

# CLA (共役リノール酸)のヒトにおける 安全性について



2008年10月4日

日清オイリオグループ(株)

# AGENDA

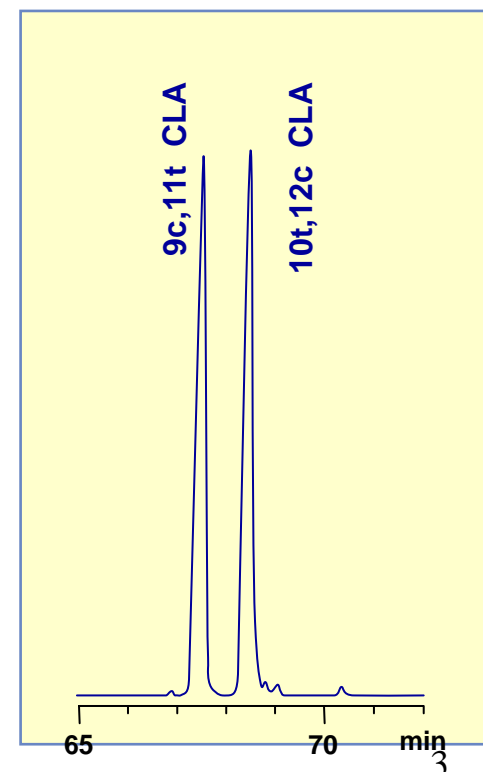
1. 市販CLAの特徴について
2. CLAを使った市販製品について
3. CLAの安全性確認試験について
  - 1) 前臨床試験
  - 2) 臨床試験
4. 海外における規制状況

# 1. 市販CLA (共役リノール酸)の特徴

## 1) CLAの原料

- サフラワー (ベニ花、学名 *Carthamus tinctorius L.*)  
キク科  
ベニハナ属に属する一年生木でアザミに似た花をつける植物  
植物油の中で一番リノール酸含量が多い
- 市販されている一般的なCLAの脂肪酸組成(%)

パルミチン酸	5.5
ステアリン酸	2.1
オレイン酸	10.8
リノール酸	0.7
CLA	80.4
c9, t11-CLA	37.0
t10, c12-CLA	38.4
c9, c11/c10, c12-CLA	2.6
t9, t11/t10, t12-CLA	2.4
その他	0.5



cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 isomersが50 : 50である。

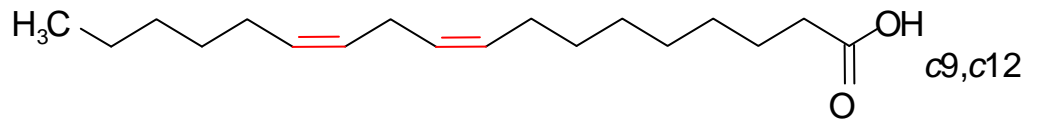
# 1. 市販CLA (共役リノール酸)の特徴

## 2) CLAの製造フロー

サフラワー油



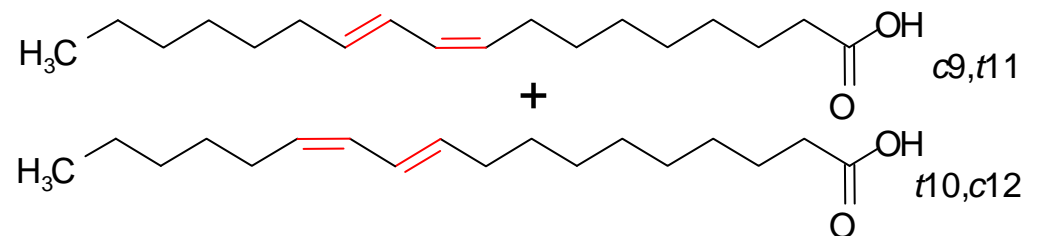
(共役化反応)



脂肪酸型CLA



(エステル合成)



トリグリセリド型CLA

食用タイプ、風味改善、小腸での吸収性向上等

CLA (共役リノール酸) は食品として適合した方法で製造されている。

## 2. CLA (共役リノール酸) 市販製品について

- CLA異性体ミクスチャー (50:50) の販売は1996年開始。
- スカンジナビア半島諸国、米国での販売が始まり。
- その後、多くの欧州諸国、日本、韓国。
- 2003年米国にてCLAがself-affirmed GRASとなったことから、CLAは栄養(スポーツ)バーに利用することができる。
- 2004年にはスペインで機能性食品市場で販売開始、2006年にはドイツで。
- 2006年には中央アメリカにサプリメントや機能性食品として販売。

## 2-1. 海外でのサプリメント商品



Source: Innova Food and Beverage Worldwide New Products Database, [www.innova-food.com](http://www.innova-food.com)

## 2-2 . 海外でのスポーツバー商品



Source: Innova Food and Beverage Worldwide New Products Database, [www.innova-food.com](http://www.innova-food.com)

## 2-3 . 海外におけるCLA強化乳製品

### スペイン NaturLínea (2004年4月発売)

- Skimmed milk
- Orange juice with milk
- Yoghurt
- Drinkable yoghurt



### ドイツ LipoWell (2006年夏発売)

- Drinkable yoghurt with different flavors





## 3. CLAの安全性確認試験について

### 1) 前臨床試験

- ・ *In vivo* : 急性毒性試験、亜急性毒性試験  
発ガン性試験、その他
- ・ *In vitro* : 変異原性試験

### 2) 臨床試験

- ・ 日本人でのヒト試験(3ヶ月間)
- ・ 外国でのヒト試験(半年～2年間)

## 3-1. 前臨床試験

### *In vivo* (マウス)

- ・大過剰のCLAを与えると肝臓肥大や糖尿病が生じるとの報告あり。(Diabetes, 49, 1534, 2000)  
この場合でのマウスへの投与量からヒトに換算すると、約70g/日に相当する。
- ・少量の投与では脂肪肝や糖尿病が発生しないとの報告あり。(J.Nutr., 133, 1799, 2003)

## ・ *In vivo* (ラット)

1) 急性毒性試験(ラット): 5g/kgにおいて死亡せず。

2) 亜急性毒性試験(ラット):

・ 90日間反復投与 無毒性量は雌雄とも2g/kg以上。

・ S.O'Haganら: 無毒性容量は、雄で2,433mg/kg、雌で2,728mg/kgと判定。(90日間反復投与)

(Food Chem Toxicol., 41, 1749, 2003)

・ Scimeca: 36週間反復投与でも、異常なし。

(Foods Chem Toxicol., 36, 391, 1998)

3) 発ガン性試験(ラット):

・ 木本ら: 多段階発ガン性試験にてCLAはガンを抑制。

(Cancer Letter, 168, 15, 2001)

・ *In vivo* (豚、犬、馬)

1) 豚の場合

- ・ 異常が無かったとの海外報告あり。(2004年)

2) 犬の場合

- ・ ビーグル犬にトリグリ型CLAを3ヶ月間投与した結果、異常のないことを確認した。(自社データ:2004年)

3) 馬の場合(自社データ)

- ・ 馬にトリグリ型CLAを1ヶ月間投与した結果、異常のないことを確認した。(自社データ:2005年)

## ・*In vivo*

- ・マウス以外の動物での前臨床試験では異常は認められていない。
- ・マウスでの肝臓肥大現象は、マウスの種特異性の現象であると推測される。

## ・*In vitro*

### 1) 変異原性試験:

- ・細菌を用いる復帰突然変異試験では遺伝子突然変異誘発性はない。

## 3-2. 臨床試験(日本人の場合)

### 1) 試験概要

- ・対象者: オーバーウエイトな男性日本人  
年齢: 25 ~ 60歳、BMI: 25 ~ 35、ウエスト: 85cm以上
- ・二重盲検、無作為化、並行群間比較試験
- ・試験群:
  - プラセボ群: ハイリノールサフラワー油 10.8g/日
  - 低CLA群 : トリグリ型CLA 5.4g/日 (CLA換算: 3.4g/日)
  - 高CLA群 : トリグリ型CLA 10.8g/日 (CLA換算: 6.8g/日)
- ・摂取方法: ソフトカプセルで摂取  
(36個/日、毎食後3回に分けて)
- ・試験期間: 12週間
- ・分析項目: 身体測定、問診、血液パラメーター

## 2) 試験開始前の被験者について

Baseline characteristics for subjects included in the per-protocol analysis.

	Placebo	Low CLA <sup>2</sup>	High CLA <sup>2</sup>	<i>P</i>
Sex Male (n)	20	20	20	
Age (years)	42.5 ± 10.4 <sup>1</sup>	44.3 ± 10.2	40.5 ± 8.8	0.48
Height (cm)	170.9 ± 6.6	170.4 ± 5.2	172.4 ± 5.9	0.53
Weight (kg)	80.9 ± 7.6	79.5 ± 5.6	83.6 ± 10.5	0.28
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	27.8 ± 1.9	27.4 ± 2.0	28.1 ± 2.1	0.59
Waist circumference(cm)	92.2 ± 5.1	91.4 ± 4.1	93.6 ± 5.3	0.34
Total fat area (cm <sup>2</sup> ) <sup>3</sup>	341 ± 65	330 ± 53	358 ± 66	0.36
Hepatorenal contrast <sup>4</sup>	2.37 ± 0.75	2.52 ± 0.87	2.63 ± 1.08	0.67

1 All values are Mean ± SD.

2 Low CLA, 5.4 g/day; High CLA, 10.8 g/day.

3 Sum of subcutaneous and visceral fat areas measured by CT scan.

4 Hepatorenal contrast measured by abdominal ultrasound test.

### 3) 試験結果のまとめ

#### ・有害事象

プラセボ群よりもCLA摂取群で高くなる傾向を示したが、全ての有害事象は軽度から中等度までであり、正常範囲内で一時的なものであった。

#### ・血清パラメーター

- 1) AST及びALT以外のパラメーターには群間に差はなかった。
- 2) 摂取12週間後の血清AST活性は、群間に差はなかったが、高CLA摂取群で試験開始時よりもやや増加した。
- 3) 摂取12週間後の血清ALT活性は、プラセボ群よりも高CLA摂取群で高くなり、高CLA摂取群で試験開始時よりも高くなった。
- 4) しかし、試験開始時において正常な血清パラメーターを有する明らかな健常者の集団のみで統計処理をすると、摂取12週間後のAST及びALTレベルは3つの群間で有意差は無かった。

#### ・肝臓 / 腎臓の比(超音波検査)

群間に差はなかった。



## 4) 血清パラメーター結果.

Group	0 week	6 week	12 week
Total protein (g/dL)			
Placebo	7.3 ± 0.4	7.3 ± 0.3	7.3 ± 0.3
Low CLA	7.2 ± 0.3	7.1 ± 0.3	7.1 ± 0.2
High CLA	7.3 ± 0.4	7.3 ± 0.4	7.4 ± 0.4
Total bilirubin (mg/dL)			
Placebo	0.87 ± 0.3	0.87 ± 0.3	0.94 ± 0.3
Low CLA	0.75 ± 0.3	0.69 ± 0.3	0.75 ± 0.2
High CLA	0.76 ± 0.3	0.73 ± 0.2	0.73 ± 0.2
Asparate aminotransferase (AST, IU/L)			
Placebo	27.7 ± 9.9	28.8 ± 10.5	28.2 ± 8.8
Low CLA	22.5 ± 5.8	25.2 ± 10.3	23.1 ± 5.8
High CLA	23.4 ± 6.9	27.4 ± 11.7	28.7 ± 12.7*
Alanine aminotransferase (ALT, IU/L)			
Placebo	45.6 ± 21.1	43.8 ± 22.1	44.0 ± 19.9 <sup>a</sup>
Low CLA	36.9 ± 18.2	38.9 ± 22.1	39.3 ± 21.5 <sup>a</sup>
High CLA	38.7 ± 21.3	44.1 ± 26.8	49.5 ± 33.8 <sup>*b</sup>
-glutamyltranspeptidase ( -GTP, IU/L)			
Placebo	71.4 ± 48.7	73.1 ± 55.3	66.5 ± 49.1
Low CLA	53.1 ± 24.2	57.5 ± 26.3*	56.9 ± 23.4
High CLA	56.8 ± 29.4	68.9 ± 42.9*	61.5 ± 33.0

All values are Mean ± SD (n=20). Low CLA, 5.4 g/day; High CLA, 10.8 g/day.

\* Significantly different from the initial value at  $P < 0.05$ .

Values with different superscript letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

## 5) 試験開始時において正常な血清パラメーターを有する明らかな健常者の集団のみの場合(肝臓障害パラメーター)

Group	0 week	6 week	12 week
Aspartate aminotransferase (AST, IU/L)			
Placebo	24.3 ± 6.4	22.8 ± 7.1	25.8 ± 9.1
Low CLA	18.8 ± 3.6	23.5 ± 13.7	20.1 ± 2.2
High CLA	20.0 ± 4.0	23.9 ± 7.9	27.7 ± 10.5
Alanine aminotransferase (ALT, IU/L)			
Placebo	32.0 ± 7.1	27.0 ± 11.2	31.8 ± 11.1
Low CLA	24.2 ± 6.2	26.7 ± 9.6	28.3 ± 9.8
High CLA	26.3 ± 8.2	30.7 ± 10.9	37.3 ± 18.9
-glutamyl-tarnsferase ( -GTP, IU/L)			
Placebo	34.1 ± 10.9	32.4 ± 9.0	32.1 ± 8.8 <sup>a</sup>
Low CLA	41.8 ± 11.8	48.3 ± 16.1	47.7 ± 14.4 <sup>ab</sup>
High CLA	42.4 ± 15.5	59.0 ± 44.3	53.3 ± 26.0 <sup>b</sup>

All values are Mean ± SD. Placebo (n=8); Low CLA, 5.4g/day (n=10); High CLA, 10.8 day /day (n=7).

Values with different superscript letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

## 6) 肝臓・腎臓のコントラスト比

Group	0 week	6 week	12 week
Hepatorenal contrast			
Placebo	2.37 ± 0.75	2.30 ± 0.83	2.30 ± 0.65
Low CLA	2.52 ± 0.87	2.59 ± 0.75	2.63 ± 0.81
High CLA	2.63 ± 1.08	2.59 ± 1.04	2.49 ± 0.97

All values are Mean ± SD (n=20 except for indicated in the table).  
Low CLA, 5.4 g/day; High CLA, 10.8 g/day.

## 7)まとめ

今回実施したヒト試験結果より、健常な日本人における食事性CLAの安全性レベルは 3.4 g/day であると示唆された。

**Safety of dietary conjugated linoleic acid (CLA) in a 12-weeks trial in healthy overweight Japanese male volunteers**

*J.Oleo Sci., 56, 517, 2007*

岩田敏夫<sup>1</sup>、亀谷 剛<sup>1</sup>、山内 佐藤良枝<sup>1</sup>、小川明子<sup>1</sup>、笠井通雄<sup>1</sup>、青山敏明<sup>1</sup>、  
近藤和雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 日清オイリオグループ株式会社    <sup>2</sup> お茶ノ水女子大学

### 3-3. 臨床試験(海外報告)

・53のヒト試験が実施され、2,000人以上の被験者が参加しているが、有害な副作用は確認されていない。

・その内、30のヒト試験で、50:50の異性体混合のCLAを使っており、特に下記の5つのヒト試験では安全性の評価を行っている。

- ・Whigham et al. (2004) : 6 g/日、1年間
- ・Gaullier et al. (2004, 2005) : 3.4g/日、1 ~ 2年間
- ・Syvertsen et al. (2006) : 3.4g/日、半年間
- ・Watras et al. (2006) : 3.2g/日、半年間

### 3-3 海外報告(1)

## Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in obese humans

*L.D. Whigham, M. OShea, I.C.M. Mohede, H.P. Walaski, R.L. Atkinson*

*Food and Chemical Toxicology 42 (2004) 1701–1709*

- CLA6g/日、6ヶ月間摂取
- 無作為割付、二重盲検、平行群間比較試験を26週間、その後、オープンラベル試験を24週間実施
- 50人オーバーウエイト及び肥満患者(BMI 27-35 kg/m<sup>2</sup>)
- ウィスコンシン大学で実施
- 副作用はなし。
- 全ての安全性パラメーターは正常範囲内であった。  
(blood lipids, cell counts, HOMA, liver enzymes)

### 3-3 海外報告(2)

## Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans

Jean-Michel Gaullier, Johan Halse, Kjetil Høye, Knut Kristiansen, Hans Fagertun, Hogne Vik, and Ola Gudmundsen

*Am J Clin Nutr* 2004;79:1118–25

- CLA3.4g/日、1年間摂取
- 無作為割付、二重盲検、平行群間比較試験(プラセボ:オリーブ油)
- 180人のオーバーウエイトな大人
- ノルウェーで2つの病院で実施
- 副作用はなし
- 肝臓酵素、インスリン感受性(HOMA)は変化なし。
- 脂質パラメーターは正常範囲内で変動した。

### 3-3 海外報告(3)

## Supplementation with Conjugated Linoleic Acid for 24 Months Is Well Tolerated by and Reduces Body Fat Mass in Healthy, Overweight Humans

*Jean-Michel Gaullier, Johan Halse, Kjetil Høye, Knut Kristiansen, Hans Fagertun, Hogne Vik, and Ola Gudmundsen*

*J. Nutr. 135: 778–784, 2005*

- CLA3.4g/日、2年間摂取
- 2年目はオープンラベル試験に移行。
- 134人のオーバーウエイトな大人
- ノルウェーで2つの病院で実施
- 副作用はなし
- 安全性パラメーターは全て正常範囲内であった。
- CLAは24ヶ月間の摂取でも異常はない。



### 3-3 海外報告(4)

## The effect of 6 months supplementation with conjugated linoleic acid on insulin resistance in overweight and obese

C Syvertsen, J Halse, HO Høivik, J-M Gaullier, M Nurminiemi, K Kristiansen, A Einerhand, M O'Shea and O Gudmundsen

*International Journal of Obesity (2006)*

*also: British Journal of Nutrition (2007), 97, 550–560 as Gaullier et al*

- CLA3.4g/日、6ヶ月間摂取
- 無作為割付、二重盲検、平行群間比較試験(プラセボ:オリーブ油)
- 118人オーバーウエイト及び肥満患者(BMI 28-32 kg/m<sup>2</sup>)
- ノルウェー
- 副作用なし。
- 血清脂質、炎症関連、糖尿病誘発マーカー(クランプ法)での安全性パラメーターはすべて正常範囲内であった。

### 3-3 海外報告(5)

## The role of conjugated linoleic acid in reducing body fat and preventing holiday weight gain

AC Watras, AC Buchholz, RN Close, Z Zhang and DA Schoeller

*International Journal of Obesity*

*advance online publication, 22 August 2006*

- CLA3.2g/日、6ヶ月間摂取
- 無作為割付、二重盲検、平行群間比較試験  
(プラセボ: サフラワー油)
- 44人のオーバーウエイトの大人 (BMI 27-35 kg/m<sup>2</sup>)
- ウィスコンシン大学で実施
- 副作用はなし。
- 全ての安全性パラメーターは正常範囲内であった。  
(blood lipids, cell counts, HOMA, liver enzymes)

## 4 . 海外における規制状況(1)

- ・2002年 7月12日:デンマーク 健康省  
CLAは栄養補助食品として市販することができる。
- ・2003年 2月5日:ドイツ German Institute of risk evaluation  
CLAは1997年5月前までは市販することができたが、栄養補助食品として市販することができる。
- ・2004年 3月:米国の2つの独立した専門委員会がCLA異性体ミクスチャーの安全性を評価し、CLA isomer mixture (50:50) はGRAS (self-affirmed)とした。
- ・2004年 7月29日:スペイン Spanish Food safety authority  
CLAを市販する前に食品用途での承認は必要としない。

## 4 . 海外における規制状況 ( 2 )

### ・2006年 4月21日 欧州

CLAは使用用途によってNovel Food Regulationのもとで評価され、認められるべきである。

### ・2007年 スペイン、アイルランド

両国にNovel Foodsの申請あり。

→2008年5～6月、両国の食品安全局が個々に適合していると判断 →現在、EU委員会が最終許可判定を検討中。

### ・2007年 7月31日 米国

FDAにGRAS申請あり。

→CLA強化食品のラベル内容は、大人における脂肪ロスの使用目的と推奨摂取量を明らかに示すことになる。

(例えば、1日当たり2回摂取：1回当たり1.5g CLA)

→2008年7月に認可。