総 説

カルシウム代謝および骨粗鬆症予防の基礎および 応用に関する研究[†]

江 澤 郁 子

日本女子大学家政学部食物学科

Basic and Practical Studies on Ca Metabolism and Prevention of Osteoporosis

Ikuko EZAWA

*Department of Food and Nutrition, School of Home-Economics,
Japan Women's University, Bunkyo-ku, Tokyo 113*

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) **49**, 247~257 (1996)

Since author was fascinated by the important functions of calcium (Ca) for the regulation of intracellular metabolism, author has focused the studies on Ca metabolism. A parameter which evaluates bone strength is essential for the study of Ca/bone metabolism and the prevention of osteoporosis. Therefore, a machine for measurement of bone strength was developed. Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA : bone densitometer) is used very widely in human studies, and has proved to be safer and more accurate than other techniques. Author carried out DXA to determine whether it is suitable for the measurement of low bone mineral density (BMD) in small animals. The estrogen-deficient model rat produced by ovariectomy and the estrogen- and Ca-deficient model rat produced by ovariectomy and a low Ca diet were also evaluated to clarify whether these animal models were useful as osteoporotic models. For prevention of osteoporosis, it is necessary to take enough Ca and to carry out moderate physical activity. However, Ca intake has never been sufficient in Japan. Therefore, the effects of different Ca sources, other nutrients which affect Ca metabolism and physical activity on bone metabolism were examined. It is well known that a reaching a high peak bone mass at a young age and minimizing bone loss with aging and/or the menopause are also important for prevention of osteoporosis. Therefore, the effects of diet and daily physical activity on the BMD of pre/post menopausal women were investigated using DXA from the viewpoint of osteoporosis prevention.

Key Words Ca, Ca diet, Ca metabolism, bone mineral density, osteoporosis.

(Received July 11, 1996)

著者が、カルシウム (Ca) 代謝研究の「とりこ」になった発端は、ラットの肝および腎ミトコンドリアを用いた実験で、Ca が細胞内代謝調節に重要な役割を果たしていることに感動したことにはじまる¹⁾²⁾。

折しも、時代も、まさに高齢化社会に突入する兆しが見え、骨粗鬆症およびそれに伴う骨折の頻度の増加が懸念され始めた。また、その一方で、学童の体位は向上したにもかかわらず、体力の低下および骨折頻度の増加も問題となり始めていた。

そこで、これらの問題に取り組むために、まず動物モデルの作成、および骨強度の指標としての骨破断特性測定装置の開発を行った³⁾⁴⁾。さらに、二重エネルギーX線骨密度測定装置 (DXA 装置) による、骨密度の低い小動物のための評価法を示し⁵⁾⁶⁾、骨粗鬆症予防の研究に取り組んだ。

したがって、本研究はCa代謝および骨粗鬆症予防の基礎および応用についての一連の研究成果であり、内容は、以下の細胞レベルの基礎研究に始まり、応用研究へと五つに分類することができる。

[†] 本総説は平成8年度学会賞の受賞の対象となったものである。

1. 細胞レベルにおけるカルシウム代謝

Ca は、細胞内において多くの生化学的反応の調節に直接または間接的に作用し、細胞の代謝反応の共役者として、あるいは second messenger の一つとして、重要な役割を果たしていると考えられる。

一方、ミトコンドリアの特徴的な働きはエネルギー代謝で、この中心をなすものは酸化リン酸化反応であるが、この機構の他に、この機構に電子を受け渡す脱水素酵素と、電子を分子酸素に渡す電子伝達系を備えている。また、クレブスサイクルの酵素は、マトリクスにあると考えられているが、その例外は、コハク酸脱水素酵素で、これは、クレブスサイクルの酵素でありながらミトコンドリア内膜に存在している。このコハク酸脱水素酵素が、このような位置にあることは、ミトコンドリアにおけるエネルギー変換とその調節が、能率良くいくための重要な役割を果たしているためであると考えられた。

そこで、われわれは、ラットの肝ミトコンドリアを用い、このコハク酸脱水素酵素の活性に及ぼす、カルシウムイオン (Ca^{2+}) の影響について検討した。その結果、ミトコンドリアに Ca^{2+} を作用させることにより、著明なコハク酸酸化の賦活が示された。この賦活作用は、他の陽イオンでは再現されなかった。この測定系では DNP により電子伝達系は開放されており、反応の律速段階はコハク酸脱水素酵素となっている。したがって、 Ca^{2+} によって賦活を受ける部位はコハク酸脱水素酵素であるはずで、このことは酵素活性を直接測定することで確認された²⁾。さらに、 Ca^{2+} によるコハク酸酸化の賦

Fig. 1. Dose-response relation in Ca^{2+} -induced activation of succinate oxidation.

Experiments were performed with depleted mitochondria to air-saturated reaction medium contained 6.7 mM succinate, 0.5 mM ATP and variation amounts of CaCl_2 . The maximum rates of succinate oxidation (ordinate) are plotted as a function of the Ca^{2+} activity in the medium (abscissa). Mitochondria were added to 2 mg protein per ml.

活は Fig. 1 に示すごとく、 10^{-6} M でほぼ最大値の活性を示した。この濃度は細胞内の Ca^{2+} 濃度の変動範囲 ($10^{-5} \sim 10^{-7}$ M) に相当する。したがって、ミトコンドリアは、細胞内で起こりうる Ca^{2+} の変動に反応して、そのコハク酸脱水素酵素活性を変動させ、ミトコンドリア酸化反応に調節的役割を演じていることが示唆された²⁾。この Ca^{2+} 作用に際して Ca^{2+} とミトコンドリアとは化学量論的な関係にあった。この事実は、 Ca^{2+} 作用は Ca^{2+} とミトコンドリアの結合が前提となることを示唆するが、この考えは Fig. 2 のごとく Ca^{2+} とミトコンドリアとの結合を阻止するルセニウムレッドで、 Ca^{2+} 効果が消失することから支持された。さらにミトコンドリア内膜上の結合部位について検討した結果²⁾、low affinity sites が細胞内 Ca^{2+} 濃度変化のレセプターであり、これと Ca^{2+} との結合による内膜構造の変化がコハク酸脱水素酵素活性変化を惹起し、ついでコハク酸酸化と NADH 利用の基質の酸化の競合により、NADH 酸化および ATP 合成に変化がくるとい過程が考えられる結果を得た。これらの事実は、細胞の代謝応答に際して、 Ca^{2+} が一つの chemical messenger として働いているとする考えを支持するものである。

一方、われわれらは、ラットの腎ミトコンドリアを用い、活性型ビタミン D ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$) の産生、すなわち腎における 25-OH ビタミン D の 1-水酸化反応に細胞内

Fig. 2. Effects of various inhibitors on Ca^{2+} -induced activation of succinate oxidation.

Experiments were performed as Fig. 1, except that the additions of ATP (0.5 mM) and Ca^{2+} (0.2 mM) were separated and, when indicated, various inhibitors were added before CaCl_2 . At the point indicated by an arrow beneath inhibitors, LaCl_3 was added to 0.1 mM in experiment (I), tetracaine to 0.4 mM in (III), and ruthenium red to $5 \mu\text{M}$ in (V). Except for experiment (IV), CaCl_2 was added at the points indicated by arrows without tag. Mitochondria were added to 1 mg protein per ml. Essentially, similar results were obtained when Tris-phosphate was replaced by 20 mM Tris-HCl.

Fig. 3. Relationship between calcium concentration and the rate of *in vitro* synthesis of 1,25-(OH)₂-D₃ and 24,25-(OH)₂-D₃ in kidney mitochondria taken from the chicks of the first (A^a) and the fourth group (B).

Incubation was performed as described under Materials and Methods in the Gray's medium of 15 mM Tris-acetate, pH 7.4, 2 mM MgCl₂, 5 mM spuccinate, 0.4 mM NADP and 0.22 M sucrose. CaCl₂ was added as indicated on the abscissa except that EGTA was added to 0.5 mM for 0 concentration of calcium. Each point represents one complete experiment. Note that the rate of 1,25-(OH)₂-D₃ production and that of 24,25-(OH)₂-D₃ production was maximum at the concentration of 0.2 mM and 0.4 mM calcium, respectively.

Ca²⁺ レベルが深く関わっていることを明らかにした⁷⁾。ビタミン D は、その特徴的な生理作用を十二指腸と骨組織で発現する前に、まず肝でその 25 位が、続いて腎ミトコンドリアで 1 位または 24 位の炭素が水酸化される。この腎におけるビタミン D の二つの水酸化酵素は、いずれも腎尿細管細胞のミトコンドリアに分布していることが知られているので、われわれは食餌中の Ca とビタミン D の量をコントロールして、低 Ca 血症と高 Ca 血症のチェックを作成し、それらの動物の腎臓から一定の条件下でミトコンドリアを作成し、これに対する Ca²⁺ の添加効果を検討した。その結果、Fig. 3A に示す低 Ca 血症の動物から採った腎ミトコンドリアでは、Ca²⁺ 無添加の場合には 24-水酸化酵素の活性はほとんど発現しなかった。ところが、0.1~0.2 mM の Ca²⁺ 添加によって 1-水酸化酵素活性だけが著しく促進された。しかし 0.2 mM 以上の Ca²⁺ を加えると、1-水酸化酵素活性は急激に減少した。一方、Fig. 3B に示す高 Ca 血症の動物から採った腎ミトコンドリアでは、Ca²⁺ 添加によって逆に 24-水酸化酵素の活性が発現され、0.4 mM の Ca²⁺ 添加で最高の活性を示した。しかし、1-水酸化酵素の活性はまったく発現されなかった。このことから、低 Ca 血症の腎ミトコンドリアには 1-水酸化酵素だけが、また、高 Ca 血症の腎ミトコンドリアには 24-水酸化酵素だけが活性を発現すると想像される⁸⁾。Ca²⁺ によるビタミン

D の水酸化反応の活性化に際して重要なのは、ミトコンドリア内の Ca²⁺ である。Fig. 4 では、低 Ca 血症の動物の腎から採ったミトコンドリアの示す 1-水酸化酵素の活性を実線で示しているが、0.2 mM まで Ca²⁺ を添加していった場合の 1-水酸化酵素の活性はミトコンドリア内の Ca²⁺ の増加に比例して賦活され、この間にはミトコンドリア外の Ca²⁺ 濃度にはほとんど変化がなかった。また、過量の Ca²⁺ による 1-水酸化酵素の不活性化に際しては、主としてミトコンドリア外の Ca²⁺ 濃度が上昇していった。以上のことから、1-水酸化酵素が存在していても、ミトコンドリア内に適量の Ca²⁺ が取り込まれないと 1-水酸化酵素の活性は発現されず、活性型ビタミン D は作られないことが示唆された⁹⁾。

2. 骨強度測定装置の開発、および小動物骨密度測定法の基礎的研究

骨粗鬆症および骨折の予防・治療を目的としたとき、研究上、骨の強度の指標となるものが必要である。そこで、文部省科学研究費補助金(課題番号 548033)により、Fig. 5 の骨破断特性測定装置(飯尾電気製: DYN-1255)を開発した^{3,10)}。これは、ラット解剖時に摘出した大腿骨を用い、その周囲の軟部組織を除去後、その骨を新鮮な状態のまま、Fig. 5 に示すようにサンプル支持台に一定の条件下でのせ、骨の中央にブランジャーを作動させ、

Fig. 4. Interrelation between the 1-hydroxylase activity and the amounts of intramitochondrial calcium.

After incubation the reaction mixtures were centrifuged at $25,000 \times g$ for 10 min, and the amounts of intra- and extramitochondrial calcium were measured separately by means of an atomic absorption spectrometer.

Fig. 5. The diagrammatic presentation of "Dynagraph."

その破断記録図より破断特性（破断力、破断エネルギー等）を算出する装置である。この装置は本研究上、きわめて有効に活用でき、現在、骨代謝研究方面の分野で広く利用されている。

また、骨の強度を決定する要因の約9割は、その骨の密度であるといわれており、骨強度の測定に加え、骨密度

Fig. 6. Correlation between ash weight of excised tibia and bone mineral content as measured by QDR-1000.

Accuracy was evaluated by determining the correlation coefficient between tibial BMC, measured by QDR-1000 for comparison, and ash weight in 37 rats. The correlation was excellent ($r=0.999$) over the ash weight range of 250-600 mg.

Fig. 7. The bone mineral density of the step phantom for small animals.

The bone mineral density (BMD) of the step phantom was measured approximately 50 times for one year.

を評価することは、骨粗鬆症の予防・治療を目的とした研究を行う上で必須である。そこで、人の骨密度測定に用いられている最も精度の高い二重エネルギーX線骨密度測定装置（DXA：Hologic社製）を用い、骨密度がヒトに比べてきわめて低い小動物の骨密度測定を行うための基礎的評価法を確立した⁵⁾⁶⁾（文部省科学研究費補助金（課題番号0240484）による）。その結果、Fig. 6に示すように、DXA装置で測定した骨塩量（BMC）と、同一の骨の灰化重量とは $r=0.999$ で有意な相関を示した⁵⁾。さらに、DXA装置による骨密度測定では、対象となる骨を摘出することなく、非侵襲的に経時的に測定することが可能であり、骨密度の変化を経時的に検討することができる。そこで、小動物の骨密度測定用のPhan-

Fig. 8. The analysis of the tibial and the femoral bone mineral density.

The first cut of the tibia was made the tibiofibular junction. The next cut of the tibia was made at the upper third. The tibial proximal metaphysis (containing a high percentage of trabecular structure) is shown in A. The tibial diaphysis (mainly cortical structure) is shown in B. The first cut of the femur was made at the upper quarter, and the next cut was made at the lower quarter. The femoral proximal metaphysis and the femoral distal metaphysis (containing a high percentage of trabecular structure) is shown in D and F. The femoral diaphysis (mainly cortical structure) is shown in E.

tomを作成し、低密度条件下の日差変動を検討した。この小動物用 Phantom の密度は、 $0.144 \pm 0.000 \text{ g/cm}^2$ から $0.426 \pm 0.001 \text{ g/cm}^2$ であり、約 3 カ月間の測定における精密度 (CV%) は、0.91% ($n=44$) であった (Fig. 7)。また、大腿骨や脛骨などの長幹骨においては、その骨の骨幹部と両端の骨端部とは、性質および形状が異なる海綿骨および皮質骨の割合が異なる。したがって、骨密度の変化を正確に評価するためには骨端部と骨幹部を別々に解析する必要がある。そこで、大腿骨および脛骨の軟 X 線写真像から、Fig. 8 に示すような部位別の解析を実施している⁹⁾。DXA 法による骨密度の評価は、骨強度の評価と同様に、骨を評価するきわめて有効な手段として現在広く活用されている。

3. 実験的骨粗鬆症モデル動物の開発

骨粗鬆症は、加齢に伴う骨代謝異常の典型的な疾患である。とくに閉経後の女性においては、その骨粗鬆症の進行がエストロゲン (女性ホルモン) の減少と因果関係をもって現れ、閉経後、加齢とともにその発症頻度が増加する。したがって、人生わずか 50 年といわれた時代では、骨粗鬆症の問題はあまりなかったが、著しいスピードで迎えた人生 80 年時代の今日、この骨粗鬆症およびそ

Fig. 9. The calcium content in femur.

The bone mineral content in the tibial proximal metaphysis (by contact-microradiograph) (Five months after the ovariectomy, normal diet).

Fig. 10. The calcium content and the breaking force of the femur (two months after the ovariectomy, low calcium diet).

れに伴う骨折の頻度の増加が重大な問題となっている。

この骨粗鬆症および骨折の予防・治療の研究には、まず、できるだけ骨粗鬆症に似せた状態のモデルを作成することが重要である。その方法として、不動化あるいは脊髄神経切断によって、四肢の骨や筋肉を萎縮させた状態のモデルがあるが、著者は、ラットを用い、①卵巣摘除によりエストロゲン分泌を減少させたモデル (Fig. 9a, 9b)、および②卵巣摘除後さらに低 Ca 食で飼育したモデル (Fig. 10) を作成し、骨の脆弱性に対する予防・治療の検討を行った。

はじめに、①卵巣摘除ラットによる骨粗鬆症モデルを示す。生後 5~6 週齢のラットに、卵巣摘出術を施した後、

Ca を十分量含む固形飼料 (鶴橋農場製, F-2) を与え、5 か月間飼育した。その結果, Fig. 9 上段 (Fig. 9a) に示すように, 卵巣摘出群 (OVX 群) の大腿骨中 Ca 含量は, 偽手術の Sham 群に比べ, 有意な低値を示した。そこで, 脛骨の骨塩量をコンタクト・マイクロラジオグラフ (CMR) で比較したところ, Fig. 9 下段 (Fig. 9b) に示すように, OVX 群では, 顕著な骨塩減少が観察された。そこでこれを骨粗鬆症のモデル動物の一つとした。

つぎに, ②卵巣摘出・低 Ca 食飼育による骨粗鬆症モデルラットについて示す。ラットに卵巣摘出術を施した後, きわめて Ca 含量の少ない低 Ca 食で 2 か月間飼育した。その結果, Fig. 10 に示すように, 骨中 Ca 含量および骨破断強度のいずれにおいても, OVX 群が有意な低値を示した。そこで, これをもう一つのモデルとした。このモデルは, 現在, 骨代謝研究の上で有効なモデルとして活用されている。

現在では, これらに加えて 8 か月齢以降の経産ラットに卵巣摘出術を施したモデルなども用いている。

4. 骨粗鬆症予防における Ca 源および Ca 吸収促進因子に関する研究

1) Ca 源

骨粗鬆症の予防には, 若い時期に peak bone mass を高めておくこと, および閉経後の骨量減少をできるだけ抑制することが重要である。骨の代謝には種々の栄養因子, Ca 代謝調節ホルモン (副甲状腺ホルモン, カルシトニン, $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$), およびエストロゲン, さらに適度な身体活動など, さまざまな因子が直接または間接的に関与していることから, これらの因子すべてが重要である。なかでも栄養因子としては, 骨がコラーゲンを主体とする基質と, Ca, リン (P) を主体とする骨塩を主成分として形成されていることから, これら栄養素の不足は骨の代謝に大きな影響を及ぼすこととなる。

とくに, 骨が盛んに形成される発育期の Ca の要求量は多く, この時期に Ca が不足すれば, 当然, 骨形成に支障をきたすことになる。そこで, 離乳直後のラットを用い, 発育期における食餌中 Ca の影響を検討した。その結果, 低 Ca 食飼育ラットの骨強度が著しく低値であることが示されたり。

一方, 飽食時代を迎えた今日, ほとんどの栄養素等摂取量は所要量を上回るようになった。しかし, Ca 摂取量だけが, 未だ唯一所要量に達していない。たしかに Ca 摂取量は以前に比べれば改善されてきたが, この約 25 年間でみても横ばい状態であり, Ca がいかに摂取しにくい栄養素であるかを示唆している。このことから, どのようにして十分量の Ca を摂取するかが課題となっており, さまざまな Ca 素材に注目が寄せられている。

栄養的な意味で, Ca を考えるとき, Ca の吸収は, Ca の形態および食物として, その効果を検討することが必要である。

ミルクは Ca 給源として代表的な食品であり, 乳糖あるいはカゼインフォスホペプチド (CPP) などにより Ca 吸収が促進されることも知られている。旧ユーゴスラビアにおける調査では, Ca 摂取量の少ない地域で, 高齢者に著しい骨折率の増加がみられ, この地域ではミルクおよびミルク製品の摂取が著しく少ないことが示されていた¹⁰⁾。そこで, Ca 給源としての効果をみるために, 動物実験では Ca 含量を比較的少ない 0.3% として, 炭酸 Ca を Ca 源とする Control 食, あるいはミルクを Ca 源とするミルク食で 60 日間飼育した。その結果, ミルク食群の大腿骨中 Ca 含量および大腿骨の破断強度は, Control 食群に比べ有意な高値を示した¹¹⁾。

ミルクは優れた Ca 給源であるが, 問題は, 日本人の食生活, とくに高齢者の食生活は, 長い間の食習慣などから, ミルクの摂り方が少ないことである。そこで骨ごと食べられる小魚などが重要な Ca 供給源の一つといえる。

骨の利用ということでは, 牛骨を凍結し粉碎後, 凍結乾燥した牛骨粉末を用いて, 卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に対する Ca 源としての牛骨粉の効果を検討した。その結果, 牛骨粉食群の大腿骨中 Ca 含量および P 含量, 大腿骨破断強度のいずれもが, 炭酸 Ca を Ca 源とした Control 食群に比べ有意な高値を示した。この結果から, 牛骨粉は Ca 源として有効であることが示唆された¹²⁾。

また, 乳清 Ca についても研究を行った。乳清 (whey) は牛乳からチーズを製造した際に残るもので, この研究を行った当初 (1990 年以前) は飼料として使われる以外はほとんどが廃棄され, われわれの食生活に十分に利用されていなかった。しかしこの乳清は Ca 含量のみならず吸収率もすぐれているなど, Ca 給源としてきわめて有

Fig. 11. ΣGS/D of femur.

¹¹⁾ Mean ± SE. Significant difference for CaCO₃ group: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Fig. 12. The bone mineral density of the lumbar spine and the tibia.

Fig. 13. The bone mineral density of the lumbar spine and the tibia.

効である。そこで、われわれはこの乳清をCa源として、骨代謝に対する効果を卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットを用いて検討した。その結果、乳清Ca食群の骨密度 (Fig. 11) および骨強度は炭酸CaをCa源とするControl食群に比べて有意な高値を示し、乳清Caが骨代謝改善に有効なCa源であることが示された¹³⁾。

さらに、Ca源としてロブスター甲殻に着目し、ロブスター甲殻を乾燥し粉末にしたものをCa源として用い、骨代謝に対する効果を卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットを用いて検討した。その結果、Fig. 12に示すように、腰椎、脛骨近位部、および脛骨骨幹部のいずれの部位の骨密度も、ロブスター食群は炭酸CaをCa源とするControl食群に比べて有意な高値を示した。さらに骨強度においても有意な高値を示し、ロブスター甲殻粉末のCa源としての有用性が示唆された¹⁴⁾。

その他のCa源としては、卵殻粉末、貝殻粉末などについても研究し、これらも現在広い範囲で使用されている。

2) ペプチド

Ca代謝には、種々の栄養素が密接に関与していることはよく知られており、近年、Ca代謝に有効な素材としてペプチドが注目されている。CPPは、牛乳中のタンパク質であるカゼインを分解することによって得られる物質で、これが腸管におけるCaの吸収を促進することが報告されている。

Fig. 14. The bone mineral density of the lumbar spine and the tibia.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

そこでわれわれは、牛血ヘモグロビンから酵素法によりヘム鉄を除去した残りのグロビンに着目し、その骨代謝に対する効果を卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットを用いて検討した。その結果、グロビン食群の骨密度 (Fig. 13) および骨強度が、Control 食群に比べ有意な高値を示した。さらに、グロビンの摂取により骨の形成が促進される可能性が示唆された¹⁵⁾¹⁶⁾。

ついで豆乳および豆乳ペプチドについて検討した。大豆中のフィチン酸は、腸管におけるミネラル吸収を阻害するという報告があるが、豆乳中のフィチン酸量は、大豆中の 1/10 以下と少ないことが報告されている。そこで、まず豆乳の骨代謝に対する効果を検討した。その結果、豆乳をタンパク質源の一部として摂取した豆乳食群の骨密度および骨強度が、Control 食群に比べ有意な高値を示し、さらに豆乳食群の腸管からの Ca 吸収は阻害されることなく、むしろわずかではあるが持続的に高値を示した。そこで、豆乳を酵素分解して得られる豆乳ペプチドについても検討した。その結果、豆乳と同様に、豆乳タンパク高分子分画食群、および豆乳タンパク低分子分画食群のいずれもが、骨密度 (Fig. 14) および骨破断強度において、Control 食群に比べ有意な高値を示した。さらに、腸管からの Ca 吸収においても有意な高値を示し、豆乳中のペプチドが Ca 代謝および骨代謝に有効であることが示された¹⁷⁾。

3) その他の栄養因子

骨代謝の改善には、Ca をはじめとする各種栄養素の十分な摂取と同時に、適度な身体活動も重要である。しかし実際には高齢者にとって十分な活動量を確保すること

は、腰背痛や関節痛などのために困難である。そこで、骨のみではなく、骨および筋肉を強化する生薬として中国で用いられている杜仲樹皮抽出液に着目し、その骨および筋に対する効果を検討した。その結果、杜仲樹皮抽出液を摂取した杜仲食群の骨密度 (Fig. 15)、骨強度、筋重量が、Control 食群に比べ高値を示し、骨および筋の代謝に杜仲樹皮抽出液が有効である可能性が示唆された¹⁸⁾。

4) 薬 剤

Ca 代謝調節ホルモンといわれている副甲状腺ホルモン、カルシトニン、活性型ビタミン D ($1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$) は、密接な相互関係を有しており、その協同作用の結果、Ca 代謝が正常に維持されている。そこで、骨粗鬆症に対する薬剤による予防および治療として、カルシトニン、活性型ビタミン D について検討した。

カルシトニンは、骨塩溶出を抑制し、骨保護に作用するホルモンである。しかし加齢に伴いその分泌に減少がみられる。実験では、卵巣摘出ラットを低 Ca 食で 1 カ月間飼育した後、体重 1 kg 当り 50 mU のウナギカルシトニン (ECT) を 1 カ月間毎日投与 (大腿筋注) した。その結果、卵巣摘出により低下した大腿骨中 Ca 含量および破断力が、ECT 投与により有意に改善された。とくに興味深いことは、そのレベルが対照群 (Sham 群) に近いところまで改善されていることである³⁾。同様の結果は、サケカルシトニン (SCT) においても再現された¹⁹⁾。

また、活性型ビタミン D は、腸管からの Ca 吸収を促進すると同時に、骨代謝に重要なホルモンである。ここでは低 Ca 食で飼育しているため、 $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ 投与は、腸管からの Ca 吸収には影響なく、直接、骨代謝に対する $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ の効果を検討している。 $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ は、体重 1 kg 当り 2 ng (Low D_3) あるいは 20 ng (high D_3) を、1 カ月間経口投与した。その結果、卵巣摘出により減少した大腿骨中 Ca 含量が、high D_3 群 (20 ng/kg/day) において有意に改善された²⁰⁾²¹⁾。

5. 骨密度に及ぼす食生活および身体活動の影響についての研究

高い骨密度を獲得し、それを維持するためには、Ca をはじめとする各種栄養素の十分な摂取と同時に、適度な身体活動も重要である。

われわれは、発育期ラットに自由運動 (1 周 1 m の回転車) を負荷した実験において、自由運動群は、Ca 摂取量が非運動群に比べ少なかったにもかかわらず骨強度および骨中 Ca・P 含量が有意な高値を示したことを報告した²²⁾。このことから摂取した Ca を有効に利用するためには、適度な運動が重要であることが示唆された。

さらに、閉経後骨粗鬆症に対する運動の効果を検討す

Fig. 15. The bone mineral density of the lumbar spine and the tibia.

Fig. 16. The calcium content in the femur.

The contact-micro-radiograph of the mid-frontal longitudinal section of tibia.

るために卵巣摘出ラットを用い、自由運動（1周1mの回転車）の効果を検討した。その結果、卵巣摘出による骨塩減少および骨強度の低下が自由運動により著しく抑制されることを観察し（Fig. 16）、骨粗鬆症の予防としての運動の効果を確認した²⁸⁾。また、8カ月齢の成熟雌ラットにおいても、卵巣摘出したOVX群および偽手術のSham群のいずれにおいても、自由運動の負荷による骨強度、骨密度（Fig. 17）、筋重量の増加が観察され、さらにFig. 18に示すように、加齢に伴うCa吸収の減少が自由運動によって抑制されることが示された²⁴⁾²⁵⁾。

また、ヒトにおいて、骨密度に対する食生活および身体活動の影響について検討を行った。文京区在住の40歳から60歳の健康女性を対象として、腰椎骨密度測定、身体計測、3日間の食事調査、およびアンケート調査を行った。この研究では、DXA装置を用い（文部省科学研究費補助金（課題番号02404084）による）対象者の骨密度を測定した。その結果、現在運動習慣のある対象者は、まったく運動習慣のない対象者に比べ骨密度が有意な高値を示し、また、食生活および身体活動に対する意識の高い者ほど骨密度が高いことが示された。このことから、

Fig. 17. The bone mineral density of the lumbar spine and the tibia.

Fig. 18. The intestinal calcium absorption.

Sham : sham operation, OVX : ovariectomy, M : month, ●—● : control group, ●---● : running group, Significant difference between control and running groups. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

閉経および加齢に伴う骨量減少の抑制には、食生活および身体活動に対する意識を高くもち、バランスのとれた食生活および適度な運動を実践することが重要であることが示唆された²⁶⁾。

また、前述のように、関節痛などを訴える高齢者にとっては、歩行すら困難なのが現状である。そこで、われわれは足への重力の負担のかからない水中運動に着目し、まず卵巣摘出した骨粗鬆症モデルラットに水中運動を負

Fig. 19. The breaking energy of the femur.

Fig. 20. The bone mineral density (BMD, Z%) of the lumbar spine (L1-4) (Mean ± SE).

The data were compared among the three groups by Student's *t*-test. In the Veterans group, BMD (Z%) was significantly higher than in the Newcomers and Non-exercisers groups. (a) Non-exerciser, (b) Newcomer, (c) veteran.

荷し、骨代謝への影響を検討した。その結果、卵巣摘出による骨塩減少および骨強度低下が自由運動と同様に水中運動の負荷によっても抑制されることが示された (Fig. 19²⁷⁾)。

さらに、骨粗鬆症の予防を目的として、健康な閉経後の日本人女性を対象に、骨塩減少に対する温水プール浴 (温水中で泳ぐのではなく、歩くことを目的としている) の効果を横断的および縦断的に検討した。その結果、横断研究において、温水プール浴を平均3年間継続している継続者群の腰椎骨密度は、新規に温水プール浴を開始

Fig. 21. The rate of change in the bone mineral density (BMD, Z%) of the lumbar spine (L1-4) (Mean ± SE), was measured using the same method as the cross-sectional study, one year after the initial measurement. (a) Non-exerciser, (b) Newcomer, (c) veteran, After a year.

した温水プール浴歴が1年未満の新規者群の骨密度、あるいはまったく運動習慣のない非運動群の骨密度に比べ有意な高値を示した (Fig. 20)。さらに、1年後において、同じ対象者の一部に対し骨密度測定を行い、縦断的に検討を行った結果、非運動群においては骨密度の減少傾向がみられたが、新規者群および継続者群のいずれにおいても、1年後の骨密度は増加傾向が認められた (Fig. 21)。さらに、温水プール浴を行っている対象者に対し日常生活に関するアンケート調査を行った結果、健康および身体活動に対する意識が高くなったと答えた者が多く、温水プール浴を継続することは、骨塩減少の抑制に有効であり、日常生活における身体活動量の増加、および健康に対する意識の向上、すなわち QOL の向上に寄与していることが示唆された²⁸⁾。

6. ま と め

以上、生体内における Ca の重要な役割の一端を示したにすぎないが、現在、さらに Ca 代謝、骨形成・骨吸収のメカニズムを明らかにすべく基礎的研究をすすめている。一方、ますます高齢化社会となり、骨粗鬆症予防・治療が急務とされる現社会において、本症予防のための基礎的研究および応用研究を行うとともに、その成果を広く社会に還元すべく励む所存であることを付記する。

稿を終えるにあたり、Ca との出会いに始まり、Ca 代謝研究でご指導を賜った元東京大学医学部内科学教授・現癌研究所病院長尾形悦郎先生に心から感謝いたします。また、ビタミン D の研究でご指導いただいた昭和大学歯学部生化学教授須田立雄先生、ならびに、常に精力

的に研究に参加された日本女子大学家政学部食物学科栄養学研究室のスタッフに心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Ezawa, I. and Ogata, E. : *J. Biochem.*, **77**, 427 (1977)
- 2) Ezawa, I. and Ogata, E. : *J. Biochem.*, **85**, 65 (1979)
- 3) 江澤郁子, 川野辺由美子, 宮坂順子, 尾形悦郎 : 骨代謝, **15**, 23 (1982)
- 4) 江澤郁子, 岡田玲子, 野崎幸久, 尾形悦郎 : 栄養と食糧, **32**, 329 (1979)
- 5) Igarashi, C. and Ezawa, I. : *J. Bone Miner. Metab.*, **11**, 23 (1993)
- 6) Omi, N. and Ezawa, I. : *Bone*, **17**, 163S (1995)
- 7) Suda, T., Horiuchi, N., Sasaki, S., Ogata, E., Ezawa, I., Nagata, N. and Kimura, S. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **54**, 512 (1973)
- 8) Horiuchi, N., Suda, T., Sasaki, S., Ezawa, I., Sano, Y. and Ogata, E. : *FEBS Lett.*, **43**, 353 (1974)
- 9) Suda, T., Horiuchi, M., Sasaki, S., Ezawa, I. and Ogata, E. : *Excerpta Med. Int. Cong. Ser.*, **346**, 411 (1974)
- 10) Matkovic, V., Kostial, K., Simonovic, I., Buzina, R., Brodarec, A. and Nordin, B.E.C. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 540 (1979)
- 11) 江澤郁子 : 家政誌, **32**, 37 (1981)
- 12) 江澤郁子, 荒井富佐子 : 家政誌, **34**, 555 (1983)
- 13) 五十嵐千恵, 江澤郁子, 尾形悦郎 : 栄養誌, **43**, 437 (1990)
- 14) Omi, N., Morikawa, N. and Ezawa, I. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **38**, 555 (1992)
- 15) 麻見直美, 森川尚美, 星名 綾, 江澤郁子 : 栄養誌, **45**, 423 (1992)
- 16) Omi, N., Gaseki, M., Oida, S., Sasaki, S. and Ezawa, I. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **40**, 443 (1994)
- 17) Omi, N., Aoi, S., Murata, K. and Ezawa, I. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **40**, 201 (1994)
- 18) Jiu, L.J., Morikawa, N., Omi, N. and Ezawa, I. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **40**, 261 (1994)
- 19) Takahashi, H., Shimazawa, E., Saegusa, E., Iizuka, K., Ezawa, I. and Ogata, E. : *Jpn. Pharm. Ther.*, **13**, 1513 (1984)
- 20) 江澤郁子, 川野辺由美子, 松本俊夫, 尾形悦郎 : 日骨代謝誌, **2**, 107 (1984)
- 21) Matumoto, T., Ezawa, I., Morita, K., Kawanobe, Y. and Ogata, E. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **31**, S61 (1985)
- 22) 江澤郁子, 荒井富佐子 : 家政誌, **33**, 614 (1982)
- 23) 繁田信恵, 山田あずさ, 江澤郁子 : 家政誌, **37**, 337 (1986)
- 24) 麻見直美, 森川尚美, 星名 綾, 五十嵐千恵, 江澤郁子 : 栄養誌, **45**, 423 (1992)
- 25) Omi, N., Morikawa, N. and Ezawa, I. : *Bone Miner.*, **24**, 211 (1994)
- 26) 戸田 歩, 塚原典子, 江澤郁子 : 栄養誌, **46**, 387 (1993)
- 27) 森田恵子, 江澤郁子 : 家政誌, **40**, 765 (1989)
- 28) Tsukahara, N., Toda, A., Goto, J. and Ezawa, I. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **40**, 37 (1994)

(1996年7月11日受理)