

別紙様式（V）-2【添付ファイル用】

特定保健用食品とは異なる臨床試験方法とした合理的理由に関する説明資料

1. 製品概要

商品名	楽ひざ
機能性関与成分名	サケ鼻軟骨由来プロテオグリカン・サケ鼻軟骨由来Ⅱ型コラーゲン
表示しようとする機能性	本品にはサケ鼻軟骨由来プロテオグリカン・サケ鼻軟骨由来Ⅱ型コラーゲンが含まれるので、ひざ関節の動きをサポートし違和感を和らげる機能があります。日常生活（階段の昇り降り、歩く、しゃがむ等）でひざ関節が気になる方に適しています。

2. 特定保健用食品とは異なる臨床試験方法（科学的合理性が担保されたものに限る。）とした合理的理由

特定保健用食品の保健の用途には、当該製品で表示しようとする機能性が含まれていない。そのため、「機能性表示食品の届出等に関するガイドライン」に記載されている「特定保健用食品の表示許可等について」の別添2「特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項」に示された特定保健用食品の試験方法に準拠することはできなかった。しかしながら、本臨床試験は以下の理由により、科学的合理性が担保された試験方法と考える。

1) 対象者

「機能性表示食品の届出等に関するガイドライン」で対象とする「疾病に罹患していない者」を選定するため、試験スクリーニング時に試験責任医師により論文記載の下記検査を行い、「疾病に罹患していない」と判断した者を対象とした。

① 膝関節機能評価

- A) 日本整形外科学会変形性膝関節疾患治療成績判定基準（Japanese Orthopaedic Association、以下 JOA）¹⁾
- B) 日本語版変形性膝関節症患者機能評価尺度（Japanese Knee Osteoarthritis Measure、以下 JKOM）²⁾
- C) Knee Society Score（以下 KSS）³⁾
- D) 視覚的評価尺度（Visual Analogue Scale、以下 VAS）アンケート⁴⁾

② 膝関節の X 線検査

変形性膝関節症の Kellgren-Lawrence (KL) 分類⁵⁾

別紙様式（V）-2【添付ファイル用】

- ③ 身長、体重、バイタルサイン(脈拍、血圧)測定
- ④ 血液検査
- ⑤ 尿検査
- ⑥ 診察・問診

本臨床試験では、被験者として KL 分類でグレード 0、I、II に分類された者を対象としたが、一般的にグレード II 以上の者は変形性膝関節症と定義されているため⁵⁾、全例解析に加えて、グレード 0、I の健常者で層別解析を行い、健常者においても膝関節の違和感が有意に改善されることを確認した。

2) 評価方法

主要評価項目を JOA、副次評価項目を JKOM、KSS、VAS アンケートとし、膝関節に対する評価を行った。JOA は日本整形外科学会が 1988 年に作成した医師立脚型の評価方法であり、現在、膝 OA の臨床において最も広く使用されている。JKOM は日本運動器リハビリテーション学会や日本整形外科学会、日本臨床整形外科学会が中心となり作成した日本人の OA に特化した患者立脚型自己記入式の QOL 評価尺度で、2005 年から臨床に導入されている。KSS は 1989 年に人工関節置換術後の患者立脚型膝関節症機能評価法として開発されたが、2011 年に身体的な活動の特徴づけるため改訂が行われ、その後日本語版が作成された。

JOA、JKOM は変形性膝関節症患者を、KSS は人工関節置換術後の患者を対象に作成されたものであるが、健常者の膝関節に対する違和感を評価するのに外挿できる設問があり、当該分野において学術的に広くコンセンサスが得られた評価方法であることから、本臨床試験で採用する事とした。VAS はより日常生活に即した場面における膝関節に対する違和感を評価する為、JOA、JKOM、KSS を参考に設問を作成し、評価に用いた。

- 1) Ann Rheum Dis. 1957;16(4):494-502.
- 2) 日整会誌; 1988: 62: 900-902.
- 3) 運動療法と物理療法; 2005: 16(1): 55-62.
- 4) Clin Orthop Relat Res 2012; 470: 3-19.
- 5) Res Nurs Health 1990; 13: 227-236.

別紙様式（V）-3【添付ファイル用】

表示しようとする機能性の科学的根拠に関する補足説明資料

1. 製品概要

商品名	楽ひざ
機能性関与成分名	サケ鼻軟骨由来プロテオグリカン・サケ鼻軟骨由来Ⅱ型コラーゲン
表示しようとする機能性	本品にはサケ鼻軟骨由来プロテオグリカン・サケ鼻軟骨由来Ⅱ型コラーゲンが含まれるので、ひざ関節の動きをサポートし違和感を和らげる機能があります。日常生活（階段の昇り降り、歩く、しゃがむ等）でひざ関節が気になる方に適しています。

2. 補足説明

【科学的根拠に用いた試験食品と当該製品の同一性について】

科学的根拠資料に記載される試験食品は、試験用に製造された試作品を用いており、当該製品は、品質の安定性、生産効率の改善のために、安全性を考慮した上で、機能性関与成分の表示値の下限值を担保し、賦形剤の配合量を調整している。

以下の理由により、科学的根拠に用いた試験食品と当該製品の同一性が担保されているものと考えられる。

- ・ 当該製品での分析により、機能性関与成分の表示値下限値を担保できることを確認している。
- ・ 当該食品において、製造時および経時安定性の試験で、機能性関与成分の変質等がなく品質への影響がないことを確認している。
- ・ 同じ形状であり、日本薬局方に準じた崩壊試験(水、30分以内)にて崩壊することを確認している。

【臨床試験で有意差が付いた項目と表示しようとする機能性との関連性について】

JOA スコアの総計において有意な改善が確認されたことから「ひざ関節の動きをサポートし違和感を和らげる機能」があると判断した。また、臨床試験では日常生活で「膝関節に違和感・痛みがある方」を被験者としているため、「日常生活（階段の昇り降り、歩く、しゃがむ等）でひざ関節が気になる方に適しています」という表示が可能であると判断した。

サケ鼻軟骨由来プロテオグリカン複合体 80 の 膝関節に対する有効性および安全性の検討 —プラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験—



Impact of Proteoglycan Complex 80 from Salmon Nasal Cartilage on Knee Joints and its Safety Evaluation

—A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Parallel-group Study—



真野 貴¹⁾ 小鮒 保雄²⁾
戸井田敏彦³⁾ 和田 竜哉¹⁾

ABSTRACT

Objective The study aimed to verify the efficacy on knee joint and safety of dietary supplement containing Proteoglycan complex 80 derived from salmon nasal cartilage.

Methods A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study was conducted for 60 participants (51.7 ± 6.9 years) who ingested dietary supplement containing 40 mg of Proteoglycan complex 80 produced from salmon nasal cartilage or placebo for 12 weeks. The Japanese Orthopaedic Association (JOA) score, Japanese Knee Osteoarthritis Measure (JKOM) score, Knee Society Score (KSS), and Visual Analogue Scale (VAS) questionnaire were used for evaluation of knee joint function.

Results The JOA and JKOM scores, KSS and the results of VAS questionnaire were significantly improved between dietary supplement and placebo after 12 weeks. Side effects related to intake of Proteoglycan complex 80 were not confirmed on this study.

Conclusion These results strongly suggest that the dietary supplement containing Proteoglycan complex 80 from salmon nasal cartilage is effective for improving knee joint functions and safe.

(Jpn Pharmacol Ther 2017 ; 45 : 255-70)

KEY WORDS Knee joints, Proteoglycan, Salmon nasal cartilage, JOA, JKOM

¹⁾日本薬品株式会社 ²⁾医療法人公雄会こぶな整形外科医院 ³⁾千葉大学大学院 薬学研究院
Takashi Mano and Tatsuya Wada: Nihon Pharmaceutical Co. Ltd.; Yasuo Kobuna: Kobuna Orthopedic Clinic; Toshihiko Toida: Chiba University Graduate School of Pharmaceutical Sciences

はじめに

平成 19 年に取りまとめられた政府の「新健康フロンティア戦略」において、介護予防対策推進の観点から、運動器疾患対策の推進が必要との方向性が示されている¹⁾。厚生労働省の「平成 26 年 グラフで見る世帯の状況—国民生活基礎調査 (平成 25 年) の結果から—」によると、介護が必要になったおもな原因として「関節疾患」および「骨折・転倒」が占める割合を合計すると、女性では 29.4%、男性では 10.0% となる²⁾。高齢者の関節疾患は変形性膝関節症が主であり、自覚症状を有する患者数は約 1000 万人、潜在的な患者数 (X 線診断による患者数) は約 3000 万人と推定されている³⁾。X 線診断は Kellgren-Lawrence (KL) 分類のグレードを基準とし、グレード II 以上が変形性膝関節症と診断されている⁴⁾。変形性膝関節症等の運動器疾患は、痛みによる身体活動の低下をもたらす、体重増加や筋肉量・筋力の低下をきたす要因となり、さらには外出頻度の低下等による閉じこもりや精神面での悪影響にもつながり、生活機能全般の低下をもたらす。最終的には要介護状態となる可能性が少なくないため、健康寿命延伸の観点からも、変形性膝関節症等の運動器疾患を予防することは重要と考えられる。

運動器疾患の予防のために、「健康づくりのための身体活動基準 2013」では、ライフステージに応じた適切な身体活動を推進しており、身体活動の増加がロコモティブシンドロームのリスクを低減できるとしている⁵⁾。しかしながら、運動器の痛みや違和感に運動を継続できない場合も多いと考えられる。

近年、変形性膝関節症の緩和・予防のために、コンドロイチン硫酸やグルコサミン塩酸塩が広く使用されている⁶⁾。変形性膝関節症の治療のための国際ガイドラインによれば⁷⁾、比較的軽症な変形性膝関節症患者に対してコンドロイチン硫酸、グルコサミンの使用が推奨され、初期の段階での投薬治療の一つとして採用されている^{8,9)}。これらの化合物は実験的関節炎発症モデル動物において抗炎症効果が示されており、免疫系細胞を用いた *in vitro* 試験でも抗炎症性サイトカインの産生が認められている^{10~13)}。

一方、コンドロイチン硫酸、グルコサミンの変形性膝関節症に対する作用・効能について、否定的な

見解を示す報告も見受けられ、変形性膝関節症患者を対象とした報告においては、一貫した結果になっていない^{14~16)}。その原因としては、効果が緩和なことや、使用した製品の品質に差異があることが考えられる。

最近、新たな運動器疾患対策素材としてプロテオグリカンと II 型コラーゲンが注目されている。プロテオグリカンは、コアタンパク質にグリコサミノグリカンが共有結合した複合糖質の一種であり、細胞外マトリックスの主要構成成分の一つである。プロテオグリカンのなかでもコンドロイチン硫酸糖鎖含量が高く、分子量が大きいコンドロイチン硫酸プロテオグリカンは、アグリカンとよばれ、動物の軟骨組織に豊富に存在し、コラーゲンなどのタンパク質と高い親和性をもつことが知られている^{17~19)}。サケの鼻軟骨からプロテオグリカンを産業的に製造する方法が確立され²⁰⁾、さまざまな研究が飛躍的に進展した。とくに関節^{21,22)}や皮膚^{23,24)}に対する有用性は作用機序を含め、盛んに研究されており、ますます注目を浴びている。II 型コラーゲンは 3 本の $\alpha 1$ (II 型) ペプチド鎖からなり、関節軟骨や目の硝子体等に特徴的に存在する。II 型コラーゲンの関節炎に対する研究は自己免疫疾患の一つである関節リウマチモデル²⁵⁾、関節リウマチ患者に対する有効性報告に始まり²⁶⁾、変形性膝関節症^{27,28)}、健常者における運動時での膝関節の違和感等の膝関節機能障害^{29,30)}の改善が報告されている。このような背景から II 型コラーゲンは、運動器疾患の改善や予防のサプリメントとして期待されている。

プロテオグリカンの抽出方法には酸やアルカリを用いた方法が知られているが、日本薬品(株)は新たに緩和な条件で、構造変化が抑えられたプロテオグリカンを抽出する方法を見だし³¹⁾、サケの鼻軟骨よりプロテオグリカンを II 型コラーゲンと複合化した状態で抽出した「プロテオグリカン複合体 80」を開発した。

本試験では、プロテオグリカン複合体 80 摂取による膝関節に対する作用を検証するため、KL 分類をもとに、軽度の変形性膝関節症を含む膝関節に違和感・痛みがある者を対象としたプラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験を実施した。また、機能的表示食品制度の対象者である変形性膝関

節症ではない健康者 (KL 分類グレード I 以下) についても、評価を行った。

I 対象と方法

1 試験実施体制

本試験は、試験に関与しない第三者で構成される医療法人公雄会こぶな整形外科医院倫理試験審査委員会で審査、承認 (承認日: 2016 年 1 月 28 日) を得た後に実施した。試験の実施はヘルシンキ宣言 (1964 年採択, 2013 年改訂) の精神に則り、被験者の人権保護に配慮し、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (2014 年文部科学省, 厚生労働省告示第 3 号) に従って、医師の管理のもとにおいて実施した。

(株)アルフェイスにおいて被験者の身体所見の判定および身体計測, 理学検査, 臨床検査を実施し, 被験者管理, 試験実施体制を整備した。試験責任医師 (小鮎保雄) は試験に関わる業務の統括を行い, 被験者への指示, 説明, 文書による試験同意の取得, 問診および有害事象の確認・判定, 症例報告書の作成, 試験実施体制の管理を行った。本試験は 2016 年 2 月から 2016 年 6 月に実施された。

2 被験者

スクリーニング検査時に試験の説明を行い, 文書にて試験参加への同意を取得した被験者候補にスクリーニング検査を実施し, 試験に参加する被験者を選定した。被験者選択基準は, ①40 歳以上 70 歳未満の男女, ②膝関節に違和感・痛みがあり, KL 分類でグレード 0, I, II に分類された者, ③試験の目的・内容について十分な説明を受け, 同意能力があり, よく理解したうえで自発的に参加を志願し, 書面で試験参加に同意した者, ④試験責任医師より試験参加が妥当と判断された者とし, 以下の除外基準に該当しない被験者を選定した。除外基準は, ①リウマチの現病歴, 既往歴がある者, スクリーニング検査の結果リウマチに罹患している可能性がある者, ②試験責任医師により変形性膝関節症の治療が必要と診断された者, ③膝に人工関節が入っている者, ④湿布薬・塗布薬・鎮痛剤等, 膝関節に係る医薬品を常用している者, ⑤半月板損傷等の膝関節疾患を有する者, 治療中の者, ⑥重篤な慢性疾患 (肝

障害, 心臓血管障害, 脳血管障害, 呼吸障害, 内分泌障害, 代謝障害等) に罹患している者, ⑦試験期間中, 膝関節に影響を及ぼす可能性があるサプリメント・健康食品 (機能性表示食品を含む) の摂取をやめることができない者, ⑧魚類アレルギーを有する者, ⑨妊娠している者, 試験期間中妊娠の意思がある者, 授乳中の者, ⑩他の食品の摂取や薬剤を使用する試験, 化粧品および薬剤などを塗布する試験に参加中の者, 参加の意思がある者, ⑪その他, 試験責任医師が被験者として不適当と判断した者とした。

3 試験食品

被験食品は, 1 日摂取量 1 粒あたりサケ鼻軟骨由来プロテオグリカン製品 (プロテオグリカン複合体 80) を 40 mg 含み, 結晶セルロースとその他賦形剤からなる錠剤である。プラセボは, 被験食品のプロテオグリカン複合体 80 を含まず, 結晶セルロースを主要成分とし, 被験食品と外観の区別がつかないよう製造した錠剤を用いた。

4 試験方法

試験はプラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験とした。試験に関与しない担当者が割付け表を作成し, 無作為に被験者を被験食品群・プラセボ群に割り付けた。なお, 盲検化の対象は, 試験に関係する者 (被験者, 介入実施者, 評価者など) すべてであり, 割付け表は試験に関与しないコントローラーが保管し, 解析対象被験者が固定されるまで, 開封しないこととした。

被験者に被験食品またはプラセボを 1 日 1 粒, 12 週間継続摂取させた。試験期間中は, 試験参加前と同様の生活を送ることとし, 暴飲・暴食, ダイエット, 海外旅行等での食生活の変更, いままでにしていた運動を急にやめる, 新しく運動を始める等しないよう指導した。また検査前日のアルコール摂取, 来院 10 時間前から検査終了まで水以外の飲食は禁止とした。各被験者には, 試験食品摂取状況, 生活状況・体調変化の有無, 健康食品類の摂取の有無, 医薬品使用の有無, アルコール摂取状況の項目について, 被験者日誌を記入させた。

5 検査項目・評価項目

1) 膝関節機能評価

スクリーニング検査時, 試験食品摂取前, 試験食

品摂取4週後、8週後、12週後において、日本整形外科学会変形性膝関節疾患治療成績判定基準 (Japanese Orthopaedic Association, 以下 JOA)³²⁾、日本語版変形性膝関節症患者機能評価尺度 (Japanese Knee Osteoarthritis Measure, 以下 JKOM)³³⁾、Knee Society Score (以下 KSS)³⁴⁾、視覚的評価尺度 (Visual Analogue Scale, 以下 VAS) アンケート³⁵⁾による痛みの評価を実施した。

JOA は試験責任医師による問診により評価した。被験者の左膝および右膝の「疼痛・歩行能力 (30 点満点)」「疼痛・階段昇降能力 (25 点満点)」「屈曲角度および強直・高度拘縮 (35 点満点)」「腫脹 (10 点満点)」の4項目と、それらの合計点数 (100 点満点) を算出し、左膝および右膝の平均値を JOA スコアとして評価した。

JKOM について、「I 膝の痛みの程度」は 100 mm スケールの VAS 法を実施した。「II 膝の痛みやこわばり」「III 日常生活の状態」「IV ふだんの活動など」「V 健康状態について」の項目はもっとも軽症の選択肢を回答した場合 0 点、もっとも重症の選択肢を回答した場合 4 点とし、中間の選択肢を回答した場合症状が軽い順に 1, 2, 3 点とし、合計を JKOM スコア (0~100 点) として評価した。

KSS は健常者に外挿できる「I 現在の膝の症状 (25 点満点)」「II 現在の満足度 (40 点満点)」「IV 術後の活動性 (2) 標準的な活動 (30 点満点)」「IV 術後の活動性 (3) 高度な活動 (25 点満点)」の4項目を評価した。

VAS アンケートは「椅子から立ち上がるとき」「正坐するとき」「正坐から立ち上がるとき」「起床時」「階段を上がる時」「階段を下がる時」「就寝前の安静時」「ふだんより長時間もしくは長距離を歩いたとき」の8項目について、膝の痛み・こわばり・違和感をそれぞれ 100 mm スケールの VAS 法により被験者に記入させた。スケールは 0~100 mm までであり、0 mm は「まったく症状がないと自覚している状態」、100 mm は「非常に症状を自覚している状態」とした。各項目の痛み・こわばり・違和感の合計値 (0~300 mm) を評価した。

2) 膝関節の X 線検査

スクリーニング検査時において、膝関節の X 線検査を実施した。立位正面を撮影し、KL 分類を基準

に大腿脛骨関節の関節裂隙狭小化および骨棘形成を整形外科専門医が診断した。

3) 身長、体重、バイタルサイン測定

スクリーニング検査時、試験食品摂取前、試験食品摂取4週後、8週後、12週後に収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍、体重を測定した。スクリーニング検査時に測定した身長から各検査日の BMI (body mass index: 体重 (kg)/身長 (m)²) を算出した。

4) 血液検査および尿検査

スクリーニング検査時、試験食品摂取前、試験食品摂取4週後、8週後、12週後に血液学的検査として白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、白血球像を測定した。血液生化学検査として総タンパク、アルブミン、総ビリルビン、AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、 γ -GT (γ -GTP)、LD (LDH)、CRP 定量、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪、空腹時血糖、HbA1c を測定した。尿検査としてタンパク定性、糖定性、潜血反応を測定した。またスクリーニング検査時のみ血液生化学検査としてリウマチ因子を測定した。血液検査と尿検査は(株)LSI メディエンスに委託して実施した。

5) 診察・問診

スクリーニング検査時、試験食品摂取前、試験食品摂取4週後、8週後、12週後に試験責任医師による問診を行い、自覚症状・他覚症状の確認および有害事象と試験食品との因果関係の判定を行った。

6) 評価項目

主要評価項目を 12 週後の JOA スコア、副次評価項目を 4 週後・8 週後の JOA スコア、JKOM 「I 膝の痛みの程度」、JKOM スコア、KSS、VAS アンケートとした。安全性評価項目を問診、体重、BMI、バイタルサイン、血圧、血液検査、尿検査、自覚症状、他覚症状とした。

6 解析対象集団と統計解析方法

試験を完了した被験者を有効性評価解析対象とした。また有効性評価の解析はスクリーニング時の KL 分類をもとに変形性膝関節症と診断される者を含む集団 (全被験者) とした。さらに部分集団の解析として、変形性膝関節症と診断されない健常者

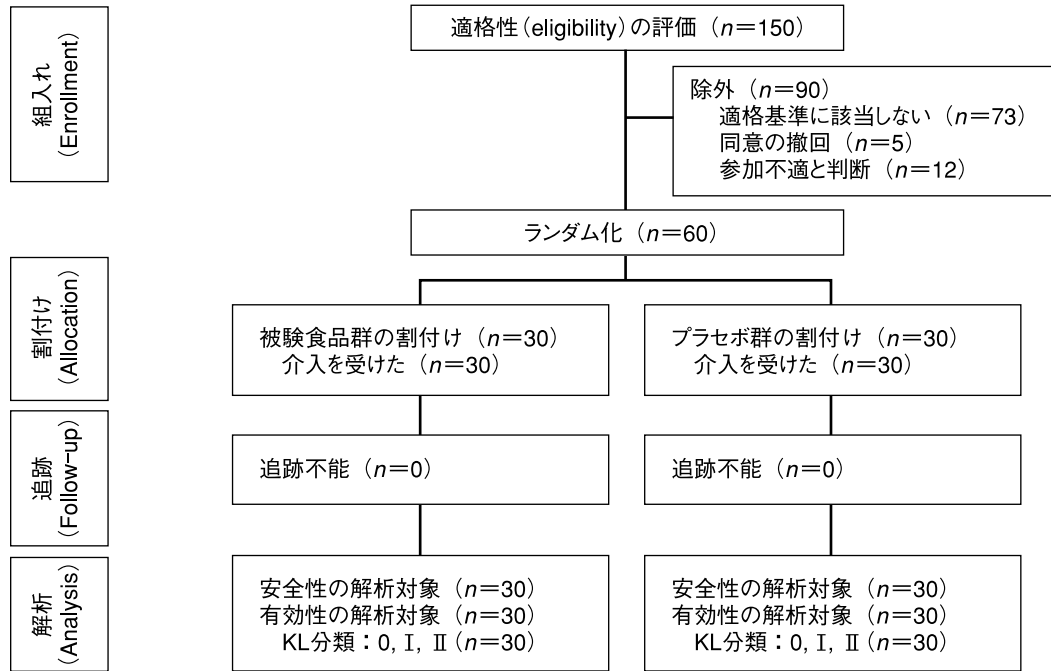


図 1 被験者選定、解析のフローチャート

表 1 被験者背景

単位	全被験者 (KL グレード II 以下)				健常者 (KL グレード I 以下)				
	被験食品群 (n=30)		プラセボ群 (n=30)		被験食品群 (n=27)		プラセボ群 (n=26)		P 値*
	男性: 11	女性: 19	男性: 10	女性: 20	男性: 11	女性: 16	男性: 9	女性: 17	
年齢	歳	51.4±6.3	52.0±7.5	0.76	50.6±6.1	50.8±7.0	0.92		
身長	cm	163.2±10.0	163.8±8.8	0.80	163.7±10.3	164.5±8.9	0.78		
体重	kg	60.8±9.1	64.6±10.7	0.14	60.8±9.4	64.2±11.4	0.24		
BMI	kg/m ²	22.8±2.5	24.0±3.1	0.10	22.7±2.6	23.6±3.0	0.21		
JOA スコア	点	95.8±3.1	95.8±3.3	0.95	96.1±3.0	96.2±2.8	0.91		
JKOM スコア	点	15.9±6.6	16.9±6.6	0.40	15.9±6.8	16.0±6.3	0.68		
KL 分類	名	0: 20, I: 7, II: 3			0: 20, I: 7		0: 19, I: 7		

平均値±標準偏差

*被験食品群とプラセボ群の比較

で、同様に有効性の評価を行った。試験食品を 1 回でも摂取した被験者を安全性評価解析対象とした。

統計処理ソフトは IBM SPSS Statistics 24 を用い、有意水準は両側検定で 5% 未満とし、欠損データは欠損値として扱い、代替値は用いないこととした。JOA スコアの結果は平均値±標準誤差で示した。また、その他の副次評価項目、被験者背景、安全性評価項目は平均値±標準偏差で示した。

主要評価項目および副次評価項目の各検査時点における試験食品群間の比較は Wilcoxon の順位和検

定を実施した。なお、副次評価項目については多重性を考慮しなかった。安全性評価項目の体重、BMI、バイタルサイン、血液検査については、各検査時点における試験食品群間の比較は対応のない t 検定を、各群の試験食品摂取前を比較対照とした各検査時点における比較は Dunnett 法による多重比較検定を実施した。多項目に関する多重性補正は行わなかった。

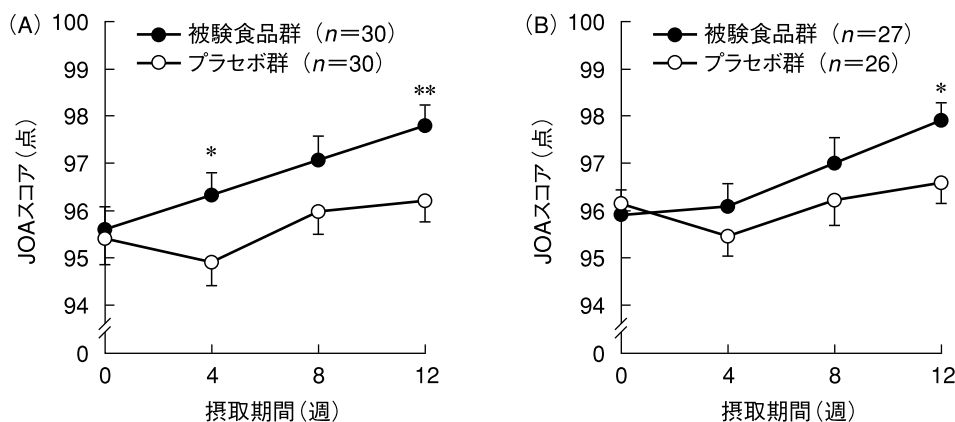


図 2 JOA スコア

(A) 全被験者, (B) 健常者

平均値±標準誤差

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (被験食品群とプラセボ群の比較)

表 2 JKOM, KSS, VAS アンケート

		単位		全被験者 (KL グレード II 以下)			健常者 (KL グレード I 以下)		
				被験食品群 (n=30)	プラセボ群 (n=30)	P 値*	被験食品群 (n=27)	プラセボ群 (n=26)	P 値*
JKOM	I 膝の痛みの程度	mm	摂取前	25.1±18.3	25.7±14.4	0.54	24.9±18.2	23.6±13.5	0.82
			4 週後	14.1±10.4	18.2±15.6	0.51	14.7±10.6	16.5±14.7	0.95
			8 週後	13.1±14.6	16.5±11.6	0.11	13.6±15.1	15.9±12.0	0.27
			12 週後	8.4±8.0	14.9±10.9	0.01	8.8±8.3	14.0±11.1	0.08
	JKOM スコア	点	摂取前	17.2±6.7	17.9±8.8	0.97	16.9±6.9	16.3±7.7	0.58
			4 週後	11.7±6.2	14.5±7.9	0.20	11.9±6.1	13.2±7.6	0.61
			8 週後	10.0±5.4	13.1±6.8	0.10	9.9±5.0	12.3±6.8	0.25
			12 週後	7.8±4.4	12.2±7.6	0.02	7.7±4.1	10.6±6.7	0.09
KSS	I 現在の膝の症状	点	摂取前	18.1±2.5	18.2±2.7	0.74	18.0±2.6	18.7±2.4	0.30
			4 週後	19.7±2.5	19.0±2.6	0.25	19.6±2.5	19.4±2.4	0.85
			8 週後	19.8±2.8	19.5±1.6	0.45	19.8±2.8	19.7±1.7	0.57
			12 週後	21.6±2.4	20.3±2.1	0.01	21.3±2.3	20.4±2.2	0.07
	II 現在の満足度	点	摂取前	23.1±6.3	21.9±6.0	0.37	23.5±6.6	22.8±5.6	0.53
			4 週後	27.5±5.1	24.9±7.3	0.05	27.3±4.6	25.6±7.4	0.15
			8 週後	29.0±5.9	26.1±7.3	0.10	29.0±5.6	26.3±7.5	0.15
			12 週後	31.8±5.6	25.5±8.0	0.001	31.6±5.4	25.8±8.2	0.006
	IV 術後の活動性 (2) 標準的な活動	点	摂取前	23.6±3.1	22.4±3.3	0.17	23.8±3.1	23.1±2.9	0.29
			4 週後	24.9±2.8	23.5±2.7	0.06	24.8±2.8	24.1±2.3	0.22
			8 週後	25.9±2.2	24.5±3.0	0.05	26.0±2.0	25.2±2.7	0.19
			12 週後	26.8±2.6	24.9±2.9	0.03	26.7±2.6	25.6±2.4	0.18
IV 術後の活動性 (3) 高度な活動	点	摂取前	18.3±3.1	18.5±2.9	0.75	18.5±3.2	19.0±2.4	0.56	
		4 週後	20.2±2.7	18.6±3.0	0.01	20.1±2.6	19.1±2.8	0.07	
		8 週後	20.8±2.6	19.9±2.8	0.27	21.0±2.4	20.5±2.3	0.58	
		12 週後	21.8±2.5	19.9±2.8	0.02	21.9±2.4	20.3±2.7	0.08	

表 2 (つづき)

単位			全被験者 (KL グレード II 以下)			健常者 (KL グレード I 以下)			
			被験食品群 (n=30)	プラセボ群 (n=30)	P 値*	被験食品群 (n=27)	プラセボ群 (n=26)	P 値*	
VAS アンケート	椅子から立ち上がる るとき	mm	撮取前	61.7±57.2	67.4±53.8	0.70	63.9±59.1	56.2±44.4	0.65
			4 週後	37.0±32.0	58.9±56.2	0.12	38.5±32.9	53.9±55.1	0.36
			8 週後	28.3±28.9	44.9±47.4	0.11	28.7±29.9	44.1±50.0	0.22
			12 週後	17.3±20.1	33.8±31.9	0.03	17.8±20.8	30.7±31.9	0.12
	正坐するとき	mm	撮取前	93.0±80.1	83.1±57.6	0.94	81.4±70.4	73.1±50.8	0.97
			4 週後	50.5±57.6	70.8±65.9	0.14	45.7±45.6	63.7±62.2	0.23
			8 週後	38.1±52.9	57.4±53.8	0.07	31.6±34.2	53.4±54.2	0.12
			12 週後	27.5±37.6	42.4±35.7	0.04	23.4±30.1	37.7±32.4	0.07
	正坐から立ち上がる るとき	mm	撮取前	97.1±86.6	91.8±69.1	0.78	85.4±78.4	84.5±68.3	0.72
			4 週後	59.1±54.2	73.2±63.3	0.52	54.9±39.1	70.0±64.9	0.78
			8 週後	40.1±52.6	54.1±53.0	0.14	34.3±34.9	51.1±55.2	0.30
			12 週後	30.5±37.3	45.5±38.7	0.06	27.4±32.8	41.3±37.6	0.11
	起床時	mm	撮取前	55.3±61.0	67.7±56.3	0.18	57.1±63.6	57.5±48.8	0.48
			4 週後	34.3±30.1	52.7±65.3	0.61	35.3±31.0	46.1±63.7	0.85
			8 週後	19.4±22.5	40.7±55.1	0.09	19.6±23.3	39.8±58.6	0.21
			12 週後	20.2±24.3	38.0±34.5	0.02	21.0±25.1	33.1±32.4	0.10
	階段を上がる時	mm	撮取前	61.3±61.8	71.9±52.5	0.13	62.9±64.9	64.0±45.0	0.31
			4 週後	43.5±40.7	61.6±57.1	0.18	45.9±42.0	56.1±56.1	0.48
			8 週後	33.8±43.0	48.1±44.6	0.10	34.9±44.5	47.3±46.9	0.24
			12 週後	23.7±33.4	37.8±36.3	0.05	24.7±34.7	35.5±37.4	0.16
	階段を下がる時	mm	撮取前	72.3±62.7	79.0±57.8	0.48	73.0±64.4	71.0±52.0	0.78
			4 週後	49.5±41.1	63.0±54.7	0.37	50.9±41.7	56.9±52.4	0.78
			8 週後	36.4±46.4	50.5±46.8	0.11	38.3±48.2	49.4±49.3	0.30
			12 週後	27.7±34.8	43.8±39.0	0.05	29.0±35.9	40.5±39.0	0.19
	就寝前の安静時	mm	撮取前	38.9±52.1	43.4±53.6	0.22	39.8±54.3	37.0±45.7	0.33
			4 週後	18.9±21.7	43.5±60.4	0.10	18.8±22.3	39.6±61.4	0.20
			8 週後	16.3±21.5	32.2±46.9	0.06	16.0±21.4	31.8±49.9	0.13
			12 週後	12.5±17.3	26.2±28.3	0.01	13.1±18.0	23.8±28.3	0.06
	ふだんより長時間 もしくは長距離を 歩いたとき	mm	撮取前	84.0±80.3	79.8±62.6	0.71	74.3±73.9	74.5±58.7	0.59
			4 週後	44.7±42.5	70.8±68.1	0.09	46.3±43.6	65.5±68.4	0.28
			8 週後	33.4±47.8	50.4±46.9	0.06	34.9±49.8	50.2±49.7	0.15
			12 週後	21.2±27.4	41.7±38.1	0.01	22.1±28.5	39.3±38.8	0.06

平均値±標準偏差

*被験食品群とプラセボ群の比較

II 結 果

1 被験者背景

被験者候補 150 名に対してスクリーニング検査を実施し、選択基準、除外基準に基づき被験者 60 名 (男性 21 名, 女性 39 名, 平均 51.7±6.9 歳) を選択

した。この 60 名をそれぞれ被験食品群 30 名, プラセボ群 30 名に群分けし、全被験者が試験を完了した。試験を完了した被験者のうち, KL 分類のグレードが 0, I, II に分類された者はそれぞれ 39 名, 14 名, 7 名であった。したがって, 全被験者 60 名を有効性の解析対象とした。また, 部分集団の解

表 3 体重, BMI, バイタルサイン

			全被験者 (KL グレード II 以下)				
単位		被験食品群 (n=30)	P 値 [#]	プラセボ群 (n=30)	P 値 [#]	P 値 [*]	
体重	kg	摂取前	61.1±9.3		64.7±10.9	0.18	
		4 週後	61.2±9.3	0.96	64.6±10.8	0.98	0.19
		8 週後	61.1±9.4	0.96	64.5±10.8	0.55	0.19
		12 週後	60.9±9.1	0.08	64.6±10.8	0.73	0.15
BMI	kg/m ²	摂取前	22.9±2.5		24.0±3.1	0.13	
		4 週後	22.9±2.5	0.93	24.0±3.1	0.99	0.14
		8 週後	22.9±2.6	0.93	24.0±3.1	0.65	0.15
		12 週後	22.8±2.5	0.06	24.0±3.1	0.86	0.11
収縮期血圧	mmHg	摂取前	124.2±11.7		124.2±12.2	0.99	
		4 週後	124.0±12.1	0.99	121.4±11.8	0.19	0.39
		8 週後	120.7±13.5	0.03	120.7±13.0	0.08	0.99
		12 週後	122.6±14.4	0.49	123.1±11.0	0.83	0.88
拡張期血圧	mmHg	摂取前	74.7±8.0		75.1±8.6	0.84	
		4 週後	76.0±7.8	0.36	74.2±8.9	0.78	0.41
		8 週後	73.1±8.5	0.24	72.8±10.0	0.12	0.87
		12 週後	73.4±9.0	0.38	75.5±7.9	0.97	0.33
脈拍	bpm	摂取前	68.2±8.6		68.5±7.3	0.87	
		4 週後	69.3±8.0	0.73	68.3±6.7	0.99	0.58
		8 週後	68.5±7.4	0.99	67.8±6.9	0.89	0.71
		12 週後	68.4±7.6	0.99	67.0±7.3	0.43	0.45

平均値±標準偏差

[#] 摂取前との比較^{*} 被験食品群とプラセボ群の比較

析は KL 分類のグレードが I 以下の健常者 53 名 (男性 20 名, 女性 33 名, 平均 50.7±6.5 歳) を対象とした。有害事象の確認および安全性の解析対象は, 全被験者 60 名を対象とした (図 1)。解析対象の背景は表 1 に示した。また, 試験期間中に膝関節に影響を与える医薬品を服用した者は認められず, 試験食品摂取率は 100%であった。

2 有効性の評価

1) 主要評価項目

図 2 に JOA スコアの結果を示した。JOA スコアについて, 全被験者の 12 週後において, 被験食品群がプラセボ群と比較して有意に高値であった (被験食品群, 97.8±0.4 点: プラセボ群, 96.3±0.4 点; $P=0.008$)。また, 健常者の 12 週後においても, 被験食品群がプラセボ群と比較して有意に高値であった (被験食品群, 98.0±0.4 点: プラセボ群, 96.6±0.4 点; $P=0.02$)。

2) 副次評価項目

4 週後, 8 週後の JOA スコアは, 全被験者および健常者ともに, 被験食品群がプラセボ群と比較して高値であり, 全被験者の 4 週後においては有意であった (被験食品群, 96.3±0.5 点: プラセボ群, 94.9±0.5 点; $P=0.04$)。

表 2 に JKOM 「I 膝の痛みの程度」, JKOM スコア, KSS, VAS アンケートの結果を示した。JKOM 「I 膝の痛みの程度」および JKOM スコアについて, 全被験者および健常者の摂取後すべての検査時点で, 被験食品群がプラセボ群と比較して低値であり, 全被験者の 12 週後において有意であった。

KSS について, 「I 現在の膝の症状」「II 現在の満足度」「IV 術後の活動性 (2) 標準的な活動」「IV 術後の活動性 (3) 高度な活動」の 4 項目すべてにおいて, 全被験者および健常者の摂取後すべての検査時点で, 被験食品群がプラセボ群と比較して高値で

表 4 血液学検査

		全被験者 (KL グレード II 以下)					
	単位		被験食品群 (n=30)	P 値 [#]	プラセボ群 (n=30)	P 値 [#]	P 値*
白血球数	/mL	摂取前	5240.0±1596.0		5520.0±1342.0		0.46
		4 週後	5220.0±1468.8	0.99	5323.3±1329.4	0.45	0.77
		8 週後	5346.7±1430.6	0.93	5340.0±1208.2	0.52	0.98
		12 週後	5216.7±1421.8	0.99	5220.0±1161.9	0.14	0.99
赤血球数	×10 ⁴ /mL	摂取前	455.8±38.8		463.8±41.4		0.44
		4 週後	453.8±36.3	0.83	456.7±40.2	0.06	0.77
		8 週後	449.2±38.9	0.07	455.4±39.2	0.02	0.54
		12 週後	443.7±39.3	<0.001	446.5±38.8	<0.001	0.78
ヘモグロビン	g/dL	摂取前	13.6±1.3		14.2±1.3		0.08
		4 週後	13.7±1.4	0.99	14.0±1.2	0.06	0.30
		8 週後	13.5±1.4	0.09	14.0±1.2	0.02	0.13
		12 週後	13.3±1.4	<0.001	13.7±1.2	<0.001	0.27
ヘマトクリット	%	摂取前	42.7±3.8		43.6±3.5		0.31
		4 週後	42.6±3.7	0.95	43.0±3.2	0.13	0.66
		8 週後	42.3±3.8	0.45	43.4±3.2	0.85	0.22
		12 週後	41.7±3.9	0.004	42.1±3.3	<0.001	0.66
血小板数	×10 ⁴ /mL	摂取前	26.0±4.8		26.3±5.9		0.84
		4 週後	25.7±4.8	0.60	26.0±6.4	0.74	0.83
		8 週後	25.5±5.9	0.35	25.8±6.0	0.40	0.87
		12 週後	25.1±5.4	0.03	25.5±6.1	0.13	0.77
好中球	%	摂取前	57.1±9.9		55.5±10.3		0.54
		4 週後	55.8±8.5	0.84	54.4±9.4	0.71	0.53
		8 週後	57.4±8.7	0.99	53.2±9.9	0.21	0.09
		12 週後	56.5±8.6	0.97	52.0±8.6	0.02	0.04
リンパ球	%	摂取前	34.3±8.7		35.0±9.8		0.76
		4 週後	34.8±8.0	0.97	35.5±9.2	0.96	0.76
		8 週後	34.2±7.8	0.99	37.3±10.7	0.15	0.19
		12 週後	34.8±7.9	0.97	38.5±8.8	0.01	0.09
単球	%	摂取前	5.7±1.7		6.1±1.5		0.37
		4 週後	5.7±1.5	0.99	6.3±1.7	0.74	0.19
		8 週後	5.3±1.4	0.32	5.8±1.5	0.56	0.22
		12 週後	5.2±1.2	0.17	5.9±1.2	0.93	0.02
好酸球	%	摂取前	2.5±1.4		2.9±1.4		0.21
		4 週後	3.0±2.3	0.07	3.4±1.9	0.12	0.49
		8 週後	2.6±1.6	0.96	3.1±1.5	0.84	0.20
		12 週後	2.9±1.7	0.17	3.0±1.6	0.99	0.90
好塩基球	%	摂取前	0.5±0.5		0.5±0.3		0.87
		4 週後	0.7±0.5	0.13	0.5±0.3	0.99	0.27
		8 週後	0.6±0.4	0.58	0.6±0.4	0.85	0.81
		12 週後	0.6±0.3	0.61	0.6±0.4	0.29	0.77

平均値±標準偏差

[#]摂取前との比較

*被験食品群とプラセボ群の比較

表 5 血液生化学検査

		全被験者 (KL グレード II 以下)				
	単位		被験食品群 (n=30)	P 値 [#]	プラセボ群 (n=30)	P 値 [#] P 値 [*]
総タンパク	g/dL	摂取前	7.23±0.41		7.38±0.38	0.15
		4 週後	7.27±0.43	0.88	7.23±0.38	0.02 0.72
		8 週後	7.19±0.47	0.78	7.16±0.38	<0.001 0.80
		12 週後	7.13±0.33	0.16	7.12±0.37	<0.001 0.94
アルブミン	g/dL	摂取前	4.46±0.33		4.44±0.28	0.77
		4 週後	4.42±0.31	0.61	4.33±0.29	0.009 0.21
		8 週後	4.39±0.30	0.18	4.30±0.25	0.001 0.20
		12 週後	4.34±0.30	0.006	4.26±0.29	<0.001 0.27
尿素窒素	mg/dL	摂取前	13.2±3.6		13.1±3.0	0.88
		4 週後	12.8±2.7	0.80	13.1±2.9	0.99 0.72
		8 週後	13.3±2.8	0.99	13.5±3.7	0.82 0.80
		12 週後	13.0±3.6	0.97	13.3±3.9	0.94 0.76
クレアチニン	mg/dL	摂取前	0.69±0.13		0.70±0.12	0.71
		4 週後	0.70±0.13	0.39	0.69±0.12	0.82 0.85
		8 週後	0.69±0.13	0.90	0.68±0.13	0.16 0.78
		12 週後	0.69±0.13	0.75	0.69±0.11	0.65 0.90
尿酸	mg/dL	摂取前	4.60±1.01		4.96±1.24	0.22
		4 週後	4.62±0.98	0.98	4.94±1.07	0.99 0.23
		8 週後	4.75±0.95	0.27	5.01±1.32	0.86 0.37
		12 週後	4.70±1.05	0.60	4.95±1.27	0.99 0.40
総ビリルビン	mg/dL	摂取前	0.75±0.31		0.74±0.25	0.85
		4 週後	0.79±0.39	0.70	0.70±0.24	0.33 0.28
		8 週後	0.77±0.39	0.94	0.72±0.21	0.77 0.51
		12 週後	0.77±0.38	0.94	0.74±0.28	0.99 0.69
AST	U/L	摂取前	18.4±3.5		21.1±6.5	0.05
		4 週後	17.9±3.1	0.66	19.2±4.2	0.07 0.15
		8 週後	18.0±3.2	0.84	19.8±5.5	0.31 0.13
		12 週後	17.8±4.5	0.59	18.6±5.5	0.01 0.53
ALT	U/L	摂取前	18.3±7.1		20.6±10.3	0.31
		4 週後	17.1±6.7	0.39	18.5±8.5	0.13 0.50
		8 週後	17.2±5.9	0.42	18.9±8.7	0.26 0.38
		12 週後	17.1±6.6	0.37	16.8±6.6	0.002 0.84
ALP	U/L	摂取前	209.4±55.3		225.3±55.6	0.27
		4 週後	215.7±56.6	0.26	228.8±64.0	0.73 0.40
		8 週後	210.8±53.3	0.97	221.8±53.2	0.73 0.42
		12 週後	211.6±59.2	0.89	221.1±56.2	0.61 0.52
γ-GT	U/L	摂取前	25.7±12.9		30.6±22.8	0.31
		4 週後	25.9±13.6	0.99	28.2±19.7	0.22 0.59
		8 週後	25.7±13.5	1.00	28.4±17.9	0.28 0.51
		12 週後	26.7±16.7	0.87	27.8±20.2	0.13 0.80
LD	U/L	摂取前	166.9±22.0		170.0±21.9	0.57
		4 週後	168.5±21.6	0.79	164.8±21.8	0.09 0.51
		8 週後	166.8±24.1	0.99	169.4±23.5	0.98 0.67
		12 週後	168.6±19.7	0.78	166.8±24.2	0.41 0.76

表 5 (つづき)

		全被験者 (KL グレード II 以下)					
	単位	被験食品群 (n=30)	P 値 [#]	プラセボ群 (n=30)	P 値 [#]	P 値*	
総コレステロール	mg/dL	摂取前	204.8±27.6		216.2±34.9	0.16	
		4 週後	206.8±28.9	0.87	210.3±30.9	0.18	0.65
		8 週後	201.3±28.7	0.60	209.6±35.2	0.12	0.32
		12 週後	197.9±23.7	0.11	204.8±31.9	0.002	0.34
HDL-コレステロール	mg/dL	摂取前	63.8±22.2		61.7±19.8	0.69	
		4 週後	62.2±18.2	0.59	59.5±17.3	0.17	0.55
		8 週後	60.9±19.3	0.14	57.1±15.9	<0.001	0.40
		12 週後	61.9±20.9	0.43	57.2±15.0	<0.001	0.32
LDL-コレステロール	mg/dL	摂取前	119.8±25.7		132.9±30.9	0.07	
		4 週後	121.3±28.6	0.91	128.1±28.2	0.23	0.35
		8 週後	119.2±27.9	0.99	128.6±33.0	0.30	0.23
		12 週後	117.5±22.6	0.75	123.2±29.1	0.003	0.39
中性脂肪	mg/dL	摂取前	97.5±50.2		105.4±48.6	0.53	
		4 週後	102.8±54.0	0.77	109.6±59.9	0.91	0.64
		8 週後	100.0±68.1	0.96	116.9±52.3	0.34	0.28
		12 週後	88.2±46.1	0.38	121.5±60.8	0.11	0.01
Na	mEq/L	摂取前	140.5±1.6		140.6±1.2	0.85	
		4 週後	141.2±2.1	0.08	141.3±1.5	0.01	0.83
		8 週後	140.9±1.8	0.48	141.3±1.5	0.01	0.39
		12 週後	140.9±2.1	0.48	141.1±1.5	0.09	0.67
Cl	mEq/L	摂取前	103.8±1.6		104.1±1.7	0.52	
		4 週後	104.1±2.2	0.71	104.8±1.8	0.06	0.20
		8 週後	104.4±2.3	0.16	105.0±1.6	0.006	0.24
		12 週後	104.7±1.5	0.02	104.5±2.0	0.42	0.56
K	mEq/L	摂取前	4.28±0.31		4.30±0.31	0.77	
		4 週後	4.24±0.29	0.76	4.28±0.30	0.95	0.63
		8 週後	4.22±0.25	0.38	4.28±0.29	0.95	0.36
		12 週後	4.22±0.30	0.38	4.19±0.34	0.12	0.74
空腹時血糖	mg/dL	摂取前	87.2±7.9		87.0±10.7	0.94	
		4 週後	86.0±7.3	0.48	85.3±10.5	0.25	0.76
		8 週後	84.8±6.7	0.04	85.8±8.1	0.52	0.60
		12 週後	85.4±7.1	0.16	85.5±10.7	0.32	0.96
HbA1c	%	摂取前	5.56±0.30		5.51±0.25	0.48	
		4 週後	5.64±0.29	0.02	5.57±0.26	0.05	0.35
		8 週後	5.62±0.28	0.09	5.58±0.22	0.04	0.47
		12 週後	5.59±0.27	0.57	5.49±0.28	0.93	0.18
CRP 定量	mg/dL	摂取前	0.06±0.11		0.12±0.34	0.35	
		4 週後	0.09±0.17	0.91	0.12±0.24	0.99	0.55
		8 週後	0.06±0.08	0.99	0.18±0.73	0.90	0.39
		12 週後	0.10±0.33	0.74	0.04±0.04	0.79	0.31

平均値±標準偏差

[#]摂取前との比較

*被験食品群とプラセボ群の比較

表 6 尿検査

		全被験者 (KL グレード II 以下)									
		被験食品群 (n=30)					プラセボ群 (n=30)				
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
タンパク定性	摂取前	30	0	0	0	0	28	2	0	0	0
	4 週後	29	1	0	0	0	28	2	0	0	0
	8 週後	30	0	0	0	0	27	3	0	0	0
	12 週後	30	0	0	0	0	29	1	0	0	0
糖定性	摂取前	30	0	0	0	0	30	0	0	0	0
	4 週後	30	0	0	0	0	30	0	0	0	0
	8 週後	30	0	0	0	0	30	0	0	0	0
	12 週後	30	0	0	0	0	30	0	0	0	0
潜血反応	摂取前	29	1	0	0	0	27	1	1	1	0
	4 週後	29	1	0	0	0	27	1	1	0	1
	8 週後	29	1	0	0	0	28	0	2	0	0
	12 週後	27	1	2	0	0	28	2	0	0	0

あった。加えて4項目すべてで、全被験者の12週後において有意であり、「II現在の満足度」では健常者の12週後においても有意であった。

VAS アンケートについて、「椅子から立ち上がる時」「正坐するとき」「正坐から立ち上がる時」「起床時」「階段を上がる時」「階段を下がる時」「就寝前の安静時」「ふだんより長時間もしくは長距離を歩いたとき」の8項目すべてにおいて、全被験者および健常者の摂取後すべての検査時点で、被験食品群がプラセボ群と比較して低値であった。加えて「椅子から立ち上がる時」「正坐するとき」「起床時」「就寝前の安静時」「普段より長時間もしくは長距離を歩いたとき」の5項目では、全被験者の12週後において有意であった。

3 安全性の評価

1) 体重, BMI, バイタルサイン

表3に体重, BMI, バイタルサインの結果を示した。被験食品群とプラセボ群との比較について、すべての項目および検査時点で有意な差はなかった。また摂取前からの比較では、両群で体重, BMI, 拡張期血圧, 脈拍では、有意な変動は認められなかった。一方被験食品群のみ、収縮期血圧が8週後有意に低下したが、試験責任医師によって、臨床的意義はなく、安全性に問題はないと判断された。

2) 血液検査

表4に血液学検査の結果を示した。被験食品群とプラセボ群との比較について、好中球が12週後において被験食品群がプラセボ群と比較して有意に高値を示し、単球は12週後において被験食品群がプラセボ群と比較して有意に低値を示したが、その他の項目について有意な差は認められなかった。また、摂取前からの比較では、両群ともに白血球数, 単球, 好酸球, 好塩基球で、有意な変動は認められなかったが、赤血球数, ヘモグロビン, ヘマトクリットでは、12週後において有意な低下が認められた。加えて、被験食品群では、血小板数が12週後において有意な低下が認められた。さらに、プラセボ群では、好中球が12週後において有意な低下, リンパ球が12週後において有意な増加が認められた。以上の有意な差および変動について、試験責任医師は、臨床的意義はなく、安全性に問題はないと判断した。

表5に血液生化学検査の結果を示した。被験食品群とプラセボ群との比較について、中性脂肪が12週後において、被験食品群がプラセボ群と比較して有意に低値を示したが、その他の項目について有意な差は認められなかった。また、摂取前からの比較では、被験食品群でアルブミンが12週後において有意な低下, Clが12週後において有意な増加, 空

腹時血糖が8週後において有意な低下、HbA1cが4週後、8週後において有意な増加が認められた。加えてプラセボ群では、総タンパクおよびアルブミンが4週後、8週後、12週後において有意な低下、AST、ALT、総コレステロール、LDL-コレステロールが12週後において有意な低下、Naが4週後、8週後において有意に増加、HDL-コレステロールが8週後、12週後において有意な低下が認められた。以上の有意な差および変動について、試験責任医師は、臨床的意義はなく、安全性に問題はないと判断した。

4) 尿検査

表6に尿検査結果を示した。各検査時点のタンパク定性、糖定性、潜血反応について、試験責任医師は安全性に問題はないと判断した。

5) 有害事象

試験期間中の問診、自覚症状、他覚症状について確認された有害事象は、被験食品群にCRP値の上昇4名、中性脂肪の上昇1名、好中球・リンパ球の上昇1名の計6名、プラセボ群にCRP値の上昇2名、中性脂肪の上昇1名の3名であったが、すべての有害事象について、試験責任医師により試験食品との関連性はないと判断された。

III 考 察

主要評価項目である12週後のJOAスコアは、全被験者および健常者において、被験食品群がプラセボ群と比較して有意に改善した。このことから、膝関節に違和感や痛みがある軽度変形性膝関節症患者および健常者に対し、プロテオグリカン複合体80を摂取させることで、歩行能力・階段昇降能力・膝の曲げ伸ばしなどの膝関節機能が改善することが示唆された。さらに全被験者のみ、4週後でも被験食品群がプラセボ群と比較して、有意に改善を示したことから、プロテオグリカン複合体80は、より膝関節の健康状態が悪い者や違和感・痛みが強い者に対して効果的であると考えられる。またJOAは日常時の疼痛・歩行能力・階段昇降能力・関節可動域や腫脹について、医師が問診を行う医師立脚型の評価方法である。すなわち他の指標と比較し、客観性の高い膝関節の機能および健康状態の評価であること

から、整形外科の観点においてもプロテオグリカン複合体80の有効性が示された。

JOAは医師立脚型の評価方法である一方で、移動能力に重点を置いて評価した尺度であり、日常生活全般の変化は判定できないといわれている³⁶⁾。その点を補完するため、本試験では被験者の生活の質(quality of life, 以下QOL)の変化について、被験者立脚型のJKOM, KSS, VASアンケートを用いて評価した。一般的にKSSは人工関節置換術後の評価に使用されるが、一部は家事、趣味、運動などの日常活動に支障をきたしている健常者の膝関節機能やQOLの評価に外挿できると考えられる。

JKOMおよびKSSではすべての項目、VASアンケートでは8項目中5項目について、全被験者で被験食品群がプラセボ群と比較して有意に改善した。また健常者では有意でないものの同様の結果を示した。これらのことから、プロテオグリカン80の摂取は、膝関節機能に関連するQOLに対しても有効であることが示唆された。とくに全被験者については多項目で有意な効果が示されたことから、JOAスコアと同様、プロテオグリカン複合体80は、より膝関節の健康状態が悪い者や違和感・痛みが強い者に対して、効果的である可能性が考えられる。一方、健常者についてはKSSの「II現在の満足度」で被験食品群がプラセボ群と比較して有意に改善したことから、安静時および活動時においてプロテオグリカン複合体80が効果的である可能性が考えられる。QOLは心理的影響を受けることから、痛みを伴いやすい活動的な場面では、より膝関節に違和感・痛みを感じている者のほうが効果を実感しやすいと推察される。以上のことから、プロテオグリカン複合体80の摂取により、膝関節の痛み、こわばり、違和感などで支障をきたしていた日常生活の活動が改善され、QOLが向上したことが示唆された。

プロテオグリカン複合体80の膝関節に対する改善効果は、構成成分であるプロテオグリカンとII型コラーゲンの両方の作用が考えられるが、その作用機序としては両成分とも腸管免疫細胞との相互作用を介した抗炎症作用と考えられる。

II型コラーゲン中のある特定のペプチド配列は、エピトープとして抗原提示細胞に認識され免疫寛容に関与していると考えられており、Th17細胞と制

御性T細胞のバランスを調節することで過剰な免疫反応を抑制することが報告されている^{37,38)}。その作用機序から自己免疫疾患の一つである関節リウマチに対する有効性が先行して注目されたが^{25,26)}、その後、変形性膝関節症^{27,28)}や運動時の膝の違和感に対しても改善効果が確認されていることから³⁰⁾、II型コラーゲンは自己免疫疾患に限らず、関節における多くの炎症反応を抑制する可能性が考えられる。

本試験で用いたプロテオグリカン複合体80を構成しているII型コラーゲン中に免疫寛容を誘導するエピトープ配列が保存されているのかは、今後の研究報告が待たれる。

プロテオグリカンは高分子量の複合糖質の一種であるため、そのままの状態では腸管から吸収され、血中に移行する可能性は低いことから、II型コラーゲンと同様に腸管関連リンパ組織に取り込まれ、免疫調節作用を介して抗炎症作用を発揮していると考えられる。プロテオグリカンにおいても、制御性T細胞の誘導を亢進し、過剰な免疫応答を抑制することが知られており^{39,40)}、関節リウマチモデルの炎症部位におけるマクロファージや好中球の浸潤、破骨細胞の増加を抑制することが報告されている⁴¹⁾。膝に痛みのある者を対象とした臨床試験においては膝関節機能の改善や軟骨代謝の改善が報告されているが、例数が少ないオープン試験の結果であることからさらなる検討が必要と考えられる²²⁾。

したがって、本試験で確認された膝関節機能の改善は、プロテオグリカン複合体80中に含まれるII型コラーゲン、プロテオグリカンそれぞれが、または複合状態のものが腸管の免疫細胞と相互作用し、抗炎症作用を発揮した結果であると考えられる。

一方、サケ鼻軟骨由来プロテオグリカン複合体80を含む食品の安全性については、体重、BMI、バイタルサイン、血液検査で、各検査時点の試験食品群間の比較および、各群の摂取前との比較において有意な差が認められた項目が存在したが、これらについて、試験責任医師は、臨床的意義はなく安全性に問題はないと判断した。また、本試験期間中に重篤な有害事象の発現はなかった。CRP値の上昇、中性脂肪値の上昇などの有害事象が発現したが、試験責任医師は、試験食品との因果関係についてすべて関連性はないと判断した。さらに、サケ鼻軟骨粉末(プ

ロテオグリカンとして600mg/日)を用いた安全性評価試験⁴²⁾においても、安全性が示されている。以上のことから、プロテオグリカン複合体80摂取時の安全性において問題がないと考えられる。

本試験では、有効性評価・安全性評価において多項目を解析しているが多重性は考慮していない。安全性については長期摂取させた際の影響を今後検証する必要がある。本試験で評価方法として採用したJOAおよびJKOMは変形性膝関節症患者を、KSSは人工関節置換術後の患者を主要な対象としていることから、健常者に対する評価尺度としては乖離した設問も存在する。またVASアンケートも含め、これらの評価方法は被験者の主観的によるものが大きく、心理的影響もあることから個人内差・個人間差が大きい。以上のことから、今後はより多い例数に対して長期間の介入が必要と考えられ、膝関節機能悪化の低減作用の評価や、同時に客観的指標として軟骨合成・分解のバイオマーカー、X線検査による関節裂隙や骨棘、膝関節のアライメントなども評価していくことが課題である。

結 論

サケ鼻軟骨由来原料プロテオグリカン複合体80を含む食品の膝関節に対する有効性および安全性について、プラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験により評価した。その結果、被験食品摂取時の膝関節の機能が、プラセボ摂取時と比較して有意に改善し、その有効性は、KL分類0、Iの健常者においても確認された。また、本試験条件下における被験食品の安全性に問題はなかった。したがって、プロテオグリカン複合体80は膝関節の違和感や痛みなどの不調により、家事、趣味、運動などの日常活動に支障をきたしている者に対し、膝関節の健康維持・増進に有用かつ安全な原料であり、その摂取は健康寿命延伸に寄与するものと考えられる。

【利益相反】 本試験実施に関わるすべての費用は日本薬品(株)より提供されたが、試験は第三者機関により適切に実施された。

文 献

- 1) 首相官邸ホームページ. 新健康フロンティア戦略会議. 平成 19 年 12 月 28 日「新健康フロンティア戦略アクションプラン」.
http://www.kantei.go.jp/jp/singi/kenkou/plan.pdf (2016-12-28).
- 2) 平成 26 年グラフで見る世帯の状況: 国民生活基礎調査 (平成 25 年) の結果から. 厚生労働省大臣官房統計情報部; 2014. p.50.
http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/dl/20-21-h25.pdf
- 3) 厚生労働省ホームページ. 介護予防の推進に向けた運動器疾患対策に関する検討会. 平成 20 年 7 月「介護予防の推進に向けた運動器疾患対策について」報告書.
http://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/07/dl/s0701-5a.pdf (2016-12-28).
- 4) Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16: 494-502.
- 5) 厚生労働省ホームページ. 「健康づくりのための身体活動基準 2013」及び「健康づくりのための身体活動指針 (アクティブガイド)」について. 平成 25 年 3 月「運動基準・運動指針の改定に関する検討会 報告書」.
http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000002xp1e-att/2r9852000002xpqt.pdf (2016-12-28).
- 6) Henrotin Y, Marty M, Mobasheri A. What is the current status of chondroitin sulfate and glucosamine for the treatment of knee osteoarthritis? *Maturitas* 2014; 78: 184-7.
- 7) Cutolo M, Berenbaum F, Hochberg M, Punzi L, Reginster JY. Commentary on recent therapeutic guidelines for osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2015; 44: 611-7.
- 8) Roman-Blas JA, Mediero A, Tardío L, Portal-Núñez S, Gratal P, Herrero-Beaumont G, et al. The combined therapy with chondroitin sulfate plus glucosamine sulfate or chondroitin sulfate plus glucosamine hydrochloride does not improve joint damage in an experimental model of knee osteoarthritis in rabbits. *Eur J Pharmacol* 2017; 794: 8-14.
- 9) Reginster JY, Cooper C, Hochberg M, Pelletier JP, Rizzoli R, Kanis J, et al. Comments on the discordant recommendations for the use of symptomatic slow-acting drugs in knee osteoarthritis. *Curr Med Res Opin* 2015; 31: 1041-5.
- 10) Toida T, Sakai S, Akiyama H, Linhardt RJ. Immunological activity of chondroitin sulfate. *Adv Pharmacol*; 2006: 53: 403-15.
- 11) Bottegoni C, Muzzarelli RA, Giovannini F, Busilacchi A, Gigante A. Oral chondroprotection with nutraceuticals made of chondroitin sulphate plus glucosamine sulphate in osteoarthritis. *Carbohydr Polym* 2014; 30: 109: 126-38.
- 12) Andrés RM, Payá M, Montesinos MC, Ubeda A, Navalón P, Herrero M, et al. Potential antipsoriatic effect of chondroitin sulfate through inhibition of NF- κ B and STAT3 in human keratinocytes. *Pharmacol Res* 2013; 70: 20-6.
- 13) Calamia V, Ruiz-Romero C, Rocha B, Fernández-Puente P, Mateos J, Montell E, et al. Pharmacoproteomic study of the effects of chondroitin and glucosamine sulfate on human articular chondrocytes. *Arthritis Res Ther* 2010; 12 (4): R138. doi: 10.1186/ar3077.
- 14) Sharma L. Osteoarthritis year in review 2015: clinical. *Osteoarthritis Cartilage* 2016; 24 (1): 36-48.
- 15) Grover AK, Samson SE. Benefits of antioxidant supplements for knee osteoarthritis: rationale and reality. *Nutr J* 2016; 5: 15: 1. doi: 10.1186/s12937-015-0115-z.
- 16) Zeng C, Wei J, Lei GH. Is chondroitin sulfate plus glucosamine superior to placebo in the treatment of knee osteoarthritis? *Ann Rheum Dis* 2015; 74: e37. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-207476.
- 17) Iozzo RV, Murdoch AD. Proteoglycans of the extracellular environment: clues from the gene and protein side offer novel perspectives in molecular diversity and function. *FASEB J* 1996; 10: 598-614.
- 18) Yanagishita M, Hascall VC. Cell-surface heparan sulfate proteoglycans. *J Biol Chem* 1992; 267: 9451-4.
- 19) Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev* 2016; 1: 97: 4-27.
- 20) 国立大学法人弘前大学. 軟骨型プロテオグリカンの精製方法. 特許第 3731150 号. 2005-10-21.
- 21) 榎谷晃明, 高橋達治, 坪井誠. サケ鼻軟骨由来プロテオグリカンの軟骨前駆細胞株 ATDC5 における細胞増殖効果及び, 軟骨分化に与える影響. 第 28 回日本骨代謝学会学術集会; 2010. p.267.
- 22) 高橋達治, 榎谷晃明, 朝長昭仁, 渡邊景太, 山本哲郎, 坪井誠ほか. サケ鼻軟骨由来プロテオグリカンのヒト経口摂取による膝関節痛の改善と軟骨前駆細胞株 ATDC5 に与える影響. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会; 2011. p.250.
- 23) 松原順子, 津田友香, 藤田幸子, 高橋達治, 児島薫, アルナシリ・イダマルゴダほか. サケ鼻軟骨由来プロテオグリカンの作用. 第 3 回食品薬学シンポジウム; 2009. p.228-30.
- 24) 高橋達治, 松原順子, 若松香苗, 田中清隆, 榎谷晃明, 藤田幸子ほか. サケ鼻軟骨由来プロテオグリカンの皮膚培養細胞およびヒト経口摂取による皮膚への影響. 第 57 回日本食品科学工学会大会; 2010. p.147.
- 25) Nagler-Anderson C, Bober LA, Robinson ME, Siskind GW, Thorbecke GJ. Suppression of type II collagen-induced arthritis by intragastric administration of soluble type II collagen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83 (19): 7443-6.
- 26) Trentham DE, Dynesius-Trentham RA, Orav EJ, Combitchi D, Lorenzo C, Sewell KL, et al. Effects of oral admin-

- istration of type II collagen on rheumatoid arthritis. *Science* 1993; 261 (5129): 1727-30.
- 27) Bagchi D, Misner B, Bagchi M, Kothari SC, Downs BW, Fafard RD. Effects of orally administered undenatured type II collagen against arthritic inflammatory diseases: a mechanistic exploration. *Int J Clin Pharmacol Res* 2002; 22: 101-10.
- 28) Crowley DC, Lau FC, Sharma P, Evans M, Guthrie N, Bagchi M. Safety and efficacy of undenatured type II collagen in the treatment of osteoarthritis of the knee: a clinical trial. *Int J Med Sci* 2009; 6 (6): 312-21.
- 29) Lugo JP, Saiyed ZM, Lau FC, Molina JP, Pakdaman MN, Shamie AN, et al. Undenatured type II collagen (UC-II®) for joint support: a randomized, double-blind, placebo-controlled study in healthy volunteers. *J Int Soc Sports Nutr* 2013; 10 (1): 48. doi: 10.1186/1550-2783-10-48.
- 30) Yoshinari O, Moriyama H, Shiojima Y, Miyawaki H. Safety and efficacy of NEXT-II®, a novel water-soluble, undenatured type II collagen in healthy human subjects suffering from occasional knee joint pain. *Functional Foods in Health and Disease* 2015; 5 (7): 251-64.
- 31) 日本薬品(株). プロテオグリカンの製造方法. 特許第 6006045 号. 2016-9-16.
- 32) 腰野富久. OA 膝治療成績判定基準. 日整会誌; 1988: 62: 900-2.
- 33) 赤居正美. 疾患特異的・患者立脚型変形性膝関節症患者機能評価尺度; JKOM (Japanese Knee Osteoarthritis Measure). 運動療物理療; 2005: 16 (1): 55-62.
- 34) Scuderi GR, Bourne RB, Noble PC, Benjamin JB, Lonnner JH, Scott WN. The New Knee Society Knee Scoring System. *Clin Orthop Relat Res* 2012; 470: 3-19.
- 35) Wewers ME, Lowe NK. A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Res Nurs Health* 1990; 13: 227-36.
- 36) 古賀良生. 変形性膝関節症: 病態と保存療法. 南江堂; 2008. p.178.
- 37) Xi C, Tan L, Sun Y, Liang F, Liu N, Xue H, et al. A novel recombinant peptide containing only two T-cell tolerance epitopes of chicken type II collagen that suppresses collagen-induced arthritis. *Mol Immunol* 2009; 46 (4): 729-37.
- 38) Tong T, Zhao W, Wu YQ, Chang Y, Wang QT, Zhang LL, et al. Chicken type II collagen induced immune balance of main subtype of helper T cells in mesenteric lymph node lymphocytes in rats with collagen-induced arthritis. *Inflamm Res* 2010; 59 (5): 369-77.
- 39) Mitsui T, Sashinami H, Sato F, Kijima H, Ishiguro Y, Fukuda S, et al. Salmon cartilage proteoglycan suppresses mouse experimental colitis through induction of Foxp3+ regulatory T cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 402 (2): 209-15.
- 40) Sashinami H, Asano K, Yoshimura S, Mori F, Wakabayashi K, Nakane A. Salmon proteoglycan suppresses progression of mouse experimental autoimmune encephalomyelitis via regulation of Th17 and Foxp3 (+) regulatory T cells. *Life Sci* 2012; 91 (25-26): 1263-9.
- 41) Yoshimura S, Asano K, Nakane A. Attenuation of collagen-induced arthritis in mice by salmon proteoglycan. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 406453. doi: 10.1155/2014/406453.
- 42) 工藤重光, 伊藤聖子, 吉原秀一, 加藤陽治. プロテオグリカンを主成分とするサケ鼻軟骨粉末の安全性評価. 日食科工会誌 2011; 58: 542-7.

受理日 (2017-1-6), 採択日 (2017-2-2)

* * *