

Original article

The effects and safety of food containing a labdane type diterpenoid (labdane) on knee joint problems of healthy adults: An uncontrolled open-label trial.

Arata Paul Yamasaki¹⁾, Ryuhei Beppu²⁾, San-no-suke Asaga¹⁾,
Chiiko Nagamatsu²⁾, Koichiro Komai³⁾

1) Veritas Co., Ltd., Tokyo, Japan

2) Veritas Hanbai Co., Ltd., Tokyo, Japan

3) Department of Applied Biological Chemistry School of Agriculture, Kinki University, Nara, Japan

Glycative Stress Research 2020; 7 (2): 169-173

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

健常者の膝関節の違和感に対するラブダン型ジテルペン類化合物 (ラブダン) 含有食品の効果と安全性

山崎 新¹⁾、別府龍平²⁾、浅賀三之助¹⁾、永松知伊子²⁾、駒井功一郎³⁾

1) 株式会社ベリタス

2) ベリタス販売株式会社

3) 近畿大学農学部応用生命化学科

抄録

膝関節の違和感は、高齢者の大きな悩みの一つである。白ウコンの葉や根塊に含まれるラブダンは、ヒアルロン酸の分解を抑制することが知られている。ヒアルロン酸は膝関節の潤滑に重要な役割を果たしていることから、ラブダンには膝関節の健康を維持する機能が期待されている。今回、膝関節に違和感を有する健常者 60 名 (48 ~ 88 歳) に対してラブダンを主成分とするラブダン型ジテルペン類化合物を 8 週間、1 日あたり 0.065 mg 摂取する臨床試験を実施した。膝関節の違和感は、摂取開始から試験食品摂取開始後 8 週間まで 4 週間ごとに視覚アナログスケール (VAS) を用いて測定した。各 VAS スコアの結果は、試験開始 0 週目で 4.7 ± 2.2 であったが、4 週目で 3.4 ± 2.3 、8 週目で 2.6 ± 2.3 となった。摂取 0 週に対して 4 週目 ($p < 0.001$)、8 週目 ($p < 0.001$) で統計学的に有意な差が認められた。また、今回の試験において副作用は認められなかった。今回、膝関節に違和感を有する健康な成人男女において、ラブダンを主成分とするラブダン型ジテルペン類化合物 0.065 mg/日の 4 週間および 8 週間摂取が有効かつ安全であることが確認された。

連絡先：山崎 新
(株) ベリタス

〒105-0014 東京都港区芝 2-29-15 一星ビル 4F

TEL: 03-5232-3491 FAX: 03-3453-9973 e-mail: ap.yamasaki@veritasnet.jp

共著者：別府龍平 v.rbeppu@veritas-net.jp; 浅賀三之助 s.asaka@veritasnet.jp;

永松知伊子 chknaga@ezweb.ne.jp; 駒井功一郎 95sy3w@bma.biglobe.ne.jp

Glycative Stress Research 2020; 7 (2): 169-173
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

KEY WORDS: 機能性表示食品、ラブダン、膝関節、ラブダン型ジテルペン類化合物

はじめに

日本は超高齢社会の課題に直面している。その課題の一つにロコモティブシンドロームと呼ばれるものがある。ロコモティブシンドロームは通称「ロコモ」と呼ばれており、別名として「運動器症候群」とも呼ばれる。2007年に日本整形外科学会により初めて提唱された概念であり「運動器障害により要介護状態および要介護リスクの高い状態」と定義されている¹⁾。

また、ロコモは健康寿命を考える上で重要な問題であり、その主な原因は加齢による軟骨の消耗であるとされている。軟骨の消耗は膝に最も多く発生することが確認されており、40歳以上の日本人の合計2,530万人（男性42.6%、女性62.4%）が膝関節に問題を抱えていると推定されている²⁾。膝関節は他の関節に比べて負担が大きいため、膝のトラブルの発生頻度は他の関節に比べて高いことが知られている。膝トラブルの症状が悪化すると違和感が増し、歩行に影響が出たり、日常生活での活動が制限されたりするため、ロコモは、高齢者の全体的な生活の質（QOL）を著しく低下させる主な要因の一つとされている³⁾。

「平成25年国民生活基礎調査の概況」において、介護が必要となった主な原因を要介護度別にみると、要支援では「関節の問題」が20.7%であり、次いで「加齢による衰弱」が15.4%、「骨折・転倒」が14.6%となっている⁴⁾。「健康づくりのための身体活動基準2013」によると、ライフステージに応じて適切な身体活動を適切に維持・増加できることが、ロコモのリスクを低減させるとされている⁵⁾。これらの報告は、健康寿命を考える上で、膝関節の健康の維持・向上が重要な要素であることを示しており、機能性表示食品制度の考え方と一致している。

一般的にウコンの主成分として知られているクルクミンは春ウコンや秋ウコンに多く含まれる。しかしながら、白ウコンはクルクミンをほとんど含まず、精油成分であるラブダン型ジテルペン類化合物（以下「LTDT」とする）を多く含有していることが知られている。LTDTの主成分はlabdane 8 (17),12-diene-15,16-dial（以下「ラブダン」とする）でありLTDTの85～90%を占めている。ラブダンは白ウコンの他に、ショウガ属、ウコン属、ハナミョウガ属の植物に微量に含まれていることが知られているが、それらと比較して白ウコンは80～100倍の濃度でラブダンを含有している。

ラブダンを含む白ウコン葉エキスは、ヒアルロン酸(HA)の分解の原因となる酵素を阻害する作用があることが*in vitro*で確認されている。HAは関節を潤滑するために重要であり、HAの量の維持は関節の健康維持に重要と考えられている⁶⁾。

弊社は、このラブダンを含有する食品を2015年から2019年まで4年間にわたり販売しているが、これまでに副作用の報告はない。

これまで、ラブダンを含有する食品の膝関節の違和感に対する臨床試験の報告はないため、今回、膝関節に違和感がある健康な成人男女を対象にラブダンを含む食品（主成分ラブダンを含むLTDTを0.065 mg/日）を8週間継続的に摂取する試験を実施した。

方法

対象者

被験者候補は、弊社の商品の購入を希望した方から、関節に違和感がある健康な成人を募集した。91名の候補者のうち、**Fig. 1**に示す選考基準を満たし、かつ除外基準に違反しない60名（48歳から88歳）を被験者とした。被験者は口頭で研究の目的、方法、期待されることや不利益の可能性などについて説明を受けた後、書面で同意した。被験者は、観察期間中は、できるだけ試験前と同じような生活を送るように指導された。具体的には、食事、運動、喫煙、薬の服用（選択除外基準に抵触しないもの）、運動などの生活習慣を大幅に変えないように指導された。また、1日に決められた量の試験食品を摂取し、新たな健康食品の摂取や特定保健用食品の継続的な摂取を避けるように指示された。

材料・試験食品

使用した試験食品はアリメント工業株式会社によりソフトカプセル1粒あたり0.0325 mgのラブダンを主成分とするLTDTを含有するように製造された。1日摂取量は2粒であることからラブダンを主成分とするLTDTの1日摂取量は0.065 mgである。

試験デザイン

本試験では、試験食品の摂取期間を8週間とした。摂取開始から開始後8週間までの1週間ごとに観察を実施した。試験食品は1日2粒（2カプセル）として投与し摂取時間は特に指定なしとした。

当初、試験デザインは、無作為化二重盲検並行群間比較試験として計画されていたが、インフォームドコンセントの際に、膝関節の違和感が改善されるかどうかを確認するために、ラブダンを含む食品の摂取を強く希望する声があったためワンアームのオープン試験に変更された。被験者に対する倫理的配慮のほか、医学的に膝関節の違和感は自然緩快が望めないことから試験開始時と最終評価までの

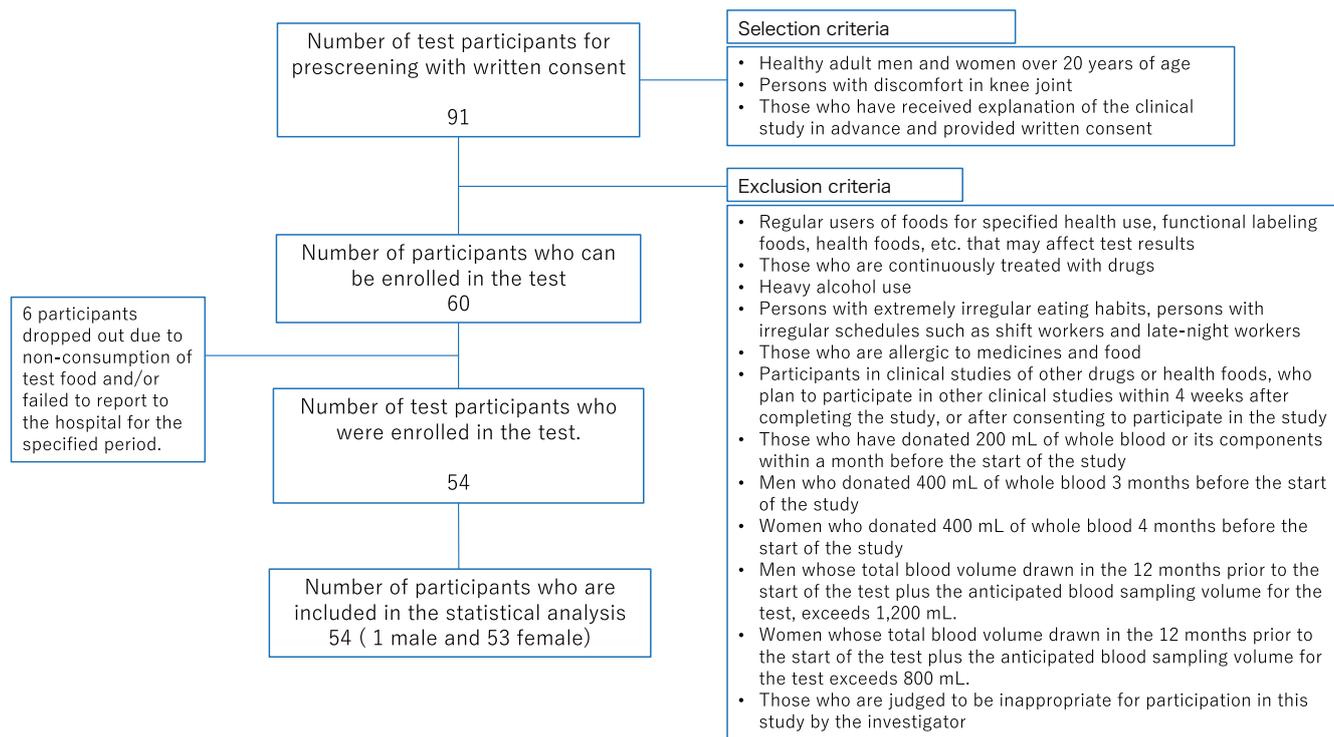


Fig.1. Flow chart of the clinical trial.

VAS 値とを比較することは、時間経過による膝関節の違和感の悪化を組み込まないという意味では、むしろプラセボ比較より厳しい評価であることから試験の目的を十分に達成できると判断した。

ビジュアルアナログスケール (VAS) アンケート調査

膝関節の違和感については、心理学的評価法であるグラフ評価法に相当する VAS を用いて調査を実施した⁷⁾。VAS は一般的な 10 cm の線分を使用するものを用いた⁸⁾。

統計解析

解析対象集団

最大の解析対象集団 (Full analysis set: FAS) のデータ分析の対象には脱落した 6 名を除いた 54 名が組み込まれた。脱落原因は、試験食品を摂取しなかったこと、指定された期間に病院への報告を怠ったことであった。

解析方法

膝関節の違和感に関する VAS の結果を評価指標とし、4 週目と 8 週目の値を 0 週目と比較した。データ分析は SPSS Statics 26 (日本 IBM、東京) を用いて行い、Friedman

検定 (Bonferroni 修正) で実施した。決定された数値は、平均値 ± 標準偏差または度数で示し、有意水準を両側検定で 5% とした。

結果

解析対象者背景

解析対象者は 54 名中、男性 1 名、女性 53 名であった。年齢は 48 ~ 88 歳で、平均年齢は 64.6 ± 8.2 歳であった。

有効性解析

試験食品摂取 0 週 (4.7 ± 2.2)、4 週 (3.4 ± 2.3)、8 週 (2.6 ± 2.3) の間で被験者の膝関節の違和感に関連する VAS スコアの比較を実施した結果、摂取 4 週後 (p < 0.001)、8 週後 (p < 0.001) と摂取 0 週との間で統計的に有意な差が認められた (Fig. 2)。年齢や性別に関するサブグループ解析は実施していない。

安全性評価

摂取期間中、いずれの被験者からも有害事象は報告されなかったことから、試験条件では、試験食品の 8 週間の摂取は安全であると考えられた。

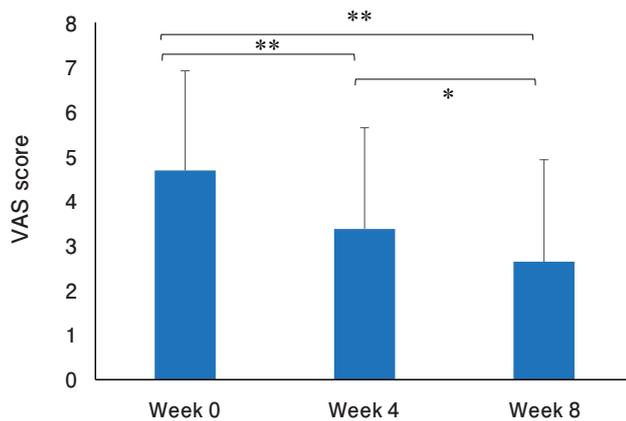


Fig. 2. VAS evaluation average.

Results are expressed as mean ± SD, n = 54, *p < 0.05, **p < 0.001 by Friedman test. VAS, visual analog scale; SD, standard deviation.

考察

本研究では、白ウコン由来のラブダンの摂取が健康な成人男女の膝関節の違和感に及ぼす影響を検討した。試験食品摂取開始から4週間と8週間を比較してVASスコアの測定値に統計学的に有意な改善が認められた。この試験結果からラブダンを主成分とするLTDT 0.065 mg/日の摂取は、膝関節の違和感を軽減することが確認された。

日本では、機能性表示食品で膝関節の違和感の軽減を謳った製品が約30品目ある。その多くは、コンドロイチン、HA、コラーゲンなどの軟骨成分、またはドコサヘキサエン酸 (DHA) やエイコサペンタエン酸 (EPA) などの脂肪酸であるが、ラブダンのような低分子化合物は全く新しいものと考えられる。今回、摂取後4週間で統計学的に有意な改善がみられていることから被験者においては、比較的早期に膝関節の違和感の軽減が実感できたのではないかと考えられた。また、今回の研究では、被験者の性別において、女性の被験者が男性被験者の数を大きく上回っているが、これは、膝関節痛に関する疫学調査において性差が認められており、女性の方が男性よりも多いこと⁹⁻¹¹⁾を反映していると考えられた。被験者は平均年齢64.6 ± 8.2歳であり、高齢者が多かったが、これは加齢により、膝関節に問題を抱える人が増加することに起因していると考えられた。逆に、若年者で、膝関節に違和感を持つ人は、多くの場合、何らかの外傷や病気に苦しんでいるため、すでに治療を受けていることが多いことから今回、試験には組み入れられなかったと考えられた。

今回、健常者を対象とした研究であるため侵襲的な評価方法は選択されなかった。また、被験者の測定負担や検査コストの問題からMRIなどを用いた評価は実施せず、主観的な評価指標であるVASを用いた。VASは採点方式が主観的であるため、一般的に患者間のばらつきがやや大きくなることが知られており、今回も同様の結果となった。今回、このような試験デザインとなったが、被験者と倫理

委員会の理解が得られるのであれば、今後、無作為化並行群間比較のデザインを用いた臨床試験が実施されることが望ましいと考える。

本試験で得られた知見をもとに、ラブダンの膝関節の違和感に対する作用機序を検証する必要がある。

ラブダンは白ウコンの他にも様々な植物に含まれている¹²⁻²¹⁾。これまで、ラブダンについては抗腫瘍作用¹⁵⁾、細胞障害性¹⁶⁾、抗菌作用^{17,20)}、抗炎症作用¹⁸⁾、 α -グルコシダーゼ活性阻害作用^{19,21)}、リパーゼ活性阻害作用²¹⁾、血液適合性増強作用²⁰⁾が知られている。血液適合性の評価は、血液凝固の亢進と血小板の活性化を指標として血栓形成のリスクを評価しており、ラブダンは血液凝固や血小板活性化に対し抑制的に作用する。また、ラブダンについては、近年HA分解の阻害作用が報告されている⁶⁾。関節腔内でHAは軟骨の潤滑作用、抗炎症作用、抗糖化作用を有し、関節の恒常性維持の観点から重要な役割を果たす²²⁾。これらの報告を元に関節痛に対する作用機序を推定すると、抗炎症作用、HA分解阻害の関与が重要であると考えられる。

膝関節に違和感を抱える患者がしばしば神経障害性疼痛に特徴的な症状を訴えることが知られ、その症状にGABAA受容体が関与していることが知られている^{23,24)}。GABAA受容体は、イオンチャンネル型受容体およびイオンチャンネル内蔵型受容体の一つで、リガンドは抑制性神経伝達物質である γ -アミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid: GABA) である。疼痛はしばしば慢性化することがあり、中枢性感作機序が働いて心理的要因が重なることが報告されている²⁵⁾。すなわち、痛みに対して過敏になり、通常なら痛みを起こさない刺激で痛みが発生するようになる (アロディニア)。その結果、痛みはより広範囲で長く持続するようになる²⁶⁾。

そのような慢性疼痛は、交感神経の緊張と運動神経を興奮させ、血管の収縮や筋肉の緊張を惹起する。その結果、血行が悪くなり、「痛みを起こす物質」の発生につながると予想される。他のLTDTには血小板凝集抑制²⁴⁾や血管平滑筋弛緩作用^{27,28)}を有する物があり、血流の維持に貢献している可能性がある。ラブダンの血管平滑筋への作用についても検証の必要があると考える。

LTDTの一つであるsclareol、andrographolideについてもOA²⁹⁾や関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA)^{30,31)}に有効であることが報告されている。また *Curcuma kwangsiensis* 地下茎抽出物によるGABAA受容体調節作用が報告されている³²⁾。

生理的条件下ではGABAは、GABAA受容体を介して、神経活動の興奮に対して抑制的に作用する。末梢神経が損傷されると、脊髄で活性化したミクログリア細胞が、P2X4 (purinergic receptor 4) 受容体の活性化によりミクログリアから脳由来神経栄養因子 (brain derived neurotrophic factor: BDNF) を放出する。その結果、触刺激により放出されたGABAの二次ニューロンに対する作用が抑制性から興奮性へと変化し、触刺激によって強い疼痛を惹起する³³⁾。

これらの所見は GABAA 受容体モジュレーターが神経障害性疼痛を緩和する可能性を示唆しており³⁴⁾、興味深い問題であると考えられる。ラブダンの GABAA 受容体への作用については今後の検証課題である。

結論

今回、膝関節に違和感を有する健康な成人男女において、ラブダンを主成分とするラブダン型ジテルペン類化合物 0.065 mg/日の 4 週間および 8 週間摂取が有効かつ安全であることが確認された。

利益相反申告

本研究は、著者自らの資金提供に基づき実施されているが結果への関与はない。

参考文献

- 1) 日本整形外科学会. ロコモ online. ロコモ チャレンジ! 日本整形外科学会公式 ロコモタイプシンドローム予防啓発公式サイト. <http://locomo-joa.jp> (2020年4月6日接続)
- 2) Yoshimura N, Muraki M, Oka H, et al. Cohort profile: Research on Osteoarthritis/Osteoporosis Against Disability study. *Int J Epidemiol*. 2010; 39, 988-995.
- 3) 中村耕三: ロコモタイプシンドローム (運動器症候群). *老年医学会雑誌*. 2012; 49: 393-401.
- 4) 厚生労働省. 平成 25 年 国民生活基礎調査の概況 . IV 介護の状況. 2013 年. <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/k-tyosa/k-tyosa13/dl/05.pdf>.
- 5) 厚生労働省. 「健康づくりのための身体活動基準 2013」及び「健康づくりのための身体活動指針 (アクティブガイド)」について. 報道発表資料. 2013 年 3 月 18 日. <https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000002xple.html>
- 6) 駒井功一郎. 白ウコンとはどんなウコンか: その形態と機能成分. 白ウコン普及協会. <http://www.shiroukon.com> (2020年4月6日接続)
- 7) Guilford JP. *Psychometric Methods*. McGraw-Hill, New York, 1954.
- 8) Wewers ME, Lowe NK. A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Res Nurs Health*. 1990; 13: 227-236.
- 9) 伊代田一人, 岩田 久, 奥泉宏康, 他. 中高年者の膝関節痛に関する疫学調査. *整形外科*. 1995; 46: 1291-1294.
- 10) 武藤芳照, 太田 (福島) 美穂, 甲田道子, 他. 変形性膝関節症の発生と体型・体力との関連についての疫学的研究. *整形外科*. 1997; 48: 365-370.
- 11) 佐々木英嗣, 津田英一, 平賀康晴, 他. 変形性膝関節症有病者の夜間痛有訴率と睡眠の質に関する疫学調査. *JOSKAS*. 2014; 39: 667-672.
- 12) Marlier M, Guellec GL, Lognag G, et al. Characterization of three labdane diterpenes from *Aframomum alboviolaceum*. *Planta Med*. 1993; 59: 455-457.
- 13) Nakatani N, Kikuzaki H, Yamaji H, et al. Labdane diterpenes from rhizomes of *Hedychium coronarium*. *Phytochemistry*. 1994; 37: 1383-1388.
- 14) Duker-Eshun G, Jaroszewski JW, Asomaning WA, et al. Antiplasmodial activity of labdanes from *Aframomum latifolium* and *Aframomum sceptrum*. *Planta Med*. 2002; 68: 642-644.
- 15) Abas F, Lajis NH, Shaari K, et al. A labdane diterpene glucoside from the rhizomes of *Curcuma mangga*. *J Nat Prod*. 2005; 68: 1090-1093.
- 16) Chimnoi N, Pisutjaroenpong S, Ngiwsara L, et al. Labdane diterpenes from the rhizomes of *Hedychium coronarium*. *Nat Prod Res*. 2008; 22: 1249-1256.
- 17) Ghosh S, Indukuri K, Bondalapati S, et al. Unveiling the mode of action of antibacterial labdane diterpenes from *Alpinia nigra* (Gaertn.) B. L. Burt seeds. *Eur J Med Chem*. 2013; 66: 101-105.
- 18) Chen JJ, Ting CW, Wu YC, et al. New Labdane-type diterpenoids and anti-inflammatory constituents from *Hedychium coronarium*. *Int J Mol Sci*. 2013; 14: 13063-13077.
- 19) Ghosh S, Rangan L. Molecular docking and inhibition kinetics of α -glucosidase activity by labdane diterpenes isolated from tora seeds (*Alpinia nigra* B.L. Burt.). *Appl Biochem Biotechnol*. 2015; 175: 1477-1489.
- 20) Chakrabarty I, Vijayasekhar A, Rangan L. Therapeutic potential of labdane diterpene isolated from *Alpinia nigra*: Detailed hemato-compatibility and antimicrobial studies. *Nat Prod Res*. 2019 May 28: 1-5.
- 21) Yoshioka Y, Yoshimura N, Matsumura S, et al. α -Glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities of diterpenes from Indian mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) and its derivatives. *Molecules*. 2019; 24(22): E4071.
- 22) Ogura M, Takabe W, Yagi M, et al. Hyaluronic acid and articular cartilage. *Glycative Stress Res*. 2018; 5: 12-20.
- 23) Honda K, Horikawa K, Ando S, et al. The spinal muscarinic M(1) receptors and GABA(A) receptors contribute to the McN-A-343-induced antinociceptive effects during thermal stimulation of mice. *J Pharmacol Sci*. 2008; 108: 472-479.
- 24) Migita K, Moriyama T, Koguchi M, et al. Modulation of P2X receptors in dorsal root ganglion neurons of streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *Neurosci Lett*. 2009; 452: 200-203.
- 25) Graven-Nielsen T, Arendt-Nielsen L. Peripheral and central sensitisation in musculoskeletal pain disorders: An experimental approach. *Curr Rheumatol Rep*. 2002; 4: 313-321.

- 26) Suokas AK, Walsh DA, McWilliams DF, et al. Quantitative sensory testing in painful osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2012; 20: 1075-1085.
- 27) Wu TS, Chern HJ, Damu AG, et al. Flavonoids and ent-labdane diterpenoids from *Andrographis paniculata* and their antiplatelet aggregatory and vasorelaxing effects. *J Asian Nat Prod Res*. 2008; 10: 17-24.
- 28) Ribeiro LA, Alencar Filho EB, Coelho MC, et al. The vasorelaxant effect of 8(17),12E,14-labdatrien-18-oic acid involves stimulation of adenylyl cyclase and cAMP/PKA pathway: Evidences by pharmacological and molecular docking studies. *Eur J Pharmacol*. 2015; 764: 363-371.
- 29) Zhong Y, Huang Y, Santoso MB, et al. Sclareol exerts anti-osteoarthritic activities in interleukin-1 β -induced rabbit chondrocytes and a rabbit osteoarthritis model. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015; 8: 2365-2374.
- 30) Tsai SW, Hsieh MC, Li S, et al. Therapeutic potential of sclareol in experimental models of rheumatoid arthritis. *Int J Mol Sci*. 2018; 19: E1351.
- 31) Li X, Yuan K, Zhu Q, et al. Andrographolide ameliorates rheumatoid arthritis by regulating the apoptosis-NETosis balance of neutrophils. *Int J Mol Sci*. 2019; 20: E5035.
- 32) Schramm A, Ebrahimi SN, Raith M, et al. Phytochemical profiling of *Curcuma kwangsiensis* rhizome extract, and identification of labdane diterpenoids as positive GABAA receptor modulators. *Phytochemistry*. 2013; 96: 318-329.
- 33) Tsuda M. Microglia-mediated regulation of neuropathic pain: Molecular and cellular mechanisms. *Biol Pharm Bull*. 2019; 42: 1959-1968.
- 34) 高野行夫. 痛みをやわらげる: 神経障害性疼痛の新規治療薬への挑戦. *Yakugaku Zasshi*. 2014; 134: 997-1005.