



シルクフィブロインの 血清脂質および糖代謝能に対する機能性と 安全性の層別解析

吉川育矢¹⁾ / 長島孝行²⁾ / 板倉弘重³⁾

Stratified Analysis of Functionality and Safety Against Serum Lipid and Sugar Metabolism of Silk Fibroin

Ikuya YOSHIKAWA¹⁾ / Takayuki NAGASHIMA²⁾ / Hiroshige ITAKURA³⁾

1) Doctor Serum Co., Ltd.

2) Tokyo University of Agriculture Faculty of Agriculture Department of Agriculture

3) Shibaura Three-one Clinic

はじめに

健康の維持・増進には、腸内環境を良好な状態に維持することが大切である。これまでに腸内環境に影響するさまざまな食品成分が研究され、内臓脂肪、血糖、血清脂質、血圧、さらに免疫能や神経系にも影響することが報告されている。

蚕の繭からとれるシルクタンパク質は、セリシン(20～30%)とフィブロイン(80～70%)の2種類のタンパク質からなり、その構成比やアミノ酸組成は蚕により異なることが知られている¹⁾。シルクフィブロインは、多孔性の3次元構造を有し、体内で消化され難い難消化性の無味無臭のタンパク質で、ゲル化しやすく発泡性が強い性質のため食品素材としてブラマンジェ(冷菓)、スポンジケーキ、ヨーグルトゼリー、白玉団子などに利用されている²⁾。また、シルクフィブロインは、腸管内の一部の脂肪および糖を孔に取り込み、吸着してそのまま体外に排出する作用のあることが報告されており、栄養機

能食品として糖代謝能、脂質代謝能を改善することが臨床試験で確認されている。

いわゆる健康食品は、その機能性によって病気に罹患していない人の健康の維持および増進を期待する目的で摂取されるものである。そこで、筆者らは、未病すなわち「病気ではないが、健康でもない状態」に着目して、筆者らが実施した健常人を含めた臨床試験のシルクフィブロイン摂取前の検査値データ³⁾を日本糖尿病対策推進会議編「糖尿病治療のエッセンス(2012年版)」、日本動脈硬化学会ガイドラインの管理目標値および日本人間ドック学会ガイドラインの判定および事後指導区分を基に、正常域、未病域、要医療域として区分し、それぞれに管理基準値を設けて層別解析によってシルクフィブロインの脂質代謝能、糖代謝能および肝機能に対する機能性と安全性について検証したので報告する(以下、「本研究」という)。

1. 対象および試験方法

1. 被験品

被験品は、長島らの方法(製法特許 第4074923号)に従って作製した、内容量10gのゼリータイプでシルクフィブロインとして200mgを含有した

1) ドクターセラム株式会社 代表取締役

2) 東京農業大学農学部農学科 教授

3) 芝浦スリーワンクリニック名誉院長

表1 血液検査値の管理基準

検査項目		管理区分	管理基準値
血清脂質 代謝能	総コレステロール (mg/dL)	正常域 未病域 要医療域	< 190 190 ~ 259 260 ≤
	HDL コレステロール (mg/dL)	正常域 未病域 要医療域	50 ≤ 35 ~ 49 ≤ 34
	LDL コレステロール (mg/dL)	正常域 未病域 要医療域	< 120 120 ~ 159 160 ≤
	中性脂肪 (mg/dL)	正常域 未病域 要医療域	< 120 120 ~ 399 400 ≤
糖代謝能	空腹時血糖 (mg/dL)	正常域 未病域 要医療域	< 100 100 ~ 125 126 ≤
	HbA1c (NGSP) (%)	正常域 未病域 要医療域	< 5.1 5.1 ~ 6.4 6.5 ≤
肝機能	AST (GOT) (IU/L)	正常域 未病域 要医療域	≤ 35 36 ~ 49 50 ≤
	ALT (GPT) (IU/L)	正常域 未病域 要医療域	≤ 35 36 ~ 49 50 ≤
	γ-GTP (IU/L)	正常域 未病域 要医療域	≤ 55 56 ~ 99 100 ≤

① 正常域 (異常なし)

② 未病域 (要経過観察 / 食事療法 / 運動療法)

③ 要医療域 (薬物療法, 要経過観察・生活習慣改善 / 食事療法 / 運動療法, 合併症精査, 要医療)

もの (以下、「本被験品」という) が使用された。

2. 対象および試験方法

被験者は、2006年9月から2012年4月の間にあさひ医王クリニック、保健科学研究所 (旧東京臨床検査センター) およびその関連施設に来院した健常者を含む男女1,696例であった。本被験品の摂取方法は、毎食前に1回1包、1日3回の4週間連続摂取である (以下「本試験」という)。ただし、試験開始前4週間以内に行われた治療に関しては、それまでに使われていた内服薬等は用法・用量を変更することなしに継続して使用し、本被験品を上乗せして摂取させた。

なお、本試験は、医師の管理のもとにヘルシンキ

宣言に基づく倫理的原則の精神に沿って実施し、被験者には十分な説明を行い、理解した上で、自由意志によりインフォームドコンセントで同意を得て行われた。

3. 測定項目

本試験においては、本被験品の摂取前および摂取4週間後に採血し、総コレステロール値、中性脂肪値、LDLコレステロール値、HDLコレステロール値、空腹時血糖値、HbA1c値 (NGSP)、AST (GOT)、ALT (GPT)、γ-GTPが測定された。

4. 臨床検査値の管理区分

管理区分は、正常域、未病域、要医療域の3区分を設定した。「正常域」は、数値に異常がみられな

表2 血液検査値の層別解析結果

項目	管理区分	N数	平均値 ± SD		対応のある t-検定	
			摂取前	摂取4週間後		
血清脂質代謝能	総コレステロール値 (mg/dL)	正常域	334	170.1 ± 15.9	176.0 ± 22.7	P < 0.0001
		未病域	951	221.0 ± 19.1	219.6 ± 26.3	P = 0.0312
		要医療域	195	282.4 ± 22.4	274.2 ± 33.4	P < 0.0001
	HDL コレステロール値 (mg/dL)	正常域	1,170	67.7 ± 13.9	67.6 ± 14.6	P = 0.8435
		未病域	296	44.1 ± 3.6	46.1 ± 6.6	P < 0.0001
		要医療域	27	30.8 ± 2.8	34.7 ± 4.5	P < 0.0001
	LDL コレステロール値 (mg/dL)	正常域	551	97.7 ± 16.5	101.4 ± 21.8	P < 0.0001
		未病域	639	138.1 ± 11.3	135.4 ± 20.0	P = 0.0001
		要医療域	303	182.1 ± 21.1	175.2 ± 29.0	P < 0.0001
	中性脂肪値 (mg/dL)	正常域	890	78.7 ± 22.3	85.1 ± 35.7	P < 0.0001
		未病域	573	184.9 ± 57.6	173.1 ± 90.2	P = 0.0011
		要医療域	30	592.0 ± 255.7	436.3 ± 303.7	P = 0.0011
糖代謝能	空腹時血糖値 (mg/dL)	正常域	1,066	88.6 ± 6.3	89.7 ± 9.3	P = 0.0002
		未病域	302	108.5 ± 6.9	107.3 ± 19.5	P = 0.2570
		要医療域	125	185.8 ± 65.3	162.3 ± 62.6	P < 0.0001
HbA1c 値 (NGSP) (%)	正常域	677	4.8 ± 0.2	4.8 ± 0.2	P = 0.0971	
	未病域	681	5.4 ± 0.3	5.4 ± 0.4	P < 0.0001	
	要医療域	135	7.9 ± 1.4	7.8 ± 1.4	P = 0.0127	
肝機能	AST (GOT) (IU/L)	正常域	1,361	21.5 ± 5.1	22.2 ± 6.7	P < 0.0001
		未病域	87	41.2 ± 4.2	40.4 ± 14.2	P = 0.5897
		要医療域	45	79.1 ± 52.4	67.6 ± 42.3	P = 0.0635
	ALT (GPT) (IU/L)	正常域	1,283	18.9 ± 6.5	19.5 ± 8.5	P = 0.0003
		未病域	104	41.2 ± 4.1	40.6 ± 12.4	P = 0.5702
		要医療域	106	84.6 ± 63.5	78.0 ± 55.3	P = 0.0675
γ-GTP (IU/L)	正常域	1,305	23.5 ± 11.0	24.2 ± 12.8	P < 0.0001	
	未病域	129	72.0 ± 12.2	75.4 ± 32.6	P = 0.1745	
	要医療域	59	176.4 ± 83.5	165.8 ± 94.5	P = 0.2089	

い状態、また、臨床検査値が人間ドックや健診で測定され、その結果に基づいて健康状態や生活習慣病発症リスクが評価されている。正常高値および軽度異常は、健康障害を引き起こすリスクが高いと考えられる。そのために、生活習慣の見直しが求められる。薬物療法が必要となる例（ケース）もあるが、主として食事、運動、休養などを主体とした対策が求められる。そこで、本研究では、新しい試みとしてこの状態を「未病域」と規定して区分した。「要医療域」は、最早“異常状態”にあり、病気と診断され、通院して薬物療法を含めて生活習慣改善指導などの医療を受けているか、受けることを必要とする状態として区分した（表1）。

5. 統計的検定

シルクフィブロインの有効性と安全性を評価する

ために、当該測定項目の摂取前と摂取4週間後の値を平均値 ± 標準偏差で示し、すべての群間について「対応のある t-検定」を用いて有意差検定を行った。有意差は両側検定で有意水準を $P < 0.05$ および $P < 0.001$ とした。

2. 結果

1. 目的と層別解析

本研究は、最終的にデータを収集することのできた健常者を含む被験者 1,493 名〔男性 57.3 ± 14.0 歳（308 例、欠測 3 例）、女性 56.1 ± 13.8 歳（1,166 例、欠測 16 例）〕を対象に、本被験品摂取前の臨床検査値を、① 正常域、② 未病域、③ 要医療域に区分し、本被験品を 4 週間連続摂取したときの血清脂質代謝能、糖代謝能および肝機能に関する本被

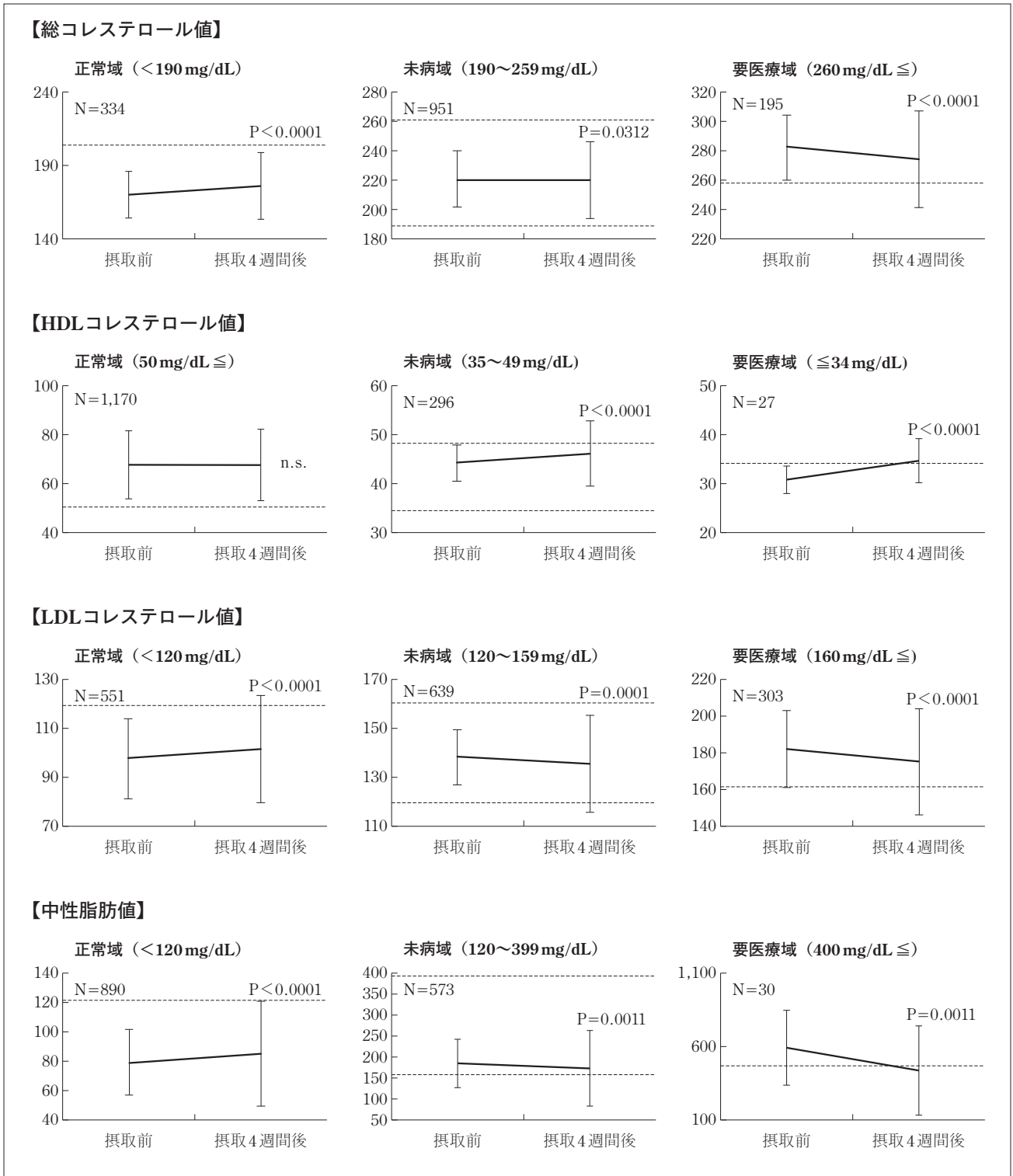


図1 血清脂質代謝能の経時変化 (平均値±SD, 対応のあるt-検定)

験品の機能性と安全性を階層別に検証することを目的とした(表2)。

2. 血清脂質代謝能

摂取前と摂取4週間後の血清脂質の経時変化を図1に示した。

1) 総コレステロール値

未病域における総コレステロール値は、摂取前 221.0±19.1 mg/dL, 摂取4週間後 219.6±26.3 mg/dL, 要医療域では、それぞれ 282.4±22.4 mg/dL, 274.2±33.4 mg/dL で摂取前に比べて有意な低下が確認された (P = 0.0312, P < 0.0001)。正常

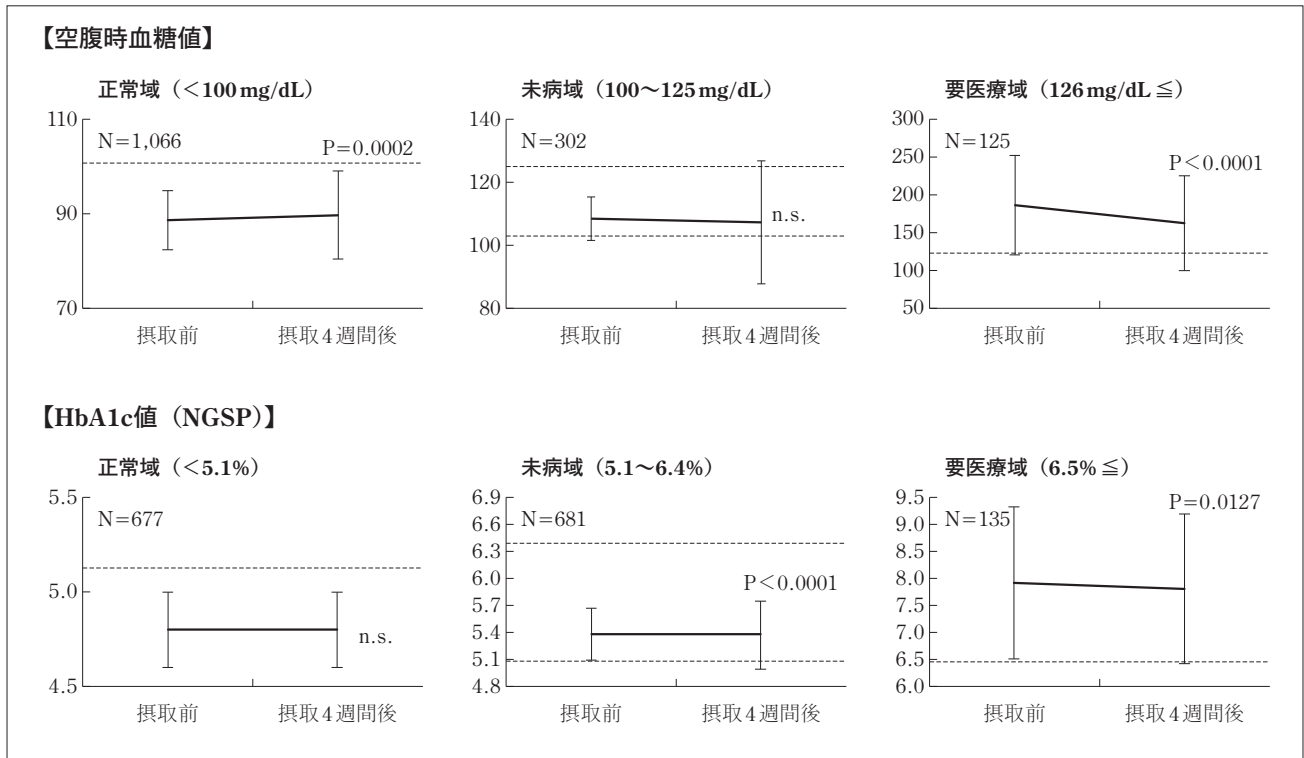


図2 糖代謝能の経時変化 (平均値±SD, 対応のあるt-検定)

域では有意な上昇を認めたが、正常域を逸脱するものではなく基準範囲内の変動であった。

2) HDL コレステロール値

未病域における HDL コレステロール値は、摂取前 44.1 ± 3.6 mg/dL, 摂取4週間後 46.1 ± 6.6 mg/dL, 要医療域では、それぞれ 30.8 ± 2.8 mg/dL, 34.7 ± 4.5 mg/dL で摂取前に比べて有意な上昇が確認された ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$)。正常域では、摂取前後で数値に変動はなく有意ではなかった。

3) LDL コレステロール値

未病域における LDL コレステロール値は、摂取前 138.1 ± 11.3 mg/dL, 摂取4週間後 135.4 ± 20.0 mg/dL, 要医療域では、それぞれ 182.1 ± 21.1 mg/dL, 175.2 ± 29.0 mg/dL で摂取前に比べて有意な低下が確認された ($P = 0.0001$, $P < 0.0001$)。正常域の摂取前後で有意な上昇を認めたが、基準範囲内での変動であった。

4) 中性脂肪値

未病域における中性脂肪値は、摂取前 184.9 ± 57.6 mg/dL, 摂取4週間後 173.1 ± 90.2 mg/dL, 要医療域では、それぞれ 592.0 ± 255.7 mg/dL, 436.3 ± 303.7 mg/dL で摂取前に比べて有意な低下が確

認された ($P = 0.0011$, $P = 0.0011$)。正常域の摂取前後で有意な上昇を認めたが、基準範囲内での変動であった。

3. 糖代謝能

摂取前と摂取4週間後の糖代謝能の経時変化を図2に示した。

1) 空腹時血糖値

未病域における空腹時血糖値は、摂取4週間後 107.3 ± 19.5 mg/dL と摂取前 108.5 ± 6.9 mg/dL に比べて低下が認められたが、統計学的には有意ではなかった。要医療域で 185.8 ± 65.3 mg/dL \rightarrow 162.3 ± 62.6 mg/dL と有意な低下を示した ($P < 0.0001$)。正常域において、統計学的には有意な上昇 (+0.6 mg/dL) を認めたが、その程度はわずかで基準範囲内の変動であった。

2) HbA1c 値 (NGSP)

未病域および要医療域で、それぞれ $5.4 \pm 0.3\% \rightarrow 5.4 \pm 0.4\%$, $7.9 \pm 1.4\% \rightarrow 7.8 \pm 1.4\%$ と有意な低下が認められた ($P < 0.0001$, $P = 0.0127$)。正常域では、摂取前後で数値に変動がなく有意ではなかった。

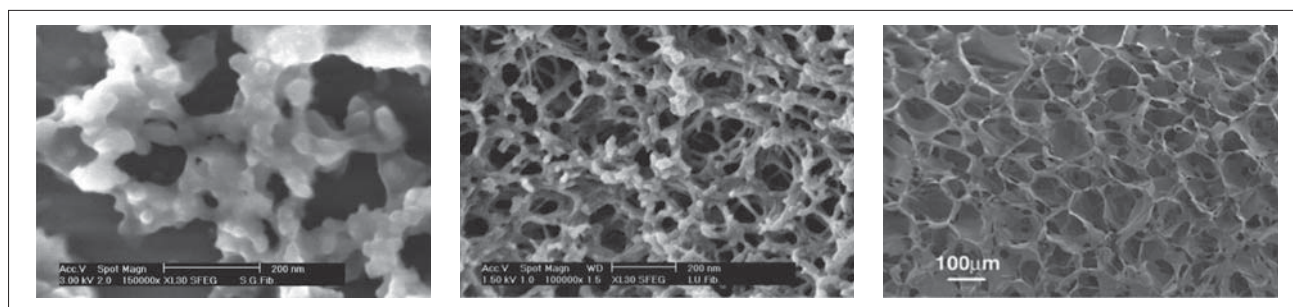


写真1 シルクフィブロインの多孔性構造 (電顕)

4. 肝機能

正常域のAST (GOT), ALT (GPT) および γ -GTPにそれぞれ有意な上昇を認めたが、その程度はわずかで基準範囲内の変動であった。

3. 考察

蚕の繭からとれるシルクタンパク質は、セリシン (20～30%) とフィブロイン (80～70%) の2種類のタンパク質からなり、その構成比やアミノ酸組成は蚕により異なることが知られている¹⁾。シルクフィブロインはゲル化しやすく発泡性が強い性質のため食品素材としてブラマンジェ (冷菓), スポンジケーキ, ヨーグルトゼリー, 白玉団子などに利用され²⁾、最近ではサプリメントなどの開発が進み、粉末状のものから錠剤, ゼリー状のものまでその応用が拡大されている。本研究で用いた“シルクフィブロイン”はシルクプロテインのフィブロインのみを特殊な製法により分離精製し、分子量約38万の高分子フィブロインを限外ろ過で分子量を約25万にしたものである^{4)~7)}。その特性は多孔性の3次元構造を有し、体内で消化され難い難消化性の無味無臭のタンパク質である (写真1)。

シルクフィブロインの4週間連続摂取によって、未病域における総コレステロール値, 中性脂肪値およびLDLコレステロール値の有意な低下, ならびにHDLコレステロール値の有意な上昇が確認できたことは、より健康的な方向に数値が動いていることを示すものであり、シルクフィブロインが、健康維持増進に貢献できる可能性が示唆された。阿部らはヒト大腸がん由来細胞Caco-2を用いてヒト小腸透過性試験モデルを構築し、シルクフィブロインの主なアミノ酸であるセリン, グリシン, アラニンを指標としてシルクフィブロインの透過性試験を

Hidalgoらの方法⁸⁾に準じて実施した。その結果シルクフィブロインは、消化液分解を受けて腸管内で吸収され、その吸収率は3.23%であり⁹⁾、また、シルクフィブロインには、体内の一部の脂肪およびコレステロールをシルクフィブロインの孔に取り込み、吸着してそのままシルクフィブロインと一緒に体外に排出される働きがあると報告している¹⁰⁾。また平尾らはフィブロインによる血清総コレステロールの低下は、消化過程でペプチドと結合した胆汁酸を糞便として排泄することで腸肝循環を阻害して血中コレステロールを低下させると推察している²⁾。さらに、陳らはシルクフィブロインが主に含有するアミノ酸成分の作用により、血中コレステロール濃度上昇抑制作用をラットで確認している¹¹⁾。

本研究において、未病域の空腹時血糖値およびHbA1c値 (NGSP) に有意な低下が認められたことから、シルクフィブロインは、血清脂質と同様にナノレベルの多孔性構造によって体内での糖吸収に影響を及ぼし、メタボリックシンドロームを抑制している可能性が考えられた。さらに、シルクフィブロインが、消化管粘膜上皮から分泌される消化管ホルモン—グルカゴン様ペプチド-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) によるインスリン分泌増強作用, 膵臓 β 細胞増殖, 保護作用による糖代謝, 脂質代謝に関与している可能性が示唆された。

上原らはマウスの実験で、シルクフィブロインの持つ多孔性, 生体親和性, 難消化性という特徴が一部の糖質を吸着して体外に排出する効果だけでなく、シルクフィブロインが、直接腸管に作用することで、炭水化物等を認識してGLP-1の産生を促進する作用があることを報告している¹²⁾。

肝機能の指標であるAST (GOT), ALT (GPT) および γ -GTPは、正常域で有意な上昇がみられた

が、正常域を逸脱するものではなく、いずれも基準範囲内の変動であった。一方、未病域および要医療域では有意な変動が確認されなかったことから、シルクフィブロインが肝機能に与える影響は少なく、シルクフィブロインは安全であると考えられた。阿部らは、シルクフィブロインの吸収率は3.23%であり、そのほとんどが胆汁酸と一緒に糞便として体外に排泄されることを報告している⁹⁾。また、上原らはマウスの実験で、シルクフィブロインは、コントロールに比べてGPTを有意に低下させたことを報告している¹²⁾ ことから、シルクフィブロインが肝機能に過度な作用を示すことはないことが示唆された。その他、他覚的所見および自覚症状については、臨床上問題となる所見は観察されなかった。以上より、シルクフィブロインの安全性が確認されたものと考えられた。

4. 結 論

シルクフィブロインの血清脂質代謝能および糖代謝能に対して層別解析をした結果、本研究では、シルクフィブロインが正常域の数値に大きな影響を及ぼすことは確認されなかった。一方では、薬物治療の必要がなく“疾病に罹患している”とはいえ、他に合併症のない未病域に対してシルクフィブロインが、それぞれの数値を改善させる方向に働いていることが確認された。これらの結果は、シルクフィブロインの脂肪および糖吸収作用ならびにGLP-1産生促進作用により、メタボリックシンドロームを抑制しているものと考えられ、シルクフィブロインが健康維持増進に貢献できる可能性が示唆された。さらに、多孔性構造、難消化性、生体親和性および特異的なアミノ酸組成を持つシルクフィブロインの特長が、複合的に関与しているものと考えられた。また、臨床上問題となるような肝機能への過度な作用は確認されなかったことから、本研究において、シルクフィブロインの機能性と安全性が確認されたものと結論できる。

謝 辞

上野紘郁先生（あさひ医王クリニック）よりデータの提供を受けました。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) シルクサイエンス研究会 編：シルクの科学. pp.7-9, 朝倉書店, 東京, 1994.
- 2) 平尾和子, 五十嵐喜治：シルクフィブロインの特性と食品への利用. 日本調理科学会誌 **46** : 54-58, 2013.
- 3) 上野紘郁, 長島孝行, 吉川育矢, 血糖および脂質に対するシルクフィブロインの臨床的効果. FOOD Style **21** : 20-24, 2015.
- 4) Nagashima T, Akai H: Ultrastructure of liquid fibroin in the silk glands of silkworm, *Bombyx mori*. Int J Wild Silkmoth & Silk **13**: 35-38, 1993.
- 5) Akai H, Nagashima T, Aoyagi S: Ultrastructure of posterior silk gland cells and liquid silk in indian tasar silkworm, *antheraea mylitta drury* (Lepidoptera: saturnidae). Int J Insect Morphol Embryol **22**: 497-506, 1993.
- 6) Hess S, van Beek J, Pannell LK: Acid hydrolysis of silk fibroins and determination of the enrichment of isotopically labeled amino acids using precolumn derivatization and high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. Analytic Biochem **311**: 19-26, 2002.
- 7) Hyun CK, Kim IY, Frost SC: Soluble fibroin enhances insulin sensitivity and glucose metabolism in 3T3-L1 adipocytes. J Nutr **134**: 3257-3263, 2004.
- 8) Hidalgo IJ, Hillgren KM, Grass GM, et al: Characterization of the Unstirred Water Layer Caco-2 Cell Monolayers Using a Novel Diffusion Apparatus. Pharm Res **18**: 222-227, 1991.
- 9) 阿部博幸, 長島孝行, 吉川育矢：シルクフィブロインによる糖尿病腎症における腎機能低下抑制作用の研究. 第16回国際個別化医療学会学術集会, 2013年5月
- 10) Ueno H, Nagashima T, Yoshikawa I: Effect of silk fibroin on improvement of lipid and glucose metabolism in humans. Int J Integ Med **3**: 25-31, 2011.
- 11) 陳 開利, 井浦克弘, 高野 亮, 他：ラットの血中コレステロール濃度低下に対するフィブロイン投与の効果. 日蚕雑 **62** : 56-60, 1993.
- 12) 特願 2016-161763 (出願中)