

システイン配合剤の疲労に対する効果の検討

川瀬 一朗 今森 勝美
蒲原 聖可 折茂 肇

Effects of an L-Cysteine containing drug on fatigue in healthy subjects

Ichiro Kawase, Katsumi Imamori,
Seika Kamohara, Hajime Orimo

要 旨

本邦において、疲労感を自覚している人の割合は就労人口の約60%に達し、その半数が慢性的な疲労を感じているという調査が報告されている¹⁾。一方、全身倦怠改善を効能に持つ一般用医薬品として、システイン配合剤がある。そこで今回、我々は、抗疲労作用が期待される機能性成分の効果および疲労に関連する新規バイオマーカー探索を目的として、システイン配合剤の作用を検討した。疲労感を有する健常者20名を対象に、システイン配合剤（L-システイン240 mg、ビタミンC 300 mg およびパントテン酸カルシウム24 mg/日）あるいは偽薬を4週間投与した結果、システイン配合剤投与群において疲労度の有意な低下が示された（ $p < 0.01$ ）。その他の指標では、リンパ球において一過性の上昇が認められた以外、偽薬投与群との間に有意な差は認められなかった。また、疲労関連マーカー探索の結果、血中のALT、唾液中のアミラーゼが有用であると考えられた。本試験により、システイン配合剤による抗疲労作用が認められ、作用機序として代謝酵素賦活化の関与が示唆された。

キーワード：疲労

L-システイン
バイオマーカー
アミラーゼ
ALT

1. はじめに

1999年に厚生省疲労調査研究班が実施した疫学調査では、本邦において疲労感を自覚している人の割合は就労人口の約60% (4720万人) に達し、その半数 (2960万人) が半年以上続く慢性的な疲労に悩んでいることが示されている¹⁾。一方、全身倦怠改善を効能に持つ一般用医薬品として、システイン配合剤がある。そこで今回、我々は、抗疲労作用が期待される機能性成分の効果および疲労に関連する新規バイオマーカー探索を目的として、システイン配合剤の作用を検討した。

2. 目的

疲労感を有する男性健常者を対象として、システイン配合剤服用により変化するバイオマーカーを探索するための予備検討を行った。

3. 方法

次に示す選択基準を満たし、かつ除外基準に抵触しない被験者を対象とした。

選択基準：

- ・ 同意取得時の年齢が35歳以上の男性。
- ・ 「労働者の疲労蓄積度自己診断チェックリスト」(厚生労働省) の自覚症状についての質問において、自覚症状の合計点数が、5点以上の者。
- ・ 試験の目的、方法、試験期間中の注意事項を十分理解し、試験に参加することに文書にて同意した者。

除外基準：

- ・ 薬物に対する過敏症の既往歴のある者。
- ・ 疾病の治療のため薬物を服用している者。または健康食品を日常的に摂取している者 (但し、試験開始前1ヵ月以上より服用もしくは摂取しており、試験期間中にその用法・用量を変更する予定のない者は除く)。
- ・ システイン、ビタミンC、及びパントテン酸カルシウム (各成分の誘導体も含む) が配合されている医薬品、健康食品等を常用している者。
- ・ 日常生活に支障のある程度の疾病を有する者 (但し、薬物療法等により日常生活に支障のない範囲でコントロールされている者を除く)。
- ・ 血液による感染が危惧される疾患に罹患している者 (自己申告)。
- ・ 本試験開始前3ヵ月以内に他の試験 (治験) 薬を投与された者、現在他の試験 (治験) 薬を投与されている者。
- ・ 本試験開始前3ヵ月以内に400 mL を超えるような採血 (献血等) を行った者又は本試験開始前1年以内の採血量が1200 mL を超えた者又は本試験に参加することにより超える可能性のある者。
- ・ その他、試験担当医師が本試験を実施するのに不相当と判断した者。

本試験のデザイン：

2薬剤による並行群間反復経口投与試験

盲検化の水準と手法

盲検化の水準：単盲検

盲検化の手法：選択基準に適合し、除外基準に該当しない者20名を被験者割付け担当者が、10名ずつA及びBの2群に無作為に割付けた。なお、割付け内容については、試験終了まで被験者には知らせないこととした。

試験薬：

HC：6錠（成人1日量）中に、L-システイン240 mg、ビタミンC 300 mg 及びパントテン酸カルシウム24 mgを有効成分として含有する糖衣錠。

HC プラセボ：HC と外観上判別不能であり、有効成分を含有していない糖衣錠。

投与量及び投与方法：

各投与群に割付けられた試験薬（HC 又は HC プラセボ）2錠を1日3回毎食前もしくは毎食後に、水又はお湯で服用した。

表1 投与群一覧表

群	被験者数	投与薬剤
A 群	10例	HC：1回2錠 1日3回投与
B 群	10例	HC プラセボ：1回2錠 1日3回投与

試験スケジュール

選択基準に適合し、除外基準に該当しない被験者20例を試験薬投与前に2群（A群及びB群）に割付けた（各々10例）。試験薬投与開始日の医師による診察により、試験への参加を適とされた被験者に対し、調査・検査スケジュールに従い、観察及び検査を行った。なお、試験薬は試験薬投与開始日の昼食後より、投与4週時の朝まで反復経口投与した。

スクリーニング検査の結果より、適合した被験者20例を試験薬投与前にA群及びB群に同数（10例）ずつ割付けた。下記に示したスケジュールに従い、調査及び体液の採取を行った。

表2 調査・検査スケジュール

試験日 (例示)	スクリーニング	投与開始日	—	2週時	—	4週時
		day 1	day 2～14	day 15	day 16～28	day 29
同意の取得	○					
背景調査	○					
診察*	○					
自覚症状		←	←	←	←	→

投薬		○	○	○	○	○
疲労度調査	○	○(投与前)		○		○
体液の採取		○(投与前)		○		○

「労働者の疲労蓄積度自己診断チェックリスト」(厚生労働省)の自覚症状についての質問を用いて調査した。

バイオマーカー探索に伴う体液の採取：

絶食下(朝食を摂取せず)、血液38.5 mL、唾液、尿(約10 mL)を採取し、臨床項目測定施設において、以下の項目について測定し、システイン配合剤の影響を検討した(試験薬投与開始日(投与前)、2週時(許容範囲±2日間)、4週時(許容範囲±2日間))。

【酸化ストレスマーカー】8 OH-dG、グルタチオン (total)

【疲労マーカー】HHV-6/HHV-7 (PCR法による半定量及びIgG)、TGFβ、IL-6、アシルカルニチン

【精神的ストレスマーカー】コルチゾール、アミラーゼ、5 HT

【肝機能マーカー】総蛋白、血清アルブミン、A/G比、蛋白分画、血清ビリルビン、AST、ALT、LAP、ALP、ChE、総コレステロール、Fe、グルコース、乳酸、ピルビン酸、尿酸、アミノ酸、ケトン体、遊離脂肪酸、TG、LDL、HDL、クレアチニン、カルニチン

【その他】白血球分画

バイオマーカーの測定：

グルタチオンは Assay designs 社製の Total glutathione detection kit を用いて測定した。アミラーゼはニプロ社製唾液アミラーゼモニターを用い濃度を、唾液量で換算して量を測定した。5 HT は LC/MS 法にて測定した。

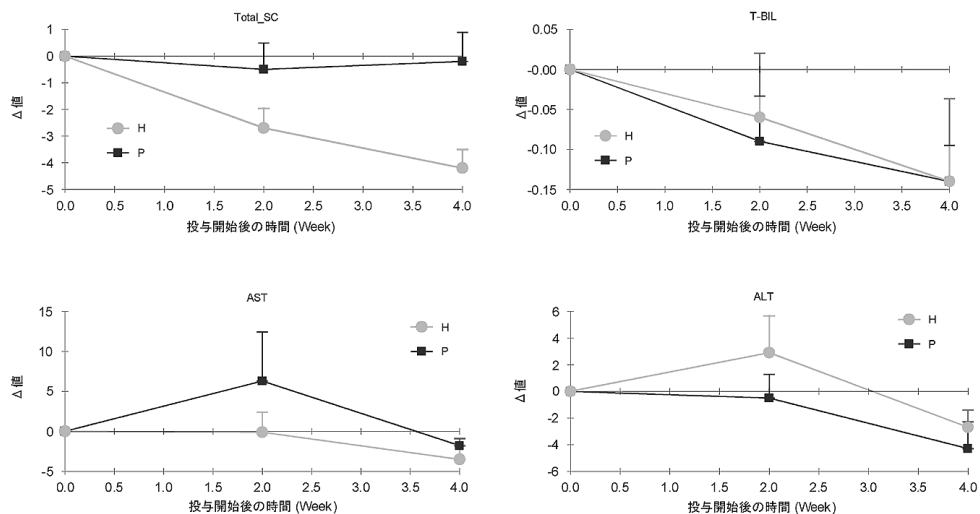
その他の測定項目は三菱化学メディエンス社にて測定した。

4. 結果および考察

本試験の内容について理解し、文書同意が得られた被験者(被験者識別コード H-1~10、L-1~11)に対してスクリーニング検査を実施した。2008年1月18日に症例適否判定を実施し、選択基準を満たし、かつ除外基準に抵触しない20例が試験担当医師により、本試験への参加が適格と判定され、症例番号1~20が付与された。これら20例に試験薬を4週間投与し、全例が完了例となった。

疲労感について、現在、様々な研究がなされており、特に自覚症状を代替するバイオマーカー探索が実施されている。今回、測定したアシルカルニチン^{1,2)}、コルチゾール^{3,4)}、HHV 6、HHV 7⁵⁻⁷⁾、IL-6⁸⁾、TGF-β^{9,10)}、アミラーゼ^{3,4,11,12)}、5-HT¹³⁾が疲労あるいは精神的ストレスのバイオマーカーとして報告されている。

2008年には日本疲労学会から「抗疲労臨床評価ガイドライン 病的疲労を伴わない健



図中の略号

Total_SC：疲労感合計スコア、T-BIL：総ビリルビン値、AST：aspartate aminotransferase、ALT：alanine aminotransferase

図1 疲労度及びバイオマーカーの経時変化

常者を対象とする肉体疲労に対する特定保健用食品の臨床評価ガイドライン」が提案されている。この中で、疲労感の主評価項目として Visual Analogue Scale (VAS) を採用しつつ、生化学的評価項目として血液中の TGF-β、IL-6、コルチゾール、クレアチニンホスホキナーゼ (CPK)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、白血球数、アミノ酸、尿中のバニルマンデル酸、唾液中のアミラーゼ、クロモグラニンA、コルチゾールを挙げている¹⁴⁾。

一方、全身倦怠改善を効能に持つ一般用医薬品としてシステイン配合剤がある。疲労感と全身倦怠感の定義はあいまいで、関係は不明瞭であるが、システイン配合剤が疲労感を改善する可能性は高い。

今回、35歳以上の健康労働者を対象に、日常的な疲労感と関連のあるマーカーの検討とシステイン配合剤の効果の確認そして、その作用メカニズムに関して予備的な検討を行った。

疲労感 (合計スコア) について、重回帰分析を実施した結果、説明変数として ALT、アミラーゼ量、薬剤が有用であることが分かった。そのときの、重回帰モデルは下記であった。

$$\text{疲労度} = 0.3705 - 3.418 \times [\text{薬剤}] + 0.2749 \times [\text{ALT}] + 0.02369 \times [\text{アミラーゼ量}]$$

$$\text{薬剤投与時: } [\text{薬剤}] = 1、\text{薬剤非投与時(プラセボ投与): } [\text{薬剤}] = 0$$

$$\text{決定係数} = 0.73$$

また、これらの説明変数 (ALT、アミラーゼ量、薬剤) は疲労感の変化量の説明変数としても有意であった。

血中 ALT 活性の上昇は肝細胞の壊死、破壊の程度を反映し、肝炎など肝障害により

上昇するマーカーである。肝疾患での自覚症状として全身倦怠があることから、健康人においても疲労感と関連するとの結果は興味深い。唾液中のアミラーゼは交感神経-副腎髄質系、ノルエピネフリンの制御を受けていることが判っている¹⁵⁾。また、精神的なストレスで上昇することが報告されている^{3,4)}。

以上のことから、健康労働者における疲労感には肝機能と精神的なストレス（交感神経系の興奮）が強く関与していると考えられた。また、オリジナル値による重回帰分析ではALTが、 Δ 値ではアミラーゼの寄与が高かったことから、ALTよりアミラーゼの方が変化しやすいマーカーであると推察された。

抗疲労臨床評価ガイドラインの生化学的評価項目のうち、今回、血液中TGF- β 、IL-6、コルチゾール、アミノ酸、唾液中アミラーゼを測定しているが、明らかな関与が示唆されたのは唾液中アミラーゼだけであった（アミノ酸に関しては、測定項目（アミノ酸数）が多く、何をもちて評価するのか示されていないため、単純には議論することが出来ない）。ガイドラインの基盤になっている研究は主に慢性疲労症候群患者と健康人との比較にて実施されたものであるため、今回実施した健康労働者という限定された母集団とは必ずしも一致しないものと思われた。

重回帰分析による検討で、システイン配合剤が疲労感改善に寄与することが示唆されたことから、その作用をさらに詳細に検討した。疲労度及び測定バイオマーカーの Δ 値についてプラセボ投与群との比較を行った結果、4週目においてシステイン配合剤投与群では疲労度を有意に低下させた（図1）。しかしながら、それ以外のマーカーに対してはプラセボ投与群との間に明確な差は認められなかった。

投与前値との比較においてはアミラーゼ濃度の低下、フィッシャー比の上昇が確認され、これはプラセボ投与群では見られない変化であった。システイン配合剤は疲労度に関連するマーカーのうちALTに対しては明確な影響を示さなかったが、アミラーゼについては低下方向に作用した。フィッシャー比は肝におけるアミノ酸代謝のマーカーであることから、アミノ酸あるいは代謝能を検討する必要があると考えられた。すなわち、これら、アミノ酸等は体内での複雑なカスケード反応のいわゆる中間体であり、静的ではなく動的にとらえることが有用であると考えた。そこで、得られている値を用い、これを推定するためアミノ酸の比をとり検討を行った。グルタミン酸/アスパラギン酸比（ Δ 値）が4週で、システイン配合剤投与群でプラセボ投与群より有意に高値を示した。また、投与前値との比較ではグルタミン酸/アスパラギン酸比が4週で上昇、グルタミン酸/アラニン比が4週で上昇、グルタミン酸/ロイシン比が2～4週で上昇した。グルタミン酸/オルニチン比が2週で、グルタミン酸/グルタミン比が2週で上昇した。グリシン/グルタミン酸比は2週で低下したが、グルタミン酸量の増加の影響を受けた可能性がある。プラセボ投与群では、これらの変化は認められていない（アスパラギン酸/アスパラギン比のみ2週で有意に上昇）。これらの比のうち、システイン配合剤で増加を示したのは、グルタミン酸生成方向、酵素ではアミノトランスフェラーゼ群である。グルタミン酸は比を取らなくとも投与前値に比べ経時的な上昇を示してお

り、これがアミノトランスフェラーゼの活性を示しているかどうかは不明であるが、フィッシャー比の上昇と合わせ、システイン配合剤が何らかの酵素活性に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

システイン配合剤はALT（あるいはAST）に影響を及ぼさなかったことから肝細胞の壊死や破壊の改善には作用しないものと考えられた。むしろ肝の代謝酵素活性の上昇を促す可能性が考えられた。生体内では脂質過酸化反応などにより二次的に生成されるアルデヒド類により酵素のアミノ酸側鎖の修飾が引き起こされる¹⁶⁾。特に多くの酵素の活性中心でもあるシステイン残基は感受性が高いといわれている。システインは、アルデヒド基と結合し、チアゾリジン誘導体を形成すると考えられることから¹⁷⁾、生体内で生成するアルデヒド類の酵素へのアダクトを抑制し、非特異的に見かけ上、酵素の活性を上昇させているのかもしれない。

今回の試験ではシステイン配合剤の効果について、個別マーカーで、明確な差が検出されなかった。システイン配合剤の作用は非特異的で、多岐にわたり、個々のマーカーでは変化量が少なかった可能性がある。また、今回は労働者である被験者の長期拘束が困難であることから、並行群間試験としたため、被験者間のバラツキが影響し、差を検出できなかった可能性も考えられる。

なお、今後、システイン配合剤に対し、新規成分の配合を検討する際、本試験での結果を参考とすることができる。すなわち、疲労度は3つの説明変数（ALT、アミラーゼ量、薬剤）でモデル化できたことから、薬剤を除いたALT、アミラーゼ量が成分選択のマーカーとなると考えられる。特に、ALTは疲労度に対し、寄与の大きい説明変数であるが、システイン配合剤はこれに影響を及ぼさなかったことから、ALTを低下させる成分を配合すれば、従来のシステイン配合剤と相加・相乗的に作用し、より強い効果が期待される。例えば、グリシンなどには肝障害性薬物投与時において、ALT上昇を抑制する作用が報告されており^{18,19)}、今後、こういったALT低下（肝障害改善）作用を有する成分に関して広く調査し、併用効果を検討する必要がある。

引用文献

- 1) 木谷照夫ら、「疲労の実態調査と健康づくりのための疲労回復手法に関する研究」平成11年度研究業績報告書（厚生省）。
- 2) Kuratsune, H. et al., Clin. Infect. Dis., 18, S 62-S 67, 1994.
- 3) Rohleder, N. et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1032, 258-263, 2004.
- 4) Nierop, A. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab., 91, 1329-1335, 2006.
- 5) Sairenji, T. et al., Intervirology, 38, 269-273, 1995.
- 6) Krumina, C. S. et al. J. Clin. Virol., Supp. 1, 47-51, 2006.
- 7) 近藤一博, ウィルス, 55, 9018, 2005.
- 8) Kerr, J. R. and Tyrrell, D. A., Curr. Pain Headache Rep., 7, 333-341, 2003.

- 9) Kennedy, G. et al., J. Clin. Pathol., 57, 891-893, 2004.
- 10) Inoue, K. et al., Brain Research, 846, 145-153, 1999.
- 11) Yamaguchi, M. et al., Biosens. Bioelectron., 21, 1007-1014, 2006.
- 12) Yamazaki, S. et al., Intern. Med., 46, 883-887, 2007.
- 13) 渡辺恭良, 日薬理誌, 129, 94-98, 2007.
- 14) 抗疲労臨床評価ガイドライン 病的疲労を伴わない健常者を対象とする肉体疲労に対する特定保健用食品の臨床評価ガイドライン, 日本疲労学会, 2008年2月16日.
- 15) 山口昌樹, 日薬理誌, 129, 80-84, 2007.
- 16) 吉川敏一編集, 酸化ストレス ver. 2, pp 159-164, 医歯薬出版, 東京, 2006.
- 17) Tsukamoto, S. et al., 9, 225-231, 1983.
- 18) Deters, M. et al., Toxicology, 128, 63-72, 1998.
- 19) 小林英、高橋陽, 日本栄養・食糧学会要旨, p 66, A 27, 1998.

Abstract

OBJECTIVE: The effects of L-cysteine containing drug on fatigue were examined. **METHODS:** Twenty healthy male subjects were randomly divided into two groups. For four weeks the subjects received daily doses of either an L-cysteine containing drug (L-cysteine 240 mg, vitamin C 300 mg, calcium pantothenate 24 mg) or placebo for 4 weeks. The levels of fatigue were evaluated using Self-Diagnosis Check List for Assessment of Worker's Accumulated Fatigue (Ministry of Health, Labour and Welfare). Various biomarkers relating to oxidative stress, physical and mental fatigue were measured to assess the effects of supplementation. **RESULTS:** The fatigue-scale improved significantly in the supplementation group, compared with the placebo group. **CONCLUSION:** It is suggested that an L-cysteine containing drug might be useful to attenuate fatigue.

Key words: L-cysteine
fatigue
dietary supplement