

非アルコール性脂肪性肝疾患および正常肝脂肪を有する閉経前肥満女性の体重管理におよぼす Xanthigen™ (ザンシゲン) の効果

M.Abidov,¹ Z.Ramazaonov,² R.Seifulla³ and S.Grachev⁴

¹ Institute of Immunopathology, Russian Academy of Natural Sciences, Moscow, Russia

² National Bioscience Corporation, Chester, NY, USA

³ Russian Center for Professional Sport Education and Training, Russian Academy of Natural Sciences, Moscow, Russia

⁴ Sechenev Medical Academy, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

目的: 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) および正常肝脂肪 (NLF) を有する非糖尿病の閉経前肥満女性ボランティアにおいて Xanthigen (褐色海藻由来のフコキサンチン+ザクロ種子油 [PSO]) が体重、体脂肪、肝臓脂肪および血液生化学におよぼす作用、ならびに Xanthigen とその個々の構成成分が安静時エネルギー消費量 (REE) におよぼす作用を調査すること。

方法: 16 週間二重盲検無作為化プラセボ対照試験。食品記録データ、身体組成、REE (NAFLD のボランティア 41 名のみ) および血液サンプル分析を、肝脂肪量 11%以上 (NAFLD) n=113 と 6.5%以下 (NLF) n=38 の非糖尿病かつ閉経前の肥満女性 151 名を対象として 16 週間にわたり 1 週間に 1 回評価した。

結果: Xanthigen-600/2.4 mg (300 mg PSO + 2.4 mg フコキサンチン含有 300 mg 褐色海藻抽出物) により、次の値が統計学的に有意に減少した。すなわち、体重 (NAFLD 群 5.5 ± 1.4 kg、NLF 群 4.9 ± 1.2 kg、 $p < 0.05$)、胴囲 (NAFLD 群のみ)、体脂肪量 (NAFLD 群 3.5 ± 1.9 kg、 $p < 0.001$; NLF 群 3.6 ± 0.7 kg、 $p < 0.05$)、肝脂肪量、肝酵素 (NAFLD 群のみ)、血清トリグリセリド、および C 反応性タンパク質。体重減少、体脂肪量、肝脂肪量の減少は、NAFLD 患者よりも NLF 患者の方で早期に観察された。フコキサンチン (> 2.4 mg) と Xanthigen-400/1.6 mg (200 mg PSO + 1.6 mg フコキサンチン含有 200 mg 褐色海藻抽出物) はプラセボに比して NAFLD 被験者の REE を有意に増加させた。

結論: Xanthigen は非糖尿病の肥満女性の減量を促進し、体脂肪量と肝脂肪量を減量させ、肝機能検査値を改善した。Xanthigen とフコキサンチンは REE も増加させた。本製品は肥満の管理における有望な栄養補助食品であると考えられる。

キーワード: フコキサンチン、肝脂肪、ザクロ種子オイル、安静時エネルギー消費量 (REE)、トリグリセリド、体重減少

Received 1 May 2009; returned for revision 06 July 2009; revised version accepted 15 July 2009, published 13 October 2009

はじめに

過体重や肥満の人には肝臓と血清中のトリグリセリド (TG) の上昇がみられることが多く、この上昇が非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)、インスリン抵抗性、メタボリックシンドロームおよび最終的に燃料性の脂肪症 (fuel adiposity) の発現と肥満の一因となる[1-3]。肝酵素および慢性的炎症の指標 (血清 C 反応性タンパク質 [CRP] 値など) も NAFLD 状態では上昇する傾向がある[4]。1980 年に Ludwig が初めて使用した NAFLD という用語は TG 蓄積を示し、アルコール性肝臓疾患に似ているが、アルコール摂取がごくわずかな人でも発症する[5]。西洋諸国の一般母集団における NAFLD 有病率は 9%である[6]。しかし、肥満の人の NAFLD 有病率は 23%~31%である[7]。本症状の有病率が男性よりも女性で高いことから、性別は NAFLD 発症において重要な役割を果たしている。NAFLD は慢性肝臓疾患の主要な形態の一つであり、メタボリックシンドロームの肝臓要素の背景にある最もよくみられる異常として認識されている[8]。肝臓脂肪蓄積の程度は、肥満被験者・非肥満被験者ともに内臓脂肪量およびインスリン抵抗性と明確に関連している。このことから、肥満度指数 (BMI) に関わらず、NAFLD での肝臓脂肪浸潤は内臓脂肪蓄積の影響を受ける可能性があることが示唆されている[9]。

減量は NAFLD の改善と関連していることが多い[10]。したがって、効果的な体重管理プログラムでも、身体組成、肝脂肪量および肝機能検査値の改善の他に、より健康的な脂質血液プロファイルならびに炎症の生物学的マーカー値の低下を標的としているはずである。

本試験の目的は、標準的な植物由来の栄養補助食品 Xanthigen および各構成成分を使用して 16 週間の体重管理プログラムの安全性と有効性を評価することであった。Xanthigen の構成成分はフコキサンチンを含有する褐色海藻抽出物とザクロ種子油 (PSO) 由来のブニカ酸 (PA) である。

フコキサンチンは食用褐色海藻の主要なカロテノイドである[11]。また、褐色海藻は、 ω -3 18:3- α -リノレン酸および ω -3 20:5 エイコサペンタエン酸などの n-3 脂肪酸にも富んでいる[12]。フコキサンチンの減量特性が次のいくつかのメカニズムを介するものであることが動物実験で明らかにされている。

- ミトコンドリア脱共役タンパク質 1 (UCP1) の誘導[13]。このタンパク質が細胞代謝のある段階を脱共役することにより安静時エネルギー消費量 (REE) を増大させる[14]。フコキサンチンは白色脂肪組織 (WAT) 中の UCP1 遺伝子の発現をアップレギュレートして、WAT の減少と KK-Ay マウスの有意な体重減少に寄与している[15]。

Correspondence:

Musa Abidov, MD, Professor of Medicine, Institute of Immunopathology, Russian Academy of Natural Sciences, Moscow 121351, Russia.

E-mail:

abidovmusa@gmail.com

- グリセロール 3 リン酸脱水素酵素活性の阻害による脂肪細胞分化および脂質蓄積の抑制。グリセロール 3 リン酸脱水素酵素ノックアウト動物はマッチングさせた対照群と比較して BMI が低く、WAT 量が 40% 減少し、空腹時血糖値が低いことが判明している[16]。
- 脂質産生遺伝子発現に関するペロキシソーム増殖剤応答性受容体 γ (PPAR γ) のダウンレギュレーション[16]。

Xanthigen は、ラットでの TG 低下作用が認識されている褐色海藻由来の ω -3 脂肪酸の供給源でもある[12]。 ω -3 脂肪酸を補助的に投与すると中等度上昇した血清 TG が正常化することが明らかにされている[17]。

PA は 9-cis、11-trans 共役リノレン酸 (9c、11t、13c-CLNA) であり、PSO の主要な構成成分 (>70%) である[18]。PA 投与による TG 低下特性および抗肥満特性も報告されている [19,20]。ラットでは、5%PA を含有する実験的食事療法を用いて対照群と比較した際に WAT の有意な(27%) 減少が認められた[19]。In vitro のヒト肝細胞中において、PA が TG ならびに低比重リポタンパク質であるアポリポタンパク B100 の産生と分泌を抑制することも明らかにされた[20]。

本 16 週間無作為化プラセボ対照臨床試験の目的は、NAFLD と診断された、もしくは正常肝脂肪 (NLF) を有する非糖尿病かつ閉経前の肥満女性を対象として、フコキサンチン、PSO、およびその合剤 (Xanthigen™) の経口投与の作用を調査することであった。NAFLD の女性ボランティアからなるサブグループを選択し、本試験の活性化化合物に由来する REE への可能性としての作用を評価した。これは身体活動によるエネルギー消費量の増加が同疾患の治療に重要な役割を果たすためである。

材料と方法

患者

本試験の被験者集団は、ロシアの National Academy of Natural Sciences (国立自然科学アカデミー) を介して募集した NAFLD および非 NAFLD の非糖尿病かつ閉経前の肥満女性であった。合計 151 名のボランティアが体重管理および REE 試験への参加に同意した。その内訳は NAFLD ボランティア 113 名と NLF ボランティア 38 名であった。非糖尿病かつ閉経前の肥満女性参加者の NAFLD 集団 113 名と NLF 集団 38 名のうち 72 名(n=72) が、二重盲検プラセボ対照無作為化試験への参加に同意した。本試験では主要有効性評価項目として体重、体脂肪量と肝脂肪量、血液生化学検査値を使用した。両集団に共通する選択基準は BMI >30 kg/m² であった。

NAFLD 集団の被験者を、単純無作為化法を用いて同数ずつ Xanthigen-NAFLD (n=36) 群とプラセボ-NAFLD (n=36) 群に割り付けた。NFL 集団の参加者も同様の方法を用いて同数ずつ Xanthigen-NLF (n=19) 群とプラセボ-NLF (n=19) 群に割り付けた。

最初の NAFLD 群 113 名に属し、NAFLD の診断を受けた非糖尿病の肥満女性参加者の別の群 (n=41) を、REE の測定を主要目的とした二重盲検プラセボ対照試験に登録した。

NAFLD 集団の選択基準は、肝脂肪量 11%以上、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 42 U/l 以上、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 46 U/l 以上、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) 44 U/l 以上、および CRP 6.0 mg/L 以上であった。NLF 集団の主な選択基準は肝脂肪量 6.5%以下であった。

妊娠検査陽性もしくは糖尿病の女性は、全群で本試験から除外した。後者の除外基準は「空腹時グルコースが 100 mg/dL 超」および「標準的な 75 g 経口ブドウ糖負荷試験の結果が異常」であった[21]。血清学検査で B 型または C 型肝炎陰性の女性を本試験の対象とした。脂肪代謝に影響することが既知である薬剤を服用している女性もしくは過度のアルコール摂取

(毎日のアルコール摂取量が推奨量を超えており、肝機能検査に影響する可能性がある) の既往歴を有する女性は、本試験から除外した。登録時に、血液を採取しアルコール摂取のマーカーである血清脱シアル化トランスフェリンの有無を検査し[22]、脱シアル化トランスフェリンの検査結果が陽性の被験者は本試験から除外した。コンプライアンスを確実にするために、同試験は試験期間を通じて毎週繰り返した。

安静時エネルギー消費量 (REE) の試験(n=41)は、単純無作為化法を用いて、右記のように 11 群に割り付けた。: プラセボ (n=3)、Xanthigen-200/0.8mg (100mg PSO + 0.8mg フコキサンチン含有 100mg 褐色海藻抽出物、n=3)、Xanthigen-400/1.6mg (200mg PSO + 1.6mg フコキサンチン含有 200mg 褐色海藻抽出物、n=3)、Xanthigen-600/2.4mg (300mg PSO + 2.4mg フコキサンチン含有 300mg 褐色海藻抽出物、n=4)、Xanthigen-1000/3.6mg (500mg PSO + 4.0mg フコキサンチン含有 500mg 褐色海藻抽出物、n=4)、フコキサンチン-1.6mg (n=4)、フコキサンチン-2.4mg (n=4)、フコキサンチン-4.0mg (n=4)、フコキサンチン-8.0mg (n=4)、PSO-1500mg (n=4)、PSO-2000mg (n=4) (表 2)

被験者 1 日の食事摂取量は 1800 kcal に制限し、食事の組成は炭水化物 50%、タンパク質 30%、脂肪 20%であった。食品と飲料の全ては、朝食、昼食、夕食それぞれに B、L、D のラベルを貼り付けて提供された。また、被験者には提供された食品と飲料のみを摂取し、食物摂取量を毎日記録するように指示した。

参加者にはプラセボ、PSO、フコキサンチンもしくは Xanthigen の指定摂取量を、16 週間にわたり 1 日 3 回食事前 15~30 分に服用するように指示し、人体測定学的、生理学的および生化学的分析のために 1 週間に 3 回来院するように求めた。

倫理に関する陳述

本試験中に、ヒトボランティアの道徳的な採用に関する関連の組織規制および政府規制の全てに準拠していたことを、著者らは証明する。治験実施計画書の最終版は試験開始前に地元の倫理委員会の承認を受けた。被験者は口頭および書面により試験デザインの説明を受け、参加のための同意書を提出した。本試験はヘルシンキ宣言 2000 年版に従って実施された。

総合的な体重および体脂肪分析

人体測定学、体重、体脂肪量および肝脂肪量を、登録時および試験期間を通じてその後 1 週間に 1 回評価した。身長は 0.5 cm 間隔、体重は薄着の被験者で 25 g 間隔、体周囲は 0.5 cm 間隔で測定した。二重エネルギー X 線吸収測定法 (Lunar Radiation、米国ウィスコンシン州マディソン) を使用して全身スキャンを実施した[23]。除脂肪量および脂肪量を、4-コンパートメントモデルを使用して試験で作成した方程式から算出した[24]。

肝脂肪量の分析

医師が NAFLD/NLF の参加者に対して、従来の方法に従って、3.5-MHz 線形変換器付きの Acuson 128-XP/10 スキャナーを使用した肝臓の磁気超音波検査 (magnetic hepatic ultrasound scanning) を実施しスクリーニングを行った[25]。肝脂肪量の定量には画像誘導陽子磁気共鳴分光法を使用した。肝脂肪率は S_{fat} を S_{fat} と S_{water} の合計値で除し、得られた値を 100 倍して算出した[25]。

(表1) 非糖尿病肥満の非アルコール性脂肪性肝疾患および正常肝脂肪を有する女性ボランティアによる、臨床前及び臨床後の特性

特性	臨床前		臨床後		臨床前		臨床後	
	ブラセボ (n=36)	Xanthigen 非アルコール性脂肪肝 (n=36)	ブラセボ (n=36)	Xanthigen 非アルコール性脂肪肝 (n=36)	ブラセボ (n=19)	Xanthigen 正常肝脂肪 (n=19)	ブラセボ (n=19)	Xanthigen 正常肝脂肪 (n=19)
年齢	37.4 ± 2.8	36.1 ± 2.1	34.7 ± 3.5	35.7 ± 3.2				
体重 (Kg)	93.5 ± 2.4	94.1 ± 2.1	93.9 ± 1.4	94.5 ± 2.1	92.5 ± 1.5	88.2 ± 1.9 †		
体脂肪 (Kg)	42.1 ± 1.7	42.3 ± 2.2	42.7 ± 2.4	43.3 ± 2.9	41.1 ± 2.9	38.1 ± 2.9 †		
脂肪肝 (%)	15.1 ± 3.7	15.3 ± 4.1	5.3 ± 1.1	5.1 ± 1.5	4.6 ± 1.4	3.4 ± 1.8 †		
ウエスト(cm)	109.2 ± 1.4	110.6 ± 1.6	102.2 ± 1.4	103.1 ± 1.7 †	100.5 ± 1.6	98.7 ± 2.1 §		
トリグリセリド (mg/dl)	191 ± 15	195 ± 19	174 ± 12	177 ± 12	168 ± 11	155 ± 14 §		
ALT (U/l)	51 ± 9	48 ± 7	31 ± 9 †	33 ± 7 †	28 ± 6	26 ± 7 §		
AST (U/l)	53 ± 7	51 ± 5	33 ± 7 †	38 ± 5 †	29 ± 6	29 ± 2 §		
GGT (U/l)	49 ± 5	47 ± 7	29 ± 3 †	27 ± 3 †	26 ± 2	21 ± 3 §		
CRP (mg/l)	6.3 ± 2.1	6.2 ± 2.4	5.4 ± 2.4	5.4 ± 2.6	5.1 ± 2.1	3.9 ± 1.8 †		
収縮期血圧 (mmHg)	136 ± 5	138 ± 6	126 ± 7	128 ± 6	128 ± 4	112 ± 6 †		
拡張期血圧 (mmHg)	88 ± 2	91 ± 4	92 ± 4	93 ± 2	89 ± 4	77 ± 3 †		

* : p < 0.001 ブラセボ比較

† : p < 0.05 ブラセボ比較

‡ : p < 0.05 他集団とのベースライン比較

§ : p = NS ブラセボ比較

安静時エネルギー消費量の測定

REEの測定はこれまでに説明されているように間接熱量測定法を用いて実施した[26]。酸素は電気化学的酸素センサーを使用して測定し、二酸化炭素は赤外線二酸化炭素センサー（Ametec Carbon Dioxide Analyzer、米国ペンシルベニア州ピッツバーグ）を使用して測定した。測定前には毎回O₂とCO₂の混合ガスにより機器のキャリブレーションを行った。酸素消費速度（VO₂）と二酸化炭素産生（VCO₂）を算出し、1分間隔でプリントアウトした。エネルギー消費量は別項に記載の方程式を用いてVO₂とVCO₂から得た[27]。毎週反復されるREEの変動係数により信頼性の評価を実施した。拡張期および収縮期血圧はこれまでに説明された方法に従って分析した[28]。

血液サンプル採取と分析

EDTAナトリウム（1g/L）添加チューブに静脈血サンプルを採取した。血液サンプルは、16週間の試験期間中に1週間に1回朝に採取した。血漿サンプルは、血液採取から1時間以内に4°C、600g、15分の遠心分離で調製した。遠心分離を行なうまで血液サンプルは暗所で冷蔵保存した。血漿サンプルは直ちに一定分量に分割し、アルゴン下-70°Cで保存した。

血清ALT、ASTおよびGGT酵素値を登録時および試験期間を通じて1週間に1回評価した。静脈血は、一晩絶食後の朝に採取した。血清中のAST、ALTおよびGGT酵素値は、これまでに記載された方法を使用して分析した[29]。CRPは、ベルオキシダーゼ標識ウサギ抗ヒトCRP抗体（DK2600、デンマーク、Glostrup、Dako）およびポリクローナル抗CRP捕捉抗体（polyclonal anti-CRP capture antibody）を使用した高感度2部位酵素結合免疫測定法で測定した。CRP標準血清をキャリブレーション用に使用した。本検定の作業領域での検出限界は、すでに説明されているように0.1mg/Lで確定されている[30]。血清TG値はBucoloの方法（1973年）を使用して判定した。

栄養補助食品類

本臨床試験では、フコキサンチン0.8mgを含有する褐色海藻抽出物Xanthigenを100mgと70%以上のブニカ酸（PA）を含有する100mgのザクロ種子油が懸濁したものをを用いている。フコキサンチンのソフトゲルカプセルは、オリーブ油（100mg）に懸濁させた、同じくフコキサンチン0.8mgを含有する褐色海藻抽出物（100mg）を用いて製造した。プラセボとPSOのカプセルは、それぞれ200mgのオリーブ油とPSOを用いた。摂取群間での栄養補助食品類の外観および感触の同一性を維持するために、ソフトゲルカプセルは全て青色のゼラチンを使用して作成した。フコキサンチン0.8%以上を含有する褐色海藻抽出物、PSOおよび一番絞りのオリーブ油は、スペインのPolifenoles Naturales, S.L.社（POLINAT）から供給された。ソフトゲル栄養補助食品は全て、ロシア、モスクワのRussian National Center for Professional Sport Performance and Educationが製造している。

統計

データは平均値±SEとして表す。REEに対する栄養補助食品の作用は、測定を3回繰り返して解析した。ベースライン時点での摂取群間の差は1元配置分散分析（Super ANOVA、Abacus Concepts社）により判定した。p<0.05で、統計学的に有意差ありと判断した。各摂取群とプラセボ群との間の差も全てP<0.05であり、統計学的に有意であると判断した。

結果

人口統計とベースライン特性

合計151名の非糖尿病かつ閉経前の肥満女性を募集し、113名がNAFLD基準を満たした。この集団のボランティアの平均年齢は36.7±2.5歳、平均体重は93.8±2.2kg、体脂肪量は42.2±1.9kg、および血漿TGは193±17mg/dLであった。38名の女性の肝脂肪量は6.5%以下であった。この集団のボランティアの平均年齢は35.2±3.2歳、平均体重は94.2±1.8kg、体脂肪量は43.0±1.7kg、および血漿TGは176±12mg/dLであった。NAFLD女性72名とNLF女性38名が、体重、体脂肪量および肝脂肪量に対する作用を評価する二重盲検プラセボ対照無作為化試験への参加に同意した。体重は92~96kgであり、年齢は36±12歳であった。NAFLD群の残りの女性（n=41）は、REEの測定を主要目的とする二重盲検プラセボ対照試験への参加に同意した。彼女らの平均体重は91.5±4.4kgであり、平均体脂肪量は40.4±3.7kgであった。血漿ALT、AST、GGT酵素値およびGRP値は加入基準として評価した。本試験参加被験者のALT、AST、GGT酵素の血清濃度範囲、血清CRP、および拡張期/収縮期血圧測定値を表1に要約する。

安全性

Xanthigen、フコキサンチン、PSOおよびプラセボ（オリーブ油）は、16週間の臨床試験を完了した試験参加者全員において良好な忍容性を示した。また、主観的/客観的副作用の報告はなかった。

体重に対するXanthigenの効果

臨床試験の開始時において、Xanthigen-600/2.4mgとプラセボ群の集団および集団間で体重と体脂肪の明らかな違いはなかった。（表1）試験開始5週目までの間、プラセボ（図1a,b）と比べて明らかな体重差は見られなかった。統計学的に有意に体重減少が表れたのは、試験開始より、6週~8週目のXanthigen-NLF（図1b）とXanthigen-NAFLD（図1a）で見られた。

NLFとNAFLD群に於いて、試験完了時（16週間）には十分な体重減少が見られた。Xanthigen-NAFLD群は、平均6.9±1.9kgの体重減少となり、94.1±2.1kgから87.2±3.7kgに減少した（p<0.05、ベースライン比較）。プラセボ群に於いては、平均1.4±0.7kgの体重減少となり、93.5±2.4kgから92.1±2.8kgに減少した（p=NS、ベースライン比較）。ボランティアのXanthigen-NAFLD群は、プラセボ群（p<0.05）に比べて、5.5±1.4kg（12.1lb）の体重減少が見られた。（図1）

試験完了時、ボランティアのXanthigen-NLF群の体重は、94.5±2.1kgから88.2±1.9kg（p<0.05）に減少し、プラセボ群の体重は、93.9±1.4kgで、試験スタート時は92.5±1.5kgであった（p=NS）。Xanthigen-NLF群の参加者は、プラセボ-NLF群（p<0.05）に比べて、4.9±1.2kg（10.8lb）減少した。試験完了時、Xanthigen-NAFLDとXanthigen-NLF群間において、統計学的に有意な体重減少差は表れなかった。（図1）

体脂肪と肝脂肪に対するXanthigenの効果

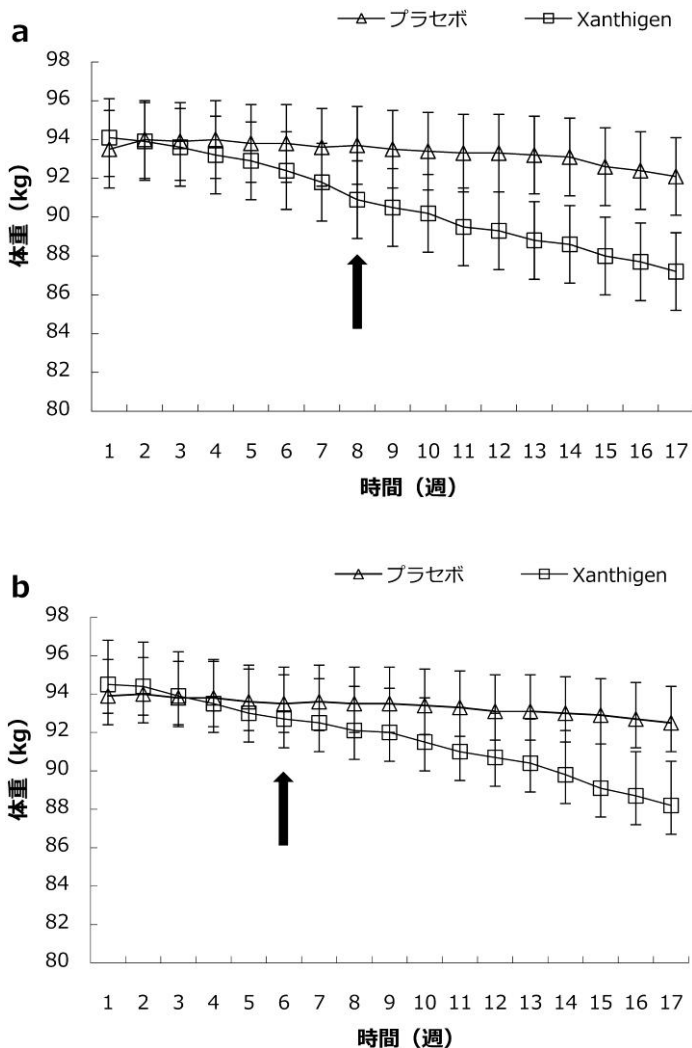
体重減少による、体脂肪減少との相互関係を示す。試験完了時、Xanthigen-NAFLD群において、体脂肪は42.3±2.2kgから37.9±2.9kgに減少した（p<0.001、プラセボ比較）。プラセボ群の体脂肪は、試験開始時から（42.1±1.7kg）試験完了時（41.2±2.3kg（p=NS））で変化がなかった。Xanthigen-NAFLD群は、プラセボ群よりも3.5±1.9kg（7.72lb）

体脂肪が減少した。

Xanthigen-NLF 群の体脂肪は、試験開始時 43.3±2.9kg から試験完了時 38.1±3.2kg に減少した (p<0.05)。プラセボ群の体脂肪は、試験開始時 42.7±2.4kg、試験完了時 41.1±2.9kg (p=NS) で変化が無かった。Xanthigen-NLF 群は、プラセボ群よりも 3.6±0.7kg (7.94lb) 体脂肪が減少した。試験完了時、Xanthigen-NAFLD と Xanthigen-NLF 群間において、統計学的に有意な体脂肪減少差は表れなかった。

Xanthigen-600/2.4mg (300mg PSO + 2.4mg フコキサンチン含有 300mg 褐色海藻抽出物) 摂取した、Xanthigen-NAFLD は 8 週目まで、また、Xanthigen-NLF は 6 週目まで、肝脂肪に対する効果は表れなかった。試験完了時、Xanthigen-NAFLD 群における肝脂肪は、15.3±4.1%から 9.4±3.1% (p<0.001、プラセボ比較) に減少した。プラセボ群の肝脂肪は、試験開始時 (15.7±3.7%)、試験完了時 (14.2±3.8% ; p=NS) と横ばいであった。(図 2)

Xanthigen-NLF 群の肝脂肪は、5.1±1.5%から 3.4±1.8%に減少した。 ; プラセボ群の肝脂肪は、変化無しであった (5.3±1.1%から 4.6±1.4% ; p=NS)。試験完了時、Xanthigen-NLF 群の肝脂肪は、プラセボ群と比べて統計学的に有意に表れた (p<0.05)。

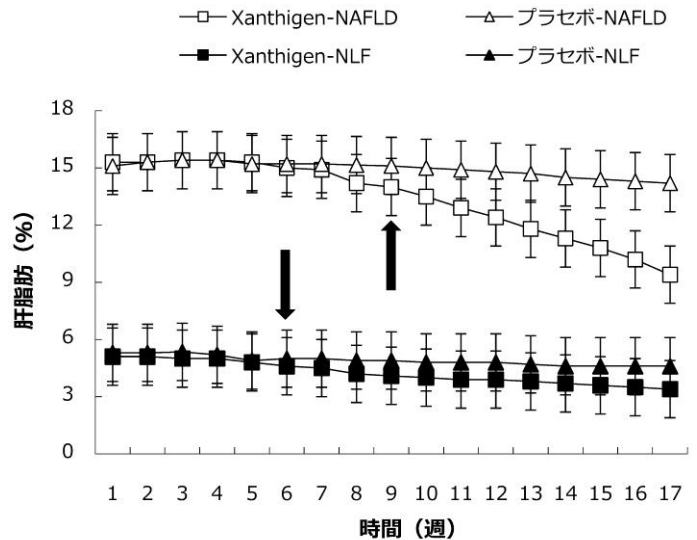


(図1) 体重に対する、NAFLD (a) 及び NLF (b) 群における Xanthigen™ の効果。矢印が示すのは、Xanthigen (□) とプラセボ (△) との統計学的に有意な差が表れた時間 (週) を指している。

胴囲に対する Xanthigen の効果

Xanthigen-NAFLD 群において、試験完了時、胴囲は 110.6±1.6cm から 105.0±5.6cm (p<0.05、プラセボ比較) ; プラセボ群の胴囲は、109.2±1.4cm から 107.5±1.5cm (p=NS) で保たれていた。

Xanthigen-NLF 群においては、胴囲に対して強い痩身効果が表れ、103.1±1.7cm から 98.7±2.1cm に減少した (p=NS) ; プラセボ群の胴囲は、102.2±1.4cm から 100.5±1.6cm に変化した (p=NS)。(表 1)



(図2) 肝脂肪に対する、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) 及び正常肝脂肪 (NLF) における Xanthigen™ の効果。矢印が示すのは、Xanthigen (□■) とプラセボ (p<0.05) (△▲) において統計学的に有意な差が表れた時間 (週) を指している。

血清トリグリセリドに対する Xanthigen の効果

Xanthigen-600/2.4mg は、NAFLD と NLF 肥満対象者に対して体重減少と体脂肪減少を誘発させ、血清トリグリセリド (TG) 値も変化させた。(表 1) 試験完了時の Xanthigen-NAFLD 群の TG 値は、195±19mg/dl から 158±21mg/dl に減少した (p<0.05、プラセボ比較) ; プラセボ群の TG 値は、191±15mg/dl から 180±17mg/dl に変化した (p=NS)。Xanthigen-NLF 群の TG 値は、177±12mg/dl から 155±14mg/dl に減少した (p=NS、プラセボ比較) ; プラセボ群の TG 値は、174±12mg/dl から 168mg/dl に変化した (p=NS)。

血漿アミノ基転移酵素値に対する Xanthigen の効果

Xanthigen-600/2.4mg 摂取の NAFLD 肥満対象において、血漿 ALT、AST、GGT 酵素が有意に減少した。(表 1) Xanthigen-NAFLD 群の ALT 値は、48±7U/l から 26±7U/l に減少し、AST 値は 51±5U/l から 29±6U/l に低下、GGT 値は 47±4U/l から 31±5U/l に減少した。これらの数値は、プラセボ群と比較しても明らかに異なっていた (p<0.05)。これらの酵素レベルは、試験完了後も 2 週間、正常範囲内で持続が見られた(データ非公開)。NLF 集団における血漿アミノ基転移酵素の基準値は、NAFLD 集団に比べて統計的に余り有意差は見られなかった。(表 1) 試験完了時、AST、ALT、GGT 酵素は、Xanthigen-NLF 群では、統計学的に有意差は得られなかった。

血漿 C 反応性タンパク (CRP) に対する Xanthigen の効果

Xanthigen-NAFLD 群では、血漿 CRP 濃度が、6.2±2.4mg/l から 3.64±

2.2mg/l に減少した (p<0.05、プラセボ比較)。Xanthigen-NLF 群では、血漿 CRP 濃度が、5.4±2.6mg/l から、試験完了時には 3.9±1.8mg/l に減少した (p<0.05)。(表 1)

血圧に対する Xanthigen の効果

Xanthigen-NAFLD 群では、収縮期の血圧が 138±6mmHg から 119±6mmHg に下がり、拡張期の血圧は 91±4mmHg から 79±3mmHg に下がった。収縮期および拡張期の血圧の変化は、プラセボ群 (p<0.05) に比べて統計学的に有意差が見られた。(表 1)

Xanthigen-NLF 群では、収縮期の血圧が 128±6mmHg から 112±6mmHg に下がり、拡張期の血圧は 93±2mmHg から 77±3mmHg に下がった。収縮期および拡張期の血圧の変化は、プラセボ群 (p<0.05) に比べて統計学的に有意差が見られた。(表 1)

安静時エネルギー消費量に対する Xanthigen とザクロ種子油の効果

試験開始後 2 週間、どのグループ(計 41 名に対して、計 11 群に分けられ、3 名ずつのボランティアが 3 群、4 名ずつのボランティアが 8 群で構成される)にも変化は見られなかった。PSO (ザクロ種子油)、オリーブ油、Xanthigen-200/0.8mg (100mg PSO + 0.8mg フコキサンチン含有 100mg 褐色海藻抽出物、n=3) 摂取のいずれもが、REE に対してベースライン (p=NS) とプラセボ群 (p=NS) とを比べても、試験期間中に、有意な差は見られなかった。

Xanthigen-400/1.6mg (200mg PSO + 1.6mg フコキサンチン含有

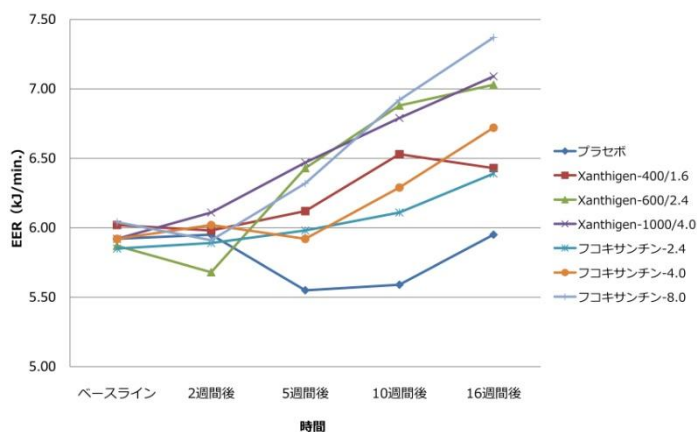
200mg 褐色海藻抽出物、n=3) 摂取は、REE に対して試験完了時点で統計学的に有意差が見られた。この群では、REE が 6.02±0.17kJ/min.から 6.43±0.22kJ/min.上昇し (p<0.05)、16 週目では、プラセボ群と比べて 591±210kJ/24 時間上昇した (p<0.05)。

Xanthigen-600/2.4mg (300mg PSO + 2.4mg フコキサンチン含有 300mg 褐色海藻抽出物、n=4) および、Xanthigen-1000/3.6mg (500mg PSO + 4.0mg フコキサンチン含有 500mg 褐色海藻抽出物、n=4) の 1 日摂取群では、摂取後たった 5 週間で REE の上昇を記録した。(表 2) それぞれ、Xanthigen-600/2.4mg は、5.87±0.30kJ/min.から 6.43±0.43kJ/min.、Xanthigen-1000/4.0mg は、5.92±0.12kJ/min.から 6.47±0.33kJ/min.という結果が 5 週間で得られ、ベースライン (p<0.05) とプラセボ群 (p<0.05) と比べて統計学的に有意差が見られた。試験完了 16 週目では、Xanthigen-600/2.4mg の REE は、5.87±0.30kJ/min.から 7.03±0.33kJ/min.に上昇し (p<0.05)、プラセボ群と比較した最終増加量は、1612±317kJ/24 時間であった (p<0.05)。Xanthigen-1000/4mg の REE は、5.92±0.12kJ から 7.09±0.28kJ に上昇し、プラセボ群と比較した 16 週目の最終増加量は、1628±290kJ であった (p<0.05)。これら異なる 2 群においては(Xanthigen-600/2.4mg と Xanthigen-1000/4mg)、統計学的に有意差は見られなかった。

(表2) 非アルコール性脂肪性肝疾患を有す非糖尿病肥満女性ボランティアに対する、Xanthigen、フコキサンチン、ザクロ種子油、オリーブ油の安静時エネルギー消費の効果

摂取量/日	ベースライン	2週間後	5週間後	10週間後	16週間後	総EE/kJ/24時間; ベースライン比較	p値 プラセボ比較 (16週目)
プラセボ 600mg、n=3 オリーブ油	5.91 ± 0.32	5.95 ± 0.26	5.55 ± 0.24	5.59 ± 0.32	5.95 ± 0.19	8510 - 8568, Net 58±40, p<NS	-
Xanthigen-200/0.8mg、n=3 PSO 100mg + BSE 100mg (フコキサンチン0.8mg含)	5.72 ± 0.22	5.54 ± 0.32	5.59 ± 0.29	5.67 ± 0.36	5.88 ± 0.31	8237 - 8467, Net 230±125, p<NS	p=NS
Xanthigen-400/1.6mg、n=3 PSO 200mg + BSE 200mg (フコキサンチン1.6mg含)	6.02 ± 0.17	5.98 ± 0.29	6.12 ± 0.31	6.53 ± 0.15	6.43 ± 0.22	8668 - 9259, Net 591±210, p<0.05	p<0.05
Xanthigen-600/2.4mg、n=4 PSO 300mg + BSE 300mg (フコキサンチン2.4mg含)	5.87 ± 0.30	5.68 ± 0.52	6.43 ± 0.43	6.88 ± 0.27	7.03 ± 0.33	8453 - 10123, Net 1670±310, p<0.05	p<0.05
Xanthigen-1000/4.0mg、n=4 PSO 500mg + BSE 500mg (フコキサンチン4.0mg含)	5.92 ± 0.12	6.11 ± 0.30	6.47 ± 0.33	6.79 ± 0.21	7.09 ± 0.28	8524 - 10210, Net 1686±290, p<0.05	p<0.05
フコキサンチン-1.6mg、n=4	5.82 ± 0.18	5.69 ± 0.21	5.93 ± 0.15	5.69 ± 0.21	5.98 ± 0.18	8381 - 8611, Net 230±147, p<NS	p=NS
フコキサンチン-2.4mg、n=4	5.85 ± 0.27	5.89 ± 0.14	5.98 ± 0.17	6.11 ± 0.21	6.39 ± 0.17	8424 - 9202, Net 778±260, p<0.05	p<0.05
フコキサンチン-4mg、n=4	5.92 ± 0.16	6.02 ± 0.23	5.92 ± 0.27	6.29 ± 0.31	6.72 ± 0.22	8525 - 9677, Net 1152±290, p<0.05	p<0.05
フコキサンチン-8mg、n=4	6.04 ± 0.24	5.91 ± 0.31	6.32 ± 0.22	6.92 ± 0.31	7.37 ± 0.35	8698 - 10613, Net 1915±246, p<0.001	p<0.001
ザクロ種子油-1500mg、n=4	6.01 ± 0.19	5.89 ± 0.32	5.92 ± 0.27	6.02 ± 0.19	6.12 ± 0.24	8654 - 8813, Net 159±65, p<NS	p=NS
ザクロ種子油-2000mg、n=4	5.95 ± 0.24	6.00 ± 0.30	6.10 ± 0.26	6.02 ± 0.25	6.07 ± 0.19	8568 - 8741, Net 173±92, p<NS	p=NS

PSO = ザクロ種子油
BSE = 褐色海藻抽出物



(図3) 試験期間(ベースラインから16週間)におけるREEに対する、Xanthigen™と其々の成分の効果。グラフには、プラセボ群と比べて統計学的に有意差がでた物だけを表している。Y軸は、5.00 - 7.50 kJ/min.を表す。その他詳細に関しては、(表2)を参照。

フコキサンチン単体の用量反応として、1日摂取フコキサンチン 1.6mg (n=4)は、REEは試験を通して、統計学的有意差は見られなかった。2.4mg (n=4)にしたフコキサンチン単体で僅かな効果を確認し、結果として、REEは5.85±0.27kJから6.39±0.17kJ/min.上昇した(p<0.05)。16週間、フコキサンチンを4.0mg/日(n=4)摂取したREEは、5.92±0.16から6.72±0.22kJ/min.上昇を表した(p<0.05)。この群の最終増加量は、ベースラインと比べて1152±290kJ/24時間上昇し、プラセボ群と比べて1100±295kJ/24時間上昇した(p<0.05)。フコキサンチン単体として、もっともREEの有意差が大きかったのは、8.0mg群(n=4)であると確認した。REEは、6.04±0.24kJ/min.から7.37±0.35kJ/min.上昇し(p<0.001)、最終増加量は、ベースラインと比べて1915±246kJ/24時間上昇し、プラセボ群と比べて1857±260kJ/24時間上昇した(p<0.001)。フコキサンチン4.0mg群(p<0.05)に比べて、フコキサンチン8.0mgの方が、REEにおいて統計学的に有意差が表れた。結果は、表2と図3に纏める。

考察

Xanthigen-600/2.4 mg試験の結果が示唆するところでは、本剤(300 mg PSO + 2.4 mgのフコキサンチンを含む300 mg褐色海藻抽出物)およびその個々の構成成分には、非糖尿病、肥満女性ボランティアの体重、体脂肪および肝脂肪量を減少させる点で臨床的に重要な抗肥満特性がある。Xanthigen-600/2.4 mgは、NAFLDと診断された参加被験者の肝脂肪量低減に特に有効であった。この作用が肝脂肪量に対するXanthigen-600/2.4 mgの直接作用により仲介されているのか、もしくは体重減少を促進させることにより仲介されているのかどうかは判定できなかった。興味深いことには、NLF(正常肝脂肪)量の肥満被験者では、Xanthigen-600/2.4 mg補給が、肝脂肪量が高値の被験者よりも有意に早期に奏効している。しかし、試験終了時点ではXanthigen-NAFLD群とXanthigen-NLF群との間で体重および脂肪量のいずれに関しても統計的有意差はなかった。特に、両群(NAFLD群とNLF群)は統合せずに個別に解析した。両群の代謝特性(肝酵素とTG値)が異なっているために、我々はこの方法により結果の解析を行なうこととした。結果的に、統計的に有意な結果が検出されたため、併合解析を行なう必要はなくなった。TGの肝臓蓄積と体幹部脂肪は密接に関連した所見である[31]。Xanthigenは、体幹部脂肪と正の相関性を有するCRPなどの炎症指標の正常化に関連すると考えられる[32]。本試験では、この正常化はXanthigen誘発性の減

量に関連するものと考えられる。

XanthigenのTG低下、抗炎症および体重促進メカニズムは、その構成成分の個々の作用に基づくものと考えられる。すなわち、0.8%フコキサンチン標準化褐色海藻抽出物、海藻性 ω -3脂肪酸および70%PA含有PSOである。

文献記載のデータによると、食用PSOは血清TG値を有意に低下させることが示唆されている[19, 20]。ザクロの実由来のPAが δ -9デサチュラーゼ(脂肪代謝酵素)を抑制することは明らかにされており、これは肝臓でのTG蓄積を低下させるPSOの作用を説明するメカニズムと考えられる[19, 20]。 ω -3脂肪酸が肝臓脂肪酸の β -酸化を促進させることが報告されていることから、褐色海藻性 ω -3脂肪酸は血清および肝臓中のTG濃度を低下させるもう一つのメカニズムとも考えられる[33]。フコキサンチンと ω -3脂肪酸の同時摂取により、この脂質低下メカニズムはさらに促進されるものと考えられ、このことにより肝臓中の食事性 ω -3脂肪酸量が増加し得る[34]。

NAFLD肥満患者では、通常CRP、AST、ALT、GGTなどの肝臓の炎症と損傷に関するマーカーが上昇する[4]。GGTの活性上昇は、動脈性高血圧、肝脂肪の蓄積および中心性肥満に関連している[1]。血漿ALTの高値は、肝臓でのインスリン感受性低下および成人の糖尿病発症リスクの増大と関連している。内臓脂肪の多い人々では、体内での炎症プロセスの亢進、血漿中酸化LDLの増大[35]、およびCRP値の増大を来す場合が多く、これによりインスリン抵抗性、メタボリックシンドロームおよび2型糖尿病の発症が予測される[36]。一方、肥満患者での体重と脂肪の有意な減少により、炎症と炎症マーカーのダウンレギュレーションが引き起こされ[8]、この所見は我々のXanthigen-600/2.4 mg試験と類似している。

Xanthigen摂取群で観察された血圧正常化作用は、体重、体脂肪量および肝脂肪量、血清TG、炎症マーカーおよび肝酵素の有意な減少の結果である可能性が高い。本剤の広範なメカニズムはフコキサンチンの特定の脂肪酸構成に由来するものであるかもしれない。空腹時血漿中に特異的な脂肪酸が存在することが、炎症マーカーの値に顕著な影響を及ぼすことも考えられる。例えば、低 α リノレン酸含量はCRPの高値に関連しており、一方、血漿n-3脂肪酸の高含量は炎症誘発性マーカーの低値および抗炎症マーカーの高値と関連している[37-39]。これまでに考察したように、PAは構造的にリノレン酸とリノール酸に関連しており、独特な作用メカニズムを有している。例えば、PA以外の共役リノール酸(CLA)もしくは共役リノレン酸異性体混合物から構成される食事を摂取している動物では、体重の有意な減少にも関わらずインスリン抵抗性と脂肪肝[33,34]が誘発された[33]。

Xanthigenの体重減少メカニズムの重要な構成成分は、REEに対する作用によって左右されるものと考えられる。摂取群あたりの被験者数が少ないために(被験者41名を11実験群に分割)、本試験のこの部分の結果は慎重にレビューすべきである。しかし、我々は有望な結果を得ている。これは統計解析により、いくつかの摂取群の間で有意差が明らかにされたためであった。PSO単独ではなく、フコキサンチンとXanthigen両方での栄養補給は、NAFLD肥満女性でREEを増大させた。フコキサンチン単独の最小有効摂取量は、我々の試験では2.4 mgであった。フコキサンチンの摂取量を1.6 mgに低下させると、それ自体は有効ではなかったが、PSO 200 mg(Xanthigen-400/1.6 mg/日)と共に補給した場合、本試験の16週までにREEの有意な増大がみられた(p<0.05)。PSOを増量するとREEはさらに増加した。フコキサンチン誘発性のREE増加に対してPSOが、相乗的に摂取量依存性の作用を及ぼし得ることをこれらの結果は示唆している。フコキサンチン誘発性のREE刺激に対するPSOの相乗的作用は、

PSO およびその構成成分である PA に特異的なものであった。それは CLA を含む他の油で代用した場合に、同様の臨床結果が得られなかったからである(データ未掲載)。募集ボランティア数が少なかったために、本試験のこの部分が事実上探索的なものとなっている。これらの結果には、さらに大規模の被験者数による確認が必要であると考えられる。

我々の知る限りでは、本試験は Xanthigen の抗肥満作用を報告した最初の臨床的エビデンスであり、NAFLD 肥満患者ならびに慢性炎症指数の上昇に特に関連するものである。Xanthigen は、部分的には REE 刺激に由来し、また広範な炎症性作用および代謝正常化作用にも由来して体重と体脂肪を減少させるのかもしれない。ザクロ油がフコキサンチンの REE 刺激作用の促進に役立ち得ることを本試験は示唆している。UCP タンパク質の発現と誘導に対するフコキサンチンと Xanthigen の作用は本試験の目的ではないが、これまでに齧歯動物で実証されているように、REE の増大はフコキサンチンによる UCP タンパク質の誘導と関連しているかもしれない[13]。

参考文献

1. Stranges S, Trevisan M, Dorn JM, Dmochowski J, Donahue RP. Body fat distribution, liver enzymes, and risk of hypertension. *Hypertension* 2005; **46**: 1186.
2. Ikai E, Ishizaki M, Suzuki Y, Ishida M, Noborizaka Y, Yamada Y. Association between hepatic steatosis, insulin resistance and hyperinsulinaemia as related to hypertension in alcohol consumers and obese people. *J Hum Hypertens* 1995; **9**: 101–105.
3. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease. A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; **50**: 1844–1850.
4. Heilbronn LK, Noakes M, Clifton MP. Energy restriction and weight loss on very-low-fat diets reduce C-reactive protein concentrations in obese, healthy women. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2001; **21**: 968–970.
5. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; **55**: 434–438.
6. Propst A, Propst T, Judmaier G, Vogel W. Prognosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 1995; **108**: 1607.
7. Collantes R, Ong JP, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease and the epidemic of obesity. *Cleve Clin J Med* 2004; **71**: 657–664.
8. Salgado JW, Santos JS, Sankarankutty AK, Castro E, Silva OD. Nonalcoholic fatty liver disease and obesity. *Acta Cir Bras* 2006; **21**: 72–78.
9. Eguchi Y, Eguchi T, Mizuta T *et al.* Visceral fat accumulation and insulin resistance are important factors in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2006; **41**(5): 462–469.
10. Keeffe EB, Adesman PW, Stenzel P, Palmer RM. Steatosis and cirrhosis in an obese diabetic. Resolution of fatty liver by fasting. *Dig Dis Sci* 1987; **32**: 441–445.
11. Haugan JA, Aakemann T, Liaaen-Jensen S. Example 2: macroalgae and microalgae. In: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H eds. *Carotenoids, Vol. 1A: Isolation and Analysis*. Basel: Birkhäuser Verlag Basel, 1995; 215–226.
12. Murata M, Ishihara K, Saito H. Hepatic fatty acid oxidation enzyme activities are stimulated in rats fed the brown seaweed, *Undaria pinnatifida* (Wakame). *J Nutr* 1999; **129**(1): 146–151.
13. Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, Funayama K, Miyashita K. Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; **332**(2): 392–397.
14. Nicholls DG, Locke RM. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev* 1984; **64**: 1–64.
15. Miyashita K. Seaweed carotenoid, fucoxanthin, with highly bioactive and nutritional activities. *J Mar Biosci Biotechnol* 2006; **1.1**: 48–58.
16. Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, Takahashi N, Kawada T, Miyashita K. Fucoxanthin and its metabolite, fucoxanthinol, suppress adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Int J Mol Med* 2006; **18**(1): 147–152.
17. Skulas-Ray AC, West SG, Davidson MH, Kris-Etherton PM. Omega-3 fatty acid concentrates in the treatment of moderate hypertriglyceridemia. *Expert Opin Pharmacother* 2008; **9**(7): 1237–1248.
18. Hernandez F, Meldarejo P, Olías JM, Artés F. Fatty acid composition and total lipid content of seed oil from three commercial pomegranate cultivars. In: Melgarejo-Moreno P, Martínez-Nicolás JJ, Martínez-Tomé J eds. *Production, Processing and Marketing of Pomegranate in the Mediterranean Region: Advances in Research and Technology*. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2000; 205–209.
19. Arao K, Wang Y-M, Inoue N *et al.* Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9cis, 11trans, 13cis conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF rats. *Lipids Health Dis* 2004; **3**: 24.
20. Arao K, Yotsumoto H, Han SY, Nagao K, Yanagita T. The 9cis, 11trans, 13cis isomer of conjugated linolenic acid reduces apolipoprotein B100 secretion and triacylglycerol synthesis in HepG2 cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004; **68**: 395–397.
21. World Health Organization Expert Committee on Diabetes Mellitus. WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus: second report. *World Health Organ Tech Rep Ser* 646, 1980; 1–80; World Health Organization Study Group. Prevention of diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep* 1994 **844**: 1–100.
22. Storey E, Anderson GJ, Mack U, Powell LW, Halliday JW. Desialylated transferrin as a serological marker of chronic excessive alcohol ingestion. *Lancet* 1987; **1**: 1292–1294.
23. Heymsfield SB, Smith R, Aulet M *et al.* Appendicular skeletal muscle mass: measurement by dual-photon absorptiometry. *Am J Clin Nutr* 1990; **52**: 214–218.
24. Heitmann BL. Prediction of body water and fat in adult Danes from measurement of electrical impedance. A validation study. *Int J Obes* 1990; **14**: 789–802.

25. Thomsen C, Becker U, Winkler K, Christoffersen P, Jensen M, Henriksen O. Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Imaging* 1994; **12**: 487–495.
26. Astrup A, Buemann B, Gluud C, Bennett P, Tjur T, Christensen NJ. Prognostic markers for diet-induced weight loss in obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; **19**: 275–278.
27. Schutz Y. The basis of direct and indirect calorimetry and their potentials. *Diabetes Metab Rev* 1995; **11**: 383–408.
28. Ramsay L, Williams B, Johnston G *et al*. Guidelines for management of hypertension: report of the Third Working Party of the British Hypertension Society, 1999. *J Hum Hypertens* 1993; **13**: 569–592.
29. Lee DH, Ha MH, Kim JH *et al*. Gamma-glutamyltransferase and diabetes—a 4 year follow-up study. *Diabetologia* 2003; **46**: 359–364.
30. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997; **43**: 52–58.
31. Stranges S, Dorn JM, Muti P *et al*. Body fat distribution, relative weight, and liver enzyme levels: a populationbased study. *Hepatology* 2004; **39**: 754–763.
32. von Schenck H, Wallentin L, Lennmarken C, Larsson J. Lipoprotein metabolism following gastroplasty in obese women. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; **52**(4): 269–274.
33. Willumsen N, Vaagenes H, Lie O, Rustan AC, Berge RK. Eicosapentaenoic acid, but not docosahexaenoic acid, increases mitochondrial fatty acid oxidation and upregulates 2,4-dienoyl-CoA reductase gene expression in rats. *Lipids* 1996; **31**(6): 579–592.
34. Tsuku T, Konno K, Hosokawa M, Maeda H, Sashima T, Miyashita K. Fucoxanthin and fucoxanthinol enhance the amount of docosahexanoic acid in the liver of KKAy obese/diabetic mice. *J Agric Food Chem* 2007; **55**(13): 5025–5029.
35. Couillard C, Ruel G, Archer WR *et al*. Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**(12): 6454–6459.
36. Festa A, D’Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000; **102**: 42–47.
37. Nomura T, Kikuchi M, Kubodera A, Kawakami Y. Proton-donative antioxidant activity of fucoxanthin with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Biochem Mol Biol Int* 1997; **42**: 361–370.
38. Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem* 1999; **63**(3):605–607.
39. Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S *et al*. Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91**(2): 439–446.