



# シルクフィブロイン長期摂取による 脂質代謝改善効果の検証：

## 無作為化二重盲検クロスオーバー試験サブグループ解析

渡會伸治<sup>1)</sup> / 渡會雪絵<sup>2)</sup> / 吉川育矢<sup>3)</sup> / 長島孝行<sup>4)</sup> / 板倉弘重<sup>5)</sup>

### はじめに

脂肪は体に必要不可欠なエネルギー源として使われるが、食べ過ぎや運動不足で摂取エネルギーが過剰になると中性脂肪値が上昇して生活習慣病の発症リスクが高くなることが知られている。体内に過剰なエネルギーを貯めないようにするには、バランスのとれた食事と運動を心がけて健康食品をうまく取り入れることが求められる。近年、中性脂肪を減らす、中性脂肪の上昇を抑えるなど様々なタイプの機能性表示食品や食品成分が上市されている<sup>1)~7)</sup>。

シルクフィブロインは、蚕の繭からとれる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たもので<sup>8)~11)</sup>、多孔性の3次元構造、体内で消化され難い難消化性、無味無臭という特長がある。シルクフィブロインの脂質代謝能や糖代謝能に対する機能性と安全性は、これまでに実施された臨床試験で確認されている。

筆者らは、経過観察中の成人男女で中性脂肪値が150~400 mg/dL、かつ他に合併症や服薬経験のない者で試験責任医師により「疾病がない」と判断された被験者を対象にシルクフィブロインゼリーを1回1包1日3回毎食前に8週間連続摂取させた時のシルクフィブロインの脂質代謝に対する影響について、無作為化二重盲検クロスオーバー法によって

検証した<sup>12)</sup>(以下、「当該試験」という)。その結果、シルクフィブロイン摂取時の中性脂肪値変化量およびHDLコレステロール値変化量は、プラセボ食品摂取時に比べて摂取8週後にそれぞれ統計学的に有意な下降( $P=0.019$ )および上昇( $P=0.010$ )が確認され、また臨床上問題となる検査値異常および症状が観察されなかったことから、シルクフィブロインには中性脂肪値低下機能およびHDLコレステロール値上昇機能を有することを報告している<sup>12)</sup>。

本研究では、対象被験者の血中中性脂肪値が150~199 mg/dLの「やや高め」の範囲内に限り、「疾病に罹患していない者」として「特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項」に健康食品の使用が認められていることから、「当該試験」で対象とした被験者の中から中性脂肪値が150~199 mg/dLの被験者をサブグループとして選択し、シルクフィブロインの脂質代謝能に対する機能性について解析したので報告する。なお、本研究の目的、試験デザイン、評価項目等は、「当該試験」と同様とした。

### 対象と試験方法

#### 1. 被験者選択

被験者は、石川町内科クリニック倫理審査委員会での審査および承認を得て、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則を遵守した当該試験の実施前に臨床試験責任医師から試験の目的と方法について十分な説明を受け、書面による同意を得ている年齢が20歳以上の男女である。対象は、当該試験で合併症や服

1) 石川町内科クリニック 院長  
2) 石川町内科クリニック 医師  
3) ドクターセラム代表取締役  
4) 東京農業大学農学部農学科 教授  
5) 芝浦スリーワンクリニック 名誉院長

表1 被験食品の原材料および栄養成分

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, ローカストビーンガム, カラギーナン, ペクチン), 酸味料, 香料
栄養成分 (1包10g当たり)	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

薬経験ならびに被験食品にアレルギー反応がなく臨床試験責任医師が「適格」と総合的に判断したA群11名, B群11名の合計22名の被験者のうち, A群, B群とも摂取前期の試験食品摂取前中性脂肪値が150~199 mg/dLで以下の除外基準に該当しない者7名を選択した。

**(除外基準);**

- ① 本試験開始前4カ月(120日)以内に他の試験, 臨床試験に参加した者
- ② 薬物乱用の既往または疑いがある者
- ③ 中性脂肪値を下げる薬を服用している者
- ④ 1カ月(30日)以内に中性脂肪値を下げる特定保健用食品を摂取している者
- ⑤ 臨床試験責任医師によって過度のアルコールおよびカフェインを摂取していると判断された者
- ⑥ 被験食品の原材料等アレルギーの既往または疑いがある者
- ⑦ スクリーニング検査及び摂食前検査のバイタルサイン値が, 最高血圧150 mmHg ≤ または最低血圧90 mmHg ≤, 心拍数100 bpm < または < 40 bpm に該当する者
- ⑧ 急性疾患を有する者
- ⑨ 腎機能障害を有する者 (血清クレアチニンが1.2 mg/dL 以上または無尿症)
- ⑩ 臨床的に重大な肝疾患を有する者
- ⑪ スクリーニング検査, 摂食前検査で貧血傾向がみられる者
- ⑫ 被験食品摂取前1カ月以内または4カ月以内にそれぞれ200 mL および400 mL を超える採血 (献血など) をされた者
- ⑬ 臨床試験中に試験責任医師の指示に従えない者, または臨床試験を完了させることがないと疑われる者
- ⑭ 臨床試験終了時まで禁煙ができない者
- ⑮ その他, 臨床試験責任医師が本試験参加に

「不適」と判断された者

なお, 石川町内科クリニックで, 診察 (問診), 身体計測, 血圧, 脈拍, 体温測定, 採血, 採尿, 心電図検査を実施し, 被験者管理等の試験実施体制を整備した。

**2. 試験食品および摂取方法**

被験食品は, 長島らの方法 (製法特許 第4074923号) に従って作製した<sup>9)</sup>, 1包宛内容量10gのゼリータイプでシルクフィブロインとして200mgを含有したものをを用いた。被験食品の原材料および栄養成分を表1に示した。プラセボ食品は, 被験食品と外見上見分けがつかないように調整し, 味, 香り, 色調, 内容量を被験食品に合わせた。試験食品の摂取方法は, 1回1包を1日3回毎食前に8週間連続摂取とした。

**3. 試験デザイン**

試験は, 無作為化二重盲検クロスオーバー試験とした。すなわち, 第三者が作成した割付け表に従って無作為に被験者をA群とB群の2群に分け, 摂取前期ではA群に被験食品, B群にはプラセボ食品を摂取させた。2週間の摂取休止期間の後, 摂取後期として, A群にはプラセボ食品を, B群に被験食品を摂取させた (表2)。

スクリーニング検査では, 身長・体重測定, 血圧・脈拍・体温測定, 心電図測定, 胸部X線検査, 採血, 採尿, 問診の後, 対象者全員に被験食品1包を摂取させて, アレルギー反応の有無を確認した。また, 血液検査は株式会社保健科学, 尿検査は石川町内科クリニックにて実施した。

試験期間中, 被験者には食事, 運動等通常の生活習慣を維持することを義務づけ, 症状日誌に発現した自覚症状および暴飲暴食や過度の運動, 医薬品や健康食品の摂取の有無などを記録させ, 来院時に臨床試験責任医師が問診により確認した。また, 試験食品摂取終了後に経過観察期間を設け, 2週間後に電話で自覚症状の有無を確認するためのフォロー

表2 試験デザイン

	摂取前	摂取前期					摂取後期					終了
		0 W	2 W	4 W	8 W		0 W	2 W	4 W	8 W		
同意の取得	○											
スクリーニング検査	○											
問診, 身体測定, 血液・尿検査		○	○	○	○	摂取休止 期間 (2週間)	○	○	○	○	摂取休止 期間 (2週間)	
試験食品 摂取	A 群	← 被験食品 →					← プラセボ食品 →					
	B 群	← プラセボ食品 →					← 被験食品 →					
症状日誌記録		← →					← →					
フォローアップ (電話)												
												○

表3 解析対象被験者背景

検査項目	単位	全体 (n = 7)	A 群 (n = 3)	B 群 (n = 4)	P 値
年齢	歳	49.29 ± 4.67	47.33 ± 8.84	50.75 ± 5.96	0.752
体重	kg	61.36 ± 5.04	55.50 ± 11.91	65.75 ± 1.71	0.360
BMI	kg/m <sup>2</sup>	22.67 ± 1.36	22.47 ± 3.40	22.83 ± 0.82	0.910
中性脂肪	mg/dL	164.71 ± 5.87	165.00 ± 13.05	164.50 ± 5.95	0.971
総コレステロール	mg/dL	238.86 ± 15.27	249.33 ± 24.32	231.00 ± 21.74	0.600
LDL コレステロール	mg/dL	139.29 ± 15.37	164.00 ± 20.98	120.75 ± 18.44	0.183
HDL コレステロール	mg/dL	75.43 ± 11.89	60.33 ± 7.80	86.75 ± 19.10	0.313

数値は平均値 ± 標準誤差 t-検定

アップを実施した。

4. 有効性評価

1) 主要評価項目

中性脂肪値を試験食品摂取前後の変化量で評価した。

2) 副次的評価項目

HDL コレステロール値, LDL コレステロール値, 総コレステロール値を試験食品摂取前後の変化量で評価した。

5. 安全性評価

医師による問診, 症状日誌および血液検査値 (白血球数, 赤血球, 血色素量, ヘマトクリット, 血小板数, リンパ球, 白血球分画, 空腹時血糖値, AST, ALT,  $\gamma$ -GTP, ALP, 総ビリルビン, 総タンパク, アルブミン, 尿酸, クレアチニン, 尿素窒素, 並びに尿検査値 (ウロビリノーゲン, 蛋白, 糖, 潜血) から有害事象を評価した。

6. 統計解析

数値は, 平均値 ± 標準誤差で示し, 検定の有意水準は  $P < 0.05$  および  $P < 0.01$  とした。統計解析ソフトは, JMP 12.0.1 (SAS Institute Inc.) を用いた。

被験食品の効果は摂取前値と各時点の変化量について, 群効果, 時期効果を考慮した分散分析, 摂取前値と各時点の被験食品の効果に違いがみられないかについては対応のある t-検定を用いて評価した。

結 果

1. 被験者

被験者は当該試験で同意を取得した 20 歳以上の男女 22 名の中から, 試験食品摂取前期 0 W の中性脂肪値が 150 ~ 199 mg/dL の 7 名 (A 群 3 名, B 群 4 名) を選択した。この 7 名が臨床試験責任医師によって最終的に「適格」と判断され, 解析対象

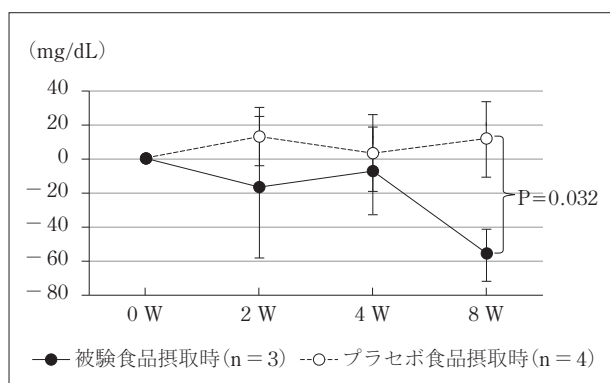


図1 中性脂肪値変化量の推移

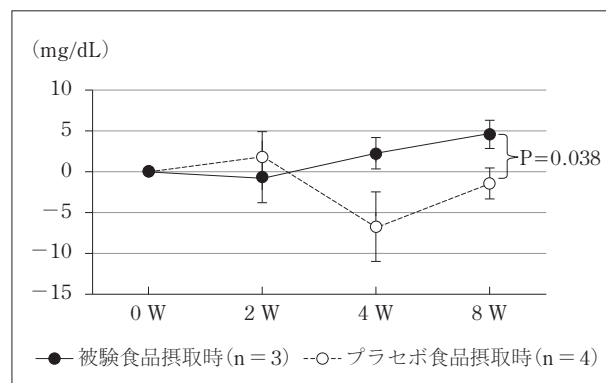


図2 HDL コレステロール値変化量の推移

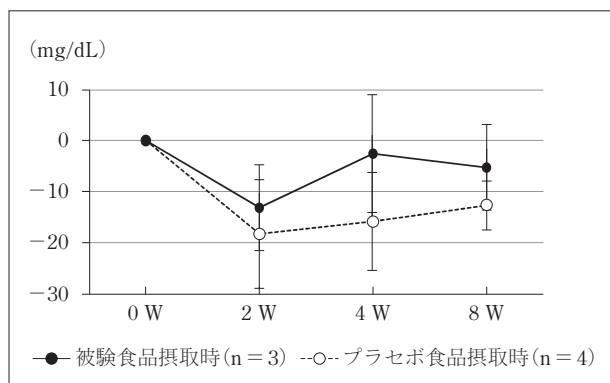


図3 総コレステロール値変化量の推移

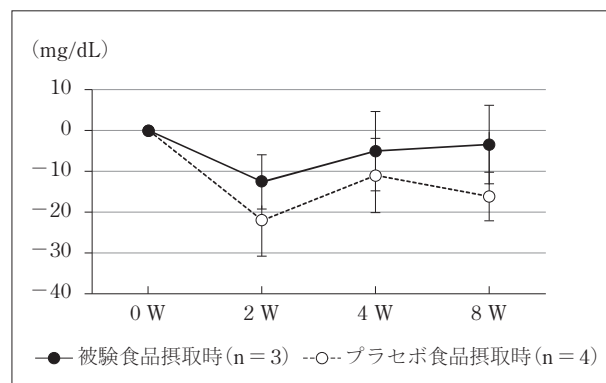


図4 LDL コレステロール値変化量の推移

被験者として確定した。表3に解析対象被験者の背景を示した。解析対象被験者は、いずれの項目においてもA群とB群の間に有意な差は認められなかった。

## 2. 無作為化二重盲検クロスオーバー法の妥当性

摂取前半と後半のそれぞれの摂取前(0 W)の中性脂肪値について群効果と時期効果を検定したところ、P値はそれぞれ $P=0.1079$ および $P=0.5027$ でいずれも有意ではなく、したがって、本研究は当該試験と同様にクロスオーバーデザインとして適切に評価できるものと判断された。

## 3. 有効性評価

図1に中性脂肪値変化量推移を示した。被験食品摂取時では、摂取後2週間(2 W)、4週間(4 W)および8週間(8 W)のすべての時点でプラセボ食品摂取群に比べて中性脂肪値変化量が低値を示し、摂取8週間後の時点で統計学的に有意に低値を示した( $P=0.032$ )。HDLコレステロール変化量推移について、被験食品摂取時は摂取2週間後より上昇がみられ、摂取8週間後ではプラセボ食品摂

取時に比べて統計学的に有意な上昇が確認された( $P=0.038$ , 図2)。総コレステロール値およびLDLコレステロール値では、その変化量の推移に両食品間で有意な差は確認されなかった(図3, 図4)。

## 4. 安全性評価

本研究において、試験食品摂取時のすべての解析対象被験者に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。また、肝・腎機能などの血液検査値ならびに尿検査値に異常所見は観察されなかった。

## 考 察

いわゆる健康食品は、病気に罹患していない人の健康維持・増進を期待する目的で摂取されるものである。一般に、健康の状態や生活習慣病発症のリスクは、人間ドックや健康診断による血液検査の結果に基づいて評価され、血液検査値がやや高めであっても他に合併症や多剤服用などの危険因子がない場合、食事、運動、休養など生活習慣の見直して経過

を観察し、健康の維持・増進を期待する目的でいわゆる健康食品を摂取させるケースもある。

筆者らは、中性脂肪値が150～400 mg/dLでかつ他に合併症など危険因子がない被験者を対象として無作為化二重盲検クロスオーバー法によってシルクフィブロインの脂質代謝改善効果を確認し報告している<sup>12)</sup>。一方、「疾病に罹患していない者」に係る考え方について、対象被験者の血中中性脂肪値が150～199 mg/dLの「やや高め」の範囲内に限り、「疾病に罹患していない者」として「特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項」<sup>13)</sup>に健康食品の使用が認められている。そこで、本研究では、筆者らが既に報告している当該試験の被験者の中から試験食品摂取前期0 Wでの中性脂肪値が150～199 mg/dLの7名を選択し、この7名が臨床試験責任医師によって最終的に「適格」と判断され、またクロスオーバーデザインとして適切に評価できることを確認した上でグループ化し、サブグループ解析によってシルクフィブロインの脂質代謝能に対する機能性と安全性について検証した。その結果、シルクフィブロイン摂取時の中性脂肪値変化量は、摂取直後より低下傾向にあり、摂取8週間後にはプラセボ食品摂取時に比べて有意な低値が確認された ( $P=0.032$ )。また、HDL コレステロール値変化量については、摂取2週間後より上昇し、摂取8週間後にはプラセボ食品摂取時に比べて有意な上昇が観察された ( $P=0.038$ )。総コレステロール値およびLDL コレステロール値のそれぞれの変化量については、試験期間を通して両食品摂取時の間で有意な差は観察されなかった。上野らは、シルクフィブロイン1包を1日3回毎食前に6カ月間長期摂取させたオープン試験 ( $n=10$ ) で、摂取前  $178.7 \pm 55.5$  mg/dL の中性脂肪値が、摂取1カ月後から有意に低下し始め6カ月後には  $95.4 \pm 20.3$  mg/dL まで有意に低下し ( $P<0.01$ )、1カ月の短期摂取試験 ( $n=1,493$ ) でも中性脂肪値およびLDL コレステロール値の有意な低下 ( $P<0.01$ ) 並びにHDL コレステロール値の有意な上昇 ( $P<0.01$ ) が観察され、総コレステロール値には変化がみられなかったことを報告している<sup>15)</sup>。

シルクフィブロインは、難消化性のため摂取することで体内の一部の脂肪およびコレステロールをその多孔性3次元構造の孔に取り込み、吸着させてそ

のまま体外に排出する働きがあり、その腸管内吸収率は3.23%であることが報告されている<sup>14)~16)</sup>。

本研究において、シルクフィブロイン摂取時は、プラセボ食品摂取時に比べて摂取8週目に有意な中性脂肪値の上昇抑制およびHDL コレステロール値の上昇作用が確認されたことは、シルクフィブロインの難消化性と多孔性3次元構造によるものと考えられ、シルクフィブロインに脂質代謝能の改善を期待できることが示唆された。また、両食品摂取時共に有害事象の発現はなく、肝機能、腎機能などの血液検査値並びに尿検査値に異常所見は観察されなかったことから、本研究の条件下において、シルクフィブロイン摂取による安全性が確認されたものと考えられた。

## 結 論

1包中内容量10gのシルクフィブロインゼリー(シルクフィブロインとして200mg含有)を1回1包1日3回毎食前に8週間連続摂取させたときのシルクフィブロインの脂質代謝に対する改善効果は無作為化二重盲検クロスオーバー法で確認した結果から、血中中性脂肪値が150～199 mg/dLの被験者を選択し、クロスオーバーデザインとして適切に評価できることを確認した上で、解析対象被験者として確定しシルクフィブロインの脂質代謝に対する機能性と安全性について検証した。

その結果、シルクフィブロイン食品群の中性脂肪値変化量推移は、摂取8週間後にプラセボ食品群に比べて有意な低値を示した ( $P=0.032$ )。HDL コレステロール値変化量推移では、シルクフィブロイン食品群は摂取2週間後より上昇がみられ、摂取8週間後ではプラセボ食品群に比べて統計学的に有意な上昇が確認された ( $P=0.038$ )。

安全性について、解析対象被験者での有害事象は発現せず、理学的、血液生化学的検査および尿検査の結果に臨床問題となる異常は観察されなかった。

以上により、シルクフィブロインには中性脂肪値低下機能並びにHDL コレステロール値上昇機能が確認されたことから、「中性脂肪値が高め」および「HDL コレステロール値が低め」の人に適した食品であることが示唆された。

## 利益相反

本研究の費用は、ドクターセラム株式会社が負担した。

## 参考文献

- 1) 田中泰史, 今富寛子, 瀧原孝宣, 他: 糖転移ヘスペリジン配合飲料の血清トリグリセリドに与える影響と安全性の評価. 薬理と治療 **38**: 553-568, 2010.
- 2) 原 祐司, 森口盛雄, 楠本 晶, 他: ポリフェノール強化ウーロン茶摂取による脂肪摂取後の血清トリグリセリド上昇抑制効果. 薬理と治療 2004; **32** (6): 335-342
- 3) 廣中貴宏, 岸本由香, 松原啓滋, 他: 難消化性デキストリン配合茶飲料の脂質摂取後の血清中性脂肪上昇抑制効果. 薬理と治療 **36**: 445-451, 2008.
- 4) 清水良樹, 北野 嶺, 松岡小百合, 他: 複合サプリメント (ギムネマ酸, キトサン, 緑茶エキス, 桑の葉エキス, イングゲン豆エキス含有) 摂取による食後血中中性脂肪値上昇抑制効果検証試験—無作為化二重盲検クロスオーバー試験—. 薬理と治療 **43**: 1329-1338, 2015.
- 5) 中島秀司, 岸 利弘, 寺野 隆, 他: エイコサペンタエン酸含有飲料の血中脂質に及ぼす効果. 日本臨床栄養学会雑誌 **24**: 195-202, 2003.
- 6) 玉井忠和, 塩谷賢一, 佐野浩斎, 他: ドコサヘキサエン酸含有魚肉ソーセージの血中脂質に及ぼす影響 (I): ドコサヘキサエン酸用量の設定試験, および過剰摂取安全性の検討試験. 日本臨床栄養学会雑誌 **25**: 293-302, 2004.
- 7) 藤本祐三, 辻 智子, 小笹英興, 他: 血中中性脂肪値が高めの成人男女を対象としたエイコサペンタエン酸・ドコサヘキサエン酸含有飲料の12週間連続摂取による血中中性脂肪値低減効果および安全性の検討. 日本臨床栄養学会雑誌 **33** (3・4): 120-135, 2011.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) Hess S, van Beek J, Pannell LK: Acid hydrolysis of silk fibroins 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.
- 11) Hyun CK, Kim IY, Frost SC: Soluble fibroin enhances insulin sensitivity and glucose metabolism in 3T3-L1 adipocytes. J Nutr **134**: 3257-3263, 2004.
- 12) 渡會伸治, 渡會雪絵, 吉川育矢, 他: シルクフィブロイン長期摂取による脂質代謝改善効果の検証. 診療と新薬 **54**: 586-592, 2017.
- 13) 消費者庁: 特定保健用食品の表示許可等について (平成26年10月30日付け消食表第259号), 別添2「特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項」
- 14) 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.
- 15) 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**: 2015 87-90, 2011.
- 16) 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).