

臨床試験に基づいた5-アミノレブリン酸 リン酸塩含有機能性表示食品の開発

田中 徹¹・土屋 京子²

はじめに

5-アミノレブリン酸(5-ALA)は、炭素数5、分子量131の天然の内在性アミノ酸であり、カルボキシル基とアミノ基を分子の両端に配したδ型の構造を取り、分子中央にカルボニル基を有する反応性の高い構造を持つが不斉炭素は有しない(図1)。5-ALAは不安定でフリー体の結晶を得ることができず、塩酸塩とリン酸塩の二つの安定な塩が知られている(表1)。5-ALAはヘムやシトクロムなどテトラピロール化合物生合成の出発物質として重要な化合物であり、体内ではミトコンドリアで生合成される。

筆者らは加齢に伴う5-ALA生合成の低下がミトコンドリア機能、すなわち代謝を低下させ、成人病や老化を引き起こす要因となっており、これを5-ALAの補充で改善できるのではないかと考えている。

食品素材としての5-ALA

5-ALAはヘムやクロフィルの前駆体であるため多くの食品に含まれているが、特に発酵食品に多く含まれる。磨き上げた酒米と鉄の少ない水で醸された日本酒では酵母生育にヘムが不足し、代償効果として5-ALAが過剰生産されるため含量が高いのだと推定されている。赤ワインの場合も、原料のブドウが乾燥したアルカリ土壌で栽培され、果汁の鉄含量が低いため日本酒と同様の現象が起こるのだと推定される。

筆者らは2009年に酒粕から抽出した5-ALAを配合した清涼飲料水「花蜜」を販売し、これが世界初の5-ALA強化食品となった。その後、各種の安全性試験

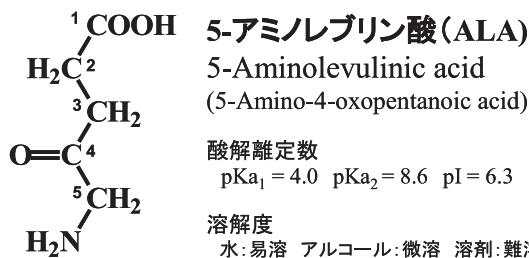


図1. 5-アミノレブリン酸の構造と物性

などを行い、2013年に光合成細菌を用いた発酵法で生産された5-アミノレブリン酸リン酸塩が食薬区分の確認により食品成分として認められた(平成25年7月10日 薬食発0710第2号: <http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/dl/torishimari.pdf>)。

5-アミノレブリン酸リン酸塩を配合した健康食品を用いた臨床試験が行われ、2015年に血糖値に対する機能性表示食品「アラプラス 糖ダウン」の届出が受理された(届出番号:A 148, <https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc02/?recordSeq=0IKO41603311450101>)。

本件の経緯や結果、メカニズムも含めて後述する。

加齢に伴う代謝低下と5-ALAによる活性化

人体で使われるエネルギー、ATPの90%以上がミトコンドリアで行われる内呼吸で作られる。内呼吸はTCAサイクルとこれに連動する電子伝達系で構成されているが、もっとも重要なのは体内で酸素を使う唯一の反応である電子伝達系の複合体IVである。筑波大学の林らは異なる年齢のボランティアから採取した皮膚の細胞を培養し、複合体IVの活性を測定した。複合体IVの活性はドナーの年齢が増すにつれて直線的に低下する¹⁾。この複合体IVの反応中心は2分子のヘムで構成されている。ヘムの生合成量は加齢に伴い低下し²⁾、ヘム生合成の律速段階である5-ALA生合成も、臓器により程度に差は

表1. ALAの二つの塩とその物性

	ALA塩酸塩	ALAリン酸塩
構造式	C ₅ H ₉ NO ₃ ·HCl	C ₅ H ₉ NO ₃ ·H ₃ PO ₄
CAS No.	No. 5451-09-2	No. 868074-65-1
分子量	167.6	229.1
性状	白色粉末	白色粉末
融点(°C)	144-147(分解)	129-131
pH(1M)	1.7	2.8
皮膚刺激	positive	negative
味	strong	mild
主な用途	医薬、肥料原料	化粧品、食品素材

著者紹介 ¹SBIファーマ株式会社(代表取締役副社長)、技術士(生物工学)、工学博士 E-mail: tortanaka@sbigroup.co.jp

²SBIファーマ株式会社 健康食品製造部(マネジャー)、技術士補(生物工学)

生物工学 第95巻 第9号(2017)

あるが、加齢により低下することが知られている³⁾。

では、食品として5-ALAを摂取して代謝を向上させることはできないだろうか。

5-ALAの体内動態は詳しく調べられており、経口投与された5-ALAは上部消化管から速やかに吸収され吸収率はほぼ100%である。しかも水溶性が高くアルブミンなどに吸着されないため、血液を介して全身にくまなく届けられる。

東京工業大学の小倉らはマウスに5-ALAを与えると、肝臓のミトコンドリア電子伝達系の複合体IVの活性が向上し、ATPの産生も増加することを見いだした⁴⁾。さらに、5-ALAと鉄を同時投与すると複合体IV活性はより向上した。ミトコンドリアの活性向上はいわゆる基礎代謝を意味するので、抗老化はもちろん、ミトコンドリア機能が低下するさまざまな疾病の改善が期待される。

5-ALAリン酸塩含有サプリメントを用いた臨床試験

筆者らは安全性試験や安定性試験を繰り返し5-ALA

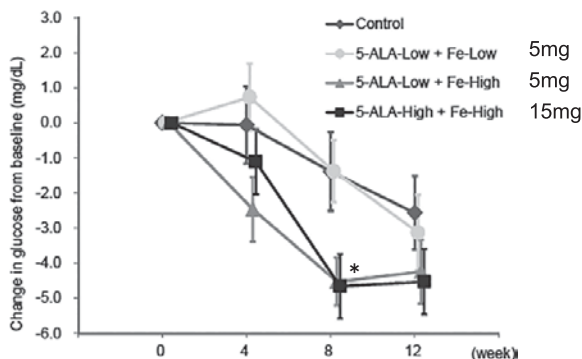


図2. 空腹時血糖の推移

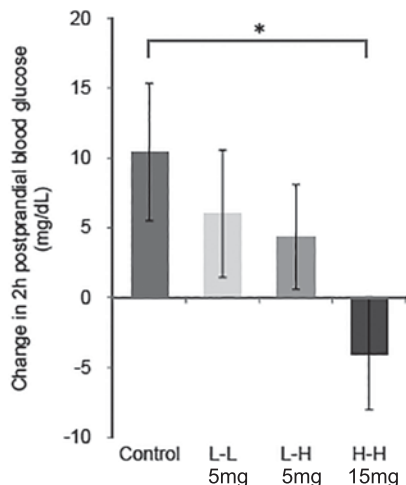


図3. 糖負荷試験の2時間値の改善効果

リン酸塩とクエン酸第一鉄ナトリウム (SFC) を組み合わせたサプリメントを開発し、広島大学の東川らと血糖値が高めだが治療に至らない糖尿病予備軍、いわゆる境界型糖尿病患者に対して二重盲検試験による食品の臨床試験を行った。

試験区は、プラセボ区、低5-ALAリン酸塩+低SFC投与区、低5-ALAリン酸塩+高SFC投与区、高5-ALAリン酸塩+高SFC投与区の4区とし、1区あたり50名が参加、12週間の投与と4週間の後観察を行った。結果、5-ALAリン酸塩の用量依存的に空腹時血糖とHbA1cの有意な改善を見た(図2)。加えて特筆すべきは糖負荷試験結果で、摂取前に耐糖性が悪い被験者ほど大きな改善効果が観察された⁵⁾(図3)。この結果は、学術誌Nutritionに掲載され、この結果に基づき機能性表示食品「アラプラス 糖ダウン」の届出が受理された(図4)。

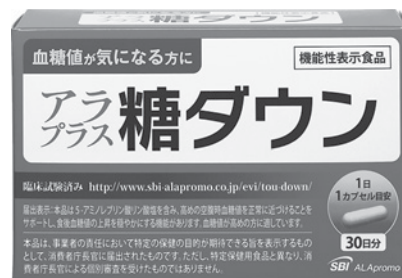


図4. アラプラス 糖ダウン. 機能性表示食品 (届出番号: A148)。

欧米人での効果を確認するためにハワイ大学のロドリゲスらと同様の境界型糖尿病患者に対する二重盲検試験による臨床試験を行い有意な結果を得た⁶⁾。本試験に参加したハワイ大学のシンタニらは、臨床試験参加の境界型糖尿病患者に睡眠や気分障害の改善が見られたことにヒントを得て、新たに二重盲検試験での臨床試験を行い睡眠障害が有意に改善すること、摂取中止で症状が元に戻ることを観察した⁷⁾。

一般に、糖尿病関係の食品では低血糖のリスクを把握しておく必要がある。筆者らは東京大学医科学研究所の山下らと経口糖尿病薬服用中の患者に対する安全性試験を行い、経口糖尿病薬と5-ALAリン酸塩含有サプリメントの併用による低血糖などの症状は見られず、十分に安全、かつ相加的な糖代謝改善効果を見いだした⁸⁾。

同じく加療中の患者に対するドーズエスカレーション試験をバーレーン陸軍病院で実施し、高濃度投与においても、高い安全性と有意な効果を確認した⁹⁾。

作用機序に関しては、京都府立大学の木戸らが二重盲検比較試験にて安静時の体温上昇を見いだした¹⁰⁾。

従来の糖対策サプリメントは腸管からの糖の吸収を阻害する作用機序であるが、5-ALAは体内に取り入れた糖の代謝、燃やす力を強化するものであり、まったく新たな作用機序と言えよう。

高齢化社会に向かい、健康寿命の延伸が課題となっている。信州大学の能勢らは高齢者の運動機能に対して5-ALAリン酸塩含有サプリメントを用いた二重盲検比較試験を行い、同一負荷時の酸素消費量、炭酸ガス発生量、血中乳酸値の有意な低下と自発運動量の顕著な増加を観察した¹¹⁾。5-ALAのミトコンドリア機能改善の結果と考えれば理解しやすいが、高齢者だけでなく、スポーツパフォーマンス向上や登山への応用などにも興味を持たれる。

美容分野でも、ミトコンドリアの活性向上は、細胞における代謝水の産生増加につながり、肌のみずみずしさを回復させることが期待される。実際に、5-ALAの肌に与える効果を検証したところ、水分含有量が増加し、また、保湿、弾力性の向上が見られた。筆者らが開発した5-ALAリン酸塩を配合した化粧品は、高い保水力や肌の弾力を保つとして市場で高い評価を得ている(図5)。



図5. アラプラス。左：エッセンシャルローション (150 ml)，右上：ボディークリーム アラビ (70 g)，右下：モイスチャライジングクリーム (25 g)。

さらに、5-ALAには強い育毛効果が知られており、育毛剤としての開発も期待される¹²⁾。

以上、5-ALAリン酸塩含有のサプリメントの臨床試験と機能性食品開発への経緯を紹介した。最終商品を用いた臨床試験によるエビデンスに基づいた機能性の紹介が、病気の予防や健康寿命の延伸に役立ち、医療費の削減にも役立てばと期待する。

5-ALAの作用機序と先制医療

動物試験で5-ALA投与によるミトコンドリアの電子

伝達系、とりわけ複合体IVの活性が上がりATPも上昇することはすでに述べたが、体内の5-ALA産生が下がるとミトコンドリア代謝異常は起こるのだろうか。山形大学の中島らはALA合成酵素(ALAS1)のノックアウトマウスの作製を試みたが胎生致死となり、得られなかった。一方の遺伝子だけをノックアウトしたハーフノックアウトマウスは正常に生まれ、一見、異常はないように見られたが加齢に伴い耐糖性異常を来した。しかし、このマウスに5-ALAを投与することで完全に回復した。また、アルツハイマー病で死亡した人の脳ALAS1 mRNAが低下していることも報告されており¹³⁾、北海道大学の鈴木らは5-ALAの投与がアルツハイマー病モデルマウスの症状を改善することを見いだしている¹⁴⁾。

これらのことから、5-ALA生合成の低下がミトコンドリアの機能を低下させさまざまな疾病につながることが予想される。インシュリン分泌の促進や感受性改善などの従来型の糖尿病薬は血糖値を下げるが、細胞内の糖の濃度が上がるためグルコース効果により5-ALA生合成が低下し、ミトコンドリア機能を低下させてしまう可能性があるため、5-ALAを補完する療法の検討が望まれる。また、酵素活性や遺伝子情報などで5-ALA産生やヘム合成が低い人をスクリーニングし、予防的に5-ALAを服用し発症を未然に防ぐような先制医療への展開も期待される。

5-ALAの医薬品開発

本題から外れるが、5-ALAの医薬品開発について簡単に紹介する。がん細胞はワールブルグ効果によりヘム合成が低下しており、解糖系でエネルギーを得ている。5-ALAの投与で正常細胞はヘムに代謝されるが、がん細胞ではヘムの前駆体にあたるプロトポルフィリンIX (PPIX)が蓄積する。PPIXは蛍光を示すため、がんの光線力学診断(PDD)に使用可能である。すでに、5-ALA塩酸塩が脳腫瘍の術中診断薬として実用化しており、膀胱がんや胃がん腹膜播種などへの適用拡大が進められている(図6)。また、PPIXは光照射で1重項酸素を生じ、がんを殺すことができるため、光線力学治療(PDT)に使用可能であり、海外では皮膚がんの治療薬として実用化されている。

5-ALA塩酸塩とSFCの合剤による代謝改善薬については、ミトコンドリア病の医師主導試験が進行中である。ミトコンドリア病は重篤な子供の病気であり治療薬のない難病であるため、結果に期待が集まっている。同剤を高用量投与するとヘムオキシゲナーゼ(HO-1)が誘導され強い抗炎症効果を示す。この作用機序による、抗が

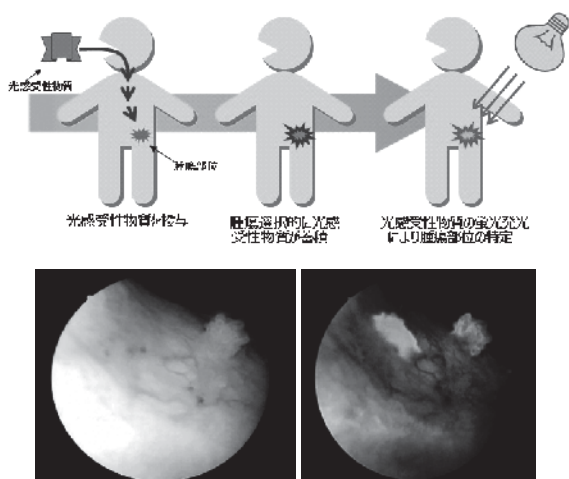


図6. 5-ALAを用いたPDD概念図と实例（膀胱がんの事例. 高知大学井上教授. 平坦病変は5-ALA-PDDでのみ検出可能である）.

ん剤誘起腎症改善剤や心臓バイパス手術時の虚血再環流障害軽減剤の臨床試験も開始される。

また、ユニークなところではヘムにより、成育が阻害されることが知られているマラリアに対する臨床試験も検討されている。

これら、医薬品にしなければ患者様に届けられない疾病の治療分野でも着実に開発は進んでいる。

おわりに

本稿ではヘムの出発物質である5-ALAを食品として摂取することで、ミトコンドリア機能、すなわち代謝を改善し糖尿病や脂質代謝など疾病の治療や予防に有効であることを示した。実は5-ALAは光合成を向上させる肥料として、また、魚の感染症を防ぐ飼料として、はた

また、がんを可視化する術中診断薬として実用化されている。

5-ALAについてさらに詳しく知りたい方は、東京化学同人『機能性アミノ酸 5-アミノレブリン酸の科学と医学応用（現代化学増刊45）』を参照されたい。

本稿の結びに質問を一つ、ミトコンドリア機能は寿命を決めると言われているが、5-ALAの投与でミトコンドリア機能を向上させれば寿命を延ばすことができるのだろうか？今後の研究の展開に注目したい。

文 献

- 1) Hayashi, J. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **269**, 6878 (1994).
- 2) Atemna, H. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14807 (2002).
- 3) Patemiti, J. R. *et al.*: *Arch. Biochem. Biophys.*, **191**, 792 (1978).
- 4) Ogura, S. *et al.*: *BMC Res. Notes*, **17**, 66 (2011).
- 5) Higashikawa, F. *et al.*: *Nutrition*, **29**, 1030 (2013).
- 6) Rodriguez, B. L. *et al.*: *Clin. Transl. Sci.*, **4**, 314 (2012).
- 7) Perez, M. H. *et al.*: *World J. Neurosci.*, **3**, 307 (2013).
- 8) Yamashita, N. *et al.*: *Funct. Foods Health Dis.*, **9**, 415 (2014).
- 9) Al-Saber, F. *et al.*: *J. Diabetes Res.*, **2016**, 8294805 (2016).
- 10) Okura, I. and Tanaka, T. ed.: *Aminolevulinic acid: Science, Technology and Application*, p. 109, Tokyo Institute of Technology Press (2011).
- 11) Masuki, S. *et al.*: *J. Appl. Physiol.*, **120**, 87 (2016).
- 12) Okura, I. and Tanaka, T. ed.: *Aminolevulinic acid: Science, Technology and Application*, p. 89, Tokyo Institute of Technology Press (2011).
- 13) Dwyer, B. E. *et al.*: *Neurosci. Lett.*, **460**, 180 (2009).
- 14) Omori, C. *et al.*: *Nutr. Neurosci.*, **1476**, 8605 (2016).