1 strain を水又は熱水で抽出し、上清を使用した。癌浸潤は、明渡らの開発した *in vitro* 浸潤アッセイ法を用いて測定した(Akedo et.al., Cancer Res., 46, 2416-2422, 1986)。すなわち、AH130 rat ascites hepatoma cell の高浸潤性 clone である MM1 を、初代培養したラット腹膜中皮細胞に重層し、中皮細胞層下に浸潤して形成される MM1 細胞のコロニー数を計測することによって浸潤能を評価した。

【結果】 *Agaricus blazei* murill H1 strain 抽出物は MM1 細胞の浸潤能を強く、また容量依存性に抑制した。MM1 細胞は無血清培養条件下で LPA 刺激により浸潤能が亢進し、その際 RhoA 活性化が必須であるが、抽出物は MM1 細胞の LPA 刺激による RhoA 活性化を抑制した。

【結論】 *Agaricus blazei* murill H1 strain には、宿主免疫系を介した腫瘍抑制作用の他に、癌細胞の浸潤を抑制する直接作用があることが示唆された。



# 抗ストレスサイエンスシンポジウム

## カドミウム毒性による細胞ストレスと、 植物由来ペプチドによる毒性の軽減

高木 昌宏

北陸先端科学技術大学院大学材料科学研究科 教授

Oxidative stress has been implicated in a wide variety of disease processes. Oxidative stress is now recognized as accountable for redox regulation involving reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). Living organisms are unavoidably exposed to ROS in an aerobic environment. At the cellular level, oxidant injury elicits a wide spectrum of responses ranging from proliferation to growth arrest, to senescence, to cell death (apoptosis and necrosis). When present at high and/or sustained levels, ROS can cause severe damage to DNA, protein, and lipid. A number of defense system have evolved to combat the accumulation of ROS. These include various non-enzymatic molecules (e.g., glutathione, vitamins A, C, and E) as well as enzymatic scavengers of ROS (e.g., superoxid dismutases (SOD), catalase, and glutathione peroxide). Unfortunately, these defense mechanisms are not always adequate to counteract the production of ROS, resulting in what is termed a state of oxidative stress.

We have revealed that cadmium (Cd) induces oxidative stress including nitric oxide (NO) in human T-lymphoma Jurkat cells. Furthermore, we examined effect of Cd toxicity on neuronal differentiation of P19 embryonal carcinoma cells. P19 cells were derived from a mouse embryo and have been used as a model system for neuronal differentiation in vitro. When P19 cells were cultured in the presence of 10  $\mu$  M Cd for 6 hours and then in the serum-free medium for 2 days, the cells were induced to differentiate into neurons. The differentiation of mammalian neurons during development is a highly complex process involving regulation and coordination of signals at multiple steps. It is important to understand basic mechanisms underlying this complex pathway.

Some plants can hyperaccumulate metal ions that are toxic to virtually all other organisms at low dosages. Plants have evolved a suite of mechanisms that control and respond to the uptake and accumulation of both essential and nonessential heavy metals. A plant specific detoxification mechanism was introduced into mammalian cells and zebra fish to enhance their tolerance to the toxicity.

### 【背景および目的】

重金属であるカドミウムは危険な環境汚染物質であり、イタイタイ病や腎臓ガンを引き起こす事が知られている反面、カドミウム自体はDNA傷害を引き起こさない事も分かっている。我々はこれまで白血病性T細胞株 Jurkat を用いて、カドミウム毒性は、アポトーシス小体の形成やDNA断片化が不明瞭であることから典型的なアポトーシスを誘導しない点、グルタチオン等の抗酸化物質によって毒性が軽減されることから酸化的ストレスである点等を明らかにしてきた。本シンポジウムでは、酸化的ストレスとしてのカドミウム毒性が、細胞死や発癌、さらには胚性腫

瘍細胞の分化にどのような影響を与えるか、そしてさらには、植物などに存在する毒性軽減メカニズムについて解析した結果について報告させて頂きたい。

#### 【方法および結果】

・死滅 DNA マイクロアレイ TAKARA Intelli Gene Human Apoptosis CHIP Version 1.1 を用いてカドミウム濃度 30  $\mu$ M で 4 時間培養した Jurkat 細胞の遺伝子発現を解析した結果、inducible nitric oxide synthase ( iNOS )・proliferating cell nuclear antigen ( PCNA )・glutathione S-transferase 等の遺伝子発現上昇が認められた。iNOS 遺伝子発現上昇により発生すると考えられる一酸化窒素 ( NO ) は、ヌクレアーゼ活性化に関与するカスパーゼ 3 を阻害する。また、NO を介して炎症系のアラキドン酸カスケードが活性化していると考えられ、別途、脂質過酸化物質や活性酸素種を有意に増加させる結果も得られた。PCNA 遺伝子の発現上昇から、細胞周期を調べた結果、カドミウム毒性による G1 期停止が認められ、典型的アポトーシスを起こす UV 照射と同様であった。しかしストレスキナーゼ群 ( c-jun , p38 ) のリン酸化は、UV 照射に比べ数時間遅かった。以上の結果から死滅シグナルは、まず NO を介した炎症系のカスケードを流れ、その後、ストレスキナーゼ群が活性化されアポトーシスの方向にもシグナルは流れるが、NO によりカスパーゼが阻害を受け、ヌクレアーゼの活性化が不十分なためアポトーシス小体や DNA 断片化が不明瞭になると考えられた。

・癌化 NO は、N-ニトロソアミンによる DNA のアルキル化、脱アミノ化等の DNA 傷害を引き起こす。蛍光プローブを用いた観察の結果、カドミウム処理により活性酸素種が生成していることが示された。さらに、NO と活性酸素種との反応により強い変異原であるパーオキシナイトライトができる。つまりカドミウム自体は変異原では無いが、その毒性により発生する NO や活性酸素種、活性窒素種が DNA 傷害を惹起し、細胞を癌化させると考えられた。

・分化 カドミウム毒性に起因する酸化ストレスの分化に対する影響について調べた。分化能を有する胚性腫瘍細胞株 P19 は、レチノイン酸により神経細胞へと分化する。そこで、細胞増殖試験によりカドミウム濃度に対する P19 細胞の相対生存率を算出した。死滅を起こさない範囲で種々のカドミウム濃度を設定し、P19 細胞を適当時間培養した。顕微鏡観察の結果、カドミウム濃度 10  $\mu$ M、6 時間処理時に軸索の伸長が認められた。JNK・p38 の活性化を比較したところ、レチノイン酸による分化誘導時と同様 p38 のみの早い活性化が認められた。活性酸素種を細胞内に発生させるメチルビオロゲンを用いて実験した場合、1  $\mu$ M、12 時間 ( 以内 ) 処理時に軸索伸長が認められた。以上の結果より、軽度の酸化ストレスは細胞分化に対してポジティブに働くと考えられた。分化誘導には、還元剤が用いられることが多いことから考えて、酸化ストレスに応じて細胞内グルタチオン量が増加する等により、一時的に細胞内が還元状態になったために分化誘導のシグナルが流れたのではないかと考察している。

・防御機構 植物や藻類、一部の酵母などは重金属に晒されると、グルタチオン ( GSH, -Glu-Cys-Gly ) を基質としてファイトケラチン合成酵素 ( PCS ) によりファイトケラチン ( PC, ( -Glu-Cys )<sub>n</sub>-Gly ) を生合成することで無毒化している。現在までに我々は、ヒト白血病性 T 細胞株 ( Jurkat 細胞 ) やゼブラフィッシュ個体に植物 ( *Arabidopsis thaliana* ) 由来 PCS 遺伝子を導入することでカドミウム耐性を付与させた。

# ER ストレス誘導性アポトーシスのシグナル伝達

## Signal transduction of ER stress-induced apoptosis

恵口 豊

大阪大学大学院医学系研究科遺伝子学, SORST, JST 助教授

The endoplasmic reticulum (ER) is an organelle that regulates the synthesis, folding, and trafficking of secretory or membrane proteins, as well as intracellular calcium homeostasis. A variety of insults are known to induce the disturbance of homeostasis and cause accumulation of incorrectly folded proteins in the ER, namely ER stress. Cells exposed to ER stress can display various responses, including the unfolded protein response (UPR) and apoptosis, the latter of which has been implicated in the pathogenesis of several neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease.

Several mechanisms that activate apoptotic signaling pathways have been reported, such as increase in the transcription of CHOP/GADD153, recruitment of TRAF2 to activated IRE1  $\alpha$  and subsequent JNK activation, or activation of caspase-12. Because caspase-12 KO mice display partial resistance to ER stress-induced apoptosis and A  $\beta$  -induced apoptosis, the caspase should play critical role in ER stress-induced apoptosis in rodents. However, it is controversial whether similar mechanisms operate in humans, because the caspase-12 gene is not functional genetically in humans. We found that human caspase-4, a member of caspase-1 subfamily that includes caspase-12, is localized to the ER membrane, and is specifically cleaved by ER stress-inducing treatment. Furthermore, a reduction of caspase-4 expression by siRNA decreases ER stress-induced apoptosis in some cell lines. Caspase-4 is also cleaved by administration of A  $\beta$ , and A  $\beta$  -induced apoptosis is reduced by siRNAs to caspase-4. Thus, caspase-4 can function as an ER stress-specific caspase in human, and may be involved in pathogenesis of Alzheimer's disease.

Activation of initiator caspases is often achieved by oligomerization of the adaptor molecules bound to the caspases, such as Apaf-1 for caspase-9 and FADD for caspase-8. Caspases-4 and 12 could be activated by the similar mechanisms. RTN-x<sub>S</sub>, also known as Nogo-B, is a member of the reticulon family localized on the endoplasmic reticulum (ER). Reduction of the level of RTN-x<sub>S</sub> by expression of an antisense RNA specifically inhibited apoptosis caused by ER stress. RTN-x<sub>S</sub> could bind to caspase-4 and caspase-12, and oligomerization of RTN-x<sub>S</sub> was enhanced by ER stress, but not by other stimuli. Enforced dimerization of RTN-x<sub>S</sub>-FKBP fusion protein caused apoptotic cell death. These results suggest that RTN-x<sub>S</sub> is the first ER-localizing molecule so far reported acting as an adaptor molecule, which binds to pro-caspases and activates them through its oligomerization in response to ER stress.

アポトーシスは細胞内の様々なオルガネラに対する刺激により誘導される。例えば、核におけるDNA傷害や、小胞体機能障害による小胞体ストレス、酸化ストレスによるミトコンドリア傷害などの各種オルガネラで生じる変化は最終的にアポトーシスを誘導する。従って、それぞれのオルガネラのアポトーシスシグナルの発信の場としての機能が最近注目されている。中でも小胞体ストレスによって誘導されるアポトーシスは、いくつかの神経変性疾患や脳虚血後に見られる神経系細胞死の原因の一つとして想定されており、そのシグナル伝達の解明が求められている。

小胞体は、分泌タンパク質や膜タンパク質の合成とその品質管理を行うオルガネラである。何らかの理由により小胞体に変性したタンパク質が蓄積すると、小胞体はこれをストレスとして感知すると考えられる。細胞は、このストレスを解消するために UPR や ERAD と呼ばれる様々な応答を示すが、大量、あるいは長期的な小胞体ストレスに細胞がさらされると、細胞はアポトーシスに陥る。現在、小胞体ストレス誘導性アポトーシスのシグナル伝達系のモデルとして、小胞体に局在する caspase-12 の選択的活性化モデル、小胞体ストレスセンサーIRE1 と TRAF2/ASK1 複合体形成による JNK 経路の活性化モデル、IRE, PERK, ATF6 によるアポトーシス誘導因子 CHOP/GADD153 の発現誘導モデル、カルシウム等によるプロテアーゼ活性化モデルなどの様々なものが提唱されているが、その初期反応も含め、依然として未解明な部分が多い。

近年、caspase-12 KOマウスでは小胞体ストレス誘導性アポトーシスとアミロイドβによる細胞死が緩和されることが明らかとなり、少なくとも一部の細胞では小胞体ストレスにより小胞体上でCaspaseが活性化すると考えられている。ヒトではcaspase-12がpseudogeneになっているが、最近我々は、これに構造上類似しているが、これまで機能が未知であったヒトcaspase-4がヒト細胞中でcaspase-12の機能を担っていることを発見した (J. Cell Biol. 2004, 165:347)。一般に、Caspase Cascadeの最上流に位置するInitiator caspaseは、これに結合するアダプター分子の会合を介して活性化される。最近我々は、小胞体膜に局在するレティキュロンファミリーに属するRTN-x<sub>S</sub> (別名 Nogo-B) が小胞体ストレス誘導性アポトーシスに関与していることを見出した。RTN-x<sub>S</sub>は、マウスcaspase-12やヒトcaspase-4に結合する。また小胞体ストレスにより特異的にRTN-x<sub>S</sub>の2量体化が促進される。さらに、RTN-x<sub>S</sub>を細胞内で強制的に2量体化すると、2量体化依存的にアポトーシスが誘導された。これらの知見は、RTN-x<sub>S</sub>が小胞体膜上で、多量体化を介して上流のシグナルをカススペースの活性化に転換する「アダプター分子」として機能していることを強く示唆している。

現在、上記の解析に加えて、小胞体ストレス誘導性アポトーシスに促進的に働く新規因子の遺伝学的な探索も試みている。これに関してもあわせて議論したい。

#### 氏名と所属の正式名称

恵口 豊

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2

大阪大学大学院医学系研究科 未来医療開発専攻 ポストゲノム疾患解析学講座 細胞死制御, SORST, JST

Yutaka Eguchi

Lab. of Molecular Genetics, Osaka University Graduate School of Medicine, and SORST of JST

2-2 Yamadaoka, Suita Osaka, 565-0871, JAPAN

## F9 Herp 欠損細胞を用いた、小胞体ストレス由来細胞死制御の試み

(Prevention of the ER stress-induced cell death in F9 Herp knockout cells)

堀 修

金沢大学・院・医・神経分子標的学（解剖学第3） 助教授

Herp is a membrane bound, ubiquitin-like protein that is located in the endoplasmic reticulum (ER). Although Herp is strongly induced by endoplasmic reticulum (ER) stress, it decays rapidly consequent to proteasome-mediated degradation. We recently reported that targeting disruption of the Herp gene caused F9 embryonic carcinoma cells vulnerable to ER stress, and the ER stress-induced death in F9 Herp null cells was associated with the aberrant ER stress signaling, structural changes in the ER and caspase activation (Genes Cells 2004, 9, 457-469). Using these cell lines, we developed a screening system to find molecules that protect cultured cells from the ER stress-induced cell death. As a pilot study, we have tested approximately 10 well-known reagents, and we will present the results in this meeting. Because the crucial roles of the ER stress response/ER stress-induced cell death have been reported in many pathological conditions including diabetes, arteriosclerosis, ischemia, and neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease, Huntington's disease, and Alzheimer's disease, we speculate that our system could provide novel therapeutic targets to the ER stress-related diseases.

細胞内に存在する小器官のうち、呼吸を司るミトコンドリアは酸化ストレスの産生・制御と深く関わり、その機能障害は、直接、細胞死に結びつくことが、以前より良く知られている。ところが、最近になって、分泌系蛋白の生合成等に必要の小胞体に障害が起こった場合も、unfold な蛋白が小胞体に蓄積してしまい（小胞体ストレス）、やはり細胞死を引き起こすことが明らかになってきた（小胞体ストレス由来細胞死）。そして、いわゆる“生活習慣病”を含む多くの疾患で、小胞体ストレス・小胞体ストレス由来細胞死というものが深く関わっている事が報告されてきている。Herp は、小胞体に存在する膜蛋白で、その N 末端にユビキチン様ドメインというものを持っており、小胞体ストレスにより、その発現が非常に強く誘導される。Herp の機能については、小胞体での蛋白分解に関与しているという可能性が示唆されているが、未だ不明な点が多い。我々は、これまでに、Herp 遺伝子を欠損した F9 細胞を作製し、Herp 欠損 F9 細胞が、小胞体ストレスに対して極めて弱くなることを報告した(Genes Cells 2004, 9, 457-469)。Herp 欠損 F9 細胞における小胞体ストレス由来細胞死は、小胞体ストレス関連シグナルの増大、小胞体の形態学的変化、カススペースの活性化を伴い、最終的にアポトーシスの形態を取っていた。

今回、我々は、この Herp 欠損 F9 細胞を用いて、小胞体ストレスから細胞を守るような化合物を発見するような測定系を作製した。この測定系の特徴として、①Herp 欠損 F9 細胞と言う、ク

ローン化された均一な細胞集団を用いているため、結果判定が容易であり、再現性が得られやすいこと、②Herp 欠損 F9 細胞は、通常の培養条件下で安定した増殖を示し、大量の化合物スクリーニングに適していること、③さらに、Herp 欠損 F9 細胞は、取り扱いが比較的簡便であること、等があげられる。基本的な戦略として、この Herp 欠損 F9 細胞を用いた一次スクリーニングと、より実際の疾患に近いモデルでテストする 2 次スクリーニングを考えている。これまで、既知の化合物約 10 種類について、その細胞死抑制効果を測定しており、結果を紹介する。

## サテライトセミナー

### 免疫担当細胞調節とプロポリス ープロポリスのミクロ化と生理活性ー

山口 宣夫

金沢医科大学 大学院代替基礎医学講座

The purpose of this study is to establish and apply a reliable method for CAM which is useful for evaluating the activity of CAM substances, PROPORIS. We evaluate the effect of this api substances as the same component of tuberculosis bacilli that consist wax substances, for anti-infectious immunity by phagocyte, CD positive cells for the background status of immune competent cells, by measuring the CD positive cell and cytokine containing cell count as a marker of T cells, B cells, macrophages and NK cells. Moreover, murine peritoneal exudate cells suspension were obtained after one week via oral administration of propolis. The amount of generated super oxide anion was calculated through measuring the optical density change of this supernatant using cytochrome-c which was reduced by generated super oxidative anion. I discuss the possibility of propolis through immunocompetent cell in number and function, including the effect of this substances for diabetes mellitus.

先進諸国では細菌感染症は抗菌薬の開発などによって過去の感染症となったものもある。結核症はその代表的感染症のひとつであろう。しかし、結核菌は教科書や実験室の中では今なお、宿主の細胞性免疫を強く賦活する代表の座を保ったままである。その理由として、結核菌の細胞壁が他の細菌に比べて特殊なためであろう。結核菌は細胞壁に蠟成分を含有しているので、「結核菌汚染物は火炎で処理すると殺菌できるどころか、返って周辺に菌体を飛散させる」と言い伝えられたのは懐かしい記憶である。プロポリスも組成中に蠟成分を有しているので、免疫賦活作用が充分期待される。我々は、このような期待の元にプロポリスの諸製剤を用いて、免疫担当細胞への影響をマウス並びにヒトにおいて検討した。また、プロポリスの蠟成分は水に難溶のため、エタノール抽出製剤が市場の主流を成している。しかし、私どもは資源の有効利用を意図してミクロ化を試み、プロポリスの全成分を余すところ無く利用する製剤を調製し、エタノール抽出製剤と比較した。今回報告する項目は以下の三項目である。

- 1) 免疫担当細胞に対する量的・質的作用
- 2) 生体由来細胞の抗酸化への影響
- 3) 実験的糖尿病動物の血糖値に及ぼす影響

### 免疫担当細胞に対する量的・質的作用

18-60歳の男女ボランティアを含むのべ10名について被検薬投与開始前日、投与開始後3日、8日、10日、末梢より5mlの静脈血をヘパリン存在下で採取した。

CD陽性細胞はCD2, CD4, CD8, CD11, CD14, CD16, CD19, CD56抗体液を4℃で30分間反応させた後、PBSで洗浄した細胞をFACSscanで解析した。

サイトカイン保持細胞はIL-4, IFN- $\gamma$ 及びIL-1 $\beta$ 保持細胞を調べ、体液性免疫、細胞性免疫ならびに食細胞の機能発現の程度を測定した。

プロポリスが免疫担当CD陽性細胞の検出におよぼす影響

ボランティアにプロポリスを8日間連続投与した後、CD陽性細胞数の変化を投与前のそれと比較した。B細胞（CD19陽性細胞）に関しては変化は少なかったが、T細胞（CD2陽性細胞）は増加した。また、ヘルパー・インデューサーT細胞（CD4陽性細胞）も、サプレッサー・インデューサーT細胞（CD8陽性細胞）も8日目で増加した。

食細胞（CD11b）を中心とした細胞系は量的には増加の傾向はあるが、後述するサイトカイン保持細胞増加が顕著であった。

CD56陽性細胞はプロポリス投与により顕著な増加を示した。

プロポリスがサイトカイン保持細胞レベルに及ぼす作用をしらべると、IFN- $\gamma$ 保持細胞は急激に増加を示したのに対してIL-1 $\beta$ は8日目になって増加を示し、反応様式の異なりを示した。一方、IL-4の増加は認められなかった。

### 生体由来細胞の抗酸化への影響

このように食細胞系の強い活性化が示唆され、細胞性免疫の賦活と符号するわけであるが、スーパーオキシド（SO）のレベルにも影響を及ぼしうる点を考慮する必要がある。そこで、腹腔より食細胞を取り出して、SODデヒドロゲナーゼ（SOD）を指標に抗酸化能を測定した。その結果、エタノール製剤、ミクロ化製剤共に無投与群に比べて、顕著な変動は認められなかった。

### 実験的糖尿病動物の血糖値に及ぼす影響

次に、ストレプトゾトシン(STZ)で実験的糖尿病を誘発されたマウスにプロポリス諸製剤を10日間継続投与して、糖負荷試験を実施した。その結果、プロポリス投与群は無投与群に比べ血糖値は正常化される傾向を示した。この傾向はエタノール抽出並びにミクロ化群共に同程度であった。

今回は従来のマウス実験系で得られた基礎的知見を基に、ヒトにも経口投与可能なプロポリス製剤で比較した。ミクロ化製剤は資源の有効利用を図るのみならず、消化管を経由して、生体の免疫系を活性化することが期待されるからである。その理論的根拠として、中等度分子量物質の消化管壁移行は補体の副経路を活性化することが示されている。

プロポリスが食細胞内で処理される段階で多量のサイトカイン保持細胞が誘導され、その他のリンパ球を活性化し、免疫担当細胞賦活に繋げるものと考えられる。

最後に、プロポリス原料は種々加工を施され市販されているが、安全且つ適切な普及を考えたい。そのためには肝炎ウイルスなどの混入に対して除去的な対策をとる必要があり、この点についても言及したい。



# プロポリスの抗酸化作用について

## Antioxidative effect of propolis

○今井 一<sup>1)</sup>, 恵良 聖一<sup>1)</sup>, 林 知也<sup>1)</sup>, 沖原 清司<sup>2)</sup>, 中妻 章<sup>2)</sup>, 山田 英生<sup>2)</sup>

1) 岐阜大学, 2) (株) 山田養蜂場

Human serum albumin (HSA) is a mixture of human mercapt- (HMA, reduced form) and nonmercaptalbumin (HNA, oxidized form) and is known to be one of the major extracellular scavengers for reactive oxygen species. Using a high-performance liquid chromatographic (HPLC) system with ES-502N column, we studied the redox state of HSA for male *kendo* athletes before and after an intense *kendo* training camp. In order to clarify the effect of propolis supplementation on HSA redox state during camp, subjects were divided into two groups (placebo group, n = 5; propolis group, n = 6). For the propolis group, the degree of the decrease in f (HMA) value was significantly small compared with that of the placebo group ( $P<0.05$ ). In addition, the f (HMA) value of the propolis group during training camp was roughly within the range of normal healthy male subjects. These findings suggest that propolis may be an effective supplement to improve the redox state of HSA for *kendo* athletes in repetitive and intense training camp.

### 【はじめに】

血清アルブミン (HSA) 分子には、非常に反応性に富む SH 基が 1 個存在している。この SH 基がいかなる物質とも結合していないときの HSA を、還元型アルブミンまたはメルカプトアルブミン (HMA) と呼び、この SH 基が血中のシスチンやグルタチオンと共有結合したものと、それ以上に酸化されたものを酸化型アルブミンまたはノンメルカプトアルブミン (HNA) と呼んでいる。我々は、HSA を HMA と HNA とに分離・分析することのできる HPLC システムを用いて、剣道部男子大学生を対象として剣道強化合宿前後における HSA の酸化・還元状態について分析した。今回は抗酸化食品であるプロポリスの摂取がそれに及ぼす影響について二重盲検法を実施し検討を行った。

### 【材料と方法】

被験者：G 大学剣道部員男子 11 名 (年齢,  $20.1 \pm 1.2$  歳 ; 剣道経験年数,  $12.4 \pm 2.0$  年)

プラセボ剤を摂取する群 (A 群 : n=5), プロポリスを摂取する群 (B 群 : n=6)

(事前に十分な測定の説明を行い、採血を含めた測定実施に関する同意が得られたボランティアのみを被験者とした)

練習回数等：初日は午後に 2 時間、2 日目～4 日目は午前 2 時間、午後 3 時間、合計 7 回の練習を実施した。

練習中の気温及び湿度：19.1 ± 1.0 °C，49.6 ± 5.4%

プロポリス剤，プラセボ剤：プロポリス剤（Y 社製，ブラジル産プロポリスエキス 52.5mg/錠），  
プラセボ剤（プロポリスエキス部分のみをナタネ油に置換）

摂取量：15 錠/日 （分三，食直後）

#### 【まとめ】

合宿期間中，1 日の練習前後の還元型アルブミンの割合の平均値[f(HMA)値]はプラセボ剤を摂取する群(A 群)，プロポリスを摂取する群(B 群)ともに練習後有意( $P<0.05$ )に減少したが，B 群の方がその減少が緩和され，合宿 3 日目，4 日目では A 群と比較し有意に( $P<0.05$ )高値を示した。さらに B 群の合宿中の変化はほぼ従来報告されている健康成人男子 f(HMA)値の正常範囲であった。

以上のことから，スポーツ合宿等の激しいトレーニングにより繰り返し加わる酸化ストレスに対して，プロポリスを摂取することによりそれを緩和することが示唆された。

# 水溶性プロポリス画分の抗腫瘍効果と水迷路学習能

Anti-tumor effect and water maze learning of water soluble propolis fraction

鈴木 郁功

鈴鹿医療科学大学・保健衛生学部・医療栄養学科

Water-soluble propolis (WSP) was purified, and then the fraction GCL-3 which showed the anti-tumor activities on Sarcoma-180 was purified again through Sephadex G-50. It showed strong anti-tumor activities on Ehrlich. When we collected the ascites of a mouse suffered from cancer, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  were measured at high level. These facts made us consider that high level anti-tumor activities appeared in the direct action against cancer cells and the activation of immunological reaction of host. The fraction GCL-4 was given into a senility accelerate model mouse (SAM) and the water maze learning was examined. GCL-4 was effective in shortening swimming time and we could find the clear improvement on short time learning. WSP was given into a male rat and a lot of acetylcholine appeared in its hippocampus. We considered that it had also the improvement on long time learning.

## 【はじめに】

水溶性プロポリス（WSP）の抗腫瘍作用，免疫賦活作用，水迷路学習能，抗酸化作用，鎮痛・抗炎症作用，抗菌作用などを明らかにしてきた。今回は，水抽出プロポリスを分画精製して得られた抗腫瘍画分と免疫賦活作用の関係を調べるとともに，その物質の抗腫瘍効果について検討した。また，分画精製した記憶学習能画分の老化促進モデルマウス（SAM）に対する効果も検討した。

## 【方法】

WSP を Cellulofine GCL-2000m カラムを用いて分画精製し，Sarcoma-180 に対する抗腫瘍効果が認められた画分 GCL-3 を Sephadex G-50 カラムで更に分画精製した。得られた抗腫瘍画分で Ehrlich に対する抗腫瘍効果を検討した。また，担癌マウスの腹水を採取し，ELISA を用いてサイトカインを調べた。

画分 GCL-4 を SAM に投与し，水迷路を使った記憶学習能について調べた。学習能を調べるに当たり，静かに水に入れる等なるべくストレスを与えないように実験をした。反対に，水に投げ入れパニックを起こさせた場合の記憶学習能も同時に調べた。

雄性ラットに WSP を投与し，脳・海馬のアセチルコリンの発現を，アセチルコリントランスフェラーゼを免疫組織化学により染色して調べた。

### 【結果と考察】

WSP の画分 GCL-3 は強い抗腫瘍作用を示した。また、腹水の IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  が高い値を示した。このことから T 細胞の増殖促進とマクロファージや NK 細胞の有する本来の諸機能を亢進させ、腫瘍細胞の傷害作用や増殖抑制作用を誘導し、癌細胞への直接作用並びに宿主介在した免疫反応の活性化により高い抗腫瘍作用が発現されたと考える。

GCL-4 には遊泳時間の短縮に効果があり、高い短期学習効果が見られた。海馬にアセチルコリンが多く発現していることから長期学習効果もあると思われる。また、水に投げ入れた時も遊泳時間に大きな変動は見られず、パニックを起こさずに冷静に判断が出来、遊泳時間の短縮が見られたと思われる。

## ランチオンセミナー(1)

### 栄養補助食品の新素材 ―マツタケ菌糸体について

松永 謙一

呉羽化学工業株式会社 生物医学研究所副所長

A novel supplement derived from the cultured mycelia of a basidiomycete *Tricholoma matsutake* (M6271)

M6271 is a novel biological response modifier obtained by culturing the mycelia of a basidiomycete *Tricholoma matsutake* in the tank, followed by drying. Oral administration of M6271 suppresses the precancerous lesions in the colon of rats treated with chemical carcinogen AOM, modulates Th1 response in colon cancer-transplanted mice, enhances the recovery of NK cell activity and prevents the decrease of activity in restraint-stressed mice, enhances the resistance against intraabdominal infection in CLP-treated mice, inhibits the increase in serum IgE level of mice treated with antibiotics at 3 wks after birth, and improves symptoms in SHR, neonatally STZ-treated rats, or rats fed with high cholesterol diets. The main active component is suggested to be a glycoprotein with approximately MW 60,000, composed of  $\alpha$ -1,4 and  $\alpha$ -1, 2 glucan. The results suggest that M6271 exerts a variety of biological activities through the enhancement of immunologic responsiveness.

【目的】 「医食同源」の素材であるキノコの薬理作用に着目し、様々なグレードの健康食品が開発・上市される一方、科学的根拠に基づいた新規素材が期待されている。我々は、食用キノコ子実体や担子菌株ライブラリーをスクリーニングして京都府採取の子実体から分離したマツタケ *Tricholoma matsutake* の1菌株CM6271株が経口投与により著明な免疫促進活性を有することを見出し、タンク培養による量産システムを構築、均質菌糸体の乾燥品（以下、M6271と称す）の安定供給を可能にした。以下、M6271のBRMとしての特性を報告する。

【マツタケ菌糸体の性質】 M6271は僅かにキノコ臭のする白色ないし淡黄色粉末で、主成分・含量は子実体乾燥品と大差ない。本品経口投与による動物安全性試験では異常所見を全く認めず、復帰突然変異試験および薬物代謝酵素誘導活性試験は陰性であった。放射同位元素標識 M6271を調製し、ラットに経口投与したところ、体内吸収は速く、放射能はほぼ全身に分布するが、大部分は短期間に排泄され、特定臓器への蓄積性は殆どないことを確認した。

そこで、各種モデル動物を用いて M6271 経口投与による生物活性を検討し、下記の知見を得た；①発がん物質 AOM 誘発ラット大腸前がん病変の生成抑制、②大腸がん細胞を盲腸に移植したマウスにおける Th1 応答の増強と生存期間延長、③拘束ストレス負荷マウスにおける NK 細胞活性の回復促進と低下防止、④盲腸結紮・穿刺マウスにおける内因性感染症の予防、⑤抗生物質処置マウスにおける血清 IgE レベルの上昇抑制、および⑥SHR における血圧上昇抑制、新生児期 STZ

処置マウスにおける血糖上昇防止，および高脂肪食飼料摂取ラットにおける血中コレステロール増加防止。

**【活性成分の追求】** M6271 は  $\beta$ -グルカン（および蛋白質複合体）や低分子生理活性物質に加えて， $\alpha$ -グルカン・蛋白質複合体（以下，MPG）を含む。MPG は分子量約 6 万， $\alpha$ -1，2 および  $\alpha$ -1，4 結合グルカンと蛋白質から成り，前述の NK 細胞活性促進に加えて，担がん動物の腫瘍増殖を抑制し，生存期間を延長することを見出した。

**【総括】** マツタケ菌糸体由来 M6271 は，主として免疫促進作用を介して多彩な生物活性を示すことが明らかにされつつある。今後共，Endorsement Based Supplement（EBS）を目指し，科学的根拠を蓄積する予定である。

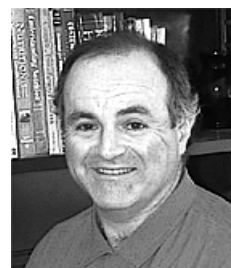
## ランチョンセミナー(2)

### 「AHCC の基礎と臨床」

#### 1 . Challenges and Opportunities for Complementary and Alternative Medicine

**Robert M. Hackman, Ph.D.**

Department of Nutrition, University of California, Davis



Complementary and alternative medicine (CAM) combines ancient wisdom with modern science, offering doctors and patients new options in the treatment and prevention of disease. Modern medicine and sophisticated consumers demand evidence of safety and efficacy for therapies designed to treat or prevent disease, and “traditional use” is generally not a sufficient reason to incorporate CAM therapies into a personal plan. Thus, well-designed research studies are essential to move promising CAM therapies from the testimonial stage toward more serious consideration by physicians and consumers.

Cancer is a leading cause of death and illness in Japan, the United States, and most other countries. While CAM practices for cancer are widespread, little research exists on most therapies, and some may even be unsafe. One promising new CAM therapy for prostate cancer may be Genistein Combined Polysaccharide (GCP), an isoflavone and mushroom mycelia mixture that is rich in small molecular weight, aglycone compounds such as genistein. Previous studies from our laboratory have shown GCP to kill prostate cancer cells and tumors in cell culture and animal models. A recently completed clinical trial also produced some exciting results. Eight of thirteen men with elevated PSA (a blood marker of prostate cancer) that chose active surveillance but no other medical intervention showed declines in PSA levels after six months of GCP intake. In contrast, men with elevated PSA who previously had surgery, radiation or hormone treatment showed continuing elevation of PSA levels. Currently, a double blind clinical trial of GCP among men choosing Active Surveillance is being conducted.

A wise and patient strategy is the most likely way to popularize new CAM therapies.

## 補完代替医療の挑戦とチャンス

ロバート M. ハックマン, Ph.D.

カリフォルニア大学デービス校 栄養学部

補完代替医療(CAM)とは古代の知恵と近代の科学の結合であり、治療および未病のための新たな選択肢を医師と患者にもたらすものである。近代医療と高い教養を身につけた消費者たちは、治療と未病の両方において、そこに用いられる医療の安全性、効果のエビデンスを要求するようになっており、各個人の治療計画に CAM を取り入れるに当たっては、それが「伝統的に用いられてきた」という理由ではもはや通用しない。従って、有望な可能性をもった CAM がモニター試験レベルを脱し、実際の医療現場や消費者において真剣に受け止められるには、整った研究データが不可欠である。

がんは日本、アメリカ、その他多数の国において死亡原因のトップに挙げられる。がん治療における CAM への取り組みが広まる一方で、多くの CAM についてはほとんど研究が確立されておらず、中には偽りのものさえある。このような中、前立腺がんにおける一つの確信的な CAM 療法を挙げるとすれば Genistein Combined Polysaccharide (GCP)であろう。GCP はイソフラボンと担子菌菌糸体の混合培養物で、分子量が小さいゲニステインなどのアグリコンを高含有している。これまでに我々の研究室で行った培養細胞およびモデル動物を用いた実験から、GCP は前立腺がん細胞を死滅させ腫瘍を縮小することが明らかになっている。また、最近行った臨床試験においても、非常に期待の高まる結果が出た。その臨床試験では、前立腺がん PSA（前立腺がんの血液指標）が上昇している男性 13 名のうち、他の治療を一切受けずに経過観察のみとするアクティブサーベイランスを選択した 8 名では、6 ヶ月間の GCP 摂取により PSA の値が下がった。他方、同じく PSA が上昇している男性のうち、過去に手術、放射線治療、ホルモン治療などを受けていた人については、引き続き PSA が上昇した。現在は、アクティブサーベイランスを選択した方を対象に、ダブルブラインドでの GCP 治験を行っている。

知恵を持って辛抱強く、というスタンスが CAM を普及する上で最も可能性のある方法である。

### ◆Dr. Robert M. Hackman 略歴

Research Professor, Department of Nutrition, University of California, Davis. He is engaged in research and development of nutrition products as well as consultation in sports nutrition for Olympic and professional athletic teams. Also, he is a member of the University of California, Davis Cancer Center, a US National Cancer Institute(NCI) designated center of excellence.

カリフォルニア大学デービス校栄養学部研究教授。ニュートリション製品の研究開発や、オリンピックチーム、プロスポーツチームのスポーツニュートリションのコンサルティングにも携



わっている。また、カリフォルニア大学デービス校がんセンターのメンバーでもある。なお、カリフォルニア大学デービス校がんセンターは、アメリカ国立がんセンター(NCI)の優秀指定施設。

2001-	Research Professor, Department of Nutrition, University of California, Davis
1999-2001	Associate Research Professor, Department of Nutrition, University of California, Davis
1995-1999	Executive Director, Center for Complementary and Alternative Medicine Research in Asthma, Allergy and Immunology, University of California, Davis
1993-1999	Associate Professor of Human Development and Performance (Nutrition), Department of Anthropology, University of Oregon
1987-1993	Associate Professor of Nutrition, with tenure, Department of School and Community Health, University of Oregon
1981-1987	Assistant Professor of Nutrition, Department of School and Community Health, University of Oregon
1978-1981	Predoctoral Fellow, Department of Nutrition, University of California, Davis
1981	Nutrition, University of California, Davis - Ph D.
1976-1977	Research Assistant, Department of Biology, Pennsylvania State University
1971-1975	Biological Aide, National Institute of Dental Research, National Institutes of Health
1977	Biology and Nutrition, Pennsylvania State University - M.S.
1975	Natural Sciences, Johns Hopkins University – Bachelor’s Degree

## 2. AHCC - Current trends in Research and the Marketplace



**Fred Pescatore, M.D.**

Partners in Integrative Medicine, New York

AHCC is gaining a strong foothold in the United States both with consumers and health care professionals. Amino Up continues to sponsor and support research protocols which will be briefly discussed. New and innovative products such as the Immuno Support product, which combines AHCC with other known immune enhancement nutritionals was a huge success with the consumer. Other potential innovations and product placements will be discussed.

AHCC is being used for the enhancement of the immune system and thus is used in such varied treatment protocols as cancer as both treatment and in conjunction with traditional forms of cancer therapy such as chemotherapy and radiation therapy to prevent side effects; HIV disease; Hepatitis C; and more every day concerns such as cold and flu prevention, basic immune support, and autoimmune diseases due to its immunomodulating effect.

With sales increasing each year, AHCC is increasingly becoming part of the arsenal of most complementary medical practitioners in the United States. Consumer awareness is increasing each year as well; partly due in fact to great word of mouth, increased acceptance of nutritional supplements in the treatment of disease processes, and the overwhelming scientific background of the product and the company that produces it.

### **AHCC－最近の研究と市場動向**

フレッド ペスカトーレ, M.D.

ニューヨーク・Partners in Integrative Medicine

AHCC はアメリカにおいて、消費者およびヘルスケア専門家の双方からの力強い支持を確立しつつある。AHCC の製造者である(株)アミノアップ化学は、製品の研究プロトコルの支援を継続的に行っており、AHCC とその他の免疫向上機能性食品を組み合わせた免疫補助製品など、新しくイノベティブな商品は消費者に広く受け入れられている。この他に考えられるイノベーションや製品開発の可能性について議論する。

AHCC は免疫システムを増強することが期待され、様々ながん治療プロトコルに取り入れられ

ている。がん治療そのものを目的とした使用のほか、化学療法や放射線治療といった習慣的治療方法と併用して AHCC を用いることにより、副作用の軽減を目的とした使用もされている。その他、AHCC の免疫調整作用は、HIV、C 型肝炎、日常の風邪・インフルエンザ予防、基礎免疫のサポート、自己免疫疾患などにおける有効性が期待される。

AHCC の販売量は年々増加しており、今やアメリカで補完医療に従事するドクターにとっては手持ち札の一枚となっている。消費者の AHCC 認知もまた年々拡大している。この背景には、口伝えによる評判の広まりも相俟って、病気の治療に機能性食品を取り入れることへの認知が広がっていることや、製品および製造者が持つ圧倒的な科学的バックグラウンドによって底支えされていることなどが挙げられる。

#### ◆Dr. Fred Pescatore 略歴

Medical Doctor. Currently the Medical Director of Partners in Integrative Medicine and the former Associate Medical Director of the now closed Atkins Center for Complementary Medicine. Besides treating patients, he is the best selling author of *The Hamptons Diet*, the number 2 diet book in the United States and England. He is a consultant many nutritional supplement companies, lectures around the world and is a frequent expert from the television, radio and print media throughout the United States and the world.

医師。Atkins Center for Complementary Medicine にてアソシエイトメディカルディレクターとして勤務した後、現職の Partners in Integrative and Complementary Medicine メディカルディレクターとなる。医師として患者の診察に従事する傍ら、アメリカ、イギリスで第 2 位のベストセラーとなったダイエット書、『The Hamptons Diet』を執筆。また、多数のニュートリションサプリメント会社のコンサルティングも行っている。講演活動、テレビやラジオへの出演、寄稿など全米および世界各国で活躍。

1999-	Medical Director, Partners in Integrative Medicine
1994-1999	Associate Medical Director, The Atkins Center for Complementary Medicine
1992-1994	St. Vincent's Hospital of New York – Nuclear Medicine
1991-1992	Mt. Sinai Medical Center – Psychiatry
1990-1991	St. Luke's/Roosevelt Hospital Center – Internal Medicine
1986-1989	Columbia University School of Public Health – Master's Degree
1983-1986	American University of the Caribbean School of Medicine – M.D.
1979-1983	Villanova University; Bachelor of Science - Biology

### 3. 癌患者における AHCC の使用経験

上山 泰男

関西医科大学 外科 教授



Active Hexose Correlated Compound (AHCC) は、担子菌培養抽出物である。担子菌類由来の物質には、医薬品としてレンチナン、クレスチンがある。いわゆる、健康食品として、アガリクス・ブラゼイ、マイタケ、などが利用されている。AHCC の糖質は約 9 % で  $\beta$ -グルカン を 0.2 % 含有している。特徴的なことはアセチル化  $\alpha$ -1, 4 グルカン を含有していることである。

私共は、昨年 12 月までに 829 例の癌患者において AHCC, 3.0 (～6.0) g/日, 3 分, 食前摂取していただいている。癌の内訳は、肝細胞癌 219 例, 膵癌 114 例, 大腸・直腸癌 84 例, 胃癌 71 例, 乳癌 64 例, 肺癌 47 例, 胆嚢癌 39 例等である。

肝細胞癌 (肉眼的治療切除) の症例で cohort study を行った。AHCC 群 (n=113) とコントロール群 (n=109) で、術前臨床データ, 腫瘍因子, 肝切除量, 輸血量, 等には差は認められなかった。しかし, AHCC 群においては無再発生存率, 術後生存率が有意に高かった。また, 術後 5 年間の臨床データを両群で較べると, AHCC 群では GOT,  $\gamma$ -GPT の上昇が有意に抑えられており, コリンエステラーゼ値が有意に上昇していた。AHCC を摂取していた病期 IV の乳癌症例 (n=19) の survival rate は 9 年で約 60 % (全国集計約 20 %) であった。大腸癌症例で 5 年生存率をみると, 化学療法に AHCC 摂取を加えることにより, 一般他施設より予後の良い傾向が認められた。今後, AHCC の癌治療における有用性のさらなる検討が必要と思われる。

進行癌, 切除不能癌, 再発癌症例で, 西洋医学による予後を改善する具体的な治療手段がない場合, 臨床医はこれらの患者が自分にあった民間療法を探し出す過程に積極的に参加し, 専門家として指導, 援助を行うべきである。

#### 参考文献

##### 1. AHCC の基礎と臨床

監修, 細川眞澄男

編集, 山崎正利, 上山泰男

(株) ライフ・サイエンス 東京, 2003

##### 2. Matsui Y, et al:

Improved prognosis of postoperative hepatocellular carcinoma patients treated with

Functional foods. J.Hepatol. 37:78-86,2002

◆上山泰男先生 略歴

医師。関西医科大学外科教授。外科医として患者の治療に携る傍ら、機能性食品の可能性を臨床医の視点から検証している。京都大学(肝臓外科), University of Pittsburgh(肝移植チーム), University of Maryland at Baltimore(ショック・トラウマ研究)などを経て、1992年より現在の西医科大学外科に勤務。

1966	京都大学医学部医学科卒業
1968	新宮市立市民病院外科医員
1969-1972	財団法人倉敷中央病院外科医員
1972	京都大学医学部第一外科小澤研究室にて研究を開始
1977-1979	アメリカ・メリーランド大学救急医療施設アカデミックスタッフ
1979-1982	京都大学第一外科助手
1982-1986	京都大学医学部第一外科講師
1986	アメリカ・ピッツバーグ大学肝器移植外科
1987-1990	医療法人洛和会音羽病院 副院長
1988	アメリカ・ピッツバーグ大学ヒト肝移植に関するピッツバーグ大学との共同研究
1990-1991	京都市立病院 副院長
1991	京都大学医学博士
1992	関西医科大学外科 教授 現在に至る

# データマネジメントセミナー(1)

## 海藻由来フコイダンによる生活習慣病の予防および改善

Prevention and improvement of lifestyle-related illness by seaweed-derived fucoidan.

白 畑 實 隆

九州大学大学院農学研究院遺伝子資源工学部門教授

Fucoidan is a generic name of sticky sulfated polysaccharides derived from edible brown algae such as *konbu*, *wakame*, *mozuku*, and *hijiki*. Fucoidan is mainly composed of sulfated fucose but it also contains galactose, mannose, xylose, uronic acid etc. Fucoidan exhibits a variety of physiological functions such as antioxidative effect, enhancing effect of the immune system, anti-tumor effect, anti-virus effect, anti-diabetes effect, anti-arteriosclerosis effect, anti-allergy effect, and anti-blood coagulation effect. Recently, fucoidan of low molecular weight degraded by glycosidase has been noted on clinical application because of its potent suppressive effect on lifestyle-related illness. Recent fucoidan researches will be introduced from basic and applied aspects.

フコイダンは褐藻類（コンブ、ワカメ、モズク、ヒジキなど）が分泌する粘質性の硫酸化多糖類の総称であり、その主成分は硫酸化フコースである。フコース以外に、ガラクトース、マンノース、キシロース、ウロン酸などを含む。フコイダンの構造およびレオロジーに関する研究は古くから行われているが、近年ではフコイダンの生理活性に関する研究が盛んに行われるようになってきた。とりわけ、抗ガン性機能性食品の一つとしてガンの補完代替医療においてフコイダンが注目されている。これまで知られているフコイダンの生理活性は、抗酸化作用、免疫増強作用、抗腫瘍効果、抗ウイルス作用、胃潰瘍防止作用、抗糖尿病作用、抗動脈硬化症作用、抗アレルギー作用、抗血液凝固作用、肝障害軽減作用など極めて多彩である。

抗腫瘍効果：多くの抗ガン剤がガン細胞だけでなく正常細胞にも強い毒性を示すために重篤な副作用を示すのに対して、フコイダンは培養正常細胞には毒性を示さず、ガン細胞に特異的にアポトーシスを誘導することが知られている。HTLV-1 感染細胞に特異的にアポトーシスを誘導することも報告されている。薬効キノコのアガリクスはそうしたアポトーシス誘導作用を全く示さない。また、マクロファージを活性化して、インターロイキン-12 の発現を誘導し、インターフェロン- $\gamma$  の誘導や NK 細胞の活性化などを介して腫瘍免疫を活性化する。フコイダンはマクロファージの Toll-like receptor-4 に結合し、細胞内シグナル伝達経路を活性化して作用を発揮することが推定された。また、フコイダンは腫瘍細胞からの VEGF の分泌を抑制し、ガン細胞による血管新生を抑制した。フコースの硫酸化の程度と血管新生抑制効果が正の相関を示すことも報告されている。ガン細胞は MMP-2 や MMP-9 などの金属プロテアーゼを細胞外に分泌し、コラーゲンのような細胞外基質タンパク質を分解して転移・浸潤していく。フコイダンはガン細胞の MMP-2 および MMP-9 の遺伝子発現、活性化を抑制し、ガン細胞の転移・浸潤を抑制した。マウスを用

いた試験では経口投与されたフコイダンは *in vivo* で移植ガンの増殖を有意に抑制した。ピロリ菌は胃の中で炎症を起こし、胃ガンの原因となることが知られている。ピロリ菌はフコイダンの硫酸基に強く結合する傾向があるため、フコイダンはピロリ菌除去作用を示す。

抗糖尿病作用：フコイダンとグルコースをマウスに投与すると、グルコースの吸収が阻害されるために血糖値の上昇を抑制されることが報告されている。筋肉細胞のブドウ糖取り込みを促進する作用も示した。フコイダンは糖尿病モデルマウスの血糖値上昇を強く抑制することが報告されている。

抗アレルギー作用：アトピーモデルマウスに対して、フコイダンが発症を抑制することが報告されている。フコイダンはヒト好塩基球細胞からのヒスタミン放出を強く抑制した。

このほか、フコイダンは、コレステロールや中性脂肪の低減、血液凝固の抑制（血栓防止）、血圧上昇の抑制などの作用により、血流を改善して動脈硬化を防ぐと期待されている。また、高脂肪食誘発肥満マウスを用いた実験により、高脂肪食により誘発される肥満、脂肪肝に対して抑制効果を示すことが示唆されている。

フコイダンは分子量 10 万～50 万の高分子多糖であり、腸管から吸収されるとは考えにくく、腸管免疫を活性化することにより、あるいは腸内細菌叢を改善することにより、様々な機能を発揮していると考えられている。これに対して、吸収性を高めるためにグリコシダーゼにより低分子化したフコイダンも市販されている。筆者らが推進しているフコイダン研究プロジェクトでは高分子フコイダンと低分子フコイダンの作用機序を明らかにする基礎研究を推進するとともに、フコイダンを実際に臨床で使用している医師や薬剤師の方々と定期的にフコイダン症例検討会を開催し、フコイダンの臨床効果について詳細に検討を行っている。本講演ではそうした臨床例についても紹介する。

生活習慣病においては多数の病因が重なって発症している場合が多く、一つの病因に対して一つの医薬で対処するという近代医療の考えでは処置しにくい病気が多い。その点、多彩な機能を持つ機能性食品は、全身状態を改善し、患者自身の治癒能力を高めるための有用な治療補助剤となる可能性があると思われる。フコイダンを補完代替医療に利用する際の問題点の一つは高価であるために、患者にかなりの経済的負担がかかることである。筆者らは活性酸素消去能を持つ還元水がフコイダンと同様な多彩な生理機能を持つことを明らかにし、生体内に速やかに吸収されて循環する還元水を日常的な健康維持および安価な治療補助剤として利用することを提唱してきた。普段の健康維持、疾病予防および治療後の再発防止等に機能性食品と還元水を効果的に利用することにより、長期的な健康管理が可能になることが期待される。

## データマネジメントセミナー(2)

抗腫瘍モノクローナル抗体の機能を増加させる“**Pro-Drug**”としてのベータグルカンの機能と、それによる血液循環好中球を介した新規の腫瘍消去メカニズム

Beta-Glucan Functions as a “Pro-Drug” to Augment the Function of Anti-Tumor Monoclonal Antibodies (mAbs), Providing a Novel Mechanism for Killing Tumors via Circulating Blood Neutrophils

Brian K. Brandley, Gordon D. Ross, Jun Yan, Richard D. Hansen, and Daniel J. Allendorf

ブライアン K.ブランドリー, ゴードン D.ロス, ジュン・ヤン, リチャード D.ハンセン, ダニエル J.アレンドルフ

Tumor Immunobiology Program, James Graham Brown Cancer Center, University of Louisville, Louisville, KY; Pharmaceutical Division, Biopolymer Engineering, Inc., Eagan, MN

レイビル大学 ジェームス・グラハム・ブラウン癌センター 腫瘍免疫プログラム

(ケンタッキー州レイビル), バイオポリマー・エンジニアリング社 (ミネソタ州イーガン)

Beta-glucan has been used as an immune modulator for decades, but its mechanism of action was unclear. Lack of mechanistic understanding has historically led to variable results in beta-glucan studies. Recently our group has determined the route by which oral beta-glucan mediates many of its biological effects (Cancer Res 2003, 63: 9023 – 9031; J. Immunol. 2004, 173: 797 – 806). Particulate beta-glucan, delivered orally, is taken up by macrophages in the gut, and transported to the bone marrow and spleen. The macrophages gradually digest the glucan into small, active fragments. These fragments are released and interact with Complement Receptor 3 (CR3, also known as Mac-1 or CD11b/CD18) on the surface of neutrophils and monocytes. The bound beta-glucan fragments thus “prime” the margined pool of neutrophils, allowing them to more effectively destroy infectious agents. In addition, these glucan-primed neutrophils will destroy any diseased cell on which complement fragments have been deposited. This activity has allowed the design of novel anti-tumor therapies, which, for the first time, recruit neutrophils via C5a- and LTB<sub>4</sub>- mediated chemotaxis into the battle against cancer. Tumor therapy with humanized mAbs such as Herceptin™, Rituxan™, and Erbitux™ is now accepted clinical practice, but still fails in most patients. Such mAb usually do not kill tumors completely, but may suppress tumor growth for a period of time. It is notable that complement-dependent cytotoxicity (CDC) and leukocyte C3-receptor-dependent cytotoxicity (CRDC), which are potent mAb effector mechanisms against microbial pathogens, are usually less active against cancer. Humanized antitumor IgG1-based mAbs do activate complement and coat tumors with iC3b, the target ligand for the leukocyte iC3b-receptor CR3. However, CRDC requires that CR3 bind simultaneously to both iC3b and yeast cell wall beta-glucan to trigger killing of the yeast. Since tumors do not express beta-glucan, they escape this protective



mechanism used against yeast and fungal infections. Our research showed that soluble yeast beta-glucan bound to a lectin site within CR3 and primed the receptor for triggering cytotoxic degranulation in response to iC3b-coated tumors, thus evoking an important killing mechanism of host defense for anti-tumor immunotherapy.

ベータグルカンは免疫調節剤として長年利用されてきたが、その作用メカニズムは不明であった。作用メカニズムが不明であるが故に、現在までベータグルカンの研究の中で様々な見解が導き出されてきた。最近、我々の研究によって、経口投与されたベータグルカンが生物学的効果を発揮する経路を発見した (*Cancer Research* 2003, 63:9023-9031; *Journal of Immunology* 2004, 173:797-806)。経口摂取した粒子状ベータグルカンは消化管において、マクロファージに取り込まれ、骨髄や脾臓に到達する。そして、マクロファージが徐々にグルカンを活性フラグメントに細分化させる。これらのフラグメントは放出され、好中球や単球の表面上にある CR3 レセプター (Mac-1, CD11b/CD18) に結合する。結合したベータグルカンのフラグメントは好中球の末梢プールを抗原刺激し、病原体をより一層効果的に撃退させる。さらに、グルカンにより抗原刺激を受けた好中球は補体フラグメントが付いた全ての病的細胞を破壊する。この活性により、C5a および LTB<sub>4</sub> を介した好中球走化作用による抗腫瘍作用といった新規の抗腫瘍治療の開発が可能となる。現在、モノクローナル抗体 (mAbs) (例: Herceptin<sup>TM</sup>, Rituxan<sup>TM</sup>, Erbitux<sup>TM</sup>) による腫瘍治療は臨床上認められているが、多くの患者にとっては効果的ではない。そのようなモノクローナル抗体は通常、腫瘍を完全には消去しないが、ある一定期間、腫瘍の成長を抑制するとされている。着目すべき点は、強力なモノクローナル抗体の病原微生物に対する作用メカニズムとされている補体依存性細胞毒性 (CDC) および白血球 C3 受容体依存性細胞毒性 (CRDC) は通常癌に対し効果を発揮しないことである。IgG1 系抗腫瘍モノクローナル抗体は補体を活性化させ、iC3b (白血球 iC3b 受容体である CR3 の対象リガンド) で腫瘍を覆う。しかしながら、受容体依存性細胞毒性 (CRDC) の場合、酵母を消去するためには、CR3 が iC3b および酵母細胞壁ベータグルカンの両方に同時に結合する必要がある。腫瘍はベータグルカンを提示しないため、酵母および真菌感染症に働く保護作用を回避することができる。我々の研究により、可溶性酵母ベータグルカンが CR3 内のレクチン部位に結合、抗原刺激することにより、iC3b に覆われた腫瘍への反応としての細胞毒性脱顆粒を誘発し、抗腫瘍免疫治療にとって重要な宿主防御作用をもった腫瘍消去メカニズムを惹起することが示された。

## データマネジメントセミナー(3)

### 『痴呆はイチョウ葉エキ스로予防できるか』

#### ーイチョウ葉エキス EGb761 の最近の動向ー

世界で唯一医薬品として承認されている、ドイツ・Dr. W.シュワベ製薬の“イチョウ葉エキス EGb761”。

既に 40 年近い実績のあるこの天然素材薬品は特に痴呆症に効果があるとされています。社会の高齢化にともない痴呆症は大きな社会問題になっており、今後もこの傾向は強まることが予想されています。

痴呆症の薬品としてはこれまでいくつかの化学・合成薬品が紹介されてきましたがいずれも副作用などの問題があり、また長期的に有効であるとの結論も出されていません。そこであらためてドイツ・Dr. W.シュワベ社のイチョウ葉エキス薬品・EGb761 に関心が集まっています。既に 400 以上もある有効性や安全性に関する論文やレポートに加え、今なお世界中でイチョウ葉エキスの新しい発見の報告が絶えません。日本でも最近、独立行政法人 国立健康・栄養研究所からイチョウ葉エキスの有効性と安全性に関する包括的な報告がホームページで発表されました。今回ドイツ・Dr. W.シュワベ製薬では、イチョウ葉エキスの痴呆症に対する有効性と安全性をあらためて日本の専門家の方々にご理解いただこうと、『シュワベデータマネジメントセミナーー痴呆はイチョウ葉エキス EGb761 で予防できるか』を開催することといたしました。

Dr. W.シュワベ製薬（ドイツ）薬理研究部長 医学博士 エゴン・コッホが皆様にイチョウ葉エキスの最近の研究レポートも含めた、世界におけるイチョウ葉エキスの現状をご報告します。ぜひご来駕の上、世界の最新情報をお聞きいただきたくご案内いたします。



**Egon Koch**

#### Professional Experience:

1981	Veterinary Surgeon in practices in Germany and the USA
1981 - 1984	Research Assistant, Dept. of Endocrinology and Neuroendocrinology, Institute of Animal Science and Animal Behaviour, FAL, Mariensee, F.R. Germany
1984 - 1986	Postdoctoral Fellow, AFRC Institute of Animal Physiology, Babraham, Cambridge, UK
1986 - 1987	Research Scientist, Institute of Animal Science and Animal Behaviour, FAL, Mariensee, F.R. Germany
1988 - 2002	Group Leader, Laboratory of Inflammation and Immunopharmacology, Dept. of Pharmacology, Dr. Willmar Schwabe GmbH, Karlsruhe, Germany
2003 -	Head, Dept. of Pharmacology, Dr. Willmar Schwabe GmbH, Karlsruhe, Germany

## データマネジメントセミナー(4)

### **Pycnogenol<sup>®</sup>, the Power of the Bark**

**Prof. Dr. P. Rohdewald,**

University of Münster, Germany



The standardized extract from the bark of the French maritime pine offers a wide range of physiological effects which gained clinically relevant benefits.

Fundamentally, Pycnogenol<sup>®</sup>, as a tannic agent, binds very strongly and specifically to proteins, explaining partly its protecting effects on blood vessels and skin. Pycnogenol<sup>®</sup> is used world-wide for cosmetic application.

All constituents of the complex extract are potent free radical scavengers. In addition, Pycnogenol<sup>®</sup> stimulates the production of antioxidative substances inside the cells. The inactivation of free radicals contributes to the anti-inflammatory effects which are observed by an inhibition of a wide range of inflammatory mediators. Because inflammation and oxidative stress are involved in the pathophysiology of many diseases it is not that astonishing that Pycnogenol<sup>®</sup> has been used successfully to normalize body functions under different pathological conditions. Pycnogenol<sup>®</sup> is useful in preventing asthma.

Pycnogenol<sup>®</sup> stimulates the endothelial nitric oxide synthase, thereby enhancing the production of nitric oxide inside the blood vessels. Nitric oxide, as a messenger molecule, improves endothelial function, regulates blood pressure and acts on thrombocytes to prevent thrombus formation. Consequently, it lowers high blood pressure, improves reproductive functions and helps to prevent the "economic class syndrome".

Pycnogenol<sup>®</sup> contains some phenolic acids which have a spasmolytic action on the uterus. The beneficial effects of supplementation with Pycnogenol<sup>®</sup> for treating symptoms of endometriosis and menstrual disorders had been demonstrated in Japan.

Recently, was shown in clinical experiments that Pycnogenol<sup>®</sup> helps patients with diabetes type II to normalize their blood sugar.

Safety and tolerability of Pycnogenol<sup>®</sup> has been investigated intensively, both in toxicological experiments as in clinical practice, Pycnogenol<sup>®</sup> is considered as safe, as it is described by its GRAS-status (GRAS = **G**enerally **R**ecognized **A**s **S**afe) in the USA.

## ピクノジェノール® - 樹皮のパワー -

フランス海岸松の樹皮から抽出した標準化エキス、ピクノジェノール®には、臨床的に有効な様々な生理学的作用があります。

基本作用の一つとして、タンニン剤でもあるピクノジェノール®は、特定タンパク質と強力に結合します。このため血管や皮膚を保護する効果があり、世界各国で、美容素材としても使用されています。

また、ピクノジェノール®は多くの成分を含有する複合物質ですが、その全ての成分に抗酸化作用があります。さらに、ピクノジェノールは細胞内抗酸化酵素の産生も促進します。ピクノジェノール®には、様々な炎症性媒体を阻害することで炎症を抑制する作用（抗炎症作用）もありますが、これは抗酸化作用と相関関係があることが分かっています。多くの疾患病因に炎症と酸化ストレスが関係していることを考えると、ピクノジェノール®が様々な病理状態の改善に効果を発揮していることは驚くことではありません。ピクノジェノール®は、喘息の予防にも有効であることが報告されています。

ピクノジェノール®には、血管内皮一酸化窒素合成酵素の促進により、血管内皮一酸化窒素（NO）の産生を増強する作用もあります。情報伝達分子である一酸化窒素は、血管内皮機能の改善、血圧の調整、血小板へ作用して血栓形成の予防をする働きがあります。ピクノジェノール®は、一酸化窒素の産生を促進することで、高血圧の低下、生殖機能の改善、さらに“エコノミークラス症候群”の予防にも効果的であることが分かっています。

また、ピクノジェノール®に含まれるフェノール酸には、子宮の鎮痛作用があります。日本で行われた臨床試験により、子宮内膜症・月経困難症の治療にピクノジェノール®が有効であることが確認されています。さらに、ピクノジェノール®がⅡ型糖尿病患者の血糖値を正常化することも、最近報告されました。

ピクノジェノール®の認容性と安全性の高さは、広範な毒性試験及び臨床現場で立証されており、米国では GRAS（一般的に安全と認められるもの）認定を取得しています。