Euglena gracilis EOD-1株由来パラミロン摂取による疲労感軽減効果

Effects of Consumption of Paramylon Derived from *Euglena gracilis* EOD-1 on Attenuating Feelings of Fatigue

河野高徳*
Takanori Kawano
博士（生命科学）

内藤淳子*
Junko Naito

西岡満智子**
Machiko Nishioka
博士（農学）

西田典永*
Norihisa Nishida

髙橋　円***
Madoka Takahashi

渡辺恭良****
Yasuyoshi Watanabe
博士（医学）

当社独自の *Euglena gracilis* EOD-1株は，βグルカンの一種であるパラミロンを多量に蓄積する。これまでにパラミロンは，免疫の活性化や抗酸化などに働くことが示唆されており，様々な応用展開が可能な素材として期待されている。今回，*Euglena gracilis* EOD-1株由来パラミロンの日常生活における疲労感に対する影響について検討した結果，身体的疲労感を軽減することが確認された。また，歩数や外出時間の増加も確認され，身体的疲労感が軽減された結果と考えられた。

Our proprietary *Euglena gracilis* EOD-1 synthesizes a large amount of a *β*-glucan known as paramylon. It has been suggested that paramylon promotes immuno-activation and antioxidation, and is, therefore, expected to be used in various applications. We confirmed that ingesting paramylon derived from *Euglena gracilis* EOD-1 reduces feelings of physical fatigue in daily life. In addition, an increase in the time spent outdoors and an increase in the number of walking steps were confirmed, which may have resulted from the reduced sensation of physical fatigue.

***Key Words*：**

パラミロン	paramylon
疲労感	feeling of fatigue
ユーグレナ・グラシリス EOD-1株	*Euglena gracilis* EOD-1
βグルカン	*β*-glucan

【セールスポイント】

・βグルカンの一種であるパラミロンを豊富に含む EOD-1株。

・臨床試験で，EOD-1 株由来パラミロンの摂取が，日常生活における身体的疲労感を軽減することを確認。

まえがき

わが国は世界に先駆けて超高齢社会を迎えた。こうしたなか，わが国では「健康日本21」を定め，国民の健康寿命の延伸や生活の質の向上を図るために国民の健康づくり・疾病予防を積極的に推進している。これらを実現するためには，国民ひとりひとりのヘルスケア志向を高め，健康増進を目指すことが必要である。このような背景から，当社はユーグレナに含まれる栄養成分や機能性に着目し，健康食品素材としての事業を展開している。ユーグレナは葉緑体を持つ単細胞の微細藻類であり，当社独自の *Euglena gracilis* EOD-1株はβグル

*技術開発センター 水・汚泥技術開発部 バイオ資源技術室　**新規事業推進部 藻類事業推進室　***技術開発センター 水・汚泥技術開発部
****理化学研究所 健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス推進プログラム

カンの一種であるパラミロンを多量に蓄積する。パラミロンは免疫や抗酸化に寄与することが示唆されている素材であることから，抗疲労素材としての応用が期待できる。

本報では，ユーグレナおよび疲労について概説するとともに，*Euglena gracilis* EOD-1株由来パラミロンを用いて行った臨床試験について紹介する。

1. ユーグレナが産生するパラミロン[1), 2)]

当社独自の *Euglena gracilis* EOD-1株は，βグルカンの一種であるパラミロンを多量に蓄積する。以下にユーグレナおよびその特有成分であるパラミロンについて紹介する。

1.1 ユーグレナ（ミドリムシ）とは

ユーグレナは，葉緑体を持つ単細胞の微細藻類である。細胞幅が約10 μm，細胞長が約50 μm で細胞の一端に２本の鞭毛があり，活発に遊泳する。ユーグレナは，光独立栄養（いわゆる光合成）培養法，グルコースなどの有機性炭素を利用して暗所・好気条件で培養する従属栄養培養法，あるいは，それらの中間の光従属栄養培養法のいずれの方法でも培養可能である。当社は食品素材としての安全性などの観点から従属栄養培養法を採用している。

1.2 パラミロンとは

パラミロンは1 000個前後のグルコースがβ-1,3結合をした直鎖状のβ-1,3- グルカンである（**図１**）。３本の直鎖状β-1,3- グルカンが右巻きの縄のようにねじれあった緩やかな３重らせん構造をとり，これらが複数集まった状態でパラミロン顆粒を形成する（**図２**）[1)]。酵母などの細胞壁に含まれるβグルカンは網目構造をとるが，*Euglena gracilis* に含まれるパラミロンは顆粒の中までβグルカンが密に詰まっており[3)]，珍しいβグルカンであるといえる。**写真１**に，EOD-1株由来パラミロンの電子顕微鏡写真を示す。EOD-1株由来パラミロンの平均直径は約３ μm であり，丸餅の様な形をしている。

1.3 *Euglena gracilis* EOD-1株[4)~7)]

当社は筑波大学との共同研究において，*Euglena gracilis* の新規株である EOD-1株を分離した。本株は，研究に多用されている *Euglena gracilis* Z 株（NIES-48）に比べ増殖が速く，パラミロンの含有率が高いといった優れた性質を有する（**写真２**）。当社はこれまでに安定的に EOD-1株中に70～80 % のパラミロンを蓄積する培養条件を確立している。また，EOD-1株の乾燥粉末を食品として提供するに

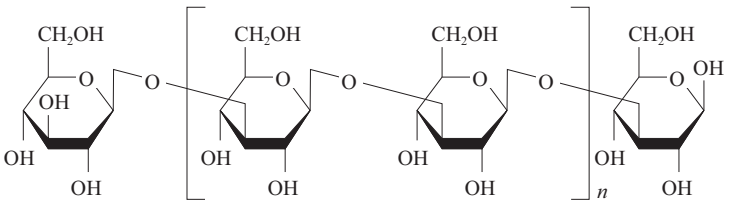


図１　パラミロンの構造式

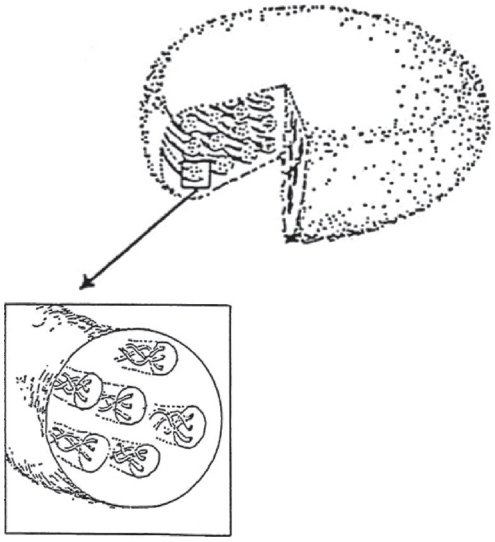


図２　パラミロンの３重らせん構造[1)]

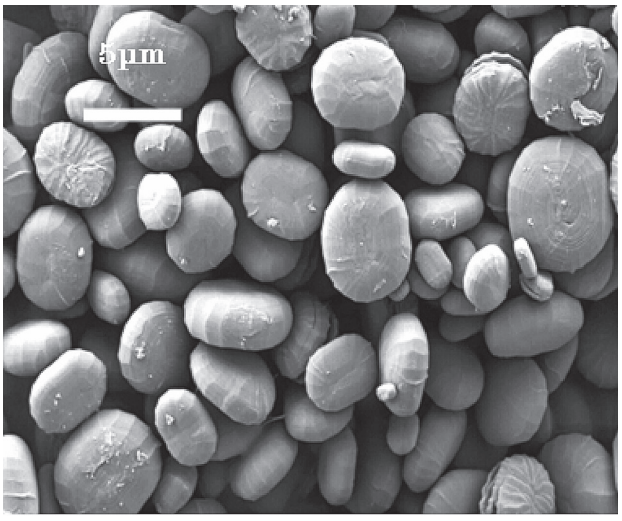


写真１　パラミロンの電子顕微鏡写真

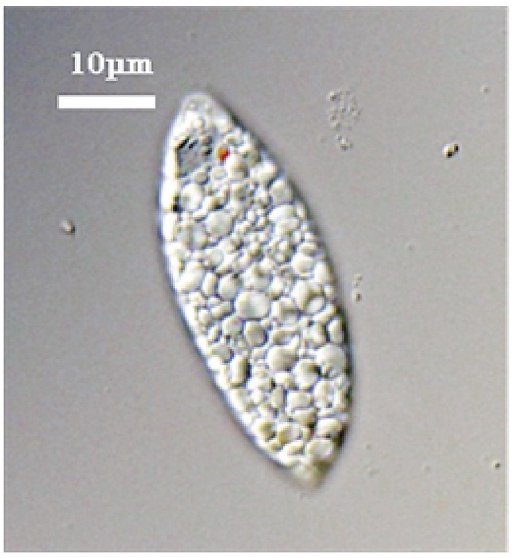


写真２　従属栄養培養で培養した *Euglena gracilis* EOD-1株の光学顕微鏡像
細胞内に観察される白い顆粒がパラミロン

あたり各種安全性試験を実施し，問題がないことを確認している。

近年，ユーグレナやパラミロンに関して健康に寄与する様々な機能性が研究されており，動物実験やヒトを対象とした試験において，免疫賦活作用，抗酸化作用，等への効果が報告されている[8), 9)]。また，当社は，EOD-1株の乾燥粉末やパラミロンの摂取によってマウスにおける糖・脂質代謝の改善やヒトにおける免疫機能および精神的健康感の向上を報告しており[10), 11)]，今後もさまざまな機能性が見いだされることが期待される。

2. 疲　労

疲労は，人が日常的に行っている労働や運動，創造，精神活動などの結果感じている，非常に身近な現象である。しかしながら，その実態がどのような現象であるのか長く科学的に説明できない状態であった。1990年頃から渡辺らが本格的に疲労という現象の解明に取組み，精力的に研究が進められてきた。以下に，これまでの研究および調査から明らかになってきた疲労の実態について概説する。

2.1　疲労とは[12), 13)]

疲労は，生物が過剰活動により疲弊してしまうのを防御するために，休息の必要性を自身に知らせるシグナルである。「疼痛」，「発熱」と並び生体三大アラームと呼ばれ，生命を維持する上で大切なシステムの１つとされている。そのため，医療の世界では，疲労は未病の最たるものと考えられ，回復しない疲労はさまざまな疾病へと移行する可能性の高い状態ととらえられている。

疲労という現象には，長らく明確な定義が存在しなかった。しかし，研究を進めていく上で現象を定義することは重要であることから，2005年に渡辺らが中心となって設立した日本疲労学会で以下のように定義された。

「疲労とは過度の肉体的および精神的活動，または疾病によって生じた独特の不快感と休養の願望を伴う身体の活動能力の減退状態である。疲労は「疲労」と「疲労感」とに区別して用いられることがあり，「疲労」は心身への過負荷により生じた活動能力の低下を言い，「疲労感」は疲労が存在することを自覚する感覚で，多くの場合不快感と活動意欲の低下が認められる。様々な疾病の際にみられる全身倦怠感，だるさ，脱力感は「疲労感」とほぼ同義に用いられている。」[14)]

このように，疲労とは過度の活動や疾病により活動能力が低下した状態をいい，それを自覚する感覚として疲労感が定義されている。

また，一概に疲労と言ってもさまざまな分類が可能である。たとえば，体の全体で感じる全身的疲労と体の一部（たとえば一部分の筋肉）で感じる局所疲労がある。また，時間経過により急性疲労と慢性疲労に大別することもでき，治療が必要なく回復する生理的疲労と治療を必要とする病的疲労に分けることもできる。さらに，肉体面に疲労を感じる身体的疲労と精神面に疲労を感じる精神的疲労に大別することもできる。こと健常人を対象とした食品の臨床試験における疲労感の評価では，しばしば身体的疲労感，精神的疲労感，両者を合わせた感覚である全体的疲労感に分けて評価される。

2.2　疲労のメカニズム[13), 15), 16)]

人の体は，全身の感覚や体温などを調節する神経系，代謝やホルモンのバランスを調節する内分泌系，そして細菌などの外敵から自らを守る免疫系の三つの系統が互いに作用しあい均衡を保ちながら健康を維持している（**図３**）。この均衡を保つ機能をホメオスタシスと言うが，疲労はこれらの系統の均衡が崩れ，ホメオスタシス（恒常性維持機能）が低下した現象であると考えられる。

詳細なメカニズムとしては，渡辺らにより以下のような仮説が考えられている（**図４**渡辺仮説）。

人が活動することにより，運動性であれば筋肉細胞，精神性であれば神経細胞を中心としたさまざまな細胞が活動するが，この際に必要なエネルギの産

生に伴って細胞内に活性酸素種が発生する。オーバーワークなどによる過剰な活動を行うと，それに伴って過剰な活性酸素種が発生することとなるが，活性酸素種を処理する生体還元系の処理速度が間に合わず，細胞の重要なタンパク質や脂質が酸化される（錆びつく）。それによって，細胞や細胞内小器官が十分に機能できない状態となり，その傷害を感知した免疫細胞が脳神経系，内分泌系などにシグナルを送り，修復を試みる。この際に一部のシグナルは疲労感を惹起しうる。また，修復の際に，エネルギが十分でなかったり，各系統に不調があったりすれば，疲労が長引くこととなる。

以上のように，疲労という現象は活性酸素種によって引起こされ，疲労を軽減させるには，細胞の酸化傷害の抑制と免疫系を起因とした修復機構を機能させることが重要であると考えられる。

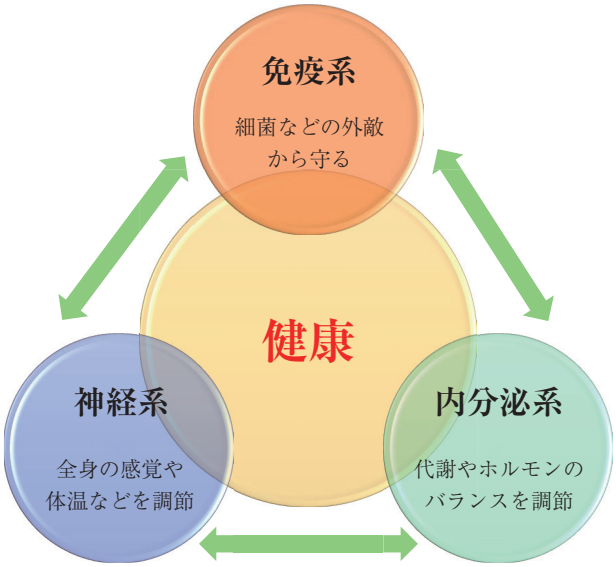
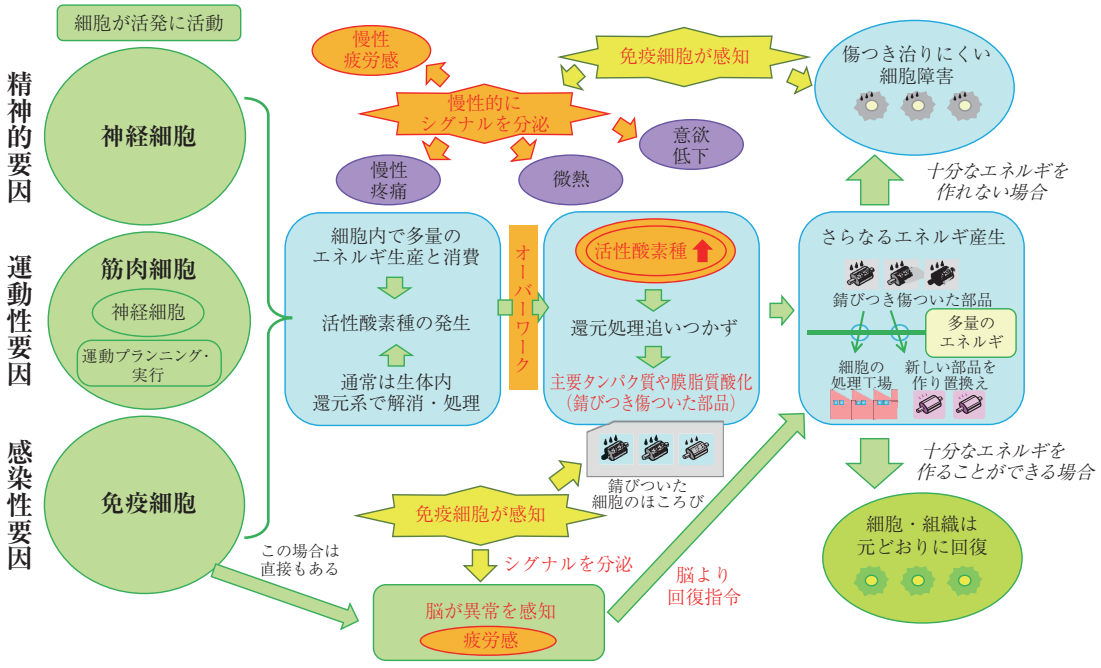


図３　健康を維持するホメオスタシスと３つの系統

2.3　疲労の統計[12),17)～19)]

わが国では，疲労に関する調査として1985年に総理府が健康に関する国民意識調査を実施している。その結果，疲労感を認めた人は全体の66％であった。また，その後も，一般住民を対象とした1999年の愛知県豊川市医師会に所属する医療機関での調査，2001年の愛知県豊川保健所管内での調査，2004年の大阪地区での調査，2012年の愛知県豊川保健所管内での調査が実施されたが，いずれの調査でも50～70％の方が疲労を感じている。また，2002年の労働者健康状況調査では，普段の仕事で身体の疲れを感じている労働者は72.2 ％にものぼり，非常に多くの方が日常的に疲労を感じていることがうかがえる。

慢性疲労という観点から言うと，1985年の調査では疲労感を認めた人のうち72 ％のヒトが「一晩の睡眠で疲労感は回復する」と回答しており，６カ月以上にわたって疲労が続く状態は稀であると思われていた。しかし，2004年の大阪地区の調査では，疲



日生物精医会誌，24（4），200-210（2013）を改変

図４　疲労のコアメカニズム[15)]

労感を自覚している人の半数を超える人（全体の39％）が６カ月以上続く慢性疲労に悩んでいることが明らかとなった。2012年の調査でも同様の結果となっており，日本の就労人口６千５百万人に対し，２千５百万人をこえる人々が６カ月以上疲労感に悩んでいることになる。

国外での疲労統計結果としては，慢性疲労状態にある人の割合がイギリスでは９～15％，ノルウェーでは６～13％，アメリカでは４～19％，オランダでは31％，韓国では８～29％，中国では６～11％であると報告されている。国外の結果と比較しても，日本では慢性疲労者が非常に多いことがわかる。

慢性疲労に悩んでいる人の半数が疲労のために以前に比べ作業能力が低下し十分に活動できていないと感じている。このような慢性疲労等による経済的な損失を試算すると，医療費を除いて年間１兆２千億円にも上り，生産性に対してダメージを与えるという観点からも疲労は大きな社会問題である。

3. *Euglena gracilis* EOD-1株由来パラミロン摂取による日常生活における疲労感軽減効果[20)]

わが国では多くの人が日常的に疲労を感じており，疲労を軽減させる対策は健康，経済の両面から重要な課題である。

前述したとおり，EOD-1株には，ヒトでの免疫機能を向上させる作用が確認されている[11)]。また，パラミロンには，マウスにおいて生体内の抗酸化能を高める作用や免疫機能を向上させる作用が報告されている[8), 21)]。以上のことから，EOD-1株由来パラミロンは，抗酸化および免疫機能の低下抑制に働く可能性が推察され，ひいては疲労を軽減させる効果がある可能性が考えられる。しかし、実際に効果があるか検証を行った例はない。

よって，EOD-1株由来パラミロンを摂取することで，ヒトの疲労感を軽減させることができるか検証を行った。

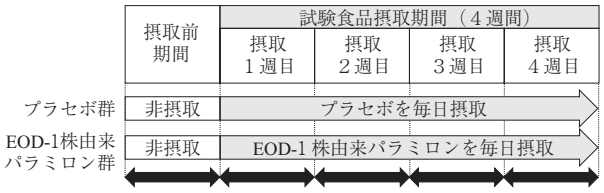
3.1 試験方法

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とし，試験デザインを図５に示した。試験期間は，摂取前期間，摂取１週目，摂取２週目，摂取３週目，摂取４週目を設定し，それぞれ１週間とした。日常生活において疲労を感じている健常者200名を被験者とし，100名ずつの２グループに分け，それぞれをEOD-1株由来パラミロンを350 mg含有したカプセルを摂取する群（EOD-1株由来パラミロン群），又はプラセボ（EOD-1株由来パラミロンを含まないカプセル）を摂取する群（プラセボ群）とした。被験者には，カプセルを１日１回４週間摂取させた。疲労感は，Visual Analog Scale（VAS）法を用いて全体的疲労感，身体的疲労感，精神的疲労感について毎日測定し，各期間の平均値を用いて評価した。VAS法は，日本疲労学会により推奨されている疲労感の評価方法であり，100 mmの線分の左端を最良の感覚，右端を最悪の感覚として今の状態が線分上のどこに位置するかを×印で記入させ，左端からの距離を評価スコアとしている[14)]。また，被験者には，試験期間中はWeb日誌に歩数，外出時間を記録させ，それぞれについて各期間の１日当たりの平均値を用いて評価した。

3.2 結果および考察

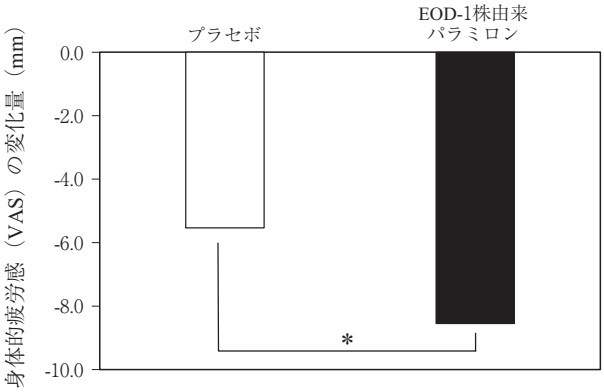
被験者200名のうち脱落者はいなかったが，試験方法の不遵守が多かった３名を除外し，197名（EOD-1株由来パラミロン群98名，プラセボ群99名）を対象に有効性評価を行った。

VASの疲労感について検討したところ，摂取４週目においてプラセボ群と比較してEOD-1株由来パラミロン群の身体的疲労感の変化量が有意に低値を示した（図６）。



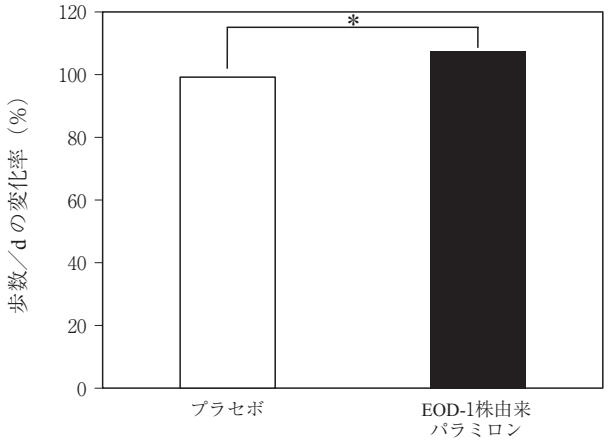
薬理と治療，47（11），1851-1859（2019）を改変

図５　試験デザイン[19)]



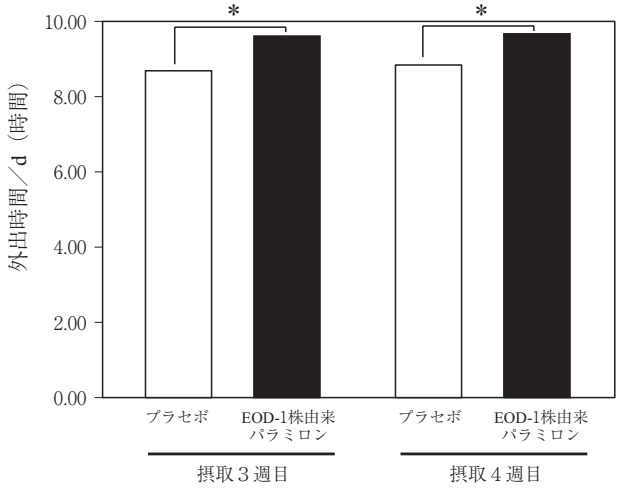
*：プラセボ群とEOD-1株由来パラミロン群で有意差あり（p<0.05）
薬理と治療，47（11），1851-1859（2019）より作図

図６　摂取４週目の身体的疲労感の変化量の比較[19)]



＊：プラセボ群と EOD-1株由来パラミロン群で有意差あり（p<0.05）
薬理と治療，47（11），1851-1859（2019）より作図

図７　摂取４週目の１日当たりの歩数の変化率の比較[19)]



＊：プラセボ群と EOD-1株由来パラミロン群で有意差あり（p<0.05）
薬理と治療，47（11），1851-1859（2019）より作図

図８　摂取３，４週目の１日当たりの外出時間の比較[19)]

また，１日当たりの歩数の変化率については，摂取４週目においてプラセボ群と比較して EOD-1株由来パラミロン群が有意に高値を示した（**図７**）。

さらに，１日当たりの外出時間については，摂取３週目，摂取４週目においてプラセボ群と比較して EOD-1株由来パラミロン群が有意に高値を示した（**図８**）。

以上のことから，EOD-1株由来パラミロン350 mg を４週間毎日継続摂取することで，身体的疲労感が軽減されることが明らかとなった。また，歩数や外出時間が増加していた。これは，身体的疲労感が軽減されたことにより，活動的になり，歩数や外出時間の増加に現れた可能性が考えられた。

疲労という現象は，前述したとおり，神経・内分泌・免疫系相関の不調というホメオスタシスの低下現象であると言われており，ストレスや疲労に伴って免疫力が低下することが報告されている。そのため，これまでに疲労のバイオマーカーの１つとして唾液中の分泌型免疫グロブリン A（sIgA）が検討されており，ストレスやトレーニングなどと唾液中の sIgA 濃度や sIgA 分泌速度に関連があることが報告されている[22)～24)]。これまでに，当社は EOD-1株を毎日４週間摂取することで，唾液中の sIgA 濃度の変化率および sIgA 分泌速度が上昇することを報告してきた[11)]。つまり，EOD-1株は，疲労における免疫力の低下を抑制することで，ホメオスタシスに寄与し，疲労を軽減させている可能性が考えられた。

また，前述のとおり，疲労は活性酸素種によって細胞傷害が引起こされることにより起こると考えられている。パラミロンは，マウスにおいて生体内の活性酸素種を処理する還元酵素であるスーパーオキシドジスムターゼやカタラーゼ，グルタチオンペルオキシダーゼの活性を高めることが報告されている[9)]。つまり，EOD-1株由来パラミロンが，生体内の還元酵素の活性を高めることで，細胞の酸化傷害を抑制し，疲労を軽減している可能性が考えられた。

以上より，EOD-1株由来パラミロン350 mg を４週間継続摂取すると，日常生活における身体的疲労感が軽減されることが確認された。また，身体的疲労感が軽減されたことで，活動的になり，歩数や外出時間が増加した可能性が考えられた。

む　す　び

本稿では，疲労について概説するとともに，EOD-1株由来パラミロンの摂取による日常生活における身体的疲労感の軽減効果について紹介した。高齢者や労働者の生活の質向上が求められているなか，機能性表示食品制度導入の後押しもあり，ヘルスケア市場，健康食品市場は年々拡大しており，ユーグレナ，パラミロンの応用面の拡大が期待される。引続き，EOD-1株および EOD-1株由来パラミロンのさらなる健康効果の解明を進め，今後の商品開発につなげていきたい。

［参考文献］

１）北岡正三郎編：ユーグレナ　生理と生化学，学会出版センター（1989）
２）藻類ハンドブック．渡邉　信監修，藻類ハンドブック，株式会社エヌ・ティー・エス（2012）
３）Anraku M et al: Chem Parm Bull, 68, 100-102（2020）
４）赤司　昭，竹﨑　潤，濱田武志，出村幹英，河内正

伸，渡邉　信，2014年度日本農芸化学会大会
5）赤司　昭，他：神鋼環境ソリューション技報，12（1），9-15（2015）
6）大中信輝，他：神鋼環境ソリューション技報，14（2），3-10（2017）
7）大中信輝，他：神鋼環境ソリューション技報，16（1），14-20（2019）
8）Evans M et al: Nutrients, 11（12），2926（2019）
9）Sugiyama A et al: J Vet Med Sci, 71, 885-890（2009）
10）Aoe S et al: Nutrients, 11（7），1674（2019）
11）Ishibashi K et al: Nutrients, 11（5），1144（2019）
12）渡辺恭良，他：おもしろサイエンス「疲労と回復の科学」，日刊工業新聞社（2019）
13）渡辺恭良：医学のあゆみ，228（6），593-597（2009）
14）日本疲労学会：抗疲労臨床評価ガイドライン（日常生活により問題となる疲労に対する抗疲労製品の効果に関する臨床評価ガイドライン），第５版（2011）
15）渡辺恭良：医学のあゆみ，228（6），598-604（2009）
16）渡辺恭良：日生物精医会誌，24（4），200-213（2013）
17）木谷照夫：平成12年度研究業績報告（2001）
https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=200000876A
18）倉常弘彦：平成24年度厚生労働科学研究　障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野）報告書（2013）
https://www.fuksi-kagk-u.ac.jp/guide/efforts/research/kuratsune/h24houkoku.html
19）厚生労働省：平成14年労働者健康状況調査（2003）
https://www.mhlw.go.jp/toukei/itiran/roudou/saigai/anzen/kenkou02/index.html
20）河野高徳，他：薬理と治療，47（11），1851-1859（2019）
21）Nakashima A et al: Biochem Biophys Res Commun, 494（1-2），379-383（2017）
22）新見道夫：香川県保健医療大学雑誌，9，1-8（2018）
23）Phillips CA et al: Brain Behavior, and Immunity, 20, 191-197（2006）
24）Fahlman MM et al: Med Sci Sports Exerc, 37（3），374-380（2005）