

クロロゲン酸類含有コーヒーの
ヒト血圧に対する効果

2014年1月

千 竈 映 郎

クロロゲン酸類含有コーヒーの
ヒト血圧に対する効果

筑波大学大学院
生命環境科学研究科
生命産業科学専攻
博士（農学）学位論文

千竈 映郎

目次

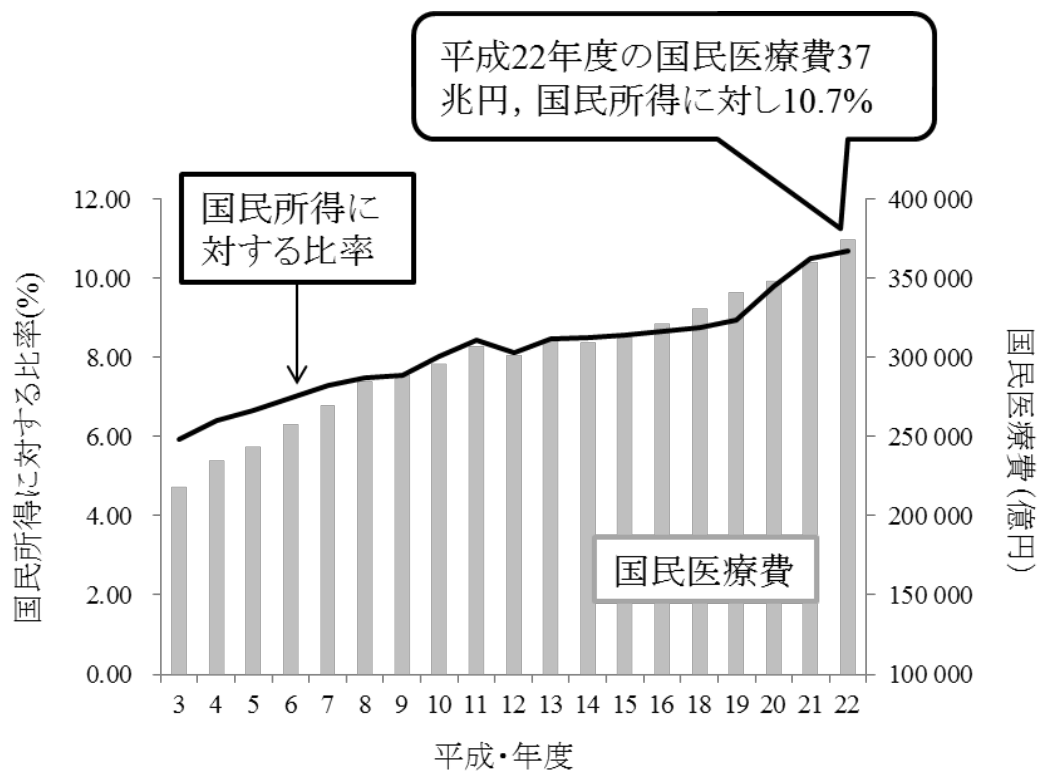
序論 本研究の背景	1
第1章 本邦における国民医療の現状と特定保健用食品	1
第2章 血圧とコーヒーについて	6
第1節 本邦における高血圧者の現状と問題	6
第2節 コーヒーと血圧の関係	9
第3節 コーヒーの成分	11
第3章 クロロゲン酸類の血圧改善メカニズム（先行知見）	17
第1節 クロロゲン酸類の血圧改善メカニズム	17
第2節 ヒドロキシヒドロキノン（HHQ）のクロロゲン酸類 に対する阻害メカニズム	22
本論 クロロゲン酸類含有コーヒーのヒト血圧に対する効果	26
第1章 本研究の目的と実践方法	26
第2章 HHQ 低減コーヒー中のクロロゲン酸類の血圧に対する有効性 （臨床試験 1）	30
第1節 試験方法	30
第2節 結果	40
第3節 考察	56

第4節 結論	59
第3章 コーヒーに含まれる HHQ 含有量が血圧に及ぼす影響	
(臨床試験 2)	60
第1節 試験方法	60
第2節 結果	65
第3節 考察	78
第4節 結論	80
第4章 HHQ 低減コーヒーの過剰摂取による安全性への影響	
(臨床試験 3)	81
第1節 特定保健用食品の過剰摂取に対する考え方	81
第2節 試験方法	82
第3節 結果	89
第4節 考察	98
第5節 結論	100
第5章 総括.....	101
謝辞	105
引用文献	106

序論 本研究の背景

第1章 本邦における国民医療の現状と特定保健用食品

本邦における国民医療の現状として、国による「医療制度改革」が順次進められている。例えばひとつに平成12年には診療報酬改定・薬価改定が行われ、健康保険法等改正案及び医療法等改正案が可決・成立している [1]。これら改革の発端の一部として、医療費の高騰が挙げられている。内訳をみると、国民医療費は年々増加し、平成22年で、約37兆円の規模となっている(Figure I-1)。このうち高齢者に係る老人医療費は約21兆円であり、国民医療費の約55%を占めている。そして年々その割合が上昇している。この国民医療費の伸びは、前年度に比べ約3.9%であり、国民所得の伸び(約2.0%)を上回るスピードである [2]。国民医療費の対国民所得比は、平成37年度(2025年度)には12%を超える規模となると予測されている [3]。



	平成22年度における対前年比 (%)
国民医療費	3.9
国民所得	2.0

Figure I -1. 国民医療費及びその国民所得に対する比率

これらのことから、高齢期での疾病を少なくするべく、壮年期から、あるいは若年期からの健康状態を重視し、より長く健康寿命を伸ばしていくことが、国単位、あるいは地域社会単位で求められている。具体例のひとつには脳卒中や心筋梗塞等の重篤なイベントの最上流にある肥満の予防、あるいは高脂血症や高血圧等の生活習慣病の予防、それらをまとめたメタボリックシンドロームの予防に重点をおいた取り組みを実施していくことである。

このような背景の中、健康増進法に基づき、特定保健用食品が創設された [4]。この目的は、健康食品の科学的根拠を国が評価し、消費者庁長官が承認を与えることで、消費者が安心して選べる製品を分かりやすく示すことにある。特定保健用食品は、定められた範囲で成分や効果を表現する「機能性表示」が認められている。例えば、「お腹の調子を整えるのに役立つ」等といった特定の保健の用途、「カルシウムは骨や歯の形成に必要な栄養素です」といった栄養成分の機能をもつことを表示できる。現行では、「個別許可型」、「規格基準型」、「条件付き特定保健用食品」があり、有効性及び安全性について、基本的に消費者庁及び食品安全委員会の審査を経ることとされている。平成 25 年 8 月現在において、特定保健用食品は 1071 品目許可されている [5]。食品の機能性表示については、日本に限らず欧米においても健康強調表示が可能な制度が厳密に法整備 [6-10]されていることから、世界的に見ても、日本の「特定保健用食品」制度は認容されうるものと考えられた。

食品は人間の健康を維持する上で、最も重要な要素のひとつであることは言うまでもない。そして食品の機能には、第一次（栄養の補給）、第二次（味を楽

しむ)、そして第三次機能(生理活性)があると知られている [11]。国はこの第三次機能があることを認め、国が消費者に健康の維持増進を図ってもらい、国民医療費高騰の抑制に役立てようという意図が見て取れる。

食品業界の立場からは、医薬品やサプリメントではなく、普段の食事の中で無理なく摂取できる特定保健用食品の開発は、国の意向に賛同でき、意義あるものと考えられる。実際に特定保健用食品の市場として、1997年には1315億円だったのが、2007年にピークを迎え2011年には5175億円になっている。その内、清涼飲料水の市場は1247億円となっている [12]。仮に1本180円の清涼飲料水であれば、約6.9億本もの飲料が摂取されている試算になる。

上記のような施策も含め、国民医療費抑制の取り組みは少しずつ進んでいる。厚生労働省が施策する「健康日本21」の報告書 [13]によると、メタボリックシンドロームという言葉の意味も含めて認知している割合は、平成19年度では77.3%であったのが、平成21年度では、92.7%と上昇している。厚生労働省の平成23年国民健康・栄養調査 [14]によると、メタボリックシンドロームの予防、改善のための取組として、「適切な食事」を実践している人が最も多く40%となっている。これらのことから、特定保健用食品が国民医療費抑制の一助として貢献していると推察される。

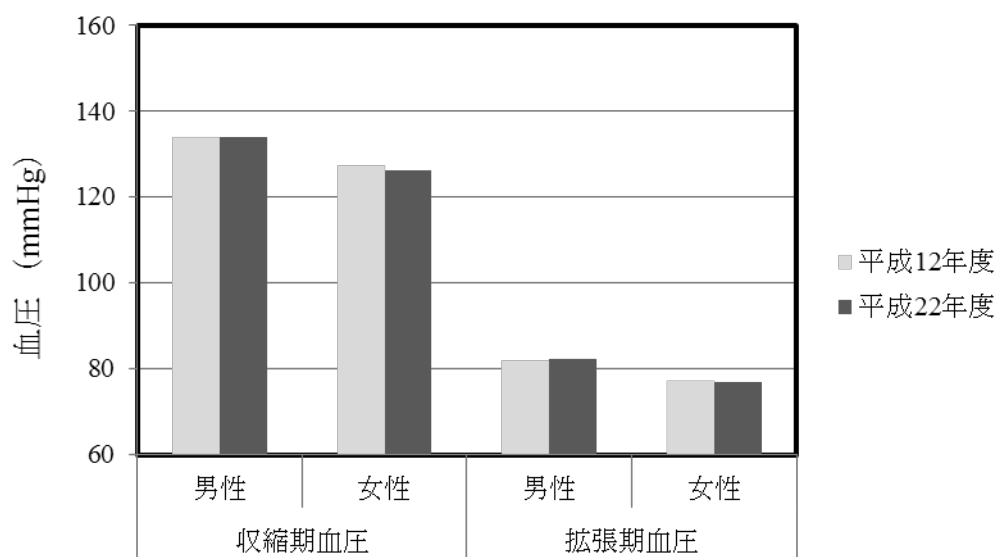
そして最新の平成24年国民健康・栄養調査 [15]によると、生活習慣病のひとつである糖尿病について、「糖尿病が強く疑われる者」及び「糖尿病の可能性を否定できない者」の人数が、約2,050万人と推計され、平成9年以降増加していたが、平成19年の約2,210万人から初めて減少に転じた。特定保健用食品で

「脂肪を消費しやすくする」という機能性表示を有するヘルシアコーヒーという飲料では、40447 名にモニターキャンペーンを実施しており、内 6418 名の体重データ入力者の集計結果から、約 7 割が体重低減したと Web 発表されている [16]。特定保健用食品の制度を含めた様々な施策が、国民の健康増進に伴う国民医療費抑制に寄与し始めていると考えられる。

第2章 血圧とコーヒーについて

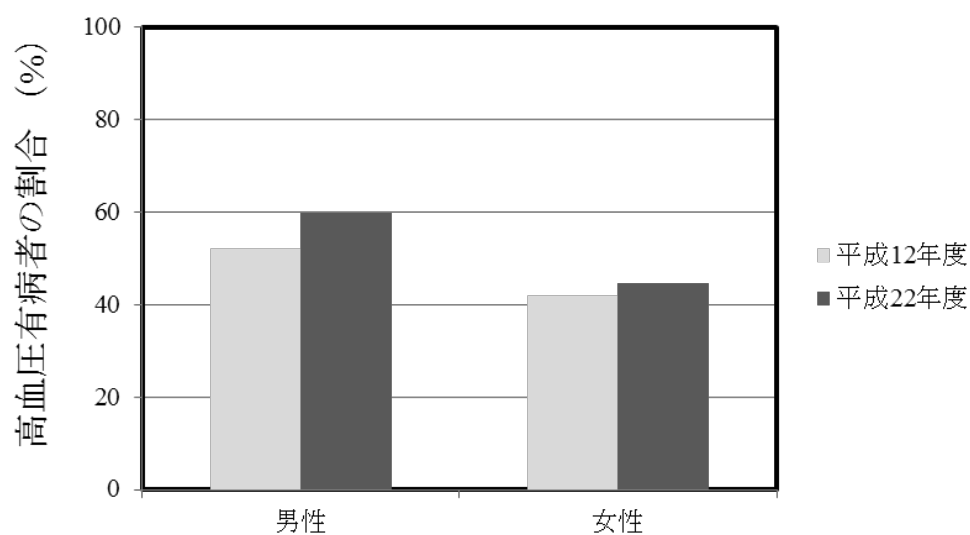
第1節 本邦における高血圧者の現状と問題

本邦の高血圧者は、約 4000 万人にのぼる [17]。平成 22 年国民健康・栄養調査によると収縮期血圧の平均値は、男性 133.9 mmHg、女性 126.2 mmHg であり、拡張期血圧の平均値は、男性 82.4 mmHg、女性 77.0 mmHg である(Figure II -1) [18]。いずれの値も平成 12 年に比べて変わらない。しかし高血圧症有病者の割合は、男性 60.0%であり、平成 12 年に比べて男性は増加している。女性も微増している(Figure II -2)。国民が高齢化しつつあることから、さらに高血圧症有病者の割合は増加すると予想される。



平成22年度国民栄養調査より
(30歳以上のデータ)

Figure II-1. 国民の血圧の推移（平成12年度と22年度の比較）



平成22年度国民栄養調査より
(30歳以上のデータ)

Figure II-2. 国民の高血圧有病者の割合（平成12年度と22年度の比較）

言うまでもなく、高血圧は生活習慣病のひとつである。平成 17 年に日本内科学会から示されたメタボリックシンドロームの診断基準でも、危険因子の一つとされている [19]。血圧水準が高いほど、脳卒中、心筋梗塞、心疾患、慢性腎臓病等の罹患率及び死亡率は高い [17]。高血圧の影響は心筋梗塞よりも脳卒中により特異的であり、本邦では依然として脳卒中罹患率が心筋梗塞罹患率よりも高い。高血圧未治療者の割合は高く、若年者では 8-9 割にのぼる。生活習慣の改善による血圧低下を図る必要がある。

高血圧者のうち、約半数が管理不十分と推定され、より強力な高血圧管理が必要である。国民の平均値として、収縮期血圧水準が 2 mmHg 低下すれば、脳卒中罹患率は約 6%、虚血性心疾患は約 5%減少すると推計される。減塩を含めた国民の血圧低下を促す環境整備が求められている。

日本高血圧学会は高血圧治療ガイドライン 2009 (JSH2009) を策定している [17]。その中で具体的な降圧治療として、生活習慣の是正（第 1 段階）及び降圧薬治療（第 2 段階）が挙げられている。特に生活習慣の是正には、食習慣、運動習慣の改善及び禁煙等が重要であるとし、食習慣の改善では血圧を上げる食品の制限、あるいは血圧を改善する効果があるとされる野菜や果物の摂取の促進が提案されている。

第2節 コーヒーと血圧の関係

コーヒーはお茶と同様、古来より慣れ親しまれてきた飲み物のひとつである。コーヒーの食経験は長い。コーヒーの歴史としては、10 世紀にアラビア人医師ラーゼスが生コーヒーの実を薬として飲用させたという記述がある。13 世紀に焙煎技術が確立し、焙煎豆を用い、嗜好品としてコーヒーの味・香りが世界に伝播した [20]。日本では日本茶、ウーロン茶等に次いで多く摂取されている。しかしながら、アクリルアミドやメチルグリオキサール等の発がん性成分がコーヒー中に存在しており、コーヒーは世界保健機構（WHO）の下部組織である国際がん研究機関（IARC）が公開している「IARC 発がん性リスク一覧」において「グループ 2B: 発がん性が疑われる」に分類されている [21]。このような背景で、コーヒーの摂取は健康に良くないイメージが先行していた。しかし最近になって、コーヒーの様々な好ましい生理機能が明らかになってきている。

2000 年以降のメタアナリシスの報告では、1 日に 5～6 杯（9 件の疫学調査、総計約 20 万人）、あるいは 1 日に 3～4 杯（20 件の疫学調査、総計約 50 万人）のコーヒー摂取が、2 型糖尿病のリスクを低減させるとしている [22, 23]。1 日に 5～6 杯（4 件の疫学調査、総計約 24 万人）のコーヒー摂取が、肝臓がんのリスクを低減させるとしている [24]。1 日に 4 杯（5 件の疫学調査、総計約 14 万人）のコーヒー摂取が、心疾患のリスクを低減させるとしている [25]。その他、コーヒーの摂取でアルツハイマー病の予防 [26]、あるいは大腸がんの予防 [27]が期待されると報告がある。

その中でコーヒー摂取と血圧に関する研究が多く報告されている。Jee らが 11 の臨床試験 (n=522) をまとめたメタアナリシス では, 1 日 5 杯 (中央値) のコーヒー摂取が収縮期血圧及び拡張期血圧を, それぞれ 2.4 mmHg 及び 1.2 mmHg 上昇させると報告している [28]。一方で, 5115 名の黒人と白人の男女(18-30 歳)を用いた The CARDIA Study (1985-1986)では, カフェインやカフェイン含有飲料の摂取と血圧に関連は, 人種, 性別, 活動量, アルコール摂取, 年齢, 砂糖摂取量, Body mass index (BMI)等を調整しても, 認められなかったとする報告もある [29]。

また Funatsu らは, 42 名の高血圧者あるいは正常高値血圧者で, 習慣的にアルコールを摂取する男性を用いた無作為化クロスオーバー試験を実施し, 4 週間のコーヒーの摂取が, 収縮期血圧及び拡張期血圧をそれぞれ 7~10 mmHg 及び 3~7 mmHg 低下させると報告している [30]。以上のように, コーヒー摂取と血圧の関係は, まだ結論が得られておらず議論中である。

第3節 コーヒーの成分

近年、分析機器の進歩に伴い、コーヒーの中に香気成分だけでも 800 を超えるというように、多くの成分が含まれていることが明らかになってきている [31]. コーヒーは生コーヒー豆を焙煎することにより化学的変化を起こさせ、その生成物を水抽出し飲用するということに特徴がある. コーヒーに含まれる様々な成分は生コーヒー豆の品種、栽培地、収穫年、(生コーヒー豆の) 保存条件、精製工程、焙煎条件、焙煎豆の粉碎方法、粒度、抽出の方法等によっても変化する. このためコーヒーに含まれる代表的な成分の比率もある程度の幅がある. コーヒー豆の代表的な成分について Table II-1 に示した [32]. 焙煎によって、糖類、遊離アミノ酸、クロロゲン酸類、トリゴネリンは減少する. カフェインはほとんど変化しないが、腐植酸が大幅に生成される. 様々な植物の中でコーヒーに特徴的な成分として、カフェイン、トリゴネリン及びクロロゲン酸類が挙げられる. これら 3 つの成分は他の植物に対して比較的多く含有しており、かつ様々な生理機能を有することが明らかとなっている.

その他、焙煎により生理機能を有する生成物として、活性酸素が挙げられる. 活性酸素は、クロロゲン酸類が熱分解を受けたフェノール類の自動酸化から、タンパク質が熱分解を受けたアミノ酸類から、あるいは脂質の酸敗から発生すると言われている [33]. また焙煎によって生じるヒドロキシヒドロキノン (HHQ) も活性酸素の発生源であると提唱されている [34, 35]. これらの化合物の特徴について簡単に述べる.

Table II-1. コーヒーの成分（アラビカ種）

	生豆	焙煎豆
全多糖類	50.0 ～ 55.0	24.0 ～ 39.0
少糖類	6.0 ～ 8.0	0 ～ 3.5
脂質	12.0 ～ 18.0	14.5 ～ 20.0
遊離アミノ酸	2.0	0
蛋白質	11.0 ～ 13.0	13.0 ～ 15.0
クロロゲン酸	5.5 ～ 8.0	1.2 ～ 2.3
カフェイン	0.9 ～ 1.2	～ 1
トリゴネリン	1.0 ～ 1.2	0.5 ～ 1.0
脂肪酸	1.5 ～ 2.0	1.0 ～ 1.5
無機物	3.0 ～ 4.2	3.5 ～ 4.5
腐植酸	-	16.0 ～ 17.0

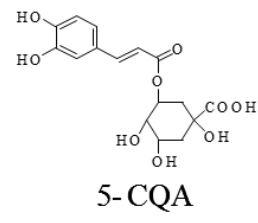
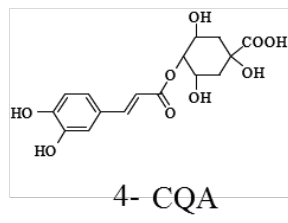
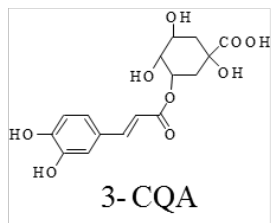
(%)

カフェインはプリン塩基の一種で、平滑筋弛緩作用、強心・利尿・血管拡張作用、中枢神経刺激作用、脳幹刺激作用等の薬理作用が知られている。カフェインは熱に安定（mp 238℃）で、焙煎により一部は昇華してしまうものの、大部分は豆に残存する。水溶解性は 80℃で 19.2%であり、容易に水抽出される。レギュラーコーヒー中に 40～180 mg 含まれている [36]。

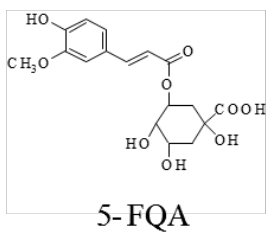
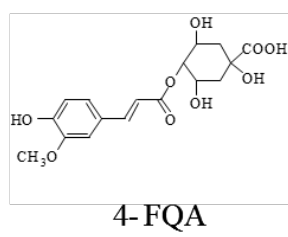
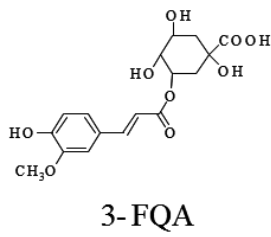
トリゴネリンはアルカロイドの一種で、分子内でイオン化している。焙煎によって熱分解を受け、主にニコチン酸とニコチン酸アミド（ナイアシン）を生成する。ニコチン酸及びニコチン酸アミドはビタミンとして栄養学的に重要であり、さらにトリゴネリンは神経細胞の軸索や樹状突起を成長させる作用があると言われ、脳機能の研究視点から注目されている [36]。

クロロゲン酸類は、カフェ酸またはフェルラ酸がキナ酸とエステル結合した化合物の総称である。コーヒー中に含まれるクロロゲン酸類は、5-カフェオイルキナ酸（クロロゲン酸）を代表的成分とし、3-カフェオイルキナ酸、4-カフェオイルキナ酸、3-フェルロイルキナ酸、4-フェルロイルキナ酸、5-フェルロイルキナ酸、3,4-ジカフェオイルキナ酸、3,5-ジカフェオイルキナ酸、4,5-ジカフェオイルキナ酸の 9 種が主要な成分である(Figure II-3) [37]。クロロゲン酸類は、生コーヒー豆中に、5.5～8.0%含まれているが、焙煎によって 1.2～2.3%に減少する (Table IV-1)。クロロゲン酸類はポリフェノールの一種であり、生理活性として発がん抑制、抗菌活性、ヒドキシラジカル消去、抗酸化作用等が明らかにされている [36]。

カフェオイルキナ酸
(CQA)



フェルロイルキナ酸
(FQA)



ジカフェオイルキナ酸
(diCQA)

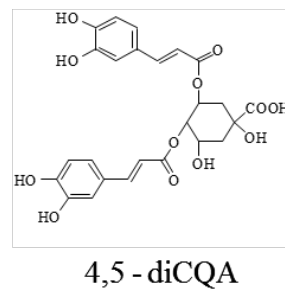
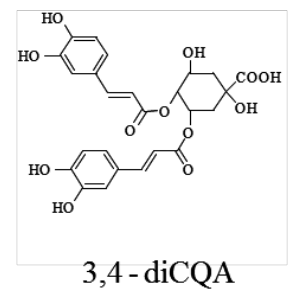
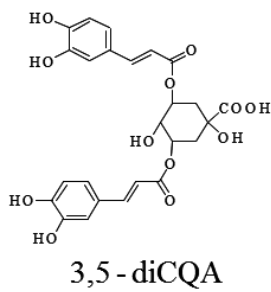
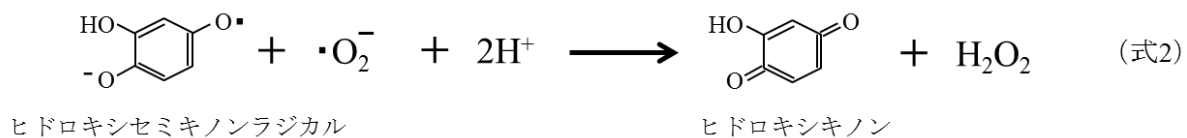
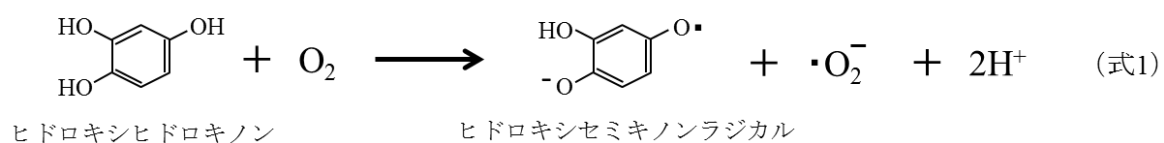


Figure II-3. クロロゲン酸類 (9 種) の構造式

一方、ヒドロキシヒドロキン (HHQ) は焙煎により微量に生成される成分ではあるが、活性酸素の発生源 (活性酸素種) である。その発生機構は Figure II-4 に示したものと考えられている [34, 35]。活性酸素については、生体内での防御機構として必要なものであるが、過度に存在すると酸化ストレスを与え、生体へのさまざまな障害を引き起こす要因となると言われている。HHQ については、生体への酸化ストレス負荷物質としての報告があり [38-40]、焙煎により生じた HHQ を含む通常コーヒーのヒト単回摂取評価において、尿中に活性酸素が検出されている。この活性酸素は生体への酸化ストレスを反映していると推察されている。



- ① ヒドロキシヒドロキノンは自己酸化によりヒドロキシセミキノンラジカルとなり、この過程で活性酸素の1つであるスーパーオキシドアニオン($\cdot\text{O}_2^-$)を発生する(式1)。
- ② ヒドロキシヒドロキノンの自己酸化反応は、($\cdot\text{O}_2^-$)を消去するスーパーオキシドディスムターゼ存在下で阻害されることから、この反応に($\cdot\text{O}_2^-$)の関与が示唆される。さらに、この反応により生成したヒドロキシセミキノンラジカルは($\cdot\text{O}_2^-$)との反応で、キノイド体と過酸化水素を生成する(式2)。

Figure II-4. ヒドロキシヒドロキノン由来活性酸素の発生機構

第3章 クロロゲン酸類の血圧改善メカニズム（先行知見）

第1節 クロロゲン酸類の血圧改善メカニズム

近年、クロロゲン酸類の摂取が血圧を改善する可能性があるとわかってきた。

Suzuki らはラットで、クロロゲン酸類の代表的成分である 5-カフェオイルキナ酸(5-CQA)を用いた継続経口投与試験を実施している [41]。高血圧自然発症ラット(SHR)：14 週齢，雄性及び正常血圧ラット(WKY)：14 週齢，雄性を，それぞれ試験群と対照群の 2 群（1 群：n=6）に分けた。試験群には 5-CQA を 1 日の摂取量が 300 mg/kg となるように配合した小動物飼育用餌 MF を摂取させ，8 週間飼育した。対照群には 5-CQA 未配合の飼料で飼育した。その結果，5-CQA 配合餌を摂取した SHR の試験群において，摂取開始 4，6，7，8 週目（18，20，21，22 週齢）で対照群に比べ有意な血圧上昇の抑制作用が認められた。

さらにクロロゲン酸類の摂取が血圧に影響を及ぼすメカニズムについて，*in vitro* 試験及び動物試験を用い，血管内皮機能に着目した評価が報告されている。血管内皮とは，血管の内側にある 1 層の細胞（血管内皮細胞）から構成され，血液と接している組織である [42]。血管内皮細胞は種々の血管作動物質を放出し，血管の収縮・拡張を調節するほか，血小板の粘着，凝集を抑制し血管を保護している。従って，血管内皮細胞に障害が発生し，その機能が低下すると，血管の収縮・拡張が困難となり高血圧を引き起こしたり，またコレステロール等が沈着し，動脈硬化を引き起こすことが明らかとなっている。血管収縮・拡張に寄与するのが血管内皮細胞で産生される一酸化窒素（NO）である。NO は

化学反応性が高いため、長期間存在しえないが、血管拡張作用（降圧作用）、血小板凝集抑制作用（抗動脈硬化作用）、単球等の白血球が血管内皮細胞に接着したり、内皮細胞下組織に浸潤するのを防ぐ作用、血管平滑筋細胞の増殖を抑制する作用等がある。これらのことから NO は血管の維持恒常に重要な化合物である。NO の産生が低下したり、NO の利用能が低下するということは、血管内皮機能のひとつの機能が低下したことを意味する。

Suzuki らはマグヌス法を用い、クロロゲン酸及びクロロゲン酸代謝産物（カフェ酸、フェルラ酸）による血管内皮機能の改善を検証している [43]。SHR; 20-26 週齢、雄性の摘出胸部大動脈を摘出しリング標本を作製した（1 群：n=5-6 ×4 群）。対照群と試験群 3 群の計 4 群に分け、試験群はそれぞれ 5-CQA、カフェ酸、フェルラ酸添加とし、対照群は溶媒（ジメチルスルホキシド）添加とした。各試料を 10^{-6} M 添加した後、フェニレフリンで収縮させ、アセチルコリンによる血管内皮依存性の拡張反応を測定した。対照群の収縮時を基準に拡張率（%）で評価した。

その結果、フェルラ酸のみ、対照群と比較して、血管内皮依存性の拡張反応を有意に増大させた。

さらに血管から内皮を物理的に除去（血管内皮除去+フェルラ酸群）、あるいは NO 合成酵素阻害剤である *N*^G-nitro L-arginine methyl ester (L-NAME) を交えた系（L-NAME 処理+フェルラ酸群）での検討により、フェルラ酸は、用量依存的に血管を拡張し、また血管内皮除去及び L-NAME 処理により、拡張率が有意に

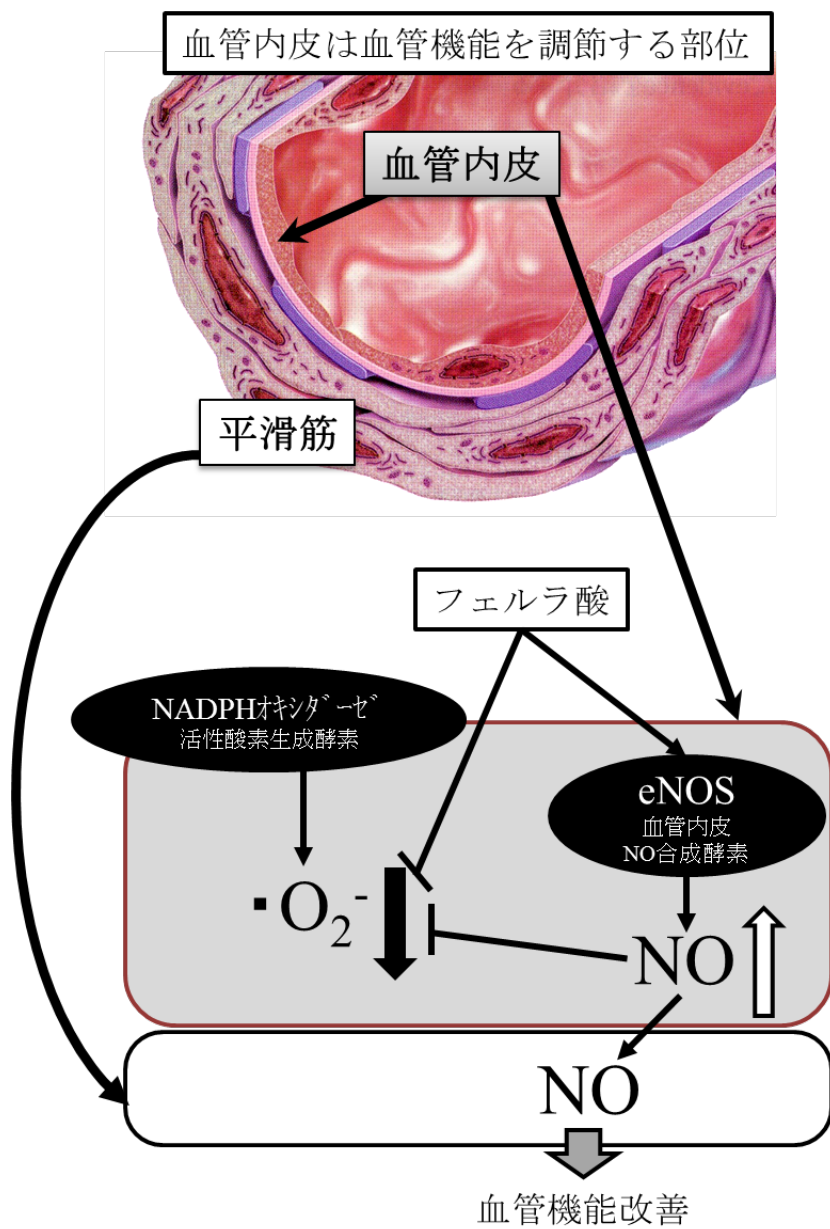
減少したことから、フェルラ酸による血管拡張の一部は、血管内皮の NO を介して拡張することが示唆された。

Hou らは、標準亜硝酸ナトリウムに対する濃度測定により、クロロゲン酸類の代表的代謝物であるフェルラ酸がヒト血管内皮細胞 (ECV304) において産生する NO の量を評価している [44]。その結果、80 μM のフェルラ酸で処理した ECV304 から産生する NO は、コントロールに比較して 2 h 時より有意に増加し、4 h 時に最高濃度に達した。このことから、フェルラ酸は血管内皮細胞において、血管内皮 NO 合成酵素 (eNOS) を介して NO を産生増加させることがわかった。

加えて Suzuki らは化学蛍光アッセイ法を用いて、活性酸素生成酵素である NADPH オキシダーゼに依存する活性酸素 ($\cdot\text{O}_2^-$) の生成量を検証している [45]。WKY (20~24 週齢, 雄性) 及び SHR (20~24 週齢, 雄性) の胸部大動脈を摘出し、これらに NADPH (10^{-4}M) を浸漬させ、蛍光ルミネッセンスを測定した。その結果、NADPH オキシダーゼ活性は、WKY 群に比べ SHR 群は有意に上昇し、 $\cdot\text{O}_2^-$ の生成量は増加した。フェルラ酸浸漬濃度の増加によって、それは減少し、SHR + 10^{-4}M フェルラ酸浸漬群は SHR 群に比較して有意に $\cdot\text{O}_2^-$ 生成量は減少した。このことから、クロロゲン酸類が代謝されたフェルラ酸自体が活性酸素を除去していると推察された。

以上のように、クロロゲン酸類を摂取後の代表的な代謝物の中でフェルラ酸が、血圧改善に寄与していることが明らかとなった。そしてフェルラ酸が血管内皮細胞において、NADPH 由来の活性酸素を除去する作用及び活性酸素を除去する NO の産生を増加させる作用を有しており、これらは NO のバイオアベイラ

ビリティを向上させていると推察される(Figure III-1). そして血管弛緩因子である NO が, 血管平滑筋細胞に働くことで血管調節機能が改善し, 血圧改善するものと考えられた. 上記がクロロゲン酸類の血圧改善効果の主たるメカニズムのひとつであると推察された.



血管弛緩因子であるNOの利用能改善を介した血圧改善

Figure III-1. クロロゲン酸類の主要代謝物フェルラ酸の血圧改善メカニズム

第2節 ヒドロキシヒドロキノン (HHQ) のクロロゲン酸類に対する阻害メカニズム

焙煎したコーヒーにも比較的多くクロロゲン酸類が含まれている。しかし上述したようにコーヒー摂取と血圧の関係は現在議論中である。そこで実際に Suzuki らは、5-CQA や生コーヒー豆抽出物ではなく、焙煎コーヒーを用いた動物試験で血圧の影響を見たところ、焙煎コーヒーにクロロゲン酸類が含まれているにもかかわらず、降圧作用が認められなかった。そこでこの焙煎コーヒーを分画操作することにより、降圧阻害成分ヒドロキシヒドロキノン(HHQ)を同定したと報告している [45]。HHQ がクロロゲン酸類の降圧作用を阻害するメカニズム検証として、Suzuki らは、マグヌス法で、HHQ 存在下におけるフェルラ酸の血管内皮機能を評価している [46]。SHR の胸部大動脈を摘出しリング標本作製し、対照群と試験群 5 群の計 6 群 (1 群 : n=4) に分け、試験群は、それぞれフェルラ酸 (FA) (10^{-5} M), HHQ (10^{-7} M), FA (10^{-5} M) + HHQ (10^{-7} M), FA (10^{-5} M) + HHQ (10^{-7} M) + SOD (super oxide dismutase) (150 U/ml), FA + HHQ + Catalase (1000 U/ml)を添加させた。対照群は溶媒 (ジメチルスルホキシド) を添加した。その後、フェニレフリンで収縮させ、アセチルコリン添加による血管内皮依存性の拡張反応を測定した。その結果、HHQ はフェルラ酸による血管内皮依存性の拡張反応を阻害し、SOD 処理によって HHQ の阻害が減弱しフェルラ酸による血管内皮依存性の拡張反応が回復した。Catalase 処理は、HHQ の阻害に影響を与えなかった。

Suzuki らのこれらの結果から、フェルラ酸による内皮依存性血管拡張反応は HHQ 由来の活性酸素によって阻害される可能性が示唆された。

一方ラットに HHQ 低減コーヒーの乾燥物を摂取させ、胸部大動脈から採取した mRNA の評価も行われている [45]。SHR を用い、試験群はクロロゲン酸類の摂取が約 300 mg/day となるよう、HHQ 低減コーヒーの乾燥物を 9.3% 配合した試験飼料、また対照群にはコントロール食を 8 週間摂取させた。その後、胸部大動脈から全 RNA を採取し、Omniscript[®] Reverse Transcriptase (QIAGEN) を用いて逆転写反応を行い、PCR 法により、36B4 (コントロール) に対する NADPH オキシダーゼ (Nox-2, p22^{phox} 及び p47^{phox}) の mRNA 転写量を調べた。その結果、Nox-2, p22^{phox} 及び p47^{phox} の mRNA 転写量はいずれも、コントロールと比較し有意に減少した。Suzuki らの結果から、HHQ 低減コーヒーの摂取は、活性酸素生成酵素である NADPH オキシダーゼの mRNA 転写を阻害することがわかった。

以上のように、焙煎コーヒーに含まれる HHQ が、クロロゲン酸類の降圧作用を阻害することがわかった。これはクロロゲン酸類の代謝物であるフェルラ酸による内皮依存性血管拡張反応が HHQ 由来の活性酸素によって阻害されるメカニズムであると示唆された。従って、HHQ が活性酸素に関与し、クロロゲン酸類の血管内皮機能改善を阻害することによって、コーヒーの降圧効果を阻害していると考えられた (Figure III-2)。

一方、HHQ 低減コーヒーが NADPH オキシダーゼ遺伝子の発現を阻害すること、第 1 節で述べた報告から、フェルラ酸の eNOS を介した NO 産生増加作用、

またフェルラ酸自体の $\cdot\text{O}_2^-$ 除去作用を合わせて、これらが NO アベイラビリティを向上させて、血管内皮機能を改善しているものと推察された.

以上の先行知見から, クロロゲン酸類と HHQ の血圧に影響するメカニズムが推察された.

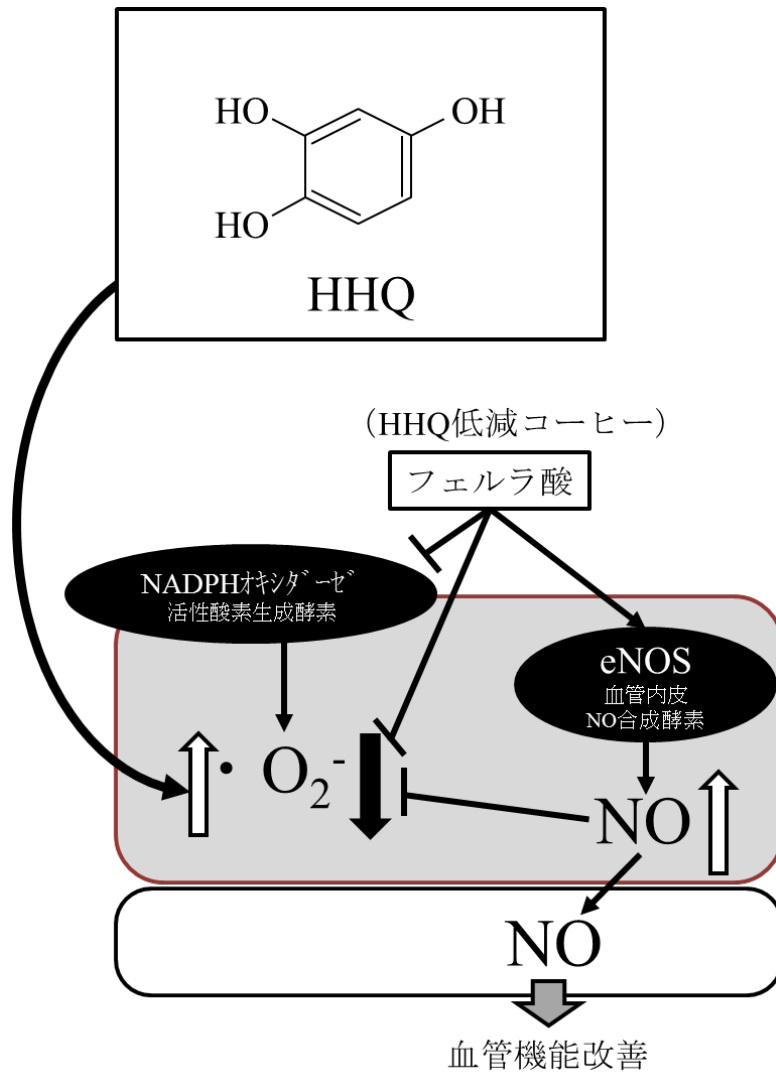


Figure III-2. フェルラ酸の血圧改善を阻害する HHQ のメカニズム

本論 クロロゲン酸類含有コーヒーのヒト血圧に対する効果

第1章 本研究の目的と実践方法

これまでの動物試験で焙煎コーヒー中のクロロゲン酸類が降圧作用を有するものの、焙煎コーヒー中に含まれる HHQ がその作用を阻害していることがわかった。このことから、焙煎コーヒーから HHQ を低減させることによって、クロロゲン酸類の血圧改善効果を期待した特定保健用食品の開発が期待できる。これまで人類が慣れ親しんできたコーヒー飲料の形態で無理なく摂取できることから、国民の全体的な血圧上昇抑制に効果が挙げられ、現代の国民医療費高騰の抑制に貢献できるものと推察される。

しかし、これまでの報告は動物試験からのものであり、ヒトにおいても同様の結果が得られるかどうかについてはエビデンスがなく不明であった。

そこで本研究では、HHQ 低減コーヒー飲料を製造し、その摂取によるヒトの血圧に対する効果の検証を目的とした。またコーヒー飲料は食品であることから、過剰摂取する場合も多分に考えられるため、開発した HHQ 低減コーヒーの過剰摂取による安全性についても検討した。これらの検証のために臨床試験を実施した。これらによって、ヒトに対する HHQ 低減コーヒー飲料の有効性及び

安全性が評価でき、国民の健康増進に寄与できる特定保健用食品の開発が可能となる。

本研究では、HHQ 低減コーヒーの有効性を検証するために、2つの臨床試験を計画した。

HHQ 低減コーヒー中の、クロロゲン酸類の摂取がヒトの血圧に対する有効性を検証する臨床試験（臨床試験 1） [47].

クロロゲン酸類を含有するコーヒー飲料中の、HHQ 含有量がヒトの血圧に及ぼす影響を検証する臨床試験（臨床試験 2） [48].

臨床試験 1 では、まず HHQ 低減コーヒーを摂取する群と、HHQ 及びクロロゲン酸類を低減したコーヒーを摂取する群を比較することにより、コーヒー形態において、HHQ 低減コーヒー中に含まれるクロロゲン酸類に血圧改善効果が認められるかを検証した。次に臨床試験 2 では、HHQ 低減コーヒーを摂取する群と、HHQ 及びクロロゲン酸類をどちらも含有するコーヒーを摂取する群を比較することにより、コーヒー形態において、HHQ 含有量がクロロゲン酸類の降圧作用に及ぼす影響を検証した。

本研究では、これら 2つの臨床試験により、開発した HHQ 低減コーヒーの血圧に対する有効性を検証した。両結果で HHQ 低減コーヒーの有効性が認められることで、コーヒー中のクロロゲン酸類が血圧を改善させる効果を有し、一般的なコーヒー中の HHQ がその効果を阻害するという、HHQ 低減コーヒーの明

確なエビデンスが得られるものと考えられた。同時に HHQ 低減コーヒーを摂取することでの安全性についても検証した。

さらに、HHQ 低減コーヒーは特定保健用食品として開発中のため、過剰摂取による安全性についても臨床試験 3（第 5 章）にて検証した。

上記臨床試験に用いる HHQ 低減コーヒー飲料の製造について以下に述べる。

一般に飲用されるコーヒーには、クロロゲン酸類と HHQ が含まれる。これまでに行った HPLC 法による分析で、一般的なコーヒー 1 杯につき、クロロゲン酸類は 40～350 mg、HHQ は 0.1～1.7 mg 含有している。HHQ 低減コーヒーの製造方法としては、一般的なコーヒー製造と基本的には同様の方法であるが、十分なクロロゲン酸類量を確保するために、生コーヒー豆量を多く用いる。まず生コーヒー豆を焙煎し、焙煎コーヒー豆を製造する。コーヒー飲料等の表示に関する公正競争規約の定めるコーヒー規格下限値（5 g/100 g=焙煎コーヒー豆重量/飲料重量）に対して、約 2.5 倍の焙煎コーヒー豆量を利用する [49]。この焙煎コーヒー豆を粉砕し、95℃の熱水で抽出液を得る。その後 25℃に冷却し、加工助剂による吸着濾過工程を経る。ここで HHQ 及びクロロゲン酸類の分子サイズの違い（HHQ=約 0.6 nm/分子、クロロゲン酸類=約 1.47 nm/分子）に着目し、クロロゲン酸类等よりも、小さな分子を選択的に吸着させることによって、HHQ をコーヒー抽出液から低減させている（特許第 3839831 号 [50]）。その後、調合工程及び殺菌工程を経て、HHQ 低減コーヒー（缶コーヒー）を製造した。なお、本研究で実施した臨床試験 1 及び臨床試験 2 の HHQ 低減コーヒーはブラックコーヒータイプであり、臨床試験 3 ではミルクコーヒータイプであった。ミルク

コーヒータイプでは、調合工程において、牛乳，砂糖，脱脂粉乳，カゼイン Na，香料，乳化剤及び甘味料（アセスルファム K）を添加して製造した。

第2章 HHQ低減コーヒー中のクロロゲン酸類の血圧に対する有効性 (臨床試験 1)

臨床試験 1 では、HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類の 12 週間継続摂取が、正常高値及び軽症高血圧者の血圧に対する効果と安全性、加えてヒトの血管内皮機能に対する効果を検証した。

第1節 試験方法

1. 被験者

被験者は、試験開始時に 20 歳以上 65 歳以下の男女、高血圧治療ガイドライン 2004 (JSH2004) 基準で正常高値者 (収縮期血圧, SBP: 130~139 mmHg または拡張期血圧, DBP: 85~89 mmHg) 及び軽症高血圧者 (SBP: 140~159 mmHg または DBP: 90~99 mmHg) に該当し [51], 降圧薬による治療を受けてない者を対象とし、重篤な肝、腎、心疾患、内分泌障害、代謝障害、糖尿病の罹患者、妊娠の可能性のある女性、ヘビースモーカー(平均 21 本/day 以上)、アルコール多飲者 (平均 30 g/day 以上)、カフェイン及びコーヒーに過敏症もしくはアレルギーを示す者、また担当医師が不適当と判断した者は除外した。

2. 試験の実施

本試験は、その実施に関する全ての業務を Contract Research Organization (CRO) の株式会社 総合医科学研究所（豊中市）に委託した（CRO による試験番号：KOCA-2005-7）。CRO の適正な管理のもと、ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験として、総医研クリニック（豊中市）にて実施された。本試験のプロトコールは、試験開始前に総合医科学研究所及び総医研クリニックの臨床試験受託に関する審査委員会の承認を受けた。本試験に参加した各被験者には、担当医師が本試験の内容、性質、目的、考えられる危険性を書面で十分に説明し、書面による同意を得た。本試験は試験責任医師の監督下においてヘルシンキ宣言 [52] の精神に則り、十分な配慮の基に実施した。

3. 試験飲料

コーヒー飲料から吸着処理により HHQ を低減したコーヒーを Active 飲料とし、クロロゲン酸類と HHQ どちらも低減したコーヒーを Placebo 飲料とした (Table 2-1)。試験飲料の形態は、日本でよく知られる缶コーヒー（184 ml）の形態であり、外見上と風味について、Active 飲料と Placebo 飲料の差が認められないよう配慮して調整した。Active 飲料中及び Placebo 飲料中のクロロゲン酸類は、それぞれ 299 mg/184 ml, 0 mg/184 ml であった。血圧に影響すると考えられるカフェインは、Active 飲料中 77 mg/184 ml で、Placebo 飲料中 78 mg/184 ml であった。またエネルギー量は、それぞれ 7 kcal/184 ml 及び 7 kcal/184 ml であった。

Table 2-1. 各試験飲料の組成

		Active beverage	Placebo beverage
Chlorogenic acids	(mg/184 ml)	299	0
Hydroxyhydroquinone	(mg/184 ml)	0.05	0.02
Caffeine	(mg/184 ml)	77	78
Energy	(kcal/184 ml)	7	7

4. 試験プロトコール

本試験は、ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験法を用いた。摂取前の Lead in period 4 週間、試験飲料を摂取する Test period 12 週間、摂取後の Wash out period 4 週間を設けた(Figure 2-1)。Test period で試験飲料の摂取開始時を 0 週目(0 wk)として、検査は、-4 週目 (-4 wk), -2 週目 (-2 wk), -1 週目 (-1 wk), 0 週目 (0 wk), 4 週目 (4 wk), 8 週目 (8 wk), 10 週目 (10 wk), 12 週目 (12 wk)及び 16 週目 (16 wk)に実施した。-1 wk の検査後、JSH2004 に準拠した血圧値の分類毎、また男女毎で層別無作為化法により被験者を 2 群に分けた。被験者は Test period の間、Active 飲料もしくは Placebo 飲料を 1 日 1 本摂取した。

被験者は試験期間中、暴飲暴食をせず、普段の食習慣を続けることとし、運動習慣や喫煙習慣も変えないよう指導した。また血圧に影響を及ぼす薬剤、高血圧を改善する食品及び試験飲料以外のコーヒーの摂取を禁止した。検査前日は 21 時まで夕食を済ませ、それ以後、検査が終了するまで水以外の飲食を禁止した。検査当日は、検査が終了するまで禁煙とし、Test period の間は検査終了後、試験飲料を摂取させた。

検査項目は、SBP、DBP、脈拍、身長、体重、血液学検査、血液生化学検査、尿検査、虚血後の反応性充血による血管内皮機能評価及び問診とした。

試験後の解析対象者として目標症例比は、日本における血圧の状況 (2002) [53]から大きく偏ることのないよう、正常高値者と軽症高血圧者の比を 1:1 及び

男女比 1:1 を目標とした。また目標症例数は、正常高値者 50 例以上、軽症高血圧者 50 例以上とした。虚血後の反応性充血による血管内皮機能評価については、被験者の中からランダムに抽出し 40 例以上とした。

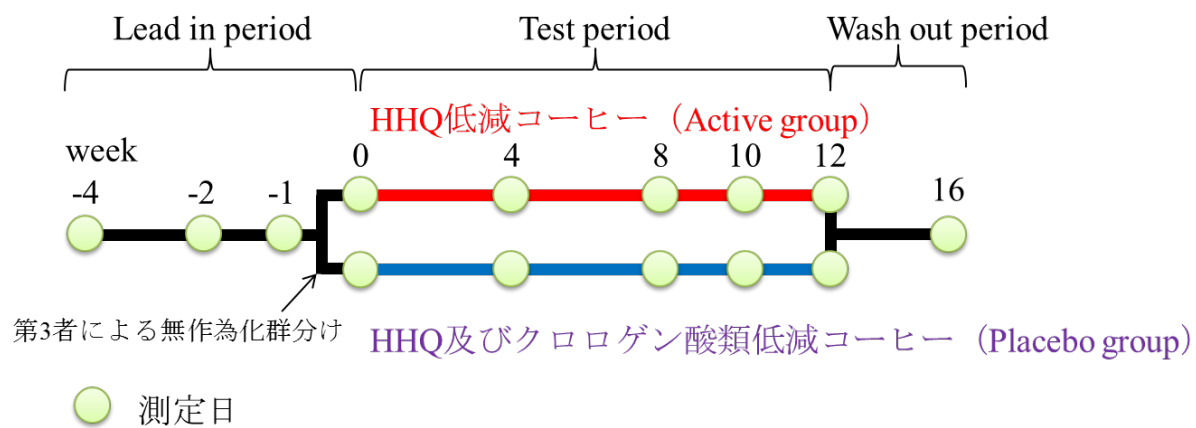


Figure 2-1. 試験スキーム

5. 血圧，脈拍の測定及び問診

血圧の測定は，JSH2004 に則り，被験者が来院後，少なくとも 10 分間以上の座位安静を保った後に，看護師が水銀血圧計を用いて測定した．血圧値は，熟練した看護師が間隔をおいて複数回測定し，2 回の安定した値（測定値の差が 5 mmHg 未満）からの平均値とした．脈拍は来院時に 1 回測定した．問診は，医師が自覚症状，他覚所見の有無を診察した．

6. 血管内皮機能の評価

血管内皮機能の評価は，Higashi らの方法 [54] に準じ，-1 wk 及び 12 wk に実施した．

被験者には仰臥位を取らせ，利き腕と対側の腕にカフ 3 つとストレンゲージを巻き，20 分間安静をとらせた後，はじめに安静時の前腕動脈血流量を 7 回以上測定した．

その後，上腕に巻いたカフに，200 mmHg または SBP+50 mmHg のいずれか高い値で圧をかけ，正確に 5 分間駆血し，駆血開放後，前腕動脈血流量を 0 秒後より 15 秒間隔で 2 分間測定した．

測定器には，Plethysmograph EC6（D.E.Hokanson, Inc.）を使用した．

これより血管内皮機能は，安静時前腕動脈血流量（ml/min/100 ml tissue）を原則として 7 回の測定結果から 5 回のトリム平均値とし，駆血開放後の最大前腕

動脈血流量 (ml/min/100 ml tissue)から除した前腕動脈血流量変化率 (FBF) で評価した。

この評価方法により，血管内皮機能が妥当に評価でき，FBF の増加は血管内皮機能の改善を示す [54]。

7. 血液学検査，血液生化学検査及び尿検査

血液学検査，血液生化学検査及び尿検査は，0 wk，12 wk 及び 16 wk に実施した。検査日に，被験者は 10 分以上の座位安静の後，熟練した看護師が座位にて採血を行った。血液学検査項目として，白血球数，赤血球数，ヘモグロビン，ヘマトクリット値，平均赤血球容積，平均赤血球血色素量，平均赤血球血色素濃度及び血小板数を測定した。血液生化学項目として，中性脂肪，総コレステロール，HDL コレステロール，空腹時血糖，総ホモシステイン，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ，アラニンアミノトランスフェラーゼ， γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ，アルカリフォスファターゼ，乳酸デヒドロゲナーゼ，総蛋白，アルブミン，尿酸，尿素窒素，クレアチニン，ナトリウム，クロール，カリウム，カルシウム，マグネシウム，鉄，不飽和鉄結合能及びフェリチンを測定した。

尿検査項目として，Na，K 及びクレアチニンを測定した。また定性的な測定として，pH，蛋白，糖，潜血，ウロビリノーゲン及び比重を測定した。さらに，Kawasaki らが開発したスポット尿を用いた 24 時間尿中 Na・K 排泄量の推定法により，1 日あたりの Na 排泄量及び K 排泄量を推定した [55]。

全ての血液検査及び尿検査を、キシモトクリニカル・ラボラトリー・グループ（苫小牧市）において実施した。

8. 身長及び体重

身長は-4 wk 以前の予備検査時に測定した。体重は-4 wk, -1 wk, 0 wk, 4 wk, 8 wk, 12 wk 及び 16 wk に測定した。また体重と身長より Body mass index (BMI, kg/m^2)を算出した。

9. 統計解析

主要なエンドポイントは、正常高値及び軽症高血圧者に対し、HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類の 12 週間継続摂取による、SBP 及び DBP の改善とした。

正常高値及び軽症高血圧者の分類に用いる SBP と DBP として、それぞれ試験飲料の摂取直前である-1 wk 及び 0 wk の平均値を用いた。またその平均値をそれぞれ SBP と DBP の初期値とした。SBP 及び DBP の改善を評価する統計解析方法としては、線形混合モデルで初期値を共変量とした反復測定のある二元配置分散分析（相関構造：Unstructured）とし、変数として 4 wk, 8 wk, 10 wk 及び 12 wk の実測値を用い、群の効果と、群と週の交互作用を評価することとした。各時点における改善の評価として、上記解析から得られる最小二乗平均と

標準誤差から検定することとした。各群で初期値から各時点への変化は、Paired t-test により検定することとした。

また試験飲料摂取終了後における血圧（16 wk）の群間の効果について、初期値を共変量とした二元配置分散分析を行った。軽症高血圧者のみで血圧の解析も同様に行った。

FBF の評価は、12 wk における群間の効果について-1 wk を共変量とした共分散分析を行った。各群で初期値から各時点への変化は、Paired t-test により検定することとした。血液学検査、血液生化学検査及び尿検査の評価は、12 wk における群間の効果について、0 wk を共変量とした共分散分析により行った。試験飲料摂取終了後（16 wk）における群間の効果について、0 wk を共変量とした共分散分析により行った。定量的な測定でない項目は上記統計解析を行なかった。

脈拍、体重、BMI については、血圧の統計解析方法に準じて、線形混合モデルで初期値を共変量とした反復測定のある二元配置分散分析（相関構造：Unstructured）とし、群の効果と、群と週の交互作用を評価することとした。各時点における改善の評価として、上記解析から得られる最小二乗平均と標準誤差から検定することとした。各群で初期値から各時点への変化は、Paired t-test により検定することとした。

SBP と FBF 及び脈圧と FBF の改善度の相関解析について、初期値から 12 wk への変化量（ Δ ）を用い、ピアソンの相関係数の検定を行った。なお、脈圧は SBP から DBP を引いた値とした。

いずれの項目も初期値について、群間有意差の検定は Student' s t-test を用いた。

データは平均値(standard mean of error, SEM)で示した。全ての検定は両側検定で行い、 $p<0.05$ で有意レベルとした。

統計計算は、SAS software release 8.2 (SAS institute Inc, Cary, NC, USA)を用いた。

第 2 節 結果

1. 被験者背景

インフォームドコンセントの得られた被験者 123 名が、本試験にエントリーした。そのうち、試験途中にて 6 名が来院不可能につき試験を中止した。1 名が膝を骨折し、来院不可能のため試験を中止した。また 1 名がコーヒーを飲まないで便秘になるという理由で試験を中止した。試験を完了した者のうち、プロトコール違反(利尿剤服用、高脂血症薬服用、試験飲料摂取率が 90%未満、来院直前に食事摂取)が判明した 4 名を除外した。また血圧値の分類において、初期値が正常高値または軽症高血圧者ではなかった 11 名(正常血圧者)を除外した。

最終的に、解析対象者は 100 名(Active group: 49 名(女性: 26, 男性: 23), Placebo group: 51 名(女性: 27, 男性: 24)) となった。

解析対象者の年齢，身長，SBP，DBP，脈拍，体重，BMI，血液学項目，血液生化学項目及び尿検査項目について，初期値を Table 2-2 及び Table 2-3 に示した．
いずれの項目について，初期値で群間有意差は認められなかった．

Active group は正常高値者が 20 名(女性: 9, 男性: 11), 軽症高血圧者が 29 名(女性: 17, 男性: 12)より構成され, SBP は 140.4 (1.3) mmHg であり, DBP は 86.7 (0.8) mmHg であった． Placebo group は正常高値者が 21 名(女性: 12, 男性: 9), 軽症高血圧者が 30 名(女性: 15, 男性: 15)より構成され, SBP は 141.1 (1.2) mmHg であり, DBP は 87.2 (0.8) mmHg であった．

Table 2-2. 正常高値血圧者及び軽症高血圧者の初期背景（その 1）

	Active n=49	Placebo n=51
n (female/male)	26/23	27/24
Age (y)	51.6 (1.4)	51.0 (1.5)
Height (cm)	161.5 (1.4)	161.9 (1.1)
SBP (mmHg)	140.4 (1.3)	141.1 (1.2)
DBP (mmHg)	86.7 (0.8)	87.2 (0.8)
Pulse rate (beat/min)	71.5 (0.9)	71.6 (0.9)
Body weight (kg)	62.0 (1.6)	63.3 (1.6)
BMI (kg/m ²)	23.7 (0.4)	24.0 (0.4)
Red blood cells (×10 ⁴ /ml)	459.1 (6.48)	461.7 (6.93)
White blood cells (×10 ³ /ml)	4.97 (0.16)	5.34 (0.17)
Hemoglobin (g/dl)	14.3 (0.23)	14.2 (0.23)
Hematocrit (%)	41.2 (0.58)	41.2 (0.60)
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	31.1 (0.32)	30.8 (0.31)
Mean corpuscular hemoglobin concentration (%)	34.6 (0.12)	34.4 (0.14)
Mean corpuscular volume (fl)	89.9 (0.80)	89.4 (0.73)
Blood platelet (×10 ⁴ /ml)	20.7 (0.70)	21.3 (0.63)
Triglyceride (mg/dl)	118.3 (9.89)	129.8 (13.88)
Total cholesterol (mg/dl)	216.5 (5.90)	206.8 (5.59)
HDL cholesterol (mg/dl)	67.0 (2.43)	63.4 (1.97)
Fasting blood sugar (mg/dl)	94.4 (1.51)	93.7 (0.97)
Total homocysteine (nmol/ml)	10.7 (0.35)	11.6 (0.86)
Aspartate aminotransferase (IU/l)	21.9 (0.91)	21.9 (0.99)
Alanine aminotransferase (IU/l)	21.9 (2.12)	23.1 (2.11)
γ-glutamyl transpeptidase (IU/l)	30.0 (2.91)	30.0 (2.89)
Alkaline phosphatase (IU/l)	222.9 (7.75)	210.1 (8.92)
Lactate dehydrogenase (IU/l)	184.7 (4.79)	185.1 (3.40)

Mean (SEM).

SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, HDL: high density lipoprotein.

There were no significant differences between Active and Placebo groups at baseline of any items by Student's t-test.

Table 2-3. 正常高値血圧者及び軽症高血圧者の初期背景（その 2）

	Active n=49	Placebo n=51
Total protein (g/dl)	7.28 (0.05)	7.31 (0.04)
Albumin (g/dl)	4.59 (0.02)	4.60 (0.03)
Uric acid (mg/dl)	5.19 (0.21)	5.29 (0.20)
Blood urea nitrogen (mg/dl)	13.9 (0.49)	14.0 (0.39)
Serum creatinine (mg/dl)	0.90 (0.02)	0.89 (0.02)
Na (mEq/l)	142.1 (0.25)	142.4 (0.24)
Cl (mEq/l)	102.4 (0.19)	102.4 (0.25)
Ca (mg/dl)	9.18 (0.05)	9.19 (0.05)
Mg (mg/dl)	2.33 (0.02)	2.36 (0.02)
Fe (mg/dl)	111.9 (6.01)	102.3 (5.03)
K (mEq/l)	4.08 (0.04)	4.14 (0.04)
Unsaturated iron-binding capacity (μg/dl)	230.8 (10.32)	237.1 (10.44)
Ferritin (ng/ml)	104.8 (16.98)	130.7 (18.55)
Urinary Na (mEq/l)	141.6 (8.64)	142.0 (7.07)
Urinary K (mEq/l)	40.7 (4.37)	40.3 (3.70)
Urinary creatinine (mg/dl)	116.6 (7.96)	141.1 (11.53)
Presumptive urinary Na excretion (mEq/day)	208.6 (8.80)	201.2 (9.36)
Presumptive urinary K excretion (mEq/day)	45.1 (1.68)	43.8 (1.70)

Mean (SEM).

There were no significant differences between Active and Placebo groups at baseline of any items by Student's t-test.

また解析対象者の FBF について、初期値を Table 2-4 に示した。初期値で群間有意差は認められなかった。

試験飲料の飲用率は、両群とも 99.5%以上であり、群間差は認められなかった。喫煙者は Active group で 49 名中、6 名であった。Placebo group で 51 名中、7 名であった。

Table 2-4. 虚血後反応性充血時の前腕動脈血流量変化率

		Baseline	12 wk		Group
FBF (%)	Active	569.7 (46.00)	830.7 (95.01)	**	0.129
	Placebo	602.7 (53.25)	698.5 (71.68)		

Mean (SEM) .

FBF: forearm arterial blood flow.

** : $p < 0.01$ by paired t-test between baseline and 12 wk in each group.

Group represents p value of group effect by ANCOVA

(covariate=baseline value).

n: Active=19, Placebo=23.

No significant difference was found between the Active and Placebo groups at baseline values by the Student's t-test.

2. 収縮期血圧及び拡張期血圧の変化

Test periodにおけるSBP及びDBPの変動をFigure 2-2に示す. SBPのTest periodにおける変動について, Active groupで, SBPの初期, 4 wk, 8 wk, 10 wk及び12 wkは, それぞれ140.4 (1.3) mmHg, 135.5 (1.5) mmHg, 135.6 (1.5) mmHg, 135.9 (1.6) mmHg及び135.6 (1.5) mmHgであり, 4 wk以降, 初期値から有意に低下した状態で推移した. SBPのPlacebo groupで, 初期, 4 wk, 8 wk, 10 wk及び12 wkは, それぞれ141.1 (1.2) mmHg, 137.8 (1.6) mmHg, 138.0 (1.8) mmHg, 140.7 (1.4) mmHg及び139.6 (1.5) mmHgであった. その結果, 初期値を共変量とした反復測定のある二元配置分散分析より, Active groupはPlacebo groupに対し, Test periodを通じて有意な群間差が認められた($p=0.044$). また各時点における最小二乗平均と標準誤差からの検定では, 10 wkにおいて, Active groupはPlacebo groupに対して有意な低値を示した($p=0.022$).

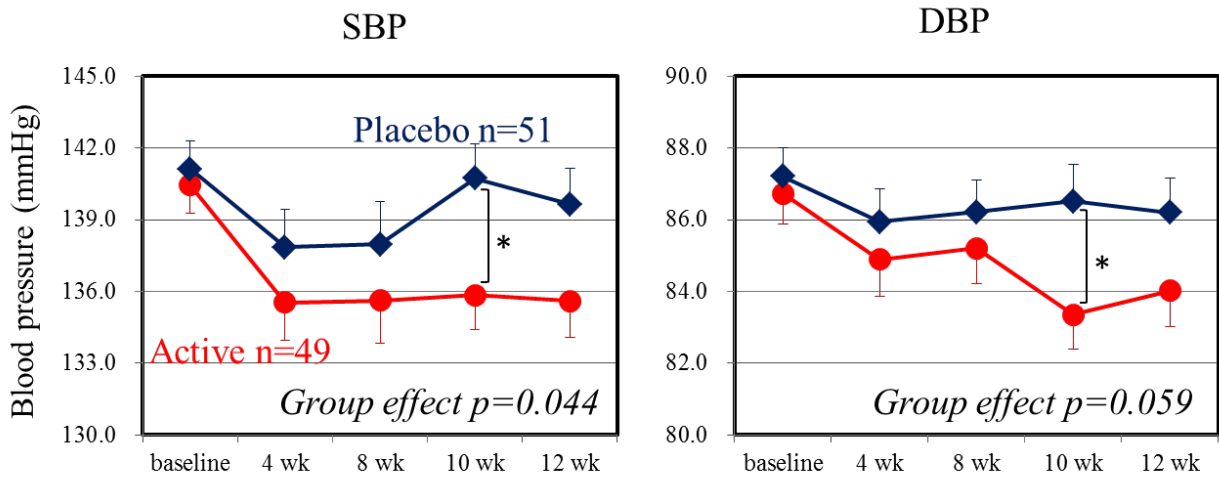
DBPのTest periodにおける変動について, Active groupで, DBPの初期, 4 wk, 8 wk, 10 wk及び12 wkは, それぞれ86.7 (0.8) mmHg, 84.9 (1.0) mmHg, 85.2 (1.0) mmHg, 83.4 (1.0) mmHg及び84.0 (1.0) mmHgであり, 10 wk及び12 wkで, 初期値から有意に低下した. DBPのPlacebo groupで, 初期, 4 wk, 8 wk, 10 wk及び12 wkは, それぞれ87.2 (0.8) mmHg, 85.9 (0.9) mmHg, 86.2 (0.9) mmHg, 86.5 (1.0) mmHg及び86.2 (1.0) mmHgであった. しかし, 初期値を共変量とした反復測定のある二元配置分散分析で, Active groupのPlacebo groupに対する群間

差は認められず、強い傾向にとどまった($p=0.059$). 各時点における検定の 10 wk で、Active group は Placebo group に対して有意な低値を示した($p=0.038$).

試験飲料摂取後の Wash out period (16 wk) において、SBP 及び DBP のいずれの項目も群間差は認められなかった (data not shown).

脈拍の変動において、Test period 及び Wash out period (16 wk) で群間差は認められなかった (data not shown).

軽症高血圧者のみの血圧の変動を Figure 2-3 に示す. Active group (29 名) では、SBP の初期、4 wk、8 wk、10 wk 及び 12 wk は、それぞれ 145.7 (1.3) mmHg, 138.9 (2.0) mmHg, 137.3 (2.2) mmHg, 139.5 (2.2) mmHg 及び 136.2 (2.2) mmHg であり、初期値から 6~10 mmHg 程度、有意に低下した. Placebo group (30 名) では、SBP の初期、4 wk、8 wk、10 wk 及び 12 wk において、それぞれ 146.4 (1.1) mmHg, 143.1 (1.9) mmHg, 144.5 (2.1) mmHg, 146.0 (1.6) mmHg 及び 144.3 (2.0) mmHg であった. これより Active group は Placebo group に対し、Test period を通じて統計学的に有意な群間差を示した($p=0.004$). さらに DBP についても、軽症高血圧者で Active group は、8 wk 以降に初期より有意に低下し、また Placebo group に対し、統計学的に有意な群間差を示した($p=0.014$).



SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure.
Mean (SEM).

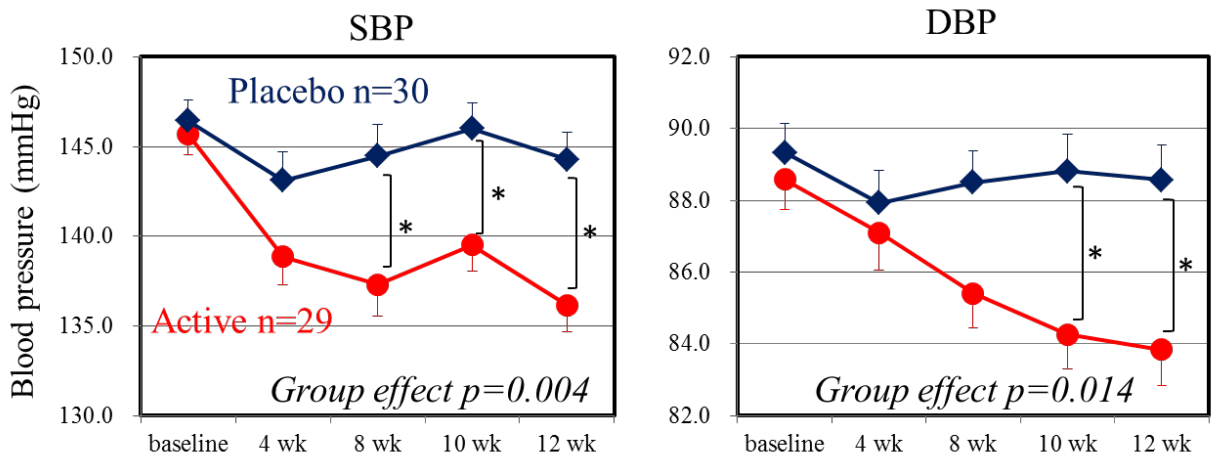
Group effect represents p value of group effect by repeated-measures ANCOVA (covariate=baseline value, variable=4 wk, 8 wk, 10 wk, 12 wk).

* represents significant estimated difference by a comparison between the Active and Placebo groups using adjusted least-square means and standard errors.

n: Active=49, Placebo=51.

Statistical multiplicity between SBP, DBP, and Pulse rate was not adjusted.

Figure 2-2. 正常高値血圧者及び軽症高血圧者の血圧の変動



SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure.
Mean (SEM).

Group effect represents p value of group effect by repeated-measures ANCOVA (covariate=baseline value, variable=4 wk, 8 wk, 10 wk, 12 wk).

* represents significant estimated difference by a comparison between the Active and Placebo groups using adjusted least-square means and standard errors.

n: Active=30, Placebo=29.

Statistical multiplicity between SBP, DBP, and Pulse rate was not adjusted.

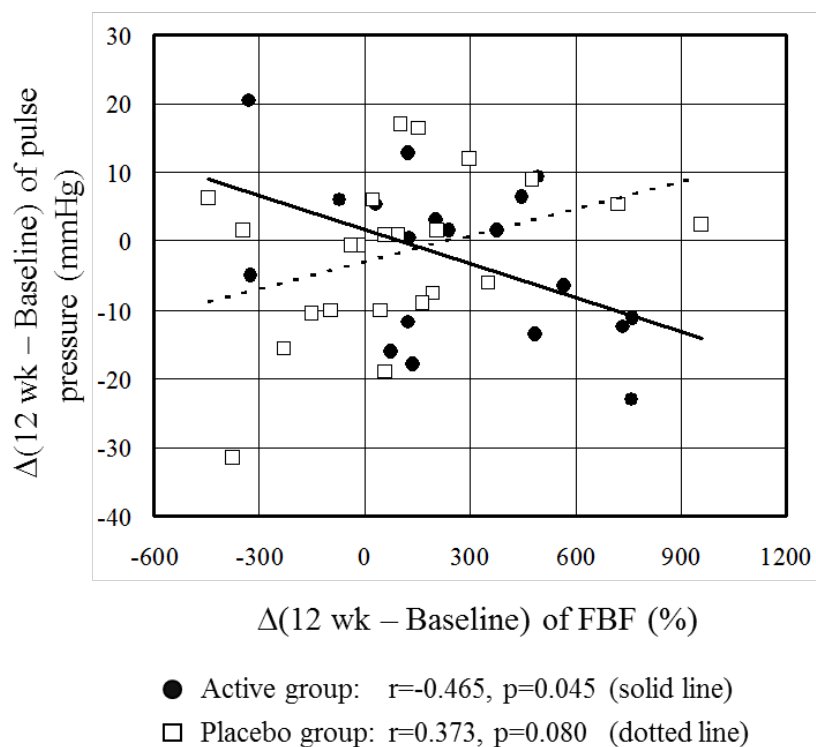
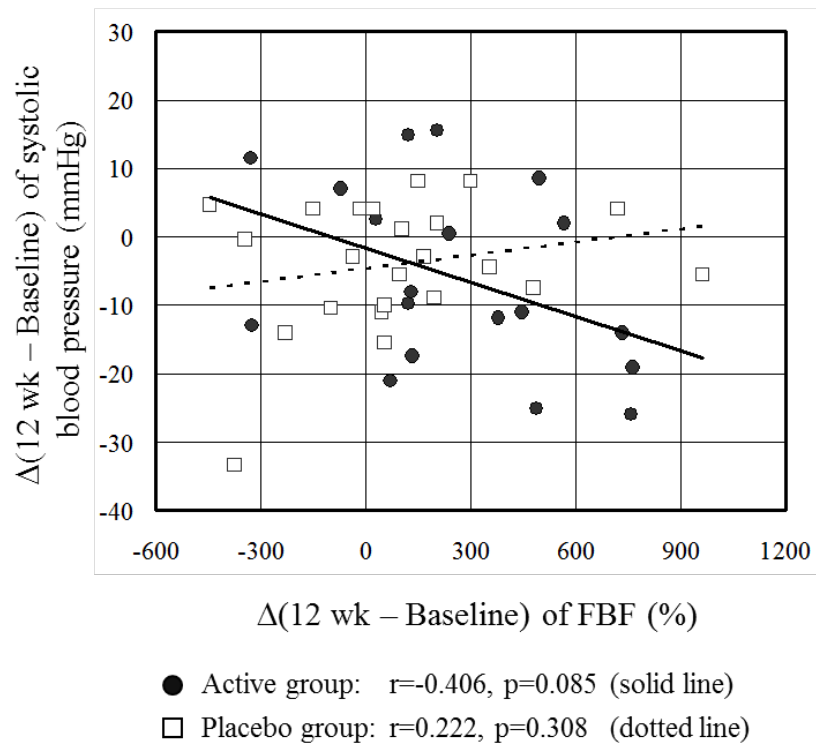
Figure 2-3. 軽症高血圧者のみでの血圧の変動

3. 血管内皮機能の評価

FBF の変化を Table 2-4 に示した．この測定は，ランダムに解析対象者の一部を抽出し，Active group は 19 名(女性: 9, 男性: 10), Placebo group は 23 名(女性: 13, 男性: 10)で行った．Active group において，FBF は 569.7 (46.0) %から，830.7 (95.0) %へ 12 週間で有意に増加した．Placebo group では群内の有意差は認められなかった．群間比較での有意差は認められなかった．

この測定より得られた血管内皮機能における効果 (Baseline から 12 wk における変化量) と SBP の変化 (Baseline から 12 wk における変化量) 及び血管内皮機能における効果と脈圧の変化 (Baseline から 12 wk における変化量) の関係を Figure 2-4 に示す．

血管内皮機能における効果と SBP の変化の関係において，Active group のみ，負の相関傾向が認められた($r=-0.406$, $p=0.085$)．また血管内皮機能における効果と脈圧の変化の関係において，Active group のみ，有意な負の相関が認められた($r=-0.465$, $p=0.045$)．



r: Pearson's product-moment correlation coefficient, p: p value of Pearson's correlation coefficient test.

Figure 2-4. 血管内皮機能改善効果，収縮期血圧の改善効果及び脈圧の改善効果の関係

4. 体重及び BMI の変化

体重及び BMI の変化を Table 2-5 に示す． Test period において，いずれの項目も，群間の有意差は認められなかった． 各時点における検定において， BMI の 12 wk で群間の有意差が認められた． いずれの項目も Active group 及び Placebo group で， 8 wk, 12 wk に初期値に対する有意な増加が認められた． Wash out period (16 wk) において， 群間の有意差は認められなかった．

Table 2-5. 体重及び BMI の変化

		Active	$p^{c)}$	Placebo	$p^{c)}$	p of estimated difference
Body weight (kg)	4 wk	61.9 (1.6)		63.4 (1.6)		0.377
	8 wk	62.5 (1.6)	**	64.0 (1.6)	***	0.514
	12 wk	62.7 (1.6)	***	64.6 (1.6)	***	0.050
	Group ^{a)}	p	0.166			
	16 wk	62.6 (1.6)		64.4 (1.6)		
	Group ^{b)}	p	0.217			
BMI (kg/m ²)	4 wk	23.6 (0.5)		24.1 (0.4)		0.390
	8 wk	23.9 (0.5)	**	24.3 (0.4)	***	0.524
	12 wk	24.0 (0.4)	***	24.5 (0.4)	***	0.047
	Group ^{a)}	p	0.167			
	16 wk	23.9 (0.5)		24.4 (0.4)		
	Group ^{b)}	p	0.260			

BMI: Body mass index.

Mean (SEM).

Group^{a)} represents p value of group effect by repeated-measures ANCOVA (covariate=baseline value, variable=4 wk, 8 wk, 12 wk).

Group^{b)} represents p value of group effect by ANCOVA (covariate=baseline value, variable=16 wk).

$p^{c)}$: ***; $p < 0.001$, **; $p < 0.01$ from baseline by paired t-test.

p of estimated difference represents comparison between the Active and Placebo groups using adjusted least-square means and standard errors.

n: Active=49, Placebo=51.

Statistical multiplicity between Body weight and BMI was not adjusted.

5. 血液学検査，血液生化学及び尿検査

血液学検査項目，血液生化学項目及び尿検査の 12 wk 及び 16 wk での変化を，それぞれ Table 2-6 及び Table 2-7 に示す．Uric acid 及び Serum creatinine の Test period において，12 wk で群間の有意差が認められた (Table 3-6)．その他のいずれの項目において，有意な変動は認められなかった．

定性的測定である尿検査の pH，蛋白，糖，潜血，ウロビリノーゲン及び比重について，臨床上問題となる所見は認められなかった(data not shown)．

Table 2-6. 12 週目における血液検査項目及び尿検査項目の変化

	Active n=49	Placebo n=51	Group <i>p</i>
Red blood cells ($\times 10^4$ /ml)	462.6 (6.83)	465.2 (7.12)	0.983
White blood cells ($\times 10^3$ /ml)	4.76 (0.19)	5.08 (0.19)	0.974
Hemoglobin (g/dl)	14.5 (0.23)	14.4 (0.24)	0.745
Hematocrit (%)	43.5 (0.60)	43.4 (0.63)	0.978
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	31.3 (0.34)	31.0 (0.31)	0.919
Mean corpuscular hemoglobin concentration (%)	33.2 (0.15)	33.2 (0.14)	0.606
Mean corpuscular volume (fl)	94.3 (0.85)	93.6 (0.73)	0.498
Blood platelet ($\times 10^4$ /ml)	21.5 (0.66)	22.7 (0.63)	0.179
Triglyceride (mg/dl)	100.8 (6.67)	126.2 (12.00)	0.090
Total cholesterol (mg/dl)	220.9 (5.69)	210.7 (5.09)	0.533
HDL cholesterol (mg/dl)	65.9 (2.30)	62.6 (1.93)	0.915
Fasting blood sugar (mg/dl)	94.4 (1.31)	95.1 (0.89)	0.282
Total homocysteine (nmol/ml)	12.0 (0.48)	12.5 (0.90)	0.379
Aspartate aminotransferase (IU/l)	23.0 (1.17)	22.6 (1.13)	0.747
Alanine aminotransferase (IU/l)	23.8 (2.45)	24.0 (2.17)	0.594
γ -glutamyl transpeptidase (IU/l)	36.2 (5.19)	34.0 (3.91)	0.572
Alkaline phosphatase (IU/l)	226.6 (7.78)	214.2 (8.95)	0.911
Lactate dehydrogenase (IU/l)	186.6 (4.32)	187.3 (4.23)	0.903
Total protein (g/dl)	7.30 (0.05)	7.38 (0.05)	0.295
Albumin (g/dl)	4.47 (0.03)	4.50 (0.03)	0.467
Uric acid (mg/dl)	5.03 (0.20)	5.35 (0.21)	0.028
Blood urea nitrogen (mg/dl)	13.85 (0.43)	14.26 (0.37)	0.427
Serum creatinine (mg/dl)	0.87 (0.02)	0.91 (0.02)	0.024
Na (mEq/l)	143.3 (0.28)	143.2 (0.30)	0.304
Cl (mEq/l)	103.0 (0.21)	102.5 (0.24)	0.152
Ca (mg/dl)	9.18 (0.05)	9.18 (0.05)	0.897
Mg (mg/dl)	2.29 (0.02)	2.32 (0.02)	0.979
Fe (mg/dl)	107.5 (6.40)	107.2 (5.82)	0.747
K (mEq/l)	4.03 (0.05)	4.01 (0.04)	0.455
Unsaturated iron-binding capacity (μ g/dl)	231.5 (10.09)	230.2 (9.54)	0.603
Ferritin (ng/ml)	103.8 (15.26)	130.3 (18.16)	0.669
Urinary Na (mEq/l)	123.4 (8.23)	112.8 (6.04)	0.284
Urinary K (mEq/l)	33.8 (2.83)	33.9 (3.23)	0.951
Urinary creatinine (mg/dl)	116.5 (8.27)	110.2 (8.87)	0.121
Presumptive urinary Na excretion (mEq/day)	191.0 (7.61)	193.7 (6.60)	0.657
Presumptive urinary K excretion (mEq/day)	43.5 (1.73)	44.4 (1.36)	0.577

Mean (SEM) HDL: high density lipoprotein.

Group represents p value of group effect by ANCOVA(covariate=base line value,variable=12 wk)

Table 2-7. 16 週目における血液検査項目及び尿検査項目の変化

	Active n=49	Placebo n=51	Group <i>p</i>
Red blood cells ($\times 10^4$ /ml)	459.7 (7.32)	457.8 (7.11)	0.246
White blood cells ($\times 10^3$ /ml)	5.13 (0.18)	5.52 (0.19)	0.655
Hemoglobin (g/dl)	14.5 (0.24)	14.4 (0.23)	0.511
Hematocrit (%)	42.8 (0.63)	42.3 (0.60)	0.217
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	31.7 (0.34)	31.5 (0.32)	0.298
Mean corpuscular hemoglobin concentration (%)	33.9 (0.13)	33.9 (0.15)	0.172
Mean corpuscular volume (fl)	93.5 (0.88)	92.8 (0.73)	0.467
Blood platelet ($\times 10^4$ /ml)	21.2 (0.70)	22.2 (0.58)	0.341
Triglyceride (mg/dl)	108.1 (8.79)	117.0 (16.23)	0.862
Total cholesterol (mg/dl)	223.1 (5.13)	215.9 (4.72)	0.985
HDL cholesterol (mg/dl)	66.7 (2.40)	63.4 (1.85)	0.908
Fasting blood sugar (mg/dl)	91.0 (1.27)	92.8 (1.13)	0.064
Total homocysteine (nmol/ml)	12.9 (0.52)	13.7 (0.89)	0.694
Aspartate aminotransferase (IU/l)	22.9 (1.16)	23.0 (1.08)	0.880
Alanine aminotransferase (IU/l)	25.1 (2.29)	26.2 (2.27)	0.954
γ -glutamyl transpeptidase (IU/l)	32.1 (3.74)	32.7 (3.58)	0.805
Alkaline phosphatase (IU/l)	229.0 (7.85)	215.5 (8.94)	0.718
Lactate dehydrogenase (IU/l)	177.5 (4.37)	180.4 (3.57)	0.427
Total protein (g/dl)	7.42 (0.06)	7.45 (0.04)	0.807
Albumin (g/dl)	4.55 (0.03)	4.55 (0.02)	0.829
Uric acid (mg/dl)	4.38 (0.20)	4.57 (0.22)	0.447
Blood urea nitrogen (mg/dl)	13.39 (0.38)	13.66 (0.43)	0.638
Serum creatinine (mg/dl)	0.88 (0.02)	0.89 (0.02)	0.163
Na (mEq/l)	141.4 (0.28)	141.6 (0.29)	0.980
Cl (mEq/l)	102.4 (0.28)	102.4 (0.25)	0.796
Ca (mg/dl)	9.30 (0.05)	9.23 (0.04)	0.113
Mg (mg/dl)	2.31 (0.03)	2.30 (0.02)	0.333
Fe (mg/dl)	119.3 (6.66)	109.4 (5.78)	0.471
K (mEq/l)	4.02 (0.05)	3.97 (0.03)	0.165
Unsaturated iron-binding capacity (μ g/dl)	253.2 (9.09)	253.4 (9.27)	0.665
Ferritin (ng/ml)	108.1 (16.58)	134.0 (20.08)	0.898
Urinary Na (mEq/l)	117.0 (7.8)	120.6 (6.82)	0.734
Urinary K (mEq/l)	34.3 (2.81)	31.1 (2.24)	0.347
Urinary creatinine (mg/dl)	104.8 (6.59)	110.2 (7.74)	0.735
Presumptive urinary Na excretion (mEq/day)	192.6 (6.33)	198.4 (6.75)	0.437
Presumptive urinary K excretion (mEq/day)	45.2 (1.41)	43.5 (1.27)	0.454

Mean (SEM) HDL: high density lipoprotein.

Group represents *p* value of group effect by ANCOVA(covariate=base line value,variable=16 wk).

6. 有害事象

試験期間中の医師の問診で、クロロゲン酸類の摂取が原因と疑われる有害な副作用は認められなかった。また SBP, DBP, その他の臨床検査値における個人の変動において、臨床上問題となる変化は認められなかった。

第3節 考察

本試験は、HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類の 12 週間の継続摂取が、正常高値ならびに軽症高血圧者の血圧に及ぼす影響を検証した。その結果、Active group の SBP は Active 飲料の摂取を開始して 4 wk でおよそ 5 mmHg 低下し、統計学的に有意に低下することが明らかになった (Figure 2-2)。その降圧効果は、4 wk 以降にほぼ一定に継続され、Placebo group と比較した場合、Test period を通じて有意な群間差を示した。Active group の DBP も同様に、10 wk 及び 12 wk で初期値より有意に低下した。また 10 wk で Active group は Placebo group に対して有意な低値を示した。以上のことから、HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類の 12 週間の継続摂取は、正常高値ならびに軽症高血圧者の血圧を改善させると考えられた。

軽症高血圧者のみの解析 (Figure 2-3) において、Active group の SBP は Placebo group に対し、Test period を通じて統計学的に有意な群間差を示した ($p=0.004$)。さらに DBP についても Active group は Placebo group に対し、統計学的に有意な群間差を示した ($p=0.014$)。以上より軽症高血圧者のみで解析を行った結果、

降圧効果は、解析対象者全員の場合より顕著に認められ、HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類の降圧効果が明確に示された。

なお、正常高値血圧者だけの解析では、統計学的に有意な差は認められなかった。これは、初期の SBP が Active group で 132.8 (1.0) mmHg, Placebo group で 133.5 (0.8) mmHg と、ほぼ正常血圧に近かったことが要因と推察した。

本研究で評価したクロロゲン酸類を含有し HHQ を低減したコーヒーは、穏やかな降圧作用を示すことから、毎日の生活の中で食品として摂取することは、血圧が気になる成人の、ひとつの食事療法として有用であろう。

血管の内皮細胞は、血流に直接接し、血流による shear stress にさらされる。内皮細胞は、shear stress や transmit signals の変化を認識して、その細胞形態、細胞機能及び遺伝子発現に変化を引き起こすことが報告されている [56]。このことにより内皮細胞は、血管壁の緊張性を調節し、血液の循環を中心とした生体の恒常性維持に重要な役割を担っていると考えられる [57]。この内皮細胞の障害は、動脈硬化の初期変化と言われている [58]。これらのことから、血液の循環に密接な関係のある内皮細胞の機能、すなわち血管内皮機能を良好な状態に保つことは重要であると考えられる。

本試験では、本コーヒーの摂取が血管内皮機能に及ぼす影響も検討した。その結果、Active group のみに、初期より有意な血流量変化の増加が認められ (Table 2-4)、HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類には血管内皮機能の改善効果があるものと推察された。

血管内皮機能と血圧の関係について、Huang らは、endothelial nitric oxide synthase (eNOS)機能欠損マウスで、血圧が上昇したと報告している [59]。また Framingham Study の被験者 2883 名を用いた疫学調査で、血管内皮機能の低下と SBP の上昇に有意な関連性が認められたと報告されている [60]。これらのことから、血管内皮機能と血圧に密接な関係があると考えられる。さらに Ceravolo らは、262 名の被験者を用いて、血管内皮機能の低下は SBP の上昇よりも脈圧の増加に顕著な関連性があることを示した。また脈圧の増加は DBP の低下よりも SBP の増加に有意な起因性を示したと報告している [61]。これは血管内皮機能、脈圧及び SBP は密接な関係にあると考えられる。

本試験の解析でも、血管内皮機能の改善効果と SBP の変化は相関する傾向が認められ、血管内皮機能の改善効果と脈圧の変化の関係に有意な負の相関が認められた。このことは、Ceravolo らの結果を支持し、血管内皮機能の改善と降圧効果及び脈圧の改善に関連性があるものと示唆された。

以上のことより、本試験で認められたクロロゲン酸類の降圧効果について、そのメカニズムのひとつとして血管内皮機能の改善が考えられ、これにより降圧効果が発現したと推察された。

安全性の評価項目においては、Test period 及び Wash out period の脈拍、体重、血液学検査項目、血液生化学検査項目及び尿検査項目において、Active group は Placebo group と比較して、検査基準値内の軽微な変化が 2 項目で認められたものの、臨床上問題となる変化は認められなかった。また医師の問診で、クロロゲン酸類の摂取に起因する有害な副作用は認められなかった。

以上のことより，HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類は，血圧が気になる成人の食事療法の一手段として安全に摂取できるものであると示された．

第4節 結論

クロロゲン酸類を含有し，HHQ を低減したコーヒー(185 ml/day)の12週間継続摂取により，正常高値者並びに軽症高血圧者から構成される Active group (n=49)の収縮期血圧が，Placebo group (n=51)に対し有意に低下した．また Active group の血管内皮機能が，初期より有意に改善した．さらに Active group には，血管内皮機能改善効果と降圧効果に関連性があると推察された．

安全性の検討において，クロロゲン酸類の摂取に起因する有害な副作用は認められなかった．

以上より，クロロゲン酸類を含有し，HHQ を低減したコーヒーは安全に飲用でき，血管内皮機能を改善し，高血圧を改善する効果を有すると考えられた．

第3章 コーヒーに含まれる HHQ 含有量が血圧に及ぼす影響

(臨床試験 2)

臨床試験 2 では、正常高値及び軽症高血圧者を用いて 12 週間継続摂取試験を実施し、一般的なコーヒーに含まれる HHQ 含有量が、クロロゲン酸類の血圧改善効果に対する効果を検証した。

第1節 試験方法

1. 試験の実施及び被験者

試験の実施及び被験者は、第2章で記した HHQ 低減コーヒー中のクロロゲン酸類の血圧に対する有効性の臨床試験（臨床試験 1）と同一であり、詳細を省いた。なお本試験は、CRO による試験番号（KOCB-2005-7）として実施された。

2. 試験飲料

試験飲料は、一般的に飲用されている市販品相当のコーヒーから HHQ を低減し、クロロゲン酸類を含有するコーヒーを Active 飲料とし、HHQ 及びクロロゲン酸類を含有するコーヒーを Control 飲料とした (Table 3-1)。試験飲料の形態は、日本でよく知られる缶コーヒー (184 ml) の形態であり、外見上と風味について、Active 飲料と Control 飲料の差が認められないよう配慮して調製した。Active, Control 両飲料中のクロロゲン酸類は 299 mg/184 ml であった。血圧に影響すると考えられる HHQ の量は Active 飲料中 0.05 mg/184 ml, Control 飲料中 1.69 mg/184

ml であり，カフェインの量は，Active 飲料中 77 mg/184 ml，Control 飲料中 75 mg/184 ml であった．またエネルギー量は Active 飲料が 29.3 kJ (7 kcal)/184 ml，Control 飲料が 37.7 kJ (9 kcal)/184 ml であった．

Table 3-1. 各試験飲料の組成

		Active beverage	Control beverage
Chlorogenic acids	(mg/184 ml)	299	299
Hydroxyhydroquinone	(mg/184 ml)	0.05	1.69
Caffeine	(mg/184 ml)	77	75
Energy	(kJ/184 ml)	29.3	37.7

3. 試験プロトコール及び検査項目

本試験の試験プロトコール及び検査項目（血圧，脈拍数，問診，血液学検査項目，血液生化学項目，尿検査，身長及び体重）は，第2章で記した HHQ 低減コーヒー中のクロロゲン酸類の血圧に対する有効性の臨床試験（臨床試験 1）と同一であり，詳細を省いた．ただし 1 点のみ異なる部分として，臨床試験 1 では，HHQ 及びクロロゲン酸類を低減した Placebo 飲料を用いたが，本試験ではその代わりに，HHQ 及びクロロゲン酸類を含有する，いわゆる一般コーヒー（Control 飲料）を用いた（Figure 3-1）．

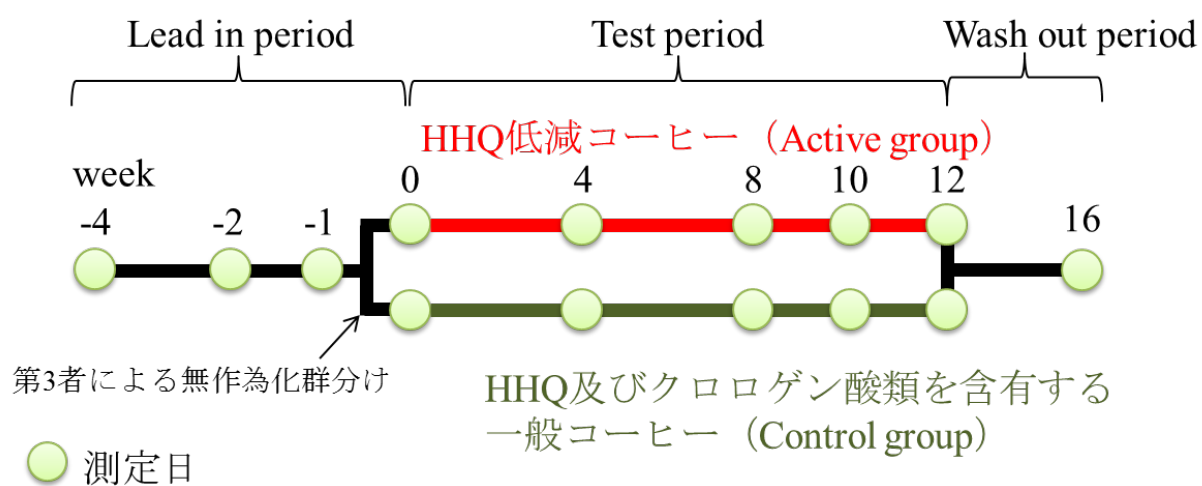


Figure 3-1. 試験スキーム

4. 統計解析

主要なエンドポイントは、正常高値及び軽症高血圧者に対し、HHQ を低減したコーヒー中のクロロゲン酸類の 12 週間継続摂取による、SBP 及び DBP の改善とした。

一般に血圧は被験者内の日内、日間変動が比較的大きいため、解析に用いる初期値として 1 時点のみのデータを用いるのは不適當と考えられ、試験飲料の摂取直前である-1 wk 及び 0 wk の平均値を SBP 及び DBP の初期値とした。またこの初期値を正常高値及び軽症高血圧者の分類に用いた。SBP 及び DBP の改善を評価する統計解析方法としては、線形混合モデルで初期値を共変量とした反復測定のある二元配置分散分析（相関構造：Unstructured）とし、臨床試験 1 の解析方法に準じた。その他の測定項目の統計解析も、臨床試験 1 の解析方法に準じ、詳細は省いた。また SBP 及び DBP の評価について、軽症高血圧者のみでの層別解析及びランダム化割付後の全ての被験者について解析（intention-to-treat 解析）を行った。これは血圧がより高いヒトでの有効性に興味があったことと、臨床試験において intention-to-treat 解析が重要であったためである。軽症高血圧者のみでの層別で、群間に偏りがないことを仮定している。データは平均値(standard mean of error, SEM)で示した。全ての検定は両側検定で行い、 $p<0.05$ で有意レベルとした。データ解析方法は、試験から独立した機関の統計家により確認された。

統計解析は、SAS software release 8.2 (SAS institute Inc, Cary, NC, USA)を用いた。

第2節 結果

1. 被験者背景

本試験にはインフォームドコンセントを得られた被験者 122 名がエントリーした。そのうち、試験途中にて3名が来院不可能につき試験を中止し、1名が試験飲料の継続摂取が不可能であるとの本人の申し出により試験を中止した。また1名が除外条件（脳血管障害の症候あり）に該当したため試験を中止した。試験を完了した者のうち、プロトコールから逸脱した2名（試験開始日のTG値が高値を示した1名、飲酒過多であった1名）、初期値において正常血圧値を示した16名及び中等症高血圧値を示した1名を除外した。

最終的に、解析対象者は98名〔Active群: 51名(女性: 29, 男性: 22), Control群: 47名(女性: 28, 男性: 19)〕となった。Active群は正常高値血圧者が22名(女性: 12, 男性: 10)、軽症高血圧者が29名(女性: 17, 男性: 12)より構成された。Control群は正常高値血圧者が16名(女性: 11, 男性: 5)、軽症高血圧者が31名(女性: 17, 男性: 14)より構成された。

解析対象者の年齢、身長、SBP、DBP、脈拍数、体重、BMI、血液学項目、血液生化学項目及び尿検査項目について、初期値をTable 3-2 及び Table 3-3 に示した。

Active 群の SBP 及び DBP は, それぞれ 139.8 (1.2) mmHg 及び 88.2 (0.8) mmHg であった. Control 群の SBP 及び DBP は, それぞれ 140.6 (1.0) mmHg 及び 88.2 (0.6) mmHg であった. いずれの項目についても初期値で群間有意差は認められなかった.

試験飲料の飲用率は, 両群とも 95%以上であり, 群間差は認められなかった.

同じく, 軽症高血圧者のみでの初期値を Table 3-4 及び Table 3-5 に示した. 総コレステロール値を除く, すべての項目において初期値に群間有意差は認められなかった.

Table 3-2. 正常高値血圧者及び軽症高血圧者の初期背景（その 1）

	Active n=51	Control n=47
n (female/male)	29/22	28/19
Age (y)	51.4 (1.3)	51.6 (1.3)
Height (cm)	161.5 (1.2)	160.8 (1.1)
SBP (mmHg)	139.8 (1.2)	140.6 (1.0)
DBP (mmHg)	88.2 (0.8)	88.2 (0.6)
Pulse rate (beat/min)	73.7 (1.1)	71.9 (1.2)
Body weight (kg)	64.5 (1.5)	62.7 (1.7)
BMI (kg/m ²)	24.7 (0.5)	24.2 (0.5)
Red blood cells (×10 ⁴ /μl)	463.4 (5.5)	454.2 (5.2)
White blood cells (×10 ³ /μl)	5.4 (0.2)	5.5 (0.3)
Hemoglobin (g/dl)	14.2 (0.2)	13.9 (0.2)
Hematocrit (%)	41.9 (0.5)	41.0 (0.6)
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	30.8 (0.3)	30.6 (0.3)
Mean corpuscular hemoglobin concentration (%)	34.0 (0.1)	33.9 (0.2)
Mean corpuscular volume (fl)	90.6 (0.7)	90.3 (0.8)
Blood platelet (×10 ⁴ /μl)	22.0 (0.8)	20.8 (0.7)
Triglyceride (mg/dl)	131.6 (10.3)	116.8 (10.2)
Total cholesterol (mg/dl)	219.8 (5.8)	210.1 (3.8)
HDL cholesterol (mg/dl)	60.3 (1.8)	63.1 (2.1)
Fasting blood sugar (mg/dl)	93.4 (1.2)	92.5 (1.0)
Total homocysteine (nmol/ml)	10.9 (0.4)	11.1 (0.4)
Aspartate aminotransferase (IU/l)	22.7 (1.3)	20.8 (0.8)
Alanine aminotransferase (IU/l)	24.1 (2.3)	20.2 (2.1)
γ -glutamyl transpeptidase (IU/l)	36.7 (3.6)	31.9 (4.4)
Alkaline phosphatase (IU/l)	220.4 (9.0)	221.1 (9.4)
Lactate dehydrogenase (IU/l)	183.8 (4.6)	180.4 (3.7)

Mean (SEM).

SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, HDL: high density lipoprotein.

There were no significant differences between Active and Control groups at baseline of any items by Student's t-test.

Table 3-3. 正常高値血圧者及び軽症高血圧者の初期背景（その2）

	Active n=51	Control n=47
Total protein (g/dl)	7.3 (0.04)	7.3 (0.04)
Albumin (g/dl)	4.6 (0.03)	4.6 (0.03)
Uric acid (mg/dl)	5.2 (0.2)	5.2 (0.2)
Blood urea nitrogen (mg/dl)	13.9 (0.5)	14.5 (0.5)
Serum creatinine (mg/dl)	0.9 (0.02)	0.9 (0.02)
Na (mEq/l)	142.6 (0.2)	142.5 (0.2)
Cl (mEq/l)	102.7 (0.3)	102.9 (0.3)
Ca (mg/dl)	9.2 (0.05)	9.2 (0.04)
Mg (mg/dl)	2.4 (0.02)	2.4 (0.02)
Fe (μg/dl)	100.4 (4.5)	101.4 (5.9)
K (mEq/l)	4.1 (0.05)	4.1 (0.05)
Unsaturated iron-binding capacity (μg/dl)	234.3 (8.3)	232.0 (9.0)
Ferritin (ng/ml)	123.7 (14.2)	123.8 (21.5)
Urinary Na (mEq/l)	150.6 (7.8)	158.9 (8.9)
Urinary K (mEq/l)	36.5 (2.6)	37.5 (2.5)
Urinary creatinine (mg/dl)	143.3 (9.8)	134.2 (9.8)
Presumptive urinary Na excretion (mEq/day)	197.4 (7.9)	200.2 (6.8)
Presumptive urinary K excretion (mEq/day)	41.1 (1.3)	42.1 (1.1)

Mean (SEM).

There were no significant differences between Active and Control groups at baseline of any items by Student's t-test.

Table 3-4. 軽症高血圧者の初期背景（その 1）

	Active n=29	Control n=31
n (female/male)	17/12	17/14
Age (y)	53.6 (1.7)	51.0 (1.7)
Height (cm)	160.7 (1.6)	161.7 (1.5)
SBP (mmHg)	144.7 (1.4)	143.5 (1.1)
DBP (mmHg)	90.5 (1.1)	89.9 (0.7)
Pulse rate (beat/min)	74.3 (1.7)	72.4 (1.4)
Body weight (kg)	65.2 (1.8)	63.2 (2.4)
BMI (kg/m ²)	25.2 (0.6)	24.0 (0.7)
Red blood cells (×10 ⁴ /μl)	459.8 (7.1)	456.2 (7.1)
White blood cells (×10 ³ /μl)	5.3 (0.3)	5.3 (0.3)
Hemoglobin (g/dl)	14.0 (0.3)	14.0 (0.3)
Hematocrit (%)	41.4 (0.6)	41.2 (0.7)
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	30.5 (0.4)	30.7 (0.4)
Mean corpuscular hemoglobin concentration (%)	33.8 (0.2)	34.0 (0.2)
Mean corpuscular volume (fl)	90.3 (0.9)	90.3 (1.0)
Blood platelet (×10 ⁴ /μl)	23.1 (1.0)	20.5 (1.0)
Triglyceride (mg/dl)	142.1 (14.3)	113.0 (12.6)
Total cholesterol (mg/dl)	223.2 (7.9)	205.0 (4.3) #
HDL cholesterol (mg/dl)	61.4 (2.5)	64.0 (2.9)
Fasting blood sugar (mg/dl)	93.5 (1.7)	91.4 (1.1)
Total homocysteine (nmol/ml)	11.4 (0.5)	11.2 (0.5)
Aspartate aminotransferase (IU/l)	25.0 (2.1)	21.6 (1.0)
Alanine aminotransferase (IU/l)	27.4 (3.8)	22.1 (3.0)
γ -glutamyl transpeptidase (IU/l)	39.9 (5.2)	35.7 (6.1)
Alkaline phosphatase (IU/l)	212.9 (12.4)	217.5 (12.1)
Lactate dehydrogenase (IU/l)	189.3 (6.5)	181.7 (4.7)

Mean (SEM).

SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, HDL: high density lipoprotein.

; p<0.05 between Active and Control groups at baseline by Student's t-test.

Table 3-5. 軽症高血圧者の初期背景（その 2）

	Active N=29	Control N=31
Total protein (g/dl)	7.4 (0.06)	7.3 (0.05)
Albumin (g/dl)	4.6 (0.04)	4.6 (0.03)
Uric acid (mg/dl)	5.3 (0.3)	5.4 (0.2)
Blood urea nitrogen (mg/dl)	14.2 (0.5)	14.6 (0.7)
Serum creatinine (mg/dl)	0.9 (0.02)	0.9 (0.02)
Na (mEq/l)	142.5 (0.2)	142.5 (0.3)
Cl (mEq/l)	102.4 (0.4)	102.7 (0.3)
Ca (mg/dl)	9.3 (0.08)	9.2 (0.06)
Mg (mg/dl)	2.4 (0.03)	2.4 (0.02)
Fe (μg/dl)	104.2 (6.4)	104.7 (7.9)
K (mEq/l)	4.1 (0.08)	4.1 (0.06)
Unsaturated iron-binding capacity (μg/dl)	233.7 (12.4)	232.8 (11.8)
Ferritin (ng/ml)	117.5 (16.0)	145.1 (30.6)
Urinary Na (mEq/l)	143.1 (10.7)	145.6 (10.8)
Urinary K (mEq/l)	33.2 (3.2)	36.3 (3.5)
Urinary creatinine (mg/dl)	134.6 (14.0)	135.0 (12.7)
Presumptive urinary Na excretion (mEq/day)	198.6 (10.2)	192.2 (6.5)
Presumptive urinary K excretion (mEq/day)	40.5 (1.7)	41.4 (1.2)

Mean (SEM).

2. 収縮期血圧及び拡張期血圧の変化

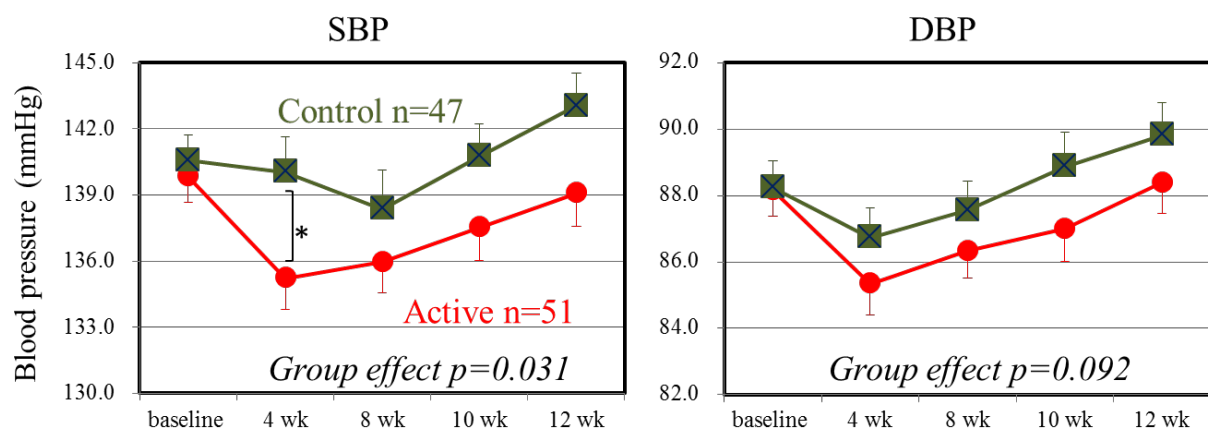
正常高値及び軽症高血圧者からなる全解析対象者における SBP 及び DBP の変動を Figure 3-2 に示す.

Test period における SBP の測定値より, 線形混合モデルを用い, 初期値を共変量とした反復測定のある二元配置分散分析より, 両群の予測平均値の差 (Active-Control) は, 4 wk, 8 wk, 10 wk 及び 12 wk で, それぞれ -4.2 mmHg [95% confidence interval (95%CI), -7.2; -1.3], -1.8 mmHg (95%CI, -5.2; 1.6), -2.6 mmHg (95%CI, -6.2; 0.9) 及び 3.4 mmHg (95%CI, -7.3; 0.5) であった. その結果, Active 群の SBP は Control 群に対し, Test period を通じて有意な群間差が認められた ($p=0.031$).

また各時点における最小二乗平均と標準誤差からの検定では, 4 wk において, Active 群は Control 群に対して有意な低値を示した ($p<0.01$).

Test period における DBP の測定値より, 線形混合モデルを用い, 初期値を共変量とした反復測定のある二元配置分散分析より, 両群の予測平均値の差 (Active-Control) は, 4 wk, 8 wk, 10 wk 及び 12 wk で, それぞれ -1.3 mmHg (95%CI, -3.4; 0.7), -1.2 mmHg (95%CI, -3.3; 1.0), -1.8 mmHg (95%CI, -4.3; 0.7) 及び 1.4 mmHg (95%CI, -3.8; 1.1) であった. その結果, DBP は Active 群と Control 群の間で, Test period を通じて有意な群間差は認められなかった ($p=0.092$).

試験飲料摂取後の Wash out period (16 wk) において, SBP, DBP, いずれの項目も群間差は認められなかった (data not shown).



SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure.

Mean (SEM).

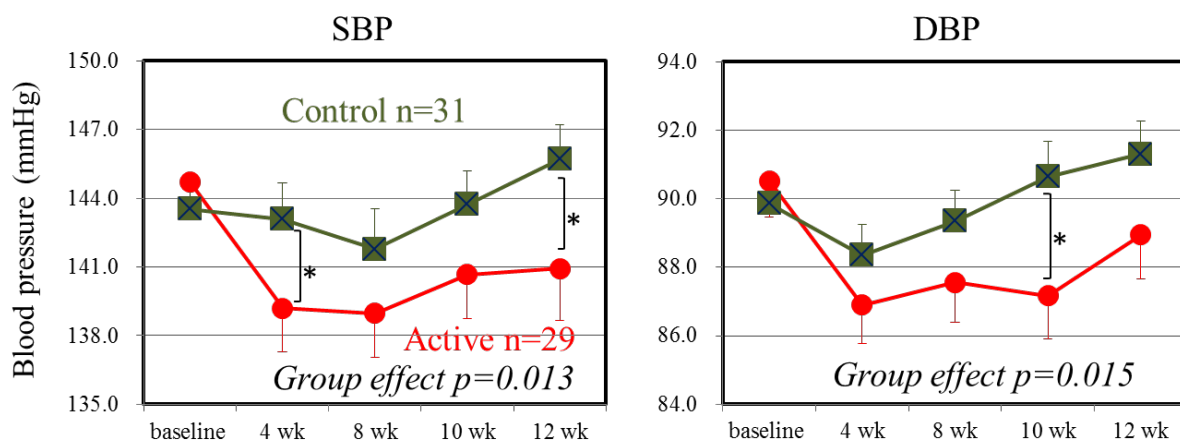
Group effect represents p value of group effect by repeated-measures ANCOVA (covariate=baseline value, variable=4 wk, 8 wk, 10 wk, 12 wk).

* represents significant estimated difference by a comparison between the Active and Placebo groups using adjusted least-square means and standard errors.

n: Active=49, Placebo=51.

Statistical multiplicity between SBP, DBP, and Pulse rate was not adjusted.

Figure 3-2. 正常高値血圧者及び軽症高血圧者の血圧の変動



SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure.

Mean (SEM).

Group effect represents p value of group effect by repeated-measures ANCOVA (covariate=baseline value, variable=4 wk, 8 wk, 10 wk, 12 wk).

* represents significant estimated difference by a comparison between the Active and Placebo groups using adjusted least-square means and standard errors.

n: Active=49, Placebo=51.

Statistical multiplicity between SBP, DBP, and Pulse rate was not adjusted.

Figure 3-3. 軽症高血圧者のみでの血圧の変動

さらに軽症高血圧者のみの層別解析を行った(Figure 3-3). Test period における SBP の, 両群の予測平均値の差 (Active—Control) は, 4 wk, 8 wk, 10 wk 及び 12 wk で, それぞれ-4.8 mmHg (95%CI, -8.8; -0.8), -3.7 mmHg (95%CI, -8.1; 0.7), -4.0 mmHg (95%CI, -8.3; 0.4)及び 5.7 mmHg (95%CI, -10.8; -0.6)であった. その結果, Active 群の SBP は Control 群に対し, Test period を通じて有意な群間差が認められた($p=0.013$).

また各時点における最小二乗平均と標準誤差からの検定では, 4 wk 及び 12 wk において, Active 群は Control 群に対して有意な低値を示した($p<0.05$).

Test period における DBP の, 両群の予測平均値の差 (Active—Control) は, 4 wk, 8 wk, 10 wk 及び 12 wk で, それぞれ-1.9 mmHg (95%CI, -4.4; 0.6), -2.3 mmHg (95%CI, -5.3; 0.7), -4.0 mmHg (95%CI, -7.0; -0.9)及び 2.8 mmHg (95%CI, -6.0; 0.3)であった. その結果, DBP は Active 群と Control 群の間で, Test period を通じて有意な群間差が認められた($p=0.015$).

また各時点における最小二乗平均と標準誤差からの検定では, 10 wk において, Active 群は, Control 群に対して有意な低値を示した($p<0.05$).

試験飲料摂取後の Wash out period (16 wk) において, SBP, DBP いずれの項目も群間差は認められなかった (data not shown).

ランダム化割付後の被験者全員について Intention-to-treat 解析 ($n=118$, Active 群=59, Control 群=59) を実施したところ, 初期値, 4 wk, 8 wk, 10 wk 及び 12 wk の SBP は, それぞれ Active 群 [138.1 (1.2) mmHg, 133.6 (1.6) mmHg, 135.1 (1.3) mmHg, 136.4 (1.4) mmHg 及び 137.4 (1.5) mmHg], Control 群 [138.4 (1.1) mmHg,

138 (1.5) mmHg, 137.6 (1.5) mmHg, 139.6 (1.4) mmHg 及び 141.7 (1.6) mmHg] であった。同様に DBP は Active 群 [87 (0.8) mmHg, 83.9 (1.0) mmHg, 85.4 (0.8) mmHg, 85.9 (1.0) mmHg 及び 87.3 (0.9) mmHg], Control 群 [86.9 (0.7) mmHg, 86.1 (0.9) mmHg, 87.1 (0.9) mmHg, 88.2 (1.0) mmHg 及び 89.1 (1.0) mmHg] であった。SBP 及び DBP は Active 群と Control 群の間で, Test period を通じて, それぞれ有意な群間差が認められた(Group effect; $p=0.014$, $p=0.018$)。

3. 脈拍数, 体重及び BMI の変化

脈拍数, 体重及び BMI の変化を Table 3-6 に示す。Test period において, いずれの項目でも, 群間の有意差は認められなかった。Wash out period (16 wk) において, 群間の有意差は認められなかった (data not shown)。

Table 3-6. 脈拍数, 体重及び BMI の変化

		Active	Control
		Mean (SEM)	Mean (SEM)
Pulse rate (beat/min)	4 wk	73.5 (1.3)	71.6 (1.2)
	8 wk	72.1 (1.3)	71.4 (1.5)
	10 wk	72.5 (1.3)	69.4 (1.2)
	12 wk	72.2 (1.1)	70.0 (1.1)
<i>Group^{a)}</i>	<i>p</i>	<i>0.393</i>	
Body weight (kg)	4 wk	64.5 (1.4)	62.9 (1.7)
	8 wk	65.1 (1.4)	63.5 (1.8)
	12 wk	65.4 (1.5)	64.1 (1.8)
<i>Group^{b)}</i>	<i>p</i>	<i>0.070</i>	
BMI (kg/m ²)	4 wk	24.7 (0.5)	24.3 (0.5)
	8 wk	24.9 (0.4)	24.5 (0.5)
	12 wk	25.0 (0.5)	24.7 (0.5)
<i>Group^{b)}</i>	<i>p</i>	<i>0.067</i>	

BMI: body mass index.

a) Group represents p value of group effect by repeated measures ANCOVA (covariate=baseline ,variable=4 wk, 8 wk, 10 wk, 12 wk).

b) Group represents p value of group effect by repeated measures ANCOVA (covariate=baseline ,variable=4 wk, 8 wk, 12 wk).

n ; Active=51, Control=47.

4. 血液学検査項目，血液生化学項目及び尿検査

血液学検査項目，血液生化学項目及び尿検査の Test period（12 wk）の変化を Table 3-7 に示す．いずれの項目において，有意な変動は認められなかった．

LDH，尿酸及び K の Wash out period（16 wk）において，群間有意差が認められた（それぞれ Group effect; $p=0.038$, $p=0.031$ 及び $p=0.050$: data not shown）．

LDH，尿酸及び K の 16 wk 値は，それぞれ Active 群, 182.3 (4.2) IU/l, 4.6 (0.2) mg/dl, 4.0 (0.04) mEq/l; 及び Control 群, 191.3 (5.7) IU/l, 4.3 (0.2) mg/dl, 4.1 (0.05) mEq/l であった．その他のいずれの項目において，有意な変動は認められなかった．

定性的測定である尿検査の pH，蛋白，糖，潜血，ウロビリノーゲン及び比重については，臨床上問題となる所見は認められなかった(data not shown)．

Table 3-7. 12 週目における血液検査項目及び尿検査項目の変化

	Active n=51	Control n=47	Group <i>p</i>
Red blood cells ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	466.0 (5.8)	460.0 (5.7)	0.472
White blood cells ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	5.1 (0.2)	5.2 (0.2)	0.716
Hemoglobin (g/dl)	14.4 (0.2)	14.2 (0.2)	0.334
Hematocrit (%)	43.3 (0.5)	42.7 (0.6)	0.329
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	31.0 (0.3)	30.9 (0.3)	0.565
Mean corpuscular hemoglobin concentration (%)	33.3 (0.1)	33.2 (0.1)	0.830
Mean corpuscular volume (fl)	93.1 (0.7)	93.0 (0.8)	0.686
Blood platelet ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	23.4 (0.8)	22.1 (0.8)	0.880
Triglyceride (mg/dl)	150.5 (15.0)	119.5 (10.0)	0.187
Total cholesterol (mg/dl)	224.3 (5.2)	219.5 (4.2)	0.552
HDL cholesterol (mg/dl)	59.5 (2.0)	63.9 (2.4)	0.298
Fasting blood sugar (mg/dl)	94.4 (1.1)	94.7 (1.3)	0.401
Total homocysteine (nmol/ml)	13.1 (0.5)	13.2 (0.6)	0.937
Aspartate aminotransferase (IU/l)	24.4 (1.3)	24.4 (2.1)	0.267
Alanine aminotransferase (IU/l)	27.3 (2.6)	25.8 (3.1)	0.275
γ -glutamyl transpeptidase (IU/l)	40.8 (3.9)	37.7 (7.0)	0.369
Alkaline phosphatase (IU/l)	226.8 (9.6)	233.0 (12.8)	0.388
Lactate dehydrogenase (IU/l)	185.2 (4.7)	182.4 (3.7)	0.992
Total protein (g/dl)	7.4 (0.04)	7.4 (0.05)	0.455
Albumin (g/dl)	4.5 (0.03)	4.5 (0.02)	0.770
Uric acid (mg/dl)	5.3 (0.2)	5.3 (0.2)	0.918
Blood urea nitrogen (mg/dl)	14.7 (0.4)	15.2 (0.5)	0.745
Serum creatinine (mg/dl)	0.9 (0.02)	0.9 (0.02)	0.392
Na (mEq/l)	143.5 (0.3)	143.5 (0.2)	0.822
Cl (mEq/l)	102.7 (0.2)	102.8 (0.3)	0.842
Ca (mg/dl)	9.2 (0.04)	9.2 (0.04)	0.372
Mg (mg/dl)	2.3 (0.02)	2.3 (0.02)	0.945
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	111.2 (5.0)	103.5 (6.5)	0.298
K (mEq/l)	4.0 (0.05)	4.0 (0.05)	0.983
Unsaturated iron-binding capacity ($\mu\text{g/dl}$)	220.1 (7.7)	231.2 (10.2)	0.163
Ferritin (ng/ml)	130.3 (14.7)	122.3 (19.8)	0.185
Urinary Na (mEq/l)	127.2 (6.7)	114.8 (6.6)	0.103
Urinary K (mEq/l)	36.9 (2.7)	34.8 (3.4)	0.602
Urinary creatinine (mg/dl)	117.8 (7.1)	106.7 (9.2)	0.452
Presumptive urinary Na excretion (mEq/day)	195.1 (6.9)	195.0 (6.6)	0.865
Presumptive urinary K excretion (mEq/day)	45.1 (1.6)	45.4 (1.5)	0.976

Mean (SEM) HDL: high density lipoprotein.

Group represents p value of group effect by ANCOVA(covariate=base line value,variable=12 wk).

5. 有害事象

試験期間中の医師の問診において、コーヒー中の HHQ 含有量が原因と疑われる有害な副作用は認められなかった。また SBP, DBP, その他の臨床検査値における個人の変動において、臨床上問題となる変化は認められなかった。

第3節 考察

本試験は、コーヒー中に含まれるクロロゲン酸類の 12 週間の継続摂取が、HHQ 含有量により、正常高値及び軽症高血圧者の血圧に及ぼす影響を検証した。

その結果、SBP において Active 群は Control 群に対して 1.8~4.2 mmHg 低下し、有意な群間差が認められた (Figure 3-2)。また各時点において、Active 群は 4 wk で Control 群より有意な低値を示した。DBP において、Active 群は Control 群に対して 1.2~1.8 mmHg 低下した。これらのことから、クロロゲン酸類を含有するコーヒー中から HHQ を低減することによって、正常高値及び軽症高血圧者の血圧を改善させると考えられた。

また、軽症高血圧者のみの層別解析の結果、SBP において Active 群は Control 群に対して 3.7~5.7 mmHg 低下し、有意な群間差が認められた (Figure 3-3)。また各時点において、Active 群は 4 wk 及び 12 wk で Control 群より有意な低値を示した。DBP において、Active 群は Control 群に対して 1.9~4.0 mmHg 低下し、有意な群間差が認められた。また各時点において、Active 群は 10 wk で Control 群

より有意な低値を示した。これらのことから、軽症高血圧者に対する血圧改善効果は、解析対象者全員の場合よりも顕著に示された。

さらに臨床試験 1 において、本試験と同等の Active 飲料である HHQ を低減し、クロロゲン酸類を含有するコーヒー(クロロゲン酸類: 299 mg/184 ml/day)で、12 週間ヒト継続摂取試験を実施し、Active 飲料の血圧改善効果に寄与する関与成分は、コーヒー中のクロロゲン酸類であることを明らかにしている [47]。

以上のことから、コーヒーから HHQ を低減することで、クロロゲン酸類の血圧改善効果が引き出され、その 12 週間の継続摂取は、正常高値及び軽症高血圧者の血圧を改善させる効果を有すると考えられた。

安全性の評価項目について、LDH、尿酸及び K の 16 wk で群間有意差が認められた。LDH 及び尿酸は主に Control 群の変動が大きかったために、群間有意差が認められたものと推察された。K については、値の分散が極めて小さいために、軽微な変動で群間有意差が認められたものと推察された。以上より、上記の 3 項目の有意な変動は、Active 飲料摂取をやめたことに起因したものではないと推察された。

その他の脈拍数、体重、血液学検査項目、血液生化学項目及び尿検査項目で、Active 群は市販品と同等であるコーヒーを摂取した Control 群と比較して、臨床問題となる変化は認められなかった。また、医師の間診において、コーヒー中の HHQ 含有量に起因する有害な副作用は認められなかった。一例として、ACE 阻害薬では副作用的症候として、空咳や頭痛等が知られている [62]。しかし本

試験でそのような副作用は認められなかった。このことから、降圧薬等と比べて、本コーヒーはより安全に摂取できるものと推察された。

以上より、本研究の HHQ を低減しクロロゲン酸類を含有するコーヒーは、血圧が高めのヒトに対して血圧改善作用を有し、かつ安全に摂取できると考えられ、本コーヒーの摂取は、毎日の生活の中で食品として摂取する食事療法の一手段として有用であると考えられた。

第 4 節 結論

クロロゲン酸類を含有したコーヒー(299 mg/184 ml/day)の 12 週間継続摂取は、HHQ を低減することにより、クロロゲン酸類の効果が引き出され、正常高値者及び軽症高血圧者から構成される Active 群(n=51)の SBP を、Control 群(n=47)に対して有意に低下させた。

安全性の検討において、一般市販品相当のコーヒーより、コーヒー中の HHQ 含有量が低減されることによって生じる有害な副作用は認められなかった。

以上より、HHQ を低減しクロロゲン酸類を含有したコーヒーは、安全に飲用でき、高血圧を改善する効果を有すると考えられた。

第4章 HHQ 低減コーヒーの過剰摂取による安全性への影響

(臨床試験 3)

臨床試験 1 及び臨床試験 2 の臨床試験で安全性上問題となる有害事象は報告されていないが、臨床試験 3 では、同コーヒーを毎日過剰量摂取した場合の安全性を検証するため、肥満 1 度以下の健常な成人男女を対象に、無作為化割付二重盲検並行群間比較による、1 日摂取目安量 (185 g) の 3 倍量、4 週間継続摂取試験を実施した [63]。

第 1 節 特定保健用食品の過剰摂取に対する考え方

医薬品は副作用の懸念もあるため、1 日に摂取する用量・方法が定められている。しかし食品には摂取による法的な定めはない。特定保健用食品についても同様で、一般食品と同じく気軽に購入できることから、多量に摂取することが可能である。そこで特定保健用食品の申請には、開発した該当食品を過剰量摂取した場合の安全性試験（ヒト）が求められている [64]。安全性が確保できない場合には特定保健用食品の許可は下りない。

そこで HHQ 低減コーヒーにおいても、高血圧者に限らず、一般人（健常者）が過剰に摂取した場合の安全性に関する臨床試験を実施した。

第2節 試験方法

1. 試験の実施及び被験者

本試験は、花王（株）ヒト試験倫理委員会の承認（試験番号：n2008021）を得て、ヘルシンキ宣言 [52]に基づく倫理的原則の精神に沿って実施した。また津田晴子医師（花王(株)和歌山事業場産業医）を試験責任医師として、花王(株)和歌山事業場にて実施した。被験者に対しては、試験開始前に試験担当者が試験の目的や内容等を説明し、文書による同意を得た後に試験実施した。

被験者条件は、同意書の取得時の年齢が20歳以上65歳以下で、肥満1度以下の健常な成人男女とした。その他の条件は、臨床試験1及び2に準じた。

2. 試験飲料

一般的なコーヒーと同様に調製した後、吸着処理によりHHQを低減したものに甘味料と乳成分等を添加したものをActive飲料とし、一般的なコーヒーと同様に調製したものに、甘味料と乳成分等を添加したものをControl飲料とした。これら試験飲料は、日本でよく知られる缶コーヒー（185 g/本、微糖ミルクタイプ）の形態であり、外見と風味について、両飲料の差が認められないよう配慮して調整した。

Active飲料及びControl飲料中のクロロゲン酸類（5-カフェオイルキナ酸・3-カフェオイルキナ酸・4-カフェオイルキナ酸・3,4-ジカフェオイルキナ酸・3,5-ジカフェオイルキナ酸・4,5-ジカフェオイルキナ酸・3-フェルロイルキナ酸・4-

フェルロイルキナ酸・5-フェルロイルキナ酸の 9 種総量として) は、それぞれ 297 mg/本, 200 mg/本であった。またカフェインは、両飲料ともに 81 mg/本であった。さらに Active 飲料及び Control 飲料のエネルギー量は、両飲料ともに 24 kcal/本であった。

3. 試験プロトコール

試験デザインは、無作為化割付二重盲検並行群間比較試験とした。スクリーニング期間（約 3 週間）に被験者を募集し、被験者に事前検査（0 wk）を実施した。事前検査後に、性別・BMI・ウエスト周囲長・生活背景（1 日のコーヒー摂取杯数）が均衡するように、本試験に無関係の者が、被験者を無作為に 2 群に割り付けた。その後、被験者に Active 飲料あるいは Control 飲料を 1 日に 3 本、4 週間摂取させた。2 週目（2 wk）には問診のみを行い、4 週間摂取後（4 wk）に問診や各種検査を実施した。さらに 2 週間の事後観察期間を設けて、6 週目（6 wk）に問診のみを実施した（Figure 4-1）。

試験期間中、被験者には試験飲料以外のコーヒー飲料もしくはコーヒーを含む食品の摂取を禁止した。また食事、運動、喫煙については、通常的生活習慣を一定維持するよう指導した。検査日の 3 日前からは禁酒とし、検査前日の夕食は試験飲料摂取も含めて 21 時までに済ませ、それ以後、検査が終了するまで水以外の飲食を禁止した。検査当日は起床後、検査が終了するまで禁煙とした。

試験飲料の摂取は、1 日のうち、可能であれば 60 分以内を目処にできるだけ 3 本まとめて摂取するよう指導した。体調等によって 60 分以内に 3 本摂取でき

ない場合は、60 分以内に 2 本摂取・1 本を他の時間に摂取、もしくは 1 日のうちに 3 回に分けて 1 本ずつ摂取するように指導した。

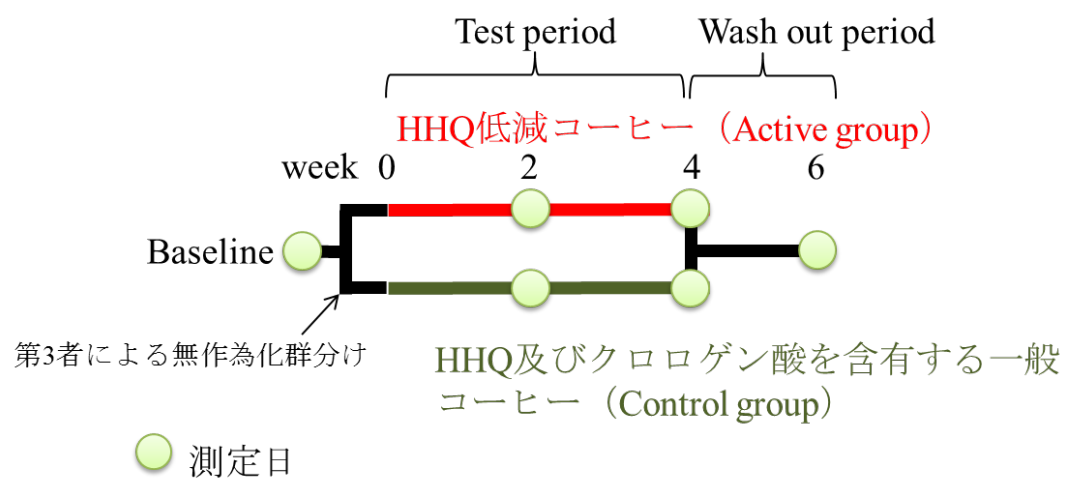


Figure 4-1. 試験スキーム

4. 検査

検査は、21 時以降絶食した翌日の午前 8 時から 10 時の間に実施した。

検査項目は、理学的検査、血液検査、尿検査、食事記録、問診アンケート及び生活日誌とし、各検査項目の詳細は次に示した。

理学的検査

理学的検査は 0 wk 及び 4 wk に実施した。理学的検査項目として、身長 (0 wk のみ)、体重、体脂肪率、ウエスト周囲長、ヒップ周囲長、収縮期血圧、拡張期血圧及び脈拍数を測定した。また、身長と体重から BMI を、ウエスト周囲長とヒップ周囲長からウエストヒップ比を算出した。

血液検査・尿検査

血液検査及び尿検査は 0 wk 及び 4 wk に実施した。血液検査項目として、白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、血色素量 (Hb)、ヘマトクリット (Ht)、血小板数 (Plt)、中性脂肪 (TG)、総コレステロール (T-cho)、LDL コレステロール (LDL-cho)、HDL コレステロール (HDL-cho)、遊離脂肪酸 (NEFA)、血糖 (Glc)、ヘモグロビン A1c (HbA1c)、総ケトン体 (TK)、3-ヒドロキシ酪酸 (3-HB)、アセト酢酸 (AA)、アスパラギン酸アミノ転移酵素 (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、 γ -グルタミールトランスペプチダーゼ (γ -GTP)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、総蛋白 (TP)、アルブミン (SA)、尿酸 (UA)、尿素窒素 (UN)、クレアチニン (Cr)、ナトリウム

(Na), クロール (Cl), カリウム (K), カルシウム (Ca), 無機リン (IP), マグネシウム (Mg) 及び鉄 (Fe) を測定した.

尿検査項目として, 糖定性, 蛋白定性, ウロビリノーゲン, ビリルビン, ケトン体及び沈渣を測定した.

分析は, (株)エスアールエルに委託し, 定法により実施された.

問診アンケート・生活日誌・食事記録

問診アンケートは, 0 wk, 2 wk, 4 wk, 6 wk に実施し, 被験者の自覚症状について回答させた. 問診項目は, 呼吸器系, 循環器系, 上部消化器系, 下部消化器系, 腎・泌尿器系, 精神神経系, 過敏症系, 外科系に関する計 47 項目とし, 各自覚症状の発症有無, 発症時期, 発症歴を回答させた. また, 試験期間中毎日の生活状況 (試験飲料の摂取, 水分摂取量, 運動量, 喫煙, 体調, その他特記事項等) を生活日誌へ記載させた. 被験者が問診アンケート及び生活日誌に記載した自覚症状において, 0 wk の事前検査後に新たに発現した臨床上好ましくない症状について, 試験プロトコルや試験飲料との因果関係が明確に否定できるものを偶発症, 明確に否定できないものを副作用と定義し, 試験責任医師が確認・判断した.

食事記録は, 0 wk 及び 4 wk に実施した. 被験者に検査前 3 日間の食事内容を記録させた. 管理栄養士がこの記録を元に摂取カロリーや各種栄養素量を算出した.

5. 統計解析

試験終了後、プロトコル逸脱者についてデータの取扱いを検討した後、データを固定し、その後ブラインドを解除した。各種データを集計し、統計解析を行った後に、試験責任医師が **Active** 飲料の過剰摂取の安全性について評価した。

主要評価項目は試験責任医師の安全性に関する総合的所見とした。これは試験責任医師が、問診アンケート及び生活日誌に記載された被験者の自覚症状、血液検査、尿検査及び理学的検査の結果から、**Active** 飲料の過剰摂取時の安全性に関して、総合的に評価した所見とした。また、副次的評価項目は、被験者の自覚症状、血液検査項目、尿検査項目及び理学的検査項目とした。

すべての測定値は、平均値(standard mean of error, SEM)で示した。

自覚症状等のカテゴリーデータは、統計解析ソフト Stat View ver 5.0 (SAS Institute Inc.) を用いて Fisher の正確な検定で両群の出現数を比較した。

その他の血圧、血液検査等の連続値データは、統計解析ソフト Stat View ver 5.0 (SAS Institute Inc.) を用いて、反復測定 ANOVA による解析、また 0 wk 及び 4 wk における群間比較 (unpaired t-test) あるいは 0 wk に対する群内比較 (paired t-test) を行った。

全ての検定は両側検定で行い、有意水準は 5%とした。

第3節 結果

1. 被験者背景

被験者条件を満たした 35 名が試験にエントリーされ、Active 群 17 名（女性 3 名，男性 14 名），Control 群 18 名（女性 4 名，男性 14 名）に割付けられた。試験終了後，途中脱落者やプロトコル逸脱者は無かったため，この 35 名を解析対象者とした。

Active 群及び Control 群の年齢〔平均値(標準誤差)〕は，それぞれ 39 (2) 歳及び 39 (2) 歳であり，群間差は認められなかった。28 日間の試験飲料摂取本数から算出した，Active 群及び Control 群の試験飲料摂取率は，それぞれ 99.4 (0.4) % 及び 98.9 (0.5) % であり，群間差は認められなかった。

2. 理学検査項目

理学的検査項目の結果を Table 4-1 に示した。すべての項目の 0 wk 値に群間差は認められなかった。

収縮期血圧において，Group effect が認められ，Active 群の 4 wk 値は，Control 群の 4 wk 値より有意な高値を示した。しかし，両群ともに 0 wk 値と 4 wk 値に有意な差は認められなかった。

体重，BMI，体脂肪率，ウエスト周囲長，ヒップ周囲長，ウエストヒップ比，拡張期血圧及び脈拍数で有意な変動は認められなかった。

Table 4-1. 理学検査項目の変化

		Active n=17	Control n=18
SBP (mmHg) ^{a)}	0 wk	115.9 (2.7)	111.3 (2.5)
	4 wk	119.7 (2.1) **	110.9 (2.0)
DBP (mmHg)	0 wk	72.6 (2.7)	69.3 (1.8)
	4 wk	74.5 (2.3)	69.1 (1.7)
Pulse rate (beat/min)	0 wk	66.4 (1.9)	62.5 (1.3)
	4 wk	67.4 (2.7)	63.0 (1.4)
Body weight (kg)	0 wk	65.5 (2.1)	64.8 (2.7)
	4 wk	65.4 (2.2)	64.9 (2.6)
BMI (kg/m ²)	0 wk	22.7 (0.6)	22.6 (0.6)
	4 wk	22.6 (0.6)	22.7 (0.6)
Body fat percent (%)	0 wk	21.6 (0.9)	22.2 (0.7)
	4 wk	21.8 (1.0)	22.7 (0.8)
Waist circumference (cm)	0 wk	80.6 (1.8)	80.5 (1.8)
	4 wk	80.6 (1.9)	80.7 (2.0)
Hip circumference (cm)	0 wk	95.2 (1.0)	94.0 (1.2)
	4 wk	95.3 (1.0)	94.4 (1.2)
Waist/Hip ratio	0 wk	0.845 (0.013)	0.856 (0.016)
	4 wk	0.844 (0.015)	0.854 (0.016)

Mean (SEM).

Repeated measures ANOVA: a) group effect

Unpaired t test between the groups: ** ; p<0.01.

SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index.

3. 血液検査項目

血液検査項目において、Active 群の男性 1 名が 0 wk・4 wk とともに巨大血小板を呈したため、WBC、RBC、Hb 及び Plt では Active 群を 16 名で解析した。

血液検査項目の結果を Table 4-2、Table 4-3 及び Table 4-4 に示した。

Mg において 0 wk 値に群間差が認められ、Active 群は Control 群より低値であった。その他の項目では 0 wk 値に群間差は認められなかった。

LDH 及び Mg に Time effect が認められ、Active 群の 4 wk 値は 0 wk 値より有意に増加していた。Cr に Time effect が認められ、Active 群の 4 wk 値は 0 wk 値より有意に減少していた。Cl に Time effect が認められ、両群ともに 4 wk 値は 0 wk 値より有意に減少していた。Ht に Time effect が認められたが、群間差は認められなかった。TG, T-cho, LDL-cho, HDL-cho, NEFA, Glc, HbA1c, TK, 3-HB, AA, AST, ALT, γ -GTP, ALP, TP, SA, UA, UN, Na, K, Ca, IP, Fe, WBC, RBC, Hb 及び Plt で、有意な変動は認められなかった。

Table 4-2. 血液検査項目の変化（その 1）

		Active n=17	Control n=18
Triglyceride (mg/dl)	0 wk	89.0 (15.5)	84.8 (13.6)
	4 wk	100.0 (21.6)	85.1 (9.4)
Total cholesterol (mg/dl)	0 wk	201.6 (8.3)	190.6 (8.6)
	4 wk	201.7 (7.9)	194.4 (8.5)
LDL cholesterol (mg/dl)	0 wk	119.3 (7.3)	112.5 (9.0)
	4 wk	119.2 (6.5)	112.1 (8.7)
HDL cholesterol (mg/dl)	0 wk	59.8 (2.5)	58.6 (4.0)
	4 wk	59.8 (2.6)	61.7 (3.7)
Nonesterified fatty acid (μ Eq/L)	0 wk	342.0 (31.8)	362.7 (44.6)
	4 wk	368.8 (31.5)	355.5 (32.7)
Fasting blood sugar (mg/dl)	0 wk	87.9 (2.5)	93.2 (1.7)
	4 wk	87.5 (2.6)	93.2 (2.2)
Hemoglobin A1c (%)	0 wk	5.1 (0.1)	5.2 (0.1)
	4 wk	5.1 (0.1)	5.1 (0.1)
Total ketone (μ mol/L)	0 wk	83.4 (17.2)	77.4 (21.2)
	4 wk	78.9 (15.9)	53.6 (6.2)
3-hydroxybutyric acid (μ mol/L)	0 wk	59.9 (13.5)	56.4 (17.5)
	4 wk	55.0 (11.8)	37.7 (4.7)
Acetoacetic acid (μ mol/L)	0 wk	23.5 (3.9)	21.0 (3.9)
	4 wk	23.9 (4.2)	15.8 (1.7)
Aspartate aminotransferase (IU/l)	0 wk	19.6 (2.0)	21.1 (2.2)
	4 wk	20.9 (2.5)	21.6 (1.8)
Alanine aminotransferase (IU/l)	0 wk	19.9 (3.5)	21.3 (4.5)
	4 wk	19.8 (3.5)	23.6 (4.1)
γ -glutamyl transpeptidase (IU/l)	0 wk	26.5 (3.7)	31.7 (5.8)
	4 wk	25.1 (3.7)	34.8 (5.7)

Mean (SEM).

LDL: Low-density lipoprotein, HDL: High-density lipoprotein.

Table 4-3. 血液検査項目の変化（その2）

		Active n=17		Control n=18
Alkaline phosphatase(IU/l)	0 wk	218.5 (13.5)		212.9 (13.3)
	4 wk	215.5 (13.5)		207.5 (15.1)
Lactate dehydrogenase (IU/l) ^a	0 wk	157.4 (4.8)		156.3 (6.0)
	4 wk	166.5 (6.5)	##	162.2 (5.9)
Total protein (g/dl)	0 wk	7.3 (0.1)		7.4 (0.1)
	4 wk	7.3 (0.1)		7.4 (0.1)
Albumin (g/dl)	0 wk	4.6 (0.1)		4.6 (0.0)
	4 wk	4.5 (0.1)		4.6 (0.1)
Uric acid (mg/dl)	0 wk	5.6 (0.3)		5.5 (0.4)
	4 wk	5.5 (0.3)		5.6 (0.3)
Blood urea nitrogen (mg/dl)	0 wk	13.3 (0.9)		13.9 (1.1)
	4 wk	13.2 (1.0)		13.1 (0.8)
Serum creatinine (mg/dl) ^a	0 wk	0.76 (0.02)		0.77 (0.03)
	4 wk	0.72 (0.02)	####	0.75 (0.03)
Na (mEq/l)	0 wk	141.5 (0.4)		140.9 (0.2)
	4 wk	141.3 (0.4)		141.3 (0.3)
Cl (mEq/l) ^a	0 wk	104.9 (0.4)		104.7 (0.5)
	4 wk	103.5 (0.4)	###	103.7 (0.3) #
K (mEq/l)	0 wk	4.2 (0.1)		4.2 (0.1)
	4 wk	4.3 (0.1)		4.2 (0.1)
Ca (mg/dl)	0 wk	9.5 (0.1)		9.3 (0.1)
	4 wk	9.4 (0.1)		9.3 (0.1)
Inorganic phosphorus (mg/dl)	0 wk	3.5 (0.1)		3.5 (0.1)
	4 wk	3.4 (0.1)		3.5 (0.1)
Mg (mg/dl) ^a	0 wk	2.3 (0.0)	*	2.4 (0.0)
	4 wk	2.4 (0.0)	#	2.5 (0.0)

Mean (SEM).

Repeated measures ANOVA: a) time effect

Unpaired t-test between the groups: * ; p<0.05.

Paired t-test from baseline value: # ; p<0.05, ## ; p<0.01, ### ; p<0.001.

Table 4-4. 血液検査項目の変化（その3）

		Active n=17	Control n=18
Fe (mg/dl)	0 wk	122.1 (14.4)	116.0 (11.6)
	4 wk	118.9 (11.1)	128.7 (10.6)
White blood cells (/ml)	0 wk	5562.5 (334.6)	6544.4 (424.3)
	4 wk	5875.0 (364.6)	6216.7 (354.2)
Red blood cells ($\times 10^4$ /ml)	0 wk	488.3 (8.3)	469.9 (9.8)
	4 wk	489.1 (9.9)	467.9 (10.6)
Hemoglobin (g/dl)	0 wk	14.6 (0.4)	14.5 (0.3)
	4 wk	14.6 (0.4)	14.4 (0.3)
Hematocrit (%) ^a	0 wk	43.8 (0.9)	43.4 (0.8)
	4 wk	44.4 (1.1)	43.8 (0.9)
Blood platelet ($\times 10^4$ /ml)	0 wk	23.7 (1.2)	24.6 (1.0)
	4 wk	24.1 (1.4)	25.2 (1.1)

Mean (SEM).

One participant data of White blood cells, Red blood cells, Hemoglobin, Hematocrit, and Blood platelet in the active group were excluded from a statistical analysis due to a giant platelet.

Repeated measures ANOVA: a) time effect

4. 尿検査項目、食事内容及び生活状況

尿検査項目において、両群の女性それぞれ1名が0 wk時に生理であったため、0 wkではこれらの被験者の採尿を実施せず、解析から除外した。いずれの項目も群内や群間において、有意な変動は認められなかった (data not shown)。

食事記録から算出した摂取エネルギー量、タンパク量、脂質量及び炭水化物量、また生活日誌より、水分摂取量、運動量、喫煙及び体調の状況を解析した結果、いずれの項目も群内や群間において、有意な変動は認められなかった (data not shown)。

5. 被験者の自覚症状

摂取開始後に新たに発症した自覚症状を Table 4-5 に示した。

試験飲料摂取開始から新たに報告された自覚症状は、お腹がゆるい (Active 群 3 名・Control 群 1 名)、下痢 (Active 群 2 名)、胃が痛む (Active 群 1 名・Control 群 1 名)、胃が重い (Active 群 2 名)、便秘 (Control 群 1 名)、胸焼けがする (Active 群 2 名)、トイレが近い (Active 群 3 名・Control 群 1 名)、お酒に酔いやすい (Active 群 1 名) といった消化器症状や腎・泌尿器系に関する症状が認められた。これら症状の発症例数及び頻度に群間差は認められなかった。

上記症例のうち、一部は偶発症と試験責任医師により判定された。その他で、消化器系、もしくは腎・泌尿器系に関する症状を訴えた Active 群の 4 名と Control

群の 1 名は、試験飲料摂取との因果関係を否定できないため、試験責任医師により副作用と判定された。しかし、これらの症状が軽微で一過的であり、一般的なコーヒーを摂取したときにも認められる症状であったため、両飲料の摂取は「ほぼ安全である」と試験責任医師によって判断された。

Table 4-5. 被験者の自覚症状の内容

Group	Gender	飲み方	症状	0 wk	2 wk	4 wk	6 wk	判定
Active	male	1缶ずつ	お腹がゆるい			○		副作用
Active	male	3缶まとめて	胃が痛む			○		偶発症
Active	male	3缶まとめて	トイレが近い		○	○		副作用
Active	male	3缶まとめて	下痢		○			副作用
Active	male	3缶まとめて	お腹がゆるい		○	○	○	副作用
			下痢		○		○	
			トイレが近い		○	○		
			お酒に酔いやすい			○		
Active	female	1缶ずつ	お腹がゆるい			○		偶発症
			胃が重い（もたれる）			○		
			胸焼けがする			○		
			トイレが近い			○		
Active	female	3缶まとめて	胃が重い（もたれる）			○		偶発症
			胸焼けがする			○		
Control	male	3缶まとめて	胃が痛む		○			偶発症
			便秘		○			
Control	female	3缶まとめて	お腹がゆるい		○			副作用
			トイレが近い		○			

6. 試験責任医師の総合的所見

理学的検査項目，血液検査項目，尿検査項目，自覚症状等の個別データ及び試験飲料摂取前との群内比較，群間比較を行った結果より，試験責任医師が Active 飲料の過剰摂取の安全性を評価した．

試験飲料摂取により，理学的検査項目や血液・尿検査項目に問題となる変動は認められなかったが，自覚症状の記録より，消化器系，もしくは腎・泌尿器系に関する副作用が両群に認められた．ただしこれらの症状は軽微で一過的であった．以上より，最終的に試験責任医師は，Active 飲料の過剰摂取は Control 飲料以上の安全性上の問題となる事象は認められなかったと評価した．

第4節 考察

肥満1度以下の健常な成人男女35名を対象に，「クロロゲン酸類 (297 mg/本) を含有するコーヒー（微糖ミルクタイプ：Active 飲料）」を3倍量（1日3本），4週間継続摂取した場合の健康への影響を「市販品相当コーヒー（微糖ミルクタイプ：Control 飲料）」と比較して検証した．

その結果，理学的検査項目において収縮期血圧で有意な変動が認められたが，それは正常域の範囲内であった（Table 4-1）．血液検査項目において，一部の項目で有意な変動が認められた（Table 4-3）．しかし，それらの変化は微小であった．また個別データからも臨床上問題となる変動は認められなかった．尿検査

において有意な変動は認められなかった。副作用として、両群ともに軽微で一過性の消化器系、もしくは腎・泌尿器系に関する症状が認められたが (Table 4-5)、最終的に試験責任医師は、Active 飲料の過剰摂取は Control 飲料以上の安全性上の問題となる事象は認められなかったと評価した。

上記の軽微で一過性の消化器系、腎・泌尿器系に関する症状については、一般的に、コーヒーの摂取量に応じて、胃酸分泌促進や下部食道括約筋圧の低下等が認められ、その結果、胸焼けや上部腹痛等の症状が発症すると報告されている [65]。さらにコーヒーに含まれるカフェインには利尿作用も報告されている [66]。本試験で認められた症状も一般的なコーヒーやカフェインを摂取したときと同じであり、Active 飲料に特異的な症状ではないと考えられる。

これまでに、本試験で用いた Active 飲料と同様の方法で調製されたミルクコーヒー（クロロゲン酸類 300 mg/本、内容量 190 g/本）で、1 日摂取目安量（190 g）の 3 倍量、4 週間継続摂取試験（無作為化割付単盲検並行群間比較）を実施している [67]。その結果、一般市販品の対照飲料と同様に一過性で軽微な下痢や胸やけ等の消化器症状が出現する可能性があるが、血液検査値等に臨床上問題となる変動は認められなかった。これらのことから、上記ミルクコーヒーは市販品と同様に安全な飲料であると考えられ、本試験での結果を支持するものであった。

本試験での収縮期血圧で有意な変動が認められたが、本試験の対象者は元々血圧が正常であり、日常的な血圧変動の中で偶発的に生じたものであると推察された。

第 5 節 結論

肥満 1 度以下の健常な成人男女 35 名を対象に，ヒトの内臓脂肪を減少させる効果が期待できる缶コーヒー（クロロゲン酸類：297 mg/本）を，1 日摂取目安量の 3 倍量（1 日 3 本），4 週間継続摂取した場合の健康への影響を，市販品相当の缶コーヒーと比較して検証した．

その結果，過剰量の Active 飲料摂取は Control 飲料摂取の場合と同様に，消化器系，もしくは腎・泌尿器系に関する症状が発現する可能性があるが，一過性で軽微なものであった．最終的に試験責任医師は，Active 飲料の過剰摂取は Control 飲料以上の安全性上の問題となる事象は認められなかったと評価した．

第5章 総括

本研究で得た知見と考察について、以下に総括する。

本研究によって **HHQ** 低減コーヒーの摂取がヒトの血圧を改善させることが明らかとなった。それは以下の2つの臨床試験によって明らかにされた。

HHQ 低減コーヒー中の、クロロゲン酸類の摂取がヒトの血圧に対する有効性を検証する臨床試験（臨床試験1）において、**HHQ** 低減コーヒーと **HHQ** 及びクロロゲン酸類を低減したコーヒーの摂取した群を比較した。正常高値血圧者及び軽症高血圧者の男女に1日1本12週間の継続摂取の結果、**HHQ** 低減コーヒー群で有意に血圧が低下した。このことから、**HHQ** 低減コーヒーに含まれるクロロゲン酸類が、ヒトの血圧を改善させることがわかった。また **HHQ** 低減コーヒーの摂取がヒトの血管内皮機能を改善させる可能性があることを示唆した。このことは、先行知見で得られていた動物試験研究結果及び血圧改善メカニズムを支持するものであった。**HHQ** 低減コーヒーの12週間摂取で安全性上の問題は認められなかった。

クロロゲン酸類を含有するコーヒー飲料中の、**HHQ** 含有量がヒトの血圧に対する効果を検証する臨床試験（臨床試験2）において、**HHQ** 低減コーヒーと **HHQ** を低減していない一般的なコーヒー（クロロゲン酸類は **HHQ** 低減コーヒーと同量含有）の摂取した群を比較した。正常高値血圧者及び軽症高血圧者の男女に1日1本12週間の継続摂取の結果、**HHQ** 低減コーヒー群で有意に血圧が低下した。

このことから、一般的なコーヒーに含まれる HHQ が存在すると、降圧効果が認められないことがわかった。即ち HHQ がクロロゲン酸類の降圧効果を阻害していることがわかった。HHQ 低減コーヒーの 12 週間摂取で安全性上の問題は認められなかった。

以上より、HHQ 低減コーヒー中に含まれるクロロゲン酸類がヒトの降圧効果を有し、一般的なコーヒーに含まれる HHQ がその降圧効果を阻害していることがわかった。即ち一般的なコーヒーから HHQ を低減させることにより、コーヒーに含まれるクロロゲン酸類の降圧効果が引き出された。HHQ 低減コーヒーの摂取がヒトの血圧を改善させる明確なエビデンスが得られた。

HHQ 低減コーヒーの血圧改善効果の程度は、医薬品である ACE 阻害薬や angiotensin receptor blockers に比較して低い。例えば、アンジオテンシン II 受容体ブロッカー「バルサルタン」を第一選択薬とした降圧治療の VALISH study では、バルサルタン 40~80 mg の投与 3 ヶ月で収縮期血圧は 25 mmHg 以上の降圧効果が認められている [68]。このことから HHQ 低減コーヒーの血圧改善効果は穏やかなものである。しかし疫学的研究から、成人において平均として収縮期血圧が 2 mmHg 低下すれば、脳卒中の死亡率が推計約 6%減少すると報告されており [69]、集団としては微小な血圧改善効果でも、予防医学的に大きなメリットがあると推察される。また本コーヒーは食品であることから、医薬品のような限られたヒトへの摂取ではなく、多くの集団で摂取することが可能であると推察される。このことから、本コーヒーの摂取は予防医学的に有用であり、ポピュレーションストラテジー [70]に適していると考えられた。

HHQ 低減コーヒーの過剰摂取による安全性への影響を検証する臨床試験(臨床試験 3)では、HHQ 低減コーヒーが食品であり、過剰摂取されることも多分に考えられたため、HHQ 低減コーヒーの過剰摂取による安全性について検証した。HHQ 低減コーヒーを摂取目安量である 1 日 1 本に対して、3 倍の 1 日 3 本被験者に 4 週間摂取させた。

その結果、一部で軽微な消化器症状、もしくは腎・泌尿器系に関する症状が発現する可能性があるが、一過性で軽微なものであり、試験責任医師は、Active 飲料の過剰摂取は Control 飲料以上の安全性上の問題となる事象は認められなかったと評価した。加えて、臨床試験 1 及び臨床試験 2 より、摂取目安量である 1 日 1 本の HHQ 低減コーヒーの 12 週間摂取でも、安全性上の問題は認められなかった。一方医薬品では一例として、ACE 阻害薬では副作用的症狀として空咳や頭痛等が知られている [62]。しかし上記いずれの臨床試験でもそのような副作用は認められなかった。これらのことより、降圧薬等と比べて、本コーヒーは、より安全に摂取できるものと推察された。

以上のことより、血圧が気になるヒトが普段摂取しているコーヒーを置き換えることにより、穏やかな血圧改善が期待され、そして無理なく安心して摂取できるものと考えられた。本研究の成果として、特定保健用食品開発に必須の条件である消費者庁から「特定保健用食品」としての許可が下りた。また HHQ 低減コーヒーの摂取は、国民の健常な平均血圧の維持に役立つと期待され、国民医療費高騰の抑制に貢献できると考えられる。

改めて、本邦は高齢化が進んでいる。先進諸国の高齢化率を比較してみると、本邦は 1980 年代までは下位、90 年代にはほぼ中位であったが、世界のどの国もこれまで経験したことのない高齢社会を迎えている [71]。高齢社会には多くの問題を抱えており、ひとつに上述した国民医療費の高騰化 [2]と共に、生活習慣病有病者の増加が予想されている。これに対応するのが本邦の逼迫した課題である。そこで日本の生命産業科学が、世界に先駆けて安心でき確かな効果を有する機能性食品の開発を含め対応していくべきと考える。そしてそのような実績のある機能性食品が日本から先んじて発信されることによって、後続で高齢化社会を迎える他の先進国の健康問題に貢献できると考えられる。

謝辞

本学位論文の作成を進めるにあたり，御懇意なご指導と，有用なご助言頂きました筑波大学生命環境系 繁森 英幸 教授，王 碧昭 教授，中村 幸治 教授，並びに山田 小須弥 准教授に厚く御礼申し上げます．

本研究の機会を与えていただくとともに，有用なご助言頂きました花王株式会社ヘルスケア食品研究所 大塚 和弘氏に厚く御礼申し上げます．

また，日常の議論を通じて多くの知識や示唆を頂いた筑波大学生命環境系 繁森研究室の皆様，並びにアステラス製薬株式会社開発本部臨床薬理部 門倉 健氏に感謝します．

引用文献

- [1] 厚生労働省 高齢者医療制度等改革推進本部事務局. 医療制度改革の課題と視点 (参考)これまでの改革の取り組み. [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/houdou/0103/h0306-1/h0306-1r.html>
- [2] 厚生労働省 大臣官房統計情報部人口動態・保健社会統計課保健統計室. 平成22年度 国民医療費の概況. [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/k-iryohi/10/dl/kekka.pdf>
- [3] 厚生労働省 高齢者医療制度等改革推進本部事務局. (2001, Mar.) 医療費の現状と見通し. [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/houdou/0103/h0306-1/h0306-1d.html>
- [4] 厚生労働省医薬局食品保健部企画課 新開発食品保健対策室長. (平成 14, Mar.) 食新発第0308001号 保健機能食品制度に関する質疑応答集について 特定保健用食品 . [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/topics/2002/03/tp0313-2f.html>
- [5] 消費者庁. 食品表示 健康や栄養に関する表示の制度について 特定保健用食品許可（承認）一覧. [Online]. <http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin1074.xls>
- [6] FDA, U.S. Food and Drug Administration. (1994, Oct.) Regulatory Information, Dietary Supplement Health and Education Act of 1994. [Online]. <http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Legislation/FederalFoodDrugandCosmeticActFDCAct/SignificantAmendmentstotheFDCAct/ucm148003.htm>

- [7] FDA, U.S. Food and Drug Administration. (1994, Aug.) Inspections, Compliance, Enforcement, and Criminal Investigations, Nutritional Labeling and Education Act (NLEA) Requirements (8/94 - 2/95). [Online]. <http://www.fda.gov/iceci/inspections/inspectionguides/ucm074948.htm>
- [8] European Commission. (1997, May) Novel foods and novel food ingredients. [Online]. http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/novelfood/index_en.htm
- [9] Europa Summaries of EU legislation. (2002, Jun.) Food supplements. [Online]. http://europa.eu/legislation_summaries/consumers/product_labelling_and_packaging/l21102_en.htm
- [10] European Commission. (2006, Dec.) EU Register of nutrition and health claims made on foods. [Online]. http://ec.europa.eu/food/food/labellingnutrition/claims/index_en.htm
- [11] 文部省, "特定研究「食品機能の系統的解析と展開（1984～1986年）」 研究課題番号：62123005," 1987.
- [12] 公益財団法人日本健康・栄養食品協会. (2011, Dec.) ～特定保健用食品の市場及び表示許可の状況について～. [Online]. <http://www.jhnfa.org/tokuho2011.pdf>
- [13] 健康日本21評価作業チーム. (2011, Oct.) 「健康日本21」最終評価. [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000001r5gc-att/2r9852000001r5np.pdf>
- [14] 厚生労働省. (2012, Dec.) 平成23年国民健康・栄養調査報告. [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyoudl/h23-houkoku.pdf>
- [15] 厚生労働省. (2013, Dec.) 平成24年国民健康・栄養調査結果の概要. [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/0000032813.pdf>
- [16] ヘルシアクラブ事務局. (2014) ヘルシアクラブ. [Online]. <https://healthya-club.kao.co.jp/report/result/>
- [17] The Japanese Society of Hypertension, *Guidelines for the Management of Hypertension (JSH2009)*. Tokyo: The Japanese Society of Hypertension, 2009.

- [18] 厚生労働省 健康局総務課生活習慣病対策室 栄養調査係. 平成 22 年国民健康・栄養調査結果の概要. [Online]. <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r98520000020qbb.html>
- [19] Committee to Evaluate Diagnostic Standards for Metabolic Syndrome, "Metabolic syndrome-definition and diagnostic criteria in Japan.," *Nippon Naika Gakkai Zasshi*, vol. 94, pp. 794-809, 2005, (in Japanese).
- [20] 堀田満, *世界有用植物事典*. 東京: 株式会社平凡社, 1989, pp. 297-300.
- [21] WORLD HEALTH ORGANIZATION, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (1997, Nov.) Volume 51, Coffee, Tea, Mate, Methylxanthines and Methylglyoxal, Summary of Data Reported and Evaluation. [Online]. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol51/volume51.pdf>
- [22] van Dam RM, Hu FB, "Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review.," *JAMA*, vol. 294, no. 1, pp. 97-104, 2005.
- [23] Huxley R, Lee CM, Barzi F, Timmermeister L, Czernichow S, Perkovic V, Grobbee DE, Batty D, Woodward M, "Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis.," *Arch Intern Med*, vol. 169, no. 22, pp. 2053-63, 2009.
- [24] Bravi F, Bosetti C, Tavani A, Bagnardi V, Gallus S, Negri E, Franceschi S, La Vecchia C, "Coffee drinking and hepatocellular carcinoma risk: a meta-analysis.," *Hepatology*, vol. 46, no. 2, pp. 430-5, 2007.
- [25] Mostofsky E, Rice MS, Levitan EB, Mittleman MA., "Habitual coffee consumption and risk of heart failure: a dose-response meta-analysis.," *Circ Heart Fail*, vol. 5, no. 4, pp. 401-5, 2012.
- [26] Barranco Quintana JL, Allam MF, Serrano Del Castillo A, Fernández-Crehuet Navajas R., "Alzheimer's disease and coffee: a quantitative review.," *Neurol Res*, vol. 29, no. 1, pp. 91-5, 2007.
- [27] Je Y, Liu W, Giovannucci E., "Coffee consumption and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies.," *Int J Cancer*, vol. 124, no. 7, pp. 1662-8, 2009.

- [28] Jee SH, He J, Whelton PK, Suh I, Klag MJ., "The effect of chronic coffee drinking on blood pressure: a meta-analysis of controlled clinical trials.," *Hypertension*, vol. 33, pp. 647-652, 1999.
- [29] Lewis CE, Caan B, Funkhouser E, Hilner JE, Bragg C, Dyer A, Raczynski JM, Savage PJ, Armstrong MA, Friedman GD, "Inconsistent Associations of Caffeine-containing Beverages with Blood Pressure and with Lipoproteins The CARDIA Study," *Am J Epidemiol*, vol. 138, no. 7, pp. 502-7, 1993.
- [30] Funatsu K, Yamashita T, and Nakamura H., "Effect of coffee intake on blood pressure in male habitual alcohol drinkers.," *Hypertens Res*, vol. 28, pp. 521-527, 2005.
- [31] Flament, I., "Coffee, cacao and tea.," in *Volatile compounds in foods and beverages*. Ed: H. Maarse. New York: Marcel Decker Inc, 1991, pp. 617-669.
- [32] Clifford MN, and Sumith AW, *Coffee, Vol.1. Chemistry Ed. By Clarke RJ and Marcae R*. London and New York: Elsevier, 1985, pp. 1-14.
- [33] 中林敏郎, 箴島豊, 本間清一, 中林義晴, 和田浩二, コーヒーの焙煎の化学と技術. 神奈川: 弘学出版株式会社, 1995, pp. 87-91.
- [34] Greenlee WF, Sun JD, Bus JS., "A proposed mechanism of benzene toxicity: Formation of reactive intermediates from polyphenol metabolites," *Toxicol Appl Pharmacol*, vol. 59, no. 2, pp. 187-195, 1981.
- [35] Zhang L, Bandy B, Davison AJ, "Effects of metals, ligands and antioxidants on the reaction of oxygen with 1,2,4-benzenetriol," *Free Radic Biol Med*, vol. 20, no. 4, pp. 495-505, 1996.
- [36] クエン・ヴァン・チュエン, 石川俊次, "コーヒーの化学成分," in コーヒーの科学と機能. 川崎市: 株式会社 アイ・ケイコーポレーション, 2006, pp. 13-18.
- [37] Clifford MN, "The influence of coffee bean maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline.," *Food Chem*, vol. 26, pp. 59-69, 1987.

- [38] Long LH and Halliwell B, , "Coffee drinking increase levels of urinary hydrogen peroxide detected in healthy human volunteers.," *Free Radic Res*, vol. 32, no. 5, pp. 463-467, 2000.
- [39] Hiramoto K, Kida T, and Kikugawa K, "Increased urinary hydrogen peroxide levels caused by coffee drinking.," *Biol Pharm Bull*, vol. 25, no. 11, pp. 1467-1471, 2002.
- [40] Halliwell B., Long LH., Yee TP., Lim S. and Kelly R., "Establishing biomarkers of oxidative stress: the measurement of hydrogen peroxide in human urine.," *Curr Med Chem*, vol. 11, p. 1085–1092, 2004.
- [41] Suzuki A, Yamamoto N, Jokura H, Yamamoto M, Fujii A, Tokimitsu I, and Saito I, "Chlorogenic acid attenuates hypertension and improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats.," *J Hypertens*, vol. 24, pp. 1065-1073, 2006.
- [42] 西野 雅巳, "血管内皮機能検査の意義と実際," *超音波医学*, vol. 37, no. 3, pp. 243-250, 2010.
- [43] Suzuki A, Yasuda S, Yamamoto M, Tokimitsu I, Hase T, Saito I, "Vasodilating Effects of Ferulic Acid on Aortas of Spontaneously Hypertensive Rats," *Jpn Pharmacol Ther*, vol. 35, no. 2, pp. 137-141, 2007.
- [44] Hou Y, Yang J, Zhao G, and Yuan Y., "Ferulic acid inhibits endothelial cell proliferation through NO down-regulating ERK1/2 pathway.," *J Cell Biochem*, vol. 93, no. 6, pp. 1203-9, 2004.
- [45] Suzuki A, Fujii A, Yamamoto N, Yamamoto M, Ohminami H, Kameyama A, Shibuya Y, Nishizawa Y, Tokimitsu I, and Saito I., "Improvement of hypertension and vascular dysfunction by hydroxyhydroquinone-free coffee in a genetic model of hypertension.," *FEBS Lett*, vol. 580, no. 9, pp. 2317-22, 2006.
- [46] Suzuki A, Yamamoto M, Jokura H, Fujii A, Tokimitsu I, Hase T, and Saito I., "Ferulic acid restores endothelium-dependent vasodilation in aortas of spontaneously hypertensive rats.," *Am J Hypertens*, vol. 20, no. 5, pp. 508-13, 2007.

- [47] Chikama A, Yamaguchi T, Watanabe T, Mori K, Katsuragi Y, Tokimitsu I, Kajimoto O, and Kitakaze M, "Effects of chlorogenic acids in hydroxyhydroquinone-reduced coffee on blood pressure and vascular endothelial function in humans," *Prog Med*, vol. 26, no. 7, pp. 1723-1736, 2006.
- [48] Chikama A, Yamaguchi T, Ochiai R, Kataoka K, and Tokimitsu I, "Effects of Hydroxyhydroquinone-reduced Coffee on Blood Pressure in High-normotensives and Mild Hypertensives," *J Health Sci*, vol. 54, no. 2, pp. 162-173, 2008.
- [49] (一社) 全国公正取引協議会連合会. (昭和 52, Dec.) コーヒー飲料等の表示に関する公正競争規約. [Online]. http://www.jfftc.org/cgi-bin/data/bunsyo/A-2_2.pdf
- [50] 藤井明彦、鈴木淳、大南英雄、落合龍史、渋谷祐輔, "コーヒー飲料組成物," 日本 Patent 3839831, Aug. 11, 2006.
- [51] The Japanese Society of Hypertension, *Guidelines for the Management of Hypertension (JSH2004)*. 2004.
- [52] THE WORLD MEDICAL ASSOCIATION, INC, "DECLARATION OF HELSINKI Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," 55th WMA General Assembly, 2004.
- [53] Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan., *The National Nutrition Survey in Japan, 2002*. 2002.
- [54] Higashi Y, and Yoshizumi M., "New methods to evaluate endothelial function: method for assesing endothelial function in human using a strain-gauge plethysmography: nitric oxide-dependent and -independent vasodilation.," *J Pharmacol Sci*, vol. 93, pp. 399-404, 2003.
- [55] Kawasaki T, Itoh K, Uezono K, and Sasaki H, "Estimation of 24-hour urinary sodium and potassium excretion from predicted value of 24-hour urinary creatinine excretion and fractional urine sodium/creatinine and potassium/creatinineration.," in *Seventh Symposium on Salt Vol. 2*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., 1993, pp. 257-262.
- [56] Davies PF, "Flow-mediated endothelial mechanotransduction.," *Physiol Rev*, vol. 75, no. 3, pp. 519-560, 1995.

- [57] Uehara Y, Saito I, and Kushiro T., *Vascular Disorders at a Glance First Edition*. Tokyo: Medical Sciences International, Ltd., 1995.
- [58] Ross R., "The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s.," *Nature*, vol. 362, pp. 801-809, 1993.
- [59] Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, and Fishman MC., "Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase.," *Nature*, vol. 377, pp. 239-242, 1995.
- [60] Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Mitchell GF, Vasan RS, Keaney JF Jr., Lehman BT, Fan S, Osypiuk E, and Vita JA., "Clinical correlates and heritability of flow-mediated dilation in the community: the Framingham Heart Study.," *Circulation*, vol. 109, p. 613–619, 2004.
- [61] Ceravolo R, Maio R, Pujia A, Sciacqua A, Ventura G, Costa MC, Sesti G, and Perticone F., "Pulse pressure and endothelial dysfunction in never-treated hypertensive patients.," *J Am Coll Cardiol*, vol. 41, pp. 1753-1758, 2003.
- [62] Yui Y, Sumiyoshi T, Kodama K, Hirayama A, Nonogi H, Kanmatsuse K, Origasa H, Iimura O, Ishii M, Saruta T, Arakawa K, Hosoda S, and Kawai C; Japan Multicenter Investigation for Cardiovascular Diseases-B Study Group., "Comparison of nifedipine retard with angiotensin converting enzyme inhibitors in Japanese hypertensive patients with coronary artery disease: the Japan Multicenter Investigation for Cardiovascular Diseases-B (JMIB-B) randomized trial.," *Hypertens Res*, vol. 27, no. 3, pp. 181-91, 2004.
- [63] 千竈映郎, 長尾知紀, 渡辺卓也, 落合龍史, 片嶋充弘, "内臓脂肪低減効果を有するコーヒーの過剰摂取時の安全性," *薬理と治療*, vol. 38, no. 9, pp. 825-832, 2010.
- [64] 消費者庁 消費者庁食品表示課. 食品表示 健康や栄養に関する表示の制度について 特定保健用食品の許可審査手続きに関する説明資料. [Online]. <http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin240.pdf>
- [65] Cohen S, and Booth GH Jr., "Gastric acid secretion and lower-esophageal-sphincter pressure in response to coffee and caffeine.," *N Engl J Med*, vol. 293, pp. 897-9, 1975.

- [66] Rieg T, Steigele H, Schnermann J, Richter K, Osswald H, and Vallon V., "Requirement of intact adenosine A1 receptors for the diuretic and natriuretic action of the methylxanthines theophylline and caffeine.," *J Pharmacol Exp Ther*, vol. 313, pp. 403-9, 2005.
- [67] Hari S, Chikama A, Watanabe T, Ochiai R, Kataoka K, Meguro S, and Tokimitsu I., "The safety on excess intake of the Anti-hypertensive beverage(Milk-coffee).," *Jpn Pharmacol Ther*, vol. 36, pp. 825-33, 2008.
- [68] Ogihara T, Saruta T, Rakugi H, Matsuoka H, Shimamoto K, Shimada K, Imai Y, Kikuchi K, Ito S, Eto T, Kimura G, Imaizumi T, Takishita S, and Ueshima H., "Target blood pressure for treatment of isolated systolic hypertension in the elderly.," *Hypertension*, vol. 56, pp. 196-202, 2010.
- [69] Stamler J, Rose G, Stamler R, Elliott P, Dyer A, and Marmot M., "INTERSALT study findings. Public health and medical care implications.," *Hypertension*, vol. 14, no. 5, pp. 570-7, 1989.
- [70] G Rose 著／曾田研二、田中平三監訳/水嶋春朔、中山健夫、土田賢一、伊藤和江訳, *予防医学のストラテジー：生活習慣病対策と健康増進*. 医学書院, 1998.
- [71] 内閣府 共生社会 政策統括官. (2012, Jun.) 高齢社会対策 平成 24 年版 高齢社会白書 平成 23 年度 高齢化の状況及び高齢社会対策の実施状況 第 1 章第 1 節 高齢化の状況 高齢化の国際的動向. [Online]. http://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2012/zenbun/pdf/1s1s_5.pdf