

博士（栄養学）学位論文

論文題目

ラクチュロースのミネラル吸収促進効果および  
体組成に対する影響に関する研究

A Study of the Impact of Lactulose on Enhancement of  
Mineral Absorption and the Effect on Body Composition

2014 年

指導教員 上西 一弘 教授

氏名 関 信夫

SEKI, Nobuo

女子栄養大学

# 目次

第 1 章 緒言	1
1.1 本研究の背景	1
1.2 カルシウム	1
1.2.1 カルシウムの体内での働きと調節	1
1.2.2 カルシウムの摂取基準と摂取量	2
1.2.3 カルシウムの新しい機能	4
1.3 マグネシウム	5
1.3.1 マグネシウムの体内での働きと調節	5
1.3.2 マグネシウムの摂取基準と摂取量	5
1.3.3 マグネシウムの新しい機能	7
1.4 ラクチュロース	8
1.4.1 ラクチュロースとは	8
1.4.2 ラクチュロースの分子構造	9
1.4.3 ラクチュロースの製造方法	11
1.4.4 プレバイオティクスとしてのラクチュロース	11
1.4.5 ラクチュロースの応用例	12
1.4.5.1 食品成分としてのラクチュロース	12
1.4.5.2 医薬品としてのラクチュロース	14
1.5 本研究に関する過去の研究	15
1.5.1 動物実験結果	15
1.5.2 ヒト臨床試験結果	16
1.6 本研究の目的と意義	17

第2章	尿中排泄量を指標とした、ラクチュロースのカルシウム、マグネシウム吸収促進効果の検討	18
2.1	緒言	18
2.2	実験方法	21
2.2.1	試験の倫理的实施	21
2.2.2	被験者	21
2.2.2.1	被験者募集	21
2.2.2.2	選択基準	21
2.2.2.3	除外基準	21
2.2.2.4	被験者数	21
2.2.3	被験者への同意取得	22
2.2.3.1	被験者への説明事項	22
2.2.3.2	同意の取得方法	22
2.2.4	事前検査	22
2.2.5	試験食品	23
2.2.5.1	試験食品の調製方法	23
2.2.5.2	試験食品の成分・含有量	25
2.2.6	試験デザイン	26
2.2.6.1	試験食品の摂取方法	26
2.2.6.2	各期の試験スケジュール	26
2.2.6.3	併用禁止食品	27
2.2.7	試験実施場所	28
2.2.8	検査	29
2.2.9	観察項目	29
2.2.10	評価項目	30

2.2.10.1	主要評価項目	30
2.2.10.2	副次的評価項目	30
2.2.11	安全性	30
2.2.12	コンプライアンス	30
2.2.13	症例の取扱いおよびデータの取扱い	30
2.2.13.1	症例の取扱い	30
2.2.13.2	データの許容幅	31
2.2.13.3	欠測値の補填	31
2.2.14	統計解析	31
<b>2.3</b>	<b>結果</b>	<b>32</b>
2.3.1	被験者背景	32
2.3.2	主要評価項目	33
2.3.3	副次的評価項目	37
2.3.3.1	時間尿のカルシウム/クレアチニン比	37
2.3.3.2	時間尿のマグネシウム/クレアチニン比	39
2.3.4	クレアチニン排泄量	41
2.3.5	骨吸収マーカー	42
2.3.6	コンプライアンス	43
2.3.7	解析対象集団	43
2.3.8	安全性	43
<b>2.4</b>	<b>考察</b>	<b>44</b>
2.4.1	ラクチュロースによるカルシウム、マグネシウム吸収促進効果 の作用機序	44
2.4.2	尿採取時間の評価	46
2.4.3	有害事象の発生について	46

2.4.4 ラクチュロースの他の効果による、尿中のミネラル排泄量増加 の可能性	47
<b>2.5 結語</b>	<b>48</b>
<b>第3章 安定同位体比を指標とした、ラクチュロースのカルシウム、         マグネシウム吸収促進効果の検討</b>	<b>49</b>
<b>3.1 緒言</b>	<b>49</b>
<b>3.2 実験方法</b>	<b>50</b>
3.2.1 試験の倫理的実施	50
3.2.2 被験者	50
3.2.2.1 被験者募集	50
3.2.2.2 選択基準	50
3.2.2.3 除外基準	50
3.2.2.4 被験者数	50
3.2.3 被験者への同意取得	51
3.2.3.1 被験者への説明事項	51
3.2.3.2 同意の取得方法	51
3.2.4 事前検査	52
3.2.5 試験食品	52
3.2.5.1 分包品の調製	52
3.2.5.2 試験食品の調製	53
3.2.5.3 試験食品の成分・含有量	54
3.2.5.4 一般成分	55
3.2.6 試験デザイン	55
3.2.6.1 試験食品の摂取方法	56

3.2.6.2	各期の試験スケジュール	56
3.2.6.3	併用禁止食品	57
3.2.7	盲検化の方法、盲検性の維持および割付け	58
3.2.7.1	盲検化の方法	58
3.2.7.2	盲検性の維持	58
3.2.7.3	割付け表の作成および割付け	58
3.2.7.4	分包品の割付け	58
3.2.7.5	開封	59
3.2.8	試験実施場所	59
3.2.9	検査	59
3.2.9.1	検査内容と項目	59
3.2.10	観察項目	61
3.2.11	評価項目	61
3.2.11.1	主要評価項目	61
3.2.11.2	副次的評価項目	61
3.2.12	安全性	61
3.2.13	コンプライアンス	61
3.2.14	症例の取扱いおよびデータの取扱い	62
3.2.14.1	症例の取扱い	62
3.2.14.2	データの許容幅	62
3.2.14.3	欠測値の補填	62
3.2.15	統計解析	62
3.2.15.1	背景因子の解析およびその調整	62
3.2.15.2	評価項目の解析方法	62
<b>3.3</b>	<b>結果</b>	<b>64</b>

3.3.1	安定同位体の純度	64
3.3.2	中止・脱落症例	64
3.3.3	解析対象データ	64
3.3.4	被験者背景	65
3.3.5	主要評価項目の結果	65
3.3.5.1	尿中排泄安定同位体カルシウム比 ( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ )	66
3.3.5.2	尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ )	68
3.3.5.3	尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$ )	70
3.3.6	副次的評価項目	70
3.3.6.1	尿中排泄総カルシウム量	70
3.3.6.2	尿中排泄総マグネシウム量	71
3.3.6.3	時間尿のカルシウム/クレアチニン比	72
3.3.6.4	時間尿のマグネシウム/クレアチニン比	74
3.3.7	クレアチニン排泄量	76
3.3.8	共変量を考慮した調整解析	77
3.3.9	全データによる解析	77
3.3.10	持越し効果の解析	77
3.3.11	骨吸収マーカーの解析	78
3.3.12	尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比の関係	79
3.3.13	コンプライアンス	83
3.3.14	安全性	83
<b>3.4</b>	<b>考察</b>	<b>84</b>
3.4.1	安定同位体比によるミネラル吸収の評価	84
3.4.2	尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比の関係	84
3.4.3	休止期間	85

3.4.4	尿採取時間の評価	86
3.4.5	試験 I との比較	87
3.4.6	今後の課題	88
<b>3.5</b>	<b>結語</b>	<b>90</b>
第 4 章	ラクチュロース、カルシウム、マグネシウム顆粒の体組成に対する長期摂取試験	91
4.1	緒言	91
4.2	試験方法	94
4.2.1	試験の倫理的実施	94
4.2.2	被験者	94
4.2.2.1	被験者募集	94
4.2.2.2	選択基準	94
4.2.2.3	除外基準	94
4.2.2.4	目標登録症例数	95
4.2.3	被験者への同意取得	95
4.2.3.1	被験者への説明事項	95
4.2.3.2	同意の取得方法	96
4.2.4	試験食品	96
4.2.4.1	試験食品の形態および組成	96
4.2.4.2	摂取方法	97
4.2.5	試験デザイン	97
4.2.5.1	群の構成	98
4.2.5.2	生活指導	98
4.2.5.3	併用禁止	98

4.2.6	検査	99
4.2.6.1	検査実施場所	99
4.2.6.2	体脂肪	99
4.2.6.3	身体計測	99
4.2.6.4	骨密度	99
4.2.6.5	ホルモン	99
4.2.6.6	臨床検査	99
4.2.6.7	食事調査	100
4.2.6.8	日誌調査	100
4.2.7	評価項目	100
4.2.7.1	主要評価項目	100
4.2.7.2	副次的評価項目	100
4.2.8	安全性	100
4.2.9	統計解析	101
4.2.9.1	解析対象集団	101
4.2.9.2	被験者背景	101
4.2.9.3	評価項目の解析	101
4.2.9.4	安全性の解析	102
4.2.9.5	解析ソフトウェア	102
4.3	結果	103
4.3.1	被験者	103
4.3.1.1	登録症例数	103
4.3.1.2	症例の内訳	103
4.3.1.3	中止・脱落	104
4.3.1.4	適格性違反例および解析除外例	104

4.3.1.5	解析対象集団	104
4.3.2	被験者背景	105
4.3.3	試験食品摂取率	106
4.3.4	食事摂取量	107
4.3.5	主要評価項目	109
4.3.5.1	体脂肪量および体脂肪率の解析結果	109
4.3.5.2	体脂肪量および体脂肪率の経時変化	110
4.3.5.3	背景による調整解析	110
4.3.6	副次的評価項目	112
4.3.6.1	身体計測および総骨密度	112
4.3.6.2	身体計測および総骨密度の経時変化	114
4.3.7	安全性の評価	115
4.3.7.1	解析したデータセット	115
4.3.7.2	有害事象の表示	115
4.3.7.3	副作用の表示	115
4.3.7.4	有害事象の分析	115
4.3.7.5	副作用の一覧表	116
4.3.8	臨床検査値	117
4.3.8.1	カルシウム代謝、体脂肪量に関連するホルモン類	117
4.3.8.2	血液検査	118
4.3.8.3	尿検査	122
4.3.8.4	血圧、脈拍数平均値の推移	123
4.4	考察	124
4.4.1	体脂肪低減効果	124
4.4.2	カルシウム量について	125

4.4.3 カルシウム以外の成分の効果について.....	125
4.4.4 観察期間の長さについて.....	126
4.4.5 骨への影響.....	127
4.4.6 試験の限界.....	127
<b>4.5 結語.....</b>	<b>129</b>
<b>第 5 章 総括.....</b>	<b>130</b>
略記号.....	132
参考文献.....	133
謝辞.....	145

## 第 1 章 緒言

### 1.1 本研究の背景

カルシウムとマグネシウムは、生体内において重要な働きを担っている栄養素であるが、日本人の摂取量は、食事摂取基準を満たしていない<sup>1,2)</sup>。カルシウム、マグネシウムは、摂取量だけでなく、吸収率も重視されており、カルシウム、マグネシウムの吸収促進効果に関する様々な研究が行われている<sup>3-10)</sup>。難消化性オリゴ糖の一種であるラクチュロースは、複数の動物実験により、カルシウム、マグネシウムの吸収促進効果が認められている<sup>11-15)</sup>が、ヒトを対象とした臨床試験では、オランダ人閉経女性を被験者とし、カルシウム吸収のみを評価した 1 報<sup>16)</sup>だけが報告されている。ラクチュロースによるカルシウム、マグネシウム吸収促進効果に関しては、科学的知見が充分集積されておらず、日本人において効果が得られるかについては、未だ解明されていない。

### 1.2 カルシウム

#### 1.2.1 カルシウムの体内での働きと調節

カルシウムは、体内において広範囲な生理反応すなわち、筋収縮、ホルモン分泌、神経伝達物質の放出、視覚、グリコーゲン代謝などに関与している。消化管でのカルシウムの吸収は、上皮細胞を通じて、カルシウム輸送体が細胞内を往復してカルシウムを運搬する能動的経路とカルシウムの濃度勾配に従い、細胞間を通過する受動的経路の 2 つの経路が存在する。血液中のカルシウム濃度はほとんど変化しないとされており、血清カルシウム濃度に反応して、消化管でのカルシウム吸収、尿細管でのカルシウム再吸収、骨吸収などの調整により素早く対応する<sup>17)</sup>。人体

に含まれるカルシウムの 99%は、骨に蓄積されている。骨が巨大なカルシウムの貯蔵庫として機能し、血中のカルシウム濃度を精巧に維持することが可能となっている。したがって、カルシウムの摂取不足が続いた場合、骨からのカルシウム流出が多くなり、骨粗鬆症の発症リスクが高くなる<sup>1)</sup>。

### 1.2.2 カルシウムの摂取基準と摂取量

「日本人の食事摂取基準」（2010 年版）<sup>1)</sup>に、カルシウムの推定平均必要量、推奨量、目安量などが定められている。食事摂取基準において、「性および年齢階級別の基準体重をもとにして体内蓄積量、尿中排泄量、経皮的損失量を算出し、これらの合計を見かけの吸収率で除して、推定平均必要量とした。（中略）推定平均必要量を 1.2 倍して推奨量とした。」とされている。成人男性の推定平均必要量は 550～650mg/日、推奨量は 650～700mg/日と定められている。一方、平成 23 年度国民健康・栄養調査<sup>2)</sup>によれば、20 歳以上の男性の摂取しているカルシウム量の平均値は 500mg/日と、推定平均必要量にすら届いていないのが現状である。

図 1-1、1-2 に、性別、年齢別にカルシウムの推定平均必要量と摂取量を示した。男女共に、ほぼ全ての年齢層で、摂取量は推定平均必要量を下回っており、特に 20 代～40 代の摂取量が少ないのが特徴的である。

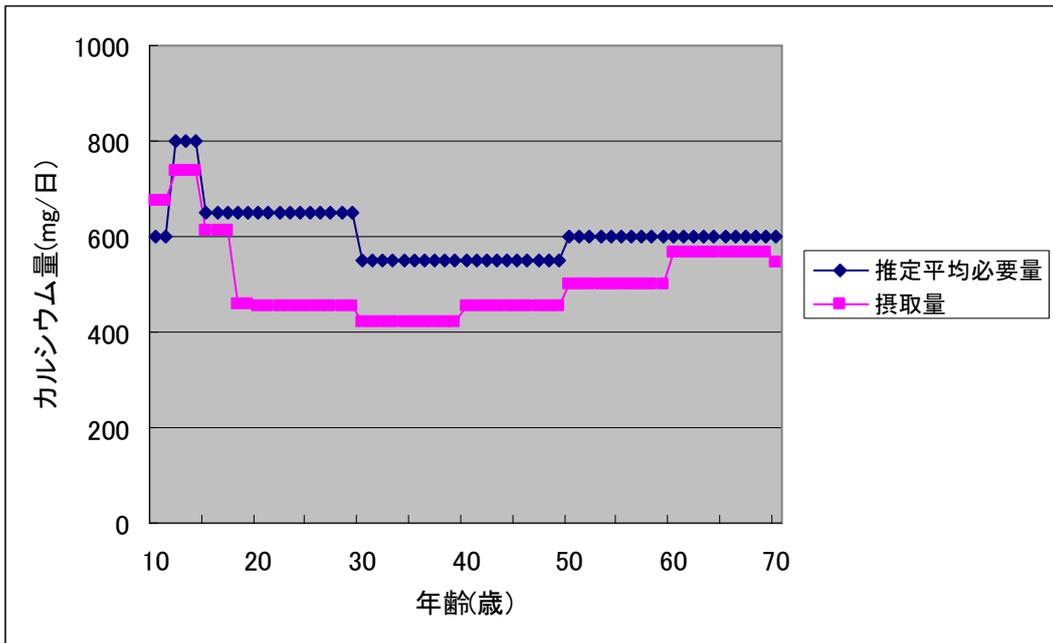


図 1-1 日本人男性におけるカルシウム推定平均必要量と摂取量の年代別調査結果

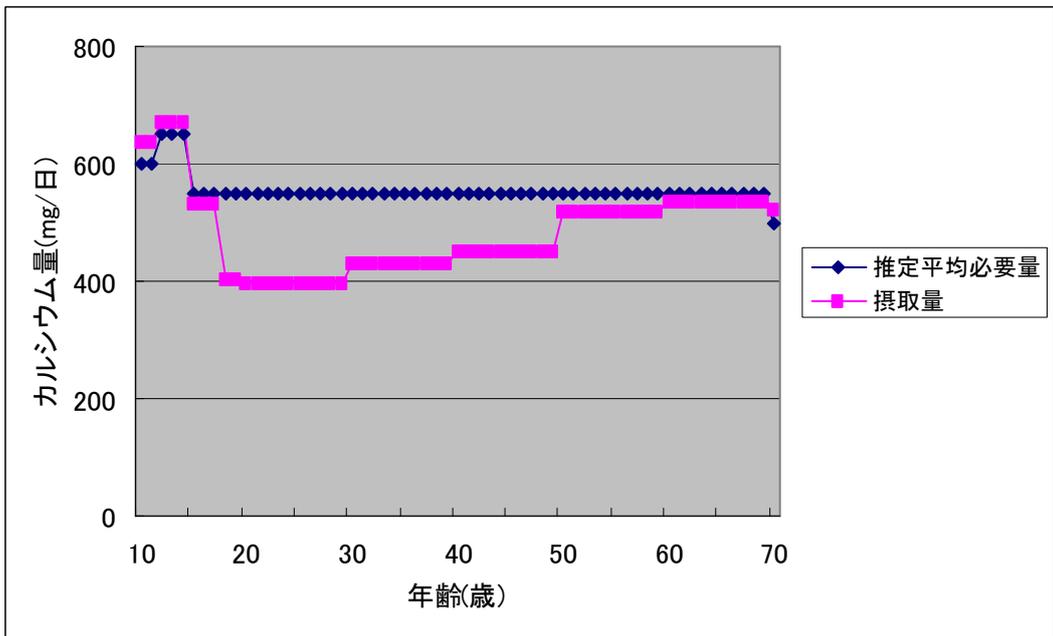


図 1-2 日本人女性におけるカルシウム推定平均必要量と摂取量の年代別調査結果

### 1.2.3 カルシウムの新しい機能

2000年代になって、カルシウムが、体脂肪量を抑えるという動物試験、疫学調査、ヒト介入試験などが、数多く報告されている<sup>18)</sup>。カルシウムの体脂肪低減効果は、とりわけ内臓脂肪の減少に現れるとの報告があるが<sup>19)</sup>、その効果は限定的もしくは否定する報告もある<sup>20)</sup>。乳製品由来のカルシウムの効果が高いという報告もあれば<sup>21)</sup>、その効果はカルシウムの由来によらないという報告<sup>22,23)</sup>もあり、明確な結論は出ていない。

メタボリックシンドロームはインスリン抵抗性、動脈硬化惹起性リポ蛋白異常、血圧高値を個人に合併する心血管病易発生状態である<sup>24)</sup>。診断基準検討委員会では、メタボリックシンドロームを内臓脂肪蓄積（ウエスト周囲径の増大で示される）+2つ以上の co-morbidity と定義することで合意が得られている<sup>24)</sup>。日本においては、上西らにより、牛乳・乳製品摂取量とメタボリックシンドロームに関する横断的研究について報告がされている<sup>25)</sup>。女性において、牛乳・乳製品摂取量が増すにつれて、腹囲、体格指数（BMI）が低かったと報告されており<sup>25)</sup>、その要因のひとつとしてカルシウムが挙げられている。

カルシウムによる、体脂肪低減効果や、メタボリックシンドロームに対する効果の作用機序はまだ明確ではない<sup>18,25)</sup>。作用機序の仮説として、①カルシウム摂取の増加に伴い、副甲状腺ホルモンの分泌が抑制され、血中の活性型ビタミン D 濃度が低下することによる脂肪細胞での脂肪の同化抑制と異化促進、②便中への脂肪排泄の促進、③胆汁酸の再吸収阻害などが挙げられている<sup>26)</sup>。

## 1.3 マグネシウム

### 1.3.1 マグネシウムの体内での働きと調節

マグネシウムは、必須ミネラルであり、生体内で 300 以上にわたる酵素反応のコファクターとして働いている。これらの反応系には、DNA および RNA 合成、たんぱく質合成などがあり、神経伝達の制御、心臓の興奮性などにも基本的な役割を果たしている。マグネシウムは、腸管において能動輸送と受動拡散により吸収され<sup>27)</sup>、血清中のマグネシウム濃度は 1.8~2.3mg/dL に維持されている<sup>1)</sup>。その代謝調節機構については十分に明らかではないが、腎臓から尿中への排泄調節が主であるとされている<sup>28)</sup>。人体のマグネシウムの内、50~60%は骨に存在し<sup>1)</sup>、マグネシウム欠乏は骨粗鬆症の危険因子の 1 つと考えられている<sup>27)</sup>。

### 1.3.2 マグネシウムの摂取基準と摂取量

「日本人の食事摂取基準」(2010 年版)<sup>1)</sup>に、マグネシウムの推定平均必要量、推奨量、目安量などが定められている。「出納試験によって得られた結果を根拠として、推定平均必要量と推奨量を求めた。」とされている。成人男性の推定平均必要量は 270~310mg/日、推奨量は 320~370mg/日と定められている<sup>1)</sup>。一方、平成 23 年度国民健康・栄養調査<sup>2)</sup>によれば、20 歳以上の男性の摂取しているマグネシウム量の平均値は 250mg/日と推定平均必要量にすら届いていないのが現状である。

図 1-3、1-4 に、性別、年齢別にマグネシウムの推定平均必要量と摂取量を示した。男女共に、ほぼ全ての年齢層で、摂取量は推定平均必要量を下回っており、特に 20 代~40 代の摂取量が少ないのが特徴的である。

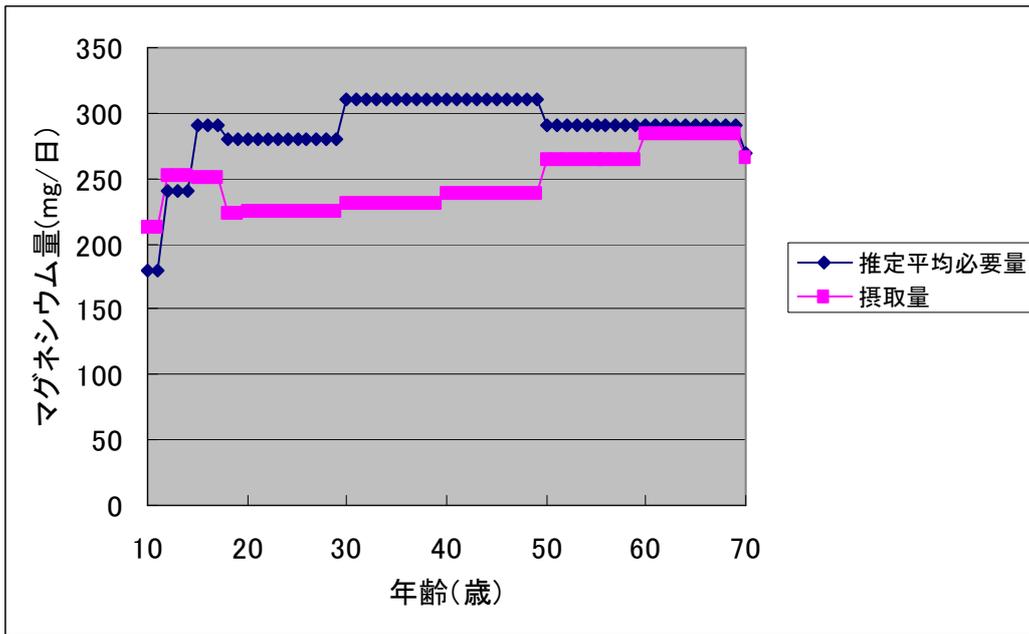


図 1-3 日本人男性におけるマグネシウム推定平均必要量と摂取量の年代別調査結果

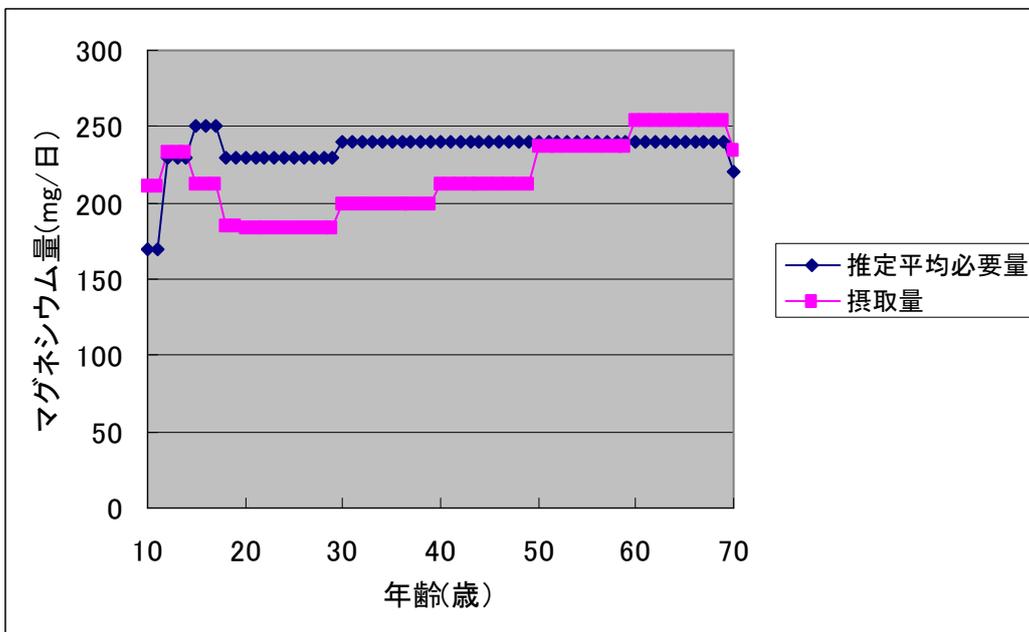


図 1-4 日本人女性におけるマグネシウム推定平均必要量と摂取量の年代別調査結果

### 1.3.3 マグネシウムの新しい機能

マグネシウムの摂取量とメタボリックシンドロームの諸症状（空腹時高血糖、高血圧、高ウエスト周囲径、高中性脂肪血症、低 HDL コレステロール血症）の罹患率に関して米国で 15 年間のコホート（追跡）調査が行われ、マグネシウム摂取量とメタボリックシンドロームの罹患率に負の相関関係が認められた<sup>29)</sup>。マグネシウムの欠乏は、心疾患、高血圧、糖尿病などの病気と個々に関連性があることが知られていたが、このように長期の観察試験においても、マグネシウム摂取の重要性が認められた。また、マグネシウムと BMI には、直接に関連性がない。しかし、この 2 つには何らかの相関があるとされている<sup>27)</sup>。10 代女性 180 名を BMI で 3 つのグループに分類したところ、最も BMI が高いグループに比べて、最も低いグループの髪の毛中のマグネシウム含量が高かったとの報告がある<sup>30)</sup>。また、高齢者において血清マグネシウム濃度と筋力の間には正の相関関係などが認められている<sup>31)</sup>。代謝に対するマグネシウム摂取の影響について、今後の研究が待たれる。

## 1.4 ラクチュロース

1.2、1.3 節において、カルシウム、マグネシウムの摂取量が、摂取基準に達していない現状を示した。以下、カルシウム、マグネシウムなど、ミネラル吸収促進効果を持つとされているラクチュロースの概要について、説明する。なお、ラクチュロースは、日本語において「ラクチュロース」と表記されたり、「ラクツロース」と表記されたりする。「ラクチュロース」は、主に食品分野で用いられ、「ラクツロース」は、日本薬局方を始めとする医薬品分野で用いられることが多い。本論文においては、引用文献の原題などを除いて「ラクチュロース」として表記することとした。

### 1.4.1 ラクチュロースとは

ラクチュロースは、1930年に Montgomery と Hudson により物質として初めて報告された 2 糖類である<sup>32)</sup>。ラクチュロースは、自然界には存在しない。しかしながら、殺菌乳中には、殺菌の程度により 2mg/L から 1,200mg/L 程度のラクチュロースが含まれている<sup>33,34)</sup>ので、ラクチュロースは、人類が乳を高温殺菌して飲用するようになって以来摂取している物質と言える。

1957年に、ラクチュロースを添加した育児用調製粉乳を哺乳している乳児の糞便中の菌叢が、母乳哺乳児の菌叢に近づく作用、すなわち、ラクチュロースのビフィズス菌増殖作用が報告<sup>35)</sup>されて以来、ラクチュロースの生理作用について、種々の研究が行われてきた。現在では、腸内の有用菌を増殖させるプレバイオティクス<sup>36)</sup>として、育児用調製粉乳を始め、医薬品や、特定保健用食品として世界中で利用されている<sup>37-39)</sup>。

#### 1.4.2 ラクチュロースの分子構造

ラクチュロースは、非還元末端がガラクトースで、還元末端がフルクトースの 2 糖類である。乳糖の異性体にあたることから、異性化乳糖と呼ばれることもある。ラクチュロースの分子構造<sup>37)</sup>を図 1-5 に示した。

ラクチュロースの結晶形には、ラクチュロース無水物結晶とラクチュロース 3 水和物結晶が存在する。1930 年、最初にラクチュロース無水物結晶が報告された<sup>32)</sup>。ラクチュロース 3 水和物結晶は、無水物よりも溶解度が低い<sup>40,41)</sup>ことから、容易に結晶化しそうであるが、ラクチュロース 3 水和物の最初の報告<sup>42)</sup>は、ラクチュロースの発見から 60 年以上を経た 1992 年であった。ラクチュロース無水物結晶と 3 水和物結晶の物理化学的特性を表 1-1 に示した<sup>43)</sup>。ラクチュロース 3 水和物結晶は、流動乾燥<sup>44)</sup>、真空度の低い真空乾燥<sup>45)</sup>などにより、無水物結晶へと変化する。Mizota らは、流動乾燥において、ラクチュロース 3 水和物結晶が、ラクチュロース無水物結晶に変換される様子を詳細に報告している<sup>46)</sup>。

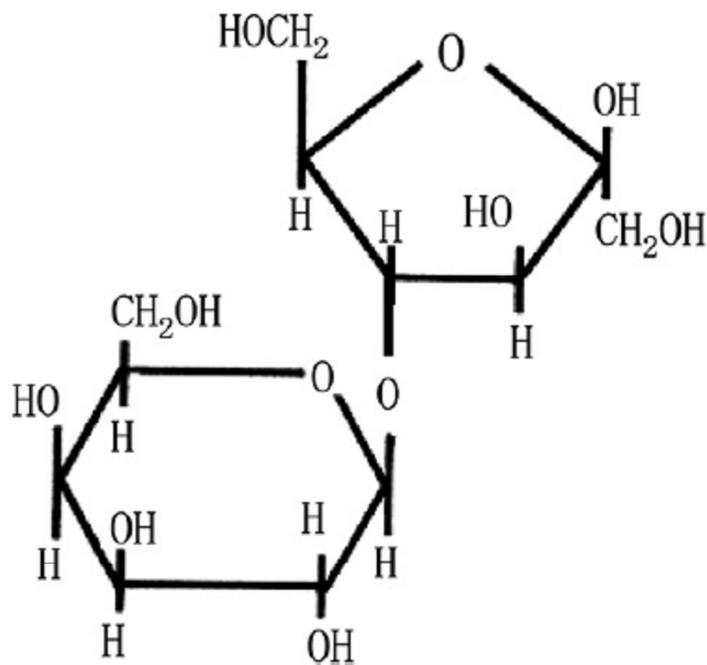


図 1-5 ラクチュロースの分子構造

表 1-1 ラクチュロースの 2 つの結晶形

	3 水和物結晶	無水物結晶
分子式	$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 3H_2O$	$C_{12}H_{22}O_{11}$
分子量	369	342
ラクチュロース含量	86.4%	100%
水分	13.6%	0%
融点	68°C	169°C
溶解熱	34kJ/mol	-4kJ/mol

#### 1.4.3 ラクチュロースの製造方法

ラクチュロースは主に乳糖を原料として作られる。Montgomery と Hudson は、乳糖溶液に酸化カルシウム (lime) を作用させて、ラクチュロースを生成させた<sup>32)</sup>。それ以来、数多くのラクチュロースの製造法が報告されている。水酸化ナトリウム、水酸化カルシウムなどの単純なアルカリを用いたもの<sup>47)</sup>、亜硫酸塩や、リン酸塩を用いたもの、アルミニウムや、ホウ素を用いたもの、イオン交換樹脂を触媒として用いたもの<sup>48)</sup>、そして、酵素を用いた方法<sup>49)</sup>も報告されている。原料には通常、乳糖を用いるが、乳糖を含むホエイの UF (限外ろ過) 透過液から、ラクチュロースを製造する方法<sup>50)</sup>も提案されている。

#### 1.4.4 プレバイオティクスとしてのラクチュロース

経口摂取されたラクチュロースは、胃や小腸で分解、吸収されることなく、大腸にまで到達する。大腸では、ラクチュロースは、ビフィズス菌に優先的に利用され腸内菌叢を改善する。ラクチュロースは、ビフィズス菌により乳酸や酢酸などの有機酸に資化され、腸内の pH を下げる。有機酸が腸内の蠕動運動を刺激して、便性の改善などをもたらすとされている<sup>38)</sup>。

Terada らは、3g/日のラクチュロースを健康成人に摂取させ、糞便の菌叢、pH、水分量、アンモニアや、スカトール、インドールなどの腐敗産物の量などを検討した<sup>51)</sup>。摂取開始 7 日目または 14 日目において、糞便中の菌数に対するビフィズス菌の割合は、ラクチュロース摂取前の 8.3%から、47.4%へと顕著に上昇した。また、糞便の pH は有意に低下し、水分量は有意に上昇し、有害物質とされるインドール、スカトールおよびパラクレゾールは、有意に減少した。これらのことから、少なく

とも 3g/日の用量で、ラクチュロースは整腸作用を持つことが示された。Mizota らは<sup>52)</sup>4g/日、Ballongue らは<sup>53)</sup>、5g×2回/日のラクチュロース摂取量で同様の整腸作用を報告している。

また、ラクチュロース整腸作用以外の生理作用として、ミネラル吸収促進効果、骨強化作用、血中グルコース低下作用、高コレステロール低下作用など数多くの報告がある<sup>54)</sup>。

#### 1.4.5 ラクチュロースの応用例

##### 1.4.5.1 食品成分としてのラクチュロース

ラクチュロースの応用は、育児用調製粉乳のビフィズス菌増殖因子としての利用が最初であった<sup>35)</sup>。日本においては、1960年にビフィズス菌増殖因子としてラクチュロースを初めて配合した育児用調製粉乳「森永 G ドライミルク」が発売された<sup>55)</sup>。その後、本年（2013年）に至るまで、森永乳業製の育児用調製粉乳の多くに、ラクチュロースが配合されている。また、1995年には厚生省（当時）よりラクチュロースを1本あたり4g含む清涼飲料水「毎朝爽快」が、特定保健用食品として「本飲料は、ラクチュロースを原料とし腸内のビフィズス菌を適正に増やし、おなかの調子を良好に保つ飲料です。」との表示許可を受けた<sup>39)</sup>。今日、ラクチュロースは、飲料、ヨーグルト、健康食品を初めとして多くの食品に利用されている<sup>37)</sup>。図1-6にラクチュロース含有食品の例を示した。



育児用調製粉乳



清涼飲料



健康食品

図 1-6 ラクチュロース含有食品例



シロップ製品



パウダー製品

図 1-7 ラクチュロース含有医薬品例

#### 1.4.5.2 医薬品としてのラクチュロース

Bircherらは、肝性脳症の治療にラクチュロースを初めて用いた<sup>56)</sup>。肝性脳症は、肝不全に伴って生じる精神・神経的な障害で、こん睡状態を呈することもある。腸内で生じたアンモニアなどの含窒素物質は、門脈を通り、肝臓で代謝され、無毒化されるが、肝不全患者では、肝臓での代謝機能が低下しているため、循環血中のアンモニア濃度が上昇し、脳の機能障害をおこすと考えられている。ラクチュロースの経口投与により、腸内菌叢がビフィズス菌優勢な状態になることで、大腸内のアンモニアなどの発生低下、pHの低下によるアンモニアから非吸収態であるアンモニウムイオンへの変換および蠕動運動促進効果による老廃物の長期滞留防止などにより、血中アンモニア濃度が低下する結果、症状が軽減すると考えられている<sup>57)</sup>。日本において、ラクチュロースは、高アンモニア血症に伴う精神神経障害、脳波異常、手指振戦症候の治療薬として、また、産婦人科術後の排ガス・排便の促進および小児における便秘の改善にも利用されている<sup>58,59)</sup>。日本だけでなく、ラクチュロースは世界中で、医薬品として利用されており、日本薬局方、米国薬局方、欧州薬局方に収載されている<sup>37)</sup>。図1-7にラクチュロース含有医薬品の例を示した。

## 1.5 本研究に関する過去の研究

カルシウムの吸収率については、上西らの日本人を対象とした研究では、摂取した食品の種類により吸収率が異なる<sup>60)</sup>。また、マグネシウムの吸収率も食品により異なる<sup>61)</sup>。カルシウム、マグネシウムの吸収率を高めるため、各種食品素材の研究が行われてきた<sup>3-10)</sup>。

ラクチュロースもその素材の1つであり、カルシウム、マグネシウムを主としたミネラルの吸収促進効果について、動物実験や臨床試験が行われている。

### 1.5.1 動物実験結果

ラットやイヌにラクチュロースを投与し、カルシウム、マグネシウムの吸収促進効果を評価したいくつかの報告がある。鈴木らは、ラットに10%のラクチュロースを含む飼料を与えたところ、盲腸内ビフィズス菌数が増加し、pHが低下し、カルシウム、マグネシウムの吸収率および体内保留率がコントロール群に比べて有意に高くなることを報告している<sup>11)</sup>。Heijnenらは、10%のラクチュロースを含む飼料をラットに与えて同様の結果を得ており、回腸pHとカルシウム、マグネシウムの吸収率の間に負の相関関係があることを報告している<sup>12)</sup>。Brommageらは、5%のラクチュロースを含む飼料を5週齢から38週齢のラットに与えたところ、週齢によらずカルシウム吸収促進効果が認められたことを報告している<sup>13)</sup>。用量依存性について、ラクチュロース含量0.8%、2.2%の飼料をイヌに与えたところ、カルシウム、マグネシウムの吸収率はラクチュロースの用量に依存し上昇したとの報告がある<sup>14)</sup>。Heijnenらは、ラットにラクチュロースを摂取させ、マグネシウムの見かけの吸収率だけでなく、真の吸収率が上昇したことを報告している<sup>15)</sup>。

ラットを用いた実験で、カルシウム、マグネシウムだけではなく、鉄、亜鉛、銅についても、ラクチュロースが吸収率と体内保留率を上げたという報告もある<sup>62)</sup>。

### 1.5.2 ヒト臨床試験結果

「1.1 本研究の背景」で述べたようにラクチュロースのミネラル吸収促進効果に関して、ヒトによる臨床試験報告は1報だけである<sup>16)</sup>。この臨床試験では、ラクチュロースを0g、5gまたは10gを7日間摂取した後、8日目のカルシウムの吸収率をカルシウムの安定同位体を用いて測定した。<sup>44</sup>Caを含む試験食品を摂取すると共に、静脈から<sup>48</sup>Caを注入し、尿中の<sup>44</sup>Caと<sup>48</sup>Caの比から、真のカルシウム吸収率を評価した。ラクチュロースの摂取量に対して、吸収率は用量依存的に増加し、プラセボと10g摂取時の吸収率の差は有意であった。この臨床試験は、閉経後5年以上のオランダ人女性を対象にしており、この結果が日本人に外挿できるかは不明である。なお、Okuらによるとラクチュロースの日本人の下痢に対する最大無作用量0.26g/kg体重<sup>63)</sup>であり、効果が認められた摂取量10gに相当する体重は38.5kgとなり、小柄な日本人の場合は、下痢の発生が懸念される。

マグネシウムについては、ヒトでのラクチュロースの吸収促進効果に関する報告は無い。

## 1.6 本研究の目的と意義

カルシウムとマグネシウムは、体内に多く含まれるミネラルであり、生理的に重要な役割を果たしている。しかしながら、カルシウム、マグネシウム共に、ほとんどの年代で摂取量は、推奨量を満たしていない。カルシウム、マグネシウム欠乏により生じる骨粗鬆症およびメタボリックシンドロームに連なる高血圧や高血糖、高脂血症などの症状は、高齢になると罹患率が高まる。高齢社会を迎える日本にとって、カルシウム、マグネシウムの摂取量を推奨量に近づけていくことが、骨粗鬆症およびメタボリックシンドロームの予防のための栄養学上の重要課題である。

カルシウムとマグネシウムの摂取不足に関して、カルシウムとマグネシウムの生体利用率を高めるための研究も数多く行われてきた。ラクチュロースは、乳糖を原料とした整腸作用を有するオリゴ糖である。ラクチュロースの生理作用の1つに、カルシウム、マグネシウムの吸収促進効果があり、ラクチュロースもまた、カルシウム、マグネシウムの生体利用率を上げる素材の候補である。ラクチュロースを摂取することで、カルシウム、マグネシウムの吸収率を高められるのであれば、カルシウム摂取不足に起因する骨粗鬆症およびカルシウム摂取による体脂肪の抑制作用によるメタボリックシンドロームの予防に対し、栄養学的にアプローチすることが可能となる。

しかしながら、ラクチュロースのミネラル吸収促進効果についてのヒト臨床試験の報告は、オランダ人閉経女性を対象としたカルシウムに関する1報だけであり、マグネシウムに関する報告は無い。そこで、日本人を対象として、ラクチュロースのカルシウム、マグネシウム吸収促進効果を確認することは、意義があると考えられる。

## 第2章 尿中排泄量を指標とした、ラクチュロースのカルシウム、マグネシウム吸収促進効果の検討

### 2.1 緒言

第1章で述べたとおり、ラクチュロースのカルシウム、マグネシウム吸収促進効果について動物実験の報告は複数あるが、ヒトによる臨床試験報告は1報だけである<sup>16)</sup>。その報告もカルシウムの吸収のみを評価しており、ラクチュロースのマグネシウム吸収促進効果をヒトで確認した報告は無い。また、同報告はオランダ人の閉経女性を被験者としている。1日あたりの日本人のカルシウム、マグネシウム摂取量の中央値はそれぞれ444mg/日<sup>2)</sup>、230mg/日<sup>2)</sup>であるが、オランダ人のそれらは、1027mg/日<sup>64)</sup>、345mg/日<sup>64)</sup>であり、カルシウム、マグネシウムの摂取量が大きく異なるため、この結果が日本人に外挿出来るかは不明である。そこで、ラクチュロースによる、カルシウム、マグネシウム吸収促進効果について、健常日本人男性を被験者とした臨床試験を実施することとした。なお、ラクチュロースのカルシウム吸収促進効果に関しては、日本人を被験者とした初の臨床試験であり、マグネシウムに関しては世界初の臨床試験である。

カルシウム、マグネシウムの吸収に関する評価方法としては、①出納法、②シングルアイソトープ法、③ダブルアイソトープ法、④尿中排泄量法などがある。いずれの方法においても、腸管より吸収されたミネラルが血中に移行し、その後、骨、尿などに移行することを利用した評価法である。

①出納法は、ある一定期間の食物、飲用水などの摂取したミネラル量と、尿、便、汗に含まれて排泄されたミネラル量を比較する方法である。

②シングルアイソトープ法は、安定同位体または、放射性同位体でラベル化したミネラルを含む検体を経口摂取した後に、尿に排泄されたラベル化されたミネラルの比率を測定することで、吸収量の変化を評価する方法である。③ダブルアイソトープ法は、安定同位体または、放射性同位体でラベル化したミネラルを含む検体を経口摂取すると同時に別の同位体でラベル化されたミネラルを静脈に注入することにより、真の吸収率を求める方法である。④尿中排泄量法は、尿中へのミネラル排泄量を測定することで、吸収量の増減を求める方法である。

我々はラクチュロースのカルシウム、マグネシウム吸収促進効果を確認するために、まず予備的試験として、被験者への負担も少なく、検査方法も簡便である④尿中排泄量法による試験を実施することとした。但し、尿中排泄量の増加は、ラクチュロースがミネラル吸収を促進した以外にも観察される可能性がある。ラクチュロースが骨吸収を促進し、骨からのカルシウム、マグネシウムの流出量を増加させた場合とラクチュロースが腎臓の機能になんらかの影響を与えて、カルシウム、マグネシウムの尿排泄量に影響を与えた場合が考えられる。骨吸収の状態を示す骨吸収マーカーを評価することで、ラクチュロースの骨吸収への影響を検討した。

試験当日のスケジュールに関しては、先行文献<sup>5-7)</sup>を参考にして定めた。本試験においては、試験食品に含まれるカルシウム、マグネシウムが腸管において吸収され、尿中への排泄が完了していることが重要である。

試験食品のラクチュロース含量は、溝田らにより整腸作用が認められ、有意な下痢の増加が認められなかった 5g<sup>52)</sup>と、その半量よりも少ない 2g とした。カルシウム、マグネシウム量に関しては、第6次改定日本人

の栄養所要量<sup>65)</sup>の半量とし、カルシウム量は、300mg、マグネシウム量は150mgとした。

## 2.2 実験方法

### 2.2.1 試験の倫理的実施

本試験は森永乳業株式会社食品効用開発審査委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言の精神に則り実施された。

### 2.2.2 被験者

#### 2.2.2.1 被験者募集

森永乳業株式会社研究・情報センターにおいて募集した健常な男性ボランティアを対象として行った。

#### 2.2.2.2 選択基準

- ①20歳以上 60歳以下の健常男性
- ②試験食品および本試験の目的、内容について十分な説明を受け、よく理解した上で自由意志により書面での試験参加の同意をした者
- ③試験責任医師が適格と認めた者

#### 2.2.2.3 除外基準

- ①特別な疾患（糖尿病、腎臓病、ガラクトース血症、骨粗鬆症、ホルモン剤治療）などで治療を受けている者
- ②牛乳および少量のラクチュロース摂取により下痢を発症する者
- ③試験責任医師が不相当と判断した者

#### 2.2.2.4 被験者数

24人（8人×3群）

### 2.2.3 被験者への同意取得

#### 2.2.3.1 被験者への説明事項

以下の事項を記載した同意説明文書・同意書を作成した。

- ①本試験の目的、方法
- ②試験食品について
- ③本試験食品の摂取により、予期される効果および体調への影響
- ④体調の変化に対する対応
- ⑤本試験への参加に同意しない場合でも、社内的不利益は受けないこと
- ⑥本試験に一旦同意した後でも、随時撤回出来ること
- ⑦プライバシーの保護
- ⑧謝礼
- ⑨試験責任医師の氏名、役職ならびに連絡先
- ⑩事務局の担当者氏名および連絡先
- ⑪お願いする事項

#### 2.2.3.2 同意の取得方法

試験内容を十分説明した後、本人の自由意思に基づく参加への同意を文書にて取得した。

### 2.2.4 事前検査

アンケートにより、年齢、体重、アレルギーの有無、既往症の有無、喫煙状況、飲酒状況、オリゴ糖の摂取状況、乳酸菌の摂取状況、乳製品の摂取状況、勤務の形態および外出・出張の頻度を調査した。参加希望者 44 名のうち 1 名は高血圧症のため、除外基準「③試験責任医師が不相当と判断した者」に該当すると判断された。

起床後 2 回目の尿中に含まれるカルシウム、クレアチニン含量を測定した。カルシウム含量、クレアチニン含量、カルシウム/クレアチニン比の上位、下位の者を各々 3 名ずつ除外した後、カルシウム-クレアチニンの直線回帰において、95%信頼区間から外れる者を除外した。

24 名のボランティアを被験者とし、カルシウム/クレアチニン比、年齢、体重の平均値が同等になるように 3 群（8 名×3 群）に分けた。

## 2.2.5 試験食品

### 2.2.5.1 試験食品の調製方法

表 2-1 に示した原料を表 2-2 の配合表に従い電子天秤を用いて計量し、分包を作成することにより試験食品を調製した。

ラクチュロース粉末（MLC-97）は、ラクチュロース無水物結晶からなる。また、ミルクカルシウム（アラミン 998）は、チーズ生産時の副生成物として得られるホエイから抽出される、リン酸カルシウムを主成分とする粉末であり<sup>66)</sup>、リン酸カルシウムの他にホエイ由来のたんぱく質などを含む。

表 2-1 使用原料一覧表

原料名	製造会社
ラクチュロース粉末(MLC-97)	森永乳業(株)
ミルクカルシウム(アラミン 998)	NZMP
酸化マグネシウム	富田製薬(株)
無水ブドウ糖結晶	日本食品化工(株)

表 2-2 試験食品の配合表

原料名	プラセボ	低用量	高用量
MLC-97(g)	0	2.0	5.0
アラミン 998(g)	1.0	1.0	1.0
酸化マグネシウム(g)	0.24	0.24	0.24
無水ブドウ糖結晶(g)	5.0	3.0	0
合計(g)	6.24	6.24	6.24

### 2.2.5.2 試験食品の成分・含有量

試験食品の一般成分・含有量は表 2-3 のとおり。

表 2-3 試験食品の一般成分表（1 回摂取あたり）

成 分	計 算 値		
	プラセボ	低用量	高用量
たんぱく質(g)	0.1	0.1	0.1
脂質(g)	0	0	0
炭水化物(g)	5.0	5.0	5.0
灰分(g)	1.2	1.2	1.2
水分(g)	0.04	0.04	0.04
エネルギー(kcal)	20.3	16.3	10.3
カルシウム(mg)	300	300	300
マグネシウム(mg)	150	150	150

## 2.2.6 試験デザイン

表 2-4 の順序にて試験食品を単回摂取する 3 剤 3 期のシングルブラインドクロスオーバー試験とした。ウォッシュアウト期間は 7 日間とし、前後 1 日のずれは許容した。

### 2.2.6.1 試験食品の摂取方法

9 時に排尿させ、その直後に試験食品、焼きおにぎり（日本水産株式会社製）2 個とミネラルウォーター（サントリー株式会社製）150mL を摂取させた。

### 2.2.6.2 各期の試験スケジュール

#### ①試験前日

試験前日の 19 時に素うどん（日清食品株式会社製）を摂取させ、その後はミネラルウォーターのみを摂取させた。

#### ②試験当日

試験当日は朝 7 時に起床し、完全排尿をさせた後、7 時から 16 時まで 1 時間に 150mL の割合でミネラルウォーターを摂取させた。9 時に排尿させた後、2 時間毎（11、13、15、17 時）に排尿させた。

9 時の排尿直後に試験食品、焼きおにぎり 2 個とミネラルウォーター 150mL を摂取させた。12 時の排尿直後にも焼きおにぎり 2 個とミネラルウォーター 150mL を摂取させた。試験当日のスケジュールは図 2-1 のとおりである。

### 2.2.6.3 併用禁止食品

試験開始 1 週間前から試験終了までオリゴ糖製品の摂取を禁止した。  
また、試験前日より乳製品の摂取も併せて禁止した。

表 2-4 各群毎の試験食品摂取順序

	第 1 週	第 2 週	第 3 週
A 群	プラセボ	低用量	高用量
B 群	低用量	高用量	プラセボ
C 群	高用量	プラセボ	低用量

#### 試験当日

時刻	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17
食事			◎			●					
飲水	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
排尿	▲		▲		▲		▲		▲		▲

朝食：◎焼おにぎりを試験食品と共に摂取する。

昼食：●焼おにぎりを摂取する。

飲水：○ミネラルウォーター150mLを摂取する。

図 2-1 試験当日スケジュール

なお、試験食品以外の摂取食品のカルシウム、マグネシウム含量は表 2-5 に示した。

表 2-5 試験食品以外の摂取食品のカルシウム、マグネシウム含量

食品名	カルシウム含量	マグネシウム含量	エネルギー
日清どん兵衛冷凍うどん関西風(日清食品株式会社製)	20mg/個	17mg/個	275kcal/個
大きな大きな焼おにぎり(日本水産株式会社製)	3mg/個	14mg/個	134kcal/個
サントリー天然水(南アルプス)(サントリー株式会社製)	0.97mg/100mL	0.14mg/100mL	0kcal/100mL

### 2.2.7 試験実施場所

森永乳業株式会社研究・情報センター

## 2.2.8 検査

表 2-6 に示した項目について検査を行った。

尿量は電子天秤を用いて測定し、カルシウム、マグネシウムの含量は、SAS7500（セイコーインスツルメンツ株式会社製）を用いた原子吸光法により森永乳業株式会社で測定した。その他の項目については、株式会社三菱ビーシーエルにて測定した。各 2 時間毎の尿中のカルシウム、マグネシウム含量に各尿量を乗じた値を合計したものを総排泄量とした。

表 2-6 検査項目一覧表

サンプル名	測定項目
2 時間毎の尿	尿量
	カルシウム含量(原子吸光法)
	マグネシウム含量(原子吸光法)
	クレアチニン量(ヤッフエ法)
合尿(2 時間毎の尿サンプルを合わせたもの)	I 型コラーゲン N 末端テロペプチド断片 (NTx)(エライザ法)
	デオキシピリジノリン(エライザ法)

## 2.2.9 観察項目

試験食品の摂取および試験前日・当日の食事およびミネラルウォーターの摂取状況、体調の変化、副作用について観察し、記録した。

## 2.2.10 評価項目

### 2.2.10.1 主要評価項目

- ①尿中排泄総カルシウム量
- ②尿中排泄総マグネシウム量

### 2.2.10.2 副次的評価項目

- ①時間尿サンプルのカルシウム/クレアチニン比
- ②時間尿サンプルのマグネシウム/クレアチニン比

## 2.2.11 安全性

試験期間中の被験者の体調、副作用などの観察記録から、試験責任医師は、試験食品の安全性を評価した。

## 2.2.12 コンプライアンス

試験食品の摂取および試験前日、当日の食事およびミネラルウォーターの摂取を確認し、コンプライアンスを判定した。

## 2.2.13 症例の取扱いおよびデータの取扱い

### 2.2.13.1 症例の取扱い

割付け表開封前に症例報告書などの記録を基に、症例検討を行い解析上の取扱いを決定し、症例を固定した。

- ①選択基準、除外基準違反
- ②併用禁止食品摂取
- ④コンプライアンス
- ⑤データ不完備、欠測値
- ⑥骨代謝疾患・異常（血液検査、尿検査、骨密度）

⑦試験計画書からの逸脱、その他

#### 2.2.13.2 データの許容幅

時期的なズレに対しては±25%の時間を許容した。食事、水の摂取量のコンプライアンスについては、75%以上を基準とした。

#### 2.2.13.3 欠測値の補填

欠測値の補填は行わなかった。

#### 2.2.14 統計解析

最大の解析対象集団（Full Analysis Set : FAS）を有効性評価に対する解析対象集団とした。FASとは、①選択基準を満たしていない或いは除外基準に該当する者、②試験検査を1度も受けていない者、③割付けられた試験食品を1度も摂取していない者を除いた集団を指す。

尿中排泄総カルシウム量、マグネシウム量については、試験食品効果、時期効果を固定効果とし、被験者を変量効果とした変量効果モデル（線形混合モデル）を用いた。各時点尿のカルシウム/クレアチニン、マグネシウム/クレアチニンは、対応のあるt検定を用いた。有意水準は両側5%とした。

解析ソフトウェアは、SAS 8.02（SAS Institute Inc., Cary, NC, USA）を用いた。

## 2.3 結果

### 2.3.1 被験者背景

試験参加の被験者背景は、表 2-7 のとおりであった。

表 2-7 群分け後の被験者背景<sup>1</sup>

	A 群	B 群	C 群
被験者数	8	8	8
年齢(歳)	35.5±8.5	35.6±6.8	36.8±8.4
身長(cm)	169.1±5.5	171.3±6.7	168.5±3.5
体重(kg)	64.9±8.2	68.6±8.7	64.9±6.4
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	22.6±2.2	23.4±2.3	22.8±2.0
尿カルシウム含量(mg/dL)	8.0±3.9	7.7±2.9	8.3±3.3
尿クレアチニン含量(mg/dL)	142.4±70.4	146.3±77.8	161.1±76.3
尿カルシウム/クレアチニン	0.059±0.021	0.061±0.027	0.054±0.013

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差

### 2.3.2 主要評価項目

尿中排泄総カルシウム量、尿中排泄総マグネシウム量を表 2-8、図 2-2、図 2-3 に示した。カルシウム、マグネシウム共に用量依存的に増加した。

変量効果モデルの試験食品効果の高用量－プラセボ間、低用量－プラセボ間の最小二乗平均の差を Dunnett-Hsu 法を用いて検定した(表 2-9、2-10)。カルシウムについては、プラセボに対して低用量、高用量とも有意差が認められ、マグネシウムについては、高用量で有意差が認められた。

表 2-8 尿中排泄総ミネラル量<sup>1,2</sup>

	プラセボ (ラクチュロース 0g)	低用量 (ラクチュロース 2g)	高用量 (ラクチュロース 5g)
カルシウム(mg)	55.45±18.04	61.56±18.83	64.84±18.91
マグネシウム(mg)	34.00±10.46	35.91±12.00	39.48±9.58

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差

<sup>2</sup> 試験食品摂取後 8 時間に尿中に排泄されたミネラル量、n=24

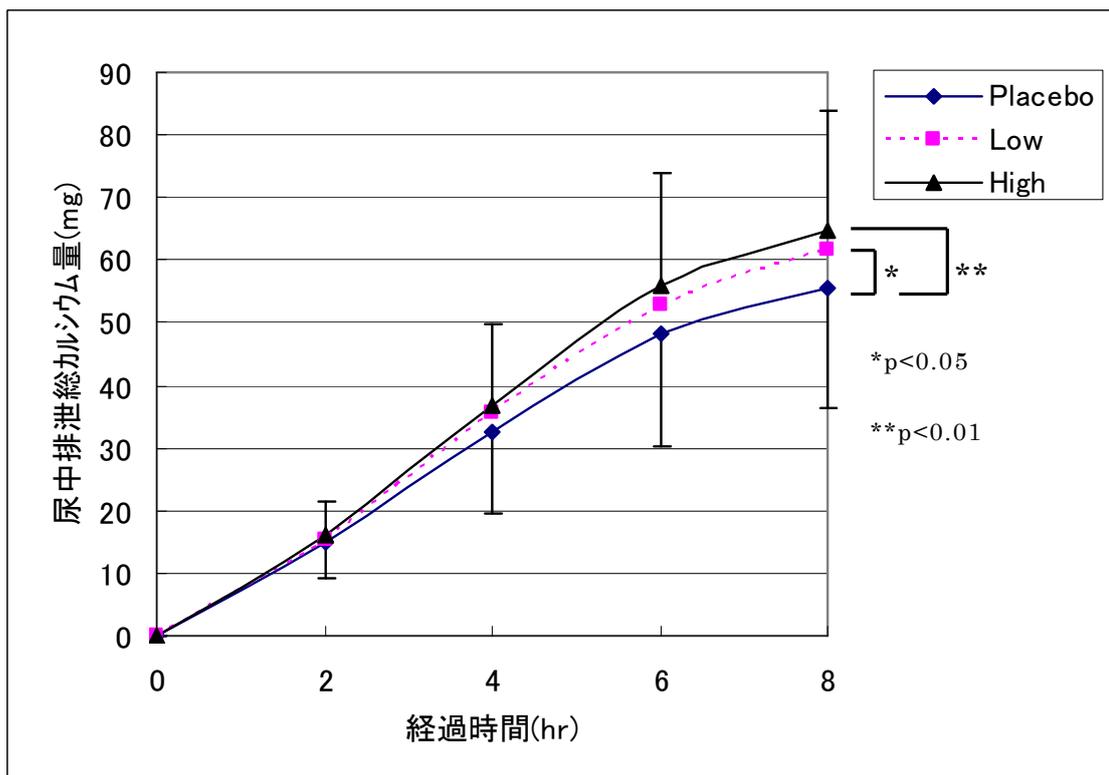


図 2-2 尿中排泄総カルシウム量（累積）

Placebo：ラクチュロース 0g、Low：ラクチュロース 2g、High：ラクチュロース 5g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 2 時間毎に採取した尿中に排泄された Ca 量を累積させた時の平均値（mg）、n=24、エラーバーは、上向き：高用量、下向き：プラセボの標準偏差

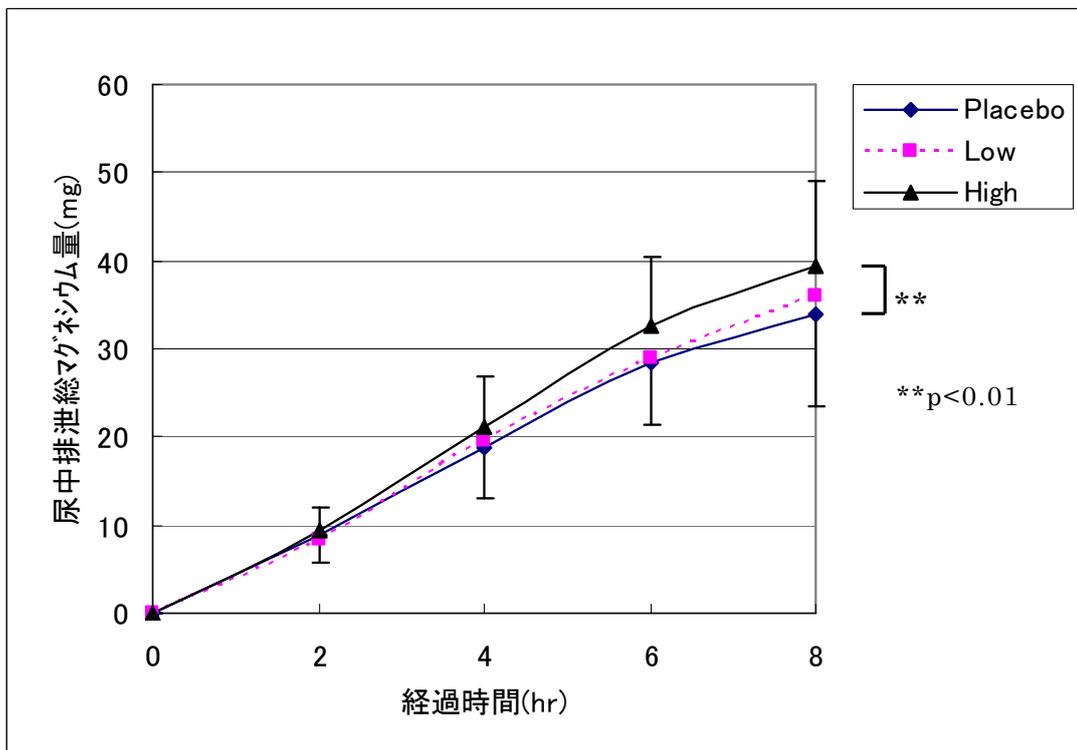


図 2-3 尿中排泄総マグネシウム量（累積）

Placebo：ラクチュロース 0g、Low：ラクチュロース 2g、High：ラクチュロース 5g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 2 時間毎に採取した尿中に排泄された Mg 量を累積させた時の平均値 (mg)、n=24、エラーバーは、上向き：高用量、下向き：プラセボの標準偏差

表 2-9 尿中排泄総カルシウム量<sup>1</sup>の解析結果概要

	最小二乗平均値	プラセボとの差	標準誤差	p 値(Dunnett)
高用量(5g)	64.84	9.38	2.66	0.002
低用量(2g)	61.56	6.11	2.66	0.048
プラセボ(0g)	55.45			

<sup>1</sup> 試験食品摂取後 8 時間に尿中に排泄されたカルシウム量 (mg)

n=24

表 2-10 尿中排泄総マグネシウム量<sup>1</sup>の解析結果概要

	最小二乗平均値	プラセボとの差	標準誤差	p 値(Dunnett)
高用量(5g)	39.48	5.48	1.80	0.008
低用量(2g)	35.91	1.91	1.80	0.470
プラセボ(0g)	34.00			

<sup>1</sup> 試験食品摂取後 8 時間に尿中に排泄されたマグネシウム量 (mg)

n=24

### 2.3.3 副次的評価項目

#### 2.3.3.1 時間尿のカルシウム/クレアチニン比

各時間尿のカルシウム/クレアチニン比の値を表 2-11 および図 2-4 に示した。

低用量の 2 時間目と、低用量、高用量の 6 時間目以降において、プラセボに対して有意差が認められた。

表 2-11 時間尿のカルシウム/クレアチニン比

経過時間	低用量 (ラクチュロース 2g)		高用量 (ラクチュロース 5g)	
	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>
0 時間	0.0047	0.335	0.0038	0.357
2 時間	0.0184	<b>0.020</b>	0.0143	0.053
4 時間	0.0159	0.060	0.0180	0.073
6 時間	0.0163	<b>0.041</b>	0.0206	<b>0.033</b>
8 時間	0.0102	<b>0.041</b>	0.0134	<b>0.004</b>

<sup>1</sup>群間差：プラセボとの個人毎の差の平均値

<sup>2</sup>p 値：プラセボとの対応のある t 検定 (n=24)

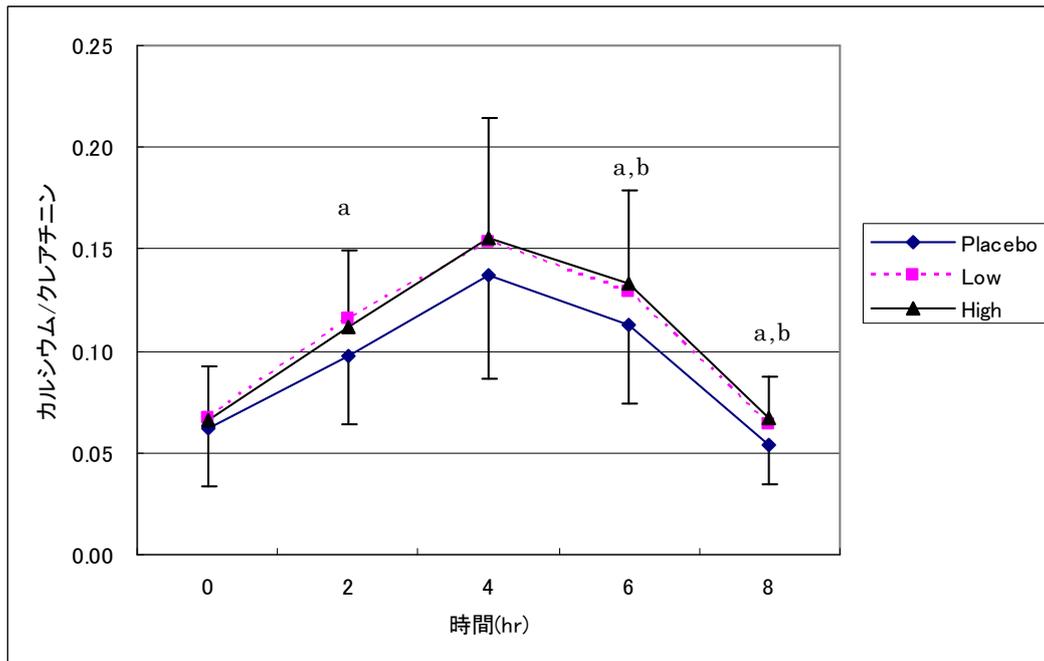


図 2-4 時間尿のカルシウム/クレアチニン比

Placebo : ラクチュロース 0g、Low : ラクチュロース 2g、High : ラクチュロース 5g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 2 時間毎に採取した尿中の各時点における Ca 含量 (mg/dL) をクレアチニン含量 (mg/dL) で割った平均値、n=24、エラーバーは、上向き : 高用量、下向き : プラセボの標準偏差、a : プラセボ-低用量間で有意差あり、b : プラセボ-高用量間で有意差あり

### 2.3.3.2 時間尿のマグネシウム/クレアチニン比

各時間尿のマグネシウム/クレアチニン比の値を表 2-12 および図 2-5 に示した。高用量の 4 時間目以降において、プラセボに対して有意差が認められた。

表 2-12 時間尿のマグネシウム/クレアチニン比

経過時間	低用量 (ラクチュロース 2g)		高用量 (ラクチュロース 5g)	
	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>
0 時間	-0.0009	0.736	0.0003	0.908
2 時間	0.0041	0.293	0.0055	0.124
4 時間	0.0062	0.191	0.0103	<b>0.050</b>
6 時間	0.0070	0.213	0.0119	<b>0.035</b>
8 時間	0.0062	0.090	0.0092	<b>0.021</b>

<sup>1</sup>群間差：プラセボとの個人毎の差の平均値

<sup>2</sup>p 値：プラセボとの対応のある t 検定

n=24

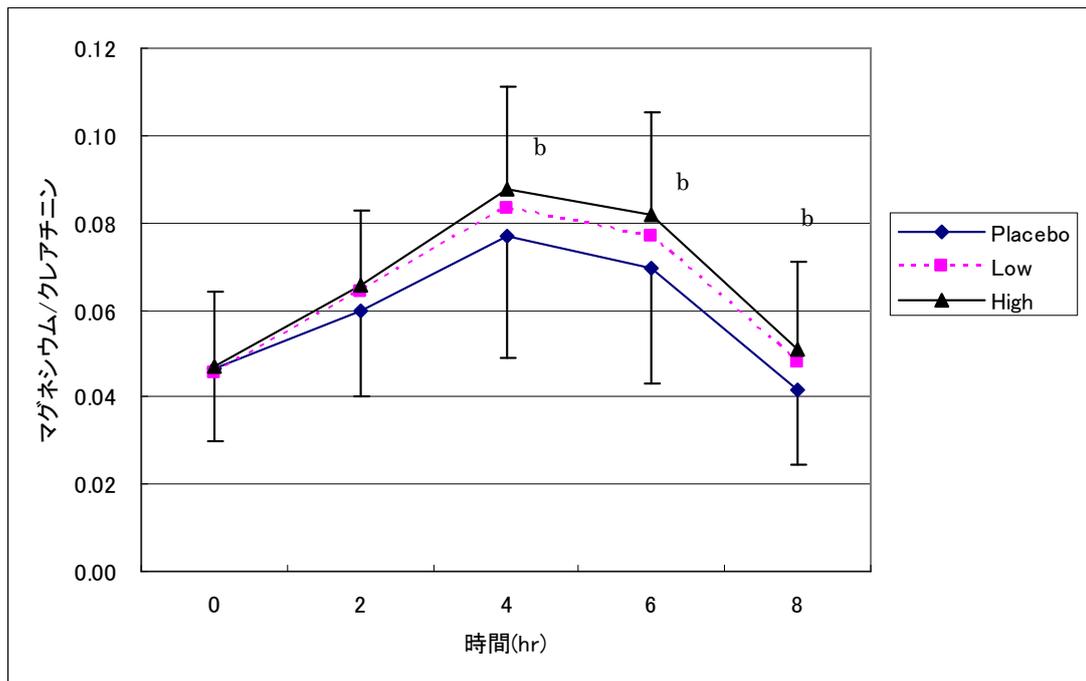


図 2-5 時間尿のマグネシウム/クレアチニン比

Placebo : ラクチュロース 0g、Low : ラクチュロース 2g、High : ラクチュロース 5g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 2 時間毎に採取した尿中の各時点における Mg 含量 (mg/dL) をクレアチニン含量 (mg/dL) で割った平均値、n=24、エラーバーは、上向き : 高用量、下向き : プラセボの標準偏差、b : プラセボ-高用量間で有意差あり

### 2.3.4 クレアチニン排泄量

各時間尿のクレアチニン排泄量を表 2-13 に示した。クレアチニン排泄量は、時間尿毎に重量 (g) ×クレアチニン含量 (mg/dL) ÷100 により計算した。各用量間について、対応のある t 検定を実施したが、有意差は認められなかった。

表 2-13 時間尿のクレアチニン排泄量<sup>1,2</sup>

	プラセボ (ラクチュロース 0g)	低用量 (ラクチュロース 2g)	高用量 (ラクチュロース 5g)
0 時間	120.96 ± 25.36	118.54 ± 29.24	122.89 ± 33.66
0-2 時間	149.45 ± 24.75	135.42 ± 29.61	143.38 ± 23.54
2-4 時間	131.09 ± 28.77	135.68 ± 22.65	135.81 ± 15.77
4-6 時間	139.39 ± 18.78	138.09 ± 27.60	140.71 ± 17.85
6-8 時間	138.52 ± 17.93	130.97 ± 20.71	136.56 ± 14.56

<sup>1</sup> 平均値 ± 標準偏差 (mg)

<sup>2</sup> 重量 (g) ×クレアチニン含量 (mg/dL) ÷100 により計算

### 2.3.5 骨吸収マーカー

I型コラーゲン N 末端テロペプチド断片 (NTx) およびデオキシピリジノリンの測定結果を表 2-14 に、解析結果を表 2-15 に示した。

NTx において時期効果は有意であったが、試験食品効果は有意でなかった。デオキシピリジノリンについては、時期効果および試験食品効果は有意でなかった。

表 2-14 合尿の骨吸収マーカーの測定結果<sup>1</sup>

	プラセボ	低用量	高用量
NTx (nmBCE/mmcre. <sup>2</sup> )	25.51±1.73	26.85±1.73	27.08±1.73
デオキシピリジノリン (nm/mmcre. <sup>2</sup> )	2.84±0.14	2.62±0.14	2.60±0.14

<sup>1</sup> 最小二乗平均値±標準誤差

<sup>2</sup>cre.: Creatinine

表 2-15 骨吸収マーカーの統計解析結果 (p 値)

	試験食品	時期
NTx	0.609	<0.001
デオキシピリジノリン	0.254	0.430

### 2.3.6 コンプライアンス

オリゴ糖製品、乳製品の摂取制限および試験食品の食べ忘れ、取り違いなどは発生しなかった。

7時の飲水を忘れ、8時に300mLのミネラルウォーターを飲んだ例(被験者番号17 プラセボ時) および11時の排尿、飲水を忘れた例(被験者番号10 低用量)が発生した。

排便時に尿の一部が漏れた例(被験者番号18 高用量時、および被験者番号19 プラセボ時)があった。

### 2.3.7 解析対象集団

被験者全員の24名をFASとして解析を実施した。上記4名を除外した20名についても、同様に解析を実施したが、同様の結果であった。

### 2.3.8 安全性

有害事象は、3名(12.4%)、6件(プラセボ時2件、低用量時2件、高用量時2件)発現し、その全てが軽度の頭痛であった。ラクチュロースの用量に関係無く、第3週目に頭痛を訴えるものは1名もいなかったことから、試験食品に起因する頭痛ではないと考えられた。

## 2.4 考察

### 2.4.1 ラクチュロースによるカルシウム、マグネシウム吸収促進効果の作用機序

難消化性オリゴ糖によるミネラル吸収促進の作用機序としては、いくつかの仮説が提唱されている。その中で有力な説は、難消化性オリゴ糖が大腸内で発酵を受け短鎖脂肪酸が生じ、その結果中性域では不溶であるカルシウム、マグネシウム塩が吸収可能なイオン状態となり、吸収量が増加するというものである<sup>6,8,12)</sup>。ラクチュロースでも摂取量の増加に伴い、回腸内腔の酸性化、カルシウム、マグネシウムの見かけの吸収率上昇が報告されている<sup>12)</sup>。また、発酵を受けて生じた短鎖脂肪酸が、直接ミネラル吸収促進に関与している可能性もある。短鎖脂肪酸の一種である、酢酸を豊富に含む食酢の摂取により、ラットのカルシウム吸収率が上昇したという報告<sup>67)</sup>と共に、短鎖脂肪酸自身が、カルシウムの腸管粘膜透過性を亢進することが **Ussing chamber technique** による実験で報告されている<sup>68)</sup>。また、**Fukushima** らは短鎖脂肪酸の一種である酪酸とプロピオン酸がカルシウム結合たんぱく質カルビンディン **D9k** の mRNA 発現を大幅に増加させることを **Caco-2** 細胞を用いた実験で報告している<sup>69)</sup>。難消化性オリゴ糖によるミネラル吸収促進においては、細胞間輸送を促進するものが主とされているが、カルビンディン **D9k** はカルシウムの細胞内輸送に重要な役割を担うたんぱく質であり、難消化性オリゴ糖によるミネラルの細胞内輸送への影響についても更なる検討が必要である。また、奥らは、ラクチュロース、フラクトオリゴ糖、ガラクトシルスクロース、イソマルトオリゴ糖を用いて、同じ量をラットに摂取させた際に、カルシウム、マグネシウムの代謝に与える影響がオリゴ糖により異なることを報告しており、大腸への到達量（非消化性）お

よび大腸での発酵性が、カルシウムおよびマグネシウムの吸収に影響を与えるとしている<sup>8)</sup>。

ラクチュロースなどの難消化性オリゴ糖は腸内細菌により発酵分解される際に、水素ガスを産生する。それら水素ガスは腸で吸収された後、呼気中に排泄される。ラクチュロース 10g を経口摂取した際、摂取後 3 時間目を頂点として摂取後 8 時間後に向けて、すそを引くような形で呼気中に水素が排泄されるという報告がある<sup>70)</sup>。すなわち空腹時に摂取されたラクチュロースは、摂取後 2 時間程度で、腸内細菌により資化され始め、その後数時間資化され続けたことを示す。今回の試験において、2 時間毎に採取した時間尿のカルシウム/クレアチニン比、マグネシウム/クレアチニン比を、ラクチュロース高用量摂取時とプラセボ時で比較したところ、カルシウムでは 6 時間目と 8 時間目、マグネシウムでは 4 時間目、6 時間目、8 時間目において、ラクチュロース摂取時の方が有意な高値を示した。高値を示した時間と呼気中への水素の排泄時間がほぼ一致することから、ラクチュロースによるカルシウム、マグネシウムの吸収促進効果は、ラクチュロースが大腸に到達し、腸内細菌に資化された後に発現した可能性が高い。一方、Ussing chamber technique による実験では、難消化性オリゴ糖の一種である difructose anhydride III が直接、カルシウムの腸管透過性を上昇させることが報告されている<sup>70)</sup>。以上述べてきたように難消化性オリゴ糖による、ミネラル吸収促進効果については、細胞間輸送に対する作用、細胞内輸送に対する作用、オリゴ糖の代謝物による作用またはオリゴ糖自身による作用など数多くの作用機序が提案され報告されている。難消化性オリゴ糖による、ミネラル吸収促進効果は単一の作用によるものというよりも、分解、吸収されることなく、小腸下部、大腸に到達し、腸内細菌に資化され短鎖脂肪酸に

変換される一連のプロセスに由来する複数の作用による結果であると推察される。またミネラル吸収促進に対する個々の作用の貢献割合などは難消化性オリゴ糖の種類や、各宿主が持つ腸内菌叢に依存すると考えられる。

#### 2.4.2 尿採取時間の評価

緒言で述べたとおり、本試験においては採尿終了時には、試験食品に含まれるカルシウム、マグネシウムが腸管において吸収され、尿中への排泄が完了していることが必要である。本試験においては、17時に採尿したサンプル中のカルシウム/クレアチニン比およびマグネシウム/クレアチニン比は、摂取前の9時のサンプルとほぼ同じ値を示しており、試験食品中に含まれるカルシウム、マグネシウムの排出が終了していたと判断出来た。よって、本試験における尿採取時間は適切であったと考える。

#### 2.4.3 有害事象の発生について

有害事象として24名中3名(12.4%)、6件(6/72=8.3%)に頭痛が発現したが、日本人の頭痛の罹患率は8.4%とのSakaiらの報告があり<sup>71)</sup>、発症すること自体は不自然なことではないと考えられる。

試験食品に用いたラクチュロースと酸化マグネシウムは、共に緩下剤として利用されている。下剤としてのラクチュロースの用量は1日19.5~39gであり<sup>59)</sup>、酸化マグネシウムの用量は1日2gである<sup>72)</sup>。本臨床試験におけるラクチュロース摂取量は最大で5g、酸化マグネシウム量は0.24gである。それぞれ単独の量では問題無いが、両者を一度に摂取した際の相乗効果による下痢の発生について懸念されたが、下痢、腹痛な

どの発現はなかった。

#### 2.4.4 ラクチュロースの他の効果による、尿中のミネラル排泄量増加の可能性

日本人の若者のカルシウム、マグネシウムの尿中排泄量と見かけの吸収率には有意な相関関係があること<sup>73)</sup>が Nishimuta らにより報告されており、尿中排泄量の増加は、ラクチュロースがミネラル吸収を促進したことを強く示唆する。しかしながら、①骨吸収を促進し、骨からのカルシウム、マグネシウムの流出量を増加させ、尿中のカルシウム、マグネシウム量が増加した可能性、②ラクチュロースが腎臓の機能になんらかの影響を与えて、カルシウム、マグネシウムの排泄量に影響を与えた可能性が考えられる。①については、本試験において尿中の NTx、デオキシピリジノリンといった骨吸収マーカーには、ラクチュロースの効果が認められなかったこと、ラクチュロースの長期的摂取により、ラットの尿中デオキシピリジノリン排泄量には変化がなく、骨中のカルシウム、マグネシウム含量が上昇したという報告<sup>8)</sup>やラットの骨密度<sup>66,74)</sup>が上昇したという報告から、ラクチュロースが骨吸収を促進して、尿中排泄量上昇を引き起こした可能性は低いと思われる。②についても、ミネラルを腎臓のクリアランスの指標であるクレアチニンとの比率で評価した時間尿においても、ラクチュロースのミネラル吸収促進効果が認められていることから、その可能性は低いと思われる。また、ラクチュロース摂取は、クレアチニン排泄量に影響を与えなかった。しかしながら、カルシウム、マグネシウムの尿中排泄量の上昇が①、②の効果によるものであることを完全に否定することは出来ない。

## 2.5 結語

ラクチュロースによるカルシウム、マグネシウムの吸収促進効果に関する検討を、カルシウムについては日本人を被験者とした初の臨床試験により、マグネシウムについては世界初となる臨床試験により実施した。3 剤 3 期のクロスオーバー試験として実施し、尿中へのミネラル排泄量を指標として吸収促進効果を評価した。試験食品摂取後 8 時間までの尿中へのカルシウム、マグネシウム総排泄量は、ラクチュロース摂取量に依存して上昇し、カルシウムに関しては低用量 (2g) と高用量 (5g) で、マグネシウムに関しては高用量 (5g) においてプラセボ時と有意な差が認められた。また、2 時間毎に採取した尿においても、ミネラル/クレアチニン比の有意な上昇が認められた。これらの結果から、ラクチュロースが、カルシウム、マグネシウム吸収促進効果を持つことが強く示唆された。

## 第3章 安定同位体比を指標とした、ラクチュロースのカルシウム、マグネシウム吸収促進効果の検討

### 3.1 緒言

第2章において、ラクチュロースのカルシウム、マグネシウムの吸収促進効果について、日本人を被験者とした臨床試験（試験Ⅰ）について報告した。ラクチュロース摂取により、尿中へのカルシウム、マグネシウム排泄量が増えたことから、ラクチュロース摂取によるカルシウム、マグネシウム吸収促進効果が強く示唆された<sup>7)</sup>。しかしながら、尿中へのミネラル排泄量の増加だけでは、ラクチュロースがミネラルの吸収を促進しただけでなく、骨吸収を促進したり、腎臓に影響を与えた可能性を完全に否定することは出来ない<sup>5)</sup>。そこで、特定の安定同位体比を高めた試験食品を摂取させた後、尿中の安定同位体比を測定するシングルアイソトープ法により、ラクチュロースのミネラル吸収促進効果を確認することを試みた。ラクチュロースがミネラル吸収を促進している場合には、プラセボ摂取時に比べて試験食品由来の安定同位体吸収量が増え、尿中の安定同位体比が高くなる<sup>6)</sup>。骨吸収を促進している場合には、通常の安定同位体比である骨由来のミネラル量が増えるため、試験食品由来の安定同位体の比は低くなる。腎臓に影響を与えた場合には、安定同位体比は変化しない。

試験Ⅰにおいては、試験食品中のラクチュロース量を2gと5gとしたが、本章に記述する試験（試験Ⅱ）においては、2gと4gとし、カルシウム量、マグネシウム量については、試験Ⅰと同じ300mと150mgとした。また、試験Ⅰはシングルブラインドで実施したが本試験は、ダブルブラインドで実施した。

## 3.2 実験方法

### 3.2.1 試験の倫理的実施

本試験は、森永乳業株式会社食品効用開発審査委員会および香川栄養学園実験研究に関する医学倫理委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言の精神に則り実施された。

### 3.2.2 被験者

#### 3.2.2.1 被験者募集

森永乳業株式会社研究・情報センターにおいて募集した健常な男性ボランティアを対象として行った。

#### 3.2.2.2 選択基準

- ①20歳以上 60歳以下の健常男性
- ②試験食品および本試験の目的、内容について十分な説明を受け、よく理解した上で自由意志により書面での試験参加の同意をした者
- ③試験責任者が適格と認めた者

#### 3.2.2.3 除外基準

- ①特別な疾患（糖尿病、腎臓病、ガラクトース血症、骨粗鬆症、ホルモン剤治療）などで治療を受けている者
- ②牛乳および少量のラクチュロース摂取により下痢を発症する者
- ③試験責任者が不相当と判断した者

#### 3.2.2.4 被験者数

24人（8人×3群）

### 3.2.3 被験者への同意取得

#### 3.2.3.1 被験者への説明事項

以下の事項を記載した同意説明文書・同意書を作成した。

- ①試験の目的、意義について
- ②試験の方法について
- ③試験食品について
- ④参加予定期間と予定参加者数
- ⑤予期される危険性について
- ⑥体調の変化に対する対応
- ⑦自由意思に基づく参加であること
- ⑧本試験への参加に同意した場合でも、随時これを撤回出来ること
- ⑨本試験への参加に同意しない場合、また随時参加を撤回しても、不利益を受けないこと
- ⑩個人情報には十分に保護されていること
- ⑪試験結果の学会報告・論文への利用について
- ⑫試験に参加することによる利益と不利益について
- ⑬参加者が守るべき事項
- ⑭臨床試験の組織について

#### 3.2.3.2 同意の取得方法

試験内容を十分説明した後、本人の自由意思に基づく参加への同意を文書にて取得した。

### 3.2.4 事前検査

起床後 2 回目の排尿中のカルシウム濃度、マグネシウム濃度、クレアチニン濃度、I 型コラーゲン N 末端テロペプチド断片、デオキシピリジノリンを測定した。これら検査結果をもとに被験者を選抜し、割付を行った。

### 3.2.5 試験食品

試験食品は、あらかじめ調製した分包品と安定同位体原液を混合して調製した。

#### 3.2.5.1 分包品の調製

分包品は、表 3-1 に示した原料を表 3-2 の配合表に従い電子天秤を用いて計量し、分包品を調製した。

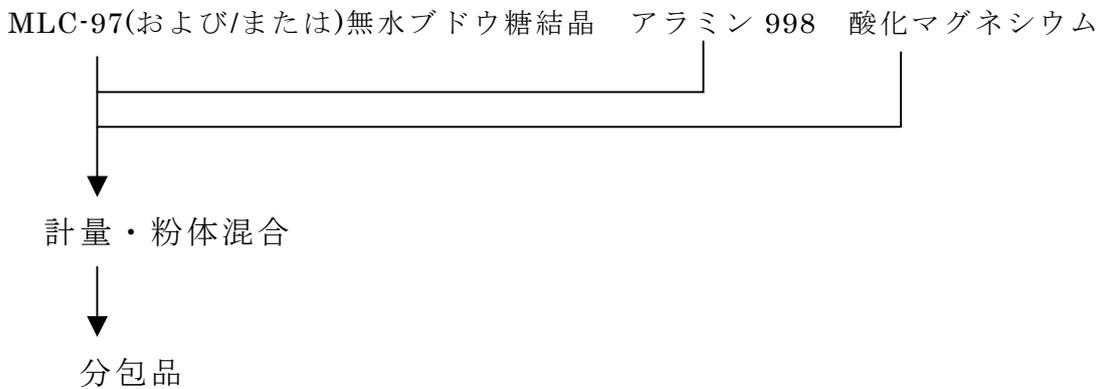


図 3-1 分包品の調製

### 3.2.5.2 試験食品の調製

各安定同位体を塩酸を用いて溶解し、炭酸カルシウム安定同位体塩酸溶液および酸化マグネシウム安定同位体塩酸溶液とした後、各々表 3-2 に示した量となるように樹脂容器に分注した。被験者ごとに指定された分包品を加え、水および希塩酸を加えて 80mL (pH 約 3~4) の塩酸溶液とした。その溶液を一晩冷蔵庫にて平衡化したものを試験食品とした。

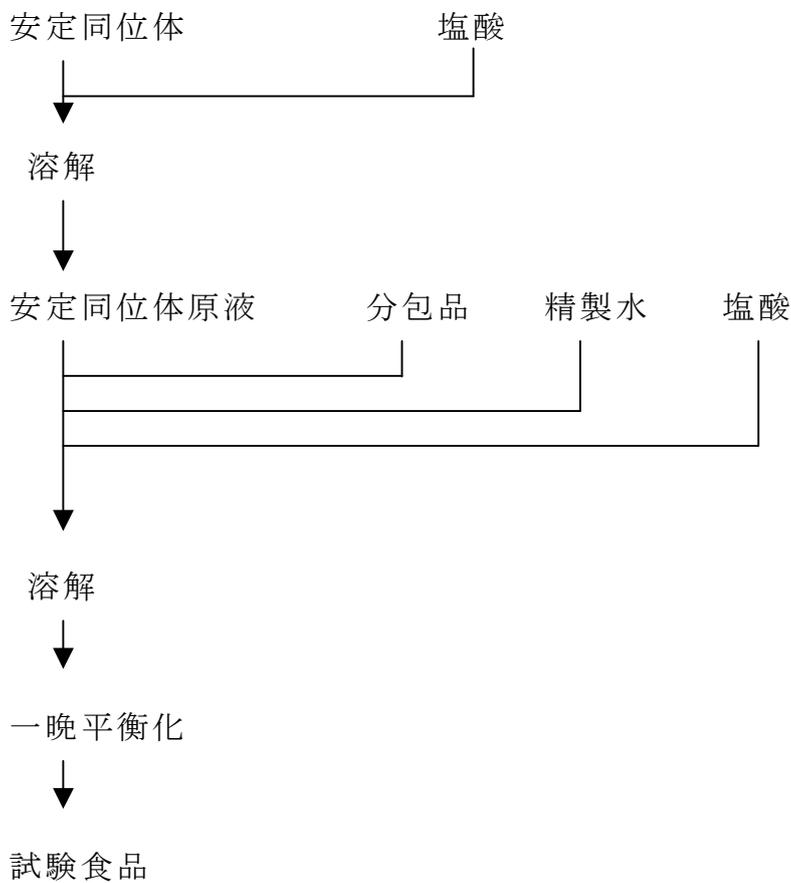


図 3-2 試験食品の調製

### 3.2.5.3 試験食品の成分・含有量

試験食品の使用原材料および配合表は、表 3-1 および 3-2 のとおり。

表 3-1 使用原料一覧表

原料名	製造会社
ラクチュロース粉末(MLC-97)	森永乳業(株)
ミルクカルシウム(アラミン 998)	NZMP
酸化マグネシウム	富田製薬(株)
無水ブドウ糖結晶	日本食品化工(株)
安定同位体炭酸カルシウム	Trace Science
安定同位体酸化マグネシウム	Trace Science

表 3-2 試験食品の配合表

原料名	プラセボ	低用量	高用量	
分 MLC-97(g)	0	2.0	4.0	
包 アラミン 998(g)	0.93	0.93	0.93	
品 酸化マグネシウム(g)	0.18	0.18	0.18	
無水ブドウ糖結晶(g)	4.0	2.0	0	
安定同位体 安定同位体 原液	安定同位体炭酸カルシウム $^{44}\text{Ca}$ (g)	0.05	0.05	0.05
	安定同位体酸化マグネシウム $^{25}\text{Mg}$ (g)	0.05	0.05	0.05
合計(g)	5.21	5.21	5.21	

#### 3.2.5.4 一般成分

試験食品の一般成分・含有量は表 3-3 のとおり。

表 3-3 試験食品の一般成分表（1 回摂取あたり）

成 分	計算値		
	プラセボ	低用量	高用量
たんぱく質(g)	0.1	0.1	0.1
脂質(g)	0	0	0
炭水化物(g)	4.0	4.0	4.0
灰分(g)	1.1	1.1	1.1
水分(g)	74	74	74
エネルギー(kcal)	16.3	12.3	8.3
カルシウム(mg)	300	300	300
マグネシウム(mg)	150	150	150

#### 3.2.6 試験デザイン

被験者をランダムに 3 群に分け、プラセボ、低用量、高用量の 3 回の試験を繰り返す 3 剤 3 期のダブルブラインドクロスオーバー試験を実施した。第 1 期の前に 1 週間の前期間を、各期の間には 2 週間の休止期間を設けた。各群は試験食品の摂取順序が異なるのみで、その他の条件は同じとした。

	前期間 (1 週間)	休止期間 (2 週間)	休止期間 (2 週間)
	第 1 期	第 2 期	第 3 期
A 群	プラセボ	低用量	高用量
B 群	低用量	高用量	プラセボ
C 群	高用量	プラセボ	低用量

図 3-3 試験デザイン

### 3.2.6.1 試験食品の摂取方法

試験当日 9 時の朝食焼きおにぎり(日本水産株式会社製)摂取直後に、共洗用蒸留水 70mL と共に試験食品を被験者に摂取させた。

### 3.2.6.2 各期の試験スケジュール

#### ①試験前日

18 時 30 分 女子栄養大学生生活習慣病研究センター集合

19 時 うどん(日清食品株式会社製)と焼きおにぎり摂取

(以後は市販ミネラルウォーター(サントリー株式会社製)のみを摂取させた。)

生活習慣病研究センターまたはホテルに宿泊

## ②試験当日

### 試験当日

時刻	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17
食事			◎			●					
飲水	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
排尿	▲		▲		▲		▲		▲		▲

朝食：◎焼おにぎり（2個）を試験食品と共に摂取する。

昼食：●焼おにぎり（2個）を摂取する。

飲水：○ミネラルウォーター150mLを摂取する。

図 3-4 試験当日スケジュール

なお、試験食品以外の摂取食品については、第2章の表2-5に示した物と同じ物を使用した。

### 3.2.6.3 併用禁止食品

試験期間中の併用禁止食品を表3-4に示す。

表 3-4 併用禁止食品

期間	禁止食品
第 1 期試験 1 週間前～第 3 期試験 終了	ラクチュロースなどのオリゴ糖製 品 Ca、Mg、ビタミン D、K 含有サ プリメント
試験前日	乳製品、ビフィズス菌・乳酸菌含 有食品
試験前日 16 時～試験当日最終排尿	配布物以外の全ての飲料・食品

### 3.2.7 盲検化の方法、盲検性の維持および割付け

#### 3.2.7.1 盲検化の方法

割付け責任者は、3.2.5.1 で作製された分包品を入手し、識別不能性を確認した後、割付けを行った。

#### 3.2.7.2 盲検性の維持

割付け責任者は、全ての症例報告書の作成が終了し、取扱いを含む解析のためのデータが固定されたことを確認した後、試験食品の割付けを開示した。

#### 3.2.7.3 割付け表の作成および割付け

割付け責任者は、尿中のカルシウム/クレアチニン比、年齢、体重を層とした層化置換ブロック法でランダムに 3 群に割付けた。割付け責任者は、割付け表を開封時まで、密封・封印の上、適切に保管した。

#### 3.2.7.4 分包品の割付け

割付け責任者は、割付け結果をもとに、3.2.5.1 で作製された分包品に実施時期（1、2、3 期）と被験者番号を記入し、試験責任者に送付した。

### 3.2.7.5 開封

割付け責任者は、全ての症例報告書の作成が終了し、取扱いを含む解析のためのデータが固定された後に、割付け表が開封されていないことを確認した上で割付け表を開封した。

### 3.2.8 試験実施場所

女子栄養大学坂戸キャンパス「生活習慣病研究センター」にて実施した。

### 3.2.9 検査

#### 3.2.9.1 検査内容と項目

採取した血液および尿について表 3-5 の検査項目を測定した。安定同位体比については、合尿（2 時間毎の尿サンプルを合わせたもの）1mL をテフロン製試験管に入れ、超高純度硝酸（70%、関東化学株式会社製）1mL を加えた後、120℃、12 時間湿式灰化处理した。その後、蒸留水を加えて 10mL としたものをサンプルとした。イオンプラズマ発光質量分析装置（HP4500、横河アナリティカルシステムズ製）を用いて三井化学分析センターで測定した。その他の測定項目については、外部委託検査会社（株式会社エスアールエル）に検査を依頼した。尿中排泄総カルシウム量、マグネシウム量は、合尿のミネラル濃度（比色分析法）に、2 時間目から 8 時間目の尿の累積重量を乗じて計算した。

表 3-5 検査項目一覧表

サンプル名	測定項目
血液	骨代謝マーカー : 25(OH)VitaminD、Intact-PTH、Osteocalcin 血液学的検査 : 白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数 一般生化学検査 : 総ビリルビン、総たんぱく質、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン(Cre)、尿酸、ALP、 $\gamma$ -GTP、Na、Cl、K、Ca、Mg、Fe、P、空腹時血糖、LDH、中性脂肪、総コレステロール、HDL-コレステロール、AST(GOT)、ALT(GPT)、アミラーゼ
2 時間毎の尿	尿量 安定同位体カルシウム比(0 時間のみ) 安定同位体マグネシウム比(0 時間のみ) カルシウム含量(o-CPC 法) マグネシウム含量(キシリジルブルー法) クレアチニン量(ヤッフエ法)
合尿(2 時間毎の尿サンプルを合わせたもの)	安定同位体カルシウム比 安定同位体マグネシウム比 カルシウム含量(o-CPC 法) マグネシウム含量(キシリジルブルー法) クレアチニン量(ヤッフエ法) I 型コラーゲン N 末端テロペプチド断片(NTx)(エライザ法) デオキシピリジノリン(エライザ法)

### 3.2.10 観察項目

試験食品の摂取および試験前日・当日の食事およびミネラルウォーターの摂取状況、体調の変化、副作用について観察し、記録した。

### 3.2.11 評価項目

#### 3.2.11.1 主要評価項目

- ①尿中排泄安定同位体カルシウム比
- ②尿中排泄安定同位体マグネシウム比

#### 3.2.11.2 副次的評価項目

- ①尿中排泄総カルシウム量
- ②尿中排泄総マグネシウム量
- ③時間尿サンプルのカルシウム/クレアチニン比
- ④時間尿サンプルのマグネシウム/クレアチニン比

### 3.2.12 安全性

試験期間中の被験者の体調、副作用などの観察記録から、試験責任医師は試験食品の安全性を評価した。

### 3.2.13 コンプライアンス

試験食品の摂取および試験前日・当日の食事およびミネラルウォーターの摂取を確認し、コンプライアンスを判定した。

### 3.2.14 症例の取扱いおよびデータの取扱い

#### 3.2.14.1 症例の取扱い

試験責任者は、割付け表開封前に症例報告書などの記録を基に、症例検討を行い解析上の取扱いを決定し、症例を固定した。

- ① 選択基準、除外基準違反
- ② 併用禁止食品摂取
- ③ コンプライアンス
- ④ データ不完備、欠測値
- ⑤ 骨代謝疾患・異常（血液検査、尿検査、骨密度）
- ⑥ 試験計画書からの逸脱、その他

#### 3.2.14.2 データの許容幅

時期的なズレに対しては±25%の時間を許容した。食事、水の摂取量のコンプライアンスについては、75%以上を基準とした。

#### 3.2.14.3 欠測値の補填

欠測値の補填は行わなかった。

### 3.2.15 統計解析

#### 3.2.15.1 背景因子の解析およびその調整

試験食品間の比較可能性を評価する為に、試験食品群間の背景因子の集計を行った。また、名義データは $\chi^2$ 検定、順序データはCHM検定、連続データは分散分析を行った。なお、試験食品群間で不均衡 ( $p < 0.15$ ) が認められた因子について調整解析を行った。

#### 3.2.15.2 評価項目の解析方法

主要評価項目①尿中排泄安定同位体カルシウム比、②尿中排泄安定同位体マグネシウム比については、試験食品効果、時期効果を固定効果、

各期の試験食品摂取直前の尿中安定同位体比を共変量とし、被験者を変量効果とした変量効果モデル(線形混合モデル)を用いて解析を行った。また、背景因子の影響を評価するために、背景因子を共変量とした調整解析も行った。

副次的評価項目①尿中排泄総カルシウム量、②尿中排泄総マグネシウム量については、試験食品効果、時期効果を固定効果、被験者を変量効果とした変量効果モデル(線形混合モデル)を用いた解析を行った。

副次的評価項目③時間尿サンプルのカルシウム/クレアチニン比、④時間尿サンプルのマグネシウム/クレアチニン比については、測定時点ごとに対応のある t 検定を行った。有意水準はいずれも両側 5%とした。

解析ソフトウェアは、SAS 8.02 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。

### 3.3 結果

#### 3.3.1 安定同位体の純度

入手した安定同位体の純度を表 3-6 に示した。純度は 95%以上であった。

表 3-6 安定同位体比（原料メーカー分析値）

$^{44}\text{Ca}$	$^{44}\text{Ca}:95.9 \pm 0.3\%$ 、 $^{40}\text{Ca}:4.01\%$ 、 $^{42}\text{Ca}:0.04\%$ 、
Form: $\text{CaCO}_3$	$^{43}\text{Ca}:0.03\%$ 、 $^{46}\text{Ca}<0.01\%$ 、 $^{48}\text{Ca}:0.02\%$
$^{25}\text{Mg}$	$^{25}\text{Mg}:99.2 \pm 0.1\%$ 、 $^{24}\text{Mg}:0.43\%$ 、 $^{26}\text{Mg}:0.37\%$
Form: $\text{MgO}$	

#### 3.3.2 中止・脱落症例

中止・脱落した被験者はなかった。

#### 3.3.3 解析対象データ

開鍵前の症例検討会で、ID31 番の被験者が、第 2 期試験 2 日前に牡蠣による食あたりをおこし、抗生物質などを服用したため、当該データ（高用量）を不採用とした。他のデータは全て採用とした。

### 3.3.4 被験者背景

割付け群ごとの主要な背景を表 3-7 に示した。背景に違いは認められなかった。

表 3-7 群分け後の被験者背景<sup>1</sup>

	A 群	B 群	C 群	検定結果
被験者数	8	8	8	
年齢(歳)	33.1±5.0	33.5±5.8	33.8±6.2	p=0.976
身長(cm)	173.3±8.0	172.0±8.3	173.4±8.5	p=0.935
体重(kg)	69.8±16.6	65.6±6.6	65.9±8.1	p=0.719
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	23.0±3.5	22.2±1.2	21.9±2.3	p=0.680
尿カルシウム/クレアチニン比	0.0630±0.0387	0.0614±0.0598	0.0679±0.0547	p=0.966
尿マグネシウム/クレアチニン比	0.0414±0.0116	0.0389±0.0121	0.0410±0.0157	p=0.922

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差

### 3.3.5 主要評価項目の結果

各時間尿（2、4、6、8 時間目）を合わせたもの（合尿）の尿中排泄安定同位体比を測定した。

安定同位体マグネシウム比については、開鍵前のデータ検討会で、試験食品摂取前の安定同位体比  $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$  と  $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$  の相対標準偏差を比較し、相対標準偏差の小さい  $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$  を優先的に解析することとした。

解析は、 $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 、 $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ 、 $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$  の順に行う閉手順とすることで、第 I 種過誤を 0.05 にコントロールした。

### 3.3.5.1 尿中排泄安定同位体カルシウム比 ( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ )

プラセボ、低用量、高用量の順に最小二乗平均値が高値を示し、用量依存性が認められた。プラセボー高用量間で有意差が認められた(表 3-8、図 3-5)。

表 3-8 尿中排泄安定同位体カルシウム比 ( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ ) 解析結果概要

	最小二乗平均値	プラセボとの差	標準誤差	p 値(Dunnett)
高用量(4g)	0.0233	0.0002	0.0001	<b>0.008</b>
低用量(2g)	0.0232	0.0001	0.0001	0.156
プラセボ(0g)	0.0231			

プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23

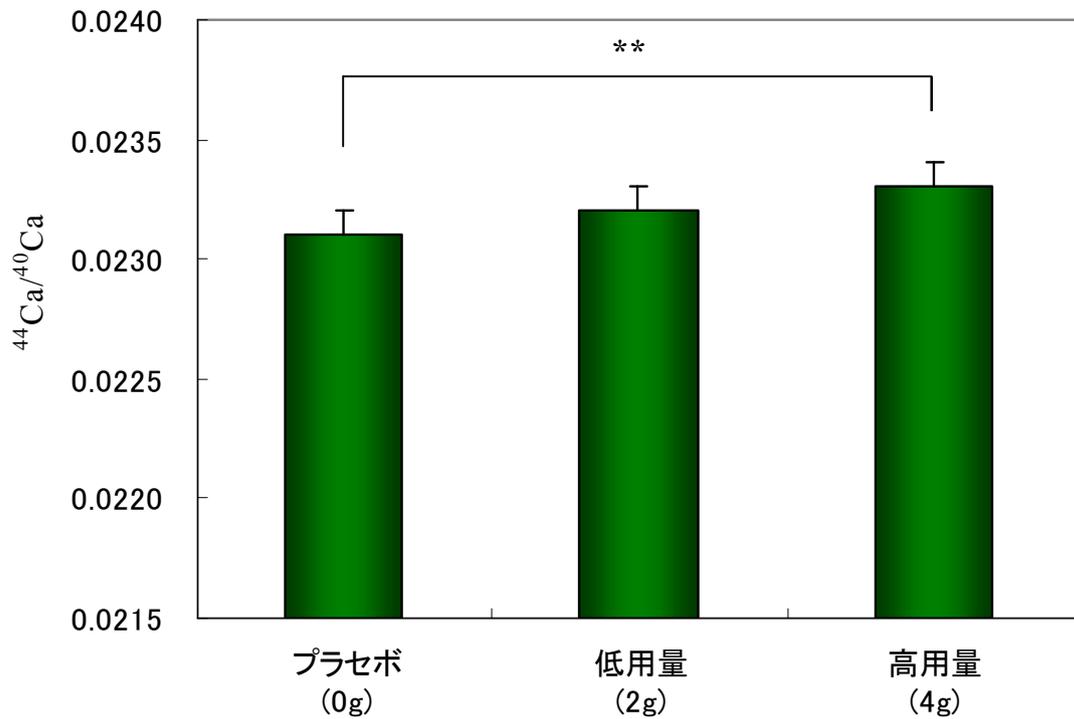


図 3-5 尿中排泄安定同位体カルシウム比 ( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ )

プラセボ：ラクチュロース 0g、低用量：ラクチュロース 2g、高用量：ラクチュロース 4g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 8 時間の合尿（試験食品摂取後 2、4、6、8 時間目尿を混合したもの）の測定結果

最小二乗平均値±標準誤差 \*\*p<0.01 (Dunnett-Hsu)

プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23

### 3.3.5.2 尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ )

プラセボ、低用量、高用量の順に最小二乗平均値が高値を示し、用量依存性が認められた。プラセボー低用量間、プラセボー高用量間で有意差が認められた（表 3-9、図 3-6）。

表 3-9 尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ ) 解析結果概要

	最小二乗平均値	プラセボとの差	標準誤差	p 値(Dunnett)
高用量(4g)	0.1340	0.0014	0.0002	<0.001
低用量(2g)	0.1336	0.0010	0.0002	<0.001
プラセボ(0g)	0.1326			

プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23

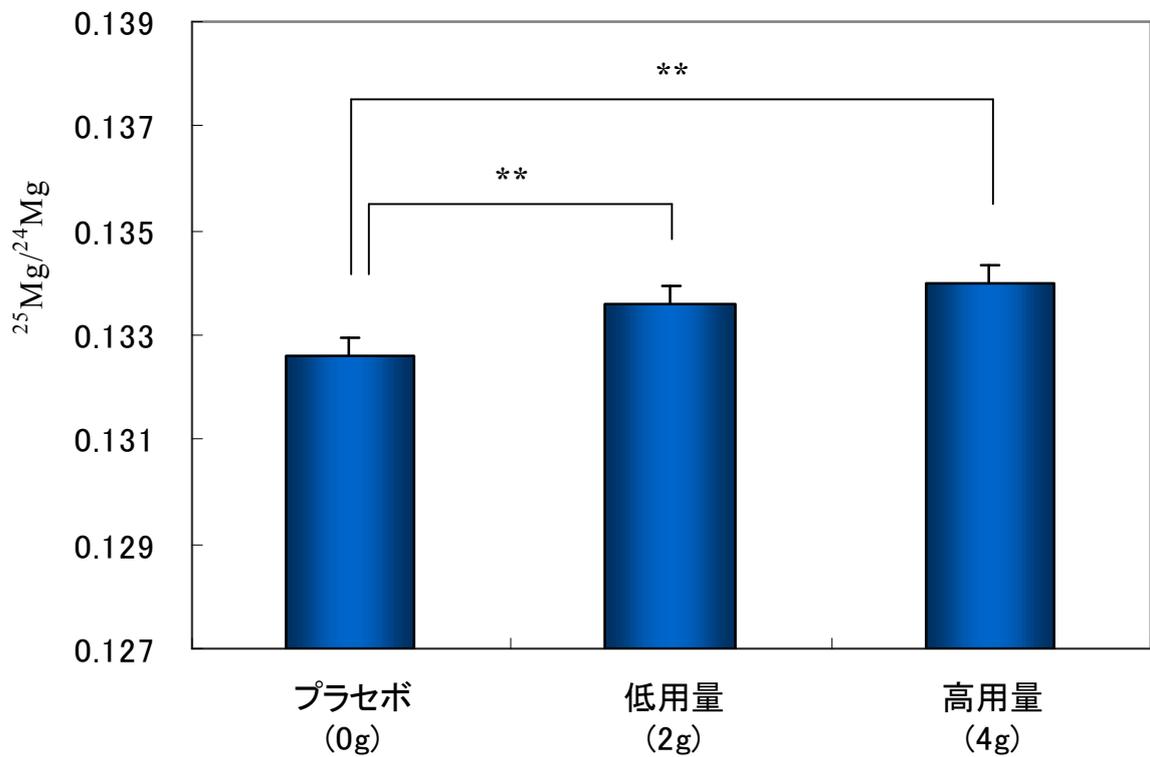


図 3-6 尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ )

プラセボ：ラクチュロース 0g、低用量：ラクチュロース 2g、高用量：ラクチュロース 4g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 8 時間の合尿（試験食品摂取後 2、4、6、8 時間目尿を混合したもの）の測定結果

最小二乗平均値±標準誤差 \*\*p<0.01 (Dunnett-Hsu)

プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23

### 3.3.5.3 尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$ )

プラセボ、低用量、高用量の順に最小二乗平均値が高値を示し、用量依存性が認められた。プラセボー低用量間、プラセボー高用量間で有意差が認められた（表 3-10）。

表 3-10 尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$ )

	最小二乗平均値	プラセボとの差	標準誤差	p 値(Dunnett)
高用量(4g)	0.9616	0.0084	0.0020	<b>&lt;0.001</b>
低用量(2g)	0.9602	0.0070	0.0020	<b>0.002</b>
プラセボ(0g)	0.9532			

プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23

### 3.3.6 副次的評価項目

#### 3.3.6.1 尿中排泄総カルシウム量

プラセボ、低用量、高用量の順に最小二乗平均値が高値を示し、用量依存性が認められた。プラセボー高用量間で有意差が認められた（表 3-11）。

表 3-11 尿中排泄総カルシウム量<sup>1</sup>の解析結果概要

	最小二乗平均値	プラセボとの差	標準誤差	P 値(Dunnett)
高用量(4g)	75.46	7.23	2.70	<b>0.020</b>
低用量(2g)	71.67	3.45	2.65	0.334
プラセボ(0g)	68.23			

<sup>1</sup> 試験食品摂取後 8 時間に尿中に排泄されたカルシウム量 (mg)

プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23

### 3.3.6.2 尿中排泄総マグネシウム量

プラセボ、低用量、高用量の順に最小二乗平均値が高値を示したが、有意差は認められなかった（表 3-12）。

表 3-12 尿中排泄総マグネシウム量<sup>1</sup>の解析結果概要

	最小二乗平均値	プラセボとの差	標準誤差	p 値(Dunnett)
高用量(4g)	41.61	1.76	1.38	0.345
低用量(2g)	41.42	1.57	1.36	0.412
プラセボ(0g)	39.85			

<sup>1</sup> 試験食品摂取後 8 時間に尿中に排泄されたマグネシウム量 (mg)

プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23

### 3.3.6.3 時間尿のカルシウム/クレアチニン比

各時間尿のカルシウム/クレアチニン比の値を表 3-13、図 3-7 に示した。各時点においてラクチュロース摂取時に平均値でプラセボ時を下回る値はなかった。高用量の 6 時間目で有意差が認められた。

表 3-13 時間尿のカルシウム/クレアチニン比

経過時間	低用量 (ラクチュロース 2g)		高用量 (ラクチュロース 4g)	
	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>
0 時間	0.0021	0.650	0.0055	<b>0.046</b>
2 時間	0.0017	0.866	0.0119	0.171
4 時間	0.0066	0.454	0.0060	0.621
6 時間	0.0112	0.110	0.0216	<b>0.006</b>
8 時間	0.0018	0.677	0.0064	0.231

<sup>1</sup>群間差：プラセボとの個人毎の差の平均値

<sup>2</sup>p 値：プラセボとの対応のある t 検定

プラセボ-低用量間 n=24、プラセボ-高用量間 n=23

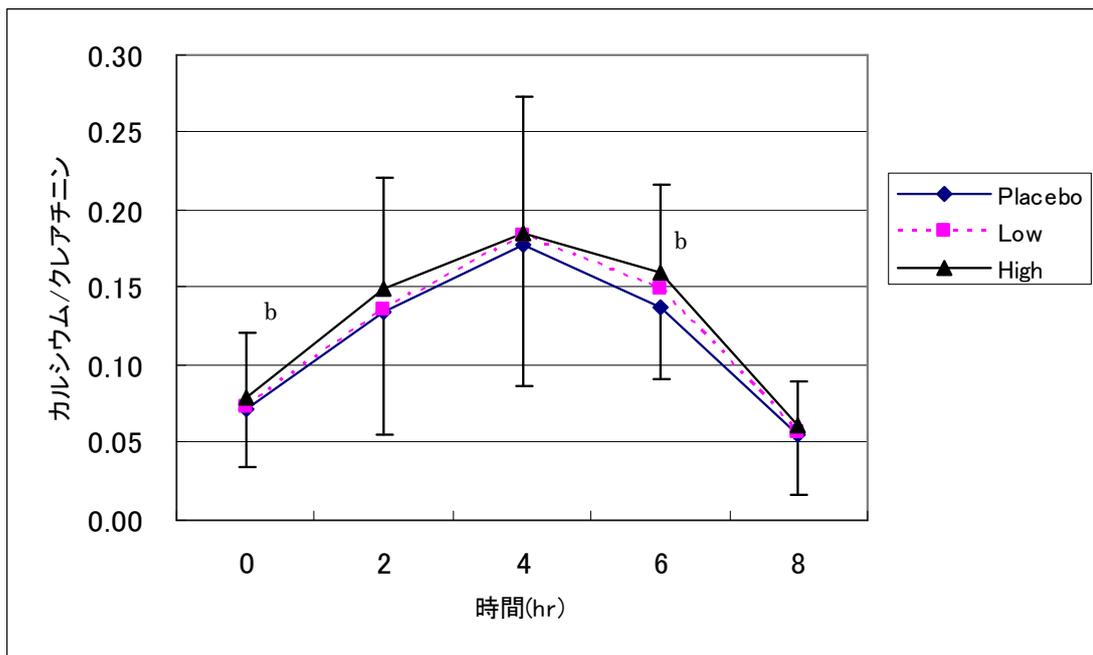


図 3-7 時間尿サンプルのカルシウム/クレアチニン比

Placebo : ラクチュロース 0g、Low : ラクチュロース 2g、High : ラクチュロース 4g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 2 時間毎に採取した尿中の各時点における Ca 含量 (mg/dL) をクレアチニン含量 (mg/dL) で割った平均値、プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23、エラーバーは、上向き : 高用量、下向き : プラセボの標準偏差、a : プラセボ-低用量間で有意差あり、b : プラセボ-高用量間で有意差あり

### 3.3.6.4 時間尿のマグネシウム/クレアチニン比

各時間尿のマグネシウム/クレアチニン比の値を表 3-14、図 3-8 に示した。いずれの時点でも有意差は認められなかった。

表 3-14 時間尿のマグネシウム/クレアチニン比

経過時間	低用量 (ラクチュロース 2g)		高用量 (ラクチュロース 4g)	
	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>	群間差 <sup>1</sup>	p 値 <sup>2</sup>
0 時間	0.0005	0.875	-0.0039	0.172
2 時間	0.0002	0.949	-0.0003	0.936
4 時間	0.0061	0.122	0.0024	0.550
6 時間	0.0056	0.139	0.0057	0.145
8 時間	0.0035	0.069	0.0040	0.142

<sup>1</sup>群間差：プラセボとの個人毎の差の平均値

<sup>2</sup>p 値：プラセボとの対応のある t 検定

プラセボ-低用量間 n=24、プラセボ-高用量間 n=23

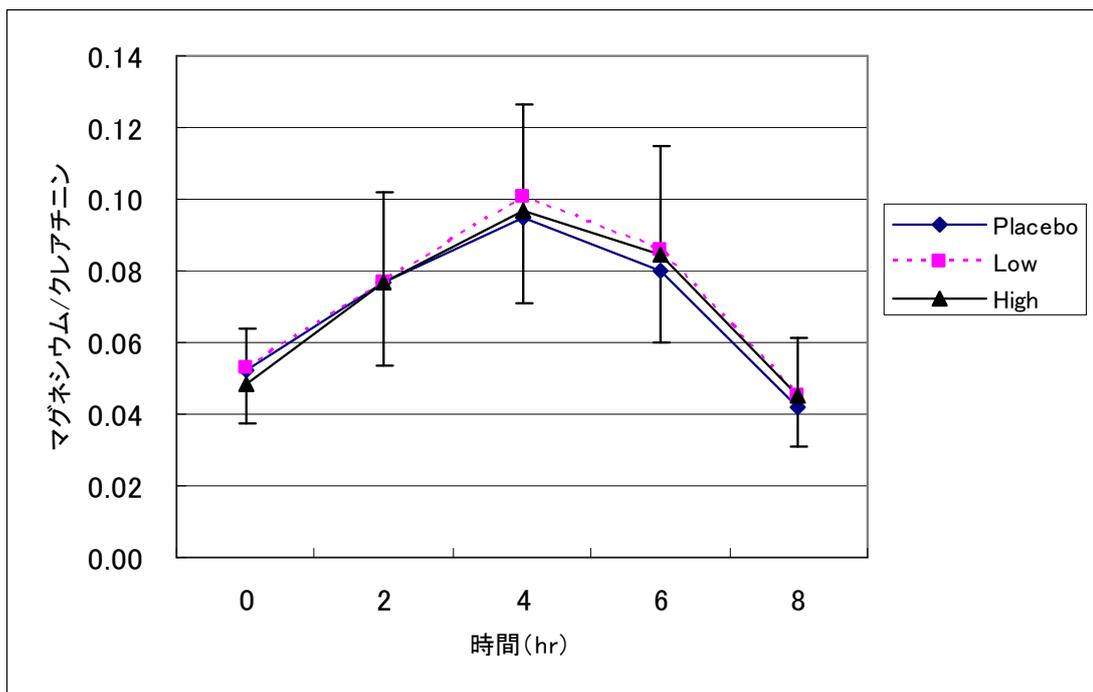


図 3-8 時間尿サンプルのマグネシウム/クレアチニン比

Placebo : ラクチュロース 0g、Low : ラクチュロース 2g、High : ラクチュロース 4g と Ca300mg、Mg150mg を摂取後 2 時間毎に採取した尿中の各時点における Mg 含量 (mg/dL) をクレアチニン含量 (mg/dL) で割った平均値、プラセボ、低用量 n=24、高用量 n=23、エラーバーは、上向き : 高用量、下向き : プラセボの標準偏差

### 3.3.7 クレアチニン排泄量

各時間尿のクレアチニン排泄量を表 3-15 に示した。クレアチニン排泄量は、時間尿毎に重量 (g) ×クレアチニン含量 (mg/dL) ÷100 により計算した。各用量間について、対応のある t 検定を実施したが、有意差は認められなかった。

表 3-15 時間尿のクレアチニン排泄量<sup>1,2</sup>

	プラセボ (ラクチュロース 0g)	低用量 (ラクチュロース 2g)	高用量 (ラクチュロース 4g)
0 時間	138.74 ± 16.41	138.59 ± 17.49	140.28 ± 20.45
0-2 時間	142.15 ± 17.81	142.83 ± 14.40	138.98 ± 19.08
2-4 時間	138.80 ± 16.10	136.38 ± 13.20	139.60 ± 15.40
4-6 時間	142.21 ± 21.03	143.63 ± 18.89	140.07 ± 13.36
6-8 時間	134.90 ± 15.03	132.05 ± 14.47	133.37 ± 17.38

<sup>1</sup> 平均値 ± 標準偏差 (mg)

<sup>2</sup> 重量 (g) ×クレアチニン含量 (mg/dL) ÷100 により計算

### 3.3.8 共変量を考慮した調整解析

背景で  $p < 0.15$  となった因子および医学上重要と思われる因子を共変量とした調整解析を実施した。

飲酒、喫煙、オリゴ糖摂取、血中ビタミン D、血中 PTH、血中オステオカルシン、血中ヘモグロビン、ヘマトクリット、血中総ビリルビン、血中アルカリフォスファターゼ、血中無機リン、尿量、骨密度を共変量とした解析を実施したが、尿中排泄安定同位体カルシウム比、マグネシウム比とも、いずれの因子も有意ではなく、最小二乗平均値にも変化がなかった。カルシウム、マグネシウム吸収にはこれら因子は、影響を与えないことが示唆された。

### 3.3.9 全データによる解析

ID32 第 2 期（高用量）のデータを含めて解析を実施したところ、ばらつきは大きくなったものの、最小二乗平均値に大きな変化はなく、解析結果の頑健性が示された。

### 3.3.10 持越し効果の解析

持越し効果について種々のモデルでの解析を行ったが、持越し効果に有意差は認められなかった。

### 3.3.11 骨吸収マーカーの解析

骨吸収マーカー（I型コラーゲンN末端テロペプチド断片（NTx）およびデオキシピリジノリン）の測定結果を表 3-16 に、解析結果を表 3-17 示した。NTx およびデオキシピリジノリンについて主要評価項目と同様に変量効果モデルを用いた解析をしたところ、各用量間に有意差は認められなかった。ラクチュロースは骨吸収に影響を与えないことが示唆された。

表 3-16 骨吸収マーカーの解析結果<sup>1</sup>

	プラセボ	低用量	高用量
NTx (nmBCE/mmcre. <sup>2</sup> )	22.31±1.26	22.47±1.26	24.41±1.29
デオキシピリジノリン (nm/mmcre. <sup>2</sup> )	3.04±0.14	3.10±0.14	2.97±0.14

<sup>1</sup> 最小二乗平均値±標準誤差

<sup>2</sup>cre.: Creatinine

表 3-17 骨吸収マーカーの統計解析結果（p 値）

	試験食品	時期
NTx	0.281	<0.001
デオキシピリジノリン	0.614	0.031

### 3.3.12 尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比の関係

尿中排泄総カルシウム量と尿中排泄安定同位体カルシウム比 ( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ ) の二変量関係を図 3-9 に、尿中排泄総マグネシウム量と尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ ) の二変量関係を図 3-10 に、尿中排泄総マグネシウム量と尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$ ) の二変量関係を図 3-11 に示した。各二変量間の相関係数を表 3-18 に示した。各尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比の間に正の相関関係が認められた。

表 3-18 尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比間の相関係数および有意確率

変数		相関係数	p 値
尿中排泄総カルシウム量	尿中排泄安定同位体カルシウム比( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ )	0.629	<0.001
尿中排泄総マグネシウム量	尿中排泄安定同位体マグネシウム比( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ )	0.465	<0.001
尿中排泄総マグネシウム量	尿中排泄安定同位体マグネシウム比( $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$ )	0.554	<0.001

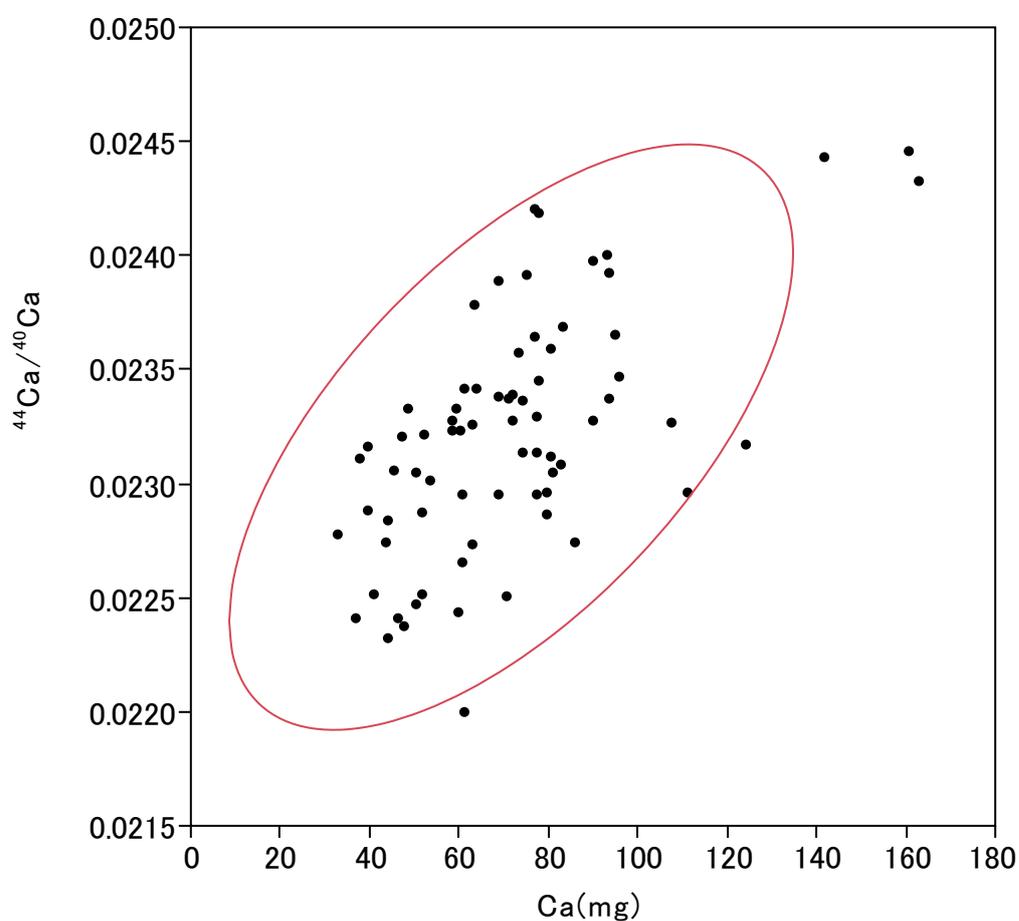


図 3-9 尿中排泄総カルシウム量と尿中排泄安定同位体カルシウム比 ( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ ) の二変量の関係

合尿（試験食品摂取後 2、4、6、8 時間目尿を混合したもの）の測定結果、n=72

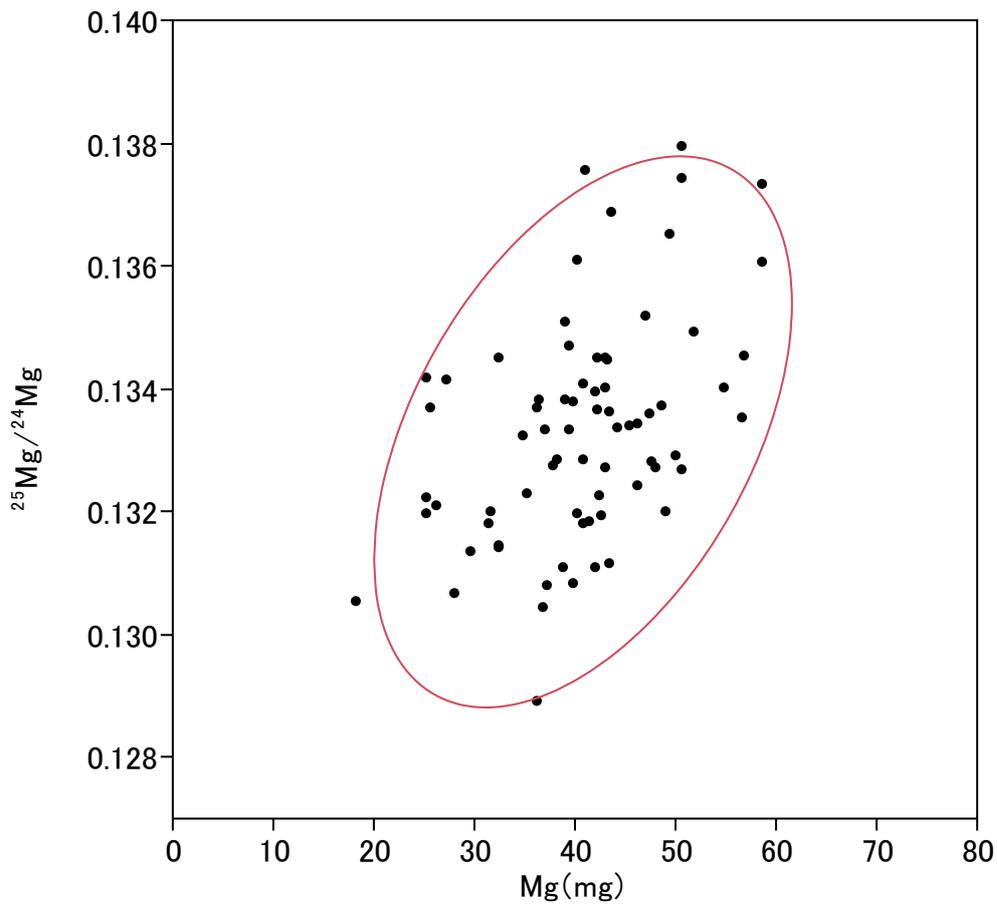


図 3-10 尿中排泄総マグネシウム量と尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ ) の二変量の関係

合尿（試験食品摂取後 2、4、6、8 時間目尿を混合したもの）の測定結果、n=72

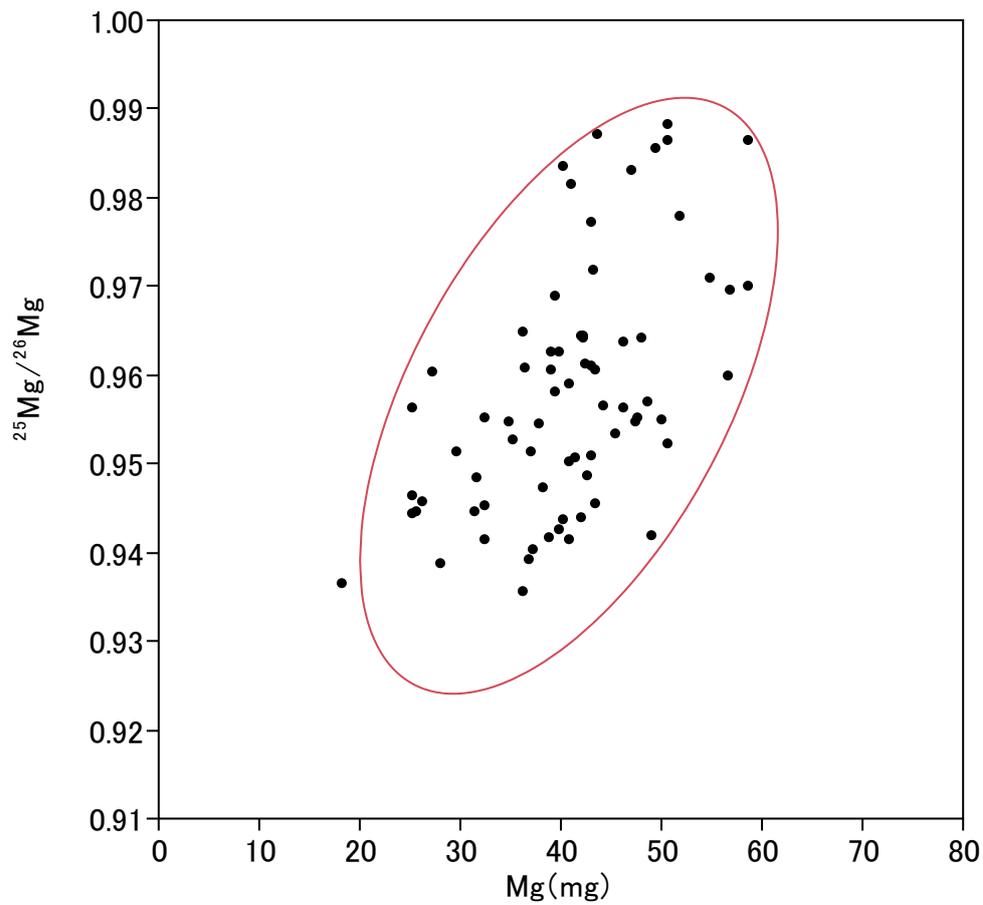


図 3-11 尿中排泄総マグネシウム量と尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$ ) の二変量の関係

合尿（試験食品摂取後 2、4、6、8 時間目尿を混合したもの）の測定結果、n=72

### 3.3.13 コンプライアンス

①試験食品摂取、②飲水、③採尿、④併用禁止食品についてコンプライアンス違反はなかった。

### 3.3.14 安全性

試験食品摂取日に有害事象の発生はなかった。

試験休止期に、風邪を引いた者 3 名、食あたりを起こした者 1 名がいたが、試験時期（2 月～3 月）を考えれば不自然なもので無く、試験食品摂取直後に発生した症例もいなかった。

臨床検査値（血液学的検査、尿検査）においても、異常な変化は認められなかった。

本試験食品による副作用は無いと判断された。

### 3.4 考察

#### 3.4.1 安定同位体比によるミネラル吸収の評価

カルシウムおよびマグネシウムの特定の安定同位体比を高めた試験食品を摂取させ、尿中の安定同位体比を測定することで、ラクチュロースのミネラル吸収促進効果を検討した。ラクチュロース摂取により、尿中ミネラルの安定同位体比が上昇し、尿中のミネラル排泄量も増加したことから、ラクチュロースは、カルシウムとマグネシウムの吸収を促進したと考えられた。安定同位体によるカルシウム吸収測定方法としては、経口的に安定同位体を摂取すると共に静脈から他の安定同位体を注入するダブルアイソトープ法と安定同位体の経口摂取のみを行うシングルアイソトープ法がある。ダブルアイソトープ法は経口摂取に由来するカルシウムの真の吸収率を測定出来る方法ではあるが、安定同位体溶液を静脈注射するという被験者への大きな負担を強いる。上西らは、シングルアイソトープ法によるカルシウムの吸収率評価結果を報告している<sup>5,6)</sup>。シングルアイソトープ法であっても、クロスオーバー試験として実施し、プラセボを置くことにより試験食品のミネラル吸収率の相対的な評価を行うことが出来る。これらの報告では、時間毎にカルシウムの安定同位体比を測定し、試験食品摂取時と対照食品摂取時の値を比較したが、本試験においては、試験食品に含まれているミネラル全体の吸収を評価することを目的としたので、合尿（試験食品摂取後 2、4、6、8 時間目尿を混合したもの）で比較を行った。

#### 3.4.2 尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比の関係

尿中排泄総カルシウム量と尿中排泄安定同位体カルシウム比 ( $^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ ) の相関係数は 0.629 であり、中程度の正の相関が得られ、

尿中排泄総マグネシウム量と尿中排泄安定同位体マグネシウム比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ ) の相関係数は 0.465 であり、同様に中程度の正の相関が得られた。尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比に有意な正の相関関係が認められたことから、カルシウム、マグネシウム吸収において尿中排泄総量と尿中排泄安定同位体比は同じ挙動を示しており、同一現象を観察していることが示唆された。ラクチュロースが試験食品中のミネラルの吸収を促進し、試験食品由来のミネラルが血中に多く流れ込むために、血中のミネラル量が上昇し、その結果尿中のミネラル排泄量が増えると共に、試験食品由来の安定同位体比が高まるという現象を明確に反映していた。上西らの報告においても、尿中排泄総カルシウム量と尿中排泄安定同位体比は同様な正の相関を示している<sup>5)</sup>。

#### 3.4.3 休止期間

安定同位体を用いる試験において、一旦体内に取り込まれた安定同位体が排泄され、尿中の安定同位体比が、同位体摂取前と同じ値になることから、次の試験を行うことが望ましい。安定同位体を用いてカルシウム吸収を評価している文献<sup>5,6)</sup>においては、6日ないし7日間を休止期間に設定していた。我々はそれらを参考にして、本試験の休止期間を2週間に設定した。試験食品摂取直前の尿中安定同位体対比について、各期毎に対応のあるt検定を行った。カルシウムにおいては、時期間に有意差は認められなかったが、マグネシウムに関しては1期-2期、1期-3期、2期-3期間全てにおいて有意差が認められ ( $p < 0.001$ )、試験実施が遅くなるにつれ、安定同位体比 ( $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ ) が高くなった。2週間の休止期間では、尿中安定同位体マグネシウム比が、試験前の値に戻っていないことが示唆された。安定同位体を用いたミネラル吸収評価において、カ

ルシウムとマグネシウムで、必要とされる休止期間の長さが大きく異なることを表し、マグネシウムの安定同位体を用いる試験においては、2週間以上の休止期間を設けることが望ましいことが判明した。尚、本試験の解析においては、摂取直前値が異なることに起因するバイアスを避けるため、摂取直前の安定同位体比を共変量とした解析を行った。また、ビタミン D のベースの値に差があったため、血中ビタミン D 濃度を考慮して統計処理を行ったが、血中ビタミン D 濃度は結果に影響を与えなかった。

#### 3.4.4 尿採取時間の評価

最終採尿時間は、試験食品に含まれるカルシウム、マグネシウムの腸管における吸収、尿中への排泄が完了していることが望ましい。第2章で示した臨床試験（試験 I）と同様に、採尿時間を試験食品摂取後8時間に設定したが、試験 I 時と同様に試験食品摂取後8時間目の尿において、ミネラル/クレアチニン比は、試験食品摂取直後の値とほぼ同じ値を示していた。試験食品摂取後の尿採取時間の設定は適切であった。

### 3.4.5 試験 I との比較

試験 II の結果を第 2 章に記述した試験 I の結果と比較した（表 3-18、-19）。

表 3-19 尿中排泄総カルシウム・マグネシウム量の比較<sup>1</sup>

	ラクチュロース 量(g)	付加量(mg)		尿中排泄総 Ca 量(mg) <sup>2</sup>	尿中排泄総 Mg 量(mg) <sup>2</sup>
		Ca	Mg		
試 験 I <sup>3</sup>	0			55.45±3.80	34.00±2.19
	2	300	150	61.56±3.80	35.91±2.19
	5			64.84±3.80	39.48±2.19
試 験 II <sup>3</sup>	0			68.23±5.28	39.85±1.72
	2	300	150	71.67±5.28	41.42±1.72
	4			75.46±5.30	41.61±1.74

<sup>1</sup>表 2-9、表 2-10、表 3-11、表 3-12 より一部再掲

<sup>2</sup>最小二乗平均値±標準誤差

<sup>3</sup>試験 I：第 2 章試験、試験 II：第 3 章試験

表 3-20 尿中排泄総カルシウム・マグネシウム増加量の比較<sup>1</sup>

	ラクチュロー ス量(g)	Ca プラセボとの差 <sup>2</sup>	p 値	Mg プラセボとの差 <sup>2</sup>	p 値
試験 I <sup>3</sup>	低用量(2g)	6.11±2.66	<b>0.048</b>	1.91±1.80	0.470
	高用量(5g)	9.38±2.66	<b>0.002</b>	5.48±1.80	<b>0.008</b>
試験 II <sup>3</sup>	低用量(2g)	3.45±2.65	0.334	1.57±1.36	0.412
	高用量(4g)	7.23±2.70	<b>0.020</b>	1.76±1.38	0.345

<sup>1</sup>表 2-9、表 2-10、表 3-11、表 3-12 より一部再掲

<sup>2</sup>推定値±標準誤差 (mg)

<sup>3</sup>試験 I : 第 2 章試験、試験 II : 第 3 章試験

本試験（試験 II）では、尿中排泄総カルシウム、マグネシウム量は、試験 I に比べてカルシウムはおよそ 25%、マグネシウムはおよそ 15% 高値を示した。尿中排泄総カルシウム、マグネシウムの量の違いは個人差に起因していると考えられる。また、プラセボとの差については、ラクチュロースの摂取量について、試験 I の高用量（5g）、試験 II（4g）を考慮しても、試験 II における差の方が若干小さい値を示したが、差が逆転するなどの変化はなく、差の標準誤差などから判断しても両試験結果に大きな差はなく、試験結果の再現性が確認された。

#### 3.4.6 今後の課題

ラクチュロース 2g ないし 4g とカルシウム 300mg、マグネシウム 150mg の組み合わせによって、ラクチュロースがカルシウム、マグネシウムの吸収促進することを確認出来た。しかしながら、本結果は限られた条件下による試験結果である。主たるカルシウム源であるミルクカルシウムアラミン 998 は、チーズ製造時の副生成物であるホエイから得られたカルシウムであり、リン酸カルシウムが主であると考えられる<sup>66)</sup>。また、マグネシウム源は、酸化マグネシウムである。リン酸カルシウムと酸化マグネシウムの水に対する溶解度は、それぞれ 2.5mg/100g<sup>76)</sup>と 0.62mg/100g<sup>77)</sup>であり、溶解度の低い塩と言える。溶解度の高いカルシウム塩、マグネシウム塩を用いた際にも、ラクチュロースの効果は維持されるかという点は不明である。また、ラクチュロース量が低用量 (2g) よりも、高用量 (4g) の方がミネラル吸収促進効果が高かったことに関して、カルシウム、マグネシウムとラクチュロースの比が効果に支配的なのか、ラクチュロースの絶対量が効果に支配的なのかについては、今後の課題であると考えられる。

### 3.5 結語

第2章において示唆されたラクチュロースのカルシウム、マグネシウムの吸収促進効果について、被験者にミネラルの安定同位体の割合を高めた試験食品を摂取させた後、尿中の安定同位体比を測定するシングルアイソトープ法により、ラクチュロースのミネラル吸収促進効果を直接的に確認することを試みた。カルシウム、マグネシウム共に、ラクチュロース摂取量に依存して、尿中の安定同位体比は上昇し、カルシウムに関してはラクチュロースの高用量（4g）において、マグネシウムに関しては高用量（4g）、低用量（2g）において、プラセボに比較してその上昇は有意であった。また、尿中排泄総ミネラル量と尿中の安定同位体比は、正の相関関係が認められ、尿中排泄総ミネラル量増加と尿中の安定同位体比上昇が同時に発生していた。以上の結果より、ラクチュロース摂取により引き起こされる尿中へのカルシウム、マグネシウムの排泄量の増加は、骨吸収や腎臓への影響ではなく、試験食品中のカルシウム、マグネシウムの吸収が促進された結果であることを確認出来たと考える。

## 第4章 ラクチュロース、カルシウム、マグネシウム顆粒の体組成に対する長期摂取試験

### 4.1 緒言

メタボリックシンドロームとはインスリン抵抗性、動脈硬化惹起性リポ蛋白異常、血圧高値を個人に合併する心血管病易発生状態である<sup>24)</sup>。診断基準検討委員会では、メタボリックシンドロームを内臓脂肪蓄積(ウエスト周囲径の増大で示される) +2 つ以上の co-morbidity と定義することで合意が得られている<sup>24)</sup>。「平成 23 年 国民健康・栄養調査」によれば、「40～74 歳では男性の約 2 人に 1 人、女性の 5 人に 1 人が、メタボリックシンドロームが強く疑われる者又は予備群と考えられる者」とされており<sup>2)</sup>、「健康日本 21」においても「メタボリックシンドロームの該当者・予備群の減少」が目標の 1 つとされている。現在、世界中でメタボリックシンドロームに関する研究が行われている<sup>78,79)</sup>。

カルシウムはメタボリックシンドロームに連なる腹部脂肪の蓄積を防ぐ／減らす候補素材の 1 つである<sup>25,26)</sup>が、効果は無いという報告もあり<sup>20)</sup>、一定の見解は得られていない。カルシウムの体脂肪への影響に関する臨床試験は、主に西洋諸国で実施されており、日本人を被験者としたカルシウム摂取による体脂肪への影響を調べた報告はほとんど無い。西洋諸国と日本ではカルシウムの摂取量が大きく異なるため、西洋人を被験者とした臨床試験結果が、日本人で再現される保証はない。また、カルシウムの体脂肪低減効果に関する介入試験において、西洋諸国で成人を対象とした場合、カルシウム付加量は、1 日あたり 0.8g～2g であった<sup>80,81)</sup>。日本人の成人のカルシウム耐容上限量は、1 日あたり 2.3g と定められており<sup>1)</sup>、西洋諸国で実施された 0.8g～2g のカルシウム付加量は、

食事由来のカルシウム量を考慮すると、日本人の耐容上限量を超える恐れがある。そのため、日本人を被験者としたカルシウム付加試験においては、西洋諸国における付加量よりもカルシウム付加量を減量する必要がある。

カルシウムの体脂肪蓄積への影響の作用機序の1つとして、細胞内カルシウム濃度変化が、脂肪細胞における脂肪の同化、異化に影響を与えるという仮説がある<sup>82)</sup>。マグネシウムは、カルシウムと拮抗作用を示すことが知られており、マグネシウム欠乏により細胞内カルシウム濃度が上昇すると考えられている<sup>27)</sup>。そのため、マグネシウム摂取量は、カルシウムの体脂肪減少効果に影響を与える可能性がある。

ラクチュロースのカルシウム、マグネシウム吸収促進効果に関して、日本人において効果があること、ラクチュロースの副作用がないことを第2章、第3章に記載した臨床試験により確認した。

メタボリックシンドロームは、前述のとおり内臓脂肪の蓄積がその成因基盤と言われている<sup>24,79)</sup>。女性は閉経前において皮下脂肪蓄積が多いが、閉経後において内臓脂肪蓄積が増加する<sup>83,84)</sup>。カルシウム、マグネシウムとその吸収を高めるラクチュロースの摂取は、閉経期の女性の体脂肪量の増加防止、低減が期待される。また、閉経後には骨量が減少し、骨粗鬆症の有病率も60歳以上の女性において急増することが知られている<sup>85)</sup>。ラクチュロース、カルシウム、マグネシウムの摂取は、体脂肪低減だけでなく、骨密度の減少を緩和するなどの効果も期待される。

そこで、ラクチュロース 4g、カルシウム 300mg、マグネシウム 150mg になるよう配合した顆粒の長期間摂取による体組成への影響を、中年女性を対象とした12ヶ月間のランダム化無処置対照並行群間比較試験により確認することとした。

本試験において全身体脂肪量と全身骨密度を DXA (Dual-energy X-ray Absorption) 法により測定した。

なお、ラクチュロース、ミルクカルシウム、酸化マグネシウムを単純に混合しただけでは、保管中に速やかに色が茶色に変化してしまうので、長期試験には不適である。エタノールを用いた湿式の押し出し造粒法により調製した顆粒は、色の変化速度が大幅に遅くなることを見出されており<sup>86)</sup>、その知見を用いて長期試験に適した顆粒を調製し、試験食品とした。

## 4.2 試験方法

### 4.2.1 試験の倫理的実施

本試験は森永乳業株式会社食品効用開発審査委員会および香川栄養学園実験研究に関する医学倫理委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言の精神に則り実施された。試験の実施に先立ち、本試験への参加希望者に対し同意説明文書に基づいて十分に説明し、本試験への参加について本人の自由意思による同意を文書により得た。

### 4.2.2 被験者

#### 4.2.2.1 被験者募集

女子栄養大学の職員および、在籍する学生の母親および親族を対象に、試験参加を希望した健常な女性ボランティアを対象として行った。同意取得後、スクリーニング検査を実施し、以下の選択基準に合致し、除外基準に抵触しない者を被験者として登録した。

#### 4.2.2.2 選択基準

年齢 35 歳以上 65 歳以下の女性

#### 4.2.2.3 除外基準

- ①重篤な肝障害、腎障害、心血管障害、呼吸器障害、内分泌障害、代謝障害、食物アレルギー疾患に罹患している者
- ②骨代謝疾患に罹患している者、骨代謝が異常な者
- ③血中カルシウム、マグネシウム濃度が異常な者
- ④体脂肪率に著しい影響を与える治療を受けている者もしくは薬剤（女性ホルモン、ステロイドホルモン、甲状腺ホルモン、脂肪低下剤、抗てんかん薬、骨粗鬆症治療剤、ビタミン D 製剤、ビタミン K 製剤など）を服用している者

- ⑤乳製品アレルギーの既往歴のある者および乳製品により下痢をおこす者
- ⑥カルシウムもしくはマグネシウム含有サプリメントを常食している者
- ⑦難消化性オリゴ糖を常食している者
- ⑧妊婦および授乳婦
- ⑨その他試験責任医師が不相当と判断した者

#### 4.2.2.4 目標登録症例数

試験食品摂取群 50 例、対照群 30 例、計 80 例

#### 4.2.3 被験者への同意取得

##### 4.2.3.1 被験者への説明事項

以下の事項を記載した同意説明文書・同意書を作成した。

- ①試験の目的、意義について
- ②試験の方法について
- ③試験食品について
- ④参加予定期間と予定参加者数
- ⑤予期される危険性について
- ⑥体調の変化に対する対応
- ⑦自由意思に基づく参加であること
- ⑧本試験への参加に同意した場合でも、随時これを撤回出来ること
- ⑨本試験への参加に同意しない場合、また随時参加を撤回しても、不利益を受けないこと
- ⑩個人情報には十分に保護されていること
- ⑪試験結果の学会報告・論文への利用について

⑫試験に参加することによる利益と不利益について

⑬参加者が守るべき事項

⑭臨床試験の組織について

#### 4.2.3.2 同意の取得方法

試験内容を十分説明した後、本人の自由意思に基づく参加への同意を文書にて取得した。

#### 4.2.4 試験食品

##### 4.2.4.1 試験食品の形態および組成

試験食品は、ラクチュロース粉末（MLC-97、森永乳業社製）、乳清由来のミルクカルシウム（アラミン 998、NZMP 社製）、酸化マグネシウム（酸化マグネシウム、富田製薬株式会社製）を混合し、エタノールをバインダーとして湿式造粒法にて作成した。得られた顆粒をスティック状のアルミニウムラミネート袋に 2.7g 充填した。1 包あたり、ラクチュロース 2.0g、カルシウム 150mg、マグネシウム 75mg を含有している。試験食品の配合表と一般成分組成を表 4-1、4-2 に示した。

表 4-1 試験食品の配合表（1 包当たり）

原料名	配合量
MLC-97(g)	2.04
アラミン 998(g)	0.53
酸化マグネシウム(g)	0.13
合計(g)	2.70

表 4-2 試験食品の一般成分表（1包当たり）

成 分	組 成
たんぱく質(g)	0.1
脂質(g)	0.0
炭水化物(g)	2.0
灰分(g)	0.55
エネルギー(kcal)	4.2
カルシウム(mg)	150
マグネシウム(mg)	75

#### 4.2.4.2 摂取方法

摂取群には試験食品を1日2回朝食時および夕食時に各1包摂取させ、対照群には、試験食品を摂取させなかった。試験食品の摂取方法については特に指定せず、被験者が自由に選択出来る旨を伝えた。

#### 4.2.5 試験デザイン

試験デザインは、ランダム化無処置対照並行群間比較試験とした。閉経前後を層とした層化置換ブロック法により、摂取群と対照群にランダムに割付けた。試験期間が12ヶ月間と長期であり、摂取群のコンプライアンスが低下することが予想されたため、割付比率は、摂取群2：対照群1とした。表4-3のスケジュールに従って実施した。

##### 4.2.5.1 群の構成

対照群：試験食品を摂取させなかった。

摂取群：試験食品を1日2包摂取させた。



## 4.2.6 検査

### 4.2.6.1 検査実施場所

試験開始前、6ヶ月後、12ヶ月後に、女子栄養大学坂戸キャンパス「生活習慣病研究センター」にて検査および診察を実施した。

### 4.2.6.2 体脂肪

骨密度測定装置（PRODIGY、GEヘルスケア社製）を用いてDXA法により、全身の体脂肪量を測定した。体脂肪量を体重で除した値を体脂肪率とした。体重より体脂肪量を引いたものを除脂肪体重とした。

### 4.2.6.3 身体計測

体重はInBody720（株式会社バイオスペース製）で測定した。身長は、身長計で、ウエスト周囲径はメジャーを用いて測定した。

### 4.2.6.4 骨密度

骨密度測定装置（PRODIGY、GEヘルスケア社製）を用いてDXA法により、全身の骨密度を測定した。

### 4.2.6.5 ホルモン

血中のintact-PTH、レプチン、アディポネクチン、インスリンを株式会社エスアールエルにて測定した。

### 4.2.6.6 臨床検査

表 4-4 に示す項目を株式会社エスアールエルにて測定した。

表 4-4 検査項目

血液	白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット(Ht)、血小板数(Platelet)、総たんぱく質(TP)、アルブミン(ALB)、総ビリルビン(Bil)、AST(GOT)、ALT(GPT)、 $\gamma$ -GTP、ALP、LDH、中性脂肪(TG)、総コレステロール(TCho)、HDL-コレステロール(HDL)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cre)、空腹時血糖(FBS)、アミラーゼ(AMY)、 $1\alpha,25(-OH)_2$ ビタミン D、Na、K、Cl、Ca、Mg、Fe、P、尿酸、HbA1c
尿	クレアチニン、Ca、Mg、P

#### 4.2.6.7 食事調査

食物摂取頻度調査票<sup>87)</sup>を用いて、エネルギー、たんぱく質、脂質、炭水化物、ナトリウム、カルシウム、鉄、ビタミン A、ビタミン D、ビタミン K の摂取量を算出した。

#### 4.2.6.8 日誌調査

試験食品摂取数（摂取群のみ）、試験期間中に受けた治療、使用した薬剤、サプリメント、発現した有害事象を被験者本人に日誌記載させることにより調査した。

#### 4.2.7 評価項目

##### 4.2.7.1 主要評価項目

①体脂肪量、②体脂肪率

##### 4.2.7.2 副次的評価項目

①体重、②BMI、③ウエスト周囲径、④除脂肪体重、⑤総骨密度

#### 4.2.8 安全性

診察・問診、被験者日誌の有害事象の記録および臨床検査値から有害事象の発現を確認した。有害事象の症状の程度および因果関係は、「NCI-CTCAE Version 3.0,有害事象共通用語規準 Ver.3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版」に従い評価した。

#### 4.2.9 統計解析

##### 4.2.9.1 解析対象集団

###### ①有効性の解析対象集団

選択基準に該当し、除外基準に抵触せず、以下の重大な試験実施計画書違反がない症例とした。

- 1) 同意取得違反
- 2) 67%未満の摂取率（摂取群のみ）
- 3) 骨代謝疾患に関する治療を受けた者
- 4) 試験期間の半分以上の期間で併用治療、併用薬剤の有無が確認出来なかった者

###### ②安全性の解析対象集団

登録された全症例とした。

##### 4.2.9.2 被験者背景

被験者背景の群間での集計を行い、データの特性に応じて、分類データには Pearson  $\chi^2$  検定、計量値データには t 検定の p 値を算出した。

##### 4.2.9.3 評価項目の解析

12ヶ月後もしくは6ヶ月後の値を応答変数とし、試験食品を処置効果、摂取前値を共変量とした共分散分析を実施し、処置効果の検定を行った。有意水準は両側 5%とした。

#### 4.2.9.4 安全性の解析

有害事象の一覧表を作成した。また、群別に有害事象の発現率を算出した。発現率は Pearson  $\chi^2$  検定を用いて検定を行った。副作用の一覧表を作成し、発現率を算出した。有意水準は両側 5%とした。

#### 4.2.9.5 解析ソフトウェア

解析ソフトウェアは、SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。

## 4.3 結果

### 4.3.1 被験者

#### 4.3.1.1 登録症例数

摂取群 48 例、対照群 28 例であった。目標症例数である摂取群 50 例、対照群 30 例をほぼ満たした。

#### 4.3.1.2 症例の内訳

症例の内訳を図 4-1 に示した。

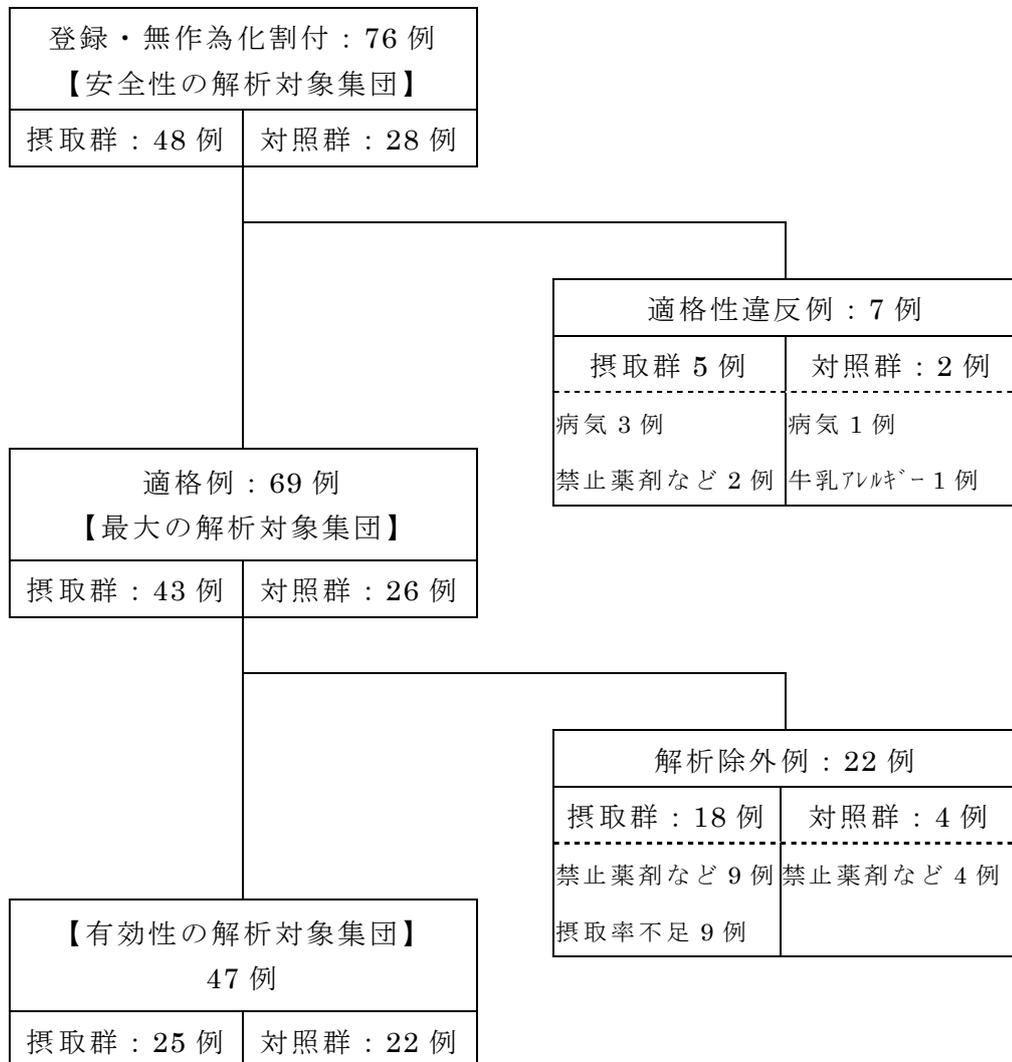


図 4-1 症例の内訳

#### 4.3.1.3 中止・脱落

摂取群の 1 例が、試験期間中に同意を撤回し、脱落した。

#### 4.3.1.4 適格性違反例および解析除外例

適格性違反例が摂取群 5 例（病気 3 例、禁止サプリメント服用 2 例）、対照群 2 例（病気 1 例、牛乳アレルギー 1 例）であった。解析除外例が摂取群 18 例、対照群 4 例であった。解析除外例の内訳は、使用禁止治療、医薬品、健康食品に違反した症例が、摂取群 9 例、対照群 4 例、摂取率が 67%未満の症例が摂取群 9 例であった。

#### 4.3.1.5 解析対象集団

登録された全症例 76 例を安全性の解析対象集団とした。全症例から、適格性違反例 7 例および解析除外例 22 例を除いた 47 例を有効性の解析対象集団とした。

#### 4.3.2 被験者背景

有効性解析対象集団の被験者背景を表 4-5 に示した。年齢と NT x /Cre を除き、被験者背景に不均衡は認められなかった。

表 4-5 被験者背景<sup>1</sup>

背景因子	摂取群 (n=25)	対照群 (n=22)	p 値 <sup>2</sup>
年齢(歳)	48.8±2.7	46.2±6.0	0.056
閉経(閉経前 : 閉経後)	19:6	17:5	0.918
身長(cm)	158.4±5.5	158.4±3.5	0.970
体重(kg)	56.4±10.6	54.1±5.7	0.375
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	22.4±3.4	21.6±2.1	0.324
ウエスト周囲径(cm)	82.5±9.9	80.7±6.2	0.478
体脂肪率(%)	31.0±8.3	30.5±5.4	0.810
体脂肪量(kg)	18.2±8.0	16.7±4.2	0.431
総骨密度	1.12±0.09	1.10±0.10	0.421
NT x /Cre (対数変換値)	1.525±0.234 [33.5]	1.632±0.201 [42.9]	0.101
DPD/Cre (対数変換値)	0.814±0.160 [6.52]	0.825±0.117 [6.68]	0.783
運動習慣(有 : 無)	11:13	8:12	0.697

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差

<sup>2</sup> 検定方法：計量データは t 検定、分類データは Pearson  $\chi^2$  検定

[ ]内は平均値の実測値換算値

### 4.3.3 試験食品摂取率

摂取群の試験食品摂取率を表 4-6 に示した。平均値 88.3%、最小値 67.8%、中央値 88.7%、最大値 99.5%であり、コンプライアンスは良好であった。

表 4-6 試験食品摂取率

群	n	平均値	標準偏差	最小値	中央値	最大値
摂取群	25	88.3	8.5	67.8	88.7	99.5

単位 (%)

#### 4.3.4 食事摂取量

食事摂取量を表 4-7 に示した。6 ヶ月後において、摂取群のエネルギーが対照群に比べて有意に多かった。炭水化物の摂取量は全期間を通じて、摂取群の方が多かった。その他の摂取量は、全時点において摂取群、対照群に有意差は認められなかった。

対照群の 6 ヶ月目のビタミンK摂取量が、試験開始時に比べて群内変化が有意 ( $p<0.01$ ) に少なかった。その他の項目においては、有意な群内変化は認められなかった。

表 4-7 食事摂取量<sup>1</sup>

項目	群	試験開始時	6 ヶ月後	12 ヶ月後
エネルギー (kcal/d)	摂取群	1726±272 [25]	1712±220 [25]*	1726±248 [25]
	対照群	1591±237 [22]	1575±209 [22]	1640±273 [22]
たんぱく質 (g/d)	摂取群	71.4±13.3 [25]	72.5±11.6 [25]	70.9±13.2 [25]
	対照群	71.8±13.7 [22]	70.6±15.0 [22]	74.9±15.9 [22]
脂質 (g/d)	摂取群	63.2±14.6 [25]	64.0±11.1 [25]	61.5±13.0 [25]
	対照群	60.6±14.6 [22]	61.0±15.5 [22]	62.3±14.0 [22]
炭水化物 (g/d)	摂取群	222±43 [25]**	216±40 [25]**	227±40 [25]*
	対照群	194±23 [22]	190±22 [22]	199±32 [22]
NaCl (g/d)	摂取群	10.3±1.7 [25]	10.3±1.6 [25]	10.6±1.9 [25]
	対照群	9.7±2.0 [22]	9.6±1.6 [22]	9.7±1.4 [22]

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差 []: 例数 群間差: \*  $p<0.05$ 、\*\*  $p<0.01$

試験開始時からの群内変化: #  $p<0.05$ 、##  $p<0.01$

表 4-7 食事摂取量<sup>1</sup> (続き)

項目	群	試験開始時	6ヶ月後	12ヶ月後
Ca (mg/d)	摂取群	516±199 [25]	524±167 [25]	521±165 [25]
	対照群	480±129 [22]	492±125 [22]	489±120 [22]
Fe (mg/d)	摂取群	7.6±1.9 [25]	7.5±1.8 [25]	7.9±2.4 [25]
	対照群	8.1±1.8 [22]	8.0±2.1 [22]	8.0±1.7 [22]
ビタミン A (µg/d)	摂取群	750±295 [25]	786±288 [25]	831±415 [25]
	対照群	934±334 [22]	965±608 [22]	977±552 [22]
ビタミン D (µg/d)	摂取群	10.2±1.9 [25]	10.4±2.6 [25]	10.2±2.0 [25]
	対照群	10.4±2.2 [22]	10.4±2.0 [22]	10.6±1.7 [22]
ビタミン K (µg/d)	摂取群	266±145 [25]	276±162 [25]	273±149 [25]
	対照群	241±93 [22]	208±84 [22]##	232±128 [22]

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差 [] : 例数 群間差 : \* p<0.05、\*\* p<0.01

試験開始時からの群内変化 : # p<0.05、## p<0.01

#### 4.3.5 主要評価項目

##### 4.3.5.1 体脂肪量および体脂肪率の解析結果

体脂肪量および体脂肪率の変化量の共分散分析の結果を表 4-8 に示した。体脂肪量の 12 ヶ月後に有意な ( $p=0.046$ ) 群間差が認められた。群間差 (摂取群 - 対照群) の推定値は、 $-0.77\text{kg}$  (95%信頼区間:  $-1.52 \sim -0.01\text{kg}$ ) であった。体脂肪率の 12 ヶ月の最小二乗平均値は、対照群に比べて摂取群が  $0.97\%$ 低い値であったが、有意差は認められなかった ( $p=0.09$ )。

表 4-8 体脂肪に関する解析結果

項目	期間 (月)	群	n	最小二乗 平均値	標準誤差	群間差	95%CI <sup>1</sup>	p 値
体脂肪量 (kg)	12m	摂取群	24	-1.21	0.25	-0.77	-1.52	<b>0.046</b>
		対照群	20	-0.44	0.27		-0.01	
	6m	摂取群	25	-0.95	0.27	-0.14	-0.97	0.726
		対照群	20	-0.81	0.30		0.68	
体脂肪率 (%)	12m	摂取群	25	-1.86	0.37	-0.97	-2.09	0.090
		対照群	20	-0.89	0.42		0.16	
	6m	摂取群	25	-1.61	0.42	-0.09	-1.35	0.887
		対照群	20	-1.52	0.47		1.17	

<sup>1</sup>95%信頼区間

#### 4.3.5.2 体脂肪量および体脂肪率の経時変化

体脂肪量、体脂肪率の経時変化を表 4-9 に示した。摂取群の体脂肪量において、6 ヶ月後および 12 ヶ月後の体脂肪量が試験開始時に比べて有意に減少していた。対照群の体脂肪量は、6 ヶ月後のみが試験開始時に比べて有意に減少していたが、12 ヶ月後の値では有意な減少は認められなかった。体脂肪率においては、摂取群、対照群の 6 ヶ月後、12 ヶ月後共に試験開始時に比べて有意な減少を示した。

表 4-9 体脂肪量および体脂肪率<sup>1</sup>

項目	群	試験開始時	6 ヶ月後	12 ヶ月後
体脂肪量 (kg)	摂取群	18.19±7.96 [25]	17.22±7.78 [25]##	16.74±7.34 [24]##
	対照群	16.71±4.25 [20]	15.82±4.22 [22]#	16.14±4.34 [22]
体脂肪率 (%)	摂取群	30.99±8.29 [25]	29.37±8.43 [25]##	29.12±8.01 [25]##
	対照群	30.47±5.39 [20]	28.80±5.30 [22]##	29.35±5.50 [22]#

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差 []: 例数 試験開始時からの変化: # p<0.05、## p<0.01

#### 4.3.5.3 背景による調整解析

12 ヶ月後の体脂肪量変化量を応答変数とし、処置群、背景因子および処置×背景交互作用項を説明変数とした調整解析を行った。

γ-GTP のみが有意な背景因子であり、背景で不均衡が認められた年齢と NTx/Cre は有意でなかったことから、年齢と NTx/Cre の不均衡に起因する効果の推定値にバイアスがなかった。

処置×体脂肪量前値の交互作用が有意となった。体脂肪量前値と体脂肪量の 12 ヶ月間の変化量の交互プロットを図 4-2 に示した。体脂肪量の前値が高い程、一年間の体脂肪量が減る量が多いことを示しており、試験食品による体脂肪低減効果は、体脂肪量の多い場合に強い効果を示

すことが示唆された。

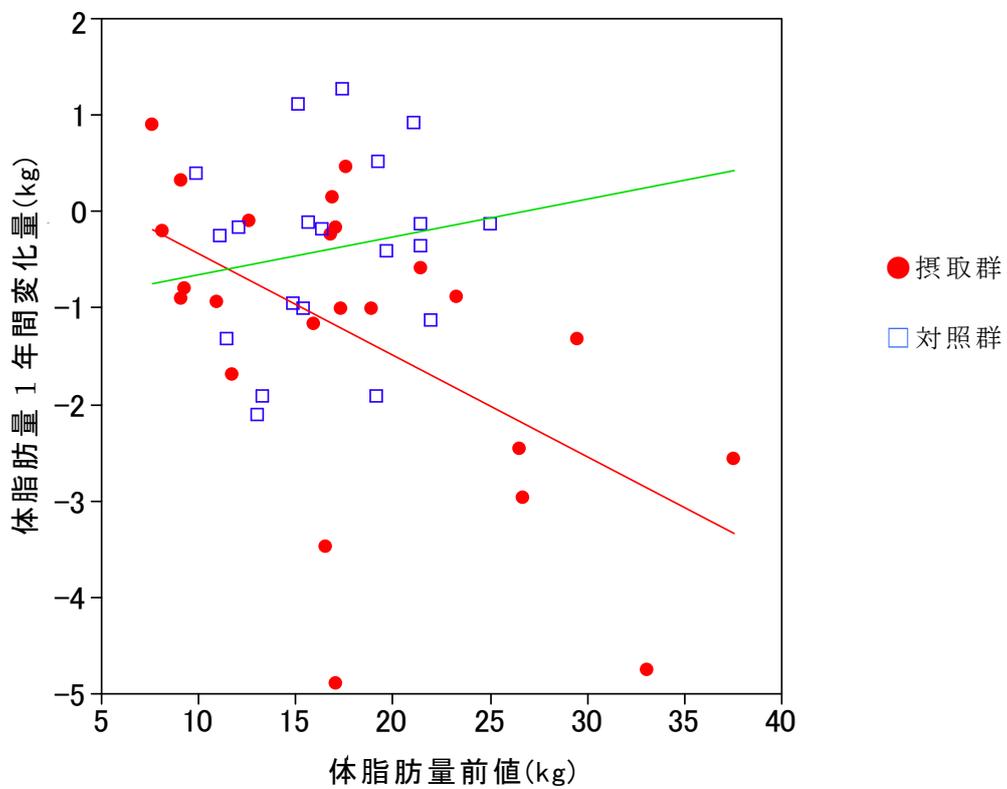


図 4-2 体脂肪量前値と体脂肪量の 12 ヶ月間の変化量の交互プロット

#### 4.3.6 副次的評価項目

##### 4.3.6.1 身体計測および総骨密度

身体計測および総骨密度の測定値の共分散分析の結果を表 4-10 に示した。除脂肪体重の 12 ヶ月後に有意な ( $p=0.036$ ) 群間差が認められた。群間差 (摂取群 - 対照群) の推定値は、 $0.6\text{kg}$  (95%信頼区間:  $0.0\sim 1.2\text{kg}$ ) であった。体重、BMI、ウエスト周囲径および総骨密度において、全ての時点で有意な群間差は認められなかった。

表 4-10 身体計測および総骨密度に関する解析結果

項目	期間 (月)	群	n	最小二乗 平均値	標準誤差	群間差	95%CI <sup>1</sup>	p 値
体重 (kg)	12m	摂取群	24	55.13	0.25	-0.21	-0.96	0.583
		対照群	21	55.34	0.27		0.55	
	6m	摂取群	25	55.24	0.30	-0.27	-1.16	0.554
		対照群	21	55.51	0.33		0.63	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	12m	摂取群	24	21.99	0.10	-0.02	-0.32	0.915
		対照群	21	22.01	0.11		0.28	
	6m	摂取群	25	22.02	0.12	-0.05	-0.40	0.801
		対照群	21	22.06	0.13		0.31	
ウエスト 周囲径 (cm)	12m	摂取群	24	79.12	0.49	-0.12	-1.56	0.865
		対照群	21	79.24	0.52		1.32	
	6m	摂取群	25	79.69	0.53	-0.20	-1.79	0.803
		対照群	21	79.88	0.58		1.39	
除脂肪体 重(kg)	12m	摂取群	24	39.01	0.19	0.61	0.04	0.036
		対照群	20	38.41	0.21		1.17	
	6m	摂取群	25	38.76	0.22	0.02	-0.59	0.944
		対照群	20	38.74	0.20		0.63	
総骨密度 (g/cm <sup>2</sup> )	12m	摂取群	25	1.114	0.005	-0.005	-0.02	0.537
		対照群	20	1.118	0.006		0.01	
	6m	摂取群	25	1.103	0.005	-0.008	-0.023	0.320
		対照群	20	1.110	0.006		0.008	

<sup>1</sup>95%信頼区間

#### 4.3.6.2 身体計測および総骨密度の経時変化

身体計測および総骨密度の経時変化を表 4-11 に示した。摂取群、対照群共に体重、BMI、総骨密度において、経時的な変化は認められなかった。ウエスト周囲径に関して、摂取群、対照群の 6 ヶ月後、12 ヶ月後で、試験開始時に比べて有意な減少が認められた。

表 4-11 身体計測および総骨密度<sup>1</sup>

項目	群	試験開始時	6 ヶ月後	12 ヶ月後
体重 (kg)	摂取群	56.43 ± 10.56 [25]	56.28 ± 10.41 [25]	56.02 ± 10.03 [24]
	対照群	54.12 ± 5.65 [21]	54.23 ± 5.93 [22]	54.31 ± 5.82 [22]
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	摂取群	22.41 ± 3.45 [25]	22.41 ± 3.42 [25]	22.33 ± 3.22 [24]
	対照群	21.56 ± 2.07 [21]	21.59 ± 2.17 [22]	21.64 ± 2.10 [22]
ウエスト 周囲径 (cm)	摂取群	82.48 ± 9.92 [25]	80.48 ± 10.19 [25]##	79.80 ± 9.97 [24]##
	対照群	80.70 ± 6.18 [21]	78.85 ± 6.00 [22]#	78.45 ± 5.98 [21]##
除脂肪体重 (kg)	摂取群	38.24 ± 3.82 [25]	39.06 ± 4.01 [25]##	39.28 ± 4.22 [24]##
	対照群	37.55 ± 3.20 [20]	38.41 ± 3.16 [22]##	38.17 ± 3.06 [22]#
総骨密度 (g/cm <sup>2</sup> )	摂取群	1.122 ± 0.093 [25]	1.113 ± 0.092 [25]	1.124 ± 0.093 [25]
	対照群	1.099 ± 0.097 [20]	1.106 ± 0.101 [22]	1.115 ± 0.102 [22]

<sup>1</sup> 平均値 ± 標準偏差 [] : 例数 試験開始時からの変化 : # p<0.05、## p<0.01

#### 4.3.7 安全性の評価

##### 4.3.7.1 解析したデータセット

登録された全症例を対象とした。

##### 4.3.7.2 有害事象の表示

有害事象の発現人数、発現件数、発現率（頻度；人/人）を表 4-12 に示した。摂取群で 25 例中 22 例（発現率 88%）362 件、対照群では 22 例中 20 例（発現率 91%）358 件の有害事象が発現した。

##### 4.3.7.3 副作用の表示

副作用の発現人数、発現件数、発現率（頻度；人/人）を表 4-13 に示した。摂取群で 25 例中 2 例（発現率 8%）2 件、対照群では 22 例中 3 例（発現率 14%）3 件の副作用が発現した。

##### 4.3.7.4 有害事象の分析

有害事象および副作用の発生率について Fisher の直接確率計算法により検定を行ったところ、いずれも有意ではなかった。

表 4-12 有害事象の発現人数、発現件数および発現率

群	人数	発現人数	発現件数	発現率(%)	p 値
摂取群	25	22	362	88	0.747
対照群	22	20	358	91	

発現率 = 発現人数 / 人数

表 4-13 副作用の発現人数、発現件数および発現率

群	人数	発現人数	発現件数	発現率 <sup>1</sup> (%)	p 値
摂取群	25	2	2	8	0.532
対照群	22	3	3	14	

<sup>1</sup>発現率 = 発現人数 / 人数

対照群は、試験参加との因果関係が否定出来ないものを副作用とした。

#### 4.3.7.5 副作用の一覧表

摂取群の副作用の一覧表を表 4-14 に、対照群の一覧表を表 4-15 に示した。発現した副作用は、下痢 1 例（摂取群 1 例）、頭痛 3 例（対照群 3 例）、疲労 1 例（摂取群 1 例）であった。下痢については、試験食品に含まれるラクチュロースおよび酸化マグネシウムに由来する下痢と考えられた。頭痛および疲労については、試験への参加に伴う試験食品の摂取、日誌記載によるストレスに起因すると推察された。

表 4-14 副作用の一覧表（摂取群）

ID	群	事象名	Grade	転帰	発生日	転帰日
91	摂取群	下痢(22 日)	1	回復	2006/12/3	2007/9/14
114	摂取群	疲労(28 日)	1	回復	2006/12/26	2007/10/18

表 4-15 副作用の一覧表（対照群）

ID	群	事象名	Grade	転帰	発生日	転帰日
116	対照群	頭痛(27 日)	1	回復	2006/11/18	2007/12/2
149	対照群	頭痛(34 日)	1	回復	2006/12/20	2007/11/29
152	対照群	頭痛(34 日)	1	回復	2006/12/1	2007/11/27

#### 4.3.8 臨床検査値

##### 4.3.8.1 カルシウム代謝、体脂肪量に関連するホルモン類

カルシウム代謝、体脂肪量に関連するホルモン類について、試験期間中の各時点の群ごとの平均値および標準偏差を表 4-16 に示した。有意 ( $p<0.05$ ) な群間差が認められた項目はなかった。試験開始時からの群内変化は、対照群と摂取群の 12 ヶ月後のビタミン D、対照群の 6 ヶ月後、12 ヶ月後の PTH であった。摂取群、対照群は同じ方向への変化であった。

表 4-16 ホルモン類<sup>1</sup>

項目	群	試験開始時	6 ヶ月後	12 ヶ月後
1 $\alpha$ ,25(-OH) <sub>2</sub> ビタミン D (pg/mL)	摂取群	48.55±16.56 [25]	49.41±16.46 [25]	45.48±9.42 [25]
	対照群	61.38±17.66 [22]	59.78±19.65 [22]	54.47±15.02 [22]#
intact-PTH <sup>2</sup> (pg/mL)	摂取群	38.6±9.3 [25]	42.4±13.4 [25]	49.8±15.8 [25]##
	対照群	38.0±11.1 [22]	44.4±11.5 [22]##	50.6±14.8 [22]##
レプチン <sup>2</sup> (ng/mL)	摂取群	8.68±6.95 [25]	8.90±6.61 [25]	8.14±5.93 [25]
	対照群	6.88±3.93 [22]	7.29±3.88 [22]	7.10±4.59 [22]
アディポネ クチン <sup>2</sup> ( $\mu$ g/mL)	摂取群	13.46±6.63 [25]	13.00±5.23 [25]	14.98±7.46 [25]
	対照群	13.09±5.22 [22]	13.43±5.01 [22]	14.37±5.74 [22]#
インスリン <sup>2</sup> ( $\mu$ IU/mL)	摂取群	5.215±2.797 [25]	4.923±2.629 [25]	4.750±3.019 [25]
	対照群	4.329±1.451 [22]	3.807±1.454 [22]	4.763±1.890 [22]

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差 []: 例数 試験開始時からの変化: #  $p<0.05$ 、##  $p<0.01$

<sup>2</sup> 対数変換後に検定を実施した。

#### 4.3.8.2 血液検査

血液検査値について、試験期間中の各時点の群ごとの平均値および標準偏差を表 4-17 に示した。有意な群間差が認められたのは、Hb、Ht、および塩素の 6 ヶ月後であった。試験開始時からの群内変化が、多くの項目で認められたが、Ht を除いて摂取群、対照群は同じ方向への変化であった。6 ヶ月後の Ht は、摂取群（不変）と対照群（減少）で異なる方向への変化であった。6 ヶ月後で経時変化が認められた項目は、延べ 20 項目であったが、12 ヶ月後で変化が認められた項目は 6 項目と少ないことから、6 ヶ月後の経時変化は、季節変動を反映していると推察された。

表 4-17 血液学的検査値<sup>1</sup>

項目	群	試験開始時	6ヶ月後	12ヶ月後
WBC (/μL)	摂取群	5848±1170 [25]	5424±1251 [25]	5512±1340 [25]
	対照群	5196±1198 [22]	5232±1232 [22]	5391±1190 [22]
RBC (×10 <sup>4</sup> /μL)	摂取群	439±21 [25]	437±23 [25]	438±28 [25]
	対照群	438±30 [22]	429±22 [22]#	436±26 [22]
Hb (g/dL)	摂取群	12.5±1.1 [25]	12.4±1.1 [25]*	12.4±1.4 [25]
	対照群	12.5±1.0 [22]	11.7±1.2 [22]##	12.3±1.0 [22]
Ht (%)	摂取群	39.0±2.6 [25]	39.0±2.8 [25]*	38.7±3.5 [25]
	対照群	38.9±2.7 [22]	37.3±2.9 [22]##	38.6±2.5 [22]
Platelet (×10 <sup>4</sup> /μL)	摂取群	28.5±7.7 [25]	27.0±6.4 [25]	29.1±8.8 [25]
	対照群	25.5±5.6 [22]	25.6±6.5 [22]	27.3±4.5 [22]#
TP (g/dL)	摂取群	7.37±0.35 [25]	7.15±0.38 [25]#	7.34±0.43 [25]
	対照群	7.54±0.43 [22]	7.17±0.30 [22]##	7.47±0.47 [22]
ALB (g/dL)	摂取群	4.31±0.16 [25]	4.28±0.26 [25]	4.30±0.27 [25]
	対照群	4.47±0.20 [22]	4.32±0.17 [22]##	4.45±0.20 [22]
Bil <sup>2</sup> (mg/dL)	摂取群	0.51±0.18 [25]	0.47±0.19 [25]	0.58±0.22 [25]
	対照群	0.50±0.20 [22]	0.51±0.23 [22]	0.59±0.22 [22]#
AST <sup>2</sup> (U/L)	摂取群	19.4±3.9 [25]	18.0±3.7 [25]#	20.8±6.5 [25]
	対照群	19.2±3.7 [22]	18.0±3.5 [22]	19.6±4.1 [22]

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差、<sup>2</sup> 対数変換後に検定を実施 []: 例数 群間差: \* p<0.05、\*\* p<0.01、試験開始時からの群内変化: # p<0.05、## p<0.01

表 4-17 血液学的検査値<sup>1</sup> (続き)

項目	群	試験開始時	6ヶ月後	12ヶ月後
ALT <sup>2</sup> (U/L)	摂取群	16.8±5.5 [25]	14.8±5.2 [25] <sup>#</sup>	19.2±17.9 [25]
	対照群	15.5±3.7 [22]	14.0±5.3 [22] <sup>#</sup>	16.3±4.8 [22]
γ-GTP <sup>2</sup> (U/L)	摂取群	26.6±23.2 [25]	19.2±10.5 [25] <sup>##</sup>	27.0±42.3 [25]
	対照群	19.4±10.5 [22]	17.5±7.1 [22]	19.6±10.4 [22]
ALP <sup>2</sup> (U/L)	摂取群	179.4±59.7 [25]	179.8±66.9 [25]	185.2±70.7 [25]
	対照群	183.9±61.2 [22]	182.0±58.7 [22]	202.7±65.6 [22]
LDH (U/L)	摂取群	172.5±26.1 [25]	164.8±21.2 [25]	170.7±23.7 [25]
	対照群	178.5±27.0 [22]	168.1±24.3 [22] <sup>#</sup>	180.1±31.0 [22]
TG <sup>2</sup> (mg/dL)	摂取群	76.2±26.1 [25]	76.1±28.4 [25]	70.9±24.8 [25]
	対照群	73.4±22.4 [22]	69.9±24.1 [22]	75.5±26.6 [22]
TCho (mg/dL)	摂取群	209.4±35.7 [25]	203.4±37.4 [25]	201.7±26.9 [25]
	対照群	212.2±29.6 [22]	208.0±32.4 [22]	217.0±32.2 [22]
HDL (mg/dL)	摂取群	69.5±18.8 [25]	69.5±17.9 [25]	71.0±17.4 [25]
	対照群	71.8±10.5 [22]	70.8±12.0 [22]	71.8±12.8 [22]
BUN <sup>2</sup> (mg/dL)	摂取群	12.73±2.90 [25]	13.71±3.79 [25]	12.85±3.11 [25]
	対照群	13.31±3.60 [22]	13.60±3.36 [22]	13.47±3.28 [22]
Cre <sup>2</sup> (mg/dL)	摂取群	0.638±0.109 [25]	0.631±0.111 [25]	0.635±0.096 [25]
	対照群	0.621±0.080 [22]	0.605±0.073 [22] <sup>#</sup>	0.600±0.088 [22] <sup>#</sup>

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差、<sup>2</sup> 対数変換後に検定を実施 [] : 例数 群間差 : \* p<0.05、  
\*\* p<0.01、試験開始時からの群内変化 : # p<0.05、## p<0.01

表 4-17 血液学的検査値<sup>1</sup> (続き)

項目	群	試験開始時	6ヶ月後	12ヶ月後
FBS <sup>2</sup> (mg/dL)	摂取群	90.7±8.0 [25]	88.4±8.6 [25]#	89.9±10.4 [25]
	対照群	88.4±6.5 [22]	87.1±6.7 [22]	87.6±8.4 [22]
AMY <sup>2</sup> (U/L)	摂取群	112.4±32.0 [25]	81.5±20.9 [25]##	84.9±20.4 [25]##
	対照群	103.5±35.4 [22]	74.7±24.0 [22]##	78.0±26.0 [22]##
Na (mEq/L)	摂取群	141.4±1.9 [25]	140.6±1.5 [25]#	141.0±2.0 [25]
	対照群	141.0±1.6 [22]	140.6±1.6 [22]	141.2±2.0 [22]
K (mEq/L)	摂取群	4.43±0.38 [25]	4.76±0.50 [25]##	4.64±0.46 [25]#
	対照群	4.41±0.50 [22]	4.67±0.38 [22]##	4.44±0.42 [22]
Cl (mEq/L)	摂取群	104.5±1.7 [25]	104.1±1.4 [25]*	104.4±1.7 [25]
	対照群	104.6±1.4 [22]	105.0±1.5 [22]	104.4±2.0 [22]
Ca (mg/dL)	摂取群	9.30±0.34 [25]	9.19±0.47 [25]	9.29±0.42 [25]
	対照群	9.25±0.35 [22]	8.97±0.26 [22]##	9.25±0.32 [22]
Mg (mg/dL)	摂取群	2.28±0.12 [25]	2.42±0.17 [25]##	2.44±0.19 [25]##
	対照群	2.32±0.15 [22]	2.39±0.15 [22]##	2.40±0.13 [22]#
Fe (μg/dL)	摂取群	81.1±40.1 [25]	72.5±33.8 [25]	77.4±38.8 [25]
	対照群	82.5±42.7 [22]	78.6±46.4 [22]	79.5±42.5 [22]
P (mg/dL)	摂取群	3.62±0.49 [25]	3.61±0.42 [25]	3.58±0.35 [25]
	対照群	3.72±0.38 [22]	3.56±0.50 [22]	3.63±0.44 [22]

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差、<sup>2</sup> 対数変換後に検定を実施 []: 例数 群間差: \* p<0.05、\*\* p<0.01、試験開始時からの群内変化: # p<0.05、## p<0.01

#### 4.3.8.3 尿検査

尿検査について、試験期間中の各時点の群ごとの平均値および標準偏差を表 4-18 に示した。

Ca/Cre（カルシウムのクレアチニン比）において、摂取群は、対照群に比較し 6 ヶ月後で有意に高値を示した。Mg/Cre（マグネシウムのクレアチニン比）において、摂取群は、対照群に比較し 6 ヶ月後、12 ヶ月後で有意に高値を示した。その他の項目において、有意な群間差は認められなかった。

試験開始時からの群内変化は、対照群の Ca/Cre が 6 ヶ月後で有意に低下した。摂取群の Mg/Cre の 6 ヶ月後、12 ヶ月後において有意に上昇した。

表 4-18 尿検査値<sup>1</sup>

項目	群	試験開始時	6 ヶ月後	12 ヶ月後
Cre <sup>2</sup> (mg/dL)	摂取群	87.48±57.56 [25]	82.90±54.34 [25]	91.12±67.04 [25]
	対照群	97.58±49.05 [22]	109.59±53.21 [22]	87.67±51.43 [22]
Ca/Cre	摂取群	0.119±0.060 [25]	0.123±0.070 [25]*	0.130±0.068 [25]
	対照群	0.121±0.076 [22]	0.095±0.059 [22]#	0.120±0.074 [22]
Mg/Cre	摂取群	0.061±0.023 [25]	0.079±0.033 [25]***	0.086±0.032 [25]***
	対照群	0.062±0.025 [22]	0.056±0.020 [22]	0.069±0.028 [22]
P/Cre	摂取群	0.522±0.181 [25]	0.578±0.193 [25]	0.566±0.194 [25]
	対照群	0.573±0.219 [22]	0.574±0.158 [22]	0.573±0.168 [22]

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差、<sup>2</sup> 対数変換後に検定を実施 []: 例数 群間差: \* p<0.05、\*\* p<0.01、試験開始時からの群内変化: # p<0.05、## p<0.01

#### 4.3.8.4 血圧、脈拍数平均値の推移

収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍数の試験開始時、6ヶ月後、12ヶ月後の平均値および標準偏差を表 4-19 に示した。6ヶ月後の拡張期血圧において、対照群よりも摂取群の方が高い値を示したが、その他において群間での有意な差を認めなかった。摂取群においては、試験開始時に比較して12ヶ月後の拡張期血圧に有意な低下が認められた。対照群においては、試験開始時に比べて6ヶ月後の収縮期血圧および6ヶ月後、12ヶ月後の拡張期血圧に有意な低下が認められた。

表 4-19 血圧、脈拍数<sup>1</sup>

項目	群	試験開始時	6ヶ月後	12ヶ月後
収縮期血圧 (mmHg)	摂取群	113.0±19.4 [25]	112.8±21.6 [25]	111.8±19.7 [24]
	対照群	116.1±13.7 [21]	113.0±14.9 [22]	109.8±14.1 [21]#
拡張期血圧 (mmHg)	摂取群	71.4±13.0 [25]	70.6±13.2 [25]*	68.0±9.5 [24]#
	対照群	75.1±9.9 [21]	69.2±10.5 [22]##	67.6±11.4 [21]##
脈拍数 (/分)	摂取群	73.8±12.0 [25]	72.9±13.0 [25]	73.7±11.9 [24]
	対照群	74.2±9.3 [18]	71.0±8.7 [22]	72.2±9.2 [21]

<sup>1</sup> 平均値±標準偏差 []: 例数 群間差: \* p<0.05、\*\* p<0.01  
試験開始時からの群内変化: # p<0.05、## p<0.01

## 4.4 考察

### 4.4.1 体脂肪低減効果

本研究では、ラクチュロース、カルシウム、マグネシウムの混合顆粒の長期摂取による、中年女性の体組成への影響を評価した。12ヶ月後において、摂取群は対照群に比べて有意に低い体脂肪量を示し、体脂肪率についても低い傾向を示した。また、摂取群は対照群よりも高い除脂肪体重を示した。しかしながら、身体計測結果（体重、BMI、ウエスト周囲径）に関して、有意な群間差は認められなかった。これらの結果は、ラクチュロース、カルシウム、マグネシウムの混合顆粒の長期摂取は、体脂肪量が減少すると同時に、除脂肪体重を増やす効果を示唆すると考えられる。

カルシウムの体脂肪量減少効果に関する複数の介入試験<sup>88-90)</sup>において、身体計測値に有意な変化はないが、体脂肪量に有意な変化が認められている。Zhou らの閉経女性を対象としたカルシウム摂取の介入試験において、BMI 変化量に関して群間差は認められなかったが、体脂肪量は、摂取群が対照群に比べて有意に低い値を示し、除脂肪体重の増加は摂取群の方が多かった<sup>88)</sup>。Heiss らのカルシウムとビタミン D の介入試験において、腹部内臓脂肪量は減少したが、体重および身体計測値には、影響を与えなかった<sup>89)</sup>。また、疫学研究でも、閉経後女性においてカルシウム摂取量と体脂肪率の間に有意な負の相関が認められたが、カルシウム摂取量と BMI の関係は有意ではなかった<sup>90)</sup>。さらに、過体重および肥満者を対象とし、体重をアウトカムとしたカルシウム介入試験のメタアナリシスでは、「プラセボ摂取と比べてカルシウム摂取は有意な体重減少を促進することが示唆された。しかし効果の度合いは小さく、(中略)カルシウム摂取により、わずかだが有意な体脂肪量の減少となることが

示唆された。(中略) BMI は、カルシウム摂取による影響はなかった。」と結論づけている<sup>80)</sup>。これら介入研究、疫学研究およびメタアナリシスの結果と我々の試験結果は一致しており、身体計測値には変化はないが、体脂肪が減少することは、本研究に特異的な結果ではない。

#### 4.4.2 カルシウム量について

本試験の被検者のカルシウム平均摂取量は約 500mg/日であり、300mg のカルシウムの付加は、カルシウム摂取量を 60%引き上げる量に相当した。通常の食事と試験食品から摂取した総カルシウム摂取量は約 800 mg/日となり、日本人の耐容上限量に達しない量であった。本試験において日本人を対象とし、耐容上限量を超えない 300mg という少量のカルシウム摂取で体脂肪低減効果が示唆されたことは、栄養学的に意味があると考えられる。

#### 4.4.3 カルシウム以外の成分の効果について

カルシウムの体脂肪低減効果は、カルシウムの由来に依存しないという報告<sup>22,23)</sup>と乳製品由来のカルシウムの方が効果が高いという報告がある<sup>21,91)</sup>。乳製品由来のカルシウムの方が効果が高いとの立場では、乳製品に含まれる、生理活性ペプチド、脂質成分、乳糖などが脂質代謝に影響を与えている可能性について議論されている<sup>92,93)</sup>。カルシウムの体脂肪やメタボリックシンドロームに対する効果の作用機序はまだ明確ではない<sup>25,26)</sup>。カルシウムの作用機序の仮説には、細胞内カルシウム濃度変化が、脂肪細胞における脂肪の同化、異化に影響を与えるという仮説<sup>82)</sup>や、カルシウムによる便中への脂肪排泄の促進<sup>26)</sup>などがあげられている。後者は、腸内においてカルシウムと遊離飽和脂肪酸が不溶性の塩を

作り、脂肪酸の吸収を阻害する<sup>94)</sup>というものである。

カルシウムによる体脂肪低減効果に関しては、他の成分の影響についても考慮する必要がある。本試験に用いた試験食品はカルシウムだけでなく、マグネシウムとラクチュロースを含んでいる。マグネシウム摂取により脂肪細胞内カルシウム濃度が変化し、体脂肪に影響を与える可能性がある。マグネシウムもカルシウムと同様に脂肪酸と不溶性の塩を形成することが知られている<sup>95)</sup>。ラクチュロース摂取により大腸内が酸性化<sup>51)</sup>し、アルカリから中性域では難溶であるカルシウム、マグネシウム塩のイオン化を促進することにより、カルシウム、マグネシウムと脂肪酸による不溶性塩の形成量が増加する可能性が考えられる。また、ラクチュロース摂取により肝硬変患者の便中への脂肪排泄量が高まったという報告もある<sup>96)</sup>。マグネシウムおよびラクチュロースの作用機序はあくまで仮説であり、これらの効果を確認するためには、マグネシウムやラクチュロースを適切に組み合わせた食品を用いて検討する必要がある。

#### 4.4.4 観察期間の長さについて

閉経後女性を対象とした4年間の臨床試験において<sup>88)</sup>、体幹脂肪量の変化率、体幹脂肪率の変化率および体幹除脂肪量の変化率に有意な差が見出されたが、有意な差が観察されたのは3年以降のデータであった。我々のデータにおいても、6ヶ月後では試験食品の効果を示すデータは得られず、12ヶ月後のデータにおいて効果を示すデータが得られた。カルシウムや乳製品の体脂肪低減効果は、急激に現れるのではなく、長期間かけてゆっくり現れてくる可能性がある。カルシウムによる体脂肪低減効果を検討する際には、観察期間の設定が重要な要因と思われる。

#### 4.4.5 骨への影響

試験食品による骨への影響は認められなかった。50歳以上へのカルシウム補給は、骨密度の低下を抑制することが、メタアナリシスの結果として報告されている<sup>97)</sup>。中高年以降における、カルシウム補給は、骨密度の上昇を期待するものではなく、骨密度の低下を抑える効果を期待するものである。本試験においても、試験食品の骨への期待される効果は、骨密度低下の抑制であった。しかしながら、摂取群、対照群共に経時的な骨密度の低下は観察されなかったため、骨に対する試験食品の効果は、観察されにくい状態であったと推察される。さらに、本試験における被験者の全身骨密度の T スコアは、摂取群で 0.24、対照群で 0.09 であった。これは、被験者の平均年齢が 48 歳にもかかわらず、骨密度が若年成人平均値 (Young Adult Mean: YAM) よりも 0.1~0.2 標準偏差 (SD) 高い骨密度を持っていたことを表す。被験者の食生活、生活習慣などが骨密度の維持に適した状態であったと推察された。ラクチュロース、カルシウム、マグネシウム顆粒による中高年の骨密度への影響を評価するにあたっては、ベースのカルシウム摂取量が少なく、閉経などにより骨密度が低下途中であるような被験者を選択して、試験を行う必要があると考えられた。

#### 4.4.6 試験の限界

本試験は、ランダム化オープン対照並行群間比較試験であったため、被験者の心理状態が結果に影響を与えた可能性がある。体脂肪量の測定は DXA 法で全身の体脂肪量を測定しているため、試験食品により減少した体脂肪が、皮下脂肪、内臓脂肪かなどの特定は出来ない。また、食事調査は毎日行っておらず、被験者の栄養状態を正確に反映していない

可能性がある。また、ラクチュロース、カルシウム、マグネシウムの 3 種類の成分を含む顆粒を試験食にし、対照を無処置群としているため、体脂肪低減効果に、どの成分がどのような割合で寄与したかは不明である。将来的には、より厳密に計画されたダブルブラインド試験により、ラクチュロース、カルシウム、マグネシウム含有食品による、体脂肪低減効果を検証する必要がある。

#### 4.5 結語

カルシウムによる体脂肪低減効果に関して数多くの研究報告があることから、カルシウム、マグネシウムとこれらの吸収を促進するラクチュロースを含む食品の体組成に対する効果を確認するために、中年女性を対象とした 12 ヶ月のランダム化オープン対照並行群間比較試験を実施した。

その結果、12 ヶ月後で摂取群は対照群に比べて有意に低い体脂肪量を示し、ラクチュロース、カルシウム、マグネシウム含有食品の体脂肪低減効果が示唆された。

今後、体脂肪低減効果を検証するためにラクチュロース、カルシウム、マグネシウムを適切に組み合わせた試験食品を用いて、より厳密に計画されたダブルブラインド試験を実施する必要がある。

## 第5章 総括

カルシウムとマグネシウムは、体内において重要な役割を果たしているが、日本人のカルシウム、マグネシウム摂取量は十分ではない。また、カルシウムとマグネシウムは、その吸収率が低く、摂取量と共にその吸収率も考慮する必要があると考えられている。ラクチュロースにより、カルシウム、マグネシウムの吸収が促進されることを確認するために臨床試験を実施した。

第2章では、ラクチュロースによる、カルシウム、マグネシウム吸収促進効果に関する、臨床試験について論述した。尿中への排泄量を評価項目とし、効果を検討した。その結果、尿中へのカルシウム、マグネシウム総排泄量は、ラクチュロース摂取量に依存して上昇し、ラクチュロースが、カルシウム、マグネシウムの吸収促進効果を持つことを示唆するデータを得た。

尿中へのミネラル排泄量上昇だけでは、ラクチュロースがミネラルの吸収促進に影響を与えたのではなく、骨吸収を促進したり、腎臓に影響を与えたりした可能性を完全に否定することは出来ない。そこで、第3章では、尿中に増加したカルシウム、マグネシウムはラクチュロースによる吸収促進効果によるものであることを証明出来るシングルアイソトープ法による臨床試験について論述した。すなわち、特定の安定同位体比を高めた試験食品を被験者に摂取させ、比率を高めた安定同位体が尿中に多く排出されれば、尿中に増加したミネラルが試験食品由来であることを示すことが出来る。尿中の安定同位体比が、ラクチュロース用量依存的に増加したことからラクチュロースが、カルシウムとマグネシウムの吸収を促進することが確認出来た。

第4章では、カルシウム、マグネシウムとその吸収を促進するラクチュロースを長期間摂取した場合の体組成への影響を検討した臨床試験について論述した。試験開始12ヶ月後のデータにおいて、摂取群の体脂肪量は、対照群に比べて有意に低い値を示した。よって、カルシウム、マグネシウムおよびラクチュロースが体脂肪低減効果を持つ可能性が示唆された。

牛乳中に含まれる乳糖より作られるラクチュロースが、日本人において摂取量が不足しているカルシウム、マグネシウム吸収促進効果を持つことを確認し、ラクチュロース、カルシウム、マグネシウムを含む食品が、体脂肪低減効果を示唆する結果を得た。カルシウム、マグネシウム吸収促進効果、ラクチュロースを含む食品での体組成への効果、共に日本人を被験者とした最初の臨床研究である。

本研究を通じて、ラクチュロースが人々の健康に寄与する可能性を示せたと考える。

## 略記号

---

ALP	アルカリフォスタファアーゼ
BMI	体格指数 (Body Mass Index)
Ca	カルシウム
Cl	塩素
Cre	クレアチニン
DPD	デオキシピリジノリン
DXA 法	Dual-energy X-ray Absorption 法
Fe	鉄
HbA1c	ヘモグロビン・エイワンシー
K	カリウム
LDH	乳酸脱水素酵素
Mg	マグネシウム
Na	ナトリウム
NTx	I型コラーゲン N 末端テロペプチド断片
P	リン

---

## 参考文献

### 第 1 章

- 1) 「日本人の食事摂取基準」策定検討会：「日本人の食事摂取基準」(2010年版), (2009)
- 2) 厚生労働省：平成 23 年国民健康・栄養調査報告, (2013)
- 3) Kobayashi, A., Kawai, S., Obe, Y., Nagashima, Y.: Effects of dietary lactose and lactase preparation on the intestinal absorption of calcium and magnesium in normal infants. *Am J Clin Nutr*, **68**, 1-3 (1975)
- 4) 太田篤胤, 越阪部奈緒美, 山田和彦, 斎藤安弘, 日高秀昌: フラクトオリゴ糖および各種少糖類のラットにおける Ca, Mg, P の吸収に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌, **46**, 123-129 (1993)
- 5) 上西一弘, 太田篤胤, 福島洋一, 香川靖雄: フラクトオリゴ糖の配合が麦芽飲料中カルシウムの吸収に及ぼす影響と長期飲用時の安全性に関する検討. 栄養学雑誌, **60**, 11-18 (2002)
- 6) 福島洋一, 陳建君, 毛涯歌織, 太田篤胤, 酒井健介, 上西一弘, 香川靖雄: フラクトオリゴ糖を添加した麦芽飲料のヒトにおけるカルシウム吸収効率と安全性の評価. 健康・栄養食品研究, **5**, 49-60 (2002)
- 7) 谷本浩之, 野沢浩子, 岡田享子, 宮野玲子, 秀崎百恵, 常松基子, 伊藤和子: ポリグルタミン酸配合カルシウムサプリメントのヒトカルシウム吸収促進効果. 日本農芸化学会誌, **77**, 504-507 (2003)
- 8) 奥恒行, 田辺賢一, 渡邊有希, 尾野春子, 成瀬真理, 中村禎子: 難消化性オリゴ糖の性状の違いがラットのカルシウムならびにマグネシウム代謝に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌, **60**, 233-240 (2007)
- 9) Heaney, R.P., Saito, Y., Orimo, H.: Effect of caseinphosphopeptide

- on absorbability of co-ingested calcium in normal postmenopausal women. *J Bone Miner Metab*, **12**, 77-81 (1994)
- 10) Teramoto, F., Rokutan, K., Sugano, Y., Oku, K., Kishino, E., Fujita, K., Hara, K., Kishi, K., Fukunaga, M., Morita, T.: Long-term administration of 4G-beta-D-galactosylsucrose (lactosucrose) enhances intestinal calcium absorption in young women: a randomized, placebo-controlled 96-wk study. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, **52**, 337-346 (2006)
- 11) 鈴木和春, 遠藤幸江, 上原万里子, 山田英明, 五島孜郎, 今村美喜郎, 塩津晋: ミネラル吸収, 腸内フローラに及ぼす乳糖, ラクツロース, ソルビトールの影響. *日本栄養・食糧学会誌*, **38**, 39-42 (1985)
- 12) Heijnen, A.M., Brink, E.J., Lemmens, A.G., Beynen, A.C.: Ileal pH and apparent absorption of magnesium in rats fed on diets containing either lactose or lactulose. *Brit J Nutr*, **70**, 747-756 (1993)
- 13) Brommage, R., Binacua, C., Antille, S., Carrié, AL.: Intestinal calcium absorption in rats is stimulated by dietary lactulose and other resistant sugars. *J Nutr*, **123**, 2186-2194 (1993)
- 14) Beynen, A.C., Kappert, H.J., Yu, S.: Dietary lactulose decreases apparent nitrogen absorption and increases apparent calcium and magnesium absorption in healthy dogs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, **85**, 67-72 (2001)
- 15) Heijnen, M.L., van den Berg, G.J., Beynen, A.C.: Dietary raw versus retrograded resistant starch enhances apparent but not true magnesium absorption in rats. *J Nutr*, **126**, 2253-2259 (1996)

- 16) Van den Heuvel, E.G., Muijs, T., Van Dokkum, W., Schaafsma, G.: Lactulose stimulates calcium absorption in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*, **14**, 1211-1216 (1999)
- 17) 伊東蘆一訳: 最新栄養学〔第9版〕 - 専門領域の最新情報 - 29 カルシウム (木村修一, 小林修平監訳), p373-383, 株式会社建帛社, 東京 (2007): Present Knowledge in Nutrition, 9th ed. (Bowman, B.A., Russell, R.M.), (2006)
- 18) 青江誠一郎: 乳製品あるいはカルシウム摂取が体重および体組成に及ぼす影響. *Milk Science*, **57**, 1-11 (2008)
- 19) Zemel, M.B., Richards, J., Mathis, S., Milstead, A., Gebhardt, L., Silva, E.: Dairy augmentation of total and central fat loss in obese subjects. *Int J Obesity*, **29**, 391-397 (2005)
- 20) Yanovski, J.A., Parikh, S.J., Yanoff, L.B., Denkiner, B.I., Calis, K.A., Reynolds, J.C., Sebring, N.G., McHugh, T.: Effects of calcium supplementation on body weight and adiposity in overweight and obese adults: A randomized clinical trial. *Ann Intern Med*, **150**, 821-W146 (2009)
- 21) Lorenzen, J.K., Nielsen, S., Holst, J.J., Tetens, I., Rehfeld, J.F., Astrup, A.: Effect of dairy calcium or supplementary calcium intake on postprandial fat metabolism, appetite, and subsequent energy intake. *Am J Clin Nutr*, **85**, 678-687 (2007)
- 22) Cummings, N.K., James, A.P., Soares, M.J.: The acute effects of different sources of dietary calcium on postprandial energy metabolism. *Brit J Nutr*, **96**, 138-144 (2006)
- 23) Buchowski, M.S., Aslam, M., Dossett, C., Dorminy, C., Choi, L.,

- Acra, S.: Effect of dairy and non-dairy calcium on fecal fat excretion in lactose digester and maldigester obese adults. *Int J Obesity*, **34**, 127-135 (2010)
- 24) メタボリックシンドローム診断基準検討委員会: メタボリックシンドロームの定義と診断基準. 日本内科学会雑誌, **94**, 794-809 (2005)
- 25) 上西一弘, 田中司朗, 石田裕美, 細井孝之, 大橋靖雄, 門脇孝, 折茂肇: 牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームに関する横断的研究. 日本栄養・食糧学会誌, **63**, 151-159 (2010)
- 26) 川上浩: 乳・乳製品の摂取とメタボリックシンドローム. 日本食品科学工学会誌, **56**, 57-63 (2009)
- 27) 花井美保訳: 最新栄養学〔第9版〕 - 専門領域の最新情報 - 31 マグネシウム (木村修一, 小林修平監訳), p399-407, 株式会社建帛社, 東京 (2007): Present Knowledge in Nutrition, 9th ed. (Bowman, B.A., Russell, R.M.), (2006)
- 28) 太田篤胤: マグネシウムの栄養生理学的重要性. 化学と生物, **46**, 725-731 (2008)
- 29) He, K., Liu, K., Daviglius, M.L., Morris, S.J., Loria, C.M., Van Horn, L., Jacobs, D.R. Jr, Savage, P.J.: Magnesium intake and incidence of metabolic syndrome among young adults. *Circulation*, **113**, 1675-1682 (2006)
- 30) Wang, C.T., Chang, W.T., Zeng, W.F., Lin, C.H.: Concentrations of calcium, copper, iron, magnesium, and zinc in young female hair with different body mass indexes in Taiwan. *J Health Sci*, **51**, 70-74 (2005)
- 31) Dominguez, L.J., Barbagallo, M., Lauretani, F., Bandinelli, S.,

- Bos, A., Corsi, A.M., Simonsick, E.M., Ferrucci, L.: Magnesium and muscle performance in older persons: the InCHIANTI study. *Am J Clin Nutr*, **84**, 419-426 (2006)
- 32) Montgomery, E.M., Hudson, C.S.: Relation between rotary power and structure in the sugar group. XXVII. Synthesis of a new disaccharide ketose (lactulose) from lactose. *J Am Chem Soc*, **52**, 2101-2106 (1930)
- 33) Andrews, G.R.: Distinguishing pasteurized, UHT and sterilized milks by their lactulose content. *Int J Dairy Technol*, **37**, 92-95 (1984)
- 34) Marconi, E., Messia, M.C., Amine, A., Moscone, D., Vernazza, F, Stocchi, F., Palleschi, G.: Heat-treated milk differentiation by a sensitive lactulose assay. *Food Chem*, **84**, 447-450 (2004)
- 35) Petuely, F.: Der Bifidusfaktor [The Lactobacillus bifidus factor] *Dtsch Med Wochenschr*, **82**, 1957-1960 (1957)
- 36) Gibson, G.R., Roberfroid, M.B.: Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*, **125**, 1401-1412 (1995)
- 37) Seki, N., Saito, H.: Lactose as a source for lactulose and other functional lactose derivatives. *Int Dairy J*, **22**, 110-115 (2012)
- 38) 溝田輝彦: ラクチュロース開発と近況とその用途. ジャパンフードサイエンス, **30**, 60-67 (1991)
- 39) 森哲志, 関信夫: 特定保健用食品としてのラクチュロース. ジャパンフードサイエンス, **35**, 32-38 (1996)
- 40) Oosten, B.J.: Crystallization of lactulose. *Recl Trav Chim Pay-B*,

86, 673-674 (1967)

- 41) Mizota, T., Suzawa, I., Seki, N., Tamura, Y., Shimamura, S.: Solubility of lactulose trihydrate. *Carbohydr Res*, **263**, 163-166 (1994)
- 42) Jeffrey, G.A., Huang, D.B., Pfeffer, P.E., Dudley, R.L., Hicks, K.B., Nitsch, E.: Crystal structure and n.m.r. analysis of lactulose trihydrate. *Carbohydr Res*, **226**, 29-42 (1992)
- 43) Tamura, Y., Mizota, T., Shimamura, S., Tomita, M.: Lactulose and its application to the food and pharmaceutical industry. *Bulletin of IDF*, **289**, 43-53 (1993)
- 44) 富田守, 島村誠一, 田村吉隆, 溝田輝彦, 中野聡: 結晶ラクチュロース無水物の製造方法. 特許第 2977654 号 (1999.9.10)
- 45) 島村誠一, 田村吉隆, 溝田輝彦, 須澤以津子, 関信夫: ラクチュロース無水物の製造法. 特許第 3022699 号 (2000.1.14)
- 46) Mizota, T., Seki, N., Kokubo, S.: Transformation of lactulose trihydrate into anhydrous lactulose by fluidized bed drying and its characterization. *Carbohydr Res*, **339**, 1069-1075 (2004)
- 47) Nagasawa, T., Tomita, M., Tamura, Y., Obayashi, T., Mizota, T.: Process for preparing a lactulose syrup. U.S. Patent No 3814174 (1971)
- 48) Aider, M., Halleux, D.: Isomerization of lactose and lactulose production: review. *Trends Food Sci Tech*. **18**, 356-364 (2007)
- 49) Mayer, J., Conrad, J., Klaiber, I., Lutz-Wahl, S., Beifuss, U., Fischer, L.J.: Enzymatic production and complete nuclear magnetic resonance assignment of the sugar lactulose. *J Agr Food*

- Chem*, **52**, 6983-6990 (2004)
- 50) Hicks, K.B., Raupp, D.L., Smith, P.W.: Preparation and purification of lactulose from sweet cheese whey ultrafiltrate. *J Agr Food Chem*, **32**, 288-292 (1984)
- 51) Terada, A., Hara, H., Kataoka, M., Mitsuoka, T.: Effect of lactulose on the composition and metabolic activity of the human faecal flora. *Microb Ecol Health Dis*, **5**, 43-50 (1992)
- 52) Mizota, T., Mori, T., Yaeshima, T., Yanagida, T., Iwatsuki K., Ishibashi N., Tamura Y., Fukuwatari Y.: Effects of low dosages of lactulose on the intestinal function of healthy adults *Milchwissenschaft*, **57**, 132-135 (2002)
- 53) Ballongue, J., Schumann, C., Quignon, P.: Effects of lactulose and lactitol on colonic microflora and enzymatic activity. *Scand J Gastroentero Suppl*, **222**, 41-44 (1997)
- 54) 溝田輝彦, 関信夫: 多様な側面を持つラクチュロース:開発と生理効果に関する最近の研究動向. *ミルクサイエンス*, **50**, 39-47 (2001)
- 55) 森永乳業株式会社: 森永ドライミルク はぐくみ解説書, p4 (2011)
- 56) Bircher, J., Müller, J., Guggenheim, P., Haemmerli, U.P.: Treatment of chronic portal-systemic encephalopathy with lactulose. *Lancet*, **287**, 890-893 (1966)
- 57) 溝田輝彦: オリゴ糖シリーズ ラクチュロース. *日添協会報*, **6**, 4-12 (1987)
- 58) 興和株式会社: 医薬品インタビューフォーム ラクツロース・シロップ 60%「コーワ」 ラクツロース末・P, 2012年6月(改訂第8版), (2012)

- 59) 中外製薬株式会社: 医薬品インタビューフォーム モニラック原末, 2010年2月(改訂第6版), (2010)
- 60) 上西一弘, 江沢郁子, 梶本雅俊, 土屋文安: 日本人若年成人女性における牛乳, 小魚(ワカサギ, イワシ), 野菜(コマツナ, モロヘイヤ, オカヒジキ)のカルシウム吸収率. 日本栄養・食糧学会誌, **51**, 259-266 (1998)
- 61) Fine, K.D., Santa Ana, C.A., Porter, J.L., Fordtran, J.S.: Intestinal absorption of magnesium from food and supplements. *J Clin Invest*, **188**, 396-402 (1991)
- 62) 鈴木和春, 上原万里子, 遠藤幸江, 五島孜郎: ラットにおける鉄, 亜鉛および銅吸収におよぼす乳糖, ラクツロース, ソルビトールの影響. 日本栄養・食糧学会誌, **39**, 217-219 (1986)
- 63) Oku, T., Okazaki, M.: Transitory laxative threshold of trehalose and lactulose in healthy women. *J Nutr Sci Vitaminol* (Tokyo), **44**, 787-798 (1998)

## 第2章

- 64) National Insutitute for Public Health and the Environment Ministry of Health, Welfare and Sport.: Dutch national food consumption survey 2007-2010. (2011)
- 65) 厚生労働省: 第6次改定日本人の栄養所要量について. (1999)
- 66) 五十嵐千恵, 江沢郁子: 卵巣摘出骨粗しょう症モデルラットの大腿骨に対する whey calcium および lactulose の骨強度増強効果. 応用薬理, **42**, 245-253 (1991)
- 67) Kishi, M., Fukaya, M., Tsukamoto, Y., Nagasawa, T., Takehana, K., Nishizawa, N.: Enhancing effect of dietary vinegar on the

- intestinal absorption of calcium in ovariectomized rats. *Biosci Biotech Bioch*, **63**, 905-910 (1999)
- 68) Mieno, H., Hara, H., Tomita, F.: Short-chain fatty acids enhance diffusional Ca transport in the epithelium of the rat cecum and colon. *Life Sci*, **69**, 517-526 (2001)
- 69) Fukushima, A., Aizaki, Y., Sakuma, K.: Short-chain fatty acids increase the level of calbindin-D9k messenger RNA in Caco-2 cells. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, **58**, 287-291 (2012)
- 70) Tamura, A., Shiomi, T., Shigematu, N., Tomita, F., Hara, H.: Evidence suggesting that difructose anhydride III is an indigestible and low fermentable sugar during the early stages after ingestion in humans. *J. Nutr. Vitaminol (Tokyo)*, **49**, 422-427 (2003)
- 71) Sakai, F., Igarashi, H.: Prevalence of migraine in Japan: a nationwide survey. *Cephalalgia*, **17**, 15-22 (1997)
- 72) 持田製薬株式会社: 酸化マグネシウム錠 250mg 「モチダ」、酸化マグネシウム錠 330mg 「モチダ」添付文書, 2008年9月改訂(第2版), (2008)
- 73) Nishimuta, M., Kodama, N., Morikuni, E., Yoshioka, Y.H., Takeyama, H., Yamada, H., Kitajima, H., Suzuki, K.: Balances of calcium, magnesium and phosphorus in Japanese young adults. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, **50**, 19-25 (2004)
- 74) 五十嵐稔, 飯山百合子, 加藤良, 富田守, 麻見直美, 江澤郁子: ビフィズス菌およびラクチュロース卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの大腿骨に対する骨強度増強効果. *ビフィズス*, **7**, 139-147 (1994)

### 第 3 章

- 75) 関信夫, 浜野弘一, 飯山百合子, 平松真喜子, 浅野祐三, 小久保貞之, 山内恒治, 田村吉隆: ヒトにおけるラクチュロースの Ca, Mg 吸収促進効果. 日本農芸化学会大会 2005 年度大会 大会講演要旨集 p286 (2005)
- 76) 化学大辞典編集委員会編: 化学大辞典 9, りんさんカルシウム, p798, 共立出版株式会社, 東京 (1962)
- 77) 化学大辞典編集委員会編: 化学大辞典 3, さんかマグネシウム, p940, 共立出版株式会社, 東京 (1960)

### 第 4 章

- 78) 佐藤隆一郎: メタボリックシンドロームとは. 腸内細菌学雑誌, 24, 203-209 (2010)
- 79) 下村伊一郎, 松澤祐次編: メタボリックシンドローム 病態の分子生物学. 株式会社南山堂, 東京 (2005)
- 80) 翻訳 石田裕美, 伊藤早苗, 監修 桑田有: 過体重および肥満の管理に対するカルシウム栄養補助食品の有効性: 無作為化臨床試験の系統的レビュー. 栄養学レビュー, 20, 157-166 (2011)  
(原著) Onakpoya IJ, Perry R, Zhang J, Ernst E.: Efficacy of calcium supplementation for management of overweight and obesity: systematic review of randomized clinical trials. *Nutr Rev*, 69, 335-343 (2011)
- 81) Trowman, R., Dumville, J.C., Hahn, S., Torgerson, D.J.: A systematic review of the effects of calcium supplementation on body weight. *Brit J Nutr*, 95, 1033-1038 (2006)
- 82) Zemel, M.B.: Mechanisms of dairy modulation of adiposity. *J Nutr*,

133, 252S-256S (2003)

- 83) 古賀里利子, 伊藤和枝, 今井克己, 増田隆, 阿部志磨子, 田中美鈴, 伊藤仁美, 松山敏剛, 中村元臣: 中高年肥満女性の LDL-コレステロールおよび内臓脂肪に影響を及ぼす食事因子—閉経前群・後群の比較—. 日本栄養・食糧学会誌, **56**, 213-220 (2003)
- 84) 田中明: メタボリックシンドロームの現況. 日本食生活学会誌, **18**, 103-109 (2007)
- 85) 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会編集: 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2011 年版. ライフサイエンス出版, 東京 (2011)
- 86) 関信夫, 飯山百合子, 濱野弘一, 浅野祐三: カルシウム・マグネシウム含有組成物の製造方法. 特許第 4588403 号 (2010.9.17)
- 87) Uenishi, K., Ishida, H., Nakamura, K.: Development of a simple food frequency questionnaire to estimate intakes of calcium and other nutrients for the prevention and management of osteoporosis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, **54**, 25-29 (2008)
- 88) Zhou, J., Zhao, L.J., Watson, P., Zhang, Q., Lappe, J.M.: The effect of calcium and vitamin D supplementation on obesity in postmenopausal women: secondary analysis for a large-scale, placebo controlled, double-blind, 4-year longitudinal clinical trial. *Nutr Metab (Lond)*, **7**, 62 (2010)
- 89) Heiss, C.J., Shaw, S.E., Carothers, L.: Association of calcium intake and adiposity in postmenopausal women. *J Am Coll Nutr*, **27**, 260-266 (2008)
- 90) Rosenblum, J.L., Castro, V.M., Moore, C.E., Kaplan, L.M.:

- Calcium and vitamin D supplementation is associated with decreased abdominal visceral adipose tissue in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr*, **95**, 101-108 (2012)
- 91) Zemel, M.B., Thompson, W., Milstead, A., Morris, K., Campbell, P.: Calcium and dairy acceleration of weight and fat loss during energy restriction in obese adults. *Obes Res*, **12**, 582-590 (2004)
- 92) Teegarden, D.: The Influence of Dairy Product Consumption on Body Composition. *J Nutr*, **135**, 2749-2752 (2005)
- 93) Goseki-Sone, M., Maruyama, R., Sogabe, N., Hosoi, T.: Effects of dietary lactose on long-term high-fat-diet-induced obesity in rats. *Obesity* (Silver Spring), **15**, 2605-2613 (2007)
- 94) Denke, M.A., Fox, M.M., Schulte, M.C.: Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men. *J Nutr*, **123**, 1047-1053 (1993)
- 95) Drenick, E.J.: The influence of ingestion of calcium and other soap-forming substances on fecal fat. *Gastroenterology*, **41**, 242-244 (1961)
- 96) Riggio, O., Varriale, M., Testore, G.P., Di Rosa, R., Di Rosa, E., Merli, M., Romiti, A., Candiani, C., Capocaccia, L.: Effect of lactitol and lactulose administration on the fecal flora in cirrhotic patients. *J Clin Gastroenterol*, **12**, 433-436 (1990)
- 97) Tang, B.M., Eslick, G.D., Nowson, C., Smith, C., Bensoussan, A.: Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet*, **370**, 657-666 (2007)

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、研究指導から本論文の纏めまで全般にわたるご指導ならびにご鞭撻を頂きました女子栄養大学大学院栄養学専攻上西一弘教授に深く感謝申し上げます。本研究に関わる、臨床試験において試験責任者医師を御引き受け下さり、ご指導頂きました文京学院大学保健医療技術学部 工藤秀機学部長に感謝致します。

本研究に深いご理解と全面的なご援助を与えて下さいました森永乳業株式会社 大野晃代表取締役会長、宮原道夫代表取締役社長、高瀬光徳常務取締役、岩附慧二常務執行役員、食品基盤研究所 阿部文明所長、食品基盤研究所食品技術研究部 越智浩部長に謹んで感謝の意を表します。

また、森永乳業株式会社食品総合研究所旧基盤研究室で、上司であり本研究を引っ張って下さいました溝田輝彦さんおよび生産本部生産技術部環境対策室 浅野祐三マネージャーに感謝の意を表します。また、試験実施に際しては、分析センター特殊検査室 飯山百合子研究員、栄養科学研究所クリニカル食品開発部 武藤真喜子研究員にご協力を頂きました。

本研究に関わる、臨床試験に被験者として参加して下さい、数多くのボランティアの方々に感謝申し上げます。

本論文全般の共同研究者として、森永乳業株式会社栄養科学研究所食品臨床研究部 濱野弘一マネージャーには、臨床試験のプロトコール作成に始まり、統計解析、論文構成まで、多大なるご助言とご協力を頂きました。濱野マネージャーの協力無しにはこのような形で本研究を纏めることは出来ませんでした。厚く御礼を申し上げます。

本論文を構成する研究は、多くの方々のご支援、ご協力のもとに実施されたものであり、その研究成果を纏めたものであることをここに記し、関係者の皆様に深く感謝致します。

最後に、私を応援し続けてくれた妻に感謝致します。

2013年11月 関 信夫