

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10942

研究課題名(和文) 運動器の加齢変性に伴う機能低下に対する酸化ストレス制御の有用性の検証

研究課題名(英文) Verification of the usefulness of oxidative stress regulation for functional decline associated with age-related degeneration of locomotive organs

研究代表者

野尻 英俊 (Nojiri, Hidetoshi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：10317456

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：移動機能の障害に直結していく膝や腰の痛みには酸化ストレスが関与しているか、その制御は痛みや機能障害を改善するのかを検証した。ヒト手術検体軟骨変性部におけるスーパーオキシドの特異的上昇と内因性抗酸化酵素SODの活性低下が示され、スーパーオキシドを中心とした酸化ストレスの関与が示された。50～79歳の女性を対象に2重盲検無作為試験としてGliSODin(メロンから抽出された天然植物性SODを胃における不活化を防ぐために小麦グリザンで包んだ健康食品)を6カ月内服させたところ、JKOMスコアは改善傾向であったが有意な差がなかった。他の評価項目についてもその偏りを調整したうえで効果を解析中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は運動器における酸化ストレスがどう関わっているのか小動物を用いた基礎研究をベースに解明してきた。ヒトにおいても過剰な酸化ストレスを制御することにより運動器変性疾患の症状や機能改善が得られるものと期待される。今回、ヒト運動器組織における機能低下はSOD活性低下が原因であることが検証された。GliSODinの介入試験を行ったが、顕著な有意差を示すことができず投与期間、採取組織や評価方法などの課題が明確となった。厳密に研究対象に選択基準を設けたため、検者数が少なくなったこと、変性疾患への介入としては期間が短いことが要因と考えた。投与する抗酸化物質の選択、抗酸化制御の方法は今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：A double-blind, randomized trial of women aged 50 to 79 years with discomfort or pain in the knees and lower back was assigned to the GliSODin or placebo group and taken for 6 months to improve subjective symptoms and motor function. Analyzed. The placebo group has a locomotive syndrome 1: 5, locomotive syndrome 2:11, pre-locomotive: 6 people, GliSODin oral group is locomotive syndrome 1:10, locomotive syndrome 2:13, pre-locomotive: 1. The JKOM score tended to improve in the GliSODin group, but there was no significant difference. It is necessary to verify the effect of adjusting the bias of other evaluation items, and the analysis is currently underway.

研究分野：整形外科

キーワード：運動器 酸化ストレス GliSODin スーパーオキシド SOD 健康食品

## 1. 研究開始当初の背景

ロコモティブシンドローム(以下ロコモ)と酸化ストレスの関連性についての報告が散見され、酸化ストレス制御がロコモの予防治療介入における重要な項目の一つとして注目されている。我々は遺伝子改変マウスを用いた先行研究において酸化ストレスと骨、軟骨、骨格筋の変性との関連を調査し、過剰な酸化ストレスが骨粗鬆症、変形性関節症、サルコペニアの病因、増悪因子であることを証明してきた。運動器の加齢変性に伴う移動能力の低下は自立生活を障害し、寝たきりの原因となるため超高齢社会の本邦における最重要課題であるが、その原因や障害機序は複雑で予防法・治療法は確立していない。

## 2. 研究の目的

今回、ヒト運動器組織での酸化ストレスの病理的意義の解明と、抗酸化作用を持つ健康食品の経口投与による運動器に関連する愁訴や運動機能障害に対する効果を検証するために2つの検討を行った。近年の研究において、スーパーオキシドジスムターゼ1(SOD1)、SOD2、およびSOD3がヒト変形性関節症の軟骨で有意に減少していることが示されている。SOD活性は、SOD1、SOD2、およびSOD3の酵素能力を包括的に評価するために使用できるマーカーである。しかしながら、末期変形性関節症組織におけるSOD活性の動向は不明であったことからヒト検体を用いて検証した(研究1)。次に運動機能の低下した患者から採取した血液で体全体の酸化ストレス度と抗酸化能の状態を測定し、運動器の加齢変性や運動機能との関連性を検証した。そしてGlisodin(メロンから抽出された天然植物性SODを胃における不活化を防ぐために小麦グルテンで包んだ健康食品)を投与し抗酸化能を引き上げることにより運動機能が改善するかどうかを検証した(研究2)。

## 3. 研究の方法

(研究1)ヒトの末期変形性膝関節症患者手術検体と末期変形性股関節症患者手術検体、大腿骨頸部骨折における非変形性関節症(外傷性)検体におけるSOD活性を測定した。

(研究2)内科疾患を持つ患者は除外し、膝や腰に違和感ないしは痛みのある50~79歳の女性を対象に2重盲検無作為試験としてGlisodin内服群ないしはプラセボ内服群に割り付け、6か月間内服した。2群における膝や腰の自覚症状、機能の改善効果について解析を行なった。

#### 4 . 研究成果

(研究1) 膝の末期変形性関節症滑膜における SOD 活性が、年齢の影響を受けずに対照滑膜よりも有意に低いことを発見した。末期の膝変形性関節症の軟骨では、SOD 活性は対照群よりも有意に低かったが、加齢と SOD 活性の間に弱い負の相関が観察された。しかしながら、末期股関節変形性関節症軟骨の SOD 活性は、加齢の影響を受けずに対照群の軟骨の SOD 活性よりも有意に低かった。変形性関節症と SOD 活性の関係は、加齢と SOD 活性の関係よりも強かった。これらの結果は、関節組織における SOD 活性を直接調節することが変形性関節症の進行の抑制につながる可能性があることを示している。

(研究2) GliSODin 内服の 2 重盲検無作為試験では被検者のベースラインを解析するとプラセボ群はロコモ度 1 が 5 名、ロコモ度 2 が 11 名、プレロコモが 6 名であり、GliSODin 内服群はロコモ度 1 が 10 名、ロコモ度 2 が 13 名、プレロコモが 1 名と内服前の段階で GliSODin 群にロコモ度の高い被験者が集まった傾向にあった。今回は交絡因子の影響を排除した上での GliSODin の効果を検証すべく、主要評価項目の一つである JKOM スコアを基に、従属変数を JKOM 内服後、独立変数を JKOM 内服前、GliSODin の有無、年齢として重回帰分析(強制投入法)を行なった。統計解析ソフトは SPSS を用いた。結果、GliSODin 内服群において JKOM スコアは改善傾向であったが、有意な差がなかった。他の評価項目についても今後、その偏りを調整したうえでの効果を検証する必要がある、現在解析中である。投与期間、採取組織や評価方法など課題が明確となったが、運動機能が可逆的に反応することが判明し介入の可能性が示唆された。厳密に研究対象に選択基準を設けたため、検者数が少なくなったこと、変性疾患への介入としては期間が短いことが要因と考えた。高齢者が移動能力を維持するために介入すべきポイントが明確になった。投与する抗酸化物質の選択、抗酸化制御の方法は今後の更なる課題である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Koike M, Nojiri H, Kanazawa H, Yamaguchi H, Miyagawa K, Nagura N, Banno S, Iwase Y, Kurosawa H, Kaneko K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Superoxide dismutase activity is significantly lower in end-stage osteoarthritic cartilage than non-osteoarthritic cartilage	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0203944
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0203944	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Masuda I, Koike M, Nakashima S, Mizutani Y, Ozawa Y, Watanabe K, Sawada Y, Sugiyama H, Sugimoto A, Nojiri H, Sashihara K, Yokote K, Shimizu T	4. 巻 8
2. 論文標題 Apple procyanidins promote mitochondrial biogenesis and proteoglycan biosynthesis in chondrocytes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 7229
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-25348-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 30.Morikawa D, Nojiri H, Itoigawa Y, Ozawa Y, Kaneko K, Shimizu T.	4. 巻 2
2. 論文標題 Antioxidant treatment with vitamin C attenuated rotator cuff degeneration caused by oxidative stress in Sod1-deficient mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JSES Open Access	6. 最初と最後の頁 91-96
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jses.2017.11.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yoshida K, Itoigawa Y, Wada T, Maruyama Y, Nojiri H, Kawasaki T, Kaneko K.	4. 巻 38
2. 論文標題 Association of Superoxide-Induced Oxidative Stress With Rotator Cuff Tears in Human Patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Orthop Res.	6. 最初と最後の頁 212-218
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jor.24472.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 小池 正人, 野尻 英俊, 幡野 佐巳依, 宮川 慶, 澤 満美子, 岩瀬 嘉志, 黒澤 尚, 金子 和夫
2. 発表標題 末期膝OA患者の関節軟骨および滑膜におけるSOD活性とスーパーオキシドの挙動.
3. 学会等名 第90回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 幡野佐巳依, 野尻英俊, 小池正人, 宮川 慶, 澤 満美子, 岩瀬 嘉志, 黒澤 尚, 金子 和夫
2. 発表標題 ロコモティブシンドロームと酸化ストレスの関連性～ロコモ初診時における横断研究
3. 学会等名 第17回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小池正人, 野尻英俊, 幡野佐巳依, 宮川 慶, 澤 満美子, 岩瀬 嘉志, 黒澤 尚, 金子 和夫
2. 発表標題 末期膝OAにおけるSOD活性とスーパーオキシドの動向.
3. 学会等名 第17回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koike M, Nojiri H, Banno S, Miyagawa K, Sawa M, Iwase Y, Kurosawa H, Kaneko K
2. 発表標題 Imbalance between low sod activity and excessive superoxide occurs in end-stage OA cartilage and synovium.
3. 学会等名 OARSI (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Banno S, Nojiri H, Koike M, Miyagawa K, Iwase Y, Kurosawa H, Kaneko K
2. 発表標題 The relationship between locomotive syndrome and oxidative stress; Cross-sectional study of 66 patients with locomotive symptoms.
3. 学会等名 Cell Symposia, Gothenburg, Sweden, May 21-23, 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関