

機能性食品として利用される
ビルベリーエキスの臨床開発研究

小齊平 麻里衣

目次

諸言.....	4
第1章 ビルベリーエキス摂取時のアントシアニン血中濃度評価.....	7
第1節 試験.....	9
1. 試験食品、試薬および材料.....	9
2. 摂取方法とスケジュール.....	9
3. 被験者.....	10
4. ビルベリーエキス中アントシアニン濃度測定.....	10
5. 血漿中アントシアニン濃度測定.....	12
6. 統計解析.....	12
第2節 結果.....	13
1. ビルベリーエキス中アントシアニン濃度.....	13
2. 血漿中アントシアニン濃度.....	14
第3節 考察.....	19
第4節 小括.....	20
第2章 ビルベリーエキス含有食品摂取による VDT 負荷眼疲労抑制効果の検証.....	21
第1節 試験.....	22
1. トライイリスを用いたビルベリーエキス臨床試験.....	22
1.1. 試験食品、試薬および材料.....	22
1.2. 摂取方法とスケジュール.....	22
1.3. 被験者.....	23
1.4. 眼疲労測定「トライイリス」.....	23
1.5. 統計解析.....	24
2. AA-2 を用いたビルベリーエキス臨床試験.....	25
2.1. 試験食品、試薬および材料.....	25
2.2. 摂取方法とスケジュール.....	25
2.3. 被験者.....	26
2.4. 眼疲労測定「AA-2」.....	26
2.5. VAS 調査.....	27
2.6. 統計解析.....	27
第2節 結果.....	27
1. トライイリスを用いたビルベリーエキス臨床試験.....	27
1.1. 被験者.....	27
1.2. 縮瞳率および瞳孔移動距離からみる SBE 食品の眼疲労への効果.....	28
1.3. 安全性.....	30

2.	AA-2 を用いたビルベリーエキス臨床試験.....	30
2.1.	被験者背景.....	30
2.2.	自覚症状への効果（VAS 調査）.....	31
2.3.	他覚所見への効果.....	32
2.4.	安全性.....	33
第3節	考察.....	33
第4節	小括.....	35
第3章	ビルベリーエキス含有食品の安全性検討.....	36
第1節	試験.....	36
1.	試験食品、試薬および材料.....	36
2.	摂取方法とスケジュール.....	37
3.	被験者.....	37
4.	安全性項目.....	38
5.	統計処理.....	38
第2節	結果.....	39
1.	被験者背景.....	39
2.	身体測定.....	39
3.	血液学検査および血液生化学検査.....	40
4.	尿検査.....	45
5.	有害事象.....	45
第3節	考察.....	46
第4節	小括.....	47
第4章	ビルベリーエキス 240 mg、12 週間摂取による毛様体筋緊張抑制作用 —ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験—.....	48
第1節	試験.....	48
1.	試験食品、試薬および材料.....	48
2.	試験デザインおよび対象.....	49
3.	摂取方法とスケジュール.....	50
4.	検査項目.....	50
5.	統計処理.....	51
第2節	結果.....	51
1.	被験者背景.....	51
2.	HFC-1 値からみる眼疲労への効果.....	52
3.	安全性.....	54
第3節	考察.....	54
第4節	小括.....	55

総括.....	56
謝辞.....	58
引用文献.....	59

諸言

食品の機能は、1984年から1986年にかけて実施された、文部省特定研究「食品機能の系統的解析と展開」によって3つに分類され、人間が生きていく上で必要最低限の「栄養」の機能が1次機能、感覚機能など「嗜好」の機能が2次機能、そして生活習慣病等の疾病の予防など「健康性・生体調節」の機能が3次機能と定義された¹。この食品の3次機能の特徴としている食品は、「健康食品」と呼ばれ、広く健康の保持増進に資する食品として販売・利用されている。この研究に続き「食の生体調節機能」の研究が推進された結果、多くの食品成分に3次機能があることが明らかとなり、この結果、日本の定義による機能性食品（Functional Food）が国際的に認知され世界中に広がった。

1991年には特定保健用食品表示許可制度が施行され、行政に認可された特定保健用食品（トクホ）はその機能を表示することが可能となった。さらに2001年に、特定の栄養成分（ビタミン・ミネラルなど）を含んでいることによって、国への許可申請や届出の必要なく、その栄養成分の機能を表示できる栄養機能食品制度が施行された。しかしながら、これらの制度は、トクホは有効性の評価を個別で行い国から認可を得る必要があるなど、中小企業にはハードルが高く、また栄養機能食品は栄養成分と表示が固定されており制約が厳しいなど、いわゆる健康食品では機能性を表示することができなかった。そこで、機能性を分かりやすく表示した健康食品の選択肢を増やし、消費者がそうした商品の正しい情報を得て選択できるよう、2015年4月に、新しく「機能性表示食品」制度が施行された。これは、科学的根拠をもとに消費者庁長官へそれら必要な情報を届け出ることにより、事業者の責任において機能性の表示が可能となる制度である。このような制度の影響もあり、健康食品の市場規模は年々増加傾向で、2018年には前年比1.7%増の1兆2,475億円に拡大している²。

ビルベリー（英名：Bilberry、学名：*Vaccinium Myrtillus L.*）はツツジ科スノキ属（*Vaccinium Myrtillus* 節）に分類される、食用ベリーの一つで、北欧のスカンジナビア半島から北部ヨーロッパの森林の酸性度の高い土地に自生している野生種である。日本でもよく栽培されている一般的なブルーベリー（ツツジ科スノキ属 *Cyanococcus* 節）と比べると、ビルベリーの果実は小さく、アントシアニン（anthocyanin）が豊富に含まれていることが特徴である³。

アントシアニンは、アントシアニンジンと呼ばれるそれぞれのアグリコンの配糖体として存在しており、花など多くの植物に含まれている天然色素フラボノイドであり、pHに

よって赤色、紫色、青色と色調が変化する。これまで約 17 個のアントシアニンが特定されているが、自然界で一般的に分布しているのは、シアニン (Cy)、デルフィニン (Dp)、マルビジン (Mv)、ペラルゴニン (Pg)、ペオニン (Pn)、ペチュニン (Pt) の 6 つだけである。一般的なアントシアニンは 6 つだが、植物では 600 を超えるアントシアニンが報告されている⁴。グルコース (Glu)、ガラクトース (Gal)、アラビノース (Ara)、ルチノース (Rut)、ラムノース (Rham)、およびキシロース (Xyl) は、単糖類、二糖類、または三糖類としてアントシアニンに結合する最も一般的な糖であり⁵、最も一般的なアントシアニンは Cy-3-Glu である⁶。ビルベリー果実には、5 種類のアントシアニン (Cy, Dp, Mv, Pt, Pn) と 3 種類の糖 (Glu, Gal, Ara) の組み合わせからなるビルベリーに特有な 15 種アントシアニンが含まれている。

1960 年代からビルベリー果実を基原とする有機溶媒抽出成分は、15 種類のアントシアニン (Vaccinium myrtillus anthocyanin, VMA) 含有量を指標として、夜間視力の向上など視機能に関わる医薬品として研究がなされていた^{7, 8, 9, 10}。その後も様々な不特定のビルベリー由来の被検物を使用して、視力改善または眼病リスクとの関係についても研究をされてきた^{11, 12}が、一貫性のある成果は検証されておらず、1990 年代に発表された報告でも、科学的エビデンスは乏しかった^{13, 14, 15}。その理由の一つとして、使用されたビルベリーの VMA の抽出方法または成分組成、摂取量、摂取期間、さらに試験での評価項目、評価方法が整理されていないことが指摘される。また、化合物としてのアントシアニン単体が、抽出物としての VMA より優れることを決定づける報告は、著者が調査したところ存在しない。これらのことから、VMA 含量のバラツキが一定範囲に制御され再現性があるビルベリー果実由来の標準抽出物を用いて試験を行うことは高い関心がある。そこで本研究では、選別によって枝葉他の不純物がほぼ完全に除去され、採取後 24 時間以内を目安に凍結保存された色素換算アントシアニン (Anthocyanidin) >0.30 % (含水比率) まで成熟したビルベリー果実を基原とする 15 種アントシアニン及び周辺成分を含有するように管理されたエタノール抽出物である特定のビルベリーエキスを用いて試験を行うこととした。

1990 年以降になると Visual display terminals (VDT) 機器の急激な普及によって、我々の眼は昼夜問わず酷使され続けるようになった。パソコン、スマートフォンなど目に近い位置で使用する VDT 機器を長時間見続けることによって筋肉が疲れて凝り固まりピント調節がうまくできなくなる、眼疲労症状を訴える人が増加した。このような現代社会の背景から、ビルベリーエキスの眼疲労への効果が期待されるようになり、現在、日

本国内で販売されているアイケアに関する健康食品の中でもビルベリーエキス含有製品は多く販売されている。それに伴い眼疲労の他覚的な検査方法が開発され¹⁶、それら検査方法を用いて眼疲労の定量的な評価も可能となった。しかしながら、眼疲労を他覚的および定量的に測定したビルベリーエキスの眼疲労に対する有効性を確認した網羅的な試験はまだない。国民の生活の質および労働力の向上のためにも眼の疲労の予防・軽減効果を検証することは非常に重要であると考えられる。

本研究では第1章ではビルベリーエキスを用い、ビルベリーエキスの経口摂取量が異なるときのヒトでのアントシアニン血中濃度を評価した。摂取量は160mg、320mgおよび480mgで単回摂取とし、血漿中アントシアニン濃度の定量を行い、摂取量依存的に生体への吸収量が増えることが確認された。第2章ではヒトでの眼疲労抑制効果に関する検討として、VDT作業負荷を与えた被験者に対し、ビルベリーエキス含有食品を4週間摂取させ眼疲労抑制効果を近見反応の3要素（縮瞳、輻輳、調節）を指標として評価し、ビルベリーエキス含有食品は眼疲労からの回復効果を有する傾向が示された。そこで検証的な試験として、被験者数を増やしビルベリーエキス含有食品240mgを12週間摂取した際の眼疲労抑制効果を、調節機能を評価項目として実施することとした。第2章の試験から比べて長期間の摂取となるため、第3章では機能性表示食品制度のガイドラインに従い、240mgの6倍量に当たる1440mgを摂取した際の安全性を確認した。第4章で「調節機能測定ソフトウェアAA-2」を用いて調節時の毛様体筋の疲労に対する有効性の評価を実施し、その結果、摂取4、8および12週目において眼疲労抑制効果が見られ、ビルベリーエキス含有食品にはVDT作業負荷による眼疲労に対して抑制効果があると考えられた。

第1章 ビルベリーエキス摂取時のアントシアニン血中濃度評価

ポリフェノールであるアントシアニンは強い抗酸化作用があることが *in vitro* 試験で確認されており^{17, 18}、ビルベリーエキス摂取による生体調節機能にアントシアニンが何らかの影響を与えていることは広く知られている。

2015年4月からスタートした機能性表示食品制度において、ビルベリーエキスは機能性表示食品素材として幅広く利用されている。ビルベリーエキスの機能性を担保するための品質確認として、機能性関与成分であるビルベリー由来アントシアニンの定性・定量試験が行われている。ビルベリーエキスには15種類のアントシアニンが含まれているが、その中の特定のアントシアニン単体がヒトの生体内で機能しているという報告はなく、ビルベリーエキス全体での効果が評価されてきた。

アントシアニンは非常に不安定で分解を受けやすい化合物であり、酸素、温度、光、酵素、特に pH は、アントシアニンの化学構造に影響を与える要因の1つであり、アントシアニンの安定性に影響を及ぼすことが知られている^{19, 20}。アントシアニンは酸性条件 (pH 1~3) で赤色のフラビウムカチオンとして存在し安定しており、弱酸性から中性付近で素早く脱プロトン化し、紫色のキノイド塩基となる。さらに、フラビリウムカチオンからは容易に水和反応が起こり無色のカルビノールと黄色のカルコンとなる^{21, 22} (Fig. 1-1)。これまでその不安定性から、アントシアニンのバイオアベイラビリティ (BA) はほかのフラボノイドに比べ非常に低いとされており、Manach ら²³によるヒトでの BA に関するレビューでは、150 mg~2 g の総アントシアニンを単回経口投与したとき、血漿中のアントシアニンの濃度は非常に低く、10~50 nmol/L の範囲であり、またほとんどの研究では摂取量の 0.004%~0.1%の低い尿中排泄率であったと報告されている。これはアントシアニンの代謝が生体内で素早く起こるために、アントシアニンの BA が過小評価されてきたという事実がある。Czank ら²⁴が行った「¹³C」を標識した Cy-3-Glu でのヒトの吸収、分布、代謝、排泄の調査によると、Cy-3-Glu を 500 mg 摂取したときの AUC₀₋₄₈ は、Cy-3-Glu のみでは 0.31 μmol・h/L であったが、その代謝物も含むと 120.96 μmol・h/L であり、相対的 BA は 12.38±1.38%以上であると算出された。これにより、アントシアニンは以前の報告よりもはるかに高い相対的 BA が示された。

本章では、選別によって枝葉他の不純物がほぼ完全に除去され、採取後 24 時間以内を目安に凍結保存された成熟したビルベリー果実 (色素換算アントシアニン (Anthocyanidin) >0.30% (含水比率)) を基原とする 15 種アントシアニン及び周辺成

分を含有するように管理されたエタノール抽出物である特定のビルベリーエキスを用い、VMA の摂取量と体内動態パラメータの関係性を確認することとした。先ほど述べたように、未変化体のみでは実際のアントシアニンの吸収性を見ることができなくなる可能性があるが、15 種類のアントシアニンの代謝物まで確認することは困難なため、酸加水分解処理をおこないアントシアニンとして定量することで、その問題を解消することとした。摂取量は 160 mg、320 mg および 480 mg の 3 段階に設定し、オープンスイッチング試験を実施した。

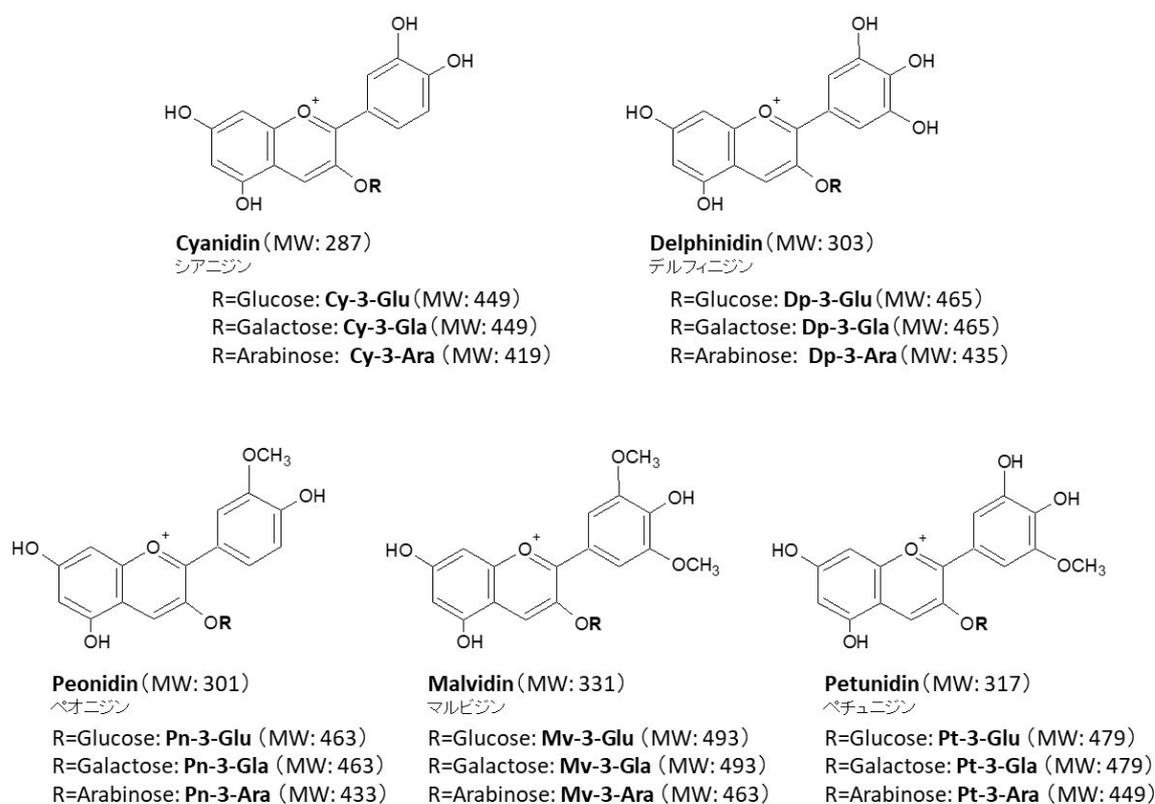


Fig. 1-1 ビルベリーエキスに含まれる 15 種のアントシアニンの構造

第1節 試験

1. 試験食品、試薬および材料

ビルベリーエキスは株式会社オムニカ（東京、日本）の欧州薬局方にて総アントシアニン（VMA）濃度 $37 \pm 1\%$ で品質管理されたビルベリーエキス粉末を用いた。ビルベリーエキス中アントシアニン濃度測定には Lot. B0215-12211、およびその同等成分品である Lot. B1218-09028 の2つのロットを用い、ロット間の同等性を確認した。ビルベリーエキス中アントシアニン濃度測定のための標準品として塩化 Cy-3-Glu（HPLC 純度 98%）（Extrasynthese S.A.、リヨン、フランス）を用いた。採血管はベノジェクト®II 真空採血管 EDTA-2Na（テルモ株式会社、東京、日本）を使用した。本試験食品はハードカプセル1カプセル中にビルベリーエキスを 160 mg 含有するよう製造した。1カプセル中の組成を Table 1-1、ビルベリーエキスの栄養成分を Table 1-2 に示す。

Table 1-1 試験食品1カプセルあたりの組成

	成分名	配合量 (mg)
組成	ビルベリーエキス	160
	デキストリン	37.5
	澱粉	30
	ステアリン酸 Ca	18.75
	微粒酸化ケイ素	3.75

Table 1-2 ビルベリーエキス 100g あたりの栄養成分※

成分名	単位	ビルベリーエキス
エネルギー	kcal	382
タンパク質	g	9.8
脂質	g	0.4
炭水化物	g	84.7
ナトリウム	mg	270

※一般財団法人日本食品分析センターによる分析値

2. 摂取方法とスケジュール

本試験はオープンスイッチング試験とした。試験計画はメディスン評価リサーチ倫理委員会によって承認された（UMIN 試験 ID：UMIN000018741）。単回摂取でウォッシュアウト期間を2週間とし、同一被験者に3段階の用量を摂取させ実施した。検査

は医療法人社団邦英会 関野臨床薬理クリニックにて実施した。事前検査として問診、理学的検査、血液学検査、血液生化学検査を実施した。試験食品は来院時の指定した時間に1、2または3カプセルを水(約200 mL)と共に摂取させ、経時的に採血をおこなった。採血時間は摂取前、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 および 3.0 時間後の合計7点とし、採血量は1点につき14 mLとした。

3. 被験者

被験者は、株式会社ヒューマ R&D (東京、日本) が公募した。説明同意文書により本試験の内容を説明し、参加に同意した者に事前検査を行い、以下の選抜基準に適合し、除外基準に該当しない健康成人男女12名を最終的に被験者とした。選抜基準は1) 20歳以上49歳以下の健常男女、2) 身長が、男性160 cm以上180 cm以下、女性150 cm以上170 cm以下の者、3) BMI数値が19以上25未満の者、4) 非喫煙者。以上の選抜基準を満たす者の内、以下の者を除外する。1) 薬剤アレルギーや食品アレルギーの既往歴がある者、2) 糖尿病、消化器、肝臓、膵臓、心臓、及び腎臓などに重篤な疾病あるいは既往歴がある者、3) 過去1ヶ月以内に他の臨床試験に参加した者、4) 問診等により暴飲暴食や不規則な生活が予測される者、5) 試験当日の朝に食事をした者、6) 試験食品の主成分含有食品、及び眼精疲労改善が期待される医薬品、サプリメントを使用している者、7) 医薬品を投与されている者、及び試験期間中に新たな健康食品の摂取を予定している者、8) 検査前日に飲酒をした者、9) その他、試験責任医師が本試験への参加が不相当と判断した者。

さらに被験者には試験期間中の生活全般を試験開始前と大きく変化させないように、かつ健康維持に努めるよう指導し、事前検査日より試験終了時まで、試験に影響する可能性のあるアントシアニンを含む医薬品、健康食品および食品の摂取を禁止した。来院前日のアルコール飲料及び脂肪分の多い食事は禁止とし、来院前日は21時以降の食事は禁止、来院当日8時以降は、水の摂取も禁止とした。

4. ビルベリーエキス中アントシアニン濃度測定

4.1. 試料調製

ビルベリーエキス100 mgを秤量し、2%塩酸メタノールを50 mL加えた。この溶液5 mLを25 mLメスフラスコに移し、10%リン酸水溶液で50 mLにした。これを0.45 μ mメンブレンフィルターに通し、試験溶液とした。標準品を10 mg量りとり、2%塩酸メタノール10 mLで溶解し、10%リン酸水溶液で100 mLとしたものを標準原液とし

た。それを 10%リン酸水溶液で希釈し、HPLC 測定に使用した。

4.2. 装置および測定条件

装置は Prominense LC-20AB（島津製作所製、京都、日本）を用いた。測定条件を Table1-2 に示す。

Table1-2 HPLC 測定条件

Column	Kinetex C18 (Phenomenex 製 4.6 mm×250 mm、5 μm)												
Mobile phases	A: Formic acid/water=10/90 B: Methanol/acetonitrile/formic acid/water = 22.5/22.5/10/40												
	Gradient:												
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time (min)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>35</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>45</td> <td>65</td> </tr> <tr> <td>46</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	Time (min)	%B	0	7	35	25	45	65	46	100	50	100
Time (min)	%B												
0	7												
35	25												
45	65												
46	100												
50	100												
Flow rate	1.0 mL/min												
Injection volume	40 μL												
Temperature	30°C												
Wave lengths	535 nm												

4.3. 総アントシアニンの定量

塩化 Cy-3-Glu の 1 種を標準品に用い、その検量線と分子量比から次式により算出した。

総アントシアニン濃度(%)=

$$\sum \frac{\text{各アントシアニンの面積} \times \text{標準溶液濃度}(\mu\text{g/mL}) \times \text{各アントシアニン塩化物の分子量}}{\text{標準溶液の面積値} \times \text{試験溶液濃度}(\mu\text{g/mL}) \times \text{塩化シアニジン 3-グルコシドの分子量}} \times 100$$

5. 血漿中アントシアニン濃度測定

採血後、3000 rpm、10 分間遠心分離をおこない、上清を遠沈管に移し替え、測定まで-20 °C で保管した。血漿サンプルは 2.7 mol/L 塩酸を添加し、60 分、90°C の恒温槽で加温し、酸加水分解し、アントシアニンとして定量分析をおこなった。HPLC の測定条件を Table1-3 に示す。血漿中アントシアニンの定量分析は Belan ZT-GmbH（ウィーン、オーストリア）に依頼した。

Table1-3 HPLC 測定条件

Column	Knauer, Hypersil ODS, 250 × 4.6 mm														
Mobile phases	A: Formic acid/water=10/90 B: Methanol/acetonitrile/formic acid/water = 20/20/10/50														
	Gradient:														
	<table border="1"><thead><tr><th>Time (min)</th><th>%B</th></tr></thead><tbody><tr><td>7.5</td><td>2</td></tr><tr><td>15</td><td>5</td></tr><tr><td>22.5</td><td>9</td></tr><tr><td>30</td><td>15</td></tr><tr><td>40</td><td>30</td></tr><tr><td>45</td><td>30</td></tr></tbody></table>	Time (min)	%B	7.5	2	15	5	22.5	9	30	15	40	30	45	30
Time (min)	%B														
7.5	2														
15	5														
22.5	9														
30	15														
40	30														
45	30														
Flow rate	1.5 mL/min														
Injection volume	20 µL														
Temperature	45 °C														
Wave lengths	540 nm														

6. 統計解析

要約統計量は平均値、標準偏差を用いた。血漿中濃度時間曲線下面積（Area under the curve: AUC）は線形台形法を用いて算出した。定量限界未満は 0 として解析をおこなった。解析は Microsoft Excel 2013（日本マイクロソフト株式会社、東京、日本）を用いて行った。

第2節 結果

1. ビルベリーエキス中アントシアニン濃度

HPLC で測定したビルベリーエキス中アントシアニンの濃度順番を Table1-4、クロマトグラムを Fig. 1-2 に示す。2つの試料の VMA 含量は、B0215-12211 が $36.89 \pm 0.07\%$ 、B1218-09028 が $37.31 \pm 0.13\%$ であった。

Table 1-4 ビルベリーエキス中のアントシアニジンの順列

Anthocyanidin	Bilberry extract (%)
Delphinidin (Dp)	36.4
Cyanidin (Cy)	26.4
Petunidin (Pt)	16.5
Malvidin (Mv)	13.3
Peonidin (Pn)	7.4
Total※	100.0

※総アントシアニン量を 100%としたときの各アントシアニン比率

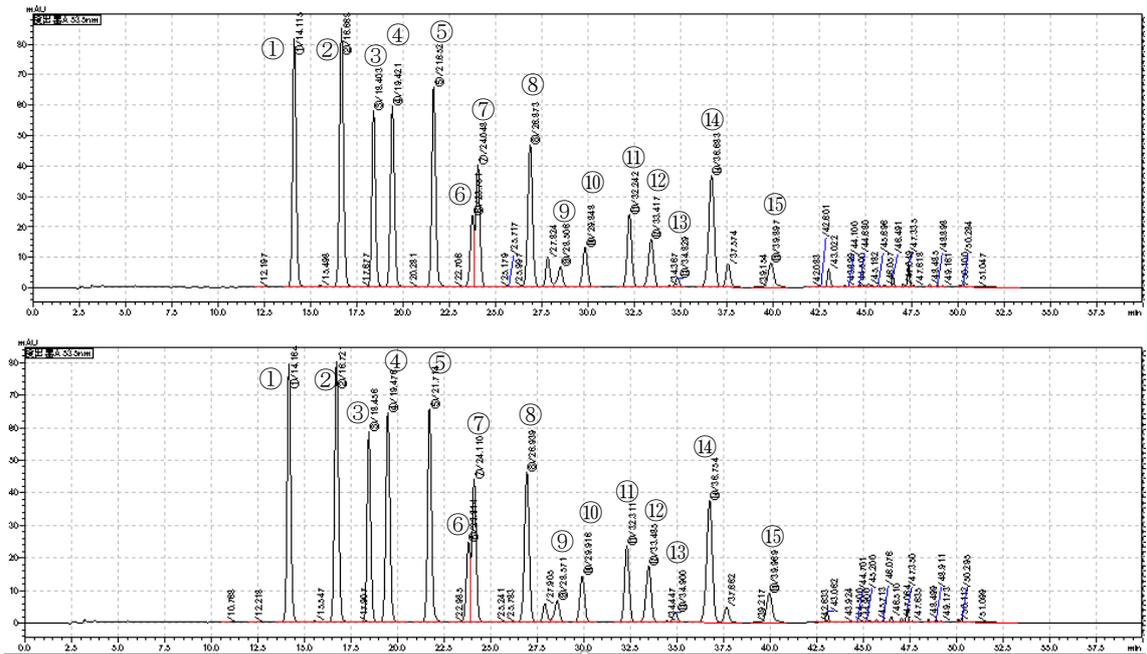


Fig. 1-2 ビルベリーエキス中アントシアニン クロマトグラム

上段 : B0215-12211、下段 : B1218-09028

- ①Dp-3-Gal、②Dp-3-Glu、③Cy-3-Gal、④Dp-3-Ara、⑤Cy-3-Glu、⑥Pt-3-Gal、⑦Cy-3-Ara、
 ⑧Pt-3-Glu、⑨Pn-3-Gal、⑩Pt-3-Ara、⑪Pn-3-Glu、⑫Mv-3-Gal、⑬Pn-3-Ara、⑭Mv-3-Glu、
 ⑮Mv-3-Ara

2. 血漿中アントシアニジン濃度

組み入れたすべての被験者 (12 名) が試験を完了した。経時的な血漿中アントシアニジン濃度および各パラメータを Fig. 1-3、Tables 1-5、1-6、1-7 に示す。ビルベリーエキス中のそれぞれのアントシアニン量は、Dp > Cy > Pt > Mv > Pn の順であり、各摂取量の際の血漿中アントシアニジン濃度の AUC は、Dp より Cy の濃度が高く、それ以外はエキス中の順と同じであった。摂取量 160 mg に比べて 320 mg、480 mg では、総アントシアニジンの C_{max} は 2.0 倍、3.4 倍、AUC は 2.2 倍、3.5 倍と摂取量依存的に増加した。全ての摂取量において、総アントシアニジンの T_{max} は 1.5 時間後であった。

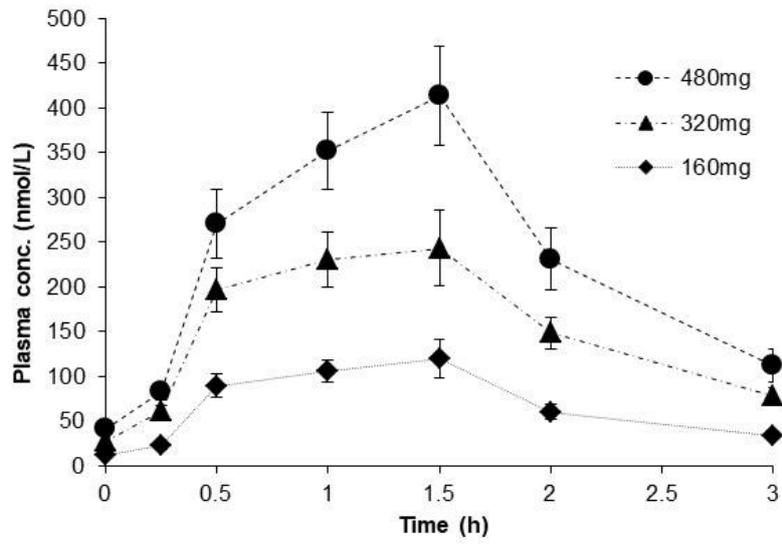


Fig. 1-3 血漿中総アントシアニジン濃度

Table 1-5 ビルベリーエキス 160 mg 摂取時の血漿中アントシアニン濃度および各パラメータ (n = 12)

		Delphinidin (nmol / L)		Cyanidin (nmol / L)		Petunidin (nmol / L)		Peonidin (nmol / L)		Malvidin (nmol / L)		Total (nmol / L)	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Sampling time (h)	0	1.87	0.96	3.23	1.81	3.68	1.94	0.00	-	3.74	0.91	12.52	3.11
	0.25	6.18	1.03	7.61	3.55	4.71	0.86	0.13	0.43	4.63	1.03	23.25	4.62
	0.5	28.96	5.73	19.23	5.11	25.32	7.26	3.91	1.04	12.03	2.29	89.44	13.41
	1.0	27.44	5.30	36.25	9.55	19.58	5.06	4.66	1.06	17.52	4.09	105.45	12.50
	1.5	29.28	6.59	48.86	12.84	17.14	4.11	5.65	1.25	19.17	4.29	120.09	21.59
	2.0	12.72	3.24	17.62	6.15	14.44	3.68	5.30	1.25	10.05	2.01	60.13	8.14
	3.0	8.54	2.56	9.70	2.94	9.46	4.07	0.94	0.98	5.24	1.30	33.87	5.41
	C_{max} (nmol / L)	29.28	6.59	48.86	12.84	25.32	7.26	5.65	1.25	19.17	4.29	120.09	21.59
	T_{max} (h)	1.5		1.5		0.5		1.5		1.5		1.5	
	AUC ₀₋₃ (nmol*h / L)	54.80	10.23	70.13	18.99	45.05	10.95	11.10	2.33	34.63	6.62	215.60	30.08

Table 1-6 ビルベリーエキス 320 mg 摂取時の血漿中アントシアニン濃度および各パラメータ (n = 12)

		Delphinidin (nmol / L)		Cyanidin (nmol / L)		Petunidin (nmol / L)		Peonidin (nmol / L)		Malvidin (nmol / L)		Total (nmol / L)	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Sampling time (h)	0	3.55	0.85	7.79	1.93	7.86	2.34	1.02	0.93	7.35	1.56	27.58	4.94
	0.25	17.85	4.06	16.97	3.60	11.08	2.48	2.63	0.50	11.80	2.09	60.32	7.20
	0.5	58.50	9.35	42.65	11.79	51.05	14.79	8.15	1.81	36.53	6.79	196.88	25.00
	1.0	64.67	10.07	67.03	18.39	41.23	12.36	8.83	1.75	48.04	9.84	229.79	30.87
	1.5	64.41	13.40	96.94	34.72	35.74	10.46	11.40	2.47	34.90	8.34	243.39	42.42
	2.0	40.22	7.31	40.53	10.25	36.33	10.44	10.90	2.48	20.19	4.43	148.16	17.68
	3.0	17.94	4.17	22.95	5.01	20.84	6.57	4.06	0.97	12.53	2.32	78.32	9.46
C_{max} (nmol / L)		64.67	10.07	96.94	34.72	51.05	14.79	11.40	2.47	48.04	9.84	243.39	42.42
T_{max} (h)		1.0		1.5		0.5		1.5		1.0		1.5	
AUC ₀₋₃ (nmol*h / L)		130.52	20.33	145.06	40.24	99.05	27.68	24.16	4.68	80.45	14.33	479.23	62.65

Table 1-7 ビルベリーエキス 480 mg 摂取時の血漿中アントシアニン濃度および各パラメータ (n = 12)

		Delphinidin (nmol / L)		Cyanidin (nmol / L)		Petunidin (nmol / L)		Peonidin (nmol / L)		Malvidin (nmol / L)		Total (nmol / L)	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Sampling time (h)	0	7.77	1.71	10.34	3.01	10.33	2.60	2.43	0.52	9.87	2.14	40.73	5.59
	0.25	27.23	4.79	20.11	6.09	15.28	4.66	5.16	1.28	14.49	3.31	82.27	8.97
	0.5	76.08	16.43	74.37	20.87	67.86	16.49	10.35	3.09	41.96	8.72	270.61	38.58
	1.0	97.58	22.60	96.78	26.93	77.93	19.29	18.35	4.05	61.58	13.12	352.23	43.23
	1.5	113.93	27.36	136.64	40.01	80.04	20.78	22.38	6.88	60.68	12.94	413.67	54.75
	2.0	52.57	5.81	67.56	17.11	59.87	15.80	14.91	4.02	35.91	9.18	230.81	34.86
	3.0	21.63	4.96	36.53	11.69	25.93	5.95	8.20	2.50	19.44	5.32	111.74	19.11
C_{max} (nmol / L)		113.93	27.36	136.64	40.01	80.04	20.78	22.38	6.88	61.58	13.12	413.67	54.75
T_{max} (h)		1.5		1.5		1.5		1.5		1.0		1.5	
AUC ₀₋₃ (nmol*h / L)		192.31	31.14	219.86	55.41	167.41	39.40	41.12	10.48	118.37	24.28	739.06	91.86

第3節 考察

ビルベリーエキス中に含まれる VMA は摂取後急速に吸収され、1.5 時間で T_{max} に達することが確認された。アントシアニンを未変化体のまま定量した報告²⁵では摂取量の 0.02% に相当する量しか血漿中で検出されなかった。これはアントシアニンから糖が外れたアントシアニジンや、グルクロン酸、硫酸の抱合体およびメチル化された代謝物など、アントシアニンを摂取したときに生成される多くのアントシアニン代謝物を含んでいない結果である。そこで本試験では、アントシアニンの代謝の速さを考慮し、また簡単にいくつかの代謝物を測定する方法としてサンプルに酸加水分解処理を行い、アントシアニジンとして定量した。その結果 160 mg 摂取では 0.34%、320 mg 摂取では 0.37%、480 mg では 0.38% に相当する量が検出された (AUC₀₋₃、総血漿量 3 L として算出)。アントシアニンとしては非常に低い吸収率であったのに対し、アントシアニジン処理後では 10 倍以上の吸収率であったことから、アントシアニン代謝物の混合物がヒトへの有益な効果をもたらす可能性が示唆された。

Dp の吸収性がほかの 4 種より低かったのは、アントシアニン構造の違いによると考えられる。Caco-2 細胞を用いた、ブルーベリーエキス中アントシアニンの輸送/吸収効率を確認している試験では、Dp、Cy、Pt、Pn、Mv の中で Dp の輸送吸収効率が一番低くなっていた²⁶。また McGhie らは、ラットおよびヒトの尿中で、Dp の相対濃度が Mv の相対濃度よりも低いことを報告している²⁷。これらは、アグリコン構造、特に親水性および疎水性基がアントシアニンのバイオアベイラビリティにとって重要であることを示している。Dp はヒドロキシル基 (-OH) の数が多くメトキシ基 (-OCH₃) がないことで、他のアントシアニンより親水性が高くなり輸送/吸収効率が低くなる可能性があることが示されており^{26,27}、本試験でもその傾向がみられた。

Kalt ら²⁸はブタにブルーベリー粉末 (アントシアニン 6.4 mg/g 含有) を 1、2 および 4% (w/w) の濃度で基本食に添加し 4 週間摂取させた試験を実施しており、その結果、眼および小脳にもアントシアニンが分布していることが確認され、アントシアニンは血液脳関門を通過することが示唆されている。本試験の結果では、全ての摂取量において血漿中アントシアニジンが観察されており、4 週間以上摂取することで眼にも分布する可能性が考えられた。ビルベリーエキスの抗酸化活性を細胞レベルで調査した Bornsek ら²⁹の報告では、EC50 (Half maximal effective concentrations) は < 1 μg/L であったと示しており、本試験の 160 mg 摂取時の C_{max} (120.09 nmol/L = 66.4 μg/L) と比較しても活性を得られる十分な量であると考えられた。

第4節 小括

ビルベリーエキスを 160 mg～480 mg 摂取したときの血中パラメータを確認でき、抗酸化を期待できる摂取量であることが示された。次章では血中濃度から推測された摂取量を摂取したときの眼疲労に対するビルベリーエキスの効果を確認した。

第 2 章 ビルベリーエキス含有食品摂取による VDT 負荷眼疲労抑制効果の検証^{30, 31}

1990 年以降、VDT 機器の急激な普及により我々の眼は昼夜問わず酷使されるようになった。厚生労働省の調査によれば、VDT 作業に従事する労働者の割合は増加傾向にあり、平成 20 年（2008 年）の調査では既に 1 日のうち 4 時間以上従事する労働者の割合は全労働者の半数近くにまでおよび、仕事での VDT 作業で身体的な疲労や症状を感じている労働者の中で、「目の疲れ・痛み」を感じている人は 91.6%と非常に高く、VDT 作業による眼への負担が大きいことが示されている³²。そして近年ではスマートフォンやタブレットなど眼に近い位置で使用する VDT 機器が急速に普及しており、スマートフォンの個人で保有率は 2011 年の 14.6%から 2016 年時点で 56.8%と 5 年間で 4 倍に増加しており、20 代、30 代に至っては 90%以上となっている³³。パソコン、スマートフォンなど目に近い位置で使用する VDT 機器を長時間見続けることによって筋肉が疲れて凝り固まりピント調節がうまくできなくなる、老眼に似た症状が現れる若者も増えていることから、眼の疲労の予防・軽減は国民の生活の質および労働力の向上のためにも非常に重要であると考えられる。

ビルベリーに含有しているアントシアニンは眼組織に分布し^{28, 34}、視覚機能の改善^{35, 36}など様々な生理活性をもつことが *in vitro* および動物実験で報告されている。ビルベリーエキスは 1960 年代ごろから眼に対する効果の研究が行われており、イタリア等の欧州諸国では医薬品として用いられてきた。その後も様々な不特定のビルベリー由来の被検物を使用して、視力改善または眼病リスクとの関係についても研究をされてきたが、一貫性のある成果は検証されていない。その理由の一つとして、これまでに行われた実験で採用されたビルベリー成分の抽出条件、成分組成、または摂取量、摂取期間、評価エンドポイント、評価方法が整理されていないことが指摘される。

そこで本章では、第 1 編で組成および吸収性について確認されたビルベリーエキスを用いて臨床試験をおこなうこととした。眼疲労の評価機器は「トライイリス」と「調節機能測定ソフトウェア AA-2 (AA-2)」を用いた。どちらも眼疲労を他覚的に検査できる装置として開発されており、トライイリスは近見反応の 3 要素のうち縮瞳および輻輳を、AA-2 は調節を定量的に評価できる。摂取量はビルベリーエキス 160mg (VMA 59.2 mg)、および 107mg (VMA 40 mg) とし、摂取期間はどちらも 4 週間とした。

第1節 試験

1. トライイリスを用いたビルベリーエキス臨床試験

1.1. 試験食品、試薬および材料

ビルベリーエキスは第1章と同等のものを使用した。本試験食品は、ビルベリーエキスを160 mg (VMA 59 mg) 含むハードカプセル (Standardized Bilberry Extract ; SBE 食品)、およびビルベリーエキスを含まない対照カプセル (プラセボ食品) とした。SBE 食品の内容物の組成は、ビルベリーエキス 160.0 mg、デキストリン 37.5 mg、デンプン 30.0 mg、ステアリン酸カルシウム 18.8 mg、および微粒酸化ケイ素 3.8 mg であり、プラセボは、デキストリン 50.0 mg、デンプン 127.5 mg、ステアリン酸カルシウム 18.8 mg、微粒酸化ケイ素 3.8 mg、さらに被験食品と外見上識別不能にするため、カラメル色素 50.0 mg を加えた。

1.2. 摂取方法とスケジュール

本試験はランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間試験にて実施した。試験計画はユニバーサル臨床システム倫理委員会によって承認された (UMIN 試験 ID : UMIN000015351)。試験期間は4週間と設定し、被験者には、1日1回1カプセルを期間中毎日摂取し、それ以外はそれまでの日常生活を変えないように指導した。摂取時間は、他の食品との同時摂取による影響を制限させるため、朝食前または昼食前の空腹時とした。検査当日の試験の流れを Fig. 2-1 に示す。各被験者には、負荷前検査の後、VDT 作業負荷を与えた。負荷内容は、iPhone4s または 5 (Apple Inc.、カリフォルニア、アメリカ) をデバイスとし、画面が目から 30 cm 以内の位置に固定できるように、iPhone に紐をつけ、被験者の首にかけてゲームをさせた。ゲームは簡単な落ち物ゲームである Tetris® を採用した。

検査は、介入開始の当日 (摂取 0 週目) および摂取 4 週間後の計 2 回評価した。いずれも VDT 負荷を行い、眼科的検査、日誌の記載内容 (試験食品の摂取状況、健康状態、有害事象など) の確認をおこなった。

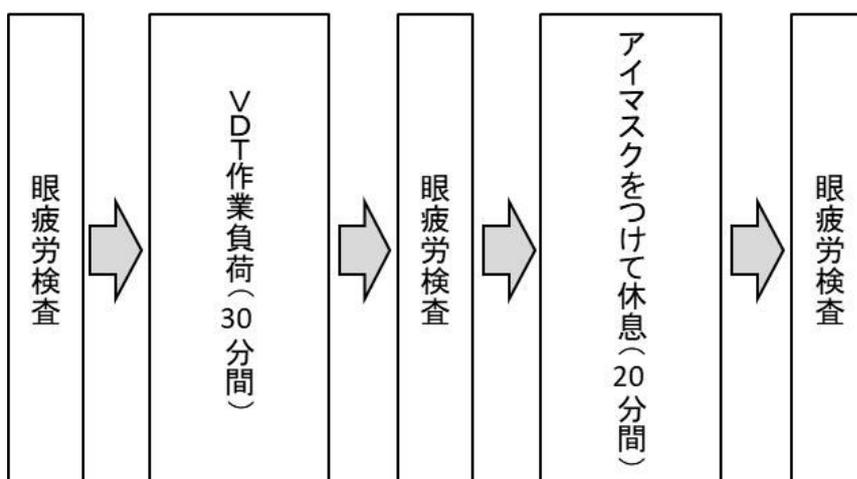


Fig.2-1 検査当日の流れ (眼疲労検査にはトライイリスによる測定を各1回実施)

1.3. 被験者

対象となる被験者は、20歳以上60歳未満の健康な男女成人であり、VDT作業従者、および眼精疲労の自覚がある方を中心に選択した。ただし、試験前のアンケート調査を参考とし、次のいずれかの除外基準にあてはまる者は、試験に組み入れなかった。①薬剤アレルギーや食品アレルギーの既往歴がある、②糖尿病、消化器、肝臓、膵臓、心臓、及び腎臓などに重篤な疾病あるいは既往歴がある、③過去1ヶ月以内に他の臨床試験に参加した、④事前アンケートや問診等により暴飲暴食や不規則な食生活が予測される、⑤試験食品の主成分含有食品、及び眼精疲労改善が期待される医薬品、サプリメントを使用している、⑥医薬品を投与されている者、及び試験期間中に新たな健康食品の摂取を予定している、⑦その他、試験責任医師が本試験への参加が不相当と判断された。

全ての被験者に対して試験参加前に十分な説明を行い、文書による同意を得た。群分けは事前調査時の年代、性別を層とした、層別無作為化法により2群に分けた。試験食品の割付けは、試験に介入していない割付責任者の指示のもと、試験食品のいずれかを無作為に割付けた。

1.4. 眼疲労測定「トライイリス」

眼疲労検査は、TriIRIS C9000® (トライイリス) (浜松ホトニクス株式会社、静岡、日本) を用いて行った。トライイリスは、眼精疲労・調節機能異常を評価することができる診断機器である。調節視標は、遠点と近点より1ジオプター近方の点の間を定屈折速度で移動する。調節視標を1度の測定で3往復させ近見反応に伴う瞳孔反応と輻輳を同時に測定することが可能である³⁷⁾。1往復目を1試行目、2往復目を2試行目、3往復

目を3試行目と呼ぶ。トライイリスにより得られる波形の1例を Fig. 2-2 に示す。今回の試験ではこの波形から求められる、1、2、および3試行目から算出した縮瞳率と瞳孔移動距離を検査項目とした。縮瞳率と瞳孔移動距離は以下の通り算出した。

(1) 縮瞳率 = $\{(\text{最大瞳孔横径} - \text{最小瞳孔横径}) \div \text{最大瞳孔横径}\} \times 100$

(2) 瞳孔移動距離 = 遠見の瞳孔位置 - 近見の瞳孔位置

また、瞬目が多いなどの理由により、瞳孔横径の数値化が困難な試行については除外した。トライイリスによる検査は、VDT 作業負荷前、負荷後、および休息後に実施した。

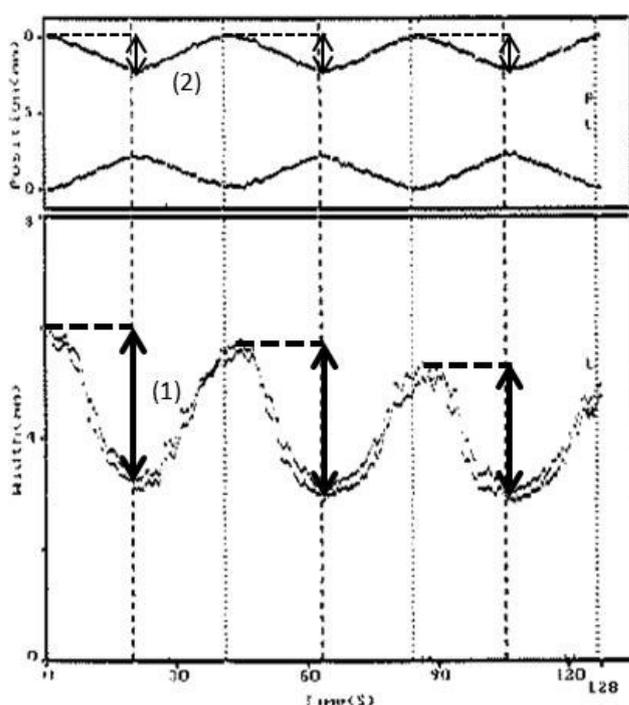


Fig. 2-2 トライイリスで得られる波形

(1) : 縮瞳率 (2) : 瞳孔移動距離

1.5. 統計解析

縮瞳率および瞳孔移動距離の群間比較は、対応のない t 検定を実施した。解析には Microsoft Excel 2010 (日本マイクロソフト株式会社、東京、日本) を使用した。いずれの検定においても、有意水準は両側検定で 5%未満とした。

2. AA-2 を用いたビルベリーエキス臨床試験

2.1. 試験食品、試薬および材料

ビルベリーエキスは第1章と同等のものを使用した。本試験食品は、ビルベリーエキスを 53.5 mg 含むハードカプセル (SBE 食品)、およびビルベリーエキスを含まない対照カプセル (プラセボ食品) とした。ビルベリーエキス摂取量は 107 mg/day (VMA 40 mg/day) とした。SBE 食品 1 カプセルあたりの内容物の組成は、ビルベリーエキス 53.5 mg、デキストリン 49.0 mg、デンプン 125.0 mg、ステアリン酸カルシウム 18.8 mg、および微粒酸化ケイ素 3.8 mg。プラセボは、デキストリン 50.0 mg、デンプン 127.5 mg、ステアリン酸カルシウム 18.8 mg、微粒酸化ケイ素 3.8 mg、さらに被験食品と外見上識別不能にするため、カラメル色素 50.0 mg を加えた。

2.2. 摂取方法とスケジュール

本試験はランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間試験にて実施した。試験計画はユニバーサル臨床システム倫理委員会によって承認された (UMIN 試験 ID : UMIN000015861)。試験期間は 4 週間と設定し、被験者には、1 日 1 回 2 カプセルを期間中毎日摂取し、それ以外はそれまでの日常生活を変えないように指導した。他の食品との同時摂取による影響を軽減させるため、摂取は朝食前または昼食前の空腹時とした。検査当日の試験の流れを Fig. 2-3 に示す。各被験者には来場後、視覚的アナログスケール (visual analog scale、VAS) 調査を実施したのち、VDT 作業負荷を 20 分間与えた。負荷内容は上記の「トライイリスを用いたビルベリーエキス臨床試験」と同様とした。負荷後検査に眼疲労測定を実施した。測定終了後、アイマスクを着用して 10 分間安静にして休息させたのち再度同測定をおこなった。

検査は、介入開始の当日 (摂取 0 週目) および摂取 4 週間後の計 2 回評価した。いずれも VDT 負荷 を行い、眼科的検査、自覚的アンケート、日誌の記載内容 (試験食品の摂取状況、健康状態、有害事象など) の確認をおこなった。VAS 調査は日誌にて 1 週間毎の計 5 回おこなった。

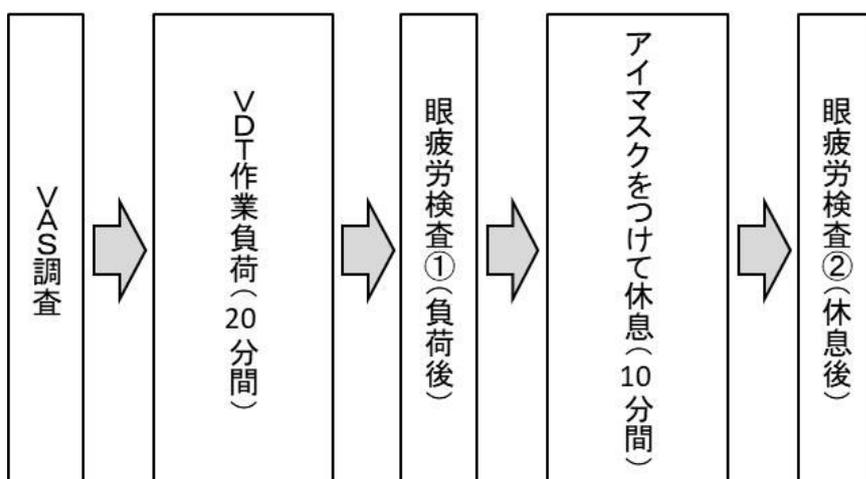


Fig.2-3 検査当日の流れ

2.3. 被験者

対象となる被験者は 20 歳以上 60 歳未満の健康成人男女で、VDT 作業従事者、および眼精疲労の自覚者を選択した。試験前スクリーニングでは、眼科的一般検査および事前アンケート調査を行った。次のいずれかの基準にあてはまる者は試験から除外した。①薬剤アレルギーや食品アレルギーの既往歴がある、②糖尿病、または消化器、肝臓、膵臓、心臓、及び腎臓などに重篤な疾病あるいは既往歴がある、③過去 1 ヶ月以内に他の臨床試験に参加した、④事前アンケートや問診等により暴飲暴食や不規則な食生活が予測される、⑤試験食品の主成分含有食品、及び眼精疲労改善が期待される医薬品、サプリメントを使用している、⑥医薬品を投与されている、または試験期間中に新たな健康食品の摂取を予定している、⑦その他、試験責任医師が本試験への参加が不相当と判断した者。

試験前スクリーニング時の年齢、性別、HFC-1 値の印しで層別したのち無作為に 2 群に分けた（層別無作為化）。介入試験に関与しない割付責任者により試験食品のいずれかを無作為に割付けた。本試験の評価に使用する眼は優位眼とし、優位眼は試験前スクリーニング時に hole in card 法（両手で作った穴を通して視物を見た際に使われた眼を優位眼として評価する）と呼ばれる方法で決定した。

2.4. 眼疲労測定「AA-2」

オートレフケラトメーターARK-560A（株式会社ニデック、愛知、日本）に搭載した眼調節機能解析 AA-2（株式会社ニデック）を用いて調節微動高周波成分の出現頻度（High Frequency Component ; HFC）を測定した。HFC の算出は、梶田らの報告³⁸より、

測定ごとに計測する最低屈折値を基準に、 $+0.50\sim-3.00\text{D}$ 間を遠方から近方に 0.50D ステップで呈示位置を変えて、調節応答波形を計測する。得られた波形を高速フーリエ変換して周波数を分析し、パワースペクトル曲線 (PS 曲線) を求めた。この PS 曲線から周波数 $1.0\sim 2.3\text{Hz}$ の区間の平均パワースペクトルを求め、HFC とした。本試験では最低屈折値から -0.75D までの範囲のフラクシオンを HFC-1 領域とし、HFC-1 領域のフラクシオンにおける HFC 値の平均値を眼疲労測定 of 指標とした。休息後一負荷後の HFC-1 値の差を変動値とした。

2.5. VAS 調査

VAS 調査は、0、1、2、3 および 4 週目に行った。0 および 4 週目は来場時に記入させ、1、2 および 3 週目は日誌に記入させた。質問内容は、「ここ 1 週間の目の疲れはどのくらいですか？」の 1 項目である。回答記入用紙には 10cm の直線が書かれ、左端に「全くない」、右端に「非常に疲れている」と記載されている。被験者はその直線上に現在の症状の程度を「×」を書き表し、左端から「×」までの長さ測定して評価する。

2.6. 統計解析

VAS 調査の群間比較および群内比較には Student の t 検定を用いた。HFC-1 変動値の群間比較は摂取 0 週目を共変量とした共分散分析により実施した。ただし、データを共分散分析で解析するには不適切であると判断された場合は、F 検定で等分散性を確認し、等分散の場合は Student の t 検定、不等分散の場合は Aspin-Welch の t 検定を実施した。HFC-1 変動眼数は、カイ二乗検定を行った。解析には SAS 9.3 (SAS Institute, Inc.、ノースカロライナ、アメリカ) と Microsoft Excel 2010 (日本マイクロソフト株式会社) を使用した。いずれの検定でも有意水準は両側検定で 10% 未満を有意傾向、 5% 未満を有意差とした。

第 2 節 結果

1. トライイリスを用いたビルベリーエキス臨床試験

1.1. 被験者

試験参加前に十分な説明を行い、文書による同意を得た適格被験者の 30 名中 15 名が男性、15 名が女性で、平均年齢が 39.1 ± 1.6 歳であった。30 名のうち 15 名を SBE 群、15 名をプラセボ群におのおの無作為に割り付けた。組み入れた 30 名のうち、試験食摂取率が 90% 以下の被験者 1 名と、指示とは異なる眼科的検査の受け方をした者 1 名を

除外した。その結果、眼科的検査の有効性解析は、SBE 群 14 例、プラセボ群 14 例について実施した。

1.2. 縮瞳率および瞳孔移動距離からみる SBE 食品の眼疲労への効果

摂取 0 および 4 週目のプラセボ群、SBE 群の縮瞳率を Table2-1 に示す。4 週目の縮瞳率の 1~3 試行目の平均値のグラフを Fig. 2-4 に示す。4 週目の負荷前については、群間比較から有意差はみられなかった。負荷後も有意差はみられなかったが、SBE 群ではプラセボ群に比べ低下が緩やかであった。休息後では、1、2 および 3 試行目全てで SBE 群はプラセボ群に比べ、縮瞳率の回復が著しく、有意な差が見られた。さらに、負荷前と負荷後の差についても、2 および 3 試行目で有意な差がみられた。瞳孔移動距離では、各試行の平均値の 4 週目の休息後で、SBE 群ではプラセボ群に比べて有意な改善がみられた (2.19 ± 0.16 , 1.61 ± 0.01 ; $P = 0.005$) (Fig. 2-4)。

Table2-1 トライイリス 縮瞳率

	検査日	検査時点	縮瞳率 (%)				群間比較 P 値	
			SBE 群	n	プラセボ群	n		
1 試行目	0 週目	負荷前	38.99 ± 2.23	26	37.55 ± 2.49	28	0.670	
		負荷後	34.56 ± 2.61	28	30.98 ± 3.29	26	0.396	
		休息後	40.35 ± 2.03	28	35.40 ± 1.93	26	0.084	
		負荷前—負荷後	4.97 ± 1.48	26	5.95 ± 1.75	26	0.671	
	4 週目	負荷前	39.33 ± 2.76	27	36.17 ± 2.17	25	0.377	
		負荷後	30.89 ± 2.81	27	27.24 ± 2.17	26	0.310	
		休息後	40.06 ± 2.44**	27	30.16 ± 2.14	26	0.004	
		負荷前—負荷後	8.44 ± 2.10	27	7.72 ± 2.89	24	0.838	
	2 試行目	0 週目	負荷前	38.74 ± 2.69	26	37.48 ± 2.73	28	0.967
			負荷後	35.10 ± 2.72	28	31.45 ± 2.69	26	0.587
			休息後	37.44 ± 1.99	28	34.78 ± 2.21	26	0.414
			負荷前—負荷後	3.66 ± 2.21	26	6.39 ± 1.98	26	0.362
4 週目		負荷前	34.78 ± 3.13	27	34.31 ± 2.44	25	0.907	
		負荷後	35.00 ± 3.23	26	27.02 ± 2.73	26	0.065	
		休息後	38.53 ± 2.92*	27	30.88 ± 2.36	26	0.048	
		負荷前—負荷後	0.56 ± 1.69*	26	6.39 ± 1.83	24	0.023	
3 試行目		0 週目	負荷前	40.76 ± 2.67	26	38.97 ± 2.64	26	0.633
			負荷後	34.05 ± 3.16	27	29.83 ± 2.45	26	0.299
			休息後	35.45 ± 2.48	28	37.37 ± 2.57	26	0.593
			負荷前—負荷後	7.41 ± 2.08	25	7.21 ± 2.04	25	0.948
	4 週目	負荷前	34.24 ± 3.19	26	34.87 ± 2.29	25	0.874	
		負荷後	32.09 ± 2.73	27	25.52 ± 2.66	24	0.093	
		休息後	40.18 ± 2.62*	27	31.70 ± 2.22	25	0.018	
		負荷前—負荷後	2.05 ± 1.53**	26	9.44 ± 2.02	21	0.005	
	各試行平均値	0 週目	負荷前	39.50 ± 2.43	26	38.05 ± 2.48	28	0.680
			負荷後	34.54 ± 2.70	28	30.75 ± 2.69	26	0.325
			休息後	37.75 ± 1.92	28	35.85 ± 1.90	26	0.487
			負荷前—負荷後	5.33 ± 1.66	28	7.10 ± 1.65	26	0.453
4 週目		負荷前	36.02 ± 2.79	27	35.12 ± 2.24	25	0.804	
		負荷後	32.52 ± 2.81	27	27.07 ± 2.34	26	0.143	
		休息後	39.59 ± 2.58**	27	30.76 ± 2.00	26	0.0096	
		負荷前—負荷後	3.49 ± 1.36*	27	8.14 ± 1.90	23	0.042	

数値は Mean ± SE、*P < 0.05、**P < 0.01

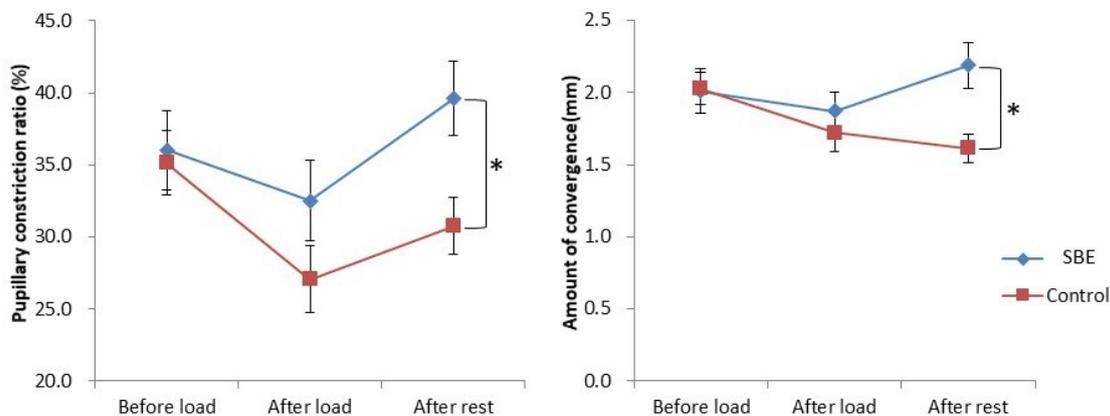


Fig. 2-4 4週目の各試行の平均値の縮瞳率および瞳孔移動距離 * $P < 0.05$

1.3. 安全性

全ての被験者 30 名 (SBE 群、プラセボ群 ; 各 15 名) を対象に、試験責任医師による問診ならびに試験日誌の記載に基づいて、介入期間中の有害事象の発生状況を調べた。その結果、SBE 群に 7 名、プラセボ群に 3 名の有害事象があった。主な有害事象の内訳は、頭痛、下痢、感冒症状などで、試験責任医師により、介入食品とは無関係であると判断された。

2. AA-2 を用いたビルベリーエキス臨床試験

2.1. 被験者背景

被験者の選択は、試験前スクリーニングとして 59 名に行った眼科的一般検査および事前アンケート調査の結果から除外基準に基づき 24 名を適格被験者と判断した。適格被験者のうち 24 名中 13 名が男性、11 名が女性であった。平均年齢は男性 36.2 歳、女性 34.0 歳、被験者全体では 35.2 ± 1.3 歳であった (Table 2-2)。24 名のうち 12 名を SBE 群、12 名をプラセボ群におのおの無作為に割り付けたが、その後 1 名が自己都合により辞退したため、SBE 群 12 例、プラセボ群 11 例で臨床試験を行い、解析を行った。

Table 2-2 被験者背景

		n 数	平均年齢 (mean ± SE)
性別	男	13	36.2 ± 1.67
	女	11	34.0 ± 2.14
優位眼	右	18	
	左	6	
			平均値 (mean ± SE)
優位眼の HFC-1			51.3 ± 1.20

2.2. 自覚症状への効果 (VAS 調査)

VAS 調査の結果では、SBE 群では摂取前と比較して 2 週目 (93.6 ± 4.8%、 $P = 0.08$) から改善傾向を示し、3 週目 (79.1 ± 6.8%、 $P = 0.007$) および 4 週目 (81.8 ± 5.2%、 $P = 0.0025$) では有意な改善がみられた。しかし SBE 摂取群とプラセボ摂取群間では有意な差はみられなかった。プラセボ群は試験期間中有意な変化はみられなかった (Fig. 2-5)。

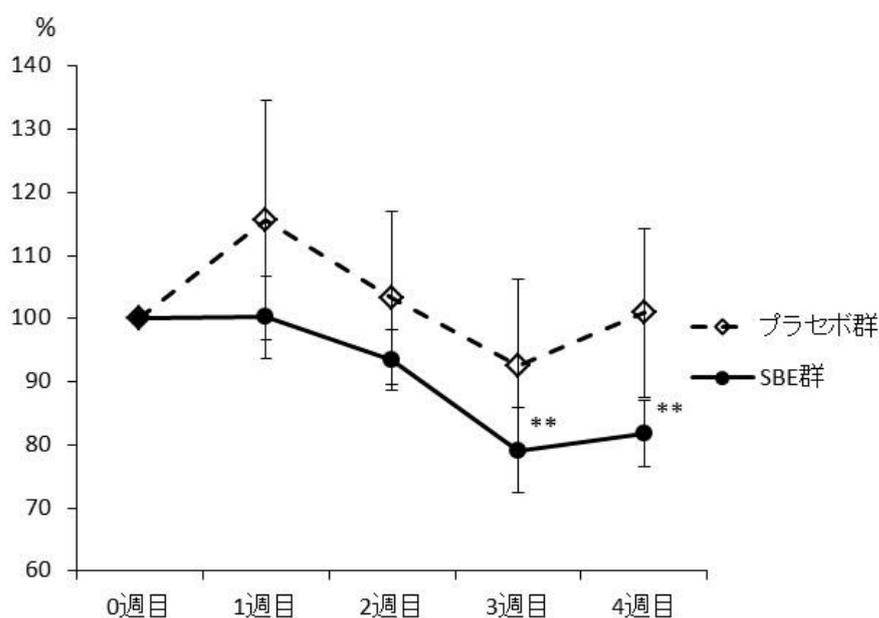


Fig. 2-5 VAS 調査 群内** $P < 0.01$

各群の 0 週目を 100%としたときの変化率。

2.3. 他覚所見への効果

1) HFC-1 変動値

検定の結果、共分散分析の前提が満たされないと判断されたため、摂取4週目の変動値（休息後—負荷後）と0週目の変動値の差について、Studentの*t*検定を実施した。SBE群のHFC-1変動値の変化量はプラセボ群より有意に低値であり（ -3.05 ± 4.88 、 2.60 ± 5.44 ； $P=0.016$ ）、SBE群では休息後に眼疲労が改善していることが確認された（Table 2-3）。

Table 2-3 HFC-1 値

		SBE (n=12)		プラセボ (n=11)	
		Mean	± SD	Mean	± SD
0w	負荷後	50.29	± 4.04	50.69	± 7.69
	休息後	53.62	± 6.57	49.90	± 8.00
	変動値	3.33	± 4.82	-0.79	± 4.61
4w	負荷後	51.12	± 2.90	49.11	± 5.86
	休息後	51.41	± 4.00	50.92	± 6.45
	変動値	0.28	± 4.10	1.81	± 2.53
変化量		-3.05	± 4.88*	2.60	± 5.44

* $P < 0.05$

2) HFC-1 変動眼数

負荷後、休息後の優位眼におけるHFC-1値の増減を確認した。「増加」は負荷後より休息後にHFC-1値が増加（調節緊張増）した眼、「減少」は負荷後より休息後にHFC-1値が減少（調節緊張減）の眼を表している。SBE群では、摂取前は負荷後HFC-1値と比較して休息後HFC-1値の増加が8眼、減少4眼、プラセボ群では増加5眼、減少6眼であったのに対し、摂取後のSBE群は増加6眼、減少6眼、プラセボ群は増加8眼、減少3眼であった（Table 2-4）。SBE摂取群では介入後に調節緊張改善眼が増加し、プラセボ群では減少したが、どちらの群でも有意な差は見られなかった。

Table 2-4 HFC-1 変動眼数

	HFC-1 変動眼数			
	SBE 群		プラセボ群	
	増加	減少	増加	減少
0 週目	8	4	5	6
4 週目	6	6	8	3

「増加」は負荷後より休息後に HFC-1 値が増加（調節緊張増）した眼、
「減少」は負荷後より休息後に HFC-1 値が減少（調節緊張減）の眼を表している。

2.4. 安全性

被験者（SBE 群 12 名、プラセボ群 11 名）を対象に医師による問診ならびに日誌による試験期間中の有害事象発生状況を調査した。その結果、SBE 群に 6 件、プラセボ群の 6 件で何らかの記載があった。これらについてはいずれも、試験責任医師により介入食品とは無関係であると判断された（Table 2-5）。

Table 2-5 有害事象発生件数

症状	発生件数（件）	
	SBE 群（n = 12）	プラセボ群（n = 11）
頭痛	3	3
胃腸炎	1	1
体のかゆみ	1	
喉の痛み	1	
めまい		1
感冒		1
合計	6	6

第 3 節 考察

健常成人を対象とした、2 つの無作為化二重盲検プラセボ対照試験は、VDT 作業負荷によって生じた一過性の眼疲労に対する SBE 食品の眼疲労抑制効果を検討することを目的として実施された。

近見反応の三徴として、(1) 調節、(2) 輻輳、(3) 縮瞳があり、これらが眼疲労と密接に関連している。今回の試験で用いたトライイリスは、眼疲労を他覚的に検査できる装置として開発されており、各試行の最大・最小瞳孔横径から求める縮瞳率は、眼疲労者では徐々に低下するという報告がある³⁹。また輻輳（瞳孔移動距離）は、近点を見る

ために重要な瞳孔の動きと言える。調節の機能は AA-2 によって測定した。各被験者の最低屈折値を基準に、遠方から近方へと -0.5D ずつ 8 回に分けて視標の提示位置を変えて測定した調節微動高周波成分の出現頻度を「AA-2」によって数値化したものが HFC である。HFC は毛様体筋の震えによって生じ、過剰な負荷がかかると上昇することが確認されており^{40, 41}、簡単なアンケートによる自覚症状と HFC 測定をおこなった試験では、日常眼が疲れやすいと答えた対象は、あまり疲れないと答えた対象に比べ、VDT 作業後の HFC 値の増加が大きいこと、さらに VDT 作業によって眼が非常に疲れた、あるいは疲れたと答えた対象では、眼が少し疲れた、あるいはあまり疲れなかったと答えた対象に比べて HFC 値の増加が大きかったことが確認されている⁴²。

今回のトライイリスを用いたビルベリーエキス摂取臨床試験の縮瞳率の結果から、負荷前と VDT 負荷後を比較すると、0 週目の両群とも、負荷により縮瞳率が低下したため、今回の iPhone による VDT 負荷量は眼疲労を与えるのに十分であったと判断される。こうした試験条件下で得られた、SBE 群とプラセボ群との比較試験のうち、とくに休息後の縮瞳率は、プラセボ群を有意に上回る眼疲労からの回復効果を示した（3 試行目 $P=0.018$ ）。さらに 2 および 3 試行目の負荷前と負荷後の差でも有意差が見られ眼疲労の抑制効果が示された。瞳孔移動距離でも、各試行の平均値の 4 週目の休息後で、SBE 群ではプラセボ群に比べて有意な改善がみられた (2.19 ± 0.16 , 1.61 ± 0.01 ; $P=0.005$)。本試験では、VDT 負荷前、負荷後、そして負荷からの回復という 3 時点での眼疲労を検討することによって、眼疲労に対する SBE の効果を詳細に検討することが可能となった。

AA-2 を用いたビルベリーエキス摂取臨床試験の VAS 調査では「ここ 1 週間の目の疲れはどのくらいですか？」の質問に対して、SBE 摂取群でのみ 2 週目から眼疲労感が減少していき、3 および 4 週目では有意な改善が見られた。SBE の継続摂取により日常的な眼疲労に対しても効果があることが示された。調節の眼疲労を定量的に測定できる HFC-1 値の結果からは、VDT 作業負荷後の眼疲労に対して、SBE 群はプラセボ群と比較して有意な改善を示した。このことから、SBE 摂取により臨床的に眼疲労が低減することが推測された。VDT 作業では眼に負荷がかかった直後よりも、休息後にかえって HFC-1 の数値が悪化する現象が起こることが過去に報告されており⁴³、本試験でもその傾向のある被験者がみられた。本試験の HFC-1 変動値変動眼数の結果では、SBE 摂取群では、摂取前に比べて、休息後に HFC-1 値が減少した眼数が増加しており、眼疲労状態を改善させたものと考えられる。VMA は眼細胞組織に分布されること²⁸、生体にお

いて多様な炎症因子を抑制させること⁴⁴が報告されている。Yao らは、網膜炎疾患で知られるブドウ膜炎に対するビルベリーエキスの網膜保護作用を、リポ多糖 (LPS) 誘発マウス網膜炎モデルを用いて検討している⁴⁵。LPS にて炎症を惹起する前の5日間、ビルベリーエキスを 50、100 および 200mg/kg/day、経口投与し、炎症を惹起させた 24 時間後に眼球組織ホモジネートにおける各種パラメータを測定した結果、ビルベリーエキス摂取群では摂取していない群に比べて一酸化窒素(NO)の上昇が大幅に減少し、活性酸素吸収能力(ORAC)およびスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)の濃度が増加し、さらにその効果は用量依存的であったと示している。筋疲労を生む原因の一つとして、活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) が挙げられる。ROS とは通常の酸素より反応性の高い酸素化合物の総称であり、それらの濃度が高いと筋疲労⁴⁶や筋損傷⁴⁷などをもたらすことが知られている。本試験の結果より、ビルベリーエキスは眼球組織の抗酸化物質の濃度を高め、酸化ストレスを減少させることで眼の疲労を軽減させることが示唆された。さらに、その効果は用量依存的であったことから、摂取量を増やすことでより高い効果を得られる可能性が考えられた。

第4節 小括

本章では健常成人を対象とした無作為化二重盲検プラセボ対照試験を 2 つおこなった。トライイリスおよび AA-2 を用いたビルベリーエキスの 4 週間継続経口摂取はプラセボとの群間比較で、有意に他覚的眼疲労指標の改善を示した。さらに、その効果は用量依存的である可能性があったことから、検証的な試験として、被験者数を増やしビルベリーエキス含有食品 240 mg を 12 週間摂取した際の VDT 負荷時の眼疲労抑制効果を確認することとしたが、本章に比べ、摂取量および摂取期間が長期になるため、第3章では機能性表示食品制度のガイドラインに従い、240mg の 6 倍量に当たる 1440mg を摂取した際の安全性を確認した。

第3章 ビルベリーエキス含有食品の安全性検討⁴⁸

前章において、ビルベリーエキス含有食品は眼疲労抑制効果を有する傾向が示されたので、被験者数を増やしビルベリーエキス 240 mg を 12 週間摂取した際の眼疲労抑制効果を、調節機能を評価項目として実施することとした。しかしながら、探索的な試験から比べて長期間の摂取となるため、先に安全性試験を実施した。

アントシアニンの安全性について、欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority: EFSA) は、特定のアントシアニンについて結論を出すことはできず一律の評価は不可能であり、1 日摂取許容量 (Acceptable Daily Intake: ADI) を導出するためには基原植物の定義、抽出方法、製造方法、定性的及び定量的な抽出物の化学的特性が必要であるとしている⁴⁹。

ルテインはほうれん草など緑葉食の野菜や、マリーゴールドなど黄色花に含まれる植物由来カロテノイドであり^{50, 51}ビルベリーエキスと同様にアイケア素材として注目されている。マリーゴールド花由来の高純度の遊離体ルテイン結晶について、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) によって安全性の評価が行われている⁵²。さらに、EFSA によって再評価が行われ、ラット 90 日間反復投与試験における無毒性量が 200 mg/kg/day であり、遺伝毒性・生殖器官への毒性が認められなかったことから、不確実係数 200 を適用し、人における ADI は体重あたり 1 mg/kg とされている⁵³。

ビルベリーエキスとルテインは、機能性食品素材として注目され、アイケアサプリメントに同時に配合されることも多いが、同時過剰摂取における安全性については報告されていない。そこで本章では機能性表示食品制度のガイドラインに従い、ビルベリーエキス 240 mg の 6 倍量に当たる 1440 mg、およびルテインの通常摂取量 20 mg の 6 倍量に当たる 120 mg 摂取したときの安全性を確認した。

第1節 試験

1. 試験食品、試薬および材料

ビルベリーエキスは第1章と同等のものを使用し、1 カプセル中にビルベリーエキス 240 mg (VMA 89 mg) を充填したハードカプセルを使用した。ルテインは、マリーゴールド花から抽出・精製してルテインエステル体をけん化し得られるルテイン ((3R, 3'R, 6S)-4, 5-Didehydro-5, 6-dihydro- β , β -carotene-3, 3'-diol, CAS:127-40-2) を 75.78 %

含有する、JECFA 規格の高純度遊離体ルテイン結晶（株式会社オムニカ、東京、日本）を用い、1 カプセル中ルテイン量が 20 mg となるよう充填したソフトカプセルを使用した。

2. 摂取方法とスケジュール

本試験は 2016 年 12 月に倫理委員会（銀座医院倫理委員会）の承認を得、UMIN 臨床試験登録システムに登録され（UMIN 試験 ID: UMIN000025414）、ヘルシンキ宣言（2000 年修正）に基づく倫理的原則及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年度文部科学省・厚生労働省告示第 3 号）」を遵守して実施された。臨床試験の前例がない同時過剰摂取試験を行うため、有害事象が観察された場合に速やかな対応が可能なオープン試験とし、また多くの症例を収集するため被験者全員に試験食品を摂取させる単群試験とした。被験者は標準ビルベリーエキスを含むカプセルと、ルテインを含むカプセルをそれぞれ 3 カプセルずつ 1 日朝夕 2 回、4 週間連続摂取させた。1 日あたりの摂取量は標準摂取量の 6 倍に相当する、ビルベリーエキス 1440 mg（VMA 533 mg）、ルテイン 120 mg とした。試験食品摂取前、摂取 2 週間後、4 週間後、摂取終了 2 週間後に来院して検査を行った。検査日前日の飲酒と過度の運動は禁止し、検査前日は 21 時から水を除いた飲食を禁止した。安全性の確認に必要な過剰摂取期間は、特定保健用食品の安全性の審査基準を参考に 4 週間とした。

3. 被験者

対象となる被験者は、年齢 20 歳以上 60 歳未満、BMI 18.5 kg/m² 以上 25 kg/m² 未満の健常な日本人成人男女とした。ただし以下の除外基準に該当する者は除外とした。1) 悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞の治療の既往歴がある者、2) 不整脈、肝障害、腎障害、脳血管障害、リウマチ、糖尿病、脂質異常症、高血圧、その他の慢性疾患で治療中もしくはその既往歴がある者、3) 消化管の手術を受けたことがある者（ただし、虫垂炎は可とする）、4) 医薬品（漢方薬を含む）・サプリメントを常用している者、5) アレルギー（医薬品・試験食品関連食品）がある者、6) 妊娠中、授乳中、あるいは試験期間中に妊娠する意思のある者、7) 同意書取得日以前の 3 か月間において他の臨床試験に参加していた者、8) 夜間勤務がある等、勤務時間が不規則である者、9) その他、試験責任医師が本試験の対象として不適切と判断した者。条件を満たす参加者には、試験開始前の十分な説明を行い、試験参加について文書で同意を得た。

4. 安全性項目

4.1. 身体検査

試験食品摂取前と摂取終了2週間後に身長と体重を測定し、BMIを算出した。

4.2. 血液学検査

各検査日に採血を行い、血液学検査および血液生化学検査を行った。血液学検査では、赤血球数・白血球数・ヘモグロビン・ヘマトクリット・血小板数を測定した。血液生化学検査では総蛋白 (total protein; TP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (aspartate aminotransferase; AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (alanine transaminase; ALT)、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase; LDH)、アルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase; ALP)、 γ グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ -glutamyl transpeptidase; γ -GT)、クレアチンキナーゼ (creatin kinase; CK)、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、尿素窒素 (blood urea nitrogen; UN)、クレアチニン、アミラーゼ、空腹時血糖、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、無機リン、鉄 (Fe)、ヘモグロビン A1c (glycosylated hemoglobin A1c; HbA1c)、グリコアルブミン、尿酸、LDL コレステロール (low density lipoprotein cholesterol)、HDL コレステロール (high density lipoprotein cholesterol)、総コレステロール (total cholesterol; TC)、中性脂肪 (triglyceride; TG)、ロイシンアミノペプチダーゼ (leucine aminopeptidase; LAP)、コリンエステラーゼ (cholinesterase; ChE)、硫酸亜鉛混濁試験 (zinc sulfate turbidity test; ZTT)、脂肪酸4分画 (ジホモ γ リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸)の検査を行った。

4.3. 尿検査

各検査日に採尿を行い蛋白、糖、ウロビリノーゲン、ビリルビン、pH、ケトン体、潜血の検査を行った。

4.4. 問診と被験者管理

試験食品摂取前と摂取終了2週間後に問診を行った。被験者には試験期間中の暴飲暴食を避け、規則的な生活を心がけ、食事や運動の習慣を変えないよう、また喫煙者は喫煙の習慣を変えないよう指導した。被験者は試験食品の摂取状況、食事の内容、体調の変化、医薬品の使用について毎日日誌に記録した。

5. 統計処理

身体検査は試験食品摂取前と摂取終了2週間後を対応のある t 検定で比較した。血液学検査、血液生化学検査、尿検査は試験食品摂取前と摂取2週間後、4週間後、摂取終

了2週間後を対応のある t 検定、およびウィルコクソンの符号順位検定で行った。多項目および多時点に関する多重性については考慮しなかった。各項目について男女で層別解析を行った。解析には Microsoft Excel 2010（日本マイクロソフト株式会社、東京、日本）を使用した。有意水準は両側検定で 5%とした。また、数値は平均値±標準偏差で示した。

第2節 結果

1. 被験者背景

研究参加に文書による同意が得られた 18 名に対し、試験食品摂取前に事前検査を行った。検査の結果、被験者によっては一部の検査値に基準値範囲を超える項目がみられたが、試験責任医師が本研究への参加に問題がないかどうかを判断し、全員を試験に組み入れた。被験者背景を Table3-1 に示した。すべての被験者が試験を完了したため 18 名すべてのデータを解析対象とした。試験食品摂取率は 15 名が 100%、2 名が 98%、1 名が 96%であった。

Table3-1 被験者背景

項目	全体 (n = 18)	男性 (n = 11)	女性 (n = 7)
年齢	43.1 ± 8.4	42.1 ± 8.8	44.7 ± 8.1
身長 (cm)	167.6 ± 10.5	173.4 ± 7.4	158.4 ± 7.8
体重 (kg)	58.8 ± 8.6	62.5 ± 6.9	53.0 ± 8.1
BMI (kg/m ²)	20.9 ± 1.7	20.8 ± 1.5	21.1 ± 2.0

数値は平均値±標準偏差で示した。

2. 身体測定

身体測定の結果を Table 3-2 に示した。体重、BMI とともに全体において、摂取終了 2 週間後有意に上昇したが、標準体重の範囲内であった。

Table 3-2 身体測定

項目		摂取前	摂取終了2週後
身長 (cm)	全体 (n = 18)	167.6 ± 10.5	167.7 ± 10.8
	男性(n = 11)	173.4 ± 7.4	173.8 ± 7.6
	女性(n = 7)	158.4 ± 7.8	158.2 ± 7.8
体重 (kg)	全体 (n = 18)	58.8 ± 8.6	59.6 ± 8.5*
	男性(n = 11)	62.5 ± 6.9	63.5 ± 6.5
	女性(n = 7)	53.0 ± 8.1	53.5 ± 7.9
BMI (kg/m ²)	全体 (n = 18)	20.9 ± 1.7	21.1 ± 1.4*
	男性(n = 11)	20.8 ± 1.5	21.0 ± 1.2
	女性(n = 7)	21.1 ± 2.0	21.3 ± 1.8

数値は平均値±標準偏差で示した。

* 摂取前と比較して $P < 0.05$

3. 血液学検査および血液生化学検査

血液学検査の結果を Table 3-3 に示した。赤血球数（女性、摂取4週後）、ヘモグロビン（女性、摂取終了2週後）とヘマトクリット（女性、摂取終了2週後）が有意に上昇したが、測定値はすべて基準値の範囲内であった。上記以外の血液学検査項目では、有意な変動は認められなかった。

血液生化学検査の結果を Table 3-4 に示した。アミラーゼ（女性、摂取4週後）は有意に高値を示した。Na（女性、摂取4週後）とCl（女性、摂取終了2週後）は有意に低値を示した。HbA1c（全体・男性、摂取4週後）は有意に高値を示した。ALT（全体・男性、摂取2週後）は有意に低値を示した。間接ビリルビン（女性、摂取2週後）は有意に高値を示した。尿酸（全体、摂取4週後）は有意に高値を示した。無機リン（全体・男性、摂取2週後）は有意に高値を示した。LAP（女性、摂取2週後）は有意に低値を示した。アラキドン酸（全体、摂取終了2週後）、エイコサペンタエン酸（全体、摂取2週後・摂取終了2週後）は有意に高値を示した。上記以外の血液生化学検査項目では、有意な変動は認められなかった。

Table3-3 血液学検査結果

項目		基準値	摂取前	摂取2週後	摂取4週後	摂取終了2週後
赤血球数 ($\times 10^4 \mu\text{l}$)	全体 (n = 18)		451 \pm 46	451 \pm 45	455 \pm 44	453 \pm 43
	男性(n = 11)	438–577	456 \pm 54	455 \pm 53	458 \pm 55	452 \pm 52
	女性(n = 7)	376–516	442 \pm 28	445 \pm 32	451 \pm 25*	455 \pm 25
白血球数 (μl)	全体 (n = 18)	3500–9700	5332 \pm 1570	5317 \pm 1595	5464 \pm 1622	5656 \pm 1732
	男性(n = 11)		5733 \pm 1464	5928 \pm 1460	5903 \pm 1837	6195 \pm 1754
	女性(n = 7)		4703 \pm 1630	4356 \pm 1377	4773 \pm 961	4810 \pm 1417
ヘモグロビン (g/dL)	全体 (n = 18)		13.8 \pm 1.2	13.8 \pm 1.3	13.8 \pm 1.2	13.9 \pm 1.1
	男性(n = 11)	13.6–18.3	14.2 \pm 1.1	14.3 \pm 1.2	14.2 \pm 1.2	14.1 \pm 1.1
	女性(n = 7)	11.2–15.2	13.2 \pm 1.0	13.2 \pm 1.2	13.2 \pm 1.1	13.5 \pm 0.9*
ヘマトクリット (%)	全体 (n = 18)		42.2 \pm 3.3	42.1 \pm 3.5	42.4 \pm 3.3	42.3 \pm 3.1
	男性(n = 11)	40.4–51.9	43.2 \pm 3.5	42.8 \pm 3.6	43.1 \pm 3.5	42.7 \pm 3.6
	女性(n = 7)	34.3–45.2	40.6 \pm 2.5	41.0 \pm 3.1	41.3 \pm 2.7	41.6 \pm 2.3*
血小板数 ($\times 10^4 \mu\text{l}$)	全体 (n = 18)	14.0–37.9	27.1 \pm 5.7	26.1 \pm 5.9	25.7 \pm 5.3	27.3 \pm 6.5
	男性(n = 11)		27.2 \pm 5.5	26.4 \pm 6.6	24.6 \pm 5.2	27.5 \pm 7.2
	女性(n = 7)		27.0 \pm 6.3	25.6 \pm 5.1	27.3 \pm 5.3	27.1 \pm 5.6

数値は平均値 \pm 標準偏差で示した。

* 摂取前と比較して $P < 0.05$

Table3-4 血液生化学検査結果

項目		基準値	摂取前	摂取 2 週後	摂取 4 週後	摂取終了 2 週後
TP (g/dL)	全体 (n = 18)	6.5-8.2	7.2 ± 0.3	7.1 ± 0.4	7.2 ± 0.4	7.2 ± 0.4
	男性(n = 11)		7.1 ± 0.3	7.1 ± 0.3	7.2 ± 0.3	7.0 ± 0.4
	女性(n = 7)		7.3 ± 0.4	7.3 ± 0.5	7.4 ± 0.5	7.4 ± 0.3
AST (U/L)	全体 (n = 18)	10-40	22 ± 7	21 ± 7	22 ± 5	22 ± 6
	男性(n = 11)		23 ± 8	22 ± 7	22 ± 4	22 ± 7
	女性(n = 7)		21 ± 6	20 ± 6	22 ± 7	21 ± 6
ALT (U/L)	全体 (n = 18)	5-45	18 ± 8	16 ± 6*	17 ± 8	16 ± 6
	男性(n = 11)		19 ± 9	17 ± 7*	18 ± 8	16 ± 6
	女性(n = 7)		16 ± 6	13 ± 3	17 ± 10	15 ± 7
LDH (U/L)	全体 (n=18)	120-245	173 ± 41	168 ± 40	177 ± 41	170 ± 35
	男性(n=11)		170 ± 23	164 ± 15	169 ± 21	166 ± 20
	女性(n=7)		179 ± 62	176 ± 63	188 ± 62	176 ± 52
ALP (U/L)	全体 (n = 18)	104-338	193 ± 49	193 ± 49	194 ± 54	189 ± 52
	男性(n = 11)		188 ± 53	192 ± 53	196 ± 58	188 ± 55
	女性(n = 7)		201 ± 46	193 ± 46	192 ± 50	191 ± 53
γ-GT(U/L)	全体 (n = 18)	0-79	39 ± 53	29 ± 22	29 ± 19	27 ± 15
	男性(n = 11)		47 ± 66	33 ± 27	33 ± 21	28 ± 15
	女性(n = 7)		0-48	25 ± 16	23 ± 14	23 ± 13
CK(U/L)	全体 (n = 18)	50-230	124 ± 76	142 ± 100	126 ± 70	151 ± 197
	男性(n = 11)		121 ± 43	147 ± 63	118 ± 36	188 ± 246
	女性(n = 7)		50-210	128 ± 115	135 ± 146	140 ± 107
総ビリルビン (mg/dL)	全体 (n = 18)	0.3-1.2	0.7 ± 0.3	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.3
	男性(n = 11)		0.8 ± 0.3	0.8 ± 0.3	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.4
	女性(n = 7)		0.6 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.2
直接ビリルビン (mg/dL)	全体 (n = 18)	0.0-0.4	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
	男性(n = 11)		0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
	女性(n = 7)		0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
尿素窒素 (UN) (mg/dL)	全体 (n = 18)	8.0-20.0	12.0 ± 2.8	12.7 ± 3.3	13.8 ± 4.1	12.4 ± 2.8
	男性(n = 11)		12.2 ± 2.7	13.1 ± 3.7	12.4 ± 3.2	13.0 ± 3.1
	女性(n = 7)		11.7 ± 3.1	11.9 ± 2.4	15.9 ± 4.6	11.4 ± 2.2
クレアチニン (mg/dL)	全体 (n = 18)	0.65-1.09	0.73 ± 0.14	0.72 ± 0.13	0.71 ± 0.11	0.72 ± 0.11
	男性(n = 11)		0.80 ± 0.12	0.79 ± 0.11	0.77 ± 0.09	0.78 ± 0.10
	女性(n = 7)		0.46-0.82	0.63 ± 0.07	0.62 ± 0.08	0.63 ± 0.09
アミラーゼ (U/L)	全体 (n = 18)	39-134	84 ± 22	90 ± 30	88 ± 26	83 ± 24
	男性(n = 11)		83 ± 18	90 ± 25	85 ± 22	82 ± 22
	女性(n = 7)		86 ± 29	90 ± 39	92 ± 32*	85 ± 29
空腹時血糖 (mg/dL)	全体 (n = 18)	70-109	89 ± 11	89 ± 12	89 ± 13	87 ± 12
	男性(n = 11)		90 ± 13	90 ± 13	91 ± 15	88 ± 14
	女性(n = 7)		88 ± 9	87 ± 10	86 ± 9	86 ± 9
Na (mEq/L)	全体 (n = 18)	135-145	140 ± 2	140 ± 2	139 ± 2	139 ± 2
	男性(n = 11)		139 ± 3	139 ± 2	139 ± 2	139 ± 2
	女性(n = 7)		140 ± 1	140 ± 1	139 ± 2*	140 ± 2

K (mEq/L)	全体 (n = 18)	3.5–5.0	4.1 ± 0.3	4.1 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.1 ± 0.3
	男性(n = 11)		4.1 ± 0.2	4.1 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.0 ± 0.4
	女性(n = 7)		4.3 ± 0.4	4.1 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.2 ± 0.2
Cl (mEq/L)	全体 (n = 18)	98–108	103 ± 3	103 ± 3	103 ± 2	102 ± 2
	男性(n = 11)		103 ± 3	102 ± 3	102 ± 3	102 ± 2
	女性(n = 7)		105 ± 1	105 ± 0	104 ± 2	103 ± 1*
HbA1c (%)	全体 (n = 18)	4.6–6.2	5.4 ± 0.3	5.3 ± 0.2	5.5 ± 0.2*	5.4 ± 0.3
	男性(n = 11)		5.3 ± 0.3	5.3 ± 0.2	5.5 ± 0.3*	5.4 ± 0.2
	女性(n = 7)		5.5 ± 0.3	5.4 ± 0.3	5.5 ± 0.2	5.6 ± 0.3
間接ビリルビン (mg/dL)	全体 (n = 18)	0.2–0.8	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2
	男性(n = 11)		0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.3
	女性(n = 7)		0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2*	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1
グリコアルブミン (%)	全体 (n = 18)	11.6–16.4	13.5 ± 1.1	13.6 ± 1.0	13.5 ± 1.1	13.6 ± 1.1
	男性(n = 11)		13.1 ± 1.0	13.2 ± 1.0	13.1 ± 1.1	13.2 ± 1.2
	女性(n = 7)		14.2 ± 1.0	14.2 ± 0.7	14.1 ± 0.9	14.3 ± 0.6
尿酸 (mg/dL)	全体 (n = 18)		5.1 ± 1.2	5.2 ± 1.4	5.3 ± 1.2*	5.2 ± 1.2
	男性(n = 11)	3.6–7.0	5.7 ± 0.9	6.0 ± 1.3	5.9 ± 1.0	5.9 ± 0.8
	女性(n = 7)	2.7–7.0	4.1 ± 0.8	4.0 ± 0.8	4.3 ± 0.7	4.2 ± 0.8
LDL-C (mg/dL)	全体 (n = 18)	70–139	108 ± 24	102 ± 22	108 ± 23	110 ± 24
	男性(n = 11)		102 ± 25	96 ± 20	100 ± 23	104 ± 23
	女性(n = 7)		117 ± 21	111 ± 23	120 ± 17	121 ± 25
Ca (mg/dL)	全体 (n = 18)	8.6–10.2	9.4 ± 0.2	9.4 ± 0.2	9.3 ± 0.3	9.5 ± 0.3
	男性(n = 11)		9.4 ± 0.2	9.4 ± 0.2	9.3 ± 0.3	9.6 ± 0.4
	女性(n = 7)		9.5 ± 0.2	9.3 ± 0.2	9.3 ± 0.4	9.5 ± 0.2
無機リン (mg/dL)	全体 (n = 18)	2.5–4.5	3.6 ± 0.4	3.6 ± 0.4	3.6 ± 0.4	3.8 ± 0.4*
	男性(n = 11)		3.6 ± 0.4	3.7 ± 0.3	3.6 ± 0.4	3.9 ± 0.5*
	女性(n = 7)		3.5 ± 0.5	3.4 ± 0.5	3.5 ± 0.5	3.7 ± 0.3
Fe (µg/mL)	全体 (n = 18)		109 ± 60	103 ± 34	101 ± 32	95 ± 39
	男性(n = 11)	60–210	119.6 ± 67.2	103.6 ± 31.1	107.8 ± 28.7	96.1 ± 39.2
	女性(n = 7)	50–170	91.3 ± 45.1	101.4 ± 39.6	90.6 ± 35.0	93.6 ± 41.4
TC (mg/dL)	全体 (n = 18)	150–219	199.9 ± 31.8	194.7 ± 27.0	196.2 ± 29.3	204.1 ± 26.2
	男性(n = 11)		192.0 ± 34.2	187.2 ± 27.8	187.1 ± 30.0	196.0 ± 25.9
	女性(n = 7)		212.3 ± 24.8	206.6 ± 22.4	210.6 ± 23.2	216.7 ± 23.0
TG (mg/dL)	全体 (n = 18)	50–149	74.4 ± 39.8	88.0 ± 33.4	68.1 ± 29.2	92.3 ± 59.8
	男性(n = 11)		80.3 ± 48.5	94.4 ± 35.7	65.3 ± 23.5	102.0 ± 70.9
	女性(n = 7)		65.1 ± 20.2	78.0 ± 29.1	72.6 ± 38.2	77.1 ± 36.1
HDL-C (mg/dL)	全体 (n = 18)		72.5 ± 13.6	73.3 ± 11.5	75.1 ± 12.5	74.9 ± 14.6
	男性(n = 11)	40–80	69.2 ± 14.7	70.4 ± 10.8	73.1 ± 13.7	71.1 ± 15.6
	女性(n = 7)	40–90	77.7 ± 10.7	77.9 ± 12.0	78.3 ± 10.6	80.9 ± 11.5
LAP (U/L)	全体 (n = 18)	30–78	51.3 ± 9.8	48.2 ± 5.1	48.8 ± 6.0	47.6 ± 5.3
	男性(n = 11)		51.6 ± 12.1	47.9 ± 5.3	48.6 ± 6.4	46.2 ± 4.5
	女性(n = 7)		50.9 ± 5.1	48.7 ± 5.2*	49.1 ± 5.7	49.9 ± 5.8
ChE (U/L)	全体 (n = 18)		335 ± 90	349 ± 101	341 ± 98	343 ± 102
	男性(n = 11)	245–495	314 ± 41	335 ± 75	325 ± 75	323 ± 66
	女性(n = 7)	198–452	368 ± 135	370 ± 137	366 ± 130	376 ± 142
ZTT (U)	全体 (n = 18)	2.3–12.0	8.7 ± 3.3	8.6 ± 3.4	8.6 ± 3.2	8.8 ± 3.2

	男性(n = 11)		7.6 ± 2.2	7.5 ± 2.1	7.3 ± 2.0	7.6 ± 2.3
	女性(n = 7)		10.5 ± 4.1	10.3 ± 4.3	10.6 ± 3.9	10.6 ± 3.8
ジホモ γ リノレン酸 (μg/mL)	全体 (n = 18)	16.7–58.2	33.2 ± 10.7	32.6 ± 9.6	32.7 ± 10.6	34.9 ± 11.5
	男性(n = 11)		33.7 ± 11.2	33.3 ± 9.6	31.7 ± 10.7	36.1 ± 10.8
	女性(n = 7)		32.5 ± 10.7	31.5 ± 10.2	34.3 ± 11.1	33.1 ± 13.3
アラキドン酸 (μg/mL)	全体 (n = 18)	112.7–237.9	169.3 ± 42.1	170.9 ± 46.6	176.7 ± 46.6	185.5 ± 42.8*
	男性(n = 11)		175.3 ± 49.2	172.8 ± 52.4	177.8 ± 48.4	196.0 ± 44.2
	女性(n = 7)		159.8 ± 28.4	168.0 ± 39.4	175.0 ± 47.4	169.0 ± 37.5
エイコサペンタエン酸 (μg/mL)	全体 (n = 18)	9.0–128.5	38.7 ± 48.3	50.3 ± 52.9*	40.3 ± 39.5	53.9 ± 50.6*
	男性(n = 11)		47.5 ± 60.8	56.2 ± 64.2	48.8 ± 48.0	65.8 ± 59.7
	女性(n = 7)		25.0 ± 10.0	41.1 ± 29.8	26.9 ± 15.7	35.3 ± 25.3
ドコサヘキサエン酸 (μg/mL)	全体 (n = 18)	46.7–172.7	88.2 ± 31.5	89.0 ± 40.8	83.4 ± 36.3	98.6 ± 44.3
	男性(n = 11)		91.3 ± 40.0	92.8 ± 49.9	88.0 ± 44.0	104.6 ± 51.3
	女性(n = 7)		83.4 ± 10.6	83.1 ± 22.4	76.2 ± 19.9	89.1 ± 31.5

数値は平均値±標準偏差で示した。

* 摂取前と比較して $P < 0.05$

4. 尿検査

尿検査の結果、蛋白定性は全体において、摂取4週後に有意に上昇した。他の尿検査項目に、有意な変動は認められなかった。

Table 3-5 尿検査結果

		基準値	摂取前	摂取2週後	摂取4週後	摂取終了2週後
蛋白定性	全体 (n=18)		0.4 ± 0.7	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.5*	0.1 ± 0.2
	男性(n=11)	0	0.4 ± 0.7	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	女性(n=7)		0.6 ± 0.8	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.8	0.1 ± 0.4
糖定性	全体 (n=18)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	男性(n=11)	0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	女性(n=7)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
ウロビリノーゲン	全体 (n=18)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	男性(n=11)	0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	女性(n=7)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
ビリルビン	全体 (n=18)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	男性(n=11)	0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	女性(n=7)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
pH	全体 (n=18)		5.9 ± 0.4	6.0 ± 0.5	6.2 ± 0.7	6.1 ± 0.5
	男性(n=11)	4.8-7.5	6.0 ± 0.5	6.0 ± 0.6	6.1 ± 0.6	6.2 ± 0.5
	女性(n=7)		5.7 ± 0.3	5.9 ± 0.4	6.4 ± 0.9	5.9 ± 0.5
ケトン体	全体 (n=18)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	男性(n=11)	0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	女性(n=7)		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
潜血	全体 (n=18)		0.3 ± 0.8	0.2 ± 0.7	0.3 ± 0.8	0.2 ± 0.5
	男性(n=11)	0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0
	女性(n=7)		0.9 ± 1.1	0.6 ± 1.1	0.7 ± 1.1	0.4 ± 0.8

数値は平均値±標準偏差で示した。

* 摂取前と比較して $P < 0.05$

5. 有害事象

期間中に認められた6例の有害事象を Table 3-6 に示した。有害事象は便秘、下痢、感冒、生理痛、頭痛、のどの痛み、発熱、鼻水、皮膚の乾燥感であった。いずれの事象

も、発現日から一定期間を経て消失した。皮膚の乾燥感については被験者の自覚が発生したのが、症状が消失した日であり、発現日はさかのぼって特定した。いずれの事象も試験責任医師により試験食品摂取との因果関係はない判断され、試験は継続した。

Table 3-6 有害事象

被験者番号	事象名	発現日	期間(日)	試験食品との因果関係
2	便秘	摂取 2 日目	3	関連なし
	便秘	摂取 8 日目	1	関連なし
	便秘	摂取 12 日目	1	関連なし
	感冒	摂取 23 日目	3	関連なし
	便秘	摂取 26 日目	2	関連なし
	感冒	摂取終了 1 日目	3	関連なし
6	頭痛	摂取 14 日目	1	関連なし
	下痢	摂取 20 日目	1	関連なし
	頭痛	摂取 25 日目	1	関連なし
	頭痛	摂取終了 7 日目	1	関連なし
7	下痢	摂取 2 日目	1	関連なし
10	頭痛(目の疲れから)	摂取 3 日目	1	関連なし
12	生理痛	摂取 4 日目	1	関連なし
	のどの痛み	摂取 8 日目	2	関連なし
	のどの痛み, 発熱	摂取 10 日目	1	関連なし
	鼻水	摂取 11 日目	2	関連なし
	鼻水	摂取 15 日目	2	関連なし
	腹痛, 下痢	摂取終了 1 日目	1	関連なし
14	皮膚の乾燥感	摂取 15 日目	14	関連なし

第3節 考察

本章で使用したビルベリーエキスは、第2章においてビルベリーエキスの摂取に起因すると考えられる有害事象は報告されていなかった。また、これまでに雌雄のラットに 3000 mg/kg/day を 28 日間経口投与し、被験物質投与の影響による変化は観察されず毒性がないことが確認されている(株新薬リサーチセンターによる報告)。ルテインは2006年までに行われた臨床試験より OSL (Observed Safe level: 安全性が確認されている一日摂取量) は 20 mg/day であると報告されている⁵⁴。

市販されている眼を対象とするサプリメントには複数の成分が入っている商品が存在する。また、眼の健康が気になる人は関与成分が異なる複数のサプリメントを摂取することが想定できる。しかしながら、ビルベリーエキスとルテインの同時摂取の安全性を示すデータはまだ少ない。水溶性のフラボノイド配糖体であるアントシアニンと、脂溶性のカロテノイド類であり血中においてはリポ蛋白に取り込まれて輸送されるルテインは⁵⁵、分布過程における薬物動態学的な相互作用は低いと考えられる。また、ビルベリーエキス 120 mg とルテイン 6 mg を同時に 12 週間摂取した臨床試験において試験食品に由来する有害事象は認められなかったとの報告もある⁵⁶。しかし、カプセル状のサプリメントは通常の食品よりも誤飲により過剰摂取される可能性が考えられるため、本研究では健康な成人男女を対象としてビルベリーエキス 1440 mg とルテイン 120 mg を 4 週間同時に摂取させ、摂取前後の臨床検査値を比較して安全性を評価した。身体測定においては体重、BMI とともに摂取終了 2 週間後有意な上昇がみられたが生理的変動の範囲内であり、臨床上問題は無いと判断された。血液学検査の結果、女性において摂取 4 週間後の赤血球数が上昇し、摂取終了 2 週間後にヘモグロビンとヘマトクリット値の上昇が観察された。血液生化学検査の結果、摂取 2 週間後に無機リンの上昇、間接ビリルビンの上昇、ALT の低下および LAP の低下がみられ、摂取 4 週間後に Na と HbA1c の低下、摂取終了 2 週間後に Cl の低下がみられたが、以上はすべて基準値の範囲内であり、試験責任医師により臨床的な問題は無いと判断された。女性において摂取 4 週間後にアミラーゼが上昇したが、試験食品の摂取により基準値をはずれた被験者はいなかった。アラキドン酸とエイコサペンタエン酸に観察された摂取終了 2 週間後の有意な上昇、尿酸の有意な上昇は一部基準値を外れた被験者が存在し、摂取 4 週間後に尿蛋白定性試験がプラスになった被験者が 1 名存在したが、検査値を精査した試験責任医師により臨床上の問題は無いと結論づけられた。また試験期間中に観察された有害事象は、試験食品摂取との因果関係は無いと判断された。

第 4 節 小括

本章ではビルベリーエキスを過剰摂取したときの安全性の確認をおこなった。以上の結果から、ビルベリーエキス 240 mg の 6 倍量である 1440 mg (VMA 533 mg) とルテイン 120 mg を同時に過剰量 4 週間継続摂取しても安全性に問題は無いと考えられた。次章ではビルベリーエキスを 240 mg、12 週間摂取したときの眼疲労に対する効果の検証的な試験をおこなうこととした。

第4章 ビルベリーエキス 240 mg、12 週間摂取による毛様体筋緊張抑制作用 —ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験—⁵⁷

1990 年以降、パソコン、スマートフォンなど目に近い位置で使用する VDT 機器を長時間見続けることによって毛様体筋が疲れて凝り固まりピント調節がうまくできなくなる、眼疲労症状を訴える人が増加している。第 2 章において、SBE 摂取が、VDT 作業負荷によって生じる輻輳・縮瞳・調節の機能の低下を回復させる効果があり、とくに縮瞳の機能低下に対しては抑制および回復効果があることが確認できた。しかし、VDT 作業により惹起される毛様体筋の調節緊張の抑制効果は確認できていなかった。

そこで本章では、SBE 摂取による VDT 負荷時の毛様体筋の調節緊張抑制と緩和の効果を結論づけるための総括的な試験として、SBE 摂取量を増やし、これまで行ってきた臨床試験の結果から統計学的根拠を設置した被験者数での有効性の確認、および SBE の長期間摂取による有効性の減弱作用の有無、長期間摂取時の安全性の確認を目的として、SBE 食品 12 週間摂取によるランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間試験を行った。

第 1 節 試験

1. 試験食品、試薬および材料

ビルベリーエキスは第 1 章と同等のものを使用し、ビルベリーエキスを 240 mg (VMA 89 mg) 含むハードカプセル (SBE) 1 カプセル、および SBE を含まない対照カプセル (プラセボ) 1 カプセルとした。試験食品の内容物の組成を Table 4-1 に示した。プラセボにはカラメル色素 68.0 mg を加え、SBE と外見上識別不能にした。

Table 4-1 試験食品組成 (mg / day)

	SBE	Placebo
Bilberry extract*	240.0	0
Dextrin	27.2	51.0
Starch	45.6	193.8
Calcium stearate	22.1	22.1
Silicon dioxide (fine)	5.1	5.1
Caramel color	0	68

*機能性関与成分

2. 試験デザインおよび対象

SBE の眼疲労症状に対する改善効果を評価するため、無作為化、二重盲検、プラセボ対照並行群間、ヒト臨床試験を行った。本試験は「ヘルシンキ宣言」、および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、試験計画は株式会社ヒューマ R&D 倫理審査委員会によって承認された (UMIN 試験 ID : UMIN000020866)。全ての被験者に対して試験参加前に十分な説明を行い、文書による同意を得た。眼疲労検査はメディスン 評価リサーチ検査センターにて実施し、安全性試験は医療法人社団ケイ・メディカルオフィス TOC ビル診療所にて実施した。

被験者は、㈱ヒューマ R&D が公募した、20 歳以上 60 歳未満の健康成人男女で、VDT 作業従事者、および眼の疲労の自覚者を選択した。試験前スクリーニングでは、問診、身体測定、血液検査、尿検査、眼疲労検査、および事前アンケート調査を行った。次のいずれかの基準にあてはまる者は試験から除外した。

1) 消化器、肝臓、膵臓、心臓、腎臓などに重篤な疾病、あるいは既往歴がある者、2) 現在、薬剤による治療を行っている者、3) 屈折異常(遠視、近視、乱視) 以外の眼疾患を有する者、4) 薬物・食物アレルギーの既往のある者、5) 薬物依存・薬物乱用で治療中もしくはその既往がある者、6) 夜間勤務がある等、勤務時間が不規則である者、7) レーシック手術(近視矯正手術)を受けた事がある者、8) 老眼鏡を使用している者、9) 現在ビルベリーエキス含有食品、及び眼精疲労改善が期待される医薬品、サプリメントを使用している者、10) 過去 1 ヶ月以内に治験に参加した者、11) 妊娠中、授乳中あるいは試験期間中、妊娠を希望する者、12) 過去 1 ヶ月以内に 200 ml を超える採血を受けている者、13) 試験責任医師もしくは試験分担医師が不適格と判断した者。

被験者の優位眼は試験前スクリーニング時に hole in card 法で決定した。

被験者は介入試験に関与しない割付責任者により性別と年齢が両群で等しくなるように無作為に群分けし、SBE 食品摂取群とプラセボ摂取群の 2 群に割付けた。割付責任者は試験食品を識別が容易ではない別の試験食品管理記号に置き換え盲検化し、試験食品管理記号は対応表とともに厳封し、開錠まで割付責任者が保管した。

被験者数はこれまでに報告した SBE 食品摂取と調節微動高周波成分の出現頻度(HFC) の試験の結果から、検出力が 0.8 以上になる被験者数を算出し、それ以上の人数となるように設定した。

3. 摂取方法とスケジュール

本試験はプラセボを対照とした二重盲検並行群間試験とした。摂取期間は 12 週間とした。被験者には、試験食品またはプラセボ食品を 1 日 1 回 1 カプセル、摂取期間中毎日摂取させ、それ以外はそれまでの日常生活を変えないように指導した。摂取は朝食前または昼食前の空腹時と指定した。

検査当日の試験の流れを図に示す (Fig. 4-1)。各被験者には来場後、アイマスクを着用して 10 分間安静にして休息させたのち、負荷前検査に調節微動高周波成分の出現頻度 (HFC) の測定を実施した。測定は各被験者に対して最初に優位眼、次に非有意眼の順番で行った。

負荷前検査後、照度 500 ± 50 lux の部屋で VDT 作業負荷を 40 分間与えた。負荷内容はスマートフォン (iPhone5) を用い、被験者の首に紐をかけて、画面と眼が 30 センチメートル以内の位置になるよう本体を固定してゲームをさせ、同一条件の VDT 負荷となるようにした。ゲームは単純な落ち物ゲームである Tetris®を採用した。VDT 作業終了後 1 分以内に負荷後検査として再度 HFC 値の測定を行った。

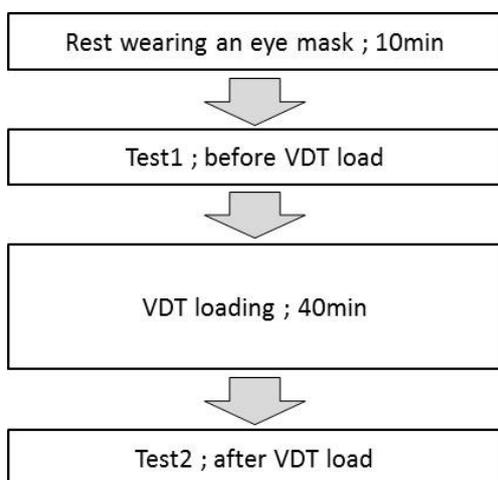


Fig. 4-1 検査スケジュール

4. 検査項目

検査は、介入開始の当日である摂取 0 週目(0 w)、4 週目(4 w)、8 週目(8 w)および 12 週目(12 w)に眼検査 (HFC 測定) を行った。日誌の確認 (試験食品の摂取状況、健康状態、有害事象など) は毎日行った。安全性検査はスクリーニング (SCR) 時および摂取 12 週目に行った。

Table 4-2 検査項目と検査スケジュール

Examination period	SCR	0w	4w	8w	12w
Ophthalmic examination (HFC)	●	●	●	●	●
Anthropometric	●				●
Doctor's questions	●				●
Blood test / Urinary test	●				●
Diary		←—————→			

4.1. 眼疲労検査

第2章「2. AA-2を用いたビルベリーエキス臨床試験」で使用したオートレフケラトメーターARK-560A（ニデック社）に搭載した眼調節機能解析ソフトウェアAA-2（ニデック社）を用いてHFCを測定し、HFC-1領域のフラクシオンにおけるHFC値の平均値のHFC-1値を解析に使用した。

4.2. 安全性評価

安全性の評価として、試験開始前後に血液検査、尿検査、身体測定、問診を行った。有害事象については、摂取した試験食品との因果関係の有無を問わずに、試験期間中に試験食品が摂取された際に起こる、あらゆる好ましくない、あるいは意図しない兆候、症状、病気のこととし、発現内容を確認した。

5. 統計処理

HFC-1値およびHFC-1値変化量の群間比較は共分散分析を実施した。有意水準は両側検定で10%未満を有意傾向、5%未満を有意差とした。

解析はSAS 9.3（SAS Institute, Inc.）とMicrosoft Excel 2013（Microsoft Corp.）を用いて行った。

第2節 結果

1. 被験者背景

被験者数は、第2章のトライイリスを用いたビルベリーエキス臨床試験の結果を用いて決定した。眼の疲労感の他覚的評価項目としてHFC値を使用し、有意水準を5%未満

としたとき、検出力が 0.8、0.9 とするために必要な被験者数がそれぞれ 88 名、117 名となった。試験期間中に被験者が脱落した場合でも検出力 0.8 以上となるよう、目標症例数を 120 名とした。

被験者募集期間は 2016 年 1 月 18 日～2 月 29 日、本試験期間は 2016 年 4 月 11 日～7 月 21 日であった。被験者の選択は、試験前 1 次スクリーニングとして 206 名に血液検査、尿検査、アンケートを行い、その結果から 175 名を選択した。さらに 2 次スクリーニングとして 161 名（14 名は自己都合により辞退）に HFC-1 値測定を行い、その結果から 120 名を適格被験者と判断した。

適格被験者 120 名中 38 名が男性、82 名が女性であった。平均年齢は 35.16 ± 7.38 歳であった。試験開始後に自己都合により 11 名が辞退し、残りの 109 名（プラセボ群 54 名、SBE 食品群 55 名）が所定のスケジュールおよび試験内容を全て終了した。109 名の被験者情報を Table 4-3 に示す。解析症例は、HFC-1 測定では 109 名中、全ての検査を検査員の指示通り進められた 97 名を対象とした。

Table 4-3 被験者情報

Variables	Placebo	SBE
Gender (male / female) (n)	54 (16 / 38)	55 (18 / 37)
Age (years)	35.46 ± 6.96	36.18 ± 7.14
Height (cm)	163.72 ± 8.03	163.11 ± 8.71
Body weight (kg)	56.78 ± 8.71	57.77 ± 10.65
Body mass index (kg/m ²)	21.06 ± 2.30	21.58 ± 3.13

2. HFC-1 値からみる眼疲労への効果

試験食品摂取 0 週目、4 週目、8 週目、12 週目の負荷前および負荷後 HFC-1 値を確認した。摂取 0 週目の負荷後（プラセボ群：50.72、SBE 群：52.21）を共変量としたとき、摂取 8 週目（プラセボ群：51.13、SBE 群：50.64； $P=0.014$ ）と 12 週目の負荷後 HFC-1 値（プラセボ群：50.67、SBE 群：50.65； $P=0.017$ ）で、プラセボ群より SBE 群の HFC-1 値が有意に低下した（Table 4-4、Fig. 4-2A）。また、負荷前と負荷後の差値（変化量）において、摂取 0 週目の変化量（プラセボ群：0.123、SBE 群：1.135）を共変量としたとき、4 週目（プラセボ群：1.296、SBE 群：0.478； $P=0.018$ ）と 12 週目（プラセボ群：0.347、SBE 群：0.053； $P=0.049$ ）でプラセボ群より SBE 群が有意に低い値を示した（Table 4-4、Fig. 4-2B）。

Table 4-4 HFC-1 値

		Placebo (n=48)	SBE (n=49)
		Mean ± SD	Mean ± SD
0w	Before VDT load	50.60 ± 4.13	51.08 ± 3.84
	After VDT load	50.72 ± 4.28	52.21 ± 4.16
	Variation (relative change)	0.123 ± 2.66	1.135 ± 2.17
4w	Before VDT load	49.51 ± 4.13	50.90 ± 5.04
	After VDT load	50.81 ± 4.92	51.37 ± 4.29
	Variation (relative change)	1.296 ± 3.24	0.478 ± 3.42*
8w	Before VDT load	50.94 ± 4.93	50.08 ± 4.68
	After VDT load	51.13 ± 5.19	50.64 ± 4.70*
	Variation (relative change)	0.187 ± 3.08	0.556 ± 3.04
12w	Before VDT load	50.32 ± 4.33	50.59 ± 4.20
	After VDT load	50.67 ± 5.13	50.65 ± 4.03*
	Variation (relative change)	0.347 ± 3.65	0.053 ± 2.67*

* $P < 0.05$ vs. placebo group.

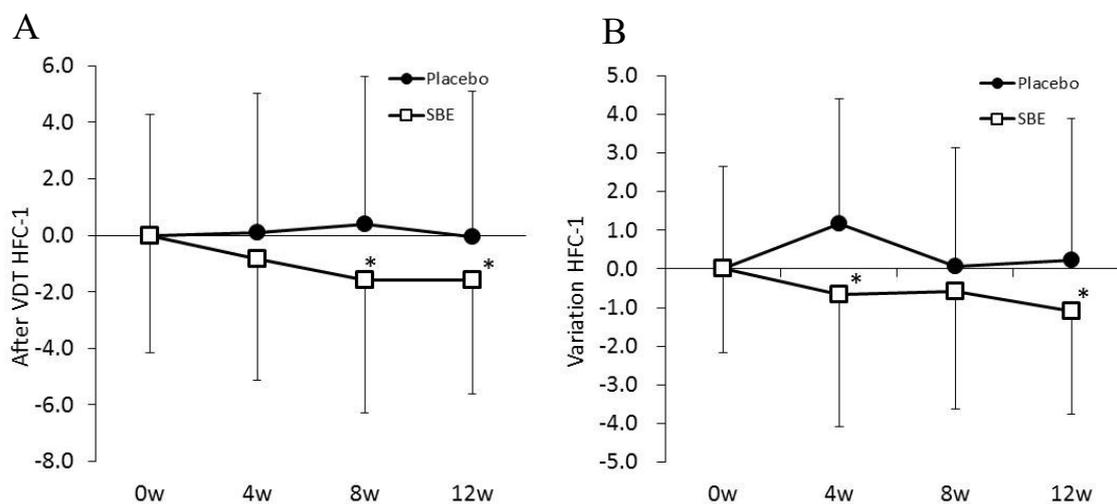


Fig. 4-2 0w の値を基準としたときの 4、8、12w の値の変化 : (A) 負荷後 HFC-1 値の変化 ; (B) HFC-1 値の変化量の変化. * $P < 0.05$ vs. placebo group.

3. 安全性

被験者（109名）を対象に医師による問診ならびに日誌による試験期間中の有害事象発生状況を調査した。同一被験者に同一の有害事象が複数発生した場合を1件と数えた（Table 4-5）。発生した有害事象すべてにおいて、医師により試験食品とは無関係であると判断された。また、一般血液検査および血液生化学検査、尿検査でも試験食品摂取による変化は見られなかったと医師により判断された。

Table 4-5 有害事象

有害事象	Placebo (n=54)	SBE (n=55)
感冒	12件	10件
頭痛	11件	18件
腹痛、下痢	6件	6件
生理痛	3件	4件
その他	17件	24件

第3節 考察

本試験は眼の疲労感を訴える健常者を対象として、SBEを1日240mg、12週間摂取させ、VDT負荷により生じる毛様体筋緊張を指標とする眼の疲労感の抑制緩和効果を確認した。健常成人男女109名を対象としたランダム化二重盲検プラセボ群間試験は、近年の眼疲労に関する臨床試験の中でも大規模なものとなった。

人間の眼は静止視標を固視するとき、自覚的には屈折値は静止しているように感じるが、実際毛様体筋は緊張と弛緩を繰り返しており、それによって屈折値には正弦波様の揺らぎが観察される。この揺らぎは調節微動と呼ばれ、ゆっくりした揺らぎ（0.6Hz未満）の低周波成分と、比較的早い揺らぎ（1.0~2.3Hz）の高周波成分に分けられる。低周波成分はピント位置を調整する調節運動によって生じ、高周波成分は水晶体屈折力の振動に起因し、毛様体筋の活動状態を反映すると考えられている^{58, 59, 60}。本試験でも第2章と同様にHFC-1値を眼疲労の評価として使用した。そして各群の摂取前値の影響を取り除くため共分散分析（ANCOVA）にて群間比較を行った。

SBEの継続摂取の結果、摂取8週目および12週目のVDT作業負荷後HFC-1値がプラセボと比較して有意に減少し、SBEがVDT負荷に対する毛様体筋の調節緊張を抑制したことが示された。さらにVDT負荷前と負荷後のHFC-1値の差値について、4週目および12週目でプラセボに比べ有意に差が小さくなり、SBE摂取によってVDT負荷

による毛様体筋調節緊張を緩和させたことが示された。第 2 章に比べ SBE 摂取量を増加させたことにより、疲労回復だけでなく疲労抑制および緩和作用も示された。Yao ら⁴⁵の報告でも用量依存的に ORAC および SOD の濃度が増加して抗酸化作用が強まることを示しており、摂取量を増やすことに一定の効果増大作用がある可能性が示された。さらに摂取 12 週間目まで効果がみられたことから、SBE を長期的に継続摂取しても効果は減弱しないことが示された。平成 21 年に行われた東京都の調査では、健康食品を毎日使用していると回答した人は 17.6%であり⁶¹、長期間継続使用しても効果が減弱しないことを確認することは、継続摂取を促す健康食品においては重要であると考えられる。

第 4 節 小括

本章ではビルベリーエキスの毛様体筋緊張による眼疲労に対する有効性を検証的に評価するため、被験者数を過去の試験結果と検出力から算出し、ビルベリーエキスを評価する眼疲労試験では最大規模の試験を行った。結論として、SBE 240 mg を 12 週間継続経口摂取することで、VDT 作業や近見作業等による毛様体筋の調節緊張を抑制・緩和させることが確認された。

総括

ビルベリーエキスは、欧州において古くから食用及び伝統医療に利用されてきた西洋ハーブの一種であり、現在では、イタリア、フランスなどで血管疾患及び眼疾患の治療用医薬品として認可され、その機能性が高く評価されている⁶²。日本では眼の疲労に対する健康食品として広く利用されているが、どのようなビルベリーエキスが、どのような眼疲労に対して有効であるかを網羅的に検証している研究はなかった。

本研究の第1章では、特定の基原、抽出方法で製造したビルベリーエキスを用い、ビルベリーエキスを経口摂取したときのアントシアニンの血中移行性を確認した。アントシアニンは生体内では代謝が早いことが分かっており、代謝物も測定するため酸加水分解処理をおこないアントシアニンとして定量した。被験者12名に対し、摂取量160 mg、320 mg および 480 mg の3段階に設定したオープンスイッチング試験を実施した結果、ビルベリーエキス中に含まれるVMAは摂取後急速に吸収され、総アントシアニンは3用量全て1.5時間で T_{max} に達し、AUCは、160 mgと比較し、320 mgでは2.2倍、480 mgでは3.5倍となり、摂取量依存的に生体への吸収量が増えることが確認された。Kaltらの報告²⁸より、ブタへの4週間の経口投与の結果、眼および小脳にもアントシアニンが分布していることが確認されており、ヒトでも4週間以上摂取することで眼にも分布する可能性が考えられた。

次に、第2章では第1章でアントシアニンの吸収性が確認されたビルベリーエキスを用い、ビルベリーエキスの眼疲労に対する有効性を検証する臨床試験として、近見反応の3要素である縮瞳、輻輳、調節への効果を確認した。縮瞳、輻輳に対しては検査機器「トライリス®」を用いビルベリーエキスの摂取量は160 mg (VMA 59 mg) で被験者30名とし、調節に対しては「AA-2」を用い摂取量は107 mg (VMA 40 mg) で被験者24名とし、摂取期間はどちらも4週間のランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間試験を実施した。眼疲労は近見反応時に起こりやすいため、検査前にVDT作業負荷を与え、一時的に眼疲労させた。眼精疲労時には、調節刺激に対する瞳孔反応が減衰し、縮瞳率が低下することが知られているが、ビルベリーエキス摂取4週間後には、VDT作業負荷後の縮瞳率だけでなく、瞳孔移動距離より判別した輻輳に対する効果も確認できた。さらに、毛様体筋の調節過多による筋肉疲労が原因で生じる調節微動高周波成分の出現頻度も低下した。これらの結果より、縮瞳、輻輳、調節に対する眼疲労の回復にビルベリーエキスの摂取が有効であることが示唆された。

そこでさらに摂取量、摂取期間、および被験者数を増やして検証的な試験を行うこととし、第3章ではまず安全性を確認した。摂取量 240 mg の 6 倍量である 1440 mg を 4 週間摂取しても安全性に問題がないことを確認した。

第4章では第2章で確認できていないビルベリーエキスの VDT 作業負荷後の調節による眼疲労の抑制効果を、眼疲労への有効性を確認している試験の中でも最大規模の 109 名で実施し、さらに摂取量 240 mg (VMA 89 mg) を 12 週間継続摂取とし、検査を摂取 0、4、8 および 12 週目に実施した。これらの結果よりビルベリーエキス摂取 4、8 および 12 週目で VDT 負荷に対する毛様体筋の調節緊張を抑制または緩和させたこと、12 週間という長期間継続的に摂取しても眼疲労に対する効果は減弱しないことが示された。

平成 21 年に行われた東京都の調査では、健康食品を使用したことのある人は 61.7 % で、毎日使用していると回答した人は 17.6 % であった⁶¹。国民の健康食品の利用率が高まる中で、2015 年から機能性表示食品制度が開始された。本研究ではビルベリーエキスの吸収性および眼疲労に対する有効性を科学的に検証し、機能性表示食品としての要件を満たすビルベリーエキスの研究開発を行った。超高齢社会が進む日本において、国民の健康の維持増進は急務であり、健康食品の安全性、有効性の検証は今後必須となることが予想される。本研究は、健康食品の研究開発の一助となると考える。

謝辞

本学位論文の執筆に際し、終始懇切丁寧な御指導を賜りました城西国際大学 学長 杉林 堅次 先生、城西大学薬学部薬粧品動態制御学講座准教授 藤堂 浩明 先生に深甚なる謝意を表します。

また、本研究の遂行にあたり終始有益な御指導、御助言を賜りました北海道医療大学 病院 病院長 北市 伸義 先生、株式会社オムニカ 高尾 久貴 社長に心から感謝を申し上げます。

本学位論文の審査をいただきました城西大学薬学部機能性食品科学研究室教授 古旗 賢二 先生、城西大学薬学部食毒性学研究室教授 和田 政裕 先生、城西大学薬学部分子栄養学研究室教授 清水 純 先生に深く感謝申し上げます。

最後に、本研究の遂行にあたり、多大なご協力、ご支援をいただいた株式会社オムニカ 研究開発部、製造本部、営業本部の皆様にご深く感謝申し上げます。

引用文献

- ¹ 荒井綜一. 食品の機能—その研究の現状と未来像—. 日本家政学会誌 1997; 48: 645-52.
- ² 健康産業オンライン 2019年1月15日 健康産業新聞 HP. https://www.kenko-media.com/health_idst/archives/11674
- ³ Kalt W, McDonald JE, Ricker RD, Lu X. Anthocyanin content and profile within and among blueberry species. Can J Plant Sci. 1999; 79: 617-23.
- ⁴ Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. J Agric Food Chem. 2006; 54: 4069-75.
- ⁵ Fang J. Bioavailability of anthocyanins. Drug Metab Rev. 2014; 46: 508-20.
- ⁶ Araceli Castañeda-Ovando, Ma. de Lourdes Pacheco-Hernández, Ma. Elena Páez-Hernández, José A. Rodríguez, Carlos Andrés Galán-Vidal, Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry 2009; 113: 859-871、
- ⁷ Jayle GE, Aubry M, Gavini H, Braccini G, De la Baume C. Study concerning the action of anthocyanoside extracts of Vaccinium Myrtillus on night vision. AnnOcul. 1965; 198:556-562.
- ⁸ Urso G. Effect of Vaccinium myrtillus anthocyanosides associated with betacarotenes on light sensitivity. Ann Ottalmol Clin Ocul. 1967; 93: 930-938.
- ⁹ Zavarise G. Effect of prolonged treatment with anthocyanosides on light sensitivity. Ann Ottalmol Clin Ocul. 1968; 94: 209-214.
- ¹⁰ Levy Y, Glovinsky Y. The effect of anthocyanosides on night vision. Eye (Lond) 1998; 12: 967-969.
- ¹¹ G.O.Bravetti. Preventive Medical Treatment of Senile cataract with VitaminE and Vaccinium Myrtillus Anthocyanosides:Clinical Evaluation. Ann Ortaimal Clin Ocul 1989; 115: 109-116.
- ¹² 梶本修身, 佐々木憲一, 高橋丈生. 受験期の児童を対象とした仮性近視者に対するブルーベリーエキスの視力回復効果について. 新薬と臨床 2000; 49: 72-79.
- ¹³ 小出良平, 植田俊彦. 視機能に及ぼすホワートルベリーエキスの効果. あたらしい眼科 1994; 11: 117-121.
- ¹⁴ 梶本修身, 大谷寛成, 小笠賢一. ブルーベリーの機能と効果 ブルーベリーエキスにおける精神疲労及び眼精疲労に及ぼす作用の臨床的検討 総合医科学研究所共同研究報

告. 食品工業 1998; 41: 29-35.

¹⁵ 瀬川潔, 橋本賢次郎, 川田晋. VDT 作業負荷による眼精疲労自覚症状および調節機能障害に対するビルベリー果実由来アントシアニン含有食品の保護的効果. 薬理と治療 2013; 41: 155-165.

¹⁶ 岩崎常人. 眼精疲労の測定方法と評価 : CFF と AA-1. 眼科 2009; 51: 387-395.

¹⁷ Hong Wang, Guohua Cao, Ronald L. Prior. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. *J Agric Food Chem.* 1997; 45: 304-309.

¹⁸ Zheng W, Wang SY. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 502-509.

¹⁹ Iva Fernandes, Ana Faria, Conceição Calhau, Victor de Freitas, Nuno Mateus, Bioavailability of anthocyanins and derivatives. *Journal of Functional Foods.* 2014; 7: 54-66.

²⁰ Wrolstad RE, Dursta RW, Leeb J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci Technol.* 2005; 16: 423-428.

²¹ T. Goto, T. Kondo. Structure and Molecular Stacking of Anthocyanins—Flower Color Variation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1991; 30: 17-33.

²² Ronald E. Wrolstad, Robert W. Durst, Jungmin Lee. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci. Technol.* 2005; 16: 423-428.

²³ Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81(1 Suppl): 230S-242S.

²⁴ Czank C, Cassidy A, Zhang Q, Morrison DJ, Preston T, Kroon PA, Botting NP, Kay CD. Human metabolism and elimination of the anthocyanin, cyanidin-3-glucoside: a (13)C-tracer study. *Am J Clin Nutr.* 2013; 97(5): 995-1003.

²⁵ Mueller D, Jung K, Winter M, Rogoll D, Melcher R, Richling E. Human intervention study to investigate the intestinal accessibility and bioavailability of anthocyanins from bilberries. *Food Chem.* 2017; 231: 275-286.

²⁶ Yi W, Akoh CC, Fischer J, Krewer G. Absorption of anthocyanins from blueberry extracts by caco-2 human intestinal cell monolayers. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(15): 5651-8.

²⁷ McGhie T. K., Ainge G. D., Barnett L. E., Cooney J. M., Jensen D. J. Anthocyanin glycosides from berry fruit are absorbed and excreted unmetabolized by both humans and rats. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 4539-4548.

-
- ²⁸ Kalt W, Blumberg JB, McDonald JE, Vinqvist-Tymchuk MR, Fillmore SA, Graf BA, O'Leary JM, Milbury PE. Identification of anthocyanins in the liver, eye, and brain of blueberry-fed pigs. *J Agric Food Chem*. 2008; 56(3): 705-12.
- ²⁹ Bornsek SM, Zibera L, Polak T, et al. Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells. *Food Chem*. 2012;134(4):1878-1884.
- ³⁰ 小齊平麻里衣, 北市伸義. 標準ビルベリー果実抽出物による眼疲労改善効果. *薬理と治療* 2015; 43: 397-403.
- ³¹ 小齊平麻里衣, 高尾久貴, 葉山隆一, 堀江幸広, 北市伸義. ビルベリー果実由来特定アントシアニン摂取による VDT 負荷眼疲労の回復効果. *薬理と治療* 2015; 43: 1339-1346.
- ³² 平成 20 年技術革新と労働に関する実態調査結果の概況. 厚生労働省.
<https://www.mhlw.go.jp/toukei/list/48-20.html>
- ³³ 平成 29 年版情報通信白書. 総務省.
<http://www.soumu.go.jp/johotsusintokei/whitepaper/ja/h29/pdf/index.html>
- ³⁴ Matsumoto H, Nakamura Y, Iida H, Ito K, Ohguro H. Comparative assessment of distribution of blackcurrant anthocyanins in rabbit and rat ocular tissues. *Exp Eye Res*. 2006; 83(2): 348-56.
- ³⁵ Miyake S, Takahashi N, Sasaki M, Kobayashi S, Tsubota K, Ozawa Y. Vision preservation during retinal inflammation by anthocyanin-rich bilberry extract: cellular and molecular mechanism. *Lab Invest*. 2012; 92: 102-9.
- ³⁶ Matsunaga N, Tsuruma K, Shimazawa M, Yokota S, Hara H. Inhibitory actions of bilberry anthocyanidins on angiogenesis. *Phytother Res*. 2010; 24(Suppl 1): S42-7.
- ³⁷ 平岡満里, 諸田麻里子, 遠矢ゆかり, 袴田直俊. 近見三微測定装置-調節の他覚的量的測定への応用. *日眼会誌* 2003; 107: 702-708.
- ³⁸ 梶田雅義, 海貝尚史, 仲野隆久, 天野浩之, 竹野隆太, 梶本修身. クロセチン高含有クチナシ抽出物による眼精疲労改善効果. *視覚の科学* 2007; 28: 77-84.
- ³⁹ 平岡満里. 調節の他覚的測定. *神目* 2005; 22: 348-353.
- ⁴⁰ 梶田雅義. 調節応答と微動. *眼科* 1998; 40: 169-177.
- ⁴¹ Kajita M, Ono M, Suzuki S, Kato K. Accommodative microfluctuation in asthenopia caused by accommodative spasm. *Fukushima J Med Sci*. 2001; 47: 13-20.
- ⁴² 梶田雅義, 篠原眞美, 鈴木説子. IT 機器使用による調節機能変化の検討. *日本眼科医学会 IT 眼症と環境因子研究班業績集 2002-2004* ; 100-103.

-
- ⁴³ 高橋奈々子, 加藤未央, 梶田雅義. IT 機器使用後の休息と調節機能変化. 視覚の科学 2004; 25: 78-81.
- ⁴⁴ Luo H, Lv XD, Wang GE, Li YF, Kurihara H, He RR. Anti-inflammatory effects of anthocyanins-rich extract from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) on croton oil-induced ear edema and *Propionibacterium acnes* plus LPS-induced liver damage in mice. *Int J Food Sci Nutr*. 2014; 65: 594-601.
- ⁴⁵ Yao N, Lan F, He RR, Kurihara H. Protective effects of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract against endotoxin-induced uveitis in mice. *J Agric Food Chem*. 2010;58(8):4731-4736.
- ⁴⁶ McKenna MJ, Medved I, Goodman CA, Brown MJ, Bjorksten AR, Murphy KT, Petersen AC, Sostaric S, Gong X. N-acetylcysteine attenuates the decline in muscle Na⁺,K⁺-pump activity and delays fatigue during prolonged exercise in humans. *J Physiol*. 2006; 576: 279-88.
- ⁴⁷ Brickson S, Ji LL, Schell K, Olabisi R, St Pierre Schneider B, Best TM. M1/70 attenuates blood-borne neutrophil oxidants, activation, and myofiber damage following stretch injury. *J Appl Physiol (1985)*. 2003; 95: 969-76.
- ⁴⁸ 廣田淳子, 小齊平麻里衣, 竹田義彦, 久保明. 健常な成人男女を対象とした標準ビルベリーエキスおよびルテインの同時過剰摂取安全性試験—非盲検単群試験—. 薬理と治療 2019; 47: 1287-1295.
- ⁴⁹ EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific Opinion on the re - evaluation of anthocyanins (E 163) as a food additive. *EFSA Journal* 2013; 11: 3145.
- ⁵⁰ US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory. USDA national nutrient database for standard reference, release 28. Version current: September 2015 slightly revised May 2016.
- ⁵¹ Perry A, Rasmussen H, Johnson EJ. Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *J Food Compos Anal*. 2009; 22: 9-15.
- ⁵² WHO Food Additives Series: 54, Safety evaluation of certain food additives. 2006; 49-86.
- ⁵³ EFSA ANS Panel, “Scientific opinion on the re-evaluation of lutein (E 161b) as a food additive,” *EFSA Journal*, vol. 8, no. 7, article 1678, 2010.
- ⁵⁴ Shao A, Hathcock JN. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2006; 45: 289-298.
- ⁵⁵ Borel P, Desmarchelier C, Nowicki M, Bott ⁶² Morange S, Lesavre N. Interindividual

variability of lutein bioavailability in healthy men: characterization, genetic variants involved, and relation with fasting plasma lutein concentration. *Am J Clin Nutr.* 2014; 100(1): 168-75.

⁵⁶ 勝田徹, 鴨下泉, 久保明. ビルベリーエキス, ルテイン含有食品摂取による眼機能への有効性検証試験—二重盲検プラセボ対照並行群間ランダム化比較試験— 薬理と治療 2018; 46; 1013-21.

⁵⁷ Kosehira M, Machida N, Kitaichi N. A 12-Week-Long Intake of Bilberry Extract (*Vaccinium myrtillus* L.) Improved Objective Findings of Ciliary Muscle Contraction of the Eye: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group Comparison Trial. *Nutrients.* 2020; 12: 600.

⁵⁸ Campbell, F.W., Robson, J.G., Westheimer, G. Fluctuations of Accommodation under Steady Viewing Conditions. *J. Physiol.* 1959, 145, 579–594.

⁵⁹ Winn B, Pugh JR, Gilmartin B, Owens H. Arterial pulse modulates steady-state ocular accommodation. *Curr Eye Res.* 1990; 9 :971-5

⁶⁰ Gray LS, Winn B, Gilmartin B. Effect of target luminance on microfluctuations of accommodation. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1993; 13: 258-65.

⁶¹ 東京都福祉保健局. 平成 21 年度「都民の健康と医療に関する実態と意識」. 2009 年 https://www.fukushihoken.metro.tokyo.lg.jp/kiban/chosa_tokei/zenbun/heisei21/index.html

⁶² Mills, S. Y. ed., “European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP) Monographs”, 2nd Ed., New York, Thieme Publishers, 2003, p345-350 (ISBN 3-1312- 9421-3).