

## 明 細 書

発明の名称：

脂肪分解及び／又は体重減少に対する内用組成物、有効性を判定する方法、並びに植物抽出物の品質の指標

### 技術分野

[0001] 本発明は、脂肪分解及び／又は体重減少に対する内用組成物、有効性を判定する方法、並びに植物抽出物の品質の指標に関する。

### 背景技術

[0002] 体脂肪は消費エネルギーに対し摂取エネルギーが過剰である場合に、その過剰分が、白色脂肪細胞の中性脂肪として蓄積して生じるものである。過剰な脂肪の蓄積によって肥満となって体重が増加し、その結果、この肥満は様々な生活習慣病の原因となるばかりでなく、美容面でも大きな問題となっている。体脂肪のうち内臓脂肪としての蓄積が大きい肥満は、インスリン抵抗性や動脈硬化等の病態との関係が指摘され、また、皮下脂肪として蓄積が大きい肥満は美容の観点から男女を問わず大きな関心事となっている。

[0003] 従来から、肥満の予防と改善については、食事制限、消化管における糖質吸収阻害物質の探索等、摂取エネルギーを制限するような様々な対策が行われてきた。しかし、エネルギー摂取の制限は基礎代謝量を低下させる要因にもなり、肥満が改善されないことがある。また、エネルギー摂取の制限によって必要な栄養が不足し、健康を害することもある。そのため、肥満を解消するためには、蓄積された脂肪を積極的に分解して熱エネルギーとして発散し、その結果、理想的な体重を維持できることが理想的であると考えられるようになってきている。このような状況下、近年、食品素材中から脂肪分解促進作用を有する機能性成分の探索が活発に行われ、多くの飲食品が提案されている。

[0004] 例えば、サケ白子抽出物、ビール酵母抽出物、大麦若葉エキス、及びトリコラーゲン（チキンコラーゲン）を組み合わせることで調製した混合物が、優れた

脂肪分解促進作用を有すること（特許文献１）、カバノキ科シラカバの抽出物及びイネ科クマザサの抽出物の少なくともいずれかが、全身あるいは局所の脂肪組織における脂肪の分解の促進を通じて肥満体質の改善、及び脂肪組織の増大を防止すること（特許文献２）、セイヨウネズ等の特定の植物又はその抽出物が、脂肪組織に蓄積された中性脂肪の分解を促進し、肥満の抑制、防止又は改善等の痩身効果を発揮する医薬、食品又は化粧料として有用であること（特許文献３）等が知られている。しかし、これらの植物の抽出物等の脂肪分解効果、体重減少効果は十分とはいえないのが現状である。また特許文献４には、甘草疎水性抽出物と、抗酸化成分等を組み合わせた組成物が、体脂肪蓄積抑制、体脂肪分解促進及びエネルギー産生促進効果を奏することが開示されているが、甘草疎水性抽出物のみでは十分な脂肪分解促進効果は得られていない。

## 先行技術文献

### 特許文献

- [0005] 特許文献１：特開２０１１－０７４０５１号  
特許文献２：特開２００６－０４５１２０号  
特許文献３：特開２０１２－２２９２６６号  
特許文献４：国際公開公報２００８／１４３１８２号

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明が解決しようとする課題は、脂肪分解促進効果、内臓脂肪・体脂肪減少効果、体重減少効果、ＢＭＩの改善効果に優れる新規の製剤を提供することである。本発明はまた、インスリン抵抗性改善効果、コレステロール値減少効果等に優れる新規の製剤を提供することも目的とする。

### 課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者らは、鋭意研究を行った結果、甘草の抽出物中の特定の成分である「グリアスペリンＢ」が、優れた脂肪分解促進作用を有することを見出し

た。また、グリアスペリンBを含有する甘草の抽出物を含む製剤が、優れた脂肪分解促進効果に加えて、内臓脂肪・体脂肪減少効果、体重減少効果、BMIの改善効果、インスリン抵抗性改善効果、コレステロール値減少効果を奏することも見出した。さらに、植物抽出物におけるグリアスペリンBの含有量が、植物抽出物の脂肪分解、体重減少等に対する有効性の指標になることも見出した。本発明の要旨は以下のとおりである。

[0008] [1] グリアスペリンBを含有する、脂肪の分解、脂肪の燃焼、脂肪の消費補助、BMIの改善、BMIの低下補助、腹部の脂肪減少、内臓脂肪減少、体脂肪の減少、ウエスト周囲径の減少、インスリン抵抗性の改善、LDLコレステロール値の減少のうちいずれか一以上のために用いられる内用組成物。

[2] グリアスペリンBを、有効量含有する、脂肪の分解、脂肪の燃焼、脂肪の消費補助、BMIの改善、BMIの低下補助、腹部の脂肪減少、内臓脂肪減少、体脂肪の減少、ウエスト周囲径の減少、インスリン抵抗性の改善、LDLコレステロール値の減少のうちいずれか一以上のために用いられる内用組成物。

[3] 有効量が、成人1日あたり10 $\mu$ g以上である、[2]に記載の内用組成物。

[4] BMIが23kg/m<sup>2</sup>以上30kg/m<sup>2</sup>未満の成人に対して用いられる、[1]又は[2]に記載の内用組成物。

[5] 内臓脂肪面積が100cm<sup>2</sup>以上の成人に対して用いられる、[1]又は[2]に記載の内用組成物。

[6] グリアスペリンBの総量換算で、5～100 $\mu$ g/日の用量で摂取される、[1]又は[2]に記載の内用組成物。

[7] 植物抽出物について、グリアスペリンBの含有量を指標に、生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法。

[8] 上記植物が、甘草である、[7]に記載の脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法。

〔 9 〕 植物抽出物の品質の指標であって、上記品質が、生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性に関する品質であり、グリアスペリン B からなることを特徴とする指標。

〔 1 0 〕 上記植物が、甘草である、〔 9 〕 に記載の指標。

### 発明の効果

[0009] 本発明の内用組成物は、グリアスペリン B を含有することにより、好ましくは有効成分、機能性関与成分、指標成分又は寄与成分として含有することにより、優れた脂肪分解促進作用を有すると共に、顕著な体重減少効果を奏する。本発明の内用組成物を用いることで、脂肪細胞中の脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させることができ、結果的に顕著な体重減少効果、BMI の改善効果を得ることができる。また、インスリン抵抗性改善、コレステロール値低減効果も得られる。よって、本発明の内用組成物によると、肥満や生活習慣病を長期的に予防し、また改善することができ、健康の維持・増進を実現することができる。さらに、植物抽出物におけるグリアスペリン B の含有量が、植物抽出物の脂肪分解、体重減少等に対する有効性の指標になることから、有効性の高い植物抽出物を効率的に選定することが可能となる。

### 図面の簡単な説明

[0010] [図1]カンゾウ抽出物及びグリアスペリン B の脂肪分解促進効果を示す図である。

[図2]カンゾウ抽出物の体重、BMI 及び内臓脂肪レベルへの効果を示す図である。

### 発明を実施するための形態

[0011] 以下に、本発明の内用組成物、脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法、並びに植物抽出物の品質の指標について詳細に説明する。

[0012] <内用組成物>

本発明の内用組成物は、グリアスペリン B を含有する。限定はされないが

、グリアスペリンBを有効成分、機能性関与成分、指標成分又は寄与成分として含有することが好ましい。本発明の内用組成物は、必須成分であるグリアスペリンBに加えて、本発明の効果を損なわない範囲でその他の成分を含有していてもよい。以下に、本発明の内用組成物が含むグリアスペリンB、及びその他の成分、本発明の内用組成物の形態等について説明する。

[0013] 本明細書において、有効成分とは、医薬品、医薬部外品等に含まれる成分のうち、その目的の効果を表す薬理活性成分や生理活性成分をいう。

[0014] 本明細書において、機能性関与成分とは、食品等の内用組成物が含む成分のうち、特定の保健の目的に資する成分をいう。具体的には、機能性に係る作用機序について、*in vitro*試験及び*in vivo*試験又は臨床試験（ヒト試験）により考察されているものであり、直接的又は間接的な定性確認及び定量確認が可能な成分である。なお、機能性表示食品は、当該機能性表示食品に配合される成分が有する効果に基づく機能を表示して需要者に提供されるものであって、機能性表示食品として需要者に提供しようとする場合、上記機能性関与成分の含有量やその定量方法を届け出なければならないとされている。

[0015] 本明細書において指標成分とは、機能性の科学的根拠の一部を説明できる特定の成分が判明しているものの、当該特定の成分のみでは機能性の全てを説明することができない抽出物、エキス等を機能性関与成分とする場合、表示しようとする機能性に係る作用機序について、少なくとも1つの成分について、*in vitro*試験及び*in vivo*試験又は臨床試験（ヒト試験）により考察されているものがある場合、このような成分のことをいう。

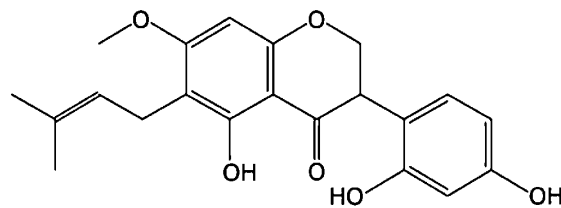
[0016] 本明細書において寄与成分とは、物質であって、配合することで、直接的又は間接的に、身体の生理学的機能に影響する成分をいう。特定保健用食品及び機能性表示食品において寄与成分に相当するものとして、「関与成分」、「機能性関与成分」、「指標成分」等が考えられるがこれらに限定されない。また、医薬品及び医薬部外品における寄与成分に相当するものは「有効成分」である。さらに、機能性表示食品以外の食品組成物の販売等において

、「〇〇成分配合。燃焼サポートに」といった形で暗示的に消費者に効果と紐づけて強調している成分も含む概念である。

[0017] (グリアスペリンB)

グリアスペリンB (G l y a s p e r i n B、以下「GB」ともいう) は、下記式で表される、イソフラバノン誘導体である。3-(2,4-ジヒドロキシフェニル)-5-ヒドロキシ-2,3-ジヒドロ-6-(3-メチル-2-ブテニル)-7-メトキシ-4H-1-ベンゾピラン-4-オン、3-(2,4-ジヒドロキシフェニル)-5-ヒドロキシ-6-(3-メチル-2-ブテニル)-7-メトキシ-3,4-ジヒドロ-2H-1-ベンゾピラン-4-オン、又は3-(2,4-ジヒドロキシフェニル)-5-ヒドロキシ-7-メトキシ-6-(3-メチルブタ-2-エン-1-イル)-3,4-ジヒドロ-2H-1-ベンゾピラン-4-オンとも表される。

[化1]



[0018] グリアスペリンBは、甘草抽出物に含まれることが確認されている成分であり、本発明におけるグリアスペリンBとしても、甘草抽出物由来のものが好ましい。これまで、甘草抽出物が脂肪分解促進効果を奏することは知られており、甘草抽出物に多く含まれるグラブリジンが脂肪分解促進効果を奏する可能性を示唆する文献は存在した(特許文献4等参照)。しかしながら、甘草抽出物中のどの成分が脂肪分解促進作用を奏するのかは明らかではなかった。本発明者らは、甘草抽出物中に多数存在する成分のうち、グリアスペリンBが脂肪分解促進効果を奏することを初めて見出した。そして、このグリアスペリンBを含有し、脂肪の分解、脂肪の燃焼、脂肪の消費補助、BMIの改善、BMIの低下補助、腹部の脂肪減少、内臓脂肪減少、体脂肪の減少、ウエスト周囲径の減少、インスリン抵抗性の改善、LDLコレステ

ロール値の減少の効果を奏する、内用組成物の発明を完成させた。

[0019] 本発明におけるグリアスペリンBは、甘草に由来するものであってもよいし、化学合成品であってもよい。なお、本明細書でグリアスペリンBを含有する、という場合、グリアスペリンBを含有する甘草等の植物を含有する、場合を含む。

[0020] 上記甘草の種類は特に限定されないが、マメ科グリキルリーザ (*Glycyrrhiza*) 属の植物、例えば、グリキルリーザ ウラレンシス (*G. uralensis* Fisch. et DC; ウラルカンゾウ)、グリキルリーザ インフラータ (*G. inflata* BAT.; チョウカカンゾウ)、グリキルリーザ グラブラ (*G. glabra* L.; ヨウカンゾウ)、グリキルリーザ グラブラ (*G. glabra* L. var *glan*  
*du rife ra* Regel et Herder; ナンキンカンゾウ)、グリキルリーザ アスペラ (*G. aspera*)、グリキルリーザ エチナータ (*G. echinata* L.; シナカンゾウ)、グリキルリーザ パリディフローラ (*G. pallidiflora* Maxim; イヌカンゾウ) 等が挙げられる。

[0021] 甘草に由来するグリアスペリンBを取得する方法としては、甘草抽出物から精製する方法が挙げられる。甘草抽出物とは、具体的には、甘草の全草、又は一部（例えば、根、茎、ストロン、葉、花、果実等）の粉碎物を溶媒で抽出した甘草抽出物であり、得られた甘草抽出物を噴霧乾燥、凍結乾燥したものでもよい。上記抽出溶媒としては、水、もしくはメタノール、エタノール等のアルコール類、又は水とアルコール類もしくはアセトン等のケトン類との混合溶媒等が挙げられる。これらのうち、抽出溶媒としては、水、アルコール、含水アルコールが好ましく、熱水、エタノール、含水エタノールがより好ましい。

[0022] 上記含水アルコールのアルコール濃度は、0.1質量%～99.9質量%であり、10質量%～99.9質量%であることが好ましく、30質量%～70質量%であることがより好ましく、40質量%～60質量%であること

が更に好ましく、50質量%であることが特に好ましい。或いは、0.1% (v/v) ~ 99.9% (v/v) であり、10% (v/v) ~ 99.9% (v/v) であることが好ましく、30% (v/v) ~ 70% (v/v) であることがより好ましく、40% (v/v) ~ 60% (v/v) であることが更に好ましく、50% (v/v) であることが特に好ましい。

[0023] 上記甘草抽出物の乾燥品に蒸留水を加えて溶解し、甘草抽出物水溶液を調製する。この水溶液の容量に対して半量の酢酸エチル等の有機溶媒を加えて混和し二層に分離した状態とし、そこから酢酸エチル等の有機溶媒層を回収する操作を複数回、好ましくは3回程度繰り返す。得られた有機溶媒層に無水硫酸ナトリウムを加えた後、ろ過をすることで有機画分を得ることができる。有機画分をエバポレーターにて濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフにて、ヘキサン：酢酸エチル=1：1 (v/v) 等で溶出した画分を、ODSカラムを用いた高速液体クロマトグラフ（アセトニトリル：水=60：40, 45：55 (いずれもv/v)）により精製を繰り返すことで、化合物（グリアスペリンB）を得ることができる。

[0024] 本発明の内用組成物におけるグリアスペリンBの含有量は、0.00001質量%~50質量%であり、0.0001質量%~20質量%であることが好ましく、0.0005質量%~10質量%であることがより好ましく、0.001質量%~5質量%であることがさらに好ましい。

[0025] (その他の成分)

本発明の内用組成物は、グリアスペリンBに加えて、本発明の効果を損なわない範囲で、担体、賦形剤、溶媒、その他の任意成分を含有してもよい。

[0026] 本発明の内用組成物は、グリアスペリンBを含有する際に、上述のような甘草抽出物から精製されたグリアスペリンBや、化学合成品であるグリアスペリンBを配合してもよいし、最終的に内用組成物におけるグリアスペリンBの含有量が上記数値範囲となるように、甘草抽出物を配合してもよい。また、本発明の内用組成物は、脂肪分解促進作用の観点から、グリアスペリンBの含有量が上記数値範囲内となると共に、グリアスペリンB以外の甘草由

来成分を含有しないか、又はグリアスペリンB以外の甘草由来成分を含む場合には、日本薬局方における甘草エキスの定量指標であるグリチルリチン酸を比較基準として、グリアスペリンBの含有量とグリチルリチン酸の含有量の比（グリアスペリンBの含有量をグリチルリチン酸の含有量で除した値）が、0.001以上であることが好ましい。

[0027] 本発明の内用組成物は、飲食品、機能性表示食品、特定保健用食品、栄養機能食品、化粧品、医薬部外品、医薬品又は化粧料等として、脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させるために用いられる。

[0028] 本発明の内用組成物を飲食品として調製する場合、グリアスペリンBの他に、甘味料、着色料、保存料、増粘剤、安定剤、ゲル化剤、糊剤、酸化防止剤、発色剤、漂白剤、防かび剤（防ばい剤）、イーストフード、ガムベース、香料、酸味料、調味料、乳化剤、pH調整剤、かんすい、膨脹剤、栄養強化剤、その他飲食品素材等を混合して、所望の形態に調製すればよい。本発明の内用組成物を飲食品形態にする場合、その形態については、特に制限されるものではない。一例として、ゲル状剤、顆粒、細粒、カプセル、錠剤、粉末、液剤、半固形剤等のサプリメントタイプの食品；炭酸飲料、清涼飲料、乳飲料、アルコール飲料、果汁飲料、茶類、栄養飲料等の飲料；粉末ジュース、粉末スープ等の粉末飲料；ガム、タブレット、キャンディー、クッキー、グミ、せんべい、ビスケット、ゼリー等の菓子類；パン、麺類、シリアル、ジャム、調味料等が例示される。これらの食品は、脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させるための飲食品として使用され、例えば、一般の飲食品の他、栄養補助食品、機能性表示食品、特定保健用食品、病者用食品等のニュートラシューティカルとしても使用できる。

[0029] 本発明の内用組成物を医薬品（医薬部外品を含む）として調製する場合、グリアスペリンBの他に、必要に応じて、他の薬効成分、薬学的に許容される担体や添加剤等を任意に配合してもよい。薬学的に許容される担体及び添加剤としては、具体的には、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、湿潤化剤、緩衝剤、保存剤、香料等が例示される。本発明の内用組成物を医薬品として調製する

場合、その形態については、特に制限されるものではない。一例として、注射剤、外用剤、吸入剤、座剤、フィルム剤、トローチ剤、液剤、散剤、錠剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、点眼剤、洗眼剤、点鼻剤等を挙げることができる。これらの中でも、経口投与に適した形態（即ち、内服用医薬品）が好ましく、かかる形態として具体的にはトローチ剤、液剤、散剤、錠剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤等を挙げることができる。これらの医薬品（医薬部外品を含む）は、脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させるための医薬品として使用される。

[0030] 本発明の内用組成物に含まれるグリアスペリンBは化粧品（機能性化粧品を含む）又は外用医薬部外品としても使用することができる。化粧品又は外用医薬部外品として調製するには、グリアスペリンBに加えて、薬学的又は化粧品学的に許容される担体（水、油性成分等）を配合して、所望の形態に調製すればよい。上記化粧品は、皮膚に適用可能である限り、その形態については、特に制限されるものではない。一例として、液状、乳液状、粉末状、固形状、懸濁液状、クリーム状、軟膏状、ムース状、顆粒状、錠剤状、ゲル状、ゼリー状、ペースト状、ジェル状、エアゾール状、スプレー状、リニメント剤、パック剤等の形態を挙げることができる。これらの化粧品は、脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪等を減少させるための化粧品として使用される。

[0031] 本発明の内用組成物の用量、適用量は、使用する人の年齢、体重、健康状態、肥満度、疾患の状態等によって適宜決定することができるが、限定はされないが、成人1日当たり、グリアスペリンBの総量換算で、 $0.1\mu\text{g}$ 以上、 $0.5\mu\text{g}$ 以上、 $1\mu\text{g}$ 以上、 $5\mu\text{g}$ 以上、 $10\mu\text{g}$ 以上、 $12\mu\text{g}$ 以上とすることができ、 $5000\mu\text{g}$ 以下、 $1000\mu\text{g}$ 以下、 $500\mu\text{g}$ 以下、 $100\mu\text{g}$ 以下、 $60\mu\text{g}$ 以下、 $20\mu\text{g}$ 以下、 $15\mu\text{g}$ 以下、などとするすることができる。例えば、成人1日当たり、グリアスペリンBの総量換算で、 $0.1\mu\text{g}\sim 5000\mu\text{g}$ 、好ましくは $0.5\mu\text{g}\sim 1000\mu\text{g}$ 、より好ましくは $1\mu\text{g}\sim 500\mu\text{g}$ 、さらに好ましくは $1\mu\text{g}\sim 200\mu\text{g}$ 、

さらにより好ましくは $1\mu\text{g}\sim 100\mu\text{g}$ 、特に好ましくは $5\mu\text{g}\sim 100\mu\text{g}$ 、より特に好ましくは $5\mu\text{g}\sim 60\mu\text{g}$ 、さらに特に好ましくは $10\mu\text{g}\sim 50\mu\text{g}$ 、最も好ましくは $10\sim 20\mu\text{g}$ の用量で摂取される。

[0032] 本発明により提供される内用組成物をヒトに経口投与する場合、グリアスペリンBを有効量投与することが好ましい。本明細書にて、有効量とは、直接的な作用であれ、間接的な作用であれ、目的の効果が見られる場合の投与量を言う。有効量としては、年齢や体重によっても異なるが、例えば、成人1日当たり、上記に説明したグリアスペリンBの総量換算で $1\mu\text{g}$ 以上、 $3\mu\text{g}$ 以上、 $5\mu\text{g}$ 以上、 $7\mu\text{g}$ 以上、 $10\mu\text{g}$ 以上、 $12\mu\text{g}$ 以上とすることができ、 $1\text{mg}$ 以下、 $500\mu\text{g}$ 以下、 $200\mu\text{g}$ 以下、 $100\mu\text{g}$ 以下、 $60\mu\text{g}$ 以下、 $50\mu\text{g}$ 以下、 $20\mu\text{g}$ 以下などとすることができる。例えば、成人1日当たり、グリアスペリンBの総量換算で、 $1\mu\text{g}$ 以上 $1\text{mg}$ 以下、好ましくは $1\mu\text{g}$ 以上 $500\mu\text{g}$ 以下、より好ましくは $1\mu\text{g}$ 以上 $200\mu\text{g}$ 以下、さらに好ましくは $1\mu\text{g}$ 以上 $100\mu\text{g}$ 以下、さらにより好ましくは $5\mu\text{g}$ 以上 $100\mu\text{g}$ 以下、特に好ましくは $5\mu\text{g}$ 以上 $60\mu\text{g}$ 以下、より特に好ましくは $10\mu\text{g}$ 以上 $50\mu\text{g}$ 以下、さらに特に好ましくは $10\mu\text{g}$ 以上 $20\mu\text{g}$ 以下、最も好ましくは $14\mu\text{g}$ である。

[0033] 本発明の内用組成物は、体重減少効果が得られ易いという観点から、BMIが $23\text{kg}/\text{m}^2$ 以上 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 未満の成人に対して用いられることが好ましく、BMIが $23\text{kg}/\text{m}^2$ 以上 $25\text{kg}/\text{m}^2$ 未満の成人に対して用いられることがより好ましい。日本肥満学会の判定基準によると、BMIが $18.5\text{kg}/\text{m}^2$ 以上 $25\text{kg}/\text{m}^2$ 未満が普通体重とされ、 $25\text{kg}/\text{m}^2$ 以上 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 未満が肥満度1とされる。本発明の内用組成物は、いわゆる普通体重～肥満気味（肥満度1）程度の成人に対して好ましく用いられ、肥満には分類されないが、普通体重のやや肥満よりに位置する成人に対して特に好ましく用いられる。なお、BMI（Body Mass Index）とは、ボディマス指数とも呼ばれ、体重と身長から下記の計算式によって算出される、肥満度を表す体格指数である。成人においてはBMIが国際的

な指標として用いられている。

計算式： $BMI = \text{体重 } kg \div (\text{身長 } m)^2$

- [0034] 本発明の内用組成物は、脂肪分解促進効果、体重減少効果が得られ易いという観点から、内臓脂肪面積が $100\text{ cm}^2$ 以上の成人に対して好ましく用いられる。内臓脂肪面積は、腹部CT撮影を行い、臍部を中心として $1\text{ cm}$ 間隔等で複数のスライス画像の撮影を行い、常法に従って算出することができる。
- [0035] 本発明の他の実施形態は、グリアスペリンBを有効成分として含有する、体重減少剤、内臓脂肪・体脂肪減少剤、BMIの改善剤、インスリン抵抗性改善剤、又はコレステロール値低減剤である。
- [0036] 本発明は上記体重減少剤、内臓脂肪・体脂肪減少剤、BMIの改善剤、インスリン抵抗性改善剤、又はコレステロール値低減剤も含み、これらは、グリアスペリンBを含有することにより、優れた脂肪分解促進作用を有すると共に、顕著な体重減少効果を奏する。本発明の体重減少剤、内臓脂肪・体脂肪減少剤、BMIの改善剤、インスリン抵抗性改善剤、又はコレステロール値低減剤を用いることで、脂肪細胞中の脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させることができ、結果的に顕著な体重減少効果、BMIの改善効果を得ることができる。また、インスリン抵抗性改善、コレステロール値低減効果も得られる。よって、本発明の体重減少剤、内臓脂肪・体脂肪減少剤、BMIの改善剤、インスリン抵抗性改善剤、又はコレステロール値低減剤によると、肥満や生活習慣病を長期的に予防し、また改善することができ、健康の維持・増進を実現することができる。なお、本発明の体重減少剤、内臓脂肪・体脂肪減少剤、BMIの改善剤、インスリン抵抗性改善剤、又はコレステロール値低減剤は、グリアスペリンBを有効成分として含有する上述の本発明の内用組成物と同様の構成を有するため、具体的な説明は、本発明の内用組成物の項の説明をそのまま適用できる。

[0037] <植物抽出物の脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法  
>

本発明は、植物抽出物について、グリアスペリンBの含有量を指標に、生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法の発明も含む。上述のとおり、グリアスペリンBを有効成分として含有する製剤は、優れた脂肪分解促進作用を有すると共に、顕著な体重減少効果を奏する。また、脂肪細胞中の脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させることができ、結果的に顕著な体重減少効果、BMIの改善効果を得ることができる。また、インスリン抵抗性改善、コレステロール値低減効果も得られる。グリアスペリンBの含有量に応じて、上記効果も増大することから、植物抽出物中のグリアスペリンBの含有量を指標とすることで、その植物抽出物の生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定することが可能となる。上記植物抽出物としては、グリアスペリンBを含有するものであれば特に限定されないが、中でも甘草抽出物が好ましい。

[0038] 以下に、本発明の判定方法を詳細に説明する。本発明の判定方法は、植物抽出物におけるグリアスペリンBの含有量を測定する工程（以下、「測定工程」ともいう）を含む。また、得られたグリアスペリンB量を、基準となるグリアスペリンB量と比較する工程（以下、「比較工程」ともいう）を含むことが好ましい。

[0039] 上記測定工程における、植物抽出物中のグリアスペリンBの含有量を測定方法は特に限定されず、当業者に公知の方法により測定することができる。例えば、ウェスタンブロッティングを行う方法、ELISAによる方法等が挙げられる。上記ウェスタンブロッティングを行う方法、ELISAによる方法のいずれにおいても、グリアスペリンBに特異的に結合する抗グリアスペリンB抗体を使用し、グリアスペリンBの含有量を精度よく測定することができる。なお、ウェスタンブロッティングを行う方法においては、得られるグリアスペリンB特異的なプロットの強度を、濃度のわかる標準標品（ポ

ジティブコントロール)の強度と比較することで、サンプル中のグリアスペリンB含有量を算出することができる。

[0040] 本発明の判定方法において基準として用いるグリアスペリンBとしては、例えば、天然供給源からの抽出、グリアスペリンBをコードする組換え核酸の発現、又は化学合成によって得られ得る。

[0041] 本発明の判定方法においては、本比較工程により、評価対象の抽出物におけるグリアスペリンBの含有量と、基準とするグリアスペリンBの含有量とを比較する。評価の目的、対象に合わせて、基準とするグリアスペリンB量を適宜選択することができる。

[0042] <植物抽出物の品質の指標>

本発明は、植物抽出物の品質の指標であって、上記品質が、生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性に関する品質であり、グリアスペリンBからなることを特徴とする指標に係る発明も含む。上述のとおり、グリアスペリンBを有効成分として含有する製剤は、優れた脂肪分解促進作用を有すると共に、顕著な体重減少効果を奏する。また、脂肪細胞中の脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させることができ、結果的に顕著な体重減少効果、BMIの改善効果を得ることができる。また、インスリン抵抗性改善、コレステロール値低減効果も得られる。グリアスペリンBの含有量に応じて、上記効果も増大することから、植物抽出物のグリアスペリンBを指標とすることで、その植物抽出物の生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定することが可能となる。上記植物抽出物における植物としては甘草が好ましい。

[0043] 本発明の植物抽出物の品質の指標は、上述の植物抽出物の脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法におけるグリアスペリンBに該当する。本発明の指標の具体的な説明は、上述の判定方法における説明を適用できる。

## 実施例

[0044] 以下に実施例を示して本発明を更に詳しく説明するが、本発明の範囲をこ

れらに限定するものではない。

[0045] 以下に示すとおり、被験者において、被験食品（甘草抽出物を配合したハードカプセルの製剤）を12週間摂取した場合における内臓脂肪に及ぼす影響について評価するため、対照食品（甘草抽出物を配合しないハードカプセル）を対照とした無作為化二重盲検並行群間比較試験を実施した。

[0046] <試験1>

1. 試験食品（組成、包装等）

被験食品は1カプセルあたり、甘草抽出物（エムジーファーマ（株）製；ウラル甘草由来）を100mg含有し、その他賦形剤で構成された。対照食品は甘草抽出物を含まず、賦形剤をカラメル色素で着色したもので構成された。試験食品の形状はいずれも白色のハードカプセルであり、30粒ずつアルミパウチ袋に包装され、試験食品に識別コードを表示した。試験食品と包装の識別不能性についてIRBにて審査され承認された。試験食品の栄養成分及び関与成分を下記表1に示した。また、被験食品に含まれるグリアスペリンB量は1日摂取目安量当たり14μgであった。

[0047] [表1]

表1. 試験製剤の甘草抽出物含量と栄養成分[1粒(1日分)あたり]

|            | 被験製剤  | 対照製剤  |
|------------|-------|-------|
| 甘草抽出物 (mg) | 100   | 0     |
| 熱量 (kcal)  | 1.150 | 0.765 |
| 蛋白質 (g)    | 0.016 | 0.000 |
| 脂質 (g)     | 0.006 | 0.004 |
| 炭水化物 (g)   | 0.264 | 0.288 |
| 食塩相当量 (mg) | 0.651 | 1.984 |

[0048] 2. 被験者

本試験における目標症例者数は、2群間での並行群間比較試験において、試験食品の効果量を大（0.8）と仮定し、有意水準を0.05、検出力を80～90%とすると、1群26～35名の組み入れが必要であることから、目標症例者数を1群34名、計68名と算出した。また、試験中に脱落、試験中止例が発生することを考慮しエントリー数を80名（1群40名）と

設定した。被験者は、試験受託機関に登録しているボランティアの中から公募し、以下の選択基準を満たし、かつ除外基準に抵触せず試験責任医師が本試験への参加を適当であると判断した81名（男性50名、女性31名）を被験者として組み入れた。

[0049]（選択基準）

スクリーニング検査において、以下の条件を満たす者とした。

（1）20歳以上65歳未満の男女、（2）BMIが $23.0\text{ kg/m}^2$ 以上 $30.0\text{ kg/m}^2$ 未満の者、（3）内臓脂肪面積が $100\text{ cm}^2$ 以上の者、（4）本試験の目的、内容について十分な説明を受け、同意能力があり、よく理解した上で自発的に参加を志願し、書面で本試験参加に同意できる者。

（除外基準）

（1）重篤な心血管障害、肝機能障害、腎機能障害、呼吸器障害、内分泌障害、代謝障害に罹患している者、又はこれらの既往歴がある者、（2）脂質異常症、高血圧、糖尿病等の慢性疾患の治療を受けている者、（3）うつ病、統合失調症、神経性大食症等の精神疾患の者、（4）体脂肪、中性脂肪、体重、コレステロール、エネルギー代謝等の本試験の評価に影響を及ぼす可能性がある医薬品、医薬部外品を常用している者、（5）体脂肪、中性脂肪、体重、コレステロール、エネルギー代謝等の本試験の評価に影響を及ぼす可能性があるサプリメント・健康食品（特定保健用食品、機能性表示食品等）を常用している者、（6）試験食品に対してアレルギーを引き起こす可能性がある者、（7）腹部CT撮影部位に金属が入っている者、（8）心臓ペースメーカー、植込み型除細動器等の体内植込み型医療機器が入っている者、（9）閉所恐怖症の者、（10）喫煙習慣がある者、（11）多量飲酒（純アルコール $60\text{ g/日}$ 以上）する習慣がある者、（12）食生活が極端に不規則な者、（13）夜勤及び昼夜交代制勤務の者、（14）5日以上排便のない者、（15）更年期の症状がある者、（16）高血圧症、偽アルドステロン症、低カリウム血症、ミオパチーを有する者、（17）甘草が配合された医薬品、及び甘草を主として含有する食品を常用している者、（18）

むくみ、脱力感が起きやすい者、（１９）排尿障害がある者、（２０）試験開始前１ヶ月以内に２００ mL、又は３ヶ月以内に４００ mLを超える採血（献血等）をした者、（２１）過去４ヶ月以内に他の臨床試験に参加した者、及び現在他の臨床試験に参加中の者、試験期間中に他の臨床試験に参加する予定のある者、（２２）妊娠中もしくは授乳中の者、又は妊娠の予定のある者、（２３）その他試験責任医師が不適当と判断した者。

[0050] ３．試験プロトコール

本試験は無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験とした。試験食品の摂取開始時、摂取４週間後、摂取８週間後、摂取１２週間後に検査を実施した。試験責任者によって組み入れられた被験者に対し、試験の実施に関与しない割付責任者が、ランダム化のため乱数を発生させ被験者に割付けた。この際、割付因子である同意取得時の性別、年齢、スクリーニング検査時の内臓脂肪面積、BMI、ヒップ周囲径、ウエスト周囲径において、群間で有意な差がないことを確認した。

[0051] 試験期間中は、１日１回、１カプセルの試験食品（被験食品群には被験食品、対照食品群には対照食品）を夕食前に水又はぬるま湯とともに摂取させた。但し、夕食前に摂取ができなかった場合は可能なタイミングで１日１回、１カプセルを摂取させた。

[0052] 試験期間中、摂取する飲食物については通常の習慣を極力維持することとし、体脂肪、中性脂肪、体重、コレステロール、エネルギー代謝等の本試験の評価に影響を及ぼす可能性がある健康食品（特定保健用食品、機能性表示食品等）、及びグレープフルーツジュースの摂取を禁止した。また、アルコール摂取量に関しては通常の摂取習慣を維持することとし、通常摂取する量を逸脱する飲み方を禁止した。なお、検査前日のアルコール摂取は禁止とし、２１時以降は水以外の摂取を禁止した。また、腹部CT撮影の４時間前からは水以外の摂取を禁止した。試験期間中、通常の運動習慣（頻度、運動の種類等）を極力維持することとし、運動習慣を変えることを禁止した。試験期間中、緊急の場合を除き、新たな医薬品を使用する場合は試験責任医師の

許可を得ることとした。検査日前2週間はワクチンの接種を禁止した。試験期間中の献血を禁止した。

[0053] 本試験はヘルシンキ宣言（2013）－東京、ベニス、香港、サマーセットウェスト、エジンバラ修正、ワシントン、東京注釈追加、ソウル修正、フォルタレザ修正－の精神に則り、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（令和3年3月23日策定、令和3年6月30日施行、令和4年3月10日一部改正）」に従って実施した。実施するにあたり医療法人弘正会ふくだ内科クリニック倫理審査委員会（IRB）の承認を得た（承認番号：IRB-20220716-2）。また、大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システム（UMIN）に臨床試験登録を行った（UMIN試験ID：UMIN000048430）。

[0054] 4. 検査項目

1) 身体検査及び腹部CT撮影

身体検査の項目は身長（スクリーニング検査時のみ）、InBody770（（株）インボディ・ジャパン）を用いた体組成評価（体重、BMI、体脂肪率、筋肉量、部位別体脂肪量、基礎代謝、その他体組成成分分析等）、ウエスト周囲径、ヒップ周囲径、血圧及び脈拍の測定を実施し、選択基準に合致した者についてCT撮影を実施した。体重については、CT撮影時のみ、DST-210N（ムラテックKDS（株））を使用した。また、BMIは身長と体重から算出し、CT撮影時のBMIを摂取開始前の値とした。

[0055] 腹部CT撮影はDiscovery710又はDiscovery MIDR（GEヘルスケア・ジャパン（株））を使用し、臍部を中心として1cm間隔で3スライスの画像の撮影を行い、内臓脂肪面積、皮下脂肪面積及び総脂肪面積について、その平均値を算出した。なお、臍部の位置撮影時の画像に腎臓、腸骨が含まれる場合には、第4腰椎を中心に再撮影を実施した。

[0056] 2) 食事記録及び活動記録

試験期間中、被験者にアルコール摂取量、医薬品の使用、食事内容等について生活記録日誌に記録させた。試験食品摂取期間中は試験食品の摂取につ

いて記録させた。また、検査日前3日間は食事内容に加えて量を記録させた。試験期間中の就寝時以外は被験者に活動量計（SAT-1、（株）メディシンク）を装着させ歩数、Active歩数、中強度活動時間を2週間毎に確認した。被験者の健康状態については、摂取4、8、12週間後に問診と医師診察を行い、自覚症状及び他覚症状の発生状況等を把握した。

[0057] 3) 疲労感及び睡眠評価

疲労感について、摂取開始時、摂取4、8、12週間後に被験者の自宅にて起床時にVAS法による評価を実施した。睡眠の評価について、摂取開始時、摂取4、8、12週間後に被験者の自宅にて起床時にOSA睡眠調査票MA版を用いた評価を実施した。

[0058] 4) 血液検査及び尿検査

血液検査は摂取前、摂取4、8、12週間後に採血を行い、WBC、RBC、Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC、Plt、白血球分画、総蛋白、Alb、A/G比、AST、ALT、 $\gamma$ -GTP、クレアチニン、血糖、総コレステロール（TC）、HDLコレステロール（HDL-C）、LDLコレステロール（LDL-C）、中性脂肪（TG）、CPK、尿酸（UA）、尿素窒素（UN）、ALP、LDH、Na、K、Cl、Ca、Mg、P、総ビリルビン（TBil）、HbA1c、グリコアルブミン、インスリン、ケトン体分画（総ケトン体、アセト酢酸、3-ヒドロキシ酪酸）について検査を行った。尿検査は摂取前及び摂取12週間後に糖、タンパク、潜血、ウロビリノーゲンについて検査を実施した。

[0059] 5. 統計解析

主要評価項目は腹部CT撮影における内臓脂肪面積とした。副次評価項目は体重、BMI、腹部CT撮影における皮下脂肪面積、総脂肪面積、InBody 770における体脂肪率、体脂肪量、筋肉量、部位別体脂肪量、基礎代謝量、ウエスト周囲径、ヒップ周囲径、ウエスト／ヒップ比、VAS（疲労感）、OSA睡眠調査票MA版、血液検査におけるケトン体分画、TC、LDL-C、HDL-C、TG、血糖、HbA1c、イン

スリン、グリコアルブミンとした。

[0060] 統計解析は統計処理ソフトSPSS Ver. 26（日本アイ・ビー・エム（株））を使用し、有意水準は両側検定で5%とした。また、被験者属性による傾向を確認するため、摂取開始前のBMIが $23\text{ kg/m}^2$ 以上 $25\text{ kg/m}^2$ 未満の者、BMIが $25\text{ kg/m}^2$ 以上 $30\text{ kg/m}^2$ 未満の者及び性別によるサブグループ解析を実施した。各検査時期の値及び摂取開始前から各検査時期の変化量について平均値及び標準偏差を群別に集計し、各検査時期における被験食品群と対照食品群の平均値の差について対応のないt検定を実施し、群間差を比較した。また、各試験食品群における摂取開始前と各検査時期の平均値の差についてDunnettの多重比較検定を実施し、試験食品の摂取期間による差を比較した。腹部CT撮影については、対応のあるt検定を実施し、試験食品の摂取期間による差を比較した。なお、対応のあるt検定については多重性の補正を行わなかった。

[0061] （結果）

#### 1. 解析対象者

本試験で組み入れられた被験者は81名（被験食品群41名、対照食品群40名）であったが、ランダム化後に被験食品群において1名が除外基準（2）に抵触する治療を開始するため試験中止症例となり80名で試験を開始した。試験食品摂取開始後に、被験食品群において除外基準（15）に抵触していることが試験開始後に判明した1名、対照食品群において試験食品を一度も摂取しておらず自己都合により試験を中止した1名を除く78名（被験食品群39名、対照食品群39名）を安全性解析集団（FAS）とした。また、試験食品摂取期間中に被験食品群において自己免疫性膵炎の発症による試験中止が1名、対照食品群で自己都合による試験中止が1名発生したため、有効性解析集団（PPS）は76名（被験食品群38名、対照食品群38名）とした、また、対照食品群において一部評価項目のデータの信頼性に課題のあるため当該項目についてのみ解析から除外した、部分解析除外が2例発生した。1例は血液サンプルに溶血が認められたため、摂取4週後の血

液検査におけるLDH、K、インスリンを解析から除外した。1例は検査当日の食事摂取（管理事項の不遵守）が疑われたため、8週間後の血液検査における血糖、インスリンを解析から除外した。有効性解析対象者の被験者背景を表2に示した。

[0062] [表2]

表2. 被験者背景

|      | n  | 男性 | 女性 | 年齢<br>(歳) | 内臓脂肪面積<br>(cm <sup>2</sup> )<br>摂取開始前 | BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> )<br>摂取開始前 | ウエスト周囲径<br>(cm)<br>摂取開始前 | ヒップ周囲径<br>(cm)<br>摂取開始前 |
|------|----|----|----|-----------|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 被験食品 | 38 | 24 | 14 | 54.2±6.0  | 129.91±19.06                          | 26.1±1.5                             | 93.9±5.7                 | 100.9±4.4               |
| 対照食品 | 38 | 23 | 15 | 53.7±7.4  | 131.16±19.66                          | 26.2±1.9                             | 93.9±7.0                 | 101.1±5.4               |

平均値±標準偏差

[0063] FAS、PPS、BMIによるサブグループ、性別によるサブグループ、いずれの集団においても割付因子である同意取得時の性別、年齢、スクリーニング時の内臓脂肪面積、BMI、ウエスト周囲径、ヒップ周囲径において、被験食品群と対照食品群の間に有意差はみられなかった。

[0064] 2. 解析結果

(腹部脂肪面積)

有効性解析集団（PPS）における内臓脂肪面積、皮下脂肪面積及び総脂肪面積の変化を表3に示す。主要評価項目である内臓脂肪面積について、被験食品群と対照食品群との間に有意な差はみられなかった。被験食品群内の経時変化において、内臓脂肪面積と総脂肪面積について、摂取12週間後に摂取開始前と比較して有意な減少がみられた。

[0065]

[表3]

表 3. 腹部脂肪面積

|                              |     |      | 摂取開始前<br>被験食品: n=38<br>対照食品: n=38 | 摂取 12 週間後<br>被験食品: n=37<br>対照食品: n=38 |
|------------------------------|-----|------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| 内臓脂肪面積<br>(cm <sup>2</sup> ) | 実測値 | 被験食品 | 129.9±19.1                        | 124.0±22.9 §                          |
|                              |     | 対照食品 | 131.2±19.7                        | 126.4±24.9                            |
|                              | Δ   | 被験食品 |                                   | -6.5±18.9                             |
|                              |     | 対照食品 |                                   | -4.7±20.1                             |
| 皮下脂肪面積<br>(cm <sup>2</sup> ) | 実測値 | 被験食品 | 214.0±52.8                        | 211.2±52.1                            |
|                              |     | 対照食品 | 219.2±73.1                        | 221.8±78.0                            |
|                              | Δ   | 被験食品 |                                   | -3.5±17.9                             |
|                              |     | 対照食品 |                                   | 2.5±14.7                              |
| 総脂肪面積<br>(cm <sup>2</sup> )  | 実測値 | 被験食品 | 344.0±55.9                        | 335.2±57.2 §                          |
|                              |     | 対照食品 | 350.4±77.6                        | 348.2±83.8                            |
|                              | Δ   | 被験食品 |                                   | -10.0±27.9                            |
|                              |     | 対照食品 |                                   | -2.2±27.8                             |

平均値±標準偏差、Δ;摂取開始前からの変化量の平均値±標準偏差  
群間比較(対応のない t 検定): 有意差および傾向なし  
摂取開始前との比較(対応のある t 検定): § p<0.05

[0066] (身体計測項目)

P P Sにおける体重、B M I、体脂肪量、筋肉量、部位別体脂肪量、ウエスト周囲径及びヒップ周囲径、またF A Sにおける血圧及び脈拍数の変化を表 4 に示す。血圧及び脈拍数について、摂取 4 週間後に被験食品群は対照食品群と比較して、収縮期血圧、拡張期血圧に有意な高値がみられ、脈拍数の変化量に有意な高値がみられたが、それ以降有意な変動は認められなかった。その他の各評価項目について、被験食品群と対照食品群との間に有意な差はみられなかった。

[0067]

[表4-1]

表 4. 身体測定項目

|                             |         |      | 摂取開始前<br>被験食品:<br>n=38<br>対照食品:<br>n=38 | 摂取 4 週間後<br>被験食品:<br>n=38<br>対照食品:<br>n=38 | 摂取 8 週間後<br>被験食品:<br>n=36<br>対照食品:<br>n=37 | 摂取 12 週間後<br>被験食品:<br>n=37<br>対照食品:<br>n=38 |
|-----------------------------|---------|------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 体重<br>(kg)                  | 実測<br>値 | 被験食品 | 72.3±8.7                                | 71.7±8.6 §§                                | 71.6±8.4 §§                                | 71.4±8.8 §§                                 |
|                             |         | 対照食品 | 73.1±8.9                                | 72.7±9.2                                   | 72.8±9.3                                   | 72.7±9.3                                    |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | -0.6±1.1                                   | -0.7±1.1                                   | -0.7±1.4                                    |
|                             |         | 対照食品 |                                         | -0.4±1.1                                   | -0.4±1.2                                   | -0.4±1.5                                    |
| BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> ) | 実測<br>値 | 被験食品 | 26.1±1.5                                | 25.8±1.5 §§                                | 25.9±1.5 §§                                | 25.7±1.6 §§                                 |
|                             |         | 対照食品 | 26.2±1.9                                | 26.0±2.0                                   | 26.0±2.0                                   | 26.0±2.0                                    |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | -0.2±0.4                                   | -0.2±0.4                                   | -0.3±0.5                                    |
|                             |         | 対照食品 |                                         | -0.2±0.4                                   | -0.2±0.4                                   | -0.1±0.5                                    |
| 体脂肪量<br>(kg)                | 実測<br>値 | 被験食品 | 22.0±3.9                                | 21.9±4.0                                   | 22.2±4.1                                   | 22.1±4.2                                    |
|                             |         | 対照食品 | 22.9±5.2                                | 22.7±5.6                                   | 23.0±5.6                                   | 23.0±5.7                                    |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | -0.1±1.1                                   | 0.0±1.2                                    | 0.1±1.4                                     |
|                             |         | 対照食品 |                                         | -0.2±1.0                                   | 0.1±1.0                                    | 0.1±1.3                                     |
| 筋肉量<br>(kg)                 | 実測<br>値 | 被験食品 | 47.5±8.8                                | 47.0±8.4 §                                 | 46.7±8.1 §§                                | 46.5±8.3 §§                                 |
|                             |         | 対照食品 | 47.4±8.4                                | 47.2±8.5                                   | 47.1±8.5                                   | 46.9±8.6 §                                  |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | -0.5±1.5                                   | -0.7±1.3                                   | -0.8±1.2                                    |
|                             |         | 対照食品 |                                         | -0.2±0.8                                   | -0.5±0.6                                   | -0.4±1.1                                    |
| 体脂肪量<br>(右腕)<br>(kg)        | 実測<br>値 | 被験食品 | 1.5±0.4                                 | 1.5±0.4                                    | 1.5±0.4                                    | 1.5±0.4                                     |
|                             |         | 対照食品 | 1.6±0.6                                 | 1.6±0.6                                    | 1.6±0.6                                    | 1.6±0.6                                     |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                     |
|                             |         | 対照食品 |                                         | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                     |
| 体脂肪量<br>(左腕)<br>(kg)        | 実測<br>値 | 被験食品 | 1.5±0.4                                 | 1.5±0.4                                    | 1.5±0.4                                    | 1.5±0.4                                     |
|                             |         | 対照食品 | 1.6±0.6                                 | 1.6±0.6                                    | 1.6±0.6                                    | 1.6±0.6                                     |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                     |
|                             |         | 対照食品 |                                         | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                    | 0.0±0.1                                     |
| 体脂肪量<br>(体幹)<br>(kg)        | 実測<br>値 | 被験食品 | 11.2±1.9                                | 11.1±2.0                                   | 11.3±2.1                                   | 11.3±2.1                                    |
|                             |         | 対照食品 | 11.5±2.4                                | 11.4±2.6                                   | 11.6±2.6                                   | 11.7±2.7                                    |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | -0.1±0.6                                   | 0.1±0.6                                    | 0.1±0.8                                     |
|                             |         | 対照食品 |                                         | -0.1±0.5                                   | 0.1±0.6                                    | 0.2±0.7                                     |
| 体脂肪量<br>(右脚)<br>(kg)        | 実測<br>値 | 被験食品 | 3.3±0.6                                 | 3.3±0.6                                    | 3.3±0.6                                    | 3.3±0.6                                     |
|                             |         | 対照食品 | 3.5±0.8                                 | 3.4±0.9                                    | 3.5±0.9                                    | 3.5±0.9                                     |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | 0.0±0.2                                    | 0.0±0.2                                    | 0.0±0.2                                     |
|                             |         | 対照食品 |                                         | -0.1±0.2                                   | 0.0±0.2                                    | 0.0±0.2                                     |
| 体脂肪量<br>(左脚)<br>(kg)        | 実測<br>値 | 被験食品 | 3.3±0.6                                 | 3.3±0.6                                    | 3.3±0.6                                    | 3.3±0.6                                     |
|                             |         | 対照食品 | 3.5±0.8                                 | 3.4±0.9                                    | 3.5±0.9                                    | 3.4±0.9                                     |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                         | 0.0±0.2                                    | 0.0±0.2                                    | 0.0±0.2                                     |
|                             |         | 対照食品 |                                         | -0.1±0.2                                   | 0.0±0.2                                    | -0.1±0.2                                    |

[0068]

[表4-2]

表 4 の続き

|                        |         |      | 摂取開始前<br>被験食品:<br>n=38<br>対照食品:<br>n=38 | 摂取 4 週間後<br>被験食品:<br>n=38<br>対照食品:<br>n=38 | 摂取 8 週間後<br>被験食品:<br>n=36<br>対照食品:<br>n=37 | 摂取 12 週間後<br>被験食品:<br>n=37<br>対照食品:<br>n=38 |
|------------------------|---------|------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| ウエスト周<br>囲径<br>(cm)    | 実測<br>値 | 被験食品 | 93.9±5.7                                | 93.9±5.2                                   | 94.0±5.6                                   | 93.2±5.6                                    |
|                        |         | 対照食品 | 93.9±7.0                                | 94.2±7.4                                   | 94.6±7.4                                   | § 93.8±7.2                                  |
|                        | Δ       | 被験食品 |                                         | 0.0±1.8                                    | 0.2±1.8                                    | -0.5±1.9                                    |
|                        |         | 対照食品 |                                         | 0.3±1.5                                    | 0.7±1.5                                    | -0.1±1.6                                    |
| ヒップ周<br>囲<br>径<br>(cm) | 実測<br>値 | 被験食品 | 100.9±4.4                               | 101.1±4.2                                  | 101.1±4.0                                  | §§ 99.9±4.2                                 |
|                        |         | 対照食品 | 101.1±5.4                               | 101.6±5.6                                  | 102.2±5.5                                  | §§ 100.9±5.4                                |
|                        | Δ       | 被験食品 |                                         | 0.3±1.7                                    | 0.4±1.6                                    | -0.8±1.8                                    |
|                        |         | 対照食品 |                                         | 0.5±2.2                                    | 0.9±2.1                                    | -0.2±2.5                                    |
| ウエスト<br>/ヒップ比          | 実測<br>値 | 被験食品 | 0.93±0.04                               | 0.93±0.03                                  | 0.93±0.03                                  | 0.93±0.04                                   |
|                        |         | 対照食品 | 0.93±0.05                               | 0.93±0.04                                  | 0.93±0.04                                  | 0.93±0.04                                   |
|                        | Δ       | 被験食品 |                                         | 0.00±0.02                                  | 0.00±0.02                                  | 0.00±0.02                                   |
|                        |         | 対照食品 |                                         | 0.00±0.02                                  | 0.00±0.02                                  | 0.00±0.03                                   |
| 収縮期血<br>圧<br>(mmHg)    | 実測<br>値 | 被験食品 | 120±11                                  | 122±15                                     | 119±12                                     | 120±12                                      |
|                        |         | 対照食品 | 121±12                                  | 115±12                                     | §§ 115±13                                  | §§ 118±12                                   |
|                        | Δ       | 被験食品 |                                         | 2±13                                       | -1±11                                      | 1±13                                        |
|                        |         | 対照食品 |                                         | -6±9                                       | -6±11                                      | -3±11                                       |
| 拡張期血<br>圧<br>(mmHg)    | 実測<br>値 | 被験食品 | 72±8                                    | 76±9                                       | §§ 73±8                                    | 74±8                                        |
|                        |         | 対照食品 | 74±8                                    | 73±9                                       | 72±9                                       | 73±9                                        |
|                        | Δ       | 被験食品 |                                         | 4±8                                        | 1±7                                        | 2±8                                         |
|                        |         | 対照食品 |                                         | 0±6                                        | -2±6                                       | -1±7                                        |
| 脈拍数<br>(回/分)           | 実測<br>値 | 被験食品 | 69±9                                    | 74±14                                      | § 72±10                                    | §§ 74±15                                    |
|                        |         | 対照食品 | 70±10                                   | 70±8                                       | 73±12                                      | §§ 75±11                                    |
|                        | Δ       | 被験食品 |                                         | 5±10                                       | 4±9                                        | 5±11                                        |
|                        |         | 対照食品 |                                         | 0±6                                        | 3±7                                        | 5±7                                         |

平均値±標準偏差、Δ；摂取開始前からの変化量の平均値±標準偏差

※収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍数について、摂取開始前は被験食品：n=39、対照食品：n=39、摂取 4 週間後は被験食品：n=38、対照食品：n=38、摂取 8 週間後は被験食品：n=37、対照食品：n=37、摂取 12 週間後は被験食品：n=37、対照食品：n=38

※ウエスト周囲径、ヒップ周囲径、ウエスト/ヒップ比について、摂取 8 週間後は、被験食品：n=37、対照食品：n=37

群間比較（対応のない t 検定）：\*\* p<0.01, \* p<0.05

摂取開始前との比較（Dunnett の多重比較検定）：§§ p<0.01, § p<0.05

[0069] （血液検査及び尿検査）

P P S における血液検査項目（副次評価項目）の変化を表 5 に示す。T - C h o について摂取 4 週間後に被験食品群は対照食品群と比較して摂取開始前からの変化量に有意な低下抑制がみられた。血糖について被験食品群は対照食品群と比較して摂取開始前から優位に高値を示し、摂取 4 週間後においても有意に高値を示したが、それ以降差はみられなかった。インスリン値について被験食品群は対照食品群と比較して有意な低下がみられた。また、F A S における他の血液検査項目及び尿検査項目について、いずれの被験者も

臨床上問題となる変化は認められなかった。

[0070] [表5]

表5. 血液検査(副次評価項目)

|                             |     |      | 摂取開始前<br>被験食品: n=38<br>対照食品: n=38 | 摂取4週間後<br>被験食品: n=38<br>対照食品: n=38 | 摂取8週間後<br>被験食品: n=37<br>対照食品: n=37 | 摂取12週間後<br>被験食品: n=37<br>対照食品: n=38 |
|-----------------------------|-----|------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| 総ケトン体<br>(mmol/L)           | 実測値 | 被験食品 | 91±88                             | 113±130                            | 95±84                              | 103±105                             |
|                             |     | 対照食品 | 92±102                            | 107±118                            | 86±72                              | 103±107                             |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 22±78                              | 3±78                               | 12±62                               |
|                             |     | 対照食品 |                                   | 15±93                              | -5±126                             | 11±128                              |
| アセト酢酸<br>(mmol/L)           | 実測値 | 被験食品 | 25±21                             | 33±33                              | 31±24                              | 30±24                               |
|                             |     | 対照食品 | 26±23                             | 33±31                              | 30±20                              | 33±31                               |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 9±23                               | 6±21                               | 5±16                                |
|                             |     | 対照食品 |                                   | 7±25                               | 5±29                               | 8±35                                |
| 3-ヒドロキシ<br>酪酸<br>(mmol/L)   | 実測値 | 被験食品 | 66±68                             | 79±99                              | 64±61                              | 73±82                               |
|                             |     | 対照食品 | 67±81                             | 74±87                              | 56±53                              | 70±77                               |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 13±58                              | -3±57                              | 7±47                                |
|                             |     | 対照食品 |                                   | 8±70                               | -9±98                              | 4±94                                |
| T-Cho<br>(mg/dL)            | 実測値 | 被験食品 | 211±29                            | 218±27 §                           | 218±31 §                           | 222±29 §§                           |
|                             |     | 対照食品 | 211±32                            | 209±30                             | 209±32                             | 215±33                              |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 7±18 ]*                            | 7±20                               | 10±16                               |
|                             |     | 対照食品 |                                   | -3±23                              | -2±25                              | 4±27                                |
| LDL-Cho<br>(直接法)<br>(mg/dL) | 実測値 | 被験食品 | 130±22                            | 132±21                             | 131±25                             | 136±23                              |
|                             |     | 対照食品 | 133±27                            | 130±25                             | 127±24                             | 133±26                              |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 2±15                               | 0±15                               | 4±13                                |
|                             |     | 対照食品 |                                   | -3±22                              | -6±22                              | -1±24                               |
| LDL-Cho<br>(F式)<br>(mg/dL)  | 実測値 | 被験食品 | 129±24                            | 133±24                             | 134±26                             | 137±23 §§                           |
|                             |     | 対照食品 | 129±27                            | 129±28                             | 127±26                             | 133±29                              |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 4±17                               | 4±15                               | 7±13                                |
|                             |     | 対照食品 |                                   | -1±21                              | -2±22                              | 3±25                                |
| HDL-Cho<br>(mg/dL)          | 実測値 | 被験食品 | 58±13                             | 60±15                              | 63±16 §§                           | 64±17 §§                            |
|                             |     | 対照食品 | 56±14                             | 56±14                              | 57±14                              | 59±16 §§                            |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 2±7                                | 4±8                                | 5±9                                 |
|                             |     | 対照食品 |                                   | 0±5                                | 1±5                                | 3±6                                 |
| TG<br>(mg/dL)               | 実測値 | 被験食品 | 118±59                            | 125±71                             | 109±45                             | 109±56                              |
|                             |     | 対照食品 | 129±64                            | 120±62                             | 122±66                             | 121±72                              |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 6±68                               | -7±39                              | -11±43                              |
|                             |     | 対照食品 |                                   | -9±47                              | -7±47                              | -9±58                               |
| 血糖<br>(mg/dL)               | 実測値 | 被験食品 | 98±11 ]**                         | 97±11 ]*                           | 97±12                              | 98±10                               |
|                             |     | 対照食品 | 92±7                              | 91±7                               | 93±8                               | 94±7 §                              |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 0±9                                | -1±9                               | 0±8                                 |
|                             |     | 対照食品 |                                   | 0±5                                | 2±6                                | 3±6                                 |
| HbA1c<br>(%)                | 実測値 | 被験食品 | 5.5±0.3                           | 5.5±0.3                            | 5.4±0.3 §§                         | 5.4±0.3 §§                          |
|                             |     | 対照食品 | 5.5±0.3                           | 5.5±0.2                            | 5.4±0.2 §§                         | 5.4±0.2 §§                          |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | -0.1±0.2                           | -0.1±0.2                           | -0.2±0.2                            |
|                             |     | 対照食品 |                                   | 0.0±0.2                            | -0.1±0.2                           | -0.1±0.2                            |
| インスリン<br>(mU/mL)            | 実測値 | 被験食品 | 8.7±6.2                           | 9.3±6.6                            | 9.0±4.1                            | 8.0±3.0 ]*                          |
|                             |     | 対照食品 | 9.2±4.9                           | 9.0±4.2                            | 9.7±4.1                            | 10.0±4.3                            |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | 0.5±8.3                            | 0.2±6.2                            | -0.9±6.0                            |
|                             |     | 対照食品 |                                   | -0.2±3.2                           | 0.8±2.7                            | 0.8±3.1                             |
| グリコ<br>アルブミン<br>(%)         | 実測値 | 被験食品 | 13.5±1.2                          | 13.4±1.1 §                         | 13.6±1.2                           | 13.5±1.2                            |
|                             |     | 対照食品 | 13.4±0.9                          | 13.1±0.9 §§                        | 13.4±0.9                           | 13.2±0.8 §                          |
|                             | Δ   | 被験食品 |                                   | -0.2±0.4                           | 0.1±0.4                            | 0.0±0.4                             |
|                             |     | 対照食品 |                                   | -0.2±0.4                           | 0.0±0.4                            | -0.2±0.4                            |

平均値±標準偏差、Δ；摂取開始前からの変化量の平均値±標準偏差

※摂取4週間後のインスリン、LDH、Kについて、対照食品: n=37、摂取8週間後の血糖、インスリンについて、対照食品: n=36

群間比較(対応のないt検定): \*\* p<0.01, \* p<0.05

摂取開始前との比較(Dunnettの多重比較検定): §§ p<0.01, § p<0.05,

[0071] (活動量計)

試験期間中の活動量について、歩数、Active歩数、中強度活動時間を2週間毎に確認したが、被験食品と対照食品群との間に有意な差はみられなかった。

[0072] (サブグループ解析)

摂取開始前のBMIが $23\text{ kg/m}^2$ 以上 $25\text{ kg/m}^2$ 未満のサブグループ解析の結果を表6に示す。摂取開始前のBMIが $23\text{ kg/m}^2$ 以上 $25\text{ kg/m}^2$ 未満のサブグループ解析における、腹部脂肪面積の評価項目において、内臓脂肪面積について被験食品群は対照食品群と比較して、摂取12週間後に有意な低値がみられた。また、皮下脂肪面積及び総脂肪面積の試験開始前からの変化量について摂取12週間後に有意な減少がみられた。また身体計測項目において、被験食品群は対照食品群と比較して、体重及びBMIについて摂取開始前からの変化量について摂取12週間後に有意な減少がみられた。さらに血液検査の評価項目において、被験食品群は対照食品群と比較して、総ケトン体、アセト酢酸及び3-ヒドロキシ酪酸について摂取12週間後に、摂取開始前からの変化量の有意な上昇がみられた。HDL-Cについて摂取4、8、12週間後に有意な上昇がみられた。TGについて摂取12週間後に有意な低値、摂取開始前からの変化量の有意な低下がみられた。血糖値について摂取前、摂取4、8週間後に有意な高値がみられた。インスリンについて摂取12週間後に、摂取開始前からの変化量の有意な上昇抑制がみられた。

[0073]

[表6-1]

表 6. サブグループ解析 摂取開始前のBMIが23 kg/m<sup>2</sup>以上25 kg/m<sup>2</sup>未満の者

|                                  |         |      | 摂取開始前<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 | 摂取 4 週間後<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 | 摂取 8 週間後<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 | 摂取 12 週間後<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 |
|----------------------------------|---------|------|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 内臓脂肪<br>面積<br>(cm <sup>2</sup> ) | 実測<br>値 | 被験食品 | 127.5±23.4                        |                                      |                                      | 115.2±23.3                            |
|                                  |         | 対照食品 | 137.8±19.8                        |                                      |                                      | 138.9±25.1                            |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   |                                      |                                      | -12.3±16.7                            |
|                                  |         | 対照食品 |                                   |                                      |                                      | 1.0±17.9                              |
| 皮下脂肪<br>面積<br>(cm <sup>2</sup> ) | 実測<br>値 | 被験食品 | 189.4±44.0                        |                                      |                                      | 179.5±40.6                            |
|                                  |         | 対照食品 | 164.4±30.6                        |                                      |                                      | 168.1±32.1                            |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   |                                      |                                      | -9.9±12.6                             |
|                                  |         | 対照食品 |                                   |                                      |                                      | 3.7±10.2                              |
| 総脂肪<br>面積<br>(cm <sup>2</sup> )  | 実測<br>値 | 被験食品 | 317.0±57.5                        |                                      |                                      | 294.7±54.0                            |
|                                  |         | 対照食品 | 302.2±38.9                        |                                      |                                      | 306.9±44.2                            |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   |                                      |                                      | -22.3±26.5                            |
|                                  |         | 対照食品 |                                   |                                      |                                      | 4.7±22.7                              |
| 体重<br>(kg)                       | 実測<br>値 | 被験食品 | 65.7±7.0                          | 65.3±7.0                             | 65.8±7.0                             | 64.7±7.1                              |
|                                  |         | 対照食品 | 68.3±7.4                          | 68.0±7.3                             | 68.1±7.3                             | 68.3±7.2                              |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   | -0.3±0.9                             | -0.6±1.0                             | -1.0±1.0                              |
|                                  |         | 対照食品 |                                   | -0.3±1.0                             | -0.2±0.7                             | 0.0±1.0                               |
| BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> )      | 実測<br>値 | 被験食品 | 24.2±0.3                          | 24.1±0.5                             | 24.0±0.5                             | 23.9±0.5                              |
|                                  |         | 対照食品 | 24.2±0.5                          | 24.1±0.6                             | 24.1±0.5                             | 24.2±0.6                              |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   | -0.1±0.3                             | -0.2±0.3                             | -0.4±0.3                              |
|                                  |         | 対照食品 |                                   | -0.1±0.4                             | -0.1±0.3                             | 0.0±0.4                               |
| 総ケトン体<br>(mmol/L)                | 実測<br>値 | 被験食品 | 117±119                           | 157±198                              | 135±129                              | 154±156                               |
|                                  |         | 対照食品 | 125±158                           | 121±140                              | 91±98                                | 68±83                                 |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   | 40±91                                | 18±82                                | 37±70                                 |
|                                  |         | 対照食品 |                                   | -5±66                                | -34±188                              | -57±87                                |
| アセト酢酸<br>(mmol/L)                | 実測<br>値 | 被験食品 | 31±28                             | 44±42                                | 43±37                                | 42±37                                 |
|                                  |         | 対照食品 | 32±33                             | 37±37                                | 30±26                                | 21±20                                 |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   | 13±24                                | 12±23                                | 11±19                                 |
|                                  |         | 対照食品 |                                   | 5±19                                 | -2±39                                | -11±20                                |
| 3-ヒドロキシ<br>酪酸<br>(mmol/L)        | 実測<br>値 | 被験食品 | 86±92                             | 113±158                              | 92±93                                | 112±119                               |
|                                  |         | 対照食品 | 94±126                            | 84±103                               | 61±73                                | 47±64                                 |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   | 27±72                                | 6±61                                 | 26±53                                 |
|                                  |         | 対照食品 |                                   | -10±53                               | -32±150                              | -47±69                                |
| T-Cho<br>(mg/dL)                 | 実測<br>値 | 被験食品 | 219±37                            | 225±32                               | 224±41                               | 228±38                                |
|                                  |         | 対照食品 | 207±20                            | 210±22                               | 211±23                               | 216±27                                |
|                                  | Δ       | 被験食品 |                                   | 6±17                                 | 5±15                                 | 9±16                                  |
|                                  |         | 対照食品 |                                   | 3±15                                 | 3±17                                 | 9±22                                  |

[0074]

[表6-2]

表 6 の続き

|                             |         |      | 摂取開始前<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 | 摂取 4 週間後<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 | 摂取 8 週間後<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 | 摂取 12 週間後<br>被験食品: n=10<br>対照食品: n=12 |
|-----------------------------|---------|------|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| LDL-Cho<br>(直接法)<br>(mg/dL) | 実測<br>値 | 被験食品 | 134±24                            | 133±26                               | 131±31                               | 137±29                                |
|                             |         | 対照食品 | 132±18                            | 134±17                               | 132±15                               | 134±24                                |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                   | -1±15                                | -3±14                                | 3±14                                  |
|                             |         | 対照食品 |                                   | 2±14                                 | 0±16                                 | 2±21                                  |
| HDL-Cho<br>(mg/dL)          | 実測<br>値 | 被験食品 | 65±18                             | 67±17                                | 69±17                                | 72±16                                 |
|                             |         | 対照食品 | 54±8                              | 52±9                                 | 54±10                                | 55±11                                 |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                   | 2±8                                  | 4±6                                  | 7±6                                   |
|                             |         | 対照食品 |                                   | -2±5                                 | 0±5                                  | 1±7                                   |
| TG<br>(mg/dL)               | 実測<br>値 | 被験食品 | 96±25                             | 113±50                               | 100±22                               | 77±15                                 |
|                             |         | 対照食品 | 124±59                            | 141±92                               | 120±62                               | 137±86                                |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                   | 18±62                                | 5±30                                 | -19±27                                |
|                             |         | 対照食品 |                                   | 17±44                                | -4±27                                | 13±40                                 |
| 血糖<br>(mg/dL)               | 実測<br>値 | 被験食品 | 98±12                             | 98±12                                | 99±9                                 | 98±10                                 |
|                             |         | 対照食品 | 88±8                              | 89±6                                 | 92±5                                 | 92±6                                  |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                   | 0±7                                  | 1±7                                  | 0±6                                   |
|                             |         | 対照食品 |                                   | 0±5                                  | 3±6                                  | 4±7                                   |
| HbA1c<br>(%)                | 実測<br>値 | 被験食品 | 5.5±0.3                           | 5.4±0.3                              | 5.4±0.4                              | 5.3±0.3                               |
|                             |         | 対照食品 | 5.6±0.3                           | 5.5±0.2                              | 5.4±0.2                              | 5.4±0.2                               |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                   | -0.1±0.2                             | -0.1±0.2                             | -0.2±0.2                              |
|                             |         | 対照食品 |                                   | -0.1±0.2                             | -0.2±0.2                             | -0.2±0.2                              |
| インスリン<br>(mU/mL)            | 実測<br>値 | 被験食品 | 5.7±2.1                           | 7.8±4.5                              | 7.0±3.3                              | 6.5±2.1                               |
|                             |         | 対照食品 | 5.7±2.5                           | 7.9±3.2                              | 8.7±3.0                              | 8.6±2.9                               |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                   | 2.1±3.9                              | 1.3±2.0                              | 0.8±1.4                               |
|                             |         | 対照食品 |                                   | 2.2±2.1                              | 2.9±1.8                              | 2.9±1.4                               |
| グリコ<br>アルブミン<br>(%)         | 実測<br>値 | 被験食品 | 13.8±1.0                          | 13.7±1.1                             | 14.0±1.1                             | 13.8±1.2                              |
|                             |         | 対照食品 | 13.5±0.9                          | 13.3±0.8                             | 13.5±0.7                             | 13.3±0.6                              |
|                             | Δ       | 被験食品 |                                   | -0.2±0.4                             | 0.1±0.4                              | 0.0±0.4                               |
|                             |         | 対照食品 |                                   | -0.1±0.5                             | 0.0±0.4                              | -0.2±0.5                              |

平均値±標準偏差、Δ；摂取開始前からの変化量の平均値±標準偏差

群間比較（対応のないt検定）：\*\* p<0.01, \* p<0.05

摂取開始前との比較（Dunnettの多重比較検定）：§§ p<0.01, § p<0.05

[0075] 摂取開始前のBMIが25kg/m<sup>2</sup>以上30kg/m<sup>2</sup>未満のサブグループ解析、性別によるサブグループ解析においては、いずれの評価項目においても被験食品群と対照食品群の間に有意な差は認められなかった。

[0076] （考察）

本試験では、甘草抽出物含有食品の体脂肪低減作用についてBMIが23kg/m<sup>2</sup>以上30kg/m<sup>2</sup>未満、腹部内臓脂肪面積が100cm<sup>2</sup>以上の健康成人男女を対象に甘草抽出物を100mg含有するカプセル（被験食品）又は甘草抽出物を含有しないカプセル（対照食品）を1日1回1カプセル、

12週間摂取させる無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験にて検討した。結果、BMIが $23\text{ kg/m}^2$ 以上 $25\text{ kg/m}^2$ 未満のサブグループにおいて、被験食品群は対照食品群と比較して、摂取12週間後の内臓脂肪面積について有意な低値がみられ、皮下脂肪面積及び総脂肪面積の試験開始前からの変化量、また体重及びBMIの試験開始前からの変化量について、有意な減少がみられたことから甘草抽出物はヒトにおいても体脂肪低減作用を有することが示され、それに伴う体重及びBMI低下がみられた。

[0077] 甘草抽出物の体脂肪低減作用の機序については、細胞試験において脂肪細胞中のTGの分解を促進することが後述する試験により確認された。動物試験においても、体脂肪蓄積抑制や脂肪細胞のサイズ減少が確認されており、細胞試験の結果を支持する結果が報告されている。本試験においても体脂肪低減作用が認められたが、その際に総ケトン体、アセト酢酸、3-ヒドロキシ酪酸について、被験食品群は対照食品群と比較して有意な上昇がみられた。血中ケトン体の上昇は $\beta$ 酸化による脂肪酸の消費の指標でありインスリン抵抗性を示す際にもみられるが、血糖値の上昇やインスリン値の上昇も認められておらず、インスリン抵抗性の増悪によるものではなく、他の機能性食品等でも報告のあるエネルギー消費の亢進によるものと考えられた。

[0078] これらの結果から、甘草抽出物摂取により脂肪細胞でTGが分解された際に、遊離脂肪酸が放出され、速やかに $\beta$ 酸化によりエネルギー源として消費された結果として体脂肪低減作用をもたらしたことが示唆された。

[0079] 後述する試験により脂肪細胞中のTG分解については、甘草抽出物中のグリアスペリンBがほぼ100%の寄与率を示すことが確認されている。以上のことから、甘草抽出物摂取による体脂肪低減作用はグリアスペリンBによるものであると考えられた。

[0080] 本試験では、甘草抽出物の安全性についても確認した。その結果、臨床検査値の異常を含め、甘草抽出物摂取に起因する有害事象は認められておらず、甘草抽出物の長期摂取における安全性に問題が無いと考えられた。

[0081] (結論)

甘草抽出物含有食品は、肥満気味（BMIが23kg/m<sup>2</sup>以上、25kg/m<sup>2</sup>未満。腹部内臓脂肪面積が100cm<sup>2</sup>以上。）の健康成人男女において、体脂肪低減作用を有することが示された。また、その作用機序の一端として、脂肪細胞中のTGの分解作用、それに伴う脂肪酸消費（β酸化）の亢進が考えられた。

[0082] <試験2>

5週齢の雄性C57BL/6Jマウスを6匹ずつに分け、MF（オリエンタル酵母）、高脂肪高糖質食粉末飼料（以下HFSと略す、D12079B M、Research Diet）又は甘草抽出物を混合したHFSを与えて8週間飼育した。摂取8週間後に体重および内臓脂肪重量（副睾丸周囲脂肪重量、腎周囲脂肪重量及び腸間膜脂肪重量の合算）を測定した。なお、甘草抽出物として、甘草の根及びストロンの部分を粉砕して得た粉末から、50%（v/v）エタノール抽出工程を経て得られた液を、エバポレーター及び凍結乾燥にて乾固した後粉砕し、甘草抽出物を得た。これらを、それぞれ飼料に0.3%混合して与えた。甘草抽出物に含まれるグリアスペリンB量及び、マウスの体重増加量と内臓脂肪重量を表7に示す。

[0083] [表7]

表7. 甘草抽出物に含まれるグリアスペリンB量及び、マウスの体重の増加量、内臓脂肪重量

|      | 甘草抽出物中のグリアスペリンB量<br>(μg/g) | 体重の増加量<br>(g)  | 内臓脂肪重量<br>(g) |
|------|----------------------------|----------------|---------------|
| 試験例1 | 100.0                      | 10.38±0.78     | 2.03±0.26     |
| 試験例2 | 122.9                      | 9.78±0.67      | 1.88±0.16     |
| 試験例3 | 137.5                      | 7.88±0.38      | 1.48±0.11     |
| 試験例4 | 148.1                      | 7.09±0.50 *    | 1.13±0.14 *   |
| 試験例5 | 0                          | 10.13±0.99 vs. | 2.14±0.34 vs. |

平均値±標準偏差、スチューデントのt検定(\* p<0.05, \*\* p<0.01, vs. 試験例5)

[0084] (結論)

甘草抽出物の中でも、グリアスペリンBの配合量が多いものを摂取したマウスほど、体重の増加が緩やかであり、内臓脂肪重量も軽かった。このことから、甘草抽出物の体脂肪・内臓脂肪低減作用にはグリアスペリンBが大きく関与しており、ひいては試験例1の結果にも関与していることが示唆され

た。

[0085] <試験3> グリアスペリンBの調製

カンゾウ抽出物1 gあたり10 mlの蒸留水を加えて溶解させカンゾウ抽出物水溶液を調製した。この水溶液の容量に対して半量の酢酸エチルを加えて混和し二層に分離した状態とし、そこから酢酸エチル層を回収する操作を3度繰り返した。得られた酢酸エチル層に無水硫酸ナトリウムを加えた後、ろ過をすることで有機画分を得た。有機画分をエバポレーターにて濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフにて、ヘキサン：酢酸エチル=1：1（v/v）で溶出した画分を、ODSカラムを用いた高速液体クロマトグラフ（アセトニトリル：水=60：40，45：55（いずれもv/v））により精製を繰り返すことで、化合物（グリアスペリンB）を得た。ここで得られたグリアスペリンB（GB）を以下のマウス前駆脂肪細胞3T3-L1を使用した試験において被験物質として用いた。

[0086] なお、上記カンゾウ抽出物は、以下の方法によって得られたものである。

即ち、甘草の茎、根及びストロンの部分を粉砕し、甘草粉末を得た。甘草粉末50 gを20℃で含水50%エタノール500 mLを用いて抽出して得られた抽出物を凍結及びエバポレーターにて乾燥し、甘草の含水50%エタノール抽出物を得た。

[0087] 化合物のスペクトルデータは以下に示す通りであり、文献（Zeng L. et al., *Heterocycles* 34:575-587 (1992)）においてGlycyrrhiza属植物より単離報告がなされているグリアスペリンBのスペクトルデータと非常によく一致を示しており、構造情報との矛盾が認められないことから、化合物がグリアスペリンB（GB）であると同定した。

[0088]  $^1\text{H-NMR}$ （重アセトン）ppm: 1.63 (3H, s), 1.74 (3H, s), 3.24 (2H, d,  $J=7.0$  Hz), 3.90 (3H, s), 4.27 (1H, dd,  $J=5.5$  及び  $10.5$  Hz), 4.48 (1H, dd,  $J=5.0$  及び  $11.5$  Hz)

), 4.62 (1H, t,  $J=10.5$  Hz), 5.17 (1H, t,  $J=7.0$  Hz), 6.13 (1H, s), 6.33 (1H, dd,  $J=2.0$  及び  $8.5$  Hz), 6.45 (1H, d,  $J=2.0$  Hz), 6.94 (1H, d,  $J=8.5$  Hz), 8.30 (1H, bs), 8.63 (1H, bs), 12.48 (1H, s)

$^{13}\text{C}$ -NMR (重アセトン) ppm: 17.6, 21.4, 25.7, 47.2, 56.2, 71.0, 91.3, 103.5, 103.7, 107.6, 109.7, 113.5, 123.3, 131.1, 131.5, 156.8, 158.7, 161.1, 162.7, 165.8, 198.7

ESI+-MS  $m/z$ : 393.13059  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (計算値、 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{Na}$ : 393.13086)

[0089] カンゾウ抽出物に含まれるグリアスペリンB (GB) は、以下に詳細を記載する高速液体クロマトグラフ法により定量した。その結果、グリアスペリンB (GB) の含有量は、甘草抽出物1gあたり132.6  $\mu\text{g}$ であった。また、上記カンゾウ抽出物に含まれるグリチルリチン酸は、甘草抽出物1gあたり123mgであり、グリアスペリンB (GB) 含有量/グリチルリチン酸含有量の値 (比) は、0.00107であった。

[0090] (グリアスペリンB (GB) の分析条件)

カラム; TSK gel ODS-100V 5  $\mu\text{m}$  (東ソー) 4.6mm (内径)  $\times$  150mm (長さ)

カラム温度; 40°C、移動相; アセトニトリル: 水 = 45 : 55 (v/v)

流速; 1ml/min

検出波長; 290nm

GBの保持時間; 33.2分

[0091] <試験4>カンゾウ抽出物及びグリアスペリンB (GB) の脂肪分解効果の検討

マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 を、分化誘導培地 (0.5 mM isobutyl-methylxanthine、1  $\mu$ M Dexamethasone、1  $\mu$ g/mL insulin in 10% FBS/DMEM) にて 2 日間培養した後、1  $\mu$ g/mL の insulin を含有する 10% FBS/DMEM 培地に交換して 7 日間培養した。被験物質 (カンゾウ抽出物及び GB) は分化誘導開始から 9 日目において添加し、その後 19 時間培養した。カンゾウ抽出物としては、試験 1 で用いたカンゾウ抽出物を用い (最終濃度 100  $\mu$ g/mL、200  $\mu$ g/mL、300  $\mu$ g/mL)、GB としては、試験 1 で調製した GB を用いた (最終濃度 13.5 ng/mL、27 ng/mL、40 ng/mL)。各群 3 例として試験を行った。細胞中に蓄積している中性脂肪が分解して培地中に放出されるグリセロールを、ラボアッセイ (TM) トリグリセライド (富士フィルム和光純薬) にて定量した。結果を図 1 に示す。グリセロール量は、平均値  $\pm$  標準偏差で示した。図 1 中の各符号は以下を示す。\* \*  $p < 0.01$  vs. 無処置 (Student's t 検定)。

[0092] 図 1 に示すとおり、GB の濃度依存的に放出されるグリセロール量が増加しており、細胞内の脂肪分解が GB の濃度依存的に起こることが示され、GB は脂肪細胞の脂肪分解促進作用を有することがわかった。一方、カンゾウ抽出物によっても脂肪細胞からグリセロールが放出されたが、カンゾウ抽出物の濃度が 300  $\mu$ g/mL の場合には、100  $\mu$ g/mL や 200  $\mu$ g/mL の場合よりも放出されるグリセロール量が減少した。なお、カンゾウ抽出物のそれぞれの濃度 100  $\mu$ g/mL、200  $\mu$ g/mL、300  $\mu$ g/mL は、含まれる GB 量に換算するとそれぞれ 13.5 ng/mL、27 ng/mL、40 ng/mL となる。カンゾウ抽出物でも優れた脂肪分解効果を奏するが、その濃度が高くなると脂肪分解効果が低減することから、カンゾウ抽出物中には、種々の成分が含まれており、その中には脂肪分解を阻害する成分が含まれている可能性が示唆された。このことから、より高い脂肪分解効果を得るためには、カンゾウ抽出物よりも GB の精製品を用いる方が

好ましいといえる。

[0093] <試験5>カンゾウ抽出物の体重、BMI及び内臓脂肪レベル（内臓脂肪蓄積の指標値）への効果

被験者（59歳の男性1名）は、試験1で用いたカンゾウ抽出物を一日あたり200mg、100日間摂取した。被験者には記録用紙を渡し、タニタの体組成計にて測定した体重、BMI及び内臓脂肪レベルをカンゾウ抽出物の摂取開始前（0日目）、摂取30日目、摂取45日目、摂取72日目、摂取83日目、摂取92日目及び最終摂取日翌日（101日目）に記録させた。摂取開始前からの体重、BMI及び内臓脂肪レベルの変化量を図2に示す。

[0094] 図2に示すとおり、GBを含むカンゾウ抽出物を摂取することにより、先行して内臓脂肪レベルが低下し、追って体重及びBMIが低下することが示された。上記試験3の結果と考え合わせると、カンゾウ抽出物中のGBが脂肪細胞中の脂肪を効率よく分解し、内臓脂肪等の体脂肪を減少させたものと考えられた。

[0095] <試験6>

5週齢の雄性C57BL/6Jマウスを6匹ずつに分け、MF（オリエンタル酵母）、高脂肪高糖質食粉末飼料（以下HFSと略す、D12079BM、Research Diet）又は甘草抽出物を混合したHFSを与えて8週間飼育した。摂取8週間後に内臓脂肪重量（副睾丸周囲脂肪重量、腎周囲脂肪重量及び腸間膜脂肪重量の合算）を測定した。なお、甘草抽出物（試験例1～5）として、甘草の根及びストロンの部分を粉砕して得た粉末から、50%（v/v）エタノール抽出工程を経て得られた液を、エバポレーター及び凍結乾燥にて乾固した後粉砕し、甘草抽出物を得た。これらを、それぞれ飼料に下記表8に示す量（%）混合して与えた。ヒト換算のグリアスペリン投与量（ $\mu\text{g}/\text{日}$ ）と、マウスの内臓脂肪重抑制率（%）を表8に合わせて示す。

[0096]

[表8]

|       | 飼料に混合した<br>甘草抽出物の量<br>(%) | ヒト換算<br>グリアスペリン B 投与量<br>( $\mu\text{g}/\text{日}$ ) | 内臓脂肪重量抑制率<br>(%) |
|-------|---------------------------|-----------------------------------------------------|------------------|
| 試験例 1 | 0.1                       | 9.7                                                 | 24               |
| 試験例 2 | 0.2                       | 19.3                                                | 40               |
| 試験例 3 | 0.3                       | 29.1                                                | 43               |
| 試験例 4 | 0.2                       | 31.6                                                | 45               |
| 試験例 5 | 0.3                       | 47.6                                                | 47               |

[0097] (結論)

上記表に示すとおり、マウスに対するグリアスペリンの投与量（摂取量）がヒト換算で9.7  $\mu\text{g}/\text{日}$ ～47.6  $\mu\text{g}/\text{日}$ の条件で、顕著な内臓脂肪重量抑制効果が見られた。

産業上の利用可能性

[0098] 本発明の内用組成物は、グリアスペリン B を含有することにより、優れた脂肪分解促進作用を有すると共に、顕著な体重減少効果を奏する。本発明の内用組成物を用いることで、脂肪細胞中の脂肪を効率よく分解し、皮下脂肪、内臓脂肪等の体脂肪を減少させることができ、結果的に顕著な体重減少効果、BMI の改善効果を得ることができる。また、インスリン抵抗性改善、コレステロール値低減効果も得られる。よって、本発明の内用組成物によると、肥満や生活習慣病を長期的に予防し、また改善することができ、健康の維持・増進を実現することができる。さらに、植物抽出物におけるグリアスペリン B の含有量が、植物抽出物の脂肪分解、体重減少等に対する有効性の指標になることから、有効性の高い植物抽出物を効率的に選定することが可能となる。

### 請求の範囲

- [請求項1]           グリアスペリンBを含有する、脂肪の分解、脂肪の燃焼、脂肪の消費補助、BMIの改善、BMIの低下補助、腹部の脂肪減少、内臓脂肪減少、体脂肪の減少、ウエスト周囲径の減少、インスリン抵抗性の改善、LDLコレステロール値の減少のうちのいずれか一以上のために用いられる内用組成物。
- [請求項2]           グリアスペリンBを、有効量含有する、脂肪の分解、脂肪の燃焼、脂肪の消費補助、BMIの改善、BMIの低下補助、腹部の脂肪減少、内臓脂肪減少、体脂肪の減少、ウエスト周囲径の減少、インスリン抵抗性の改善、LDLコレステロール値の減少のうちのいずれか一以上のために用いられる内用組成物。
- [請求項3]           有効量が、成人1日あたり10 $\mu$ g以上である、請求項2に記載の内用組成物。
- [請求項4]           BMIが23kg/m<sup>2</sup>以上30kg/m<sup>2</sup>未満の成人に対して用いられる、請求項1又は2に記載の内用組成物。
- [請求項5]           内臓脂肪面積が100cm<sup>2</sup>以上の成人に対して用いられる、請求項1又は2に記載の内用組成物。
- [請求項6]           グリアスペリンBの総量換算で、5～100 $\mu$ g/日の用量で摂取される、請求項1又は2に記載の内用組成物。
- [請求項7]           植物抽出物について、グリアスペリンBの含有量を指標に、生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法。
- [請求項8]           上記植物が、甘草である、請求項7に記載の脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性を判定する方法。
- [請求項9]           植物抽出物の品質の指標であって、上記品質が、生体における脂肪分解及び／又は体重減少に対する有効性に関する品質であり、グリアスペリンBからなることを特徴とする指標。
- [請求項10]           上記植物が、甘草である、請求項9に記載の指標。