



シルクフィブロイン過剰摂取時の 安全性の検証

渡會伸治^{1)*} / 吉川育矢²⁾ / 板倉弘重³⁾

Safety Verification of the Excess Intake of Silk Fibroin

Shinji TOGO¹⁾ / Ikuya YOSHIKAWA²⁾ / Hiroshige ITAKURA³⁾

1) Ishikawacyo clinic of internal medicine

2) Doctor Serum Co., Ltd

3) Shibaura Three-one Clinic

はじめに

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⁾。本試験で用いたシルクフィブロインは、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^{2)~5)}。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。シルクフィブロインには、体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働きがある⁶⁾。

シルクフィブロインの有効性と安全性については、これまでに数多くの臨床試験が実施されていて、シルクフィブロインに脂質代謝や糖代謝を改善させる作用があることが確認されている^{7)~9)}。1日摂取量として、1包中内容量10gのゼリータイプのシルクフィブロイン(シルクフィブロインとして200mg含有)を1日3回毎食前に摂取することを推奨している。

上記臨床試験で他覚的所見、自覚症状に特筆すべきものはみられず、安全性上問題となる有害事象は報告されていないが、本試験では、同シルクフィブロインを1日摂取量(600mg)の3倍過剰量を毎日4週間連続摂取したときの安全性を検証するために、健常な成人男女24名を対象にオープン試験を実施したので報告する。

対象および試験方法

1. 被験食

被験食は、長島らの方法(製法特許第4074923号)に従って作製した⁵⁾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を含有したものを(以下、「本被験食」という。)を用いた。被験食の原材料および栄養成分量を表1、表2に示した。

2. 対象および試験方法

試験は、オープン試験(以下「本試験」という。)として2015年8月21日から2015年10月6日まで石川町内科クリニックにて実施した。本試験は、下記の「適格基準」を満たし、かつ「除外基準」に抵触しない者で、医師の管理のもと、医師によりの確と判断された20歳以上70歳以下の健常な男女24名を対象とした。

なお、本試験はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則を遵守し、石川町内科クリニック倫理審査委員会の承認を得て、被験者には目的と方法について十分

1) 石川町内科クリニック院長

2) ドクターセラム株式会社代表取締役

3) 芝浦スリーワンクリニック名誉院長

*: 試験責任医師

表1 被験食の原材料

原材料	シルクフィブロイン (シルクタンパク質), 果糖ぶどう糖液糖, 還元澱粉糖化物, ピーチ濃縮果汁, 米胚芽・大豆発酵抽出エキス, ゲル化剤 (キサンタンガム, ローカストピーンガム, カラギーナン, ペクチン), 酸味料, 香料
-----	--

表2 栄養成分 (1包 10gあたり)

エネルギー	8.6 kcal
タンパク質	0.19 g
脂質	0.01 g
炭水化物	2 g
ナトリウム	14.4 mg

表3 試験スケジュール

評価項目	スクリーニング	摂取前	摂取2週間後	摂取4週間後	フォローアップ
問診 (他覚的所見)	○	○	○	○	—
理学的検査	○	○	○	○	—
血液生化学検査	○	○	○	○	—
尿検査	○	○	○	○	—
症状日誌 (自覚症状)	—	—	—	—	—
電話確認	—	—	—	—	○

な説明を行い、書面による同意を得て実施した。

《適格基準》

- ① 年齢：20歳以上70歳以下の者（同意取得時点）
- ② 性別：不問
- ③ 状態および対象：健常者
- ④ 判断：文書による同意取得能力を有する者

《除外基準》

- ① 被験食摂取前4カ月（120日）以内に他の治療、臨床試験に参加し、薬剤の投与を受けた者
- ② 薬物乱用の既往または疑いのある者
- ③ 過度のアルコールおよびカフェインを摂取していると、臨床試験責任医師によって判断された者
 - ・アルコール：被験食摂取前3カ月以内に毎日80g以上摂取している
 - ・カフェイン：被験食摂取前1カ月以内に毎日500mg以上または5杯以上摂取している
- ④ 被験食の原材料および関連する材料についてアレルギーの治療または疑いのある者
- ⑤ スクリーニング検査時にバイタルサイン値が次の基準に該当する者
 - ・収縮期血圧：180 mmHg以上，拡張期血圧：40 mmHg以下
 - ・脈拍数：100 bpm以上40 bpm以下
 - ・体温：38.0°C以上

- ⑥ 腎機能障害を有する者（血清クレアチニン1.2 mg/dL以上または無尿症）
- ⑦ 臨床的に重大な肝疾患を有する者（下記検査基準値上限の1.2倍以上）
 - ・AST：48 U/L以上（基準範囲10～40 U/L）
 - ・ALT：54 U/L以上（基準範囲5～45 U/L）
 - ・総ビリルビン：1.32 mg/dL以上（基準範囲0.2～1.1 mg/dL）
 - ・ALP：432 U/L以上（基準範囲110～360 U/L）
- ⑧ スクリーニング時および被験食摂取前のヘモグロビン量が、下記の基準範囲から逸脱している者
 - ・男性：13.5～17.6 g/dL，女性：11.3～15.2 g/dL
- ⑨ 急性疾患を有する者
- ⑩ 被験食摂取前1カ月以内に200 mL以上または同4カ月以内に400 mL以上の採血（献血を含む）を受けた者
- ⑪ 出血の増加傾向の既往歴がある者（出血性素因など）
- ⑫ 臨床試験責任医師が「不適」と判断した者
- ⑬ 臨床試験中に臨床責任医師の指示に従わない者または臨床試験の継続が疑わしい者
- ⑭ 臨床試験終了時まで禁煙することができない者

3. 被験食の摂取方法および摂取期間

本被験食には、1日摂取目安量の3倍量（9包）

を用いた。摂取方法は、適格基準を満たした被験者に原則として本被験食を毎食前に1回3包、1日3回の4週間継続摂取とした。摂取前、摂取2週間後および摂取4週間後にそれぞれ問診および採血を実施し、各種検査項目を測定した。試験期間中の自覚症状の変化については、被験者が自ら「症状日誌」に記入した。また、摂取終了2週間後に、各被験者に対して電話によるフォローアップを実施した(表3)。

なお、試験期間中は、過激な運動や暴飲暴食を避けて、日常の生活習慣を維持するように指導した。

4. 測定項目

1) 理学的検査

本被験食の摂取前、摂取2週間後および摂取4週間後に身長、体重、BMI、収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍数、心電図を測定し、また胸部X線撮影は摂取前および摂取4週間後に実施した。

2) 血液生化学検査および尿検査

本被験食の摂取前、摂取2週間後および摂取4週間後に血液生化学検査(白血球数、赤血球、血色素、ヘマトクリット、血小板、AST、ALT、 γ -GTP、ALP、総ビリルビン、HDLコレステロール、LDLコレステロール、中性脂肪、総コレステロール、HbA1c、血糖、尿酸、クレアチニン)および尿検査(糖、蛋白、ウロビリノーゲン、潜血反応)を実施した。

3) 有害事象(他覚的所見および自覚症状)

本被験食の摂取前、摂取2週間後および摂取4週間後に他覚的所見として医師による問診を実施し、自覚症状については、被験者が記入した「症状日誌」の内容を試験医師が確認して判定した。

5. 統計解析

本被験食の安全性を検証するために、摂取前、摂

取2週間後および摂取4週間後の測定値を平均値±標準誤差で示し、摂取前後の各測定値について「対応のあるt-検定」で有意差検定を行った。有意差は両側検定で有意水準を危険率5%以下とした。表記は、 $P < 0.01$ および $P < 0.05$ を有意、 $P < 0.1$ の場合は有意傾向ありと判定し、それぞれ表中に「**」、「*」、「†」を付記した。

結 果

1. 被験者背景

本試験は、表4に示したように、最終的にデータを収集することのできた被験者21名〔年齢 42.1 ± 2.4 歳(欠測3名)]を対象に、本被験食の摂取前、摂取2週間後および摂取4週間後の各測定値から本被験食の安全性を検証した。欠測3名のうち1名は、試験期間中にかゆみを認めて摂取を中止したために、また、他の2名は、データが欠損していたためにそれぞれ解析から除外した。

2. 理学的検査

本被験食の摂取前、摂取2週間後および摂取4週間後に身長、体重、BMI、収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍数に統計学的に有意な変動はみられず、すべて基準範囲内の変動であった(表5)。また、心電図および胸部X線撮影においても臨床的に問題となるような異常所見は観察されなかった。

3. 血液生化学検査および尿検査

血液生化学検査の推移を表6に示した。本被験食

表4 被験者背景

年齢	43.3 ± 2.2 歳 (男性 12 名, 女性 12 名)
身長	163.9 ± 1.9 cm
体重	57.9 ± 2.8 kg
BMI	21.3 ± 0.7 kg/m ²

表5 理学的検査

測定項目	単 位	基準範囲	摂取前	摂取2週間後	摂取4週間後
身長	cm	—	163.5 ± 1.9	163.5 ± 1.9	163.4 ± 1.9
体重	kg	—	56.9 ± 2.9	57.0 ± 2.8	57.0 ± 2.9
BMI	kg/m ²	M : 18.5-27.7 F : 16.8-26.1	21.1 ± 0.7	21.1 ± 0.7	21.2 ± 0.7
収縮期血圧	mmHg	88-147	123.2 ± 4.4	124.1 ± 4.2	121.4 ± 4.2
拡張期血圧	mmHg	51-94	77.7 ± 2.8	75.8 ± 2.2	77.8 ± 2.5
脈拍	bpm	45-85	81.4 ± 1.8	81.7 ± 2.9	80.8 ± 3.3

表6 血液生化学検査

項目	単位	基準範囲	摂取前	摂取2週間後	摂取4週間後
白血球数	/ μ L	3200-8500	5466.7 \pm 265.0	5571.4 \pm 391.5	5690.5 \pm 371.5
赤血球数	10 ⁴ / μ L	M : 400-539 F : 360-489	460.5 \pm 9.1	461.2 \pm 9.3	465.6 \pm 9.5
MCV	fL	80-98	95.9 \pm 1.6	96.7 \pm 1.5	96.4 \pm 1.5
MCH	pg	28-32	30.7 \pm 0.6	30.8 \pm 0.5	30.5 \pm 0.5*
MCHC	%	30-36	32.1 \pm 0.1	31.9 \pm 0.2	31.7 \pm 0.2*
血小板数	10 ⁴ / μ L	13.0-34.9	23.2 \pm 1.1	22.6 \pm 1.0	23.0 \pm 1.0
血色素量	g/dL	M : 13.1-16.3 F : 12.1-14.6	14.1 \pm 0.3	14.2 \pm 0.2	14.2 \pm 0.3
ヘマトクリット	%	M : 38.5-48.9 F : 35.5-43.9	44.0 \pm 0.7	44.4 \pm 0.7	44.7 \pm 0.8
クレアチニン (CREA)	mg/dL	M : - 1.00 F : - 0.70	0.73 \pm 0.03	N.A.	0.72 \pm 0.02
尿酸 (UA)	mg/dL	2.1-7.0	5.0 \pm 0.3	N.A.	4.8 \pm 0.3
総コレステロール (T-Cho)	mg/dL	M : 151-254 F : 145-280	197.9 \pm 5.7	199.9 \pm 6.4	205.8 \pm 7.0
LDL コレステロール (LDL-C)	mg/dL	M : 72-178 F : 61-190	114.0 \pm 5.6	114.7 \pm 5.5	119.9 \pm 6.0*
HDL コレステロール (HDL-C)	mg/dL	40-119	69.0 \pm 3.4	69.4 \pm 3.5	69.3 \pm 3.7
中性脂肪 (TG)	mg/dL	30-149	76.4 \pm 8.6	70.0 \pm 8.6	78.4 \pm 8.0
AST (GOT)	U/L	0-30	20.0 \pm 0.8	19.7 \pm 0.7	21.5 \pm 0.9*
ALT (GPT)	U/L	0-30	17.0 \pm 1.4	16.7 \pm 1.7	19.5 \pm 2.2
ALP	U/L	104-338	177.7 \pm 10.5	180.6 \pm 10.5	177.5 \pm 10.3
γ -GT (γ -GTP)	U/L	M : 12-84 F : 9-40	23.0 \pm 2.2	22.0 \pm 2.0*	24.1 \pm 2.6
血糖 (空腹時)	mg/dL	- 99	86.2 \pm 1.6	90.1 \pm 1.8*	88.5 \pm 1.6
HbA1c	%	- 5.5	5.3 \pm 0.0	N.A.	5.3 \pm 0.1

平均値 \pm 標準誤差, n = 21, * : P < 0.05 (vs. 摂取前, 対応のある t 検定)

の摂取2週間後の γ -GTPに統計学的に有意な減少と血糖値(空腹時)の有意な増加, また摂取4週間後においては, MCH, MCHCの有意な減少, LDLコレステロールおよびASTの有意な増加がそれぞれ確認されたが, いずれも基準範囲内の変動で, 臨床的に問題となるものではなかった。その他の項目については, 統計学的に有意な変動や基準範囲からの逸脱は認められなかった。

尿検査の推移を表7に示した。本被験食摂取前および摂取期間中に潜血反応が数例の女性被験者に認められたが, 生理的反応によるものであることが判明し, 試験終了後の経過観察ですべて基準範囲内に復帰した。その他の尿検査項目(ウロビリノーゲ

ン, 蛋白, 糖)はすべて基準範囲内の変動であった。

4. 有害事象(他覚的所見, 自覚症状)

自覚症状として, 1名の被験者(女性, 62歳)から7日目の朝食前の被験食摂取直後にかゆみを認めたとの報告があった。症状は軽度であり摂取を中止することですぐに症状が消失し, その後の経過は良好であった。その他の被験者については, 臨床上問題となるような他覚的所見および自覚症状は認められなかった。

考 察

本試験は, 健常な成人男女24名を対象にシルク

表7 尿検査項目

項目	基準範囲	グレード	摂取前*	摂取2週間後*	摂取4週間後*
ウロビリノーゲン	(-) ~ (±)	-	0	0	1
		±	21	21	20
		1+	0	0	0
		2+	0	0	0
		3+	0	0	0
蛋白質	(-) ~ (±)	-	11	16	11
		±	10	5	7
		1+	0	0	3
		2+	0	0	0
		3+	0	0	0
糖	(-) ~ (±)	-	21	21	21
		±	0	0	0
		1+	0	0	0
		2+	0	0	0
		3+	0	0	0
潜血	(-)	-	19	19	15
		±	1	0	3
		1+	0	0	1
		2+	0	1	1
		3+	1	1	1

*数字は被験者数を表す

フィブロインとして200 mg/包を含有するシルクフィブロインを通常の3倍過剰量を毎日4週間摂取させた時の安全性について検証した。シルクフィブロインとして200 mg/包を含有するシルクフィブロインを通常の3倍量過剰量を毎日4週間摂取させた。その結果、最終的にデータを収集することのできた21名(年齢42.1±2.4歳)を対象に、摂取前、摂取2週間後および摂取4週間後の測定値を統計解析して、シルクフィブロインの安全性について検証した。血液生化学検査で一部の項目に統計学的に有意な変動が確認されたが、いずれも基準範囲内であり臨床上問題となるものではなかった。また、数名の被験者に尿潜血を認めたが、いずれも女性で、生理的反応によるものであったことが判明した。自覚症状は、1名の被験者から7日目の朝食前の摂取直後にかゆみが出たとの報告があったが、程度は軽微で摂取を中止することで症状は消失し、経過も良好であった。なお、この被験者は、スクリーニング時の試食ではかゆみ等の自覚症状が発現しなかったこと、摂取6日間は自覚症状を認めなかったこと、またステロイド軟膏を併用していたことなど

から、被験食に特異的に認められた事象とは考えにくく、要因が偶発的に重なって発現した可能性が考えられた。

以上により、健常な男女にシルクフィブロインの3倍過剰量を毎日4週間連続摂取させた結果、臨床上問題となるような有害事象は認められず、シルクフィブロインの安全性が確認された。

結 論

シルクフィブロインの1日摂取目安量(シルクフィブロインとして600 mg/回)の3倍過剰量を毎日4週間連続摂取させたときの安全性を検証することを目的として、20歳以上70歳以下の健常な男女を対象としてオープン試験を実施した。その結果、理学的検査、血液生化学的検査値および尿検査の各測定値に問題となる変動は確認されなかった。1名にかゆみの自覚症状が認められたが、摂取を中止したことですぐに消失し、経過は良好であったことから、被験食に特異的に認められた事象とは考えにくく、様々な要因が偶発的に重なって発現した可能性が考えられ、臨床上問題がないことが確認され

た。

以上のことからシルクフィブロインの安全性に問題がないことが検証された。

謝 辞

本試験にご協力いただきました被験者の皆様に感謝いたします。また、本試験の実施に当たり、ご協力いただきました関係各位に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) シルクサイエンス研究会 編：シルクの化学, pp.7-9, 朝倉書店, 東京, 1994.
- 2) Nagashima T, Akai H: Ultrastructure of liquid fibroin in the silk glands of silkworm, *Bombyx mori*. *Int J Wild Silkworm & Silk*, **13**: 35-38, 1993.
- 3) Akai H, Nagashima T, Aoyagi S: Ultrastructure of posterior silk gland cells and liquid silk in indian tasar silkworm, *Antheraea mylitta drury* (Lepidoptera: saturniidae), *Int J Insect Morphol. Embryol*, **22**: 497-506, 1993.
- 4) 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. *Anal Biochem*, **311**: 19-26, 2002.
- 5) Hyun CK, Kim IY, Frost SC: Soluble Fibroin Enhances Insulin Sensitivity and Glucose Metabolism in 3T3-L1 Adipocytes. *J Nutr*, **134**: 3257-3263, 2004.
- 6) Ueno H, Nagashima T, Yoshikawa I: Effect of silk fibroin on improvement of lipid and glucose metabolism in humans. *Int J Integ Medicine*, 25-31, 2011.
- 7) 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**, **19**: 20-24, 2015.
- 8) 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)
- 9) 上野紘郁, 長島孝行, 吉川育矢: シルクフィブロイン飲用による血清脂質, 糖代謝能への効果. *FOOD Style* **21**, **15**: 87-90, 2011.