

【原 著】

## 血清トリグリセライド高値の成人におけるポリフェノールを豊富に含むハマナス花弁抽出物の血清脂質低減効果

### The Serum Lipid Lowering Effect of Rugosa Rose Petal Extract Rich in Polyphenols in Adults with High Serum Triglyceride

山岸 喬<sup>1,2</sup>, 高野圭司<sup>1,3,\*</sup>, 近藤澄夫<sup>4</sup>  
Takashi YAMAGISHI<sup>1,2</sup>, Keiji TAKANO<sup>1,3,\*</sup>, Sumio KONDO<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 株式会社はるにれバイオ研究所,

<sup>2</sup> 北見工業大学

<sup>3</sup> DRC 株式会社

<sup>4</sup> 医療法人健昌会 福島健康管理センター

#### 【要 旨】

目的：高トリグリセライド血症は、動脈硬化性疾患とくに冠動脈疾患の主要なリスク因子である。ハマナス (*Rosa rugosa*) 花弁抽出物 (RE) にリスク軽減効果があるか否かを検討した。

材料・方法：血清トリグリセライド (TG) が正常高値かまたは軽度上昇 (120~399 mg/dL) を示す男女成人 19 名を対象とするオープンラベル試験を実施した。被験者には、1 日当り RE 200 mg を含有する試験食品を連続 4 週間摂取させ、介入開始前 (ベースライン) および介入終了時 (4 週後) に血清 TG その他の血清脂質を測定し、各測定値について群内比較を行った。

結果：ベースラインと比較した場合、血清 TG、血清総コレステロール、および血清 non HDL- コレステロールはいずれも有意な低下を ( $P < 0.05$ )、血清 LDL- コレステロールは低下傾向 ( $P = 0.070$ ) を示した。一方、血清 HDL- コレステロールのレベルはほとんど変化しなかった。介入期間を通して試験食品に関連する有害事象は皆無であった。

結論：RE 含有食品は TG 高値その他の脂質異常値の改善を通して、冠動脈疾患の発症リスク軽減に有用性をもつことが示唆される。

#### 【キーワード】

ハマナス、ポリフェノール、血清トリグリセライド、血清コレステロール

#### はじめに

わが国においては動脈硬化性疾患の発生率およびそれによる死亡率はいずれもきわめて高く、冠動脈疾患 (CAD) をはじめとする虚血性疾患と、脳梗塞・脳出血を中心とした脳血管障害と合わせた動脈硬化性疾患による死亡例数は全死亡例の 30%にも及んでいる<sup>1)</sup>。この死因疫学調査の結果は、動脈硬化性疾患の予防・治療対策の重要性を如実に物語るものである<sup>2)</sup>。

高トリグリセライド血症は、動脈硬化性疾患の発症にかかわる主たる要因の 1 つであり、CAD の代表的な独立リスク因子としても働くことが欧米の研究者によって報告されてきた<sup>3-7)</sup>。これに一致してわが国の疫学調査からも、血清トリグリセライド (TG) 値が高いほど CAD の発症率が高くなることが明らかにされている<sup>8,9)</sup>。したがって、高トリグリセライド血症の改善は、同じく CAD の主要なリスク因子として知られる高 LDL コレステロール血症や低 HDL コレステロール血症の改善と並んで、国民の健康増進のうえで重要な課題となっている。これまでの多くの研究から、これらの脂質異常症の改

受理日：2015年2月17日

\* 〒530-0044 大阪府大阪市北区東天満 2-10-31 第9田淵ビル3階 Tel: 06-6882-8201 Fax: 06-6882-8202

E-mail: keiji@drc-web.co.jp

善および CAD 発症リスクの軽減には健康的な食事と適切な運動が有効であることが知られている<sup>9-11)</sup>。健康的な食事としては、飽和またはトランス型脂肪酸、コレステロールなどを制限する一方、果物・野菜・非精製穀物・魚・低脂肪乳製品などを豊富にした内容の食事が国内外で広く推奨されている<sup>2,12-14)</sup>。しかし食生活習慣を大幅に変えることは必ずしも容易でないことから、脂質異常症改善効果をもつ様々な植物成分に多くの研究者が関心を寄せており、実際に機能性食品として利用されているものも少なくない<sup>15-17)</sup>。

脂質異常症のなかでもとくに高トリグリセライド血症に対する有益な効果が期待されている植物成分として知られているものに幾つかのバラ科バラ属植物の花弁抽出物がある。なかでも *Rosa centifolia* から抽出されるエラジタンニン類 (ellagitannins) のポリフェノール化合物は、培養細胞を用いた *in vitro* の試験で TG 合成経路の最終段階の反応を触媒するジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ (DGAT) を阻害すること、およびマウスでの経口脂質負荷試験において食後 TG 上昇を抑制することが報告されている<sup>18)</sup>。

われわれは、血清 TG 値が基準値上限に近いまたは軽度上昇を示す成人被験者を対象に行った予備試験において *R. centifolia* の類縁種である *Rosa rugosa* (ハマナス) の花弁抽出物に同様の TG 低減効果があることを見出した<sup>19)</sup>。そこで今回、さらに人数を増やして本試験を企画・実施した。

## 材料・方法

### 1. 試験デザインおよび倫理

血清 TG が 120~399 mg/dL の範囲内、すなわち正常高値または軽度上昇を示す男女成人を対象に、RE 含有食品の血清 TG および血清コレステロールに及ぼす影響を検討するためのオープン試験を実施した。有効性の主要評価指標は血清 TG、副次評価指標は総コレステロール (TC)、non HDL-コレステロール (non HDL-C)、LDL-コレステロール (LDL-C)、および HDL-コレステロール (HDL-C) の各血清濃度、とした。試験プロトコルは、医療法人健昌会 福島健康管理センター倫理審査委員会によって承認された (2014 年 1 月 24 日)。試験は、「ヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月修正)」および「疫学研究に関する倫理指針 (文部科学省・厚生労働省告示, 2008 年一部改正) の遵守のもとに、2014 年 1 月から同年 3 月までの期間に、医療法人健昌会 福島健康管理センター (大阪市) およびゴッククリニック (大阪市) において実施した。すべての被験者情報および試験記録は、プ

ライバシー保護のために無記名の ID 番号によって特定した。

試験プロトコル違反なしに試験を完遂し、しかも試験食品摂取率 > 80% の被験者を有効解析対象者とした。一方、安全性の評価は、試験食品摂取に関連して発現した有害事象 (副作用) および検査値の異常変動に基づいて行った。前者については試験食品を 1 回以上摂取した被験者全員を、後者については所定の来院日におけるすべての検査を完了した被験者を、各々評価対象者とした。

### 2. 被験者

年齢が 20 歳以上、64 歳以下で、血清 TG が正常高値 (120~149 mg/dL) または軽度上昇 (150~399 mg/dL) を示す成人 19 名を対象に試験を実施した。ただし次のいずれかの除外基準に抵触する場合には除外した。①血清脂質濃度に影響を及ぼす可能性のある医薬品または特定保健用食品その他の健康食品を常用している、② RE を含有する食品を毎日摂取している、③ RE 含有食品に対してアレルギー反応を起こすおそれがある、④本試験に影響を及ぼす可能性のある薬物療法を受けている、⑤本試験開始時に他の臨床試験に参加している、⑥試験期間中に妊娠または授乳の予定がある、⑦生活習慣アンケートの回答その他の理由から試験責任医師により被験者として不適当と判断された。

選択されたすべての適格被験者に対しては、試験に参加する前に試験内容を十分に説明し、文書による参加同意を取得した。試験参加に同意した被験者には、試験期間を通して試験参加前の生活習慣を大きく逸脱するような運動および食生活の変更を行わないよう指示した。

### 3. 試験食品

試験食品には、株式会社はるにれバイオ研究所より提供された 2 号カプセル (プルラン製) 形の RE 含有食品製品を用いた。本製品は、1 カプセル中に RE 100 mg (同定されたポリフェノール成分としては tellimagrandin I 20 mg, tellimagrandin II 1 mg, ほかに rugosin A, rugosin D, および casurictin)、およびポリデキストロース 100 mg を含む。各被験者に 1 日当り 2 カプセル (朝食前および夕食前に 1 カプセルずつ; RE としての摂取量、200 mg/日) を 4 週間毎日摂取させた。(乾燥花弁粉末 1 g に Tellimagrandin I と Tellimagrandin II は平均 50 mg 含むことから、ポリフェノール分画は乾燥花弁 0.4 g の水抽出エキスに相当する)

### 4. 有効性評価のための検査

被験者を介入開始前および 4 週間の介入期間の最終日

(4 週後) に、何れも午前中に来院させ、採血を行って血清脂質濃度を測定した。被験者には、検査日の前日には禁酒し、夜 9 時までには食事を終えて、それ以後は水を飲むこと以外は飲食しないこと (すなわち検査前 12 時間以上の絶食) を指示した。

得られた血清検体を用いて TG, TC, LDL-C, non HDL-C, および HDL-C の測定を定法に従って行った。LDL-C 値については、「動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年版」<sup>2)</sup> に準拠して Friedewalt 方式を用い、TC 値から (HDL-C 値 + 1/5TG 値) を差し引いて算出した。また non HDL-C 値は、TC 値から HDL-C 値を差し引いて算出した。

### 5. 安全性評価の方法および検査

試験責任医師は、所定の来院日における問診および試験日誌の記載に基づいて 4 週間の介入期間中に発現したあらゆる有害事象ならびに下記の検査項目の異常変動について精査し、試験食品との関連性の有無を判定した。評価指標として用いた検査項目は、人体計測学的検査 (身長, 体重, BMI, 収縮期・拡張期血圧, 心拍数), 血液学的検査 (赤血球数, 白血球数, 血小板数, 白血球分画, ヘモグロビン, ヘマトクリット), 血液生化学検査 (総蛋白, アルブミン, 総ビリルビン, 各種肝酵素, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸, 血糖, 各種電解質), および尿検査 (蛋白 [定性], 糖 [定性], 潜血反応 [定性]) の各項目である。

試験食品との関連性が認められたかまたは否定できなかった有害事象および検査値異常変動については、その

重篤度, 発現日と持続期間, 転帰, 医療処置の有無・内容などを調査し、完全に回復するまでの追跡も併せて行うこととした。

### 6. 統計解析

血清脂質に関する検査値データは平均値±標準誤差で、その他の検査値データは平均値±標準偏差で各々表示した。すべての計測値の群内比較 (ベースライン vs 4 週後) には対応のある t 検定を用いた。p 値 0.05 を統計学的有意水準とした。

## 結果

### 1. 介入開始前における被験者の特徴

適格被験者として選択された 19 名 (男性 14 名, 女性 5 名) 全員が試験プロトコルを完遂し、脱落例は皆無であった。各被験者の試験食品の摂取率は 92.9~100% の範囲内であり、80% 以下の被験者は 1 例もみられなかった。これらの結果から、19 名の被験者全員を有効性ならびに安全性の評価対象者とした。

表 1 に、被験者集団の介入開始前 (ベースライン) の時点における特徴を示す。いずれの人体計測学的指標についても計測値にかなりのばらつきがみられたものの、すべて平均値は基準値範囲内であった。血清脂質関連指標については、当該指標の基準値と比較して最も著しく異なっていたのは予想通り血清 TG であり、平均値は基準値上限よりも 10% 以上高い値を示した。また血清 TC, 血清 LDL-C, 血清 non HDL-C, および BMI の平均値が

表 1 介入開始前 (ベースライン) における被験者 (n=19) の特徴

指標	基準値	計測値 <sup>a)</sup>
年齢 (歳)	—	48.9 ± 8.3
男性/女性 (名/名)	—	14/5
身長 (cm)	—	166.94 ± 8.54
体重 (kg)	—	72.91 ± 12.04
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	18.5~24.9	26.04 ± 3.05
収縮期血圧 (mmHg)	100~139	126.1 ± 13.1
拡張期血圧 (mmHg)	60~89	78.8 ± 13.1
心拍数 (拍/分)	—	67.8 ± 10.5
空腹時血糖 (mg/dL)	70~110	85.6 ± 7.8
血清トリグリセライド (mg/dL)	30~149	187.6 ± 49.6
血清総コレステロール (mg/dL)	120~219	230.1 ± 32.0
血清 non HDL-コレステロール (mg/dL)	<170	175.8 ± 37.2
血清 LDL-コレステロール (mg/dL)	65~139	138.3 ± 9.2
血清 HDL-コレステロール (mg/dL)	40~85 (M) 40~95 (F)	54.2 ± 15.4
アディポネクチン (µg/mL)	43.0<	7.85 ± 3.61

a) 数値 (被験者数及び性別は除く) は平均値±標準偏差を表す

表2 血清脂質に及ぼす PE 含有食品の影響

血清脂質	測定値, mg/dL <sup>a)</sup>		変化量, mg/dL (変化率)	p 値
	ベースライン	4 週後		
中性脂肪	187.6 ± 11.4	156.9 ± 13.8	-30.7 ± 9.9 (-16.4 ± 5.3%)	0.006
総コレステロール	230.1 ± 7.3	215.5 ± 6.9	-14.6 ± 4.9 (-5.9 ± 2.3%)	0.008
non HDL- コレステロール	175.8 ± 8.5	162.6 ± 7.9	-13.3 ± 3.8 (-7.1 ± 2.4%)	0.003
LDL- コレステロール	138.3 ± 9.2	131.2 ± 7.7	-7.1 ± 3.7 (-3.6 ± 2.8%)	0.070
HDL- コレステロール	54.2 ± 3.5	52.9 ± 2.9	-1.3 ± 2.0 (-0.8 ± 3.4%)	0.515

数値は平均値±標準誤差を表す (n=19)

いずれも基準値上限近傍とやや高かった。アディポネクチンの値は、全例とも基準値範囲内であった。

## 2. 血清脂質に及ぼす試験食品摂取の効果

試験食品の4週間摂取が血清脂質にどのように影響したかを表2に示す。TG, TC, non HDL-C, および LDL-C の血清濃度はいずれも有意なレベルかまたはそれに近いレベルで低下した。なかでも最も大きく低下したのは TG (変化量 -14.6 mg/dL, 変化率 -16.4%; P=0.006) であり, 続いて TC (変化量 -14.6 mg/dL, 変化率 -5.9%; P=0.008), non HDL-C (変化量 -13.3 ng/dL, 変化率 -7.1%; P=0.003), LDL-C (変化量 -7.1 mg/dL, 変化率 -3.6%; P=0.070) の順に低下が著しかった。一方, HDL-C についてはほとんど変化がみられなかった (変化量 -1.3 mg/dL, 変化率 -0.8%; P=0.515)。

## 3. 安全性および忍容性

介入期間を通して試験食品の摂取を中断または中止した被験者は1例もなかった。有害事象は4名(男性2名, 女性2名)に1件ずつ合計4件発生した(発生率, 21%)。その内訳は頭痛, 感冒様症状(とくに頭痛), 全身搔痒感, および軟便が各1件であり, いずれも試験責任医師により試験食品との関連性はないと判定された。検査値の異常変動に関しては, 被験者1名(男性)において総ビリルビン(TB)が0.7 mg/dL(ベースライン)から2.0 mg/dL(4週後)への上昇が認められた。試験責任医師は, このTB値の上昇は被験者の検査日前日における激しい運動(10 kmの走行)によるもので試験食品とは無関係と判定した。

## 考 察

本試験の結果から, 試験食品として用いた RE 含有食品が TG 低下作用をもつ可能性がより強まった。高トリグリセライド血症または TG 高値が冠動脈疾患の発症リスクを高めることは, わが国における幾つもの疫学

的調査研究<sup>20-23)</sup>のみならず海外の報告<sup>24,25)</sup>からも示されるところである。また RE 含有食品は, TG 低減効果に加えて, それよりは幾分軽度ながら TC, LDL-C および non HDL-C に対する低減効果を兼ね備えていることも判明した。LDL-C 高値および non HDL-C 高値はいずれも冠動脈疾患のリスクになることは多くの疫学的調査研究から明らかになっている<sup>26-30)</sup>。一方, RE 含有食品は HDL-C にはほとんど影響を与えなかった。その理由の少なくとも1つは, 本試験には HDL-C 異常値を示す被験者が含まれていなかったことにあると考えられる。以上の成績は, RE 含有食品が冠動脈疾患のリスク因子となる複数の脂質異常症を改善する効果をもつことを示している。したがって本食品にはそのいずれのリスクをかかえた成人に対しても幅広く有益性を発揮する可能性があることを期待させる。

ポリフェノールは, 食品中に最も豊富に含まれる抗酸化物質であり, 果物, 野菜, 穀類, 飲料(茶, コーヒー, ワインなど)の重要な成分として知られる。これまで化学的に同定された様々な植物由来ポリフェノール化合物のなかで, 冠動脈疾患などの退行性疾患に有益な効果を示すとしてとくに多くの注目を集めてきた化合物群にフラボノイド類(flavonoids)がある<sup>31)</sup>。フラボノイド類のポリフェノール化合物を豊富に含む赤ワインやブドウジュースが動物モデルで TG および TC を低下させたとする成績<sup>32,33)</sup>が報告されている一方, 同じくフラボノイド類に属するブドウの種子由来のプロシアニジン抽出物は TG のみを低下させたとの報告<sup>34)</sup>もある。したがってフラボノイド類化合物が本試験の試験食品の関与成分と推定されるエラギタンニン類のポリフェノール化合物と同一の作用メカニズムをもつか否かは今のところ不明である。いずれにせよ高トリグリセライド血症は, CAD の発症リスクになるばかりではなく, 脳梗塞のリスクも高め<sup>21,25,27,35,36)</sup>, さらに膵臓炎のリスク因子として働く<sup>37)</sup>ことや, 肝臓内の過剰な TG 蓄積を介して非アルコール性脂肪性肝炎をひき起こす<sup>38)</sup>ことを考えるならば, TG 低減効果の有益性はさらに拡大する可能性がある。

RE の構成ポリフェノール成分としては、tellimagrandin I が主であり、そのほかには tellimagrandin II, rugosin A, rugosin D といったいずれもエラギタンニン類のポリフェノール化合物が同定されている。Kondo らは、*R. centifolia* の花弁抽出物から分離したこれらのエラギタンニン類化合物が *in vitro* で TG 合成経路上の主要酵素 DGAT を特異的に阻害することを示した<sup>18)</sup>。さらに Shimoda らは、クルミの実由来のエラギタンニン類（主たる推定活性成分は tellimagrandin I）が高脂肪食摂取マウスの血清 TG を低下させること、またこの作用は肝における脂肪酸の  $\beta$ -酸化の亢進によることを報告している<sup>39)</sup>。これらの報告からも RE 含有食品の TG 低下作用は支持されるものと考えられる。

本試験にはいくつかの限界点がある。第 1 には、男女被験者数が少ない（男性 14 名、女性 5 名、計 19 名）ために、全員を一括した集団として取り扱い、解析を行った。しかし男性と女性とでは脂質代謝レベルが異なることから、本来ならば別々に解析すべきである。第 2 の点は、RE 含有ポリフェノール成分の TG 低下作用のメカニズムが不明な点である。もし推定されるようにこの作用が  $\beta$  酸化亢進によるとすれば、ケトン体の増加、さらにはそれによるケトーシスが起る可能性があるが、これについても検討できなかった。第 3 の点は、脂肪組織中の TG 代謝にはホルモン感受性リパーゼの作用などの脂質代謝に関係するホルモンの影響についても考慮されていないことである。

したがって、今後の課題としては、RE の主たる活性成分と推定される tellimagrandin I を単離し、上記の問題点を配慮した試験デザインのもとに新たなヒト試験を実施したいと考えている。

## 結 論

血清トリグリセライドが正常高値もしくは高値の被験者における TG および non HDL-C 低減効果に加えて、RE 含有食品は高い安全性を備えていることが今回の試験結果から示された。本試験食品はこれらの効果を介して冠動脈疾患をはじめとする動脈硬化性疾患のリスク軽減に高い有用性をもつと考えられた。

## 助成源

公益財団法人北海道中小企業総合支援センター（産学連携等研究開発支援事業）

## 参 考 文 献

- 1) 厚生労働省. 平成 23 年人口動態統計月報年計（概数）の概況. 2014.
- 2) 日本動脈硬化学会編. 動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年版. 東京. 日本動脈硬化学会. 2012.
- 3) Le NA, Walter MF. The role of hypertriglyceridemia in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2007; 9(2): 110-115.
- 4) Jacobson TA, Miller M, Shaefer EJ. Hypertriglyceridemia and cardiovascular risk reduction. *Clin Ther* 2007; 29(5): 763-777.
- 5) Bersot T, Haffner S, Harris WS, et al. Hypertriglyceridemia: management of atherogenic dyslipidemia. *J Fam Pract* 2006; 55(7): S1-S8.
- 6) Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, et al. Definition of metabolic syndrome: Reports of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004; 109(3): 433-438.
- 7) Hyson D, Rutledge JC, Berglund L. Postprandial lipemia and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2003; 5(6): 437-444.
- 8) Saito I, Folsom AR, Aono H, et al. Comparison of fatal coronary heart disease occurrence based on population surveys in Japan and the USA. *Int J Epidemiol* 2000; 29(5): 837-844.
- 9) Kelly RB. Diet and exercise in the management of hyperlipidemia. *Am Fam Physician* 2010; 81(9): 1097-1102.
- 10) Stampfer MJ, Hu FB, Manson JE, et al. Primary prevention of coronary heart disease in women through diet and lifestyle. *N Engl J Med* 2000; 343(1): 16-22.
- 11) Kris-Etherton PM, Etherton TD, Carlson J, et al. Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13(4): 397-407.
- 12) McCullough ML, Feskanich D, Rim EB, et al. Adherence to the Dietary Guidelines for Americans and risk of major chronic disease in men. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(5): 1223-1231.
- 13) McCullough ML, Feskanich D, Stampfer MJ, et al. Adherence to the Dietary Guidelines for Americans and risk of major chronic disease in women. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(5): 1214-1222.
- 14) De Becker G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease and prevention in clinical practice. *Atherosclerosis* 2003; 171(1): 145-155.
- 15) Chen G, Wang H, Zhang X, et al. Nutraceuticals and functional foods in the management of hyperlipidemia. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2014; 54(9): 1180-1201.
- 16) Chen ZY, Jiao R, Ma KY. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods. *J Agric Food Chem* 2008; 56(19): 8761-8773.
- 17) Sirtori CR, Galli C, Anderson JW, et al. Functional foods for dyslipidaemia and cardiovascular risk prevention. *Nutr Res Rev* 2009; 22(2): 244-261.
- 18) Kondo H, Hashizume K, Shibuya Y, et al. Identification of diacylglycerol acyltransferase inhibitors from *Rosa centifolia* petals. *Lipids* 2011; 46(8): 691-700.
- 19) 特開2009-102288（日本国）脂肪蓄積阻害剤.
- 20) Okamura T, Kokubo Y, Watanabe M, et al. A revised definition of the metabolic syndrome predicts coronary artery disease and