

静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府

博士論文

茶及びその成分を利用した補完代替医療の臨床的展開

Clinical studies on complementary and alternative therapies
using tea and its ingredients

医薬品情報解析学講座

井出 和希

(IDE, Kazuki)

2016 年 9 月

茶及びその成分を利用した補完代替医療の臨床的展開

Clinical studies on complementary and alternative therapies
using tea and its ingredients

本論文は静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府

博士論文である

2016 年 9 月

(September 2016)

静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府

博士後期課程薬科学専攻

井出 和希

(IDE, Kazuki)

目次

序論.....	1
本論.....	3
第1章 緑茶うがいによるインフルエンザ予防：ランダム化比較対照試験	3
1-1 緒言	3
1-2 方法	5
1-2-1 試験デザインの概要	5
1-2-2 施設及び対象者	5
1-2-3 ランダム割付及び介入	6
1-2-4 評価項目	7
1-2-5 統計学的解析	7
1-2-6 倫理的配慮・利益相反	8
1-3 結果	9
1-3-1 試験の概要	9
1-3-2 背景情報	10
1-3-3 インフルエンザ抗原陽性例・臨床診断例の比較	12
1-3-4 多重ロジスティック回帰分析による他の因子の調整	13
1-3-5 罹患までの期間を考慮した比較	15
1-4 考察	18
第2章 緑茶うがいによるインフルエンザ予防：Bayes 論の適用による推定	20
2-1 緒言	20
2-2 方法	21
2-2-1 試験デザインの概要	21
2-2-2 試験情報：主要評価項目	21
2-2-3 試験情報：解析対象集団	21
2-2-4 試験情報：試験結果の概要	22
2-2-5 統計学的解析	22
2-2-6 倫理的配慮・利益相反	23
2-3 結果	24
2-3-1 背景情報	24
2-3-2 事後確率と95%信用区間	26
2-3-3 単ロジスティック・多重ロジスティック回帰分析	26
2-4 考察	28
第3章 茶やその成分によるうがいによるインフルエンザ予防：メタ解析	30

3-1 緒言	30
3-2 方法	31
3-2-1 試験デザインの概要	31
3-2-2 文献調査の手順及び選択基準	31
3-2-3 データの抽出	33
3-2-4 評価項目	33
3-2-5 統計学的解析	33
3-2-6 倫理的配慮・利益相反	34
3-3 結果	35
3-3-1 文献調査	35
3-3-2 試験の質の評価	37
3-3-3 異質性の評価	37
3-3-4 統合解析による有効性の評価	37
3-3-5 出版バイアスの評価	39
3-4 考察	40
第4章 緑茶抹摂取による認知機能低下の進行抑制：前後比較試験	42
4-1 緒言	42
4-2 方法	43
4-2-1 試験デザインの概要	43
4-2-2 施設及び対象者	43
4-2-3 介入	44
4-2-4 評価項目	44
4-2-5 統計学的解析	45
4-2-6 倫理的配慮・利益相反	45
4-3 結果	46
4-3-1 試験の概要	46
4-3-2 背景情報	46
4-3-3 MMSE-J スコアの前後比較	48
4-3-4 検査値の前後比較	49
4-4 考察	50
第5章 緑茶抹摂取による認知機能低下の進行抑制：ランダム化比較対照試験	52
5-1 緒言	52
5-2 方法	53
5-2-1 試験デザインの概要	53
5-2-2 施設及び対象者	53
5-2-3 ランダム割付及び介入	53

5-2-4 評価項目	54
5-2-5 統計学的解析	55
5-2-6 倫理的配慮・利益相反	56
5-3 結果	57
5-3-1 試験の概要	57
5-3-2 背景情報	58
5-3-3 MMSE-J スコアの群間比較.....	61
5-3-4 検査値、NPI-Q の群間比較.....	64
5-4 考察	71
総括.....	73
謝辞.....	75
引用文献.....	76

本論文では以下の略語を用いた

ADL	activity of daily living
AIC	Akaike information criterion
ANCOVA	analysis of covariance
BIC	Bayesian information criterion
BMI	body mass index
CI	confidence interval
CT	computed tomography
DBP	diastolic blood pressure
DIC	deviance information criterion
Diff	difference
EGCG	epigallocatechin gallate
ER	estimated risk
FAS	full analysis set
FPG	fasting plasma glucose
HbA1c	hemoglobin A1c
HDL-C	high-density lipoprotein cholesterol
HPLC	high performance liquid chromatography
HR	hazard ratio
LDL-C	low-density lipoprotein cholesterol
LOCF	last observation carried forward
LSM	least square mean
MCI	mild cognitive impairment
MCMC	Markov chain Monte Carlo
MDA-LDL	malondialdehyde-modified LDL
MMSE-J	Mini-Mental State Examination Japanese version
MRI	magnetic resonance imaging
NPI-Q	Neuropsychiatric Inventory Questionnaire
OR	odds ratio
PPS	per protocol set
QOL	quality of life
SBP	systolic blood pressure

SD	standard deviation
SE	standard error
TC	total cholesterol
TG	triglyceride
UMIN	University hospital Medical Information Network
UMIN-CTR	UMIN Clinical Trials Registry
WHO	World Health Organization

序論

茶は、ツバキ科ツバキ属 *Camellia sinensis* の葉から作られ、アジア圏の国々を中心に、世界的に広く飲用されている (1, 2)。また、茶の主たる生理活性成分は、カテキン類、テアニンである (1, 3-6)。健康に対する潜在的な作用としては、インフルエンザ予防作用 (7-9) を含む抗微生物作用 (10-12)、認知機能低下の進行抑制作用 (4)、心血管障害リスクの軽減作用 (13-15)、抗悪性腫瘍作用 (16, 17) 等が期待されている。これらの期待される作用の内、特に、インフルエンザ予防作用 (7-9)、認知機能低下の進行抑制作用 (4) については、これまでに多くの基礎研究と少数の探索的な臨床研究が為されてきた。

インフルエンザ予防作用 (7-9, 18) については、1949 年の Green の報告以降 (7)、機序の検討が行われている。具体的には、インフルエンザウイルスの細胞への接着阻害 (8, 19)、複製阻害 (19)、ノイラミニダーゼ阻害 (20) といった機序がこれまでに明らかとなっている。インフルエンザの予防としては、現在、薬学的方法として世界保健機構 (World Health Organization, WHO) の推奨するワクチンの接種やノイラミニダーゼ阻害薬の予防的投与が行われている (21-25)。一方、ワクチンの接種においては抗原型が一致する必要があることや国により製造量に限界があることが指摘されている (22, 23, 26, 27)。また、非薬学的方法として手指消毒やマスク、うがいといった方法が推奨され、臨床的な有用性について一部の検討が為されている (28-31)。しかしながら、手指消毒やマスクといった予防法は単独では効果が十分でないことが示唆されており、予防法の組み合わせや予防法的作用を向上させる工夫が必要となる (29-31)。基礎研究により明らかとされている茶やその成分の抗インフルエンザウイルス作用は、予防法的作用向上に寄与する可能性がある。ヒトにおける作用については、いわゆるサプリメント (32, 33) やうがい液 (34-37) として茶やその成分を用いたインフルエンザ予防効果の探索的検討が行われているものの、予防効果についてのエビデンスは確立されていない。予防法的作用向上という観点では、うがい液として茶やその成分を活用することが期待され、先行する探索的試験の結果を反映した大規模なランダム化比較対照試験の遂行や試験結果の統合によるエビデンスの確立が求められている。

認知機能低下の進行抑制作用 (4) については、げっ歯類による行動薬理学的の検討が広く行われてきた (38-42)。具体的には、ストレプトゾトシン誘発性認知症モデルラットに対する 4 週間のエピガロカテキンガレートの経口投与による空間学習・記憶能力の改善と随伴する酸化ストレスの低減やコリンエステラーゼ活性の低下 (42)、アルツハイマー型認知症原因タンパク質のひとつであるアミロイド β 投与ラットにおける認知機能低下の予防作用と中枢における脂質酸化のレベルを指標とした抗酸化能の向上 (39) が報告されている。ヒトにおける茶の摂取と認知機能との関連については観察研究 (横断研究及び縦断研究) を中心に検討されているものの、国や集団により結果は異なり一貫した結論は得られていない (4)。介入研究については、これまでに国内外で 2 試験が行われたものの、探索的な小規模試験 (43, 44) 及び茶の成分を利用したサプリメントの作用を明らかにするための試験であり (45)、日常的に摂取する茶の作用についての臨床的知見は乏しい。

これらの背景に基づき、本研究では、茶を利用した補完代替医療の臨床的展開を目的に、インフルエンザ予防、認知機能低下の進行抑制に関する検討を行った。

第1から3章ではインフルエンザ予防作用に着目した。第1章では、高等学校の生徒を対象とした多施設共同ランダム化比較対照試験により、茶によるうがいのインフルエンザ予防作用について臨床的な有用性を検討した (46)。第2章では、高等学校の生徒を対象とした試験により得られた結果について、第1章とは異なる Bayes 流の統計学的手法を適用することで結果の多面的な解釈を試みた (47)。第3章では、筆者らの試験を含むこれまでに行われた茶やその成分によるうがいのインフルエンザ予防効果を評価した試験の結果を集積し、メタ解析により頑健性の高いエビデンスの構築を目指した (48)。第4、5章では認知機能低下の進行抑制作用に着目した。第4章では、緑茶摂取の作用を探索的に明らかにすべく、認知機能低下を有する高齢者を対象とした3か月間の前後比較試験を行った (49)。第5章では、第4章の探索的検討を踏まえ、1年間の長期的な摂取の影響を、より質の高い試験デザインにより明らかにすべくランダム化比較対照試験を行った (50)。

本論

第1章 緑茶うがいによるインフルエンザ予防：ランダム化比較対照試験

1-1 緒言

インフルエンザは、急な発熱や筋肉痛、気道の炎症を特徴とする冬季に流行する急性の呼吸器感染症である (21, 51, 52)。世界的には、毎年、一般集団の 10%から 20%がインフルエンザに罹患するといわれている (53-55)。国立感染症研究所の発生動向調査を参照すると、本邦においても同程度の罹患が生じていると考えられる (56)。重篤な合併症として、成人では肺炎 (57)、小児では脳症が問題となり (58)、世界的には流行期毎に 25 万人から 50 万人が死に至ると推測されている (21)。そのため、インフルエンザの予防は、公衆衛生学上非常に重要である。本邦では、厚生労働省によりインフルエンザ総合対策が取りまとめられ、国や地方自治体によるインフルエンザ対策が推進される状況にある (59)。

インフルエンザの予防としては、現在、ワクチンの接種やノイラミニダーゼ阻害薬 (オセルタミビル, ザナミビル, ラニナミビル) の予防的使用が行われている (21-25)。一方、ワクチンの接種については抗原型が一致する必要がある、不一致によりその有効性は低下する (60)。加えて、国により製造量に限界があることが指摘されている (22, 23, 26, 27)。また、ノイラミニダーゼ阻害薬については、その作用が限定的であることが Cochrane Reviews により示されており (25)、耐性ウイルスの存在も問題となっている (61-63)。このような状況から、ワクチンの接種やノイラミニダーゼ阻害薬の予防的使用といった薬学的な予防法だけでなく、非薬学的な予防法の活用がすすめられている (28, 52, 64)。

非薬学的な予防法としては、手指の消毒やマスクの着用、うがいといった方法があり (28, 52, 64)、臨床的な有用性について一部の検討が為されている (29-31)。しかしながら、手指消毒やマスクの着用は単独では効果が十分でないことがランダム化比較対照試験及びメタ解析により示唆されており、予防法の組み合わせや予防法の作用向上などの工夫が必要となる (29-31)。予防法の作用向上は、抗インフルエンザウイルス作用をもつ化合物そのものや含有する食品等を活用することで可能であると考えられる。

茶に含まれる生理活性成分のひとつであるカテキン類は抗インフルエンザウイルス作用を有する。カテキン類の抗インフルエンザウイルス作用については、1) 宿主細胞への接着阻害 (8, 19)、2) 複製阻害 (19)、3) ノイラミニダーゼ阻害 (20) といった機序がこれまでに明らかにされている。特に、接着阻害作用、ノイラミニダーゼ阻害作用は、A、B 型インフルエンザウイルスのいずれでも認められている。

ヒトにおける作用については、いわゆるサプリメント (32, 33) やうがい液 (34-37) として茶やその成分を用いたインフルエンザ予防の探索的検討が為されている。いわゆるサプリメントを用いた臨床試験では、咳やのどの痛みといった症状発現の抑制 (32) やインフルエンザの罹患そのものの抑制 (33) について示唆されている。また、うがい液として茶やその成分を用いた検討においても、インフルエンザの罹患が抑制される可能性が示されているものの、いずれの試験も探索的なものであり、一貫した結論は得られていない

(34-37)。そのため、先行する探索的試験の結果を反映した大規模なランダム化比較対象試験の遂行が必要である。先行する試験で対象となった集団は、高等学校の生徒から介護福祉施設入所中の高齢者まで様々であるが、特に高等学校の生徒は罹患機会が多く、感染の広がりにも影響を及ぼす可能性がある (65, 66)。従って、予防法を試行する集団として望ましく、公衆衛生学上の寄与も大きいものと考えられる。

これらの背景に基づき、高等学校の生徒を対象とした多施設共同並行群間ランダム化比較対照試験により緑茶うがいによるインフルエンザ予防作用について臨床的な有用性を検討した。

1-2 方法

1-2-1 試験デザインの概要

緑茶によるうがいのインフルエンザ予防効果を検証すべく、多施設共同並行群間ランダム化比較対照試験を実施した。試験はオープンラベルで行い、対照群は水によるうがいを行うものとした。試験期間は 2011 年 12 月から 2012 年 2 月の 90 日間とした。うがいの遵守状況、インフルエンザの罹患状況について 1 日ごと記録を行い、インフルエンザ抗原陽性例、臨床診断例を評価項目として、緑茶うがいのインフルエンザ予防作用を水うがいと比較した。

1-2-2 施設及び対象者

静岡県掛川小笠地区に所在する 6 高等学校 (静岡県立掛川西高等学校, 静岡県立掛川東高等学校, 静岡県立掛川工業高等学校, 静岡県立横須賀高等学校, 静岡県立小笠高等学校, 静岡県立池新田高等学校) に在籍する 1、2 学年の生徒 2,838 名を対象として、ポスター及び校内集会等における呼びかけにより参加者を募集した。募集に応じた高等学校の生徒のうち、次の適格基準を満たすものを試験の対象とした。

- 選択基準:
- 1) 研究への登録前に本人及び保護者より文書によるインフォームドコンセントが得られている者
 - 2) 15 歳から 20 歳の者 (性別は問わない)
 - 3) 90 日間のうがいを実施可能である者
 - 4) 調査票の記入が可能である者

- 除外基準:
- 1) 茶アレルギー (喘息, 発疹等の既往) のある者
 - 2) 研究開始 6 ヶ月以内にインフルエンザに罹患した者
 - 3) その他、医師が本研究の対象者として不適格であると判断した者

適格基準を満たす参加者は、次の背景情報について調査票に記入を行った。

- 背景情報:
- 年齢、性別、Body mass index (BMI)、インフルエンザワクチン接種の有無
 - 公共交通機関の利用の有無、部活動の種別 (文化部, 運動部)
 - 緑茶の摂取習慣 (200 mL/日 以上の摂取) の有無

1-2-3 ランダム割付及び介入

試験への参加が可能であると判断された者を対象として、静岡県立総合病院創薬育薬研究室データマネジメントセンター（静岡県静岡市）においてランダム割付を行った。ランダム割付の方法は層別ブロックランダム化法とし、コンピュータにより発生させた擬似乱数を用い、高等学校、各校の組（クラス）を層別化因子とした。緑茶群、水群（対照群）への割付の比率は 1:1 とした。

緑茶群に割付られた参加者は、緑茶飲料（掛川茶商共同組合製造；市販・飲用されるペットボトル入り緑茶）によるうがいを、水群に割り付けられた参加者は水道水によるうがいを、1 日 3 回実施した。水群に割り付けられた参加者の試験期間中の緑茶によるうがいは禁止した。試験期間中の緑茶及び他の茶飲料の摂取については、倫理的側面に配慮し、両群で制限を設けなかった。緑茶群の用いた緑茶中には 37.2 mg/100 mL のカテキン類を含み（高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography, HPLC）による測定）、そのうち 14.0%がエピガロカテキンガレート（epigallocatechin gallate, EGCG）であった。介入に用いる緑茶飲料は全て同一製造ロット（2011 年 9 月）の製品とした（Table 1）。

Table 1. Green tea ingredients.

Catechins	mg/100 mL
Total catechins	37.2
(-)-Gallocatechin	14.1
(-)-Epigallocatechin	6.6
(+)-Catechin	2.5
(-)-Epicatechin	1.5
(-)-Epigallocatechin gallate	5.2
(-)-Gallocatechin gallate	5.3
(-)-Epicatechin gallate	0.7
(-)-Catechin gallate	1.4

参加者は、以下の項目について、1 日 1 回、質問票への記入を行った。

調査項目： インフルエンザ罹患の有無、他のインフルエンザ予防法
（手洗い、マスクの着用）の有無、有害事象の有無、うがいの遵守状況

調査票は 2 週間毎に、各学校、各クラスを担当する教員による回収を行った。安全性のモニタリングについては、試験期間中を通して実施した。データマネジメント及び安全性のモニタリングにあたっては、各高等学校の学年主任及び校長の協力を得た。

1-2-4 評価項目

主要評価項目は、イムノクロマトグラフィー法によるインフルエンザ抗原陽性例とし、参加者がインフルエンザ様の症状を訴えた際に受診した医療機関において実施することとした。尚、イムノクロマトグラフィー法に用いる鼻腔拭い液の試料採取は医療機関に所属する医師が実施した。また、インフルエンザ抗原陽性例の評価に用いるイムノクロマトグラフィー法の感度はインフルエンザ A 型ウイルスに対して 64.4% (95%信頼区間 (confidence interval, CI); 59.0, 70.1)、インフルエンザ B 型ウイルスに対して 52.2% (95%CI; 45.0, 59.3) と報告されている (67)。

副次評価項は、1) インフルエンザ臨床診断例及び 2) インフルエンザ罹患 (抗原陽性例及び臨床診断例を対象とし、それぞれを別に扱う) までの期間とした。インフルエンザ臨床診断例は、Boivin らの提唱する次の基準を満たすものとし、参加者の記入する調査票の情報より罹患の有無を評価した (68)。

インフルエンザ臨床診断例: 37.8 度以上の発熱があり、咳、のどの痛み、頭痛、筋肉痛の 4 症状のうち 2 つ以上の症状を有する例

1-2-5 統計学的解析

症例数は山田ら、豊泉らにより 2007 年、2013 年に報告された試験の結果をもとに設計した (36, 37)。緑茶群のインフルエンザ抗原陽性例を 4%、水群のインフルエンザ抗原陽性例を 10%と仮定し、検出力 80%、両側有意水準 5%と設定した。結果、各群 306 名の参加が必要であると算出された。脱落率は、2013 年に豊泉らにより報告された高等学校におけるランダム化比較対照試験を参考として 15%を想定し (37)、各群 360 例、両群合計 720 名の参加者により試験を行うこととした。

有効性の解析にあたっては、full analysis set (FAS) 及び per protocol set (PPS) を次の条件に従い設定した。安全性の解析は FAS を対象に行うこととし、有害事象の発生状況について調査を行った。FAS 及び PPS は割付られた参加者のうち、以下の条件に該当する者を除いた集団とした。

- FAS: 1) うがいを全く行わなかった者
 2) うがい実施後のデータを全く得ることの出来なかった者
 3) 試験期間中に同意を撤回し、本研究におけるデータの使用を拒否した者
- PPS: 1) FAS における 1～3 の条件のいずれかに該当するもの
 2) うがいの実施率が 75%未満の者
 3) 水群において緑茶によるうがいを行った者

参加者背景、参加期間中の参加者の記入情報に関して、計量値は平均値、標準偏差 (standard deviation, SD) 及び値の幅 (最小値, 最大値) を、計数値は例数及び割合を示した。主要評価項目であるインフルエンザ抗原陽性例の群間比較、副次評価項目であるインフル

エンザ臨床診断例の群間比較にあたっては、Fisher の正確確率検定を用い (69)、併せて罹患率及び罹患率の差の 95% CI を求めた。罹患率の 95% CI の算出には Wilson スコアを、罹患率の差の 95% CI の算出には、Farrington-Manning スコアを用いた (70)。多変量解析として、インフルエンザ罹患 (抗原陽性例, 臨床診断例) の有無を従属変数、影響を及ぼす他の因子を独立変数とした多重ロジスティック回帰分析を行い、調整済みオッズ比 (odds ratio, OR) と 95% CI を求めた (71)。影響を及ぼす因子としては、医学的な根拠をもとにインフルエンザワクチンの接種の有無を強制投入法によりモデルに組み込み、他の因子はステップワイズ法により選択を行うこととした。ステップワイズ法における変数選択の閾値は SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 規定値である 0.15 とした。副次評価項目である罹患までの期間を加味した解析として、Kaplan-Meier 法を用い累積罹患率を推定し (72)、Cox の比例ハザードモデルを用いた回帰分析 (Cox 回帰) を併せて行い、ハザード比 (hazard ratio, HR) と 95% CI を求めた (73)。Cox 回帰における影響を及ぼす他の因子は、多重ロジスティック回帰分析において選択された変数を考慮することとした。

有意水準は 5% ($P < 0.05$) と設定し、統計学的解析には SPSS for Windows, version 21.0 (IBM Cop., Armonk, NY) 及び SAS version 9.4 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。

1-2-6 倫理的配慮・利益相反

本研究は事前に静岡県立大学倫理審査委員会による承認を受け (No. 22-16; 2010 年 9 月 6 日承認)、ヘルシンキ宣言 (ソウル改訂) (74) 及び臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) (75) に則り実施した。尚、試験の実施にあたっては、ClinicalTrials.gov における臨床試験事前登録を行った (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01225770)。

試験への参加にあたっては、登録前に本人及び保護者より文書によるインフォームドコンセントを得た。当該研究において利益相反関係にある企業等はない。

1-3 結果

1-3-1 試験の概要

試験の流れ図 (flow diagram) を **Figure 1** に示した。試験への参加を呼びかけた静岡県掛川小笠地区に所在する 6 高等学校 (静岡県立掛川西高等学校, 静岡県立掛川東高等学校, 静岡県立掛川工業高等学校, 静岡県立横須賀高等学校, 静岡県立小笠高等学校, 静岡県立池新田高等学校) に在籍する 1、2 学年の生徒 2,838 名中、757 名が試験への参加を希望し、本人及び保護者からインフォームドコンセントを取得した。試験参加に係る適格性評価の結果、757 名全員が基準を満たし、除外基準に該当するものは 0 名であった。757 名を緑茶群または水群にランダムに割付けた。緑茶群に 387 名が、水群に 370 名が割付けられた。割付から試験開始までの期間に 10 名 (緑茶群 3 名, 水群 7 名) が同意撤回により試験から脱落した。747 名が試験を完遂した。PPS の条件を満たすうがい実施率 75%以上の参加者の割合は、緑茶群で 73.7%、水群で 67.2%であった。尚、試験期間中、うがいに関連する重篤な有害事象の発生は認められなかった。

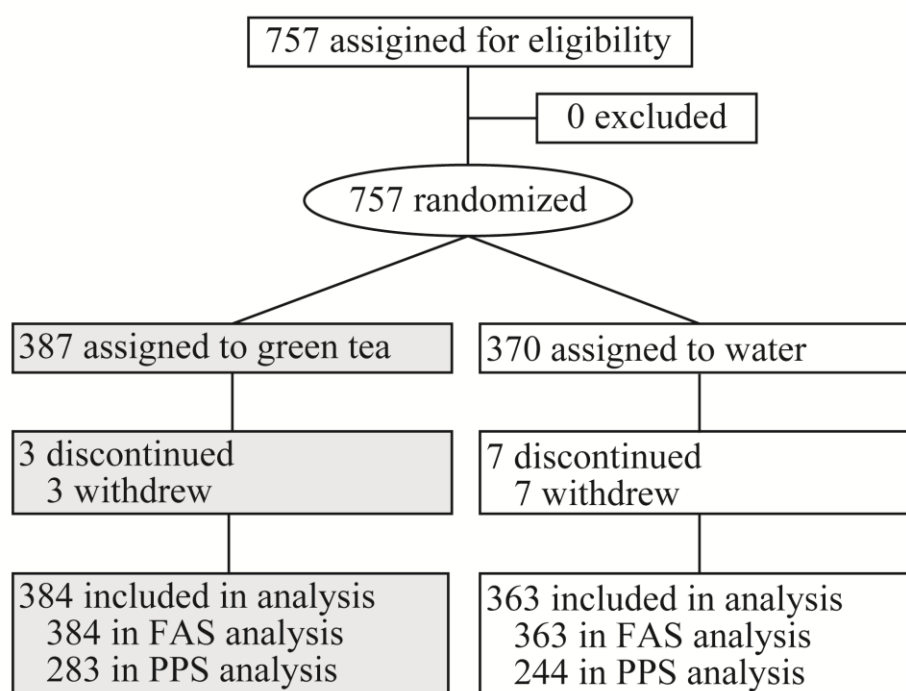


Figure 1. Study flow diagram. FAS, full analysis set; PPS, per protocol set.

1-3-2 背景情報

FAS 及び PPS に含まれる参加者の背景情報を **Table 2** に示した。参加者の年齢は 15 歳から 17 歳であり、平均年齢は 16.1 歳 (緑茶群 16.1 歳, 水群 16.2 歳) であった。男女の参加者数は、緑茶群において男性 224 名 (58.3%)、女性 160 名 (41.7%)、水群において男性 199 名 (54.8%)、女性 164 名 (45.2%) であった。

FAS において、インフルエンザワクチンの接種は緑茶群において 139 名 (36.2%)、水群において 126 名 (34.7%) が行っていた。また、緑茶の飲用習慣 (200 mL/日 以上の摂取) は緑茶群において 270 名 (70.3%)、水群において 261 名 (71.9%) で認められた。部活動の種類 (文化部, 運動部) においてのみ、群間で 7.0% の差が認められたが、他の変数については両群間で大きな差は認められなかった。FAS、PPS 間で大きく異なる項目はなく、PPS において、インフルエンザワクチンの接種は緑茶群において 109 名 (38.5%)、水群において 88 名 (36.1%) が行っていた。また、緑茶の飲用習慣 (200 mL/日 以上の摂取) は緑茶群において 208 名 (73.5%)、水群において 178 名 (73.0%) で認められた。部活動の種類については群間 (文化部, 運動部) で 5.9% の差が認められた。

Table 2. Clinical characteristics of participants.

FAS	Green tea	Water
	<i>n</i> = 384	<i>n</i> = 363
Age, mean (SD) [range]	16.1 (0.7) [15–17]	16.2 (0.7) [15–17]
Sex, <i>n</i> (%)		
Men	224 (58.3)	199 (54.8)
Women	160 (41.7)	164 (45.2)
BMI, mean (SD) [range]	20.5 (2.7) [15.4–36.7]	20.6 (2.4) [15.1–34.9]
Vaccination for influenza, <i>n</i> (%)	139 (36.2)	126 (34.7)
Non-pharmaceutical measure, <i>n</i> (%)		
Hand washing ^a	312 (81.3)	303 (83.5)
Facemasks ^a	52 (13.5)	52 (14.3)
Type of club, <i>n</i> (%)		
Sports	253 (65.9)	214 (58.9)
Culture	131 (34.1)	149 (41.1)
Public transportation, <i>n</i> (%)	181 (47.1)	157 (43.3)
Green tea drinking habit ^b , <i>n</i> (%)	270 (70.3)	261 (71.9)
PPS	Green tea	Water
	<i>n</i> = 283	<i>n</i> = 244
Age, mean (SD) [range]	16.1 (0.7) [15–17]	16.1 (0.7) [15–17]
Sex, <i>n</i> (%)		
Men	163 (57.6)	130 (53.3)
Women	120 (42.4)	114 (46.7)
BMI, mean (SD) [range]	20.5 (2.7) [15.4–36.7]	20.6 (2.4) [16.0–34.9]
Vaccination for influenza, <i>n</i> (%)	109 (38.5)	88 (36.1)
Non-pharmaceutical measure, <i>n</i> (%)		
Hand washing ^a	243 (85.9)	217 (89.0)
Facemasks ^a	41 (14.5)	30 (12.3)
Type of club, <i>n</i> (%)		
Sports	179 (63.3)	140 (57.4)
Culture	104 (36.7)	104 (42.6)
Public transportation, <i>n</i> (%)	134 (47.3)	115 (47.1)
Green tea drinking habit ^b , <i>n</i> (%)	208 (73.5)	178 (73.0)

^a4 days/week or more, ^b≥ 200 mL/day. BMI, body mass index; FAS, full analysis set; PPS, per-protocol set; SD, standard deviation.

1-3-3 インフルエンザ抗原陽性例・臨床診断例の比較

各群、各解析対象集団のインフルエンザ罹患（抗原陽性例、臨床診断例）について **Table 3** に示し、リスクの推定値及び 95% CI を **Table 4** に示した。主要評価項目であるインフルエンザ抗原陽性例は、FAS において 44 名 (5.9%) であった。各群のインフルエンザ抗原陽性例、割合及び Wilson スコアに基づく 95% CI は、緑茶群 19 名 (4.9% (3.0, 7.6))、水群 25 名 (6.9% (4.5, 10.0)) が抗原陽性であり、インフルエンザの罹患を診断された。PPS においては、緑茶群 18 名 (6.4% (3.5, 9.2))、水群 18 名 (7.4% (4.1, 10.7)) が抗原陽性例であった。インフルエンザ抗原陽性例は、FAS、PPS のいずれにおいても緑茶群において低い割合を示した。一方、Fisher の正確確率検定の結果、いずれも有意な差は認められなかった (FAS, $P = 0.28$; PPS, $P = 0.33$)。

インフルエンザ臨床診断例は、FAS において緑茶群 46 名 (12.0% (8.9, 15.7))、水群 53 名 (14.6% (11.1, 18.7)) であり、PPS において緑茶群 34 名 (12.0% (8.5, 16.4))、水群 40 名 (16.4% (12.0, 21.7)) であった。インフルエンザ臨床診断例は、抗原陽性例と同様に FAS、PPS のいずれにおいても緑茶群において低い割合を示した。Fisher の正確確率検定の結果、いずれも有意な差は認められなかった (FAS, $P = 0.73$; PPS, $P = 0.17$)。

Table 3. Influenza infection rates.

FAS	Laboratory-confirmed influenza		FAS	Clinically-confirmed influenza	
	-	+		-	+
Green tea, n (%)	365 (95.1)	19 (4.9)	Green tea, n (%)	338 (88.0)	46 (12.0)
Water, n (%)	338 (93.1)	25 (6.9)	Water, n (%)	310 (85.4)	53 (14.6)
PPS	Laboratory-confirmed influenza		PPS	Clinically-confirmed influenza	
	-	+		-	+
Green tea, n (%)	265 (93.6)	18 (6.4)	Green tea, n (%)	249 (88.0)	34 (12.0)
Water, n (%)	226 (92.6)	18 (7.4)	Water, n (%)	204 (83.6)	40 (16.4)

FAS, full analysis set; PPS, per-protocol set.

Table 4. Estimated risk of influenza infection and difference between groups.

FAS	Laboratory-confirmed influenza		Clinically-confirmed influenza	
	ER	95% CI	ER	95% CI
Water	0.069	(0.045, 0.100)	0.146	(0.111, 0.187)
Green tea	0.050	(0.030, 0.076)	0.120	(0.089, 0.157)
Risk difference	0.019	(-0.015, 0.056)	0.026	(-0.024, 0.077)
PPS	Laboratory-confirmed influenza		Clinically-confirmed influenza	
	ER	95% CI	ER	95% CI
Water	0.074	(0.041, 0.107)	0.164	(0.120, 0.217)
Green tea	0.064	(0.035, 0.092)	0.120	(0.085, 0.164)
Risk difference	0.010	(-0.033, 0.054)	0.044	(-0.017, 0.106)

ER, estimated risk; FAS, full analysis set; PPS, per-protocol set.

1-3-4 多重ロジスティック回帰分析による他の因子の調整

多変量解析として、インフルエンザ罹患（抗原陽性例，臨床診断例）の有無を従属変数、影響を及ぼす他の因子を独立変数とした多重ロジスティック回帰分析を行った。インフルエンザワクチンの接種の有無を強制投入法によりモデルに組み込み、他の因子はステップワイズ法により選択した。

インフルエンザ抗原陽性例について解析を行った結果、FAS、PPSともに有意な差は認められなかった（FAS: 0.62 (0.33, 1.16), 調整済み OR (95% CI); $P = 0.13$. PPS: 0.76 (0.38, 1.53), $P = 0.44$) (Table 5)。影響を及ぼす他の因子としては、年齢（FAS: 0.44 (0.28, 0.70), 調整済み OR (95% CI); $P < 0.001$. PPS: 0.43 (0.26, 0.72), $P = 0.001$ ）、性別（FAS: 0.19 (0.08, 0.43), 調整済み OR (95% CI); $P < 0.001$; PPS: 0.24 (0.10, 0.57), $P = 0.001$ ）が選択された。

インフルエンザ臨床診断例についても同様に解析を行った結果、FAS、PPSともに有意な差は認められなかった（FAS: 0.76 (0.49, 1.17), 調整済み OR (95% CI); $P = 0.22$. PPS: 0.65 (0.40, 1.08), $P = 0.10$) (Table 6)。影響を及ぼす他の因子としては、FASにおいて年齢（0.72 (0.53, 0.99), 調整済み OR (95% CI); $P = 0.04$ ）、性別（0.39 (0.24, 0.64), $P < 0.001$ ）、手洗いの習慣（2.47 (1.20, 5.08), $P = 0.01$ ）が選択され、PPSにおいて年齢（0.68 (0.47, 0.98), $P = 0.04$ ）、性別（0.41 (0.24, 0.72), $P = 0.002$ ）が選択された。

Table 5. Multivariate logistic regression analysis for laboratory-confirmed influenza.

FAS		
Laboratory-confirmed influenza		
Variable	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Allocation		
Green tea	0.62 (0.33, 1.16)	0.13
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.94 (0.49, 1.80)	0.85
Age (1-year increase)	0.44 (0.28, 0.70)	< 0.001
Sex (women vs men)	0.19 (0.08, 0.43)	< 0.001
PPS		
Laboratory-confirmed influenza		
Variable	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Allocation		
Green tea	0.76 (0.38, 1.53)	0.44
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.70 (0.33, 1.49)	0.36
Age (1-year increase)	0.43 (0.26, 0.72)	0.001
Sex (women vs men)	0.24 (0.10, 0.57)	0.001

CI, confidence interval; FAS, full analysis set; OR, odds ratio; PPS, per-protocol set.

Table 6. Multivariate logistic regression analysis for clinically-confirmed influenza.

FAS		
Clinically-confirmed influenza		
Variable	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Allocation		
Green tea	0.76 (0.49 to 1.17)	0.22
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.93 (0.59, 1.46)	0.74
Age (1-year increase)	0.72 (0.53, 0.99)	0.04
Sex (women vs men)	0.39 (0.24, 0.64)	< 0.001
Hand washing (+ vs -)	2.47 (1.20, 5.08)	0.01

Table 6. Cont.

PPS	Clinically-confirmed influenza	
Variable	OR (95% CI)	P-value
Allocation		
Green tea	0.65 (0.40, 1.08)	0.10
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.72 (0.43, 1.26)	0.26
Age (1-year increase)	0.68 (0.47, 0.98)	0.04
Sex (women vs men)	0.41 (0.24, 0.72)	0.002

CI, confidence interval; FAS, full analysis set; OR, odds ratio; PPS, per-protocol set.

1-3-5 罹患までの期間を考慮した比較

罹患までの期間を考慮した解析として、Kaplan-Meier 法を用い累積罹患率を推定し、Cox 回帰を併せて行った。インフルエンザ抗原陽性例、臨床診断例に対し描出した累積罹患曲線を **Figure 2** に示した。

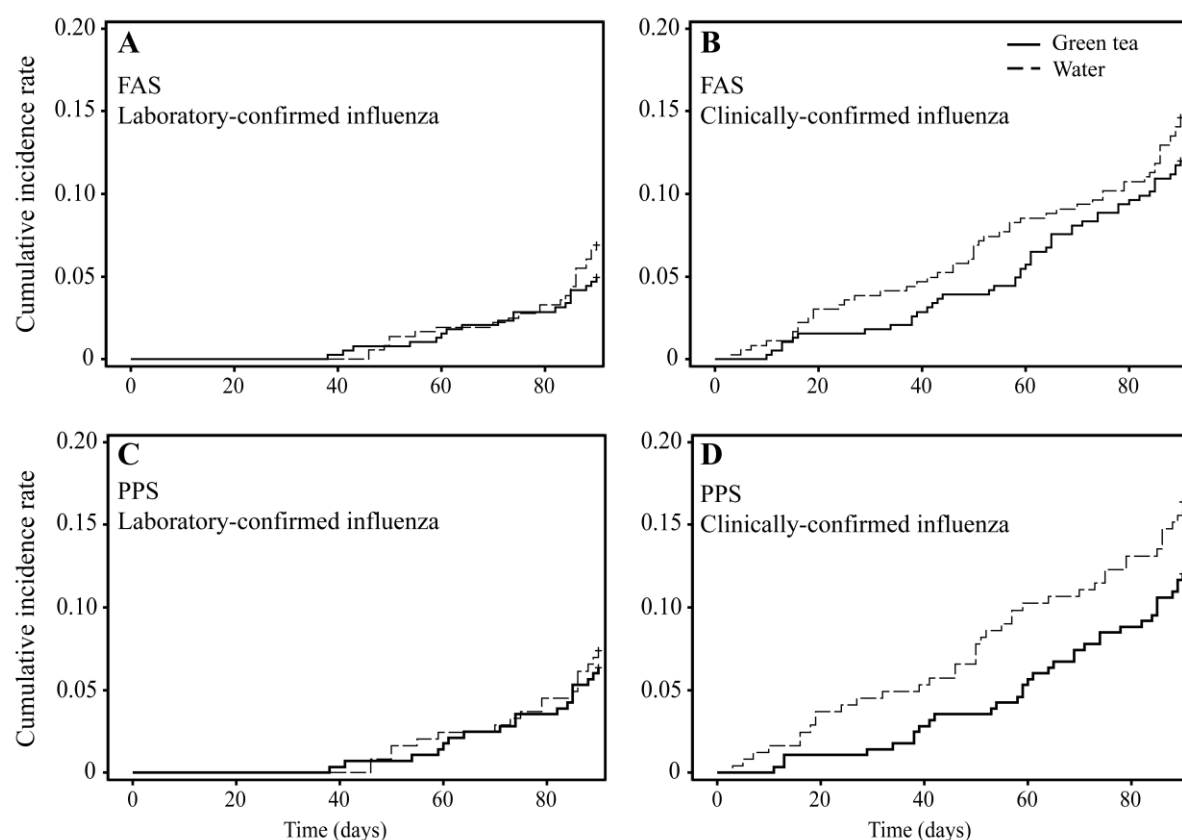


Figure 2. Kaplan-Meier curves for influenza infection. Laboratory-confirmed influenza (A, FAS; C, PPS), and clinically-confirmed influenza (B, FAS; D, PPS).

抗原陽性例について、FAS、PPS 共に 90 日間のいずれの時期においても緑茶うがい群、水うがい群において累積罹患率の推定値に視覚的な差は認められず、PPS においては、介入 60 日時点において両群間に視覚的な差が認められた。

Cox 回帰の結果、抗原陽性例、臨床診断例のいずれについても FAS、PPS で緑茶うがい群におけるインフルエンザ罹患の抑制傾向が示されたものの、有意な差は認められなかった (Table 7, Table 8)。ステップワイズ法を用いた多重ロジスティック回帰分析により選択された他の因子 (年齢, 性別; 臨床診断例 FAS のみ, 性別, 年齢, 手洗い習慣) を考慮した解析の結果、抗原陽性例におけるハザード比 (95% CI; *P* 値) は、FAS において 0.64 (0.35, 1.16; *P* = 0.14)、PPS において 0.77 (0.40, 1.49; *P* = 0.44) であり、臨床診断例におけるハザード比 (95% CI; *P* 値) は、FAS において 0.76 (0.51, 1.14; *P* = 0.18)、PPS において 0.65 (0.41, 1.04; *P* = 0.07) であった。

Table 7. Cox regression analysis for laboratory-confirmed influenza.

FAS		
Laboratory-confirmed influenza		
Variable	HR (95% CI)	<i>P</i> -value
Allocation		
Green tea	0.64 (0.35, 1.16)	0.14
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.94 (0.50, 1.74)	0.83
Age (1-year increase)	0.47 (0.31, 0.73)	< 0.001
Sex (women vs men)	0.20 (0.09, 0.45)	< 0.001
PPS		
Laboratory-confirmed influenza		
Variable	HR (95% CI)	<i>P</i> -value
Allocation		
Green tea	0.77 (0.40, 1.49)	0.44
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.71 (0.35, 1.45)	0.35
Age (1-year increase)	0.46 (0.29, 0.74)	0.002
Sex (women vs men)	0.26 (0.11, 0.59)	0.001

FAS, full analysis set; HR, hazard ratio; PPS, per-protocol set.

Table 8. Cox regression analysis for clinically-confirmed influenza.

FAS	Clinically-confirmed influenza	
Variable	HR (95% CI)	<i>P</i> -value
Allocation		
Green tea	0.76 (0.51, 1.14)	0.18
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.91 (0.60, 1.38)	0.67
Age (1-year increase)	0.75 (0.56 to 1.00)	0.05
Sex (women vs men)	0.42 (0.27 to 0.66)	< 0.001
Hand washing (+ vs -)	2.35 (1.18 to 4.67)	0.02
PPS	Clinically-confirmed influenza	
Variable	HR (95% CI)	<i>P</i> -value
Allocation		
Green tea	0.65 (0.41 to 1.04)	0.07
Water	1 [Reference]	
Vaccination (+ vs -)	0.73 (0.45 to 1.20)	0.22
Age (1-year increase)	0.70 (0.51 to 0.98)	0.04
Sex (women vs men)	0.43 (0.26 to 0.73)	0.001

FAS, full analysis set; HR, hazard ratio; PPS, per-protocol set.

1-4 考察

本章では、高等学校の生徒を対象とした多施設共同並行群間ランダム化比較対照試験により緑茶うがいによるインフルエンザ予防作用について臨床的な有用性を検討した。水うがいを対照とした 90 日間の試験の結果、主要評価項目であるインフルエンザ抗原陽性例は、FAS において緑茶群で 4.9%、水群で 6.9%であり、緑茶うがいによる抑制傾向が認められた。一方、Fisher の正確確率検定の結果は有意でなく、多重ロジスティック回帰分析により影響を及ぼす他の因子を調整した結果についても有意差は認められなかった。

副次的評価項目として評価したインフルエンザ臨床診断例については、FAS において緑茶群で 12.0%、水群で 14.6%であり、抑制傾向が認められた一方で、Fisher の正確確率検定による単変量解析、多重ロジスティック回帰分析のいずれでも有意ではなかった。FAS に比較して遵守率の高い解析対象集団である PPS においても有意差は認められなかった。時期の影響を考慮した Cox 回帰においても抗原陽性例、臨床診断例共に有意差はなく、PPS においても同様であった。以上より、緑茶によるうがいのインフルエンザ予防作用は、水によるうがいと比較して差が認められないことが示唆された。インフルエンザ罹患に影響を及ぼす因子に着目すると、ステップワイズ法を用いた多重ロジスティック回帰分析においては、抗原陽性例、臨床診断例に共通して年齢、性別が選択された。年齢については学年ごとに集団や行動パターンが異なるという高等学校の特性が影響したものと考えられた。また、性差については、20 歳未満の若年層で男性の罹患率が高いと言われており、本研究の結果と一致している。免疫応答の性差との関わりが示唆されているものの詳細は明らかでない (76)。ワクチンの接種は、有効性がシステマティックレビュー等により報告されていることからモデルに組み込んだ一方 (21, 22)、対象集団において罹患に対する有意な差は認められなかった。オッズ比、ハザード比の信頼区間を考慮すると、抗原陽性例の罹患が全体の 6%程度であることが影響したものと考えられた。また、国立感染症研究所は、2011/12 年シーズンにおいて主流であった A(H3N2) ウイルスに関して、分離株の約 34%に変異が認められたことを報告しており (77)、ウイルスの変異も一因であると推察された。

一方で、本研究には幾つかの限界が存在する。主たる研究の限界としては、遵守率の低さが挙げられた。脱落率を 15.0%と設定して症例数を設計し、脱落例は 10 例に留まった一方、PPS に含まれない参加者は 29.5%であった。そのため、FAS、PPS 共に遵守率が結果に影響を及ぼした可能性が高い。今後の試験において遵守率を高めることで、より正確に緑茶の作用を評価することが望ましい。遵守率に影響を及ぼした要因としては、オープンラベルの試験デザインが挙げられる。遵守率は、緑茶群で 73.7%、水群で 67.2%であり、緑茶群に比較して水群で 6.5%低い結果であった。オープンラベルの場合、参加者自身も緑茶、水のいずれに割付られたかを知るため、対照群の遵守率の維持が難しく、バイアスも生じ易い (78)。そのため、風味等を揃えることに対する難しさはあるものの、プラセボ飲料の使用が望ましく、バイアスを排除し試験の質を高めるべく、二重盲検試験を行う必要がある (79)。緑茶群においても遵守率は 73.7%に留まったことから、その他、リマインダーの導入による遵守率の維持等が有効であると考えられた。

他の研究の限界としては、うがいの方法が挙げられる。うがいの方法は先行する研究に従い、1日3回と設定した。しかしながら、先行する研究の中で有意な差の認められた試験は、介護老人福祉施設に入所中の平均年齢83歳の集団を対象としたものであった(35)。高齢者のインフルエンザ罹患は重篤な合併症に繋がりがやすく、死に至る危険性も高いため介護福祉施設では十分な予防策が講じられる(51)。そのような環境下においては1日3回の緑茶成分によるうがいが有効性を示した。一方で、学生集団は他の集団よりもインフルエンザに罹患する機会が多い。一例として、世界的流行期2009年のニューヨーク市内の高等学校において、職員に比較して学生集団で3.5倍の罹患者が生じた(65)。罹患機会の違いが緑茶うがいのインフルエンザ予防作用に影響を及ぼした可能性があり、対象集団に応じてうがいの頻度を高めるなどの方法の改善が必要であることが示唆された。濃度に関しては、EGCGの*in vitro*における抗インフルエンザ作用の認められる10 μ Mに比較して、うがいに用いた緑茶中には15倍以上のEGCGが含まれるものの、生体の環境や暴露時間が作用に影響した可能性がある(8)。

参加者の70.0%以上が緑茶の飲用習慣を有していることも、両群の差に影響を及ぼす一因であると推察された。茶成分を利用した、いわゆるサプリメントによりインフルエンザ予防作用を検討した試験では、カテキン類378 mg/日、テアニン210 mg/dayの摂取がプラセボと比較してインフルエンザ罹患を抑制する傾向が認められている(33)。倫理的側面に配慮し緑茶の摂取に係る制限を設けなかったものの、両群のインフルエンザ罹患の抑制に相乗的に寄与した可能性がある。摂取の影響を避けるためには、茶の飲用習慣に乏しい試験地域・集団を選択することも必要であると考えられた。

以上より、緑茶によるうがいのインフルエンザ予防作用は水に比較して罹患率が低い傾向を認めるに留まった。今後、試験デザインを改善した大規模なランダム化比較対照試験を行うことで緑茶やその成分によるうがいのインフルエンザ予防作用について明らかにする必要がある。

第2章 緑茶うがいによるインフルエンザ予防：Bayes 論の適用による推定

2-1 緒言

第1章では、汎用される頻度論の手法により試験から得られた結果を解釈した。他の手法として Bayes 論を用いた結果の解釈が可能であり、現在、臨床試験の結果に対しても適用されつつある (80)。殊に、頻度論と Bayes 論は、得られる結果の違いに特徴がある。頻度論の場合、母集団から無作為に標本を得た場合に仮説に従う結果の得られる確率を求めるのみであり、仮説そのものが正しい確率を求めることはできない (81)。それだけでなく、頻度論では母集団から無作為に標本を得ることを仮定しているため、求められた信頼区間から真値が含まれる確率を知ることはできない。一方で、Bayes 論の手法を適用したパラメータ θ を用いることで仮説の正しい確率やある確率で真値の含まれる区間 (信用区間, credible interval) を求めることができる (82)。そのため、Bayes 論は試験の企画立案の段階はもちろんのこと、試験結果を多面的に解釈し具体的な作用の程度を評価するためにも有用である (80)。

頻度論の手法により有意でないことが示された場合、帰無仮説を支持するか、データそのものの問題により解釈が困難であるかは研究者の判断に従い、論拠に乏しい。一方、Bayes 論の手法では具体的な作用の程度を評価することができるため、論理的に結果を解釈することができる (83)。

第1章で実施した、ランダム化比較対照試験では、緑茶うがいは水うがいと比較してインフルエンザ罹患を抑制する傾向を示したものの、頻度論の手法を用い有意水準を 5% と設定した場合、その結果は有意でなかった (46)。また、得られた結果に従い有意でないことについて試験デザインの側面から、オープンラベルであること、参加者の生活環境が先行研究と異なること、70%以上の参加者が緑茶の飲用習慣を有することなどについて考察した。しかしながら、具体的に何%の確率で「緑茶群が水群のインフルエンザ罹患率を下回る」という仮説が正しいか、何%程度インフルエンザ罹患抑制作用が認められるかについては明らかではない。

これらの背景に基づき、第1章で実施した多施設共同並行群間ランダム化比較対照試験の結果を Bayes 論の手法により解釈することで、緑茶うがいによるインフルエンザ予防作用について、多面的に臨床的な有用性を検討した。緑茶群、水群間の罹患率の差と緑茶群が水群のインフルエンザ罹患率を下回る」という仮説が正しい確率を求め、併せて、事前分布 (一様分布及び Jeffreys の事前分布) を仮定し、Markov chain Monte Carlo 法 (MCMC 法)を用いた多重ロジスティック回帰分析により影響する因子を調整した。

2-2 方法

2-2-1 試験デザインの概要

第 1 章“緑茶うがいによるインフルエンザ予防：ランダム化比較対照試験”により得られ、井出らにより報告された試験結果をもとに、Bayes 論に基づく統計学的手法を応用し、緑茶うがいのインフルエンザ予防効果を推定した (46)。

試験は、多施設共同並行群間ランダム化比較対照試験としてオープンラベルで行い、対照群は水うがい群として行われた。試験期間は冬季のインフルエンザ流行期である 2011 年 12 月から 2012 年 2 月の 90 日間とした。参加者は、静岡県掛川小笠地区に所在する 6 高等学校 (静岡県立掛川西高等学校, 静岡県立掛川東高等学校, 静岡県立掛川工業高等学校, 静岡県立横須賀高等学校, 静岡県立小笠高等学校, 静岡県立池新田高等学校) に在籍する 1、2 学年の生徒である。参加者はランダムに緑茶群または水群に割付られ、1 日 3 回のうがいを実施した。得られたデータに対し、Bayes 論に基づく統計学的手法を適用し、緑茶うがいの作用を推定した (詳細は 2-2-5 を参照)。

2-2-2 試験情報：主要評価項目

主要評価項目は、イムノクロマトグラフィー法によるインフルエンザ抗原陽性例とし、参加者がインフルエンザ様の症状を訴えた際に受診した医療機関において実施することとした。尚、イムノクロマトグラフィー法に用いる鼻腔拭い液の試料採取は医療機関に所属する医師が実施した。また、インフルエンザ抗原陽性例の評価に用いるイムノクロマトグラフィー法の感度はインフルエンザ A 型ウイルスに対して 64.4% (95% CI; 59.0, 70.1%)、インフルエンザ B 型ウイルスに対して 52.2% (95%信頼区間; 45.0, 59.3%) と報告されている (67)。

2-2-3 試験情報：解析対象集団

解析対象集団は、FAS、PPS により定義された。緑茶群または水群に割付られた参加者のうち、以下の条件に該当する者を除いた集団である。頻度流の解析に用いた条件に従い解析対象集団を定義した。

- FAS:
- 1) うがいを全く行わなかった者
 - 2) うがい実施後のデータを全く得ることの出来なかった者
 - 3) 試験期間中に同意を撤回し、本研究におけるデータの使用を拒否した者
- PPS:
- 1) FAS における 1～3 の条件のいずれかに該当するもの
 - 2) うがいの実施率が 75%未満の者
 - 3) 水群において緑茶によるうがいを行った者

2-2-4 試験情報：試験結果の概要

静岡県掛川小笠地区に所在する 6 高等学校 (学校名は 2-2-1 を参照) に在籍する 1、2 学年の生徒のうち、757 名が試験に参加した。387 名が緑茶群に、370 名が水群に割付られた。介入の開始前に 10 名 (緑茶群 3 名、水群 7 名) が同意撤回により脱落し、747 名が試験を完遂した。試験期間中、FAS において 44 名 (5.9%)、PPS において 36 名 (6.8%) がインフルエンザに罹患した。公表論文に於いて、多重ロジスティック回帰分析により他の因子 (インフルエンザワクチンの接種の有無、部活動の種類 (文化部、運動部)) を調整した解析の結果、緑茶群、水群間に有意な差は認められなかった (FAS, $P=0.24$; PPS, $P=0.66$) (46)。他の因子の選択は、医学的根拠及び両群間の背景情報の差に基づいて行われた (46)。Bayes 論に基づく統計学的手法の適用にあたっては、公表論文との比較可能性を担保するため、インフルエンザワクチンの接種の有無、部活動の種類 (文化部、運動部) により調整した解析を行うこととした。

2-2-5 統計学的解析

計量値は平均値、SD 及び値の幅を、計数値は例数及び割合を示した。罹患率の推定値は事後確率と 95%信用区間 (credible Interval; 95%の確率で罹患率の真値が含まれる区間) として求めた (84)。両群間のインフルエンザ罹患率 (抗原陽性例、臨床診断例) の差については独立した二項確率 (π_i) の差とした算出した ($\pi_{2,post} - \pi_{1,post}$)。具体的には、 X_1 及び X_2 を n_1 及び n_2 で表される群の二項確率変数としたとき、確率パラメータは π_1 及び π_2 で表される。 π_i ($i = 1, 2$) の共役事前密度を α_i 及び β_i ($i = 1, 2$) としたとき、 π_i の事後確率密度関数 (g_i) は以下の式に従う。

$$g_i(\pi_{i,post}) = \frac{1}{B(a_i, b_i)} \pi_{i,post}^{a_i-1} (1 - \pi_{i,post})^{b_i-1}$$

$a_i = \alpha_i + X_i$ 、 $b_i = n_i - X_i + \beta_i$ 、 $B(a_i, b_i)$ をベータ関数としたとき、 $\pi_{i,post}$ は事後確率密度関数の二項確率となる。 $\pi_{2,post} - \pi_{1,post}$ により、両群間のインフルエンザ罹患率の差を推定した。

95%信用区間は事後分布の分散をもとに求めた。緑茶群と水群のインフルエンザ罹患 (抗原陽性例及び臨床診断例) に差が生じる確率 (仮説が正しい確率) を示す指標である $\theta = P(\pi_{2,post} > \pi_{1,post})$ は、 π_i の事後分布の分散及び累積分布が標準正規分布に従うと仮定した差の期待値より算出した (82, 85)。 θ の具体的な導出方法については、川崎らにより報告されている (84)。

単ロジスティック回帰分析、多重ロジスティック回帰分析では、事前分布として、一様事前分布 Uniform (0, 1) (86) 及び Jeffreys の事前分布を仮定し (87, 88)、偏回帰係数 (β) を求めた。回帰モデルによる推定には MCMC 法を用いた (71, 89, 90)。

モデルのあてはまりについては、deviance information criterion (DIC) を用い、構築されたモデル間であてはまりを比較した (91)。

2-2-6 倫理的配慮・利益相反

本研究は事前に静岡県立大学倫理審査委員会による承認を受け (No. 22-16; 2010 年 9 月 6 日承認)、ヘルシンキ宣言 (ソウル改訂) (74) 及び臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) (75) に則り実施した。尚、試験の実施にあたっては、ClinicalTrials.gov における臨床試験事前登録を行った (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01225770)。

試験への参加にあたっては、登録前に本人及び保護者より文書によるインフォームドコンセントを得た。当該研究において利益相反関係にある企業等はない。

2-3 結果

2-3-1 背景情報

参加者の背景情報について **Table 9** に示した。参加者の年齢は 15 歳から 17 歳であり、平均年齢は 16.1 歳 (緑茶群 16.1 歳, 水群 16.2 歳) であった。男女の参加者数は、緑茶群において男性 224 名 (58.3%)、女性 160 名 (41.7%)、水群において男性 199 名 (54.8%)、女性 164 名 (45.2%) であった。

FAS において、インフルエンザワクチンの接種は緑茶群において 139 名 (36.2%)、水群において 126 名 (34.7%) が行っていた。また、緑茶の飲用習慣 (200 mL/日 以上の摂取) は緑茶群において 270 名 (70.3%)、水群において 261 名 (71.9%) で認められた。FAS、PPS 間で大きく異なる項目はなく、記述的解析の結果は先行する研究の結果と一致した (46)。

Table 9. Clinical characteristics of participants.*

FAS	Green tea gargling	Water gargling
	<i>n</i> = 384	<i>n</i> = 363
Age, mean (SD) [range]	16.1 (0.7) [15–17]	16.2 (0.7) [15–17]
Sex, <i>n</i> (%)		
Men	224 (58.3)	199 (54.8)
Women	160 (41.7)	164 (45.2)
BMI, mean (SD) [range]	20.5 (2.7) [15.4–36.7]	20.6 (2.4) [15.1–34.9]
Vaccination for influenza, <i>n</i> (%)	139 (36.2)	126 (34.7)
Non-pharmaceutical measure, <i>n</i> (%)		
Hand washing ^a	312 (81.3)	303 (83.5)
Facemasks ^a	52 (13.5)	52 (14.3)
Type of club, <i>n</i> (%)		
Sports	253 (65.9) / 131 (34.1)	214 (58.9)
Culture		149 (41.1)
Public transportation, <i>n</i> (%)	181 (47.1)	157 (43.3)
Green tea drinking habit ^b , <i>n</i> (%)	270 (70.3)	261 (71.9)
PPS	Green tea gargling	Water gargling
	<i>n</i> = 283	<i>n</i> = 244
Age, mean (SD) [range]	16.1 (0.7) [15–17]	16.1 (0.7) [15–17]
Sex, <i>n</i> (%)		
Men	163 (57.6)	130 (53.3)
Women	120 (42.4)	114 (46.7)
BMI, mean (SD) [range]	20.5 (2.7) [15.4–36.7]	20.6 (2.4) [16.0–34.9]
Vaccination for influenza, <i>n</i> (%)	109 (38.5)	88 (36.1)
Non-pharmaceutical measure, <i>n</i> (%)		
Hand washing ^a	243 (85.9)	217 (89.0)
Facemasks ^a	41 (14.5)	30 (12.3)
Type of club, <i>n</i> (%)		
Sports	179 (63.3)	140 (57.4)
Culture	104 (36.7)	104 (42.6)
Public transportation, <i>n</i> (%)	134 (47.3)	115 (47.1)
Green tea drinking habit ^b , <i>n</i> (%)	208 (73.5)	178 (73.0)

*The analysis was performed to confirm the accuracy of the trial data. ^a4 days/week or more, ^b≥ 200 mL/day, BMI, body mass index; FAS, full analysis set; PPS, per-protocol set; SD, standard deviation.

2-3-2 事後確率と 95%信用区間

独立した二項確率 (π_i) の差として算出した緑茶群、水群のインフルエンザ罹患の差及び 95%信用区間は、FAS において-0.019 (-0.054, 0.015)、PPS において-0.011 (-0.055, 0.034) であり、 $P(\pi_{2, \text{post}} > \pi_{1, \text{post}})$ を示す指標である θ は FAS において 0.87、PPS において 0.67 であった (Table 10)。

Table 10. Difference between two group proportions and θ .

	Difference	95% credible interval	θ
FAS	-0.019	(-0.054, 0.015)	0.87
PPS	-0.011	(-0.055, 0.034)	0.67

FAS, full analysis set; PPS, per-protocol set.

2-3-3 単ロジスティック・多重ロジスティック回帰分析

単ロジスティック回帰分析の結果として得られた偏回帰係数 (β) 及び 95%信用区間の値を Table 11 に示した。FAS における偏回帰係数 (95%信用区間) は、事前分布を一様分布とした場合に-0.35 (-1.00, 0.24)、Jeffreys の事前分布とした場合に-0.34 (-0.96, 0.27) であった。PPS における偏回帰係数 (95%信用区間) は、事前分布を一様分布とした場合に-0.15 (-0.84, 0.58)、Jeffreys の事前分布とした場合に-0.38 (-1.10, 0.29) であった。DIC の値は 265.64 から 337.43 であり、解析対象集団を PPS とし、Jeffreys の事前分布を仮定した場合に最も小さい値 (DIC = 265.64) を得た。

Table 11. Partial regression coefficient and deviance information criterion in the univariate logistic regression.

	Prior	β^*	95% credible interval	DIC
FAS	Uniform prior	-0.35	(-1.00, 0.24)	337.43
	Jeffreys' prior	-0.34	(-0.96, 0.27)	337.34
PPS	Uniform prior	-0.15	(-0.84, 0.58)	266.70
	Jeffreys' prior	-0.38	(-1.10, 0.29)	265.64

* β = partial regression coefficient. DIC, deviance information criterion; FAS, full analysis set; PPS, per-protocol set.

多重ロジスティック回帰分析の結果として得られた偏回帰係数 (β) 及び 95%信用区間の値を **Table 12** に示した。FAS における偏回帰係数 (95%信用区間) は、事前分布を一様分布とした場合に-0.37 (-0.96, 0.30)、Jeffreys の事前分布とした場合に-0.36 (-1.03, 0.21) であった。PPS における偏回帰係数 (95%信用区間) は、事前分布を一様分布とした場合に-0.16 (-0.84, 0.52)、Jeffreys の事前分布とした場合に-0.42 (-1.13, 0.27) であった。DIC の値は 268.45 から 340.51 であり、解析対象集団を PPS とし、Jeffreys の事前分布を仮定した場合に最も小さい値 (DIC = 268.45) を得た。

Table 12. Partial regression coefficient and deviance information criterion in multivariate logistic regression.

	Prior	Variable**	β^*	95% credible interval	DIC
FAS	Uniform prior	Allocation	-0.37	(-0.96, 0.30)	340.51
		Vaccination	0.03	(-0.61, 0.68)	-
		Club	-0.32	(-0.98, 0.31)	-
FAS	Jeffreys' prior	Allocation	-0.36	(-1.03, 0.21)	340.23
		Vaccination	0.05	(-0.57, 0.65)	-
		Club	-0.29	(-0.91, 0.31)	-
PPS	Uniform prior	Allocation	-0.16	(-0.84, 0.52)	269.73
		Vaccination	-0.35	(-1.08, 0.44)	-
		Club	-0.02	(-0.72, 0.68)	-
PPS	Jeffreys' prior	Allocation	-0.42	(-1.13, 0.27)	268.45
		Vaccination	-0.05	(-0.74, 0.57)	-
		Club	-0.40	(-1.18, 0.30)	-

* β = partial regression coefficient, **reference category = (allocation, water gargling; vaccination, non-vaccinated; club, sports-related club). DIC, deviance information criterion; FAS, full analysis set; PPS, per-protocol set.

2-4 考察

本章では、第 1 章で実施した多施設共同並行群間ランダム化比較対照試験の結果を Bayes 論に基づく統計学的手法により解釈することで、緑茶うがいによるインフルエンザ予防作用について、多面的に臨床的な有用性を検討した。その結果、FAS において、緑茶うがいは水うがいに比較してインフルエンザ罹患を 1.9%抑制し、「緑茶群が水群のインフルエンザ罹患率を下回る」確率は 87%であることが示された。また、PPS においてもその傾向は一致していた。一方、1.9%という点推定値及び 95%信用区間の幅からその作用は限定的であると考えられた。

背景情報については先行研究と一致しており、このことから、第 1 章、第 2 章で用いたデータに異なる点は無く、信頼性が高いと考えられた。また、インフルエンザワクチンの接種率は、群、解析対象集団ごと、36.1%から 38.5%であり、先行する研究により調査された日本におけるインフルエンザワクチン接種率の推定値と近い値であった (92)。そのため、対象とする集団から得られた結果の高校生集団における一般化可能性は高いものと考えられた。

インフルエンザの罹患の差について、独立した二項確率 (π_i) の差として算出した値は点推定値として -0.011 から -0.019 であり、解析対象集団を FAS、PPS とした場合に 1.1%から 1.9%インフルエンザを抑制する作用があると推定された。また、「緑茶群が水群のインフルエンザ罹患率を下回る」仮説の正しい確率は、67%から 87%であることが指標 θ の値から示された。単ロジスティック、及び多重ロジスティック回帰分析の結果、群に対する偏回帰係数 (β) の値は負値を示し、緑茶群でインフルエンザ罹患が抑制される傾向が示された。しかしながら、95%信用区間はいずれも 0 を含み、作用が限定的であることが示唆された。一方、仮説の正しい確率は 65%以上であることから、作用は限定的であるものの、緑茶うがいが水うがいに比較してインフルエンザ罹患を抑制する可能性は 65%以上あり、今後、試験デザインの質を高めたより大規模な比較対象試験を行うことが妥当であると考えられた。また、頻度論、Bayes 論のいずれの観点からも、大規模な比較対象試験を行いより確からしい結果を得ることが必要である。特に、Bayes 論においては、経験 Bayes (empirical Bayes) と呼ばれる手法により過去の試験データから事前分布のパラメータである hyperparameter を推定することが可能である (93-97)。また、過去の試験データから hyperparameter を推定することで、より精度よく仮説の正しい確率 θ を求めることができ、インフルエンザ予防作用について有用性を判断する一助となる。大規模な比較対象試験を想定し、2 群間のインフルエンザ罹患率の差を 2%、検出力 80%、両側有意水準 5%と設定した症例数設計を行なったところ、各群 1,132 名の参加が必要であると見積もられた。試験からの脱落を 15%と仮定した場合、両群合計 2,663 名を対象とした試験の遂行が妥当であると考えられた。

あてはまりの指標として求めた DIC の値は、FAS、PPS のいずれの解析対象集団においても Jeffreys の事前分布を用いた場合により小さな値を示したものの、一様分布を用いた場合と値は大きく変わらず、今後の大規模な比較対象試験においてもこれらの事前分布を仮定し、本章で得られた結果と比較することも可能であると考えられた。

以上より、緑茶によるうがいのインフルエンザ予防作用は 1%から 2%程度と限定的であるものの、仮説「緑茶群が水群のインフルエンザ罹患率を下回る」の正しい確率は 65%以上、特に FAS においては 87%であった。仮説の正しい確率より、試験デザインを改善した大規模なランダム化比較対照試験を行うことは妥当であると考えられた。また、本章における検討の結果、臨床試験から得られたデータを頻度論、Bayes 論の観点から多面的に解釈することの有用性が示唆された。

第3章 茶やその成分によるうがいによるインフルエンザ予防：メタ解析

3-1 緒言

茶やその成分を用いたインフルエンザ予防法としては、いわゆるサプリメントとしての摂取 (32, 33) やうがい液としての利用 (34-37) について探索的な検討が為されている。いわゆるサプリメントとしての摂取については、咳やのどの痛みといった症状発現の抑制 (32) やインフルエンザの罹患そのものの抑制 (33) について示唆されているものの、試験の数は非常に限られている (32, 33)。茶やその成分を用いたうがいのインフルエンザ予防作用については、非薬学的な予防法の作用向上に寄与する可能性があるものの、これまでに行われた複数の臨床試験の結果は一貫していない (34-37)。第1章では、先行する研究の結果から必要症例数を見積もり、ランダム化比較対照試験により緑茶によるうがいの作用を検証した。しかしながら、遵守率の低さや75%以上の遵守率を有する解析対象集団に含まれる人数の減少により、インフルエンザ罹患抑制傾向を認めるに留まり、有意な差は検出されなかった。また、影響を及ぼす他の因子を考慮した多重ロジスティック回帰分析の結果も同様であり、インフルエンザの定義を抗原陽性例、症状に基づく臨床診断例とした場合も変化は認められなかった。一方、第2章において Bayes 論の手法を適用した結果、作用は点推定値として1.1%から1.9%の抑制と限定的であるものの、仮説「緑茶群が水群のインフルエンザ罹患率を下回る」が正しい確率はFASにおいて87%であり、緑茶によるうがいがインフルエンザ罹患を抑制する可能性が高いことが示唆された。また、今後の試験デザインを改善した大規模なランダム化比較対照試験を行うことが妥当であると考えられた。

大規模なランダム化比較対照試験を行うことが妥当である一方、先行する臨床試験の結果を統合し、その作用を定量的に評価するメタ解析等を行なうことも非常に重要である (98)。しかしながら、現在までに茶やその成分によるうがいに着目したメタ解析や作用の背景となる知見を含むシステマティックレビューは行われていない。

これらの背景に基づき、茶やその成分によるうがいのインフルエンザ予防作用について、前向きコホート試験及びランダム化比較対照試験を対象としたメタ解析を行うことでエビデンスの確立を目指した。

3-2 方法

3-2-1 試験デザインの概要

茶及びその成分によるうがいのインフルエンザ予防効果について、メタ解析を行った。主要評価項目は抗原陽性または抗体価の上昇により評価されるインフルエンザ罹患とした。文献情報を収集するデータベースとして Cochrane Library (99)、PubMed/MEDLINE (100)、Web of Science (101)、Ichushi-Web (102) を用い、併せて、抽出された文献の引用文献リストを参照した。文献の検索、質の評価は、独立した 2 名の研究者が行った。

前向きコホート試験及びランダム化比較対照試験を統合することとし、他の選択基準を併せて満たす試験を選択した。選択された試験について、前向きコホート試験の質は Newcastle Ottawa scale (103, 104) により、ランダム化比較対照試験の質は Jadad score (105) 及び Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias (106, 107) により評価した。

結果の統合には、Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデル及び変量効果モデルを適用した。併せて、funnel plot 及び Egger の回帰分析により出版バイアスの有無を評価した。

3-2-2 文献調査の手順及び選択基準

文献検索には Cochrane Library (99)、PubMed/MEDLINE (1966 年以降) (100)、Web of Science (1981 年以降) (101)、Ichushi-Web (1983 年以降) (102) を用い、各データベースの検索可能時点から 2015 年 9 月までに出版された論文を検索対象とした。

各データベースにおける文献検索は、Table 13 に示す PubMed/MEDLINE に適用した検索式に基づき行った。文献調査、質の評価は、独立した 2 名の研究者 (KI, HY) が実施した。

Table 13. Search terms in PubMed/MEDLINE.

Search terms:	("catechin" [MeSH Terms] OR "tea" [MeSH Terms]) AND ("influenza, human" [MeSH Terms] OR "upper respiratory tract inflammation" [All Fields]) AND gargling [All Fields] AND (clinical trial [pt] OR "clinical trials as topic" [MeSH Terms: noexp] OR trial [ti]) AND Clinical Trial [ptyp]
---------------	--

試験の質の評価は、前向きコホート試験を対象に Newcastle Ottawa scale (103, 104) を用い、ランダム化比較対照試験を対象に Jadad score (105) 及び Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias (106, 107) を用いた。

Newcastle Ottawa scale (103, 104) は Table 14 に示す 3 項目について星の数で評価し、星の数が 9 つに近いほど質の高い試験であることが示唆される。非ランダム化試験の評価に Newcastle Ottawa scale を適用した先行する研究を参照し、星の数が 7 つ以上の場合に試験の質が担保されていると判断した (108-110)。

Table 14. Newcastle Ottawa scale.

Grouping item	Rating
Selection of cohort	0 to 4 stars
Comparability of cohort	0 to 2 stars
Assessment of outcome	0 to 3 stars

Jadad score (105) 及び Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias (106, 107) の評価項目は **Table 15, Table 16** に示した。Jadad score については、スコア 3 以上の試験について質が担保されているものと評価し (105, 111)、Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias については、スコアによる評価は行われなため、項目ごとに”Unclear”、”Yes”、”No”のいずれかを選択することで試験全体のバイアスの存在について考慮した。

Table 15. Jadad score.

Item	Score range
Randomization	0 to 2
Double blinding	0 to 2
Withdrawals and dropouts	0 to 1

Table 16. Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias.

Item	Category
Random sequence generation	Unclear, Yes, No
Allocation concealment	Unclear, Yes, No
Blind participants and personnel	Unclear, Yes, No
Blind outcome assessment	Unclear, Yes, No
Incomplete outcome data	Unclear, Yes, No
Selective reporting	Unclear, Yes, No
Other bias	Unclear, Yes, No

文献調査により各データベースより得られた研究のうち、次の選択基準を満たす研究を Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデル及び変量効果モデルにより統合することとした。尚、うがいの期間は 2004/2005 年から 2014/2015 年の流行期をもとに設定し (112)、選択バイアスを抑制するために質の評価に基づく文献の選択は行わないものとした。

- 選択基準:
- 1) ランダム化比較対照試験または前向きコホート試験であること
 - 2) 茶またはその成分によるうがいを 60 日間以上行っていること
 - 3) 対照群としてプラセボ、水、非うがい群を設定していること
 - 4) インフルエンザの罹患は抗原陽性または抗体価の上昇で評価していること
 - 5) 英語または日本語にて出版されている文献であること

3-2-3 データの抽出

文献調査により得られ、選択基準を満たす試験について、1) 著者名及び出版年、2) 試験対象集団、3) 試験デザイン、介入または観察期間、4) インフルエンザ罹患患者数及び診断の手法、に関するデータを抽出した。

3-2-4 評価項目

主要評価項目はインフルエンザ罹患の有無とした。インフルエンザの罹患は抗原陽性または抗体価の上昇をもとに評価されているものとした。

3-2-5 統計学的解析

試験間の異質性の評価には、Cochran の Q 検定及び I^2 統計量を用いた (113-115)。Cochran の Q 検定の有意水準は 10% ($P < 0.10$) とし、 I^2 が 50% より大きい ($I^2 > 50\%$) 場合に異質性が大きいと判断した。

選択基準を満たす試験は、異質性の大きさに関わらず Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデル及び変量効果モデルにより統合した (116-118)。変量効果モデルにおいては制限付き最尤推定法 (restricted maximum-likelihood estimation; RMLE) による推定を行った。結果はリスク比と 95% CI として示し、forest plot を併せて描出した。各モデルのあてはまりの指標としては、Akaike information criterion (AIC) 及び Bayesian information criterion (BIC) を用いた。AIC、BIC の値はモデル間で比較し、AIC、BIC 共に値が小さいモデルのあてはまりが良いと判断する (119, 120)。

出版バイアスの評価は funnel plot (121) 及び Egger らの回帰分析 (122) により行った。Funnel plot は視覚的な評価によりバイアスの有無を評価し、Egger らの回帰分析における有意水準は 10% ($P < 0.10$) とした。

統計学的解析には R for Windows, version 3.2.0 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) を用い、解析用パッケージとして”metafor”を適用した (123)。

3-2-6 倫理的配慮・利益相反

本研究は学術誌等に公表されデータベースに登録された結果に基づくメタ解析であり、新たにヒト、動物等を対象とした観察や介入を行わない。そのため、倫理審査委員会による新規承認及びインフォームドコンセントの新規取得は不要である。当該研究において利益相反関係にある企業等はない。

3-3 結果

3-3-1 文献調査

文献調査及び選択基準を満たす試験のスクリーニングについて **Figure 3** に示した。Cochrane Library (99)、PubMed/MEDLINE (100)、Web of Science (101)、Ichushi-Web (102) より合計 17 件 (Cochrane Library 8 件、PubMed/MEDLINE 3 件、Web of Science 2 件、Ichushi-Web 4 件) の文献が得られ、重複 (11 件; 同データベース内の重複を含む) や選択基準を満たさない文献 (1 件) を除く 5 件の文献 (5 試験) が統合の対象となった。

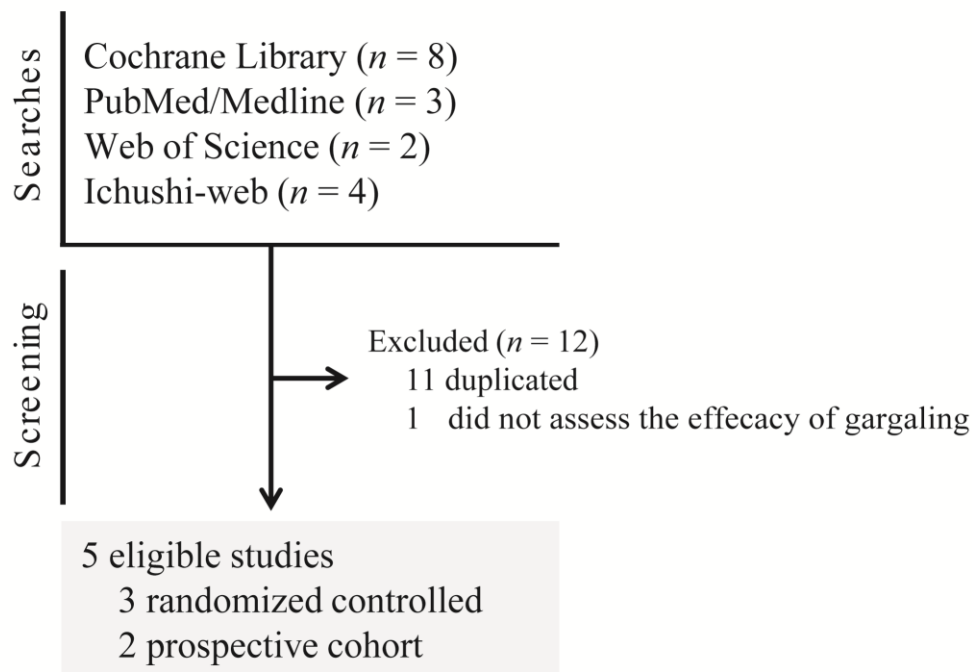


Figure 3. Study flow diagram.

統合の対象となった 5 試験について、著者、公表年、対象集団等の情報を **Table 17** に示した。公表年は 1997 年から 2014 年、対象者数は 124 名から 757 名、年齢の平均値は 16.1 歳から 83 歳であった。試験デザインは前向きコホート試験 2 件、ランダム化比較対照試験 3 件であり、観察・介入期間は 3 か月から 5 か月であった。前向きコホート試験の曝露群としては緑茶うがいの習慣のあるコホート (2 件) が設定され、ランダム化比較対照試験対照試験の介入群は緑茶抽出物溶液 (1 件) またはペットボトル入り緑茶飲料 (2 件) によるうがいを行っていた。コホート試験における非曝露群としては水うがいの習慣をもつ (1 件) またはうがいの習慣をもたない (1 件) コホートが設定され、ランダム化比較対照試験の対照群はプラセボ (1 件) または水 (2 件) によるうがいを行っていた。

Table 17. Characteristics of selected studies.

Author	Year	n	Age (yr), mean $\pm$ SD***		Sex (M/F)		Duration (mo)	Study design	Reference No.
			Tea*	Control	Tea*	Control			
Iwata <i>et al.</i>	1997	297	30 $\pm$ NA	24 $\pm$ NA	NA	NA	5	Prospective cohort	(34)
Yamada <i>et al.</i>	2006	124	83 $\pm$ 8.2	83 $\pm$ 7.7	24/52	16/32	3	Prospective cohort	(35)
Yamada <i>et al.</i>	2007	404	39.6 $\pm$ 11.4	40.2 $\pm$ 11.5	36/164	52/152	3	Randomized controlled	(36)
Toyoizumi <i>et al.</i>	2013	308	15.8 $\pm$ 0.6	15.8 $\pm$ 0.6	98/57	86/67	3	Randomized controlled	(37)
Ide <i>et al.</i> **	2014	757	16.1 $\pm$ 0.7	16.2 $\pm$ 0.7	224/160	199/164	3	Randomized controlled	(46)

*Tea
and

its ingredients. **Characteristics of full analysis set population (total population is not shown in the article). ***First decimal place and/or SD were not shown in several studies. mo, months; ND, not assessed; SD, standard deviation.

3-3-2 試験の質の評価

前向きコホート試験を対象に Newcastle Ottawa scale (103, 104) を用い、ランダム化比較対照試験を対象に Jadad score (105) 及び Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias (106, 107) を用いた評価の結果を、**Table 18** に示した。

前向きコホート研究について、岩田ら (34)、山田ら (35) の試験はいずれも 7 つの星を得た (Selection, ***; Comparability, *; Outcome ***).

ランダム化比較対照試験について、山田ら (36)、豊泉ら (37)、井出ら (46) の試験は Jadad score による評価スコアが 3 から 5 であった。Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias による評価の結果については、山田ら (36) の試験において”Low”に分類される項目が最も多く、7 項目全てにおいて”Low”であると評価された。

Table 18. Scientific quality of randomized controlled studies.

Study	Yamada <i>et al.</i> , 2007	Toyoizumi <i>et al.</i> , 2013	Ide <i>et al.</i> , 2014
Criterion	(36)	(37)	(46)
Jadad score			
Randomization (range, 0–2)	2	2	2
Double blinding (range, 0–2)	2	0	0
Withdrawals and dropouts (range, 0–1)	1	1	1
Total score	5	3	3
Cochrane Collaboration's tool			
Random sequence generation	Low	Low	Low
Allocation concealment	Low	High	High
Blind participants and personnel	Low	High	High
Blind outcome assessment	Low	Low	Low
Incomplete outcome data	Low	Low	Low
Selective reporting	Low	High	High
Other bias	Low	Unclear	Unclear

3-3-3 異質性の評価

Cochran の Q 検定の結果は $Q = 3.05$ ($P = 0.55$) 及び I^2 統計量の値は $I^2 = 0.00\%$ であり、有意な異質性は認められず、 I^2 統計量の値は基準 ($I^2 > 50.0\%$) を下回った。

3-3-4 統合解析による有効性の評価

Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデル及び変量効果モデルにより 5 試験の結果を統合し、forest plot として **Figure 4** に示した。Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデル

(Figure 4A) 及び変量効果モデル (Figure 4B) のいずれにおいてもリスク比の 95% CI は 1 を含まず、緑茶うがい群においてインフルエンザの罹患が有意に抑制される傾向が認められた (fixed effects model, 0.70 (0.54, 0.89); random effects model 0.71 (0.56, 0.91))。

モデルのあてはまりは Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデルにおいて AIC = 6.04、BIC = 5.65 であり、変量効果モデルにおいて AIC = 8.74、BIC = 7.52 であった。AIC、BIC 共に Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデルにおいて小さい値を示した。

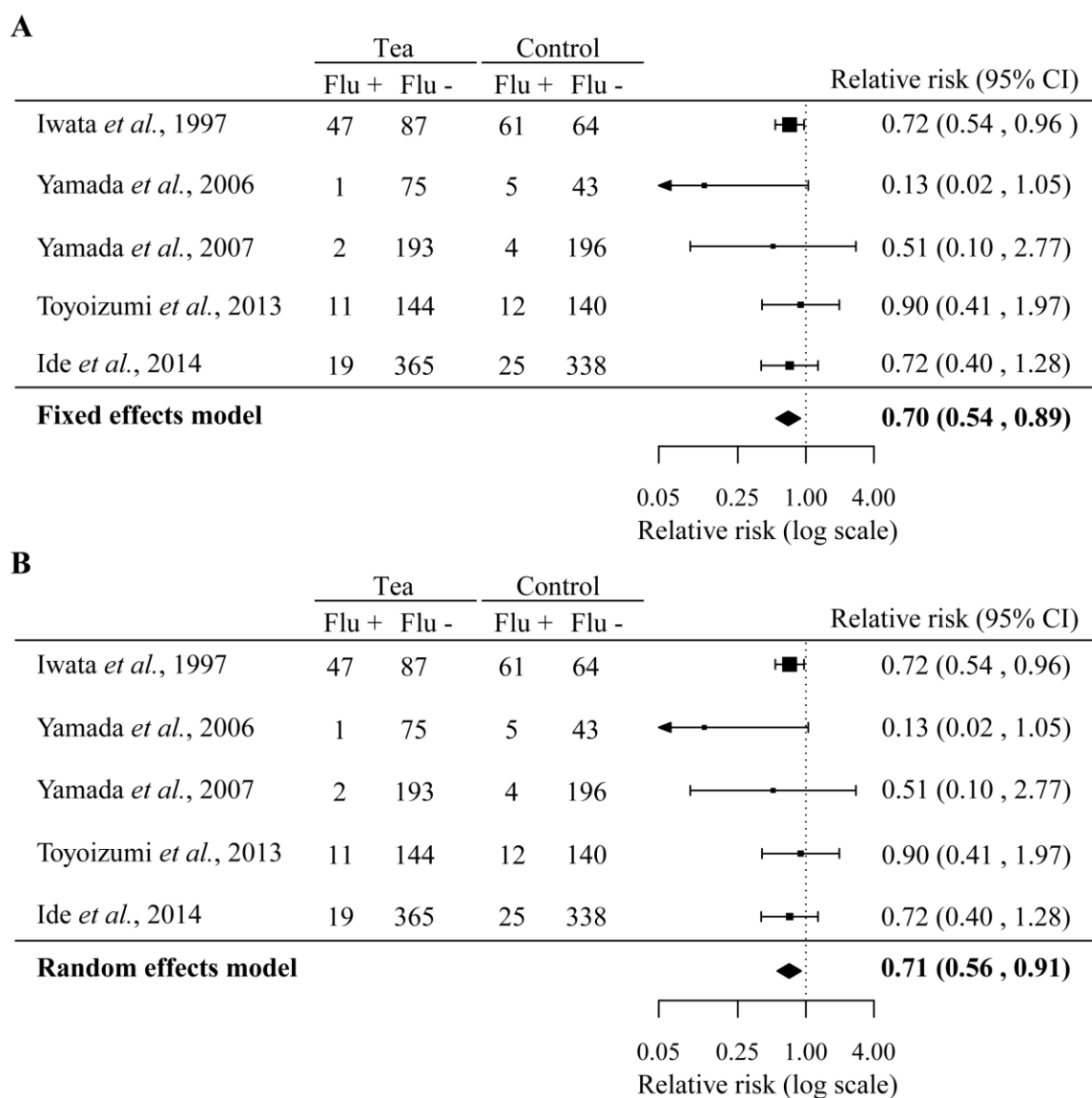


Figure 4. Forest Plots. Fixed effects model (A) and random effects model (B). CI, confidence interval; Flu, laboratory-confirmed influenza infection.

3-3-5 出版バイアスの評価

出版バイアスの評価は funnel plot 及び Egger らの回帰分析により行った。5 つの試験の結果に基づき描出された funnel plot を **Figure 5** に示した。5 つの試験により描出されたプロットを視覚的に評価することは難しく、Egger らの回帰分析の結果は有意でなかった ($P = 0.30$) もの、出版バイアスについての評価は困難である。

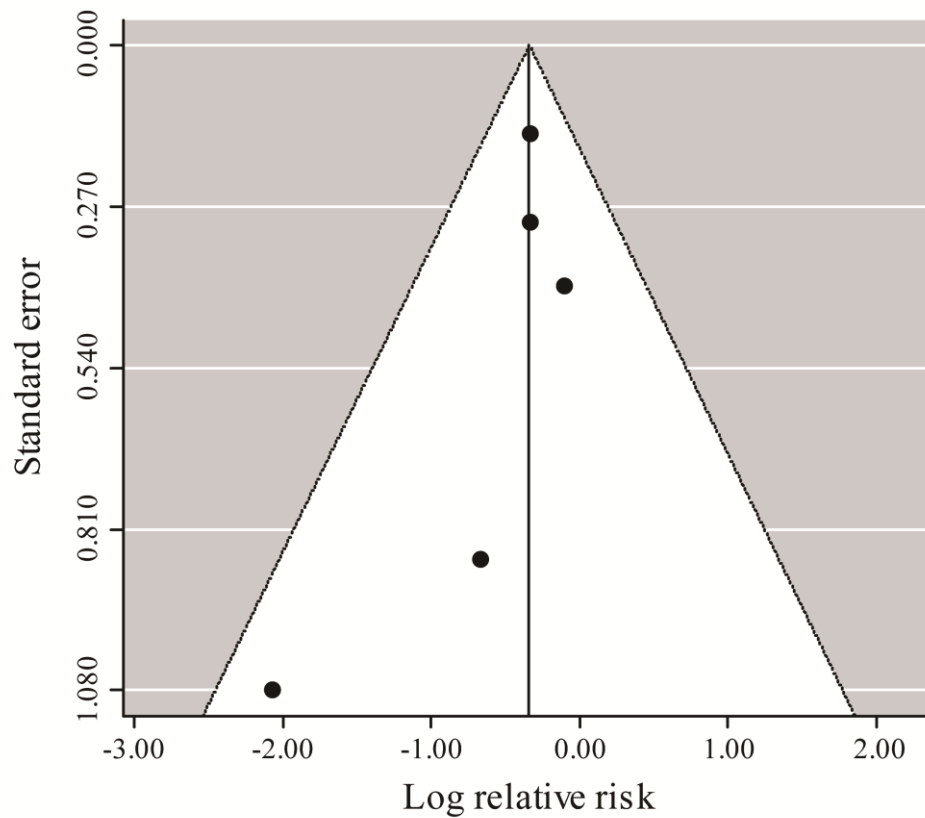


Figure 5. Funnel Plot.

3-4 考察

本章では、茶やその成分を用いたうがいのインフルエンザ予防作用について、前向きコホート試験及びランダム化比較対照試験を対象としたメタ解析を行うことでエビデンスの確立を目指した。選択基準を満たす 5 試験、合計 1,890 名の参加者から得られた結果を統合することで、茶やその成分を用いたうがいの有意なインフルエンザ予防作用が検出された。しかしながら、出版バイアスの有無についての評価は、試験数の少なさから困難であった。インフルエンザの非薬学的な予防法としては、手指の消毒やマスクの着用、うがいなどが行われている一方 (28, 52, 64)、単独では効果が十分でないことがメタ解析等により報告されている (29-31)。茶やその成分を用いたうがいは、既存の非薬学的なインフルエンザ予防法の作用を向上させる手法として、臨床的に有用であることが示唆された。

各試験の参加者集団の年齢は、16 歳から 83 歳と幅が広く、特定の年齢・職域集団等に限定せず有用であるものと推察される。また、Newcastle Ottawa scale、Jadad score 及び Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias による試験の質の評価の結果、試験の質は担保されていると判断され、統合された結果の信頼性も高いものと考えられた。Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデル及び変量効果モデルのいずれにおいても有意なインフルエンザ予防作用が認められたことから有用性についての結果は安定したものであった。AIC、BIC により推定したモデルのあてはまりは固定効果モデルにおいて小さな値を示し、Cochran の Q 検定、 I^2 統計量による異質性の評価結果と一致していた。出版バイアスの評価には funnel plot 及び Egger らの回帰分析を用いた。funnel plot による視覚的な判断は困難であり、Egger らの回帰分析は有意水準を 10%とした場合に有意でないという結果であった。一方、試験数は限られており、評価は困難であると判断した。一般に、出版バイアスの評価を行うためには 10 試験以上必要であると言われていることから (124)、その評価には、今後の検証的試験の遂行が求められる。

出版バイアスの評価が困難であることに加え、試験数の少なさや試験がいずれも日本国内で行われていることは、より多様な背景をもつ集団における有用性について一般化が困難であることを示唆しており、本研究の限界である。全ての試験が日本国内で行われていることにより異なる年齢・職域集団においても異質性が少なく、安定した結果を得られた一方で、国外を含むより多様な集団における有用性は明らかでない。そのため、一般化可能性の高い結論を得るためには今後の検証的試験を異なる背景をもつ集団において遂行することが重要である。今後の検証的試験により複数の結果を得ることは、頑健性の面からも不可欠である。本章におけるメタ解析では、選択基準を満たす試験数が少ないことから感度分析を行っていない。感度分析を行うことで結果の頑健性について明らかとなり、影響を及ぼす因子についての詳細な検討も可能である (98, 125)。そのため、検証的試験により複数の結果を得ることはエビデンスの頑健性を高めることに繋がる。また、メタ解析の手法についても、検討の余地が残されている。本章では、汎用されるメタ解析の手法である Mantel-Haenszel 法を用いた固定効果モデル及び制限付き最尤推定法を用いた変量効果モデルにより結果の統合を行った (116, 118)。しかしながら、近年では参加者個々のデータを用いた手法 (individual participant data meta-analysis) (126) や Bayes 論による手法

(127) も開発されており、異なる手法の適用により、異なる傾向や予防作用に関する情報を得られる可能性がある。また、データベースとして Cochrane Library、PubMed/MEDLINE、Web of Science、Ichushi-Web の 4 つを用いたが、他に EMBASE (128) 等の大規模なデータベースが存在する。他のデータベースも用いてより多くの情報を収集することにより、エビデンスの質の向上が期待される。

以上より、茶やその成分によるうがいがインフルエンザ予防法のひとつとして臨床的に有用であることが示唆された。今後、異なる対象集団において、大規模な比較対象試験を行いその結果を統合することで、より頑健性の高いエビデンスの確立が可能である。

第4章 緑茶摂取による認知機能低下の進行抑制：前後比較試験

4-1 緒言

急速な高齢化の進行により、全世界的に認知機能低下、特に認知症の増加が問題となっている (129)。認知症は、60 歳以上の者の 5%から 7%が罹患すると推定されており、Alzheimer's Disease International の報告によると、2013 年時点の罹患者数は全世界において 4,435 万人、2050 年には 1 億 3,500 万人に達するとの予測も立てられている (130)。本邦に於いては、日常生活自立度 II 以上 (日常生活に支障を来すような症状・行動や意思疎通の困難さが多少見られても、誰かが注意すれば自立できる状態またはそれ以上の困難を有する状態) (131) の 65 歳以上の者の数は、2010 年時点で 280 万人 (65 歳以上人口に対し 9.5%)、2015 年において 345 万人 (65 歳以上人口に対し 10.2%) と推定されており、罹患者の増加が懸念されている (132)。

認知症の治療に焦点を絞ると、根本的な治療法は存在していない。また、現在は進行の抑制を目的としてコリンエステラーゼ阻害薬や *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体阻害薬の投与が行われている (129, 133, 134)。治療薬の開発についても困難な状況が続いており、欧州では 2002 年、米国では 2003 年のメマンチンに対する製造販売承認以降、新たな治療薬は製造販売承認を受けていない (133)。また、臨床試験の結果として治療効果が認められなかった化合物や安全性に問題がありその後の試験が中止された化合物は 2008 年時点で 100 以上に上ることが明らかとなっている (135, 136)。

このような状況に於いては、薬学的な治療に加えて非薬学的方法を組み合わせることで認知症を予防し、進行を抑制することが重要である (4)。また、非薬学的方法を確立する上で、明らかとなっている関連のある因子を標的にすることが可能である。認知症に関連のある因子としては、加齢や教育歴の他に食事や栄養学的な要素を含む生活様式が知られている (137-140)。また、酸化ストレスが病態の進行において重要な役割を担うことが示唆されており、酸化ストレスの軽減による認知症の予防や進行抑制についても検討が為されている (139, 141, 142)。

茶に含まれる生理活性成分であるカテキン類やテアニンの作用としては、抗酸化作用や抗炎症作用 (42, 143, 144)、神経保護作用が知られている (42, 144-146)。また、茶の抗酸化作用についてはヒトにおいても認められている (143, 147)。ヒトにおける認知機能と茶の関わりに着目すると、一部の観察研究において茶の飲用習慣と認知機能低下や認知症の発現との間に負の関連が示されているものの (148-152)、他の研究では性差が認められる (153, 154)、差が認められない (155, 156) など一貫性のある結論は得られていない。また、介入試験については和文誌における少数例での報告 (43, 44) や緑茶抽出物を用いたサプリメントについての報告 (45) のみであり、非常に限られている。そのため、日常的に摂取可能な緑茶が認知機能に及ぼす影響は明らかでない。

これらの背景に基づき、日常的に摂取可能な緑茶が認知機能低下に及ぼす作用について、高齢者集団 (157) を対象として探索的に検討した。

4-2 方法

4-2-1 試験デザインの概要

緑茶抹の摂取による認知機能低下の進行抑制作用について探索的に明らかにすべく、前後比較試験を実施した。介護老人福祉施設（特別養護老人ホーム）に入所中の物忘れを訴える 65 歳以上の者を対象として、3 か月間、2 g/日の緑茶抹摂取を行い、前後の認知機能を評価し、比較した。認知機能の評価には、認知機能低下のスクリーニング指標として汎用されるミニメンタルステート検査日本語版 (Mini-Mental State Examination Japanese version, MMSE-J) を用いた (158)。併せて、検査値の変化について比較した (詳細は 4-2-4 を参照)。

4-2-2 施設及び対象者

介護老人福祉施設（特別養護老人ホーム）白十字ホーム（東京都東村山市；以下、実施施設と記載）に入所中の高齢者のうち、次の選択基準を満たし除外基準に該当しない者を対象とした。参加者の募集は、施設に於いてポスター掲示及び呼びかけにより行った。

- 選択基準:
- 1) 65 歳以上の者
 - 2) 緑茶抹の経口摂取が可能な者
 - 3) 試験期間中、抗酸化作用を有するサプリメントの服用を行わない者
(ビタミン E, C, A, β -カロテン)
 - 4) MMSE-J の得点が 28 点未満の者 (159)

- 除外基準:
- 1) 茶アレルギー (喘息、発疹等の既往) のある者
 - 2) 重篤な心疾患、呼吸器疾患、肝・腎疾患を有するもの
 - 3) 重篤な貧血を有する者
 - 4) その他、医師が本研究の対象者として不適格であると判断した者

適格基準を満たす参加者について、次の背景情報を調査票に記入した。背景情報は、東京白十字病院のカルテ情報に基づき、施設の医療従事者が記入を行った。

背景情報: 年齢、性別、基礎疾患、併存症、服用中の医薬品、アルコールの摂取喫煙習慣、茶の飲用習慣、健康食品の摂取習慣、日常生活動作 (activity of daily living, ADL)、Magnetic resonance imaging (MRI) または computed tomography (CT) 所見

4-2-3 介入

参加者は 2 g/day の緑茶抹 (株式会社伊藤園, 東京都渋谷区) を 1 日 3 回 (毎食時)、3 か月間摂取した。緑茶抹中には 113.3 mg/g のカテキン類 (EGCG 47.5 mg/g)、21.0 mg/g のテアニンが含まれ、成分の詳細は **Table 19** に示した。3 か月の摂取期間中、他の抗酸化作用を有するサプリメントの摂取は禁止した。また、介入以前に摂取していたサプリメントの影響を避けるため、7 日間の洗い出し (washout) 期間を設けて介入を開始した。試験期間中の緑茶及び他の茶飲料の摂取については、倫理的側面に配慮し、制限を設けなかった。

緑茶抹は実施施設の職員が食事と共に提供し、摂取についての記録を 1 日ごとに行った。有害事象の発生についての記録も併せて行うこととした。

Table 19. Green tea powder ingredients.

Catechins & theanine	(mg/g tea powder)
Total catechins	113.3
(-)-Galliccatechin	5.8
(-)-Epigallocatechin	29.7
(+)-Catechin	2.0
(-)-Epicatechin	11.0
(-)-Epigallocatechin gallate	47.5
(-)-Galliccatechin gallate	5.5
(-)-Epicatechin gallate	10.0
(-)-Catechin gallate	1.8
Theanine	21.0

4-2-4 評価項目

主要評価項目は、MMSE-J の介入前後の得点の変動とした。

副次評価項目は、MMSE-J の評価領域に基づくドメイン毎 (見当識 (orientation), 短期記憶 (short-term memory), 注意と計算 (attention and calculation), 言語 (language), 描画 (visual construction)) の介入前後の得点の変動、基礎疾患・認知機能低下度 (24 点から 27 点, 軽度認知機能障害; 10 点から 23 点, 軽度・中等度認知症; 0 点から 9 点, 重度認知症) に基づく MMSE-J スコア変化、各検査値 (血圧, 血清脂質値 (総コレステロール (total cholesterol, TC), LDL コレステロール (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C), HDL コレステロール (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C), トリグリセリド (triglyceride, TG)), 血糖値 (空腹時血糖 (fasting plasma glucose, FPG), ヘモグロビン A1c (hemoglobin A1c, HbA1c)) の変化、緑茶抹摂取の遵守率とした。安全性については有害事象の発生状況を随時確認し、併せて記録を確認することで評価した。尚、認知機能評価に用いた MMSE-J は株式会社日本文化科学社より販売されており、代理店を介して入手可能である。当該出版社の方針に基づき調査票の直接的な掲載は差し控えた。

4-2-5 統計学的解析

症例数は、単施設を対象とした探索的試験であることを考慮し、実施可能性の観点から 15 例と設定した。

MMSE-J 得点の変化は総スコア及び評価領域に基づくドメイン毎（見当識 (orientation), 短期記憶 (short-term memory), 注意と計算 (attention and calculation), 言語 (language), 描画 (visual construction)) に比較し、併せて、検査値を介入前後で比較した。比較には、対応のある t 検定またはノンパラメトリック法である Wilcoxon の符号付順位検定を用いた (160, 161)。有意水準は 5% ($P < 0.05$) と設定し、統計学的解析には SPSS for Windows, version 21.0 (IBM Cop., Armonk, NY) を用いた。

4-2-6 倫理的配慮・利益相反

本研究は事前に静岡県立大学倫理審査委員会による承認を受け (No. 23-27; 2012 年 5 月 11 日承認)、ヘルシンキ宣言 (ソウル改訂) (74) 及び臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) (75) に則り実施した。尚、試験の実施にあたっては、ClinicalTrials.gov における臨床試験事前登録を行った (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT 01594086)。

試験への参加にあたっては、登録前に本人または代諾者より文書によるインフォームドコンセントを得た。当該研究は、株式会社伊藤園より助成 (No. 12-311) 及び試験抹の提供を受けた。利益相反は適切にコントロールし、遂行した (49)。

4-3 結果

4-3-1 試験の概要

15 名の実施施設入居者が試験への参加を希望し、インフォームドコンセントを得た後に適格性の判定を行った。1 名が除外基準に該当し、14 名が試験に参加した。試験の開始後、2 名が同意撤回により脱落し、12 名が試験を完遂した。試験期間中、1 名が骨折のために他の医療機関に入院したが、36 日後に実施施設に再入所し試験を再開した。緑茶抹摂取の遵守率は全体で 99.7%であった。尚、試験期間中、緑茶抹の摂取に関連のある重篤な有害事象の発生は認められなかった。

4-3-2 背景情報

試験を完遂した 12 名 (男性 2 名, 女性 10 名) の背景情報を **Table 20** に示した。年齢は 70 歳から 98 歳であり、いずれの参加者も認知症を罹病していた (アルツハイマー型認知症 3 名 (25.0%), 血管性認知症 8 名 (66.7%), レビー小体型認知症 1 名 (8.3%))。MMSE-J スコアに基づく分類は、24 点から 27 点 (軽度認知機能障害) 2 名 (16.7%)、10 点から 23 点 (軽度, 中等度認知症) 6 名 (50.0%)、0 点から 9 点 (重度認知症) 4 名 (33.3%) であった。併存症は、高血圧 4 名 (33.3%)、糖尿病 2 名 (16.7%)、脂質異常症 0 名 (0.0%) であった。認知症治療薬は 1 名 (8.3%) のみが処方を受けていた。12 名はいずれも日常生活動作において一部介助を要する者であった。茶の飲用習慣については 12 名 (100.0%) が有しており、平均 680.8 mL/日の緑茶を摂取していた。

Table 20. Clinical characteristics of participants.

Clinical characteristic	
	<i>n</i> = 12
Age, mean $\pm$ SD (range)	87.9 $\pm$ 7.6 (70–98)
Sex, <i>n</i> (%)	
Men	2 (16.7)
Women	10 (83.3)
Underlying disease, <i>n</i> (%)	
Alzheimer's disease	3 (25.0)
Vascular dementia	8 (66.7)
Dementia with Lewy bodies	1 (8.3)
MMSE-J score, <i>n</i> (%)	
24–27 (MCI)	2 (16.7)
10–23 (mild to moderate)	6 (50.0)
0–9 (severe)	4 (33.3)
Complication ^a , <i>n</i> (%)	
Hypertension	4 (33.3)
Diabetes	2 (16.7)
Dyslipidemia	0 (0.0)
Concomitant drug ^a , <i>n</i> (%)	
Antihypertensive drug	8 (66.7)
Antidiabetic drug	1 (8.3)
Drug for dementia	1 (8.3)
Activities of daily living, <i>n</i> (%)	
Independence	0 (0.0)
Some assistance is necessary	12 (100.0)
Usual tea consumption	
Green tea, <i>n</i> (%)	12 (100.0)
Mean $\pm$ SD, mL/day	680.8 $\pm$ 229.8
Others ^b , <i>n</i> (%)	8 (66.7)
Mean $\pm$ SD, mL/day	85.0 $\pm$ 63.7
Alcohol use, <i>n</i> (%)	0 (0.0)
Smoking, <i>n</i> (%)	2 (16.7)
Dietary supplements, <i>n</i> (%)	0 (0.0)

^aMore than one choice was possible, ^bblack tea or oolong tea. MMSE-J, Mini-Mental State Examination Japanese version; MCI, Mild cognitive impairment; SD, standard deviation.

4-3-3 MMSE-J スコアの前後比較

試験前後の MMSE-J 得点の変化について、**Table 21** に示した。MMSE-J 得点の合計は、3 か月間の緑茶抹摂取により有意に改善した (介入前 15.3 ± 7.7 , 平均 $\pm$ SD; 介入後, 17.0 ± 8.2 ; $P = 0.03$)。評価領域に基づくドメイン毎の比較では、短期記憶のドメインが有意に改善した (介入前 2.0 ± 1.8 , 平均 $\pm$ SD; 介入後 3.2 ± 1.8 ; $P = 0.01$)。他のドメインの得点に有意な差は認められなかった。

血管性認知症を有する参加者 (8 名) を対象とした解析においても、全 12 名の解析結果と同様に MMSE-J 得点の合計 (介入前 18.4 ± 6.5 , 平均 $\pm$ SD; 介入後 20.6 ± 6.7 ; $P = 0.03$)、短期記憶のドメイン (介入前 2.6 ± 1.6 , 平均 $\pm$ SD; 介入後 4.0 ± 1.2 ; $P = 0.04$) の有意な改善が認められた。

認知機能低下度の分類に基づく比較では、軽度認知機能障害、軽度・中等度認知症、重度認知症のいずれの分類においても改善傾向が認められたものの、有意ではなかった。

Table 21. Changes in MMSE-J scores.

	Before	After	P-value
All subjects (n = 12)			
Total MMSE-J score (max, 30)	15.3 ± 7.7	17.0 ± 8.2	0.03 ^t
Orientation (max, 10)	4.2 ± 3.1	4.3 ± 3.9	0.96 ^w
Short-term memory (max, 6)	2.0 ± 1.8	3.2 ± 1.8	0.01 ^t
Attention and calculation (max, 5)	2.1 ± 2.0	2.0 ± 2.3	0.91 ^w
Language (max, 8)	6.7 ± 1.7	6.9 ± 1.4	0.46 ^w
Visual construction (max, 1)	0.4 ± 0.5	0.7 ± 0.5	0.08 ^w
Vascular dementia (n = 8)			
Total MMSE-J score (max, 30)	18.4 ± 6.5	20.6 ± 6.7	0.03 ^t
Orientation (max, 10)	5.1 ± 3.3	5.8 ± 3.8	0.11 ^t
Short-term memory (max, 6)	2.6 ± 1.6	4.0 ± 1.2	0.04 ^w
Attention and calculation (max, 5)	2.8 ± 1.9	2.5 ± 2.3	0.68 ^w
Language (max, 8)	7.4 ± 0.9	7.5 ± 0.9	0.32 ^w
Visual construction (max, 1)	0.5 ± 0.5	0.8 ± 0.5	0.16 ^w
Each stages of cognitive dysfunction			
Total MMSE-J score (max, 30)			
MCI (n = 2)	26.5 ± 0.7	29.0 ± 1.4	0.34 ^t
Mild to moderate (n = 6)	17.3 ± 3.7	18.8 ± 4.3	0.19 ^t
Severe (n = 4)	6.8 ± 1.7	8.3 ± 3.4	0.32 ^t

Values, Mean $\pm$ SD. ^tpaired t-test, ^wWilcoxon signed-rank test. MMSE-J, Mini-Mental State Examination Japanese version; MCI, Mild cognitive impairment.

4-3-4 検査値の前後比較

介入前後の検査値の変化について、**Table 22** に示した。血圧、血糖値に変化は認められず、血清脂質値のうち TG 値が有意に低下した (介入前 123.8 ± 80.2 , 介入後 103.3 ± 57.3 ; $P = 0.04$)。

Table 22. Changes in laboratory test values.

	Before	After	P-value
All subjects (n = 12)			
Blood pressure			
SBP (mmHg)	119.3 ± 18.8	126.3 ± 18.6	0.32^t
DBP (mmHg)	65.3 ± 12.7	70.2 ± 11.9	0.19^t
Serum lipid levels			
TC (mg/dL)	189.8 ± 33.4	188.8 ± 28.1	0.84^t
HDL-C (mg/dL)	47.0 ± 18.3	47.6 ± 16.5	0.78^t
LDL-C (mg/dL)	111.6 ± 23.8	111.8 ± 26.9	0.97^t
TG (mg/dL)	123.8 ± 80.2	103.3 ± 57.3	0.04^w
Blood glucose levels			
FPG (mg/dL)	124.3 ± 51.7	124.2 ± 37.5	0.86^w
HbA1c (%)	5.3 ± 0.6	5.2 ± 0.6	0.14^w

Values, Mean $\pm$ SD. ^tpaired t-test, ^wWilcoxon signed-rank test. SBP, Systolic blood pressure; DBP, Diastolic blood pressure; TC, total cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; TG, Triglyceride; FPG, fasting plasma glucose; HbA1c: hemoglobin A1c.

4-4 考察

本章では、日常的に摂取可能な量の緑茶が認知機能低下に及ぼす作用について、高齢者集団を対象に探索的に検討した。認知機能低下を有する集団を対象とし、14名が試験に参加、12名が完遂した。介入の結果、MMSE-Jにより評価される認知機能は、有意に改善した。2 g/dayの緑茶抹(カテキン類 226.6 mg, テアニン 42.0 mg 含有)は飲料としての緑茶に換算して2から4杯程度の摂取量であることから、日常的に摂取可能な量の緑茶が認知機能低下に対して抑制的な作用を持つことが示唆された。また、緑茶抹の摂取に関連のある重篤な有害事象は認められず、本研究における摂取量は安全性の観点からも問題がないものと考えられた。

認知機能低下の進行抑制に対しては、他の臨床試験からも示唆されている抗酸化作用や抗炎症作用が主として寄与しているものと考えられる(42, 143, 144)。しかしながら、本章の探索的試験では酸化ストレスについての評価を行っておらず、今後、認知機能と共に酸化ストレスを反映する指標を測定し、比較する必要がある。酸化ストレス指標については評価を行っていないものの、血清脂質値については評価し、TG値の改善が認められた。基礎研究においてはカテキン類のTG吸収阻害や排泄促進作用が知られており(162, 163)、TG値の改善に寄与した可能性がある。血清脂質値の改善は動脈硬化性疾患に対して予防的に働くため、副次的に認知機能低下の進行抑制に寄与する可能性は否定できないものの、認知機能とTG値の関連については明らかでなく(142, 164)、コレステロール値のコントロールによる認知症の予防についてもCochrane Reviewにより否定的な結果が示されている(165)。更に、本研究におけるTG値の改善が正常範囲内の変化として生じている点についても留意しなくてはならない。TC、HDL-C、LDL-Cの値に変化が見られないことから、単独での解釈は困難であると考えられた。認知機能低下の進行抑制に関与する可能性のある他の機序としては、カテキン類を含む茶ポリフェノールのアセチルコリンエステラーゼ阻害作用(166-169)やストレス応答系の機能亢進抑制作用(170, 171)に加え、テアニンのセロトニン作動性神経(172-174)、ドパミン作動性神経(174)、GABA作動性神経(175)に対する調節的な作用が挙げられる。

脳内への緑茶成分の移行については、げっ歯類での検討が行われている(176, 177)。Sprague-DawleyラットにEGCG 500 mg/kgを経口投与した場合、60分後に脳組織への移行が認められるものの、その移行率は0.5%程度と非常に少ない(176)。また、カテキン、エピカテキンを20 mg/kg静脈投与した場合、それぞれ7%、10%の脳内への移行が認められている(177)。ヒトにおいてはfunctional MRIを用いて緑茶成分を含む飲料摂取後の脳の状態が調べられており、試験飲料の摂取により作業記憶課題遂行時の頭頂前頭(parieto-frontal)の接続性に変化が認められているものの、当該試験では緑茶葉の量に換算して70 g以上に相当する高濃度の緑茶抽出物を含む飲料を使用しており、一般的な緑茶摂取後の脳内への成分の移行やそれに伴う脳機能の変化については明らかでない(178)。

緑茶の認知機能低下に対する進行抑制作用が認められた一方で、本研究には幾つかの限界が存在する。主たる研究の限界としては、試験デザインが挙げられる。非盲検、非プラセボ対照の前後比較試験であることから、全ての参加者は緑茶抹を摂取している。認知

症を有するものにおけるプラセボ効果については十分に明らかでないものの (179)、摂取そのものが影響を及ぼした可能性を排除することはできない。また、MMSE-J の学習効果についても考慮しなくてはならない。しかしながら、Tombaugh らの報告によると、65 歳から 89 歳の者を対象として、0、3、6 か月時点で MMSE を繰り返し行った場合の得点の変化は 3 か月時点で平均 0.69 点、6 か月時点で平均 0.35 点であることが示されており、繰り返しの影響は少ないものと考えられた (180)。その他、日常的な緑茶の飲用の影響やカフェインの注意力に対する影響 (181) が懸念された。倫理的な側面に配慮し緑茶の飲用を禁止しなかったものの、参加者は平均 680.8 mL/日の緑茶を常飲しており、MMSE-J の得点やその他検査値に影響を及ぼした可能性がある。認知症治療薬については、1 名の参加者が服用していたものの介入期間中の投与量の変更はなく、試験結果への影響は少ないものと考えられた。

以上より、日常的に摂取可能な量の緑茶が認知機能低下の進行抑制に有用であることが示唆された。一方、試験デザインをはじめとした幾つかの研究の限界が存在し、今後、大規模かつ長期的なランダム化比較対照試験を行うことで、その作用について検証する必要がある。また、ヒトにおける作用機序を明らかにするべく、緑茶やその成分の体内動態についての検討が求められる。

第5章 緑茶抹摂取による認知機能低下の進行抑制：ランダム化比較対照試験

5-1 緒言

第4章では、日常的に摂取可能な緑茶量に相当する緑茶抹摂取による認知機能低下の進行抑制作用について検討をすべく、前後比較試験を遂行した。認知機能低下を有する高齢者を対象とした前後比較試験の結果、認知機能を評価する指標である MMSE-J の得点は有意に改善した (49)。しかしながら、前後比較試験ではプラセボ効果の影響が懸念された (179, 182)。また、3 か月間という介入期間は、病態の進行や先行する認知症治療薬の試験デザインを勘案すると認知機能低下の進行抑制又は改善作用を評価する期間としては短いと考えられた (159, 183, 184)。加えて、第4章では認知機能低下の進行抑制作用に寄与すると考えられ、ヒトにおける例も報告されている抗酸化作用 (143) について評価を行っていない。また、抗酸化作用と認知機能低下の進行については臨床的な一貫した結論が得られておらず (185)、緑茶抹摂取による抗酸化作用と認知機能の変化との関連について評価し、明らかにすることは重要である。

認知機能低下のみならず、随伴する行動心理症状も臨床の間では問題となり、患者・介助者の quality of life (QOL) を低下させる (186)。一方、その治療は症状に併せた抗精神病薬の投与や回想療法 (reminiscence therapy) や確認療法 (validation therapy) をはじめとした非薬学的介入に留まっており、治療効果について一貫した結論は得られていない (187)。カテキン類を含む茶ポリフェノールはストレス応答系の機能亢進を抑制し (170, 171)、また、テアニンはセロトニン作動性神経 (172-174)、ドパミン作動性神経 (174)、GABA 作動性神経 (175) に対して調節的に働くことから、茶の摂取は行動心理症状に対しても有用である可能性がある。

これらの背景に基づき、日常的に摂取可能な緑茶が認知機能低下に及ぼす作用について、介護老人福祉施設入所者を対象とした1年間のランダム化比較対照試験により検証を試みた。酸化ストレス指標や行動・心理症状の変動について併せて評価した。

5-2 方法

5-2-1 試験デザインの概要

緑茶抹の摂取による認知機能低下の進行抑制作用について検証的に明らかにすべく、ランダム化比較対照試験を実施した。介護老人福祉施設（特別養護老人ホーム）に入所中の物忘れを訴える 50 歳以上の者を対象として、12 か月間、2 g/日の緑茶抹またはプラセボ末の摂取を行った。介入前及び介入後 3 か月毎に認知機能を評価し、群間で比較した。

認知機能の評価には、認知機能低下のスクリーニング指標として汎用される MMSE-J を用いた (158)。併せて、検査値の変化について群間で比較した。

5-2-2 施設及び対象者

介護老人福祉施設（特別養護老人ホーム）白十字ホーム（東京都東村山市；以下、実施施設と記載）に入所中の高齢者のうち、次の選択基準を満たし除外基準に該当しないものを対象とした。参加者の募集は、施設に於いてポスター掲示及び呼びかけにより行った。

- 選択基準:
- 1) 50 歳以上の者
 - 2) 緑茶抹の経口摂取が可能な者
 - 3) 試験期間中、抗酸化作用を有するサプリメントの服用を行わない者
(ビタミン E, C, A, β -カロテン)
 - 4) MMSE-J のスコアが 28 未満の者 (159)

- 除外基準:
- 1) 茶アレルギー（喘息、発疹等の既往）のある者
 - 2) 重篤な心疾患、呼吸器疾患、肝・腎疾患を有するもの
 - 3) 重篤な貧血を有する者
 - 4) その他、医師が本研究の対象者として不適格であると判断した者

適格基準を満たす参加者について、次の背景情報を調査票に記入した。背景情報は、東京白十字病院のカルテ情報に基づき、施設の医療従事者が記入を行った。

背景情報: 年齢、性別、基礎疾患、併存症、服用中の医薬品、アルコールの摂取
喫煙習慣、茶の飲用習慣、健康食品の摂取習慣、ADL、MRI または CT 所見

5-2-3 ランダム割付及び介入

試験への参加が可能であると判断された者を対象として、静岡県立総合病院創薬育薬研究室データマネジメントセンター（静岡県静岡市）においてランダム割付を行った。ランダム割付の方法は層別ブロックランダム化法とし、コンピュータにより発生させた擬似

乱数を用い、実施施設の棟（症状の程度に従い分類される入居棟）を層別化因子とした。緑茶群、プラセボ群（対照群）への割付の比率は 1:1 とした。

緑茶群に割付られた参加者は、緑茶抹を、プラセボ群に割り付けられた参加者はプラセボ抹を、1 日 3 回（毎食時）摂取した（緑茶抹、プラセボ抹共に株式会社伊藤園製造）。摂取は、実施施設の介護スタッフが支援し、摂取記録について 1 日毎に調査票に記入した。試験期間中の緑茶及び他の茶飲料の摂取については、倫理的側面に配慮し、両群で制限を設けなかった。

緑茶抹中には 110.1 mg/g のカテキン類（EGCG 44.0 mg/g）が含まれ、緑茶抹の成分の詳細は **Table 23** に示した。プラセボ抹は、セルロース及び色素から製造され、カテキン類、テアニンは含まれず、いずれの成分も検出限界以下であった。

Table 23. Green tea and placebo powder ingredients.

Green tea powder	(mg/g tea powder)
Total catechins	110.1
(-)-Gallocatechin	5.4
(-)-Epigallocatechin	36.0
(+)-Catechin	1.0
(-)-Epicatechin	11.0
(-)-Epigallocatechin gallate	44.0
(-)-Gallocatechin gallate	4.0
(-)-Epicatechin gallate	8.7
(-)-Catechin gallate	ND
Theanine	20.8
Placebo powder	(g/g placebo powder)
Cellulose powder	0.8
Gardenia/caramel pigment	0.2
Catechins	ND
Theanine	ND

ND, not detected.

5-2-4 評価項目

主要評価項目は、介入 12 か月後の MMSE-J スコアの基礎値（介入前）からの変動の群間差（緑茶群、プラセボ群間の差）とした。

副次評価項目は、last observation carried forward (LOCF) 時点での MMSE-J スコアの基礎値（介入前）からの変動の群間差、3 か月毎の MMSE-J スコアの基礎値（介入前）からの変動の群間差、Neuropsychiatric Inventory Questionnaire (NPI-Q) により評価される行動心理症状の変化 (188)、検査値（血圧、血清脂質値（TC, LDL-C, HDL-C, TG, MDA-LDL）、血糖・糖代

謝関連検査値 (FPG, HbA1c) の変動、緑茶抹またはプラセボ抹摂取の遵守率とした。安全性については有害事象の発生状況を随時確認し、併せて記録を確認することで評価した。

5-2-5 統計学的解析

症例数は井出らにより 2014 年に報告された前後比較試験及び先行する MMSE を用いた臨床試験の結果をもとに設計した (49, 183, 184, 189)。介入 12 か月後の群間の MMSE-J の得点の差を 1.7 点、SD を 1.4 点と仮定し、検出力 80%、両側有意水準 5%と設定した。結果、各群 12 名の参加が必要であると見積もられた。認知機能低下を有する 50 歳以上の者を対象とすることから、脱落率を 25%と推定し、各群 16 名、両群合計 32 名以上の参加者により試験を行うこととした。

有効性の解析にあたっては、FAS 及び PPS を次の条件に従い設定した。安全性の解析は FAS を対象に行うこととし、有害事象の発生状況について調査を行った。FAS 及び PPS は割付られた参加者のうち、以下の条件に該当する者を除いた集団とした。

- FAS: 1) 緑茶抹またはプラセボ抹の摂取を全く行わなかったもの
 2) 摂取開始後のデータを全く得ることの出来なかった者
 3) 試験期間中に同意を撤回し、本研究におけるデータの使用を拒否した者
- PPS: 1) 緑茶抹またはプラセボ抹の摂取の遵守率が 90%未満の者

参加者背景、参加期間中の参加者の記入の情報に関して、計量値は平均値、SD 及び値の幅を、計数値は例数及び割合を示した。

主要評価項目である介入 12 か月後の MMSE-J スコアの基礎値 (介入前) からの変動の群間差 (緑茶群, プラセボ群間の差) については、平均値の差に対して共分散分析 (analysis of covariance, ANCOVA) (190) を適用し、共変数として医学的に影響を及ぼすことが報告されている因子である年齢を考慮することとした (142)。併せて、反復測定共分散分析 (repeated measures ANCOVA) (191) により、介入前、3 か月毎の測定を考慮した。Repeated measures ANCOVA においても、年齢を共変数とした。ANCOVA 及び repeated measures ANCOVA の結果は、最小二乗平均値 (least square mean, LSM; 残差の二乗和が最小となる平均値) と誤差 (standard error, SE) として示した。また、2 群間の差については差の LSM と 95% CI を示した。

副次評価項目である LOCF 時点での MMSE-J スコアの基礎値 (介入前) からの変動の群間差、3 か月毎の MMSE-J スコアの基礎値 (介入前) からの変動の群間差、NPI-Q により評価される行動心理症状の変化 (188)、検査値 (血圧, 血清脂質値 (TC, LDL-C, HDL-C, TG, MDA-LDL), 血糖値 (FPG, HbA1c)) の変動の比較には ANCOVA を適用し、緑茶抹またはプラセボ抹摂取の遵守率は記述的に群毎に算出した。

有意水準は両側 5% ($P < 0.05$) と設定し、統計学的解析には SAS version 9.4 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。

5-2-6 倫理的配慮・利益相反

本研究は事前に静岡県立大学倫理審査委員会による承認を受け (No. 25-10; 2013 年 6 月 25 日承認)、ヘルシンキ宣言 (ソウル改訂) (74) 及び臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) (75) に則り実施した。尚、試験の実施にあたっては、大学病院医療情報ネットワーク (University hospital Medical Information Network, UMIN) 臨床試験登録システム (UMIN Clinical Trials Registry, UMIN-CTR) における臨床試験事前登録を行った (UMIN 試験 ID: UMIN000011668)。

試験への参加にあたっては、登録前に本人または代諾者より文書によるインフォームドコンセントを得た。当該研究は、株式会社伊藤園より助成 (No. 13-322) 及び試験抹の提供を受けた。利益相反は適切にコントロールし、遂行した (50)。

5-3 結果

5-3-1 試験の概要

試験の流れ図 (flow diagram) を **Figure 6** に示した。実施施設の入居者のうち、35 名が試験への参加を希望し、本人または代諾者よりインフォームドコンセントを取得した。試験参加に係る適格性評価の結果、2 名が除外基準に該当し、33 名が基準を満たした。

33 名 (男性 4 名, 女性 29 名; 平均年齢 $\pm$ SD, 84.8 ± 9.3 歳) を緑茶群またはプラセボ群にランダムに割付けた。緑茶群に 17 名が、プラセボ群に 16 名が割付られた。試験期間中に 6 名 (緑茶群 3 名, プラセボ群 3 名) が同意撤回 (4 名) 及び転院 (2 名) により試験から脱落した。27 名が試験を完遂し、FAS には 33 名が含まれた。緑茶抹、プラセボ抹の摂取の遵守率 (平均 $\pm$ SD) は、FAS において $89.6 \pm 23.4\%$ (緑茶群, $88.7 \pm 25.0\%$; プラセボ群, $90.7 \pm 22.4\%$) であり、PPS において $99.0 \pm 1.9\%$ (緑茶群, $98.5 \pm 2.6\%$; プラセボ群, $99.5 \pm 0.8\%$) であった。尚、試験期間中、緑茶抹及びプラセボ抹の摂取に関連する重篤な有害事象の発生は認められなかった。

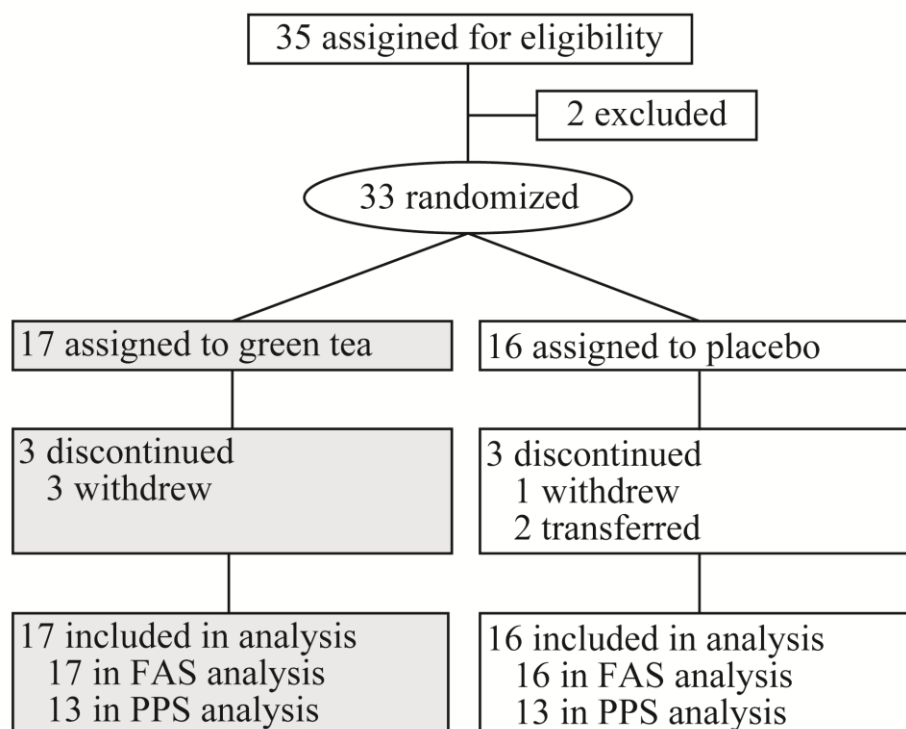


Figure 6. Study flow diagram. FAS, full analysis set; PPS, per protocol set.

5-3-2 背景情報

参加者の背景情報を解析対象集団毎 (FAS, PPS) に **Table 24, Table 25** に示した。参加者の平均年齢 $\pm$ SD は、FAS において 84.8 ± 9.3 歳 (緑茶群 81.8 ± 11.1 歳, プラセボ群 87.9 ± 5.6 歳)、PPS において 84.4 ± 9.6 歳 (緑茶群 80.9 ± 11.8 歳, プラセボ群 87.8 ± 5.4 歳)であった。性別は、FAS において緑茶群は男性 3 名 (17.6%)、女性 14 名 (82.4%)、プラセボ群は男性 1 名 (6.3%)、女性 15 名 (93.7%) であり、PPS において緑茶群は男性 3 名 (23.1%)、女性 10 名 (76.9%)、プラセボ群で男性 0 名 (0.0%)、女性 13 名 (100.0%)であった。

いずれの参加者も認知症を罹病していた (FAS: アルツハイマー型認知症 17 名 (51.5%), 血管性認知症 15 名 (45.5%), レビー小体型認知症 1 名 (3.0%)). PPS: アルツハイマー型認知症 12 名 (46.2%), 血管性認知症 14 名 (53.8%)). 群間で認知症分類の偏りは認められなかった (FAS: アルツハイマー型認知症, 9 名 (52.9%) vs. 8 名 (50.0%); 血管性認知症, 7 名 (41.2%) vs. 8 名 (50.0%); レビー小体型認知症, 1 名 (5.9%) vs. 0 名 (0.0%)). PPS: アルツハイマー型認知症, 6 名 (46.2%) vs. 6 名 (46.2%); 血管性認知症, 7 名 (53.8%) vs. 7 名 (53.8%)). 併存症として、高血圧を有する参加者が両群共に最も多かった (FAS: 緑茶群 13 名 (76.5%), プラセボ群 9 名 (56.3%)). PPS: 緑茶群 11 名 (84.6%), プラセボ群 6 名 (46.2%)).

認知症治療薬は、FAS において緑茶群で 2 名 (11.8%)、プラセボ群で 3 名 (18.8%) に、PPS において緑茶群で 2 名 (15.4%)、プラセボ群で 1 名 (7.7%)処方されていた。また、緑茶の飲用習慣 (200 mL/日 以上の摂取) は緑茶群、プラセボ群のいずれも全ての参加者が有していた。日常生活動作は一部介助に分類される参加者が最も多く、両群で偏りは認められなかった (FAS: 緑茶群 11 名 (64.7%) vs. 12 名 (75.0%)). PPS: 緑茶群 9 名 (69.2%) vs. 10 名 (76.9%)).

Table 24. Clinical characteristics of participants in FAS.

Clinical characteristics	Green tea	Placebo
	<i>n</i> = 17	<i>n</i> = 16
Age, mean $\pm$ SD	81.8 $\pm$ 11.1	87.9 $\pm$ 5.6
Sex, <i>n</i> (%)		
Men	3 (17.6)	1 (6.3)
Women	14 (82.4)	15 (93.7)
Underlying diseases, <i>n</i> (%)		
Alzheimer's disease	9 (52.9)	8 (50.0)
Vascular dementia	7 (41.2)	8 (50.0)
Dementia with Lewy bodies	1 (5.9)	0 (0.0)
MMSE-J score, mean $\pm$ SD	15.9 $\pm$ 6.3	15.7 $\pm$ 4.4
Complications ^a , <i>n</i> (%)		
Hypertension	13 (76.5)	9 (56.3)
Dyslipidemia	3 (17.6)	7 (43.8)
Diabetes	5 (29.4)	4 (25.0)
Concomitant drugs ^a , <i>n</i> (%)		
Antihypertensive drugs	13 (76.5)	12 (75.0)
Antidyslipidemic drugs	2 (11.8)	5 (31.3)
Antidiabetic drugs	4 (23.5)	4 (25.0)
Drugs for dementia	2 (11.8)	3 (18.8)
Activities of daily living, <i>n</i> (%)		
Independent	5 (29.4)	4 (25.0)
Some assistance necessary	11 (64.7)	12 (75.0)
Full assistance necessary	1 (5.9)	0 (0.0)
Daily tea consumption	17 (100.0)	16 (100.0)
Green tea, <i>n</i> (%)	17 (100.0)	16 (100.0)
Other ^b , <i>n</i> (%)	7 (41.2)	5 (31.3)
Alcohol use, <i>n</i> (%)	1 (5.9)	0 (0.0)
Smoking, <i>n</i> (%)	2 (11.8)	1 (6.3)
Dietary supplement consumption, <i>n</i> (%)	0 (0.0)	0 (0.0)

^aMore than one choice was possible, ^bblack tea or oolong tea. FAS, full analysis set; MMSE-J, Mini Mental State Examination, Japanese version; SD, standard deviation.

Table 25. Clinical characteristics of participants in PPS.

Clinical characteristics	Green tea	Placebo
	<i>n</i> = 13	<i>n</i> = 13
Age, mean ± SD	80.9 ± 11.8	87.8 ± 5.4
Sex, <i>n</i> (%)		
Men	3 (23.1)	0 (0.0)
Women	10 (76.9)	13 (100.0)
Underlying diseases, <i>n</i> (%)		
Alzheimer's disease	6 (46.2)	6 (46.2)
Vascular dementia	7 (53.8)	7 (53.8)
Dementia with Lewy bodies	0 (0.0)	0 (0.0)
MMSE-J score, mean ± SD	15.2 ± 6.4	16.7 ± 4.2
Complications ^a , <i>n</i> (%)		
Hypertension	11 (84.6)	6 (46.2)
Dyslipidemia	3 (23.1)	7 (53.9)
Diabetes	5 (38.5)	2 (15.4)
Concomitant drugs ^a , <i>n</i> (%)		
Antihypertensive drugs	10 (76.9)	10 (76.9)
Antidyslipidemic drugs	2 (15.4)	5 (38.5)
Antidiabetic drugs	4 (30.8)	2 (15.4)
Drugs for dementia	2 (15.4)	1 (7.7)
Activities of daily living, <i>n</i> (%)		
Independent	4 (30.8)	3 (23.1)
Some assistance necessary	9 (69.2)	10 (76.9)
Full assistance necessary	0 (0.0)	0 (0.0)
Daily tea consumption	13 (100.0)	13 (100.0)
Green tea, <i>n</i> (%)	13 (100.0)	13 (100.0)
Other ^b , <i>n</i> (%)	4 (30.8)	4 (30.8)
Alcohol use, <i>n</i> (%)	0 (0.0)	0 (0.0)
Smoking, <i>n</i> (%)	2 (15.4)	1 (7.7)
Dietary supplement consumption, <i>n</i> (%)	0 (0.0)	0 (0.0)

^aMore than one choice was possible, ^bblack tea or oolong tea. MMSE-J, Mini Mental State Examination, Japanese version; PPS, per protocol set; SD, standard deviation.

5-3-3 MMSE-J スコアの群間比較

MMSE-J スコアの 12 か月間の変動を **Table 26** に、緑茶群、プラセボ群間の比較を **Table 27** に示した。プラセボ群と比較して、緑茶抹摂取開始 12 か月後時点の MMSE-J スコアの有意な変動は認められなかった (FAS: -0.61 (-2.97, 1.74), LSM difference (95% CI); $P = 0.59$. PPS: -0.58 (-3.08, 1.92), $P = 0.64$)。LOCF 時点においても、MMSE-J スコアの有意な変動は認められなかった (FAS: -0.59 (-2.62, 1.45), LSM difference (95% CI); $P = 0.56$. PPS: -0.67 (-3.10, 1.76), $P = 0.57$) (**Table 27**)。

Repeated measures ANCOVA においても、FAS、PPS 共に有意な差は認められなかった (FAS: -0.33 ± 0.94 , LSM difference $\pm$ SE; $P = 0.73$. PPS: -0.67 ± 1.00 , $P = 0.51$) (**Table 27**)。

Table 26. MMSE-J score changes.

<i>FAS</i>						
Total MMSE-J, mean ± SD	Baseline	3 months	6 months	9 months	12 months	LOCF
Green tea	15.9 ± 6.3	15.9 ± 6.4	17.4 ± 6.3	16.0 ± 6.5	16.5 ± 7.2	16.1 ± 6.4
Placebo	15.7 ± 4.4	16.1 ± 5.5	16.8 ± 5.2	18.8 ± 4.8	17.7 ± 5.2	16.4 ± 5.3
<i>PPS</i>						
Total MMSE-J, mean ± SD	Baseline	3 months	6 months	9 months	12 months	LOCF
Green tea	15.2 ± 6.4	15.2 ± 6.3	17.2 ± 6.4	15.2 ± 6.3	15.7 ± 7.0	15.5 ± 6.7
Placebo	16.7 ± 4.2	17.1 ± 5.2	17.5 ± 4.6	19.7 ± 3.9	17.7 ± 5.2	17.7 ± 5.2

FAS, full analysis set; LOCF, last observation carried forward; MMSE-J, Mini Mental State Examination Japanese version; PPS, per protocol set; SD, standard deviation.

Table 27. ANCOVA and repeated measures ANCOVA for MMSE-J score changes.

ANCOVA	12 months			LOCF		
	Placebo	Green tea	<i>P</i> -value	Placebo	Green tea	<i>P</i> -value
FAS	<i>n</i> = 16	<i>n</i> = 17		<i>n</i> = 16	<i>n</i> = 17	
Total MMSE-J Score, LSM ± SE	1.04 ± 0.80	0.42 ± 0.77	0.59	0.71 ± 0.71	0.13 ± 0.66	0.56
LSM diff (95% CI)	-0.61 (-2.97, 1.74)			-0.59 (-2.62, 1.45)		
PPS	<i>n</i> = 13	<i>n</i> = 13		<i>n</i> = 13	<i>n</i> = 13	
Total MMSE-J Score, LSM ± SE	1.04 ± 0.83	0.46 ± 0.83	0.64	1.03 ± 0.82	0.36 ± 0.79	0.57
LSM diff (95% CI)	-0.58 (-3.08, 1.92)			-0.67 (-3.10, 1.76)		
Repeated measures ANCOVA	LSM ± SE	LSM diff ± SE	<i>P</i> -value			
FAS						
Green tea	0.75 ± 0.68	-0.33 ± 0.94	0.73			
Placebo	0.42 ± 0.63					
PPS						
Green tea	1.16 ± 0.70	-0.67 ± 1.00	0.51			
Placebo	0.49 ± 0.67					

ANCOVA, analysis of covariance; CI, confidence interval; diff, difference; FAS, full analysis set; LOCF, last observation carried forward; LSM, least square mean; MMSE-J, Mini Mental State Examination, Japanese version; PPS, per protocol set; SE, standard error.

5-3-4 検査値、NPI-Q の群間比較

検査値、NPI-Q の変動について、**Table 28** (FAS)、**Table 29** (PPS) に示し、ANCOVA、repeated measures ANCOVA の結果を **Table 30** (FAS)、**Table 31** (PPS) に示した。

緑茶群において、酸化ストレス指標として用いられる MDA-LDL の値の上昇が、有意に抑制された。この作用は、FAS、PPS のいずれの解析対象集団でも認められた (FAS: -22.93 (-44.13, -1.73), LSM difference (95% CI); $P = 0.04$. PPS: -24.50 (-46.84, -2.16), $P = 0.03$)。NPI-Q により測定される行動心理症状及び他の検査値については、両群間で有意な差は認められなかった。また、記述的解析の結果、行動心理症状及び他の検査値について、介入期間中の医学的に意味のある変動は観察されなかった。

Table 28. Changes in NPI-Q scores and laboratory tests results in FAS.

FAS	Baseline	3 months	6 months	9 months	12 months
NPI-Q					
Total symptom score, mean $\pm$ SD					
Placebo	1.7 $\pm$ 2.3	2.0 $\pm$ 2.8	2.4 $\pm$ 3.0	1.9 $\pm$ 2.0	2.6 $\pm$ 3.2
Green tea	3.1 $\pm$ 4.4	2.7 $\pm$ 3.1	2.7 $\pm$ 3.6	2.0 $\pm$ 2.4	1.6 $\pm$ 2.0
Total distress score, mean $\pm$ SD					
Placebo	1.7 $\pm$ 2.3	1.3 $\pm$ 2.5	2.2 $\pm$ 3.5	2.0 $\pm$ 3.7	2.1 $\pm$ 3.0
Green tea	3.2 $\pm$ 4.5	1.9 $\pm$ 2.6	2.5 $\pm$ 4.5	2.1 $\pm$ 3.5	1.3 $\pm$ 1.6
Blood pressure					
SBP (mmHg), mean $\pm$ SD					
Placebo	122.5 $\pm$ 17.8	125.3 $\pm$ 14.1	120.5 $\pm$ 17.3	116.2 $\pm$ 14.6	122.0 $\pm$ 16.3
Green tea	125.6 $\pm$ 15.7	125.4 $\pm$ 17.0	129.1 $\pm$ 23.7	125.0 $\pm$ 13.5	121.3 $\pm$ 12.2
DBP (mmHg), mean $\pm$ SD					
Placebo	69.3 $\pm$ 10.3	72.3 $\pm$ 11.7	65.9 $\pm$ 11.3	65.1 $\pm$ 13.6	66.8 $\pm$ 10.9
Green tea	73.4 $\pm$ 10.7	72.8 $\pm$ 12.6	75.5 $\pm$ 14.0	68.3 $\pm$ 10.4	70.7 $\pm$ 8.0
Serum lipid levels					
TC (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	185.7 $\pm$ 20.3	188.7 $\pm$ 20.7	189.6 $\pm$ 24.3	187.9 $\pm$ 25.1	184.7 $\pm$ 27.8
Green tea	180.4 $\pm$ 36.3	182.1 $\pm$ 35.3	178.8 $\pm$ 32.6	176.0 $\pm$ 34.9	169.4 $\pm$ 25.9
HDL-C (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	46.4 $\pm$ 9.2	47.7 $\pm$ 8.0	50.6 $\pm$ 9.7	48.1 $\pm$ 8.4	47.0 $\pm$ 8.9
Green tea	47.4 $\pm$ 11.0	48.6 $\pm$ 11.3	50.1 $\pm$ 11.0	50.9 $\pm$ 10.5	47.8 $\pm$ 9.5
LDL-C (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	114.8 $\pm$ 19.5	114.1 $\pm$ 18.8	113.6 $\pm$ 21.3	114.4 $\pm$ 21.5	111.1 $\pm$ 24.0
Green tea	110.2 $\pm$ 30.4	107.4 $\pm$ 28.8	105.4 $\pm$ 29.5	100.9 $\pm$ 29.4	95.0 $\pm$ 22.1
TG (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	127.8 $\pm$ 52.7	115.4 $\pm$ 34.9	106.3 $\pm$ 34.2	103.7 $\pm$ 39.4	115.7 $\pm$ 42.6
Green tea	122.6 $\pm$ 48.9	117.0 $\pm$ 45.1	106.7 $\pm$ 31.7	92.7 $\pm$ 37.5	117.1 $\pm$ 53.2
MDA-LDL (U/L), mean $\pm$ SD					
Placebo	84.3 $\pm$ 14.7	86.8 $\pm$ 16.6	100.1 $\pm$ 25.2	90.0 $\pm$ 18.1	100.9 $\pm$ 20.0
Green tea	88.3 $\pm$ 35.1	89.9 $\pm$ 29.8	94.5 $\pm$ 26.7	88.9 $\pm$ 37.5	89.9 $\pm$ 19.9

Table 28. Cont.

Blood glucose levels					
FPG (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	115.4 $\pm$ 37.3	118.1 $\pm$ 35.3	105.4 $\pm$ 26.9	115.7 $\pm$ 33.7	112.0 $\pm$ 32.1
Green tea	116.8 $\pm$ 34.0	110.8 $\pm$ 30.8	120.0 $\pm$ 38.5	119.9 $\pm$ 26.7	126.9 $\pm$ 41.2
Hb _{A1c} (%), mean $\pm$ SD					
Placebo	5.6 $\pm$ 0.6	5.6 $\pm$ 0.7	5.6 $\pm$ 0.6	5.6 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.5
Green tea	5.5 $\pm$ 0.4	5.6 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.6

DBP, diastolic blood pressure; FAS, full analysis set; FPG, fasting plasma glucose; Hb_{A1c}, hemoglobin, A1c; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; LSM, least square mean; MDM-LDL, malondialdehyde-modified low-density lipoprotein; NPI-Q, Neuropsychiatric Inventory Questionnaire; SBP, systolic blood pressure; SD, standard deviation; TC, total cholesterol; TG, triglycerides.

Table 29. Changes in NPI-Q scores and laboratory tests results in PPS.

PPS	Baseline	3 months	6 months	9 months	12 months
NPI-Q: Total symptom score, mean $\pm$ SD					
Placebo	2.1 $\pm$ 2.4	2.4 $\pm$ 3.0	2.3 $\pm$ 3.1	1.9 $\pm$ 2.1	2.6 $\pm$ 3.3
Green tea	1.6 $\pm$ 2.0	2.0 $\pm$ 2.2	2.2 $\pm$ 2.6	1.5 $\pm$ 1.9	1.5 $\pm$ 2.0
NPI-Q: Total distress score, mean $\pm$ SD					
Placebo	2.0 $\pm$ 2.4	1.5 $\pm$ 2.8	2.4 $\pm$ 3.5	2.1 $\pm$ 3.8	2.2 $\pm$ 3.1
Green tea	1.8 $\pm$ 2.6	1.8 $\pm$ 2.4	1.8 $\pm$ 3.0	1.6 $\pm$ 2.9	1.2 $\pm$ 1.6
Blood pressure					
SBP (mmHg), mean $\pm$ SD					
Placebo	121.8 $\pm$ 16.3	124.0 $\pm$ 15.0	120.0 $\pm$ 17.9	117.3 $\pm$ 14.6	122.0 $\pm$ 16.3
Green tea	127.6 $\pm$ 17.4	122.7 $\pm$ 16.3	127.3 $\pm$ 26.1	122.1 $\pm$ 12.4	120.6 $\pm$ 12.4
DBP (mmHg), mean $\pm$ SD					
Placebo	67.1 $\pm$ 8.1	70.1 $\pm$ 12.0	66.3 $\pm$ 11.7	65.6 $\pm$ 14.0	66.8 $\pm$ 10.9
Green tea	75.1 $\pm$ 11.7	71.8 $\pm$ 13.0	78.0 $\pm$ 14.2	69.8 $\pm$ 10.2	70.9 $\pm$ 8.2
Serum lipid levels					
TC (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	186.5 $\pm$ 22.5	191.8 $\pm$ 21.9	191.5 $\pm$ 24.2	189.2 $\pm$ 25.5	184.7 $\pm$ 27.8
Green tea	173.6 $\pm$ 36.1	174.5 $\pm$ 34.0	172.5 $\pm$ 32.9	172.9 $\pm$ 26.4	168.1 $\pm$ 26.4
HDL-C (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	46.6 $\pm$ 8.2	48.4 $\pm$ 5.9	49.8 $\pm$ 9.7	47.6 $\pm$ 8.5	47.0 $\pm$ 8.9
Green tea	46.8 $\pm$ 11.0	47.0 $\pm$ 10.9	48.8 $\pm$ 10.5	49.5 $\pm$ 10.0	47.5 $\pm$ 9.9
LDL-C (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	116.8 $\pm$ 20.8	117.0 $\pm$ 19.4	116.2 $\pm$ 19.9	116.2 $\pm$ 21.2	111.1 $\pm$ 24.0
Green tea	105.6 $\pm$ 31.0	102.5 $\pm$ 28.0	100.5 $\pm$ 29.2	99.8 $\pm$ 31.3	94.3 $\pm$ 22.8
TG (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	125.5 $\pm$ 53.0	117.9 $\pm$ 34.6	108.2 $\pm$ 34.8	106.6 $\pm$ 39.4	115.7 $\pm$ 42.6
Green tea	110.8 $\pm$ 41.6	114.8 $\pm$ 47.7	111.7 $\pm$ 33.0	93.8 $\pm$ 39.2	117.5 $\pm$ 55.3
MDA-LDL (U/L), mean $\pm$ SD					
Placebo	81.2 $\pm$ 14.6	86.7 $\pm$ 17.9	103.2 $\pm$ 23.3	91.3 $\pm$ 18.2	100.9 $\pm$ 20.0
Green tea	90.2 $\pm$ 38.5	89.0 $\pm$ 30.8	91.1 $\pm$ 26.8	91.0 $\pm$ 34.0	90.0 $\pm$ 20.7

Table 29. Cont.

Blood glucose levels					
FPG (mg/dL), mean $\pm$ SD					
Placebo	113.7 $\pm$ 40.2	117.1 $\pm$ 34.1	106.8 $\pm$ 27.5	115.8 $\pm$ 35.0	112.0 $\pm$ 32.1
Green tea	121.3 $\pm$ 37.2	115.5 $\pm$ 32.5	123.8 $\pm$ 40.6	117.8 $\pm$ 27.9	126.2 $\pm$ 42.7
Hb _{A1c} (%), mean $\pm$ SD					
Placebo	5.5 $\pm$ 0.6	5.5 $\pm$ 0.7	5.6 $\pm$ 0.6	5.6 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.5
Green tea	5.5 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.6	5.6 $\pm$ 0.6	5.6 $\pm$ 0.6

DBP, diastolic blood pressure; FPG, fasting plasma glucose; Hb_{A1c}, hemoglobin, A1c; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; LSM, least square mean; MDM-LDL, malondialdehyde-modified low-density lipoprotein; NPI-Q, Neuropsychiatric Inventory Questionnaire; PPS, per protocol set; SBP, systolic blood pressure; SD, standard deviation; TC, total cholesterol; TG, triglycerides.

Table 30. ANCOVA and repeated measures ANCOVA for secondary outcomes of FAS.

<i>FAS</i>	Placebo	Green tea	<i>P</i> -value
	<i>n</i> = 16	<i>n</i> = 17	
Total MMSE Score, LSM ± SE	1.04 ± 0.80	0.42 ± 0.77	0.59
LSM diff (95% CI)	-0.61 (-2.97, 1.74)		
NPI-Q: Total symptom score, LSM ± SE	0.56 ± 0.74	0.23 ± 0.74	0.76
LSM diff (95% CI)	-0.34 (-2.52, 1.85)		
NPI-Q: Total distress score, LSM ± SE	-0.02 ± 0.64	-0.27 ± 0.64	0.79
LSM diff (95% CI)	-0.25 (-2.17, 1.67)		
Blood pressure			
SBP (mmHg), LSM ± SE	-1.94 ± 4.88	-4.06 ± 4.69	0.76
LSM diff (95% CI)	-2.12 (-16.46, 12.22)		
DBP (mmHg), LSM ± SE	-1.15 ± 3.71	-2.93 ± 3.57	0.74
LSM diff (95% CI)	-1.79 (-12.69, 9.12)		
Serum lipid levels			
TC (mg/dL), LSM ± SE	0.41 ± 5.72	-10.23 ± 5.50	0.20
LSM diff (95% CI)	-10.64 (-27.46, 6.18)		
HDL-C (mg/dL), LSM ± SE	0.69 ± 1.75	0.57 ± 1.68	0.96
LSM diff (95% CI)	-0.12 (-5.26, 5.02)		
LDL-C (mg/dL), LSM ± SE	-4.26 ± 4.92	-14.90 ± 4.73	0.14
LSM diff (95% CI)	-10.63 (-25.09, 3.83)		
TG (mg/dL), LSM ± SE	-8.80 ± 11.59	-1.32 ± 11.15	0.65
LSM diff (95% CI)	7.48 (-26.60, 41.57)		
MDA-LDL (U/L), LSM ± SE	21.52 ± 7.21	-1.41 ± 6.93	0.04
LSM diff (95% CI)	-22.93 (-44.13, -1.73)		
Blood glucose levels			
FPG (mg/dL), LSM ± SE	0.75 ± 10.46	4.38 ± 10.06	0.81
LSM diff (95% CI)	3.63 (-27.13, 34.38)		
HbA1c (%), LSM ± SE	0.16 ± 0.08	0.01 ± 0.07	0.16
LSM diff (95% CI)	-0.16 (-0.38, 0.07)		

ANCOVA, analysis of covariance; CI, confidence interval; DBP, diastolic blood pressure; diff, difference; FAS, full analysis set; FPG, fasting plasma glucose; HbA1c, hemoglobin A1c; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; LSM, least square mean; MDA-LDL, malondialdehyde-modified low-density lipoprotein; NPI-Q, Neuropsychiatric Inventory Questionnaire; SBP, systolic blood pressure; SE, standard error; TC, total cholesterol; TG, triglycerides.

Table 31. ANCOVA and repeated measures ANCOVA for secondary outcomes of PPS.

PPS	Placebo	Green tea	<i>P</i> -value
	<i>n</i> = 13	<i>n</i> = 13	
Total MMSE Score, LSM ± SE	1.04 ± 0.83	0.46 ± 0.83	0.64
LSM diff (95% CI)	-0.58 (-3.08, 1.92)		
NPI-Q: Total symptom score, LSM ± SE	0.46 ± 0.79	0.00 ± 0.79	0.69
LSM diff (95% CI)	-0.46 (-2.84, 1.92)		
NPI-Q: Total distress score, LSM ± SE	-0.09 ± 0.68	-0.52 ± 0.68	0.67
LSM diff (95% CI)	-0.43 (-2.49, 1.64)		
Blood pressure			
SBP (mmHg), LSM ± SE	-2.07 ± 5.02	-4.70 ± 5.02	0.72
LSM diff (95% CI)	-2.63 (-17.82, 12.56)		
DBP (mmHg), LSM ± SE	-1.18 ± 3.82	-3.28 ± 3.82	0.71
LSM diff (95% CI)	-2.11 (-13.67, 9.45)		
Serum lipid levels			
TC (mg/dL), LSM ± SE	0.07 ± 5.63	-7.37 ± 5.63	0.38
LSM diff (95% CI)	-7.44 (-24.49, 9.61)		
HDL-C (mg/dL), LSM ± SE	0.77 ± 1.79	0.38 ± 1.79	0.89
LSM diff (95% CI)	-0.38 (-5.82, 5.05)		
LDL-C (mg/dL), LSM ± SE	-4.62 ± 4.82	-12.38 ± 4.82	0.28
LSM diff (95% CI)	-7.75 (-22.34, 6.84)		
TG (mg/dL), LSM ± SE	-10.50 ± 10.55	7.27 ± 10.55	0.26
LSM diff (95% CI)	17.78 (-14.17, 49.73)		
MDA-LDL (U/L), LSM ± SE	21.98 ± 7.38	-2.52 ± 7.38	0.03
LSM diff (95% CI)	-24.50 (-46.84, -2.16)		
Blood glucose levels			
FPG (mg/dL), LSM ± SE	1.66 ± 10.57	1.49 ± 10.57	0.99
LSM diff (95% CI)	-0.17 (-32.19, 31.85)		
HbA1c (%), LSM ± SE	0.16 ± 0.08	0.04 ± 0.08	0.27
LSM diff (95% CI)	-0.13 (-0.36, 0.10)		

ANCOVA, analysis of covariance; CI, confidence interval; DBP, diastolic blood pressure; diff, difference; FAS, full analysis set; FPG, fasting plasma glucose; HbA1c, hemoglobin A1c; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; LSM, least square mean; MDA-LDL, malondialdehyde-modified low-density lipoprotein; NPI-Q, Neuropsychiatric Inventory Questionnaire; SBP, systolic blood pressure; SE, standard error; TC, total cholesterol; TG, triglycerides.

5-4 考察

本章では、日常的に摂取可能な量の緑茶が認知機能低下に及ぼす作用について、認知機能低下を有する介護老人福祉施設入所者を対象としたランダム化比較対照試験により検証を試みた。併せて、酸化ストレス指標や行動・心理症状の変動について併せて評価した。設計した必要症例数を満たす 33 名が試験に参加、27 名が完遂した。12 か月間の介入の結果、MMSE-J の得点により評価される認知機能に緑茶群、プラセボ群間の有意な差は認められなかった。また、FAS、PPS のいずれの解析対象集団でも有意な差は示されなかった。一方で、副次評価項目のひとつである酸化ストレス指標、MDA-LDL 値の上昇が、緑茶群において有意に抑制された (FAS, $P = 0.04$; PPS, $P = 0.03$)。日常的に摂取可能な量の緑茶が長期的に認知機能に影響を及ぼさない可能性が示された一方で、抗酸化作用は認められた。

MMSE-J の得点により評価される認知機能の変化に群間差が認められなかった要因として、期間中の得点の変化が少ないことが挙げられ、主たる研究の限界であると考えられた。MMSE-J の得点の基礎値からの変化は、介入 12 か月時点で 0.6 点から 2.0 点であり、プラセボ群においても認知機能低下の進行が認められなかった。今後、プラセボ群の認知機能低下が観察される期間を推定し介入期間を定めることでその作用についてより確からしく評価することが可能であると推察された。また、2g/日の緑茶抹 (カテキン類 220.2 mg, テアニン 41.6 mg 含有) は 2 杯から 4 杯程度の緑茶に相当する低用量であり、緑茶が食品であることから作用は緩慢であると考えられ、より長期的な予防的作用を明らかにすることも重要であると考えられた。これまでに行われた介入試験の結果との不一致については、第 4 章の試験は前後比較試験であること (49)、他の研究者による試験では茶やその成分を用いたいわゆるサプリメントの作用を評価していること (45)、認知機能を異なる指標により評価していること (43, 44) が一因である可能性が高い。また、倫理的な側面から制限を設けなかったものの、参加者は緑茶を常飲しており (1 杯/日以上)、MMSE-J の得点やその他検査値に影響を及ぼした可能性がある。また、本章の試験では介入前及び介入後 3 ヶ月毎の合計 5 回、MMSE-J による認知機能評価を行っている。複数回の評価による学習効果については、第 4 章の記載の通り Tombaugh らにより調べられており、65 歳から 89 歳の者を対象として、0 か月、3 か月、6 か月時点で MMSE を繰り返し行った場合の得点の変化は 3 か月時点で平均 0.69 点、6 か月時点で平均 0.35 点であることが示されている (180)。本研究の参加者は 1 名を除き 65 歳以上であり、平均 84.4 歳であった。そのため、繰り返しの影響は少ないものと予測される。

副次評価項目については、酸化ストレス指標のひとつである MDA-LDL 値の上昇が、緑茶群において有意に抑制された。酸化ストレスは認知症などの神経変性疾患の原因のひとつであると考えられており、細胞の機能不全や変性を引き起こす (192-195)。また、MDA-LDL については、加齢による上昇が示唆されている (196)。それだけでなく、MDA-LDL に対する抗体がアルツハイマー型認知症において脳脊髄液内に増加することが知られている (197)。加えて、リポ蛋白質はアルツハイマー型認知症において酸化を受け易く、酸化されたリポ蛋白質は神経毒性を示す (198)。そのため、MDA-LDL の増加抑制は認知機能低下に対して保護的にはたらく可能性がある。MMSE-J 得点の変化としての差は認められなかった

ものの、酸化ストレスの増加に対する抑制的な作用が観察されたことから、より長期的に予防的な作用を明らかにすることが妥当であると考えられた。その際、MDA-LDL だけでなくスーパーオキシドジスムターゼをはじめ複数の酸化ストレス指標を用いることにより (199)、結果の頑健性を高めることが望ましい。

他の副次評価項目について差は認められず、行動心理症状の指標である NPI-Q についても同様であった。他の副次評価項目のひとつである TG は、第 4 章の前後比較試験において有意な低下が認められた一方、本研究では差が認められなかった。本研究においては参加者の内 7 名 (21%) が脂質異常症治療薬を処方されており、影響を及ぼしたものと考えられた。NPI-Q の得点は重症度 36 点、負担度 60 点満点で算出される (188)。介入開始前の基礎値はいずれの群でも重症度、負担度共に 5 点未満であった。行動心理症状に関する選択除外基準は設定しておらず、参加者が症状を有さない或いは軽度の症状を有するもののみであったため本章の試験からは行動心理症状に対する作用について判断することは困難である。また、参加者は層別ブロックランダム化法により各群に割付たものの、年齢、脂質異常症の有無、脂質異常症治療薬の処方について不均衡が認められており、その影響についても留意を要する。

以上より、日常的に摂取可能な量の緑茶は、12 か月間の摂取により MMSE-J の得点により評価される認知機能に影響を及ぼさないことが示唆された。一方で、酸化ストレスの増大に対する抑制的な作用は認められ、今後、より長期的に予防的な作用について明らかにする必要がある。

総括

インフルエンザの予防や認知機能低下の進行抑制に対する薬学的な介入には限界がある (24, 27, 62, 142)。そのため、非薬学的な補完代替医療を組み合わせることで効果的にインフルエンザの予防を行うことや認知機能低下の進行抑制に働きかけることが求められている (64, 142)。茶はカテキン類やテアニンを含むことからインフルエンザの予防や認知機能低下の抑制・改善を標的とした補完代替医療における活用が期待されている一方で、臨床的なエビデンスの確立には至っていない (4, 18)。

本論では、茶を利用した補完代替医療の臨床的展開を目指し、ヒトを対象とした試験を遂行するとともにエビデンスの確立を試みた。

第1章から3章では、茶のインフルエンザ予防作用に着目した。

第1章では、高等学校の生徒を対象とした多施設共同ランダム化比較対照試験により、緑茶うがいのインフルエンザ予防作用について臨床的な有用性を検討した。緑茶うがいの作用は、水うがいと比較した。主要評価項目をインフルエンザ抗原陽性例 (罹患例) とし、群間比較を行った。757名 (緑茶群 387名, 水群 370名) が参加し、747名が試験を完遂した。試験期間中のインフルエンザ罹患は、緑茶群で19名 (4.9%)、水群で25名 (6.9%) であり抑制傾向が認められた。一方、多重ロジスティック回帰分析により影響する因子を調整した結果、有意差は認められなかった。

第2章では、第1章で得られたデータに Bayes 統計学の手法を適用し、結果の多面的解釈を試みた。比較可能性を担保すべく、第1章と共通の解析対象集団、評価項目を設定した。緑茶群、水群のインフルエンザ罹患率の群間差を推定し、併せて、「緑茶群が水群のインフルエンザ罹患率を下回る」という仮説の正しい確率を求めた。加えて、事前分布を仮定した多重ロジスティック回帰分析により影響する因子を調整した。緑茶うがいのインフルエンザ予防作用は1%から2%程度と限定的であるものの、仮説の正しい確率は65%以上、特に FAS においては87%であった。仮説の正しい確率は高く、試験デザインを改善した大規模なランダム化比較対照試験を行うことは妥当であると考えられた。加えて、試験から得られたデータを頻度論、Bayes 論の観点から多面的に解釈することの有用性が示唆された。

第3章では、先行する試験の結果を統合するメタ解析によりエビデンスの確立を目指した。茶やその成分によるうがいのインフルエンザ予防作用を検討した前向きコホート試験及びランダム化比較対照試験をデータベースから抽出し、選択基準を満たす5つの試験を固定効果モデル、変量効果モデルにより統合した。いずれのモデルにおいても、有意なインフルエンザ予防作用が認められた。リスク比の点推定値は0.70及び0.71であり、茶やその成分を用いたうがいは、インフルエンザ予防法として臨床的に有用であることが示唆された。今後、異なる対象集団において大規模な比較対象試験を行い統合することで、頑健性の高いエビデンスの確立に繋がると考えられた。

第4、5章では、茶の認知機能低下に対する進行抑制作用に着目した。

第4章では、認知機能低下者を対象に前後比較試験を行い、作用を探索的に検討した。緑茶抹2g/日、3か月間の摂取により、MMSE-Jにより測定される認知機能は有意に改善した。日常的に摂取可能な量の緑茶が認知機能低下に対して抑制的な作用を持つことが示唆された。一方、非盲検試験、非プラセボ対照の試験デザインをはじめとした研究の限界が存在し、今後、大規模かつ長期的なランダム化比較対照試験を行うことで、その作用について検証する必要があると示唆された。

第5章では、第4章の結果に従いランダム化比較対照試験による作用の検証を試みた。対照にはプラセボ抹を用い、介入期間は12か月とし、MMSE-Jの得点の基礎値からの変化を比較した。33名が試験に参加し、27名が完遂した。MMSE-Jの得点の基礎値からの変化について有意差は認められなかった一方、酸化ストレス指標のひとつであるMDA-LDL値の上昇が、緑茶群で有意に抑制された。日常的に摂取可能な量の緑茶が、認知機能そのものに影響を及ぼさないことが示唆されたが、酸化ストレスの増大に対する抑制的な作用は認められた。酸化ストレスは認知症などの神経変性疾患の原因のひとつであると考えられており、今後、予防的な作用を明らかにすることの意義が見出された。

以上より、茶やその成分によるうがいがインフルエンザ予防法のひとつとして臨床的に有用である可能性を示した。一方、認知機能低下の進行抑制作用については、前後比較試験とランダム化比較対照試験の結果が一貫していない。酸化ストレスの増大に対する抑制的な作用は認められたため、長期的に予防的な作用について明らかにする必要がある。今後、確立されたエビデンスを取り入れた茶及びその成分を利用した補完代替医療が疾病の予防や健康の増進の一助となることが期待される。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導、ご鞭撻を賜りました静岡県立大学薬学研究院 医薬品情報解析学講座 教授 山田 浩 博士、静岡県立大学薬学研究院 医薬品情報解析学講座 講師 川崎 洋平 博士に厚く御礼申し上げます。

本論文の作成にあたり、ご高覧とご助言を賜りました静岡県立大学薬学研究院 医薬生命化学講座 教授 奥 直人 博士、静岡県立大学食品栄養環境科学研究所 臨床栄養学講座 教授 熊谷裕通 博士、静岡県立大学薬学研究院 統合生理学講座 教授 武田厚司 博士、静岡県立大学薬学研究院 分子病態学講座 教授 森本達也 博士のご厚情に拝謝致します。

高等学校の生徒を対象とした多施設共同試験の実施にあたりご協力いただきました静岡県立掛川西高等学校、静岡県立掛川東高等学校、静岡県立掛川工業高等学校、静岡県立横須賀高等学校、静岡県立小笠高等学校、静岡県立池新田高等学校の先生方、スタッフの方々、市立御前崎総合病院 内科 鮫島庸一 医師、菊川市立総合病院 薬剤科・治験管理室 松下久美 様、参加者・ご家族の皆様に感謝いたします。また、緑茶の提供及び行政的な調整にあたり多大な御協力をいただきました掛川茶商協同組合、静岡県産業部、公益社団法人 静岡県茶業会議所、掛川市環境衛生課、元県会議員 戸塚久美子 先生に深く感謝致します。

認知機能低下者を対象とした試験の実施にあたりご協力いただきました白十字ホーム 田熊規方 医師、藤井貞子 様、中原あつ子 様、鈴木剛士 様はじめとしたスタッフの方々、株式会社伊藤園 中央研究所 所長 堤坂裕子 博士、卯川裕一 博士、中瀬 純平 様、参加者・ご家族の皆様に御礼申し上げます。

また、共に研究に励んだ医薬品情報解析学講座の皆様、言語に係るご助言を多く賜りました静岡県立大学薬学研究院 科学英語講座 講師 Philip Hawke 氏に深く感謝します。

最後に、学生生活を送るにあたり支えてくださった両親に心から感謝致します。

引用文献

1. Cabrera C, Artacho R, Gimenez R. Beneficial effects of green tea—a review. *J Am Coll Nutr* 2006;25:79-99.
2. McKay DL, Blumberg JB. The role of tea in human health: An update. *J Am Coll Nutr* 2002;21:1-13.
3. Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, et al. Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chin Med* 2010;5:13.
4. Ide K, Yamada H. Clinical benefits of green tea consumption for cognitive dysfunction. *PharmaNutrition* 2015;3:136-45.
5. Cooper R. Green tea and theanine: Health benefits. *Int J Food Sci Nutr* 2012;63 Suppl 1:90-7.
6. da Silva Pinto M. Tea: A new perspective on health benefits. *Food Res Int* 2013;53:558-67.
7. Green RH. Inhibition of multiplication of influenza virus by extracts of tea. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;71:84.
8. Nakayama M, Suzuki K, Toda M, et al. Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols. *Antiviral Res* 1993;21:289-99.
9. Imanishi N, Tuji Y, Katada Y, et al. Additional inhibitory effect of tea extract on the growth of influenza A and B viruses in MDCK cells. *Microbiol Immunol* 2002;46:491-4.
10. Yamada H, Tateishi M, Harada K, et al. A randomized clinical study of tea catechin inhalation effects on methicillin-resistant staphylococcus aureus in disabled elderly patients. *J Am Med Dir Assoc* 2006;7:79-83.
11. Si W, Gong J, Tsao R, et al. Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in Chinese green tea extract. *J Chromatogr A* 2006;1125:204-10.
12. Taylor PW, Hamilton-Miller JM, Stapleton PD. Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Technol Bull* 2005;2:71-81.
13. Velayutham P, Babu A, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: An update. *Curr Med Chem* 2008;15:1840-50.
14. Imai K, Nakachi K. Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. *BMJ* 1995;310:693-6.
15. Kuriyama S, Shimazu T, Ohmori K, et al. Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan: The Ohsaki study. *JAMA* 2006;296:1255-65.
16. Yang CS, Wang X. Green tea and cancer prevention. *Nutr Cancer* 2010;62:931-7.
17. Ogunleye AA, Xue F, Michels KB. Green tea consumption and breast cancer risk or recurrence: A meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2009;119:477-84.
18. Steinmann J, Buer J, Pietschmann T, et al. Anti-infective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a component of green tea. *Br J Pharmacol* 2013;168:1059-73.
19. Song JM, Lee KH, Seong BL. Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Res* 2005;68:66-74.
20. Muller P, Downard KM. Catechin inhibition of influenza neuraminidase and its molecular basis with mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 2015;111:222-30.
21. WHO. Influenza (Seasonal), Fact sheet (November 2016). (Accessed August 24, 2017, at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>.)
22. DiazGranados CA, Denis M, Plotkin S. Seasonal influenza vaccine efficacy and its determinants in children and non-elderly adults: A systematic review with meta-analyses of controlled trials. *Vaccine* 2012;31:49-57.
23. Osterholm MT, Kelley NS, Sommer A, et al. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2012;12:36-44.
24. Jefferson T, Jones M, Doshi P, et al. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults: Systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2009;339:b5106.
25. Jefferson T, Jones MA, Doshi P, et al. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults and children. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;4:CD008965.
26. Collin N, de Radigues X, World Health Organization H1N1 Vaccine Task Force. Vaccine production capacity for seasonal and pandemic (H1N1) 2009 influenza. *Vaccine* 2009;27:5184-6.

27. Partridge J, Kieny MP. Global production capacity of seasonal influenza vaccine in 2011. *Vaccine* 2013;31:728-31.
28. 内閣官房. 新型インフルエンザ等対策ガイドライン. (Accessed July 19, 2016, at http://www.cas.go.jp/jp/seisaku/ful/keikaku/pdf/gl_guideline.pdf.)
29. Wong VW, Cowling BJ, Aiello AE. Hand hygiene and risk of influenza virus infections in the community: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect* 2014;142:922-32.
30. Aiello AE, Murray GF, Perez V, et al. Mask use, hand hygiene, and seasonal influenza-like illness among young adults: a randomized intervention trial. *J Infect Dis* 2010;201:491-8.
31. Aiello AE, Perez V, Coulborn RM, et al. Facemasks, hand hygiene, and influenza among young adults: A randomized intervention trial. *PLoS One* 2012;7:e29744.
32. Rowe CA, Nantz MP, Bukowski JF, et al. Specific formulation of Camellia sinensis prevents cold and flu symptoms and enhances gamma,delta T cell function: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Am Coll Nutr* 2007;26:445-52.
33. Matsumoto K, Yamada H, Takuma N, et al. Effects of green tea catechins and theanine on preventing influenza infection among healthcare workers: A randomized controlled trial. *BMC Complement Altern Med*. 2011;11.
34. 岩田 雅史, 戸田 眞佐子, 中山 幹男, ほか. 紅茶エキスのうがいによるインフルエンザ予防効果. *感染症学雑誌* 1997;71:487-94.
35. Yamada H, Takuma N, Daimon T, et al. Gargling with tea catechin extracts for the prevention of influenza infection in elderly nursing home residents: A prospective clinical study. *J Altern Complement Med* 2006;12:669-72.
36. Yamada H, Daimon T, Matsuda K, et al. A randomized controlled study on the effects of gargling with tea catechin extracts on the prevention of influenza infection in healthy adults. *Jpn J Clin Pharmacol Ther* 2007;38:323-30.
37. Toyoizumi K, Yamada H, Matsumoto K, et al. Gargling with green tea for influenza prophylaxis: A pilot clinical study. *Jpn J Clin Pharmacol Ther* 2013;44:459-61.
38. Haque AM, Hashimoto M, Katakura M, et al. Long-term administration of green tea catechins improves spatial cognition learning ability in rats. *J Nutr* 2006;136:1043-7.
39. Haque AM, Hashimoto M, Katakura M, et al. Green tea catechins prevent cognitive deficits caused by Aβ1-40 in rats. *J Nutr Biochem* 2008;19:619-26.
40. Xu Y, Zhang JJ, Xiong L, et al. Green tea polyphenols inhibit cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion via modulating oxidative stress. *J Nutr Biochem* 2010;21:741-8.
41. Wu KJ, Hsieh MT, Wu CR, et al. Green tea extract ameliorates learning and memory deficits in ischemic rats via its active component polyphenol epigallocatechin-3-gallate by modulation of oxidative stress and neuroinflammation. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012;2012:163106.
42. Biasibetti R, Tramontina AC, Costa AP, et al. Green tea (-)epigallocatechin-3-gallate reverses oxidative stress and reduces acetylcholinesterase activity in a streptozotocin-induced model of dementia. *Behav Brain Res* 2013;236:186-93.
43. 片岡洋祐, 宇都宮一泰, 金原紀章, ほか. テアニン高含有緑茶摂取による高齢者の認知症予防効果. *日本未病システム学会雑誌* 2009;15:17-23.
44. Kakuda T. Neuroprotective effects of theanine and its preventive effects on cognitive dysfunction. *Pharmacol Res* 2011;64:162-8.
45. Park SK, Jung IC, Lee WK, et al. A combination of green tea extract and L-theanine improves memory and attention in subjects with mild cognitive impairment: A double-blind placebo-controlled study. *J Med Food* 2011;14:334-43.
46. Ide K, Yamada H, Matsushita K, et al. Effects of green tea gargling on the prevention of influenza infection in high school students: A randomized controlled study. *PLoS One* 2014;9:e96373.
47. Ide K, Kawasaki Y, Akutagawa M, et al. Effects of green tea gargling on the prevention of influenza infection: An analysis using Bayesian approaches. *J Altern Complement Med* 2017;23:116-20.
48. Ide K, Yamada H, Kawasaki Y. Effect of gargling with tea and ingredients of tea on the prevention of influenza infection: A meta-analysis. *BMC Public Health* 2016;16:396.
49. Ide K, Yamada H, Takuma N, et al. Green tea consumption affects cognitive dysfunction in the elderly: A pilot study. *Nutrients* 2014;6:4032-42.

50. Ide K, Yamada H, Takuma N, et al. Effects of green tea consumption on cognitive dysfunction in an elderly population: A randomized placebo-controlled study. *Nutr J* 2016;15:49.
51. Taubenberger JK, Morens DM. The pathology of influenza virus infections. *Annu Rev Pathol* 2008;3:499-522.
52. 国立感染症研究所. インフルエンザ (influenza). (Accessed July 19, 2016, at <http://www.nih.go.jp/niid/ja/diseases/a/flu.html>.)
53. Dolin R. Epidemiology of influenza 2017. Hirsch MS, ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. (Accessed August 24, 2017, at <http://www.uptodate.com>.)
54. Lagacé-Wiens PR, Rubinstein E, Gumel A. Influenza epidemiology—past, present, and future. *Crit Care Med* 2010;38:e1-9.
55. Clark NM, Lynch JP. Influenza: Epidemiology, clinical features, therapy, and prevention. *Semin Respir Crit Care Med* 2011;32:373-92.
56. 国立感染症研究所. 疫学情報 (インフルエンザ). (Accessed August 24, 2017, at <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/a/flu.html>.)
57. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. Influenza-associated hospitalizations in the United States. *JAMA* 2004;292:1333-40.
58. Baltagi SA, Shoykhet M, Felmet K, et al. Neurological sequelae of 2009 influenza A (H1N1) in children: A case series observed during a pandemic. *Pediatr Crit Care Med* 2010;11:179-84.
59. 厚生労働省. 平成 28 年度 今冬のインフルエンザ総合対策について. (Accessed August 24, 2017, at <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/influenza/index.html>.)
60. Tricco AC, Chit A, Soobiah C, et al. Comparing influenza vaccine efficacy against mismatched and matched strains: A systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 2013; 11: 153.
61. Pizzorno A, Abed Y, Boivin G. Influenza drug resistance. *Semin Respir Crit Care Med* 2011;32:409-22.
62. Samson M, Pizzorno A, Abed Y, et al. Influenza virus resistance to neuraminidase inhibitors. *Antiviral Res* 2013;98:174-85.
63. Thorlund K, Awad T, Boivin G, et al. Systematic review of influenza resistance to the neuraminidase inhibitors. *BMC Infect Dis* 2011;11:134.
64. World Health Organization Writing Group. Nonpharmaceutical interventions for pandemic influenza, national and community measures. *Emerg Infect Dis* 2006;12:88-94.
65. Lessler J, Reich NG, Cummings DA, et al. Outbreak of 2009 pandemic influenza A (H1N1) at a New York City school. *N Engl J Med* 2009;361:2628-36.
66. Ferguson NM, Cummings DA, Fraser C, et al. Strategies for mitigating an influenza pandemic. *Nature* 2006;442:448-52.
67. Chartrand C, Leeftang MMG, Minion J, et al. Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: A meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012;156:500-11.
68. Boivin G, Hardy I, Tellier G, et al. Predicting influenza infections during epidemics with use of a clinical case definition. *Clin Infect Dis* 2000;31:1166-9.
69. Fisher RA. On the interpretation of χ^2 from contingency tables, and the calculation of P. *J R Stat Soc* 1922;85:87-94.
70. Chan IS, Zhang Z. Test-based exact confidence intervals for the difference of two binomial proportions. *Biometrics* 1999;55:1202-9.
71. Hosmer Jr DW, Lemeshow S, Sturdivant RX. Applied logistic regression. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2013.
72. Bland JM, Altman DG. Survival probabilities (the Kaplan-Meier method) *BMJ* 1998;317:1572-80.
73. Cox DR. Regression models and life-tables. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 1972;34:187-220.
74. World Medical Association. Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013;310:2191-4.
75. 厚生労働省. 臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号). (Accessed July 19, 2016, at <http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/rinsyo/dl/shishin.pdf>.)

76. Klein SL, Hodgson A, Robinson DP. Mechanisms of sex disparities in influenza pathogenesis. *J Leukoc Biol* 2012;92:67-73.
77. 国立感染症研究所. 2011/12 シーズンのインフルエンザ分離株の解析. (Accessed August 24, 2017, at <https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/2124-related-articles/related-articles-393/2904-dj3931.html>.)
78. Chan AW, Tetzlaff JM, Gøtzsche PC, et al. SPIRIT 2013 explanation and elaboration: Guidance for protocols of clinical trials. *BMJ* 2013;346:e7586.
79. Juni P, Altman DG, Egger M. Assessing the quality of controlled clinical trials. *BMJ* 2001;323:42-46.
80. Bayarri MJ, Berger JO. The interplay of Bayesian and frequentist analysis. *Stat Sci* 2004;19:58-80.
81. Lee JJ, Chu CT. Bayesian clinical trials in action. *Stat Med* 2012;31:2955-72.
82. Kawasaki Y, Miyaoka E. A Bayesian inference of $P(\lambda(1) < \lambda(2))$ for two poisson parameters. *J Appl Stat* 2012;39:2141-52.
83. Dienes Z. Using Bayes to get the most out of non-significant results. *Front Psychol* 2014;5:781.
84. Kawasaki Y, Miyaoka E. A Posterior density for the difference between two binominal proportions and the highest posterior density credible interval. *J Japan Statist Soc* 2010;40:265-75.
85. Gajewski BJ, Berry SM, Quintana M, et al. Building efficient comparative effectiveness trials through adaptive designs, utility functions, and accrual rate optimization: Finding the sweet spot. *Stat Med* 2015;34:1134-49.
86. Chaloner K, Larntz K. Optimal Bayesian design applied to logistic-regression experiments *J Stat Plan Inference* 1989;21:191-208.
87. Jeffreys H. *Theory of probability*, 3rd ed. Oxford, England: Oxford University Press; 1961.
88. Ibrahim JG, Laud PW. On Bayesian analysis of generalized linear models using Jeffreys's prior. *J Am Stat Assoc* 1991;86:981-6.
89. Geyer CJ, Thompson EA. Annealing Markov-chain Monte-Carlo with applications to ancestral inference. *J Am Stat Assoc* 1995;90:909-20.
90. Brooks SP. Markov chain Monte Carlo method and its application. *J R Stat Soc Series D Statistician* 1998;47:69-100.
91. Spiegelhalter DJ, Best NG, Carlin BR, et al. Bayesian measures of model complexity and fit. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 2002;64:583-616.
92. 延原 弘章, 渡辺 由美, 三浦 宜彦. わが国におけるインフルエンザワクチン接種率の推計. *日本公衆衛生雑誌* 2014;61:354-9.
93. Maritz J. Empirical Bayes estimation for the poisson distribution. *Biometrika* 1969;56:349-59.
94. Tarone RE. The use of historical control information in testing for a trend in proportions. *Biometrics* 1982;215-20.
95. Tamura RN, Young SS. The incorporation of historical control information in tests of proportions: simulation study of Tarone's procedure. *Biometrics* 1986;42:343-9.
96. Carlin BP, Louis TA. Bayes and empirical Bayes methods for data analysis. *Statist Comput* 1997;7:153-4.
97. Lehmann EL, Casella G. *Theory of point estimation* (Springer texts in statistics). New York, NY: Springer, 1998.
98. Crowther M, Lim W, Crowther MA. Systematic review and meta-analysis methodology. *Blood* 2010;116:3140-6.
99. Cochrane Library. (Accessed July 19, 2016, at <http://www.cochranelibrary.com/>.)
100. PubMed/MEDLINE. (Accessed July 19, 2016, at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)
101. Web of Science. (Accessed July 19, 2016, at <https://webofknowledge.com/>.)
102. Ichushi-shi Web. (Accessed July 19, 2016, at search.jamas.or.jp/.)
103. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol* 2010;25:603-5.
104. Zeng X, Zhang Y, Kwong JS, et al. The methodological quality assessment tools for preclinical and clinical studies, systematic review and meta-analysis, and clinical practice guideline: A systematic review. *J Evid Based Med* 2015;8:2-10.

105. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: Is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996;17:1-12.
106. Moher D, Jadad AR, Nichol G, et al. Assessing the quality of randomized controlled trials: An annotated bibliography of scales and checklists. *Control Clin Trials* 1995;16:62-73.
107. Higgins JP, Altman DG, Gotzsche PC, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ* 2011;343:d5928.
108. Luo G, Hao NB, Hu CJ, et al. HBV infection increases the risk of pancreatic cancer: A meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2013;24:529-37.
109. Duggan SN, Smyth ND, Murphy A, et al. High prevalence of osteoporosis in patients with chronic pancreatitis: A systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:219-28.
110. Fan X, Xu K, Lin T, et al. Comparison of transperitoneal and retroperitoneal laparoscopic nephrectomy for renal cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *BJU Int* 2013;111:611-21.
111. Hartling L, Ospina M, Liang Y, et al. Risk of bias versus quality assessment of randomised controlled trials: Cross sectional study. *BMJ* 2009;339:b4012.
112. 国立感染症研究所. インフルエンザ過去 10 年間との比較グラフ. (Accessed July 19, 2016, at <http://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-m/813-idsc/map/130-flu-10year.html>.)
113. Cochran WG. The combination of estimates from different experiments. *Biometrics* 1954;10:101-29.
114. Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002;21:1539-58.
115. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003;327:557-60.
116. Harville DA. Maximum likelihood approaches to variance component estimation and to related problems. *J Am Stat Assoc* 1977;72:320-38.
117. Greenland S, Robins JM. Estimation of a common effect parameter from sparse follow-up data. *Biometrics* 1985;41:55-68.
118. DerSimonian R, Kacker R. Random-effects model for meta-analysis of clinical trials: An update. *Contemp Clin Trials* 2007;28:105-14.
119. Akaike H. A new look at the statistical-model identification. *IEEE Trans Automat Contr* 1974;19:716-23.
120. Schwarz G. Estimating the dimension of a model. *Ann Stat* 1978;6:461-4.
121. Duval S, Tweedie R. Trim and fill: A simple funnel-plot-based method of testing and adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics* 2000;56:455-63.
122. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, et al. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997;315:629-34.
123. Viechtbauer W. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *J Stat Software* 2010;36:1-48.
124. Sterne JAC, Sutton AJ, Ioannidis JPA, et al. Recommendations for examining and interpreting funnel plot asymmetry in meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ* 2011;343:d4002.
125. Donner A, Klar N. Issues in the meta-analysis of cluster randomized trials. *Stat Med* 2002;21:2971-80.
126. Riley RD, Lambert PC, Abo-Zaid G. Meta-analysis of individual participant data: Rationale, conduct, and reporting. *BMJ* 2010;340:c221.
127. Sutton AJ, Higgins JP. Recent developments in meta-analysis. *Stat Med* 2008;27:625-50.
128. EMBASE. (Accessed July 19, 2016, at <https://www.embase.com/login>.)
129. Sorbi S, Hort J, Erkinjuntti T, et al. EFNS-ENS Guidelines on the diagnosis and management of disorders associated with dementia. *Eur J Neurol* 2012;19:1159-79.
130. Prince M, Guerchet M, Prina M, Alzheimer's disease international. Policy brief for heads of government: The global impact of dementia 2013-2050. (Accessed July 19, 2016, at <https://www.alz.co.uk/research/GlobalImpactDementia2013.pdf>.)
131. 厚生労働省. 認知症高齢者の日常生活自立度. (Accessed July 19, 2016, at <http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-12300000-Roukenkyoku/0000077382.pdf>.)

132. 老健局高齢者支援課 認知症・虐待防止対策推進室. 認知症高齢者数について. (Accessed July 19, 2016, at <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000002iau1-att/2r9852000002iavi.pdf>.)
133. Schneider LS, Mangialasche F, Andreasen N, et al. Clinical trials and late-stage drug development for Alzheimer's disease: An appraisal from 1984 to 2014. *J Intern Med* 2014;275:251-83.
134. Ngo J, Holroyd-Leduc JM. Systematic review of recent dementia practice guidelines. *Age Ageing* 2015;44:25-33.
135. McArthur RA, Borsini F. Animal and translational models for CNS drug discovery. San Diego, CA: Academic Press, 2008.
136. Becker RE, Greig NH, Giacobini E. Why do so many drugs for Alzheimer's disease fail in development? Time for new methods and new practices? *J Alzheimers Dis* 2008;15:303-25.
137. Kalmijn S, Launer LJ, Ott A, et al. Dietary fat intake and the risk of incident dementia in the Rotterdam Study. *Ann Neurol* 1997;42:776-82.
138. Barberger-Gateau P, Raffaitin C, Letenneur L, et al. Dietary patterns and risk of dementia: The Three-City cohort study. *Neurology* 2007;69:1921-30.
139. Devore EE, Grodstein F, van Rooij FJ, et al. Dietary antioxidants and long-term risk of dementia. *Arch Neurol* 2010;67:819-25.
140. von Arnim CAF, Gola U, Biesalski HK. More than the sum of its parts? Nutrition in Alzheimer's disease. *Nutrition* 2010;26:694-700.
141. Melo A, Monteiro L, Lima RM, et al. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: Mechanisms and therapeutic perspectives. *Oxid Med Cell Longev* 2011;2011:467180.
142. Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2016;12:459-509.
143. Coimbra S, Castro E, Rocha-Pereira P, et al. The effect of green tea in oxidative stress. *Clin Nutr* 2006;25:790-6.
144. Lee YJ, Choi DY, Yun YP, et al. Epigallocatechin-3-gallate prevents systemic inflammation-induced memory deficiency and amyloidogenesis via its anti-neuroinflammatory properties. *J Nutr Biochem* 2013;24:298-310.
145. Lee JW, Lee YK, Ban JO, et al. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits beta-amyloid-induced cognitive dysfunction through modification of secretase activity via inhibition of ERK and NF-kappaB pathways in mice. *J Nutr* 2009;139:1987-93.
146. Kim TI, Lee YK, Park SG, et al. L-Theanine, an amino acid in green tea, attenuates beta-amyloid-induced cognitive dysfunction and neurotoxicity: Reduction in oxidative damage and inactivation of ERK/p38 kinase and NF-kappaB pathways. *Free Radic Biol Med* 2009;47:1601-10.
147. Erba D, Riso P, Bordoni A, et al. Effectiveness of moderate green tea consumption on antioxidative status and plasma lipid profile in humans. *J Nutr Biochem* 2005;16:144-9.
148. Kuriyama S, Hozawa A, Ohmori K, et al. Green tea consumption and cognitive function: A cross-sectional study from the Tsurugaya Project 1. *Am J Clin Nutr* 2006;83:355-61.
149. Ng TP, Feng L, Niti M, et al. Tea consumption and cognitive impairment and decline in older Chinese adults. *Am J Clin Nutr* 2008;88:224-31.
150. Feng L, Gwee X, Kua EH, et al. Cognitive function and tea consumption in community dwelling older Chinese in Singapore. *J Nutr Health Aging* 2010;14:433-8.
151. Feng L, Li J, Ng TP, et al. Tea drinking and cognitive function in oldest-old Chinese. *J Nutr Health Aging* 2012;16:754-8.
152. Noguchi-Shinohara M, Yuki S, Dohmoto C, et al. Consumption of green tea, but not black tea or coffee, is associated with reduced risk of cognitive decline. *PLoS One* 2014;9:e96013.
153. Huang CQ, Dong BR, Zhang YL, et al. Association of cognitive impairment with smoking, alcohol consumption, tea consumption, and exercise among Chinese nonagenarians/centenarians. *Cogn Behav Neurol* 2009;22:190-6.
154. Arab L, Biggs ML, O'Meara ES, et al. Gender differences in tea, coffee, and cognitive decline in the elderly: The Cardiovascular Health Study. *J Alzheimers Dis* 2011;27:553-66.
155. Eskelinen MH, Ngandu T, Tuomilehto J, et al. Midlife coffee and tea drinking and the risk of late-life dementia: A population-based CAIDE study. *J Alzheimers Dis* 2009;16:85-91.
156. Shen W, Xiao Y, Ying X, et al. Tea consumption and cognitive impairment: A cross-sectional study among Chinese elderly. *PLoS One* 2015;10:e0137781.

157. WHO. Definition of an older or elderly person. (Accessed July 19, 2016, at <http://www.who.int/healthinfo/survey/ageingdefnolder/en/>.)
158. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-98.
159. Reisberg B, Jamil IA, Khan S, et al. Staging dementia. In: Abou-Saleh MT, Katona C, Kumar A, eds. *Principles and practice of geriatric Psychiatry*. 3rd ed. Oxford: Wiley, 2011:162-9.
160. Wilcoxon F. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bull* 1945;1:80-3.
161. Swinscow TDV. Statistics at Square One. (Accessed July 19, 2016, at <http://www.bmj.com/about-bmj/resources-readers/publications/statistics-square-one>)
162. Raederstorff DG, Schlachter MF, Elste V, et al. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J Nutr Biochem* 2003;14:326-32.
163. Crespy V, Williamson G. A review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models. *J Nutr* 2004;134:3431S-40S.
164. Panza F, D'Introno A, Colacicco AM, et al. Lipid metabolism in cognitive decline and dementia. *Brain Res Rev* 2006;51:275-92.
165. McGuinness B, Craig D, Bullock R, et al. Statins for the prevention of dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2016: CD003160.
166. Kim HK, Kim M, Kim S, et al. Effects of green tea polyphenol on cognitive and acetylcholinesterase activities. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004;68:1977-9.
167. Kaur T, Pathak CM, Pandhi P, et al. Effects of green tea extract on learning, memory, behavior and acetylcholinesterase activity in young and old male rats. *Brain Cogn* 2008;67:25-30.
168. Srividhya R, Gayathri R, Kalaiselvi P. Impact of epigallo catechin-3-gallate on acetylcholine-acetylcholine esterase cycle in aged rat brain. *Neurochem Int* 2012;60:517-22.
169. Ali B, Jamal QM, Shams S, et al. In silico analysis of green tea polyphenols as inhibitors of AChE and BChE enzymes in Alzheimer's disease treatment. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2016;15:624-8.
170. Lee B, Sur B, Kwon S, et al. Chronic administration of catechin decreases depression and anxiety-like behaviors in a rat model using chronic corticosterone injections. *Biomol Ther (Seoul)* 2013;21:313-22.
171. Chen WQ, Zhao XL, Wang DL, et al. Effects of epigallocatechin-3-gallate on behavioral impairments induced by psychological stress in rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2010;235:577-83.
172. Juneja LR, Chu DC, Okubo T, et al. L-theanine—a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans. *Trends Food Sci Technol* 1999;10:199-204.
173. Yokogoshi H, Mochizuki M, Saitoh K. Theanine-induced reduction of brain serotonin concentration in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998;62:816-7.
174. Yokogoshi H, Kobayashi M, Mochizuki M, et al. Effect of theanine, γ -glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats. *Neurochem Res* 1998;23:667-73.
175. Yamada T, Terashima T, Kawano S, et al. Theanine, γ -glutamylethylamide, a unique amino acid in tea leaves, modulates neurotransmitter concentrations in the brain striatum interstitium in conscious rats. *Amino Acids* 2008;36:21-7.
176. Nakagawa K, Miyazawa T. Absorption and distribution of tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, in the rat. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1997;43:679-84.
177. Wu L, Zhang QL, Zhang XY, et al. Pharmacokinetics and blood-brain barrier penetration of (+)-catechin and (-)-epicatechin in rats by microdialysis sampling coupled to high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *J Agric Food Chem* 2012;60:9377-83.
178. Schmidt A, Hammann F, Wolnerhanssen B, et al. Green tea extract enhances parieto-frontal connectivity during working memory processing. *Psychopharmacology (Berl)* 2014;231:3879-88.
179. de la Fuente-Fernandez R, Schulzer M, Stoessl AJ. The placebo effect in neurological disorders. *Lancet Neurol* 2002;1:85-91.
180. Tombaugh TN. Test-retest reliable coefficients and 5-year change scores for the MMSE and 3MS. *Arch Clin Neuropsychol* 2005;20:485-503.

181. Zwylghuizen-Doorenbos A, Roehrs TA, Lipschutz L, et al. Effects of caffeine on alertness. *Psychopharmacology (Berl)* 1990;100:36-9.
182. Price DD, Finniss DG, Benedetti F. A comprehensive review of the placebo effect: Recent advances and current thought. *Annu Rev Psychol* 2008;59:565-90.
183. Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, et al. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Donepezil Study Group. *Neurology* 1998;50:136-45.
184. Black S, Roman GC, Geldmacher DS, et al. Efficacy and tolerability of donepezil in vascular dementia: Positive results of a 24-week, multicenter, international, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Stroke* 2003;34:2323-30.
185. Lee HP, Zhu X, Casadesus G, et al. Antioxidant approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother* 2010;10:1201-8.
186. Cerejeira J, Lagarto L, Mukaetova-Ladinska EB. Behavioral and psychological symptoms of dementia. *Front Neurol* 2012;3:73.
187. Kales HC, Gitlin LN, Lyketsos CG. Assessment and management of behavioral and psychological symptoms of dementia. *BMJ* 2015;350:h369.
188. Kaufer DI, Cummings JL, Ketchel P, et al. Validation of the NPI-Q, a brief clinical form of the Neuropsychiatric Inventory. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2000;12:233-9.
189. Ringman JM, Frautschy SA, Teng E, et al. Oral curcumin for Alzheimer's disease: Tolerability and efficacy in a 24-week randomized, double blind, placebo-controlled study. *Alzheimers Res Ther* 2012;4:43.
190. Fisher RA. Statistical methods for research workers. Edinburgh, Scotland: Oliver and Boyd, 1934.
191. Huck SW, McLean RA. Using a repeated measures ANOVA to analyze the data from a pretest-posttest design: A potentially confusing task. *Psychol Bull* 1975;82:511.
192. Bennett S, Grant MM, Aldred S. Oxidative stress in vascular dementia and Alzheimer's disease: A common pathology. *J Alzheimers Dis* 2009;17:245-57.
193. Federico A, Cardaioli E, Da Pozzo P, et al. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *J Neurol Sci* 2012;322:254-62.
194. Gandhi S, Abramov AY. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxid Med Cell Longev* 2012;2012:428010.
195. Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radic Biol Med* 2013;62:170-85.
196. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, et al. Tetrahydrobiopterin improves aging-related impairment of endothelium-dependent vasodilation through increase in nitric oxide production. *Atherosclerosis* 2006;186:390-5.
197. Kankaanpää J, Turunen SP, Moilanen V, et al. Cerebrospinal fluid antibodies to oxidized LDL are increased in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2009;33:467-72.
198. Bassett CN, Neely MD, Sidell KR, et al. Cerebrospinal fluid lipoproteins are more vulnerable to oxidation in Alzheimer's disease and are neurotoxic when oxidized ex vivo. *Lipids* 1999;34:1273-80.
199. Padurariu M, Ciobica A, Hritcu L, et al. Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2010;469:6-10.