

Original article

Study for investigation of symptomatic improvement and safety of the ingestion of rooster comb degradation product containing low-molecular hyaluronic acid (INJUV) in individuals with knee and lower back pain; open-label trial with no control group

Mari Ogura^{1,2)}, Wakako Takabe¹⁾, Masayuki Yagi¹⁾, Sachio Wakayama³⁾, Yoshikazu Yonei¹⁾

1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

2) Kyoto Bunkyo Junior College, Kyoto, Japan

3) Laimu Corporation. Yokohama, Kanagawa, Japan

Glycative Stress Research 2018; 5 (1): 055-067

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文－日本語翻訳版)

低分子ヒアルロン酸含有鶏冠酵素分解物 (INJUV) 摂取による膝、腰の症状改善および安全性の検討試験：無対照オープンラベル試験

小椋真理^{1,2)}、高部稚子¹⁾、八木雅之¹⁾、若山祥夫³⁾、米井嘉一¹⁾

1) 同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター、京都

2) 京都文教短期大学食物栄養学科、京都

3) 株式会社らいむ、神奈川県横浜市

抄録

【目的】 低分子ヒアルロン酸 (hyaluronic acid: HA) を主成分とする鶏冠酵素分解産物含有食品試験品 (INJUV) を摂取した時の自覚症状・他覚症状の変化と安全性を確認するために、無対照オープンラベル試験を施行した。

【方法】 膝関節および腰痛に悩む者 30 名から症状の強い者 12 名 (男性: 6 名、女性: 6 名、年齢: 57.5 ± 3.5 歳) を選択し対象とした。対象は INJUV を 8 週間経口摂取した。

【結果】 自覚症状として腰痛・膝関節痛の改善、理学所見として膝関節可動域の開大 (左右平均: 前値 137.4 ± 1.8、2.9%、 $p < 0.05$) を認めた。さらに拡張期血圧の低下 (前値 75.7 ± 3.2 mmHg、-8.2%、 $p < 0.05$)、血清総コレステロール減少 (前値 226.6 ± 9.8 mg/dL、-5.4%、 $p < 0.05$)、HbA1c 減少 (前値 5.47 ± 0.08%、-3.3%、 $p < 0.01$) を認めた。試験期間中に有害事象はみられなかった。

【結論】 INJUV の膝関節痛・腰痛改善作用、膝関節可動域の開大効果および安全性が示された。本試験品は吸収効率の良い低分子 HA が関節内の軟骨細胞、滑膜細胞、免疫担当細胞に好影響をもたらした可能性が推測された。本試験品の有効性評価および作用機序については今後さらなる検討が必要である。

KEY WORDS: 低分子ヒアルロン酸、関節痛、腰痛、変形性関節症、関節可動域

はじめに

ロコモティブシンドローム（ロコモ）は筋肉、骨、関節といった運動器の障害により移動機能が低下した状態である。ロコモが進展すると杖つき歩行、車椅子移動が余儀なくされ、生活の質（quality of life: QOL）の低下をきたし、最終的には要介護 5 の寝たきり状態に至る。高齢化が進行し続ける日本社会において健康寿命の延伸を達成するためにロコモに対する予防と治療が欠かせない。

今回我々は、ロコモの要因のうち変形性関節症（osteoarthritis: OA）に伴う膝関節痛、腰痛に焦点をあて、機能性食品によりこれらの症状が緩和されるか否かを検証することにした。リウマチ様関節炎（rheumatoid arthritis: RA）や OA の発症機序として糖化ストレスの関与が近年報告されている¹⁻⁵。試験品として今回用いた食品は、摂取者からの市販後調査で評判がよく、リピーターの多かったヒアルロン酸（hyaluronic acid: HA）主成分とする鶏冠酵素分解物（INJUV）⁶とした。対象は日常において膝や腰の痛みを悩む健康な男女とし、INJUV 8 週間摂取時の膝関節痛、腰痛への影響ならびに安全性を無対象オープン試験にて検討した。

方法

対象

告知により 55 歳以上 70 歳未満の日常において膝や腰の痛みを悩む健康な男女 32 名を募集、事前調査において、選択基準に該当し、除外基準に抵触しておらず、問診票評価にて下記指標 1), 2) にてランキング高値の者 12 名（男性：6 名、女性：6 名、年齢：57.5 ± 3.5 歳）を選抜した。

- 1) 日本版変形性膝関節症患者機能評価尺度（JKOM）⁷⁻¹¹ の I. 膝の痛みの程度スコア高値者よりランキング付け
- 2) 腰痛症患者機能評価質問表（JLEQ）¹²⁻¹⁵ の I. 腰の痛みの程度スコア高値者よりランキング付け

選択基準および除外基準を次に示した。

選択基準

- 1) 試験参加の同意取得時点での年齢が 55 歳以上 70 歳未満の男性および女性

- 2) 健康な者で、現在何らかの疾患で治療をしていない者
- 3) 日常生活において（歩行時、正座時、階段の昇降時など）、膝関節痛や腰の痛みを有する者
- 4) 本試験の目的、内容について十分な説明を受け、同意能力があり、よく理解した上で自発的に参加を志願し、書面で本試験参加に同意できる者
- 5) 指定された検査日に来所でき、検査を受ける事のできる者
- 6) 試験責任医師が本試験への参加を適当と認めた者

除外基準

- 1) 現在、何らかの慢性疾患を患い薬物治療を受けている者
- 2) 現在、膝関節痛、腰痛治療を目的で通院治療をしている者（接骨院、整体、マッサージなどでの施術は可とする）
- 3) 過去に膝、腰への緩和療法（関節内ヒアルロン酸など関節保護剤の注入療法、ステロイドの注入療法など）または膝、腰に関する手術経験のある者（関節鏡視下手術骨切り術、人工関節、ボルト固定術など）
- 4) 精神疾患、睡眠障害、高血圧、糖尿病、脂質異常症や重篤な疾患の既往歴・現病歴のある者
- 5) 過去 1 ヶ月において、疾患治療を目的とした、薬物の服薬習慣のある者（頭痛、月経痛、感冒、花粉症緩和目的などの頓服歴は除く）
- 6) 肝、腎、心、肺、血液などの重篤な障害の既往歴・現病歴のある者
- 7) 消化器官に併存疾患および既往歴のある者（盲腸の既往歴は除く）
- 8) 慢性副鼻腔炎、歯周病、気管支炎などの炎症を伴う疾患に罹患している者
- 9) 体格指数（body mass index: BMI）が 30 kg/m² 以上の者
- 10) 過去 1 ヶ月間において 200 mL、又は 3 ヶ月以内に 400 mL を超える献血などをした者
- 11) 高度の貧血のある者
- 12) 試験食品含有成分にアレルギー症状を起こす恐れのある者、また、その他食品、医薬品に重篤なアレルギー症状を起こす恐れのある者
- 13) 現在、ならびに過去 3 ヶ月以内において、検査結果に影響する可能性があると考えられる健康食品類、膝関節痛、腰痛改善を標榜した食品、ならびに効果が期待される成分（特にグルコサミン、コンドロイチンなど）

を継続的に摂取している者、また試験期間中に摂取予定のある者。なお、健康維持を目的とした健康食品類は可とする。

- 14) 通常の飲酒量が1日あたり平均アルコール換算で40 g/日、200 g/週を超える者
- 15) 喫煙の習慣がある者、もしくは禁煙後1年を経過していない者
- 16) 試験期間中、運動習慣や生活習慣が変更する可能性のある者
- 17) 現在、他のヒト臨床試験に参加している者、他ヒト試験参加終了後、3ヶ月間が経過していない者
- 18) 妊娠中、授乳中あるいは妊娠の可能性のある者および妊娠を希望している者
- 19) 本人または家族が健康・機能的食品および化粧品を開発・製造もしくは販売する企業に勤務している者
- 20) その他試験実施医師が本試験の対象として不適当と判断した者

試験品

試験品は「インジュヴ・カプセル」とした。有用成分インジュヴ（以下 INJUV）は、鶏冠酵素分解物を凍結乾燥処理した粉末状の物質であり、株式会社らいむ（神奈川県横浜市港北区）が製造販売している。INJUVは、鶏冠を原料として独自の常温酵素処理技術により開発された。2001年以降、日本を含む世界各地（11カ国）で販売され、特に米国において年間4,200万カプセル以上の販売実績がある。試験品は同社より提供を受けた。

本試験品は、鶏冠を食品由来酵素で分解処理した生成した鶏冠酵素分解物を凍結乾燥処理した粉末状の物質で、食品添加物としてデキストリンを3倍量添加して調整したものである⁶⁾。試験品は市販品と同じく1カプセルあたりINJUV 150 mgを含有する。INJUVは、鶏冠まるごとの成分を含有する天然由来の分解物としてHA、コラーゲンペプチド、プロテオグリカン（アグリカン）、それらの前駆体、アミノ酸、ビタミンなどを含む。一般にHA（分子量100万以上）、低分子HA（分子量10万～20万）は経口投与での有用性が限定的とされているが、本品は酵素分解により超低分子化（分子量380～5,000）されている。

試験品の栄養成分をTable 1、遊離アミノ酸組成をTable 2に示す⁶⁾。HAの最小単位はグルクロン酸とN-アセチルグルコサミンのそれぞれ1分子が結合した分子量411である。試験品に含まれるHA推定分子量（構成重量比%）を構成重量比順に示すと1,520（47%）、5,000（33%）、1,140（10%）、760（6%）、380（4%）となり、吸収効率の良い低分子HAが主成分となっている。N-アセチルグルコサミン含有量は0%で、HA分解物は含まれない。

高分子HAは保水力が強く、点眼薬、関節腔内注入医薬品、皮膚保湿用化粧品として利用されている。低分子HA経口投与の効能についての情報はこれまで一報しかなく、北京中医薬学大学東直門病院（中華人民共和国）で施行さ

れたランダム化二重盲検試験において、試験品により角質水分量の改善効果が示されている⁶⁾。

試験品の安全性に関しては、米国STILL MEADOW社に委託したINJUVの14日間連続投与試験（GLP対応試験）において高い安全性（LD50 \geq 5,050 mg/kg bw）を確認した。

試験デザイン

試験形態は無対照オープン試験とした。被検者は試験品8カプセル（INJUVとして1,200 mg/日）、4カプセルずつ1日2回を水又はぬるま湯と共に摂取させた。

一般的血液尿検査は試験前および投与8週後に施行、問診票調査、理学的検査、特殊血液検査（高感度CRP）、特殊尿検査（パントシジン・クレアチニン）は試験前、投与2週後、4週後、6週後、8週後に施行した。試験実施期間は2017年3月～2017年8月であった。

評価項目

● 自覚症状

日本版変形性膝関節症患者機能評価尺度（JKOM）

日本版変形性膝関節症患者機能評価尺度（JKOM）⁷⁻¹¹⁾では、膝の痛みの程度はVAS法により長さ100 mmの直線の一端を「痛みなし」、もう一方の端を「これまで経験した最も激しい痛み」と設定、被験者自身が感じる痛みの程度を直線上にマークし、「痛みなし」の点を起点としてマークした箇所までの長さを測定した。

「膝の痛みやこわばり」、「日常生活の状態」、「ふだんの生活」について、最も軽度の選択肢を「0」、最も重度の選択肢を「4」とし、中間の選択肢には症状の重症度に応じてそれぞれ「1」「2」「3」にてスコア化し集計を行なった。

西オンタリオ・マクマスター大学変形性関節症指数

（準 WOMAC 調査票）

西オンタリオ・マクマスター大学変形性関節症指数¹⁶⁻²⁰⁾では、膝関節の痛みについて、全然ない：5点、軽い痛み：4点、中くらいの痛み：3点、強い痛み：2点、非常に激しい痛み：1点として評価した。身体機能については、全然むずかしくない：5点、少し難しい：4点、ある程度むずかしい：3点、むずかしい：2点、かなりむずかしい：1点として評価した。

腰痛症患者機能評価質問表（JLEQ）

腰痛症患者機能評価質問表（JLEQ）¹²⁻¹⁵⁾では、腰の痛みの程度はVAS法により、長さ100 mmの直線の一端を「痛みなし」、もう一方の端を「これまで経験した最も激しい痛み」と設定、被験者自身が感じる痛みの程度を直線上にマークし、「痛みなし」の点を起点としてマークした箇所までの長さを測定した。

生活上の問題、この1か月の状態については、最も軽度の選択肢を「0」、最も重度の選択肢を「4」とし、中間の

Table 1. Nutrition component of the test product.

Component	Content (%)	Method
Water	2.2~2.6	
Nitrogen	3.84	Semimicro-Kjeldahl method
Protein	3.04	Lowry protein assay
Free amino acid	4.08	Ninhydrin assay
N-Acetylglucosamine	0	Elson-Morgan method
Dextrin (additives)	75.0	

Table 2. Free amino acid component of the test product.

Amino acid	Content (%)	Amino acid	Content (%)
ρ -Serine	1.71	Cystine	2.78
Taurine	3.30	Leucin	2.26
Asparatic acid	2.94	Isoleucine	6.27
Threonine	1.30	Tyrosine	2.65
Serine	2.20	Phenylalanine	3.30
Glutamic acid	2.18	β -amino isobutyric acid	5.45
Glutamine	0.48	Ornithine	1.05
Sarcosine	1.81	Lysine	1.17
Glycine	2.26	l-Methylhistidine	0.78
Alanine	3.52	Anserine	1.92
Citrulline	0.92	Arginine	1.93
α -Amino butyric acid	2.18	Total amino acid identified	57.36
Cysteine	1.03	Unknown amino acid	42.64
Methionine	1.97		

選択肢には症状の重症度に応じてそれぞれ「1」「2」「3」にてスコア化し集計を行なった。

抗加齢 QOL 共通問診票

自覚症状の評価は、抗加齢 QOL 共通問診票 (Anti-Aging QOL Common Questionnaire: AAQOL)²¹⁾ を使用した。「身体の症状」と「心の症状」に分け、ポイント 1~5 の 5 段階に分けてスコアを評価した。

● 理学的検査

整形外科専門医による膝関節可動域測定を実施した。測定機器として角度計 (東大 30 cm: Z813-153A) を用いた。

身体計測としては、身長、体重、体脂肪率、BMI、収縮期および拡張期血圧、脈拍数を計測した。身体組成検査は体成分分析器 (DC-320; タニタ、東京都板橋区) を用いた。

血圧/脈拍測定には電子血圧計 (H55 エレマノ血圧計/テルモ株式会社、東京都渋谷区) を用いた。体重/体脂肪率/BMI 測定には DC-320/TANITA 社製を用いた。

● 血液尿検査

血液検査について、以下の項目をほ保健科学研究所 (東京都調布市) にて測定した: 白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、血色素量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、総蛋白 (TP)、アルブミン定量 (ALB)、尿素窒素 (UN)、クレアチニン (CRE)、尿酸 (UA)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンキナーゼ (CK)、総コレステロール (TC)、トリグリセライド (TG)、LDL コレステロール定量 (LDL-C)、HDL-コレステロール (HDL-C)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、空腹時血糖 (FPG)、HbA1c、CRP、リウマチ因子 (rheumatoid factor: RF) 定量。

尿検査 (ウロビリノーゲン、潜血反応、ビリルビン、ケ

トン体定性、ブドウ糖定性、蛋白質、比重、pH)は保健科学研究所にて行った。尿中ペントシジン、尿中クレアチニンはLSIメディエンス(東京都千代田区)にて測定した。

統計解析

統計解析には、統計解析ソフトSAS(SAS 9.4; SAS Institute Japan、東京都港区)またはSPSS(Statistics19; 日本アイ・ビー・エム、東京都中央区)を用い、paired-t testを施行した。危険率5%未満を有意差あり、10%未満を有意傾向ありとした。外れ値および欠損値については、特に外れ値は設定しなかった。ただし、検査上のトラブルなどでデータが取得できない、またはデータの信頼性に大きな問題が生じた場合は欠損値として取扱い、代替値は用いなかった。

倫理審査

本試験は「一般社団法人糖化ストレス研究会」(東京都中野区)にてヒト試験倫理委員会の承認のもとに施行した(GSE #2017-002)。本試験については臨床試験事前登録を行った(UMIN #000026460)。

結果

自覚症状評価

8週間の試験品の使用により以下の如く自覚症状の改善がみられた。

AAQOLでは身体症状33項目のうち「目が疲れる」($p < 0.05$)「肩がこる」($p < 0.05$)「筋肉痛・こり」($p < 0.05$)「腰痛」($p < 0.01$)「関節痛」($p < 0.01$)の5項目、心の症状21項目のうち「くよくよする」($p < 0.05$)の1項目のスコアが有意に改善した(**Table 3**)。その他の項目には有意な変化はなかった。

JKOMでは、痛みスコア「この数日間のあなたの膝の痛みの程度はどのあたりでしょうか。」(前値: 6.1 ± 0.4 、8週後: 2.6 ± 0.6 、 $p < 0.01$)、「II. 膝の痛みやこわばり」(前値: 10.1 ± 1.4 、8週後: 5.1 ± 1.2 、 $p < 0.01$)、「III. 日常生活の状態」(前値: 9.2 ± 1.5 、8週後: 5.2 ± 1.3 、 $p < 0.01$)、「全体スコア」(前値: 27.8 ± 3.8 、8週後: 15.8 ± 3.1 、 $p < 0.01$)が有意に改善した(**Table 4**)。

準WOMAC調査票による1痛みについての評価では右膝(前値: 18.8 ± 1.1 、8週後: 22.4 ± 0.8 、 $p < 0.01$)、左膝(前値: 18.5 ± 0.9 、8週後: 22.2 ± 0.7 、 $p < 0.01$)、全体(前値: 37.3 ± 1.9 、8週後: 44.6 ± 1.5 、 $p < 0.01$)

Table 3. AntiAging QOL Common questionnaire.

	Before	8 weeks	p value
Physical symptoms			
Tired eyes	3.4 ± 0.4	$2.8 \pm 0.3^*$	0.011
Stiff shoulders	3.5 ± 0.4	$2.8 \pm 0.4^*$	0.021
Muscular pain/stiffness	3.2 ± 0.4	$2.1 \pm 0.4^*$	0.028
Lumbago	3.6 ± 0.3	$2.5 \pm 0.3^{**}$	0.010
Arthralgia	3.6 ± 0.2	$2.7 \pm 0.3^{**}$	0.004
Mental symptoms			
Pessimism	1.9 ± 0.3	$1.6 \pm 0.2^*$	0.046

Data are expressed as mean \pm SEM, Wilcoxon signed-rank test, n = 12. SEM, standard error mean.

Table 4. Japanese Knee Osteoarthritis Measure.

	Before	8 weeks	p value
I. Degree of knee pain	6.1 ± 0.4	$2.6 \pm 0.6^{**}$	0.000
Visual analogue scale asking the degree of knee pain.			
II. Pain and stiffness in knees	10.1 ± 1.4	$5.1 \pm 1.2^{**}$	0.004
III. Condition in daily life	9.2 ± 1.5	$5.2 \pm 1.3^{**}$	0.002
IV. General activities	5.6 ± 0.9	$3.6 \pm 0.6^*$	0.044
V. Health conditions	3.0 ± 0.7	2.0 ± 0.5	0.058
Total score	27.8 ± 3.8	$15.8 \pm 3.1^{**}$	0.003

Data are expressed as mean \pm SEM, Paired t-test, Wilcoxon signed-rank test, n = 12. SEM, standard error mean.

のスコアが有意に改善した。2 身体機能についての推移については「1. 階段を降りる」($p < 0.05$)「2. 階段を昇る」($p < 0.01$)「3. 椅子から立ち上がる」($p < 0.05$)「7. 乗用車に乗り降りする」($p < 0.05$)「11. 靴下を脱ぐ」($p < 0.05$)が有意に改善し、全体スコア(前値: 66.2 ± 3.6 , 8 週後: 74.9 ± 2.3 , $p < 0.05$)も有意に改善した (Table 5)。

JLEQ による腰痛スコア「ここの数日間のあなたの腰の痛みの程度はどのあたりでしょうか。」(前値: 6.0 ± 0.7 , 8 週後: 2.5 ± 0.5 , $p < 0.01$)、「II. 数日間の腰の痛み」(前値: 10.4 ± 2.0 , 8 週後: 4.8 ± 1.1 , $p < 0.01$)、「III. 数日間の腰痛による生活上の問題」(前値: 21.8 ± 4.2 , 8 週後: 10.6 ± 2.4 , $p < 0.01$)、「IV. この 1 か月の状態」(前値: 6.1 ± 1.3 , 8 週後: 2.4 ± 0.7 , $p < 0.01$)、「全体スコア」(前値: 38.3 ± 7.3 , 8 週後: 17.8 ± 4.1 , $p < 0.01$) が有意に改善した (Table 6)。

理学的検査 (Table 7)

理学的検査では拡張期血圧(前値: 75.7 ± 3.2 mmHg, 8 週後: 69.5 ± 3.3 mmHg, 変動率: -8.2% , $p < 0.05$)が 8 週後に有意に低下した。

整形外科専門医による膝関節可動域評価では自動可動域(左側)が 8 週後に有意に改善した(前値: 138.3 ± 1.7 , 8 週後: 140.8 ± 1.9 , 変動率: 1.8% , $p < 0.05$)。自動可動域(右側)は 8 週後に改善傾向を示した(前値: 136.5 ± 2.5 , 8 週後: 141.9 ± 1.7 , 変動率: 4.0% , $p < 0.1$)。自動可動域(左右平均)も 8 週後に有意に改善した(前値: 137.4 ± 1.8 , 8 週後: 141.4 ± 1.8 , 変動率: 2.9% , $p < 0.05$)。膝関節他動可動域評価では有意差はなかった。

Table 5. WOMAC (western ontario mcmaster universities osteoarthritis index), japanese version.

	Before	8 weeks	p value
Pain			
Right knee	18.8 \pm 1.1	22.4 \pm 0.8**	0.006
Left knee	18.5 \pm 0.9	22.2 \pm 0.7**	0.004
Total score	37.3 \pm 1.9	44.6 \pm 1.5**	0.005
Physical function			
1. Descending stairs	3.5 \pm 0.2	4.2 \pm 0.2*	0.020
2. Ascending stair	3.4 \pm 0.3	4.3 \pm 0.2**	0.005
3. Rising from sitting	3.8 \pm 0.3	4.6 \pm 0.2*	0.015
7. Getting in/out of car	4.0 \pm 0.2	4.6 \pm 0.1*	0.020
11. Taking off socks	3.7 \pm 0.3	4.3 \pm 0.2*	0.038
Total score	66.2 \pm 3.6	74.9 \pm 2.3*	0.013

Data are expressed as mean \pm SEM, Wilcoxon signed-rank test, n = 12. SEM, standard error mean.

Table 6. JLEQ : Japan Low Back Pain Evaluation Questionnaire

I. Degree of low back pain Where on this line would your pain have been over the last several days?	6.0 \pm 0.7	2.5 \pm 0.5**	0.001
II. Low back pain related to activity of daily living Your low back pain over the last several days	10.4 \pm 2.0	4.8 \pm 1.1**	0.007
III. Problems due to low back pain Problems with your lifestyle due to low back pain over the last several days	21.8 \pm 4.2	10.6 \pm 2.4**	0.002
IV. Health and psychological condition Your condition in the last month	6.1 \pm 1.3	2.4 \pm 0.7**	0.006
Total score	38.3 \pm 7.3	17.8 \pm 4.1**	0.002

Data are expressed as mean \pm SEM, Paired t-test, Wilcoxon signed-rank test, n = 12. SEM, standard error mean.

Table 7. Physical examination.

		Before	8 weeks	p value
Height	cm	164.1 ± 2.1		
Weight	kg	64.1 ± 3.2	63.9 ± 3.5	0.775
Body fat	%	27.4 ± 1.5	26.7 ± 1.5	0.060
BMI	–	23.7 ± 0.9	23.6 ± 1.0	0.743
Blood pressure (systolic)	mmHg	116.8 ± 5.2	112.6 ± 4.6	0.269
(diastolic)	mmHg	75.7 ± 3.2	69.5 ± 3.3*	0.015
Pulse	/min	72.7 ± 4.1	68.0 ± 2.4	0.106
Range of motion at knee joint				
active				
left	°	138.3 ± 1.7	140.8 ± 1.9*	0.049
right	°	136.5 ± 2.5	141.9 ± 1.7	0.079
left and right average	°	137.4 ± 1.8	141.4 ± 1.8*	0.044
passive				
left	°	143.6 ± 2.1	142.8 ± 1.9	0.522
right	°	141.9 ± 2.5	143.4 ± 1.7	0.559
left and right average	°	142.8 ± 2.1	143.1 ± 1.8	0.852

Data are expressed as mean ± SEM, Paired t test, n = 12. SEM, standard error mean.

血液生化学検査、尿検査 (Table 8)

末梢血液検査では WBC (−7.1%, $p < 0.05$)、RBC (−3.6%, $p < 0.05$)、Hb (−4.9%, $p < 0.01$)、Hct (−3.0%, $p < 0.05$)、MCH (−1.3%, $p < 0.05$)、MCHC (−1.8%, $p < 0.01$) が 8 週後に有意に減少した。RBC 関連指標の変化は採血による影響である。

血液生化学検査では総蛋白 (−4.6%, $p < 0.01$)、Alb (−3.0%, $p < 0.05$)、AST (−12.8%, $p < 0.01$)、ALT (−17.8%, $p < 0.05$)、Na (−1.1%, $p < 0.01$) が 8 週後に有意に低下した。脂質代謝指標は LDL-C、HDL-C、TG に変化はみられなかったが TC (−5.4%, $p < 0.05$) が 8 週後に有意に低下した。糖代謝指標は FPG に変化はみられなかったが、HbA1c (−3.3%, $p < 0.01$) が 8 週後に有意に低下した。

高感度 CRP、尿中ペントシジンには有意な変化は認められなかった。

考察

今回の試験は、試験品 (INJUV) を 8 週間の摂取した時の身体に生じる変化と安全性を確認する無対照オープンラベル試験である。対象は、日常生活において (歩行時、正座時、階段の昇降時など)、膝関節痛や腰の痛みを有する

者 12 名 (男性 : 6 名、女性 : 6 名) とし、鶏冠酵素分解産物 (主成分 : 低分子 HA) を含む試験品を 8 週間内服投与した際の身体への作用および安全性について無対照オープン試験として検討した。その結果、自覚症状として腰痛・膝関節痛の改善、理学所見として膝関節可動域の開大を認めた。さらに副次的に拡張期血圧の低下、TC 減少、HbA1c 減少を認めた。

試験品摂取により関節痛・腰痛に関わる自覚症状の改善が示された。自覚症状の評価には抗加齢 QOL 共通問診票 (AAQOL)²¹⁾、JKOM^{10,11)}、準 WOMAC 調査票^{18,20)}、腰痛 QOL 尺度 (JLEQ)^{12,13)} を用いた。AAQOL では全身に関わる質問項目のうち関節痛・腰痛に有効性スペクトラムがあることがうかがえる。理学的検査では拡張期血圧の低下 (−8.2%, $p < 0.05$)、膝関節可動域評価で自動可動域の開大 (両側平均 2.9%, $p < 0.05$)、血液生化学検査で WBC の減少 (−7.1%, $p < 0.05$)、糖脂質代謝検査では FPG、LDL-C、HDL-C、TG には変化がなかったが、TC 減少 (−5.4%, $p < 0.05$)、HbA1c 減少 (−3.3%, $p < 0.01$) を認めた。他には採血の影響とみられる RBC 関連指標 (RBC、Hb、Hct、MCH、MCHC) の減少、総蛋白減少・Alb 減少を認めた。これらの現象を採血の影響とした理由については、試験品の安全性に関わる問題なので、安全性評価の項で述べる。HbA1c 減少の原因については明らかにしえなかった。

本試験品には低分子 HA、コラーゲンペプチドが関与物質

Table 8. Blood, urine examination.

		Before	8 weeks	p value
WBC	/ μ L	5375 \pm 224	4992 \pm 225 *	0.020
RBC	$\times 10^4$ / μ L	470.7 \pm 9.4	453.9 \pm 11.3 *	0.011
Hb	g/dL	14.1 \pm 0.3	13.4 \pm 0.4 **	0.002
Ht	%	43.0 \pm 0.9	41.7 \pm 1.0 *	0.018
MCV	fL	91.4 \pm 1.1	91.8 \pm 1.1	0.137
MCH	pg	30.0 \pm 0.4	29.6 \pm 0.4 *	0.013
MCHC	%	32.9 \pm 0.2	32.2 \pm 0.2 **	0.003
PLT	$\times 10^4$ / μ L	24.3 \pm 1.4	23.9 \pm 1.5	0.638
TP	g/dL	7.1 \pm 0.1	6.8 \pm 0.1 **	0.000
ALB	g/dL	4.3 \pm 0.4	4.2 \pm 0.04 *	0.025
BUN	mg/dL	14.3 \pm 0.9	13.9 \pm 0.9	0.504
CRE	mg/dL	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.04	0.084
UA	mg/dL	5.2 \pm 0.4	5.0 \pm 0.4	0.338
AST	U/L	20.3 \pm 1.1	17.7 \pm 0.9 **	0.006
ALT	U/L	18.0 \pm 1.3	14.8 \pm 1.1 *	0.011
γ -GTP	U/L	22.9 \pm 3.6	19.8 \pm 2.3	0.098
ALP	U/L	209.4 \pm 13.2	206.1 \pm 10.4	0.671
LDH	U/L	172.0 \pm 7.8	168.3 \pm 9.0	0.473
CK	U/L	88.3 \pm 8.3	95.9 \pm 12.6	0.554
TC	mg/dL	226.6 \pm 9.8	214.3 \pm 7.9 *	0.014
TG	mg/dL	125.8 \pm 25.6	96.3 \pm 13.6	0.219
LDL-C	mg/dL	137.4 \pm 7.6	132.7 \pm 7.2	0.252
HDL-C	mg/dL	64.8 \pm 5.6	63.0 \pm 3.6	0.452
Na	mEq/L	142.9 \pm 0.5	141.3 \pm 0.4 **	0.005
K	mEq/L	4.4 \pm 0.1	4.2 \pm 0.1	0.076
Cl	mEq/L	106.0 \pm 0.6	106.8 \pm 0.7	0.096
Ca	mg/dL	9.4 \pm 0.1	9.4 \pm 0.1	0.146
FPG	mg/dL	92.3 \pm 2.8	96.4 \pm 5.1	0.429
HbA1c	%	5.5 \pm 0.1	5.3 \pm 0.1 **	0.000
CRP	mg/dL	0.038 \pm 0.007	0.034 \pm 0.010	0.626
Pentosidine (urine)	pmol/mg \cdot Cr	7.0 \pm 0.7	6.6 \pm 0.7	0.455

Data are expressed as mean \pm SEM, Paired t test, n = 12. SEM, standard error mean.

として含まれており、主たる機能成分はHAである。これまでの臨床試験においてもHAやグルコサミン経口摂取により膝などの関節痛が緩和することが報告されている^{8,22-24)}。

膝OA患者40例を対象に低分子化HAを含む鶏冠抽出物加工食品を摂取した無作為化二重盲検比較試験において、JOA評価基準の5つのサブスケールのうち「疼痛・歩行能」、「疼痛・階段昇降能」および各スコアの「合計」が有意に改善した⁸⁾。サッカー選手66名を対象とした低分子化HAを含む鶏冠抽出物加工食品を摂取した無作為化二重盲検比較試験において、足関節の圧迫時疼痛が改善傾向を

示し、股関節の運動時疼痛が有意に改善した²²⁾。膝関節に軽度の疼痛やこわばり、違和感を有する者67例を対象にN-アセチルグルコサミン配合調製豆乳を摂取した無作為化二重盲検比較試験において、階段昇降時および安静時の膝関節の疼痛が有意に改善した²³⁾。OA患者46名およびRA患者22名を対象にグルコサミン-コンドロイチン-ケルセチングルコシドを摂取した試験では、OA患者では疼痛の改善がみられたが、RAでは疼痛改善は認められなかった²⁴⁾。

これらの臨床試験結果はOA由来の関節疼痛に対し比較

的小分子 HA が有効である可能性を示唆している。今回の被検者は RA を除外しており、加齢あるいは OA 由来の関節痛を有する例であること、低分子 HA が多く含有する鶏冠抽出物酵素処理加工食品を摂取したこと、本試験品には副次的にコラーゲンペプチドも含まれていること、といった点でこれまでの有効例の特徴と相反しない。しかし、経口摂取された低分子 HA がどのように消化、分解され体内に吸収されるか、疼痛を軽減する作用機序に関しては不明な点が多く残されている。

血圧への影響は疼痛緩和の影響と考えられる。拡張期血圧の低下が認められた原因としては、疼痛と血圧は互いに関連があることが知られていることから²⁵⁻²⁷⁾、関節痛・腰痛といった慢性疼痛が緩和された結果、拡張期血圧の低下につながったと推測した。

複合性局所疼痛症候群 (complex regional pain syndrome: CRPS) における慢性疼痛は自律神経が強く関与する。その機序として、カテコラミン受容体の活性化が関与する²⁵⁾。例えば、術後の一過性疼痛では、早期に交感神経優位性がみられる。その状態は長続きしない (5 分から 30 分程度) と言われている。2 型糖尿病患者を対象とした末梢神経障害性疼痛と Schellong 試験による起立後血圧変動に関する検討では、有痛性末梢神経障害を有する患者では正常な血圧反応が失われる傾向がみられる²⁷⁾。また、献血後の後期血管迷走神経性反応 (vasovagal reaction: VVR) を示す献血者は、自分自身を疼痛に敏感であると考えており、献血後に拡張期血圧が低下しやすい傾向がある²⁶⁾。

疼痛緩和は血圧にも好影響を及ぼす。実際に、瞑想やリラクゼーション^{28, 29)}、マッサージ³⁰⁾、温熱療法³¹⁾ による疼痛緩和によっても血圧上昇の抑制効果、血圧降下作用が報告されている。これらの報告と同様の機序によって、今回の被験者においても腰痛・関節痛が緩和された結果、拡張期血圧の低下に至ったものと考えられる。

本試験では膝関節可動域の有意な開大効果がみられた。HA の関節可動域に及ぼす影響については膝関節固定ウサギ OA モデルによる報告がある。本モデルにおける膝関節可動域の低下は高分子 HA 関節腔内投与により緩和される³²⁾。この効果は分子量 202 万の HA の方が 95 万のものよりも大きい。本試験品のように低分子 HA に関する報告はない。HA による線維化抑制作用、保水作用の関与、関節液の流動性を高めて関節液の機能を回復させる³³⁾ とともに、軟骨組織の構成成分であるグリコサミノグリカンの遊離を抑制し軟骨中グリコサミノグリカン量を回復させ、軟骨変性を抑制する³⁴⁻³⁶⁾ といった機序が報告されている。関節軟骨細胞は IL-1 や RA 関節液添加などの刺激によりアグリカンの細胞外への遊離を促進し、MMP 合成・分泌を誘導するが、これらの反応は HA により抑制される³⁷⁾。これらの作用により関節機能を改善するとともに疼痛が緩和された結果、本試験において膝関節可動域が改善したと考えられる。

ヒアルロン酸 (HA) と関節

本試験品 (INJUV) の作用機序を推定するために、主要成分 HA について文献を収集し総説としてまとめた³⁸⁾。HA は全身臓器に分布するが、関節では関節滑膜から産生されて関節液の主成分となっている他、関節軟骨アグリカンの構成成分である³⁹⁾。HA は保水性^{6, 40, 41)}、関節の潤滑⁴²⁻⁴⁴⁾、細胞間接着^{45, 46)}、免疫調整作用⁴⁷⁾ に重要な役割を有する。

アグリカンは糖と蛋白の複合体で、一般に分子量は数十万ダルトン以上、生体成分として多様な機能性を持ち、軟骨における主成分である。アグリカンは、コラーゲンや HA とマトリックスをすることで軟骨をはじめとする関節組織を維持している。これらの成分は、組織形成や伝達物質としての役割など、組織維持修復に関係する機能性成分である。アグリカンの多糖類部分であるグリコサミノグリカンと呼ばれ、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸、デルマトン硫酸がこれに相当する⁴⁸⁻⁵⁰⁾。HA は主に表面細胞間および血管周囲腔の結合組織、コンドロイチン硫酸は高度に線維性な部分および血管周囲結合組織、デルマトン硫酸は表面間質および血管内皮細胞、ヘパラン硫酸は血管内皮細胞の部分に分布する⁴⁹⁾。

OA における関節軟骨破壊の過程にはアグリカンマトリックスの分解が関わる。軟骨細胞外マトリックスは HA-アグリカンネットワークと II 型コラーゲン線維が相互作用により高次構造を形成している⁵¹⁾。HA はアグリカンと結合して関節軟骨を荷重から保護すると共に軟骨表面で潤滑化作用を発揮する⁴²⁾。関節軟骨破壊では、HA-アグリカンネットワークが分解され、次いでコラーゲン線維分解へと進行する。細胞外マトリックスの分解には MMP (matrix metalloproteinase) と ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) 遺伝子ファミリー分子が重要な役割を果たす⁵¹⁾。関節軟骨破壊初期のアグリカン分解にはアグリカナナーゼと呼ばれる ADAMTS4 や ADAMTS5 が主役を演じ、HA 分解には HYBID (hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization: KIAA1199) が重要である。

障害を受けた軟骨は炎症性サイトカインを放出し、HA 分解酵素、アグリカン分解酵素などマトリックス分解酵素が誘導されるが、外来 HA はこれらの酵素誘導に対し抑制的に作用し、その結果として軟骨からのマトリックス遊離 (HA やアグリカンの喪失) が緩和される^{37, 38)}。このように外来 HA が関節保護的に作用するため、結果として炎症反応が緩和され、関節組織からの痛覚刺激物質遊離が減り疼痛緩和に至ったと考えている。

これまで HA と糖化ストレスの関連についてはほとんど関心が持たれていなかった。しかし近年、OA の関節軟骨には終末糖化産物 (advanced glycation end products: AGEs) が蓄積すること²⁾、receptor for AGEs (RAGE) 発現が顕著であること⁴⁾ が指摘され、OA 発症機序に糖化ストレスが関与していることが注目されている⁵²⁻⁵⁵⁾。

安全性評価

これまでの報告でも HA の安全性についての検討がなされている。HA 関節関節腔内投与についてはビーグル犬、ウサギの亜急性毒性試験によって確認されている⁵⁶⁻⁶¹。HA 経口投与の安全性についてもヒト臨床試験により確かめられている⁶²⁻⁶⁵。本試験品と原材料を同じくする鶏冠由来 HA を経口摂取した時に安全性についてもヒトにいて検証されている⁶⁶。試験品に含まれるコラーゲンペプチドについても安全性がヒトにて確認されている⁶⁷。

本試験では、RBC 関連指標 RBC (−3.6%)、Hb (−5.0%)、Ht (−3.0%) の減少、TP (−4.2%)、ALB (−2.3%) の減少がみられた。我々が施行した 15 件の臨床試験データ⁶⁸⁻⁸²

をみると、4 週後採血のある 7 件^{68, 70, 72, 75, 77, 78, 82}のうち 4 件^{68, 72, 75, 82}で RBC, Hb, Ht のいずれかに 4 週後 2~4% の低下を認め、1 件では 4 週後 Ht に有意差はないものの 8 週後に有意な低下を認めている⁷⁸。性差をみると、これらの 4 件はすべて対象が女性で、閉経後 1 件⁷⁵、閉経前閉経後混合 3 件^{68, 72, 78}であった。4 週後に有意差のみられなかった 2 件^{70, 77}は対象が男女であった。

4 週目に採血せずに 8 週目に採血した 8 件^{69, 71, 73, 74, 76, 79-81}

のうち 8 週後に Ht が低下したのは 1 件(対象は女性)⁷⁶で、他の 7 件^{69, 71, 73, 74, 79-81}で有意差はなかった。この 7 件の性別は、対象は男女であったのが 6 件^{69, 71, 73, 74, 79, 80}、対象は女性(閉経前閉経後混在)が 1 件⁸¹であった。採血量が 10~20 mL によるわずかな変動であっても、同じ方向に変化すれば、paired t test では有意差として現れる場合がある。

このような現象は対象が女性の場合に多く、おそらく年齢、生理の有無と量、潜在的鉄欠乏といった因子が関連する。血液検査における MCH、MCHC の低下所見は潜在性鉄欠乏の存在を裏付けるが、ビタミン B6 の潜在的欠乏についても考慮する必要があるだろう。不足した Hb を補うために Hb 合成に関わる補酵素ビタミン B6 が相対的に不足する。Hb 以外の蛋白合成にもビタミン B6 が必須であるため、他の蛋白合成にも影響を受ける。そのために今回の血液検査で TP、ALB、AST (−12.8%)、ALT (−17.8%) にも有意な減少が生じたと考えられる。我々がこれまで行った臨床試験⁶⁸⁻⁸²においても TP または ALB の有意な低下は 4 件^{76, 77, 79, 80}(うち 1 件⁸⁰は低下傾向)、AST または ALT の有意な低下 6 件^{68-70, 75-77}(うち 2 件^{68, 76}は低下傾向)が観察されている。

このような変動が他の試験でも観察されることから、INJUV の影響によるものを完全には否定するのは困難であるが、試験品 (INJUV) の服用により特異的にビタミン B 群の吸収障害が生じた可能性は低いと考えられる。よって本試験は試験品の安全性を裏付けると判断した。

結論

膝関節および腰痛に悩む 12 名(男性:6 名、女性:6 名、年齢:57.5 ± 3.5 歳)を対象とし、鶏冠酵素分解産物(主成分:低分子 HA)を含む試験品を 8 週間内服投与した際の身体への作用および安全性について無対照オープン試験として検討した。その結果、自覚症状として腰痛・膝関節痛の改善、理学所見として膝関節可動域の開大(左右平均 2.9%、 $p < 0.05$)を認めた。さらに副次的に拡張期血圧の低下(−8.2%、 $p < 0.05$)、TC 減少(−5.4%、 $p < 0.05$)、HbA1c 減少(−3.3%、 $p < 0.01$)を認めた。試験期間中に有害事象はみられず安全性を確認した。本試験は無対象オープン試験であるため、結果にはプラセボ効果が含まれる。試験品の有効性評価ならび作用機序についてはランダム化比較試験(Randomized Controlled Trial:RCT)でさらに詳細な検討が必要である。

謝辞

本研究は総合科学技術・イノベーション会議の SIP (戦略的イノベーション創造プログラム 研究課題番号 14533567)「次世代農林水産業創造技術」(農研機構生研センター委託研究)によって実施された。

利益相反申告

本研究を遂行するにあたり株式会社らいむより支援を受けた。

参考文献

- 1) Miyata T, Ishiguro N, Yasuda Y, et al. Increased pentosidine, an advanced glycation end product, in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 244: 45-49.
- 2) Hirose J, Yamabe S, Takada K, et al. Immunohistochemical distribution of advanced glycation end products (AGEs) in human osteoarthritic cartilage. *Acta Histochem.* 2011; 113: 613-618.
- 3) Hiraiwa H, Sakai T, Mitsuyama H, et al. Inflammatory effect of advanced glycation end products on human meniscal cells from osteoarthritic knees. *Inflamm Res.* 2011; 60: 1039-1048.
- 4) Terada C, Yoshida A, Nasu Y, et al. Gene expression and localization of high-mobility group box chromosomal protein-1 (HMGB-1) in human osteoarthritic cartilage. *Acta Med Okayama.* 2011; 65: 369-377.
- 5) Akasaki Y, Reixach N, Matsuzaki T, et al. Transthyretin deposition in articular cartilage: A novel mechanism in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67: 2097-2107.
- 6) 寺下隆夫, 白坂憲章, 楠田瑞穂, 他. 鶏冠由来低分子ヒアルロン酸の化学組成とヒト肌への臨床試験による保湿効果. *近畿大学農学部紀要.* 2011; 44: 1-8.
- 7) 山口 壮, 山口 巖, 朝生裕樹, 他. 膝関節痛自覚者に対するグルコサミン, サメ軟骨抽出物, デビルズクロー抽出物, コラーゲンペプチド配合食品 (リビタグルコサミンタブレット MT) の臨床的効果: グルコサミン単味食品との比較. *新薬と臨床.* 2008; 57: 243-258.
- 8) 廣瀬 隼, 水田博志, 片岡昌志, 他. 変形性膝関節症に対するヒアルロン酸製剤の維持投与療法の有効性: 前向き多施設共同比較試験. *整形外科.* 2012; 63: 1321-1326. 2012; 63: 1321-1326.
- 9) 長岡 功, 鈴木朝日, 黒川美保子, 他. 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. *グルコサミン研究.* 2013; 9: 40-47.
- 10) Nakagawa Y, Mukai S, Yamada S, et al. Short-term effects of highly-bioavailable curcumin for treating knee osteoarthritis: A randomized, double-blind, placebo-controlled prospective study. *J Orthop Sci.* 2014; 19: 933-939.
- 11) Sugita T, Kikuchi Y, Aizawa T, et al. Quality of life after bilateral total knee arthroplasty determined by a 3-year longitudinal evaluation using the Japanese knee osteoarthritis measure. *J Orthop Sci.* 2015; 20: 137-142.
- 12) 松平 浩, 原 慶宏, 竹下克志, 他. 【腰痛に対する予防指導と運動指導】腰痛と QOL: その評価法および腰痛と QOL の関係: 予防という観点もふまえて. *Orthopaedics.* 2008; 21: 7-16.
- 13) 粕谷大智, 川口 毅. 慢性腰痛患者の身体所見と心理社会的要因との関連. *心身健康科学.* 2011; 7: 79-90.
- 14) 中原 [権藤] 雄一, 角田憲治, 甲斐裕子, 他. 介護従事者における勤務状況の負担度と腰痛, 精神的健康度の関係. *体力研究.* 2014; 112: 22-25. 2014; 112: 22-25.
- 15) 垂水千恵, 大野智弘, 半田幸子, 他. 腰痛に対するサプリメント摂取の効果. *予防医療 Aggressive.* 2014; 1: 24-28.
- 16) Davies GM, Watson DJ, Bellamy N. Comparison of the responsiveness and relative effect size of the western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index and the short-form Medical Outcomes Study Survey in a randomized, clinical trial of osteoarthritis patients. *Arthritis Care Res.* 1999; 12: 172-179.
- 17) Stratford PW, Kennedy DM, Hanna SE. Condition-specific Western Ontario McMaster Osteoarthritis Index was not superior to region-specific Lower Extremity Functional Scale at detecting change. *J Clin Epidemiol.* 2004; 57: 1025-1032.
- 18) 飛永敬志, 岡 浩一郎, 萩原久美子, 他. 人工膝関節全置換術による身体機能および健康関連 QOL の回復過程. *理学療法科学.* 2010; 26: 291-296.
- 19) Burgers PT, Poolman RW, Van Bakel TM, et al; HEALTH and FAITH Trial Investigators. Reliability, validity, and responsiveness of the Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index for elderly patients with a femoral neck fracture. *J Bone Joint Surg Am.* 2015; 97: 751-757.
- 20) 佐藤慎一郎, 松下宗洋, 高橋将記, 他. 膝痛を有する地域高齢者に対する教室型運動プログラムの効果. *理学療法科学.* 2016; 31: 363-369.
- 21) Oguma Y, Iida K, Yonei Y, et al. Significance evaluation of Anti-Aging QOL Common Questionnaire. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 177-185.
- 22) 長岡 功, 吉村雅文, 松永道敬, 他. 低分子化ヒアルロン酸含有食品のサッカー選手の関節痛および軟骨代謝マーカーに及ぼす効果. *日本未病システム学会雑誌.* 2012; 18: 93-97.
- 23) 波多野健二, 林田賢治, 中川聡史, 他. N-アセチルグルコサミン配合調製豆乳の変形性膝関節症に対する長期摂取時の有効性および安全性の検討. *薬理と治療.* 2006; 34: 149-165.
- 24) Matsuno H, Nakamura H, Katayama K, et al. Effects of an oral administration of glucosamine-chondroitin-quercetin glucoside on the synovial fluid properties in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2009; 73: 288-292.
- 25) 佐藤 純. 慢性疼痛と自律神経機能. *慢性疼痛.* 2009; 28: 17-22.
- 26) Yoshida M, Ando SI, Eura E, et al. Hemodynamic response during standing test after blood donation can predict the late phase vasovagal reaction. *Heart Vessels.* 2016; 31: 1997-2003.
- 27) 樋口明子, 林 俊行, 長池弘江, 他. 有痛性糖尿病性神経障害における疼痛の強さは自律神経障害の程度を反映する. *昭和医学会雑誌.* 2016; 76: 361-368.
- 28) 松下明美, 内藤直子, 峠 哲男. 分娩第 1 期における足部温電法によるリラクゼーション反応と和痛効果. *香川大学看護学雑誌.* 2012; 16: 7-17.
- 29) 奥野元子. ストレス関連疾患に対する瞑想の有効性についてのレビュー. *人体科学.* 2013; 22: 19-31.
- 30) 鬼頭和子, 鈴木啓子, 平上久美子. フットマッサージの効果に関する文献検討: 2008 年から 2013 年の国外研究の考察. *名桜大学紀要.* 2014; 19: 193-199.
- 31) 古島智恵, 井上範江, 長家智子, 他. うつむき姿勢保持に対する温電法およびマッサージによる苦痛緩和効果: 60 歳以上の健康な高齢者による検討. *日本看護技術学会誌.* 2017; 15: 235-244.
- 32) 木戸裕子, 前山和子, 田川 勇, 他. ウサギ膝関節固定による実験の変形性関節症に対する高分子量ヒアルロン酸ナトリウム (SL-1010) の作用. *薬理と治療.* 1993; 21: S393-S399.
- 33) 菊池孝紀, 山口敏二郎, 榊原康宏, 他. ウサギの装具固定による実験的変形性関節症に対する高分子量ヒアルロン酸ナトリウム (SL-1010) の治療効果. *薬理と治療.* 1993; 21: S401-S409.
- 34) 鬼頭康彦, 桂巻常夫, 田中浩和, 他. ウサギ膝関節内へのパブリン注入による実験的変形性関節症に対する高分子量ヒアルロン酸ナトリウム (SL-1010) の効果. *日本薬理学雑誌.* 1992; 100: 67-76.

- 35) 田中浩和, 鬼頭康彦, 桂巻常夫, 他. モルモット膝関節内へのパバイン注入による実験的変形性関節症に対する高分子量ヒアルロン酸ナトリウム (SL-1010) の効果. 日本薬理学雑誌. 1992; 100: 77-86.
- 36) 菊池孝紀, 伝田澄美子, 山口敏二郎. ヒアルロン酸ナトリウム (SL-1010) のウサギ関節軟骨におけるグリコサミノグリカン (GAG) の合成および遊離に対する作用. 薬理と治療. 1993; 21: S435-S441.
- 37) 村田英明, 村上恒二, 生田義和, 他. 関節軟骨細胞の基質代謝に及ぼす HA と IL-1 の影響. 中部日本整形外科学会雑誌. 1993; 36: 439-440.
- 38) Ogura M, Takabe W, Yagi M, et al. Hyaluronic acid and articular cartilage. Glycative Stress Res. 2018; 5: 12-20.
- 39) 森田充浩. 【関節破壊のバイオマーカー】 ヒアルロン酸 (HA). Keynote R・A. 2014; 2: 71-74.
- 40) Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. Dermatoendocrinol. 2012; 4: 253-258.
- 41) Zhang W, Mu H, Zhang A, et al. A decrease in moisture absorption-retention capacity of N-deacetylation of hyaluronic acid. Glycoconj J. 2013; 30: 577-583.
- 42) 安井秀一, 山名 慶. 関節軟骨の潤滑性と細胞外マトリクス. Medical Science Digest. 2011; 37: 596-600.
- 43) 近間英明. 関節潤滑に関する実験的研究 関節液蛋白およびヒアルロン酸の役割. 日本整形外科学会雑誌. 1985; 59: 559-572.
- 44) 貝山 潤, 宇月美和. 変形性膝関節症における関節液のヒアルロン酸とその性状の変化. 岩手医学雑誌. 2006; 58: 9-21.
- 45) Hiramitsu T, Yasuda T, Ito H, et al. Intercellular adhesion molecule-1 mediates the inhibitory effects of hyaluronan on interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase production in rheumatoid synovial fibroblasts via down-regulation of NF-kappaB and p38. Rheumatology (Oxford). 2006; 45: 824-832.
- 46) Nago M, Mitsui Y, Gotoh M, et al. Hyaluronan modulates cell proliferation and mRNA expression of adhesion-related procollagens and cytokines in glenohumeral synovial/capsular fibroblasts in adhesive capsulitis. J Orthop Res. 2010; 28: 726-731.
- 47) 能地 仁, 阿部里見, 小林 浩, 他. ヒアルロン酸ナトリウムの免疫調節能に関する検討. 膝. 2005; 30: 155-158.
- 48) 小林淳二. 顎関節の構造と機能に関わる基質成分. 口腔病学会雑誌. 1992; 59: 105-123.
- 49) Nishida K, Inoue H, Toda K, et al. Localization of the glycosaminoglycans in the synovial tissues from osteoarthritic knees. Acta Med Okayama. 1995; 49: 287-294.
- 50) 渋谷智明. プラタ顎関節プロテオグリカンの構造と機能に関する生化学的研究. 口腔病学会雑誌. 1996; 63: 576-592.
- 51) 岡田保典. 変形性関節症における関節軟骨破壊と再生機構: 現状と今後の展望. Functional Food Research. 2016; 12: 1-9.
- 52) Ahmed U, Anwar A, Savage RS, et al. Protein oxidation, nitration and glycation biomarkers for early-stage diagnosis of osteoarthritis of the knee and typing and progression of arthritic disease. Arthritis Res Ther. 2016; 18: 250.
- 53) Eaton CB, Sayeed M, Ameernaz S, et al. Sex differences in the association of skin advanced glycation endproducts with knee osteoarthritis progression. Arthritis Res Ther. 2017; 19: 36.
- 54) Rosenberg JH, Rai V, Dilisio MF, et al. Damage-associated molecular patterns in the pathogenesis of osteoarthritis: potentially novel therapeutic targets. Mol Cell Biochem. 2017 May 4.
- 55) Zhao J, Yu Y, Wu Z, et al. Memantine inhibits degradation of the articular cartilage extracellular matrix induced by advanced glycation end products (AGEs). Biomed Pharmacother. 2017; 1193-1198.
- 56) 古橋忠和, 三好幸二, 妹尾直樹. Sodium Hyaluronate (SPH) のウサギにおける 3 ヶ月間膝関節腔内投与による亜急性毒性試験および回復試験: (1) 全身所見. 応用薬理. 1984; 28: 1041-1057.
- 57) 鈴木啓太郎, 長野 聖, 後藤幸子. Sodium Hyaluronate (SPH) のウサギにおける 3 ヶ月間膝関節腔内投与による亜急性毒性試験および回復試験: (2) 膝関節所見. 応用薬理. 1984; 28: 1059-1069.
- 58) 三好幸二, 長谷川隆司, 仲沢政雄. Sodium Hyaluronate (SPH) のビーグル犬における 6 ヶ月間膝関節腔内投与による慢性毒性試験および回復試験: (1) 全身所見. 応用薬理. 1985; 29: 49-81.
- 59) 鈴木啓太郎, 長野 聖, 後藤 幸子. Sodium Hyaluronate (SPH) のビーグル犬における 6 ヶ月間膝関節腔内投与による慢性毒性試験および回復試験: (2) 膝関節所見. 応用薬理. 1985; 29: 83-93.
- 60) 清水憲次, 川路尚徳, 石塚 進, 他. ヒアルロン酸ナトリウム (SL-1010) のビーグル犬における 4 週間膝関節腔内投与による急性毒性試験. 薬理と治療. 1993; 21: S289-S320.
- 61) 清水憲次, 石塚 進, 秋江靖樹, 他. ヒアルロン酸ナトリウム (SL-1010) のビーグル犬における 6 ヶ月間膝関節腔内反復投与毒性試験および 13 週間回復試験. 薬理と治療. 1993; 21: S321-S363.
- 62) 佐藤稔秀, 岩増弘志. 経口ヒアルロン酸 (ヒアベスト(J)) による変形性膝関節症に対する有効性の検討. 新薬と臨牀. 2008; 57: 260-269.
- 63) 佐藤稔秀, 岩増弘志. 米国在住の変形性膝関節症患者に対する経口ヒアルロン酸 (ヒアベスト(J)) の有効性の検討. 新薬と臨牀. 2009; 58: 551-558.
- 64) 岩増弘志, 佐藤俊秀. 高純度ヒアルロン酸 (ヒアベスト(J)) の経口摂取時の膝関節痛に対する有効性および安全性の検討. 日本臨床スポーツ医学会誌. 2009; 17: 566-572.
- 65) 林ちか子, 畑山知子, 長野真弓, 他. ヒアルロン酸含有サプリメントの健常者に対する過剰摂取による安全性試験. 薬理と治療. 2009; 37: 953-961.
- 66) 高見澤菜穂子, 塩谷順彦, 長岡寛正, 他. 鶏冠由来ヒアルロン酸含有加工食品の膝関節の自覚症状に対する長期摂取時の有効性および安全性の評価: プラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験. 薬理と治療. 2016; 44: 207-217.
- 67) 長岡 功, 鈴木朝日, 黒川美保子, 他. 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. グルコサミン研究. 2013; 9: 40-47.
- 68) Yonei Y, Mizuno Y, Katagiri E. Effects of cosmetics therapy using isoflavone and pine bark extract on the skin and QOL: A double-blind placebo-controlled trial. Anti-Aging Medical Research. 2004; 1: 48-58.
- 69) Yonei Y, Takahashi Y, Matsushita K, et al. Double blind study of health claims for food containing extract of kabanoanatake (Charga: *Fuscoporia obliqua*) (RCT: randomized controlled trial). Anti-Aging Med. 2007; 4: 1-10.
- 70) Yonei Y, Takahashi Y, Shionoiri Y, et al. Evaluation of the effect of α -gel embedded mattresses as bedding on the mind and body. Anti-Aging Med. 2007; 4: 11-18.
- 71) Yonei Y, Takahashi Y, Watanabe M, et al. A double-blind, randomized controlled trial (RCT) of L-carnitine and conjugated linoleic acid-based health food with health claims. Anti-Aging Med. 2007; 4: 19-27.

- 72) Yonei Y, Takahashi Y, Takahashi H, et al. A double-blind clinical study of rokkaku reishi essence in women. *Anti-Aging Med.* 2007; 4: 28-37.
- 73) Yonei Y, Takahashi Y, Hibino S, et al. The effects of walking on quality of life and various symptoms and issues relating to aging. *Anti-Aging Med.* 2008; 5: 22-29.
- 74) Yonei Y, Takahashi Y, Hibino S, et al. Effects on the human body of a dietary supplement containing l-carnitine and *Garcinia cambogia* extract: A study using double-blind tests. *J Clin Biochem Nutr.* 2008; 42: 89-103.
- 75) Iwabayashi M, Fujioka N, Nomoto K, et al. Efficacy and safety of eight-week treatment with astaxanthin in individuals screened for increased oxidative stress burden. *Anti-Aging Med.* 2009; 6: 15-21.
- 76) Mochizuki T, Amenomori Y, Miyazaki R, et al. Evaluation of exercise programs at a fitness club in female exercise beginners using anti-aging medical indicators. *Anti-Aging Med.* 2009; 6: 66-78.
- 77) Yonei Y, Miyazaki R, Takahashi Y, et al. Anti-glycation effect of mixed herbal extract in individuals with pre-diabetes mellitus: A double-blind, placebo-controlled, parallel group study. *Anti-Aging Med.* 2010; 7: 26-35.
- 78) Hori M, Kishimoto S, Tezuka Y, et al. Double-blind study on effects of glucosyl ceramide in beet extract on skin elasticity and fibronectin production in human dermal fibroblasts. *Anti-Aging Med.* 2010; 7: 129-142.
- 79) Yonei Y, Kitano T, Ogura M, et al. Effects of health food containing *Cistanche deserticola* extract on QOL and safety in elderly: An open pilot study of 12-week oral treatment. *Anti-Aging Med.* 2011; 8: 7-14.
- 80) Yonei Y, Yagi M, Ogura M, et al. Anti-glycation activity and safety of foods containing lingonberry extract and cherry blossom extract and chewable tablets containing citric acid and calcium: A placebo-controlled randomized single-blind parallel group comparative study. *Anti-Aging Med.* 2013; 10: 21-35.
- 81) Yonei Y, Takabe W, Yagi M, et al. An open-label clinical trial of *Geranium dielsianum* extract administered for 12 weeks: Anti-glycative actions, skin quality, and intestinal environment. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 44-55.
- 82) Ogura M, Takabe W, Nagano Y, et al. Physical effects of a 12-week protocol of daily gyudon (beef bowl) ingredients consumption: Implications for fast food research. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 99-109.