

ビルベリー果実由来特定アントシアニン摂取による VDT 負荷眼疲労の回復効果

Effect of Particular Anthocyanins Derived from Vaccinium Myrtillus Fruits in Reducing Eye Fatigue by VDT Stress

小齊平麻里衣¹⁾ 高尾 久貴¹⁾ 葉山 隆一²⁾
堀江 幸弘³⁾ 北市 伸義³⁾

ABSTRACT

Objective Several previous articles have considered anthocyanins (ACNs) to be beneficial to eyesight. However, much of their evidence was lacking, and the origin, kind and formation of the tested ACNs in the articles were not always specified and identified. The present study aimed to investigate the effect on eye strain of Standardized Bilberry Extract (SBE) containing a particular kind and formation of ACNs at lower dosage.

Methods We conducted a randomized double-blind parallel-group study with twenty-four healthy Japanese participants aged from 20-59. The participants took either placebo or 107 mg of SBE (40 mg of Vaccinium Myrtillus ACNs: VMA) for 28 days. They used smartphones for 20 minutes to induce eye strain via visual display terminal (VDT) load and took a rest wearing an eye mask for a 10 minute recovery period. HFC-1 scores for each subject's dominant eye were monitored twice; once before and once after the rest period.

Results We measured the variation in the change in HFC-1 scores of both groups between the first (date 0) and second (date 28) visits. We observed the variation of the SBE group to show a significant improvement over that of the placebo group ($P=0.016$).

Conclusions Oral SBE (40 mg of VMA) intake alleviated eye strain induced by VDT stress. (Jpn Pharmacol Ther 2015 ; 43 : 1339-46)

KEY WORDS Vaccinium myrtillus, Anthocyanin, VDT, Eye strain

はじめに

アントシアニンフラボノイドに属する化合物群の総称で、果実、花、野菜に含有されており、食生

活を通じて幅広く経口摂取される植物資源である¹⁾。アグリコンの構造種別、結合糖鎖の種類と数、アシル基の有無などにより500以上の配糖体構造が知られているが、それぞれの生体における効用・効

¹⁾株式会社オムニカ ²⁾葉山眼科クリニック ³⁾北海道医療大学病院 眼科

Marie Kosehira and Hisataka Takao: Omnica Co., Ltd.; Ryuichi Hayama: Hayama Eye Clinic; Yukihiro Horie and Nobuyoshi Kitaichi: Department of Ophthalmology, Health Sciences University of Hokkaido

果については未解明の部分が多い。これらアントシアニンには抗酸化物質として知られるが、ポリフェノール類のなかでも吸収率が低く²⁾、経口摂取後の生物学的利用能 (bioavailability: BA) も低いことが課題である³⁾。1960年代からアントシアニン基原原料、*vaccinium myrtillus* (一般名: ビルベリー) 果実の高純度精製技術が進歩した。特定の *vaccinium myrtillus anthocyanin* (VMA) 組成物の安定供給が可能になり、さまざまな効用・効果を期待した VMA 含有エキス製剤が研究されるようになった。しかし、2006年頃からは基原・製造法・成分組成などが異なり安価で粗悪な、名称のみ同一の「ビルベリーエキス」が市場に拡散した⁴⁾。特定 VMA 組成物にて行われた研究実績を、有効性を裏づける根拠は示されていない基原や組成がまったく異なるアントシアニンの実績と誤認させることがある。天然由来化合物を評価するためには、組成が十分に決定されていて、かつ研究試料と市販成分とのあいだには同等性が確保される必要がある。

これまで、われわれは、特定 VMA 組成物である標準ビルベリーエキス (Standardized Bilberry Extract)⁵⁾ の臨床研究として、摂取後 30分から90分に最高血中濃度到達時間 (T_{max}) に達する試験試料 SBE を被験物とし、VDT 負荷で誘発される眼疲労抑制効果と瞳孔の縮瞳率の改善効果を報告した⁶⁾。眼疲労を他覚的に評価する方法として、被験者の近見反応時の輻輳、縮瞳、調節の三つの評価方法がある。これらのうち毛様体筋の調節力を視標にして、アントシアニン含有製剤摂取に眼疲労抑制効果を評価した研究が報告されるが^{7,8)}、検査装置としてアコモドポリレコーダーによる屈折率を指標としている点、自覚的検査での肯定的な結果が伴わないという点で課題が残される。信頼性が高い検査装置を用いた他覚的検査による研究結果も報告されるが^{6,9)}、これらの研究では、毛様体筋の調節力を検査指標にしていない点、摂取量が比較的高摂取量である点が指摘される。

今回われわれは、VDT 負荷を与えた健常者の優位眼を対象とし、BA に再現性が高い SBE を市販実績に基づく摂取量で4週間介入試験を行った。他覚的評価は再現性の高いと考えられる調節微動高周波成分 (HFC-1) を主要評価項目とし、毛様体筋緊張の解析から眼疲労の緩和・改善への効果を検討した。

I 対象と方法

1 試験デザインおよび対象

ビルベリー抽出物含有食品 (SBE 食品) の眼疲労の症状改善効果を評価するため、無作為化、二重盲検、プラセボ対照ヒト臨床試験を行った。本試験は「ヘルシンキ宣言 (2008年10月改訂)」、および「疫学研究に関する倫理指針 (2008年一部改正)」を遵守し、試験計画はユニバーサル臨床システム倫理委員会によって承認された (UMIN 登録番号: UMIN000015861)。すべての被験者に対して試験参加前に十分な説明を行い、文書による同意を得た。試験は葉山眼科クリニック検査センターにて、眼科医師の管理のもと実施された。

眼疲労の改善効果を評価するため、被験者は20歳以上60歳未満の健康成人男女で、VDT 作業従事者、および眼精疲労の自覚者を選択した。試験前スクリーニングでは、眼科的一般検査および事前アンケート調査を行った。次のいずれかの基準にあてはまる者は試験から除外した。

①薬剤アレルギーや食品アレルギーの既往歴がある、②糖尿病、または消化器、肝臓、膵臓、心臓、および腎臓などに重篤な疾病あるいは既往歴がある、③過去1ヵ月以内に他の臨床試験に参加した、④事前アンケートや問診等により暴飲暴食や不規則な食生活が予測される、⑤試験食品の主成分含有食品、および眼精疲労改善が期待される医薬品、サプリメントを使用している、⑥医薬品を投与されている、または試験期間中に新たな健康食品の摂取を予定している、⑦その他、試験責任医師が本試験への参加が不適当と判断した者。

試験前スクリーニング時の年齢、性別、HFC-1 値のしるしで層別したのち無作為に2群に分けた (層別無作為化)。介入試験に関与しない割付け責任者により試験食品のいずれかを無作為に割り付けた。本試験の評価に使用する眼は優位眼とし、優位眼は試験前スクリーニング時に hole in card 法で決定した。

2 試験食品

本試験食品は、(株)オムニカのアントシアニンを37%含有するビルベリー果実抽出物「ミルトアルゴス®」(図1および表1)を53.5 mg 含むハードカプ

表 1 標準 VMA のアントシアニン 15 種類 含有量・組成比率のパターン

含有量順位	アグリコン 3 種計	R3'	R5'	配糖体別の組成順位
1	デルフィニジン系	OH	OH	グルコース>ガラクトース>アラビノース
2	シアニジン系	OH	H	グルコース>ガラクトース>アラビノース
3	ペチュニジン系	OH	OCH ₃	グルコース>ガラクトース>アラビノース
4	マルビジン系	OCH ₃	OCH ₃	グルコース>ガラクトース>アラビノース
5	ペオニジン系	OCH ₃	H	グルコース>ガラクトース>アラビノース

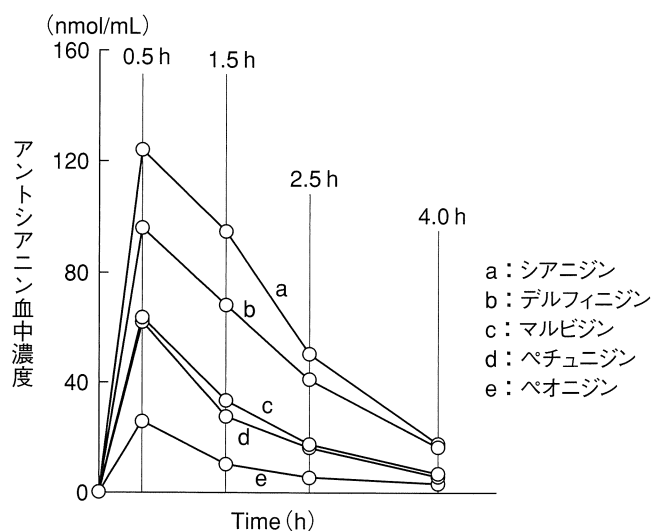


図 1 アントシアニン血中濃度の推移
 単回投与の VMA 血中濃度 0-360 min
 シアニジン, デルフィニジン, マルビジン, ペチュニジン,
 ペオニジン: 各アグリコン種合計値

セル (SBE 食品) 2 カプセル, およびビルベリー抽出物を含まない対照カプセル (プラセボ) 2 カプセルとした。

HPLC/UV にて定量した VMA 40 mg/day を摂取するため, SBE 摂取量は 107 mg/day とした。SBE 食品 1 カプセルあたりの内容物の組成は, ミルトアルゴス® 53.5 mg, デキストリン 49 mg, デンプン 125 mg, ステアリン酸カルシウム 18.75 mg, および微粒酸化ケイ素 3.75 mg。プラセボは, デキストリン 50 mg, デンプン 127.5 mg, ステアリン酸カルシウム 18.75 mg, 微粒酸化ケイ素 3.75 mg, さらに SBE 食品と外見上識別不能にするため, カラメル色素 50 mg を加えた。

3 摂取方法とスケジュール

本試験は無作為化, 二重盲検, プラセボ対照試験である。試験期間は 28 日間とし, 被験者には, 1 日

1 回 2 カプセルを期間中毎日摂取し, それ以外はそれまでの日常生活を変えないように指導した。他の食品との同時摂取による影響を軽減させるため, 摂取は朝食前または昼食前の空腹時とした。検査当日の試験の流れを図 2 に示す。各被験者には来場後, 視覚的アナログスケール (visual analog scale, VAS) 調査を実施したのち, 照度 500±50 lux の部屋で VDT 作業負荷を 20 分間与えた。負荷内容は, スマートフォン (Apple Inc. iPhone 5) によるゲームである。ゲームは理解が簡単な落ち物ゲームである Tetris® を採用した。被験者に均一な負荷をかけるため, 被験者の首に紐をかけてスマートフォンと眼の距離を 30 cm 以内の位置に本体を固定した。負荷後検査に HFC-1 測定と自覚症状アンケートを実施した。アンケートの終了後はアイマスクを着用して 10 分間安静にして休息させたのち再度同測定とアン

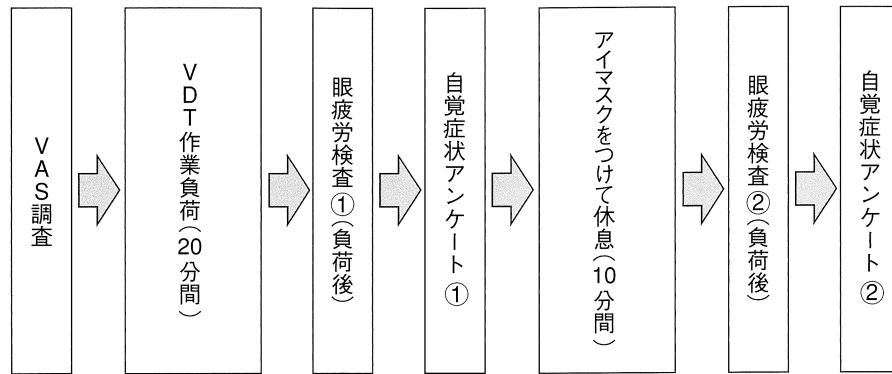


図 2 試験スケジュール

ケートを行った。

4 検査項目

検査は、介入開始の当日（摂取0週目）および28日後（4週目）の計2回評価した。いずれもVDT作業負荷作業を行い、眼科的検査、自覚症状アンケート、日誌の記載内容（試験食品の摂取状況、健康状態、有害事象など）を確認した。

1) 眼科的検査

オートレフレクトメーターARK-560A（ニデック社）に搭載した眼調節機能解析ソフトウェアAA-2（ニデック社）を用いて調節微動高周波成分（HFC）を測定した。

HFCの算出は、梶田らの報告¹⁰⁾より、測定ごとに計測する最低屈折値を基準に、+0.50～-3.00D間を遠方から近方に0.50Dステップで呈示位置を変えて、調節応答波形を計測する。得られた波形を高速フーリエ変換して周波数を分析し、パワースペクトル曲線（PS曲線）を求めた。このPS曲線から周波数1.0～2.3Hzの区間の平均パワースペクトルを求め、HFCとした。本試験では最低屈折値から-0.75Dまでの範囲のフラクシオンをHFC-1領域とし、HFC-1領域のフラクシオンにおけるHFC値の平均値を眼疲労測定の指標とした。休息後一負荷後のHFC-1値の差を変動値とした。

2) VAS調査

VAS調査は、0、1、2、3および4週目に行った。0および4週目は来場時に記入させ、1、2、および3週目は日誌に記入させた。質問内容は、「ここ1週間の目の疲れはどのくらいですか？」の1項目である。回答記入用紙には10cmの直線が書かれ、左端

に「全くない」、右端に「非常に疲れている」と記載されている。被験者はその直線上に現在の症状の程度を「×」を書き表し、左端から「×」までの長さ測定して評価する。

3) VDT負荷後の自覚症状アンケート

VDT負荷後の自覚症状アンケートは、VDT作業負荷後と休息後に行った。アンケート項目は、以下のとおりである。

(1) アンケート①（負荷後）

30分間ゲームをして、目の疲れはどうですか？

1まったく疲れしない、2あまり疲れしない、3少し疲れた、4疲れた、5非常に疲れた

(2) アンケート②（休息後）

休息後、目の疲れは変化しましたか？

1非常に回復した、2回復した、3少し回復した、4あまり変わらない、5まったく変わらない、6かえって疲れが増した

5 統計解析

HFC-1変動値とVAS調査の群間比較、ならびに試験食摂取前後のHFC-1変動値とVAS調査には、Studentの*t*検定を用いた。試験食摂取前後のHFC-1変化量の群間比較はHFC-1の前値を共変量とした共分散分析により実施した。ただし、データを共分散分析で解析するには不適切であると判断された場合は、*F*検定で等分散性を確認し、等分散の場合はStudentの*t*検定、不等分散の場合はAspin-Welchの*t*検定を実施した。HFC-1変動眼数は、 χ^2 検定を行った。VDT負荷後の自覚症状アンケートの群間比較と試験食摂取前後の比較にはMann-Whitneyの*U*検定を用いた。反復測定データについては、時点

表 2 被験者背景

		n 数	平均年齢 (mean±SE)
性別	男	13	36.2±1.67
	女	11	34.0±2.14
優位眼	右	18	
	左	6	
平均値 (mean±SE)			
優位眼の HFC-1			51.3±1.20

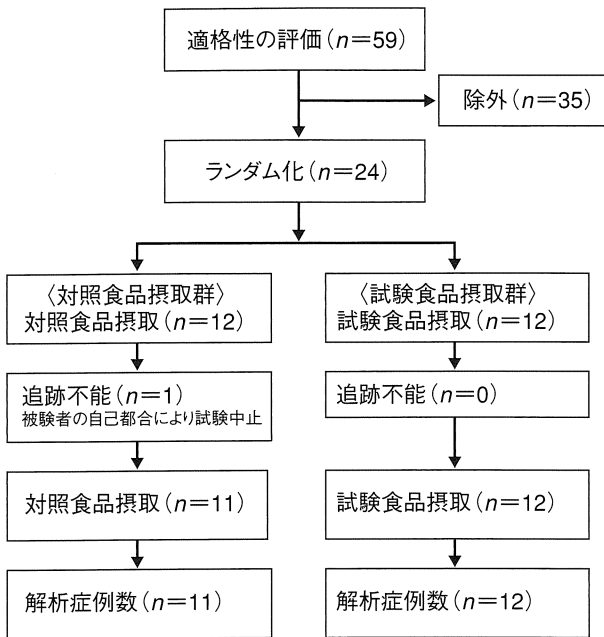


図 3 被験者の組入れから解析について

ごとに群間比較を行い、多重性の調整は行わなかった。いずれの検定でも有意水準は両側検定で10%未満を有意傾向、5%未満および1%未満を有意差とした。

II 結 果

1 被験者背景

被験者の選択は、試験前スクリーニングとして59名に行った眼科の一般検査および事前アンケート調査の結果から除外基準に基づき24名を適格被験者と判断した。

適格被験者のうち24名中13名が男性、11名が女性であった。平均年齢は男性36.2歳、女性34.0歳、被験者全体では35.2±1.3歳であった(表2)。24名

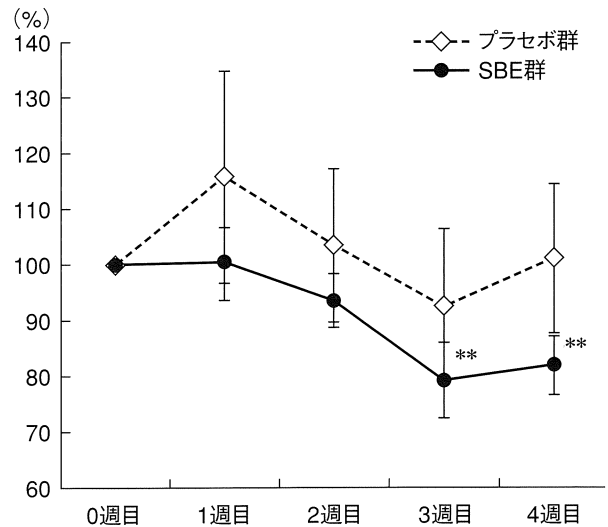


図 4-1 VAS 調査

**P<0.01

各群の0週目を100%としたときの変化率

のうち12名をSBE群、12名をプラセボ群におおの無作為に割り付けたが、その後1名が自己都合により辞退したため、SBE群12例、プラセボ群11例で臨床試験を行い、full analysis set (FAS) 解析を行った。本試験における被験者組入れから解析までの流れを図3に示す。

2 自覚症状への効果

1) VAS 調査

VAS 調査の結果では、SBE群では摂取前と比較して2週目(93.6±4.8%, P=0.08)から改善傾向を示し、3週目(79.1±6.8%, P=0.007)および4週目(81.8±5.2%, P=0.0025)では有意な改善がみられた。しかしSBE摂取群とプラセボ摂取群間では有意な差はみられなかった。プラセボ群は試験期間中有意的な変化はみられなかった(図4-1)。

2) VDT 負荷後の自覚症状アンケート

VDT 作業負荷後に行うアンケート①「VDT 作業後の目の疲れ」では、両群とも有意な変化はみられなかった(図4-2)。休息後のアンケート②「休息後の目の疲れ」では、プラセボ群では変化がなかったのに対し、SBE群では摂取前(3.67±0.22)と比較して、摂取4週間後(3.00±0.25)で改善傾向がみられた(P=0.07)。SBE摂取群とプラセボ摂取群の群間比較では有意な差はみられなかった(図4-3)。

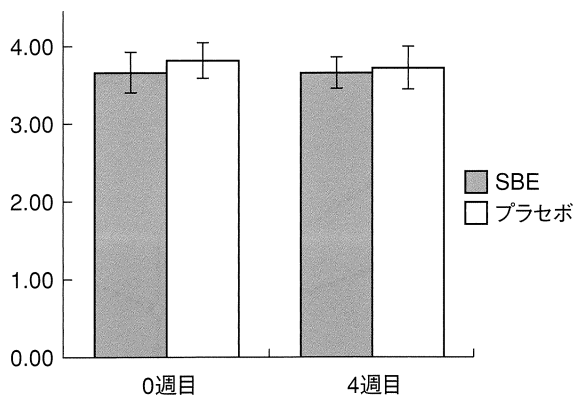


図 4-2 自覚症状アンケート①

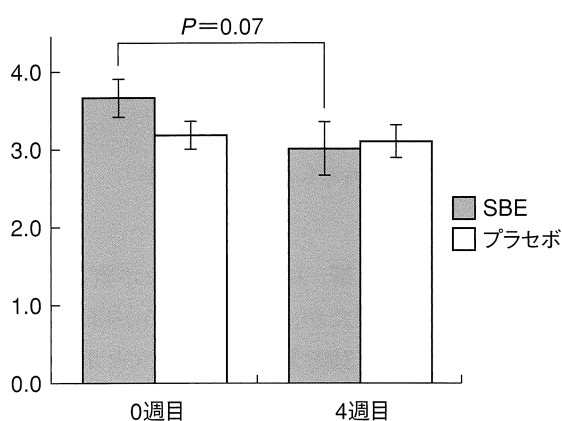


図 4-3 自覚症状アンケート②

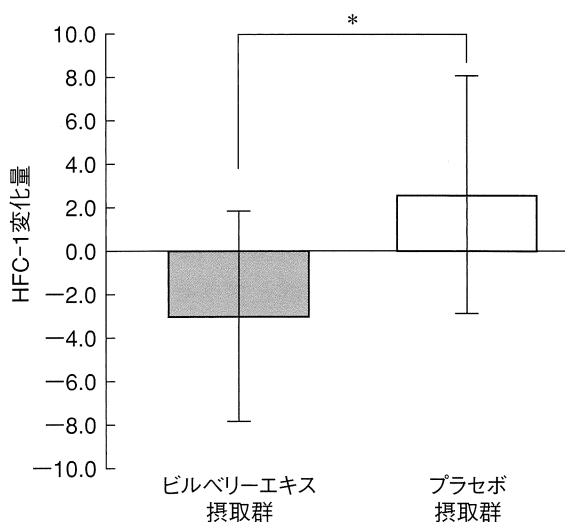


図 4-4 HFC-1 値の変化量

* $P < 0.05$

3 他覚所見への効果

1) HFC-1 変化量

摂取0および4週目のプラセボ群のHFC-1の変化量を測定した。摂取前後のHFC-1変動値はSBE

表 3 HFC-1 変動眼数

	HFC-1 変動眼数			
	SBE 群		プラセボ群	
	増加	減少	増加	減少
0 週目	8	4	5	6
4 週目	6	6	8	3

表 4 有害事象発生件数

症状	発生件数 (件)	
	SBE 群	プラセボ群
頭痛	3	3
腸の不調		1
胃腸炎	1	
体のかゆみ	1	
喉の痛み	1	
めまい		1
風邪		1
合計	6	6

群で低下しており (3.33 ± 4.82 , 0.28 ± 4.10), 変化量は, SBE 群はプラセボ群より有意に低下していた (-3.05 ± 4.88 , 2.60 ± 5.44 ; $P = 0.02$)。試験食品摂取前後の比較で, SBE 群では改善していた (図 4-4)。

2) HFC-1 変動眼数

負荷後, 休息後の優位眼における HFC-1 値の増減を確認した。SBE 群では, 摂取前は負荷後 HFC-1 値と比較して休息後 HFC-1 値の増加が 8 眼, 減少 4 眼, プラセボ群では増加 5 眼, 減少 6 眼であったのに対し, 摂取後の SBE 群は増加 6 眼, 減少 6 眼, プラセボ群は増加 8 眼, 減少 3 眼であった (表 3)。SBE 摂取群では介入後に調節緊張改善眼が増加し, プラセボ群では減少したが, どちらの群でも有意な差はみられなかった。

4 安全性

被験者 (SBE 群 12 名, プラセボ群 11 名) を対象に医師による問診ならびに日誌による試験期間中の有害事象発生状況を調査した。その結果, SBE 群に 6 件, プラセボ群の 6 件でなんらかの記載があった。これらについてはいずれも, 試験責任医師により介入食品とは無関係であると判断された (表 4)。

III 考 察

近見反応の三徴としては、(1) 調節、(2) 輻輳、(3) 両眼の縮瞳があり、これらが眼疲労と密接に関連している。われわれは以前(3) 縮瞳反応を測定して SBE 食品の効果を報告した。今回は VDT 作業負荷による一過性眼疲労を惹起し、低用量 (107 mg) SBE 食品摂取による眼疲労回復効果を (1) 調節から検討した。

VAS 調査の「ここ 1 週間の目の疲れはどのくらいですか?」の質問に対して、摂取群でのみ 2 週目から眼疲労感が減少していき、3 および 4 週目では有意な改善がみられた。SBE 連日摂取により日常的な眼疲労に対しても効果があることが示された。今回 VDT 負荷後の自覚症状では、VDT 負荷試験終了後の休息時に、改善傾向がみられたが統計学的有意差は得られなかった。本試験は事前の除外者が多く被験者数が少なかったが、より多数の試験では有意差が出る可能性があり、今後追試験が必要と考えられる。

本試験の眼疲労検査で用いた AA-2 は、他覚的に毛様体筋の緊張を定量化することができるソフトウェアである^{11,12)}。AA-2 により計測された HFC 値は眼疲労の評価としてある程度確立された指標である^{10,13,14)}。今回は、VDT 作業による眼疲労の状態が、眼の優位性によって異なる¹⁵⁾ことを考慮して優位眼で評価した。優位眼の HFC-1 値の結果から、VDT 作業負荷後の眼疲労に対して、SBE 群はプラセボ群と比較して有意な改善を示した。このことから、SBE 摂取により臨床的に眼疲労が低減することが推測された。VDT 作業では眼に負荷がかかった直後よりも、休息後にかえて HFC-1 の数値が悪化する現象が起こることが過去に報告されている¹²⁾。本試験の HFC-1 変動値変動眼数の結果では、SBE 摂取群では、摂取前に比べて、休息後に HFC-1 値が減少した眼数が増加しており、眼疲労状態を改善させたものと考えられる。VMA は眼細胞組織に分布されること¹⁶⁾、生体において多様な炎症因子を抑制させること¹⁷⁾が報告されている。このことから、SBE 摂取により VMA が毛様体筋へ到達し、緊張を緩和させ、眼疲労を抑制させたと考えられる。

今回われわれは健常成人を対象とした無作為化二重盲検プラセボ対照試験を行った。本試験の結果より、SBE 食品 (ミルトアルゴス® 107 mg 含有) VMA 換算 40 mg/day の経口摂取は、VAS 調査では、SBE 摂取前後比較において有意に眼疲労を改善させた。さらに摂取 4 週間後に群間比較で、有意に他覚的眼疲労指標を改善した。このことから、VDT 作業負荷による眼疲労に対して SBE 食品の臨床的有効性が示された。

今後は、SBE 摂取と VMA 血中濃度と眼疲労緩和における因果関係が同時に考察されたさらなる研究が行われることが期待される。

結 論

特定条件の SBE 食品 (VMA 換算 40 mg/day) は、VDT 作業や近見作業等による眼の疲労軽減と調節改善、および日常生活での眼疲労に対して有用性が期待された。

文 献

- 1) He F, Liang NN, Mu L, Pan QH, Wang J, Reeves MJ, et al. Anthocyanins and their variation in red wines I: Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules* 2012; 17: 1571-601.
- 2) 松本均. アントシアニンの代謝・吸収: 最近の知見から. In: 津田孝範, 須田郁夫, 津志田藤二郎. アントシアニンの科学. 建帛社; 2009. p.179-204.
- 3) Morazzoni P, Livio S, Scilingo A, Malandrino S. Vaccinium myrtillus anthocyanosides pharmacokinetics in rats. *Arzneimittelforschung Drug Res* 1991; 41: 128-31.
- 4) Appendino G, Kawada S, Segawa K. Bilberry products: modern characterization of commercial extracts. *日補完代替医療会誌* 2015; 12: 1-8.
- 5) Eidenberger T. Comparative human *in vitro* and *in vivo* bioavailability investigation of bilberry anthocyanins in different complex ligands with different copigmentation status. In: *Anthocyanins: structure, biosynthesis and health benefits*. New York: Nova Science Publishers; 2012. p.259-82.
- 6) 小齊平麻里衣, 北市伸義. 標準ビルベリー果実抽出物による眼疲労改善効果. *薬理と治療* 2015; 43: 397-403.
- 7) Kono K, Shimizu Y, Takahashi S, Matsuoka S, Yui K. Effect of multiple dietary supplement containing lutein, astaxanthin, cyanidin-3-glucoside, and DHA on accommodative

- ability. Immunol Endocr Metab Agents Med Chem 20014; 14: 114-25.
- 8) 瀬川潔, 橋本賢次郎, 川田晋, 八木さえ子, 山口英世. VDT 作業負荷による眼精疲労自覚症状および調節機能障害に対するビルベリー果実由来アントシアニン含有食品の保護的効果. 薬理と治療 2013; 41: 155-65.
 - 9) Ozawa Y, Kawashima M, Inoue S, Inagaki E, Suzuki A, Ooe E, et al. Bilberry extract supplementation for preventing eye fatigue in video display terminal workers. J Nutr Health Aging 2015; 19: 548-54.
 - 10) 梶田雅義, 海貝尚史, 仲野隆久, 天野浩之, 竹野隆太, 梶本修身. クロセチン高含有クチナシ抽出物による眼精疲労改善効果. 視覚の科 2007; 28: 77-84.
 - 11) 鈴木節子, 梶田雅義, 加藤桂一郎. 調節微動の高周波成分による調節機能の評価. 視覚の科 2001; 22: 93-7.
 - 12) 高橋奈々子, 加藤未央, 梶田雅義. IT 機器使用後の休息と調節機能変化. 視覚の科 2004; 25: 78-81.
 - 13) 高橋奈々子, 梶田雅義. アスタキサンチンが調節機能の回復におよぼす影響. 臨医薬 2005; 21: 431-6.
 - 14) 岩崎常人. 眼精疲労の測定方法と評価: CFF と AA-1. 眼科 2009; 51: 387-95.
 - 15) 岩崎常人, 伊比健児, 秋谷忍. VDT 作業と焦点調節における眼の優位性. 人間工学 1998; 34: 346-7.
 - 16) Kalt W, Blumberg JB, McDonald JE, Vinqvist-Tymchuk MR, Fillmore SA, Graf BA, et al. Identification of anthocyanins in the liver, eye, and brain of blueberry-fed pigs. J Agric Food Chem 2008; 56: 705-12.
 - 17) Luo H, Lv XD, Wang GE, Li YF, Kurihara H, He RR. Anti-inflammatory effects of anthocyanins-rich extract from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) on croton oil-induced ear edema and *Propionibacterium acnes* plus LPS-induced liver damage in mice. Int J Food Sci Nutr 2014; 65: 594-601.

受理日 (2015-08-07), 採択日 (2015-09-02)

* * *