原著

凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメントによる
動脈硬化改善効果の検討穴水聡一郎 長屋 直樹 藤 純一郎
馬淵 茂樹

東京トータルライフクリニック, 東京, 〒111-0034 台東区雷門2-6-3 ユニカ雷門ビル 2F

Efficacy of a Supplement Containing Freeze-dried Earthworm
Powder for AtherosclerosisSoichiro ANAMIZU Naoki NAGAYA Junichiro TO
Shigeki MABUCHITokyo Total Life Clinic, 2nd Fl. Yunika-Kaminarimon Building, 2-6-3 Kaminarimon, Taito-ku, Tokyo 111-0034, Japan

Abstract

We studied the effects of a supplement containing freeze-dried earthworm powder : “Protein Related compound Derived from Redworm (PR-DR)” for atherosclerosis in 19 patients (10 females, average age : 61.5 ± 6.9), whose vascular ages were estimated to be older than their actual ages based on the index of atherosclerosis ; Intima-Media Thickness (IMT) by carotid ultrasonography and Cardio-Ankle Vascular Index (CAVI). After we obtained informed consent, they took daily dose of 6 PR-DR capsules for 6 months. Each capsule contains 40 mg of powdered extract of *Lumbricus rubellus*, which is known to contain fibrin-degrading an enzyme and to increase the effect of t-PA.

Before and 6 months after intake, we found significant decrease in 3 indicators of atherosclerosis. The scores of difference between 2 time points (6 month – pre) were IMT-Cmax : -0.15 ± 0.16 mm, maxIMT : -0.22 ± 0.17 mm, plaque score : -1.57 ± 1.12 (all $p < 0.01$ by Wilcoxon signed-rank test). As statins and EPA also decrease atherosclerosis, we excluded 6 patients who were taking these medications. Even in the remaining 13 patients (7 females, average age : 61.2 ± 7.9), 3 indicators were still significantly lower (IMT-Cmax : -0.07 ± 0.07 mm, maxIMT : -0.19 ± 0.17 mm, plaque score : -1.39 ± 1.04 ; all $p < 0.01$) after 6 months of intake. Thus, the results showed that PR-DR has anti-atherosclerosis effect and can be used clinically for the prevention of atherosclerosis and diseases associated with it.

Key words : supplement containing freeze-dried earthworm powder, atherosclerosis, IMT, plaque

要旨

凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメント (Protein Related compound Derived from Redworm, PR-DR) の動脈硬化に対する改善効果を検討した。動脈硬化度検査で血管年齢が実年齢より高いと推定され、同意が得られた19名 (女性10名。平均年齢 61.5 ± 6.9 歳) を対象に、PR-DRを6ヵ月間投与した。その結果、頸動脈エコーにて、内中膜複合体厚 (Intima-Media Thickness : IMT) に基づく指標 (IMT-Cmax, maxIMT, プラークスコア) の有意な改善 ($p < 0.01$; ウィルコクソン符号順位検定) を認めた。スタチンやEPAの服用者を除いた13名 (女性7名。平均年齢 61.2 ± 7.9 歳) においても同様であった。PR-DRは、動脈硬化におけるIMT及びプラークの改善効果を有し、動脈硬化予防や動脈硬化性疾患改善の臨床応用が期待できる。

キーワード : 凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメント, 動脈硬化, IMT, プラーク

緒言

漢方医学において、ミミズは古くから病気治療に利用されており、漢方古典書には「白頸蚯蚓」や「地龍」などの名で記載がある。16世紀の「本草綱目」

には「蚯蚓」の名で記載され、効能として、解熱作用、鎮痛作用、利尿作用などの他に、「中風」(脳梗塞や脳出血) を治すとの記述がある¹⁾。これらの効能については、近年、その有効成分が明らかにされ

ている。1915年、ミミズの皮の部分に含まれるルンブロフェブリン (Lumbrofebrin) が解熱作用を有することが、田中、額田により報告されている²⁾。そして、1989年、内臓部分に線溶活性物質ルンブロキナーゼ (Lumbrokinase) が含まれていることが美原によって報告されており³⁾、「血栓」が関与する「中風」への効能についての「本草綱目」の記述を裏付けるものとなっている。

2010年、凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメントの動脈硬化に対する有効性が、狭間研至により報告された (所属：大阪大学医学部附属病院。於第61回日本東洋医学会学術総会ランチョンセミナー7「動脈硬化の予防と治療」)。一方、現在の動脈硬化に対する標準的な治療は、危険因子の解除、すなわち高血圧症や糖尿病、脂質異常症などに対する薬物治療や、喫煙に対する禁煙治療などが主体であり、動脈硬化への直接的な治療は為されていない。

そこで我々は、凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメントによる動脈硬化への直接的な治療的介入の可能性について、統計的評価および検討を行ったので、報告する。

対象と方法

この臨床研究は、当クリニック倫理委員会において審査・承認された研究計画書に基づいて行った。被験者には臨床研究同意説明書を提示して説明し、文書による同意を得たうえで実施した。

1. 対象者

2011年11月から2012年5月の間に当クリニック外来を受診した患者で、心臓足首血管指数 (Cardio-Ankle Vascular Index : CAVI) による動脈硬化度検査を行ない、CAVI 予測式⁴⁾によって血管年齢が実年齢よりも高いと推定された19名 (男性9名、女性10名。平均年齢 61.5 ± 6.9 歳。推定血管年齢 77.6 ± 14.9 歳) を対象とした。罹患疾患 (重複あり) は、高血圧症6名、脂質異常症7名、糖尿病4名、骨粗鬆症2名、更年期障害1名、狭心症1名、脳梗塞1名、慢性疾患なし4名で、喫煙者は1名であった。

また、スタチンやEPA製剤はプラーク改善の報告がある⁵⁾⁶⁾が、それらの服用者は6名であった。その6名を除いた13名 (男性6名、女性7名。平均年齢 61.2 ± 7.9 歳。推定血管年齢 77.7 ± 16.4 歳) についても検討を行った。罹患疾患 (重複あり) は、

高血圧症4名、脂質異常症1名、糖尿病1名、骨粗鬆症2名、更年期障害1名、狭心症1名、慢性疾患なし4名で、喫煙者は1名であった。

2. 使用した凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメント

狭間の報告 (2010) で使用されている凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメントは、1カプセル中に、赤ミミズ (ルンブルクス・ルベルス, *Lumbricus Rubellus*) のエキス粉末 (以下LR粉末) 40 mg, 田七人參100 mg, イカキトサン30 mg, ルチン10 mg を含有した赤ミミズ由来タンパク質関連物質 (Protein Related compound Derived from Redworm, PR-DR) である。

今回、我々もPR-DRを使用して検討を行った。

3. PR-DRの投与方法

PR-DRは、1日6カプセル (朝夕各3カプセル) を6ヵ月間、投与した。なお、この19名においては、PR-DR開始にあたって、自覚的・他覚的所見 (PT, APTT, ヘパプラスチン, フィブリノーゲン, 出血時間) すべてに出血傾向を認めないことを確認した。また、PR-DR開始前後および投与期間において、対象者の服用薬剤の変更はなかった。

4. 動脈硬化評価のための検査項目

PR-DR投与前、投与3ヵ月後、投与6ヵ月後のそれぞれの時点において、動脈硬化の状態を、頸動脈エコー及びCAVIによって評価した。

頸動脈エコーでは、動脈硬化の内中膜複合体厚 (Intima-Media Thickness, IMT) を基とした動脈硬化指標であるIMT-Cmax, maxIMT, プラークスコア (半田らの方法による⁷⁾) の計測を行った。エコー上は、IMTが1.1 mm以上の厚みを有する部分をプラークとして扱うが、IMT-Cmaxは、プラークを含め、総頸動脈におけるIMTの最大値である。maxIMTは、プラークを含め、総頸動脈～内頸動脈におけるIMTの厚みの最大値である。プラークスコアは、左右の頸動脈の分岐部より末梢側 (頭側) 15 mmと中枢側 (心臓側) 45 mmの間にあるプラークの厚みの総和である。

CAVI測定は、血圧脈波検査装置 (VS-1500 AE ; フクダ電子, 東京) を使用した。

5. 有意差検定の方法

全19名のデータおよび、19名のうちスタチン又はEPA製剤服用者を除いた13名のデータについて、

表1 PR-DR 投与前後のデータ

	全19名			13名 (スタチン・EPA服用なし)		
PR-DR投与期間	前	3カ月	6カ月	前	3カ月	6カ月
実年齢/血管年齢	61.5±6.9 / 77.6±14.9			61.2±7.9 / 77.7±16.4		
性別(男性/女性)	9 / 10			6 / 7		
Carotid ultrasonography						
・IMT-Cmax (mm)	1.13±0.48	1.06±0.44	0.98±0.44	1.05±0.50	1.03±0.50	0.98±0.49
・max IMT (mm)	1.48±0.46	1.36±0.49	1.26±0.50	1.50±0.50	1.41±0.56	1.31±0.56
・Plaque score	3.38±2.19	2.38±2.33	1.81±2.04	3.33±2.28	2.34±2.43	1.94±2.20
CAVI	9.29±0.79	9.03±0.84	9.07±0.94	9.33±0.84	8.98±0.94	9.06±1.04

データ：平均±標準偏差

PR-DR：Protein Related compound Derived from Redworm

表2 全19名における各指標の変化

PR-DR投与期間	3カ月	6カ月
Carotid ultrasonography		
・IMT-Cmax (mm)	-0.07±0.13 **	-0.15±0.16 **
・max IMT (mm)	-0.12±0.18 **	-0.22±0.17 **
・Plaque Score	-1.00±1.07 **	-1.57±1.12 **
CAVI	-0.28±0.42 *	-0.26±0.48 *

データ：平均±標準偏差，** p<0.01，* p<0.05（ウィルコクソン符号順位検定）

PR-DR：Protein Related compound Derived from Redworm

それぞれ統計検定を行った。統計検定は、ノンパラメトリック検定の一つであるウィルコクソン符号順位検定（Wilcoxon signed-rank test）を、統計ソフト Mac 統計解析（株式会社エスミ、東京）を用いて行い、 $p < 0.05$ をもって有意と判定した。

結果

PR-DR 投与前と投与3カ月後、投与6カ月後における、頸動脈エコーの動脈硬化指標（IMT-Cmax, maxIMT, プラークスコア）および CAVI の結果を、表1に示した。

全19名では、PR-DR 投与前と比して、投与3カ月後及び6カ月後のいずれにおいても、頸動脈エコーの動脈硬化指標3つと CAVI のすべてにおいて、有意な改善を認めた。各々のデータの変化量を表2

に示す。

スタチン又はEPA服用者を除く13名では、PR-DR 投与前と比して、頸動脈エコーの3つの指標については、投与3カ月後及び6カ月後で、maxIMTが投与3カ月後において有意差を認めなかった以外は、いずれも有意な改善を認めた。CAVIについては、投与3カ月後では有意な改善を認めたが、投与6カ月後では有意差を認めなかった。各々のデータの変化量を表3に示す。

なお、PR-DR 投与期間中、出血傾向やその他の有害事象は認めなかった。

考察

1. PR-DR と IMT-Cmax, maxIMT, プラークスコアについて

表3 13名（スタチン・EPA服用なし）における各指標の変化

PR-DR投与期間	3カ月	6カ月
Carotid ultrasonography		
・IMT-Cmax (mm)	-0.02±0.04 **	-0.07±0.07 **
・max IMT (mm)	-0.09±0.18	-0.19±0.17 **
・Plaque Score	-0.99±1.02 **	-1.39±1.04 **
CAVI		
	-0.38±0.43 *	-0.32±0.55

データ：平均±標準偏差，** p<0.01，* p<0.05（ウィルコクソン符号順位検定）

PR-DR：Protein Related compound Derived from Redworm

表4 PR-DR投与によるIMTおよびプラーク改善効果

	全19名		13名（スタチン・EPA服用なし）	
PR-DR投与期間	3カ月	6カ月	3カ月	6カ月
Carotid ultrasonography				
・IMT-Cmax	○	○	○	○
・max IMT	○	○		○
・Plaque Score	○	○	○	○

○：有意差あり（p<0.01）（ウィルコクソン符号順位検定）

IMT：Intima-Media Thickness

PR-DR：Protein Related compound Derived from Redworm

今回測定した動脈硬化に関する指標のうち、IMT-Cmax, maxIMT, プラークスコアは、いずれも頸動脈エコーにおけるIMTを基にした指標である。

血液中から内皮を通して内膜に入り込んだLDLコレステロールが酸化や糖化を受けるとマクロファージがそれを貪食して泡沫細胞となって蓄積する。また、内皮機能の障害により透過性が亢進して、血漿成分、ことにフィブリノーゲンやリポ蛋白などが内膜に侵入し沈着する。それとともに、中膜内層の平滑筋細胞が内膜内へ遊走して増殖しコラーゲンなどを産生する。これらの機序により内膜の厚みが増して（=IMT増大）、プラークが形成される。さらには、プラーク内の新生血管が破綻してプラーク内出血を起こしたり、無症候性のプラーク破綻による血栓（血小板とフィブリンが主な成分）の発生を繰り返すことなどにより、プラークがさらに進展して

ゆく⁸⁾。

エコー上、プラークは、低輝度、等輝度、高輝度の3群に分けられることが多く、一般的には、病理組織的に、低輝度は血腫や粥腫、等輝度は線維性組織、高輝度は石灰化に対応しているとされている。しかし、等輝度プラークには、破綻を繰り返し血腫とその修復機転で生じた線維成分が折り重なったようなものも含まれていることが報告されている⁹⁾。

検定結果からは、PR-DRは、この動脈硬化を生じた血管におけるIMT及びプラークの改善効果を有していると言える（表4）。図1、図2は、PR-DR投与によるプラーク退縮を示すエコー像である。

PR-DRの構成成分のうち、LR粉末については、須見ら¹⁰⁾¹¹⁾により、血管内皮細胞における組織型プラスミノゲンアクチベーター（tissue-type plasminogen activator, t-PA）産生を4～6倍に高め（in vi-

PR-DR : Protein Related compound Derived from Redworm

図1 68歳女性 左頸動脈分岐部（短軸像）

PR-DR 投与前には1.5 mm だったプラークが、投与6ヵ月後、1.2mm に退縮した。

PR-DR : Protein Related compound Derived from Redworm

図2 63歳女性 左内頸動脈（長軸像）

PR-DR 投与前には1.2 mm だったプラークが、投与6ヵ月後、0.9 mm に退縮した。プラークのエコー上の定義は1.1 mm 以上であるため、この部位においてはプラークが消失したと判定される。

tro)、血液中のプラスミノゲンをプラスミンに転換して高い線溶活性を現す作用と、フィブリン分解酵素を含むことによる直接的なフィブリン分解作用により、強くフィブリン分解を促進させることが明らかにされている。田七人參は、サポニンを豊富に含み抗酸化力の高さが取り上げられることが多いが、血管内皮細胞における t-PA 産生を2倍に高める (in vitro) という報告もある¹²⁾。キトサンとルチンは、各々、多糖類とポリフェノールである。

したがって、PR-DR による IMT 及びプラーク改善効果は、主に LR 粉末が有する高いフィブリン分解能によるもので、補助的に田七人參が作用していると考えられる。そして、プラーク進展機序からは、等輝度プラークにおいて改善効果が発現しやすいのではないかと推測される。このことは、PR-DR の臨床における我々の印象と一致しているが、今回の研究ではプラークのエコー上の輝度などについては考慮していない。そのため、LR 粉末が、どのよう

なプラークに対して、どのような具体的機序によって有効であるのかについての検討は、今後の課題である。

また、スタチンやEPAの服用者を除いた13名におけるPR-DR投与3ヵ月後のデータでは、maxIMTに有意な改善は認めないが、IMT-Cmax及びプラークスコアは有意に改善していた。maxIMTは総頸動脈から内頸動脈にかけての全計測区間におけるIMTの最大値であり、IMT-Cmaxは総頸動脈におけるIMTの最大値である。したがって、PR-DRによるプラークの改善効果は、総頸動脈において他の部位よりも先に生じている可能性があり、今後さらに検討してゆきたい。

2. PR-DRとCAVIについて

今回用いた動脈硬化の指標に関して、これまでにそれぞれの相関が報告されている。門田ら¹³⁾は、心血管疾患を含まない1014例を対象に、CAVIとIMTの間に有意な相関関係がある($r = 0.37$, $p < 0.0001$)ことを報告している。また、中村ら¹⁴⁾は、内科通院加療中の2732例を対象に、CAVIが、meanIMT, maxIMT, プラークスコアとそれぞれ有意な相関を認めることを述べている。

今回の検討では、PR-DR投与によってIMTの有意な改善が認められたため、CAVIにおいても有意な改善が期待された。そして、全19名においては、PR-DR投与3ヵ月後と投与6ヵ月後で、有意差を認めた($p < 0.05$)。しかし、スタチン・EPA服用者を除いた13名においては、PR-DR投与3ヵ月後で有意差を認めた($p < 0.05$)が、投与6ヵ月後では有意差を認めないという結果であった。

CAVIは、動脈(正確には、心臓弁口からの大動脈部～腓骨動脈)の硬さを反映する指標であるが、その測定においては、心臓弁口から腓骨動脈までの脈波伝播速度(Pulse Wave Velocity, PWV)を採用して計算している。そして、このPWV値は、心臓弁口から下大動脈までの弾性血管においては主に動脈硬化の程度によって規定されるが、大腿動脈から腓骨動脈までの筋性動脈においては血圧変化や交感神経機序によって変動する。CAVIは理論上、血圧変化によるPWV値の変動についてはその影響を排除しているが、交感神経機序によるPWV値の変動は排除できない。

今回、我々はCAVIの測定に際しては、検査前の

安静等をできる限り配慮した。しかし、それでも対象者に測定時に生じているかもしれない交感神経機序によるPWV値の変動のために、13名という人数での検討では、PR-DR投与3ヵ月後の時点で有意差を認めるにもかかわらず投与6ヵ月後では有意差を認めないという結果になったのではないかと思われる。

3. 動脈硬化に対するスタチンやEPAの効果との比較について

これまでに、スタチンやEPAの動脈硬化に対する効果についてランダム化比較試験により検討した報告がある。

スタチンについては、心血管疾患を有する161名を対象としたランダム化比較試験で、アトルバスタチン80 mg/day(日本での最大量は40 mg/day)($n = 79$)では、頸動脈エコー上の変化量が、年率で、 $\text{meanIMT} - 0.034 \pm 0.021 \text{ mm/year}$ ($p < 0.05$)、プラバスタチン40 mg/day(日本での最大量は20 mg)($n = 82$)では、 $\text{meanIMT} + 0.025 \pm 0.017 \text{ mm/year}$ ($p < 0.05$)だったという報告がある¹⁵⁾。

また、EPAについては、2型糖尿病患者81名を対象としたランダム化比較試験で、EPA 1800 mg/day($n = 30$)により、頸動脈エコー上の変化量が、年率で、 $\text{meanIMT} - 0.0289 \pm 0.112 \text{ mm/year}$ ($p < 0.05$)、 $\text{maxIMT} - 0.084 \pm 0.113 \text{ mm/year}$ ($p < 0.05$)だったという報告がある¹⁶⁾。

しかし、今回の我々の報告のように、「実年齢よりも血管年齢が高いと推定された患者」を対象とした研究はなく、そのため、スタチンやEPAとPR-DRとの効果を直接比較することは難しい。今後、症例を重ね、これらの報告との比較検討も行っていきたい。

結論

凍結乾燥ミミズエキスであるLR粉末は、動脈硬化を生じた血管の、内膜におけるIMT及びプラークの改善に有効であると考えられる。

IMT及びプラークについては、心血管イベントとの相関があることが、これまで多く報告されている。したがって、動脈硬化において、各種の危険因子を解除する治療のみならず、凍結乾燥ミミズエキス(LR粉末)による直接的な動脈硬化改善の介入を行うことで、より効果的な動脈硬化の予防や動脈硬化性疾患の治療が可能になることが期待できる。

謝辞 本論文を作成するにあたり、穴太克則先生(芝浦工業大学システム理工学部数理科学科教授)に検定に関して多大なご指導ご助言を賜りましたことを深謝いたします。

付記 凍結乾燥ミミズエキス含有サプリメント(PR-DR)は、株式会社カイン製を用いた。

利益相反(COI)に関して開示すべきものなし。

文献

- 1) 李時珍. 蚯蚓. 本草綱目 第42巻 蟲部. 頭註國譯本草綱目 第10冊, 白井光太郎, 木村博昭, 鈴木真海, 他. 春陽堂出版, 東京 1930. 300-310.
- 2) 田中伴吉, 額田晉. 蚯蚓ノ解熱作用及ビ其有効成分ニツキテ. 東京医学会雑誌 1915 ; 29 : 221-251.
- 3) Mihara H. A possibility of earthworm powder as therapeutic agent for thrombosis. Thrombosis and Haemostasis. 1989 ; 62 : 545.
- 4) Shirai K, Hiruta N, Song M, et al. Cardio-ankle vascular index (CAVI) as a novel indicator of arterial stiffness : theory, evidence and perspectives. J Atheroscler Thromb. 2011 ; 18 : 924-938.
- 5) Mizuno M, Mori K, Oba H, et al. Reduction of carotid plaque after fluvastatin using three-dimensional (3D) ultrasonography. Neurosonology 2008 ; 21 : 123-126.
- 6) 大浦一雅, 森潔史, 水野昌宣, 他. 頸動脈エコーを用いたEPAの頸動脈プラーク退縮効果の検討. Neurosonology 2012 ; 25 : 62.
- 7) Handa N, Itoh T, Kakuda W, et al. Role of plaque score in the evaluation of carotid atherosclerosis. Stroke 2002 ; 24 : 408-413.
- 8) 浅田祐士郎, 後藤信哉. 動脈硬化/血栓性疾患ハンドブック. 第1版, 医歯薬出版株式会社, 東京 2009. 11-20.
- 9) 長束一行, 松尾汎. 動脈硬化を画像で診る. 第1版, 新興医学出版社, 東京 2010. 60-64.
- 10) Sumi H, Nakajima N, Mihara H. A very stable and patent fibrinolytic enzyme found in earthworm *Lumbricus Rubellus* autolysate. Comp. Biochem. Physiol. 1993 ; 106B : 763-766.
- 11) Sumi H, Kitagawa M, Okumura K. Plasminogen activator activity of human endothelial cells induced by nonenzyme fractions of earthworm powder. Fibrinolysis 1994 ; 8. Sup. 1 : 35.
- 12) Wojta ZW, Binder J. Effect of notoginsenoside R1 on the synthesis of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in cultured human umbilical vein endothelial cells. Arterioscler. Thromb. 1994 ; 14 : 1040-1046.
- 13) Kadota K, Takamura N, Aoyagi K, et al. Availability of Cardio-Ankle Vascular Index (CAVI) as a Screening Tool for atherosclerosis. Circ J. 2008 ; 72 : 304-308.
- 14) 中村啓二郎, 白井厚治, 折茂肇, 他. 新しい動脈硬化指標 CAVI のすべて. 初版, 日経メディカル開発, 東京 2009. 142-150.
- 15) Taylor AJ, Kent SM, Flaherty PJ, et al. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol-A Randomized Trial Comparing the Effects of Atorvastatin and Pravastatin on Carotid Intima Medial Thickness. Circulation 2002 ; 106 : 2055-2060.
- 16) Mita T, Watada H, Ogihara T, et al. Eicosapentaenoic acid reduces the progression of carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes. Atherosclerosis 2007 ; 191 : 162-167.