

セルフメディケーションに関するエビデンスの構築

—保険薬局薬剤師の視点から—

平成 25 年度

野 田 敏 宏

SUMMARY

[Purpose] In simple terms “self-medication” involves members of the public taking responsibility for their own health and treating slight disorders by themselves. Recently, many people, including patients with various diseases, have utilized a variety of supplements in order to practice self-medication. As a wide range of supplements are readily available in Japan, community pharmacists are required to contribute to the self-medication of patients by providing them with adequate instructions on the administration of supplements based on reliable evidence. However, limited information is available about the effectiveness and safety of supplements.

The purpose of this study was to investigate the awareness of patients with regard to supplements, to evaluate the quality of Coenzyme Q10 (CoQ10) products, one of the most popular supplements in Japan, and to assess the hepatic toxicity of the *Polygonum multiflorum* (PM) extract.

[Method] A questionnaire survey was carried out in 14 community pharmacies in Tokyo and Hokkaido. Responses were obtained from 1,253 patients and 289 community pharmacists. A qualification test of CoQ10 was used to assess the contents and elution behaviors in 25 products (4 tablets, 14 soft capsules, 5 hard capsules, 1 suspension, 1 granule) with three extraction methods, using 2-propanol as an extraction medium. A hepatic toxicity test of PM extract, using primary-cultured mouse hepatocytes, the release of lactate dehydrogenase (LDH) and cell viability was determined in the absence or presence of the PM extract and acetaminophen. In addition, liver functions parameters in mice were evaluated after the oral administration of PM extract and acetaminophen for 10 days.

[Results and Discussion] Although more than 50% of patients desired information on the effectiveness and safety of supplements from pharmacists, only 7.3% of pharmacists met these demands. The proportion of community pharmacists who were actively collecting information about supplements was approximately 30%, with their efforts mostly dependent on the Internet. The results from the questionnaire survey in this study suggest that there is a great disparity between the patients' needs and the response of pharmacists to these needs.

In 19 of the 25 CoQ10 products tested, more than 85% of the component was eluted into 2-propanol after simple grinding in a mortar. However, the elution from 6 products was

less than 50%. To attain an elution of CoQ10 of more than 85% in these 6 products, additional sonication or pre-disintegration in warm water followed sonication was necessary. These results suggest that the oral bioavailability of CoQ10 varies among products, leading to differences in the degree of effectiveness.

The release of LDH from primary-cultured mouse hepatocytes was significantly lower in the presence than in the absence of PM extracts. Although the addition of acetaminophen to mouse hepatocytes greatly enhanced the release of LDH, it was reduced in the presence of PM extract. Moreover, impaired liver function induced by the oral acetaminophen administration was recovered by the coadministration of PM extracts. All results obtained in this study strongly suggest that PM extract exerts a protective effect rather than a toxic effect on the mouse liver.

[Conclusion] The present study once again demonstrated the significance of establishing clear evidence for the usefulness of supplements in order to develop high quality self-medication.

目次

序 論.....	1
第 1 章 保険薬局薬剤師と来局患者のサプリメント類に関する意識調査.....	3
第 1 節 緒言.....	3
第 2 節 調査方法.....	4
第 1 項 調査対象.....	4
第 2 項 調査項目および調査方法.....	5
第 3 節 結果.....	8
第 1 項 アンケート回収状況および回答者内訳.....	8
第 2 項 サプリメント類使用に関する現状.....	8
第 3 項 来局患者の意識および満足度.....	10
第 4 項 薬剤師のサプリメント類に対する意識.....	10
第 4 節 考察.....	14
第 5 節 小括.....	16
第 2 章 コエンザイム Q10 サプリメントにおける薬剤学的検討.....	17
第 1 節 緒言.....	17
第 2 節 実験方法.....	18
第 1 項 方法.....	18
第 2 項 抽出法 1.....	20
第 3 項 抽出法 2.....	20
第 4 項 抽出法 3.....	20
第 5 項 定量法.....	20
第 3 節 結果.....	22
第 4 節 考察.....	24
第 5 節 小括.....	25
第 3 章 <i>Polygonum multiflorum</i> 抽出物のマウス肝臓に及ぼす影響の検討.....	26
第 1 節 緒言.....	26

第2節 実験方法.....	27
第1項 試薬および動物.....	27
第2項 <i>Polygonum multiflorum</i> 抽出液の調製.....	27
第3項 単離マウス肝細胞における <i>in vitro</i> 実験.....	28
第4項 <i>In vivo</i> における PM 抽出物の効果.....	28
第5項 病理組織学的研究.....	29
第6項 統計学的解析.....	29
第3節 結果.....	29
第1項 マウス肝細胞に対する PM 抽出物の効果.....	29
第2項 アセトアミノフェン誘発肝毒性に対する PM 抽出物の <i>in vitro</i> の効果.....	30
第3項 アセトアミノフェン誘発急性肝毒性に関する PM 抽出物の <i>in vivo</i> の評価.....	31
第4節 考察.....	34
第5節 小括.....	35
総括.....	36
謝辞.....	38
参考文献.....	39

略語表

- ALT : Alanine aminotransferase, アラニンアミノトランスフェラーゼ
- AST : Aspartate aminotransferase, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
- CoQ10 : Coenzyme Q10, コエンザイム Q10
- EBM : Evidence-based medicine, 根拠に基づいた医療
- FCS : Fetal calf serum, 牛胎児血清
- HBSS : Hank's balanced salt solution, ハンクスバッファー
- HEPES : 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid, ヘペス
- HPLC : High-performance liquid chromatography, 高速液体クロマトグラフィー
- LDH : Lactate dehydrogenase, 乳酸デヒドロゲナーゼ
- MCH : Mean corpuscular hemoglobin, 平均赤血球ヘモグロビン量
- MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration, 平均赤血球ヘモグロビン濃度
- MCV : Mean corpuscular volume, 平均赤血球容積
- OTC : Over the counter, 一般用医薬品
- PBS : Phosphate-buffered saline, 等張リン酸緩衝液
- PM : *Polygonum multiflorum*, カシュウ (ツルドクダミの根)
- PVDF : Polyvinylidene difluoride, ポリフッ化ビニリデン
- T-Bil : Total bilirubin, 総ビリルビン

序 論

現在、我が国は高齢化社会から超高齢化社会へと移りつつあり、2000年から2012年まで健康寿命延伸に向けて「健康日本21」が国、各都道府県、および市町村で推進された。そして2013年より新たに「健康日本21第2次」が告示され、¹⁾この告示前文中に「社会保障制度が持続可能となるように」という文言が加わっている。これは生活習慣病の発症予防に加えて、既に治療中の場合は重症化予防にこれまで以上に取組みなければいけないことを意味していると考えられる。特に糖尿病を中心とした疾病により透析患者数が増加している現況を考えると、重症化予防の徹底は、健康寿命の延伸や医療財政の圧迫の面からも喫緊の課題である。このような国や地域社会、またはメディアによる健康に対する啓発活動の結果、セルフメディケーションという考え方が浸透しつつある。

セルフメディケーションとは「自分自身の健康に責任を持ち、軽度な身体の不調は自分で手当てすること」と世界保健機構は定義しており、不足している栄養素をサプリメント類で補う、あるいは軽い症状の緩和や予防に一般用医薬品（OTC）や漢方薬を使用するなど、健康や医療に関して自らの判断で行うことである。近年、登録販売者制度の制定、医薬品のスイッチOTC化、さらにインターネットによる医薬品販売解禁へ向けて法制化の動きも加速しつつあり、益々セルフメディケーションに対する関心が高まっている。実際、多くの保険薬局で投薬業務中に患者からサプリメント類について質問を受けることが多くなった。市場に出回っているサプリメントの種類は膨大な数にのぼり、どこのメーカーの物が良いか、病院から処方されている薬と一緒に飲んで良いかなど、患者が選択に迷うのは当然のことと思われる。

このような患者の疑問に応えることは薬のプロフェッショナルと認識されている薬剤師の職責である。保険薬局の薬剤師は来局患者の健康に寄与するために、セルフメディケーションに関してサプリメント類に対する患者のニーズの把握と科学的根拠の理解、適正使用の指導・推進に取り組む必要がある。さらに、セルフメディケーションによる健康被害が出ないように、薬剤師はエビデンスに基づいた適切なアドバイスを行わなければならない。

しかし実際には、サプリメントや漢方薬等のエビデンスが乏しいため、適切なアドバイスを与えられないことも多い。そこで本研究においては、まずセルフメディケーションにおいて中心的役割を果たしているサプリメント類について患者の意識調査を行った。次に患者が必要としている情報の中から異なる2つの問題について科学的根拠の構築を試みた。この2つの問題はどちらも薬局薬剤師として患者と向き合う中から出てきた疑問を解決しようとしたものである。その1つがコエンザイム Q10 (CoQ10) のサプリメントの成分含有量および溶出性の製品間の比較である。もう1つがカシュウ [*Polygonum multiflorum* の根 (PM)] 抽出物製品による肝毒性の有無についての検討である。近年サプリメント類による肝障害が増加しているという報告²⁾があり、なかでも PM 抽出物製品の肝毒性について多数報告されている。³⁻⁹⁾ そこで本研究においては、PM 抽出物がマウス肝臓に及ぼす影響を *in vitro* と *in vivo* において検討した。

保険薬局薬剤師は来局患者のニーズに応える為にも、サプリメント類に対し科学的根拠に基づく理解を深め、医薬品との関連も含めた統合的管理を行う責務があると考えている。また、保険薬局薬剤師としては断片的であっても異なる視点からのエビデンス構築により患者利益につなげることができるのではないかと考えられる。これまでも保険薬局薬剤師がサプリメント類に関する断片的なエビデンスを構築した研究はあったが、使用者のニーズを把握し、エビデンス構築まで行った研究は報告されていない。本論文では、1) 保険薬局薬剤師と来局患者のサプリメント類に関する意識調査、2) CoQ10 サプリメントにおける薬剤学的検討、3) PM 抽出物の肝臓に及ぼす影響の検討について順に論述する。

本 論

第 1 章 保険薬局薬剤師と来局患者のサプリメント類に関する意識調査

第 1 節 緒言

近年、登録販売者制度の導入、医薬品のスイッチ OTC 化、インターネットによる医薬品販売解禁へ向けた法制化の動きなど、セルフメディケーションの推進が図られている。生活様式の欧米化に伴い、我が国でも生活習慣病の割合が増加の一途を辿っており、2000 年代から国の政策によって生活習慣病に対する予防策が講じられ始めた。¹⁰⁾ 国民の生活習慣病への関心が高まり、自己の健康を保持増進していくために、サプリメント類の使用を取り入れていくことは、個人・家族・地域の中で継続的に展開される医療であり、プライマリ・ケアの一端であると考えられる。

現在、日本におけるサプリメント類の市場規模はおよそ 1.5 兆円に達しているが、¹¹⁾ 「健康食品」という用語は法令上の定義がなく、厚生労働省では「広く、健康の保持増進に資する食品として販売・利用されるもの全般」と位置付けている。¹²⁾ その為、サプリメント類に関する情報には販売促進のために作り出した情報や恣意的に収集・解説された情報が散見され、^{13, 14)} その結果、消費者に過剰な期待を与えかねない表記や製品讃美に終始した広告が氾濫し、フードファディズム^{15, 16)} として問題視され、実際に健康被害や医薬品と相互作用が起こった例も報告されている。^{17, 18)}

保険薬局薬剤師は来局患者の健康に寄与するために、これら製品に対する使用者ニーズの把握¹³⁾ と科学的根拠の理解、適正使用の指導・推進に取り組む必要がある。このような現場での実情に則した情報構築の一環として、著者らはこれまでに CoQ10 含有サプリメント類についての問題点とその解決法について検討し、その成果を情報誌「あるたな」(健康食品情報研究会、季刊情報誌)にて報告してきた。¹⁹⁾

一方で、登録販売者やサプリメントアドバイザーなど薬剤師以外の職種がサプリメント類の説明に関与しているため、保険薬局薬剤師の職能の中にサプ

メント類に対する総合的な判断・指導が含まれることが来局患者に十分認識されていない。さらに、来局患者にはサプリメント類の使用状況に関して医療従事者へ「伝えるべき内容である」との意識は低く、そのため医療従事者にサプリメント類の使用の有無が伝わらないなど、患者・医療従事者間のコミュニケーション不足の問題²⁰⁾から薬剤師の職能を活かせていない可能性がある。

これまでのサプリメント類の使用に関連する先行研究として、サプリメント類の消費者による使用実態に関する報告^{21,22)}や、薬剤師の行動実態に関する報告²³⁾がある。しかし、患者の質問・期待に応えるための薬剤師による行為・情報収集が患者の期待通りのものであるかという視点に立った報告はない。そこで、本研究でサプリメント類に対する来局患者の意識や使用実態調査および薬剤師の行為・情報収集の実態に関する調査を行い、来局患者との意識と実態を比較した。また、本研究からサプリメント類の利用における保険薬局薬剤師の関わり方と問題点について考察を行った。

第2節 調査方法

第1項 調査対象

2008年3月1日から6月30日の期間に東京都内のまろんグループ保険薬局7店舗および北海道内7保険薬局〔十仁薬局、調剤薬局クスリのツルハ旭川日赤前店（以上、旭川市）、東明調剤薬局（帯広市）、水島薬局（岩見沢市）、二十四軒薬局、中村薬局、ひまわり薬局（以上、札幌市）〕に来局した患者のうち、同意の得られた患者に対しサプリメントに関するアンケート調査を実施した。

薬剤師のサプリメント類に対する意識調査については、上記アンケートを実施した保険薬局に勤務する薬剤師、および第58回北海道薬学大会（2011年5月、札幌）に出席した薬剤師を対象に行った。

第2項 調査項目および調査方法

来局患者におけるサプリメント類の使用状況と、医療職に対する期待を把握するため、アンケート用紙 (Fig. 1) を受付で配布し、その場で回収した。調査項目は、年齢、来局患者のサプリメント類に関する使用実態、サプリメント類に対する来局患者の意識および満足度、来局患者の抱くサプリメント類に関する情報提供者としての医療職の位置づけとした。サプリメント類の選定基準・使用目的については、サプリメント類の使用経験の有無に関わらず調査し、購入場所についてはサプリメント類使用経験者のみに質問した。

薬剤師に対しては、サプリメント類の使用に対する指導に関し、その情報源と収集実態の有無についてアンケート方式で調査した。調査項目は、年齢、性別、職種、来局患者がサプリメント類に関する情報提供者として期待する医療職の予想、来局患者からサプリメント類使用に関する問い合わせの有無、サプリメント類に関する情報収集先と活用の有無とした (Fig. 2)。

調査に際しては、目的、回答の自由意志の尊重、個人情報保護、学術目的以外では使用しない旨を説明し同意を得た。調査の内容および実施方法については、調査実施保険薬局内で充分討議を行い、厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」および「疫学研究に関する倫理指針」に沿ったものであることを確認した。



サプリメントに関するアンケート



1. 今までサプリメントを利用したことはありますか？ (ある ない)
2. サプリメントを「使う目的」、または「これから使いたいと思う目的」は？
()内に○を入れてください。(a.~h.は○で囲んでください。複数回答可)
() 病気の治療補助・予防 [a. 高血圧 b. 高血糖 c. コレステロール d. 目 e. 痛み
f. ストレス g. 免疫力 h. その他 _____]
() 能力アップ () 美容・ダイエット () 栄養バランス () その他 [_____]
() 使う予定はない
3. あなたがサプリメントを選ぶとしたら、ポイントは？
特に重要と思うものに○を入れてください。(複数回答可)
() 商品広告・コマーシャル () 新聞・雑誌の記事 TV 番組からの情報
() 製造メーカー () 本やインターネットで調べたこと
() 身近な人からの意見 () 価格
() 医療関係者の意見 () その他 [_____]
4. 体感できるサプリメントなら、1ヶ月どのくらいの費用をかけてもよいと考えますか？
(1000 円未満 5000 円位まで 1 万円位まで 2 万円位まで 2 万円以上でも)
5. サプリメントを購入する場合はどこから買いますか？○を入れてください。(複数回答可)
() ドラッグストア () 調剤薬局 () ネット通信販売 () 他の通信販売 () 知人
() その他 [_____]
6. サプリメントについて、どのような情報がほしいですか？
特にほしいと思うものに○を入れてください。(複数回答可)
() 効果の科学的根拠 () 副作用・安全情報
() 使い方 () 自分に合うサプリメントの提案
() 医薬品との飲み合わせ () その他 [_____]
7. その「サプリメントの情報」は現在あなたにとって満足ですか？
(十分満足 やや満足 どちらともいえない やや不十分 かなり不十分)
8. これまで、サプリメントについて薬剤師から情報を受けたことはありますか？(ある ない)
9. サプリメントについて、医療関係者から情報を受けたいと思いますか？(はい いいえ)
→「はい」の方、どのような医療関係者から受けたいですか？○を入れてください。(複数回答可)
() 医師 () 薬剤師 () 看護師 () 栄養士
() サプリメントアドバイザー () その他 _____
10. サプリメントについてのご意見や、薬剤師に望むことがあれば、ご自由にお書きください。
[_____]
11. あなたの年齢・性別について、よろしければご記入ください。
年齢:(10 代 20 代 30 代 40 代 50 代 60 代 70 代 80 代以上) 性別:(男 ・ 女)
ありがとうございました。

Fig. 1. Questionnaires Used in This Study (for patients)

来院者・来局者が抱く、「サプリメントに関する情報提供者としての医療職の位置づけ」に関し、医療従事者側の意識調査を行っています。お手数ですがご協力をお願いします。

Q1 来院者・来局者がサプリメントの使用に関して、情報提供を求める職種はどれだと思いますか？
当てはまるものに○をつけて下さい(複数回答可)

薬剤師	栄養士	医師	看護師	サプリメントアドバイザー
その他()				

Q2 来院者・来局者からサプリメントの使用に関して問い合わせを受けた経験がありますか？

有	→	→	→	その頻度はどのくらいですか？
無				ほぼ毎日 週に数回 月に数回 ごくたまに

Q3 指導する際に必要なサプリメントの情報をどこから得ていますか？
活用しているものに◎、知っているものに○をつけてください。(複数回答可)

ホームページ	国立健康栄養研究所
	メディックナビ
	健康食品ナビ [東京都福祉保健局]
	厚生労働省 (保健機能食品・健康食品関連情報など)
	TOP/NET薬情報 [東海四県薬剤師会]
その他ホームページ()	

書籍	スキルアップのためのサプリ・トクホ相談Q&A [静岡県薬剤師会]		
	サプリメントアドバイザー養成講座テキスト [日本ニュートリション協会]		
	サプリメント健康バイブル [NPO日本サプリメント協会]		
医療系雑誌	日経DI	ファーマネクスト	ファーマビジョン
	薬局	Rp (レシピ)	
その他書籍()			

その他	TV番組 (ためしてガッテンなど)	検索サイトから随時拾ってくる
	自分の体験談	患者/知人の使用感・体験談
	製造・販売メーカー、MR	サプリメントアドバイザー認定講座資料
	あるたな	その他()

Q4 最後に、あなた御自身についてお聞かせください。

年齢	20代	30代	40代	50代	60代
----	-----	-----	-----	-----	-----

性別	男性	女性
----	----	----

就業内容	医療従事者	研究職	その他		
職種	薬剤師	医師	看護師	医療事務	その他()
勤務場所	病院	薬局・ドラッグストア	その他()		
業務	投薬業務	調剤	OTC販売	外来	入院病棟
	その他()				

ご協力、ありがとうございました。 十仁薬局

Fig. 2. Questionnaires Used in This Study (for pharmacist)

第3節 結果

第1項 アンケート回収状況および回答者内訳

保険薬局に来局した患者から得たアンケート総数は、1,253名（男性323名、女性817名、性別未回答113名）であった。年齢分布をTable 1に示した。一方、意識調査で回答が得られた薬剤師は289名であった。そのうち、サプリメント類に対する情報収集に関する調査では、薬剤師130名から回答を得た。

第2項 サプリメント類使用に関する現状

アンケートに回答した来局患者のうち、サプリメント類の使用経験者は47.3%であり、10-19歳と80歳以上の患者で使用経験者の割合がやや低い傾向がみられたものの、年齢間で大きな違いはみられなかった（Table 1）。来局患者がサプリメント類を選ぶ際のポイントとする情報は多岐にわたっていたが、主として、他者の意見を聞いてから購入・使用する傾向が認められた（Fig. 3a）。その使用目的の1位は「栄養バランス」（36%）であり、2位は「病気の治療補助・予防」（22%）であった（Fig. 3b）。購入先の1位はドラッグストア（67%）で、2位は保険薬局（34%）であった（Fig. 3c）。

Table 1. Ratios of Supplements Use among Patients

Age (year)	Experience of Using Supplements		Total (n)	Ratios of Supplements Use among Patients (%)
	Yes (n)	No (n)		
10-19	18	37	55	32.7
20-29	62	62	124	50.0
30-39	189	161	350	54.0
40-49	107	114	221	48.4
50-59	73	98	171	42.7
60-69	72	84	156	46.2
70-79	49	74	123	39.8
80-unknown	8	19	27	29.6
unknown	15	11	26	57.7
Total	593	660	1253	—
Average	—	—	—	47.3

Lectotype of supplements

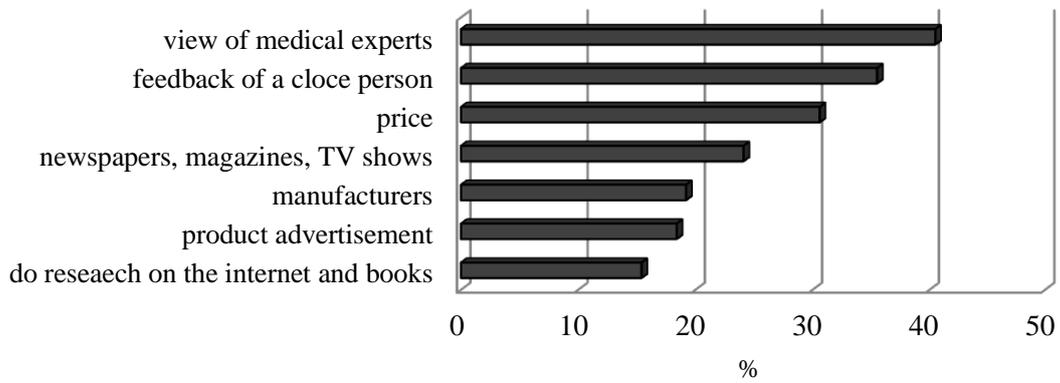


Fig. 3a. Tendency of Supplement Use in Patients

Intended purpose

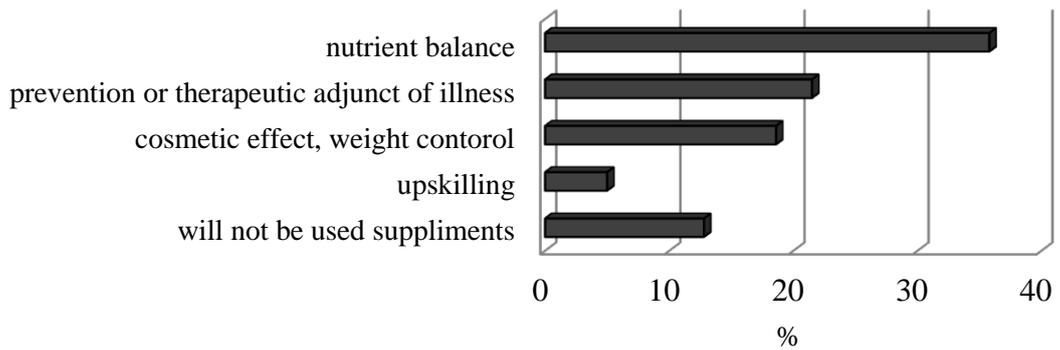


Fig. 3b. Tendency of Supplement Use in Patients

Purchase place

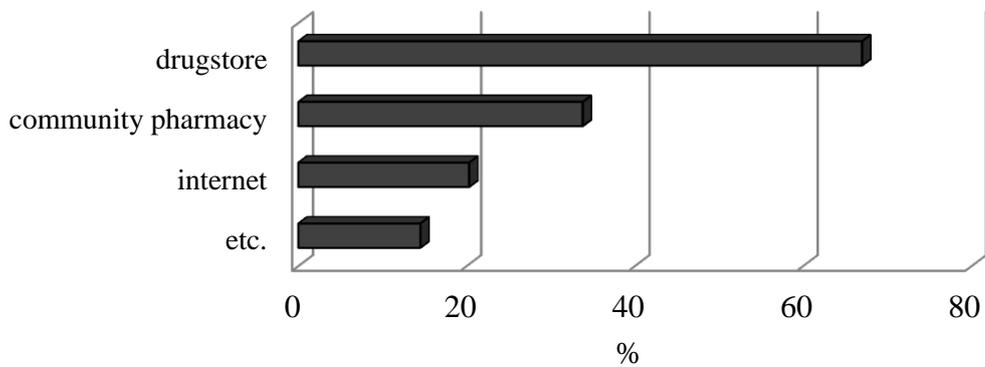


Fig. 3c. Tendency of Supplement Use in Patients

第3項 来局患者の意識および満足度

来局患者が希望するサプリメント類に関する情報は、特に副作用・安全性に関する内容や期待される効果の科学的根拠といったことが挙げられた (Fig. 4a). また、サプリメント類の情報に対する満足度は、「十分満足」および「やや満足」と回答した割合は合わせて約 22%であった (Fig. 4b). サプリメント類を購入する際、医療関係者から情報を受けたいと希望する来局患者は 64%にのぼり、その中で「薬剤師から」の希望は約 80%と最も高かった (Fig. 4c, Fig. 4d). 一方で、薬剤師から説明を受けたことがあるかを尋ねたところ、実際に説明を受けたことのある患者は 7.3%に過ぎなかった (Fig. 4e)

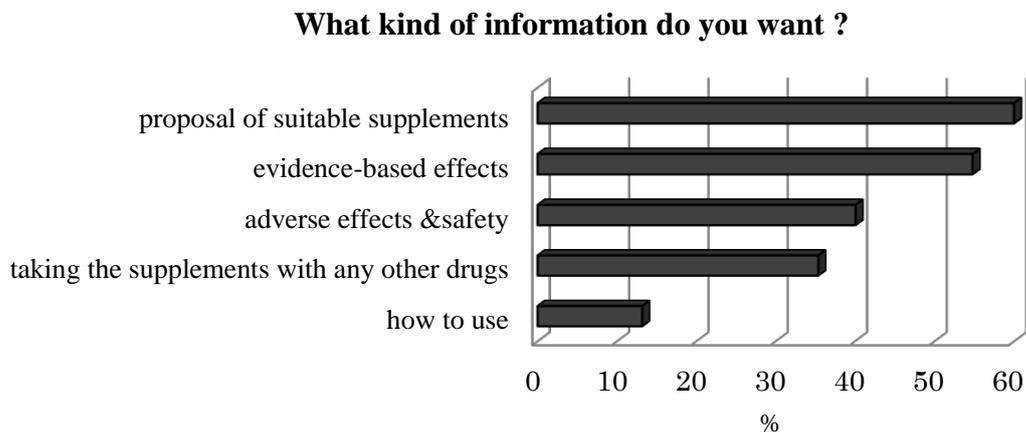


Fig. 4a. Expectation and Satisfaction Levels of Patients to Supplements

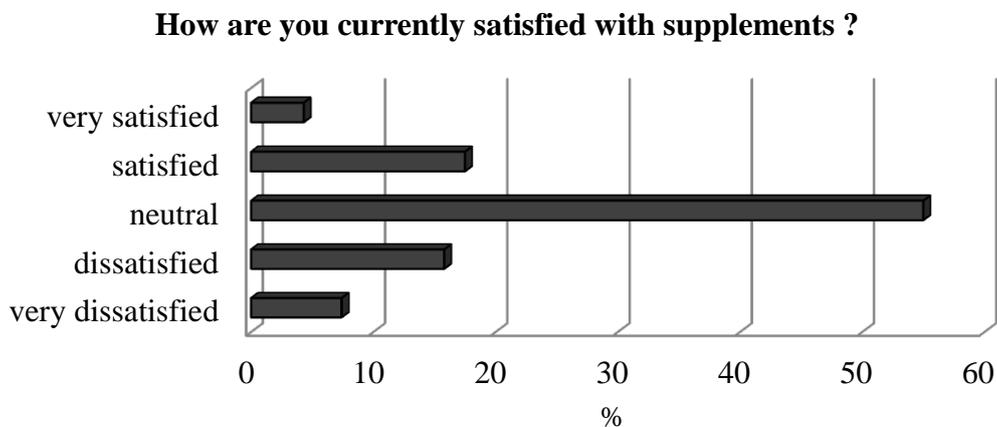


Fig. 4b. Expectation and Satisfaction Levels of Patients to Supplements

Do you want to get information about supplements from health care providers ?

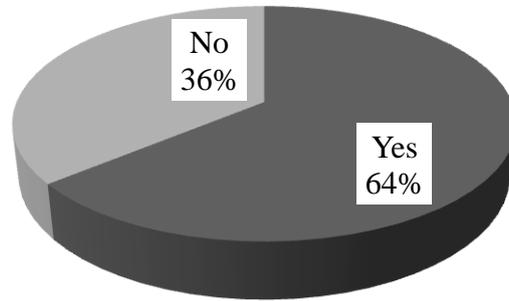


Fig. 4c. Expectation and Satisfaction Levels of Patients to Supplements

If “yes”, from whom do you want to get information about supplements ?

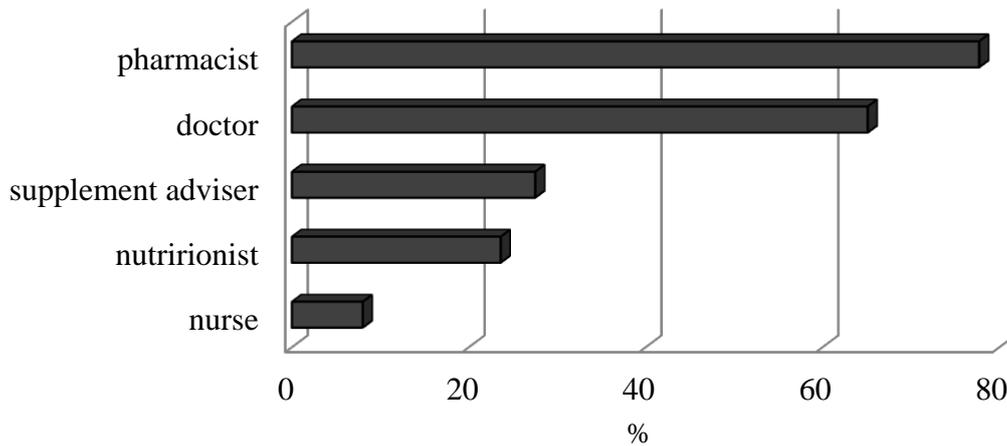


Fig. 4d. Expectation and Satisfaction Levels of Patients to Supplements

Have you ever been explained by pharmacists about the use of supplements ?

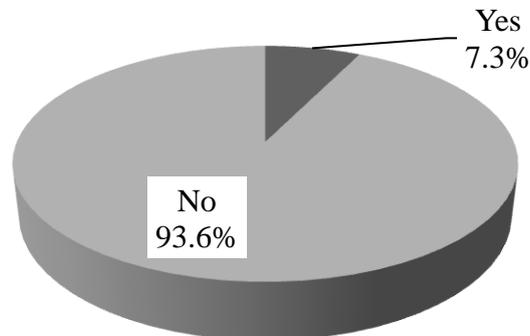


Fig. 4e. Expectation and Satisfaction Levels of Patients to Supplements

第4項 薬剤師のサプリメント類に対する意識

薬剤師に対する意識調査で、調査対象となった薬剤師の約65%が「来局患者が情報提供を求める職種」として「薬剤師」と回答した (Fig. 5a).

サプリメント類に対する知識を得るための方法を知っていると回答した薬剤師は95%であり (Fig. 5b), 「医療系雑誌 (日経DI, 薬局等)」, 「厚生労働省のホームページ」からの情報が上位に挙げられた (Fig. 5c). 一方, 実際に情報収集を行っていると回答した薬剤師は約30%であり (Fig. 5d), その方法としては「検索サイトから随時拾ってくる」という回答が1位に挙げられた (Fig. 5e).

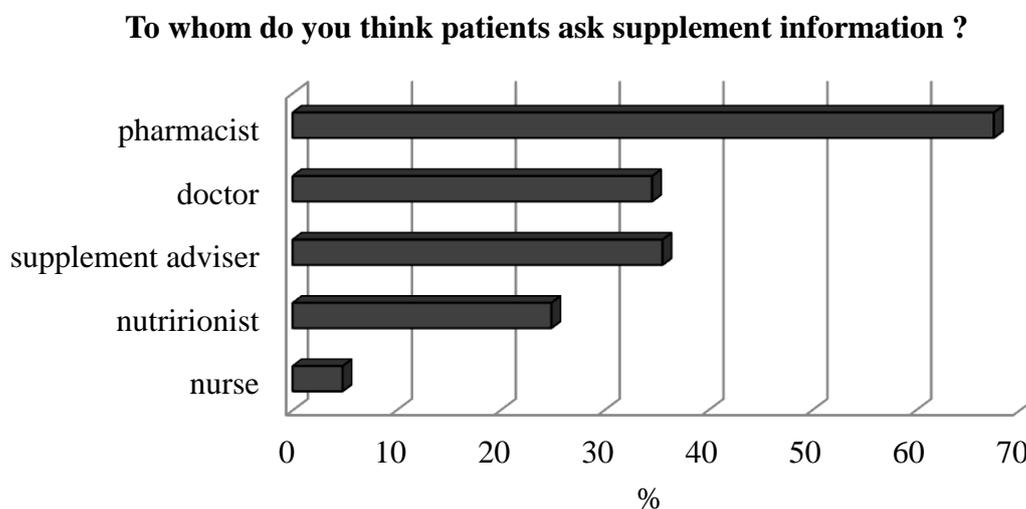


Fig. 5a. Consciousness Survey to Pharmacists about Supplements

Do you know the sources of supplement information ?

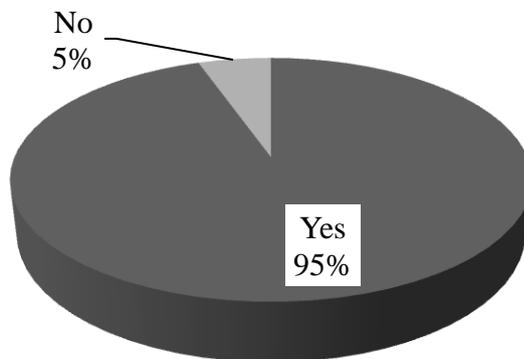


Fig. 5b. Consciousness Survey to Pharmacists about Supplements

**What kinds of resources of supplement information do you know ?
(n=130, multiple answers allowed)**

1 st	Nikkei DI (Nikkei Business Publications, Inc.)	50.0% (n=65)
2 nd	Search site	45.4% (n=59)
3 rd	The Journal of Practical Pharmacy (NANZANDO Co., Ltd)	37.7% (n=49)
4 th	The web page of Ministry of Health, Labour and Welfare	30.8% (n=40)
5 th	TV show	23.1% (n=30)
6 th	Manufacturers, MR	21.5% (n=28)

Fig. 5c. Consciousness Survey to Pharmacists about Supplements

Are you actually collecting supplement information ?

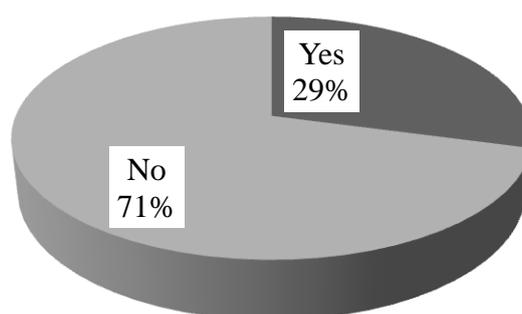


Fig. 5d. Consciousness Survey to Pharmacists about Supplements

What is the resource you utilize actually ? (n=130, multiple answers allowed)

1 st	Search site	18.5% (n=24)
2 nd	Manufacturers, MR	6.2% (n=8)
3 rd	The web page of Ministry of Health, Labour and Welfare	5.4% (n=7)
4 th	Nikkei DI (Nikkei Business Publications, Inc.)	4.6% (n=6)
5 th	Kenkousyokuhin navi (Bureau of Social Welfare and Public Health, Tokyo Metropolitan Government)	3.8% (n=5)
6 th	National Institute of Health and Nutrition	3.1% (n=4)
6 th	Own experience	3.1% (n=4)

Fig. 5e. Consciousness Survey to Pharmacists about Supplements

第4節 考察

本研究では、来局患者および薬剤師のサプリメント類の使用意識や実態に関して調査を行い、これまで報告の無かったサプリメント類の利用における来局患者のニーズと保険薬局薬剤師の関わり方における問題点の抽出を試みた。

実施したアンケート調査において、サプリメント類を利用したことのある来局患者は48%であり、その購入場所に関しては「ドラッグストア」が最も多く、次に「保険薬局」が挙げられた。これら上位2か所は薬剤師が勤務する場所であり、その職能の発揮が期待できる。これを裏付けるように、来局患者がサプリメント類を選ぶ基準として「医療関係者の意見」を支持する割合が最も多く、自ら本などで調べたり、商品広告を参考にするよりも、専門家や使用者の意見を重視する傾向にあることが示唆された。

来局患者が希望するサプリメント類の説明内容で多数を占めたのは、「副作用・安全性情報」ならびに「効果の科学的根拠」であった。これらは保険薬局内での調査という点から、薬剤師の専門職能への期待が反映されていることに加えて、サプリメント類の利用者は何らかの疾患を抱えていることが多いと推測される。²⁴⁻²⁶⁾ また、今以上の健康増進を求めてサプリメント類を使用する時にも、より詳細で正確な情報を有している薬剤師への期待度は高いものと考えられる。

以上のような薬剤師に対する期待がありながら、サプリメント類の情報に対する満足度の調査では、「十分満足」と「やや満足」の回答率は、わずか2割にとどまり、約8割の来局患者は十分な満足感を得られていなかった。来局患者がサプリメント類を購入する際、情報提供を求める職種としては「薬剤師」が最も高く、さらに「自分に合うサプリメントの提案」を希望している回答が約4割に上った。しかし、実際に薬剤師から説明を受けたことのある来局患者は7.3%と極端に低いことから、「薬剤師からサプリメントの説明を受けたい」という、来局患者の持つ潜在的なニーズを活かせていないことが示唆される。このように、薬剤師の職能として期待されているサプリメント類に関する情報提供について、現状の薬剤師の職務行為との乖離を埋めるために、まず薬剤師側の意識改革・教育が必要不可欠であると考えられる。

朝比奈らの調査報告¹⁹⁾によると、薬剤師にとって最も不足していると考えられる健康食品の情報は「医薬品との相互作用」であり、来局患者のニーズとしても高い傾向（約 35%）にあることが本調査にて示された。薬剤師がサプリメント類に関する指導・説明を行うためには、これらに関する情報を薬剤師自ら収集・学習する必要がある。しかしながら、サプリメント類に関する情報源については約 95%の薬剤師が知っているという回答し、日経 DI のような医療系雑誌や厚生労働省ホームページが情報源の上位に挙げられているものの、これらを実際に利用しているという回答した薬剤師の割合は 5%程度に過ぎなかった。その一方で検索サイトから調べているという回答した薬剤師は 18%に上った。このようにサプリメント類に関する情報収集を積極的に行っている薬剤師は非常に少なく、情報源がエビデンスに基づいているかどうか不明なインターネット上の情報に頼っているのが現状であることが示された。

現代社会においてインターネットによる情報収集は一般的な行為となっているが、薬剤師も同様の手法で情報収集を行っているのでは、その職責を果たすために必要な情報収集を行っているとは言い難い。また、コマーシャルイズムが関与した企業からの情報にも影響されると、サプリメント類の原料のトレーサビリティ体制の確保や EBM に基づいた効果の担保、フードファディズムの排除などが不完全になると考えられる。

サプリメント類の使用はセルフメディケーションやプライマリ・ケアの一端であり、使用者は対面販売の他にインターネットを含む通信販売などでも容易に入手・使用することができる。特に通信販売では、自身が受けている治療、服用している医薬品等について販売者側に通知すること無しに購入することができるため、逆に健康被害を生み出してしまう危険性をはらんでいる。本研究の結果から、薬剤師が来局患者に積極的にサプリメント類の使用を質問して治療薬との併用・安全性の確認を行うと共に、エビデンスに基づくサプリメント類の選択・変更の提案を行うことで、来局患者が安心して安全にサプリメント類を使用できる環境を作っていくことが、今後のプライマリ・ケアを担う保険薬局薬剤師の職責であると考えられる。

第5節 小括

本研究から、来局患者は薬剤師にサプリメント類の安全性や効果についての情報提供を望んでいるものの、実際には薬剤師が来局患者の疑問に答えている例は非常に少ないことが明らかとなった。この期待に応えるためには、薬剤師は科学的な視点から質の高い情報の収集が必要不可欠である。しかし、多くの薬剤師は現在、エビデンスに基づくサプリメント類の情報収集には着手していないのが現状である。

今後、サプリメント類の安全性や効果に関する「情報」を重視する消費者意識を満たすためにも、製品パッケージや広告などからでは得にくい情報の積極的提供により、患者のサプリメント類の適切な選択と使用を支援していくことが重要である。そのためにも質の高い情報収集に積極的に取り組んでいくことが、薬剤師としてプライマリ・ケアの前線に立ち、その責務を果たすために必要である。

第2章 コエンザイム Q10 サプリメントにおける薬剤学的検討

第1節 緒言

近年、健康食品の市場規模は年3~5%程度ずつ拡大しており、平成23年度の一般用医薬品の9400億円を超える約1.5兆円となっている。加えて、「今後購入を検討している」といった「潜在的市場規模」はこの2倍以上であると考えられている。¹¹⁾ この健康食品のブームの陰で、大量に使用されるようになった健康食品による健康被害が懸念されていたが、バイアグラ[®]の成分であるシルデナフィルクエン酸塩や痩身薬であるシブトラミンが健康食品から検出された事例²⁷⁾ や、健康被害が実際に発症している事例²⁸⁾ も報告されている。第1章で行ったアンケートの結果より、一般市民におけるサプリメントの購入元は薬局・ドラッグストアが大半を占め薬剤師がその購入に立ち会い適切に指導できる環境にあるが、薬剤師が一般消費者に健康食品を勧める際の情報は不足しているのが現状である。今後インターネットによる医薬品販売が解禁されれば、薬剤師としての関わり方には抜本的で柔軟な変化が求められる。

現在市販されている健康食品には、錠剤、カプセル剤など、医薬品と同一の剤形になっているものが多い。本来の食品であればその味や香りによりその素材の善し悪しがある程度把握できるが、製剤化された場合、その品質は実際に服用して効果が現れるまで不明である。医薬品では品質が日本薬局方や医薬品製造指針などにより公的に管理されているが、健康食品においては製造会社の自社規格に止まっており、現場の薬剤師や一般消費者が品質を確認することは困難である。「サプリメント大国」と称される米国では、健康食品に関する一般消費者の目は厳しく、例えば ConsumerLab.com (<http://www.consumerlab.com>) ではサプリメントの品質を消費者の立場で分析し、結果をインターネットで公開している。米国でサプリメントとして販売されているハーブの中で最も売上げが多いエキナセアでは、59種類の製品のうち、内容量が表示どおりだったものは約半数で、含有成分を検出できなかった製品が10%あった。²⁹⁾ したがって、健康食品における品質の差は、薬剤師がそれらを販売する上では重要な情報といえる。

サプリメント類が流行し始めた時期に、著者が薬局で最も多く質問を受けたものの一つに CoQ10 がある。CoQ10 は、1957 年に初めて牛の心筋から結晶として分離され、心筋ミトコンドリアの電子伝達系に局在してエネルギー産生に重要な役割を果たし、うっ血性心不全症状の改善薬として使用されている医薬品である。³⁰⁾ 食品材料として CoQ10 の使用が許可されると、エネルギー産生に関わる他に抗酸化物質としても作用するなど、その広い有用性から健康食品としての売り上げが増大し、市場で品薄になるほどの人気素材になった。CoQ10 は脂溶性が高く、消化管からは主にリンパ系を介して吸収されると推定されているが、経口投与後、投与量の約 90% が糞便中に排泄される難吸収性の物質である。²⁸⁾ このような成分は、製剤中に成分が正確に含まれていても製剤の崩壊性や製剤からの CoQ10 の溶出性の差異により、CoQ10 のバイオアベイラビリティが大きく異なる可能性がある。しかもその溶出性は、CoQ10 の脂溶性の高さから日本薬局方に定められた溶出試験法により評価することが困難とされている。³⁰⁾ そもそも CoQ10 をはじめサプリメント類に関して含量や安定性を保証するための法的規制は存在せず、この点も高品質の CoQ10 サプリメント類を選択するのを困難にしていると考えられた。そこで本研究では、国内で入手可能なサプリメントにおける CoQ10 の含量とその溶出性について、3 種類の抽出方法を用いて比較した。

第 2 節 実験方法

第 1 項 方法

薬店あるいはインターネットを介して、CoQ10 を含むいわゆる健康食品を日本国内市販品 20 種類、米国市販品 5 種類を購入した。Table 2 に、本研究で使用したサンプルの剤型、1 単位あたりの CoQ10 含量、1 回あたりの服用量を各サンプルのラベルに記載された通りに列記した。比較対象品として、先発医薬品であるノイキノン[®]錠（エーザイ株式会社、東京）と、ジェネリック医薬品

であるカイトロン[®]錠（沢井製薬株式会社，大阪）を使用した．また，標準品として Sigma-Aldrich Inc.（St. Louis, MO, USA）の CoQ10 を使用した．

Table 2. List of CoQ10 Samples Used in This Study

Samples	Type of formulation	Dosage form	Content/unit (mg)	Daily intake (mg)
Neuquinon [®]	CoQ10 alone	Tablet	10	30
Kaitron [®]	CoQ10 alone	Tablet	10	30
A	CoQ10 alone	Tablet	20	20~60
B	CoQ10 alone	Soft capsule	30	60
C	CoQ10 alone	Soft capsule	50	No description
D	with vitamin	Tablet	1	10
E	with vitamin	Tablet	16.7	67~100
F	with vitamin	Granule	30	30
G	with vitamin	Soft capsule	20	20~180
H	with vitamin	Soft capsule	30	30
I	with vitamin	Soft capsule	30	30~60
J	with vitamin	Hard capsule	30	30~60
K	with vitamin	Soft capsule	60	60~120
L	with herbal medicine	Soft capsule	10	30~60
M	with vitamin and herbal medicine	Tablet	5	10
N	with vitamin and herbal medicine	Soft capsule	10	30
O	with vitamin and herbal medicine	Soft capsule	15	30
P	with vitamin and herbal medicine	Soft capsule	30	90
Q	with vitamin and herbal medicine	Soft capsule	30	60~120
R	with vitamin and herbal medicine	Soft capsule	30	60
S	with vitamin and herbal medicine	Soft capsule	60	60~240
T	with vitamin and herbal medicine	Hard capsule	30	30~270
U	CoQ10 alone	Suspension	30 mg/mL	30~60
V	CoQ10 alone	Soft capsule	30	30
W	with vitamin	Hard capsule	60	60~120
X	with herbal medicine	Hard capsule	30	120~240
Y	with herbal medicine	Hard capsule	100	100~200

Samples A-T were commercially available in Japan whereas samples U-Y were obtained from USA by Internet sales. Daily intake shows the amounts presented on the label of each sample.

第2項 抽出法1

錠剤、顆粒剤、軟カプセル剤の場合は乳鉢・乳棒で粉碎し、一方硬カプセル剤の場合は開封した後、CoQ10濃度がラベル記載量から約1 mg/mLとなる容量の2-プロパノールを加え、激しく攪拌することにより各サンプル中からCoQ10を抽出した。その抽出液を1,500 gで5分間遠心し、上清を分取した。残留物に対してさらに同様の操作を2回繰り返す、全抽出液を合わせ、試料溶液とした。

第3項 抽出法2

抽出法1で十分な測定値が得られなかったサンプルについて、錠剤または顆粒剤を乳鉢・乳棒を用いて細末とした後、2-プロパノールを加え、超音波処理を30分間行うことでCoQ10を抽出した。その抽出液を1,500 gで5分間遠心し、上清を分取した。残留物に対して同様の操作を2回繰り返す、全抽出液を合わせて試料溶液とした。

第4項 抽出法3

抽出法2でも十分な測定値が得られなかった錠剤について、水を10 mL加え、50°Cで2時間浸潤させることにより錠剤を完全に崩壊させた。懸濁状態となったサンプル液に30 mLの2-プロパノールを加えて激しく攪拌し、1,500 gで5分間遠心し、上清を分取した。残留物に対してさらに2-プロパノールを加えて抽出する操作を2回繰り返す、全抽出液を合わせて試料溶液とした。

第5項 定量法

標準溶液には、Sigma-Aldrich社のCoQ10約10.0 mgを精密に量り、2-プロパノールに溶かして正確に10 mLとし、それを2倍ずつ2-プロパノールで段階希釈したものを使用した。試料溶液および標準溶液を、次に示す分析条件でHPLCにより定量した。

HPLC 装置 : SCL-10A_{VP} システム (ポンプ ; LC-10AD_{VP}, 検出器 ; SPD-10AV_{VP}, カラムオープン ; CTO-10AS_{VP}, オートインジェクタ ; SIL-10AD_{VP}, 島津製作所, 京都), 分析カラム : Inertsil ODS-2 (4.6×250 mm, GL サイエンス, 東京), 移動層 : メタノール/2-プロパノール (1 : 1), 流量 : 1 mL/min, カラム温度 : 40°C, 検出波長 : 275 nm.

標準品の CoQ10 は, 溶出時間 8.7 分にシングルピークを認めた. 標準溶液におけるピーク面積の日内相対標準偏差は 1% 以下であり, 0.0150-0.963 mg/mL の範囲で直線性の良好な検量線 ($r^2 > 0.999$) が得られた. 定量は絶対検量線法により行った. 各サンプルにつき 3 種類の試料溶液を調製し, その平均値を算出した. Fig. 6 に CoQ10 製品から得られた典型的なクロマトグラム の例を示した.

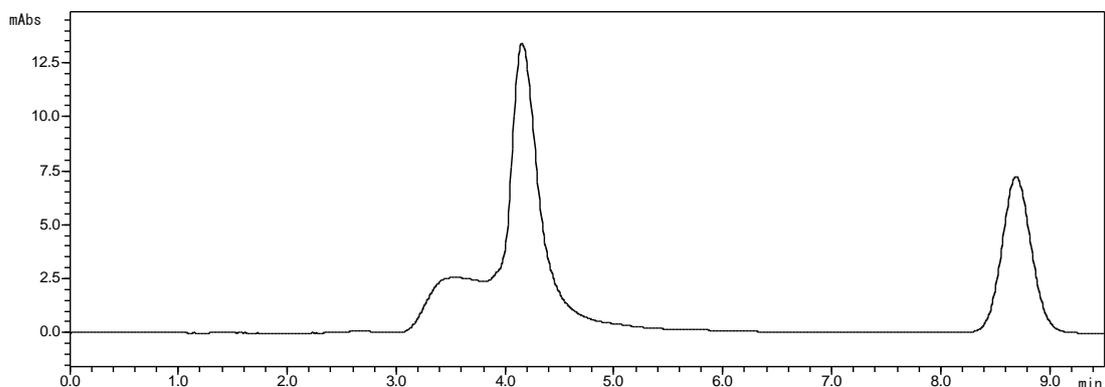


Fig. 6. Typical HPLC Chromatogram Obtained from a Compounding Agent of Vitamin and Herbal Medicine

第3節 結果

本研究に用いた CoQ10 を含有するサプリメント（国産製品 20 種類，米国産製品 5 種類）は，日本国内で簡単に購入できる市販品である．Table 2 に示すように，ラベルに記載された一日摂取目安量は，最小の製品が 10 mg，最大が 270 mg と 27 倍の差があり，剤形も錠剤，顆粒剤，カプセル剤，懸濁剤と多岐にわたっていた．

各製剤について，抽出法 1 により試料溶液を調製した結果，医薬品であるノイキノン[®]錠とカイトロン[®]錠は，それぞれ 1 錠に含まれる CoQ10 のうちの 87.8%，97.4% が 2-プロパノールへと移行し，本抽出法が錠剤に含まれる CoQ10 の定量に適用できることを確認した．

抽出法 1 による結果を Fig. 7 に示す．サンプル A, D, E, F, M, N を除いたサンプルからは，85%以上の溶出率が認められ，ラベル表示量と含量とはおおむね同一であったが，サンプル A, D, E, F, M, N の溶出率はラベル表示量の 23-70%という測定結果であった．これらの製剤は，乳鉢・乳棒で粉末化しても 2-プロパノールへの溶出が不十分である可能性が考えられたため，製剤粉末の懸濁液を超音波処理を施す方法（抽出法 2）で試料溶液を調製し，測定した．その結果，顆粒剤 F と軟カプセル剤 N でそれぞれラベル表示値の 87.6%，85.2%の含量を実測したことから，これらの成分含量には問題ないと考えられた．しかしながら，サンプル A, D, E, M では抽出法 2 でも 31-77%の値しか得られなかった（Fig. 8）．サンプル A, D, E, M はすべて錠剤であるため，錠剤を粉末にして超音波処理を施したとしても成分の溶出が不十分である可能性が考えられたことから，錠剤を水とともに加温して賦形剤ごと崩壊させ，2-プロパノールで抽出する方法（抽出法 3）を行うことにより試料溶液を調製して測定した．その結果，ラベル表示量の 84-97%の含量を実測できた．したがって，すべてのサプリメントで成分含量に虚偽はないと考えられたが，錠剤・顆粒剤からの成分の溶出性には著しい違いがあることが明らかになった．

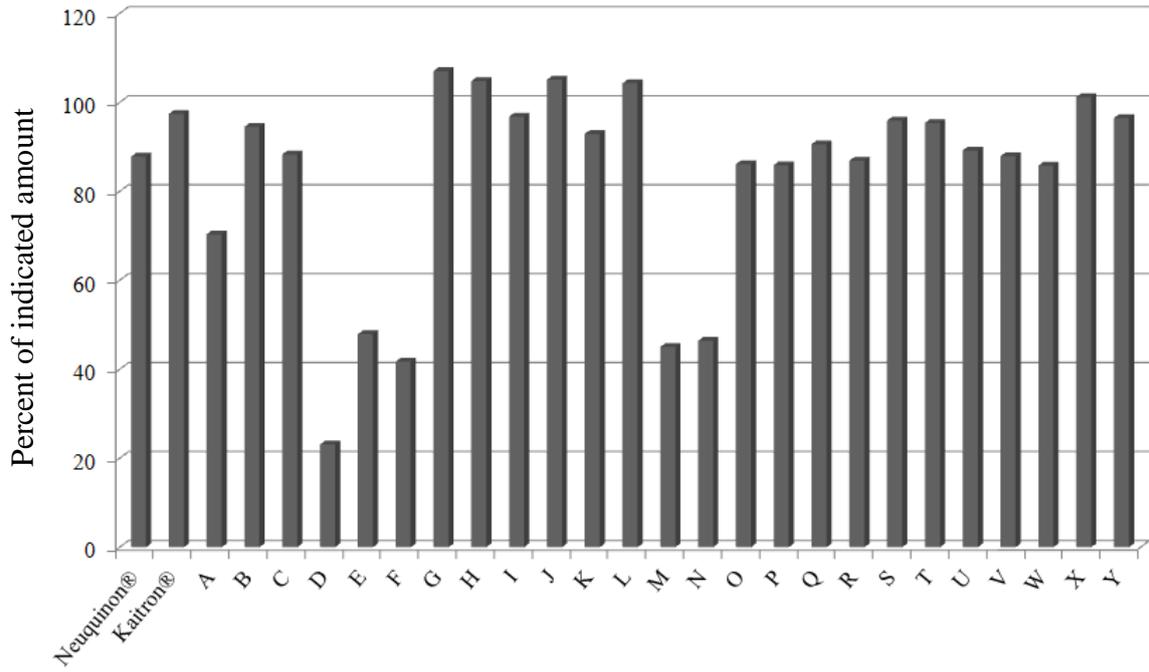


Fig. 7. Elution of CoQ10 from 27 Samples by Extraction Method 1

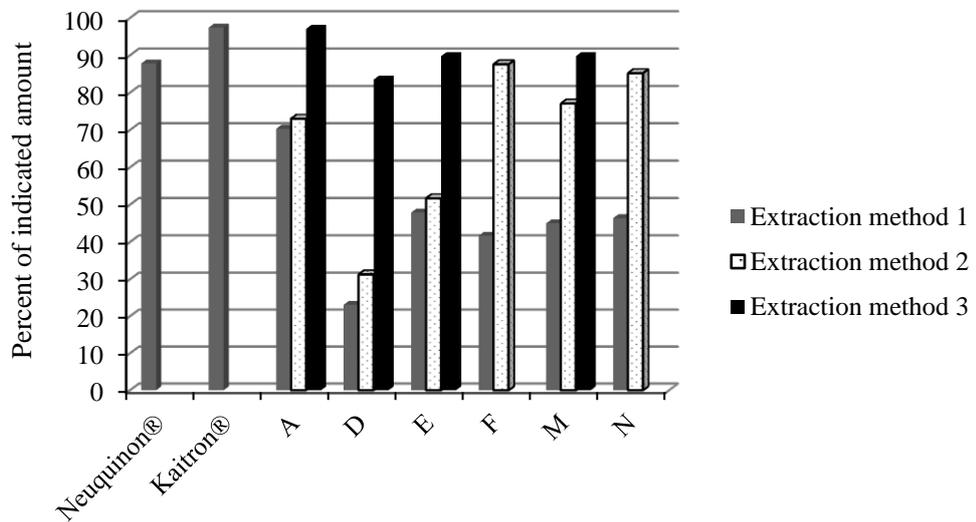


Fig. 8. Comparison of CoQ10 Elution from 8 Samples by Three Extraction Methods

第4節 考察

本章における研究では、サプリメントにおける代表的な例である CoQ10 を取り上げ、各製品のラベルに記載された含量の正確さと、その成分の溶出性について検討した。その結果、錠剤からの CoQ10 の溶出性は各サプリメント間で著しく異なることを示唆する結果が得られた。軟カプセル剤や懸濁剤では医薬品と同等であったが、本研究では物理的にカプセル剤を開封して内容物を抽出しているため、カプセルの消化管内での崩壊については不明である。このような CoQ10 サプリメントにおける成分の溶出性の差は、そのバイオアベイラビリティに大きく影響すると考えられた。CoQ10 は、医薬品と同一の成分でもあり、サプリメントとして一時は日本国内で品薄になったほどの人気素材である。もともとは医薬品として先発医薬品のノイキノン[®]錠のほか、ジェネリック医薬品も数十種類販売されている。医薬品として販売される CoQ10 製剤は、国が定めた日本薬局方および医薬品製造指針に従って製造されており、ジェネリック医薬品には先発医薬品であるノイキノン[®]錠と生物学的同等性が求められるが、いわゆるサプリメントについては販売者の自社規格でのみ品質が管理されている。薬剤師が CoQ10 含有サプリメントを販売する上では、自らがそれらの製品ごとの品質を把握する必要がある。

本研究に用いた CoQ10 含有製品のラベルに記載されていた1日あたりの目安摂取量は、個々の製品によって大きな差があり 10 mg から 270 mg と 27 倍もあった。栄養学上、CoQ10 の目安摂取用量には現在のところ統一された見解はなく、製品の選択や服薬指導のための情報は少ない。また、サプリメントとして流通する剤型も錠剤、硬・軟カプセル剤、顆粒剤、懸濁剤と、多岐にわたっていた。定量の結果、医薬品であるノイキノン[®]錠とカイトロン[®]錠では正確な成分含量と良好な溶出性が認められたが、サプリメントではほぼ正確な含有量が確認されたものの、錠剤において製品ごとに成分の溶出性が著しく異なっていた。たとえサプリメントとして高含量の CoQ10 を摂取しても、医薬品のように吸収されない可能性も懸念される。その検討手段として日本薬局方の溶出試験法が上げられるが、CoQ10 は脂溶性が高いためにその試験法では行うことが

出来ないとされている。³⁰⁾したがって、実験動物を用いた薬物吸収実験などのさらなる検討が求められる。

最近の研究結果から、CoQ10は難病である小児線維筋痛症にも有効であることが明らかになった。³¹⁾サプリメントにおいては、医薬品のような有効性や安全性の評価が国により行われていないことから、健康被害が発生するケースや、医薬品成分を含有する製品が市販されているケースがあり、薬剤師にとってそれらに対する情報が切実に求められている。しかしサプリメントにおいては品質評価が難しく、薬剤師が販売するにあたって信用性の高い情報が乏しいのが現状である。製造会社に対しては品質管理の厳格化とともに、崩壊性、溶出性など、現場の薬剤師にとって有用なデータの開示を強く要望したいと考えている。また、薬剤師は自らが販売するサプリメントについての品質確保の重要性を認識し、製造会社まかせにしない自らの情報収集力と品質の評価が必要だと考えられる。

第5節 小括

本章ではCoQ10サプリメントを代表例として、25品目の各製品のラベル記載含量と溶出性について検討を行った。その結果は、最終的な含量には大きな差はなかったものの、試みた抽出法によっては溶出性が大きく異なるものが存在した。この結果から、ラベル通りの含量であっても、溶出性の差によって期待する効果が得られない可能性があることが示唆された。

サプリメントとしてのCoQ10に関しては、厚生労働省によって1日目安摂取量の見解が発表された³²⁾。市場に流通している大半の製品は厚生労働省の見解基準内ではあるが、製品によって10 mg から 300 mg と幅が大きく、サプリメント使用者にとっては混乱を招く状況に変わりはない。サプリメントによるセルフメディケーションを実行する上で薬剤師によるサプリメントの評価や、使用者や製造会社への働きかけが重要であると考えられる。

第3章 *Polygonum multiflorum* 抽出物のマウス肝臓に及ぼす影響の検討

第1節 諸言

第1章のアンケート調査の結果から、薬局への来局者（服用者）はサプリメント類の「副作用・安全性情報」について最も知りたいということが明らかになった。サプリメント類による健康被害はたびたび話題になるが、日本で最も被害が大きかった中国製ダイエット薬による健康被害は786例に上り、うち4例が死亡した。³³⁾ このようなサプリメント類による健康被害の報告が2000年代に入ってから増加しており、特に肝障害の報告が多くなってきている。^{34,35)} これまでの調査によると、薬物性肝障害を起こす原因はサプリメント類が抗生物質に次いで二番目に多くなっていることが分かっており、²⁾ 医師も問診の際にサプリメント類や漢方薬等の服用の有無を必ず聞くようになってきている。

多くの報告の中で、肝障害例が相次いで報告されたものにカシュウ（PM）という生薬がある。PMは、潤腸通便、消炎、肝および腎の補益などの薬能があり、当帰飲子等の漢方処方にも含まれる生薬である。その一方で、特に抜け毛や若白髪に対して、中国のみならず欧米においても用いられており、この目的で様々な商品名で販売されている。2001年に、PMを含有する製品を摂取した女性でALTが900 U/Iまで急上昇するという急性肝炎様の症状を呈した。³⁾ また、PM製品の摂取で肝毒性を引き起こしたと思われるケースが複数報告されている。⁴⁾ これらの報告を受け、PM製品に関して2006年4月⁴⁰⁾ に英国の「herbal safety news and food safety information」内と、2006年5月⁴¹⁾ に日本の「医薬品安全性情報」内でそれぞれ警告が出された。しかしPM製品の肝毒性発現機序は未だはっきりわかっていない。その原因は、実験的にも臨床的にも適切な対照群と比較した研究が実施されていないからである。一方、ヒトでの好ましくない報告とは対照的に、PM抽出物は実験動物においては様々な有益な効果をもたらしていることが分かってきた。たとえば、PM抽出物は脱毛モデルマウスで発毛を促進し、³⁶⁾ β アミロイド処理によって発病させたアルツハイマー病モデルマウスでは異常行動や生化学的検査値を改善し、³⁷⁾ 四塩化炭素による肝機能障害作用を弱める、³⁸⁾ などの報告がある。

PM 抽出物は、ポリフェノール化合物やミネラル、その他の有機物・無機物など多数の薬理学的作用を有する物質を含んでいる。したがって、この多様な薬理学的活性物質群が、PM 抽出物の薬理作用の評価を複雑にしていると考えられる。これまでの研究において、PM 抽出物を直接 *in vitro* の肝細胞系や *in vivo* 動物モデルの肝臓に対して詳細に検討した報告は見られない。そこで本研究においては、PM 抽出物によるマウス初代培養肝細胞とアセトアミノフェン誘発肝障害モデルマウスの肝機能に及ぼす効果を調べた。

第 2 節 実験方法

第 1 項 試薬および動物

マウスは雄性 ICR マウス (日本 SLC 株式会社, 静岡) の 7-10 週齢, 体重 25-35 g を使用した。マウスは空調管理下, 12 時間の明暗サイクル下で飼育し, 実験は「旭川医科大学における動物実験などに関する取扱い規定」に従って行った。PM (原産地: 中国) は 栃本天海堂 (大阪) より購入した。William's medium E, ウシ胎児血清 (FCS), L-グルタミンは GIBCO 社 (Carlsbad, CA, USA) より購入した。II 型コラゲナーゼは Worthington Biochemical 社 (Lakewood, NJ, USA) より購入した。アセトアミノフェン, ペニシリン-ストレプトマイシンは Sigma-Aldrich 社 (St Louis, MO, USA) から購入し, その他の試薬はすべて市販特級もしくは分析用のものを用いた。

第 2 項 *Polygonum multiflorum* 抽出液の調製

PM 5 g または 85 g に精製水 300 mL を加えてビーカー中で加温し, 2 時間程度かけて総液量が 50 mL (抽出液の濃度はそれぞれ 100 または 1,700 mg/mL) になるまで濃縮した。これを PVDF 膜フィルター (孔径; 0.45 μm , Millipore, USA) で濾過滅菌した。濾過後の抽出液は 4°C で保ち, 使用直前に 37°C に加温した。

第3項 単離マウス肝細胞における *in vitro* 実験

Moldeus らのコラゲナーゼ還流法³⁸⁾ に一部修正を加えた方法にて、雄性 ICR マウスから単離した肝細胞を処理した。まず、ケタミン/キサラジンで麻酔したマウスを開腹して肝臓を露出させ、HEPES (10 mM) と NaHCO₃ (4.16 mM) を加えた Hank's Balanced Salt Solution (HBSS, pH 7.4) 150 mL を 20 分間還流させた。続いて II 型コラゲナーゼ (321 units/mL) 含有の HBSS 100 mL を 8 mL/min の速度で還流させた。粗分散肝細胞をリン酸緩衝液 (PBS, pH 7.2) 20 mL で 2 回洗浄してから、4°C、50 g で 1 分間遠心分離し、上清を除去後 10% FCS を含む William's medium E に懸濁した。得られた肝細胞懸濁液からトリパンブルー色素排除試験で肝細胞生存率が 90% 以上であることを確認した。

単離した肝細胞は 10% FCS, L-グルタミン (2 mM), ペニシリン (100 U/mL), ストレプトマイシン (0.1 mg/mL) を含む William's medium E を培地として、24 穴または 96 穴のコラーゲンコートディッシュに播種し、37°C、6 時間培養した。培養した肝細胞を無血清培地で洗浄した後、10% FCS を含む培地または無血清培地に、アセトアミノフェン 10 mM 存在下または非存在下の条件で、PM 抽出物最終濃度が各々 0.5, 1.0, 5.0 mg/mL となるように添加し、37°C、24 時間培養した。肝細胞に対する細胞障害活性は LDH の培地中への漏出を指標とし、その際 LDH-細胞毒性テストワコー (和光純薬工業, 大阪) を使用し評価した。また細胞の生存率は Cell Counting Kit-8 (同仁化学研究所, 熊本) によって評価した。⁴⁰⁾

第4項 *In vivo* における PM 抽出物の効果

マウスに PM 抽出物を 1 日 2 回 (10 時と 16 時)、10 日間反復経口投与した。低用量群には 1 回投与量 0.2 mL 中に PM が 20 mg 含まれているエキスを、高用量群には 0.2 mL 中に PM が 340 mg 含まれているエキスを投与した。コントロール群のマウスには、同様の方法で蒸留水を投与した。10 日目の最後の投与終了から 2 時間後に、生理食塩水に溶解したアセトアミノフェン 500 mg/kg を腹腔内に投与した。アセトアミノフェン投与 4 時間後にエーテル麻酔下で血液お

よび関連臓器（肝臓，脾臓，胸腺，腎臓）を採取した．肝機能の評価は血漿 ALT，AST，LDH，T-Bil で評価した．ALT，AST はトランスアミナーゼ CII テスト（和光純薬工業，大阪）で測定し，LDH と T-Bil はエスアールエルラボラトリー（東京）に委託し測定した．

第 5 項 病理組織学的研究

4%パラホルムアルデヒド溶液で 12 時間固定処理した後，肝組織をパラフィン埋包し，厚さ 4 μm の切片になるようにカットした．その標本をスライドガラス上に固定し，キシレンとエタノールで脱パラフィン処理をした．その後ヘマトキシリン・エオジン染色を行った．観察はオリンパス製の顕微鏡 BX50（オリンパス，東京）を用いて行った．

第 6 項 統計学的解析

平均±標準誤差として算出したすべての値は，一元配置分散分析法を用いて検証した後，有意差検定には post-hoc Tukey's multiple comparison test を用いて行い，危険率 5%以下 ($p < 0.05$) を有意水準として解析した．

第 3 節 結果

第 1 項 マウス肝細胞に対する PM 抽出物の効果

培養液中に漏出した LDH 量は，1% Tween 20 を含む培養液で細胞を処理した時の量を 100%として換算した．培養液から血清を除くと，細胞傷害が起き，約 20%の LDH 漏出が観察された (Fig. 9)．LDH 漏出量と細胞生存率に基づいた *in vitro* での所見 (Fig. 9, Fig. 10) から，PM 抽出物はマウス肝細胞においては毒性を示さなかった．逆に，PM 抽出物を最高用量で前処理すると，LDH 漏出量は有意に減少した (Fig. 9)．

第2項 アセトアミノフェン誘発肝毒性に対するPM抽出物の *in vitro* の効果

培養肝細胞にアセトアミノフェンを添加し、漏出するLDHの割合を測定した結果、60%のLDH漏出が見られた。一方、アセトアミノフェン非存在下では、20%のLDH漏出が見られ、アセトアミノフェンは肝細胞に対し有意に肝細胞毒性を示した ($p < 0.001$, Fig. 9)。また細胞の生存率においても同様の傾向が見られ、アセトアミノフェンを添加した肝細胞は無添加の肝細胞と比較して50%が死滅する結果となった (Fig. 10)。

これに対し、PM抽出物を添加して培養した肝細胞では、アセトアミノフェンによる細胞毒性が用量依存的に減少し、高用量 (5 mg/mL) のPM抽出物を添加した肝細胞ではLDH漏出量と細胞死の割合が対照群の細胞とほぼ変わらなかった (Fig. 9, Fig. 10)。

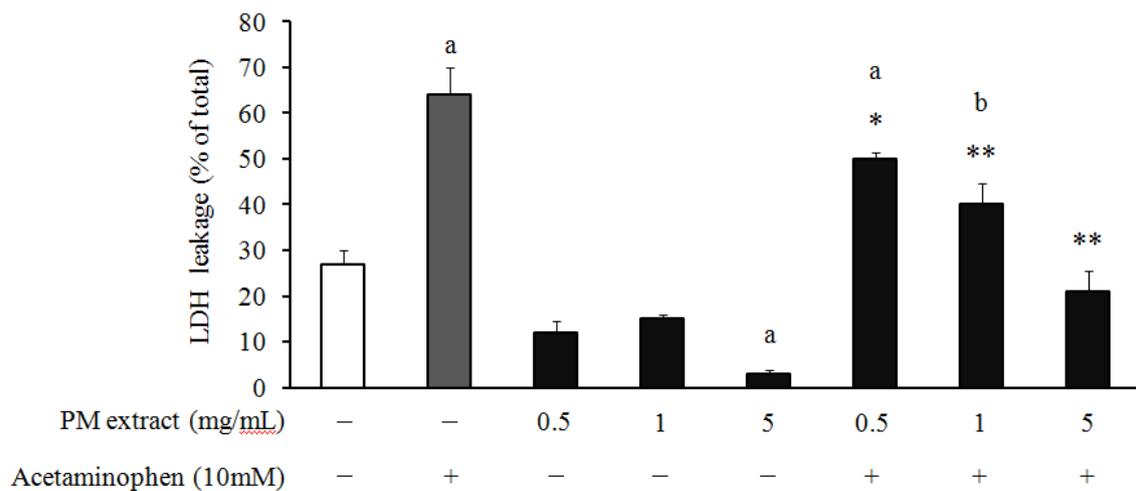


Fig. 9. Effect of the Hot-water-extracted PM on LDH-Leakage in Primary-cultured Mouse Hepatocytes

Mouse hepatocytes (2×10^4 cells/well) were seeded onto collagen-coated 24-well plates and incubated with 10% FCS for 6 hr before being exposed and incubated with PM for another 24-hr interval. LDH-leakage, expressed as a percentage (%) of the vehicle-treated cells, was used as an index for cytotoxicity. Treatment with (+) or without (-) acetaminophen or PM extract is indicated on the abscissa.

^a $p < 0.001$, ^b $p < 0.01$, significantly different from vehicle-treated group (open bar).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, significantly different from acetaminophen-treated group (shaded bar).

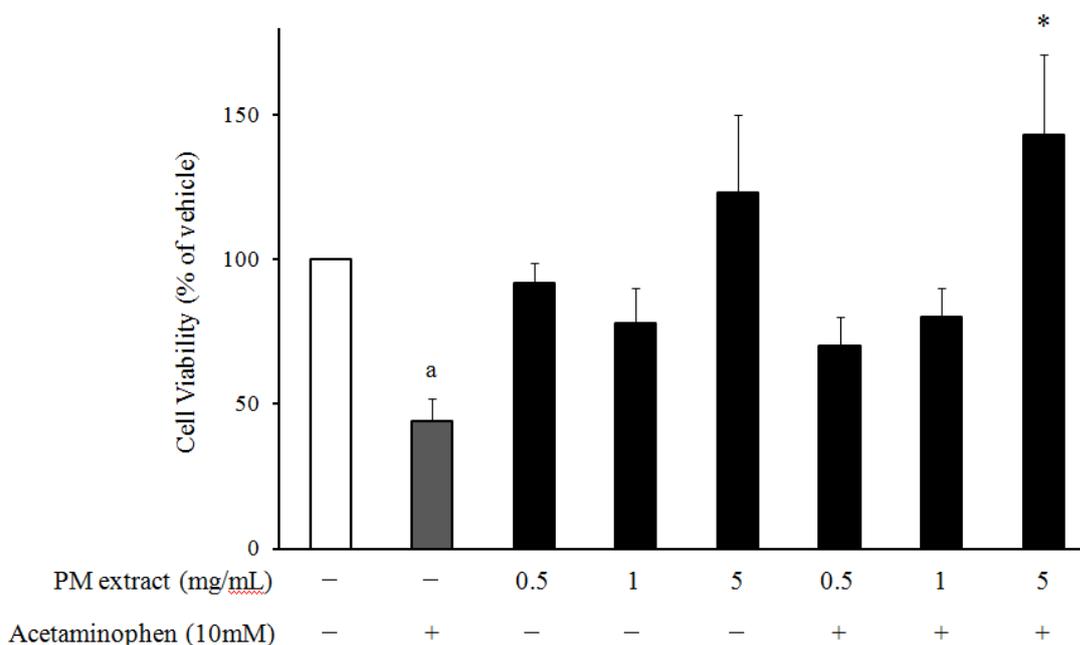


Fig. 10. Effect of the Hot-water-extracted PM on Cell Viability in Primary-cultured Mouse Hepatocytes

Mouse hepatocytes (3.5×10^4 cells/well) seeded onto collagen-coated 96-well plates were incubated with 10% FCS for 6 hr before being exposed to the PM extract for another 24-hr interval. Cell viability was evaluated by measuring optical density at 450 nm with a microplate reader after 3h loading with WST-8. Treatment with (+) or without (-) acetaminophen or PM extract is indicated on the abscissa.

^a $p < 0.001$, significantly different from the vehicle (open bar).

^{*} $p < 0.05$, significantly different from acetaminophen treatment (shaded bar).

第3項 アセトアミノフェン誘発急性肝毒性に関するPM抽出物の *in vivo* の評価

PM抽出物を亜慢性的処理（低用量および高用量）したマウスでは，コントロール群と比較して，臓器質量や，血液生化学的パラメーター（赤血球，白血球，血小板数，MCV，MCH，MCHC）は肝機能と同様に影響はなかった（Fig. 11）．なお，PM抽出物投与前後では異常行動は観察されなかった．500 mg/kg アセトアミノフェン投与による肝毒性は，ALT，AST，LDH，T-Bil で評価した（Fig.11）．低用量のPM抽出では有意差がなかったにも関わらず，10日間PM抽出物で前処理したマウスではアセトアミノフェン誘発性肝毒性は減弱した．

組織学的には、アセトアミノフェン処理によって中心静脈周辺で著しい細胞消失が起き、赤血球漏出が確認された (Fig. 12B)。これに対し、高用量の PM 抽出物を 10 日間前処理することでアセトアミノフェン毒性は劇的に減少したが (Fig. 12D)、低用量では効果がなかった (Fig. 12C)。

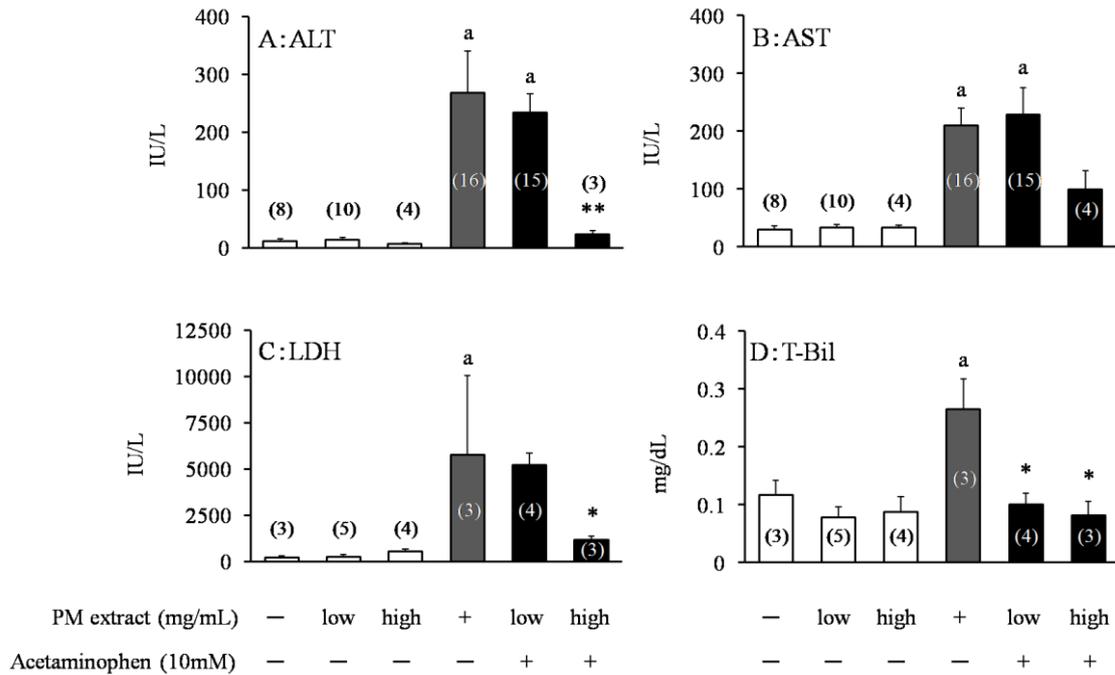


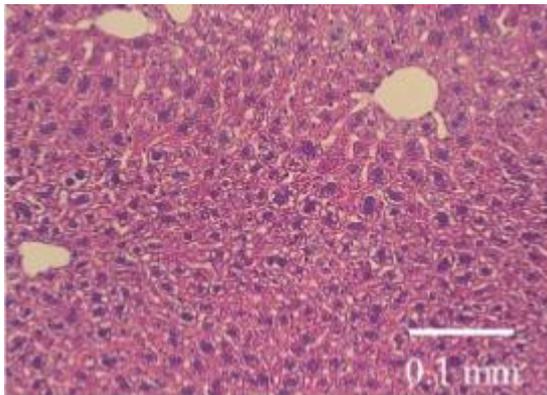
Fig.11. Effects of Sub-chronic Treatment with PM Extracts on Liver-Function in Mice

Mice were orally pretreated with hot-water-extracted PM (low dose: 20 mg/0.2 mL/mouse, high dose: 340 mg/0.2 mL/mouse) twice a day for 10 consecutive days, while control animals were similarly treated with distilled water (2×0.2 mL per day). On day (final) 10, acetaminophen (500 mg/kg) was injected intraperitoneally in mice 2 hr after the last oral administration of PM extract. Blood samples were drawn from ether-anaesthetized mice by cardiac puncture 4 hr after acetaminophen injection. Plasma ALT (A), AST (B), LDH (C) and T-Bil (D) levels were evaluated for liver function. Treatment with (+) or without (-) acetaminophen or PM extract is indicated on the abscissa. Each data represents the mean \pm S.E. The number of experimental mice used is given in the parentheses.

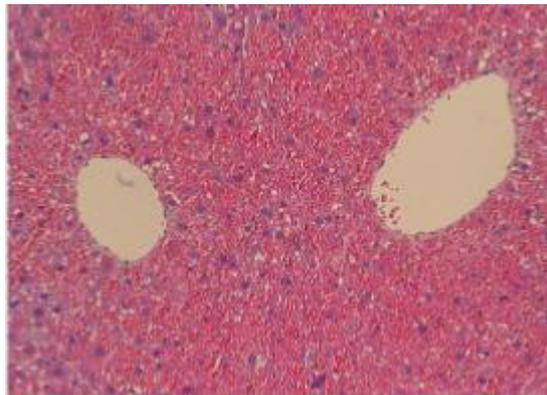
* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, significantly different from acetaminophen-treated group (shaded bar).

^a $p < 0.001$, significantly different from corresponding PM (without acetaminophen) group.

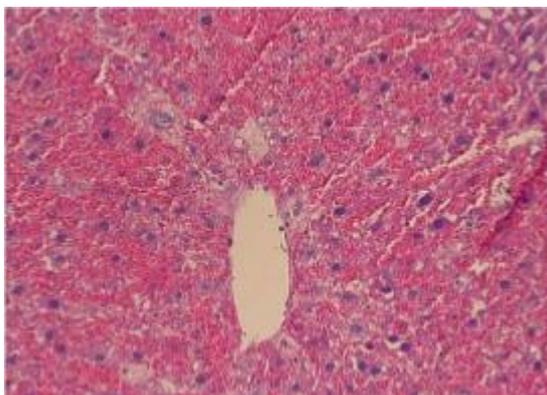
A:Control



B:Acetoaminophen



C:Low PM + Acetoaminophene



D:High PM + Acetoaminophene

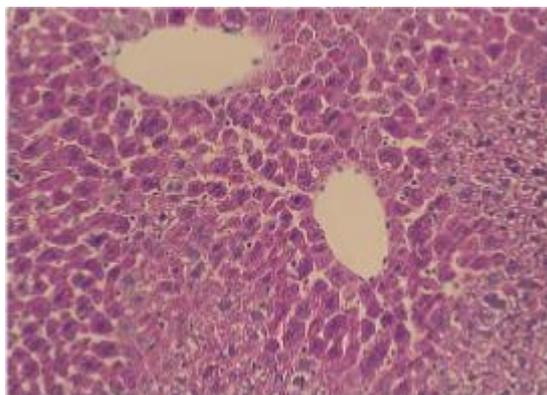


Fig.12. Histopathological Observation of Liver Tissue after Sub-chronic PM

Extracts Administration

Mice were orally pretreated with hot-water-PM extracts (low dose : 20 mg/0.2 mL/mouse, high dose : 340 mg/0.2mL/mouse) twice a day for 10 consecutive days, while control animals were similarly treated with distilled water (2×0.2 mL per day). On day (final) 10, acetaminophen (500 mg/kg) was injected intraperitoneally in mice 2 hr after the last oral administration of PM extract. Liver tissue was removed from mice ($n = 3$ in each group) under ether anesthesia 4 hr after acetaminophen treatment.

第4節 考察

ヒトにおいて、PMを含有する製品を摂取したことで深刻な肝機能障害を起こしたという報告があることは前述の通りである。³⁻⁵⁾しかし、本研究におけるマウス肝細胞の*in vitro*と*in vivo*の所見では、逆に肝細胞保護効果が示された。これは、PM抽出物はマウス肝細胞に対して細胞毒性を示さないことを初めて証明したものである。マウスに10日間にわたり亜慢性的にPMを投与（40または680 mg/day/body）した後、肝機能の血液学的パラメーターを評価した場合も、肝機能に変化はなかった。マウスにおいて1日40 mg（約1.3 g/kg）のPM抽出物を摂取させることは、60 kgのヒトに対して80 gのPM抽出物を摂取させることに相当するが、現在ヒトに推奨されているPMの摂取量の3 gから6 gと同等である。したがって、ヒトとマウス間のPM抽出物の代謝反応における種差を考慮に入れる必要があるものの、PM含有製品を推奨量服用する限り少なくとも肝臓に対してはほぼ安全であると言える。また、報告されたヒトにおける有害作用³⁻⁵⁾は、服用したPM含有製剤に混入していた異物、あるいは、異なった精製法や分離法による構成成分の違いに起因している可能性もあり、科学的信頼性に欠けることも考慮しなければならない。

本研究におけるPM抽出物は、無血清状態の培養液において細胞傷害を防ぐだけでなく、培養肝細胞においてアセトアミノフェン誘発肝毒性を有意に減少させた。PM抽出物の肝毒性予防効果は*in vivo*でも見られたが、それは推奨量の約10倍という高用量のPM抽出物（約20 g/kg）を投与した時のみであった。このことは、商業的に売られているPM含有製剤の推奨量では、肝に対しては有意な効果を示さないことが推測される。

アセトアミノフェンは、本研究においては肝毒性を誘発するために使用した。⁴¹⁾アセトアミノフェン誘発肝毒性には、高反応性代謝産物である*N*-アセチル-*p*-ベンゾキノニンのようなフリーラジカル種が関係しており、それがタンパク質と強く結合する。^{42, 43)}PM抽出物はアセトアミノフェン誘発肝毒性を抗酸化作用によって減弱したと考えられる。事実、PMの構成物の一つであるアントラキノンは、肝ミトコンドリアにおいてグルタチオンの状態を還元型に保つことで抗酸化作用を促進することが知られている。³⁸⁾これまでの報告では、

酢酸エチルで抽出した PM 抽出物はマウスにおける四塩化炭素誘発肝毒性を軽減することが示されており，その PM 抽出物はより強い抗酸化作用を示している．^{38,44)} 以上の知見から，本研究における結果は，従来広く行われていた熱湯で抽出する PM が，マウス肝細胞に対しては無害で限定的に良い効果をもたらすことを示したと言える．

結論として，本研究における PM 抽出物はマウス初代培養肝細胞においてはアセトアミノフェン毒性に対して防御効果を示し，PM 抽出物の 10 日間の亜慢性的投与によって，いかなる肝毒性も誘発しなかった．実際，PM 抽出物を前処理することでアセトアミノフェン誘発肝毒性は減弱した．また極端な高用量を投与することで *in vivo* においては有益な効果を得た．

第 5 節 小括

本章では，サプリメント類や漢方薬等が原因と考えられている肝障害に着目し，PM 抽出物を例にとってマウス肝細胞に及ぼす影響について検討した．結果として，PM 抽出物はマウス肝細胞に対しては少なくとも深刻な肝機能障害を起こすことはなく，逆に肝保護作用があることが示唆された．これはヒトで報告されている有害事象とはまったく異なる結果であった．PM 抽出物の肝保護作用のメカニズムは，抗酸化作用である可能性が高いことから，マウスとヒトの種差によりヒトに対してのみ肝細胞障害作用を有するとは考えにくい．PM は生薬であるが，生薬は産地が異なるだけで成分が異なることがあり有害作用が出ることもある．加えて，製造・販売するメーカーによって抽出方法が異なっており，同一成分が同量含まれていないことや，目的以外の成分も含まれている可能性もある．したがって，情報を簡単に鵜呑みすることなく，他の情報がないかなど慎重に精査する必要がある．

総括

本研究の成果をまとめると以下のようなになる。

第1章においては、来局患者は薬剤師にサプリメント類の安全性や効果についての情報提供を望んでいるものの、実際には薬剤師が来局患者の疑問に答えている例は非常に少ないという現実がアンケート調査によって示された。医師が把握しづらいサプリメント類の患者のニーズや使用実態の一端が明らかになった点において意義あるものと考えられる。

第2章においては、日本国内で販売されている CoQ10 サプリメント製剤 25 品目において CoQ10 成分含量の正確性や溶出性が必ずしも均一ではなく、製剤間で著しく異なることが分かった。これは CoQ10 サプリメント類に限らず、他のサプリメント類においても同様の傾向があることを示唆しており、サプリメント類によるセルフメディケーションを遂行する上で、薬剤師の指導や情報提供が非常に重要になると考えられた。

第3章においては、PM 抽出物はマウス肝細胞に対しては少なくとも深刻な肝機能障害を起こすことはなく、逆に肝保護作用を有することが示唆された。また、それまで知られている情報についても十分に精査する必要があると考えられた。

以上のように、本研究においては、保険薬局薬剤師の視点からエビデンス構築を試みた。さらにそれを患者や消費者に還元することによって適切なセルフメディケーションを遂行できる可能性が示された。

iPS 細胞はじめ、生物学が飛躍的に進歩している現代において、患者個人の細胞を直接培養することや遺伝子を調べることで、薬効を判定できるオーダーメイド医療になっていくことが今後予想される。しかし、培養細胞や遺伝子検索で薬効薬理、また、その細胞に対しての有害作用は予想できても、ヒトという複雑な有機体内で発生する有害作用は依然として予想できないことが多い。受診科が多くなりがちな高齢者などでは、医師は自身の診療科以外から処方されている薬をすべて把握することは困難であり、患者が同効薬を重複服用しているケースは珍しくない。保険薬局薬剤師が複数の診療科を受診している患者と接することは日常的なことであり、患者とのコミュニケーションを通して、

薬やサプリメント類の飲み合わせを把握できる立場にある。したがって、万一患者に有害作用が発現した場合に、患者の異変にいち早く気付ける立場の一つにしているのが保険薬局薬剤師である。この時、有害作用の原因が何であるかを検索することは科学的根拠に基づいた観察と思考である。そこから導かれた仮説を検証し、エビデンスを提示するという姿勢は、現代医学がどんなに進歩しても変わることのない基本であり、科学者としての薬剤師に求められる姿であると考えられる。本研究はすべて保険薬局単独で行えた訳ではなく、薬学部や大学病院薬剤部など基礎研究機関の協力があって為し得たことである。このような医療機関・研究機関同士の緊密な連携は、専門細分化されていく医療において必須となっていくと考える。今後これをより発展させていくためにも、病院薬剤師、保険薬局薬剤師がそれぞれの視点から断片的にでもエビデンスを構築し発信していくことが重要である。さらに、かかりつけ薬局薬剤師としての役割を果たすため、この情報発信に対して積極的に関わっていく姿勢が必要である。それによって多くのエビデンスが構築され、質の高いセルフメディケーションを遂行できるようになると考えられる。

謝辞

稿を終えるにあたり，本研究に際して終始親切なるご指導ご鞭撻を賜りました，北海道医療大学大学院薬学研究科 齊藤浩司教授に心より深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり，終始有益なご支援を賜りました，旭川医科大学病院薬剤部 松原和夫教授（現・京都大学医学部附属病院薬剤部），田崎嘉一教授，山田武宏博士（現・北海道大学病院薬剤部准教授），神山直也博士，並びに長年にわたりお世話になりました薬剤部の皆様に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり，終始有益なご指導ご支援を賜りました，北海道大学大学院薬学研究院医療薬学部門医療薬学分野臨床薬剤学研究室 井関 健教授，小林正紀助教，名古屋市立大学大学院薬学研究科医療分子機能薬学講座生薬学分野 牧野利明准教授，北里大学薬学部臨床薬学研究・教育センター臨床薬学保険薬局学研究室 吉山友二教授，そして健康食品情報研究会の皆様に深く感謝致します。

本論文の作成にご指導を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科 小林道也教授，唯野貢司教授，石倉 稔教授に深く感謝致します。

本研究に際し，終始多大なる協力と暖かいご支援を賜りました。十仁薬局 平野卓哉薬局長をはじめスタッフの皆様に感謝致します。

最後に，終始長い間暖かく見守ってくれた家族と北海道医療大学 高田昌彦名誉教授に深く感謝致します。

平成 26 年 3 月

野田敏宏

参考文献

- 1) 厚生労働省告示第 430 号, 平成 24 年 7 月 10 日,
(http://www.e-healthnet.mhlw.go.jp/information/21_2nd/pdf/notification_a.pdf),
cited January 11, 2014.
- 2) 乾由明, 西川正博, 健康食品による薬物性肝障害. *臨床消化器内科*, **25**,
1487-1492 (2010).
- 3) Park G. J., Mann S. P., Ngu M. C., Acute hepatitis induced by Shou-wu-pian, a
herbal product derived from *Polygonum multiflorum*. *J. Gastroenterol. Hepatol.*,
16, 115-117 (2001).
- 4) But P. P., Tomlinson B., Lee K. L., Hepatitis related to the Chinese medicine
Shou-wu-pian manufactured from *Polygonum multiflorum*. *Vet. Hum. Toxicol.*, **38**,
280-282 (1996).
- 5) Battinelli L., Daniele D., Mazzanti G., Mastroianni C. M., Lichtner M., Coletta S.,
Costantini S., New case of acute hepatitis following the consumption of Shou-wu
-pian, a Chinese herbal product derived from *Polygonum multiflorum*. *Ann. Intern.
Med.*, **140**, 589-590 (2004).
- 6) Laird A. R., Ramchandani N., deGoma E. M., Avula B., Khan I. A., Gesundheit
N., Acute hepatitis associated with the use of a herbal supplement (*Polygonum
multiflorum*) mimicking iron-overload syndrome. *J. Clin. Gastroenterol.*, **42**,
861-862 (2008).
- 7) Larry D., Vial T., Pauwels A., Castot A., Biour M., David M., Michel H.,
Hepatitis after germander (*Teurium chamaedrys*) administration: another instance
of herbal medicine hepatotoxicity. *Ann. Intern. Med.*, **117**, 129-132 (1992).
- 8) MacGregor F. B., Abernethy V. E., Dahabra S., Cobden I., Hayes P. C.,
Hepatotoxicity of herbal remedies. *Br. Med. J.*, **299**, 1156-1157 (1989).
- 9) Nadir A., Agrawal S., King P. D., Marshall J. B., Acute hepatitis associated with
the use of a Chinese herbal product, Ma-huang. *Am. J. Gastroenterol.*, **91**,
1436-1438 (1996).

- 10) 厚生省事務次官通知, 21 世紀における国民健康づくり運動 (健康日本 21) の推進について, 平成 12 年 3 月 31 日, 厚生省発健医第 115 号, (http://www1.mhlw.go.jp/topics/kenko21_11/pdf/t0.pdf), cited January 11, 2014.
- 11) 健康食品・サプリメント市場「働く女性がけん引」, 日本経済新聞, 平成 25 年 12 月 13 日, (<http://www.nikkei.com/article/DGXDZO64021040T11C13A2W14001/>), cited January 11, 2014.
- 12) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, 健康食品に係る制度に関する質疑応答集について, 平成 17 年 2 月 28 日, 食安新発第 0228001 号, (<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/topics/050131/dl/tuuc-hi07.pdf>), cited January 11, 2014.
- 13) 大野綾, 篠塚和正, 薬剤師による科学的根拠に基づいた健康食品の指導ガイドライン. *医療薬学*, **34**, 651-657 (2008).
- 14) 大谷壽一, 堀里子, 三木昌子, 澤田康文, 健康食品・サプリメントの情報. *月刊薬事*, **49**, 527-533 (2007).
- 15) 内藤裕史, 健康食品による健康被害. *アンチ・エイジング医学*, **3**, 403-408 (2007).
- 16) 高橋久仁子, 「健康食品」とフードファディズム. *臨床栄養*, **109**, 758-760 (2006).
- 17) 消費生活相談データベース. 独立行政法人国民生活センター. (<http://datafile.kokusen.go.jp>), cited January 11, 2014.
- 18) 堀美智子, 薬とサプリメントの相互作用. *医学のあゆみ*, **208**, 985-990 (2004).
- 19) 井関健, 小海康夫, コエンザイム Q10 を斬る!!. *あるたな*, **3** (2005).
- 20) 朝比奈泰子, 堀里子, 大谷壽一, 佐倉統, 澤田康文, 健康食品に関する使用実態調査研究の統合により見いだされた諸問題解決のための提案. *医薬品情報学*, **9**, 150-157 (2007).
- 21) 本間秀彰, 橋本義人, 宮崎信義, 松本隆亜, 佐々木希吉, 調剤併設ドラッグストア来局患者における健康食品の使用実態に関する基礎的調査. *医療薬学*, **33**, 457-462 (2007).

- 22) 三村泰彦, 足立伊左雄, 医薬品と健康食品の相互作用に関する意識調査. *医薬ジャーナル*, **36**, 3356-3367 (2000).
- 23) 朝比奈泰子, 堀里子, 大谷壽一, 澤田康文, 患者の健康食品使用に関する薬剤師の行動実態調査. *医療薬学*, **35**, 685-692 (2009).
- 24) Hodgson J. M., Watts G. F., Playford D. A., Burke V., Croft K. D., Coenzyme Q10 improves blood pressure and glycaemic control: a controlled trial in subjects with type2 diabetes. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **56**, 1137-1142 (2002).
- 25) Anderson J. W., Davidson M. H., Blonde L., Brown W. V., Howard W. J., Ginsberg H., Allgood L. D., Weingand K. W., Long-term cholesterol lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**, 1433-1438 (2000).
- 26) Jacob S., Ruus P., Hermann R., Tritschler H. J., Renn W., Augustin H. J., Dietze G. J., Rett K., Oral administration of RAC-alpha-lipoic acid modulates insulin sensitivity in patients with type2 diabetes mellitus: a placebo-controlled pilot trial. *Free Radic. Biol. Med.*, **27**, 309-314 (1999).
- 27) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, いわゆる健康食品の取り扱いについて, 平成 17 年 5 月 27 日, 食安輸発第 0527006 号, (<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/tuuchi/050530-1.html>), cited January 11, 2014.
- 28) 厚生労働省 Web-site 健康被害情報・無承認無認可医薬品情報, 「いわゆる健康食品」による健康被害事例, 平成 19 年 3 月 31 日, (<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/jirei/030530-1.html>), cited January 11, 2014.
- 29) Gilroy. C. M., Steiner. J. F., Byers. T., Shapiro. H., Georgian. W., Echinacea and truth in labeling. *Arch. Intern. Med.*, **163**, 699-704 (2003).
- 30) ノイキノン[®]医薬品インタビューフォーム, エーザイ株式会社 (2011).
- 31) Miyamae T., Seki M., Naga T., Uchino S., Asazuma H., Yoshida T., Iizuka Y., Kikuchi M., Imagawa T., Natsumeda Y., Yokota S., Yamamoto Y., Increased oxidative stress and coenzyme Q10 deficiency in Juvenile fibromyalgia: Amelioration of hypercholesterolemia and Fatigue by ubiquinol-10 supplementation. *Redox Report*, **18**, 12-19 (2013).

- 32) 厚生労働省医薬品食品局安全部長通知, コエンザイム Q10 を含む食品の取り扱いについて, 平成 18 年 8 月 23 日, 食安新発第 08230001 号, (<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/hokenkinou/dl/16.pdf>), cited January 11, 2014.
- 33) 厚生労働省 Web-site 報道発表資料, 中国製ダイエット用健康食品 (未承認医薬品) による健康被害事例等, 平成 18 年 7 月 12 日, (<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2002/07/h0719-3.html>), cited January 11, 2014.
- 34) Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency. *Polygonum multiflorum* and liver reactions. (<http://www.mhra.gov.uk/NewsCentre/Pressreleases/CON2023635>), cited January 11, 2014.
- 35) National Institute of Health Sciences. *Polygonum multiflorum* and liver reactions. (<http://www.nihs.go.jp/dig/sireport/weekly4/10060518.pdf>), cited January 11, 2014.
- 36) Kubo M., Matsuda H., Fukui M., Nakai Y., Development studies of cuticle drugs from natural resources. I. Effects of crude drug extracts on hair growth in mice. *Yakugaku Zasshi*, **108**, 971-978 (1988).
- 37) Um M.Y., Choi W. H., Aan J. Y., Kim S. R., Ha T. Y., Protective effect of *Polygonum multiflorum* thumb on amyloid β -peptide 25-35 induced cognitive deficits in mice. *J. Ethnopharmacol.*, **104**, 144-148 (2006).
- 38) Chiu P.Y., Mak D. H., Poon M. K. and Ko K. M. *In vivo* antioxidant action of a lignan-enriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinone-containing extract of *Polygonum* root in comparison with Schisandrin B and emodin. *Planta Med.*, **68**, 951-956 (2002).
- 39) Moldeus P., Hogberg J., Orrenius, S., Isolation and use of liver cells. *Methods Enzymol.*, **52**, 60-71 (1978).
- 40) Kubota T., Fujisaki K., Itoh Y., Yano T., Sendo T., Ohishi R., Apoptotic injury in cultured hepatocytes induced by HMG-CoA reductase inhibitors. *Biochemical Pharmacol.*, **67**, 2175-2186 (2004).
- 41) Lee W. M., Drug-induced hepatotoxicity. *N. Engl. J. Med.*, **349**, 474-485 (2003).

- 42) James L. P., Mayeux P. R., Hinson J. A., Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab. Dispos.*, **31**, 1499-1506 (2003).
- 43) Reid A. B., Kurten R. C., McCullough S. S., Brock R. W., Hinson J. A., Mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of oxidative stress and 13 mitochondrial permeability transition in freshly isolated mouse hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **312**, 509-516 (2005).
- 44) Ip S. P., Tse A. S. M., Poon M. K. T., Ko K. M., Antioxidant activities of *Polygonum multiflorum* thumb *in vivo* and *in vitro*. *Phytother. Res.*, **11**, 42-44 (1997).