

機能性の科学的根拠に関する点検表

1. 製品概要

商品名	ひざサポートコラーゲン
機能性関与成分名	コラーゲンペプチド
表示しようとする機能性	本品にはコラーゲンペプチドが含まれるので、膝関節の曲げ伸ばしを助ける機能があります。膝関節が気になる方に適した食品です。

2. 科学的根拠

【臨床試験及び研究レビュー共通事項】

- (主観的な指標によってのみ評価可能な機能性を表示しようとする場合) 当該指標は日本人において妥当性が得られ、かつ、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ものである。
- (最終製品を用いた臨床試験又は研究レビューにおいて、実際に販売しようとする製品の試作品を用いて評価を行った場合) 両者の間に同一性が失われていないことについて、届出資料において考察されている。

最終製品を用いた臨床試験

(研究計画の事前登録)

- UMIN 臨床試験登録システムに事前登録している^{注1}。
- (海外で実施する臨床試験の場合であって UMIN 臨床試験登録システムに事前登録していないとき) WHO の臨床試験登録国際プラットフォームにリンクされているデータベースへの登録をしている。

(臨床試験の実施方法)

- 「特定保健用食品の表示許可等について」(平成 26 年 10 月 30 日消食表第 259 号) 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」に示された試験方法に準拠している。
- 科学的合理性が担保された別の試験方法を用いている。
→別紙様式 (V) - 2 を添付

(臨床試験の結果)

- 国際的にコンセンサスの得られた指針に準拠した形式で査読付き論文として公表されている論文を添付している^{注1}。
- (英語以外の外国語で書かれた論文の場合) 論文全体を誤りのない日本語に適切に翻訳した資料を添付している。
- 研究計画について事前に倫理審査委員会の承認を受けたこと、並びに当該倫理審査委員会の名称について論文中に記載されている。
- (論文中に倫理審査委員会について記載されていない場合) 別紙様式 (V) - 3 で補足説明している。

掲載雑誌は、著者等との間に利益相反による問題が否定できる。

最終製品に関する研究レビュー

機能性関与成分に関する研究レビュー

- （サプリメント形状の加工食品の場合）摂取量を踏まえた臨床試験で肯定的な結果が得られている。
- （その他加工食品及び生鮮食品の場合）摂取量を踏まえた臨床試験又は観察研究で肯定的な結果が得られている。
- 海外の文献データベースを用いた英語論文の検索のみではなく、国内の文献データベースを用いた日本語論文の検索も行っている。
- （機能性関与成分に関する研究レビューの場合）当該研究レビューに係る成分と最終成分の同等性について考察されている。
- （特定保健用食品の試験方法として記載された範囲内で軽症者等が含まれたデータを使用している場合）疾病に罹患していない者のデータのみを対象とした研究レビューも併せて実施し、その結果を、研究レビュー報告書及び別紙様式（I）に報告している。

表示しようとする機能性の科学的根拠として、査読付き論文として公表されている。

- 当該論文を添付している。
- （英語以外の外国語で書かれた論文の場合）論文全体を誤りのない日本語に適切に翻訳した資料を添付している。

- PRISMA 声明（2009年）に準拠した形式で記載されている。
- （PRISMA 声明（2009年）に照らして十分に記載できていない事項がある場合）別紙様式（V）-3で補足説明している。
- （検索に用いた全ての検索式が文献データベースごとに整理された形で当該論文に記載されていない場合）別紙様式（V）-5その他の適切な様式を用いて、全ての検索式を記載している。
- （研究登録データベースを用いて検索した未報告の研究情報についてその記載が当該論文にない場合、任意の取組として）別紙様式（V）-9その他の適切な様式を用いて記載している。
- 食品表示基準の施行前に査読付き論文として公表されている研究レビュー論文を用いているため、上記の補足説明を省略している。

- 各論文の質評価が記載されている^{注2}。
- エビデンス総体の質評価が記載されている^{注2}。
- 研究レビューの結果と表示しようとする機能性の関連性に関する評価が記載されている^{注2}。

表示しようとする機能性の科学的根拠として、査読付き論文として公表されていない。

研究レビューの方法や結果等について、

別紙様式（V）-1

- 別紙様式（V）-4を添付している。
- データベース検索結果が記載されている^{注3}。
- 文献検索フローチャートが記載されている^{注3}。
- 文献検索リストが記載されている^{注3}。
- 任意の取組として、未報告研究リストが記載されている^{注3}。
- 参考文献リストが記載されている^{注3}。
- 各論文の質評価が記載されている^{注3}。
- エビデンス総体の質評価が記載されている^{注3}。
- 全体サマリーが記載されている^{注3}。

- 各論文の質評価が記載されている^{注3}。
- エビデンス総体の質評価が記載されている^{注3}。
- 研究レビューの結果と表示しようとする機能性の関連性に関する評価が記載されている^{注3}。

注1 食品表示基準の施行後1年を超えない日までに開始（参加者1例目の登録）された研究については、必須としない。

注2 各種別紙様式又はその他の適切な様式を用いて記載（添付の研究レビュー論文において、これらの様式と同等程度に詳しく整理されている場合は、記載を省略することができる。）

注3 各種別紙様式又はその他の適切な様式を用いて記載（別紙様式（V）-4において、これらの様式と同等程度に詳しく整理されている場合は、記載を省略することができる。）

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	ひざサポートコラーゲン
機能性関与成分名	コラーゲンペプチド
表示しようとする機能性	本品にはコラーゲンペプチドが含まれるので、膝関節の曲げ伸ばしを助ける機能があります。膝関節が気になる方に適した食品です。

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上述の表示しようとする機能性がないため、特定保健用食品とは異なる手法を用いたが、下記の理由により本試験は科学的合理性が担保されていると判断した。

1) 対象者

本試験は膝関節に対する機能性を評価することを目的としているため、膝関節が気になる方を対象に試験を実施した。膝関節については特定保健用食品には存在しないカテゴリーであるため、機能性表示食品のガイドライン及び特定保健用食品で対象とする「疾病に罹患していない者」を選抜するために、試験スクリーニング時に専門医の以下のような判断をもって対象者を選抜した。

*本試験対象者：膝関節に痛みはあるが整形外科等で治療を受けておらずかつ、その膝関節の状態も Kellgren-Lawrence (K-L) 分類でグレードが I～II の治療が必要ないと試験医師（専門医）が判断した者

そのため、本ガイドラインが対象とする「疾病に罹患していない者」に相当すると判断した。

2) 評価項目

特定保健用食品における生活習慣病のようなバイオマーカーによる診断基準が膝関節には存在しないため、本試験においては客観的な評価項目として軟骨代謝マーカー、炎症関連マーカーおよび骨代謝マーカーを血液もしくは尿を以て測定した。また試験医師による所見も行い、膝関節機能について日本整形外科学会膝 OA 治療成績判定基準（JOA）スコアを用いて評価し、被験者には日本整形外科学会が制定した日本版変形性膝関節症患者機能評価表（JKOM）スコアを用いて膝関節機能について主観的評価を行った。

これらの評価項目に診断基準は存在しないが、日本整形外科学会で制定されたものであるため、プラセボ群と比較することで科学的に評価可能と判断した。

以上

コラーゲンペプチド含有食品の膝関節痛と 各種バイオマーカーに対する効果

長岡 功¹⁾, 鈴木朝日²⁾, 黒川美保子²⁾, 朝長昭仁³⁾
深川光彦⁴⁾, 渡邊景太⁵⁾, 山本哲郎⁶⁾

1) 順天堂大学大学院医学研究科生化学・生体防御学 2) キューサイ株式会社 3) 田奈整形外科・外科
4) 新横浜篠原口整形外科・皮膚科 5) 北新横浜整形外科・外科 6) 株式会社 TTC

Effect of a Dietary Supplement Containing Collagen Peptide on Symptoms and Biomarkers in Individuals with Knee Pain

Isao NAGAOKA¹⁾, Asahi SUZUKI²⁾, Mihoko KUROKAWA²⁾, Akihito TOMONAGA³⁾
Mitsuhiko FUKAGAWA⁴⁾, Keita WATANABE⁵⁾, Tetsuro YAMAMOTO⁶⁾

1) Department of Host Defense and Biochemical Research, Juntendo University, Graduate School of Medicine
2) Q' SAI Co., Ltd. 3) Tana Orthopaedic Surgery
4) Shinyokohama Shinoharaguchi Orthopaedic Surgery/Dermatology
5) Kitashinyokohama Orthopaedic Surgery 6) TTC Co., Ltd.

グルコサミン研究 9

2013年7月発行 別刷

Reprinted from

Glucosamine Research 9

コラーゲンペプチド含有食品の膝関節痛と各種バイオマーカーに対する効果

Effect of a Dietary Supplement Containing Collagen Peptide on Symptoms and Biomarkers in Individuals with Knee Pain

長岡 功¹⁾*, 鈴木朝日²⁾, 黒川美保子²⁾, 朝長昭仁³⁾

深川光彦⁴⁾, 渡邊景太⁵⁾, 山本哲郎⁶⁾

Isao NAGAOKA¹⁾, Asahi SUZUKI²⁾, Mihoko KUROKAWA²⁾, Akihito TOMONAGA³⁾

Mitsuhiko FUKAGAWA⁴⁾, Keita WATANABE⁵⁾, Tetsuro YAMAMOTO⁶⁾

要旨

目的: コラーゲンペプチドを含有する食品を被験食品として使用し, 膝関節痛を有する被験者に対する症状改善効果 (他覚所見, 自覚症状) ならびに軟骨代謝マーカー, および炎症マーカーに対する効果を検証した。

方法: 膝関節痛を有する 40 ~ 78 歳までの男女 29 名を対象に, 無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験を実施した。被験食品に含まれる 1 日当たりの成分含有量は, コラーゲンペプチド 4.510mg であった。被験者 15 名に被験食品を, 14 名にプラセボを, 各々 16 週間摂取させた。膝症状改善効果の評価は, 「日本整形外科学会膝 OA 治療成績判定基準 (JOA)」 (他覚所見), 「日本版変形性膝関節症患者機能評価尺度 (JKOM)」 (自覚症状) および痛みの VAS (visual analogue scale) (自覚症状) に基づいて行い, 軟骨代謝マーカーの評価には, II 型コラーゲン (CII) 分解マーカー (C2C, CTX-II) および CII 合成マーカー (CPII) の比 (C2C/CPII, CTX-II/CPII) を用いた。また, 炎症マーカーとして, MMP-3, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , IL-17A およびヒアルロン酸 (滑膜炎マーカー) を用いた。

結果: JOA の「屈曲角度」のスコアが, 被験食品群の摂取 8 週目以降において有意に増加 (改善) し, さらに安静時の痛みを示す VAS において, 被験食品群はプラセボ群と比べて摂取 8 週目に有意な低下 (改善) を示した。また, 被験食品群の摂取 16 週目において, ヒアルロン酸と IL-17 の有意な低下 (改善) が認められた。なお, 安全性の評価からは被験食品に関連する副次作用の出現や検査値の異常変動はみられなかった。

考察: 被験食品は膝関節痛を有する男女に対して炎症を抑制することによって, 膝関節痛を緩和し, 膝の屈曲角度を改善する可能性が示唆された。さらに, 安全に摂取できる食品であることが確認された。

グルコサミン研究 9: 40-47, 2013

keywords

コラーゲンペプチド, 変形性膝関節症, 軟骨代謝マーカー, サイトカイン, 滑膜炎

1) 順天堂大学大学院医学研究科生化学・生体防御学 Department of Host Defense and Biochemical Research, Juntendo University, Graduate School of Medicine 〒113-8421 東京都文京区本郷 2-1-1 * nagaokai@juntendo.ac.jp 2) キューサイ株式会社 Q'SAI Co., Ltd. 3) 田奈整形外科・外科 Tana Orthopaedic Surgery 4) 新横浜篠原口整形外科・皮膚科 Shinyokohama Shinoharaguchi Orthopaedic Surgery/Dermatology 5) 北新横浜整形外科・外科 Kitashinyokohama Orthopaedic Surgery 6) 株式会社 TTC TTC Co., Ltd.

はじめに

現在、わが国では社会の高齢化に伴い、加齢変化による変形性関節症（OA）の患者は増加の一途を辿っている。なかでも膝に起こるOA、すなわち変形性膝関節症（膝OA）が特に多く、患者数は2,500万人にもものぼると推定されている¹⁾。膝OAは、膝への荷重が他の関節と比較して大きいため発症頻度が高く、症状の悪化に伴って疼痛の増加、歩行障害、日常生活動作の制限が生じ、高齢者のQOLを著しく悪化させる主要因の一つになっている。

コラーゲンはヒトの全タンパク質のほぼ30%を占め、皮膚、骨、軟骨、腱をはじめ、各種臓器の結合組織を構成している。コラーゲンはその構造的特徴としてグリシン-X-Yの繰り返し配列をもち、ポリペプチド鎖3本が三重らせん構造をもつものと定義されている²⁾。関節軟骨において、軟骨基質の70～75%は水分で占められ、固形成分としては約50%がコラーゲン（大部分はⅡ型コラーゲン）、残りは主としてプロテオグリカンである。いずれも関節軟骨に高い潤滑性と粘弾性を与え、物理的衝撃を吸収するクッションの役目を果たす。

昭和初期と比較して現代は食事から摂取するコラーゲン量が減少していると考察されており、食事内容が豊富な現代ですらコラーゲンは摂取しにくい素材の一つであると考えられる³⁾。そこで近年、ゼラチンをタンパク分解酵素で部分的に分解したコラーゲンペプチドが健康食品を中心に広く利用されるようになり、美肌効果や関節痛改善を有する素材として販売されている。また、ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸も関節痛を改善させる健康食品素材として期待されている。

今までに、コラーゲンの経口摂取による臨床的有効性が検討され、膝OAの被験者に1日当たり10gのコラーゲンペプチドを6カ月間摂取させた二重盲検並行群間比較試験において、膝関節の疼痛に改善効果が認められている⁴⁾。しかし、その一方でコラーゲンの摂取による膝関節痛の改善がみられなかったとする報告もあり、その有効性について結論は出ていない。

そこで本研究は、膝関節痛を有する男女を対象に、コラーゲンペプチドを主成分とし（1日量としてコラーゲンを4,510mg含有）、ヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸を含む被験食品あるいはプラセボ食品のいずれかを16週間連続で摂取させ、膝関節痛の自覚症状の改善、骨・軟骨マーカーおよび炎症マーカーの改善効果、ならびに安全性を検討することを目的とした。

I. 方法

1 試験概要

本試験は、「ヘルシンキ宣言（2008年10月改訂）」の精神に則り、「疫学研究に関する倫理指針（2008年告示）」を準拠し、試験実施計画書に従って実施した。また、倫理審査委員会である田奈整形外科・外科倫理審査委員会の審査を受け（2012年1月12日）、その承認を得た後に実施した。

試験デザインとしては無作為化二重盲検並行群間比較試験とした。今回の研究に参加した被験者は、40～78歳の自立した日常生活をおくることができる男女であり、自覚症状で一側または両側に膝関節痛が認められ、どちらか一方の膝の痛みがVAS（visual analogue scale）で20mm以上、Kellgren-Lawrence（K-L）分類⁵⁾でグレードがⅠ～Ⅱの者を対象とした。被験者を、被験食品を摂取させた群（15名）と、プラセボ食品を摂取させた群（14名）に無作為に割りつけたが、両群の間で、年齢、性別、身長、体重、BMI、血圧、日本版変形性膝関節症患者機能評価表（JKOM）スコア、日本整形外科学会膝OA治療成績判定基準（JOA）スコア、VAS、K-L分類におけるグレード分布などにおいて有意差はなかった（表1）。

被験食品として、コラーゲンペプチド（ゼラチン分解物：平均分子量3,000～5,000）を主に含む食品約5gを16週間（112日間）毎日摂取させた。被験食品には、豚皮由来コラーゲンペプチド4,510mgのほかに、豚軟骨由来コンドロイチン硫酸（40mg）、微生物発酵法によるヒアルロン酸（15mg）が含まれていた（表2）。一方、プラセボ食品は関与成分の代用としてマルトデキストリン（デンプン部分加水分解物）を含んでおり、被験食品と同様に16週間毎日摂取させた（いずれの食品もキューサイ社提供）。被験食品、プラセボ食品ともに1日1回1袋（約5g）を十分な量の水またはぬるま湯に溶かして摂取させた。摂取する時刻は規定しなかったが、摂取時刻と量を日誌に記録するよう指導した。

2 他覚所見および自覚症状に基づく有効性の評価

他覚所見は日本整形外科学会が制定したJOAスコアを用いて評価した。また、自覚症状は日本整形外科学会が制定したJKOMスコア、および膝関節の痛みについてはVASを用いて評価した。すなわち、JOA

表 1 被験者背景

	被験食品群 (n = 15)	プラセボ群 (n = 14)
年齢 (歳)	59.1 ± 19.0	56.6 ± 9.1
性別比 (男:女)	5:10	4:10
身長 (cm)	159.1 ± 9.3	160.0 ± 7.4
体重 (kg)	58.9 ± 10.9	57.3 ± 11.2
BMI* (kg/m ²)	23.3 ± 3.8	22.3 ± 3.6
収縮期血圧 (mmHg)	121.9 ± 14.8	126.6 ± 25.5
拡張期血圧 (mmHg)	79.4 ± 5.9	75.5 ± 12.8
脈拍 (拍/分)	69.9 ± 8.9	63.9 ± 9.5
JKOM 合計スコア (点)	50.1 ± 10.0	52.3 ± 9.7
JOA 合計スコア (点)	85.0 ± 8.5	86.1 ± 4.5
膝関節痛の VAS 評価 (mm)		
安静時	21.8 ± 20.1	12.8 ± 12.6
歩行時	36.4 ± 20.0	35.7 ± 22.9
昇降時	52.0 ± 16.6	50.3 ± 22.2
Kellgren-Lawrence 分類 グレード 0: I: II (人)	0:7:8	0:4:10

表 2 試験食品の組成 (1日摂取量)

	被験食品 (5g)	プラセボ群 (n = 14)
コラーゲンペプチド	4,510mg	0mg
コンドロイチン硫酸	40mg	0mg
ヒアルロン酸	15mg	0mg
マルトデキストリン	0mg	4,800mg
エネルギー	19kcal	19kcal
タンパク質	4.7g	0g
脂質	0g	0g
炭水化物	0g	4.8g
ナトリウム	4.7mg	0.1mg

スコアは「疼痛・歩行能」「疼痛・階段昇降能」「屈曲角度および強直・高度拘縮」および「腫脹」の100点満点で、JKOMスコアは「I 膝の痛みの程度」「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」、および「V 健康状態について」の125点満点で、VASは膝関節の「安静時」「歩行時」「階段昇降時」の左右各膝のそれぞれの痛みの程度を、100mmスケールのVAS法により被験者に記入させた。各評価項目の改善は、JOAスコアは増加を、一方、JKOMおよびVASは減少を指標とした。なお、JOAおよびVASは各被験者の摂取開始時の、痛みの強い一方の膝関節を評価に用いた。

3 | 各種マーカーに基づく評価方法

軟骨II型コラーゲンの代謝マーカーであるII型コラーゲン分解ネオエピトープ (C2C)、II型コラーゲ

ンC末端プロペプチド (CPII)、II型コラーゲンC末端テロペプチド (CTX-II)、骨吸収マーカーのコラーゲンN末端テロペプチド (NTx) および滑膜炎マーカーのヒアルロン酸を用いて評価した⁶⁾。C2C (血清) の測定にはCollagen Type II Cleavage ELISA (IBEX Pharmaceuticals社)を、CPII (血清) の測定にはProcollagen II C-propeptide ELISA (IBEX Pharmaceuticals社)を、ヒアルロン酸 (血清) の測定にはエルピアエース HA (三菱化学メディエンス社)を、CTX-II (尿) の測定にはUrine CartiLaPs EIA (Immunodiagnostic Systems社)を、NTx (尿) の測定にはオステオマーク (インバネス・メディカル・ジャパン社)をそれぞれ用いた。なお、CTX-IIとNTxは早朝2番尿を用いて測定し、尿クレアチニン (Cr) 値で補正して解析した。そして、II型コラーゲン代謝を評価するためにII型コラーゲンの分解/合成比 (C2C/CPII比およびCTX-II/CPII比)を指標と

した。その他の関節炎症マーカーとして血清マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP)-3 はパナクリア MMP-3「ラテックス」(第一ファインケミカル社)を用いて、また、インターロイキン (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10, 腫瘍壊死因子 (TNF)- α , インターフェロン (IFN)- γ , IL-17A などの血清サイトカインは BD Cytometric Beads Array (CBA) Human TH1/TH2/TH17 Cytokine Kit (BD Biosciences 社)を用いて測定した。

16 週間の摂取期間中、0 (摂取前)、4、8、12、16 週目の検査日に JOA, JKOM, 理学的検査, 自覚症状 (VAS) の記入を、0、16 週目の検査日に各種マーカーの検体採取を、0、16 週目の検査日に安全性確認のための臨床検査を、それぞれ実施した (図 1)。

4 | 安全性の評価

試験食品の摂取期間中に被験者に何らかの好ましくない自覚症状または他覚所見がみられた場合には、そのすべてを有害事象とみなした。また、個々の被験者の臨床検査値異常変動について、検査実施機関が定める検査値の基準範囲を参考に判定を行った。

5 | 総計解析

すべてのデータは、平均値±標準偏差で示した。「I 膝の痛みの程度 (VAS)」以外の JKOM スコア, JOA スコア, および IL-17A については、摂取後各時点の 0 週目からの変化量を被験食品群とプラセボ群の間で Mann-Whitney の U 検定を用いて、さらに、被験食品群とプラセボ群における、0 週目からの変化量を、Wilcoxon 符号つき順位和検定を用いて解析した。それ以外のデータについては、摂取後の各時点における、

0 週目からの変化量を被験食品群とプラセボ群の間で 2 標本 *t* 検定を用いて、さらに、被験食品群とプラセボ群における、0 週目からの変化量を 1 標本 *t* 検定を用いて解析し、有意水準は 5% とした。

II. 結果

1 | JKOM スコアおよび JOA スコアに及ぼす影響

JKOM スコアの「I 膝の痛みの程度 (VAS)」 「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」 および「JKOM スコア」 (合計) について、0 週目からの変化量の推移を解析したが、被験食品群とプラセボ群の間で有意な差は認められなかった (データ未記載)。

JOA スコアの 0 週目からの変化量の推移を解析した。その結果、「疼痛・歩行能」 および「疼痛・階段昇降能」において、いずれの検査時点においても被験食品群とプラセボ群の間で有意な差は認められなかった (図 2A, B)。また、データは示さないが、「腫脹」 および「合計スコア」についても、いずれの検査時点においても被験食品群とプラセボ群の間で有意な差は認められなかった。

一方、「屈曲角度および強直・高度拘縮」では、被験食品群のほうがプラセボ群よりも改善傾向を示した (図 2C)。

2 | VAS に及ぼす影響

膝関節の痛み (「安静時」 「歩行時」 「階段昇降時」) を VAS で評価し、0 週目からの変化量の推移を解析した。その結果、「安静時」において被験食品群のほうがプラセボ群よりも改善傾向を示し、特に摂取 8 週

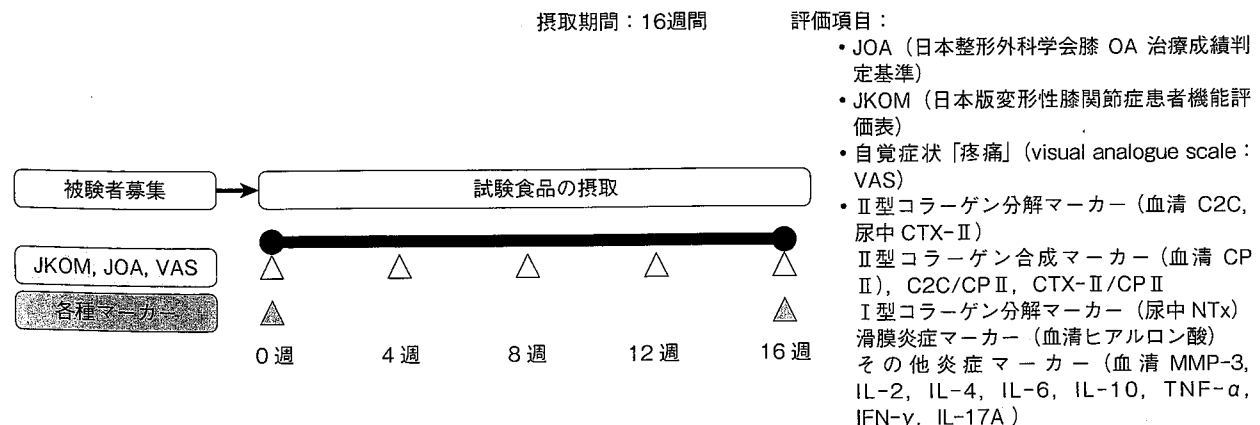
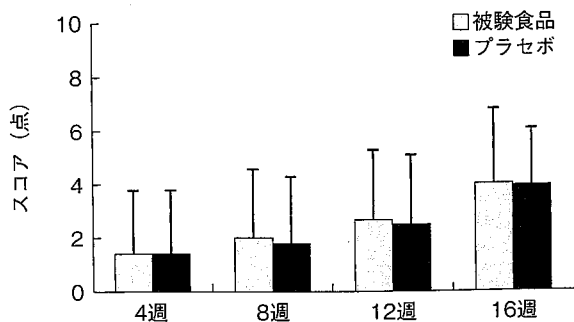
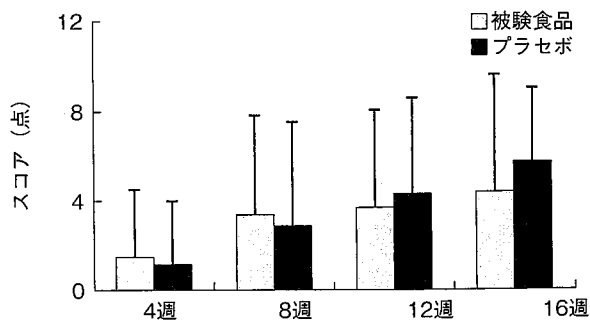


図 1 試験概要

A 疼痛・歩行能



B 疼痛・階段昇降能



C 屈曲角度および強直・高度拘縮

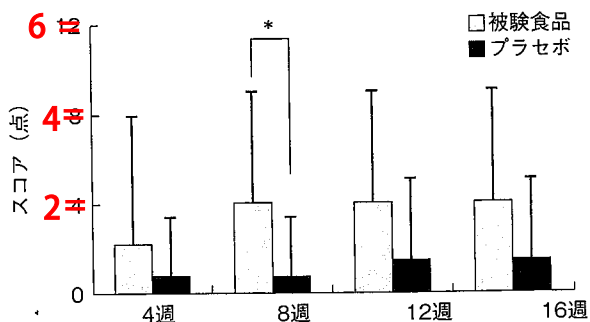


図2 JOAスコアに及ぼす被験食品とプラセボ食品の効果

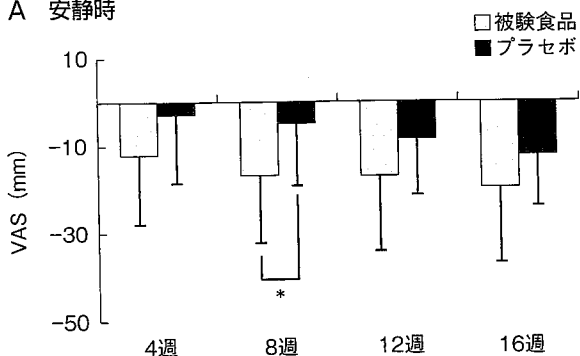
数値は平均値±標準偏差で示した。摂取後の各時点における、0週目からの変化量を被験食品群とプラセボ群の間でMann-WhitneyのU検定を用いて比較した。* $p < 0.1$

目に有意に低下(改善)した(図3A)。しかし、「歩行時」および「階段昇降時」においては、いずれの検査時点においても被験食品群とプラセボ群の間で有意な差は認められなかった(図3B, C)。

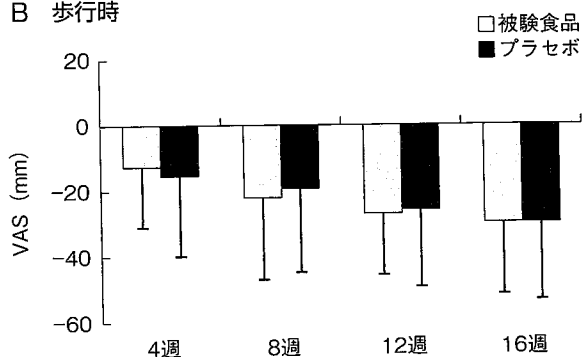
3 軟骨・骨代謝マーカーに及ぼす影響

軟骨代謝に及ぼす効果を評価するために、軟骨II型コラーゲンの分解マーカーC2C, CTX-IIと合成マーカーCPIIの比を測定し、被験食品群とプラセボ群に

A 安静時



B 歩行時



C 昇降時

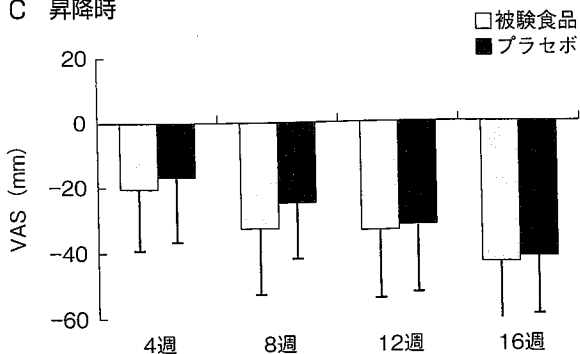


図3 VASスコアに及ぼす被験食品とプラセボ食品の効果

数値は平均値±標準偏差で示した。摂取後の各時点における、0週目からの変化量を被験食品群とプラセボ群の間で2標本t検定を用いて比較した。* $p < 0.05$

おける0週目からの変化量を解析した。その結果、C2C/CPII比、CTX-II/CPII比ともに食品摂取による差は被験食品群とプラセボ群の間で認められなかった(図4A, B)。

また、骨代謝に及ぼす効果を評価するために、I型コラーゲンの分解マーカーNTxを測定したが、食品摂取による差は被験食品群とプラセボ群の間で認められなかった(図4C)。

4 | 炎症マーカーに及ぼす影響

さらに、食品摂取の各種炎症マーカーに及ぼす影響を検討するために、ヒアルロン酸、MMP-3のほかに、IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , IL-17Aなどのサイトカインを測定し、被験食品群と

プラセボ群における0週目からの変化量を解析した。その結果、滑膜炎マーカーのヒアルロン酸と炎症性サイトカインであるIL-17Aが、被験食品群において0週目に比べて有意に低下(改善)することがわかった(図5A, B)。しかし、MMP-3については食品摂取による差が被験食品群とプラセボ群の間で認められなかった(データ未掲載)。また、IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ については、半分以上の被験者において測定値が検出限界値以下であったため解析を行わなかった。

5 | 安全性の評価

16週間の試験食品摂取期間中に何らかの有害事象の発現頻度は、被験食品群は44%、プラセボ群は

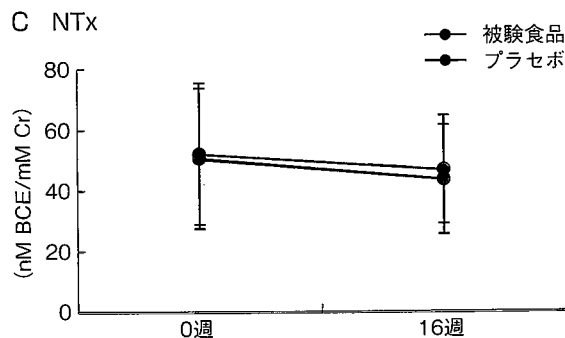
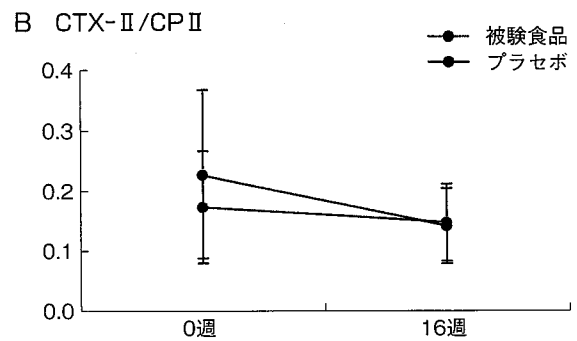
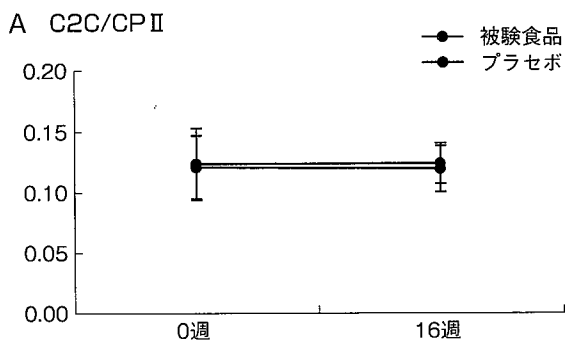


図4 軟骨・骨代謝マーカーに及ぼす被験食品とプラセボ食品の効果

数値は平均値±標準偏差で示した。NTxは尿クレアチニン(Cr)値で補正してnmol BCE (bone collagen equivalent) /mmol Crとして表した。被験食品群とプラセボ群における、0週目からの変化量を1標本t検定を用いて比較した。

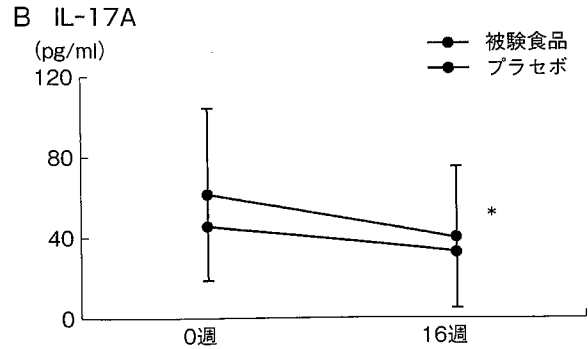
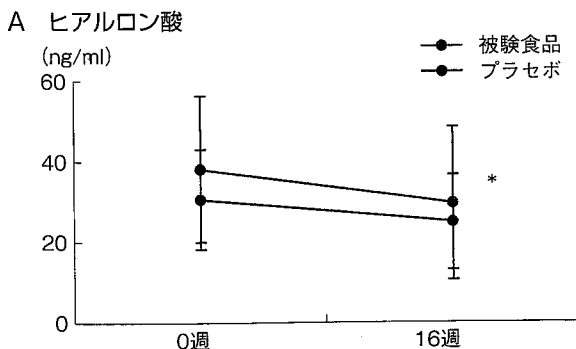


図5 炎症マーカーに及ぼす被験食品とプラセボ食品の効果

数値は平均値±標準偏差で示した。ヒアルロン酸は被験食品群とプラセボ群における、0週目からの変化量を1標本t検定を用いて、IL-17AはWilcoxon符号付順位和検定を用いて比較した。* $p < 0.05$

38%であった。有害事象はいずれも自覚症状であり、すべて「軽度」と判定された。そして、すべての有害事象は試験食品との関連性がないと判定された。

また、16週間の試験食品摂取期間中にみられた臨床検査値の基準値範囲外への変動の発現頻度は被験食品群13%であり、プラセボ群19%であったが、すべて軽微な変動であり、臨床上問題となるものではないと判定された。

Ⅲ. 考 察

今回、軽度の膝関節痛を有する男女を対象とし、コラーゲンペプチドを含有する試験食品の有効性および安全性の評価を目的として研究を行った。有効性の評価は、従来から用いられているJOA, JKOM, VASスコアに加え、骨・軟骨代謝マーカーおよび炎症マーカーを指標とした。今回用いた骨・軟骨代謝マーカーは、Ⅱ型コラーゲン分解マーカーとして知られるC2CおよびCTX-II、Ⅱ型コラーゲン合成マーカーのCPII、Ⅰ型コラーゲン分解マーカーのNTx、さらにⅡ型コラーゲンの分解と合成の相対的関係を示すC2C/CPII, CTX-II/CPII比であった⁶⁻⁸⁾。また、関節炎症マーカーとしてMMP-3、滑膜炎マーカーとしてヒアルロン酸、その他の炎症マーカーとしてIL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , IL-17Aなどのサイトカインを測定した。

その結果、VAS(自覚症状)の「安静時」において、被験食品群がプラセボ群に比べて改善傾向を示し、特に摂取後8週目に被験食品群がプラセボ群に比べて有意に症状を改善した。また、他覚所見であるJOAにおいて、「疼痛・歩行能」および「疼痛・階段昇降能」では、被験食品群とプラセボ群の間で差は認められなかったが、「屈曲角度および強直・高度拘縮」において被験食品群がプラセボ群に比べて改善傾向を示した。さらに、ヒアルロン酸やIL-17Aなどの炎症バイオマーカーに関しても、被験食品群において有意な改善がみられた。これらの結果は、コラーゲンペプチド含有食品が炎症を和らげ、疼痛を改善する可能性があることを示唆している。興味深いことにJOAの「屈曲角度および強直・高度拘縮」について被験食品群がプラセボ群に比べて症状の改善効果を示したことから、コラーゲンペプチド含有食品の摂取により膝関節痛の疼痛が緩和したことで、膝の曲げ伸ばしがしやすくなった可能性が考えられる。一方、JKOMスコアでは、両群間で有意な差はみられなかった。これは、本試験

に参加した、軽度の疼痛を示す被験者において、5段階評価で明確な差を見出すことが困難であったためと考えられる。

軟骨マーカーを用いた評価については、軟骨代謝における分解と合成のバランスを考えると、分解あるいは合成マーカー単独で評価するよりも、分解マーカー/合成マーカー比を指標とするほうが、軟骨代謝をより相対的に評価できると考えられている^{7,8)}。しかしながら、本研究では、C2C, CTX-II, CPIIに対する被験食品の明らかな改善効果を見出すことができず(データ未収載)、また、C2C/CPII比、CTX-II/CPII比においても食品摂取による効果を被験食品群で認めることができなかった。一方、岡野らは、魚のウロコ由来Ⅰ型コラーゲンペプチド4gを膝OA患者(K-L分類のグレードⅡ~Ⅲ)に12週間、連日摂取させたオープン試験において、症状の改善(VASおよびJKOMスコア)とともに、軟骨・骨代謝マーカー(CTX-II, NTxなど)の値が低下(改善)することを報告している⁹⁾。コラーゲンペプチドの摂取によって、岡野らの研究においては軟骨・骨代謝マーカーが低下したが、われわれの研究で、これらのマーカーが変動しなかった理由として、コラーゲンペプチドの由来(魚ウロコ由来に対してブタ皮膚由来)、平均分子量(500~1,000に対して3,000~5,000)、患者の年齢(平均72歳に対して59歳)、K-L分類のグレード(Ⅱ~Ⅲに対してⅠ~Ⅱ)などの違いが関与していると考えている。

今までの研究によって、コラーゲンペプチドを経口摂取すると、分解産物の主成分としてプロリルヒドロキシプリン(Pro-Hyp)が血中に移行すること¹⁰⁾、そして、Pro-Hypが軟骨細胞などへ取り込まれることが*in vivo*で示されている¹¹⁾。さらに、Pro-Hypは、軟骨細胞によるグリコサミノグリカンの合成を促進すること¹²⁾、また、培養滑膜細胞によるヒアルロン酸合成を高め¹³⁾、合成されたヒアルロン酸の高分子化を促進することが*in vitro*の研究で示されている¹⁴⁾。そして、高分子のヒアルロン酸は低分子のものよりもより強い抗炎症作用を発揮すると考えられている^{15,16)}。これらの知見を考え合わせると、本研究においてコラーゲンペプチドの摂取によって、Pro-Hypなどの分解産物が体内に移行し、軟骨細胞や滑膜細胞のグリコサミノグリカン合成、ヒアルロン酸合成を促進し、ヒアルロン酸を高分子化することによって、生体内で抗炎症効果をもたらし、その結果、症状が改善した可能性が推測される。しかし、本研究において、コラーゲ

ンペプチドの分解産物が真に血中に移行し、軟骨・滑膜組織に到達して、グリコサミノグリカンやヒアルロン酸合成の促進に働いたかどうかについては今後検討を要すると考えている。

なお、安全性に関して、被験食品において臨床的に問題となるような有害事象は認められず、また、検査値の異常変動もみられなかったことから、被験食品は安全に摂取できる食品であることが確認された。

以上をまとめると、本研究で評価したコラーゲンペプチド含有食品は、軽度の膝関節痛を有する男女に対して、炎症を抑制することによって、膝関節の痛みを緩和し、膝の屈曲角度を改善する可能性が示唆された。さらに、安全に摂取できる食品であることが確認された。

◆文献

- 1) Muraki S, Oka H, Akune T, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N : Prevalence of radiographic knee osteoarthritis and its association with knee pain in the elderly of Japanese population-based cohorts : the ROAD study. *Osteoarthritis Cartilage* 17 : 1137-1143, 2009
- 2) 野村義宏 : コラーゲン. 食品機能性の科学. 食品機能性の科学編集委員会編, p742-743, 産業技術サービスセンター, 2008
- 3) 小山洋一 : コラーゲンの経口摂取. *食肉の科学* 49 : 1-7, 2008
- 4) Moskowitz RW : Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. *Semin Arthritis Rheum* 30 : 87-99, 2000
- 5) Kellgren JH, Lawrence JS : Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis* 16 : 494-502, 1956
- 6) Garnero P, Delmas PD : Biomarkers in osteoarthritis. *Nature Clin Pract Rheumatol* 3 : 346-356, 2007
- 7) Cahue S, Sharma L, Dunlop D, Ionescu M, Song J, Lobanok T, King L, Poole AR : The ratio of type II collagen breakdown to synthesis and its relationship with the progression of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 15 : 819-823, 2007
- 8) 渡 泰士, 内藤聖人, 長岡 功, 吉村雅文, 石島旨章, 山本哲郎, 石田かおり, 山口英世, 朝長昭仁, 金子和夫, 黒澤 尚 : 軟骨 II 型コラーゲンの分解マーカー C2C と合成マーカー CPII を用いた変形性膝関節症の病態評価. *日本膝関節学会誌・膝* 33 : 233-237, 2008
- 9) 岡野 徹, 榎田 誠, 大槻亮二, 萩野 浩, 豊島良太, 中山 清 : 変形性膝関節症に対する I 型コラーゲンペプチド摂取が骨・軟骨代謝マーカーに及ぼす効果. *グルコサミン研究* 7 : 73-76, 2011
- 10) Ohara H, Matsumoto H, Ito K, Iwai K, Sato K : Comparison of quantity and structures of hydroxyproline-containing peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates from different sources. *J Agric Food Chem* 55 : 1532-1535, 2007
- 11) Kawaguchi T, Nanbu PN, Kurokawa M : Distribution of prolylhydroxyproline and its metabolites after oral administration in rats. *Biol Pharm Bull* 35 : 422-427, 2012
- 12) Nakatani S, Mano H, Sampei C, Shimizu J, Wada M : Chondroprotective effect of the bioactive peptide prolyl-hydroxyproline in mouse articular cartilage *in vitro* and *in vivo*. *Osteoarthritis Cartilage* 17 : 1620-1627, 2009
- 13) Ohara H, Iida H, Ito K, Takeuchi Y, Nomura Y : Effects of Pro-Hyp, a collagen hydrolysate-derived peptide, on hyaluronic acid synthesis using *in vitro* cultured synovium cells and oral ingestion of collagen hydrolysates in a guinea pig model of osteoarthritis. *Biosci Biotechnol Biochem* 74 : 2096-2099, 2010
- 14) 上原一貴, 松尾俊輝, 中島正博, 渡部陸人, 野村義宏, 菅原 忍 : 変形性膝関節症における加水分解コラーゲンの効果. 第 9 回グルコサミン研究会学術集会プログラム, p14-15, 2013
- 15) Abate M, Saltini V : Hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis : What is new. In : *Osteoarthritis-Diagnosis, Treatment and Surgery*. Chen Q (ed), InTech, Shanghai, p101-122, 2012
- 16) Li P, Raitcheva D, Hawes M, Moran N, Yu X, Wang F, Matthews GL : Hylan G-F 20 maintains cartilage integrity and decreases osteophyte formation in osteoarthritis through both anabolic and anti-catabolic mechanisms. *Osteoarthritis Cartilage* 20 : 1336-1346, 2012