



# ザクロ抽出発酵物（ウロリッチ®） 摂取によるオートファジーに関連した 有効性と体内動態の検証

卯川裕一<sup>1)</sup>／高良 毅<sup>2)</sup>／高沢謙二<sup>3)</sup>／石輪俊典<sup>1)</sup>

## ● 抄録

**目的：**ウロリチンは、ザクロやベリー類に含まれるエラグ酸の腸内代謝物であり、オートファジー増強効果が報告され注目を集めている成分である。今回、ザクロ抽出発酵物（ウロリチン A 10%含有）摂取時のオートファジーに関連した機能として肌や髪などの見た目に及ぼす影響を検討するために、ヒトを対象としたランダム化用量対照非盲検並行群間比較試験および体内動態試験を実施した。

**方法：**介入試験では、健康な日本人成人女性 59 名を対象に、ウロリチン A を 10 mg/日または 20 mg/日、12 週間摂取させ、肌や髪の見た目などに関する客観的評価および主観的評価を実施した。体内動態試験では、40 歳以上の日本人健康男女 30 名を対象に、ウロリチン A を 10 mg/日、50 mg/日および 250 mg/日、単回摂取した後に経時に採血し、ウロリチン A の血中濃度を測定した。

**結果：**介入試験では、肌の弾力やシミ、赤みが、シワグレードの結果よりシワが摂取前と比較して有意に改善し、サビンスケールの結果より毛髪の生え際の目立ち具合が有意に改善した。主観的項目として、毛髪の乾燥感および潤い感、ならびに活力やストレスなどが有意に改善された。体内動態試験では、250 mg 摂取群で、摂取 6 時間後に血中濃度のピークを迎え、Cmax は、10 mg 摂取群で  $0.60 \pm 1.12 \mu\text{M}$ 、50 mg 摂取群で  $0.70 \pm 0.39 \mu\text{M}$ 、250 mg 摂取群で  $1.70 \pm 0.68 \mu\text{M}$  となり、低用量でも一定の血中濃度を維持することが明らかとなった。

**結論：**ウロリチン A 10 mg および 20 mg の摂取で肌や髪に関する項目に対し改善効果がみられた。また、ウロリチン A 10 mg の継続摂取で一定の血中濃度が維持され、血管内皮機能の改善が期待されること、また 12 週間の摂取での安全性が確認された。

**【事前登録】** UMIN-CTR : UMIN000048437, UMIN000042987

**キーワード：**ウロリチン A, オートファジー, 肌と髪の機能, 体内動態

## はじめに

ウロリチンは、ザクロやベリー類やナッツ類に含まれるエラグ酸の腸内代謝物であり、主要な代謝物としてウロリチン A が知られている。ウロリチン A は、2016 年にオートファジー増強効果と線虫における寿命延長効果、高齢マウスの持久力向上効果が報告され<sup>1)</sup>、ウェルエイジング素材として注目を集めている。オートファジーは、細胞質成分をリソ

ソームで分解する細胞のプロセスと定義され、細胞内浄化、栄養素のリサイクルなどに不可欠な細胞内分解機構である。これまでに多くのモデル動物において、オートファジー活性の低下と老化との関連が報告されている<sup>2)</sup>。

株式会社ダイセルでは、微生物発酵技術を用い、ウロリチンのタンク培養による工業的な生産方法を確立<sup>3)</sup>し、ウロリチン A を 10% 含むザクロ抽出発酵物を開発した。2021 年 5 月にウロリッチ®の商品

1) 株式会社ダイセル 2) 医療法人社団盛心会 タカラクリニック 3) 医療法人社団信濃会信濃坂クリニック

名で素材販売を開始し、現在も継続販売中である。さらに、ウロリチンAの有するオートファジー促進効果を認知させるためには、オートファジーがどのように健康に貢献するのかを社会一般にも知っていただくため、2020年に設立された一般社団法人日本オートファジーコンソーシアム<sup>4)</sup>にも積極的に参画し、啓蒙活動を実施してきた。

ウロリチンAのオートファジーに関連する機能性として腸におけるバリア機能改善作用<sup>5)</sup>、認知機能改善作用<sup>6)</sup>、サーチュイン遺伝子増強作用<sup>7)</sup>、血管内皮機能改善作用<sup>8)</sup>、毛細血管増強作用<sup>9)</sup>などが報告されている。また、オートファジー効果に付随して全身での機能を発揮する可能性を示唆する報告がなされている<sup>10)</sup>。

オートファジーが活性化されることで、血管内皮機能の改善に加え、肌や髪の改善など細胞機能に付随した機能の効果が期待できる。今回、毛髪、肌、体脂肪に関する機能性を検証するため、10 mg/日、20 mg/日の2用量で12週間摂取した際の効果を検証するとともに、ウロリチンAを10 mg、50 mgおよび250 mgを単回摂取した際の体内動態を検証するためのヒト試験を実施した。

## I 対象と方法

### 1 試験デザイン

#### 1) オートファジーに関連した有効性試験

試験は用量対照ランダム化非盲検並行群間比較試験とした。本試験は医療法人社団盛心会 タカラクリニック倫理委員会の承認を得て（承認番号：2207-02398-0029-21-TC）、大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システム（UMIN）に登録を行い（UMIN試験ID：UMIN000048437）、ヘルシンキ宣言（2013年10月世界医師会フォルタレザ総会改訂）および人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（2022年3月23日策定、2022年6月30日施行）に準拠して試験を実施した。試験参加者からは、インフォームドコンセントを文書で取得した。試験実施期間は2022年8月27日から2022年12月25日とし、各被験者に対してはスクリーニング日および摂取12週間後に検査をそれぞれ実施した。

#### 2) 体内動態試験

試験は用量対照ランダム化非盲検並行群間比較試

験とした。本試験は医療法人社団信濃会 信濃坂クリニック倫理委員会の承認を得て（整理番号：734CR）、大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システム（UMIN）に登録を行い（UMIN試験ID：UMIN000042987）、ヘルシンキ宣言（2013年10月世界医師会フォルタレザ総会改訂）および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（2017年2月28日 文部科学省・厚生労働省一部改正）に準拠して試験を実施した。試験参加者からは、インフォームドコンセントを文書で取得した。試験実施期間は2021年2月2日から2021年2月4日とし、各被験者に対しては試験食品摂取前および摂取後0.5、1、2、3、6、12、24、48時間の計9時点で採血を実施し、各測定を行った。

## 2 対象者

### 1) オートファジーに関連した有効性試験

健常の成人日本人女性で以下の除外基準に該当しない者を対象にした。

①悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞の治療中もしくは既往歴がある者、②ペースメーカーや植え込み型除細動器を埋め込んでいる者、③次の慢性疾患で治療中の者；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、高血圧症、低血圧症、その他の慢性疾患、④特定保健用食品、機能性表示食品を日頃から摂取している者、⑤医薬品（漢方薬を含む）・サプリメントを常用している者、⑥血圧低下作用をもつハーブやサプリメント、ACE阻害剤などの降圧剤を使用している者、⑦抗凝固薬を使用している者、⑧アレルギー（医薬品・試験食品関連食品）がある者、⑨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、⑩新型コロナウイルス感染症に罹患している者、⑪同意書取得日以前の28日間において他の臨床試験に参加していた者、あるいは試験期間中に参加予定のある者、⑫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

以上の条件を満たし、試験参加に同意した被験者は62名であった。

被験者数は、同様の試験系で実施された臨床試験報告をもとに、統計的有意差が十分見込める人数として設定した。

### 2) 体内動態試験

40歳以上の健常の成人日本人女性でスクリーニ

ング検査時のBMIが18.5以上25.0未満の者とし、以下の除外基準に該当しない者を対象にした。

①医師または歯科医師の治療を受けている者、②薬物または食物に対する過敏症または特異体質を有する者、若しくはその既往歴のある者、③気管支喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎等のアレルギー性疾患の現症がある者、④心、肝、腎、消化器、呼吸器および血液機能等に疾患を持つ者、若しくはそれらの既往歴がある者または大きな手術歴があり、試験責任医師等により本試験の対象として不適格と判断された者（虫垂切除を除く）、⑤エラグ酸含有食品（ざくろ、ベリー類、ナッツ類等）に対するアレルギーのある者、あるいはその可能性がある者、⑥スクリーニング検査時の免疫学的検査において陽性が確認された者、⑦特定保健用食品、機能性表示食品および栄養補助食品（カプセル等のサプリメント食品）を常用しており、同意取得時点でこれらの摂取を休止できない者、⑧入所期間中の禁煙および入所2日前から退所時までの禁酒が保てない者、⑨入所7日前から退所時まで、エラグ酸含有食品（ざくろ、ベリー類、ナッツ類等）を摂取しないことを守れない者、⑩試験食品摂取前1週間以内に薬剤を使用または服用した者、あるいは薬剤を使用または服用する必要のある者、⑪試験食品摂取前12週間以内に臨床試験に参加し、医薬品等の投与を受けた者、⑫試験食品摂取前12週間以内に400 mL全血採血、4週間以内に200 mL全血採血、2週間以内に成分採血（血漿成分採血または血小板成分採血）を予定している者または行った者、⑬その他、試験責任医師等により本試験の対象として不適格であると判断された者

以上の条件を満たし、試験参加に同意した被験者は30名であった。

被験者数は、同様の試験系で実施された臨床試験報告をもとに、統計的有意差が見込める人数として設定した。

試験当日は、被験者を医療施設に來所させ、48時間後の採血が終わるまで入所させた。試験開始前および入所中は以下の事項を遵守させた。

① 同意取得日から退所時までは、特定保健用食品、機能性表示食品および栄養補助食品（カプセル等のサプリメント食品）の摂取を禁止する。

- ② 入所7日前より退所時までは、エラグ酸含有食品（ざくろ、ベリー類、ナッツ類等）の摂取を禁止する。
- ③ 入所2日前より退所時までは、アルコール含有飲料の摂取を禁止する。
- ④ 入所期間中は、実施医療機関が提供する食事および飲料以外の摂取を禁止する。
- ⑤ 入所期間中は、カフェイン含有飲料の摂取を禁止する。
- ⑥ 入所期間中は、禁煙とする。
- ⑦ 試験食品摂取1時間前から摂取後4時間までは、絶食とする。
- ⑧ 試験食品摂取1時間前から摂取後4時間までは、試験食品摂取時以外の飲水を禁止する。それ以外の時間の飲水は、過度を避け自由とする。

### 3 試験食と摂取量および摂取方法

#### 1) オートファジーに関連した有効性試験

試験食は用量の異なる被験食2種類とし、被験食は1カプセルあたりザクロ抽出発酵物（ウロリッチ®）を100 mg（ウロリチンAとして10 mg）含むハードカプセルとした。ウロリチンA 10 mg摂取群では1日1カプセル、ウロリチンA 20 mg摂取群では、1日2カプセルを水とともに1日のうち、時間は特に指定せず摂取させた。摂取期間は12週間とした。

#### 2) 体内動態試験

試験食は用量の異なる被験食3種類とし、被験食は1カプセルあたりザクロ抽出発酵物（ウロリッチ®）を100 mg（ウロリチンAとして10 mg）含むハードカプセルとした。ウロリチンA 10 mg摂取群では1カプセル、ウロリチンA 50 mg摂取群では、5カプセル、ウロリチンA 250 mg摂取群では25カプセルを水とともに単回摂取させた。

### 4 被験者の選択と試験スケジュール

#### 1) オートファジーに関連した有効性試験

試験参加に同意した87例のうち、適格基準を満たした62例を本試験に組入れ、ウロリチンA 10 mg摂取群、ウロリチンA 20 mg摂取群に31例ずつ無作為に割り付けた。各被験者に対しては、スクリーニング日、試験食品摂取開始日、12週後にそれぞれ測定を実施した。

肌や髪に関する主要評価項目はスクリーニングお

表1 解析スケジュール (オートファジーに関連した有効性試験)

		スクリーニング				本試験	
		説明会	Scr	組入	割付	0w	12w
登録	適格基準による選抜	×		×			
	I.C.	×					
	その他の手続き	×					
	割付				×		
介入	被験食品					◆————◆	
	プラセボ					◆————◆	
評価	主要アウトカム		×				×
	副次的アウトカム		×				×
	身体測定	×	×				×
	理学検査		×				×
	尿検査		×				×
	末梢血液検査		×				×
	食事調査		×				×
	問診		×				×
	日誌					◆————◆	

よび摂取 12 週後にそれぞれ測定を実施した。

## 2) 体内動態試験

試験参加に同意した 99 例のうち、適格基準を満たした 30 例を本試験に組入れ、ウロリチン A 10 mg 摂取群、ウロリチン A 50 mg 摂取群およびウロリチン A 250 mg 摂取群に 10 例ずつ無作為に割り付けた。各被験者に対しては、試験食品摂取前および摂取後 0.5, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 時間の計 9 時点で採血を実施した。また、摂取後 24 および 48 時間の計 2 時点で採尿を実施した。採便時は入所期間中、概ね 24 時間経過以降に 1 回採取を行った。

## 5 検査項目

### 1) オートファジーに関連した有効性試験

解析スケジュールを表 1 に示した。有効性評価項目の主要アウトカムは、摂取 12 週間後における Gloss Value, Diffuse Scattering Correction, 皮膚粘弾性, メラニン, 紅斑, Intensity, Skin Thickness, Low Echogenic Band (LEB), シワグレード, サビンスケール (Savin scale), 平均毛長, 成長期毛率, 休止期毛率, 軟毛密度, 硬毛密度, 軟毛比率, 硬毛比率, 肌年齢, 肌健康度とした。副次的アウトカムは、摂取 12 週間後における BMI, 体

脂肪率, 除脂肪体重, 筋肉量 [右脚, 左脚, 右腕, 左腕, 体幹部 (胴体)], 脂肪量 [右脚, 左脚, 右腕, 左腕, 体幹部 (胴体)], ウエスト周囲径, 尿中ウロリチン A 濃度, オリジナルアンケートの各質問項目とした。各アウトカムの詳細は以下に示した。

#### ① 肌検査

グロッシーマーター, キュートメーター, メグザメーター, ダーマラボを用いて実施した。調査項目は, Gloss Value, Diffuse Scattering Correction, 皮膚粘弾性, メラニン, 紅斑, Intensity, Skin Thickness, Low Echogenic Band (LEB) とした。

#### ② シワグレード判定

左目尻のシワについて, 試験責任医師または分担医師が判定した。シワグレードは, グレード 0~7 (グレード 0: シワはない, グレード 1: 不明瞭な浅いシワが僅かに認められる, グレード 2: 明瞭な浅いシワが僅かに認められる, グレード 3: 明瞭な浅いシワが認められる, グレード 4: 明瞭な浅いシワの中に, やや深いシワが僅かに認められる, グレード 5: やや深いシワが認められる, グレード 6: 明瞭な深いシワが認められる, グレード 7: 著



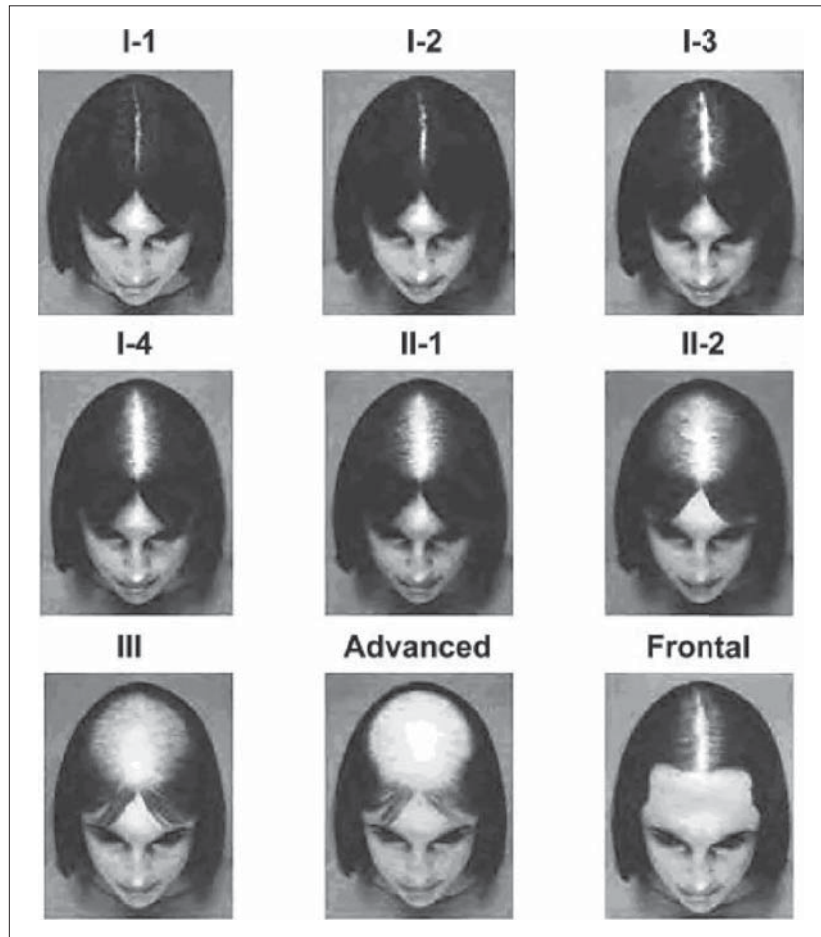


図1 サビンスケールにおける評価指標

しく深いシワが認められる)で評価した。

### ③ サビンスケール

頭頂部の毛髪の状態について、試験責任医師または分担医師が判定した。サビンスケールは、I-1, I-2, I-3, I-4, II-1, II-2, III, Advanced, Frontalのいずれかで評価し、判定は図1を参照した。

### ④ 毛髪解析

トリコスキャンを用いて実施した。調査項目は、平均毛長、成長期毛率、休止期毛率、軟毛密度、硬毛密度、軟毛比率、硬毛比率とし、来院日の2日前に対象部位(襟足部1 cm<sup>2</sup>)を1 mmに剃毛し、測定した。

### ⑤ 肌年齢検査

肌年齢測定器を用いて肌年齢、肌健康度を評価した。

### ⑥ オリジナルアンケート

リッカートスケール法により実施した。調査項目は、「肌が乾燥している」、「肌のシワが気になる」、

「肌にツヤがない」、「髪が乾燥している」、「髪の細さが気になる」、「髪の指通りが悪い」、「やる気が出ない」、「ストレスを感じる」、「1晩寝ても疲れがとれない」、「物が見えづらい」、「目が乾燥する」の11項目で、1～6の6段階(1.「まったくあてはまらない」、2.「ほとんどあてはまらない」、3.「あまりあてはまらない」、4.「少しあてはまる」、5.「かなりあてはまる」、6.「非常にあてはまる」)で回答させた。数値が低いほど自覚症状が良いことを表す。

### ⑦ 尿中ウロリチンA濃度

試験当日に採尿し、尿中のウロリチンA濃度をHPLCにより測定した。なお、測定は株式会社ヘルスケアシステムズ(愛知)に委託した。

### ⑧ 安全性評価項目

主要な安全性評価項目として有害事象発現率、副次的な安全性評価項目としてスクリーニング兼摂取前検査時に基準値内であった尿検査および末梢血液検査の各測定値が介入後において基準値外に変動し

た症例の割合とした。

## 2) 体内動態試験

試験食品摂取前および試験食品摂取後の各採血時間の血中ウロリチンA濃度より最高血中濃度(Cmax), 最高血中濃度に達するまでの時間(Tmax), 血中濃度-時間曲線下面積(AUC)および薬物濃度が1/2になるまでの時間(t1/2)の各体内動態パラメーターを算出した。血中ウロリチンA濃度は株式会社ヘルスケアシステムズ(愛知)に委託し, HPLCにて測定した。また, 試験食品摂取後の尿中および糞便中ウロリチンA濃度を測定し, 排泄されたウロリチンA量を比較検討した。

## 7 統計処理

### 1) オートファジーに関連した有効性試験

主要アウトカム, 副次的アウトカムともに前後比較と群間比較を行った。前後比較について, 連続変数是对応のあるt検定, 順序変数はWilcoxonの符号順位検定を用いて解析を行った。群間比較について, 連続変数はWelchのt検定, 順序変数はMann-WhitneyのU検定を用いて解析を行った。これらの検定において, いずれも5%未満( $P < 0.05$ )を有意差ありと判定した。なお, 多項目での多重検定について調整は行わなかった。

### 2) 体内動態試験

前後比較と群間比較を行った。前後比較は, 対応のあるt検定を用いて解析を行った。群間比較は, ANOVAおよび対応のないt検定を用いて解析を行った。これらの検定において, いずれも5%未満( $P < 0.05$ )を有意差ありと判定した。なお, 多項目, 多時点での多重検定について調整は行わなかった。

## II 結 果

### 1 被験者の背景

#### 1) オートファジーに関連した有効性試験

試験参加に同意した87例のうち, 適格基準を満たした62例を本試験に組入れ, ウロリチンA 10 mg摂取群, ウロリチンA 20 mg摂取群に31例ずつ割り付けた。全員が割り付けられた介入の提供を受けたが, 摂取12週間後検査時に来院しなかった症例3例が確認された。FASおよびSAFは, いずれも割り付け後に介入を一度も受けていない症例3例(ウロリチンA 10 mg摂取群に2例, ウロリチ

ンA 20 mg摂取群に1例)が除外された。よって, 解析データセットの症例数は59例(ウロリチンA 10 mg摂取群に29例, ウロリチンA 20 mg摂取群に30例)であった(図2)。

ITTを含めた各解析データセットにおける試験参加者の背景を表2に示した。年齢, 身長, 体重, BMI, 収縮期血圧, 拡張期血圧に群間有意差はみられなかった。

#### 2) 体内動態試験

試験参加に同意した99例のうち, 適格基準を満たした30例を本試験に組入れ, ウロリチンA 10 mg摂取群, ウロリチンA 50 mg摂取群およびウロリチンA 250 mg摂取群に10例ずつ無作為に割り付けた。年齢, 身長, 体重, BMIに群間有意差はみられなかった。

## 2 評価項目

### 1) オートファジーに関連した有効性試験

#### ① 肌検査

群間で有意差のみられた項目はなかった。メラニン, 紅斑およびIntensityは, ウロリチンA 10 mg摂取群およびウロリチンA 20 mg摂取群で摂取前と比較して有意に低値を示した(表3)。Low Echogenic Band (LEB)は, ウロリチンA 20 mg摂取群で摂取前と比較して有意に低値を示した(表3)。右頬の曲線全体に対する弾力性回復部分の比(R7)はウロリチンA 10 mg摂取群およびウロリチンA 20 mg摂取群で摂取前と比較して有意に高値を示した(表3)。また, Gloss Value, Diffuse Scattering Correction, Skin Thickness, 右足の脂肪量および左足の脂肪量はウロリチンA 10 mg摂取群で摂取前と比較して有意に高値を示した(表3)。

#### ② シワグレード判定

群間では有意差はみられなかった。シワグレードは, ウロリチンA 10 mg摂取群およびウロリチンA 20 mg摂取群で摂取前と比較して有意に低値を示した(表4)。

#### ③ サビンスケール

群間では有意差はみられなかった。サビンスケールは, ウロリチンA 20 mg摂取群で摂取前と比較して有意に低値を示した(表4)。

#### ④ 毛髪解析

群間および摂取前後の比較で, ウロリチンA 10

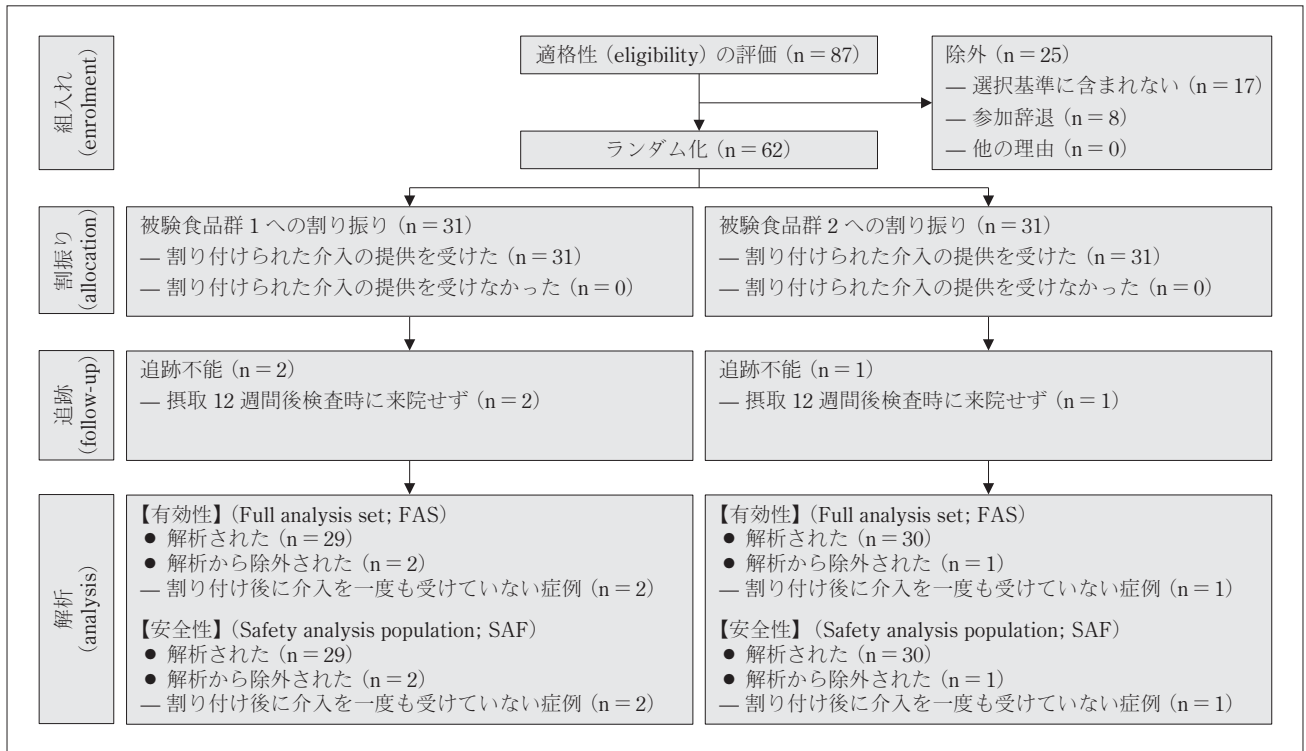


図 2 オートファジーに関連した有効性試験における追跡フローチャート

表 2 被験者背景 (オートファジーに関連した有効性試験)

項目	単位	摂取群	ITT		FAS, SAF	
			10 mg 摂取群	20 mg 摂取群	10 mg 摂取群	20 mg 摂取群
性別	—	n	31	31	29	30
		男性	0	0	0	0
		女性	31	31	29	30
年齢	歳	n 平均 ± SD	31 46.8 ± 11.7	31 46.7 ± 11.9	29 47.2 ± 11.6	30 46.6 ± 12.1
身長	cm	n 平均 ± SD	31 159.5 ± 5.9	31 159.5 ± 4.5	29 159.1 ± 5.6	30 159.5 ± 4.6
体重	kg	n 平均 ± SD	31 54.5 ± 9.0	31 54.0 ± 11.1	29 54.3 ± 9.3	30 54.2 ± 11.2
BMI	kg/m <sup>2</sup>	n 平均 ± SD	31 21.4 ± 3.4	31 21.3 ± 4.6	29 21.4 ± 3.5	30 21.3 ± 4.7
収縮期血圧	mmHg	n 平均 ± SD	31 114.9 ± 14.5	31 114.5 ± 14.6	29 113.8 ± 11.6	30 114.8 ± 14.8
拡張期血圧	mmHg	n 平均 ± SD	31 73.5 ± 8.7	31 73.1 ± 8.9	29 72.7 ± 7.7	30 73.4 ± 8.9

n : 症例数, SD : 標準偏差, ITT : Intention to treat, FAS : Full analysis set / SAF : Safety analysis population

mg 摂取群およびウロリチン A 20 mg 摂取群ともに有意差は認められなかった (表 3)。

⑤ 肌年齢検査

群間および摂取前後の比較で, ウロリチン A 10

mg 摂取群およびウロリチン A 20 mg 摂取群ともに有意差は認められなかった (表 4)。

⑥ オリジナルアンケート

群間比較では, 「髪が乾燥している」の項目は摂

表3 肌検査, 毛髪解析, 肌年齢検査, 身体測定, ウロリチン

項目	単位	時点	10 mg 摂取群			20 mg 摂取群			群間比較				
			n	平均	SD	n	Mean	SD	△	SE	95% CI -	95% CI +	P
Gloss Value	—	0週	29	8.8	2.1	30	8.1	1.7	-0.8	0.5	-1.8	0.2	0.126
		12週	29	10.1 *	3.1	30	9.1	3.3	-1.1	0.8	-2.7	0.6	0.208
Diffuse Scattering Correction	—	0週	29	6.2	2.2	30	5.4	1.7	-0.8	0.5	-1.9	0.2	0.115
		12週	29	7.5 *	3.2	30	6.6	3.3	-1.0	0.8	-2.7	0.7	0.258
右頬の曲線全体に対する弾力性回復部分の比 (R7)	—	0週	29	0.3	0.1	30	0.3	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.611
		12週	29	0.4 **	0.1	30	0.4 ***	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.713
メラニン	—	0週	29	176.3	58.4	30	167.1	37.9	-9.2	12.9	-35.1	16.6	0.476
		12週	29	141.0 *	31.5	30	146.8 ***	29.9	5.8	8.0	-10.2	21.8	0.469
紅斑	—	0週	29	247.7	133.0	30	240.7	60.7	-7.0	27.1	-61.7	47.8	0.798
		12週	29	185.3 *	48.0	30	200.3 **	58.3	15.0	13.9	-12.9	42.8	0.286
Intensity	—	0週	29	41.2	14.1	30	42.4	16.4	1.2	4.0	-6.7	9.2	0.759
		12週	29	26.9 ***	10.2	30	27.5 ***	10.3	0.6	2.7	-4.7	6.0	0.814
Low Echogenic Band (LEB)	μm	0週	29	32.2	70.1	30	32.5	61.1	0.2	17.1	-34.1	34.6	0.989
		12週	29	14.1	44.2	30	10.5 *	40.1	-3.5	11.0	-25.6	18.5	0.749
Skin Thickness	μm	0週	29	1181.4	198.7	30	1207.4	218.1	26.0	54.3	-82.7	134.7	0.634
		12週	29	1290.3 *	245.4	30	1272.8	236.0	-17.6	62.7	-143.2	108.0	0.781
毛髪密度	1/cm <sup>2</sup>	0週	29	62.9	17.2	30	58.4	20.2	-4.5	4.9	-14.3	5.3	0.358
		12週	29	67.7	20.9	30	65.7	20.7	-2.0	5.4	-12.8	8.8	0.715
成長期毛率	%	0週	29	80.6	8.0	30	79.7	8.0	-0.8	2.1	-5.0	3.3	0.688
		12週	29	79.0	7.4	30	80.8	8.1	1.7	2.0	-2.3	5.8	0.398
休止期毛率	%	0週	29	19.4	8.0	30	20.3	8.0	0.8	2.1	-3.3	5.0	0.688
		12週	29	21.0	7.4	30	19.2	8.1	-1.7	2.0	-5.8	2.3	0.398
軟毛密度	1/cm <sup>2</sup>	0週	29	17.5	6.7	30	17.1	9.7	-0.4	2.2	-4.7	4.0	0.860
		12週	29	19.9	8.6	30	20.0	10.7	0.1	2.5	-4.9	5.2	0.967
硬毛密度	1/cm <sup>2</sup>	0週	29	45.5	12.8	30	41.3	16.1	-4.1	3.8	-11.7	3.5	0.279
		12週	29	47.7	18.4	30	45.7	14.5	-2.1	4.3	-10.8	6.6	0.633
軟毛比率	%	0週	29	27.6	7.0	30	29.2	12.8	1.6	2.7	-3.8	7.0	0.544
		12週	29	31.3	13.9	30	30.1	10.2	-1.2	3.2	-7.6	5.2	0.706
硬毛比率	%	0週	29	72.4	7.0	30	70.8	12.8	-1.6	2.7	-7.0	3.8	0.544
		12週	29	68.7	13.9	30	69.9	10.2	1.2	3.2	-5.2	7.6	0.706
肌年齢	歳	0週	29	49.9	11.5	30	49.2	11.9	-0.7	3.0	-6.8	5.4	0.820
		12週	29	50.0	11.6	30	49.6	12.1	-0.5	3.1	-6.6	5.7	0.880
BMI	kg/m <sup>2</sup>	0週	29	21.4	3.5	30	21.3	4.7	-0.1	1.1	-2.2	2.1	0.938
		12週	29	21.6	3.5	30	21.3	4.5	-0.3	1.0	-2.4	1.8	0.809
体脂肪率	%	0週	29	28.3	9.0	30	27.9	7.9	-0.3	2.2	-4.8	4.1	0.881
		12週	29	28.9	9.4	30	27.9	8.3	-1.0	2.3	-5.6	3.6	0.664
除脂肪量	kg	0週	29	38.3	3.5	30	38.3	2.9	0.0	0.8	-1.6	1.7	0.967
		12週	29	38.1	3.7	30	38.3	3.3	0.2	0.9	-1.7	2.0	0.856

\*, \*\*, \*\*\* : 0週と比較して有意差あり (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001)

取開始前において, ウロリチン A 20 mg 摂取群でウロリチン A 10 mg 摂取群と比較して有意に低値を示した (表4)。

「髪が乾燥している」, 「髪の指通りが悪い」, 「やる気が出ない」および「ストレスを感じる」の項目

で, ウロリチン A 10 mg 摂取群およびウロリチン A 20 mg 摂取群で摂取前と比較して有意に低値を示した (表4)。「1晩寝ても疲れがとれない」の項目は, ウロリチン A 20 mg 摂取群で摂取前と比較して有意に低値を示した。「肌が乾燥している」の項



表3 肌検査, 毛髪解析, 肌年齢検査, 身体測定, ウロリチン (つづき)

項目	単位	時点	10 mg 摂取群			20 mg 摂取群			群間比較				
			n	平均	SD	n	Mean	SD	△	SE	95% CI -	95% CI +	P
筋肉量	kg	0週	29	36.1	3.2	30	36.1	2.7	0.0	0.8	-1.5	1.6	0.964
		12週	29	35.9	3.4	30	36.1	3.0	0.2	0.8	-1.5	1.8	0.856
右足の筋肉量	kg	0週	29	6.9	0.8	30	6.9	0.7	0.1	0.2	-0.3	0.4	0.793
		12週	29	6.8	0.8	30	6.9	0.6	0.0	0.2	-0.4	0.4	0.881
左足の筋肉量	kg	0週	29	6.9	0.8	30	6.9	0.7	0.0	0.2	-0.4	0.4	0.891
		12週	29	6.8	0.9	30	6.8	0.6	0.0	0.2	-0.4	0.4	0.971
右腕の筋肉量	kg	0週	29	1.6	0.2	30	1.7	0.2	0.1	0.0	0.0	0.1	0.225
		12週	29	1.6	0.2	30	1.7	0.2	0.1	0.1	-0.1	0.2	0.283
左腕の筋肉量	kg	0週	29	1.6	0.2	30	1.6	0.2	0.0	0.0	-0.1	0.1	0.475
		12週	29	1.6	0.2	30	1.6	0.2	0.1	0.1	-0.1	0.2	0.349
体幹部の筋肉量	kg	0週	29	19.1	1.4	30	19.0	1.0	-0.1	0.3	-0.8	0.5	0.685
		12週	29	19.1	1.6	30	19.1	1.5	0.0	0.4	-0.8	0.8	0.959
脂肪量	kg	0週	29	16.1	7.3	30	15.9	9.6	-0.2	2.2	-4.6	4.3	0.942
		12週	29	16.6	7.6	30	15.8	9.2	-0.7	2.2	-5.2	3.7	0.735
右足の脂肪量	kg	0週	29	3.2	1.0	30	3.3	1.3	0.1	0.3	-0.5	0.7	0.753
		12週	29	3.3 **	1.1	30	3.3	1.3	0.0	0.3	-0.7	0.6	0.878
左足の脂肪量	kg	0週	29	3.2	1.0	30	3.3	1.4	0.1	0.3	-0.5	0.8	0.709
		12週	29	3.3 *	1.1	30	3.3	1.3	0.0	0.3	-0.6	0.6	0.974
右腕の脂肪量	kg	0週	29	0.6	0.3	30	0.6	0.5	0.0	0.1	-0.2	0.2	0.813
		12週	29	0.6	0.3	30	0.6	0.4	0.0	0.1	-0.2	0.2	0.884
左腕の脂肪量	kg	0週	29	0.6	0.3	30	0.6	0.4	0.0	0.1	-0.2	0.2	0.923
		12週	29	0.6	0.3	30	0.6	0.4	0.0	0.1	-0.2	0.2	0.820
体幹部の脂肪量	kg	0週	29	8.5	4.8	30	8.1	6.0	-0.4	1.4	-3.2	2.4	0.770
		12週	29	8.7	5.0	30	8.1	5.9	-0.7	1.4	-3.5	2.2	0.634
ウエスト周囲径	cm	0週	29	79.7	11.1	30	79.6	11.8	-0.1	3.0	-6.1	5.9	0.967
		12週	29	80.2	11.8	30	80.5	11.7	0.3	3.1	-5.8	6.4	0.922
ウロリチン	μM	0週	29	3.0	2.2	30	2.8	1.2	-0.2	0.5	-1.1	0.8	0.730
		12週	29	11.2 ***	8.3	30	20.8 ***	13.1	9.5	2.8	3.8	15.3	0.002
ウロリチン (クレアチニン補正)	μmol/g Cr	0週	29	4.5	3.3	30	3.1	1.5	-1.3	0.7	-2.7	0.0	0.056
		12週	29	14.5	10.9	30	21.3	11.5	6.8	2.9	1.0	12.6	0.023

\*, \*\*, \*\*\* : 0週と比較して有意差あり (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ )

目は, ウロリチン A 20 mg 摂取群で摂取前と比較して有意に高値を示した (表4)。

#### ⑦ 尿中ウロリチン A 濃度

摂取12週間後の尿中ウロリチン A 濃度は, ウロリチン A 10 mg 摂取群と比較してウロリチン A 20 mg 摂取群で有意に高値を示した (表3)。また, 摂取前との比較では, ウロリチン A 10 mg 摂取群およびウロリチン A 20 mg 摂取群で有意に高値を示した (表3)。

#### ⑧ 安全性評価項目

有害事象が確認された試験参加者も見受けられたが, 医薬品の服用により回復した。また, 試験責任

医師によって試験食品との因果関係はないと判断された (Appendix 1)。

また, スクリーニング兼摂取前に基準値内であった尿検査および末梢血液検査の各測定値が介入後において基準値外に変動した症例の割合においても有意差が認められた項目はなかった (Appendix 2)。身体測定・理学検査についても, 試験責任医師が個人単位・群単位で安全性評価項目を確認し, 試験食品の摂取に伴う医学的に問題のある変動が生じていないことを確認した (Appendix 3)。

#### 2) 体内動態試験

ウロリチン A を 10 mg, 50 mg, 250 mg の 3 用

表4 シワグレード, サビンスケール, オリジナルアンケート, 肌年齢検査の要約表

項目	時点	10 mg 摂取群							20 mg 摂取群							群間比較		
		n	Min	Q1	Med	Q3	Max	群内有意差	n	Min	Q1	Med	Q3	Max	群内有意差	10 mg 摂取群の順位和	20 mg 摂取群の順位和	P
シワグレード	0週	29	0.0	1.0	2.0	2.0	4.0		30	0.0	1.0	1.0	2.0	4.0		888.5	881.5	0.766
	12週	29	0.0	0.0	1.0	2.0	4.0	*	30	0.0	1.0	1.0	1.8	3.0	*	881.0	889.0	0.859
サビンスケール	0週	29	1.0	2.0	2.0	2.0	4.0		30	1.0	2.0	2.0	3.0	5.0		798.0	972.0	0.222
	12週	29	1.0	2.0	2.0	2.0	5.0		30	1.0	2.0	2.0	2.0	5.0	*	936.0	834.0	0.200
肌が乾燥している	0週	29	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	2.0	4.0	4.0	4.0	6.0		939.0	831.0	0.252
	12週	29	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	3.0	4.0	4.5	5.0	6.0	*	831.0	939.0	0.539
肌のシワが気になる	0週	29	3.0	4.0	4.0	6.0	6.0		30	1.0	4.0	5.0	5.8	6.0		848.5	921.5	0.733
	12週	29	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	2.0	4.0	4.0	5.0	6.0		883.0	887.0	0.842
肌にツヤがない	0週	29	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	3.0	4.0	5.0	5.0	6.0		877.0	893.0	0.909
	12週	29	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	2.0	4.0	4.0	5.0	6.0		890.0	880.0	0.754
髪が乾燥している	0週	29	4.0	5.0	5.0	6.0	6.0		30	2.0	4.0	5.0	5.0	6.0		993.5	776.5	0.049
	12週	29	2.0	4.0	5.0	5.0	6.0	*	30	2.0	3.3	4.0	5.0	6.0	*	932.5	837.5	0.332
髪の細さが気になる	0週	29	1.0	2.0	4.0	6.0	6.0		30	1.0	3.0	3.0	5.0	6.0		875.0	895.0	0.943
	12週	29	1.0	3.0	3.0	4.0	6.0		30	1.0	2.0	3.0	4.0	6.0		906.5	863.5	0.578
髪の指通りが悪い	0週	29	1.0	4.0	5.0	6.0	6.0		30	1.0	4.0	4.0	5.0	6.0		983.5	786.5	0.075
	12週	29	1.0	4.0	4.0	5.0	6.0	**	30	1.0	3.0	3.5	4.8	6.0	**	957.5	812.5	0.174
やる気が出ない	0週	29	1.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	1.0	3.0	4.0	4.8	6.0		962.5	807.5	0.143
	12週	29	1.0	3.0	4.0	4.0	5.0	**	30	1.0	3.0	3.0	4.0	6.0	**	991.5	778.5	0.051
ストレスを感じる	0週	29	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	1.0	3.0	4.0	5.0	6.0		954.5	815.5	0.174
	12週	29	2.0	3.0	4.0	4.0	6.0	**	30	1.0	3.0	4.0	4.0	6.0	*	953.5	816.5	0.184
1晩寝ても疲れがとれない	0週	29	1.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	1.0	4.0	4.0	5.0	6.0		910.0	860.0	0.530
	12週	29	2.0	3.0	4.0	5.0	5.0		30	1.0	3.0	4.0	4.0	5.0	**	965.5	804.5	0.130
物が見えづらい	0週	29	1.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	1.0	3.0	4.0	5.0	6.0		921.5	848.5	0.429
	12週	29	2.0	3.0	4.0	4.0	5.0		30	1.0	3.0	4.0	4.0	6.0		920.5	849.5	0.413
目が乾燥する	0週	29	2.0	4.0	5.0	5.0	6.0		30	2.0	4.0	4.0	5.0	6.0		943.0	827.0	0.258
	12週	29	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0		30	1.0	3.3	4.0	5.0	6.0		949.0	821.0	0.213
肌健康度	0週	29	2.0	3.0	3.0	3.0	5.0		30	1.0	3.0	3.0	3.0	5.0		830.0	940.0	0.436
	12週	29	1.0	3.0	3.0	3.0	4.0		30	2.0	3.0	3.0	3.0	5.0		826.0	944.0	0.295

n : 症例数 / Min : 最小値 / Q1 : 第一四分位数 / Med : 中央値 / Q3 : 第三四分位数 / Max : 最大値

\*, \*\*, \*\*\* : 0週と比較して有意差あり (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001)

量で単回摂取後の血中ウロリチン A 量の経時変化を図3に示した。10 mg 摂取時は摂取0.5時間でピークを迎え、6時間後にもピークがみられた。50 mg および 250 mg 摂取時は、摂取6時間後にピークがみられた。

表5に体内動態の各パラメーター (Cmax, Tmax, AUC, t1/2) を示した。Cmaxは、ウロリチン A 10 mg 摂取群で  $0.60 \pm 1.12 \mu\text{M}$ 、ウロリチン A 50 mg 摂取群で  $0.70 \pm 0.39 \mu\text{M}$ 、ウロリチン A 250 mg 摂取群で  $1.70 \pm 0.68 \mu\text{M}$  であり、投与量に対して血中濃度の増加は軽微に留まった。また、Tmaxは、ウロリチン A 10 mg 摂取群で  $4.65 \pm 2.21$  時間、ウロリチン A 50 mg 摂取群で  $7.20 \pm 2.53$  時間、ウロリチン A 250 mg 摂取群で  $5.00 \pm 1.63$  時

間であり、最高濃度に達するには4時間以上の時間が必要であることがわかった。また、AUCはウロリチン A 10 mg 摂取群で  $2.36 \pm 0.81$ 、ウロリチン A 50 mg 摂取群で  $7.86 \pm 3.09$ 、ウロリチン A 250 mg 摂取群で  $25.36 \pm 5.36$  であり、ウロリチン A 10 mg 摂取群とウロリチン A 250 mg 摂取群では10倍近くの差がみられた。t1/2は、ウロリチン A 10 mg 摂取群で  $8.65 \pm 2.83$  時間、ウロリチン A 50 mg 摂取群で  $7.42 \pm 1.65$  時間、ウロリチン A 250 mg 摂取群で  $8.39 \pm 1.15$  時間であり、いずれも8時間前後で血中濃度が半分になることが明らかになった。

### III 考 察

ウロリチン A は、ザクロやベリー類に含まれる

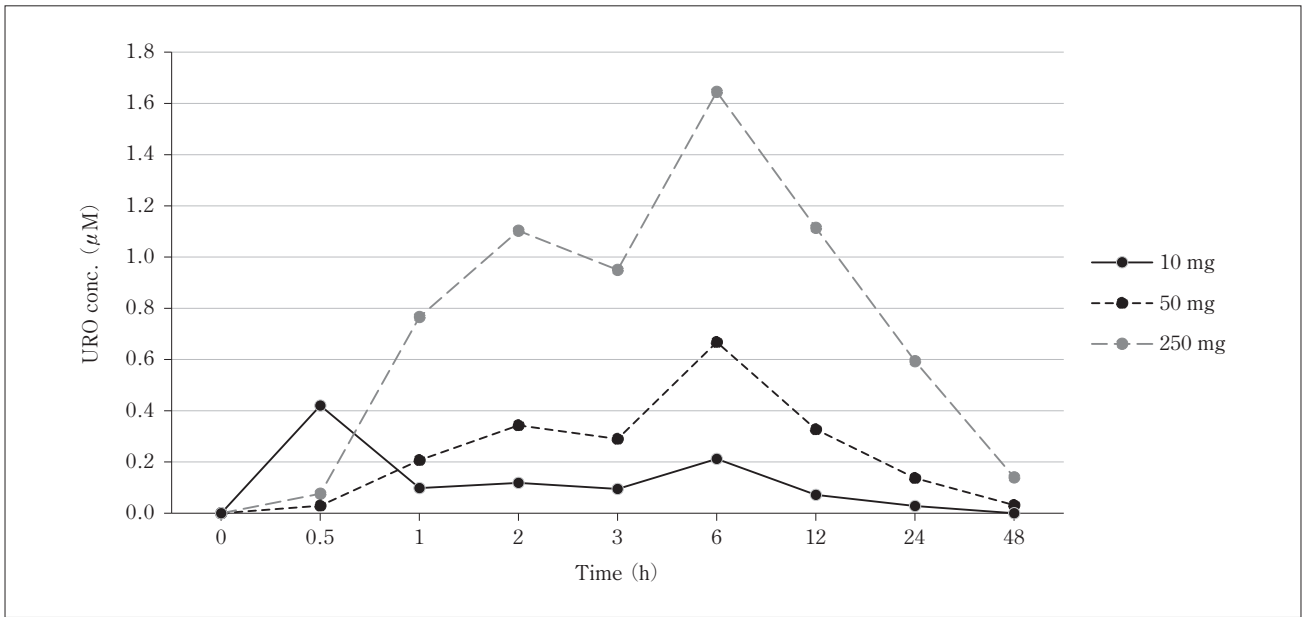


図3 ウロリチンA 単回摂取時の血中ウロリチンA量の経時変化

表5 ウロリチンA 単回摂取時の各種体内動態パラメーター

投与量	Cmax	Tmax	AUC	t1/2
10 mg/日	0.60 ± 1.12	4.65 ± 2.21	2.36 ± 0.81	8.65 ± 2.83
50 mg/日	0.70 ± 0.39	7.20 ± 2.53	7.86 ± 3.09	7.42 ± 1.65
250 mg/日	1.70 ± 0.68	5.00 ± 1.63	25.36 ± 5.36	8.39 ± 1.15

エラグ酸の主要な腸内代謝物であり、オートファジーの1種である、マイトファジーを活性化させる効果が報告されている<sup>1)</sup>。オートファジーは、細胞の新陳代謝を高め、肌や髪などの見た目に関する機能<sup>11)12)</sup>や、体脂肪減少<sup>12)</sup>、睡眠改善<sup>13)</sup>、免疫賦活<sup>14)</sup>など様々な機能に関与しており、オートファジーを高めることでそれらが改善されることが期待できる。

今回はその中でも毛髪、肌および体脂肪への影響に着目した。まず、毛髪について、毛髪成長は、毛包の休止期、再生期、退行期を周期的に繰り返すことで成り立ち<sup>16)17)</sup>、この毛包サイクルは、毛包幹細胞の静止と活性化を制御する内在性および外来性のシグナルによって制御される<sup>17)</sup>。オートファジーはマウスを用いた研究において毛髪の成長を促すことが確認され<sup>12)</sup>、ex vivoにおいてヒト頭皮毛包器官培養物の成長を維持するのに必須であることが示されている<sup>18)</sup>。徐々にオートファジーが毛髪の成長を促進するエビデンスが蓄積されているが、オートファジーが毛包において細胞間のシグナル伝達に

のように寄与しているかは未だ明らかにされていない。次に、肌について、オートファジーは老化の速度を低下させる一方で、老化によってオートファジー活性は減少する<sup>11)19)20)</sup>。表皮細胞におけるケラチノサイト幹細胞は、一部オートファジーによって維持されており<sup>21)</sup>、紫外線B波(UVB)の紫外線照射に対して、オートファジーはヌクレオチド切除修復によるDNA損傷認識を改善し<sup>22)</sup>、炎症を抑えることが確認されている<sup>23)</sup>。最後に、体脂肪に関して、オートファジーの持続的活性化はmechanistic target of rapamycin kinase complex 1阻害を介して脂肪分解を誘導することが報告されている<sup>13)</sup>。また、前駆脂肪細胞株(3T3-L1細胞)を用いた研究において、オートファジーが脂肪分解に必要であることも示されている<sup>24)</sup>。

以上より、ウロリチンAの摂取は上記作用機序を介して、毛髪、肌および体脂肪に影響を与える可能性がある。そこで、本試験では探索的試験として、ウロリチンAの摂取量を10 mg/日または20 mg/日に設定し、毛髪、肌および体脂肪に関わる指

標に対する影響を検証した。

2つの用量間において、FASでは、毛髪、肌および体脂肪に関連する項目の群間有意差は確認されなかった。唯一、ウロリチンA 10 mg 摂取群とウロリチンA 20 mg 摂取群で群間有意差が認められた項目は尿中ウロリチン量であり、ウロリチンA 20 mg 摂取群の方がウロリチンA 10 mg 摂取群よりも尿中へのウロリチン排出量が多かった。これらの結果より、ウロリチンAの摂取用量に依存してウロリチンの血中濃度も高まることがわかった。

群内比較において、ウロリチンA 10 mg 摂取群は客観的項目として、肌の弾力やシミ、赤み、シワなどが有意に改善し、主観的項目として、毛髪の乾燥感および潤い感、ならびに活力やストレスなどが有意に改善された。また、主観的項目では、睡眠による疲労の回復感や物の見えづらさが改善される傾向にあった。

一方、ウロリチンA 20 mg 摂取群において、FASでは、客観的項目として、肌検査の結果より、肌の弾力やシミ、赤み、Low echogenic band (LEB; 光老化に対する指標)が、シワグレードの結果よりシワなどが有意に改善することが確認され、毛髪密度が増加する傾向にあった。また、サピンスケールの結果より毛髪の生え際の目立ち具合が有意に改善することが認められた。主観的項目としては、シワ、肌や毛髪の乾燥感、毛髪の細さや潤い感、および活力やストレス、睡眠による疲労の回復感が有意に改善された。

特に客観的な毛髪関連の項目では、ウロリチンA 20 mg 摂取群の摂取のみに、毛髪密度および硬毛密度の改善傾向が確認されたため、毛髪に影響を与えるには少なくとも1日にウロリチン20 mgを摂取する必要があると考える。

また、肌に関しては、試験を秋から冬にかけて実施したため、乾燥に向かう方向での試験であった。そのため、ウロリチンA 10 mg 摂取群で、光沢度を意味するGloss Valueおよび光沢測定時の光の拡散乱補正したDiffuse Scattering Correctionの数値の増加が認められたことの背景には、皮膚バリア機構の低下に伴う油分泌があったと考えられる。ウロリチンA 20 mg 摂取群では、ウロリチンAにより肌状態の悪化が抑制され、水分が保持されていたことで、Gloss ValueおよびDiffuse Scattering

Correctionの上昇が抑えられたのではないかと推察される。

今回、肌および髪に対する影響を中心に効果を検証したが、Davideらは、ウロリチンAのオートファジー活性を介した全身への健康寄与の可能性を考察している<sup>25)</sup>。それによると、筋肉、心臓、脳、関節、免疫、腸、肝臓、腎臓、膵臓の各臓器での炎症や疾患に対する作用がオートファジーの活性化により期待され、動物モデル等での報告もみられる。今後、肌および髪以外の機能についてもヒトでの評価が期待される。

また、安全性評価において、一部の参加者で有害事象が確認された。しかし、いずれの症例も試験計画時に定められた基準から、試験責任医師によって試験食品との因果関係はないと判断された。また、試験責任医師は、身体測定・理学検査、尿検査、末梢血液検査の群単位におけるデータを確認し、個別単位でも健康状況を把握し、被験食品の摂取に伴う医学的に問題のある変化が生じていないことを確認した。よって、本試験条件下における被験食品の12週間継続摂取は安全であった。

最後に体内動態について考察する。Cmaxは、ウロリチンA 10 mg 摂取群とウロリチンA 50 mg 摂取群で大きな差はなく、0.60~0.70  $\mu\text{M}$ であった。また、ウロリチンA 250 mg 摂取群で1.70  $\mu\text{M}$ であり、投与量に比例した血中濃度の増加はみられなかった。また、Tmaxは、ウロリチンA 10 mg、50 mg および250 mg 摂取で4.65時間から7.20時間までの幅で推移しており、最高濃度に達するには5~6時間が必要であることがわかった。Pénélopeらは、合成ウロリチンAを250 mg/日または1000 mg/日、単回摂取した際の体内動態について250 mg/日で、Cmaxが2.63  $\mu\text{M}$ 、Tmaxが6.01時間であったと報告しており、今回の我々の結果と近似していた。また、1000 mg/日の場合はCmaxが8.41  $\mu\text{M}$ 、Tmaxが6.00時間であり、Cmaxについては、10 mg/日の我々のデータ0.60  $\mu\text{M}$ に対し、1000 mgの摂取では、100倍の60  $\mu\text{M}$ までは到達されず、8.4  $\mu\text{M}$ に留まった。これは、1000 mgの摂取は、高用量のウロリチンAが一気に大腸へ入り込むため、腸管上皮への接触を受ける機会が減り、そのまま糞便中へ排泄されるためと考えられた。



また、AUCはウロリチンA 10 mg 摂取群で2.36, ウロリチンA 50 mg 摂取群で7.86, ウロリチンA 250 mg 摂取群で25.36であり、ウロリチンA 10 mg 摂取群とウロリチンA 250 mg 摂取群では10倍近くの差がみられた。Pénélopeらは、合成ウロリチンAを250 mg/日、単回摂取した場合のAUCが27.0であると報告しており、今回の結果と近似している<sup>26)</sup>。

t<sub>1/2</sub>は、今回の投与群ではいずれも8時間前後で血中濃度が半分になることが明らかになった。

#### IV 結 論

ウロリチンAのオートファジーに関連した有効性(毛髪, 肌, 体脂肪)について、探索的に評価することを目的として試験を実施した。健康な日本人成人女性を対象に、ウロリチンAを10 mg/日または20 mg/日、12週間摂取させたところ、用量反応性の違いは明らかにされなかった。しかし、群内比較において、ウロリチン10 mg/日摂取群は客観的項目として、肌検査の結果より肌の弾力やシミ、赤みが、シワグレードの結果よりシワが有意に改善し、主観的項目として、毛髪の乾燥感および潤い感、ならびに活力やストレスなどが有意に改善された。一方、ウロリチンA 20 mg/日摂取群は客観的項目として、肌検査の結果より肌の弾力やシミ、赤みが、シワグレードの結果よりシワが、サビンスケールの結果より毛髪の生え際の目立ち具合などが有意に改善した。他に光老化が有意に抑制され、主観的項目として、肌や毛髪の乾燥感、毛髪の潤い感、および活力やストレス、睡眠による疲労の回復感が有意に改善された。各用量でのみ有意な改善が認められた項目は、ウロリチンA 10 mg/日群が肌の油分量と厚みの増加であり、ウロリチンA 20 mg/日群が光老化、毛髪の状態と自覚する睡眠の状態であった。加えて、本試験において12週間の食品の摂取は安全であった。

体内動態試験では、ウロリチン10 mg, 50 mg, 250 mgの3用量の単回摂取で検討した結果、C<sub>max</sub>が0.60~1.70 μM, T<sub>max</sub>が6時間程度であり、低用量の場合も、高用量の既報告と近似していた。

以上述べたように、今回のオートファジーに関連した有効性試験および体内動態試験の結果からウロリチン<sup>®</sup>として100 mg~200 mg(ウロリチンAと

して10 mg~20 mg)を摂取することが安全性および有効性の観点から有用であると考えられた。ウロリチン<sup>®</sup>の有用性は、ウロリチンAが主要な成分として考えられるが、他の発酵成分等による効果の寄与や吸収性の向上などの影響も考えられ、今後の検討が望まれる。

#### 利 益 相 反

本試験は、(株)ダイセルからオルトメディコ(株)および(株)東京臨床薬理研究所に試験委託して行われた。試験費用ならびに試験品は(株)ダイセルが負担、提供した。(株)ダイセルと共著者には謝金の授受はない。

#### 文 献

- 1) Ryu D, Mouchiroud L, Andreux PA, Katsyuba E, Moullan N, Nicolet-Dit-Félix AA, et al: Urolithin A induces mitophagy and prolongs lifespan in *C. elegans* and increases muscle function in rodents. *Nat Med* 2016; **22**: 879-88.
- 2) 猪俣 恵, 堀江 俊, 引頭 毅: オートファジーと老化の関連性(総説). *岐阜歯会誌* 2018; **45**: 1-7.
- 3) 工藤真丈, 中島賢則, 山本浩明(2017) ウロリチン類の製造方法, 特許第7101125号
- 4) 一般社団法人日本オートファジーコンソーシアム (<https://autophagy-conso.com/>)
- 5) Singh R, Chandrashekharappa S, Bodduluri SR, Baby BV, Hegde B, Kotla NG, et al: Enhancement of the gut barrier integrity by a microbial metabolite through the Nrf2 pathway. *Nat Commun* 2019; **10**: 89-106.
- 6) Fang EF, Hou Y, Palikaras K, Adriaanse BA, Kerr JS, Yang B, et al: Mitophagy inhibits amyloid-β and tau pathology and reverses cognitive deficits in models of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci.* 2019; **22**: 401-12.
- 7) Chong Z, Matsuo H, Onoue S, Yamamoto H, Ito H, Katakura Y: Identification of polyphenols that repair the ultraviolet-B-induced DNA damage via SIRT1-dependent XPC/XPA activation. *J Funct Foods* 2019; **54**: 119-27.
- 8) 卯川裕一, 工藤真丈, 大江健一, 岸本良美, 鈴木千賀子, 西本悠一郎, 中村史子, 海老原淑子: ザクロ抽出発酵物(ウロリチン<sup>®</sup>)摂取による血管内皮機能改善効果と安全性の検証—プラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験—. *薬理と治療* 2021; **49**: 1715-28.
- 9) 前田雄大, 武野 團, 中野 譲, 藤井千春, 卯川裕一, 石輪俊典, 金谷重彦, 伊賀瀬道也: 非侵襲毛細血管顕微鏡を用いたウロリチンA含有ザクロ抽出発酵物(ウロリチン<sup>®</sup>)摂取に伴う毛細血管変化と内皮機能評価—ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験—. *薬理と治療* 2023; **51**: 813-29.
- 10) Davide Amico, D D', Andreux PA, Valdés P, Singh A,

- Rinsch C, Auwerx J: Impact of the Natural Compound Urolithin A on Health, Disease, and Aging Trends. *Mol Med* 2021; **27**: 687-99.
- 11) Eckhart L, Tschachler E, Gruber F: Autophagic Control of Skin Aging. *Front Cell Dev Biol* 2019; **30**: 143-56.
- 12) Chai M, Jiang M, Vergnes L, Fu X, Barros SC, Doan NB, et al: Stimulation of Hair Growth by Small Molecules that Activate Autophagy. *Cell Rep* 2019; **27**: 3413-21.
- 13) Zhang X, Wu D, Wang C, Luo Y, Ding X, Yang X et al: Sustained activation of autophagy suppresses adipocyte maturation via a lipolysis-dependent mechanism. *Autophagy* 2020; **16**: 1668-82.
- 14) Chauhan AK, Mallick BN: Association between autophagy and rapid eye movement sleep loss-associated neurodegenerative and patho-physio-behavioral changes. *Sleep Med* 2019; **63**: 29-37.
- 15) Jiang GM, Tan Y, Wang H, Peng L, Chen HT, Menget XJ, et al: The relationship between autophagy and the immune system and its applications for tumor immunotherapy. *Mol Cancer* 2019; **18**: 17-38.
- 16) Müller-Röver S, Handjiski B, van der Veen C, Eichmüller S, Foitzik K, McKay IA, et al; A Comprehensive Guide for the Accurate Classification of Murine Hair Follicles in Distinct Hair Cycle Stages. *J Invest Dermatol* 2001; **117**: 3-15.
- 17) Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The Hair Follicle as a Dynamic Miniorgan. *Curr Biol* 2009; **19**: R132-42.
- 18) Parodi C, Hardman JA, Allavena G, Marotta R, Catelani T, Bertolini M et al: Autophagy is essential for maintaining the growth of a human (mini-) organ: Evidence from scalp hair follicle organ culture. Simonsen A, editor. *PLOS Biol* 2018; **16**: e2002864.
- 19) Velarde MC: Epidermal Barrier Protects against Age-Associated Systemic Inflammation. *J Invest Dermatol* 2017; **137**: 1206-8.
- 20) Das LM, Binko AM, Traylor ZP, Peng H, Lu KQ: Vitamin D improves sunburns by increasing autophagy in M2 macrophages. *Autophagy* 2019; **15**: 813-26.
- 21) Cho IJ, Lui PP, Obajdin J, Riccio F, Stroukov W, Willis TL et al: Mechanisms, Hallmarks, and Implications of Stem Cell Quiescence. *Stem Cell Reports* 2019; **12**: 1190-200.
- 22) Qiang L, Zhao B, Shah P, Sample A, Yang S, He YY. Autophagy positively regulates DNA damage recognition by nucleotide excision repair. *Autophagy* 2016; **12**: 357-68.
- 23) Qiang L, Sample A, Shea CR, Soltani K, Macleod KF, He YY: Autophagy gene ATG7 regulates ultraviolet radiation-induced inflammation and skin tumorigenesis. *Autophagy* 2017; **13**: 2086-103.
- 24) Lizaso A, Tan K-T, Lee Y-H.  $\beta$ -adrenergic receptor-stimulated lipolysis requires the RAB7-mediated autolysosomal lipid degradation. *Autophagy* 2013; **9**: 1228-43.
- 25) D'Amico D, Andreux PA, Valdés P, Singh A, Rinsch C, Auwerx J: Impact of the Natural Compound Urolithin A on Health, Disease, and Aging. *Trends Mol Med* 2021; **27**: 687-99.
- 26) Andreux PA, Blanco-Bose W, Ryu D, Burdet F, Ibberson M, Aebischer P, et al: The mitophagy activator urolithin A is safe and induces a molecular signature of improved mitochondrial and cellular health in humans. *Nat Metab* 2019; **1**: 595-603.

## Autophagy-Related Efficacy by Ingesting Fermented Pomegranate Extract (Urorich<sup>®</sup>) and Verification of Pharmacokinetics

Yuichi UKAWA<sup>1)</sup> / Tsuyoshi TAKARA<sup>2)</sup> / Kenji TAKAZAWA<sup>3)</sup> / Shunsuke ISHIWA<sup>1)</sup>

### Abstract

**Objectives:** Urolithin A, an intestinal metabolite of ellagic acid contained in nuts, pomegranate and berries is a component that has been reported to have an autophagy-enhancing effect and is attracting attention. In this study, a randomized, dose-controlled, open-label parallel group study in humans was undertaken to examine the effects of ingesting fermented pomegranate extract (containing urolithin A 10%) on the condition of skin and hair as a function related to autophagy. Comparative studies and pharmacokinetic studies were also conducted.

**Methods:** In the intervention study, 59 healthy Japanese adult women took urolithin A at 10 mg/day or 20 mg/day for 12 weeks, and conducted objective and subjective evaluations of the appearance of their skin and hair. In the pharmacokinetics study, 30 healthy Japanese men and women aged 40 years or older took 10 mg/day, 50 mg/day, and 250 mg/day of urolithin A, recorded absorbance measurements over time.

**Results:** In the intervention trial, scores for the skin elasticity, age spots, and redness significantly improved compared to the baseline values based on the wrinkle grade results. Visibility of the hairline also significantly improved based on the Sabin scale results. As for subjective items, the feeling of dryness and moisture in the hair, as well as vitality and stress, were significantly improved. In the pharmacokinetics study, the blood concentration peaked 6 hours after intake in the 50 mg and 250 mg intake group, and C<sub>max</sub> was  $0.60 \pm 1.12 \mu\text{M}$  in the 10 mg intake group,  $0.70 \pm 0.39 \mu\text{M}$  in the 50 mg intake group, and  $1.70 \pm 0.68$  in the 250 mg intake group. It became clear that a constant blood concentration was maintained even at low doses.

**Conclusions:** Intake of 10 mg and 20 mg of urolithin A had an improvement effect on skin and hair items. In addition, continuous intake of Urolithin A 10 mg maintained a certain blood level and was expected to improve vascular endothelial function, and it was confirmed that it was safe to take for 12 weeks.

**Trial registration:** UMIN-CTR : UMIN000048437, UMIN000042987

**Key Words:** Urolithin A, Autophagy, Skin and Hair Function, Pharmacokinetics

Appendix 1 主要な安全性評価項目

項目	10 mg 摂取群			20 mg 摂取群			群間比較 *			
	n	発現例数	発現率 (%)	n	発現例数	発現率 (%)	Δ (%)	95% CI -	95% CI +	P
有害事象発現率	29	0	0.0	30	2	6.7	6.7	-2.6	15.9	0.492

Appendix 2 副次的な安全性評価項目

項目	10 mg 摂取群			20 mg 摂取群			群間比較			
	n	該当例数	該当率 (%)	n	該当例数	該当率 (%)	Δ (%)	95% CI -	95% CI +	P
尿蛋白定性	29	0	0.0	30	1	3.3	3.3	-3.3	9.9	1.000
尿糖定性	29	0	0.0	30	0	0.0	0.0	NA	NA	NA
尿 pH	29	1	3.4	30	1	3.3	-0.1	-9.4	9.1	1.000
尿潜血反応	29	2	6.9	30	0	0.0	-6.9	-16.1	2.3	0.237
白血球数 (WBC)	29	2	6.9	30	2	6.7	-0.2	-13.1	12.6	1.000
赤血球数 (RBC)	29	0	0.0	30	2	6.7	6.7	-2.6	15.9	0.492
ヘモグロビン (Hb)	29	0	0.0	30	2	6.7	6.7	-2.6	15.9	0.492
ヘマトクリット値 (Ht)	29	1	3.4	30	5	16.7	13.2	-2.2	28.6	0.195
血小板数 (PLT)	29	0	0.0	30	1	3.3	3.3	-3.3	9.9	1.000
AST (GOT)	29	1	3.4	30	1	3.3	-0.1	-9.4	9.1	1.000
ALT (GPT)	29	0	0.0	30	1	3.3	3.3	-3.3	9.9	1.000
γ-GT (γ-GTP)	29	2	6.9	30	0	0.0	-6.9	-16.1	2.3	0.237
総ビリルビン (T-BIL)	29	1	3.4	30	2	6.7	3.2	-8.0	14.4	1.000
総蛋白 (TP)	29	0	0.0	30	1	3.3	3.3	-3.3	9.9	1.000
尿素窒素 (UN)	29	1	3.4	30	1	3.3	-0.1	-9.4	9.1	1.000
クレアチニン (CRE)	29	0	0.0	30	1	3.3	3.3	-3.3	9.9	1.000
尿酸 (UA)	29	2	6.9	30	1	3.3	-3.6	-14.8	7.6	0.612
ナトリウム (Na)	29	0	0.0	30	0	0.0	0.0	NA	NA	NA
カリウム (K)	29	1	3.4	30	1	3.3	-0.1	-9.4	9.1	1.000
クロール (Cl)	29	0	0.0	30	1	3.3	3.3	-3.3	9.9	1.000
血清アミラーゼ (AMY/S)	29	3	10.3	30	4	13.3	3.0	-13.5	19.5	1.000
総コレステロール (T-Cho)	29	3	10.3	30	6	20.0	9.7	-8.7	28.0	0.472
HDL-コレステロール (HDL-Cho)	29	3	10.3	30	1	3.3	-7.0	-19.8	5.8	0.353
LDL-コレステロール (LDL-Cho)	29	2	6.9	30	3	10.0	3.1	-11.1	17.3	1.000
中性脂肪 (TG)	29	3	10.3	30	1	3.3	-7.0	-19.8	5.8	0.353
グルコース (GLU)	29	0	0.0	30	0	0.0	0.0	NA	NA	NA
ヘモグロビン A1c (HbA1c: NGSP)	29	0	0.0	30	0	0.0	0.0	NA	NA	NA

n : 症例数, Δ : 該当率の差 (20 mg 摂取群 - 10 mg 摂取群), 95% CI - : 95%信頼区間下限, 95% CI + : 95%信頼区間上限, NA : Not Available

Appendix 3 身体測定・理学検査結果

項目	単位	時点	10 mg 摂取群			20 mg 摂取群		
			n	平均	SD	n	平均	SD
身長	cm	0週	29	159.1	5.6	30	159.5	4.6
		12週	0	—	—	0	—	—
体重	kg	0週	29	54.3	9.3	30	54.2	11.2
		12週	29	54.7	9.6	30	54.1	10.9
BMI	kg/m <sup>2</sup>	0週	29	21.4	3.5	30	21.3	4.7
		12週	29	21.6	3.5	30	21.3	4.5
収縮期血圧	mmHg	0週	29	113.8	11.6	30	114.8	14.8
		12週	29	113.9	16.4	30	113.0	15.6
拡張期血圧	mmHg	0週	29	72.7	7.7	30	73.4	8.9
		12週	29	72.8	10.4	30	73.4	10.4