



診療と新薬 Web

グロビン蛋白分解物の摂取が日本人健常者の肝機能に与える影響： 無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験

松本夏子¹⁾／塚本恒星¹⁾／小倉千晶¹⁾／山田耕太郎¹⁾／
石堂圭一²⁾／笛川由香²⁾／墨田康男¹⁾²⁾／福原育夫³⁾

はじめに

肝臓は人体で最も大きい臓器であり、三大栄養素をはじめとする様々な栄養素の貯蔵、合成、分解を行い、アンモニアやアルコールといった有害物質の解毒、免疫制御や胆汁生成といった体内の恒常性を保つために必要不可欠な働きを担っている。肝臓が何らかの障害を受けると、糖代謝、脂質代謝、蛋白合成能の低下に伴った栄養状態の悪化に加えて、解毒や排泄といった重要な生体機能にも影響が及ぶ。そのため、正常な肝機能の維持はヒトの健康維持・増進において極めて重要であるといえる。

肝臓に負荷を与える主な要因として、肝炎ウイルスの他に、肥満や運動不足、アルコールの摂取等が挙げられる。肝臓に負荷がかかると、肝機能が低下し、Alanine aminotransferase (ALT) および Aspartate aminotransferase (AST) の値が上昇する。ALT および AST はアミノ酸の代謝に関連する酵素であり、肝細胞が破壊されると血中に逸脱するため、肝細胞障害の指標である肝機能マーカー値として用いられている。特に ALT は主に肝細胞内に存在する酵素であるため、血中 ALT 値の上昇は肝臓の傷害程度を特異的に示す¹⁾。

肝機能低下は自覚症状がないことが多いが、健康診断等の血液検査における肝機能マーカー値でわかることがほとんどであるが、肝機能低下を放置した場合、肝臓に脂肪が蓄積する脂肪肝から肝炎を経て、肝硬変や肝癌といった深刻な肝疾患へと進行するリ

スクが高まる²⁾。そのため、肝機能マーカー値を基準範囲内に保ち、正常な肝機能を維持することが重要であると考えられる。

グロビン蛋白分解物 (GD) はエムジーファーマ株式会社製メタップ[®]として販売されている、グロビンのプロテアーゼ分解物からなる機能性食品素材であり、食後の血清中性脂肪の上昇を抑える特定保健用食品としての販売実績がある。また、血中中性脂肪の蓄積は肝臓における酸化ストレスを伴った炎症の一因となる。さらに、GD はテトラペプチドの一種である、トリプトファン-スレオニン-グルタミン-アルギニン (以下、WTQR) を含む。ラットガラクトサミン肝障害モデルにおいて、GD を継続摂取させると ALT および AST の上昇が抑制されており、肝臓保護効果が報告されている³⁾。また、GD は ICR マウスの急性アルコール性肝障害モデルにおいて病理組織学的評価における肝臓の脂肪蓄積を減少することが確認されており、肝臓保護効果が報告されている⁴⁾。一方で、これまで臨床試験での GD による肝機能保護効果は検討されていなかった。

本試験では GD を含有する被験食品の摂取における肝機能マーカー値に及ぼす影響について評価するため、無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を実施した。また、GD は血中中性脂肪の上昇抑制効果を持つこと、先行研究においてアルコール性肝障害モデルで肝臓保護効果が報告されている。GD の特徴を踏まえた詳細な研究として、血中中性

1) ロート製薬株式会社 2) エムジーファーマ株式会社 3) 福原医院

脂肪が高めの健常者の方 ($120 \text{ mg/dL} \leq \text{TG} < 200 \text{ mg/dL}$) を対象とした検討および、試験期間中にアルコールを摂取した方を対象とした検討を実施することとした。

対象と方法

1. 試験食品

試験食品は、1粒あたりGDを250 mg含有し、その他賦形剤で構成された被験食品と、GDを含まずその他賦形剤のみで構成された対照食品を用いた。試験食品の形状は被験食品と対照食品が識別できないよう、いずれも黄色のフィルムコーティング錠とし、無地のアルミパウチ袋に包装することで、被験者および試験実施者は被験食品と対照食品のいずれかが判別できないようにした。試験食品の栄養成分を表1に示した。試験食品の摂取は1日8粒(GD 2000 mg, WTQRとして10 mg)とした。

2. 被験者

本試験では、計画時に被験者の症例数の設計を行った。本試験に先行して実施された類似の肝機能改善・肝障害予防効果を確認した試験の結果を参考にして症例数を決定した⁵⁾。試験食品の効果量を0.7とし、有意水準を0.05、検出力を80%とすると、1群33名の組入れが必要であることから、1群33名、計66名が必要と考えられた。試験期間中の脱落および試験中止例を20%程度と想定し、本試験では82名(各群41名)を選抜することとした。

被験者は試験受託機関に登録しているボランティアの中から公募し、以下の選択基準を満たし、かつ除外基準に抵触せず試験責任医師が本試験への参加が適当であると判断した82名を被験者として組み入れた。

選択基準は以下の通り設定した。

①試験参加同意取得時の年齢が20歳以上65歳未満の日本人男女、②スクリーニング検査時のALT値が20 U/L以上50 U/L以下の者、③予定来院日に試験実施機関に来院できる者、④本試験の目的や内容について十分に理解したうえで、試験開始前に書面により同意した者

除外基準は以下の通り設定した。

①慢性疾患有し、医薬品を常用している者、②重篤な肝疾患(ウイルス性肝炎、薬剤性肝障害、肝硬変)の罹患歴を有する者、または現在罹患してい

表1 試験食品の栄養成分(1日摂取量8粒あたり)

	被験食品	対照食品
エネルギー (kcal)	9.6	9.8
たんぱく質 (g)	1.8	0
脂 質 (g)	0.06	0.08
炭水化物 (g)	0.74	2.6
食塩相当量 (g)	0.004～0.3	0.001～0.01
グロビン蛋白分解物 (mg)	2000	0

る疑いのある者、③精神疾患、睡眠障害、心・腎疾患、糖尿病やその他の重篤な疾患に罹患している者、④過去に重度の疾病歴があり、試験参加に問題があると判断された者、⑤試験食品に含まれる成分にアレルギー症状を示す可能性がある者、⑥AM 0:00を超える勤務形態の交代制勤務者または深夜勤務者、⑦日常の生活習慣や食生活が極度に不規則な者、⑧収縮期血圧が90 mmHg未満の者、⑨スクリーニング検査翌日から1週間の飲酒量調査で、平均飲酒量が純アルコール量に換算して60 g/日以上の飲酒習慣をもつ者、⑩過去に採血によって気分不良や体調悪化を経験したことのある者、⑪試験に影響を及ぼす可能性のある医薬品や医薬部外品、漢方、健康食品(サプリメントを含む)を常用している者、⑫試験期間中、被験者へのお願い事項を遵守できない者、⑬スクリーニング検査時に他の臨床試験に参加している者、または試験開始前2カ月以内に他の臨床試験に参加していた者、⑭スクリーニング検査前1カ月間で成分献血または全血200 mL以上の採血を行った者、または試験期間中にその予定がある者、⑮出張や旅行が平均して1カ月に10日以上ある者、⑯試験期間中に妊娠を希望する者、または妊娠中(妊娠している可能性のある場合を含む)あるいは授乳期の者、⑰その他、健康診断等のデータなどに基づき、試験責任医師が不適当と判断した者

3. 試験デザイン

本試験は無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験で実施した。試験期間は8週間であり、試験食品の摂取開始前、摂取4週後、摂取8週後に検査を実施した。試験スケジュールを図1に示した。

募集を実施(2023年8月22日～2023年9月28日)し、試験参加志願者は試験協力者等の指示によ

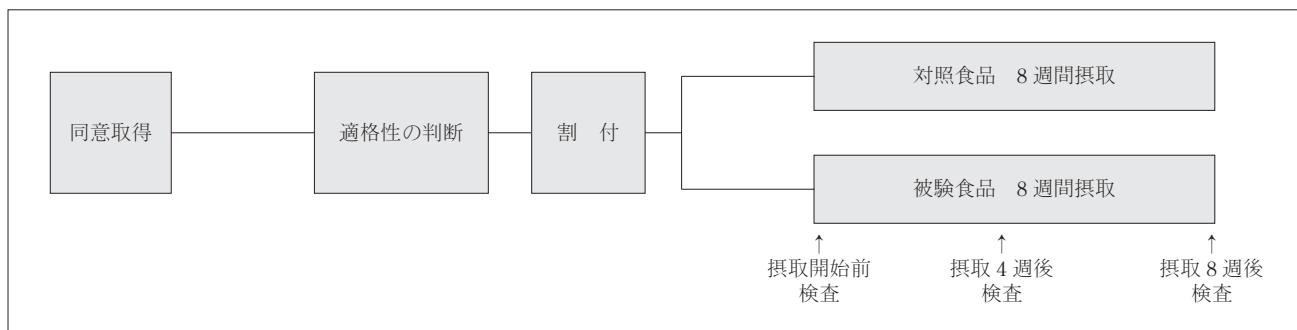


図1 試験スケジュール

り福原医院に来院し、試験責任医師は試験参加志願者から試験参加への同意を文書にて得た上で、スクリーニング検査を実施した。その後、試験責任医師は得られた結果より、選択基準・除外基準より試験組み入れの適格性の検討を行った。その結果、十分な被験者候補を確保できたことが確認できたため、介入に組み入れる被験者を選定した。本試験に関与しない独立した外部機関の担当者が割付責任者として、被験者を2群に分け、乱数を用いて無作為に被験食品群と対照食品群に割付けた。この際、割付因子とした年齢、性別、AST、ALT、γ-GTについて、群間差が生じていないことを確認した。また、その他の因子についても、群間において著しい偏りがないことを確認した。割付担当者は試験食品割付表を封印し、試験終了まで厳重に保管し、本試験に関与する試験依頼者、試験責任医師、試験分担医師、試験受託者、被験者全員に対して割付を秘匿とし、試験食品の盲検性を担保した。

試験期間中は、被験食品または対照食品を1日8粒、水またはぬるま湯で毎日摂取することとした。また、摂取期間は摂取開始前検査日から摂取8週後検査前日までとした。摂取時刻は特に指定しないが、当日に摂取できなかった場合でも翌日に持ち越して摂取することは禁止した。なお、摂取開始前および摂取4週後検査日は、検査終了後に試験食品を摂取することとした。

試験期間中は生活日誌を毎日記載することとした。試験参加前からの生活習慣（食事、運動、睡眠、喫煙、飲酒等）を大きく変えないこととし、試験に影響を及ぼす可能性のある医薬品や医薬部外品、漢方、健康食品（サプリメントを含む）の摂取を禁止した。また、試験期間中の献血は禁止した。

本試験は 2023 年 8 月 7 日に福住内科クリニック

治験審査委員会の承認後、被験者の同意を文書にて取得し、ヘルシンキ宣言（2013年10月改訂）の精神に則り、人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（令和5年3月27日一部改正）ならびに当該試験の試験実施計画書を遵守して実施した（登録番号 UMIN000051963）。

4. 檢查項目

4-1. 評価項目

1) 主要評価項目

肝機能マーカーである ALT を主要評価項目として有効性を評価した。

2) 副次評価項目

肝機能マーカー (AST, γ -GT), 疲労感 (VAS 検査), 睡眠・心身状態 (OSA 睡眠調査票 MA 版), 血液生化学検査 [中性脂肪 (TG), 総コレステロール, HDL-コレステロール, LDL-コレステロール, グルコース (空腹時血糖), HbA1c (NGSP)] を有効性の副次評価項目とした。

3) その他の評価項目

身体計測項目、生理学的検査項目、主要・副次評価項目を除く臨床検査項目の評価を実施した。

4-2. 検査方法

1) 身体計測

身長はスクリーニング時のみ測定し、体重は摂取開始前、摂取4週後、摂取8週後に測定を行った。測定は身長計（HF II；松吉医療器械社製）を使用して測定し、体重は体組成計（DC-320；タニタ社製）を使用して測定した。

2) 生理学的検査

体温、収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍数の測定を摂取開始前、摂取4週後、摂取8週後に行った。体温は電子体温計(MC-1600W-HP; オムロン社製)を使用して測定した。収縮期血圧、拡張期血

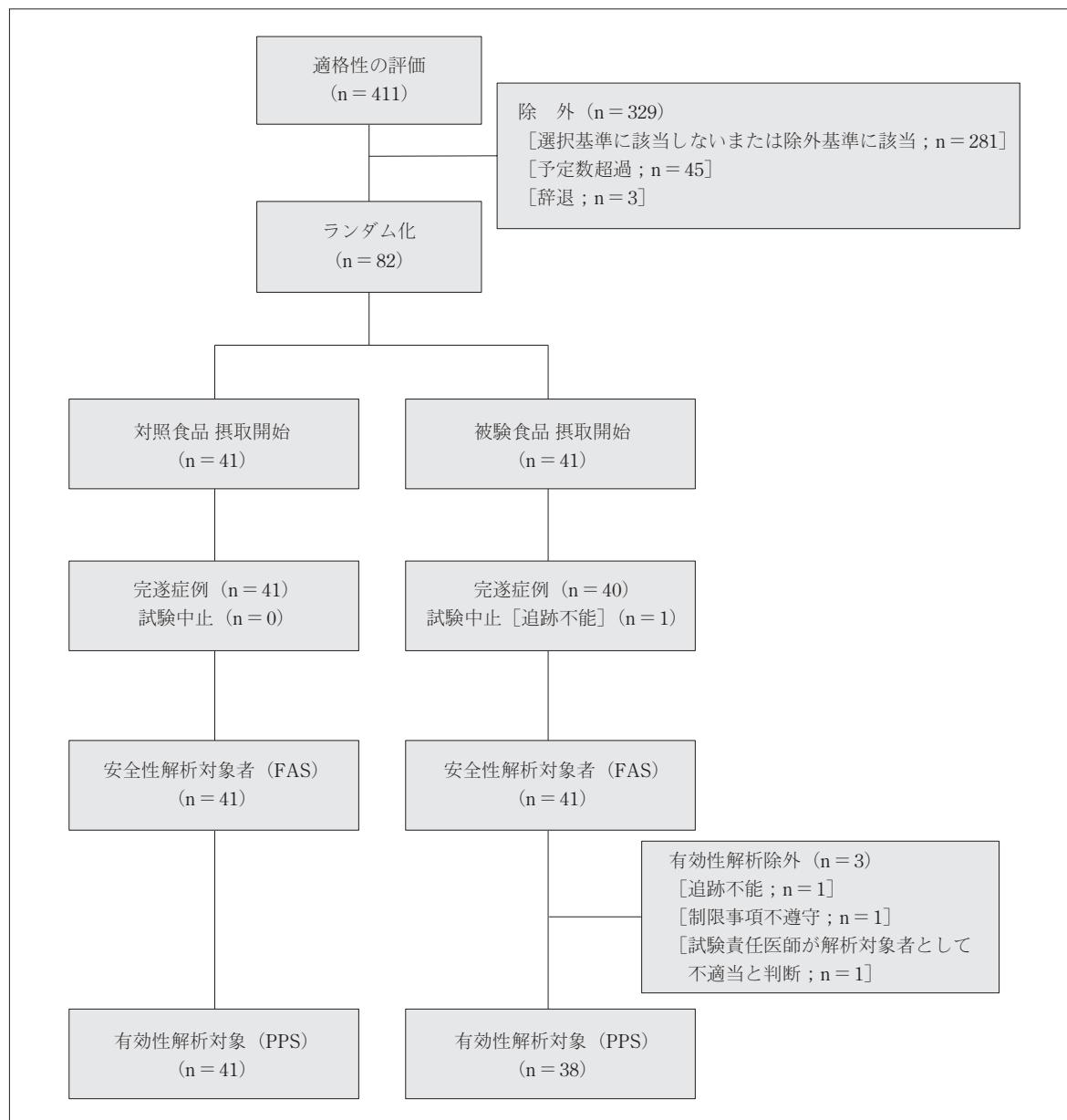


図 2 試験参加者のフローチャート

圧、脈拍数は自動血圧計（「健太郎」HBP-9020；オムロン社製）を使用して測定した。

3) 血液生化学検査

血液検査は摂取開始前、摂取 4 週後、摂取 8 週後に行い、白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、血小板数、総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、AST、ALT、LDH、ALP、 γ -GT、LAP、CK、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、中性脂肪、グルコース（空腹時血糖）、HbA1c (NGSP)、尿酸、尿素窒素、クレアチニン、Na、Cl、K を測定した。

4) 尿 検 査

尿検査は摂取開始前、摂取 4 週後、摂取 8 週後に行い、比重、pH、ケトン体、潜血反応、ウロビリノーゲン、ビリルビン、蛋白定性、糖定性を測定した。

5) 生活日誌

摂取開始前から摂取 8 週後検査まで毎日、起床・就寝時間、食事摂取有無、試験食品摂取時間、飲酒量、食習慣・運動習慣の変化、喫煙本数等について生活日誌を記録させた。

6) 疲 労 感

疲労感は摂取開始前から摂取 8 週後検査まで毎

表2 被験者背景

項目	単位	ITT/FAS		PPS	
		対照食品	被験食品	対照食品	被験食品
		Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
性別	男・女	女: 11 / 男: 30	女: 10 / 男: 31	女: 11 / 男: 30	女: 10 / 男: 28
年齢	歳	46.8 ± 9.6	45.3 ± 11.2	46.8 ± 9.6	45.6 ± 11.0
運動習慣	有・無	無: 26 / 有: 15	無: 23 / 有: 18	無: 26 / 有: 15	無: 22 / 有: 16
飲酒習慣	有・無	無: 16 / 有: 25	無: 18 / 有: 23	無: 16 / 有: 25	無: 18 / 有: 20
飲酒量	g/週	9.21 ± 10.83	8.44 ± 13.67	9.21 ± 10.83	7.80 ± 13.58
身長	cm	167.17 ± 7.07	168.00 ± 8.21	167.17 ± 7.07	167.72 ± 8.42
体重	kg	66.20 ± 9.57	67.12 ± 11.54	66.20 ± 9.57	66.98 ± 11.98
収縮期血圧	mmHg	114.9 ± 13.7	113.5 ± 14.7	114.9 ± 13.7	113.9 ± 15.0
拡張期血圧	mmHg	69.0 ± 11.9	68.0 ± 12.4	69.0 ± 11.9	68.3 ± 12.7
脈拍数	beats/min	70.0 ± 9.6	72.0 ± 9.1	70.0 ± 9.6	72.2 ± 8.4
AST	U/L	25.1 ± 5.8	24.9 ± 3.7	25.1 ± 5.8	25.1 ± 3.6
ALT	U/L	32.2 ± 6.2	32.0 ± 6.1	32.2 ± 6.2	32.1 ± 6.0
γ-GT	U/L	43.2 ± 25.8	42.6 ± 26.1	43.2 ± 25.8	39.9 ± 20.5
中性脂肪	mg/dL	116.0 ± 59.5	105.4 ± 43.9	116.0 ± 59.5	105.9 ± 44.7
総コレステロール	mg/dL	208.2 ± 28.8	206.8 ± 34.4	208.2 ± 28.8	206.6 ± 35.1
HDL-コレステロール	mg/dL	59.5 ± 13.2	58.3 ± 13.9	59.5 ± 13.2	57.8 ± 14.2
LDL-コレステロール	mg/dL	122.6 ± 25.9	122.4 ± 28.8	122.6 ± 25.9	122.9 ± 28.9
グルコース(空腹時血糖)	mg/dL	89.8 ± 8.0	88.9 ± 9.1	89.8 ± 8.0	88.7 ± 9.4
HbA1c (NGSP)	%	5.41 ± 0.27	5.41 ± 0.35	5.41 ± 0.27	5.41 ± 0.36

日、被験者の自宅にて起床時に、VAS法による評価を実施した。評価には日本疲労学会が提示する疲労感VAS検査を使用した。

7) 睡眠・心身状態

睡眠・心身状態は、摂取開始前、摂取4週後、摂取8週後に被験者の自宅にて起床時に、OSA睡眠調査票MA版を使用して実施した。

8) 医師診察

摂取開始前、摂取4週後、摂取8週後に試験責任医師が問診、聴診を行った。

5. 統計解析

主要評価項目はALTとした。副次評価項目はAST, γ-GT, 疲労感, 睡眠・心身状態, 中性脂肪, 総コレステロール, HDL-コレステロール, LDL-コレステロール, グルコース(空腹時血糖), HbA1c(NGSP)とした。

データの集計・解析にはSAS 9.4(SAS Institute Inc.)を使用し、有意水準は両側5%とした。スクリーニング検査時と摂取開始前検査時におけるALT値の変動を共変量因子として、各検査時における摂取開始前からの変化量および変化率について、対照食品群と被験食品群において群間比較を行

うこととした。「時間」、「試験食品」および交互作用として「時間 * 試験食品」を要因として共分散分析を行い、その後t検定による群間比較を実施した。

疲労感は有害事象による影響を受けるため、疲労感の評価については有害事象発現者の有害事象発生期間のデータは除くこととした。また、検査日のアローワンスは±4日に設定しており、疲労感の評価は摂取8週後検査日まで実施した。そのため、28日目、56日目の疲労感のデータがある被験者のみを対象として、摂取4週後、摂取8週後の疲労感評価解析を行うこととし、当該日にデータがない被験者は欠損とした。

また、被験者属性による傾向を確認するため、血中中性脂肪が高めである方のサブグループ解析、および試験期間中にアルコールを摂取した方のサブグループ解析を実施した。なお、t検定については多重性の補正を行わなかった。

結果

1. 解析対象者

本試験で組み入れられた被験者は82名(被験食品群41名、対照食品群41名)であり、ITT解析

表 3 PPS 対象者での主要評価項目 (ALT) の経時変化

項目	群	摂取開始前		摂取 4 週後		摂取 8 週後		共分散分析 (p 値)			
		n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	試験食品	時間	交互作用	
ALT	実測値 (U/L)	対照食品 被験食品	41 38	30.9 ± 9.4 29.6 ± 9.8	41 37	29.8 ± 8.7 28.6 ± 9.9	41 38	30.4 ± 8.5 28.5 ± 9.5	0.64	0.52	0.91
	変化量 (U/L)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	— 1.1 ± 8.4 — 0.9 ± 5.6	41 38	— 0.5 ± 9.9 — 1.1 ± 8.2	0.65	0.52	0.91
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	— 0.2 ± 26.7 — 1.4 ± 18.7	41 38	2.8 ± 31.0 — 0.3 ± 25.6	0.44	0.78	0.86

対象と FAS 解析対象は割り付けられた全 82 名とした。1 名が試験食品摂取期間中に追跡不能となり、試験責任医師の判断で試験中止となったため、試験の完遂は 81 名であった。また、解析除外基準に抵触し、制限事項を遵守していないことが明らかになった 1 名と、試験責任医師が解析対象者として不適当と判断した 1 名が解析除外基準に該当した。先述の試験中止基準に該当した 1 名と、解析除外基準に該当した 2 名を除いた 79 名を PPS 解析対象とした。なお、摂取 4 週後検査時に肝機能項目で異常変動が確認された 1 例については、自覚症状はないものの、新型コロナウイルス感染症関連の服薬による影響があるとして、摂取 4 週後における有効性指標のうち、臨床検査値のみを解析から除外した。研究対象者および解析対象者の選抜過程を図 2 に、被験者背景情報を表 2 に示した。

FAS, PPS いずれの集団においても、割付因子である年齢、性別、AST, ALT, γ -GT において被験食品群と対照食品群の間に有意差は認められなかった。

2. 解析結果

2-1. PPS を対象とした解析

2-1-1. 主要評価項目 (ALT)

PPSにおいて、試験食品、時間、試験食品と時間の交互作用を因子とした共分散分析において、試験食品と時間の交互作用において有意差は認められず、被験食品群と対照食品群との間に有意差は認められなかった (表 3)。

2-1-2. 副次評価項目 (その他の血液生化学検査値)

PPSにおいて、試験食品、時間、試験食品と時間の交互作用を因子とした共分散分析において、試

験食品と時間の交互作用において有意差は認められず、被験食品群と対照食品群との間に有意差は認められなかった (表 4)。

2-1-3. 副次評価項目 (疲労感)

PPS における疲労感の実測値、変化量および変化率において、試験食品、時間、試験食品と時間の交互作用を因子とした共分散分析の結果から、試験食品と時間の交互作用において統計学的な有意差が認められた (表 5)。ただし、摂取 4 週後および 8 週後の実測値、変化量、変化率において、被験食品群と対照食品群との間に有意差は認められなかった。また、摂取開始前の実測値において、被験食品群は試験食品と比較して低値であり、有意差が認められた。

2-1-4. 副次評価項目 (睡眠・心身状態)

PPS において、試験食品、時間、試験食品と時間の交互作用を因子とした共分散分析において、試験食品と時間の交互作用において有意差は認められなかった (表 6)。摂取 4 週後の要因 II (入眠と睡眠維持) の変化率と要因 IV (疲労回復) の実測値について、被験食品群と対照食品群との間に有意差が認められた。摂取 8 週後の実測値、変化量、変化率において、被験食品群と対照食品群との間に有意差は認められなかった。

2-2. サブグループ解析①

(血中中性脂肪が正常高値またはやや高めの方を対象とした解析)

血中中性脂肪が正常高値またはやや高めの人 ($120 \text{ mg/dL} \leq \text{TG} < 200 \text{ mg/dL}$) において解析を行った。ALT の変化率において試験食品と時間の有意な交互作用が認められ、被験食品群は対照食品群と比較して、ALT の摂取 8 週後の変化量および

表4 PPS 対象者での副次評価項目 (ALT 以外の血液生化学検査) の経時変化

項目	群	摂取開始前		摂取4週後		摂取8週後		共分散分析 (p値)			
		n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	試験食品	時間	交互作用	
AST	実測値 (U/L)	対照食品 被験食品	41 38	24.1 ± 4.5 25.2 ± 5.6	41 37	23.9 ± 4.2 24.5 ± 6.0	41 38	24.0 ± 4.2 24.1 ± 5.4	0.40	0.44	0.67
	変化量 (U/L)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	— 0.2 ± 3.5 — 0.6 ± 3.7	41 38	— 0.2 ± 4.6 — 1.1 ± 5.5	0.23	0.45	0.66
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	0.3 ± 14.6 — 1.5 ± 14.3	41 38	1.2 ± 19.2 — 2.0 ± 20.7	0.24	0.96	0.72
γ-GT	実測値 (U/L)	対照食品 被験食品	41 38	42.5 ± 25.4 36.3 ± 19.6	41 37	40.5 ± 20.5 37.2 ± 24.5	41 38	40.7 ± 26.4 36.0 ± 19.0	0.42	0.71	0.48
	変化量 (U/L)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	— 2.0 ± 13.5 1.4 ± 13.1	41 38	— 1.9 ± 13.1 — 0.4 ± 9.1	0.34	0.71	0.48
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	0.4 ± 22.5 3.4 ± 25.8	41 38	— 1.0 ± 23.2 0.7 ± 20.0	0.63	0.66	0.84
T-Chol	実測値 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	207.8 ± 29.7 209.8 ± 35.6	41 37	208.2 ± 33.5 205.3 ± 32.8	41 38	206.2 ± 31.3 206.9 ± 32.5	0.98	0.51	0.49
	変化量 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	0.4 ± 20.6 — 4.9 ± 20.3	41 38	— 1.6 ± 21.5 — 2.9 ± 18.3	0.38	0.50	0.47
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	0.4 ± 10.0 — 1.7 ± 9.8	41 38	— 0.3 ± 10.4 — 0.8 ± 8.6	0.48	0.81	0.61
HDL-Chol	実測値 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	60.0 ± 15.0 58.0 ± 14.2	41 37	60.0 ± 13.0 57.9 ± 13.6	41 38	60.2 ± 15.5 57.4 ± 15.4	0.34	0.93	0.86
	変化量 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	— 0.1 ± 7.4 — 0.3 ± 4.8	41 38	0.1 ± 8.2 — 0.7 ± 5.6	0.71	0.93	0.86
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	1.3 ± 12.4 0.1 ± 8.2	41 38	0.8 ± 12.6 — 1.2 ± 9.9	0.48	0.74	0.72
LDL-Chol	実測値 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	117.7 ± 25.1 123.7 ± 28.2	41 37	123.3 ± 30.2 124.1 ± 26.8	41 38	119.6 ± 25.9 123.2 ± 28.7	0.55	0.20	0.36
	変化量 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	5.6 ± 15.3 0.4 ± 15.8	41 38	1.9 ± 17.2 — 0.5 ± 14.9	0.20	0.21	0.35
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	4.9 ± 12.9 1.6 ± 13.8	41 38	3.2 ± 16.8 0.1 ± 12.1	0.23	0.14	0.52
TG	実測値 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	140.8 ± 101.2 115.9 ± 85.9	41 37	116.9 ± 52.9 104.3 ± 48.7	41 38	133.6 ± 84.9 125.6 ± 147.3	0.48	0.08	0.67
	変化量 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	— 23.9 ± 76.3 — 12.6 ± 73.2	41 38	— 7.1 ± 48.5 9.8 ± 81.3	0.19	0.08	0.67
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	— 2.5 ± 37.4 3.5 ± 40.5	41 38	6.6 ± 57.4 6.8 ± 49.9	0.74	0.39	0.84
BS	実測値 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	88.8 ± 9.6 89.6 ± 9.4	41 37	91.1 ± 9.4 91.4 ± 10.2	41 38	92.3 ± 11.0 92.1 ± 11.3	0.74	< 0.01	0.83
	変化量 (mg/dL)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	2.3 ± 7.0 2.1 ± 7.9	41 38	3.5 ± 10.0 2.4 ± 7.4	0.79	< 0.01	0.82
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	2.9 ± 8.1 2.6 ± 9.3	41 38	4.5 ± 12.7 2.8 ± 8.1	0.71	< 0.01	0.73
HbA1c	実測値 (%)	対照食品 被験食品	41 38	5.38 ± 0.27 5.38 ± 0.31	41 37	5.42 ± 0.29 5.41 ± 0.33	41 38	5.41 ± 0.33 5.43 ± 0.39	0.84	0.03	0.65
	変化量 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	0.04 ± 0.10 0.04 ± 0.12	41 38	0.03 ± 0.16 0.06 ± 0.19	0.65	0.03	0.65
	変化率 (%)	対照食品 被験食品	41 38	— ± — — ± —	41 37	0.7 ± 1.8 0.8 ± 2.3	41 38	0.5 ± 3.1 1.0 ± 3.5	0.66	0.03	0.67

表5 PPS 対象者での副次評価項目（疲労感）の経時変化

項目	群	摂取開始前		摂取4週後		摂取8週後		共分散分析 (p値)			
		n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	試験食品	時間	交互作用	
VAS	実測値	対照食品	40	46.7 ± 21.8	39	38.3 ± 13.8	36	35.9 ± 15.9	0.60	< 0.01	0.01
		被験食品	38	37.9 ± 18.5 *	37	35.2 ± 16.0	34	34.9 ± 16.6			
	変化量	対照食品	40	— ± —	38	-9.5 ± 20.7	35	-10.5 ± 20.8	0.09	< 0.01	0.01
	変化率 (%)	対照食品	40	— ± —	38	-3.7 ± 51.0	35	-7.5 ± 49.6	0.11	< 0.01	< 0.01
		被験食品	38	— ± —	37	19.3 ± 79.2	34	15.7 ± 76.2			

*p < 0.05 (群間比較)

欠損データ数は次の通り。摂取開始前 (対照食品: 1, 被験食品: 0), 摂取4週後 (対照食品: 2, 被験食品: 1), 摂取8週後 (対照食品: 5, 被験食品: 4)

表6 PPS 対象者での副次評価項目（睡眠・心身状態）の経時変化

項目	群	摂取開始前		摂取4週後検査		摂取8週後検査		共分散分析 (p値)			
		n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	試験食品	時間	交互作用	
要因 I	実測値	対照食品	41	46.38 ± 6.87	41	46.16 ± 6.55	41	49.65 ± 5.71	0.11	< 0.01	0.43
		被験食品	38	48.51 ± 6.99	38	49.12 ± 7.00	38	50.39 ± 6.73			
	変化量	対照食品	41	— ± —	41	-0.22 ± 6.75	41	3.27 ± 6.00	0.93	< 0.01	0.43
	変化率 (%)	対照食品	41	— ± —	41	0.61 ± 14.56	41	8.41 ± 14.72	0.96	< 0.01	0.39
要因 II	実測値	対照食品	41	45.52 ± 9.88	41	47.77 ± 7.70	41	49.40 ± 7.21	0.42	< 0.01	0.31
		被験食品	38	48.04 ± 8.02	38	47.69 ± 9.03	38	51.42 ± 8.04			
	変化量	対照食品	41	— ± —	41	2.25 ± 8.93	41	3.88 ± 9.25	0.36	< 0.01	0.31
	変化率 (%)	対照食品	41	— ± —	41	9.13 ± 27.87	41	13.12 ± 29.03	0.20	< 0.01	0.20
要因 III	実測値	対照食品	41	52.94 ± 7.36	41	52.63 ± 7.16	41	53.02 ± 7.92	0.97	0.57	0.64
		被験食品	38	51.98 ± 9.34	38	52.73 ± 8.88	38	53.74 ± 7.56			
	変化量	対照食品	41	— ± —	41	-0.31 ± 6.92	41	0.08 ± 9.76	0.43	0.57	0.64
	変化率 (%)	対照食品	41	— ± —	41	0.55 ± 15.93	41	2.07 ± 22.25	0.41	0.16	0.64
要因 IV	実測値	対照食品	41	44.52 ± 8.32	41	47.13 ± 6.75	41	50.00 ± 5.25	0.01	< 0.01	0.42
		被験食品	38	48.78 ± 7.31 **	38	50.37 ± 6.99 *	38	52.00 ± 7.17			
	変化量	対照食品	41	— ± —	41	2.61 ± 8.17	41	5.48 ± 7.14	0.34	< 0.01	0.42
	変化率 (%)	対照食品	41	— ± —	41	9.12 ± 24.10	41	15.90 ± 24.22	0.26	< 0.01	0.27
要因 V	実測値	対照食品	41	47.58 ± 9.14	41	46.32 ± 8.66	41	50.64 ± 9.28	0.99	0.02	0.29
		被験食品	38	46.81 ± 9.61	38	48.47 ± 10.46	38	49.52 ± 9.39			
	変化量	対照食品	41	— ± —	41	-1.25 ± 9.98	41	3.06 ± 9.65	0.50	0.02	0.29
	変化率 (%)	対照食品	41	— ± —	41	-0.39 ± 22.12	41	8.89 ± 24.28	0.51	< 0.01	0.34
		被験食品	38	— ± —	38	6.21 ± 26.99	38	8.30 ± 22.41			

*p < 0.05, **p < 0.01 (群間比較)

表7 血中中性脂肪が正常高値またはやや高めの方を対象としたALT, ASTの経時変化

項目	群	摂取開始前		摂取4週後		摂取8週後		共分散分析(p値)			
		n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	試験食品	時間	交互作用	
ALT	実測値(U/L)	対照食品 被験食品	17 11	28.9 ± 7.3 32.8 ± 8.7	17 11	29.3 ± 5.7 31.4 ± 10.8	17 11	31.0 ± 7.1 27.6 ± 8.3	0.91	0.59	0.05
	変化量(U/L)	対照食品 被験食品	17 11	— ± — — ± —	17 11	0.4 ± 8.3 - 1.5 ± 5.7	17 11	2.1 ± 10.4 - 5.2 ± 7.1 **	0.19	0.59	0.05
	変化率(%)	対照食品 被験食品	17 11	— ± — — ± —	17 11	5.4 ± 25.3 - 4.8 ± 16.7	17 11	12.5 ± 32.6 - 14.2 ± 20.4 **	0.06	0.97	0.02
AST	実測値(U/L)	対照食品 被験食品	17 11	23.3 ± 3.9 25.8 ± 6.0	17 11	23.5 ± 2.9 25.6 ± 6.1	17 11	23.1 ± 3.0 22.5 ± 3.7	0.43	0.03	0.08
	変化量(U/L)	対照食品 被験食品	17 11	— ± — — ± —	17 11	0.2 ± 4.0 - 0.2 ± 3.1	17 11	- 0.2 ± 4.4 - 3.4 ± 4.6 *	0.34	0.03	0.08
	変化率(%)	対照食品 被験食品	17 11	— ± — — ± —	17 11	2.7 ± 17.4 - 0.3 ± 12.7	17 11	1.4 ± 19.1 - 11.0 ± 14.8 *	0.31	0.12	0.12

*p < 0.05, **p < 0.01 (群間比較)

表8 試験期間中にアルコールを摂取した方を対象としたALT, ASTの経時変化

項目	群	摂取開始前		摂取4週後		摂取8週後		共分散分析(p値)			
		n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	試験食品	時間	交互作用	
ALT	実測値(U/L)	対照食品 被験食品	25 20	32.6 ± 10.2 32.6 ± 9.1	25 19	30.4 ± 8.6 30.7 ± 9.7	25 20	31.3 ± 6.7 27.9 ± 7.1	0.88	0.03	0.16
	変化量(U/L)	対照食品 被験食品	25 20	— ± — — ± —	25 19	- 2.2 ± 6.8 - 1.9 ± 6.1	25 20	- 1.2 ± 9.5 - 4.8 ± 7.6 *	0.12	0.03	0.17
	変化率(%)	対照食品 被験食品	25 20	— ± — — ± —	25 19	- 4.1 ± 21.4 - 4.6 ± 20.1	25 20	2.1 ± 31.1 - 11.5 ± 21.6 **	0.09	0.35	0.10
AST	実測値(U/L)	対照食品 被験食品	25 20	24.3 ± 5.0 28.2 ± 5.3 **	25 19	23.5 ± 4.6 27.1 ± 6.4 **	25 20	23.2 ± 3.9 24.4 ± 4.5	0.02	< 0.01	0.04
	変化量(U/L)	対照食品 被験食品	25 20	— ± — — ± —	25 19	- 0.8 ± 3.3 - 1.1 ± 4.6	25 20	- 1.1 ± 4.3 - 3.8 ± 4.3 **	0.05	< 0.01	0.04
	変化率(%)	対照食品 被験食品	25 20	— ± — — ± —	25 19	- 2.3 ± 13.1 - 2.8 ± 16.8	25 20	- 2.4 ± 17.9 - 12.0 ± 14.9 **	0.09	< 0.01	0.06

*p < 0.05, **p < 0.01 (群間比較)

変化率が低値を示し、有意差が認められた。また、ASTに、試験食品と時間の交互作用において有意差は認められなかったが、被験食品群は対照食品群と比較して、摂取8週後の変化量と変化率が低値を示し、有意差が認められた(表7)。

2-3. サブグループ解析②

(試験期間中にアルコールを摂取した方を対象とした解析)

試験期間中にアルコール摂取が認められた人において解析を行った。ALTについて、試験食品と時

間の交互作用において有意差は認められなかったが、被験食品群は対照食品群と比較して、摂取8週後の変化量と変化率が低値を示し、有意差が認められた。また、ASTについて、実測値と変化量において試験食品と時間の有意な交互作用が認められ、被験食品群は対照食品群と比較して、摂取8週後の変化量と変化率で低値を示し、有意差が認められた。ただし、摂取開始前ASTの実測値において被験食品群は対照食品群と比較して高値であり、有意差が認められた(表8)。

3. 有害事象

試験期間中に認められた有害事象を示す。有害事象については、対照食品群で10例19件（頭痛4件、感冒3件、新型コロナウイルスワクチン接種副反応2件、疲労4件、腰痛1件、腹痛1件、倦怠感2件、打撲1件、熱傷1件）、被験食品群で8例13件（感冒2件、新型コロナウイルスワクチン接種副反応1件、新型コロナウイルス感染症1件、肝機能項目異常変動2件、下痢1件、腰痛1件、胃痛1件、虫刺症1件、アレルギー反応の疑い1件、尿糖異常変動1件、インフルエンザワクチン接種副反応1件）が認められたが、有害事象発現率について、群間における統計学的な有意差は認められなかった。また、報告されたいずれの有害事象も試験食品の摂取との因果関係は試験責任医師の判断により否定された。

考 察

本試験では、GD配合食品摂取が健康な成人男女の肝機能マーカー値に及ぼす影響を評価することを目的に、GDを含有する錠剤（被験食品）またはGDを含有しない錠剤（対照食品）を1日8粒、8週間摂取させる無作為化プラセボ二重盲検並行群間比較試験を実施した。

PPSを対象とした主要評価項目(ALT)の結果について、摂取8週後において被験食品群で低下を示したが、対照食品群との群間比較においては統計学的な有意差は認められなかった。また、副次評価項目のうち、肝機能マーカーであるASTと γ -GTにおいても、PPSについての試験食品群と対照食品群との群間比較において、統計学的な有意差は認められなかった。

肝機能低下を引き起こす要因として、飲酒や肥満、ウイルス、薬剤性などが挙げられるが、先行研究においてGDは血中中性脂肪の蓄積やアルコール性の肝臓負荷に対して肝機能保護効果を示すことが示されている。先行研究では、ガラクトサミン肝障害モデルラットにおいて、WTQRがALT、ASTの上昇抑制効果を示すことが確認されている。さらに、WTQRは肝細胞壊死や炎症性細胞浸潤の低減効果を示しており、GDはWTQRによる炎症状態改善機能によって肝臓保護効果を示すと考えられた³⁾⁶⁾。GDは肝細胞障害を伴った炎症の抑制を作用

機序とし、肝機能保護効果を示す可能性があると考えたため、本試験では、血中中性脂肪が正常高値またはやや高めの方（120 mg/dL \leq TG < 200 mg/dL）を対象としたサブグループ解析と、試験期間中にアルコールを摂取した方を対象としたサブグループ解析を行った。

血中中性脂肪の蓄積は肝臓において酸化ストレスを伴った炎症の一因となり得ることから、特定保健用食品の申請に関する通知を参考に⁷⁾、血中中性脂肪が高めの健常者の方（120 mg/dL \leq TG < 200 mg/dL）を対象としたサブグループ解析を行ったところ、被験食品群は対照食品群と比較して、摂取8週後のALTとASTの変化量および変化率について有意差が認められ、肝機能保護効果が示された。過剰に蓄積した中性脂肪は過酸化を受けることで、肝臓における酸化ストレスを伴った炎症が惹起されることが知られており⁸⁾、血中中性脂肪の上昇は肝臓負荷に繋がると考えられる。GDは血中中性脂肪が高めの方の肝臓における抗炎症を介した肝機能マーカー値の低減効果を示したと考えられる。

また、肝臓の炎症を惹起する因子の1つとしてアルコールの摂取が挙げられるため、試験期間中にアルコールを摂取した方においてサブグループ解析を行ったところ、被験食品群は対照食品群と比較して、摂取8週後のALTの変化量と変化率について有意差が認められ、肝機能保護効果が示された。摂取されたアルコールは胃や小腸で吸収された後、肝臓でアルコール脱水素酵素(ADH)とミクロゾームエタノール酸化系によってアセトアルデヒドが生成され、アルデヒド脱水素酵素(ALDH)によってさらに酢酸へと分解される。アルコール代謝途中で生成されるアセトアルデヒドは、活性酸素を介して肝細胞を傷害し、肝細胞内のマクロファージ活性を伴った炎症性サイトカインやケモカインの放出を促すため、肝細胞障害を伴った炎症状態をもたらす⁹⁾¹⁰⁾。先行研究において、急性アルコール性肝障害モデルマウスへのGD継続摂取による肝臓保護効果が確認されている。また、同研究での組織病理検査の結果で、肝脂肪変性の減少および抗酸化指標であるグルタチオンペルオキシダーゼ(Gpx)の維持が確認されていたことから、GDは抗酸化能の維持によってアルコール摂取に伴った肝細胞障害を抑制することで、肝臓保護効果を示したと考えられ

る⁴⁾。

以上のことから、WTQRを含むGDは肝臓における抗炎症および抗酸化作用を介してALTの低下効果を示したと考えられた。PPSを対象とした副次評価項目のうち、疲労感について有意な交互作用が認められたが、摂取開始時の疲労感が被験食品群で有意に低値であり、試験開始時点における群間差が試験結果に影響したと考えられる。また、睡眠・心身状態について、一部の群間比較で有意差が認められたが、摂取8週後においては群間で有意差が認められず、一貫性を欠く結果であることから、本試験において被験食品摂取による影響は認められないと考えられた。以上の通り、血液生化学検査値に加えて、主観的な評価項目である、疲労感、睡眠・心身状態においても被験食品による有効性は認められなかった。本試験では肝機能マーカーであるALT値の改善作用の評価を主な目的としており、疲労感および睡眠・心身状態については探索的研究の位置づけであったことから、当該評価に適した被験者集団ではなかったことが一因として挙げられる。今後、GDの疲労感もしくは睡眠・心身状態への影響に着目した評価を行う際には、それぞれの評価に適した被験者選定を行うことが重要と考えられる。

また、本試験では、臨床検査項目の異常を含め、GD摂取に起因する有害事象は認められておらず、GD 2000 mg/日の8週間摂取における安全性に問題はなかった。

本試験では、GDがALT値を低下させる効果があることが確認されたが、本試験の限界として、被験者条件を特定した探索的なサブグループ解析における例数設計時よりも少ない例数での解析結果となっていることから、今後、さらなる検証が必要であると考える。

結 論

GD配合食品の8週間の摂取は、中性脂肪が高めの健常成人男女において肝機能マーカーであるALTおよびASTの値を低下させる効果があることが示された。また、試験期間中にアルコールを摂取した健康成人男女において、肝機能マーカーであるALTの値を低下させる効果があることが示された。

COI

本研究を実施するための資金は、ロート製薬株式会社およびエムジーファーマ株式会社より提供された。本試験において被験食品に使用したグロビン蛋白分解物はエムジーファーマ株式会社により製造されている。著者の松本夏子、塚本恒星、小倉千晶、山田耕太郎、墨田康男はロート製薬株式会社の社員であり、石堂圭一、笹川由香、墨田康男はエムジーファーマ株式会社の社員である。その他、個人的に利益など開示すべき事項はない。

文 献

- 1) Hall P, Cash J: What is the Real Function of the Liver 'Function' Tests?. Ulster Med J 2012; **81**: 30-36.
- 2) 日本消化器病学会・日本肝臓学会 編: NAFLD/NASH 診療ガイドライン 2020 改訂第2版. pp90-111, 南江堂, 東京, 2014.
- 3) 山本かおり、中尾真弓、中村美紀、中岡富美子、小南明里、安陪道代、笹川由香、福濱千津子、香川恭一: グロビン蛋白分解物の肝障害に対する肝臓保護作用—SDラットのガラクトサミン肝障害モデル—. 薬理と治療 2010; **38**: 513-519.
- 4) 幹 峰、笹川由香、福濱千津子、常山幸一、香川恭一: グロビン蛋白分解物の肝障害に対する肝臓保護作用—ICRマウスの急性アルコール性肝障害モデル—. 薬理と治療 2010; **38**: 507-512.
- 5) 菊池真大、青木雄大、相澤宏一、菅沼大行、西崎泰弘: 健康成人の肝機能に対するブロッコリスプラウト抽出物含有サプリメントの有効性検証—多施設無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験—. 薬理と治療 2018; **46**: 81-95.
- 6) 笹川由香、山本かおり、中村美紀、中岡富美子、小南明里、中尾真弓、安陪道代、福濱千津子、香川恭一: グロビン蛋白分解物およびその有効成分 Trp-Thr-Gln-Arg の SD ラットのガラクトサミン肝障害モデルに対する肝臓保護作用. 薬理と治療 2011; **39**: 741-749.
- 7) 特定保健用食品の申請に関する通知〔特定保健用食品の表示許可等について(平成26年10月30日消食表第259号)〕
- 8) 大田嗣人: 肥満・インスリン抵抗性がもたらす肝の炎症. 日内会誌 2020; **109**: 19-26.
- 9) Gao B, Ahmad MF, Nagy LE, Tsukamoto H: Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. J Hepatol 2019; **70**: 249-259.
- 10) Mandrekar P, Szabo G: Signalling pathways in alcohol-induced liver inflammation. J Hepatol. 2009; **50**: 1258-1266.

Effects of Globin Digest on Liver Functions in Japanese Healthy Subjects:

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

Natsuko MATSUMOTO¹⁾ / Kosei TSUKAMOTO¹⁾ / Chiaki OGURA¹⁾ / Kotaro YAMADA¹⁾ /
Keiichi ISHIDO²⁾ / Yuka SASAKAWA²⁾ / Yasuo SUMIDA¹⁽²⁾ / Ikuo FUKUHARA³⁾

1) ROHTO Pharmaceutical Co., Ltd.

2) MG Pharma Inc.

3) Fukuhara Clinic

Abstract

Objective: Previous *in vivo* studies have reported a hepatoprotective effect, with elevations in ALT (Alanine aminotransferase) and AST (Aspartate aminotransferase) suppressed by continuous intake of Globin digest (GD). The aim of this study was to evaluate the effects of the consumption of supplements containing GD on liver function marker values in a clinical study.

Methods: A randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group study was conducted in 82 healthy subjects. They were divided into two groups, GD group and placebo group, who ingested a GD supplement (2000 mg /day as GD) or placebo supplement for 8 weeks.

Results: There were no significant differences in biomarkers of liver function (ALT) between the GD and placebo groups after 8 weeks of consumption. However, statistical significance was recognized in the decrease of ALT and AST after 8 weeks ingestion in the subgroup analysis for those with elevated blood triglycerides. In addition, statistical significance was also recognized in the decrease of ALT in the subgroup analysis for those who consumed alcohol during the study period.

Conclusions: Consumption of GD supplements for 8 weeks was shown to be effective in reducing the levels of ALT and AST, markers of liver function, in healthy subjects with elevated triglycerides. In addition, it was also shown to be effective in reducing the levels of ALT in subjects who consumed alcohol during the study period.

Key Words: Globin digest, Alanine aminotransferase (ALT), Triglyceride, Alcohol