

令和元年度 学位論文

健康食品の科学的根拠に基づく利用に向けた

レギュラトリーサイエンス研究

—健康食品の安全性の調査研究とハーブサプリメントの安全性評価—

Regulatory science research for the use of health foods based on scientific evidence  
— Research on the safety of health foods and safety evaluation of herbal supplements

十文字学園女子大学大学院

人間生活学研究科

食物栄養学専攻

16DA003

端田 寛子

指導教員 志村 二三夫（教授）

## 目次

目次	1
略語表記一覧	4
論文要旨	6
和文	6
英文	10
第1章 序論	15
1-1 本論文の構成	15
1-2 本論文の研究背景	15
1-2-1 レギュラトリーサイエンスとしての本論文の位置づけ	15
1-2-2 食品と健康食品	16
1-2-3 日本における健康食品のカテゴリー：保健機能食品といわゆる健康食品	18
1-2-4 米国における健康食品（dietary supplement）の位置づけ	21
1-2-5 ハーブサプリメント（herbal supplement）の特徴と問題点	22
1-2-6 健康食品の有用性評価の重要性	23
1-3 本論文の研究目的	25
1-3-1 本論文の第2章で明らかにしようとする課題・研究課題の核心をなす学術的「問い」	25
1-3-2 本論文の第3章で明らかにしようとする課題・研究課題の核心をなす学術的「問い」	25
第1章 図 (Fig. 1-1~1-2)	27
第2章 資料調査研究—日本で流通している健康食品の成分の安全性と有効性の科学的根拠に基づく評価は、健康食品のカテゴリーによって異なる—	29
2-1 研究背景・目的	29
2-2 研究方法	30
2-2-1 健康食品カテゴリー別の成分リストの作成	30
2-2-1-1 栄養機能食品（Foods with Nutrient Function Claims: FNFC）成分リストの作成	30
2-2-1-2 特定保健用食品（Foods for Specified Health Uses: FOSHU）成分リストの作成	30
2-2-1-3 日本で人気の高い健康食品（Popular Health Foods in Japan: PHFJ）成分リストの作成	31

2-2-2	NMCD モノグラフによる健康食品成分の安全性・有効性評価に関する情報の収集と評価の検討	32
2-2-3	健康食品成分の安全性・有効性評価のカテゴリー間の統計解析方法	32
2-3	研究結果	33
2-3-1	健康食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果	33
2-3-1-1	栄養機能食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果	33
2-3-1-2	特定保健用食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果	33
2-3-1-3	日本で人気のある健康食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果	34
2-3-2	健康食品成分の安全性・有効性評価のカテゴリー間の統計解析結果	35
2-4	考察	36
2-5	結論	39
第2章	表 (Table 2-1~2-7)	40
第2章	図 (Fig. 2-1~2-2)	47

第3章	動物実験研究—肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とする、食品添加物の概念に基づくハーブサプリメント製品の安全性個別評価：バターバー ( <i>Petasites hybridus</i> ) 製品への適用—	49
3-1	研究背景・目的	49
3-2	研究方法	51
3-2-1	試薬等	51
3-2-2	実験動物ならびにバターバー製品の投与	51
3-2-3	Real-time RT-PCR 法による CYP 分子種の肝臓 mRNA 発現量の測定	52
3-2-4	肝臓ミクロソーム画分における CYP 分子種の酵素活性の測定	53
3-2-5	ウエスタンブロッティング法による肝臓ミクロソーム画分における CYP 分子種のタンパク質の検出と腎臓組織における $\alpha 2\mu$ -グロブリンの検出	54
3-2-6	肝臓・腎臓の病理組織学検査	55
3-2-7	統計解析方法	55
3-3	研究結果	55
3-3-1	SDI の 10 倍または 100 倍投与ラットの SGA 製品の肝臓への影響	55
3-3-2	SDI の 100 倍投与ラットの 3 種類のバターバー製品の肝臓への影響	56
3-3-3	バターバー製品投与ラットの肝臓および腎臓の病理組織学検査結果	57
3-3-4	メスラットにおける SGA 製品の影響と腎臓尿細管上皮細胞の硝子滴沈着物の同定	57
3-4	考察	58
3-5	結論	62

第3章 表 (Table 3-1~3-7) . . . . .	64
第3章 図 (Fig. 3-1~3-8) . . . . .	71
第4章 総括 . . . . .	79
謝辞 . . . . .	84
文献 . . . . .	85

## 略語表記一覧（アルファベット順）

ADI: Acceptable Daily Intake (一日摂取許容量)  
AROD: alkoxyresorufin *O*-dealkylase  
BR: benzyloxyresorufin  
BROD: benzyloxyresorufin *O*-dealkylase  
CYP: cytochrome P450 (シトクロム P450)  
DBF: dibenzylfluorescein  
DBFDB: dibenzylfluorescein debenzylase  
DS: dietary supplement (ダイエタリーサプリメント)  
DSHEA: Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (栄養補助食品健康教育法)  
DTT: dithiothreitol  
ER: 7-ethoxyresorufin  
EROD: ethoxyresorufin *O*-deethylase  
FAO: Food and Agriculture Organization (国際連合食糧農業機関)  
FDA: Food and Drug Administration (アメリカ食品医薬品局)  
FFC: Foods with Function Claims (機能性表示食品)  
FHC: Foods with Health Claims (保健機能食品)  
FNFC: Foods with Nutrient Function Claims (栄養機能食品)  
FOSHU: Foods for Specified Health Uses (特定保健用食品)  
Gapdh: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase  
Gstm2: glutathione S-transferase mu 2  
Gstp1: glutathione S-transferase pi 1  
HC: hard capsule product (バターバー粉末市販製品 C)  
HE: hematoxylin and eosin  
HS: herbal supplement (ハーブサプリメント)  
JEFCA: the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議)  
MCT: medium chain triglycerides  
MHRA: Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (医薬品・医療製品規制庁)  
MR: methoxyresorufin  
MROD: methoxyresorufin *O*-demethylase  
NMCD : Natural Medicines Comprehensive Database (ナチュラルメディシン・データベース)  
NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (無毒性量)  
NOEL: No Observed Effect Level (無作用量)

PA: pyrrolizidine alkaloid (ピロリジジンアルカロイド)

PHFJ: Popular Health Foods in Japan (日本で人気の高い健康食品)

PR: pentoxyresorufin

PROD: pentoxyresorufin *O*-dealkylase

SDI: Suggested Daily Intake (一日摂取目安量)

SGA: soft gel product A (バターバー油性市販製品 A)

SGB: soft gel product B (バターバー油性市販製品 B)

TBS: Tris-buffered saline

WHO: World Health Organization (世界保健機関)

## 論文要旨

十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科食物栄養学専攻

端田寛子

健康食品の科学的根拠に基づく利用に向けたレギュラトリーサイエンス研究  
ー健康食品の安全性の調査研究とハーブサプリメントの安全性評価ー

### 【研究の背景・目的】

多彩な健康食品が国内外で流通している。国内には健康増進法等が定める保健機能食品と根拠法のない「いわゆる健康食品」がある。米国には **Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (DSHEA: 栄養補助食品健康教育法)** が規定する **dietary supplement (DS)** があり、日本で販売できない製品も、消費者はインターネット通販で入手できる。消費者が **DS** を含む健康食品を安全・安心に利用する基本は科学的根拠に基づく利用である。管理栄養士等の栄養の実践活動に携わる専門家は、消費者が健康被害や経済的損失を蒙らぬよう、健康食品の安全性や有効性に関する科学的根拠に基づく情報を公正公平に発信する役割がある。

著者はこれまで、管理栄養士養成に携わる立場として、食品の安全性を重視し、健康食品、とくに安全性・有効性の面で様々な問題を抱えるハーブサプリメント (HS) の安全・安心な利用に資するよう、資料調査研究また動物実験研究に関わってきた。著者の研究は、レギュラトリーサイエンス研究に位置づけられるが、本学位論文は、これまでの研究を発展させ、新たに下記研究1・2を実施し、成果をまとめた論文を支柱に構成されている。

【研究1】資料調査研究ー日本で流通している健康食品の成分の安全性と有効性の科学的根拠に基づく評価は、健康食品のカテゴリーによって異なるー

日本で流通している健康食品は、保健機能食品と「いわゆる健康食品」に大別され、保健機能食品は、特定保健用食品（個別評価型）、栄養機能食品（規格基準型）、機能性表示食品（届出制）のカテゴリーからなる。各カテゴリーの健康食品成分の安全性・有効性は、カテゴリー間で異なると推測されるが、検証されていない。本研究では、日本で流通している健康食品の成分について、**Natural Medicines Comprehensive Database (NMCD)** 冊子体による科学的根拠に基づく評価を指標に、カテゴリー間での安全性・有効性の評価の差異を検証した。

NMCDによる安全性・有効性の評価（名義変数）を評点（順序変数）に割り当て、安全性評点と有効性評点、および合計点を有用性の指標として総合評点とし、ノンパラメトリック検定を実施した。

NMCD 未収載成分の割合は、特定保健用食品で有意に高かった ( $p < 0.001$ )。Steel-Dwass 法による群間比較における平均順位では、栄養機能食品成分は、安全性評点において特定保健用食品成分、栄養機能食品・特定保健用食品以外の「日本で人気の高い健康食品」成分よりも有意に高かった ( $p < 0.01$ 、 $p < 0.001$ )。有効性評点、および総合評点でも、栄養機能食品成分は、特定保健用食品成分、栄養機能食品・特定保健用食品以外の「日本で人気の高い健康食品」成分よりも有意に高かった ( $p < 0.001$ )。しかし、特定保健用食品と、栄養機能食品・特定保健用食品以外の「日本で人気の高い健康食品」の間に有意差はなかった。また、「日本で人気の高い健康食品」に含まれる機能性表示食品成分の平均順位は、保健機能食品以外の「日本で人気の高い健康食品」よりも安全性評点 ( $p < 0.01$ )、有効性評点 ( $p < 0.05$ )、および総合評点 ( $p < 0.01$ ) において有意に高かった。「日本で人気の高い健康食品」成分のうちの栄養機能食品・特定保健用食品の成分については、売上高と有効性評点 ( $r_s = 0.73$ 、 $p < 0.01$ 、 $n = 15$ )、総合評点 ( $r_s = 0.77$ 、 $p < 0.001$ 、 $n = 15$ ) で正の相関が認められた。

日本で流通している健康食品の成分は、法規制の違いによるカテゴリ間で、NMCDによる安全性と有効性の評価に差が認められた。本研究では、国の基準を満たす栄養機能食品、また国が許可した特定保健用食品は、科学的根拠に基づく安全性・有効性評価が高いであろうという推測を客観的手法で検証できた。

本研究の知見は、栄養業務に携わる専門家が日本の健康食品の法制度を理解し、安全性と有効性に関する科学的根拠に基づく健康食品の利用を促進するための参考になりうる。さらに、アジアの国々が健康食品の制度を構築する上で、本研究の成果は役立つと考える。

**【研究2】動物実験研究—肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とする、食品添加物の概念に基づくハーブサプリメント (HS) 製品の安全性個別評価：バターバー (*Petasites hybridus*) 製品への適用—**

上記研究1より、日本における法的根拠をもたない、DSを含む「いわゆる健康食品」は、安全性や有効性に関する問題点が少なくないと推察される。この研究2は、これらの利用にともなう健康被害の未然防止のための情報提供に資するよう、安全性評価法を検討した。

本研究で対象とした健康食品素材は、「いわゆる健康食品」の中でも問題の多いHS素材とした。HSの品質は、同じ植物種由来であっても、製品間で大きく異なる可能性があり、肝臓を標的として健康被害を引き起こすことが多い。一方、使用基準を

遵守した食品添加物により生じる健康被害事例はほとんど見られない。これらを背景に、薬物代謝酵素シトクロム P450 (CYP) の遺伝子発現を主要な指標とし、食品添加物のリスク評価法を参照し、HS 製品の安全性を個別評価するための簡便な動物実験方法を設計した。本研究では、この方法をバターバー市販製品 3 種 (油性 : SGA, SGB. 粉末 : HC) に適用した。バターバーは片頭痛等に有効とされる。一方、重篤な肝障害への関与が疑われており、メカニズムは不明である。

各製品をラット胃内にそれぞれ 8 日間連日投与した。投与量は、食品添加物のリスク評価法を参照し、ヒトの単位体重当たりの一日摂取目安量 (SDI) の 100 倍とした。100 の係数は、動物実験で得られる無毒性量からヒトの一日摂取許容量を推定する際の不確実係数 (通常 100) に当たる。新規性ある下記の結果が得られた。

- (1) 油性製品 2 種は、体重 100 g あたりの肝臓相対重量を軽度に増加させ、CYP2B の mRNA 発現を著しく (>10 倍)、CYP3A1 の mRNA 発現を中等度 (>3 倍) に増加させた。
- (2) 油性製品 2 種は、オスラットでのみ腎臓尿細管上皮細胞に  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの蓄積を生じた。
- (3) 油性製品と異なり、粉末製品は (1)・(2) の顕著な影響を示さなかった。
- (4) CYP2B・CYP3A1 の mRNA 発現に対する油性バターバー製品の投与の影響は、オスよりもメスラットで顕著であった。

バターバー油性製品の SDI の 100 倍量を投与したラットにおける事象 (1) をヒトに外挿すると、同製品を推奨目安量で摂取しているヒトに CYP 遺伝子発現の増大を生じる可能性を否定できない。ラットの CYP2B1/2 および CYP3A1 は、ヒトの CYP2B6 および CYP3A4 に対応する。CYP2B6、CYP3A4 は多数の医薬品の代謝に関与する。これらの遺伝子発現の亢進は、医薬品の薬効変調やハーブ成分その他の生体異物の代謝活性化による有害作用に関わる可能性もある。(2) のバターバー投与による腎臓尿細管の  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの蓄積は学問的に新規知見であるが、オスラットに限定され、ヒトへの外挿は考慮を要しない。また、粉末製品は CYP mRNA 発現への影響を示さなかった (3)。本研究で採用した、肝臓 CYP mRNA 発現を主要指標とし、食品添加物の概念に基づく HS 製品の安全性個別評価の実効性を検証できたと考える。(4) の知見は、バターバーの関与が疑われる重篤な肝障害の事例が女性に多いことと関わる可能性も推測される。CYP 遺伝子発現への影響の観点から、バターバー利用にともなう肝障害のメカニズム追及に資すると推察される。

#### 【結語】

本研究では、食品安全分野のレギュラトリーサイエンス研究として、科学的根拠に基づく健康食品の利用に資することをめざした。

【研究 1】では、日本の現在の健康食品制度が科学的根拠に裏付けられた制度で

あることを、栄養の実践活動を担う専門家、延いては消費者に示すことができた  
と考える。また、日本の健康食品制度を海外、特に健康食品の需要が高まっているア  
ジアの人々に発信することで、各国の健康食品の状況や制度を見直す契機となり、  
各国における健康食品制度の構築に本研究のような調査研究が活かせると思える。

【研究2】では、HSの安全性個別評価法を設計した。食品添加物のリスク評価法  
を参照し、一日摂取目安量の100倍量を8日間ラットに投与し、肝臓CYP分子種の  
mRNA発現への影響を評価指標とした。バターバー製品に適用したところ、製品ご  
との個別評価法の実効性が示唆された。また、油性製品は多くの医薬品の代謝に関  
わるCYP分子種の遺伝子発現を強く促進することが初めて示された。注意喚起に有  
益な情報が得られ、バターバーの利用にともなう肝障害のメカニズム追及に資する  
可能性のある知見が得られた。

本研究を通じ、著者はこれまでの研究を発展させ、健康食品の科学的根拠に基づ  
く利用に寄与する成果を得ることができたと思える。

## Abstract

Division of Food and Nutritional Sciences,  
Graduate School of Human Life Sciences, Jumonji University

Hiroko Hashida

Regulatory science research for the use of health foods based on scientific evidence  
— Research on the safety of health foods and safety evaluation of herbal supplements

### **[Background and purpose]**

Various health foods are distributed both domestically and internationally. In Japan, health foods are roughly divided into "Foods with Health Claims" defined by the Health Promotion Act (the former act: the Nutrition Improvement Act, 2001), etc. and "so-called health foods" without legal definition. In the United States, dietary supplements (DS) are regulated by the Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (DSHEA). Even DS products that are prohibited to be sold in Japan are available on the Internet. The basis to use health foods including DS safely and securely is consumer behavior based on scientific evidence. The professionals engaged in nutrition practice activities such as dietitians have a role to provide information based on scientific evidence concerning the safety and effectiveness of health foods so that consumers do not suffer from health hazards or economic losses.

The author has been engaged in education for dietitians and is strongly aware of the importance of ensuring the safety of foods, especially health foods. For this reason, the author have participated in data survey research and animal experiment research with the aim of contributing to the safe and secure use of health foods, in particular, herbal supplements (HS), which among health foods have had various problems. The author's research is positioned in regulatory science research. This doctoral dissertation is composed mainly of the content

presented in the following two research 1 and 2 which further develop the data survey research and the animal experiment research, respectively.

**[Research 1] Data Survey Research - Science-based ratings of safety and effectiveness of ingredients of health foods distributed in Japan differ among health food categories –**

Health foods in Japan are divided into “Foods with Health Claims” (FHC) as defined in the Health Promotion Act etc. and “so-called health foods” treated as general foods without legal definition. FHC are further categorized into “Foods with Nutrient Function Claims” (FNFC), “Foods for Specified Health Uses” (FOSHU), and “Foods with Function Claims” (FFC). There may be differences, as yet unknown, among categories in the safety and effectiveness evaluation of health food ingredients distributed in Japan. The verification of these differences was considered to be useful for nutrition practice activities in Asia and is the subject of the present study.

The safety and effectiveness evaluation of health food ingredients in each category, FNFC, FOSHU, and “Popular Health Foods in Japan” (PHFJ), were compared and examined based on the ratings in the book version of the Natural Medicine Comprehensive Database (NMCD). The author converted the language ratings (nominal variable) in the NMCD to rating scores (ordinal variable), and then performed for non-parametric statistical analysis.

The ratio of ingredients unlisted in the NMCD was significantly higher for FOSHU ( $p < 0.001$ ). The average rank of FNFC ingredients was significantly higher in safety rating scores than those of FOSHU ( $p < 0.01$ ) and "PHFJ without FNFC+FOSHU" ingredients ( $p < 0.001$ ). The average rank of FNFC ingredients was significantly higher in effectiveness, and total rating scores than those of FOSHU and "PHFJ without FNFC+FOSHU" ingredients ( $p < 0.001$ ), but there was no significant difference between FOSHU and "PHFJ without FNFC+FOSHU". The average rank of ingredients of “FFC in PHFJ” was significantly higher

in safety ( $p < 0.01$ ), effectiveness ( $p < 0.05$ ), and total rating scores ( $p < 0.01$ ) than those of “non-FHC in PHFJ”. Ingredients of health foods distributed in Japan differed in their safety and effectiveness evaluation by the NMCD due to differences in legal regulations and systems. Also, the reliability of scientific evidence on effectiveness and total rating scores seemed to be related to sales.

Ingredients of Health foods distributed in Japan differed in their safety and effectiveness evaluation by the NMCD due to differences in legal regulations and systems. The author objectively demonstrated an intuitive prediction that health foods that comply with or are approved by government standards like FNFC or FOSHU are safer and more effective than those that do not.

The findings obtained in this study would serve as a reference for professionals to know the Japanese health food regulatory systems and promote the use of health foods based on scientific evidence regarding safety and effectiveness. In addition, the findings would be useful for Asian countries to develop health food systems.

**[Research 2] Animal Experiment Research - A safety evaluation method for individual herbal supplement products based on the concept of food additives with hepatic cytochrome P450 mRNA expression as a major index: application to butterbur (*Petasites hybridus*) products –**

In this research, the author has designed a safety evaluation method that contributes to providing information on preventing health hazards associated with the use of these health foods, especially HS, which have many problems. The method was then applied to butterbur products.

The safety of HS may vary greatly, even if the supplements originate from the same plant species. Occasionally, HS target the liver and cause health hazards involving the gene

expression of the drug metabolizing enzyme cytochrome P450 (CYP). However, there is little evidence of health hazards from food additives that are used in compliance with standards. Against this background, the author had designed a convenient animal experimental method to evaluate the safety of individual HS products using gene expression of CYP isoforms as a major index. In this method, with reference to the procedures for the safety evaluation of food additives, individual selected commercial products were administered to rats daily for eight days. The author applied this evaluation method to three commercial products (oily: SGA, SGB, and powdery: HC) of butterbur (*Petasites hybridus*), an herbal material suggested to be effective for migraine and other problems. Butterbur products have been reported to have liver damage, but the mechanism has not been clarified yet.

The author determined the dosage by multiplying the suggested daily intake for humans by the uncertainty factor, usually 100, used to estimate the acceptable daily intake for food additives from the no observed adverse effect level. Main results are as follows:

(1) The two oily products slightly increased the relative liver weights per 100 g of body weight, markedly (>10-fold) enhanced mRNA expression of CYP2B and moderately (>3-fold) that of CYP3A1.

(2) The two oily products caused accumulation of  $\alpha_2\mu$ -globulin in the renal proximal tubular epithelia of male rats.

(3) Administration of the powdery butterbur product, HC, did not produce these effects.

(4) The impacts of administration of the oily butterbur products on mRNA expression of CYP2B and CYP3A1 were more pronounced in female rats than in male rats.

SGA and SGB increased gene expression of CYP2B and 3A in rat liver significantly ( $p < 0.05$ ), and may cause similar events in humans; CYP enzyme induction may pose a health hazard via either metabolic activation of herbal ingredients per se or reduction in the

therapeutic effectiveness of drugs administered concomitantly. In conclusion, carrying out this type of individual evaluation helps those responsible for ensuring the safety of each HS product to provide consumers with accurate information.

### **[Conclusion]**

The purpose of this study was to contribute to the use of health foods based on scientific evidence as a regulatory science study in the field of food safety.

[Research 1] The current health food system in Japan is a system based on scientific evidence, and it provides reliable information to professionals in charge of nutrition practice activities and consumers. In addition, disseminating the health food system of Japan overseas, especially to Asian people with a growing demand for health foods, provides an opportunity to review the health food status and systems in each country. And the author thinks that such Data Survey Research can be used to develop health food systems in each country.

[Research 2] The author designed an individual safety evaluation method for HS. With reference to the risk assessment method for food additives, 100 times the suggested daily intake amount was administered to rats for 8 days, and the effect of HS on mRNA expression of CYP isoforms in liver was used as an evaluation index. The effectiveness of individual safety evaluation method for each product was suggested by application to butterbur products. It was also demonstrated for the first time that oily products strongly promote gene expression of CYP isoforms involved in the metabolism of many pharmaceuticals. Information was provided to help with warnings, and knowledge was also obtained that would contribute to tracking the mechanisms of liver damage associated with the use of butterbur.

Through this research, the author believes that it has developed previous research and achieved results that contribute to the use of health foods based on scientific evidence.

# 第1章 序論

## 1-1 本論文の構成

著者はこれまで、管理栄養士養成に携わる立場として、食品安全の重要性を鑑み、健康食品、とくに安全性・有効性の面で様々な問題を抱えるハーブサプリメントの安全・安心な利用に資することを目的とした研究<sup>1-3)</sup>に関わってきた。著者の研究は、レギュラトリーサイエンス分野の研究として位置づけられるが、本学位論文はこれまでの研究を発展させ、論考を加え、新たな資料調査研究および動物実験研究を実施し、得られた成果を取りまとめたものである。本論文は次の4章から構成されている。

### 第1章 序論

第2章 資料調査研究—日本で流通している健康食品の成分の安全性と有効性の科学的根拠に基づく評価は、健康食品のカテゴリーによって異なる—

第3章 動物実験研究—肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とする、食品添加物の概念に基づくハーブサプリメント製品の安全性個別評価：バターバー (*Petasites hybridus*) 製品への適用—

### 第4章 総括

## 1-2 本論文の研究背景

### 1-2-1 レギュラトリーサイエンスとしての本論文の位置づけ

著者はこれまで、健康食品の一つの類型であるハーブサプリメントの安全・安心な利用に向けて、科学的根拠に基づくハーブサプリメントの有用性情報に関する資料調査研究<sup>2)</sup>、またハーブサプリメントの安全性評価に関する動物実験研究<sup>1,3)</sup>に関わってきた。

資料調査研究の成果は、栄養学雑誌 Vol. 69, 267-279 (2011) に掲載された、「人気の高いハーブサプリメント素材の Natural Medicines Comprehensive Database に基づく安全性および有効性の評価検討」であった。「人気の高いハーブサプリメント素材を国別 (日本・米国) および年次別 (1999年・2010年) にリストアップした。その上で、それらの素材に対する、Natural Medicines Comprehensive Database (NMCD) による安全性・有効性の評価 (名義変数) を順序変数に変換し、ノンパラメトリックな統計解析を行った。NMCD は、科学的根拠に基づく健康食品素材等の有用性 (安全性・有効性) に関する情報源として質・量ともに優れ、定評がある。解析の結果、1999年・2010年いずれにおいても、日本で人気の素材は、米国のものよりも有効性の評点が有意に低かった。日

本では、適確な情報提供によらずに、ハーブサプリメント素材が利用されている可能性が考えられた。

動物実験研究の1つの成果<sup>1)</sup>は次のとおりである。代謝レベルにおける食薬相互作用に関する研究として、抗不安作用をもつ一方、重篤な肝障害を引き起こすおそれのあるダイエタリー・サプリメント素材 kava (*Piper methysticum*) をヒト常用量の100倍投与したラットでは、肝肥大とともに肝臓の薬物代謝系酵素 cytochrome P450 1A1 の遺伝子発現 (mRNA、タンパク質、酵素活性) が著しく亢進することを初めて見出した。kava 使用者の多くが、一日摂取許容量以上を摂取している可能性、また kava 使用にともなう肝障害の発生に cytochrome P450 1A1 の誘導が関与している可能性を論考した。動物実験研究のもう1つの成果<sup>3)</sup>は次のとおりである。耐糖能改善効果が示唆されているハーブであるアマチャヅルの製品について安全性を検討した。ヒト常用量の100倍投与したラットでは、肝重量および肝臓の薬物代謝酵素 cytochrome P450 (シトクロム P450) の遺伝子発現を指標とする限り、医薬品との相互作用に若干留意する必要があるが、大きな有害作用につながるような特段の影響は認められなかった。

一方、世界に先駆け (1987年) て、内山が提唱したレギュラトリーサイエンスは、「科学技術を国民生活に調和させ、安全に利用するための作業の根拠を明らかにするための科学」であり、「科学技術の進歩を真に人と社会に役立つ、最も望ましい姿に調整 (レギュレート) するための、予測・評価・判断の科学」とされる<sup>4)</sup>。2014年にはレギュラトリーサイエンスの振興を規定した「健康・医療戦略推進法」が成立し、その第13条第2項において、「国は、医療分野の研究開発の成果の実用化に際し、その品質、有効性及び安全性を科学的知見に基づき適正かつ迅速に予測、評価及び判断することに関する科学の振興に必要な体制の整備、人材の確保、養成及び資質の向上その他の施策を講ずるものとする。」と定められている。よって、レギュラトリーサイエンスは法的に「品質、有効性及び安全性を科学的知見に基づき適正かつ迅速に予測、評価及び判断することに関する科学」と定義されているといえる。レギュラトリーサイエンスの対象は医療、医薬品、原子力、食品、化学物質等と多岐にわたるが、特に医薬品等の医療製品の品質、有効性、安全性評価の分野、また化学物質や食品の安全性の分野でそのコンセプトの重要性が広く知られるようになった。

本学位論文は、上記のこれまで著者が関わった食品安全分野の研究を踏まえて、取り組んだ研究の成果を支柱として取りまとめたもので、内山の提唱に照らして、レギュラトリーサイエンス研究の論文として位置づけられる。

## 1-2-2 食品と健康食品

食品とは、栄養学・生化学領域の専門辞典によれば、「人間が食べるもの。通

常 2 種以上の栄養素を含み無毒のもの<sup>5)</sup>」(栄養・生化学辞典(普及版), 朝倉書店)とされる。これをはじめ、人の飲食物、という捉え方が一般的である。「人間の発育、生存のために外部から摂取するもの<sup>6)</sup>」(世界大百科事典, 平凡社)、「人が日常摂取する飲食物の総称、食料品、たべもの<sup>7)</sup>」(日本国語大辞典, 小学館)、「人が食べるために直接使用できる、食用可能な状態のものをいう<sup>8)</sup>」(日本大百科全書, 小学館)。一方、食品衛生法は、第四条に、「この法律で食品とは、全ての飲食物をいう。ただし、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律(薬機法)(昭和三十五年法律第百四十五号)に規定する医薬品、医薬部外品及び再生医療等製品は、これを含まない。」としている。したがって、本論文では、食品を、人の飲食物のうち、薬機法に規定する医薬品、医薬部外品及び再生医療等製品以外のものと規定する。

食品は人の飲食物なので、最も広くとらえられた「文化」の所産であるといえる。このような広義の「文化」は、文化審議会答申(平成4年4月24日)によれば、人間が自然とのかかわりや風土の中で生まれ育ち身に付けていく立ち居振る舞いや、衣食住をはじめとした暮らし、生活様式、価値観など、人間と人間の生活にかかわることの総体を意味するとされている<sup>9)</sup>。

食品は人の生存・活動、健康の保持増進の基盤であるとともに、文化の所産である反面、「同じ釜の飯を食った仲」の譬えから明らかなように、人間関係の形成、さらには社会文化の構築にまで深く関わっており、様々な役割を持つ。近年、このような食品の持つ役割について、植物の二次代謝産物をはじめとする食品成分の消化・吸収、体内動態・代謝、生理機能等の研究が盛んになっている。従来の栄養面や嗜好面での機能に加え、生理機能の調節等を通じた健康の保持増進、生活習慣病の予防やリスク低減における食品のもつ様々な機能が広く知られるようになった<sup>10)</sup>。そして、これらの機能のうち、従来から重視されてきた生命維持のための栄養機能は一次機能、食事のおいしさ・楽しみを支える嗜好面での機能は二次機能、体調調節機能等の面での機能は三次機能として分類・整理されるようになった<sup>10)</sup>。

三次機能の発現の基盤は、主に内分泌系・神経系・免疫系等への作用を介した消化・吸収、代謝、循環、排泄等の調節に関わる食品の働きであることが、生化学、分子生物学、細胞工学、生理学等の手法を駆使した科学研究によって明らかにされている<sup>10-12)</sup>。一次機能、二次機能を有する食品を選別する能力は、ヒト以外の動物もある程度本能的に備えていると推察される。一方、人は農業・漁業・牧畜等による食物の生産、調理や食品製造・加工等の技術を開発し、また栄養学を発展させ、おいしくかつ栄養学的に優れた食事をよりの確につくり・利用できる能力を高めてきた。

このように、人の食品は本来他の生物種の生産物であり、広い意味では天然物

といえるが、より厳密には品種改良等の農業・畜産技術、製造・加工、調理、安全対策等の処置を経た人工産物に該当し、いわば知的生産物であるものが多いと考えられる。とくに、健康の保持増進、生活習慣病の予防やリスク低減の効果を志向する食品には、この知的生産物の色合いが強いといえる。

このような健康志向食品は一般に健康食品と呼ばれるが、健康食品の用語自体は、法律上は定義されておらず、「広く健康の保持増進すなわち保健の用途に資する食品の全般を指す」とされている<sup>13)</sup>。一方、上述のように、食品衛生法によると、食品とは、すべての飲食物のうち、薬機法に規定する医薬品および医薬部外品以外のものである。薬機法に規定される医薬品とは、

- ①日本薬局方に収められている物
- ②疾病の診断、治療または予防に使用されることが目的とされている物
- ③身体の構造または機能に影響をおよぼすことが目的とされている物

が該当する。本論文でも、健康食品、食品、医薬品の用語は、これに準じて用いている。よって、健康食品は、健康の保持増進、生活習慣病の予防やリスク低減の効果が期待できるものであっても、あくまでも食品であり、医薬品ではない。健康食品と称して販売されていても、成分や表示内容等から、疾病の診断、治療または予防に使用されることを目的すると判断されるものは、医薬品に該当する。このようなものは、医薬品に求められる承認許可を得ていなければ、無承認無許可医薬品とみなされ、販売できない。もし販売されているならば、薬機法違反として処罰対象となる。医薬品成分を含有しながら健康食品を騙った無承認無許可医薬品は、健康被害を生じる可能性が高く、被害事例が少なくない<sup>14)</sup>。

### 1-2-3 日本における健康食品のカテゴリー：保健機能食品といわゆる健康食品

健康食品は食品の三次機能を重視して設計された食品としての特徴をもち、また消費者に健康によいというイメージを抱かせる。高齢化等にともない健康に関する関心が高まり、食品に求められる機能は複雑多様化するとともに、科学技術の進歩により様々な機能をもつ健康食品も開発され、健康食品が普及した<sup>15)</sup>。さらに、2001年の規制緩和の流れや国際化の影響を受けて、食品と医薬品の区分の見直しが求められ、健康食品について適切な情報提供をして欲しいという要望も高まった<sup>16)</sup>。健康食品の適切な利用のためには、品質、安全性、保健の用途における有効性等が、科学的根拠をもつて的確に検証・保証されることが望ましい。また消費者への公正・公平な情報提供も求められる。これらを背景に、平成13年4月に「食品衛生法」および「健康増進法」に基づく保健機能食品制度<sup>17)</sup>が施行された。保健機能食品制度は、食品のもつ機能性の

表示によって適切に情報提供を行い、消費者が安心して食生活の状況に応じて食品を選択できるようするための制度である。保健機能食品制度創設により、健康食品は同制度を法的根拠とする保健機能食品と根拠法をもたない「いわゆる健康食品」に区分されることになった。

保健機能食品制度創設時に規定された保健機能食品には、特定保健用食品と栄養機能食品がある。

特定保健用食品<sup>18)</sup>は、食品のもつ特定の保健の用途を表示して販売される食品である。特定保健用食品として販売するためには、製品ごとに食品の有効性や安全性について審査を受け、表示内容について国の許可を受ける必要がある。

栄養機能食品<sup>17)</sup>は、栄養成分の機能の表示をして販売される食品である。栄養機能食品として販売するためには、一日当たりの摂取目安量に含まれる当該栄養分量が定められた上・下限値の範囲内にある必要があるほか、栄養機能表示だけでなく注意喚起表示等も表示する必要がある。

一方、食品の表示に関する事項は、従来、複数の法律に定められ、極めて複雑であった。例えば、飲食に起因する衛生上の危害発生を防止する目的のための表示は食品衛生法によって、農林物資の品質の改善や品質に関する適正な情報により消費者の選択に資する目的のための表示は JAS 法（旧：農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律）によって、栄養の改善その他の国民の健康の増進を図る目的のための表示は健康増進法によって定められていた<sup>18)</sup>。そこでこのような状況を改め、食品を摂取する際の安全性の確保や一般消費者の自主的かつ合理的な食品選択の支援をより円滑に進められるよう、これら三つの法の中の食品表示に関する規定を一元化し、事業者にも消費者にもわかりやすい制度を目指した食品表示法が平成 27 年 4 月 1 日から施行された。これにともない同法を根拠として食品表示基準<sup>18)</sup>も改定された。

この新たな食品表示基準では、栄養機能食品の栄養成分として従来の 17 種に 3 種が加わり、それら 20 種の一日当たりの摂取目安量や栄養機能表示等の規格基準が示されている<sup>19)</sup>。機能性表示食品という保健機能食品の新たな区分も設けられた。

機能性表示食品<sup>20)</sup>は、事業者の責任において、科学的根拠に基づいた機能性を表示した食品である。特定保健用食品とは異なり、消費者庁長官の個別の許可を受けたものではないが、販売前に安全性および機能性の根拠に関する情報などが消費者庁長官へ届け出られたものである。

したがって、この機能性表示食品を含め、特定保健用食品、栄養機能食品からなる保健機能食品については、法的に規定された食品であることともに、安全性および機能性の科学的根拠に基づいて食品のもつ機能性を表示して販売される食品としての共通性があるといえる。

Fig. 1-1 は、これらを取りまとめ、健康食品が4つのカテゴリーに分かれることを示す。

健康食品の安全・安心な利用の原点は、その有用性に関する科学的根拠に基づく利用であると考えられるが、その妨げとなる要因は様々である。健康の保持増進にいかにも有効であっても、安全性に懸念があるものは有用とはいえない。逆に、いかにも安全な健康食品であっても、健康の保持増進に有効でなければ、健康食品の名称等に惹かれて利用する消費者の期待を裏切るばかりでなく、適正な医療を受ける機会を失わせ、また経済的損失を招く恐れがある<sup>21)</sup>。有用性は安全性と有効性のバランスの上に成り立つといえる。

有効性については、特定保健用食品では、製品ごとの個別審査の際にヒトを対象とする無作為化比較試験により得られた成績をもとに評価される。しかし、「いわゆる健康食品」は、このような研究デザインとして質の高い無作為化比較試験はもとより、ヒトを対象とする試験もなく、動物実験や細胞レベルの実験、あるいは試験管内の無細胞系での実験で得られた知見をもとに開発・製造・販売が行われ、伝承やイメージ頼みの製品も少なくないようでもある。

一方、安全性に関しては、特定保健用食品は、ヒトを対象とした試験が義務付けられて、安全性が評価されている。しかし、「いわゆる健康食品」にはヒトを対象とした試験はもとより、動物試験等による安全性評価の実施も義務付けられてはいない。

取りまとめると、法的根拠のない「いわゆる健康食品」は、特定保健用食品とは異なり、国による製品ごとの個別審査を受けておらず、栄養機能食品とも異なり、国が設定した規格基準を遵守して製造・販売・利用されていない。機能性表示食品に求められる安全性および機能性の根拠に関する情報などの消費者庁長官への届け出も義務付けられていない。「いわゆる健康食品」の多くは、事業者の独自の判断によって製造、使用方法が定められており、科学的根拠に基づく安全性や有効性の評価が不十分なものも少なくないと推察される。

こうした状況が、健康食品の利用に伴う健康被害が「いわゆる健康食品」に多発する一因であると考えられる<sup>22)</sup>。健康被害の未然防止には、「いわゆる健康食品」についても適切な試験等を経た安全性評価の実施が重要と考える。

健康食品の安全性や有効性の安全・安心な利用には、それぞれのカテゴリーの健康食品の安全性や有効性が、科学的にどのように評価されているかをカテゴリー別に比較検討し、その状況を情報発信することも重要と考えられる。そこで、本論文第2章に述べる資料調査研究では、この比較検討を核心的課題として取組んだ。

なお、健康食品の形状に関しては、カプセルや錠剤等の形状は、従来は医薬品に限定されていたが、現在は規制緩和により食品の形状として認められている

21)。こうした形状の健康食品は、米国の **dietary supplement** をイメージすることからサプリメントと呼ばれることも多く、後述するハーブサプリメントも含まれる。このような通常の食品と異なる形状の食品は、有効成分のみではなく有害成分も濃縮されている可能性がある。しかし、利用者は、健康食品という名称から医薬品とは異なる安全なものと思い込みやすく、摂取しやすいその形状も相俟って、過剰かつ長期摂取につながり易いと考えられるため、健康食品の安全性評価が重要となる。

#### 1-2-4 米国における健康食品 (**dietary supplement**) の位置づけ

米国では、The Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (DSHEA : 栄養補助食品健康教育法) によって、米国版健康食品ともいえる **dietary supplement** が規定されている<sup>23,24)</sup>。

**dietary supplement** は食事を補うことを目的とし、定められた要件を満たせば、身体の構造や機能への効果を表示できる新型食品であり、次のように日本の健康食品との類似点や差異がある<sup>25)</sup>。**dietary supplement** は次の食品成分の1つ以上を含む<sup>26)</sup> : ①ビタミン ②ミネラル ③ハーブ等の植物素材 ④アミノ酸 ⑤人間が摂取する物質で、総摂取量を増すことで食事を補うもの ⑥これらの濃縮物、代謝物、成分、抽出物、配合物。**dietary supplement** の成分の中には、日本でも食品成分とみなされて健康食品に利用できる成分が多数あるが、日本では専ら医薬品の成分として利用されるため、日本の健康食品には使用できないもの、したがって日本国内では販売できないものもある。形状は錠剤、カプセル、粉末、ソフトカプセル、液体等であることが求められ、通常食品の模倣や見せかけ等であってはならないとされており、日本の健康食品とは異なる点である。表示については、**dietary supplement** であること、病気の診断・治療・予防を目的するものではないこと、また表示内容はアメリカ食品医薬品局 (Food and Drug Administration: FDA) の評価を受けたものではないことを明示することが必要である。その上で、日本の健康食品と同様に、疾病強調表示 (疾病の診断・予防・治療に関する表示 : 例えば、カゼの症状を穏やかにするのに役立つ) は禁止されているが、保健機能食品以外の健康食品には表示できない人体の構造や機能への効果 (構造・機能強調表示 : 例えば、体脂肪を減らすのに役立つ) の表示が可能となっている。

**dietary supplement** の安全性や有効性に最も影響するその成分の区分は、上記①～⑥のとおりであるが、生物進化の賜物である生物多様性を反映し、ハーブを成分とするものは特にバラエティに富む。

なお、**dietary supplement** の中には、上述のように日本国内では販売できないものも多数あるが、インターネットの普及により、米国等の通販サイトから個人

輸入の形で容易に入手でき、国ごとの規制の枠組みを超えて、dietary supplement 製品を利用できるのが現状である。日本国内で流通している健康食品だけでなく、こうした dietary supplement の安全性・有効性に関する的確な情報提供も必要な時代になっている。

### 1-2-5 ハーブサプリメント (herbal supplement) の特徴と問題点

ハーブは日本では一般に、薬草、香辛料とする草、また天然物なので安全と理解されているようであるが、これらは一面的な捉え方である<sup>27)</sup>。生物学分野では、ハーブの語は価値(有効性や安全性等)とは無縁であり、単に木本(arbor)に対する草本(herb)を示す<sup>4,18,25)</sup>。また、ハーブの専門事典では、草本の枠を超えて木本から菌類にまでハーブの範囲が拡張され、医療や健康の保持増進、病虫害駆除、その他多岐にわたる経済・産業面での有用性をもつ植物、また抽出物等として、実用的見地でハーブが定義されている<sup>4,18,28)</sup>。著者はこれまで、後者つまり実用的見地に準じてハーブの用語を用いてきた<sup>1-3)</sup>が、本論文でも同様とし、またサプリメントの原材料として利用されているハーブを、ハーブサプリメント成分と呼ぶ。ハーブの原点は草本であるため、その利用にあたって必ずしも安全性に留意する必要はない。古来、矢毒などに使われてきたトリカブトもハーブの範疇に入る。しかし、ハーブサプリメントは食品なので、その利用にあたって、安全性確保が極めて重要である。前述のとおり、食品の定義として「無毒のもの」「食用可能な状態のもの」であるため、ハーブサプリメントにおいても安全性が確保されていることが前提となる。

ヒトは、栄養すなわちエネルギー源や生体構成成分となる物質を獲得して利用し、生存・活動する営みのために、他の生物やその生産物を食べなくてはならない従属栄養生物である<sup>29)</sup>。植物は光合成という優れた仕組みをもち、独立栄養生物としての自らの存在基盤を確立し、また従属栄養生物の生存を支えている。しかし、植物は太陽に曝され、細胞内酸素濃度は動物よりも4桁も高く、紫外線や活性酸素の有害作用を受ける危険が大きく、また逃走や闘争の手段をもたず、動物に食べられて根絶やしになる恐れもある<sup>29)</sup>。その一方、植物は多彩な二次代謝産物を産生して、これら様々な環境ストレスに対抗してきたと考えられる。二次代謝とは、多くの生物分類群に共通な一次代謝、すなわちエネルギー代謝、アミノ酸・タンパク質・核酸の合成等とは別に、限られた生物群に特徴的な代謝である<sup>30,31)</sup>。ハーブサプリメントの健康の保持増進効果の基盤となる化学成分は、これらの特徴をもつ二次代謝産物であることが多い。また、ハーブサプリメント製品にはポリフェノール類やテルペノイド類等の、人体や実験動物にとっては脂溶性生体異物にあたる成分が濃縮されたものが少なくない。

ハーブサプリメント成分に利用される植物の二次代謝産物は、生物進化によ

って育まれてきた生物多様性の賜物であり、多種多様な混合系で、人体にとっては生体異物に当たる脂溶性物質が多い。脂溶性生体異物の多くは、小腸での吸収後の経路（経門脈か経リンパ管か）の違いはあっても、肝臓に取り込まれて薬物代謝酵素等によって処理されると考えられる。Fig. 1-2 に、脂溶性生体異物の代謝について記載している。この過程で、肝臓に取り込まれた物質はそれ自体が、あるいはその物質と薬物代謝系との相互作用が有害作用を発現する可能性がある。実際、ハーブ抽出物を利用した「いわゆる健康食品」の摂取に伴う健康被害の症状としては、消化器症状とともに肝機能障害が多い<sup>22)</sup>。また、海外の報告においても肝臓への作用、あるいは肝臓を介した作用として現れることが稀ではなく、肝臓移植が必要な例や、死亡を含む重篤な例も発生している<sup>32)</sup>。とくに、保健機能食品以外のいわゆる健康食品に該当するハーブサプリメントには、安全性試験を経ずに開発・製造・販売されているものがあるおそれがある。適切な試験法によるハーブサプリメントの安全性評価の実施が重要と考えられる。そこで、本論文第3章に述べる動物実験研究では、この適切な試験法によるハーブサプリメントの安全性評価の実施を核心的課題として取組んだ。より具体的には、肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とし、食品添加物の安全性評価を参考に、ハーブサプリメント製品の安全性個別評価法をデザインし、同法をバターバー (*Petasites hybridus*) 製品に適用した。

#### 1-2-6 健康食品の有用性評価の重要性

既に述べたように、健康食品の有用性は安全性と有効性のバランスの上に成り立つ。通常の商品の安全性は、基本的には長い食経験を通して担保されてきた。一方、健康食品のような新開発食品は、概して食経験が乏しいので、有効性もさることながら、安全性の確保を最優先する必要がある。

日本では、食品の安全性確保に関する施策を総合的に推進するための基本理念を示した食品安全基本法<sup>33)</sup>が制定されている。同法の施策の策定は、国際連合食糧農業機関 (Food and Agriculture Organization: FAO) /世界保健機関 (World Health Organization: WHO) 合同食品添加物専門家会議 (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives: JECFA) によるリスクアナリシスの考え方<sup>34)</sup>を参考にしている。リスクアナリシスは、リスク評価、リスク管理、リスクコミュニケーションの3要素からなるプロセスであり、相互に作用し合って機能している。

リスク評価は、食品中には危害要因（病原菌、添加物や農薬など）が潜在していることを前提に、危害要因を摂取することによって、どの位の確率でどの程度の健康への有害な作用・影響が起きるかを科学的知見に基づいて客観的かつ公正・公平に評価することである<sup>35)</sup>。食品の安全性確保は、リスク評価による科

学的根拠を示すことでその使用基準が定まることになる。「いわゆる健康食品」についてもリスク評価の手法を取り入れて、科学的根拠に基づく安全性評価を進めることが重要と考える。

健康食品に含まれる成分の生体に対する有害作用は、その成分の化学的特性や生物学的特性によって異なると考えられ、健康食品の有用性評価に当たっては、これらの違いに応じて検討することが適切であるといえる。

さらに、カプセルタイプやタブレットタイプなどのハーブサプリメント製品で使用される成分は、一般に多成分の脂溶性濃縮物を含む。脂溶性成分である特性から、ハーブサプリメント成分は、脂溶性生体異物の中枢的代謝処理器官である肝臓を標的とした有害作用を生じる可能性がある<sup>36-40)</sup>。また、肝臓に対するハーブサプリメントの健康被害には、薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP) が関連することが少なくない<sup>40)</sup>。CYP 酵素は、多種多彩な医薬品またハーブサプリメント成分の代謝を担当する<sup>41, 42)</sup>。CYP 酵素の基質の多くは代謝され解毒されるが、その一部は活性化されて毒性を高める(代謝活性化)<sup>43)</sup>。さらに、医薬品やハーブサプリメントの一部の成分は、解毒の効率的な生物学的メカニズムである CYP 酵素の誘導を引き起こす<sup>44, 45)</sup>。CYP 酵素の誘導は、代謝活性化または併用薬の治療効果の低下を介して、望ましくない健康影響を生じる可能性がある<sup>44, 45)</sup>。CYP 酵素の誘導は、CYP 分子種の遺伝子発現をリアルタイム RT-PCR (逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応) により mRNA レベルで測定することにより、比較的簡便にかつ鋭敏に評価できる。なお、ハーブサプリメントは生物多様性の賜物である多成分系、脂溶性生体異物の濃縮物としての特徴をもつ。よって、植物から有機溶媒等を利用して様々な成分が抽出され、エキスや粉末状態の濃縮物となり、本来の植物のままの摂取であれば問題のなかった成分を大量に摂取することが簡単にできてしまう。また、内容物は同名のハーブを成分とする製品であっても、収穫時期や生育環境などの条件によって濃縮物中の成分の量や割合が異なる可能性が高いため、安全性にはばらつきがある可能性がある。

一方、人々が安全性に懸念を抱いている食品添加物<sup>46)</sup>は、リスク分析を含む国による審査を経たうえで、一定の規格基準のもとで製造・使用が許可されている<sup>47)</sup>。規格基準を遵守した食品添加物の使用にともなう明確な健康被害は知られていない。Fig. 1-2 に示すように、食品添加物の使用基準は一日摂取許容量 (Acceptable Daily Intake: ADI) に基づいて定められる<sup>25)</sup>。ADI は、ヒトが生涯その物質を毎日摂取し続けたとしても、健康への影響がないと推定される 1 日あたりの摂取量である。ADI は、実験動物等を用いた毒性試験で有害な影響が観察されなかった最大の投与量、すなわち無毒性量 (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level) を不確実係数で割って算出する。不確実係数は通常 100 が採用される。この値は、用量反応関係の個体間のばらつき、また種間のばらつきは経験的にそ

れぞれ 10 を超えないことによる。食品添加物の安全性確保の手法は、健康食品とくにハーブサプリメントの安全性評価法をデザインする上で参考になる。

### 1-3 本論文の研究目的

本論文は、タイトル「健康食品の科学的根拠に基づく利用に向けたレギュラトリーサイエンス研究」が示すとおり、食品安全分野のレギュラトリーサイエンス研究の論文として、科学的根拠に基づく人々の健康食品の利用に資することをめざしている。とくに、本論文の支柱をなす第 2 章および第 3 章の研究では、ここまで述べた研究の背景をもとに下記それぞれの学術的「問い」を設定し、これにこたえることを目的とした。

#### 1-3-1 本論文の第 2 章で明らかにしようとする課題・研究課題の核心をなす学術的「問い」

第 2 章の資料調査研究では、「日本で流通している健康食品の成分の安全性と有効性の科学的根拠に基づく評価は、健康食品のカテゴリーによって異なる」ことの検証を核心をなす学術的「問い」とした。より具体的には、日本で流通している健康食品は、法的に規定されている特定保健用食品、栄養機能食品、機能性表示食品、および根拠法がない「いわゆる健康食品」の 4 つのカテゴリーに分かれる。これらのカテゴリーに属する健康食品の素材には、安全性、有効性の面で差があることは漠然と想像できる。仮にそのような差が見出されれば、人々への情報提供に役立ち、延いては、科学的根拠に基づく健康食品の利用に資することになる。しかし、科学的手法によってそのような差を明確に検証した報告は見当たらない。そこで、科学的根拠に基づく健康食品素材等の有用性（安全性・有効性）に関する情報源として質・量ともに優れ、定評がある NMCD による安全性・有効性のランク付け評価を指標としてカテゴリー間の差の比較検討を行った。

#### 1-3-2 本論文の第 3 章で明らかにしようとする課題・研究課題の核心をなす学術的「問い」

第 3 章の動物実験研究では、「肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とする、食品添加物の概念に基づくハーブサプリメント製品の安全性個別評価：バターバー (*Petasites hybridus*) 製品への適用」のテーマのもとに取組んだ。日本で流通するハーブサプリメント製品の多くは、日本における健康食品の枠組みでは、「いわゆる健康食品」に該当し、また米国の dietary supplement がインターネット通販で個人輸入され利用されてもいる。健康食品の摂取にとまなう健康被害は、ハーブサプリメントによるものが少なくない<sup>36, 46, 47)</sup>。ハーブサプリメントは生物多様性の賜物であり、その安全性・有効性は基原植物名が同じ製品で

あっても、収穫時期や生育環境などの要因でばらつく可能性がある。よって、ハーブサプリメントの安全性確保には、製品ごとの安全性個別評価に適した手法の実現可能性が問われる。第3章の研究では、肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とし、食品添加物の安全性確保の概念に基づく安全性個別評価が実現可能であることを明らかにすることを研究課題の核心をなす学術的「問い」とした。具体的には、Fig. 1-2 に示した食品添加物の ADI 算出法を参考に、ハーブサプリメント製品の一日摂取目安量 (SDI) の 100 倍量 (単位体重当たり) をラットに投与し、この量が NOAEL を超えないかを検証することとした。評価指標は、肝臓における CYP 分子種の mRNA 発現とした。この手法を肝障害の症例が示唆されているバターバー製品<sup>48)</sup>に適用し、製品間の差を検出できるかを検証することとした。

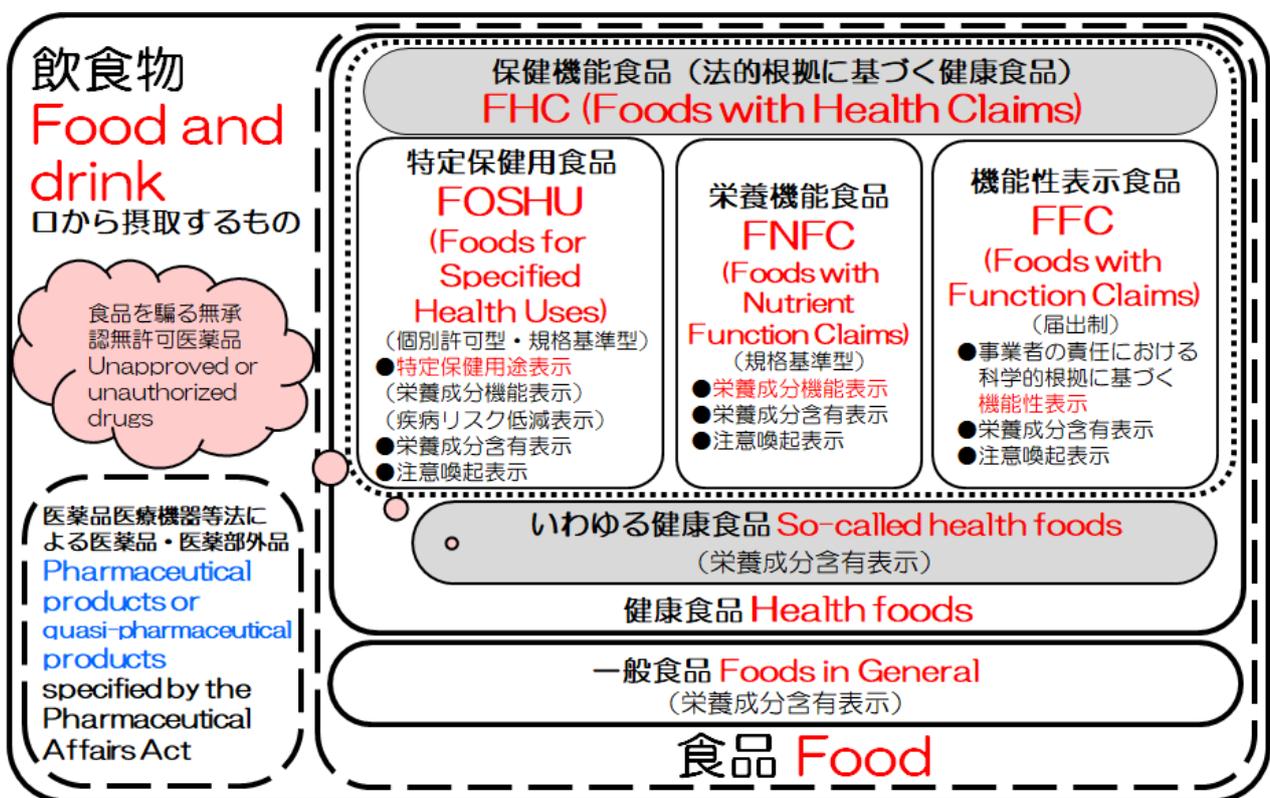


Fig. 1-1. 日本における健康食品のカテゴリー：保健機能食品といわゆる健康食品 (志村二三夫 作画を改変)

### Individual Safety Evaluation of Herbal Supplement Products

SDI × 100 < NOAEL ? (SDI < ADI ?)  
 Major evaluation index : Liver CYP gene expression  
 Result : Classified into 1~4 groups.

### Risk Analysis of Food Additives

ADI = NOAEL/100

SDI : Suggested daily intake  
 ADI : Acceptable daily intake  
 NOAEL : No observed adverse effect level  
 Uncertainty factor: 100  
 CYP: Cytochrome P450

#### Herbal Ingredients Target the Liver.

The diagram illustrates the absorption and metabolism of lipophilic xenobiotics. In the Intestine Lumen, lipophilic xenobiotics (represented by black dots) are absorbed into the lymph duct via chylomicrons. These chylomicrons then travel through the lymph duct and enter the portal vein as chylomicron remnants. In the liver, these remnants are metabolized by liver drug-metabolizing enzymes, leading to an increase in CYP mRNA levels. The diagram also shows the process of detoxification in the whole body and urinary excretion in the kidneys. A note indicates that kidney exposure to high concentrations of substances is observed as urine concentrates.

### Application to Butterbur (*Petasites hybridus*) Products

【Safety】 Possibly safe, 【Effectiveness】 Possibly effective: migraine symptoms, allergic rhinitis  
 (Rated by Natural Medicines Comprehensive Database, on line, Accessed 9/12/2019)

**Main results**

- Two oily products (SGA & SGB) : **Group 2**
  - ▶ With liver enlargement, markedly (>10-fold) enhanced CYP2B1 and CYP2B2, moderately (>3-fold) enhanced CYP3A1.
  - ▶ Induced renal accumulation of α2μ-globulin only in male rats.
- One powdery products (HC) : **Group 4**
  - ▶ Without liver enlargement, no effect on CYP.
- The impacts on mRNA expression of CYP2B and CYP3A1. ➡ Female rats > Male rats

Carrying out this type of individual evaluation helps those responsible for ensuring the safety of each herbal supplement product to provide consumers with accurate information.

Fig. 1-2. 「ハーブサプリメント製品の安全性個別評価：バターバー (*Petasites hybridus*) 製品への適用」概要

## 第2章 資料調査研究—日本で流通している健康食品の成分の安全性と有効性の科学的根拠に基づく評価は、健康食品のカテゴリーによって異なる—

### 2-1 研究背景・目的

日本を含むアジア諸国では、健康の保持・促進に役立つと示唆・標榜して製造、販売、利用されている様々な食品に注目が集まっている<sup>15,51,52)</sup>。これらの食品は、日本では健康食品と総称されている<sup>53,54)</sup>。しかし、健康食品は、品質、安全性、有効性が多様であるため、健康被害や経済的損失を招く恐れがある<sup>21,56)</sup>。消費者が健康食品を安全かつ安心して利用するためには、安全性と有効性に関する科学的根拠に基づいた情報が求められる。また、栄養の実践活動を担う栄養士・管理栄養士などの専門家は、情報提供者として基本的な知識と関連スキルを身につける必要がある<sup>53,56)</sup>。健康食品の法制度と信頼できる情報源も、消費者に公正で公平な情報を提供するための重要な原点である。

日本では、健康食品は、健康増進法等<sup>21,56)</sup>で規定されている「保健機能食品」と、一般食品に該当するいわゆる健康食品に区分される (Fig. 1-1)。さらに、保健機能食品は「栄養機能食品」、「特定保健用食品」、「機能性表示食品」<sup>21,53-55)</sup>にカテゴリー化されている (Fig. 1-1)。各カテゴリーの健康食品成分の安全性・有効性は、カテゴリー間で異なると推測されるが、検証されていない。

栄養機能食品（栄養機能強調表示食品）製品は、加齢や食習慣の乱れなどにより通常の食事摂取が困難な場合に、栄養成分を補足・補完する目的で摂取される。栄養機能食品は規格基準型の健康食品である。したがって、栄養機能食品製品を販売するには、安全性と有効性に関して歴史的に蓄積された強固で広範な科学的根拠に基づいて確立された国の基準に準拠する必要がある。基準を満たす製品は、栄養機能食品として、一定の定めら栄養機能強調表示をすることができる<sup>53,58,59)</sup> (Fig. 1-1)。

特定保健用食品製品は、身体の生理学的機能等に影響を与える保健機能成分（関与成分ともいう）を含み、特定の保健の用途を表示することができる。特定保健用食品製品を販売するためには、健康機能の表示内容について消費者庁長官の許可を受ける必要がある。表示内容は、原則として、国による各製品の安全性と有効性に関する科学的根拠に基づいた厳格な審査を通じて許可されている<sup>56,60)</sup> (Fig. 1-1)。

機能性表示食品製品は、食品事業者の責任において製品の健康機能を表示できる。機能性表示食品は届出制となっており、製品の販売前に、各製品の安全性と有効性を裏付ける根拠に関する情報を消費者庁長官に提出する必要がある (Fig. 1-1)。機能性表示食品は、栄養機能食品と異なり国が確立した基準に準拠しておらず、特定保健用食品と異なり消費者庁長官の許可を受けたものではない<sup>53,60)</sup>。安全性と有効性が事業者による自己評価となっており、国によって確立された基準を必ずしも満たしていない。国によって評価されていないという点で、保健機能食品以外のいわゆる健康食品と類似しているが、法制度により規定された食品である。また、安全性および有効性の科学的根拠に基づいて食品のもつ健康機能を表示して販売される食品としては、栄

養機能食品、特定保健用食品と共通性があるといえる (Fig. 1-1)。

国の基準を満たしている、または国によって許可された健康食品は、これらとは異なる健康食品よりも安全性および有効性の評価が高いと推測される。しかし、著者の知る限り、このような検証はなされていない。この検証は、健康食品の安全・安心な利用を支援するための情報を消費者に提供する役割がある栄養士・管理栄養士にとって有益かもしれない。

これらの背景に基づいて、日本で流通している健康食品について、それらの成分の安全性と有効性がどのように評価されているかを調べ、比較した。対象とした健康食品成分のカテゴリーは、栄養機能食品、特定保健用食品、および「日本で人気の高い健康食品」のカテゴリーとした。各カテゴリーの健康食品成分の安全性と有効性は、Natural Medicines Comprehensive Database (NMCD) の冊子体<sup>61)</sup>による評価に基づいて比較および検討した。NMCDによる評価(名義変数)を評点(順序変数)に割り当て、ノンパラメトリック統計解析によるカテゴリー間の比較を行った。これらの手順により、国の基準に準拠または許可されている健康食品は、これら以外の健康食品よりも安全性、有効性の科学的根拠が高いであろうという一般的な推測を統計学的根拠をもって客観的に検証した。本研究で得られた結果は、アジアの栄養に携わる専門家の実践活動や、アジア諸国の健康食品制度の構築に役立つと考えられる。

## 2-2 研究方法

### 2-2-1 健康食品カテゴリー別の成分リストの作成

原典リスト中の日本語記載の各成分の英語名は、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所のインターネットサイトである『「健康食品」の安全性・有効性情報』<sup>62)</sup>およびNMCDに依拠した和文図書<sup>63)</sup>に準拠した。以下に示すリストの成分の英語名は、NMCD モノグラフで使用されている英語名を使用した。なお、第2章では、素材、材料、成分などの表記は全て「成分」に統一して記述した。

#### 2-2-1-1 栄養機能食品 (Foods with Nutrient Function Claims: FNFC) 成分リストの作成

2019年7月の時点で、栄養機能強調表示が許可されている栄養機能食品の成分は、n-3 脂肪酸、6種類ミネラル(亜鉛、カリウム、カルシウム、鉄、銅、マグネシウム)、および13種類のビタミン(ナイアシン、パントテン酸、ビオチン、ビタミンA、ビタミンB<sub>1</sub>、ビタミンB<sub>2</sub>、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK、葉酸)である<sup>58)</sup>。これらの栄養成分のリストに、下記に示す2-2-2にしたがって安全性と有効性に関する情報を付記した (Table 2-1)。

#### 2-2-1-2 特定保健用食品 (Foods for Specified Health Uses: FOSHU) 成分リストの作成

「特定保健用食品許可(承認)品目一覧」(2019年2月12日、最終改訂: Excel フ

ファイル) を、内閣府消費者庁の健康や栄養に関する表示の制度に関する Web ページよりダウンロードした<sup>64)</sup>。これには、1,064 製品、89 成分が許可日の古いものから順に収録されており、通し番号、商品名、申請者、食品の種類、関与する成分 (本論文では関与成分と記載)、許可を得た表示内容、摂取をする上での注意事項、1 日摂取目安量、区分、許可日、許可番号が示されている。リストの作成にあたっては、この 1,064 製品、89 成分を Excel の並べ替え機能を用いて成分ごとに並べ替えた後、重複または類似する成分を整理し、64 成分に集約した (Fig. 2-1)。集約した成分は、*Bifidobacterium lactis* FK120、*Bifidobacterium lactis* LKM512、*Bifidobacterium breve* B、*Bifidobacterium lactis* Bb-12、*Bifidobacterium longum* SBT2928、*Bifidobacterium longum* BB536 は「ビフィズス菌 (Bifidobacteria)」、Calcium hydrogen phosphate、CPP-ACP (Casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate as calcium)、POs-Ca (Phosphorylated oligosaccharide calcium)、CCM (Calcium citrate malate) は「カルシウム (許可を得た表示内容が dental health)」、DHA、EPA は「DHA・EPA」、Tea catechins、Tea polyphenols は「Green tea」、*Lactobacillus gasseri* SBT2055、*Lactobacillus casei* YIT 9029、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2038、*Lactobacillus GG*、*Lactobacillus casei* NY1301 は「乳酸菌 (Lactobacillus)」、Soy oligosaccharide、Soy isoflavone、Soy protein、Soy peptide、Beta-conglycinin は「大豆 (SOY)」、Vitamin K2 (menaquinone-4)、Vitamin K2 (menaquinone-7) は「ビタミン K (Vitamin K)」、Wheat bran、Whole wheat and wheat hulls-derived dietary fiber は「小麦ふすま (Wheat bran)」、Palatinose、Reduced palatinose は「パラチノース (Palatinose)」とした。この 64 成分のリストのうち、NMCD に収録されていた 28 成分は下記 2-2-2 に示すように安全性と有効性に関する情報を付記して Table 2-2 に、収録されていない 36 成分は Table 2-3 に示した。

### 2-2-1-3 日本で人気の高い健康食品 (Popular Health Foods in Japan: PHFJ) 成分リストの作成

健康食品の人気は、売上高に反映すると考えられる。よって、本論文では、年間売上高の高い健康食品素材を「日本で人気の高い健康食品」成分として取り扱った。すなわち、年刊誌「ヘルスフードレポート@2019」<sup>65)</sup> に掲載された全 49 の健康食品成分を基にリストを作成した。同誌は、1992 年創刊で、ハーブ、ビタミン、ミネラル等の多岐にわたる健康食品素材の市場動向の調査結果をとりまとめたリストを長年掲載している。同誌のリストは網羅性に富み、また継続性の面からも妥当な資料と考えられる。

作成したリストには栄養機能食品と特定保健用食品の成分が含まれていたため、統計解析の際はこれらの成分を除外し、機能性表示食品と保健機能食品ではない成分で構成された「日本で人気の高い健康食品」成分を使用した。各成分の安全性と有効性に関する情報は下記 2-2-2 にしたがって付記した (Table 2-4)。

## 2-2-2 NMCD モノグラフによる健康食品成分の安全性・有効性評価に関する情報の収集と評価の検討

上記に示したリストの成分について、安全性および有効性の科学的根拠に基づく NMCD により格付けされた評価に関する情報を得た。同書は、健康食品成分データベースとして成分ごとにモノグラフとしてとりまとめられ、成分の安全性と有効性について科学的根拠に基づき、安全性は 5 段階、有効性は 6 段階の格付けで評価している<sup>61)</sup> が、評点化はしていない。そこで、NMCD における言語による評価（名義変数）を、著者が関わった既報<sup>2)</sup>を参考にして評点（順序変数）に割り当てた。すなわち、Likely Safe (2 点)、Possibly Safe (1 点)、Possibly Unsafe (-1 点)、Likely Unsafe (-2 点)、および Unsafe (-3 点) とした。同様に、有効性については、Effective (3 点)、Likely Effective (2 点)、Possibly Effective (1 点)、Possibly Ineffective (-1 点)、Likely Ineffective (-2 点)、Ineffective (-3 点) とした。「INSUFFICIENT RELIABLE EVIDENCE to RATE (評価するためには証拠不十分)」の場合は、ポジティブにもネガティブにも評価されていないと判断し、評点を「0 点」とした。NMCD に未掲載の成分および「reliable data has not been obtained enough (信頼できる情報が不十分)」の場合には、評点を割り当てず、欠損値として統計解析から除外した。有効性の評価は高いが、安全性の評価が低い成分は、安全・安心な利用にはつながり難い。したがって、安全性と有効性の評点の合計である総合評点を、有用性の指標とした。

NMCD に記載された安全性・有効性の評価には、注射、皮膚への塗布、うがい等の用法についても示されている場合があるので、経口摂取の場合のみを対象とした。安全性については、健康食品または dietary supplement の用量、ないし薬物量の評価を採用した。通常食品での摂取量のみが記載されている場合は、元の評点から 1 点差し引いた。有効性については、栄養素の補給効果以外の身体構造および機能への効果、疾病リスクの低減等の健康および医療上の用途（「便秘」「高血圧症」「高脂血症」「骨粗鬆症」等）に対する格付けを採用した。栄養機能食品および特定保健用食品成分の有効性は、国の基準または許可された表示内容と整合する効能効果についての評価を採用した。格付けが複数に及ぶ場合は、最も評点の高い用途を採用した。

## 2-2-3 健康食品成分の安全性・有効性評価のカテゴリー間の統計解析方法

評価スコアを平均した結果は、平均値 ± 標準偏差 (mean ± SD) として示した。栄養機能食品、特定保健用食品、栄養機能食品・特定保健用食品成分以外の「日本で人気の高い健康食品」成分の 3 つのカテゴリーにおいて、NMCD 掲載成分と未掲載成分の割合が独立しているかを調べるために、期待値が 5 未満のセルがないことを確認後、 $\chi^2$  検定を実施した。さらに、各カテゴリーの掲載・未掲載のどの区分が全体に比べて有意な高低があるのかを調べるために残渣分析を行った。NMCD による評価が、カテゴリー間で差があるか否かに関しては、安全性・有効性・総合評点のそれぞれについて、正規性および等分散性の検定を行い非正規分布であることを確認した後、Kruskal-Wallis 検定によるノンパラメトリック検定を実施し、有意差が認められた場

合のポストホック検定には Steel-Dwass 法による多重比較を用いた。2 つのグループの差の検定は、Mann-Whitney の U 検定により行った。健康食品成分の評価とその売上高との相関関係を検証した際には、スピアマンの順位相関係数 (rs) を算出した。統計解析には、Excel 統計 ver3.20 (SSRI 社) を用いた。有意水準は 5%未満とした。

## 2-3 研究結果

### 2-3-1 健康食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果

#### 2-3-1-1 栄養機能食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果

栄養機能食品の栄養機能表示は食品表示法によって規制されており、栄養機能食品製品の機能性成分として認められている栄養素は現在 20 種類ある。そのうち、NMCD には、n-3 脂肪酸を除く成分のモノグラフがすべて収載されていた。n-3 脂肪酸については、n-3 脂肪酸に該当する DHA (ドコサヘキサエン酸)、EPA (エイコサペンタエン酸)、魚油、 $\alpha$ -リノレン酸のモノグラフを参照した。このうち、DHA、EPA、魚油については、NMCD による評価の格付けがいずれも一致していた。すなわち、安全性については「Likely Safe (評点 2)」であった、しかし、有効性については「皮膚の維持に役立つ」という表示可能な栄養機能食品成分の有効性に関する情報がなかった。よって、評点は割り当てなかった。

Table 2-1 には、上記手順により NMCD の格付け評価から割り当てた安全性評点、有効性評点、総合評点を示した。さらに、有効性について評価された栄養機能を簡略化して示した。

NMCD は、n-3 脂肪酸相当脂肪酸を含む 20 種類の栄養機能成分すべてを「Likely Safe」と評価しており、栄養機能成分の平均安全性評点は  $2.0 \pm 0.0$  (mean  $\pm$  SD) であった。

Table 2-1 は、n-3 脂肪酸に相当する脂肪酸の有効性評価を除外している。上記のように n-3 脂肪酸に相当する脂肪酸のモノグラフには、「皮膚の維持に役立つ」という表示可能な栄養機能食品成分の有効性に関する情報がなかったためである。n-3 脂肪酸以外の 19 成分の有効性評価は、「Effective (評点 3; 13 成分)」、「Likely Effective (評点 2; 4 成分)」、および「Possibly Effective (評点 1; 2 成分)」であった。有効性評点は  $2.6 \pm 0.7$  (mean  $\pm$  SD) であった。19 成分の総合評点は  $4.6 \pm 0.7$  (mean  $\pm$  SD) と非常に高く、そのうち 13 成分が最高評点の 5 点であった。統計解析から除外する欠損値の成分の割合は、安全性が 0.0% (0 成分/20 成分)、有効性が 5.0% (1 成分/20 成分)、総合が 5.0% (1 成分/20 成分) であった。

#### 2-3-1-2 特定保健用食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果

特定保健用食品には、特定の健康用途に関与する成分が含まれており、消費者庁長官が許可した健康強調表示で販売できる<sup>56, 60)</sup>。内閣府消費者庁の Web ページからダウンロードした「特定保健用食品許可品目一覧」(2019 年 2 月 12 日に最終改訂版)には、1,064 製品が収載されていた<sup>64)</sup>。これらの 1,064 製品の成分を 2-2-1-2 の

手順により整理したところ、特定保健用食品の関与成分は 64 成分に集約された (Fig. 2-1)。これら 64 の関与成分それぞれについて情報源<sup>62,63)</sup>に準拠した英語名で NMCD を検索した結果、該当または関連したモノグラフが 28 成分あった (Table 2-2)。モノグラフが得られた 28 成分は、2-2-2 の手順に従って NMCD モノグラフにおける安全性と有効性の評価を精査し、評点を Table 2-2 のリストに付記した。このリストの有効性の格付けは、特定保健用食品に許可された特定の保健用途に限定した。カルシウムは、通常の特典保健用食品とは異なる「疾病リスク低減表示」の可能な特定保健用食品としても許可されている<sup>59)</sup>。したがって、疾病リスク低減表示として「骨の形成」、通常の特典保健用食品として「歯の健康」の有効性評価を Table 2-2 に記載した。Table 2-3 は 64 の関与成分のうち、NMCD にモノグラフが未収録であった 36 成分を示した。

Table 2-2 には NMCD にモノグラフに収録されていた 28 成分の特典保健用食品の関与成分が複数の製品で使用されていた。例えば、キトサン (49 製品)、茶カテキン (45 製品)、ラクトバチルス (37 製品) 等であった。28 成分のうち 25 成分が、NMCD によって安全性が「Likely Safe (評点 2; 14 成分)」、「Possibly Safe (評点 1; 11 成分)」と評価されていた。25 成分の安全性評点は  $1.6 \pm 0.5$  (mean  $\pm$  SD) であった。

Table 2-2 に示すように、特定保健用食品の許可表示と同等の有効性の範囲での健康効果が評価されていたものは、28 成分のうち 16 成分であった。この 16 成分の NMCD による評価は「Effective (評点 3; 2 成分)」、「Likely Effective (評点 2; 4 成分)」、「Possibly Effective (評点 1; 5 成分)」、「INSUFFICIENT RELIABLE EVIDENCE to RATE (評価するためには不十分) (評点 0; 5 成分)」であり、12 成分の有効性の格付け評価は、NMCD モノグラフに記載されていなかった。16 成分の有効性評点は  $1.2 \pm 1.1$  (mean  $\pm$  SD) であった。さらに、安全性評点と有効性評点、総合評点は  $3.0 \pm 1.3$  (mean  $\pm$  SD) であった。NMCD モノグラフにリストされていない 36 成分 (Table 2-3) のうち、難消化性デキストリン (おなかの調子、血糖値、血中トリアシルグリセロールを改善する旨の健康効果の表示が許可されている) は、特定保健用食品製品全体の約 36.2% (385 製品/1,064 製品) の顕著な占有率を示した。特定保健用食品は、国による公正かつ厳格な審査により許可されているが、その関与成分の半数は NMCD によるモノグラフに収録されていなかった (56% : 36 成分/64 成分)。統計解析から除外する欠損値の成分の割合は、安全性が 10.7% (3 成分/28 成分)、有効性が 42.9% (12 成分/28 成分)、総合が 46.4% (13 成分/28 成分) であった。

### 2-3-1-3 日本で人気のある健康食品成分の NMCD による安全性・有効性評価結果

健康食品の人気は、売上高に反映すると考えられる。よって、本論文では、年間売上高の高い健康食品素材を日本で人気の高い健康食品成分として取り扱った。すなわち、年刊誌「ヘルスフードレポート@2019」<sup>65)</sup>に掲載された全 49 の「日本で人気の高い健康食品」成分をもとにリストを作成した。

Table 2-4 は、「ヘルスフードレポート®2019」<sup>65)</sup>に記載されている全 49 成分を売上高順に記載し、併せて NMCD モノグラフを検索するための英語名と、NMCD の安全性評点、有効性評点、総合評点を示す。49 成分のうち 40 成分に対応する NMCD モノグラフが得られた (Table 2-4)。マルチビタミン、アミノ酸、およびビタミン B 複合体は、単一の成分ではないため、該当するモノグラフは未収載とした。「日本で人気の高い健康食品」の 49 成分のうち 37 成分は、保健機能食品に分類される栄養機能食品、特定保健用食品、および機能性表示食品とも重複していたため、“Overlapping with FHC”の項目に示した。

NMCD のモノグラフによる 37 成分の安全性評点を Table 2-4 に記した。γ-アミノ酪酸、ヒアルロン酸、オルニチンの安全性は、モノグラフには記載されていなかった。37 成分の NMCD の安全性評価は、「Likely Safe (評点 2; 17 成分)」、「Possibly Safe (評点 1; 20 成分)」であった。37 成分の安全性評点は  $1.5 \pm 0.5$  (mean  $\pm$  SD) であった。

Table 2-4 の 36 成分の有効性の評価は、「Effective (評点 3; 4 成分)」、「Likely Effective (評点 2; 5 成分)」、「Possibly Effective (評点 1; 16 成分)」、および「Possibly Ineffective (評点 -1; 1 成分)」、「INSUFFICIENT RELIABLE EVIDENCE to RATE (評価するためには証拠不十分) (評点 0; 10 成分)」であった。4 成分の有効性の評価は、NMCD モノグラフに記載されていなかった。36 成分の有効性評点の平均値は  $1.0 \pm 1.0$  (mean  $\pm$  SD) であった。さらに、安全性評点と有効性評点の合計である総合評点は  $2.6 \pm 1.4$  (mean  $\pm$  SD) であった。

Table 2-4 下部の “PHFJ without FNFC + FOSHU” は、「日本で人気の高い健康食品」成分のうち、栄養機能食品・特定保健用食品の成分と重複しないものを意味している。「日本で人気の高い健康食品」の 49 成分のうち、28 成分は栄養機能食品または特定保健用食品の成分と重複せず、そのうちの 3 成分は NMCD に収載されていなかった。この 3 成分を除いた 25 成分の評点の平均値は、安全性評点が  $1.3 \pm 0.5$  (mean  $\pm$  SD)、有効性評点が  $0.8 \pm 0.8$  (mean  $\pm$  SD)、総合評点が  $2.3 \pm 1.1$  (mean  $\pm$  SD) であった。統計解析から除外する欠損値の成分の割合は、安全性が 24.5% (12 成分/49 成分)、有効性が 26.5% (13 成分/49 成分)、総合が 28.6% (14 成分/49 成分) であった。

### 2-3-2 健康食品成分の安全性・有効性評価のカテゴリー間の統計解析結果

NMCD に収載されている成分は、栄養機能食品成分は 20 成分すべて、特定保健用食品成分は 64 成分中 28 成分、「日本で人気の高い健康食品」成分は 49 成分中 40 成分であった。特定保健用食品成分には、NMCD に収載されていない成分が多く見受けられた。NMCD に収載または未収載の成分数を栄養機能食品成分、特定保健用食品成分、栄養機能食品・特定保健用食品成分以外の「日本で人気の高い健康食品」成分の 3 つのカテゴリーにごとに分け、期待値が 5 未満のセルがないことを確認後、 $\chi^2$  検定を行ったところ、全てのカテゴリーと収載または未収載である成分数の割合に違いが認められた ( $p < 0.001$ ) (Table 2-5)。クロス集計表のどの区分に違いが認められたのかを調べるために、さらに残渣分析を行った。Table 2-5 に示すよう

に、特定保健用食品成分で NMCD に未収録であった成分数の割合が高いことがわかった ( $p < 0.001$ )。

安全性評点、有効性評点、総合評点のそれぞれについて、栄養機能食品成分、特定保健用食品成分、栄養機能食品・特定保健用食品成分以外の「日本で人気の高い健康食品」成分の 3 つのカテゴリーにおける群間差を、Kruskal-Wallis 法で検定したところ、いずれの評点についても有意な群間差のあることが示された ( $p < 0.001$ )。さらに Steel-Dwass 法により 3 群間の多重比較を実施した。その結果、栄養機能食品成分の平均順位は、安全性評点において特定保健用食品成分の平均順位に対して  $p < 0.01$  で、栄養機能食品・特定保健用食品成分以外の「日本で人気の高い健康食品」成分の平均順位に対して  $p < 0.001$  で有意に高かった。また、栄養機能食品成分の平均順位は、有効性評点および総合評点においても、特定保健用食品成分の平均順位、栄養機能食品・特定保健用食品成分以外の「日本で人気の高い健康食品」成分の平均順位に対してそれぞれ  $p < 0.001$  で有意に高いことが判明した (Table 2-6)。「日本で人気の高い健康食品」は、保健機能食品 (栄養機能食品、特定保健用食品、および機能性表示食品) と、保健機能食品以外の根拠のないいわゆる健康食品で構成されていた (Table 2-4)。機能性表示食品は法的に規定された健康食品であるが、国の基準による規制も審査も受けていない。そこで、「日本で人気の高い健康食品」に含まれる機能性表示食品 (以下「日本で人気の高い健康食品」の機能性表示食品) と保健機能食品 (栄養機能食品・特定保健用食品・機能性表示食品) を除く「日本で人気の高い健康食品」 (以下「日本で人気の高い健康食品」の非保健機能食品) を Mann-Whitney の  $U$  検定により比較したところ、Table 2-7 に示すように、「日本で人気の高い健康食品」の機能性表示食品の成分の平均順位は、「日本で人気の高い健康食品」の非保健機能食品よりも安全性評点 ( $p < 0.01$ )、有効性評点 ( $p < 0.05$ )、および総合評点 ( $p < 0.01$ ) について有意に高かった。

さらに、健康食品成分の評価とその売上高との相関関係を検証した。結果は、Fig. 2-2 に示す通り、「日本で人気の高い健康食品」成分のうちの栄養機能食品・特定保健用食品の成分について、売上高と安全性評点の相関係数は  $r_s = 0.63$  ( $p < 0.05$ ,  $n = 15$ )、売上高と有効性評点の相関係数は  $r_s = 0.73$  ( $p < 0.01$ ,  $n = 15$ )、売上高と総合評点の相関係数は  $r_s = 0.77$  ( $p < 0.001$ ,  $n = 15$ ) で、正の相関関係が認められた。栄養機能食品・特定保健用食品を含まない「日本で人気の高い健康食品」成分については、このような相関関係は認められなかった (Fig. 2-2)。

## 2-4 考察

健康食品は、日本を含むアジア諸国で人気が高まっている<sup>15, 51, 52)</sup>。栄養の実践活動に携わる栄養士・管理栄養士等は、消費者の健康被害や経済的損失を防ぐために、安全性と有効性に関する科学的根拠に基づいて消費者の健康食品の利用を支援する役割を担っている。このためには、健康食品の法制度と信頼できる情報源の知識と活用が必要である。研究の背景で述べたように、日本では健康食品は健康増進法等<sup>21, 56)</sup>

で規定されている「保健機能食品」と一般食品に該当するいわゆる健康食品に区分され (Fig. 1-1)、保健機能食品はさらに、栄養機能食品、特定保健用食品、機能性表示食品に分類される<sup>21, 53, 54, 57</sup>)。栄養機能食品、特定保健用食品、および機能性表示食品は、それぞれ規格基準型、許可型、および届出制という異なる制度下にある。機能性表示食品は、保健機能食品以外の根拠法のないいわゆる健康食品と類似している。機能性表示食品といわゆる健康食品はいずれも、国によって確立された基準に必ずしも準拠しておらず、安全性と有効性について国からの評価を受けていない。したがって、健康食品の安全性と有効性は、健康食品のカテゴリによって異なる可能性がある。また、健康食品の安全性と有効性は、おそらく成分の安全性と有効性によって最も強く影響を受ける。しかし、著者の知る限り、日本で流通している健康食品成分の安全性と有効性の評価をカテゴリ別にとりまとめ、カテゴリ間の差を比較・検討し、概括した情報は見当たらない。これらの背景に基づいて、栄養機能食品成分、特定保健用食品成分、および栄養機能食品・特定保健用食品成分以外の「日本で人気の高い健康食品」成分について、成分の安全性と有効性がどのように評価されているかを調べ、比較した。安全性と有効性の評価については、各成分の NMCD モノグラフによる格付け評価を採用し、検討した。

本研究では、各成分の NMCD モノグラフの安全性と有効性の格付け評価に評点を割り当てる独自のアプローチを行ったことにより、健康食品成分のカテゴリ間の統計解析による比較が可能となった。

Table 2-5 に示すように、NMCD モノグラフに記載されている成分の比率は、特定保健用食品成分では栄養機能食品、栄養機能食品・特定保健用食品を含まない「日本で人気の高い健康食品」成分よりも有意に低かった。おそらく特定保健用食品の特性と NMCD の編集方針によるものである。特定保健用食品は、安全性と有効性について国によって審査され、特定の健康機能の表示が許可されている<sup>56, 60</sup>)。したがって、特定保健用食品は、製品自体とその成分の安全性と有効性がある程度保証されている。関与成分の基礎研究から製品設計まで、ほぼすべての特定保健用食品の企画と開発は日本企業によって実施されている。特定保健用食品の流通と使用についても、ほぼ日本に限定されている。

一方、NMCD は、米国の民間機関によって構築されたデータベースである。米国では、Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (DSHEA : 栄養補助食品健康教育法) が規定している dietary supplement に対して、身体の構造・機能に関する強調表示、一般的な健康強調表示、栄養欠乏症強調表示などの食品による健康強調表示のみが許可されている<sup>66</sup>)。日本の栄養機能食品や特定保健用食品とは異なり、dietary supplement は安全性と有効性については自己評価であるため、国が定めた基準もなく、国による評価も受けていない<sup>67</sup>)。NMCD は、これらの特性を持つ dietary supplement の安全性と有効性を第三者の観点から評価している。NMCD は、科学的根拠に基づいて安全かつ安心に dietary supplement を使用する消費者にとって必要な情報源である。したがって、NMCD による評価の対象は、主に米国で広く流通している dietary

supplement の成分であり、日本で流通している特定保健用食品の成分ではないことは当然といえる。

栄養機能食品は、安全性と有効性に関する歴史的に蓄積されている強固で広範な科学的根拠に基づいて確立された国の基準に準拠することによって製造・販売が可能である。したがって、栄養機能食品成分の安全性と有効性は他のカテゴリーのものよりも高いと推測できる。本研究では、この一般的な理解を客観的に実証した。Kruskal-Wallis 検定後の Steel-Dwass 法による多重比較により、栄養機能食品成分の平均順位は、安全性評点において特定保健用食品成分 ( $p < 0.01$ ) および栄養機能食品・特定保健用食品を含まない「日本で人気の高い健康食品」成分 ( $p < 0.001$ ) よりも有意に高かった。また、有効性評点および総合評点においても、栄養機能食品成分の平均順位は、他の2つの成分の平均順位に比べて有意に高いことが示された ( $p < 0.001$ )。 (Table 2-6)。

特定保健用食品は、国による厳格な審査を受けて許可されているため<sup>56, 60</sup>、安全性と有効性についてはある程度保証されているので、栄養機能食品・特定保健用食品を含まない「日本で人気の高い健康食品」成分との評価の差があると思われた。しかし、特定保健用食品成分の安全性評点、有効性評点、総合評点と、栄養機能食品・特定保健用食品を含まない「日本で人気の高い健康食品」成分の安全性評点、有効性評点、総合評点の間に統計的に有意な差は認められなかった。(Table 2-6)。また、特定保健用食品の統計解析から除外した欠損値の成分の割合は、有効性評点が 42.9%、総合評点が 46.4%と半数近かった。その理由として、特定保健用食品は日本固有の健康食品であり、NMCD が米国の民間機関によって構築されたデータベースであることが考えられる。特定保健用食品は、厳格な審査で安全性と有効性の科学的根拠が求められているが、Table 2-5 に示すように、多くの特定保健用食品成分は NMCD モノグラフでは得られなかった。海苔ペプチド<sup>68</sup>、コーヒー豆由来のマンノオリゴ糖<sup>69</sup>、杜仲茶<sup>70</sup> などについて参照した特定保健用食品成分に関する学術論文の多くが和文であり、言語によるバイアスによっても特定保健用食品成分を適切に評価することを困難にしている可能性がある。また、難消化性デキストリンは、NMCD 未掲載であったが特定保健用食品製品全体の約 36.2%で使用されている関与成分であった。難消化性デキストリンは、規格基準型の特定保健用食品の一つで、関与成分の含有量が一定基準を満たしていれば「個別審査」を受けずに、許可を得ることができる特徴がある。今後はこのような関与成分を含む製品が増えると考えられる。

統計解析から除外した欠損値は、特定保健用食品成分で有効性評点が 42.9%、総合評点が 46.4%と半数近く、「日本で人気の高い健康食品」成分での割合は、安全性が 24.5% (12 成分/49 成分)、有効性が 26.5% (13 成分/49 成分)、総合が 28.6% (14 成分/49 成分) と全体の 1/4 程度であった。すべての健康食品について、NMCD モノグラフの各成分の安全性と有効性の格付け評価に評点を割り当てることができなかったが、日本に流通する健康食品に関する傾向として、上記のような客観的な調査結果を得た。NMCD は、dietary supplement をはじめとする健康食品の成分がヒト試験等によ

多くの研究論文の調査から構築された包括的なデータベースであり、研究の設計と規模に関する基準に基づいた評価を提供している。薬物相互作用を含む NMCD が提供する情報は包括的であり、多様な情報を消費者に提供することに適している。加えて、NMCD は本研究のように健康食品の成分を統計解析し、客観的な知見を得る場合も使用できると考えられる。情報が絶えず更新される NMCD のインターネット版<sup>71)</sup>は、消費者に情報を提供するのに便利であるが、本研究では、情報の不変性の観点から冊子体を使用した。

本研究の結果は全体として、日本で流通している健康食品の成分は、法的規制や制度の違いに基づくカテゴリー間で、NMCD による成分の安全性と有効性の評価が異なることを示唆している。また、「日本で人気の高い健康食品」成分のうちの栄養機能食品・特定保健用食品の成分については、有効性の評点と売上高との間に強い相関関係がみとめられたことから、有効性に関する情報が消費者行動を促している可能性も推察される。健康食品のカテゴリーに関する情報やラベリングにおける健康強調表示、アドバイザースタッフによる助言・アドバイスなどによる、消費者の情報に基づく選択（インフォームドチョイス）を促進することが、健康食品の科学的根拠に基づく安全・安心な利用を促すと期待される。

研究背景で述べたように、栄養士・管理栄養士などの栄養の実践活動に携わる専門家が、消費者の健康被害と経済的損失を防ぐため、安全性と有効性に関する科学的根拠に基づいて、消費者の健康食品の利用を支援する役割を担っている。この研究で得られた知見は、アジア諸国の栄養の実践活動に携わる専門家が日本の健康食品の法制度を知り、安全性と有効性に関する科学的根拠に基づいた消費者の健康食品の利用を促進するために参考になると思われる。さらに、本研究の調査結果は、アジアの国々が健康食品制度を構築するために寄与できるものと考えられる。

## 2-5 結論

この研究で得られた知見は、アジア諸国の栄養実践活動に携わる専門家が日本の健康食品の法制度を理解し、安全性と有効性に関する科学的根拠に基づく健康食品の使用を促進するための参考になりうる。さらに、アジアの国々が健康食品の制度を構築する上で、本研究の成果は役立つと考えられる。

Table 2-1. Ingredients of Foods with Nutrient Function Claims

No.	Nutrient	Rating score			Nutrient Function Claims of FNFC *
		Safety	Effectiveness	Total	
1	n-3 fatty acid	2	-	-	Maintain skin
2	Zinc	2	1	3	Maintain normal taste and helps to maintain healthy skin and mucous membranes.
3	Potassium	2	1	3	Maintain proper blood pressure.
4	Calcium	2	2	4	Development of bone and teeth.
5	Iron	2	3	5	Necessary in the red blood cell formation.
6	Copper	2	2	4	Form red blood cells and helps the proper function of many body enzymes and bone formation.
7	Magnesium	2	3	5	Development of bone and teeth. Maintain proper blood circulation, and helps proper function of many body enzymes and energy generation.
8	Niacin	2	2	4	Maintain skin and mucosa health.
9	Pantothenic acid	2	3	5	Maintain skin and mucosa health.
10	Biotin	2	2	4	Maintain skin and mucosa health.
11	Vitamin A	2	3	5	Maintain vision in the dark. Maintain skin and mucosa healthy.
12	Vitamin B1	2	3	5	Produce the energy from carbohydrate and to maintain skin and mucosa health.
13	Vitamin B2	2	3	5	Maintain skin and mucosa health.
14	Vitamin B6	2	3	5	Produce energy from protein and to maintain skin and mucosa health.
15	Vitamin B12	2	3	5	Aids in red blood cell formation.
16	Vitamin C	2	3	5	Maintain skin and mucosa health and has anti-oxidizing effect.
17	Vitamin D	2	3	5	Promotes absorption of calcium in gut intestine and aids in the growth of bone.
18	Vitamin E	2	3	5	Protect fat in the body from being oxidized and to maintain the cell health.
19	Vitamin K	2	3	5	Maintain proper blood coagulability.
20	Folic acid	2	3	5	Aids in the red blood cell formation, and contributes the normal growth of the fetus.
mean ± SD		2.0 ± 0.0	2.6 ± 0.7	4.6 ± 0.7	

Note: This table should not use for the purpose of providing information to consumers because the information is very limited. Refer to the NMCD for details of ingredient.

\*: "Nutrient Function Claims of FNFC" are shown in simplified forms (references 57, 58).

Table 2-2. Ingredients of Foods for Specified Health Uses

No.	Functional ingredient [NMCD monograph name]	Rating score			Health claims approved as FOSHU *1
		Safety	Effectiveness	Total	
1	Agar [AGAR]	1	-	-	Gastrointestinal conditions
2	Reduced molecular weight sodium alginate [ALGIN]	1	-	-	Gastrointestinal conditions, Blood cholesterol level
3	Barley young leaf, barley [BARELY]	2	-	-	Gastrointestinal conditions, Blood sugar levels
4	Plant sterol [BETA-SITOSTEROL]	2	2	4	Blood cholesterol level
5	Bifidobacteria [BIFIDOBACTERIA]	2	1	3	Gastrointestinal conditions
6	Psyllium seed coat-derived dietary fiber [BLOND PSYLLIUM]	2	3	5	Gastrointestinal conditions
7	Calcium [CALCIUM]	2	2	4	Osteogenesis (Reduction of disease-risk)
8	Calcium hydrogen phosphate / CPP-ACP (Casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate as calcium) / POs-Ca (Phosphorylated oligosaccharide calcium) [CALCIUM]	2	1	3	Dental health
9	Lactotripeptide [CASEIN PEPTIDE]	-	0	-	Blood pressure
10	Chitosan [CHITOSAN]	1	0	1	Blood cholesterol level
11	DHA·EPA [DHA·EPA] *2	2	0	2	Blood triacylglycerol level
12	Green tea-derived fluorine [FLUORIDE]	2	3	5	Dental health
13	Fructo-oligosaccharides [FRUCTO-OLIGOSACCHARIDES]	1	0	1	Gastrointestinal conditions
14	Gamma-aminobutyric acid (GABA) [GABA]	-	-	-	Blood pressure
15	Tea catechins, Tea polyphenol [GREEN TEA]	1	1	2	Blood cholesterol level
16	Guava leaf polyphenol [GUAVA]	1	-	-	Blood sugar levels
17	Monoglucosyl hesperidin [HESPERIDIN]	1	-	-	Blood triacylglycerol level, Blood pressure
18	Kudzu flower extract (Tectorigenin) [KUDZU]	1	-	-	Body fat
19	Lactobacillus [LACTOBACILLUS]	2	2	4	Gastrointestinal conditions
20	Medium chain triglycerides [MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDE]	2	-	-	Body fat
21	<i>Bacillus subtilis</i> K-2 (spore) [NATTOKINASE]	1	-	-	Gastrointestinal conditions
22	Quercetin glycoside (as isoquercitrin) [QUERCETIN]	1	-	-	Body fat
23	Soy oligosaccharide, Soy isoflavone, Soy protein, Beta conglycinin [SOY]	2	1	3	Gastrointestinal conditions, Osteogenesis, Blood triacylglycerol level, Blood cholesterol level
24	High molecular weight black tea polyphenol (as theaflavin) [TEAFLAVIN]	-	-	-	Blood triacylglycerol level
25	Vitamin K2 (menaquinone-4, menaquinone-7) [VITAMIN K]	2	0	2	Osteogenesis
26	Wheat bran / Whole wheat and wheat hulls-derived dietary fiber [WHEAT BRAN]	2	1	3	Gastrointestinal conditions
27	MBP® (Milk Basic Protein) (as cystatin 20µg) [WHEY PROTEIN]	2	-	-	Osteogenesis
28	Xylitol [XYLITOL] *3	1	2	3	Dental health
mean ± SD		1.6 ± 0.5	1.2 ± 1.1	3.0 ± 1.3	

Note: This table should not use for the purpose of providing information to consumers because the information is very limited. Refer to the NMCD for details of ingredient.

\*1: "Health claims approved as FOSHU" are shown in simplified forms (references 71, 72).

\*2: Approved for products at contain mixture functional ingredients (DHA and EPA).

\*3: Approved for products at contain mixture functional ingredients (Xylitol, maltitol, calcium hydrogen phosphate, and fukuronori extract).

Table 2-3. Ingredients of Foods for Specified Health Uses products unlisted in NMCD monographs.

No.	Functional ingredient	No.	Functional ingredient
1	Acetic acid	19	Lactulose
2	Apple-derived procyanidins	20	L-arabinose
3	Broccoli, cabbage-derived S-methylcysteine sulfoxide (natural amino acid)	21	Maltitol
4	Chinese gutta percha (as geniposidic acid)	22	Neokotalanol
5	Chlorogenic acids (as 5-caffeoylquinic acid)	23	Nori ( <i>Porphyra yezoensis</i> ) oligopeptide (as Ala-Lys-Tyr-Ser-Tyr)
6	Coffee bean mannoooligosaccharide (as mannobiose)	24	Oolong tea polymerized polyphenols (as oolonghomobisflavan B) *
7	Erythritol	25	Palatinose
8	Eucalyptus extract (as macrocarpal C)	26	Polydextrose
9	Fukuronori ( <i>Gloiopeltis furcata</i> ) extract (as funoran)	27	Polyglutamic acid
10	Galacto-oligosaccharides	28	Products of propionic acid bacteria (as 1, 4-dihydroxy-2-naphthoic acid)
11	Globin protein degradation product (as Val-Val-Tyr- Pro)	29	Royal jelly-derived peptides (Val-Tyr, Ile-Tyr, Ile-Val-Tyr)
12	Glucosyl ceramide	30	Sardine peptide (as Val-Tyr)
13	Highly cross-linked phosphate cross-linked starch (as dietary fiber)	31	Sesame peptide (as Leu-Val-Tyr)
14	Indigestible dextrin	32	<i>Streptococcus thermophilus</i>
15	Indigestible recrystallized amylose (as $\alpha$ -1, 4 glucan aggregate)	33	Water-soluble corn bran fiber
16	Isoleucyltyrosine	34	Wheat-derived albumin
17	Isomaltooligosaccharides	35	Xylooligosaccharide
18	Lacto-sucrose	36	Yang long flavonoids (as hyperoside and isoquercitrin)

\*: Although there is the NMCD monograph of oolong tea, it was excluded from Table 2-2 because there was no description as oolonghomobisflavan.

Table 2-4. Ingredients of Popular Health Foods in Japan

Ranking	Ingredient [NMCD monograph name] *1	Rating score *2			Symptoms described in the effectiveness of NMCD	Overlapping with FHC *3
		Safety	Effectiveness	Total		
1	Multi-vitamin [UNLISTED]					A
2	Vitamin C [VITAMIN C (ASCORBIC ACID)]	2	3	5	Vitamin C deficiency	A
3	Vitamin E [VITAMIN E]	2	3	5	Vitamin E deficiency	A
4	Aojiru (green juice) [CABBAGE (Kale)] *4	1	0	1	Cancer, etc.	
5	Protein [WHEY PROTEIN]	2	1	3	Athletic performance	B
6	Calcium [CALCIUM]	2	3	5	Hypocalcemia	A, B
7	Enzyme (fermented plant extract) [UNLISTED]					
8	Collagen [GERATIN]	1	0	1	Osteoarthritis	C
9	Dietary fiber [BLOND PSYLLIUM (Dietary fiber)]	2	3	5	Constipation	B, C
10	Amino acid [UNLISTED]					C
11	Lactic acid bacteria [LACTOBACILLUS]	2	2	4	Rotaviral diarrhea	B, C
12	Blueberry [BLUEBERRY]	1	-	-		
13	Royal jelly [ROYAL JELLY]	1	0	1	Hyperlipidemia	B
14	Aloe [ALOE]	1	1	2	Constipation	C
15	Ginkgo biloba [GINKGO]	2	1	3	Age-related memory impairment, etc.	C
16	Turmeric [TURMERIC]	1	1	2	Dyspepsia	C
17	Glucosamine [GLUCOSAMINE SULFATE]	2	2	4	Osteoarthritis	C
18	Yeast [BREWER'S YEAST]	1	1	2	Premenstrual syndrome	
19	Sesame [UNLISTED]					B
20	DHA [DHA (DOCOSAHEXAENOIC ACID)]	2	1	3	Coronary artery disease	A, B, C
21	Vitamin B complex [UNLISTED]					A
22	Reishi [REISHI MUSHROOM]	1	0	1	Postherpetic neuralgia	
23	Astaxanthin [ASTAXANTHIN]	1	-	-		C
24	EPA [EPA (EICOSAPENTAENOIC ACID)]	2	1	3	Coronary artery disease	A, B, C
25	Gamma-aminobutyric acid [GABA (GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID)]	-	-	-		B, C
26	Chlorella [CHLORELLA]	1	0	1	Fibromyalgia, Glioma	
27	Korean ginseng [GINSENG, PANAX]	1	1	2	Diabetes	
28	Shijimi (fresh water clam) [UNLISTED]					
29	Ginger [GINGER]	2	1	3	Morning sickness	C
30	Soy isoflavone [SOY]	2	1	3	Breast cancer (prevention)	B, C
31	Dextrin (indigestible dextrin) [UNLISTED]					B, C
32	Nattokinase [NATTOKINASE]	1	0	1	Deep vein thrombosis	B
33	Hyaluronic acid [HYALURONIC ACID]	-	-	-		C
34	Polyphenol [COCOA]	2	1	3	Hypertension (as cacao polyphenol)	B, C
35	Lutein [LUTEIN]	2	2	4	Lutein deficiency	C
36	Agaricus [AGARICUS MUSHROOM]	1	0	1	Chemotherapy	
37	Olive [OLIVE]	2	2	4	Constipation (as olive oil)	C
38	Ornithine [ORNITHINE]	-	-1	-	Athletic performance	C
39	Catechin [GREEN TEA (Epigallo Catechin Gallate)]	1	1	2	Hyperlipidemia	B, C
40	Kudzu flower-derived isoflavone [KUDZU]	1	0	1	Alcoholism, Angina	B, C
41	Vinegar [APPLE CIDER VINEGAR]	1	0	1	Diabetes, Gastroparesis	B, C
42	Coenzyme Q10 [COENZYME Q-10]	2	2	4	Coenzyme Q-10 deficiency	C
43	Ceramide (N-acylsphingosine) [UNLISTED]					B, C
44	Garlic [GARLIC]	2	1	3	Hypertension	C
45	Placenta [UNLISTED]					
46	Propolis [PROPOLIS]	1	0	1	Common cold	
47	Maca [MACA]	1	1	2	Sexual desire	
48	French marine pine bark extract [PYCNOGENOL]	1	1	2	Allergic rhinitis	C
49	Lactoferrin [LACTOFERRIN]	1	1	2	Hepatitis C	C
PHFJ: mean ± SD		1.5 ± 0.5	1.0 ± 1.0	2.6 ± 1.4		
PHFJ without FNFC+FOSHU *5: mean ± SD		1.3 ± 0.5	0.8 ± 0.8	2.3 ± 1.1		

Note: This table should not use for the purpose of providing information to consumers because the information is very limited. Refer to the NMCD for details of ingredient.

\*1: This is the order of top-selling rankings from the “Health Food Report®” (reference 65), up to 49th. The NMCD monograph name is shown in [ ] . The mixture ingredients showed [unlisted] because it cannot be specified as one ingredient.

\*2: If [Unlisted] was described in [NMCD Monograph Name], no score has been given. If the evaluation was "reliable data has not been obtained enough", the rating score was marked as "-". Both were treated as missing values in statistical analysis.

\*3: Overlapping ingredients with FHC. A: FNFC; B: FOSHU; C: FFC.

\*4: Aojiru with index number 16056 was described as “kale juice” in “Standard food composition table in Japan-2015- (7th revised edition)”.

\*5: PHFJ ingredients excluding those that overlapped with FNFC and FOSHU ingredients.

Table 2-5. The number of listed and unlisted health food ingredients in the three categories of the NMCD monograph

	<b>Listed</b>	<b>( % )</b>	<b>Unlisted</b>	<b>( % )</b>	<b>residual analysis *2</b>	
FNFC	20	( 100 )	0	( 0 )	$P < 0.001$	Listed > Unlisted
FOSHU	28	( 44 )	36	( 56 )	$P < 0.001$	Listed < Unlisted
PHFJ without FNFC+FOSHU	24	( 86 )	4	( 14 )	$P < 0.01$	Listed > Unlisted
Chi-square test *1	$p < 0.001$					

\*1: The chi-squared test was used to test independence between the ratio of the ingredients listed in NMCD and health food categories ( $p < 0.001$ ).

\*2: Residual analysis was performed to determine if the listed and unlisted categories were at a significant level for the whole. The ratio of ingredients unlisted in the NMCD was found to be significantly higher in FOSHU ingredients ( $p < 0.001$ ). The ratio of ingredients listed in the NMCD was found to be significantly higher in FNFC ingredients ( $p < 0.001$ ) and PHFJ without FNFC+FOSHU ( $p < 0.01$ ).

Table 2-6. Analysis of rating score of FNFC, FOSHU, and PHFN without FNFC+FOSHU ingredients

	Safety *1			Effectiveness *1			Total *1		
	mean ±SD	n *2	average	mean ±SD	n *2	average	mean ±SD	n *2	average
			rank (n = 67)			rank (n = 56)			rank (n = 54)
FNFC	2.0 ± 0.0	20	20.0 <sup>x,a</sup>	2.6 ± 0.7	19	12.8 <sup>b,c</sup>	4.6 ± 0.7	19	12.2 <sup>d,e</sup>
FOSHU	1.6 ± 0.5	25	34.7 <sup>x</sup>	1.2 ± 1.0	16	32.3 <sup>b</sup>	3.0 ± 1.3	15	29.8 <sup>d</sup>
PHFJ without FNFC+FOSHU	1.3 ± 0.5	22	42.8 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.8	21	37.2 <sup>c</sup>	2.3 ± 1.1	20	37.6 <sup>e</sup>
Kruskal-Wallis test *3	<i>p</i> < 0.001			<i>p</i> < 0.001			<i>p</i> < 0.001		

\*1: Data are the mean ± standard deviation and average rank.

\*2: The score of ingredients unlisted in the NMCD was regarded as a missing value and excluded from statistical analysis.

\*3: The Kruskal-Wallis test was performed on the differences between categories for each rating score. There were significant differences in rating scores of ingredients among the three categories FNFC, FOSHU, and "PHFJ without FNFC+FOSHU" (*p* < 0.001).

The Steel-Dwass test was used for multiple comparisons between three groups with significant differences. Same superscript letters are significantly different; a, b, c, d, e: (*p* < 0.001); x: (*p* < 0.01). The average rank of FNFC ingredients was significantly higher in safety, effectiveness, and total rating scores than those of FOSHU (*p* < 0.01; *p* < 0.001; *p* < 0.001) and "PHFJ without FNFC+FOSHU" ingredients (*p* < 0.001; *p* < 0.001; *p* < 0.001).

Table 2-7. Analysis of rating score of FFC and non-FHC in PHFJ

	Safety *1			Effectiveness *1			Total *1		
	mean ±SD	n *2	average	mean ±SD	n *2	average	mean ±SD	n *2	average
			rank (n = 22)			rank (n = 21)			rank (n = 20)
FFC in PHFJ	1.5 ± 0.5	13	9.0	1.1 ± 0.9	13	8.0	2.8 ± 1.0	12	8.0
non-FHC in PHFJ *3	1.0 ± 0.0	9	13.0	0.4 ± 0.5	8	13.0	1.4 ± 0.5	8	12.0
Mann-Whitney <i>U</i> test *4	<i>p</i> < 0.01			<i>p</i> < 0.05			<i>p</i> < 0.01		

\*1: Data are the mean ± standard deviation and average rank.

\*2: The score of ingredients not listed in the NMCD was regarded as a missing value and excluded from statistical analysis.

\*3: PHFJ excluding FHC. (FHC: Foods with Health Claims, categorized into FNFC, FOSHU and FFC)

\*4: Mann-Whitney *U* test was performed on the differences among categories. The average rank of ingredient of “FFC in PHFJ” was significantly higher in safety (*p* < 0.01), effectiveness (*p* < 0.05), and total rating scores (*p* < 0.01) than those of “non-FHC in PHFJ”.

消費者庁ホームページからダウンロードした「特定保健用食品許可（承認）品目一覧」（1,064製品、89成分）。（一部抜粋、改変）

…	商品名	…	関与する成分	許可を得た表示内容	…
	○○		植物ステロール	この○○は、コレステロールの体内への吸収を抑える植物ステロールを豊富に含んでいるので、血中コレステロールを下げるのが特長です。コレステロールが気になる方の食生活の改善に役立ちます。	
	▲▲		GABA	本品はγ-アミノ酪酸（GABA）を含んでおり、血圧が高めの方に適した飲料です。	
	◇◇		低分子化アルギン酸ナトリウム	海藻由来の水溶性食物繊維である低分子化アルギン酸ナトリウムを配合した製品です。食物繊維が不足がちで、毎日のおなかの調子が気になる方・整えたい方に適しています。	
	●●		L-アラビノース	本品は、砂糖の消化・吸収をおだやかにするL-アラビノースを含みます。血糖値が気になる方は、通常ご使用になる砂糖に替えてお使いいただくことをおすすめします。	
	■■		植物ステロール	この■■は、コレステロールの体内への吸収を抑える植物ステロールを豊富に含んでいるので、血中コレステロールを下げるのが特長です。コレステロールが気になる方の食生活の改善に役立ちます。	
	△△		低分子化アルギン酸ナトリウム	本品は海藻由来の水溶性食物繊維「低分子化アルギン酸ナトリウム」の配合により、コレステロールの吸収を抑える働きがあります。血清コレステロール値が高めの方にお勧めします。	

↓ 「許可を得た表示内容」をキーワード（references 71, 72を参照）に置き換える。

…	商品名	…	関与する成分	Health claim approved as FOSHU	…
	○○		植物ステロール	Blood cholesterol level	
	▲▲		GABA	Blood pressure	
	◇◇		低分子化アルギン酸ナトリウム	Gastrointestinal conditions	
	●●		L-アラビノース	Blood sugar levels	
	■■		植物ステロール	Blood cholesterol level	
	△△		低分子化アルギン酸ナトリウム	Blood cholesterol level	

↓ 「並べ替えとフィルター」機能で、「優先されるキー：関与する成分、許可を得た表示内容」として並べ替える。

…	商品名	…	関与する成分	Health claim approved as FOSHU	…
	▲▲		GABA	Blood pressure	
	●●		L-アラビノース	Blood sugar levels	
	○○		植物ステロール	Blood cholesterol level	
	■■		植物ステロール	Blood cholesterol level	
	◇◇		低分子化アルギン酸ナトリウム	Gastrointestinal conditions	
	△△		低分子化アルギン酸ナトリウム	Blood cholesterol level	

↓ 「関与する成分」と「許可を得た表示内容」が重複する場合は一つのセルに集約する。「許可を得た表示内容」が異なる場合は、複数の表示内容を一つのセルに集約する。

関与する成分	Health claim approved as FOSHU
GABA	Blood pressure
L-アラビノース	Blood sugar levels
植物ステロール	Blood cholesterol level
低分子化アルギン酸ナトリウム	Gastrointestinal conditions, Blood cholesterol level

↓ 「関与する成分」それぞれについて情報源（references 62, 63）に準拠した英語名にする。類似した成分は集約し、Table 2-2の“Functional Ingredient”に記載。  
1製品に複数の関与する成分を含む場合は、注釈をつける。（Table 2-2 \*3を参照）

Functional Ingredient	Health claims approved as FOSHU
Gamma-aminobutyric acid (GABA)	Blood pressure
L-arabinose	Blood sugar levels
Plant sterol	Blood cholesterol level
Reduced molecular weight sodium alginate	Gastrointestinal conditions, Blood cholesterol level

(成分数：64成分)

Fig. 2-1. 特定保健用食品の関与成分のリストの作成方法

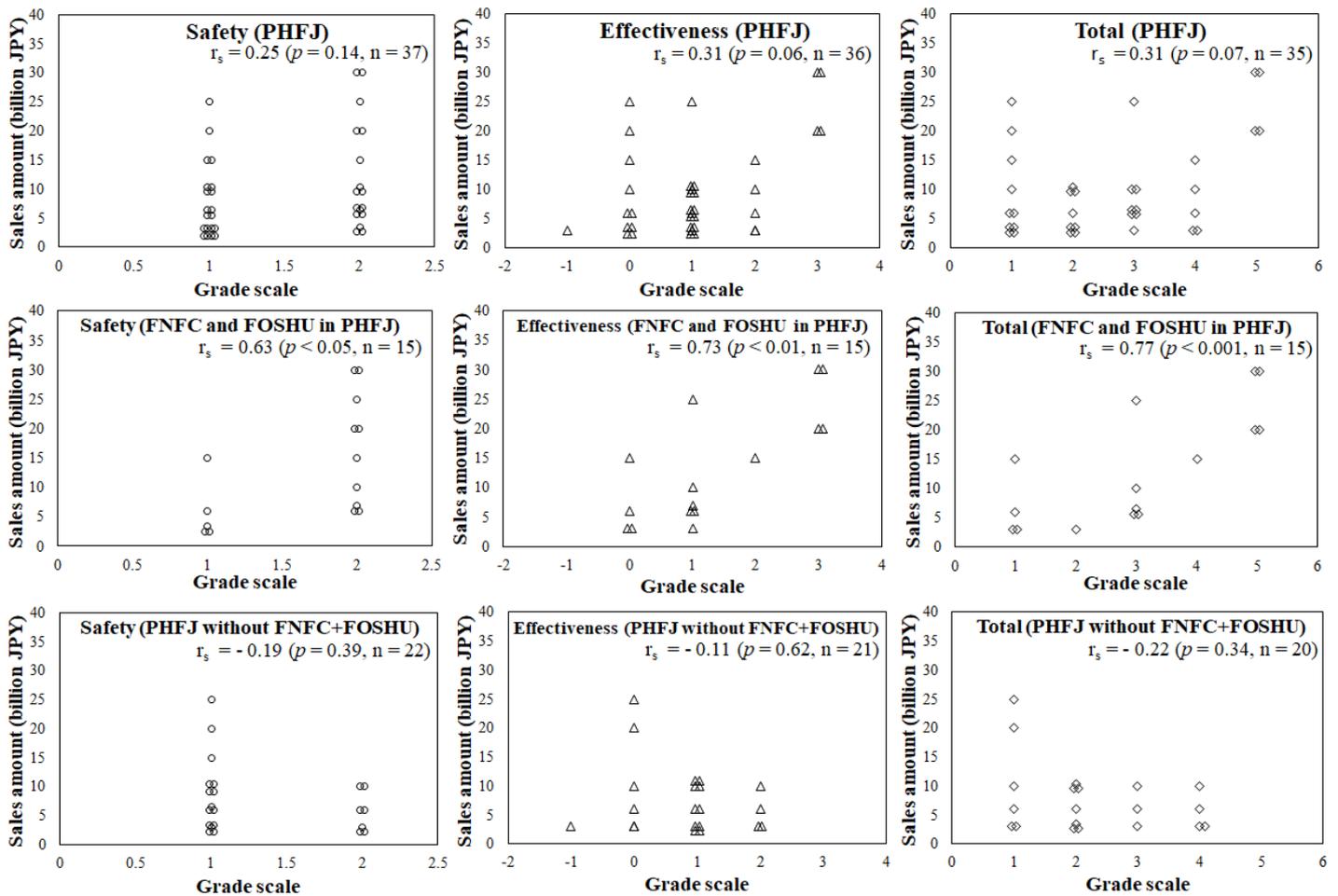


Fig. 2-2. Correlation between rating score and market size about PHFJ

"Sales amount" was referred to Reference 65. "Rating score" was based on the data in Table 2-4.

The Spearman correlation coefficients ( $r_s$ ) were used to examine the relationship between rating score and market size about PHFJ. There was a positive correlation between the sales amounts and the safety ( $r_s = 0.63$ ;  $p < 0.05$ ,  $n = 15$ ), effectiveness ( $r_s = 0.73$ ;  $p < 0.01$ ,  $n = 15$ ), and total rating scores of ingredients of PHFJ overlapping with FNFC and FOSHU ( $r_s = 0.77$ ;  $p < 0.001$ ,  $n = 15$ ).

### 第3章 動物実験研究—肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とする、食品添加物の概念に基づくハーブサプリメント製品の安全性個別評価：バターバー (*Petasites hybridus*) 製品への適用—

#### 3-1 研究背景・目的

原料となる植物の生育環境や製造過程などの要因が個々の市販製品の安全性に影響を与えるため<sup>36, 37, 74, 75</sup>、ハーブサプリメントに関連する健康被害は少なくない<sup>36, 46, 47</sup>。一方、後述する基準に準拠して使用される食品添加物によって引き起こされる健康被害は見られない<sup>34</sup>)。適切で簡便な安全性評価方法は、ハーブサプリメントによって引き起こされる健康被害の防止に役立つと考えられる。本研究では、ハーブサプリメントの特性と食品添加物の安全性を確保するための手法に基づいて設計された安全性評価方法と、バターバー (*Petasites hybridus*) 製品を対象として検討・実証を行った。

多くのハーブサプリメントは、植物の二次代謝産物を利用し、アルカロイドやテルペンなどの化学物質や、生物多様性成分を含む<sup>71</sup>)。消費者が実際に利用しているハーブサプリメント製品の品質は、安全性と有効性のための原点であり、植物の種や品種、使用部位、生育地、収穫時期など、植物成分自体に関連する要因<sup>77-79</sup>) や製造および標準化手順など製品ブランドに関連する要因にも依存する<sup>36, 79-82</sup>)。したがって、ハーブサプリメントに関連する健康被害を未然に防ぐために、各製品で個別に評価する安全性評価は、ハーブ成分自体の安全性評価よりも有効であると考えられる。

さらに、カプセルタイプやタブレットタイプなどの製品で使用されるハーブ成分は、一般に多成分の脂溶性濃縮物を含む。脂溶性成分であるという特性は、脂溶性生体異物の極めて重要な代謝処理器官である肝臓を標的とした有害作用を生じる可能性がある<sup>41, 42</sup>)。肝臓に対するハーブサプリメントの健康被害には、薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP) が関連することが少なくない<sup>43, 83</sup>)。CYP 酵素は、医薬品とハーブサプリメント成分を代謝する<sup>1, 44, 45, 84, 85</sup>)。CYP 酵素の基質の多くは代謝され解毒されるが、その一部は活性化されて毒性を高める<sup>43, 83</sup>)。さらに、医薬品やハーブサプリメントの一部の成分は、解毒の効率的な生物学的メカニズムである CYP 酵素を誘導する<sup>1, 43, 44, 84, 85</sup>)。CYP 酵素の誘導は、代謝活性または併用薬の治療効果の低下を介して人体に悪影響を及ぼす可能性がある<sup>85-90</sup>)。

使用基準に準拠した食品添加物の使用に関連する明らかな健康被害があまり見られない理由は、多くの国で食品添加物の使用基準が一日摂取許容量 (ADI) から算出されるためである<sup>34, 47</sup>)。食品添加物の ADI は、一生涯を通して毎日摂取してもヒトに有害な影響を与えない量であり、動物実験で得られた無作用量

(NOEL) または無毒性量 (NOAEL) から算出される<sup>34, 91)</sup>。ADI を推定するには、NOAEL または NOEL を不確実係数、通常 100 で除算する<sup>34, 91, 92)</sup> (Fig. 1-2)。

これらの背景に基づいて、ハーブサプリメントの安全性を確保するための簡便な動物実験を設計した<sup>1, 3)</sup>。すなわち、対象とする市販のハーブサプリメント製品を、ヒトが使用する場合の一日摂取目安量 (SDI) の 100 倍量でオスのラットに 8 日間毎日投与し、肝臓に対する影響、特に CYP 分子種の mRNA 発現に対する影響を検討・実証した。また、必要に応じて、脂溶性生体異物の代謝産物の排出器官である腎臓への影響を検討した。

著者の以前の研究<sup>1)</sup>で、このアプローチは、肝障害との関連が指摘され、その使用について注意喚起されたハーブである kava (*Piper methysticum*) の市販製品に適用した<sup>30)</sup>。SDI の 100 倍量で投与された 2 つの kava 抽出物製品は、環境化学物質の曝露に対して敏感な指標である肝臓 CYP1A1 mRNA 発現の著しい亢進とともに重度の肝肥大を引き起こした。よって、kava 製品の SDI の 100 倍の投与量は NOAEL を超え、安全とはいえない可能性が示唆された。

本研究では、ハーブサプリメントの安全性確保には、各製品の SDI の妥当性を個別に評価することが重要と考え、本手法をバターバー製品に適用した。バターバー (*Petasites hybridus*) は、西洋フキ<sup>62)</sup> またはヨーロッパフキとも呼ばれ、キク科フキ属の植物である<sup>93)</sup>。ヨーロッパ全域を中心としてアジアや北アメリカにも生育する、高さ 1 m の多年草である<sup>94)</sup>。大型の穂状花序中に淡桃紫色の花をつけ、地上部は夏に、根は春から秋に採取される<sup>93)</sup>。バターバー製品は片頭痛やアレルギー性鼻炎の症状などの改善に有効であると報告されている<sup>95-101)</sup>。有効成分はペタシンとされており、今回の実験に使用したサプリメントは一日の摂取目安量が 22.5 mg となるように標準化されている (Table 3-1)。バターバー抽出物とともにペタシン単体でも研究され、抗炎症作用<sup>102)</sup>や抗がん作用<sup>103)</sup>、糖代謝に対する影響が報告されている<sup>104)</sup>。一方、英国の医薬品・医療製品規制庁 (MHRA) は、2012 年にバターバー製品の使用によると疑われる肝臓毒性のリスクについて注意喚起した<sup>105)</sup>。バターバーの植物自体に肝毒性を引き起こすピロリジジンアルカロイド (PA) が含まれ<sup>106)</sup>、CYP3A によって代謝活性され、反応性の高いピロールエステルに変換され、細胞内 DNA およびタンパク質との付加物を形成し、肝静脈閉塞などの急性毒性を示す<sup>107)</sup>。本研究で使用されたバターバー製品には、PA が除去されたというラベルが表示されていた (Table 3-1)。PA が除去されたバターバーの製品も肝臓障害を生じると報告されているため<sup>105)</sup>、PA ではない成分が肝臓毒性に関与している可能性がある。現在のところ、有効成分とされるペタシンが肝障害を引き起こすという研究<sup>108)</sup>があるが、肝臓の薬物代謝酵素への影響を含め、バターバー製品を安全に使用するための科学

的根拠は見当たらない<sup>48, 108)</sup>。

本研究では、ハーブサプリメント製品の安全性確保に適する、各製品の SDI の妥当性を個別に評価する手法で、CYP 分子種の肝臓遺伝子発現に対するバターバー製品の影響が市販製品間で大きく異なるという知見を得た。さらに、ハーブサプリメントの安全性の確保に向けて、以前の研究結果<sup>1,3)</sup>を踏まえ、CYP 分子種遺伝子発現への影響に基づいたハーブ製品の安全性評価結果の分類を提案する。

## 3-2 研究方法

### 3-2-1 試薬等

3 種類の市販のバターバー製品をインターネット経由で購入した。その特性を Table 3-1 に示す。7-ethoxyresorufin (ER)、7-methoxyresorufin (MR)、7-pentoxyresorufin (PR)、7-benzyloxyresorufin (BR) を Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)、dibenzylfluorescein (DBF) を Fluka Chemie GmbH (Buchs, Kanton St. Gallen, Switzerland) で購入し、CYP 基質として使用した。Pierce™BCA タンパク質アッセイキットは、Thermo Fisher Scientific K.K. (東京) から購入した。

ウエスタンブロッティング法による CYP タンパク質の検出で用いた一次抗体は、rabbit anti-rat CYP1A1 (not cross-reactive with CYP1A2)、goat anti-rat CYP2B1 (Cypex Ltd, Scotland UK)、rabbit anti-rat CYP3A1 (Novus Biologicals, Colorado, USA)、rabbit anti-rat CYP3A2 (Enzo Life Sciences, Inc., NY, USA)、goat polyclonal anti- $\alpha$ 2 $\mu$ -globulin antibody (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA)、二次抗体は peroxidase-conjugated affinipure goat anti-rabbit IgG、または rabbit anti-goat IgG は Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc. (West Grove, PA, USA) とした。他の試薬類はすべて特級ないし同等以上のものを用いた。

### 3-2-2 実験動物ならびにバターバー製品の投与

動物実験には、7 週齢のオス (体重約 200 g) およびメス (体重約 175 g) の Sprague-Dawley (SD) 系ラット (東京実験動物株式会社, 東京) を用いた。ラットは、6:00~18:00 を明期、18:00~6:00 を暗期とし、空調システムを  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55\% \pm 15\%$  に設定して飼育した。飲用水および飼料 (AIN93G: オリエンタル酵母製) は自由に摂取させた。

3 種類のバターバー製品、すなわち SGA、SGB および HC (Table 3-1) を次のように 8 日間毎日胃内投与した。

SGA (10) : オスラット、SDI の 10 倍量で SGA を投与

SGA (100) : オスラット、SDI の 100 倍量で SGA を投与

SGB (100) : オスラット、SDI の 100 倍量で SGB を投与

HC (100) : オスラット、SDI の 100 倍量の HC を投与

SGA (100) -F : メスラット、SDI の 100 倍量で SGA を投与

各バターバー製品が SDI の 100 倍量、すなわち、体重 1 kg あたり 0.375 mg のペタシン量となるよう調製した。SGA 製品および SGB 製品を投与の際は、対照群として、glyceryl trioctanoate (MCT) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) を使用した。また、100 倍量を 10 倍量に希釈するために MCT に懸濁させて用い、1.45 ml/kg 体重の用量で投与した。HC 製品は、対照群には蒸留水を用い、50.67 mg/ml の濃度で蒸留水に懸濁させ、10 ml/kg 体重の容量で投与した。投与時刻は、午前 9 時～12 時の間とし、一日 1 回、8 日間、胃内に反復投与した。

ラットは飼育最終日の前日より絶食 (約 18 時間) させ、断頭により放血死させた後、肝臓を速やかに摘出し、実重量を測定した。病理組織検査用の試料として、外側左葉の中心部を約 1 cm 幅で短軸に沿って切断し、10%ホルマリン中で固定させた。また、total RNA 調製用の試料として、内側左葉の中心部近傍の組織を約 100 mg 切り取り、1.5 ml の RNA later RNA Stabilization Reagent (Qiagen, 東京) に投入し、室温で一晩インキュベートした後、用事まで -80°C に保存した。さらに、新鮮肝臓組織 1 g をマイクロソームの調製に供した。腎臓は摘出後、実重量を測定し、半分に分割し、10%ホルマリン中で固定させた。

この研究は、十文字学園女子大学動物実験委員会の承認を得て、「十文字学園女子大学・同短期大学部動物実験規程」に基づき、「実験動物の餌養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(最終改正：平成 25 年環境省告示第 84 号) を遵守して実施した (承認番号 1108、1208、1304、1305)。

### 3-2-3 Real-time RT-PCR 法による CYP 分子種の肝臓 mRNA 発現量の測定

Total RNA の抽出は、RNA later RNA Stabilization Reagent 中に保存しておいた肝臓組織片 20 mg と RNA 組織キット S II (倉敷紡績株式会社, 大阪) の LRT 溶液 (LRT:2-メルカプトエタノール=10:1 で調整済) を Mixer Mill MM300 (Qiagen, 東京) を用いて 30 rpm × 5 分を 2 回ホモジナイズした後、マニュアルに従い、自動核酸抽出システム QuickGene-800 (富士フイルム株式会社, 東京) を用いて抽出した。RNA 濃度および純度 (A260/A280=1.8~2.0) は、NanoDrop 1000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) を用いて測定した。

Real-time RT-PCR 法による CYP 分子種の mRNA 発現量は、SYBR®Green ベースのインターカレーション上による One Step SYBR®RT-PCR Kit (Takara Bio, 滋賀) を使用し、MX3000P リアルタイム RT-PCR システムを用いて測定した。Real-time RT-PCR に用いたプライマー (Table 3-2) の塩基配列の選定は、GenBank

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) より得た対象遺伝子の DNA 塩基配列を Roche Molecular Systems Inc. の Universal Probe Library Assay Design Center ([https://lifescience.roche.com/global\\_en/brands/universal-probe-library.html#assay-](https://lifescience.roche.com/global_en/brands/universal-probe-library.html#assay-)) が提供する無料のソフトウェアを使用して設計し、Sigma genosys (北海道) に合成を依頼した。

その際に、配列が類似している CYP2B1 と CYP2B2、および CYP3A1 と CYP3A2 は両者を識別するために、Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research が公開しているソフトウェア Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) を利用してオリジナルな配列をもつプライマーを設計した。CYP2B1 と CYP2B2、および CYP3A1 と CYP3A2 の分別が可能となるように留意した。すなわち、CYP2B1 (CYP2B2) 用のプライマーについてはその 3'末端の塩基が CYP2B2 (CYP2B1) とミスマッチとなるよう、また CYP3A1 (CYP3A2) 用のプライマーについてはその 3'末端の塩基が CYP3A2 (CYP3A1) とミスマッチとなるように設計し、その合成は Sigma genosys (北海道) に依頼した。この 4 組のプライマーについては、その妥当性を確認するために、それぞれ RT-PCR (OneStep RT-PCR Kit) による反応を行って得られた増幅産物の塩基配列の解析を Takara Bio に依頼し、それぞれ GenBank と同一の CYP2B2、CYP3A1、CYP3A2 であったことを確認した。CYP2B1 については、GenBank の J00719 の配列を基準として、1 か所だけの異変 (G1048A) が認められたが、ラットの系統間における多型性によるものと考えられた。

Real-time RT-PCR 反応は、反応液 (1×master mix reagent, 0.2 μM primer) 20 μl に 8 μg/ml total RNA 溶液を 10 μl を加えて反応させた。RT-PCR の反応条件は、逆転写反応を 42°C (15 分)、95°C (2 分) させた後、PCR 反応を [95°C (5 秒)、62°C (20 秒)] ×40 サイクルとした。この反応の終了後、95°C (5 分)、55°C (5 分)、95°C (5 秒) と設定して温度変化に伴う二本鎖の解離状態を解析し、増幅産物の融解温度の均一性を確認した。各 mRNA の発現量は、増幅が指数関数的に起こる領域で、増幅産物が一定量に達するサイクル数 (threshold cycle; Ct 値) を用いて算出し、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (Gapdh) mRNA をハウスキーピング遺伝子として用いて、Gapdh mRNA に対する標的遺伝子の mRNA の量比を算出し、定量的に解析した。

### 3-2-4 肝臓ミクロソーム画分における CYP 分子種の酵素活性の測定

肝臓ミクロソーム画分の調製は、氷冷下において 1g の新鮮肝臓組織を 10 ml の緩衝液 (50 mM Tris-HCL/0.15 M KCl, pH7.4) 中でポリトロンホモジナイザー PT 10-35 (Kinematica, Lucerne, Switzerland) でホモジナイズ (ダイヤル 5, 10 秒×2 回) した後、750×g、4°C で 10 分間遠心し、その上清を 12,000×g、4°C で 10 分間遠

心した。さらに、その上清を 453,000×g、4°C で 20 分間遠心し、得られた沈渣を 0.5 ml の 50 mM Tris- HCl/1 mM EDTA/1 mM ジチオトレイトール (DTT) /20% (v/v) glycerol pH 7.4 に懸濁させてマイクロソーム画分とし<sup>109)</sup>、使用時まで-80°C で保存した。肝臓マイクロソーム画分のタンパク質濃度の測定は、Pierce™ BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific K.K., 東京) を用いてマニュアルに従い定量した。CYP 分子種の酵素活性は、resorufin 誘導体の蛍光原基質 alkoxyresorufin (ER、MR、PR、BR) を用いる Kennedy らの方法<sup>110,111)</sup>、および dibenzylfluorescein を用いた Stresser らの方法<sup>112)</sup> に準じて測定した。ただし、それぞれの原法がエンドポイントアッセイであるのに対して、本研究では Mx3000P リアルタイム RT-PCR 装置を蛍光マイクロプレートリーダーとして利用し、反応産物の増加に伴う蛍光強度の増加を経時的にモニターするレートアッセイ法に改良して測定を行った。

酵素反応液の組成は Table 3-3 に示した。基質にラット肝臓マイクロソーム画分を加え、37°C、5 分間温置して NADPH 溶液を添加した後に、速やかに 37°C に設定した Mx3000P リアルタイム PCR システム (Agilent Technologies, 東京) にセットして蛍光強度を 20 秒間隔で測定した。CYP による代謝産物の resorufin の測定には ROX™/Texas Red® フィルター (585 nm-610 nm)、fluorescein の測定には FAM™/SYBR® Green I フィルター (492 nm-516 nm) を用いた<sup>1)</sup>。酵素活性の条件は Table 3-3 に記した。

EROD 活性、MROD 活性、PROD 活性、BROD 活性は、resorufin 標準液について得られた蛍光強度をもとに、CYP 酵素の作用で生成した resorufin 量を求め、さらに酵素活性を比活性 (pmol resorufin/min/mg protein) として算出した。DBFDB 活性は、fluorescein 標準液について得られた蛍光強度をもとに、CYP の作用で生成した fluorescein 量を求め、さらに酵素活性を比活性 (nmol fluorescein/min/mg protein) として算出した。

### 3-2-5 ウェスタンブロッティング法による肝臓マイクロソーム画分における CYP 分子種のタンパク質の検出と腎臓組織における $\alpha_2\mu$ -グロブリンの検出

ラット肝臓マイクロソーム画分は、20  $\mu$ g タンパク質/ウェルとして 15%ポリアクリルアミドゲルを用いて SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った<sup>113)</sup>。次いで、分離したタンパク質をゲルからイモビロントランスファーメンブレンにエレクトロトランスブロッティングにより転移・吸着させて免疫染色を行った。メンブレンを 20 mM Tris-HCl/150 mM NaCl、0.1%Tween 20、pH 7.6 (TBS) で 2~3 回洗浄した後、3% (W/V) スキムミルク/TBS 溶液と反応 (60 回/分振とう、10 分間、室温) させ、メンブレンをブロッキングした。次いで、スキムミルク/TBS で 3,000 倍に希釈した第 1 抗体と反応させた後、メンブレンを十分に

洗浄した。洗浄操作は、超純水によるすすぎを3回、TBS中での振とう（60回/分、10分間）を1回で1サイクルとし、計3サイクルで完了とした。洗浄後のメンブレンはスキムミルク/TBS溶液で20,000倍に希釈した第2抗体と反応させて2時間反応させた。上記と同様に洗浄後、化学発光を利用するECL™ Prime Western Blotting Detection Reagent（GE Healthcare Life Sciences, Buckinghamshire, England）を基質として用い、製造元のプロトコルに従って染色し、発光・蛍光撮影出力装置ライトキャプチャーAE-6960（アトー株式会社、東京）にて画像データを記録した。

腎臓タンパク質を分析する際は、抽出バッファー（78 mM Tris-60mM グリシン、5%SDS、122 mM DTT）中の10%組織ホモジネートを95°Cで5分間熱処理し、10,000×gで5分間遠心分離した。得られた上清を、15%ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（100 µg タンパク質/ウェル）を行った。他の手順は、一次抗体として1:3,000に希釈された抗α2µ-グロブリン抗体を使用すること以外は、肝臓ミクロソームの分析方法に従った。

### 3-2-6 肝臓・腎臓の病理組織学検査

10%ホルマリンで固定した肝臓および腎臓試料を、札幌病理研究所（札幌）に送付し、ヘマトキシリン-エオジン（HE）染色組織標本の作成および病理組織学検査を委託した。

### 3-2-7 統計解析方法

データは、平均値 ± 標準誤差で示した。正規性の検定を行い、正規分布であることを確認後、オスラットのSGA、SGBおよび対照群における平均値の差について、一元配置分散分析の後、対照群に対するDunnnettの下位検定を実施した。オスラットのHCおよびメスラットのSGAにおいては、それぞれの対照群との平均値の差について、対応のないスチューデントのt検定（両側検定）を実施した。統計解析は、IBM SPSS Statistics Ver.21（日本アイ・ビー・エム、東京）を用いた。いずれも5%未満を有意水準とした。

## 3-3 研究結果

### 3-3-1 SDIの10倍または100倍投与ラットのSGA製品の肝臓への影響

8日間、ヒト一日摂取目安量（SDI）の10倍および100倍量のSGAを投与したオスラット（以下、SGA（10）およびSGA（100）と記述する）は対照群に対して体重への有意な影響を示さなかった（Table 3-4）。SGA（10）は、対照群に対して肝臓と腎臓の実重量、体重100gあたりの相対重量ともに有意な影響を示さなかったが、SGA（100）では肝臓の実重量と体重100gあたりの相対重量が

1.2 倍、腎臓の体重 100 g あたりの相対重量が 1.1 倍と有意に増大した ( $p < 0.05$ )。SGA (100) は肝肥大を引き起こした。肝肥大は CYP 分子種の強力な誘導とともに認められる<sup>1,36, 42, 43, 73-75, 80, 100</sup>。

リアルタイム RT-PCR による測定では、対照群に対して SGA (100) は、肝臓 CYP 分子種の mRNA 発現が、CYP1A2、2B1、2B2、および 3A1 のそれぞれについて、2.2 倍、20.6 倍、10.0 倍、3.3 倍と有意に増大していた ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3-1)。CYP1A1、CYP3A2 (Fig. 3-1)、および Table 3-2 にリストされている他の CYP、また Glutathione S-transferase の mRNA 発現には、SGA (100) の有意な影響は見られなかった。

Fig. 3-2A は、SGA 投与による alkoxyresorufin *O*-dealkylase および dibenzylfluorescein *O*-debenzylase のミクロソーム酵素活性に及ぼす影響を示す。どちらも主要な CYP の活性に対応すると報告されている<sup>110-112</sup>。対照群に対して、SGA (10) では MROD 活性は 2.1 倍、PROD 活性は 3.0 倍、DBFDB 活性は 3.6 倍、SGA (100) 投与では、MROD 活性は 3.3 倍、PROD 活性は 7.5 倍、BROD 活性は 22.6 倍、DBFDB 活性は 5.3 倍、有意に増大した ( $p < 0.05$ )。SGA (100) は著しく BROD 活性を増大させ、CYP2A および CYP3A 活性を反映している。ウエスタンブロッティングによる検討では、CYP2B および CYP3A1 タンパク質は、SGA (100) によって発現が亢進していた (Fig. 3-2B)。オスラットの肝臓 CYP 発現に対する SGA (100) の影響は、mRNA (Fig. 3-1)、酵素活性 (Fig. 3-2A)、およびタンパク質 (Fig. 3-2B) の 3 つの指標でほぼ整合していた。

なお、本論文では、最新医学大事典<sup>114</sup>) に準じて、肝肥大 (hepatic hypertrophy) は、肝臓の容積が増大する現象、肝細胞肥大 (hepatocellular hypertrophy) は、肝実質細胞の容積が増大する現象として用いる。肝臓重量の増大は、肝臓容積の増大とみなせるものとして、肝肥大と記述した。多くの毒性試験でも肝肥大と表現されている<sup>115</sup>)。なお、うっ血、炎症などの病的原因により肝臓の容積が増大している場合に用いる肝腫大 (hepatomegaly) とは異なる。

### 3-3-2 SDI の 100 倍投与ラットの 3 種類のバター製品の影響

Table 3-5 は、2 種類の油性製品 (SGA と SGB) と 1 種類の粉末製品 (HC) を、ヒトの SDI の 100 倍量でオスラットに投与した 2 つの実験結果を示している (以下、SGA (100)、SGB (100)、HC (100))。油性製品の対照群には glyceryl trioctanoate (MCT) (Cont-1) を、粉末製品の対照群には蒸留水 (Cont-2) を投与した。SGA (100) と SGB (100) 投与による体重の変化は認められず、体重 100 g あたりの肝臓相対重量は Cont-1 に対して SGA (100)、SGB (100) いずれも 1.1 倍、体重

100 g あたりの腎臓相対重量は SGA (100) で 1.1 倍、SGB (100) で 1.2 倍増大した (Table 3-5)。一方、Cont-2 に対して HC (100) の肝臓および腎臓の実重量、体重 100 g あたりの相対重量への有意な影響は認められなかった。

油性製品である SGA (100) は、Cont-1 に対して CYP1A2 は 1.8 倍、2B1 は 14.2 倍、2B2 は 11.8 倍、および 3A1 は 4.0 倍の mRNA 発現が有意に増大し ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3-3A)、Fig. 3-1 の結果を再現した。SGA (100) と同様に、油性製品である SGB (100) は Cont-1 に対して CYP2B1 mRNA 発現が 21.1 倍、2B2 は 11.3 倍、および 3A1 は 3.3 倍の mRNA 発現が有意に増大した ( $p < 0.05$ )。すなわち、2 種類の油性製品の投与は、Cont-1 に対して CYP2B2 は著しく (10 倍以上)、CYP3A1 は中程度 (3 倍以上) 有意に増大した ( $p < 0.05$ )。しかし、粉末製品 HC (100) では、Cont-2 に対して CYP mRNA 発現の増大は見られなかった (Fig. 3-3B)。

Fig. 3-3A の CYP mRNA 遺伝子発現に関する結果と一致して、SGA (100) および SGB (100) は、Cont-1 に対して MROD は約 2 倍、PROD は約 4 倍、BROD は 7 倍以上、および DBFDB 活性は 2.7 倍有意に増大した ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3-4A)。HC (100) は、Cont-2 に対して MROD 活性は 1.4 倍とわずかであるが有意に増大した ( $p < 0.05$ ) が、CYP mRNA 発現の結果と一致して、他の AROD および DBFDB 活性に有意な増大は見られなかった (Fig. 3-4B)。

ウエスタンブロッティング法による検討では、SGA (100) および SGB (100) は、CYP2B、3A1 および 3A2 の CYP タンパク質の発現が亢進していたが、HC (100) 投与では、影響が認められなかった (Fig. 3-4C)。

### 3-3-3 バターバー製品投与ラットの肝臓および腎臓の病理組織学検査結果

上記のように、2 種類のバターバーの油性製品の投与により、オスラットの肝臓と腎臓の体重 100 g あたりの相対重量が対照群に比べて増大した (Table 3-5) が、病理組織学検査ではバターバー製品投与による肝臓の有意な変化は観察されなかった。一方、HE 染色された腎臓標本では、2 種類の油性製品の投与ラットの腎臓近位尿細管上皮に赤色の沈着物が検出された。しかし、Cont-1、Cont-2 および HC (100) では同様の沈着物は認められなかった (Fig. 3-5)。

### 3-3-4 メスラットにおける SGA の影響と腎臓尿細管上皮細胞の硝子滴沈着物の同定

Fig. 3-5 の赤色の沈着物は、ある種の油性化学物質に曝露されたオスラットの腎臓に  $\alpha 2\mu$ -グロブリンが蓄積して生じる好酸性硝子滴沈着物に酷似していた<sup>116-118</sup>。そこで、この赤色沈着物の特徴を明らかにすることを目指し、メスラット

に油性バター製品である SGA 投与の影響を調べた。

メスラットへの SGA 製品投与 (SGA (100) -F) は、対照群 (Cont-F) に対して体重への影響を示さなかったが、体重 100 g あたりの肝臓相対重量を増大させる傾向が見られた ( $p=0.06$ ) が、統計的有意差はなかった (Table 3-6)。さらに、SGA (100) -F は、Cont-F に対して CYP mRNA 発現は CYP2B1 では 87.3 倍、2B2 では 16.4 倍、3A1 では 24.0 倍有意に増大していた ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3-6A)。酵素活性についても、SGA (100) -F は、Cont-F に対して MROD 活性は 2.4 倍、PROD 活性は 2.5 倍、BROD 活性は 3.1 倍、DBFDB 活性は 6.2 倍有意に増大していた ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3-6B)。ウエスタンブロッティング法により、CYP2B、3A1 の CYP タンパク質の発現の亢進が認められた (Fig. 3-6C)。CYP2B および CYP3A1 mRNA 発現に対する SGA 製品の影響は、オスのラットよりもメスのラットの方がより顕著であった (Fig. 3-3A, Fig. 3-6A)。

オスラットとは異なり、メスラットへの SGA 製品の投与では体重 100 g あたりの腎臓相対重量の増大が認められず (Table 3-6)、また腎臓近位尿細管上皮に赤色の沈着物を生じなかった (Fig. 3-7)。抗  $\alpha 2\mu$ -グロブリンを用いたウエスタンブロッティングでは、 $\alpha 2\mu$ -グロブリンに相当する 16 kDa のバンドが SGA (100) および SGB (100) (オスラット) の腎臓サンプルで検出されたが、メスラットの腎臓サンプルからは検出されなかった。これらの結果は、病理組織学検査と一致した (Fig. 3-5、Fig. 3-7、Fig. 3-8)。

### 3-4 考察

ハーブサプリメント製品は、多様な要因がその品質に影響するため、同じハーブ素材の名称で流通している市販製品であっても、製品間で安全性に差がある可能性がある<sup>36, 77, 78, 79-85</sup>)。このようなハーブサプリメントの安全性を確保するには、市販製品の安全性個別評価は、ハーブ成分自体の評価よりもおそらく有効であると考えられる。さらに、ハーブサプリメントは肝臓を標的とし、CYP 分子種の遺伝子発現に関連する健康被害を引き起こす可能性がある<sup>1, 44, 45, 85-90</sup>)。一方、使用基準に準拠して使用される食品添加物によって引き起こされる健康被害に関する事象はほとんど見られない<sup>34, 46, 47</sup>)。

これらの背景に基づいて、肝臓 CYP 分子種の遺伝子発現を主要な評価指標とする個々のハーブサプリメント製品の安全性を評価するための簡便な動物実験方法を設計した。食品添加物の安全性評価手法を参考にした本方法では、ハーブサプリメント市販製品を、ヒトの SDI の 100 倍量でラットに 8 日間毎日投与する。

本研究では、この方法を3種類の市販のバターバー製品を対象に実施し、次のような結果を得た (Fig. 1-2)。

1) 2つの油性製品は、体重 100 g あたりの肝臓相対重量を軽度増加させ、CYP2B の mRNA 発現を著しく (>10 倍) 高め、CYP3A1 の mRNA 発現を中等度 (>3 倍) に増加させた。

2) 2種類の油性製品は、オスラットでのみ腎臓近位尿細管上皮細胞に  $\alpha$ 2 $\mu$ -グロブリンの蓄積を生じた。

3) 油性製品とは異なり、粉末製品は1)、2) のような顕著な影響を示さなかった。

4) CYP2B および CYP3A1 の mRNA 発現に対する油性バターバー製品の投与の影響は、オスラットよりもメスラットで顕著であった。

1) から4) について考察する前に、投与量、投与期間、投与方法、および評価指標として使用される CYP 遺伝子発現の理論的根拠について述べる。

SDI の 100 倍の投与量は、ADI に基づく使用基準に従って使用された食品添加物では、健康被害がほとんど見られないことにより設定されている<sup>34)</sup>。ADI は、一生涯を通して毎日摂取してもヒトに健康被害の影響を与えないと推定される量である。食品添加物の ADI は、NOAEL を不確実性係数、通常 100 で除算する<sup>32, 84, 85)</sup>。したがって、著者の見解では、ヒト SDI の 100 倍の投与量で健康被害の可能性のある場合は、この SDI の用量に注意を払う必要がある。

肝臓 CYP 遺伝子発現を評価指標として使用した研究では、8 日間の投与期間は必ずしも短いとは限らない。これまでの研究では、kava 市販製品を 8 日間、SDI の 100 倍の用量でオスラットに連日投与したところ、顕著な肝肥大 (体重 100 g あたりの肝臓相対重量 1.4 倍) を生じるとともに、肝臓 CYP1A1 mRNA 発現を著しく増大した<sup>1)</sup>。予備研究では、kava 製品は 28 日間、SDI の 20 倍の用量での投与では、CYP1A1 の mRNA 発現を誘導しなかったが、SDI の 100 倍の用量では、5、8、28 日間いずれの投与でも、CYP1A1 の mRNA 発現を強く誘導した。肝臓の CYP mRNA 発現に対するハーブの影響は、おそらく投与期間よりも投与量に依存している可能性が高い。イチヨウ葉エキスまたはその成分ピロバライドの高用量での単回投与は、6 時間後で肝臓 CYP2B mRNA 発現を最大に誘導した<sup>44)</sup>。

投与方法については、熟練者がフィーディングチューブを使用して市販のハーブ製品をラットの胃に穏やかに投与した。混合給餌法と比較して、この方法はラットの嗜好性による食物摂取量の変動およびそれによる体重の変動を引き起こす可能性が低いため、必要量をより正確に投与できる。

本方法は、肝臓 CYP 遺伝子発現を主要な評価指標として使用した。これは、ハーブサプリメントが肝臓を標的とし、CYP 酵素の遺伝子発現を誘導して健康被害を引き起こす可能性がある故である<sup>1, 44, 45, 84, 85</sup>)。CYP 酵素誘導は解毒のための効率的な生物学的適応メカニズムであるが、ハーブ成分自体の代謝活性化を介して悪影響を引き起こしたり<sup>87, 119-121</sup>)、併用薬の治療効果を低下<sup>85-90</sup>)させる可能性がある。

これらの理論的根拠を有する試験方法を用いて、2種類の油性の市販製品の SDI の 100 倍量の投与が、軽度の肝肥大を引き起こし、CYP2B1 と CYP2B2 の mRNA 発現を著しく (>10 倍) 増大させ、CYP3A1 の mRNA 発現を中等度 (>3 倍) 増大させるという結果を得た。著者の知る限り、バターバー製品は、市販ハーブサプリメント製品およびハーブ素材についても、肝臓の CYP 遺伝子発現を亢進するとの報告はされていないので、この結果は新たな知見といえる。

バターバー油性製品の SDI の 100 倍の用量を投与したラットにおける事象をヒトに外挿すると、同製品を推奨目安量で摂取しているヒトに CYP 遺伝子発現の増大とそれにとまなう軽度の肝肥大を生じる可能性を否定できない。ハーブサプリメントの摂取による肝臓 CYP の誘導は、医薬品との薬物相互作用に注意を払う必要がある。SGA あるいは SGB 製品は、CYP2B1/2 mRNA および CYP3A1 mRNA の発現を誘発した。

ラットの CYP2B1/2 および CYP3A1 は、ヒトの CYP2B6 および CYP3A4 に対応する<sup>122</sup>)。CYP2B6 が肝臓の CYP 総含有量の 2~10%を占めていると推定されている。実際に、CYP2B6 はヒトの相当数の薬物の代謝に関与しており、市販薬物の約 8%と推定されている<sup>123</sup>)。既知の CYP2B6 基質には、シクロホスファミド、アルテミシニン、ブプロピオン、ケタミン、ペチジン、プロポフォール、メタドン、ネビラピン、エファビレンツ、およびその他の内因性および環境化合物がある<sup>123</sup>)。CYP2B6 の遺伝子発現の増大により、これらの薬物の有効性が低下する可能性がある。一方、CYP2B6 の選択的誘導は、有毒なクロロアセトアルデヒドの形成を同時に増大させることなく、シクロホスファミドから 4-ヒドロキシシクロホスファミドへの生体内変換を大幅に増加させるという報告がある<sup>123</sup>)。

CYP3A4 は非常に低い基質特異性を持ち、肝臓 CYP 含有量の約 30%を占め、市販薬の 30%以上の代謝に関与している<sup>124</sup>)。CYP3A4 基質には、ミダゾラム、テストステロン、ニフェジピン、キニジンなど、臨床的に利用されている多くの治療薬も含まれている<sup>125</sup>)。CYP3A4 がハーブ成分の摂取によって誘発される場合、セントジョンズワート (*Hypericum perforatum*)<sup>86, 126, 127</sup>) のように、これらの治療薬との相互作用、および代謝活性化によって引き起こされる有害な影響に

も注意が必要である<sup>119-121)</sup>。

研究背景で述べたように、バターバーの植物自体には肝毒性を起こす PA が含まれている<sup>128)</sup>。本研究で使用されたバターバー製品には、PA が除去されたというラベルが表示されていた (Table 3-1) にもかかわらず、3 製品のうち 2 製品において CYP 分子種の誘導が認められた。バターバーに対する CYP 発現の強力な誘導の影響は、疑わしい肝臓障害の問題を解決する手がかりになる可能性があるため、CYP を誘発する成分を明らかにする必要があると考えられる。

肝臓の CYP mRNA 発現の増大に加え、油性バターバー製品は、オスラットの腎臓近位尿細管上皮細胞に  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの蓄積を生じた。*d*-リモネンやデカリンなどの化学物質に曝露されたオスのラットでは、肝臓由来タンパク質  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの腎臓における分解が阻害され、尿細管上皮細胞に硝子滴沈着物が異常に蓄積し、 $\alpha 2\mu$ -グロブリン腎症が発症し、最終的に腎がんを生じる<sup>118, 129)</sup>。バターバーが腎臓近位尿細管上皮細胞に  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの蓄積を引き起こすことはこれまで報告されていない。よって、この知見は学術的に新しくまた興味深い。ただし、 $\alpha 2\mu$ -グロブリンはオスラットに特有のタンパク質であるため、 $\alpha 2\mu$ -グロブリンに由来する硝子滴沈着物の知見は、ヒトに外挿する必要はないとされている<sup>128-131)</sup>。

2 種類の油性製品は、肝臓の CYP 遺伝子発現と腎臓の  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの蓄積への影響が極めて類似していた (Fig. 3-3 および 3-5)。一方、粉末製品は肝臓・腎臓への顕著な影響が見られなかった。この結果は、ハーブサプリメントの安全性を確保するには、各製品の個別評価が重要であることを如実に示している。ラットに対する油性製品と粉末製品の影響の差異の理由は明らかではないが、形状の違いが含有成分の消化と吸収に影響を与え、バイオアベイラビリティに影響を与える可能性がある。また、パッケージに記載 (Table 3-1) されている基原植物は、同じバターバーの名称であっても、油性製品には「purple butterbur」と記されているのに対し、粉末製品は「butterbur」とのみ記されている。品種が異なるのかは不明であるが、両タイプの市販製品のラットに対する影響に関連している可能性がある。粉末製品は、油性製品よりも安全性で懸念が少ないようであるが、逆に有効性では油性製品に比較して効果的ではない可能性もある。

肝臓 CYP2B および CYP3A1 mRNA 発現に対する SGA (100) の影響は、それぞれの対照群に対してオスのラットよりもメスのラットの方がやや強かった (Fig. 3-3 および 3-6)。化学物質の CYP 誘発作用に性差があるという報告がいくつもあるが、CYP を誘発する物質と CYP 分子種によって結果は異なると考えられている<sup>133, 134)</sup>。

一般に、安全性評価のための動物試験では、性周期がなく、性ホルモンの影響を受けないため、オスラットがよく使用されるが、メスラットでの動物試験も必要になる場合がある。油性バターバー製品に対する CYP 遺伝子発現反応の性差は、ヒトのバターバー関連健康被害に性差が関わる可能性を示唆する。最近報告された、ペタドレックス®（特定のバターバー抽出物製品）の利用にともなう肝臓に対する重篤な副作用が疑われる症例の因果関係評価表では、記載されていた 10 症例のうち 8 症例が女性だった<sup>48)</sup>。本研究では、腎臓尿細管上皮細胞の硝子滴沈着物の同定のためにメスラットにおける SDI の 100 倍量の SGA 製品の投与を行ったが、オスラットと同様、10 倍量投与や他製品 100 倍量の投与を行うことにより新たな知見が得られる可能性もある。

本研究で詳述した、ハーブサプリメント製品の SDI の 100 倍の用量をラットに投与し、肝臓 CYP を指標とした安全性評価方法は、既にバターバー製品以外のいくつかの市販製品を対象について実施した (Table 3-7)。評価結果を整理すると、ハーブサプリメント製品の影響は 4 つの区分に分類できる。

1. 肝肥大とともに、肝臓 CYP1A1 遺伝子発現の著しい増大。
2. 肝肥大とともに、薬物代謝に関与する肝臓 CYP 遺伝子発現の著しい増大。
3. 肝肥大はなく、肝臓 CYP 遺伝子発現のわずかな増大。
4. 肝肥大はなく、肝臓 CYP 遺伝子発現への影響なし。

本研究の被験品となったバターバー製品のうち、油性製品 2 つは区分 2、粉末製品は区分 4 に分類された (Fig. 1-2)。区分 1 の kava については、重篤な肝障害事例との関連が疑われている<sup>134, 135)</sup>。また、kava 製品のいくつかは、ラット肝臓 CYP1A1 遺伝子発現を著しく増強した<sup>1)</sup>。肝臓 CYP1A1 遺伝子発現は、環境化学物質への曝露の鋭敏な指標とされる<sup>87)</sup>。区分 1 および 2 のハーブ素材が同じ名称の市販製品は、CYP 分子種の遺伝子発現の誘導に関連する薬物相互作用や外来化学物質の代謝活性化などの健康被害のリスクに注意を払う必要がある。区分 4 に分類されるハーブサプリメント製品は、SDI に準拠した短期間の摂取では、遺伝子発現の増強に関連する健康上のリスクを引き起こす可能性が低いと推察される。

### 3-5 結論

ハーブサプリメントの科学的根拠に基づく利用に向け、市販製品の安全性の個別評価に適するよう設計した試験方法について詳述した。本法は、食品添加物の安全性確保の概念を参考に、SDI の 100 倍量をラットに投与し、肝臓における CYP 分子種の mRNA 発現への影響を評価指標とする。この方法により、バターバーの油性製品 2 つが軽度の肝肥大を生じ、CYP2B の mRNA 発現を著

しく（10倍以上）増強し、CYP3A1のmRNA発現を中程度（3倍以上）増強し、ヒトへの外挿は要しないがオスラット腎臓に $\alpha$ 2 $\mu$ -グロブリンを蓄積させるという新知見を得た。粉末製品は、これらの顕著な影響を示さず、個別評価の優位性が明確になった。油性製品と同様のバターバー製品の使用に当たっては、薬物相互作用やハーブ成分を含む外来化学物質の代謝活性化などの健康影響のリスクに注意を払う必要がある。本研究のような個別評価の実施は、各ハーブサプリメント製品の安全性を確保する責任がある当事者にとって、消費者に正確な情報を提供する上で有益であると考えられる。

Table 3-1. Properties of the three commercial butterbur products used in this study  
(claimed on the labels)

	Soft gel product A (SGA)*	Soft gel product B (SGB)*	Hard capsule product (HC)*
Amount per serving size	purple butterbur root extract 50 mg/ 1 soft gel	purple butterbur root extract 50 mg/ 1 soft gel	butterbur extract (root) 75 mg/ 1 capsule
Standardized petasin content	7.5 mg/ 1 soft gel	7.5 mg/ 1 soft gel	11.25 mg/ 1 capsule
Other ingredients	MCT, gelatin, vegetable glycerin, water and riboflavin color	MCT, gelatin, glycerol, sorbitol, purified water and riboflavin	microcrystalline cellulose, gelatin and magnesium stearate
SDI	2 to 3 soft gels daily**	2 to 3 soft gels daily**	2 capsules daily
Pyrrolizidine alkaloids level	free of harmful level of pyrrolizidine alkaloids	removed undesirable pyrrolizidine alkaloids	not shown
Effective for	support healthy blood vessel tone in the brain	support healthy bladder function	not shown

\*The butterbur products were purchased from iHerb (<http://jp.iherb.com/>) via the internet. \*\*In this study, the suggested daily intake (SDI) for human use was assumed to be 3 soft gels/ 60 kg body weight/day. This provides 0.375 mg/kg/day of petasin. MCT: Medium chain triglycerides.

Table 3-2. Sequences of primers used for real-time RT-PCR analysis

Gene	Forward primer	Reverse primer
Gapdh	TGGGAAGCTGGTCATCAAC	GCATCACCCCATTTGATGTT
CYP1A1	TTCAGTTCAGTCCTTCC	GAAGGCTGGGAATCCATACA
CYP1A2	AGAGCAGCAAGGACTTTGTGGAG	CGCCTGTGATGTCCTGGATAC
CYP1B1	TCACTGCAATTTAGACGGAACA	AGCTTCTGGCCTCTGCACAC
CYP2B1 <sup>a</sup>	CAGGTGATCGGCTCACACC	GTCTTTGGTGACTCTGTGTGGTAC
CYP2B2 <sup>a</sup>	GATCAGGTGATTGGCTCTCACA	TGTCTTTGGTGACTCTGTGTGGTAA
CYP3A1 <sup>b</sup>	GGAGATCACAGCCCAGTCAA	GGGAATGCAGGACAAAGGAA
CYP3A2 <sup>b</sup>	GGAAATACAAGACAAAGGAGAGTG	TGAAATCATAGCCCAGTCAGTT
CYP2E1	CTGACTGTCTCCTCATAGAGATGG	TCACAGAAACATTTTCCATTGTGT
CYP2C6	AGCTTCCCAATCTCACTGCT	AATCATGGCATCTGTGTAGGG
CYP2C11	GGAGGAACTGAGGAAGAGCA	AATGGAGCATATCACATTGCAG
CYP2C12	AAGAAAAGTGACTACTTCATGCCTTT	GCCCTCTCCCACACATTTT
CYP2D1	TCAGGATGGTGAAACTAGTGGA	TGGGAACGTGTTAAGAACCTC
CYP2D2	GAAGGAGAGCTTTGGAGAGGA	AGAATTGGGATTGCGTTCAG
Gstm2	GTGGATTTTCTTGTTTACGATGTCC	CTCAAACCGAGCCACGAAG
Gstp1	TGGTACCCTCATCTACACTAACTATGA	CAGCAGGGTCTCAAAGGTT

a,b: Primers were designed to distinguish CYP2B1 from CYP2B2, and CYP3A1 from CYP3A2, respectively. Gapdh: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; Gstm2: glutathione S-transferase mu 2; Gstp1: glutathione S-transferase pi 1.

Table 3-3. Condition for CYP enzyme activity

CYP isoforms*	CYP1A1	CYP1A2	CYP2B	CYP2B/3A	CYP3A	
	EROD	MROD	PROD	BROD	DBFDB	
CYP catalytic activity	Ethoxyresorufin O-deethylase	Methoxyresorufin O-demethylase	Pentoxyresorufin O-dealkylase	Benzyloxyresorufin O-dealkylase	Dibenzylfluorescein debenzylase	
Reaction mixture	Vol					
Enzyme (final conc)	60 $\mu$ L 0.1 mg/mL Rat liver microsome (0.02 mg/mL)					
Substrate (final conc)**	20 $\mu$ L	ER (2 $\mu$ M)	MR (2 $\mu$ M)	PR (2 $\mu$ M)	BR (2 $\mu$ M)	DBF (32 nM)
10 mM NADPH	20 $\mu$ L	Resorufin produced by the reaction at 37 °C was measured using ROX/Texas Red® (Ex 585 nm Em 610 nm) filter, and fluorescein was measured using FAM/SYBR® Green I (Ex 492 nmm Em 516 nm) filter employing Mx3000P Real-Time PCR System.				

CYP catalytic activity was measured by a fluorometric rate assay with a little modification of an endpoint assay by reference 110. ER: 7-ethoxyresorufin; MR: methoxyresorufin; PR: pentoxyresorufin; BR: benzyloxyresorufin; DBF: dibenzylfluorescein \*CYP catalytic activity isoforms are from reference (references 110-112). \*\*At the time of use, the substrates were diluted in 50 mM Tris-HCL/100 mM NaCl (pH 7.4) of each 4 mM saturated solution.

Table 3-4. Effects of SGA on body, liver, and kidney weights in male rats

	Body weight (g)		Organ weight (g)		Relative organ weight (g/100g body weight)	
	Initial	Final	Liver	Kidney	Liver	Kidney
Cont	217.8 ± 3.1	268.4 ± 7.3	8.2 ± 0.5	2.3 ± 0.1	3.0 ± 0.1	0.8 ± 0.0
SGA (10)	218.1 ± 2.2	272.6 ± 4.6	8.5 ± 0.3	2.4 ± 0.1	3.1 ± 0.1	0.9 ± 0.0
SGA (100)	215.2 ± 3.7	269.1 ± 4.0	9.8 ± 0.2*	2.5 ± 0.1	3.7 ± 0.1*	0.9 ± 0.0*

Cont: glyceryl trioctanoate was administered to the control group as vehicle. SGA (10), SGA (100) products were administered at a dosage of 1.45 ml/kg body weight/day for eight days, either diluted 1/10 with trioctanoate glyceryl or not diluted, respectively. Data are the mean ± SE of 6 rats. \*Statistically different from Cont group by ANOVA followed by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ).

Table 3-5. Effects of the three commercial butterbur products on body, liver, and kidney weights in male rats

	Body weight (g)		Organ weight (g)		Relative organ weight (g/100g body weight)	
	Initial	Final	Liver	Kidney	Liver	Kidney
Cont-1	218.3 ± 3.6	277.7 ± 6.6	9.0 ± 0.2	2.2 ± 0.1	3.2 ± 0.1	0.8 ± 0.0
SGA (100)	218.1 ± 3.2	278.9 ± 1.9	10.3 ± 0.2*	2.4 ± 0.1	3.7 ± 0.1*	0.9 ± 0.0*
SGB (100)	219.9 ± 2.7	267.5 ± 9.0	9.6 ± 0.2	2.4 ± 0.1*	3.6 ± 0.1*	0.9 ± 0.0*
Cont-2	203.5 ± 4.4	268.6 ± 9.4	9.0 ± 0.6	2.3 ± 0.1	3.3 ± 0.1	0.9 ± 0.0
HC (100)	203.5 ± 4.0	287.0 ± 10.2	9.0 ± 0.5	2.2 ± 0.2	3.1 ± 0.1	0.8 ± 0.0

The control vehicle for the oily products was glyceryl trioctanoate (Cont-1), and that for the powder-like product was distilled water (Cont-2). SGA (100) and SGB (100) products were administered at a dosage of 1.45 ml/kg body weight for eight days. The HC (100) product was suspended in water at a concentration of 50.67 mg/ml and then administered at a dosage of 10 ml/kg body weight for eight days. Data are the mean ± SE of 6 rats. \*Statistically different from Cont-1 group by ANOVA followed by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ).

Table 3-6. Effects of SGA (100) on body, liver and kidney weights in female rats

	Body weight (g)		Organ weight (g)		Relative organ weight (g/100g body weight)	
	Initial	Final	Liver	Kidney	Liver	Kidney
Cont-F	175.5 ± 1.9	196.7 ± 3.2	6.4 ± 0.3	1.7 ± 0.1	3.2 ± 0.1	0.9 ± 0.0
SGA (100) -F	176.0 ± 1.7	192.6 ± 1.8	6.9 ± 0.2	1.7 ± 0.1	3.6 ± 0.1	0.9 ± 0.0

Cont-F: glyceryl trioctanoate was administered to the control group as vehicle. SGA (100) -F: SGA product was administered at a dosage of 1.45 ml/kg body weight for eight days. Data are the mean ± SE of 6 rats.

Table 3-7. Categorization based on the effects of liver CYP mRNA expression in commercial herbal supplement products

Group	Herbal supplement products	Relative liver weight	Hepatic mRNA gene expression						Relative kidney weight	Hyaline droplets in the renal tubular
			CYP1A1	CYP1A2	CYP2B1	CYP2B2	CYP3A1	CYP3A2		
1	Kava*1	1.4	74	3	17	21	9	-	-	N
2	St. John's wort*2	1.1	-	-	-	-	44	4	-	N
	Ginkgo*2	1.1	-	-	18	5	-	-	-	N
	Butterbur (SGA)	1.1	-	2	14	12	4	2	1.1	+
	Butterbur (SGB)	1.1	-	-	21	11	3	-	1.2	+
3	Sweet tea vine*3	-	-	4	-	-	-	-	-	N
4	Butterbur (HC)	-	-	-	-	-	-	-	-	N
	Valerian*4	-	-	-	-	-	-	-	-	N

Group: 1, With liver enlargement, markedly (>10-fold) enhanced hepatic CYP1A1 gene expression; 2, With liver enlargement, markedly (>10-fold) enhanced hepatic CYP gene expression involved in drug metabolism; 3, Without liver enlargement, moderately (>3-fold) enhanced hepatic CYP gene expression; 4, Without liver enlargement, no or subtle effect on hepatic CYP gene expression.

The numbers are multiples of the control group, indicating that there was a statistically significant enhancement (n = 6). -: No significant enhancement versus the control group.

Histopathological examination: +, Positive; N, Negative.

\*1: Referred to the paper (reference 1), and experiments of CYPs were performed using the same sample. \*2: Referred to the paper (reference 136). \*3: Referred to the paper (reference 3). \*4: Referred to the paper (reference 137).

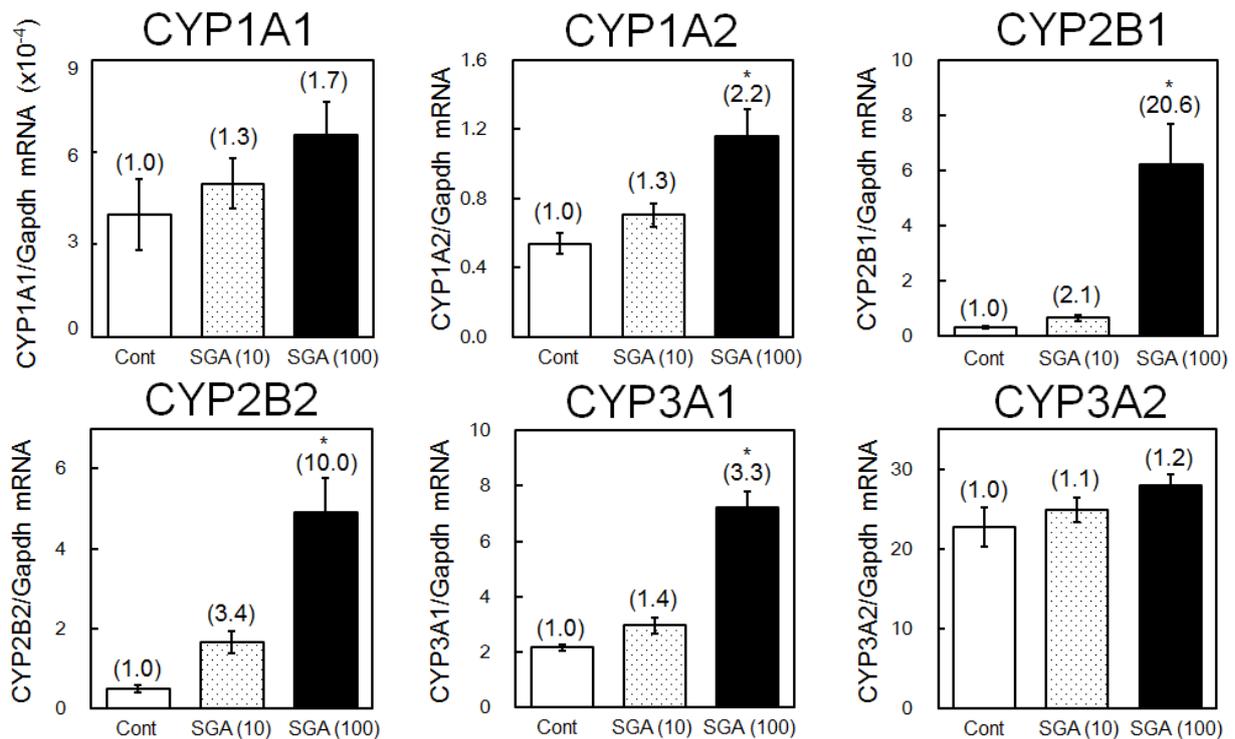


Fig. 3-1. Effects of SGA on mRNA expression of CYP, as analyzed by real-time RT-PCR. The rats were treated as described in the legend to Table 3-4. Data are the mean  $\pm$  SE of 6 rats. Values in parentheses above bars represent increase ratios (fold increase to Cont group). \*Statistically different from Cont group by ANOVA followed by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ).

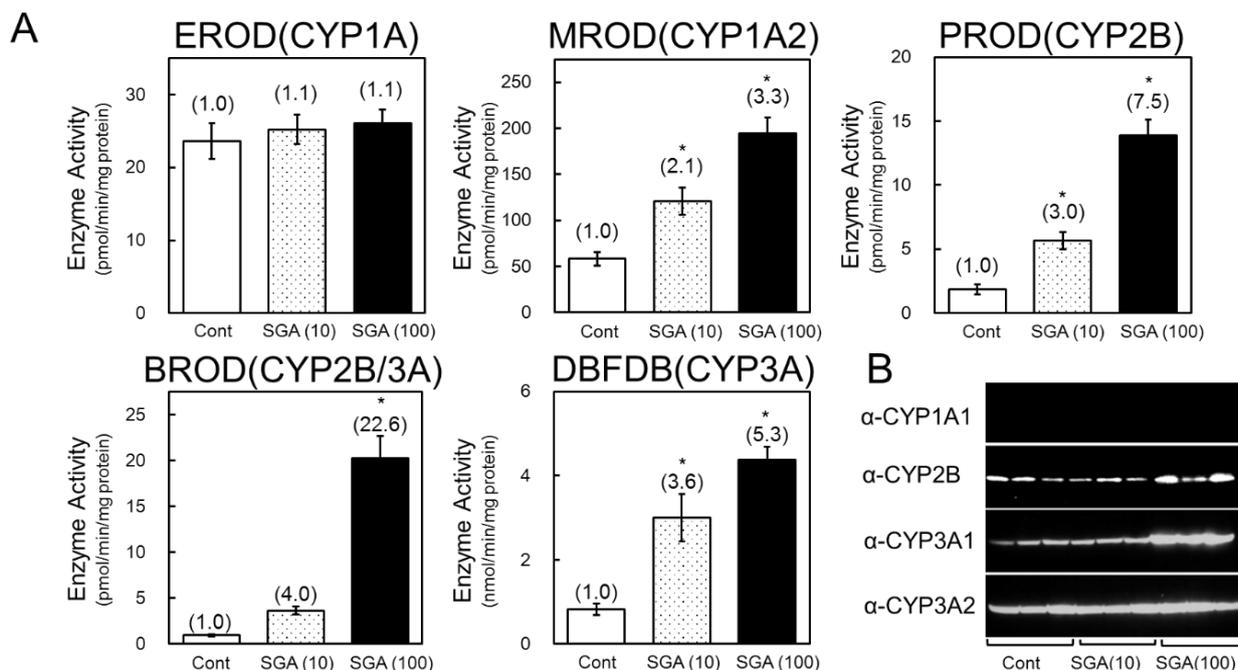


Fig. 3-2. Effects of SGA on enzyme assay of CYP and immunoreactive protein. The isoforms in parentheses correspond to those shown in Table 3-3.

The rats were treated as described in the legend to Table 3-4. (A) Effects of SGA on alkoxyresorfin *O*-dealkylase activities and dibenzylfluorescein-debenzylase activity. (B) Effects of SGA on liver microsomal proteins (20  $\mu$ g/lane) from representative rats of each group were analyzed by Western blotting. Data are the mean  $\pm$  SE of 6 rats. Values in parentheses above bars represent enhancement ratios (fold increase to Cont group). \*Statistically different from Cont group by ANOVA followed by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ).

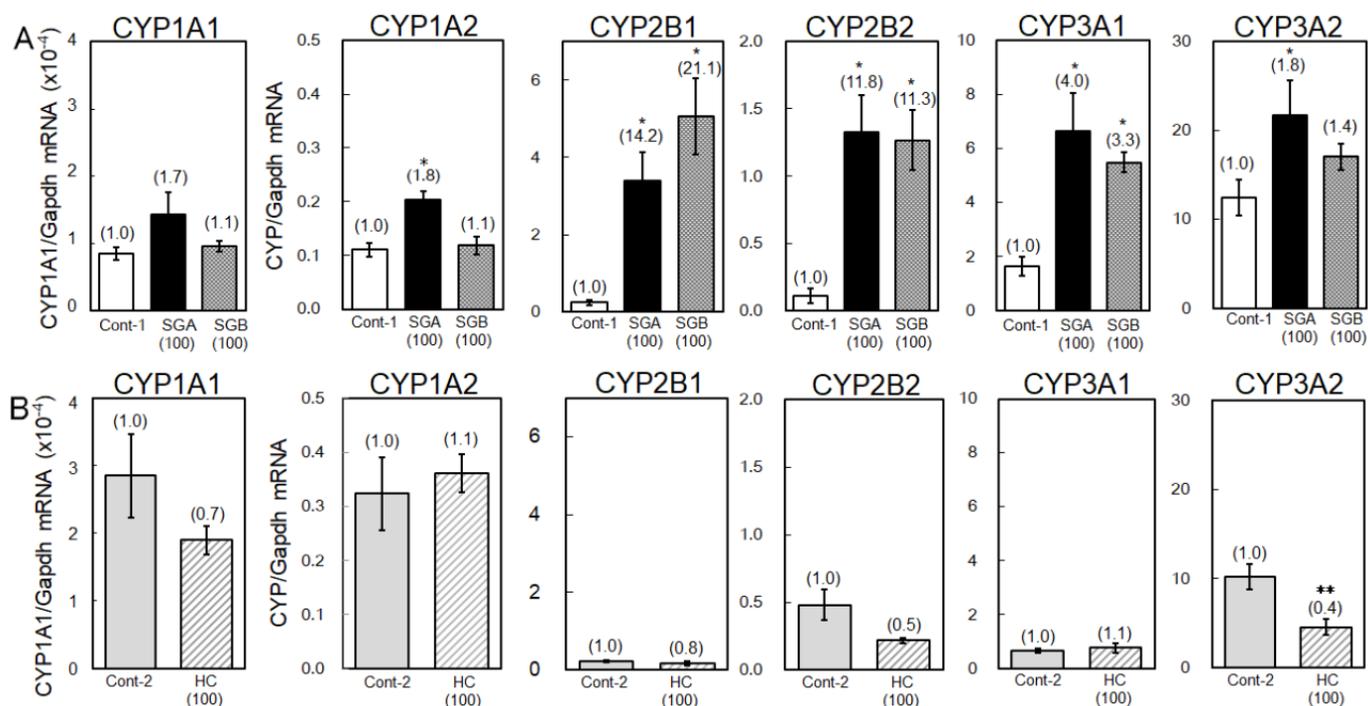


Fig. 3-3. Effects of the three butterbur products on mRNA expression of CYPs, as analyzed by real-time RT-PCR. (A) Effects of the two oily butterbur products on mRNA expression of CYPs. (B) Effects of the powdery butterbur product on mRNA expression of CYPs. The rats were treated as described in the legend to text and Table 3-5. Data are the mean  $\pm$  SE of 6 rats. Values in parentheses above bars represent the ratio of either increase or decrease (fold change to each control group). \*Statistically different from Cont-1 group by ANOVA followed by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ). \*\*Statistically different from Cont-2 by Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

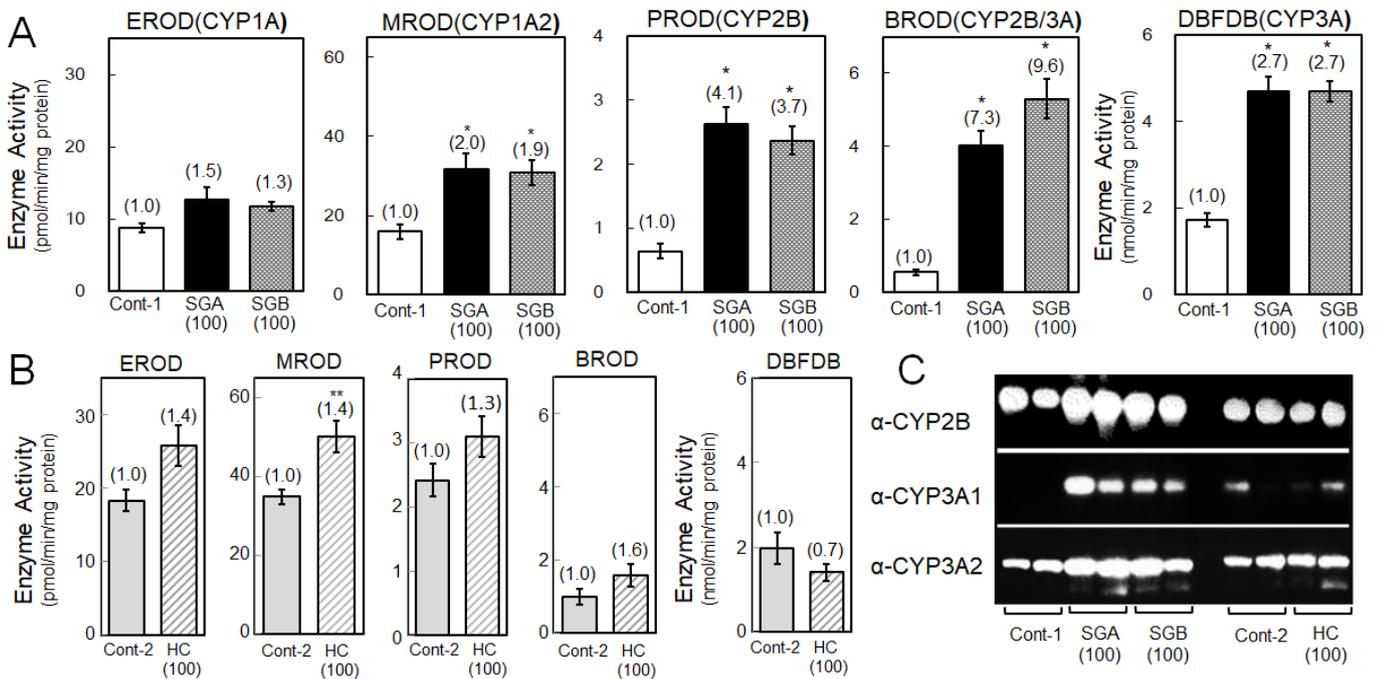


Fig. 3-4. Effects of the three butterbur products on enzyme activity of CYPs and immunoreactive protein. The rats were treated as described in the legend to text and Table 3-5. (A) Effects of the two oily butterbur products on the alkoxyresorfin *O*-dealkylase activities and dibenzylfluorescein-debenzylase activity. (B) Effects of the powdery butterbur product on the alkoxyresorfin *O*-dealkylase activities and dibenzylfluorescein-debenzylase activity. (C) Effects of the three butterbur products on liver microsomal proteins (20  $\mu$ g/lane) from representatives of each group were analyzed by Western blotting. Data are the mean  $\pm$  SE of 6 rats. Values in parentheses above bars represent the ratio of increase or decrease (fold change to each control group). \*Significantly different from Cont-1 group by ANOVA followed by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ). \*\*Statistically different from Cont-2 group by Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

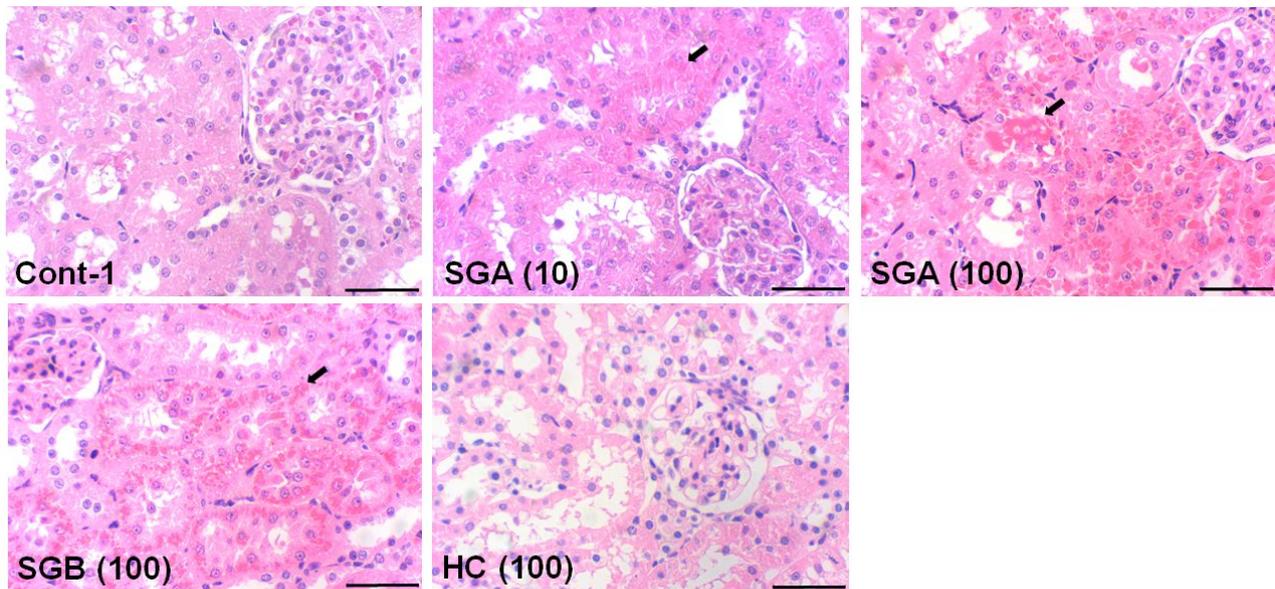


Fig. 3-5. Effects of the three butterbur products on histopathological examination of male rat kidneys stained with hematoxylin and eosin.

These microscopic images display representative pictures of each group. SGA (10), SGA (100), SGB (100); the arrows show red-colored droplets accumulated in the epithelial cells of proximal tubules. Scale bars show 50  $\mu\text{m}$ .

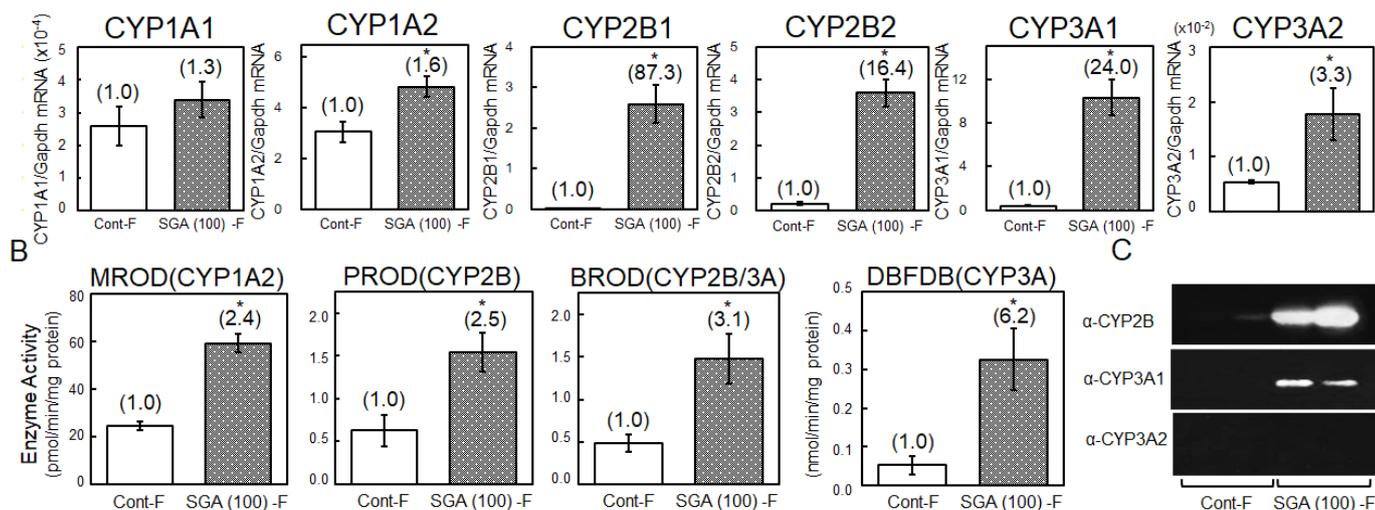


Fig. 3-6. Effects of SGA (100) on CYPs in female rat liver. The rats were treated as described in the legend to Table 3-6. (A) mRNA expression as analyzed by real-time RT-PCR. (B) Alkoxyresorfin O-dealkylase activities and dibenzylfluorescein-debenzylase activity (C) Liver microsomal immunoreactive proteins (20  $\mu$ g/lane) from representative rats of each group were analyzed by Western blotting. Data are the mean  $\pm$  SE of 6 rats. Values in parentheses above bars represent the increase ratios (fold change to Cont-F group). \*Statistically different from Cont-F by Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

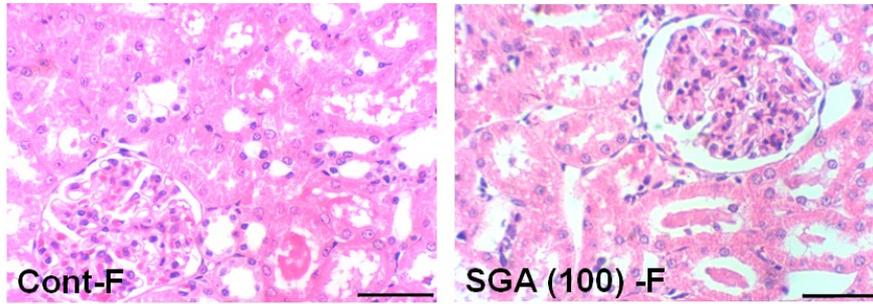


Fig. 3-7. Effects of SGA on histopathological examination of female rats kidneys stained with hematoxylin and eosin. These microscopic images show representative pictures of each group. Scale bar shows 50  $\mu$ m.

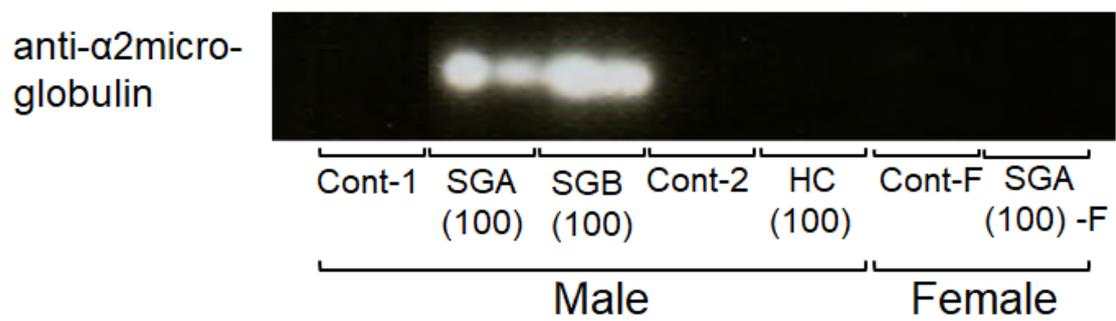


Fig. 3-8. Effects of the three butterbur products on  $\alpha$ 2 $\mu$ -globulin expression in male or female rats kidney proteins (100  $\mu$ g/lane) from representative rats of each group, as determined by Western blotting.

## 第4章 総括

多彩な健康食品が国内外で流通している。国内には健康増進法等が定める保健機能食品と根拠のない「いわゆる健康食品」がある。米国には Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (DSHEA: 栄養補助食品健康教育法) が規定する dietary supplement (DS) があり、日本で販売できない製品も、消費者はインターネット通販で入手できる。消費者が DS を含む健康食品を安全・安心に利用する基本は科学的根拠に基づく利用である。管理栄養士等の栄養の実践活動に携わる専門家は、消費者が健康被害や経済的損失を蒙らぬよう、健康食品の安全性や有効性に関する科学的根拠に基づく情報を公正公平に発信する役割がある。

著者はこれまで、管理栄養士養成に携わる立場として、食品の安全性を重視し、健康食品、とくに安全性・有効性の面で様々な問題を抱えるハーブサプリメント (HS) の安全・安心な利用に資するよう、資料調査研究また動物実験研究に関わってきた。著者の研究は、レギュラトリーサイエンス研究に位置づけられるが、本学位論文は、これまでの研究を発展させ、新たに下記研究1・2を実施し、成果をまとめた論文を支柱に構成されている。

### 【研究1】資料調査研究—日本で流通している健康食品の成分の安全性と有効性の科学的根拠に基づく評価は、健康食品のカテゴリーによって異なる—

日本で流通している健康食品は、保健機能食品と「いわゆる健康食品」に大別され、保健機能食品は、特定保健用食品 (個別評価型)、栄養機能食品 (規格基準型)、機能性表示食品 (届出制) のカテゴリーからなる。各カテゴリーの健康食品成分の安全性・有効性は、カテゴリー間で異なると推測されるが、検証されていない。本研究では、日本で流通している健康食品の成分について、Natural Medicines Comprehensive Database (NMCD) 冊子体による科学的根拠に基づく評価を指標に、カテゴリー間での安全性・有効性の評価の差異を検証した。

NMCD による安全性・有効性の評価 (名義変数) を評点 (順序変数) に割り当て、安全性評点と有効性評点、および合計点を有用性の指標として総合評点とし、ノンパラメトリック検定を実施した。

NMCD 未収録成分数の割合は、特定保健用食品で有意に高かった。Steel-Dwass 法による群間比較における平均順位は、栄養機能食品成分が特定保健用食品成分、栄養機能食品・特定保健用食品以外の「日本で人気の高い健康食品」成分よりも、安全性、有効性、および総合評点で有意に高かった。しかし、特定保健用食品と、栄養機能食品・特定保健用食品以外の「日本で人気の高い健康食品」の間に有意差はなかった。また、「日本で人気の高い健康食品」に含まれる機能性表示食品成分の平均順位は、保健機能食品以外の「日本で人気の高い健康食品」の安全性評点、有効性評点、および総合評点よりも有意に高かった。「日

本で人気の高い健康食品」成分のうちの栄養機能食品・特定保健用食品の成分については、売上高と有効性・総合評点の間に強い正の相関が認められた。

日本で流通している健康食品の成分は、法規制の違いによるカテゴリー間で、NMCD による安全性と有効性の評価に差が認められた。本研究では、国の基準を満たす栄養機能食品、また国が許可した特定保健用食品は、安全性・有効性の科学的根拠が高いであろうという推測を客観的手法で検証できた。

本研究の知見は、栄養業務に携わる専門家が日本の健康食品の法制度を理解し、安全性と有効性に関する科学的根拠に基づく健康食品の利用を促進するための参考になりうる。さらに、アジアの国々が健康食品の制度を構築する上で、本研究の成果は役立つと考える。

### 【研究 2】動物実験研究—肝臓シトクロム P450 mRNA 発現を主要指標とする、食品添加物の概念に基づくハーブサプリメント製品の安全性個別評価：バターバー (*Petasites hybridus*) 製品への適用—

上記研究 1 より、日本における法的根拠をもたない、DS を含む「いわゆる健康食品」は、問題点が少なくないと推察される。この研究 2 は、これらの利用にともなう健康被害の未然防止のための情報提供に資するよう、安全性評価法を検討した。本研究で対象とした健康食品素材は、「いわゆる健康食品」の中でも問題の多い HS 素材とした。HS の品質は、同じ植物種由来であっても、製品間で大きく異なる可能性があり、肝臓を標的として健康被害を引き起こすことが多い。一方、使用基準を遵守した食品添加物により生じる健康被害事例はほとんど見られない。これらを背景に、薬物代謝酵素シトクロム P450 (CYP) の遺伝子発現を主要な指標とし、食品添加物のリスク評価法を参照し、HS 製品の安全性を個別評価するための簡便な動物実験方法を設計した。本研究では、この方法をバターバー市販製品 3 種 (油性 : SGA, SGB. 粉末 : HC) に適用した。バターバーは片頭痛等に有効とされる。一方、重篤な肝障害への関与が疑われており、メカニズムは不明である。

各製品をラット胃内にそれぞれ 8 日間連日投与した。投与量は、食品添加物のリスク評価法を参照し、ヒトの単位体重当たりの一日摂取目安量 (SDI) の 100 倍とした。100 の係数は、動物実験で得られる無毒性量からヒトの一日摂取許容量を推定する際の不確実係数 (通常 100) に当たる。新規性ある下記結果が得られた。

- (1) 油性製品 2 種は、体重 100 g あたりの肝臓相対重量を軽度に増加させ、CYP2B の mRNA 発現を著しく (>10 倍)、CYP3A1 の mRNA 発現を中等度 (>3 倍) に増加させた。
- (2) 油性製品 2 種は、オスラットでのみ腎臓近位尿細管上皮細胞に  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの蓄積を生じた。

(3) 油性製品と異なり、粉末製品は(1)・(2)の顕著な影響を示さなかった。

(4) CYP2B・CYP3A1 の mRNA 発現に対する油性バターバー製品の投与の影響は、オスよりもメスラットで顕著であった。

バターバー油性製品の SDI の 100 倍量を投与したラットにおける事象(1)をヒトに外挿すると、同製品を推奨目安量で摂取しているヒトに CYP 遺伝子発現の増大を生じる可能性を否定できない。ラットの CYP2B1/2 および CYP3A1 は、ヒトの CYP2B6 および CYP3A4 に対応する。CYP2B6、CYP3A4 は多数の医薬品の代謝に関与する。これらの遺伝子発現の亢進は、医薬品の薬効変調やハーブ成分その他の生体異物の代謝活性化による有害作用に関わる可能性もある。(2)のバターバー投与による腎臓近位尿細管への  $\alpha 2\mu$ -グロブリンの蓄積は学問的に新規知見であるが、オスラットに限定され、ヒトへの外挿は考慮を要しない。また、粉末製品は CYP mRNA 発現への影響を示さなかった(3)。本研究で採用した、肝臓 CYP mRNA 発現を主要指標とし、食品添加物の概念に基づく HS 製品の安全性個別評価の実効性を検証できたと考える。(4)の知見は、バターバーの関与が疑われる重篤な肝障害の事例が女性に多いことと関わる可能性も推測される。CYP 遺伝子発現への影響の観点から、バターバーの利用にともなう肝障害のメカニズム追及に資すると推察される。

#### 【結語】

本研究では、食品安全分野のレギュラトリーサイエンス研究として、科学的根拠に基づく健康食品の利用に資することをめざした。

【研究1】日本の現在の健康食品制度が科学的根拠に裏付けられた制度であることを、栄養の実践活動を担う専門家、延いては消費者に示すことができたと考える。また、日本の健康食品制度を海外、特に健康食品の需要が高まっているアジアの人々に発信することで、各国の健康食品の状況や制度を見直す契機となり、各国における健康食品制度の構築に本研究のような調査研究が活かせる则认为。

【研究2】HSの安全性個別評価法を設計した。食品添加物のリスク評価手法を参照し、一日摂取目安量の100倍量を8日間ラットに投与し、肝臓CYP分子種のmRNA発現への影響を評価指標とした。バターバー製品に適用したところ、製品ごとの個別評価法の実効性が示唆された。また、油性製品は多くの医薬品の代謝に関わるCYP分子種の遺伝子発現を強く促進することが初めて示された。注意喚起に有益な情報が得られ、バターバーの利用にともなう肝障害のメカニズム追及に資する可能性のある知見が得られた。本研究のような個別評価の実施は、ハーブサプリメント製品や健康食品の安全性を確保する責任がある当事者にとって、消費者に情報を提供する上で有益である。

次に、本研究における限界と展望を述べる。

【研究1】統計解析から除外した欠損値の成分について、特定保健用食品では有効性評点で42.9%、総合評点で46.4%、日本で人気の高い健康食品については、安全性評点が24.5%、有用性評点が26.5%、総合評点が28.6%であった。特定保健用食品については、NMCDによる半数以上（36成分/64成分）の関与成分が未収録で安全性、有効性が評価できなかった。この理由については、第2章の考察にのべているように、特定保健用食品は日本固有の健康食品であり、NMCDが米国の民間機関によって構築されたデータベースであること、言語によるバイアスなどが考えられる。また、人気の高い健康食品として「ヘルスフールドレポート®」に掲載されていた売り上げの高い49成分について評価を行ったが、未掲載であった健康食品の有用性が不明である。本研究で統計解析を行った結果は、日本で流通する健康食品の一部であり、さらに多くの健康食品についての調査を行う場合は、国内向けの健康食品のデータベースを用いることによってNMCD未収録であった成分についての評価が可能となり、特定保健用食品、日本で人気高い健康食品についての新たな知見が得られる可能性が高い。掲載されていなかった成分の評価についても検討し、さらに国内外の健康食品の科学的根拠による評価と利用状況の現状把握に努めたい。

【研究2】本研究の安全性個別評価では、肝臓 mRNA の CYP 遺伝子発現を指標としているため、HS の影響が他の器官に及ぶ場合は安全性評価が困難である。バターバーにおいては、オスラットにのみ特徴的な腎臓尿細管に硝子滴沈着物が認められた、という研究成果につながった。また、製品ごとの個別評価が重要であることも研究成果として挙げているが、著者の研究室ですべての HS の安全性個別評価を行うことはできない。しかし、根拠もなく摂取量を決定していると思われる健康食品・HS に対して、本研究のような安全性個別評価試験を事業者や第三機関等が行うことで1つの科学的根拠による情報源となり、消費者を健康食品による健康被害から守る一端となると思われる。

kava で行った手法をバターバーに適応する際は、それぞれのハーブ成分や体内動態の比較・検討は行っていない。食品添加物の使用基準を参考にした、ヒトの一日摂取目安量の100倍量を8日間投与し、肝臓 mRNA 遺伝子発現を指標とする、という手法で対照群とどのように差があるかを比較する試験であり、製品ごとに行うことが重要であると考えている。ハーブサプリメントや健康食品には含有成分が不明なものも多いため、まず本研究のような安全性個別評価試験を行い、結果を一つの情報として当事者が得ること、消費者に向けて発信することが重要であると考えている。この個別評価試験により、対象としたハーブの安全性のすべてが評価できるわけではないが、上記に記したように一つの科学的根拠による情報源となり得ると思われる。しかしながら、評価を行ったハーブサプリメントを安全に利用し、人々の健康の保持・増進に役立つようにするためにはさらなる検討が必要であると考えている。

また、本研究では、腎臓尿細管の硝子滴沈着物の同定のためにメスラットにおける SDI の 100 倍量の SGA 製品の投与を行ったが、オスラットと同様、10 倍量投与や SGB、HG の 100 倍量の投与を行うことにより新たな知見が得られる可能性がある。上記にも述べたように、CYP2B・CYP3A1 の mRNA 発現に対する油性バター製品の影響は、オスラットよりもメスラットで顕著であった結果を考慮すると、CYP 分子種に性差をもたらすバター製品中の成分、あるいは性差による体内動態の差異の探究などは今後の課題である。

研究背景で述べたように、インターネットの普及により、消費者は安全性が不明瞭な健康食品や HS を海外からも簡単に入手できる。本研究のような安全性個別評価法を、国内だけではなく海外に向けての発信、普及は急務であると考えられる。

本研究を通じ、著者はこれまでの研究を発展させ、健康食品の科学的根拠に基づく利用に寄与する成果を得ることができた。管理栄養士として消費者の健康保持・増進のため、教員として指導する学生のために、本研究が役立つことを切に願う。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇篤なご指導ならびに本論文のご校閲を賜り、また研究の楽しさをご教授いただきました十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科教授 志村二三夫先生に深勤なる感謝の意を表します。

本研究を学位論文としてまとめるにあたり、主査ならびに副査として懇切丁寧なご指導とご鞭撻を賜りました十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科 教授 長尾昭彦先生、中村禎子先生に深く御礼申し上げます。

アドバイザーとしてご指導とご鞭撻を賜りました十文字学園女子大学 名誉教授 栗崎純一先生に深く御礼申し上げます。

多大なご支援ならびにご鞭撻を賜りました十文字学園女子大学人間生活学部食物栄養学科講師 山崎優子先生、助手 倉若美咲樹先生に厚く御礼申し上げます。

実験のご指導ならびに有益な助言を賜りました十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科 教授 山本茂先生、インディアナ大学 名誉教授 Andrew R. Durkin 先生、十文字学園女子大学人間生活学部食物栄養学科 准教授 金高有里先生、十文字学園女子大学人間生活学部健康栄養学科 准教授 佐々木菜穂先生、助手 有田安那先生、青森県立保健大学健康科学部栄養学科 助手 舘花春佳先生、十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科修了生 大熊まゆみ先生、十文字学園女子大学栄養生理・生化学研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。

最後にこれまでの研究生生活を見守り支えてくれた家族をはじめ全てのみなさまに心より深謝いたします。

## 文献

- 1) Yamazaki, Y., Hashida, H., Arita, A., Hamaguchi, K., Shimura, F., 2008. High dose of commercial products of kava (*Piper methysticum*) markedly enhanced hepatic cytochrome P450 1A1 mRNA expression with liver enlargement in rats. *Food Chem. Toxicol.* 46, 3732-3738.
- 2) 山崎優子, 端田寛子, 志村二三夫, 2011. 人気の高いハーブサプリメント素材の Natural Medicines Comprehensive Database に基づく安全性および有効性の評価検討. *栄養学雑誌.* 69, 267-279.
- 3) ブイ・ティ・ゴク・ハー, 端田寛子, 倉若美咲樹, 舘花春佳, 有田安那, 佐々木菜穂, 志村二三夫, 山崎優子, 2018. 食品添加物の安全性評価の手法に準じたアマチャヅル製品の安全性の検討. *十文字学園女子大学紀要.* 48 (2), 85-98.
- 4) 秋葉澄伯, 2018. 環境政策における意思決定とレギュラトリーサイエンス. *保健医療科学.* 67, 255-260.
- 5) 野口忠編著, 2010. 栄養・生化学辞典 (普及版) . 朝倉書店, 東京. p.316.
- 6) 下中直人編著, 2009. 世界大百科事典 14 巻. 平凡社, 東京. p.37-40.
- 7) 日本国語大辞典第 2 版編集委員, 小学館国語辞典編集部編, 2006. 日本国語大辞典第 2 版第 7 巻. 小学館, 東京. p.338.
- 8) 相賀徹夫編著, 2006. 日本大百科全書 12 巻. 小学館, 東京. p.226-227.
- 9) 文部科学省, 「文化を大切に作る社会の構築について—一人一人が心豊かに生きる社会を目指して」 (答申) (平成 4 年 4 月 2 4 日)
- 10) 志村二三夫, 2010. いわゆる健康食品. 独立行政法人国立健康・栄養研究所監修, 健康・栄養食品アドバイザーースタッフ・テキストブック第 7 版. 第一出版, 東京. p.178-202.
- 11) 清水俊雄, 2002. 食品の健康表示. 保健機能食品と健康食品. CMP ジャパン, 東京. p.8-10.
- 12) 荒井綜一, 1996. 食品機能研究の現状と将来の展望—新しい“医食同源”への途をさぐる—. *栄養と健康のライフサイエンス.* 1, 57-63.
- 13) 厚生労働省, 「健康食品」のホームページ. [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/hokenkinou/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/hokenkinou/index.html) (2019年12月2日閲覧)
- 14) 厚生労働省, 健康被害情報・無承認無許可医薬品情報. <https://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/musyounin.html> (2019年12月2日閲覧)
- 15) 健康産業新聞, 2018. 健食市場、2%増の1兆2,270億円 高齢者需要に陰り。

- ターゲットは50代（発行日：2018年1月9日）． [https://www.kenko-media.com/health\\_idst/archives/8020](https://www.kenko-media.com/health_idst/archives/8020)（2019年11月2日閲覧）
- 16) 清水俊雄, 2002. 食品の健康表示. 保健機能食品と健康食品. CMPジャパン, 東京. p.177-252.
  - 17) 梅垣敬三, 2010. 健康食品の現状と問題点, 独立行政法人国立健康・栄養研究所監修, 健康・栄養食品アドバイザーリースタッフ・テキストブック第7版. 第一出版, 東京. p.136-138.
  - 18) 消費者庁, 食品表示法等（法令及び一元化情報）：食品表示法の概要. [https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/food\\_labeling\\_act/pdf/130621\\_gaiyo.pdf](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/food_labeling_act/pdf/130621_gaiyo.pdf)（2019年12月2日閲覧）
  - 19) 消費者庁, 健康や栄養に関する表示の制度について 食品表示基準における栄養機能食品とは. [https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/health\\_promotion/pdf/food\\_labeling\\_cms206\\_20191126\\_11.pdf](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/health_promotion/pdf/food_labeling_cms206_20191126_11.pdf)（2019年12月2日閲覧）
  - 20) 消費者庁, 健康や栄養に関する表示の制度について, 機能性表示食品に関する情報. [https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/health\\_promotion/index.html#functional](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/health_promotion/index.html#functional)（2019年12月2日閲覧）
  - 21) 梅垣 敬三, 2019. 保健機能食品の安全性・有効性と効果的な利用, 栄養学雑誌. 77, 1-9.
  - 22) 厚生労働省, 都道府県等から報告を受けた事例（平成19年3月31日現在）「いわゆる健康食品」による健康被害事例. <https://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/jirei/030530-1.html>（2019年12月2日閲覧）
  - 23) Bas, I.S., Young, A.L., 1996. Dietary Supplement Health and Education Act-A Legislative, History and Analysis. The Food and Drug Law Institute, Washington DC, USA. p.319.
  - 24) 内山允, 1997. 補助食品（Dietary Supplements）の評価に関する現状と動向の調査研究: 健康と安全な食品の調査研究報告書（財団法人総合健康推進財団健康と安全な食品の研究会）. p.1-46.
  - 25) 厚生労働省, 日本医師会, 独立法人健康栄養研究所, 健康食品による健康被害の未然防止と拡大防止に向けて. [https://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/dl/pamph\\_healthfood.pdf](https://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/dl/pamph_healthfood.pdf)（2019年12月2日閲覧）
  - 26) Clauson, K.A., Peak, A.S., Marsh, W.A., et al., 2008, Clinical decision support tools: Focus on dietary supplement databases, Altern. Ther. Health Med., 14, 36-40.
  - 27) 厚生労働省, 健康食品の正しい利用法. [https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisaku\\_jouhou-11130500-Shokuhinanzenu/0000113706.pdf](https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisaku_jouhou-11130500-Shokuhinanzenu/0000113706.pdf)（2019年12月2日閲覧）
  - 28) Bown, D., 1995. Encyclopedia of Herbs & Their Uses, Dorling Kindersley, New York, p.424.

- 29) 道川優子, 志村二三夫, 2005. ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして連載のまとめと展望. *FOOD Style* 21. 9, 134-139.
- 30) 今堀和友, 山川民夫監修, 2007. 生化学事典第4版. 東京化学同人, 東京. p.974.
- 31) 海老塚豊監訳, 2004. 医薬品天然物化学原書第2版. 南江堂, 東京. p.7-8.
- 32) Brown, A.C., 2017. Liver toxicity related to herbs and dietary supplements: Online table of case reports. Part 2 of 5 series. *Food Chem. Toxicol.* 107 (Pt A), 472-501.
- 33) 食品安全基本政策研究会, [遂条解説]食品安全基本法解説, 2005. 大成出版社, 東京, p.18-19.
- 34) WHO (World Health Organization), 2017. Safety evaluation of certain food additives: prepared by the eighty-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) . <http://www.who.int/iris/handle/10665/258934> (2019年12月2日閲覧)
- 35) 食品安全委員会, リスク評価, <https://www.fsc.go.jp/hyouka/> (2019年12月2日閲覧)
- 36) Avigan, M.I., Mozersky, R.P., Seeff, L.B., 2016. Scientific and regulatory perspectives in herbal and dietary supplement associated hepatotoxicity in the United States. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 331.
- 37) de Boer, Y.S., Sherker, A.H., 2017. Herbal and dietary supplement-induced liver injury. *Clin. Liver Dis.* 21, 135-149.
- 38) Stickel, F., Kessebohm, K., Weimann, R., Seitz, H.K., 2011. Review of liver injury associated with dietary supplements. *Liver Int.* 31, 595-605.
- 39) Seeff, L.B., Bonkovsky, H.L., Navarro, V.J., Wang, G., 2015. Herbal products and the liver: A review of adverse effects and mechanisms. *Gastroenterology.* 148, 517-532.
- 40) Zheng, E.X., Navarro, V.J., 2015. Liver injury from herbal, dietary, and weight loss supplements: A review. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 3, 93-98.
- 41) Brewer, C.T., Chen, T., 2017. Hepatotoxicity of herbal supplements mediated by modulation of cytochrome P450. *Int. J. Mol. Sci.* 18, E2353.
- 42) Croom, E., 2012. Metabolism of Xenobiotics of Human Environments. Volume 112, in: Ernest Hodgson. (Eds.), *Progress in Molecular Biology and Translational Science.* Elsevier Inc., Amsterdam, p.31-88.
- 43) Sheweita S.A., 2000. Drug-metabolizing enzymes: Mechanisms and functions. *Curr. Drug Metab.* 1, 107-132.
- 44) Taki, Y., Yamazaki, Y., Shimura, F., Yamada, S., Umegaki, K., 2009. Time-

- dependent induction of hepatic cytochrome P450 enzyme activity and mRNA expression by bilobalide in rats. *J. Pharmacol. Sci.* 109, 459-462.
- 45) Virgona N, Yokotani K, Yamazaki Y, Shimura F, Chiba T, Taki Y, Yamada S, Shinozuka K, Murata M, Umegaki K., 2012. *Coleus forskohlii* extract induces hepatic cytochrome P450 enzymes in mice. *Food. Chem. Toxicol.* 50, 750-755.
  - 46) Pressman, P., Clemens, R., Hayes, W., Reddy, C., 2017. Food additive safety: A review of toxicologic and regulatory issues. *Toxicology Research and Application.* 1, 1-22.
  - 47) Magnuson, B., Munro, I., Abbot, P., Baldwin, N., Lopez-Garcia, R., Ly, K., McGirr, L., Roberts, A., Socolovsky, S., 2013. Review of the regulation and safety assessment of food substances in various countries and jurisdictions. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 30, 1147-1220.
  - 48) Diener, H.C., Freitag, F.G., Danesch, U., 2018. Safety profile of a special butterbur extract from *Petasites hybridus* in migraine prevention with emphasis on the liver. *Cephalalgia Reports.* 1, 1-8.
  - 49) 食品安全委員会：平成 30 年度食品安全モニター課題報告 「食品の安全性に関する意識等について」（概要）. <https://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/jirei/030530-1.html>（2019 年 11 月 29 日閲覧）
  - 50) 厚生労働省，食品添加物に関する規制の概要. [https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzentu/pamph01\\_10.pdf](https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzentu/pamph01_10.pdf)（2019 年 11 月 29 日閲覧）
  - 51) 健康産業流通新聞，2019. 東アジア市場 大きく拡大 3カ国合計 17年度3.5兆円（発行日：2019年6月6日）. <http://www.him-news.com/news/view/4439>（2019年11月2日閲覧）
  - 52) 武田猛，2016. TPP時代における機能性食品事業の海外展開，*生物工学会誌*，94, 610-614.
  - 53) 山田和彦，田中弘之，石見佳子，梅垣敬三，井出留美，2017. 保健機能食品の課題と展望. *日本栄養・食糧学会誌*，70, 91-99.
  - 54) 厚生労働省，Health Foods (Internet site)（英語版）. [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/hokenkinou/index\\_00010.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/hokenkinou/index_00010.html)（2019年11月2日閲覧）
  - 55) 厚生労働省，2019. Measures to Ensure Food Safety. p.9. <https://www.mhlw.go.jp/content/000535155.pdf>（2019年11月2日閲覧）
  - 56) Umegaki, K., 2015. Positive and Negative Aspects of Food with Health Claims in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol.* 61 Suppl, S133-135.
  - 57) 消費者庁，2019. Outline of Food Labelling Systems for Health and Nutrition.

- [https://www.caa.go.jp/en/policy/food\\_labeling/pdf/food\\_labeling\\_191001\\_0001.pdf](https://www.caa.go.jp/en/policy/food_labeling/pdf/food_labeling_191001_0001.pdf)  
(2019年11月2日閲覧)
- 58) 消費者庁食品表示企画課, 2018. <事業者向け> 食品表示法に基づく 栄養成分表示のための ガイドライン第2版 (平成30年5月18日訂正) . p.50-51.  
[https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/food\\_labeling\\_act/pdf/food\\_labeling\\_act\\_180518\\_0001.pdf](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/food_labeling_act/pdf/food_labeling_act_180518_0001.pdf) (2019年11月2日閲覧)
- 59) Yamada, K., Sato-Mito, N., Nagata, J., Umegaki, K., 2008. Health claim evidence requirements in Japan. *J. Nutr.* 138, 1192S-1198S.
- 60) 消費者庁, 2015. (Guidance for Industry) The system of "Foods with Function Claims" has been launched!, p.3. [https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/information/pamphlets/pdf/151224\\_2.pdf](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/information/pamphlets/pdf/151224_2.pdf) (2019年11月2日閲覧)
- 61) Jellin, J.M., Gregory, P.J., (Eds.), 2012. Pharmacist's Letter/Prescriber's Letter Natural Medicines Comprehensive Database. 13th ed. Therapeutic Research Faculty, Stockton, CA.
- 62) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所, 「健康食品」の安全性・有効性情報. <https://hfnet.nibiohn.go.jp/> (2019年11月2日閲覧)
- 63) 一般社団法人日本健康食品・サプリメント情報センター, 2017. 健康食品・サプリメント[成分]のすべて2017 ナチュラルメディスン・データベース. 同文書院, 東京.
- 64) 消費者庁, 特定保健用食品許可(承認)一覧 特定保健用食品許可(承認)品目一覧. [https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/health\\_promotion/#m02](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/health_promotion/#m02) (2019年2月19日閲覧)
- 65) 山の下出版, 2019. 2019年素材市場動向. ヘルスフードレポート®2019. 山の下出版, 東京. p.2-3.
- 66) Food and Drug Administration (FDA), Structure/Function Claims. <https://www.fda.gov/food/food-labeling-nutrition/structurefunction-claims> (2019年11月2日閲覧)
- 67) Food and Drug Administration (FDA), Question and Answer on Dietary Supplements. <https://www.fda.gov/food/information-consumers-using-dietary-supplements/questions-and-answers-dietary-supplements> (2019年11月2日閲覧)
- 68) 斉藤雅信, 萩野浩志, 2005. ノリオリゴペプチドとその主要成分Ala-Lys-Tyr-Ser-Tyrのラットにおける血圧低下作用. *日本栄養・食糧学会誌.* 58, 177-184.
- 69) 藤井繁佳, 浅野一郎, 尾崎和人, 熊王俊男, 2007. コーヒー豆由来のマンノオリゴ糖の食品への高度応用. *日本食品工学会誌.* 8, 231-238.
- 70) 中里光男, 小川仁志, 牛山博文, 小林千種, 只野敬子, 川合由華, 立石恭也, 田村行弘, 友松俊夫, 1996. 杜仲葉を主原料とした健康食品中のゲニポシド

- 酸及びカフェインの分析. 食品衛生学雑誌. 37, 343-350.
- 71) 厚生労働省, Food for Specified Health Uses (FOSHU). <https://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/fhc/02.html> (2019年11月2日閲覧) .
  - 72) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所, 特定保健用食品 (トクホ) の上手な利用法 (Ver.190405). <https://hfnet.nibiohn.go.jp/contents/detail1026.html> (2019年11月2日閲覧)
  - 73) Therapeutic Research Center. Natural Medicines database. <https://trchealthcare.com/natural-medicines/> (2019年11月2日閲覧)
  - 74) Asher, G.N., Corbett, A.H., Hawke, R.L., 2017. Common herbal dietary supplement-drug interactions. *Am. Fam. Physician.* 96, 101-107.
  - 75) Stedman, C., 2002. Herbal hepatotoxicity. *Semin. Liver Dis.* 22, 195-206.
  - 76) Kennedy, D.O., Wightman, E.L., 2011. Herbal extracts and phytochemicals: Plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Adv. Nutr.* 2, 32-50.
  - 77) Dolan, L.C., Matulka, R.A., Burdock, G.A., 2010. Naturally occurring food toxins. *Toxins (Basel).* 2, 2289-2332.
  - 78) van Breemen, R.B., 2015. Development of safe and effective botanical dietary supplements. *J. Med. Chem.* 58, 8360-8372.
  - 79) Calixto, J.B. 2000. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines or herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz. J. Med. Biol. Res.* 33, 179-189.
  - 80) Russmann, S., Lauterburg, B.H., Helbling, A., 2001. Kava hepatotoxicity. *Ann. Intern. Med.* 135, 68-69.
  - 81) Stickel, F., Baumüller, H.M., Seitz, K., Vasilakis, D., Seitz, G., Seitz, H.K., Schuppan, D.J., 2003. Hepatitis induced by Kava (*Piper methysticum rhizoma*). *J. Hepatol.* 39, 62-67.
  - 82) Whitton, P.A., Lau, A., Salisbury, A., Whitehouse, J., Evans, C.S., 2003. Kava lactones and the kava-kava controversy. *Phytochemistry.* 64, 673-679.
  - 83) Shimada, T., 2006. Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 21, 257-276.
  - 84) Bray, J., Sludden, J., Griffin, M.J., Cole, M., Verrill, M., Jamieson, D., Boddy, A.V., 2010. Influence of pharmacogenetics on response and toxicity in breast cancer patients treated with doxorubicin and cyclophosphamide. *Br. J. Cancer.* 102, 1003-1009.
  - 85) Izzo, A., Ernst, E., 2009. Interactions between herbal medicines and prescribed

- drugs: An updated systematic review. *Drugs*. 69, 1777-1798.
- 86) Hu, Z., Yang, X., Ho, P.C., Chan, S.Y., Heng, P.W., Chan, E., Duan, W., Koh, H.L., Zhou, S., 2005. Herb-drug interactions: A literature review. *Drugs*. 65, 1239-1282.
- 87) Ma, Q., Lu, A.Y., 2007. CYP1A induction and human risk assessment: An evolving tale of in vitro and in vivo studies. *Drug Metab. Dispos.* 35, 1009-1016.
- 88) Na, D.H., Ji, H.Y., Park, E.J., Kim, M.S., Liu, K.H., Lee, H.S., 2011. Evaluation of metabolism-mediated herb-drug interactions. *Arch. Pharm. Res.* 34, 1829-1842.
- 89) Taki, Y., Yokotani, K., Yamada, S., Shinozuka, K., Kubota, Y., Watanabe, Y., Umegaki, K., 2012. *Ginkgo biloba* extract attenuates warfarin-mediated anticoagulation through induction of hepatic cytochrome P450 enzymes by bilobalide in mice. *Phytomedicine*. 19, 177-182.
- 90) Yokotani, K., Virgona, N., Yamazaki, Y., Shimura, F., Chiba, T., Taki, Y., Yamada, S., Shinozuka, K., Murata, M., Umegaki, K., 2012. *Coleus forskohlii* extract induces hepatic cytochrome P450 enzymes in mice. *Food Chem. Toxicol.* 50, 750-755.
- 91) FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2006. Food safety risk analysis - A guide for national food safety authorities. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43718/9789251056042&lowbar/?sequence=1>  
(2019年11月2日閲覧)
- 92) Herrman, J.L., Younes, M., 1999. Background to the ADI/TDI/PTWI. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 30, S109-113.
- 93) アンドリュー・シェヴァリエ原著, 難波恒夫監訳, 2000. 世界薬用植物百科事典. 誠文堂新広社, 東京. p.244.
- 94) Aydın, A.A., Zerbes, V., Parlar, H., Letzel, T., 2003. The medical plant butterbur (*Petasites*): Analytical and physiological (re)view. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 75, 220-229.
- 95) Diener, H.C., Rahlfs, V.W., Danesch, U., 2004. The first placebo-controlled trial of a special butterbur root extract for the prevention of migraine: Reanalysis of efficacy criteria. *Eur. Neurol.* 51, 89-97.
- 96) Grossmann, M., Schmidramsl, H., 2000. An extract of *Petasites hybridus* is effective in the prophylaxis of migraine. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 38, 430-435.
- 97) Lipton, R.B., Göbel, H., Einhüpl, K.M., Wilks, K., Mauskop, A., 2004. *Petasites hybridus* root (butterbur) is an effective preventive treatment for migraine. *Neurology*. 63, 2240-2244.
- 98) Jellin, J.M., Gregory, P.J., (Eds.), 2012, Pharmacist's Letter/Prescriber's Letter

- Natural Medicines Comprehensive Database. 13th ed. Therapeutic Research Faculty, Stockton, CA, p.284-286.
- 99) Rajapakse, T., Pringsheim, T., 2016. Nutraceuticals in migraine: A summary of existing guidelines for use. *Headache*. 56, 808-816.
  - 100) Cingi, C., Conk-Dalay, M., Cakli, H., Bal, C., 2008. The effects of spirulina on allergic rhinitis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 265, 1219-1223.
  - 101) Prieto, J.M., 2014. Update on the efficacy and safety of Petadolex®, a butterbur extract for migraine prophylaxis. *Botanics: Targets and Therapy*. 4, 1-9.
  - 102) Slavin, M., Bourguignon, J., Jackson, K., Orciga, M.A., 2016. Impact of food components on in vitro calcitonin gene-related peptide secretion—A potential mechanism for dietary influence on migraine. *Nutrients*. 8, 406.
  - 103) Wang, Z.H., Hsu, H.W., Chou, J.C., Yu, C.H., Bau, D.T., Wang, G.J., Huang, C.Y., Wang, P.S., Wang, S.W., 2015. Cytotoxic effect of *S*-petasin and iso-*S*-petasin on the proliferation of human prostate cancer cells. *Anticancer Res*. 35, 191-199.
  - 104) Adachi, Y., Kanbayashi, Y., Harata, I., Ubagai, R., Takimoto, T., Suzuki, K., Miwa, T., Noguchi, Y., 2014. Petasin activates AMP-activated protein kinase and modulates glucose metabolism. *J. Nat. Prod.* 77, 1262-1269.
  - 105) MHRA (Medicines and Healthcare products Regulatory Agency) (UK), 2012. Consumers are advised not to take unlicensed Butterbur (*Petasites hybridus*) herbal remedies. <https://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20141206152918/http://www.mhra.gov.uk/Safetyinformation/Generalsafetyinformationandadvice/Herbalmedicines/Herbalsafetyupdates/Allherbalsafetyupdates/CON140849>. (2019年11月2日閲覧)
  - 106) Moreira, R., Pereira, D.M., Valentão, P., Andrade, P.B., 2018. Pyrrolizidine alkaloids: Chemistry, pharmacology, toxicology and food safety. *Int. J. Mol. Sci.* 19, pii: E1668.
  - 107) Chojkier, M., 2003. Hepatic sinusoidal-obstruction syndrome: Toxicity of pyrrolizidine alkaloids. *J. Hepatol.* 39, 437-46.
  - 108) Anderson, N., Meier, T., Borlak, J., 2009. Toxicogenomics applied to cultures of human hepatocytes enabled an identification of novel *Petasites hybridus* extracts for the treatment of migraine with improved hepatobiliary safety. *Toxicol Sci.* 112, 507-520.
  - 109) Guengerich, F.P., 1982. Microsomal enzymes involved in toxicology- analysis and separation. In: Hayes, A. W. (Eds.), *Principles and Methods of Toxicology*. Raven Press, New York, p.609-634.
  - 110) Kennedy, S.W., Lorenzen, A., James, C.A., Collins, B.T., 1993. Ethoxyresorufin-

- O*-deethylase and porphyrin analysis in chicken embryo hepatocyte cultures with a fluorescence multiwell plate reader. *Anal. Biochem.* 21, 102-112.
- 111) Hagemeyer, C.E., Bürck, C., Schwab, R., Knoth, R., Meyer, R.P., 2010. 7-Benzyloxyresorufin-*O*-dealkylase activity as a marker for measuring cytochrome P450 CYP3A induction in mouse liver. *Anal. Biochem.* 398, 104-111.
- 112) Stresser, D.M., Blanchard, A.P., Turner, S.D., Erve, J.C., Dandeneau, A.A., Mille, V.P., Crespi, C.L., 2000. Substrate-dependent modulation of CYP3A4 catalytic activity: Analysis of 27 test compounds with four fluorometric substrates. *Drug Metab. Dispos.* 28, 1440-1448.
- 113) Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227, 680-685.
- 114) 最新医学大辞典編集委員会編, 2005. 最新医学大辞典第3版. 医歯薬出版, 東京. p.332.
- 115) 出川雅邦, 化学物質による肝肥大誘導機序の解析を基盤とした肝発がんリスク評価系の構築 (研究課題番号0703) : 食品安全委員会食品安全総合情報システム/研究情報詳細評価案件ID : cho99920090703. <http://www.fsc.go.jp/fsciis/technicalResearch/show/cho99920090703> (2019年12月2日閲覧)
- 116) Dill, J.A., Lee, K.M., Renne, R.A., Miller, R.A., Fuciarelli, A.F., Gideon, K.M., Chan, P.C., Burka, L.T., Roycroft, J.H., 2003. Alpha 2 $\mu$ -globulin nephropathy and carcinogenicity following exposure to decalin (decahydronaphthalene) in F344/N rats. *Toxicol. Sci.* 72, 223-234.
- 117) Flamm, W.G., Lehman-McKeeman, L.D., 1991. The human relevance of the renal tumor-inducing potential of *d*-limonene in male rats: Implications for risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 13, 70-86.
- 118) Hard, G.C., 1998. Mechanisms of chemically induced renal carcinogenesis in the laboratory rodent. *Toxicol. Pathol.* 26, 104-112.
- 119) Henshall, J., Galetin, A., Harrison, A., Houston, J.B., 2008. Comparative analysis of CYP3A heteroactivation by steroid hormones and flavonoids in different in vitro systems and potential in vivo implications. *Drug Metab. Dispos.* 36, 1332-1340.
- 120) Zhuo-Qing, L., Li-Long, J., Dong-Sheng, Z., Jing, Z., Ling-Li, W., Zi-Tian, W., Xian, Z., Zi-Qi, S., Ping, L., Hui-Jun, L., 2018. The modulatory role of CYP3A4 in dictamnine-induced hepatotoxicity. *Front. Pharmacol.* 19, 1033.
- 121) Mizuno, K., Katoh, M., Okumura, H., Nakagawa, N., Negishi, T., Hashizume, T., Nakajima, M., Yokoi, T., 2009. Metabolic activation of benzodiazepines by CYP3A4. *Drug Metab. Dispos.* 37, 345-351.
- 122) Imaoka, S., Yamada T., Hiroi T., Hayashi K., Sakaki T., Yabusaki Y., Funae Y.,

1996. Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. Systematic characterization and comparison with those of the rat. *Biochem. Pharmacol.* 51, 1041-1050.
- 123) Hedrich, W.D., Hassan, H.E., Wang, H., 2016. Insights into CYP2B6-mediated drug-drug interactions. *Acta pharmaceutica Sinica B.* 6, 413–425.
- 124) Zanger, U.M., Schwab, M., 2013. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol. Ther.* 138, 103-141.
- 125) Galetin, A., Ito, K., Hallifax, D., Houston, J.B., 2005. CYP3A4 substrate selection and substitution in the prediction of potential drug-drug interactions. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 314, 180-190.
- 126) Zhou, S., Chan, E., Pan, S.Q., Huang, M., Lee, E.J., 2004. Pharmacokinetic interactions of drugs with St John's wort. *J. Psychopharmacol.* 18, 262-276.
- 127) Dasgupta, A., 2008. Herbal supplements and therapeutic drug monitoring: Focus on digoxin immunoassays and interactions with St. John's wort. *Ther. Drug Monit.* 30, 212-217.
- 128) Swenberg, J.A., Short, B., Borghoff, S., Strasser, J., Charbonneau, M., 1989. The comparative pathobiology of alpha 2 $\mu$ -globulin nephropathy. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 97, 35-46.
- 129) Alison, R.H., Capen, C.C., Prentice, D.E., 1994. Neoplastic lesions of questionable significance to humans. *Toxicol. Pathol.* 22, 179-186.
- 130) Read, N.G., Astbury, P.J., Morgan, R.J., Parsons, D.N., Port, C.J., 1988. Induction and exacerbation of hyaline droplet formation in the proximal tubular cells of the kidneys from male rats receiving a variety of pharmacological agents. *Toxicology.* 52, 81-101.
- 131) Swenberg, J.A., 1993. Alpha 2 $\mu$ -globulin nephropathy: Review of the cellular and molecular mechanisms involved and their implications for human risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 101, 39-44.
- 132) Sierra-Santoyo, A., Hernández, M., Albores, A., Cebrián, M.E., 2000. Sex-dependent regulation of hepatic cytochrome P-450 by DDT. *Toxicol. Sci.* 54, 81-7.
- 133) Oropeza-Hernández LF, López-Romero R, Albores A., 2003. Hepatic CYP1A, 2B, 2C, 2E and 3A regulation by methoxychlor in male and female rats. *Toxicol. Lett.* 144, 93-103.
- 134) Fu, P.P., Xia, Q., Guo, L., Yu, H., Chan, P.C., 2008. Toxicity of kava kava. *J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 26, 89-112.
- 135) Teschke, R., 2010. Kava hepatotoxicity. A clinical review. *Ann. Hepatol.* 9, 251-

265.

- 136) 志村二三夫, 2015. 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 いわゆる健康食品による健康被害情報の因果関係解析法と報告手法に関する調査研究 平成26年度総括・分担研究報告書 (主任研究者 梅垣敬三) . <https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=201426006A>, p.36. (2019年12月2日閲覧)
- 137) 志村二三夫, 2004. 厚生労働科学研究：食品安全確保研究事業 特定保健用食材の安全性及び有用性に関する研究 平成15年度総括・分担研究報告書 (主任研究者 池上幸江) . <https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=200301194A>, p.96. (2019年12月2日閲覧)