

Nutrox Sun® および13種の植物素材を含有する食品の日焼け予防効果 —MEDを用いたダブルブラインド比較試験—

Sun protection effects of food containing Nutrox Sun® and 13 kind of plant materials — A randomized, placebo-controlled, double-blind study with MED —

金子 剛^{*1}

Takeshi Kaneko

宮田晃史^{*2}

Akinobu Miyata

弥富圭一郎^{*3}

Keiichiro Yatomi

Key words: シトラス果汁 (citrus juice), ローズマリー葉エキス (rosemary leaf extract), 日焼け止め (sunscreens), 最小紅斑紫外線量 (minimal erythema dose; MED), 肌明度 (whiteness of complexion), シミ (spot), L*値 (L* value), メラニン (Melanin)

要約

目的: Nutrox Sun® (シトラス果汁、ローズマリー葉エキス) および13種の植物素材を含有する「WHITE VEIL ホワイトヴェール」(以下、WV)の日焼け予防効果を確認するため、ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を行った。

方法: 20歳以上59歳以下の健康な成人男性にWVを毎朝1回4粒、8週間継続して摂取させ、被験者の背中に紫外線を照射して判定したMED(最小紅斑紫外線量)スコアと、被験者の顔肌の明度、メラニン、シミを評価した。

結果: ベースラインのMEDスコアに偏りがないように2群に割付け試験品の摂取を開始し、40人(WV群21人、プラセボ群19人)が試験を完遂した。解析対象は38人(WV群20人、プラセボ群18人)だった。MEDスコアに関して、各群の摂取前と8週後の変化量を比較した結果、群間の有意な差がみられ、WV群

はプラセボ群よりも日焼けしにくかった。シミスコアについてもWV群はプラセボ群よりも有意に改善した。8週の試験期間中に有害事象は発生せず、試験品の安全性が確認された。

はじめに

我が国では超高齢化社会が到来し健康への関心が一層高まっているが、特に女性にとっては、健康で若々しい肌を保つことが大切と考えられている。同時に多くの研究により皮膚に対する紫外線の有害性が広く認知されている。紫外線はシワ・シミなどの光老化現象を引き起こすだけでなく、皮膚がんの発生や免疫抑制にも影響することがわかっており¹⁾、紫外線を防ぐためのUV化粧品が数多く販売されている²⁾。一方、肌に塗布して日焼けを防ぐ化粧品とは違い、身体の内側からケアすることで日焼けを予防するというサプリメントが販売され話題となっている。そこで我々は、Nutrox Sun® (シトラス果汁

及びローズマリー葉エキス)および13種の植物素材を含有する「WHITE VEIL ホワイトヴェール」を継続的に摂取することによって、日焼け予防効果が促進されるかについて、プラセボを用いて無作為化二重盲検並行群間比較試験を行ったので報告する。

対象および方法

1. 試験デザイン

一般財団法人日本臨床試験協会(JACTA)(東京)および株式会社SOUKEN(東京、以下SOUKEN)を試験機関とし、宮田晃史(日本橋エムズクリニック院長、東京)を試験総括責任医師として、無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を実施した。測定はSOUKEN内検査室にて行った。

2. 対象者

SOUKENが一般募集し、以下の選択基準を満たし除外基準に合致せず、被験品の摂取を自ら希望する者を被験者とした。

1) 選択基準

- ①年齢20歳以上59歳以下の健康な日本人男性
- ②紫外線感受性が高い者

2) 除外基準

- ①試験結果に影響する可能性があると思われる薬(日焼け止めや美白に関連するもの)を服用または塗布している者
- ②試験結果に影響する可能性があると思われる健康食品(日焼け止めや美白に関連するもの)を日常的に摂取している者
- ③被験品成分によりアレルギー症状を示す恐れのある者
- ④他の臨床試験に参加している者
- ⑤日焼けにより水ぶくれを生じる者
- ⑥皮膚過敏感症の者
- ⑦観察部位に炎症や皮膚疾患がみられる者

⑧試験総括責任医師が適切でないと認めた者

3. 倫理審査委員会および被験者の同意

本試験はヘルシンキ宣言および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に則り、薬事法有識者会議倫理審査委員会(委員長:宝賀寿男 弁護士)の承認を得た。SOUKENは試験開始前に、被験者に対し個別に本試験の目的と方法を十分に説明し、被験者から自由意思に基づく同意を得て実施された。

4. 試験品

試験品は、株式会社ZERO PLUSより提供された。Nutrox Sun®(シトラス果汁及びローズマリー葉エキス)を配合した「WHITE VEIL ホワイトヴェール」を介入品(以下、WV)、有効成分を含まないプラセボを対照品(以下、プラセボ)として使用し、形、色、味、匂いで判別できないように、全てのパッケージに識別シール(赤または青)をつけて管理した。試験品の原材料を表1(1-2)に示す。毎朝1回4粒(計1,012mg、Nutrox Sun® 250mg)をお湯または水と一緒に嚙まずに摂取し、8週間継続させた。試験品は、直射日光を避け、冷所または暗所に保管するよう指示した。

5. 無作為化

選択基準を満たし除外基準に合致しない50人を

表1-1 WVの原材料

シトラス果汁及びローズマリー葉エキス末、混合ハーブエキス(グアバ、ホーリーバジル、セスバニア、レモン皮、アムラ、ベニコキ種子)、植物プラセンタ(メロン胎座抽出物、デキストリン)、バラ花びら抽出物、ザクロエキスパウダー、トマトパウダー(リコピン含有)、マリーゴールド抽出物、クチナシ、アーティーチョーク葉エキス/結晶セルロース、微粒二酸化ケイ素、ステアリン酸Ca、セラック、ビタミンD

表1-2 プラセボの原材料

デキストリン、結晶セルロース、クチナシ色素、ベニコウジ色素、ステアリン酸Ca、微粒二酸化ケイ素

選択し、試験を開始した。初回の紫外線照射を行い、ベースラインとなるMED（最小紅斑紫外線量、評価項目-1.参照）³⁾⁴⁾判定の後に、試験に直接関与しない割付者がMEDスコアに偏りがないように被験者を赤グループと青グループに任意に振り分けた。割付内容は割付者が厳重に保管し、試験実施により得られた測定データ類の固定後に試験実施機関に開示した。赤グループはWVを摂取、青グループはプラセボを摂取した。

6. 試験スケジュール

試験スケジュールを図1に示した。試験期間は2017年11月から2018年3月とした。1回目の紫外線照射から24時間後にベースラインのMEDを判定し、割付後に試験品の摂取を開始した。8週後に2回目の紫外線照射を行い照射から24時間後に摂取後のMEDを判定した。また、4回の来所のうち1回目と3回目に顔肌の測定を実施した。試験期間中は、試験開始前と同様の生活を維持し（睡眠、食事、生活全般）、過剰な紫外線の暴露を避けること、新たにサプリメントの摂取を開始しないこと、試験開始前までに使用していたスキンケアアイテムの変

更をしないことを指示した。

評価項目

1. MED

来所後に各被験者は温度22 ± 2°C、湿度50 ± 10RH%に維持された部屋で20分待機した後に、キセノンアークソーラーシミュレーター（放射強度290nmから400nmの範囲の電磁放射 WBS-10C × 6F-5UV、株式会社ワコム電創）を用い、6ヶ所（1ヶ所あたり約0.8cm²の照射野）照射した（表2）。被験者は翌日の同じ時間に来所し、紫外線を照射してから24時間後に、研究員が被照射部位の2/3以上の面積に境界明瞭な僅かな紅斑を最初に惹起する最小の紫外線量（最小紅斑紫外線量、minimal erythema dose; MED）を判定し³⁾⁴⁾、MEDスコアを評価した（表2）。照射エネルギーが少ない（MEDスコアが低い）ほど日焼けしやすく、照射エネルギーが多い（MEDスコアが高い）ほど日焼けしにくい。

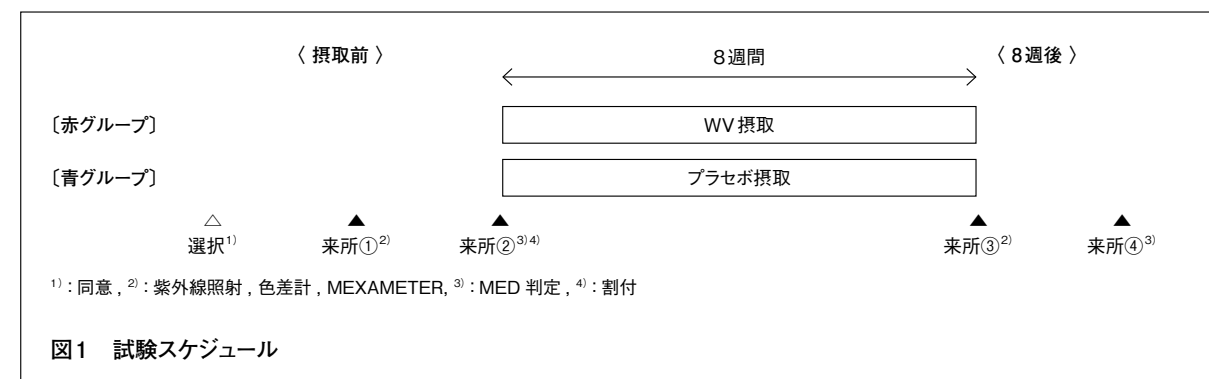


表2 MEDスコア基準

SPF種別	A	B	C	D	E	F
換算照度 (mW/cm ²)	20.3	24.5	29.3	35.1	42.2	50.6
換算エネルギー (mJ/cm ² ・s)	508	613	733	878	1,055	1,265
MEDスコア	1	2	3	4	5	6*

*: 判別不能（紅斑が認められない）も含む

2. 明度

2回の観察日に、被験者は市販の洗顔料で洗顔後、温度22 ± 2°C、湿度50 ± 10RH%に維持された部屋で20分間安静にして肌を馴化した後、研究員が色差計（SPECTROPHOTOMETER NF333、日本電色工業株式会社）を用いて肌明度の測定をした。右耳朶下の付根と右小鼻とを結んだ直線上の小鼻から3cmの部分をも3回以上測定し中央値を採用、Lab法によるL*値を評価した。

3. メラニン

肌色を測定した後、研究員がMEXAMETER® MX18（Courage+Khazaka electronic GmbH）を用いてメラニン量を測定した。右耳朶下の付け根と唇右端とを結び右耳朶下の付け根から5cm、5.5cm、6cmの部分（ホクロとシミは避ける）を3回測定し中央値を採用した。

4. シミ

機器の測定後に、検査員が、VISIA® Generation7（Canfield Scientific Inc.）にて被験者の右顔面の写真を撮影した。撮影した写真から、Trained Expertが被験者の右頬部分のシミの状態をスコア付けした。摂取前の状態を0点として、8週後のシミの状態が大きく改善した場合を3点、改善した場合を2点、少し改善した場合を1点、不変の場合を0点、少し悪化した場合を-1点、悪化した場合を-2点、大きく悪化した場合を-3点とし7段階の評価を行った。

5. 統計処理

各スコア及び測定値は平均値 ± 標準偏差で示した。

各群の摂取前と摂取後の変化量について、Studentのt検定を用いて群間比較した。各群それぞれの摂取前と摂取後の比較については対応のあるt検定を行った。被験者背景の偏りについてはStudentのt検定を行った。

解析対象はPPS（per protocol set）とし、試験を完遂した被験者のうちキーオープン前に、①試験品の摂取率が80%未満の者、②日誌の欠損など検査結果の信頼性を損なう行為が顕著な者、③除外基準に該当するか除外する正当な理由がある者、を除き解析を行った。サンプルサイズとデータの多重性は考慮せず、欠損値はなかった。いずれも両側検定で危険率5%未満（p<0.05）を有意差ありと判定し、統計解析ソフトは、Statcel 4（柳井久江, 2015）を使用した。

結果

1. 被験者背景

応募者67人から女性と皮膚過敏症の17人を除外し、50人が1回目の紫外線照射を受けた。照射から24時間後のMED判定において紅斑の程度が適正でない者はおらず、割付担当者が25人ずつ2群に振り分け、試験品の摂取を開始した。途中10人（WV群4人、プラセボ群6人）が急な仕事または体調不良を理由とする自己都合で脱落し、40人（WV群21人、プラセボ群19人）が試験を完遂した。完遂した被験者（FAS）のうち、除外理由に相当する2人（WV群1人、プラセボ群1人）を除外し、解析対象は38人（WV群20人、プラセボ群18人）だった。

表3 被験者背景（解析対象者）

項目	単位	WV群 (n=20)	プラセボ群 (n=18)
年齢*	歳	42.7 ± 10.7	48.7 ± 7.2
MEDスコア（ベースライン）*	スコア	2.5 ± 1.9	2.8 ± 2.1

平均値 ± 標準偏差
no significant difference

た(年齢24-59歳、平均45.6 ± 9.6歳)。被験者の背景を表3に示す。被験者の年齢、ベースラインのMEDスコアに関してWV群とプラセボ群の偏りはなかった。

2. MED

スコアの推移を表4に示す。各群の摂取前から8wの変化量を群間比較したところ、WV群はプラセボ群よりも有意に日焼けしにくくなった。WV群については摂取前と比べて8週後に有意な変化はみられなかったが、プラセボ群は摂取前と比べて8w後にスコアが有意に低下し、日焼けしやすくなった。

3. 肌明度

L* 値の推移を表4に示す。各群の摂取前から8wの変化量を群間比較したところ、WV群とプラセボ群に有意な差はみられなかった。また、WV群、プラセボ群いずれも摂取前と8w後の有意な変化はみられなかった。

4. メラニン

メラニン量の推移を表4に示す。各群の摂取前から8wの変化量を群間比較したところ、WV群とプラセボ群に有意な差はみられなかった。また、WV

群、プラセボ群いずれも摂取前と8w後の有意な変化はみられなかった。

5. シミ

スコアの推移を表4に示す。各群の摂取前から8wの変化量を群間比較したところ、WV群はプラセボ群よりも有意に改善した。WV群については摂取前と比べて8週後に有意な変化がみられたが、プラセボ群に有意な変化はみられなかった。

6. 有害事象

紫外線照射によるMED評価、顔肌の測定、および日誌による生活習慣と有害事象の調査の結果より、本試験において有害事象の発現はみられなかった。

考察

我々は、Nutrox Sun® (シトラス果汁及びローズマリー葉エキス) および13種の植物素材を含有する「WHITE VEIL ホワイトヴェール」を摂取することによる日焼け予防効果を検証するため、無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を行った。毎日4粒を8週間継続して摂取すると、WV群はプ

ラセボ群と比較して、MEDスコアが有意に上昇し日焼け予防効果が促進されたことが認められた。また、8週間の試験期間中に有害事象は発生せず、試験品を摂取することによる安全性が確認された。

橘やシークワーサーをはじめとして、日本人は古来より柑橘類を育て摂取してきた。「シトラス果汁」は日本人にとってはとてもなじみ深い食品と言える。柑橘類には抗酸化作用や肥満予防効果があることは広く知られているが、柑橘類を含むフラボノイドには抗炎症効果⁵⁾、血中脂質改善⁶⁾、血圧改善⁷⁾、がん予防⁸⁾、認知機能改善⁹⁾などの機能があるとされる。また最近の研究では、光老化を抑制する作用機序も解明されている¹⁰⁾。一方、ローズマリーは地中海原産のシソ科の常緑低木で、現代の日本では主にハーブとして料理やお茶に使われることが多いが、抗酸化機能をもつポリフェノールを多く含むことが知られており¹¹⁾¹²⁾、光老化を抑制するという研究結果もある¹³⁾。ともに抗酸化作用および光老化抑制作用を持つ、シトラスフラボノイドとローズマリーポリフェノールを含むサプリメントがスペインで開発された(Nutrox Sun®, Monteloeder S.L.)。Nutrox Sun®を配合した食品は、ニュージーランド、シンガポール、フィンランド、タイなど多くの国で販売されており、Nutrox Sun®の日焼け予防効果が検証され、効果が認められている¹⁴⁾¹⁵⁾。しかしこれらのヒト臨床試験はスペインで実施されており、日本人を対象としたRCTは見つからなかった。今回我々は、Nutrox Sun®が日本人に与える影響を検証するため、プラセボを用いてダブルブラインド比較試験を実施した。紫外線が皮膚に到達するのを抑制する機能を持つ化粧品のことを「紫外線防止用化粧品」と言い、その機能を示す指標として、SPF (Sun Protection Factor) が世界的に認められている。日本では、1991年に日本化粧品工業連合会がSPF測定法基準を発効させ、国内におけるSPF測定方法が統一された。

その後国際的な協調がなされてきたが、いずれもヒトの背部に紫外線を照射して防止効果を検証するin vivo法である。今回我々は日焼け予防効果を検証するために、SPF測定法基準³⁾⁴⁾に準拠してMED(最小紅斑紫外線量)を採用したが、前出のNobileら¹⁴⁾とPérez-Sánchezら¹⁵⁾も主要アウトカムとしてMEDを採用していた。NobileらはNutrox Sun® 100mgまたは250mg/1日を2か月間摂取すると、プラセボ群と比較してMEDが有意に上昇した(2週後、4週後、8週後に有意差あり)。Pérez-SánchezらはNutrox Sun® 250mg/1日を85日間摂取する単群オープン試験で、57日後と85日後にMEDが有意に上昇した。いずれの結果も、WVを8週間摂取するとMEDスコアが上昇したと一致している。また、シミスコアについてもWV群はプラセボ群と比べて8週後に有意に改善したことから、本試験の結果が支持されたと考える。

他方、メラニン量については、プラセボ群は8週後に増加したのに対し、WV群は減少しており、日焼けが予防できたことが分かった。被験者は全員男性で、顔に日焼け止めクリームを塗布するなどの特別なUV対策は行わなかったため、紫外線を照射した背中と違い、顔肌は日常生活での軽度の日焼けがあったことが推測される。

まとめ

Nutrox Sun® (シトラス果汁及びローズマリー葉エキス) および13種の植物素材を含有する食品「WHITE VEIL ホワイトヴェール」を8週間継続して摂取することにより、日焼け予防が促進され、シミが改善した。さらに摂取による安全性も確認された。

表4 測定値の結果

項目	単位	時点	WV群 (n=20) ¹⁾	プラセボ群 (n=18) ¹⁾	P値 ²⁾
MEDスコア	スコア	摂取前	2.5 ± 1.9	2.8 ± 2.1	
		8週後	2.9 ± 2.2	1.8 ± 1.7	
		Δ 0-8w	0.5 ± 2.4	-1.0 ± 1.5 *	0.035 *
L* 値	指数	摂取前	50.67 ± 2.80	50.35 ± 2.23	
		8週後	49.97 ± 4.67	50.32 ± 2.16	
		Δ 0-8w	-0.70 ± 3.29	-0.03 ± 1.31	0.421
メラニン量	指数	摂取前	198.4 ± 35.5	195.0 ± 40.8	
		8週後	197.2 ± 44.0	198.7 ± 34.2	
		Δ 0-8w	-1.2 ± 23.3	3.7 ± 19.2	0.490
シミスコア	スコア	摂取前	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	
		8週後	0.40 ± 0.68	-0.28 ± 0.83	
		Δ 0-8w	0.40 ± 0.68 *	-0.28 ± 0.83	0.009 **

平均値±標準偏差
1) * p<0.05 vs. 摂取前
2) # p<0.05, ## p<0.01 vs. プラセボ群

【参考文献】

- 1) 市橋正光. 紫外線による皮膚障害とアレルギー疾患. アレルギー . 2007,56 (7), 670-8.
- 2) 中西美樹. 日焼け止め化粧料の特性と有用性評価. 表面科学. 2014, 35 (1), 40-4.
- 3) 日本化粧品工業連合会. 日本化粧品工業連合会 SPF測定法基準 <2007年改訂版> .平成19年7月10日.
- 4) 佐藤潔. 紫外線防止効果測定について - SPF・PA測定法の現状と課題, 光老化を防御する 一光に関する基本知識から最新のサンケア製品まで-. 日本化粧品学会誌. 2017,41 (1), 44- 8.
- 5) Galati EM, Monforte MT, et al. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. Farmaco 1994, 40 (11), 709-12.
- 6) Monforte MT, Trovato A, et al. Biological effects of hesperidin, a Citrus flavonoid. (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. Farmaco. 1995, 50 (9), 595-9.
- 7) Galati EM, Trovato A, et al. Biological effects of hesperidin, a Citrus flavonoid. (Note III): antihypertensive and diuretic activity in rat. Farmaco. 1996, 51 (3), 219-21.
- 8) Gao K, Henning SM, et al. The citrus flavonoid naringenin stimulates DNA repair in prostate cancer cells. J Nutr Biochem. 2006,17 (2), 89-95.
- 9) Kumar A, Dogra S, et al. Protective effect of naringin, a citrus flavonoid, against colchicine- induced cognitive dysfunction and oxidative damage in rats. J Med Food. 2010,13 (4), 976-84.
- 10) Jung SK, Ha SJ, et al. Naringenin targets ERK2 and suppresses UVB-induced photoaging. J Cell Mol Med. 2016, 20 (5), 909-19.
- 11) 本田沙理, 増田俊哉. ポリフェノール, 化学反応を基盤とする機能性物質 抗酸化反応から成分間反応まで. 化学と生物. 2015, 53 (7), 442-8.
- 12) Moreno S, Scheyer T, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radic Res. 2006, 40 (2), 223-31.
- 13) Park M, Han J, et al. Carnosic acid, a phenolic diterpene from rosemary, prevents UV-induced expression of matrix metalloproteinases in human skin fibroblasts and keratinocytes. Exp Dermatol. 2013, 22 (5), 336-41.
- 14) Nobile V, Michelotti A, et al. Skin photoprotective and antiageing effects of a combination of rosemary (Rosmarinus officinalis) and grapefruit (Citrus paradisi) polyphenols. Food Nutr Res. 2016, 60, 1-15.
- 15) Pérez-Sánchez A, Barrajón-Catalán E, et al. Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV-induced damage in skin cell model and human volunteers. J Photochem Photobiol B. 2014, 136, 12-8.

2018年4月27日 採択