



未熟温州みかんエキス粉末含有食品の 血流に及ぼす効果と安全性の検討：

4週間継続摂取の二重盲検ランダム化比較試験

峰時俊貴^{1)*}／加藤 晃¹⁾／中島 温^{2)**}

はじめに

冷えは、「冷え性」または「冷え症」とも記載されるが、厳密に区別されることはまれで、東洋医学では体質としての「冷え性」の意味合いが強く、西洋医学では明確な診断基準はない。貧血、甲状腺機能低下症、新陳代謝障害、胃腸障害、循環障害、更年期障害、生活様式、食生活などさまざまな原因により発症すると考えられており¹⁾、治療が必要と思われる。驚くことに半数以上の女性が冷えを感じていることも報告されており²⁾、冷えを訴える部位としては、身体の一部と回答した人が7割程度で、足先、手先と回答した人がほぼ同数という結果も報告されている³⁾。また、冷えを訴える人の増加、低年齢化に加え男性の冷え性⁴⁾など、冷えの問題は広く国民的な課題であるとも言える。

厚生労働省研究班監修の女性の健康推進室 Wellness Labo ウェルネス ラボ (https://w-health.jp/woman_trouble/cold/) には、「当帰四逆加呉茱萸生姜湯」、「温経湯」、「桂枝茯苓丸」、「加味逍遥散」などの漢方薬が冷え性に有効であると記されている。しかしながら、「令和4年度健康実態調査結果の報告」(厚生労働省)によると、漢方薬で冷えに対して効果があったとする回答は、233人中23人と、決して満足できる結果ではないことを表している。

一方、温州みかんやはっさくなど柑橘類の果皮、中果皮および薄皮(じょうのう膜)に多く含まれるヘスペリジンというフラボノイドの一種が知られている。このフラボノイドは、メカニズムは不明ながらも、成熟して食されるみかんと比べて、7月から8月上旬にかけて摘果(間引き)される未熟温州みかんに多く含まれる⁵⁾。

われわれはこの未熟温州みかんを原料として、有機溶媒を用いずに100℃以上の高温高压状態の水を抽出溶媒として使用する環境負荷の低い亜臨界水抽出⁶⁾を利用して、ヘスペリジン等のフラボノイドを高含有するエキスを抽出後、スプレードライで粉末化した未熟温州みかんエキス粉末(商品名「静岡県産青みかんエキスPSW」日研フード(株))を開発している。

ヘスペリジンは、アグリコンにヘスペレチン骨格をもち、グルコースとラムノースが結合した構造を有し、ルチンやケルセチンと同様にビタミンPとしても認識されている。ヘスペリジンには、多岐にわたって、抗発癌作用⁷⁾、抗酸化作用⁸⁾、抗炎症作用⁹⁾¹⁰⁾、コレステロール低下作用⁸⁾¹⁰⁾、血糖値低下作用¹¹⁾などの健康に有益な効果があると報告されている。これまでに、われわれは未熟温州みかんエキス粉末を用いた動物実験にて、抗アレルギー効果を確認している¹⁴⁾。また、ヒト介入試験においても鼻アレルギー症状の軽減効果とQOL改善効果を確認している¹⁵⁾。また、ヘスペリジンに α -1,4結合でグルコースを転移・付加させ水溶性を高めた糖転移ヘスペリジンでは、血流改善作用を介して冷え性に悩む人にも改善効果があったことが報告されてい

1) 日研フード株式会社

2) うえのあさがおクリニック

*: 責任筆者, **: 試験責任医師

る¹²⁾¹³⁾。

そこで今回我々は、被験食品（未熟温州みかんエキス粉末含有食品）摂取による血流に及ぼす影響を明らかにすることを目的に、30歳以上65歳未満の冷え性を自覚する健康な男女を対象に被験食品を4週間連続摂取するランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を実施し検討を行った。

I 対象と方法

1 試験実施体制

本試験は、被験者の人権および安全性と試験データの信頼性の確保を図るため、試験に関与しない第三者で構成される、うへのあさがおクリニック倫理審査委員会での審議、承認（ウ倫第2023-08号、2023年4月13日）を経て、承認から2023年6月までの間、うへのあさがおクリニック（試験責任医師：院長 中島 温）にて、試験実施計画書に基づき実施された（UMIN試験ID：UMIN000051004）。試験実施にあたり、本試験は、ヘルシンキ宣言〔2013年WMAフォルタレザ総会（ブラジル）で修正〕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（文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示）（令和5年3月27日一部改正）に基づく倫理的原則を遵守し実施された。

2 試験参加者

被験者募集時に試験の説明を行い、試験対象者に該当する57名（うち1名は同意前辞退）に対して事前検査を行い、選択基準に該当し除外基準に抵触せず、試験責任医師の判断により試験参加が妥当と判断された者の中より、被験者選択基準に準じ24名を選抜し本試験の被験者とした。症例数の設定根拠として、糖転移ヘスペリジンの冷水負荷による血流と表面温度への影響について報告されているヒト臨床試験¹³⁾に倣い一群12名の計24名と設定した。

被験者の選択基準は、① 試験参加の同意取得時点での年齢が30歳以上65歳未満の男女、② 健康な者で、慢性身体疾患がない者、③ 冷え性を自覚する者、④ 本試験の目的、内容について十分な説明を受け、同意能力があり、よく理解した上で自発的に参加を志願し、書面で本試験参加に同意できる者、⑤ 指定された検査日に来所でき、検査を受けることのできる者、⑥ 試験責任医師が本試験への参加を適当と認めた者であった。

除外基準は、① 現在、何らかの疾患を患い薬物治療を受けている者、② 精神疾患、睡眠障害、高血圧、糖尿病、脂質異常症や重篤な疾患の既往歴・現病歴のある者、③ 肝、腎、心、肺、血液等の重篤な既往歴・現病歴のある者、④ 消化器官に重篤な併存疾患および既往歴のある者、⑤ 高度の貧血がある者、⑥ 過去1カ月において、疾患治療を目的とした、薬物の服薬・塗布習慣のある者、⑦ BMIが18.5 kg/m²未満または25 kg/m²以上の者、⑧ 月経による不定愁訴が強く貧血症状や症状緩和の為に服薬が生じる可能性がある者、⑨ 便秘症（週の排便回数が3回未満、排便時の痛みや出血、腹部不快感を有するなど）、また、便秘症状緩和の為に服薬が生じる可能性がある者、⑩ 手指に炎症や傷を有する者、⑪ 喫煙者、⑫ 日常的な飲酒量が1日あたり純アルコール換算で20 g/日を超える者、⑬ 試験食品にアレルギー症状を起こす恐れのある者、また、その他食品、医薬品にアレルギー症状を起こす恐れのある者、⑭ 試験期間中、生活習慣を変更する可能性のある者（夜間勤務、長期の旅行など）、⑮ 現在、ならびに過去1カ月以内において、柑橘系の果物（温州みかん、オレンジ、レモン、ネーブル、イヨカン、ダイダイ、シークワーサー）およびこれらを原料とする飲料・食品の継続的な摂取習慣のある者、また試験期間中に摂取予定のある者、⑯ 現在、ならびに過去3カ月以内において、機能性表示食品、健康食品、サプリメント類の継続的な摂取習慣のある者、また試験期間中に摂取予定のある者、⑰ 妊娠中または妊娠している可能性のある者、および授乳中の者、⑱ 現在、他のヒト臨床試験に参加している者、他のヒト臨床試験参加後3カ月間が経過していない者、⑲ 本人または家族が健康・機能性表示食品および化粧品を開発・製造もしくは販売する企業に従事している者、⑳ その他、試験責任医師が本試験の対象として不適当と判断した者とした。

3 被験者の選抜、ランダム化と盲検化

選択基準に該当し、除外基準に抵触しておらず、試験責任医師の判断により試験参加が妥当と判断された者の中より、事前検査&摂取前（SCR & Visit-1）においての冷水負荷検査における血流関連指標（レーザードップラーによる血流測定、サーモグラフィーによる皮膚表面温度測定）の推移・回復

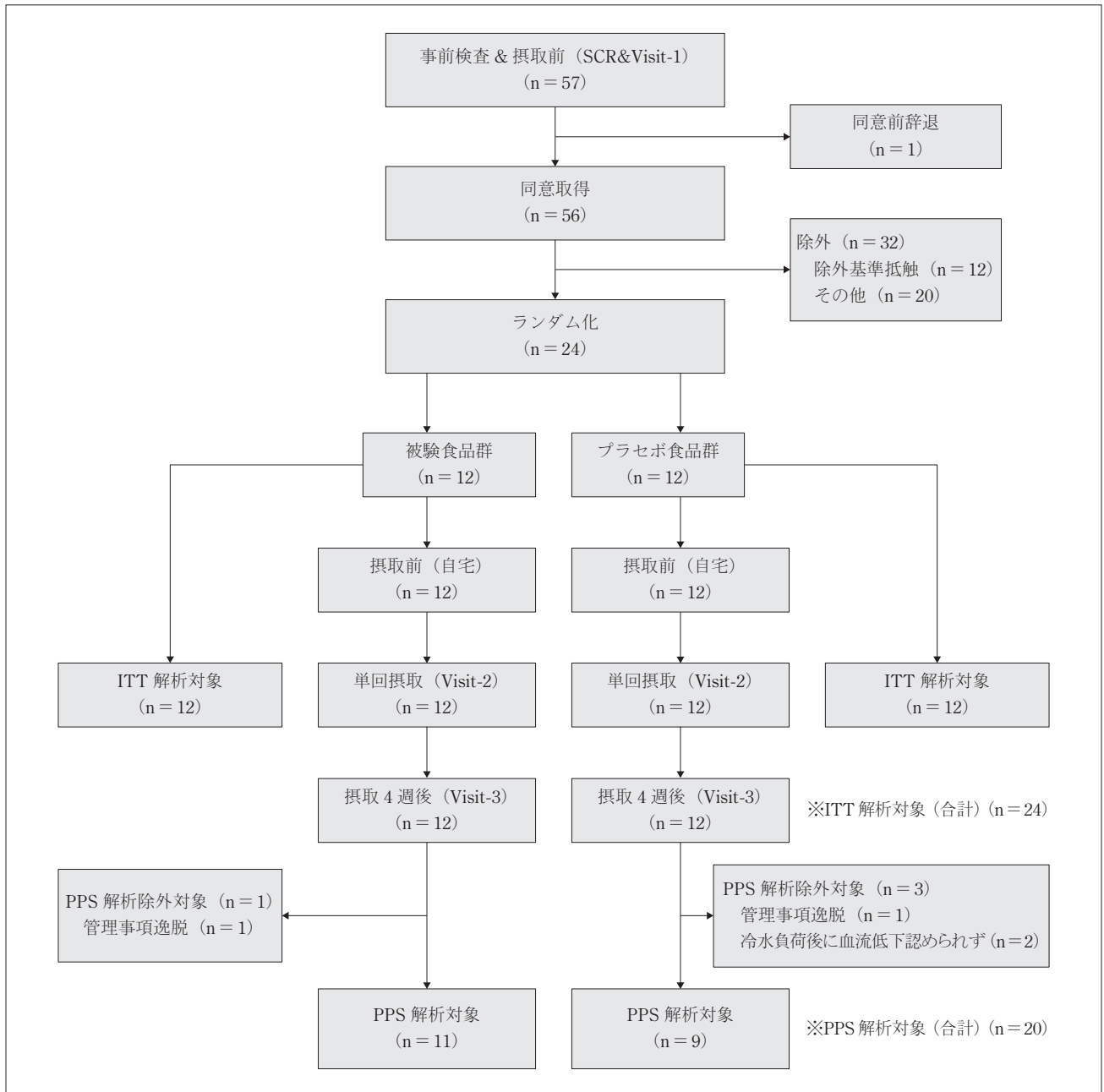


図1 試験フローチャート

率を指標に24名を本試験に選抜した(図1)。

事前検査(SCR)における、性別、年齢および冷水負荷検査におけるレーザードップラーによる血流量回復率の三指標を層別因子とし、性別は男女、その他は中央値を中心に上下2層に層別化し、これを割付け要因数分行い、その組み合わせにより配列グループを作成した。次にそのグループごとにブロックサイズを群数の倍数とし、別にコンピュータによりランダムに発生させた群番号配列を用いて順に割り付けた。割付責任者は最終的にその他指標に関しても割付グループ間で著しい隔たりがないことを確

認した。

試験委託者は、被験食品およびプラセボ食品それぞれを外見上識別できないようにし、該当する識別記号を試験食品に印字し、識別記号を厳封して割付責任者に送付した。割付責任者は、試験食品製造者から送付された各試験食品の外観や臭いで試験食品の識別不能性を確認した。識別不能性の確認後、割付責任者は、被験食品ならびにプラセボ食品を別の試験食品管理記号に置き換え盲検化し、試験食品管理者へ渡した。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。

4 被験食品

本試験では、未熟温州みかんエキス粉末である「静岡県産青みかんエキス PSW」(日研フード株)を原料としたハードカプセルを被験食品として用いた。この静岡県産青みかんエキス PSW には指標成分としてヘスペリジン (≥ 30 mg/g-粉末) とナリルチン (≥ 10 mg/g-粉末) が含まれている。

1日の摂取量は、静岡県産青みかんエキス PSW400 mg とし、PSW200 mg を充填したハードカプセル2カプセルを1日1回、水とともに摂取した。なお、プラセボ食品は、デキストリン 200 mg を充填したハードカプセルとし、外観、味、栄養成分に区別がないことを確認した。プラセボ食品の摂取量も2カプセルを1日1回、水とともに摂取した。なお、被験食品は、これまでに目鼻アレルギー症状に対するヒト臨床試験¹⁵⁾ で使用したのと同じであった。

5 試験デザイン

本試験は、プラセボ対照無作為化二重盲検並行群間比較試験にて行われた。

主要評価項目は、冷水負荷における血流関連指標(レーザードップラーによる血流測定、サーモグラフィーによる皮膚表面温度測定)の推移・変化量・AUC・回復率であった。副次評価項目は、VASによる体感アンケート調査であった。複数の主要評価項目の序列はUMIN登録の段階で設けられていなかった。AUCの算出方法は、実測値のグラフ上において各観察ポイントで垂線を血流量0まで引いて、その各台形の面積の合計とした。また、冷水負荷後の経時的な測定ポイントでは、10分後をプライマリーポイントとした。安全性評価項目として、血圧・脈拍、体重・体脂肪率・BMI、血液学的検査、血液生化学的検査、尿一般検査、医師問診、副作用/有害事象発現率の項目が実施された。

冷水負荷は、以下のようにして実施された。冷却水循環装置にて18°Cの冷水を循環し、被験者には両手首まで1分間冷水に浸漬させ負荷を行った。負荷後、速やかに水滴を十分に拭き取り、負荷後の測定を実施した。

被験者の管理事項として、下記の項目が周知徹底された。検査日1週間前より、爪の甘皮処理を禁止とした。検査日3日前より、温泉や薬効を有する湯船への入湯ならびにサウナなどの利用を禁止とした

(通常の入浴は可とした)。検査前日から当日の管理事項として、検査前日から当日の検査終了までアルコール摂取を禁止とした。検査開始6時間前より絶食とし、水以外の摂取を禁止とした。なお、検査前の食事は消化の良い軽食とした。検査当日は検査終了まで血流に影響する食品(コーヒー、カフェイン含有のドリンク剤、ショウガ・トウガラシなどの香辛料、発汗を伴う食品)の摂取は禁止とした。検査前日から当日の検査終了まで過度の運動、暴飲暴食、睡眠不足などを禁止とした。検査当日は検査終了まで入浴を禁止とした(短時間のシャワーは可)。検査前日より検査当日の検査終了までマニキュア・ジェル・付け爪等のネイルを禁止とした。検査時は指輪を含むアクセサリーの装着は禁止とした。試験期間中の管理事項として、試験期間中は、不規則な生活(睡眠不足、暴飲暴食など)を避けさせた。食事、睡眠、運動、入浴習慣に関しては、本試験開始前と同様な量・質を維持するようにした。保健機能食品(特定保健用食品、機能性表示食品等)、健康食品、サプリメント等の摂取、使用は原則として禁止とした。やむを得ず摂取した場合は、摂取した商品名およびメーカー名を日誌に記録させることとした。医薬品(外用剤を含む)、医薬部外品および漢方薬の使用は原則として禁止とした。やむを得ず使用する場合は、相談窓口へ連絡を入れ、使用した商品名およびメーカー名・使用理由を日誌に記録させた。被験者となった時点から試験終了まで、本試験以外での採血、献血などを禁止した(健康診断などの採血は可)。試験期間中は他ヒト臨床試験の参加を禁止とした。試験食品について、指示された摂取および保管方法に従わせた。被験者日誌を毎日記入し、所定の日に提出させた。所定の検査日に来院し、検査時の注意事項に従わせた。その他、試験結果に影響があると思われる行為を禁止とした。

6 検査項目

レーザードップラーによる血流測定は、2次元画像レーザー血流計(OZ-1, オメガウェーブ株) [東京都府中市] 製)を使用した。測定原理は、単一波長のレーザー光を照射し、移動する血球などの物体で散乱された光の周波数が変化するドップラー効果の測定に基づいている。椅座位にて、心臓の高さと同程度の高さの机の上に両手を置き測定を行った。

部位は、左手指先（人差し指、中指、薬指）で行った。30秒間の連続測定を行い後半20秒間の平均値を採用した。測定時期は、冷水負荷前、冷水負荷直後、負荷2分後、負荷4分後、負荷6分後、負荷8分後、負荷10分後の7回行った。サーモグラフィーによる皮膚表面温度測定は、赤外線サーモグラフィーカメラ（R500S、アビオニクス株式会社〔神奈川県横浜市〕製）を使用し、椅座位にて、心臓の高さと同程度の高さの机の上に両手を置き測定を行った。部位は、左手指先（人差し指、中指、薬指）および左手の甲全体で行った。測定時期は、冷水負荷前、冷水負荷直後、負荷2分後、負荷4分後、負荷6分後、負荷8分後、負荷10分後の7回行った。体感アンケートの調査項目は、以下に示す「起床時に手がこわばる」、「朝、起きにくい」、「頭がさえない」、「腰が冷える」、「寒さによる手足のしびれ」、「暖かい部屋に入っても、手足がなかなか温まらない」、「寒いわけではないが手足が冷える」、「お風呂に入っても温まってもすぐに手足が冷える」であった。調査はVAS法（左端を「0＝全く感じない」、右端を「100＝これ以上ないほど感じる」とした100mmの線分上で評価）が用いられた。評価は、指平均の値で行った。

安全性の評価項目の血液学的検査は、白血球数（WBC）、赤血球数（RBC）、血色素量（Hb）、ヘマトクリット値（Ht）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、血小板数（PLT）の項目であった。血液生化学的検査は、総蛋白（TP）、アルブミン定量（ALB）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（Cr）、尿酸（UA）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ（ γ -GT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、乳酸脱水素酵素（LDH）、クレアチンキナーゼ（CPK）、CRP定量、総コレステロール（Tcho）、トリグリセライド（TG）、LDLコレステロール定量（LDL-C）、HDLコレステロール（HDL-C）、non-HDL-C、総ビリルビン（T-BIL）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、クロール（Cl）、カルシウム（Ca）、マグネシウム（Mg）、鉄（Fe）、血糖（Glu）、HbA1cの項目であった。尿一般検査は、ウロビリノーゲン、潜血反応、ビリルビン、ケトン体定性、

ブドウ糖定性、蛋白質、pH、比重の項目であった。

7 統計解析

検査結果数値は、Microsoft Office Excel 2016（Microsoft Corp.）を用いて累計表に集計し、基本統計量として平均値、標準偏差、標準誤差、最大値、最小値を算出した。解析に用いる数値は実測値および冷水負荷前よりの変化量とした。カテゴリーデータとして得られる各検査項目は検査時点ごとの集計を行った。統計解析は、SAS（SAS 9.4）またはSPSS（Statistics26）など適切な統計解析ソフトを用いて実施し、すべての検定について有意水準は両側検定で5%とした。p値は、有効数字2桁で記した。なお、算出したデータの表への記載ならびにグラフ化の場合は平均値±標準誤差で示した。

摂取前、摂取4週後における各時点の被験食品摂取群とプラセボ食品摂取群の比較を対応のないt検定で統計解析を行った。なお、対応のないt検定についてはすべて等分散性ありと仮定したp値を採用した。

尿一般検査のウロビリノーゲン、潜血反応、ビリルビン、ケトン体定性、ブドウ糖定性、蛋白質についてはノンパラメトリックとして取り扱いMann-WhitneyのU検定を行った。

各群内での摂取前、摂取4週後における負荷前値と負荷後の各時点との比較、その他項目については摂取前と摂取4週後の比較を対応のあるt検定で統計解析を実施した。尿一般検査のウロビリノーゲン、潜血反応、ビリルビン、ケトン体定性、ブドウ糖定性、蛋白質についてはノンパラメトリックとして取り扱いWilcoxonの符号付順位検定を行った。

試験終了後に、中止例、有害事象の有無、被験者日誌記録などを基にコンプライアンス違反などの確認を行い、試験責任医師、試験担当者、統計解析責任者が協議の上、解析対象集団（FASおよびPPS）の決定および各試験対象者のデータについて集計・解析上の取り扱いを決定し、データ固定を行った。Intention to Treat（ITT）は、試験に組み入れたすべての被験者を、Full Analysis Set（FAS）は、試験に組み入れ一度でも試験食品を摂取した被験者を、Per Protocol Set（PPS）は、FAS集団から除外基準に該当した者を除いた被験者を表している。

表1 被験者背景

項目	被験食品群 (n = 11)	プラセボ食品群 (n = 9)
男/女 (人)	4/7	4/5
年齢 (歳)	44.5 ± 2.5	43.4 ± 3.3
体重 (Kg)	56.7 ± 2.4	56.8 ± 3.6
BMI (kg/m ²)	20.7 ± 0.5	21.1 ± 0.7
平均血流量 (指平均) (摂取前) (mL/min/100 g)	12.3 ± 0.5	11.5 ± 0.8
血流量回復率 (指平均) (負荷 10 分後) (%)	57.7 ± 17.3	53.6 ± 10.1
皮膚表面温度 (指平均) (摂取前) (°C)	30.4 ± 0.5	30.0 ± 0.7
収縮期血圧 (mmHg)	114.3 ± 5.0	108.2 ± 4.2
拡張期血圧 (mmHg)	73.1 ± 3.7	68.3 ± 3.2
脈拍 (回/分)	69.1 ± 2.6	75.8 ± 3.4

表2 レーザードップラーによる血流測定 (摂取4週後_負荷前) の推移

項目	群	n	摂取前_負荷前	摂取4週後_負荷前	
平均血流量 (指平均)	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	12.3 ± 0.5	11.4 ± 0.4	p = 0.085
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	11.5 ± 0.8	10.8 ± 0.5	

単位: mL/min/100 g

平均値 ± 標準誤差

※「摂取前_負荷前」との比較を対応のある t 検定で行った。

II 結 果

1 被験者の分類と内容

試験フローチャートについて、図1に示した。本試験は、計24名で試験を開始し、中止症例なく全24名にて試験終了となった。試験後の症例検討会において下記の被験者を解析対象とした。被験食品、プラセボ食品の摂取は4週間継続された。

ランダム化が行われ試験に組み入れられたすべての被験者、被験食品群12名、プラセボ食品群12名の合計24名をITTとし、安全性評価項目の解析対象とした。

ITTから冷水負荷後に血流低下が認められなかったプラセボ食品群の2名、管理事項の逸脱が確認された被験食品群の1名およびプラセボ食品群の1名を除外した、被験食品群11名、プラセボ食品群9名の合計20名をPPSとし、主要評価項目の解析対象とした(図1)。また、表1に解析対象者の被験者背景を示した。被験食品群、プラセボ食品群において、性別、年齢、血流回復率などにおいて試験

開始前の両群に有意な差がないことを確認した。

2 レーザードップラーによる血流測定 (摂取4週後、負荷なし) の推移

被験食品群では、摂取前と比較して摂取4週後に、指平均における群間の有意差は認められてはならず、また、プラセボ食品群でも摂取前と比較して有意差、傾向は認められないものの、摂取後の方が低い結果となった。以上の結果は、実測値の推移として示した(表2)。

3 レーザードップラーによる血流測定 (摂取4週後、負荷前後) の推移

冷水負荷後の推移では、被験食品群は、プラセボ食品群に対して、指平均において、実測値で有意に高値を示す測定ポイント(負荷8分後)が確認された(表3a)。また、冷水負荷後の回復率に関しても同様に、有意に高値を示す測定ポイント(負荷4分後)が確認された(表3b)。レーザードップラーによる血流測定(摂取4週後、負荷前後)(AUC)においては、被験食品群は、プラセボ食品群に対して、有意差は認められないものの、改善の傾向が同

表 3a レーザードップラーによる血流測定 (摂取4週後_負荷前後) の推移

項目	群	n	摂取4週後_負荷前	摂取4週後_負荷直後	摂取4週後_負荷2分後
平均血流量 (指平均)	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	11.4 ± 0.4	9.3 ± 0.4	9.8 ± 0.5
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	10.8 ± 0.5	8.7 ± 0.3	8.8 ± 0.3

項目	群	n	摂取4週後_負荷4分後	摂取4週後_負荷6分後	摂取4週後_負荷8分後	摂取4週後_負荷10分後
平均血流量 (指平均)	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	10.4 ± 0.6	10.8 ± 0.6	11.1 ± 0.7	11.5 ± 1.0
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	9.0 ± 0.5	9.3 ± 0.4	9.3 ± 0.3	9.4 ± 0.4
			p = 0.095	p = 0.059	p = 0.046	p = 0.077
単位: mL/min/100 g 平均値 ± 標準誤差			差の95%信頼区間 - 0.3 ~ 3.1	差の95%信頼区間 - 0.1 ~ 3.0	差の95%信頼区間 0.0 ~ 3.5	差の95%信頼区間 - 0.3 ~ 4.5

※各時点での群間比較を対応のないt検定で行った。

表 3b レーザードップラーによる血流測定 (摂取4週後_負荷後) (回復率) の推移

項目	群	n	摂取4週後_負荷直後	摂取4週後_負荷2分後
血流量回復率 (指平均)	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	0.0 ± 0.0	19.0 ± 9.7
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	0.0 ± 0.0	- 3.5 ± 8.9

項目	群	n	摂取4週後_負荷4分後	摂取4週後_負荷6分後	摂取4週後_負荷8分後	摂取4週後_負荷10分後
血流量回復率 (指平均)	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	43.8 ± 13.3	62.5 ± 16.9	76.2 ± 18.8	97.3 ± 30.8
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	- 1.8 ± 13.4	7.0 ± 25.3	29.3 ± 19.0	19.8 ± 20.4
			p = 0.028	p = 0.076	p = 0.099	p = 0.061
単位: % 平均値 ± 標準誤差			差の95%信頼区間 5.6 ~ 85.6	差の95%信頼区間 - 6.3 ~ 117.5	差の95%信頼区間 - 9.7 ~ 103.5	差の95%信頼区間 - 4.0 ~ 159.0

※各時点での群間比較を対応のないt検定で行った。

えた (表 4)。AUC は、冷却負荷後 10 分までの時間経過に伴う血流量の面積を示している。

4 サーマグラフィーによる皮膚表面温度測定 (摂取4週後, 負荷前後) の推移

冷水負荷後の回復率では、被験食品群は、プラセボ食品群に対して、負荷 10 分後に指平均において、有意な高値が示され改善が認められた (表 5)。

5 体感アンケート

摂取前では、すべての項目では両群間に有意な差は認められなかった。しかしながら、摂取4週間後では、「寒いわけではないが手足が冷える」、「お風呂に入って温まってもすぐに手足が冷える」の項目で、被験食品群は、プラセボ食品群に対して有意に低値を示し、手足の冷えに関する体感の改善が確認された (表 6)。

6 安全性の評価

有害事象については、被験食品群 (2 例: 2 件 両腕の湿疹, 硬便), プラセボ食品群 (1 例: 1 件 手荒れ) で確認されたが、いずれも一過性の症状や外的要因であるものであり、症状は軽度で重篤性はなしと試験責任医師が判断し、被験食品の摂取は継続された。また、いずれの事象においても被験食品が起因と考えられる有害事象はすべての被験者において見受けられなかった。副作用についてもすべての被験者において確認されなかった。

安全性の項目では、群間で有意な差が認められた項目は、トリグリセライド (TG), マグネシウム (Mg) であった。マグネシウムに関しては、摂取前から群間の有意差が認められていた。また、摂取前と比較して摂取後に有意な変動を示した項目は両群にわたって散見されたが、いずれも軽微な変動で

表4 レーザードップラーによる血流測定 (摂取4週後_ 負荷後) (AUC)

項目	群	n	AUC
平均血流量 (指平均) (AUC)	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	104.8 ± 5.6
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	90.8 ± 3.3

単位: mL・min/min/100g
 平均値 ± 標準誤差
 ※群間比較を対応のないt検定で行った。
 AUC: 冷却負荷開始から負荷後10分までの時間経過に伴う血流量の総面積を示す。

差の95%信頼区間
- 0.6 ~ 28.6

表5 サーマグラフィによる皮膚表面温度測定 (摂取4週後_ 負荷後) (回復率) の推移

項目	群	n	摂取4週後_ 負荷直後	摂取4週後_ 負荷2分後	摂取4週後_ 負荷4分後	摂取4週後_ 負荷6分後	摂取4週後_ 負荷8分後	摂取4週後_ 負荷10分後
皮膚温回復率 (指平均)	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	0.0 ± 0.0	20.6 ± 8.1	39.3 ± 10.4	56.2 ± 11.5	75.2 ± 11.0	88.3 ± 10.2
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	0.0 ± 0.0	8.8 ± 2.1	31.4 ± 10.2	42.3 ± 11.9	49.7 ± 13.3	53.4 ± 13.0

単位: %
 平均値 ± 標準誤差
 ※各時点での群間比較を対応のないt検定で行った。

差の95%信頼区間
0.6 ~ 69.2

あり, 生理的な範囲内の変動であった。(表7a, b)。

III 考 察

試験結果の概要は, 摂取4週後 (負荷前比較) では, 血流に群間の有意な差は認められなかった。被験食品群, プラセボ食品群ともに, 摂取4週後の値が摂取前と比べて低下しているが, これは, 気圧の関係である可能性が考えられた。軽度の高圧酸素下では, 血流が増加することが報告されている¹⁶⁾。気象庁のホームページによると, 摂取前の試験日 (3日間, 2023年5月10~12日) と摂取4週後の試験日 (2日間, 同6月29日, 30日) の気圧のデータは, 摂取前で1011.5, 1015.7, 1018.1であり, 摂取4週後で1003.2, 1001.7 (いずれも単位はhPa) であった。摂取前の気圧が, 10hPaほど高かったことが影響したことが強く示唆された (<https://www.jma.go.jp/jma/menu/menureport.html>)。

一方, 冷水負荷を行った場合では, レーザードップラーによる血流測定において, 被験食品群は, プラセボ食品群に対して, 中指以外, 人差し指, 薬指および指平均においていずれかの経時的な計測ポイントで有意な高値が示された (未発表データ)。ま

た, レーザードップラーによる血流測定 (AUC) では, 指平均では有意差は認められなかったものの, 人差し指では, 被験食品群は, プラセボ食品群に対して有意に高値を示すなど (未発表データ), ヘスペリジンを含む未熟温州みかんエキスの冷水負荷後の血流に対する改善の傾向がうかがわれ, 冷却負荷後の末梢血流を正常に整える傾向が示された。このことは, 糖転移ヘスペリジンを用いたこれまでの報告¹²⁾¹³⁾と概ね一致した結果となった。糖転移ヘスペリジンを用いたこれまでの報告では, 糖転移ヘスペリジンの用量は, 250 mg¹²⁾, 100 mg¹³⁾であり, 本試験で用いられたヘスペリジンの用量は, 12~21 mg (いずれも一日あたり) と低用量であった。糖を付加していない天然のヘスペリジンの低用量での効果の発現は, 摘果 (間引き) や, 幼木 (植樹後数年間, 果実の実りが悪い樹木) などの理由で青果として市場に流通しない未熟温州みかんの有効活用という環境面からも消費者にとっては認容されやすいと思われた。また, 未熟温州みかんと成熟温州みかんでは, 未熟温州みかんの方にヘスペリジンが多く含まれるという報告⁵⁾もある。

皮膚表面温度の冷水負荷後の回復率では, 被験食品群は, プラセボ食品群に対して, 負荷10分後に

表6 体感アンケートの推移

項目	群	n	摂取前	摂取4週後
起床時に手がこわばる	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	23.1 ± 8.1	15.3 ± 5.4
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	15.9 ± 9.9	12.2 ± 6.6
朝, 起きにくい	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	53.2 ± 6.8	38.4 ± 6.6
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	48.8 ± 12.1	23.3 ± 7.0
頭がさえない	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	51.5 ± 6.8	38.2 ± 7.0
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	30.9 ± 8.2 差の95%信頼区間: - 1.5 ~ 42.8	29.8 ± 8.4
腰が冷える	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	46.4 ± 9.2	25.7 ± 6.2
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	40.4 ± 10.5	19.8 ± 6.3
寒さによる手足のしびれ	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	48.5 ± 8.8	17.3 ± 5.2
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	27.4 ± 12.2	15.4 ± 7.4
暖かい部屋に入っても, 手足がなかなか温まらない	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	61.9 ± 5.6	26.1 ± 6.1
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	62.8 ± 8.3	37.3 ± 7.4
寒いわけではないが 手足が冷える	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	65.4 ± 5.3	29.8 ± 4.4
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	70.0 ± 8.6	50.7 ± 8.1 差の95%信頼区間: - 39.2 ~ - 2.5
お風呂に入って温まっても すぐに手足が冷える	被験食品 (温州みかん含有食品)	11	60.7 ± 7.5	26.4 ± 4.9
	プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9	70.8 ± 6.9	44.4 ± 7.1 差の95%信頼区間: - 35.9 ~ - 0.3

平均値 ± 標準誤差

※各時点での群間比較を対応のないt検定で行った。

アンケートは、VAS法 (100 mm の線分上で評価) を用いて回答させた、値は大きいほど症状が重いことを示す。

指平均で有意な高値が示され改善が認められ、冷却負荷後の皮膚表面温度を回復する機能が示された (表5)。冷水負荷後のサーモグラフィーによる手の甲の画像を被験食品群、プラセボ食品群から1例ずつすように、プラセボ食品群と比べて被験食品群では、冷水負荷からの表面温度の回復具合の速さが可視化画像からも確認された (Appendix 図1)。特に冬場に手先の冷えに悩む者にとっては、QOLの改善に繋がる結果と思われた。

体感アンケートでは、「寒いわけではないが手足

が冷える」, 「お風呂に入って温まってもすぐに手足が冷える」の2項目では、摂取4週間後の群間比較において、被験食品群は、プラセボ食品群に対して、有意な低値が認められたことから、体感においても冷え性からくるQOLの低下を軽減する効果が示された。

安全性の項目で、群間で有意な差が認められた項目は、TGとMgであった (表7b)。TGに関しては、被験食品群がプラセボ食品群に対して、摂取4週後で有意に高値を示した。しかしながら、総コレ

表 7a 血液学的検査値の推移

項目	基準値	単位	群	摂取前_負荷前	摂取4週後_負荷前
白血球数 (WBC)	男 3900-9800 女 3500-9100	/ μ L	被験食品 (温州みかん含有食品)	5241.7 \pm 454.7	5600.0 \pm 348.8
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	5791.7 \pm 394.6	6150.0 \pm 550.8
赤血球数 (RBC)	男 427-570 女 376-500	$\times 10^4$ / μ L	被験食品 (温州みかん含有食品)	444.8 \pm 11.4	443.1 \pm 11.9
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	459.0 \pm 13.5	457.8 \pm 11.7
血色素量 (Hb)	男 3900-9800 女 3500-9100	g/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	13.4 \pm 0.4	13.4 \pm 0.4
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	13.6 \pm 0.4	13.6 \pm 0.3
ヘマトクリット値 (Ht)	男 39.8-51.8 女 33.4-44.9	%	被験食品 (温州みかん含有食品)	41.1 \pm 1.1	41.8 \pm 1.0
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	42.2 \pm 1.1	42.9 \pm 0.9
平均赤血球容積 (MCV)	男 83-102 女 79-100	fL	被験食品 (温州みかん含有食品)	92.6 \pm 0.9	94.7 \pm 0.9 p = 0.0001
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	92.3 \pm 0.9	93.9 \pm 0.9 p = 0.0002
平均赤血球血色素量 (MCH)	男 28.0-34.6 女 26.3-34.3	pg	被験食品 (温州みかん含有食品)	30.0 \pm 0.4	30.3 \pm 0.3 p = 0.068
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	29.8 \pm 0.4	29.8 \pm 0.3
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	男 31.6-36.6 女 30.7-36.6	%	被験食品 (温州みかん含有食品)	32.5 \pm 0.2	32.1 \pm 0.2 p = 0.014
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	32.3 \pm 0.2	31.8 \pm 0.3 p = 0.024
血小板数 (PLT)	13.0-36.9	$\times 10^4$ / μ L	被験食品 (温州みかん含有食品)	26.2 \pm 1.4	25.8 \pm 1.2
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	26.8 \pm 1.2	25.3 \pm 1.6 p = 0.075

例数はいずれも各群 12 (ITT 解析)

平均値 \pm 標準誤差

※「摂取前_負荷前」との比較を対応のある t 検定で行った。

※各時点での群間比較を対応のない t 検定で行ったが、有意差は認められなかった。

ステロール, LDL-C, HDL-C, non-HDL-C の挙動からは、脂質代謝異常を疑わせるものはなく、食事由来の一過的なものの可能性が高いと考えられた。Mg に関しては、摂取前から群間の有意差が認められており、本試験とは関係なく、問題ないと考えられた。また、摂取前と比較して摂取後に有意な変動を示した項目は両群にわたって散見されたが (表 7a, b), いずれも軽微な変動であり、生理的な範囲内の変動であり問題ないと考えられた。

群間での有意差は認められていないが、被験食品群では、収縮期血圧が、摂取前と比べて摂取4週後で有意な減少 (p = 0.024) を示し、拡張期血圧でも、摂取前と比べて摂取4週後で有意な減少 (p = 0.006) を示した (未発表データ)。これらのことは、自然発症高血圧モデルラットに対して、ヘスペリジン¹⁷⁾ や糖転移ヘスペリジン¹⁷⁾¹⁸⁾ で降圧作用が認められたこと、正常血圧 Wistar-Kyoto ラットでは効果がなかったこと¹⁷⁾ に鑑み、非常に興味深い。

表 7b 血液生化学的検査値の推移

項目	基準値	単位	群	摂取前_負荷前	摂取4週後_負荷前
総蛋白 (TP)	6.7-8.3	g/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	7.1 ± 0.1	7.1 ± 0.1
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	7.1 ± 0.1	7.1 ± 0.1
アルブミン定量 (ALB)	3.8-5.3	g/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	4.4 ± 0.1	4.3 ± 0.1
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.1
尿素窒素 (BUN)	8-22	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	14.4 ± 1.0	14.7 ± 0.9
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	13.2 ± 1.0	14.6 ± 0.8 p = 0.079
クレアチニン (CRE)	男 0.61-1.04 女 0.47-0.79	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0 p = 0.049
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0
尿酸 (UA)	男 3.7-7.0 女 2.5-7.0	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	4.8 ± 0.4	4.8 ± 0.4
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	5.2 ± 0.4	4.9 ± 0.4 p = 0.087
アスパラギン酸 アミノトランスフェラーゼ (AST)	10-40	U/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	22.0 ± 1.9	18.3 ± 1.4 p = 0.007
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	20.8 ± 2.1	19.9 ± 1.7
アラニン アミノトランスフェラーゼ (ALT)	5-45	U/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	19.0 ± 2.3	16.0 ± 1.5 p = 0.046
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	18.5 ± 2.1	19.5 ± 2.3
γ-グルタミル トランスペプチダーゼ (γ-GT)	男 75 以下 女 45 以下	U/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	27.3 ± 5.9	22.5 ± 3.6 p = 0.075
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	19.8 ± 3.0	21.0 ± 4.9
アルカリフォスファターゼ (ALP)	38-113	U/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	62.7 ± 3.4	62.8 ± 3.8
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	67.3 ± 6.2	65.8 ± 5.9
乳酸脱水素酵素 (LDH)	115-245	U/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	180.0 ± 6.5	177.7 ± 9.5
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	187.3 ± 9.5	185.7 ± 7.9
クレアチンキナーゼ (CPK)	男 50-250 女 45-210	U/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	105.1 ± 13.3	99.4 ± 13.5
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	140.5 ± 30.6	118.5 ± 16.0
CRP 定量	0.30 以下	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0
総コレステロール (T-cho)	130-219	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	220.3 ± 8.8	211.3 ± 10.5
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	212.1 ± 9.2	207.8 ± 11.6

例数はいずれも各群 12 (ITT 解析)

平均値 ± 標準誤差

※「摂取前_負荷前」との比較を対応のある t 検定で行った。

※各時点での群間比較を対応のない t 検定で行った。

表 7b 血液生化学的検査値の推移 (つづき)

項目	基準値	単位	群	摂取前_負荷前	摂取4週後_負荷前
トリグリセライド (TG)	35-149	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	75.8 ± 12.2	96.7 ± 17.3 57.4 ± 5.2 } p = 0.040 差の95%信頼区間: 1.9 ~ 76.6
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	61.7 ± 8.5	
LDL-コレステロール定量 (LDL-C)	70-139	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	133.0 ± 7.2	122.8 ± 9.8 p = 0.070
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	121.8 ± 6.6	118.4 ± 7.7
HDL-コレステロール (HDL-C)	男 40-86 女 40-96	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	73.1 ± 5.6	70.5 ± 5.5
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	77.4 ± 5.5	76.6 ± 5.5
non-HDL-C	90-149	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	147.3 ± 8.5	140.8 ± 9.9
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	134.7 ± 6.8	131.3 ± 7.6
総ビリルビン (T-BIL)	0.2-1.1	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
ナトリウム (Na)	135-147	mEq/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	139.8 ± 0.5	139.2 ± 0.5
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	140.3 ± 0.3	139.8 ± 0.3
カリウム (K)	3.6-5.0	mEq/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	4.3 ± 0.1	4.2 ± 0.1
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	4.2 ± 0.1	4.4 ± 0.2 p = 0.070
クロール (Cl)	98-108	mEq/L	被験食品 (温州みかん含有食品)	105.3 ± 0.5	104.3 ± 0.4 p = 0.030
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	104.5 ± 0.4	104.1 ± 0.6
カルシウム (Ca)	8.6-10.1	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	9.1 ± 0.1	9.3 ± 0.1 p = 0.020
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	9.2 ± 0.2	9.3 ± 0.2
マグネシウム (Mg)	1.8-2.6	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.0 2.1 ± 0.1 } p = 0.017 差の95%信頼区間: 0.0 ~ 0.3
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	2.2 ± 0.1 差の95%信頼区間: 0.0 ~ 0.3	
鉄 (Fe)	男 45-200 女 40-170	μg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	82.3 ± 11.5	75.4 ± 10.5
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	93.8 ± 9.6	84.6 ± 8.9
血糖 (Glu)	空腹時 70-109	mg/dL	被験食品 (温州みかん含有食品)	83.8 ± 1.6	86.4 ± 1.5
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	86.5 ± 2.4	87.1 ± 1.9
HbA1c	4.6-6.2	%	被験食品 (温州みかん含有食品)	5.1 ± 0.1	5.3 ± 0.1 p = 0.004
			プラセボ食品 (温州みかん非含有食品)	5.2 ± 0.1	5.3 ± 0.1 p = 0.012

例数はいずれも各群 12 (ITT 解析)

平均値 ± 標準誤差

※「摂取前_負荷前」との比較を対応のある t 検定で行った。

※各時点での群間比較を対応のない t 検定で行った。

また、被験食品群では、肝機能のマーカーであるASTとALTで、摂取前と比べて摂取4週後で有意な減少を示し、 γ -GTでは、有意差は認められないものの摂取前と比べて摂取4週後で減少を示した(表7b)。ヘスペリジンが肝機能保護作用¹⁹⁾を有する報告があり、これらの結果と一致した。

尿一般検査では、蛋白質が実測値、変化量ともに、有意差は認められないものの被験食品群がプラセボ食品群に対して、摂取4週後で低値を示したが、いずれもプラセボ群の変動に起因しており、被験食品に問題はないと考えられた(未発表データ)。

以上のことと、本被験食品に起因すると思われる副作用、有害事象については確認されなかったことから被験食品の4週間におよぶ継続摂取の安全性が確認された。なお、さらなる長期の18週間継続摂取のヒト臨床試験¹⁵⁾においても同様に、被験食品が起因と考えられる有害事象は確認されていない。

結 論

本試験では、プラセボ対照無作為化二重盲検並行群間比較試験にて未熟温州みかんエキス粉末含有食品摂取の冷えに対する有効性および安全性についての評価を行った。被験食品摂取4週間後の冷水負荷後の末梢血流減少に対する改善効果、皮膚表面温度を回復する機能が明らかとなった。また、4週間におよぶ連続摂取の安全性も明らかとなった。

研 究 限 界

この研究にはいくつかの限界が存在する。まず、評価後に試験参加者との追跡期間を設定しなかった。第二に、参加者はウェブサイトでこの研究に関する情報を得て応募したため、自発的であり、選択バイアスが存在する可能性がある。

利 益 相 反

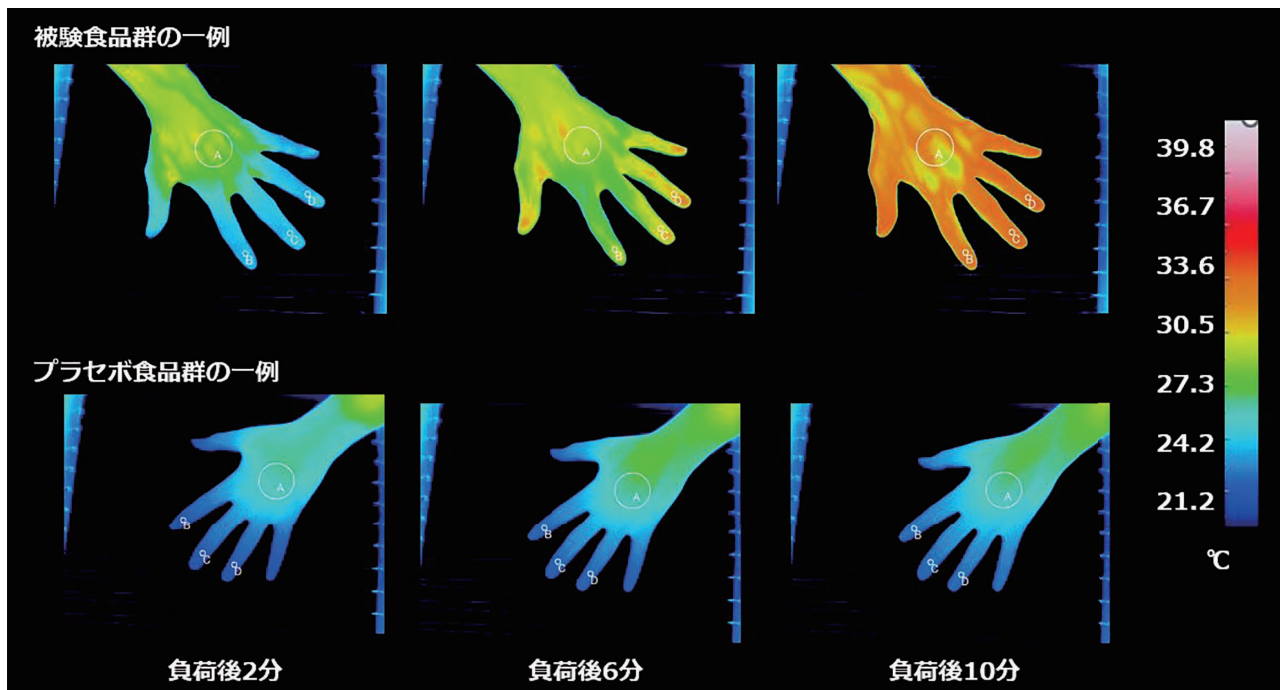
本試験実施に関わるすべての費用および被験食品は、日研フード(株)により提供された。試験は第三者機関である(株)TESホールディングスにより適切に実施された。なお、共著者である中島 温医師に対して、日研フード(株)から研究費や謝礼金等の支払いはなかった。

文 献

- 1) 村山ヒサエ, 佐藤 悦, 高橋美恵子, 本多達雄: 女性における冷え症の実態(文献的考察). 漢方の臨床 1995; **5**: 560-583.

- 2) 長谷川直義: 冷え性. からだの科学 1982; **103**: 23-27.
- 3) Takumi H, Fujishima N, Shiraiishi K, Mori Y, Ariyama A, Kometani T, Hashimoto S, Nadamoto T: Effects of α -glucosylhesperidin on the peripheral body temperature and autonomic nervous system. Biosci Biotechnol Biochem 2010; **74**: 707-715.
- 4) 村田高明: 増えている男性の冷え性 -- 原因と対策. 治療 2000; **82**: 2581-2583.
- 5) 安藤浩毅, 古川郁子, 西本研了, 中島孝子: 青切り桜島小みかんを利用した新商品の開発—フラボノイドの成分分析—. 鹿児島県工業技術センター研究報告 2009; **23**: 35-38.
- 6) 衛藤英雄: 亜臨界果抽出法を用いた食品加工への応用の最近の進歩. 化学と生物 2013; **51**(7): 457-461.
- 7) Li C, Schluessener H: Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. Crit Rev Food Sci Nutr 2017; **57**: 613-631.
- 8) Mayneris-Perxachs J, Alcaide-Hidalgo JM, de la Hera E, del Bas JM, Arola L, Caimari A: Supplementation with biscuits enriched with hesperidin and naringenin is associated with an improvement of the Metabolic Syndrome induced by a cafeteria diet in rats. J Funct Foods 2019; **61**: 103504.
- 9) Rizza S, Muniyappa R, Iantorno M, Kim JA, Chen H, Pullikotil P, Senese N, Tesauro M, Lauro D, Cardillo C, Quon MJ: Citrus polyphenol hesperidin stimulates production of nitric oxide in endothelial cells while improving endothelial function and reducing inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2011; **96**: E782-792.
- 10) Guirro M, Gual-Grau A, Gibert-Ramos A, Alcaide-Hidalgo JM, Canela N, Arola L, Mayneris-Perxachs J: Metabolomics elucidates dose-dependent molecular beneficial effects of hesperidin supplementation in rats fed an obesogenic diet. Antioxidants (Basel) 2020; **9**: 79.
- 11) Mas-Capdevila A, Teichenne J, Domenech-Coca C, Caimari A, Bas JMD, Escoté X, Crescenti A: Effect of hesperidin on cardiovascular disease risk factors: The role of intestinal microbiota on hesperidin bioavailability. Nutrients 2020; **12**: 1488.
- 12) 宅見央子, 中村弘康, 釜阪 寛, 米谷 俊, 灘本知憲, 寺尾純二, 栗木 隆: 糖転移ヘスペリジンの血流改善作用. 応用糖質科学 2011; **1**(2): 186-193.
- 13) Morishita N, Ogihara S, Endo S, Mitsuzumi H, Blood Flow and Temperature: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Crossover Study. 診療と新薬 2020; **57**(2): 129-134.
- 14) Oku H, Kitagawa F, Kato Y, Miyashita T, Hara M, Minetoki T, Yamada S: Anti-Allergic Effects of the Subcritical Water Extract Powder of Citrus unshiu in Mouse and Guinea Pig Models. J Med Foods 2021; **24**

- (5) :533-540.
- 15) 峰時俊貴, 原 正臣, 竹田竜嗣, 小野貴弘: 未熟温州みかんエキス粉末含有食品の摂取による目鼻アレルギー反応に及ぼす影響—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** (11) : 1849-1865.
- 16) Ishihara A, Nagatomo F, Fujino H, Kondo H: Exposure to mild hyperbaric oxygen Increases blood flow and resting energy expenditure but not oxidative stress. J Sci Res Reports 2014; **3** (14) : 1886-1896.
- 17) Ohtsuki K, Abe A, Mitsuuzi H, Kondo M, Uemura K, Iwasaki Y, Kondo Y: Effects of long-term administration of hesperidin and glucosyl hesperidin to spontaneously hypertensive rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2002; **48**(5): 420-422.
- 18) Yamamoto M, Suzuki A, Hase T: Short-term effects of glucosyl hesperidin and hesperetin on blood pressure and vascular endothelial function in spontaneously hypertensive rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2008; **54** (1) : 95-98.
- 19) Tabeshpour J, Hosseinzadeh H, Hashemzaei M, Karimi G: A review of the hepatoprotective effects of hesperidin, a flavanon glycoside in citrus fruits, against natural and chemical toxicities. Daru 2020; **28** (1) : 305-317.



Appendix 図1 サーマグラフィーによる負荷後の皮膚表面温度回復の可視化

A Study of the Effects and Safety of Food Containing Unripe Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu*) Extract on Blood Flow :

A randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Parallel-group Study

Toshitaka MINETOKI¹⁾ / Akira KATO¹⁾ / Atsushi NAKAJIMA²⁾

1) Nikken Foods Co., Ltd.
2) Ueno-Asagao Clinic

Abstract

Objectives : The study aimed to verify the efficacy on blood flow and safety of dietary supplement containing unripe satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) extract.

Methods : The study was conducted as a double blind randomized controlled trial in which 24 participants who were sensitive to the cold orally taken food containing 400 mg of unripe satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) extract or placebo for 4 weeks. Laser speckle blood flow imager and infrared thermography were used to evaluate blood flow and peripheral body temperature.

Results : After 4 weeks, no significant differences were observed between the groups without cold water immersion. However, there was a significant difference between the groups in the rate of peripheral body temperature recovery after 10 minutes of cold water immersion ($p = 0.046$, 95% confidence intervals for the difference; 0.6~69.2). Although no clear significant difference was observed in the improvement of blood flow after cold water immersion, the results of simple technique Visual Analogue Scales (VAS) for measuring subjective experience revealed that there was relieving effects even in people who were sensitive to the cold.

Conclusion : It was suggested that the intake of food containing unripe satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) may contribute to the effect of alleviating cold sensitivity.
(UMIN-CTR ID: UMIN000051004)

Key words: Unripe satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) extract, Hesperidin, Blood flow, Cold sensitivity, Cold water immersion
