

乳飲料およびビタミンDサプリメントの併用摂取における アスリートの疲労骨折予防効果の検討

学校法人立命館：藤田 聡

要 旨

本研究ではアスリートに観察される疲労骨折を栄養摂取により予防できるか否かを検討するために、豊富なカルシウムを含み、疲労骨折リスクの低下が示されている乳飲料とカルシウム代謝調節だけでなく、破骨細胞分化誘導能を持つ炎症性サイトカインの抑制効果を持つビタミンDサプリメントを単回の高強度運動前に併用摂取させ、骨代謝に及ぼす影響を検証した。さらに長期臨床試験において、アスリートにおける骨代謝を改善し、疲労骨折を予防できるか否かについて検討を行った。

一過性運動実験においては、 $75\% \dot{V}O_2\max$ に相当する走速度での60分間のトレッドミル運動を実施した。被験者は、運動の前日にビタミンDサプリメント(100,000 IU) 摂取および運動1時間前から乳飲料を摂取する群(MK+D)、プラセボと乳飲料を摂取する群(CON) およびプラセボ摂取群(CON) の3群に分け、運動前後の副甲状腺ホルモン(PTH)、腫瘍性壊死因子 α (TNF- α)、骨吸収マーカー(CTX) および血中ビタミンD(25(OH)D) を測定した。長期介入実験においては、6か月間毎日、乳飲料およびビタミンDサプリメント(1000 IU) を摂取する群(MKD) および対照群(CON) の2群に分け、介入前、3か月後、6か月後に測定を行い、PTH、TNF- α 、CTX および25(OH)D 並びに骨密度を測定した。

一過性の運動前の乳飲料およびビタミンDサプリメントの摂取は血中のカルシウム濃度を高め、PTH分泌を抑制することで骨吸収を抑制した。また、長期間の介入においては、炎症性サイトカインであるTNF- α の抑制が認められた。したがって、乳飲料およびビタミンDサプリメントの併用摂取は、PTH およびTNF- α の抑制を介して骨量維持に関与する可能性が考えられた。しかし、長期実験において骨密度への効果が認められていないことや、疲労骨折の予防効果については検討できていない。したがって、介入期間や乳飲料およびビタミンDの摂取量の調整等、今後さらなる検討が必要である。

緒言

運動は骨の健康と密接に関わり、特に荷重のかかる運動は、生涯を通じて骨に有益な効果を持つ。したがって、高齢期の骨粗鬆症予防の観点からも、若年期から運動習慣を持つことが推奨されている。しかし、一部の激しいスポーツ活動を行うアスリート、特に陸上長距離選手は、低骨密度や疲労骨折の発症率が高いことが報告されている¹⁻³⁾。疲労骨折の発症は選手生命を脅かすものの、明確な予防策は未だ示されていない。

疲労骨折の予防法として栄養介入があげられる。女子ランナーを対象とした2年間のコホート研究において、カルシウム、ビタミンDおよびタンパク質を含む乳製品の摂取量が多いランナーは疲労骨折の発症率が低いことが示されている⁴⁾。また近年、血中ビタミンD濃度の高値が疲労骨折リスクを低下させることが報告されており⁵⁾、これは濃度依存的に影響することが示されている。このように、特定の栄養素および食品の摂取は、疲労骨折予防に対して有効な手段となる可能性があるが、これらの栄養素が運動によって変化する骨代謝に対してどのように作用しているのか、また、長期介入における疲労骨折抑制の機序も不明な点が多い。

骨は、常に骨吸収と骨形成を繰り返し作り変えられており、これを骨リモデリングという。疲労骨折の発症時には、過度な繰り返しの運動により、恒常的な骨リモデリングが破綻し、骨吸収が増加すると考えられている。骨吸収の増加は、特に強度の高い長時間の運動時に見られる。Scott et al.⁶⁾ は、最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_{2max}$) の55%、65%、および75%強度に相当する走速度で60分間のトレッドミル運動を実施し、運動強度が骨代謝に及ぼす影響を比較した。その結果、運動後の骨吸収マーカー (CTX) は、55%および65% $\dot{V}O_{2max}$ 強度と比較して、75% $\dot{V}O_{2max}$ 強度で有意に増加することが認められた。また、運動中の骨吸収を増加させる因子として、副甲状腺ホルモン (PTH) があげられる。PTHは血中カルシウム濃度を維持するホルモンであるため、運動によって起こる血中カルシウム濃度の低下がPTH分泌を惹起し、骨吸収を促進することで血中カルシウム濃度を維持すると考えられている⁷⁾。Scott et al.⁶⁾ の研究においても、運動後のPTHは55% $\dot{V}O_{2max}$ および65%強度と比較して、75% $\dot{V}O_{2max}$ 強度で有意に増加することが認められた。これらのことから、強度の高い長時間運動では、PTH分泌の増加により、骨吸収が促進する可能性が考えられている。一方で、強度の高い運動によって増加する炎症性サイトカインは、破骨細胞形成を促進し骨吸収を増加させることが知られている。先行研究において、炎症性サイトカインであるTNF- α は高強度運動後に増加し、骨吸収マーカーの増加量と正の相関が認められている⁸⁾。

これらに対して、75% $\dot{V}O_{2max}$ 、60分間のトレッドミル運動の開始60分前よりカルシウムを豊富に含んだ飲料 (カルシウム総量1g) を15分毎に摂取させたところ、PTHの抑制が認められたことが報告されている⁹⁾。しかし、骨吸収マーカーに有意な低下は認められていない。

また、この実験は、PTHの分泌応答に焦点を当てているため、炎症性サイトカインを解析していない。さらに、疲労骨折リスクとなる血中ビタミンD濃度の低値は、PTHおよび炎症性サイトカイン分泌を増加させるため、血中ビタミンD濃度は運動によって変化するPTHや、炎症性サイトカインの分泌に影響を与える可能性が推測される。

しかし、運動中の骨代謝およびカルシウム代謝を検討した多くの先行研究は、血中ビタミンD濃度が正常な者を対象としている。したがって、骨吸収増加因子となる炎症性サイトカインや血中ビタミンD濃度を含めた包括的な評価が必要である。

本研究の目的は、1) アスリートに観察される疲労骨折を栄養摂取により予防できるか否かを検討するために、豊富なカルシウムを含み、疲労骨折リスクの低下が示されている乳飲料とビタミン D サプリメントを単回の高強度運動前に併用摂取させ、骨代謝に及ぼす影響を検証すること。さらに、2) 単回摂取での結果を長期臨床試験に応用し、アスリートにおける骨代謝を改善することで疲労骨折を予防できるか否かについて検証することとした。

実験方法

1. 高強度運動時のビタミン D と乳飲料摂取による骨吸収抑制効果の検討

1-1. 対象者

健常男性 10 名 (22.4 ± 3.0 歳) を対象とした。被験者の選択基準は、運動習慣を有し、本実験のトレッドミル運動を実施できる者とした。除外基準は、(1) 試験食品摂取開始前 1 ヶ月間に、本研究に影響を及ぼす可能性のある医薬品、医薬部外品、カルシウムやビタミン D 含有のサプリメントおよび健康食品を常用していた者、(2) 喫煙者、(3) 重篤または進行性の持病や症状を有する者、(4) 骨代謝に影響する疾患や薬物を服用している者とした。また、本実験への参加に先立ち、被験者には本研究の目的、内容について十分な説明をし、十分に理解を得たうえで実験参加の同意を得た。

1-2. 試験食

試験食は、ビタミン D サプリメント 2 錠 (D3-50、Cholecalciferol; Vitamin D3 50,000 IU、Bio Tech Pharmacal, Inc)、プラセボ (デキストリン) および乳飲料 (ザバスミルク、株式会社明治; エネルギー 107 kcal、タンパク質 10.0 g、脂質 3.2 g、炭水化物 9.6 g、食塩相当量 0.22 g、カルシウム 315 mg、ビタミン B₆ 0.65 mg) とした。

1-3. 実験方法

本研究は、シングルブラインドプラセボコントロール試験とした。実験プロトコルを図に示した。被験者は (1) ビタミン D サプリメント+乳飲料摂取群 (MK+D)、(2) 乳飲料摂取群 (MK)、(3) コントロール群 (CON; 摂取なし) の 3 群に分けた。運動課題は 75% $\dot{V}O_2$ max に相当する走速度で 60 分間のトレッドミル運動を実施した。ビタミン D サプリメント (あるいはプラセボ) は前日に摂取し、実験当日の運動 60 分前より 15 分毎に乳飲料を 1 回 120 ml、総量として 600 ml (カルシウム 945 mg) 摂取させた (図 1)。それぞれ測定項目は、副甲状腺ホルモン (PTH)、腫瘍性壊死因子 α (TNF- α)、I 型コラーゲン架橋 C コテロペプチド (CTX; 骨吸収マーカー) および 25 ヒドロキシビタミン D (25(OH)D) とし、pre (運動前)、post (運動直後)、r1h (運動 1 時間後)、day1 (1 日後) の 4 ポイントで採血を行った。単回のビタミン D サプリメントの摂取量は Rossini et al.¹⁰⁾の研究に基づき、単回摂取でも血中の 25(OH)D が有意に増加する最低量 100,000 IU に設定した。摂取タイミングは、運動課題前日の朝食後 (9:00 まで) に摂取するように指示した。

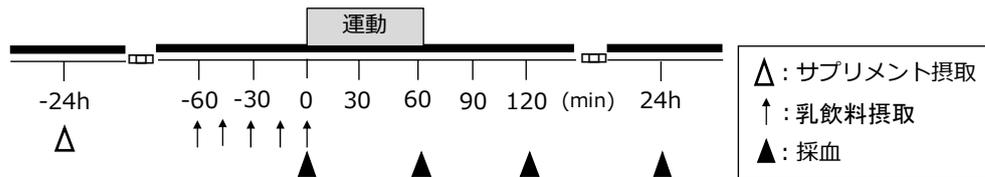


図 1. 実験プロトコル

75% $\dot{V}O_2\text{max}$ 強度の走行速度の算出は、事前に次の手順で行った。はじめに最大下での酸素摂取量測定を行った。トレッドミルを用いて、個人に合わせた 5 段階の各速度における走行時の酸素摂取量を測定した。各速度の走行時間は 4 分間とした。これらにより測定した酸素摂取量と速度を用いて回帰式を作った。次に $\dot{V}O_2\text{max}$ を測定した。予想最大心拍数 (220-年齢) の 70%に達する速度で走行し、斜度を 2 分ごとに 2%ずつ増加させた。オールアウトの条件は、(1) 酸素摂取量のレベリング、(2) 呼吸交換比 1.10 以上、(3) 最大心拍数の 90%以上のうち 2 つの条件を満たした場合とした。最大下での酸素摂取量測定時に作成した回帰式に最大酸素摂取量を代入し、75% $\dot{V}O_2\text{max}$ 強度の走速度を算出した。以上の測定により運動課題の速度を決定した。

1-4. 分析方法

(1) 血液検査

採血は空腹状態で腕静脈より行った。採血回数はトレッドミル pre、post、r1h、day1 の 4 回とし、採血量は 1 回 15 ml、総採血量は 120 ml であった。採取した血液は遠心分離を行い、 -20°C で冷凍保存した。TNF- α (Quantikine® ELISA、R&D systems、Inc.、USA)、CTX (フレライザ® β クロスラプス®-N、富士レビオ株式会社) および 25(OH)D (25-OH Vitamin D Xpress ELISA Kit、Immundiagnostik AG、Germany) を酵素結合免疫吸着検定法 (enzyme-linked immunoassay: ELISA 法) を用いて測定した。PTH は、電気化学発光免疫測定法 (ECLIA) を用いた測定を株式会社メディックへ委託した。イオン化カルシウム (iCa) は、iSTAT 1 (Abbott Point of Care Inc.、Japan) を用いて測定した。

(2) 生活習慣アンケート

疾病履歴、怪我歴、医薬品や健康食品の摂取状況、などの確認をした。

1-5. 統計解析

各数値は平均値 \pm 標準偏差で示した。各指標の変化量は、pre からの変化量を示した。一元配置分散分析は、MK+D、MK、CON の各項目の比較に用いた。全ての生化学データにおける時間 (pre、post、r1h、day1) および条件 (MK+D、MK、CON) を二元配置分散分析により比較した。交互作用が見られた場合は Bonferroni 法を用いて多重比較を行った。また、Pearson の相関係数を用いて、各指標の相関関係を検討した。統計的有意水準は 5%とした。また、10%以下は傾向とした。統計解析は IBM SPSS Statics Version 24.0 for Microsoft Windows を用いた。

2. 長期のビタミンD添加乳飲料摂取による疲労骨折予防効果の検討

2-1. 対象者

高校生女子長距離選手 29 名（年齢； 16.4 ± 0.6 歳）を対象とした。被験者には、研究期間中は通常の生活を維持させるとともに、次の事項を順守するように指導した。

(1) 食事、飲み物および嗜好品に関する事項

- ① 日常範囲を大きく逸脱する過度な摂食や過食を控える。
- ② 飲料の摂取は、緑茶、コーヒーなど、摂取量や回数は自由とするが、通常摂取している量を超えないようにする。
- ③ 研究期間中の食事は、原則として自由とするが、不規則な摂取は避け、通常摂取している量を超えないように指示する。また、採血日は朝食を摂取せずに採血をするようにする。

(2) 医薬品、健康食品などに関する事項

- ① 本研究に影響を及ぼす可能性があるサプリメント、健康食品、医薬品（一般医薬品を含む）または医薬部外品は、研究開始以降、摂取終了時まで使用や摂取を禁止する。
- ② 近隣の医療機関を受診した場合、医薬品を使用した場合は、速やかに研究責任者に連絡する。

(3) その他の禁止事項および注意事項

- ① 試験食品摂取期間中、試験食品は毎日規定量を指示通りに摂取する。
- ② 何らかの理由で検査日に来られなくなった場合は、速やかに研究責任者に連絡する。
- ③ 大きな生活の変化は、可能な限り控える。

2-2. 試験食

試験食は、ビタミンDサプリメント（ネイチャーメイド、ビタミンD 25 μg ）を1日1錠、夕食後および乳飲料（ザバスミルク、株式会社明治；エネルギー107 kcal、タンパク質 10.0 g、脂質 3.2 g、炭水化物 9.6 g、食塩相当量 0.22 g、カルシウム 315 mg、ビタミン B₆ 0.65 mg）を練習1時間前または各自のタイミングで摂取させた。

2-3. 実験方法

高校生女子長距離選手を対象とした、長期間（6ヶ月間）の介入実験を行った。被験者は、乳飲料+ビタミンDサプリメント群（MKD）および対照群（CON）に分けた。介入の前後において、DXA法による骨量測定、加えて、介入前（pre）、3ヶ月後（12 wk）、介入後（post）において、採血、月経状態を確認するための質問紙調査を行った。

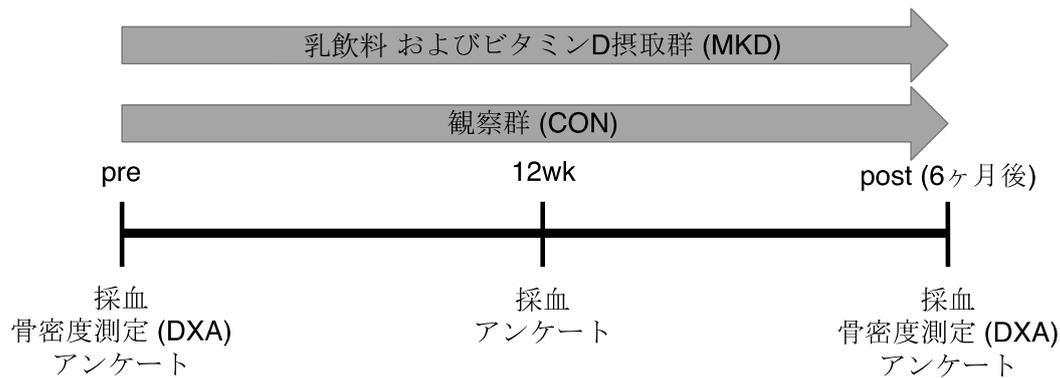


図 2. 実験プロトコル

2-4. 分析方法

(1) 血液検査

採血は早朝空腹状態（8:00~10:00）で腕静脈より行った。採血回数1回で、採血量は1回9ml、総採血量は27mlであった。採取した血液は遠心分離を行い、 -20°C で冷凍保存した。TNF- α (Quantikine® ELISA、R&D systems、Inc.、USA)、骨吸収マーカー (CTX; フレライザ® β クロスラプス®-N、富士レビオ株式会社) および 25(OH)D (25-OH Vitamin D Xpress ELISA Kit、Immundiagnostik AG、Germany) を酵素結合免疫吸着検定法 (enzyme-linked immunoassay: ELISA 法) を用いて測定した。PTH は、電気化学発光免疫測定法 (ECLIA) を用いた測定を株式会社メディックへ委託した。

(2) 骨密度測定

X線骨密度測定装置 (Lunar iDXA、GEヘルスケアジャパン社製) を用いて、二重エネルギーX線吸収測定法 (DXA法) により、BMD (両腕、両足、脊椎、骨盤、頭を除いた全身 [Total bone less head ; TBLH])、非脂肪量および体脂肪率を測定した。FFMは、体内の筋肉、水分、臓器、血液を含み、主に筋肉量の指標 (特に、四肢) として用いられている。

2-5. 統計解析

各数値は平均値 \pm 標準偏差 (SD) で示した。各指標の変化量は、preからの変化量を示した。MKDおよびCONの各項目の比較には、対応のないt検定を用いた。全ての生化学データにおける時間 (pre、12wk、post) および条件 (MKD、CON) を二元配置分散分析により比較した。交互作用が見られた場合はBonferroni法を用いて多重比較を行った。また、Pearsonの相関係数を用いて、各指標の相関関係を検討した。統計的有意水準は5%とした。また、10%以下は傾向とした。統計解析はIBM SPSS Statics Version 24.0 for Microsoft Windows (IBM corp.、Tokyo、Japan) を用いた。

結果

1. 高強度運動時のビタミンDと乳飲料摂取による骨吸収抑制効果の検討

1-1. 被験者特性

被験者特性を表 1 に示した。MK+D は、CON ($P < 0.01$) および MK ($P < 0.01$) と比較して有意に 25(OH)D 濃度が高かった。

表 1. 被験者特性

	CON (n = 9)	MK (n = 5)	MK+D (n = 5)
年齢	20.0 ± 1.9	23.8 ± 3.3 ^a	21.0 ± 2.0
身長 (cm)	170.2 ± 3.9	171.3 ± 5.7	171.6 ± 8.1
体重 (kg)	57.7 ± 4.5	62.1 ± 7.5	60.7 ± 5.3
BMI (kg/m ²)	19.9 ± 1.1	21.1 ± 2.2	20.6 ± 1.3
体脂肪 (%)	11.0 ± 1.5	13.2 ± 2.6	11.4 ± 3.1
骨格筋量 (kg)	29.2 ± 2.3	30.6 ± 3.1	30.7 ± 3.3
$\dot{V}O_2$ max (ml/min/kg)	62.5 ± 7.6	59.7 ± 3.8	59.9 ± 3.8
速度 (km/h)	13.7 ± 2.1	12.9 ± 1.2	14.1 ± 1.9
25(OH)D (ng/ml)	25.0 ± 4.2	22.4 ± 5.7	33.8 ± 1.5 ^{a, b}

a; vs. CON ($P < 0.01$), b; vs. MK ($P < 0.01$)

1-2. イオン化カルシウム (iCa)

iCa の濃度変化は、CON および MK+D に条件の主効果が認められた ($F(2, 32) = 3.296$, $P = 0.05$) (図 3-A)。しかし、群間に交互作用は認められなかった。また、pre からの変化量についても、群間に有意な差は認められなかった (図 3-B)。

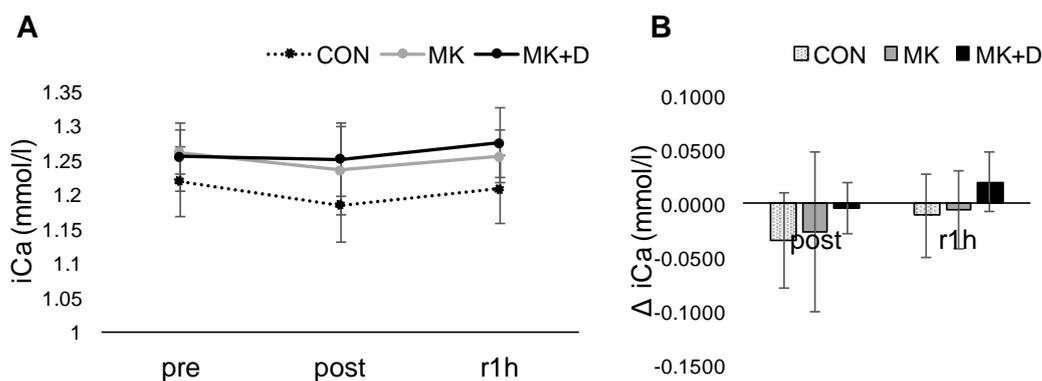


図 3. iCa の経時変化 (A) と pre からの変化量 (B)

1-3. 副甲状腺ホルモン (PTH)

PTHの濃度変化は、CONおよびMK+Dに条件の主効果が認められた ($F(2, 16) = 4.617$, $P = 0.03$) (図 4-A)。しかし、群間に交互作用は認められなかった。preからの増加量をそれぞれのタイムポイントで比較した場合、1日後 (day1) において、CONと比較してMK+Dは有意な増加が認められた ($P = 0.03$) (図 4-B)。

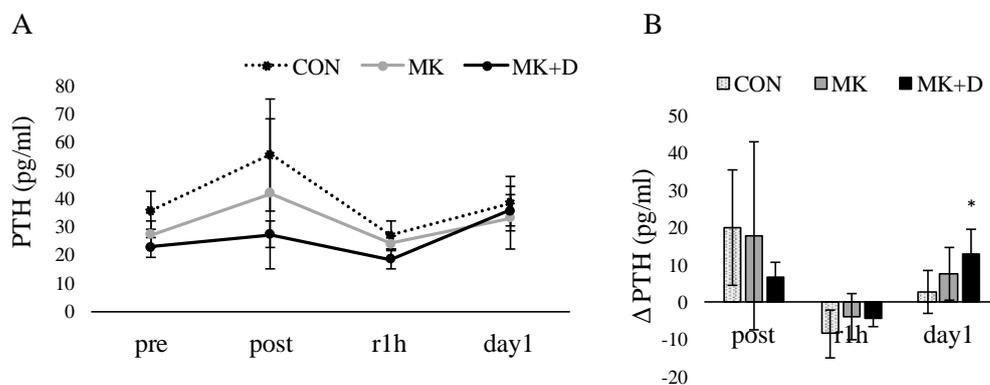


図 4. PTH の経時変化 (A) と pre からの変化量 (B)

* $P < 0.05$ vs. CON

1-4. 腫瘍性壊死因子- α (TNF- α)

TNF- α の濃度変化は、時間の主効果 ($F(3, 48) = 20.801$, $P < 0.01$)、条件の主効果 ($F(2, 16) = 7.194$, $P < 0.01$) および交互作用 ($F(6, 48) = 3.565$, $P < 0.01$) が認められた。下位検定の結果、post ($P < 0.01$)、r1h ($P = 0.01$)、day1 ($P < 0.01$) において、MKはCONと比較して有意に高値を示し、day1において、MKはMK+Dと比較して高値を示した ($P = 0.03$) (図 5-A)。また、MKおよびMK+Dにおいて、post (MK; $P < 0.01$, MK+D; $P < 0.01$) およびr1h (MK; $P < 0.01$, MK+D; $P < 0.01$) はpreと比較して有意に高値を示した。preからの増加量をそれぞれのタイムポイントで比較した場合、postにおいて、MK ($P < 0.01$) およびMK+D ($P = 0.04$) は、CONと比較して有意な増加が認められ、r1hにおいて、MKはCONと比較して有意な増加が認められた ($P = 0.03$)。

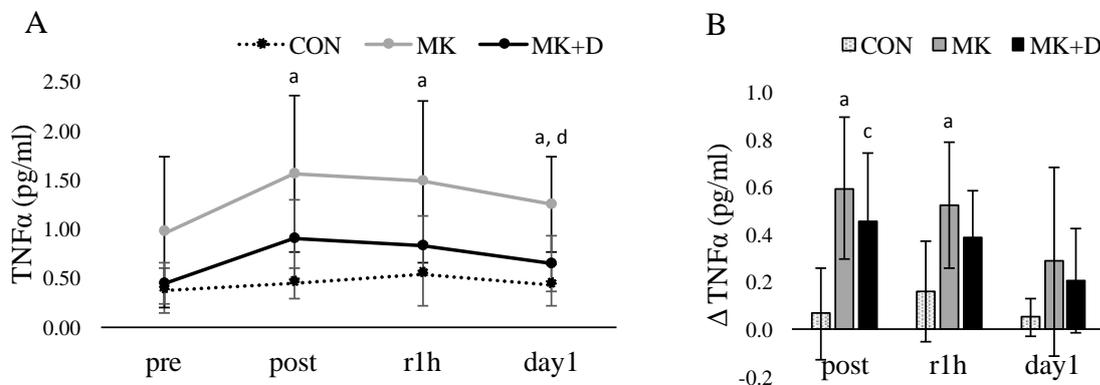


図 5. TNF- α の経時変化 (A) と pre からの変化量 (B)

a; MK vs. CON ($P < 0.05$), b; MK vs. MK+D ($P < 0.05$), c; MK+D vs. CON ($P < 0.05$)

1-5. I型コラーゲン架橋 C コテロペプチド (CTX)

CTX の濃度変化は、時間の主効果 ($F(3, 48) = 17.679$, $P < 0.01$)、条件の主効果 ($F(2, 16) = 10.819$, $P < 0.01$) および交互作用 ($F(6, 48) = 4.677$, $P < 0.01$) が認められた。下位検定の結果、pre、post、r1h、day1において、MKはCONと比較して有意に低値を示し ($P < 0.01$)、r1hにおいて、MK+DはCONと比較して有意に低値を示した ($P < 0.01$)。また、CONにおいて、preと比較してpostで有意に低下した ($P = 0.046$)。MKは、postと比較してday1で有意に増加した ($P = 0.037$)。MK+Dは、preと比較して、post ($P = 0.046$) および r1h ($P < 0.01$) で有意に低下し、day1はpost ($P < 0.01$) および r1h ($P < 0.01$) と比較して有意に増加した (図 6-A)。preからの増加量をそれぞれのタイムポイントで比較した場合、r1hにおいて、MK+DはCONと比較して有意に低下した ($P < 0.01$) (図 6-B)。

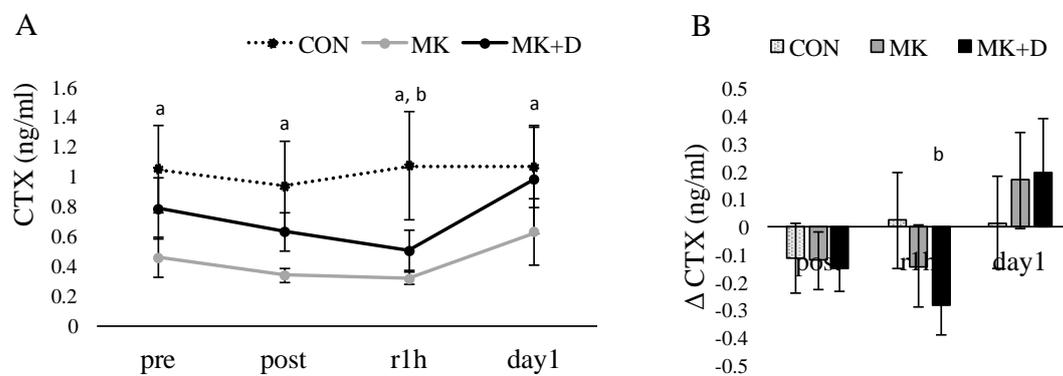


図 6. CTX の経時変化 (A) と pre からの変化量 (B)
a; MK vs. CON ($P < 0.01$), b; MK+D vs. CON ($P < 0.01$)

1-6. 各指標の変化の関連性

25(OH)D 濃度は、pre から post の Δ PTH と有意な負の相関が認められ ($r = -0.544$ 、 $P = 0.02$ 、図 7-A)、pre から post の Δ iCa と正相関の傾向が認められた ($r = 0.417$ 、 $P = 0.08$)。また、PTH および iCa の pre から post の変化量には、有意な負の相関が認められた ($r = -0.854$ 、 $P < 0.01$ 、図 7-B)。さらに、運動 1 時間後(r1h) の CTX と iCa の濃度に負の相関 ($r = -0.548$ 、 $P = 0.02$ 、図 7-C)、運動 1 時間後 (r1h) の CTX と運動後 (post) の PTH の濃度に正の相関 ($r = 0.577$ 、 $P = 0.01$)、pre から r1h の Δ CTX と pre から post の Δ PTH に正の相関 ($r = 0.5$ 、 $P = 0.03$ 、図 7-D) が認められた。

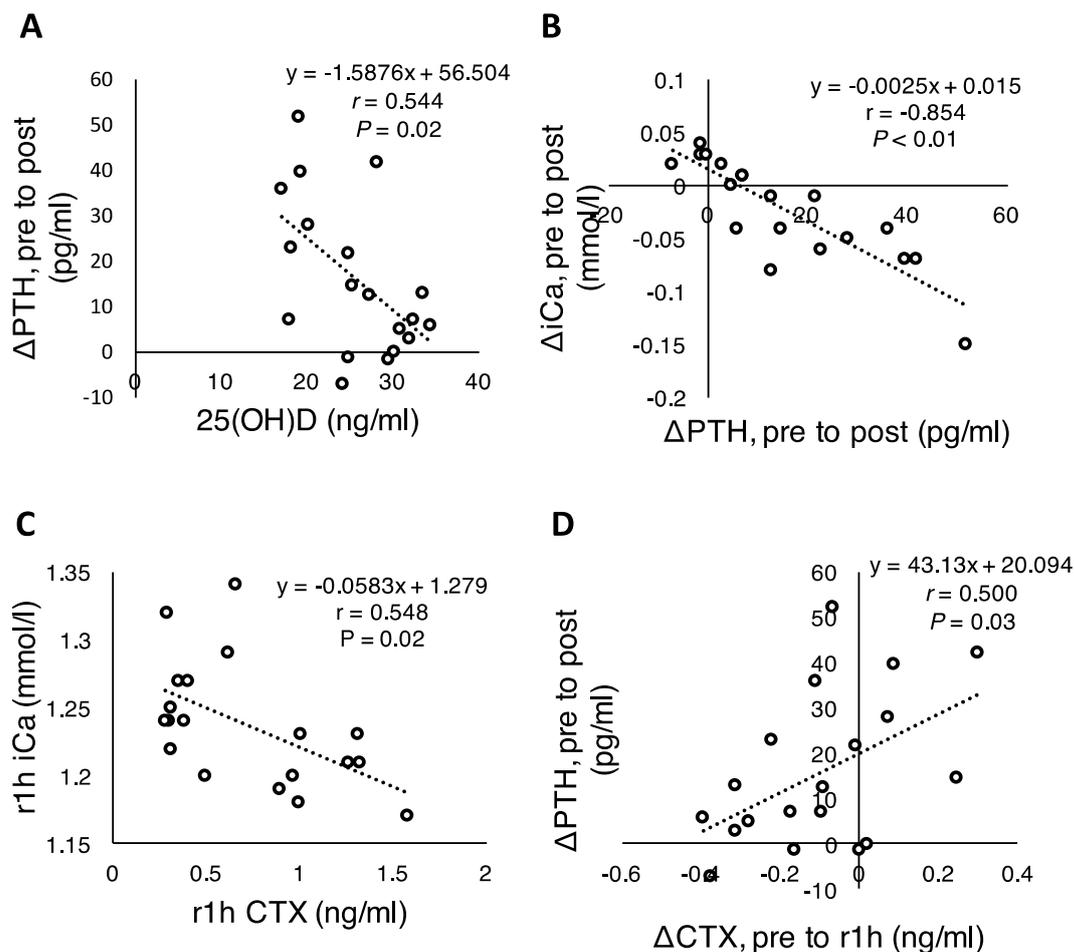


図 7. 各指標との相関関係

2. 長期のビタミン D 添加乳飲料摂取による疲労骨折予防効果の検討

2-1. 被験者特性

被験者 29 名のうち、期間中に退部した者および病気により入院した者 4 名を除外し、25 名を解析対象とした。表に 25 名 (MKD 群 13 名、CON 群 12 名) の被験者特性を示した。身長、体重、BMI および体脂肪率の全てにおいて、期間中有意に増加した。しかし、四肢非脂肪量については、両群において有意な低下が認められた ($P < 0.05$)。

表 3. 被験者特性 ($n = 25$)

	群	pre	12wk	post
身長 (cm)	MKD	158.2 ± 5.1	158.3 ± 5.1	158.6 ± 5.0
	CON	158.8 ± 4.6	159.1 ± 4.7	159.4 ± 4.7
体重 (kg)	MKD	47.0 ± 4.6	48.5 ± 3.7	49.4 ± 3.7
	CON	46.5 ± 4.2	47.9 ± 4.0	48.6 ± 4.0
BMI (kg/m ²)	MKD	18.8 ± 1.5	19.4 ± 1.3	19.6 ± 1.2
	CON	18.4 ± 1.4	18.9 ± 1.5	19.2 ± 1.6
体脂肪率 (%)	MKD	19.9 ± 4.7	-	22.9 ± 5.3
	CON	19.7 ± 6.2	-	22.3 ± 5.9
四肢非脂肪量 (kg)	MKD	16.1 ± 1.6	-	14.7 ± 1.6*
	CON	15.8 ± 1.3	-	14.5 ± 1.0*

*vs. CON, $P < 0.05$

2-2. 血中ビタミン D 濃度 (25(OH)D)

25(OH)D の変化には、時間の主効果 ($F(2, 46) = 15.741$, $P < 0.01$) および交互作用 ($F(2, 46) = 5.952$, $P < 0.01$) が認められた (図 8-A)。下位検定の結果、CON は、pre と比較して、12 wk ($P < 0.01$), post ($P < 0.01$) において有意に低値を示した。pre からの増加量をそれぞれのタイムポイントで比較した場合、12wk ($P < 0.01$) および post ($P < 0.01$) において、CON は MKD と比較して有意に低下した (図 8-B)。これらの結果から、MKD は 25(OH)D を維持したことが認められた。

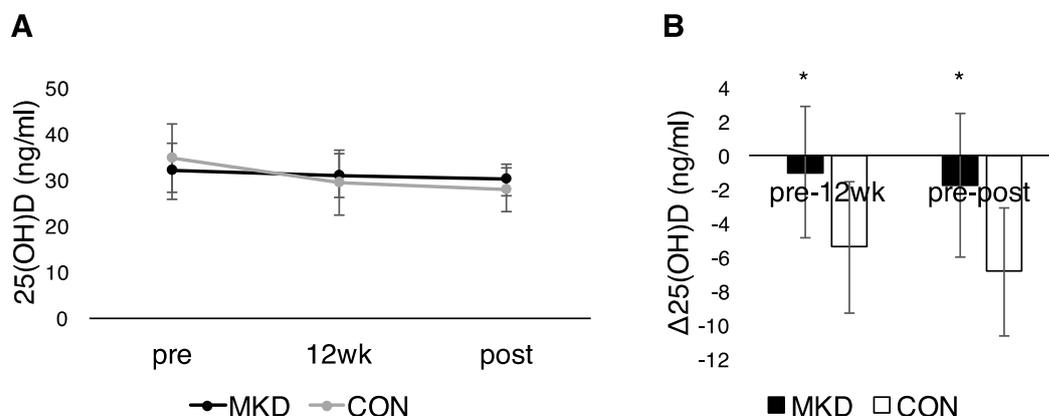


図 8. 25(OH)D の変化

B: * vs. CON

2-2. 骨密度 (BMD; Bone mineral density)

被験者の骨密度の変化を、表 4 に示した。両群とも期間中に骨密度の有意な増加が認められた。しかし、群間で有意な差は認められなかった。また、増加量についても各部位において、群間で有意な差は認められなかった (図 9)。

表 4. 骨密度の変化

		pre	post
両腕 BMD (g/cm ²)	MKD	0.822 ± 0.075	0.836 ± 0.068
	CON	0.830 ± 0.066	0.837 ± 0.061
両足 BMD (g/cm ²)	MKD	1.193 ± 0.083	1.207 ± 0.075
	CON	1.208 ± 0.075	1.220 ± 0.071
骨盤 BMD (g/cm ²)	MKD	1.055 ± 0.084	1.076 ± 0.082
	CON	1.064 ± 0.084	1.088 ± 0.081
脊椎 BMD (g/cm ²)	MKD	0.950 ± 0.101	0.984 ± 0.099
	CON	0.988 ± 0.070	1.014 ± 0.075
TBLH BMD (g/cm ²)	MKD	0.975 ± 0.066	0.986 ± 0.060
	CON	0.984 ± 0.058	0.996 ± 0.051

TBLH; 頭を除いた全身 (Total bone less head)

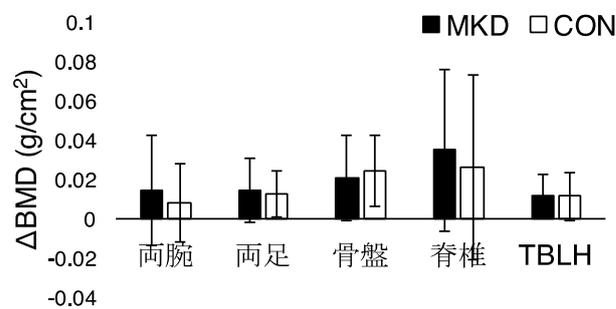


図 9. 骨密度の増加量

2-3. 血液指標

PTH の濃度変化には、時間の主効果が認められた ($F(2, 46) = 10.806$, $P < 0.01$, 図 10-A)。しかし、群間に交互作用は認められなかった。pre からの増加量をそれぞれのタイムポイントで比較した場合、post において、CON は MKD と比較して増加する傾向が認められた ($P = 0.053$) (図 10-B)。

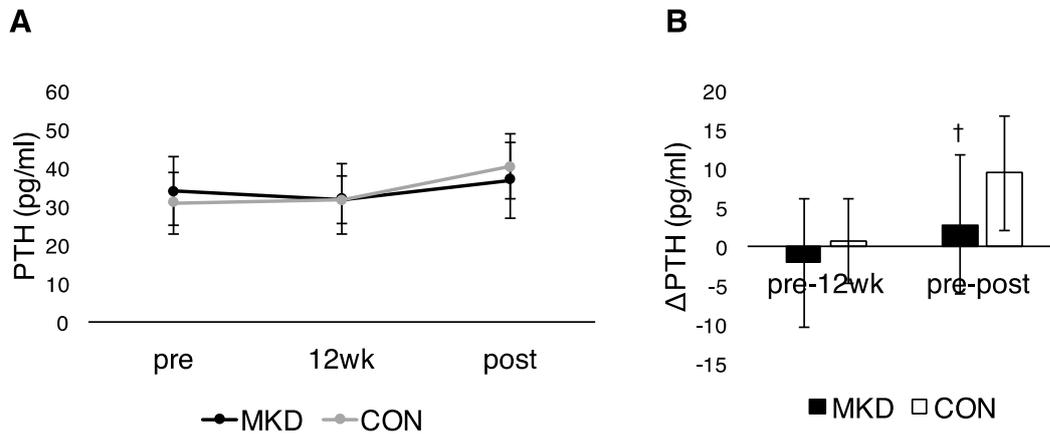


図 10. PTH の変化
† $P = 0.053$ vs. CON

TNF- α の濃度変化には、交互作用が認められた ($F(2, 46) = 3.643$, $P = 0.03$, 図 11-A)。下位検定の結果、pre において、MKD は CON と比較して有意に高値を示した ($P = 0.04$)。また、MKD において、post は pre と比較して有意に低値を示した ($P < 0.01$)。pre からの増加量をそれぞれのタイムポイントで比較した場合、12wk ($P = 0.02$) および post ($P = 0.03$) において、MKD は CON と比較して有意に低下した (図 11-B)。

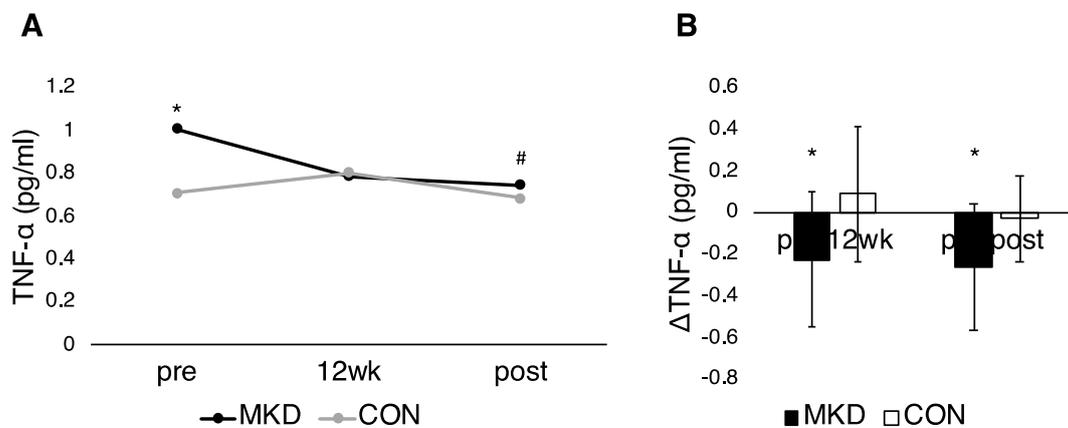


図 11. TNF- α の変化
$P < 0.05$ vs. MKD pre, * $P < 0.05$ vs. CON

CTX の濃度変化には、時間の主効果が認められた ($F(2, 46) = 4.72$, $P = 0.01$, 図 13-A)。しかし、群間に交互作用は認められなかった。また pre からの変化量についても、群間で差は認められなかった (図 13-B)。

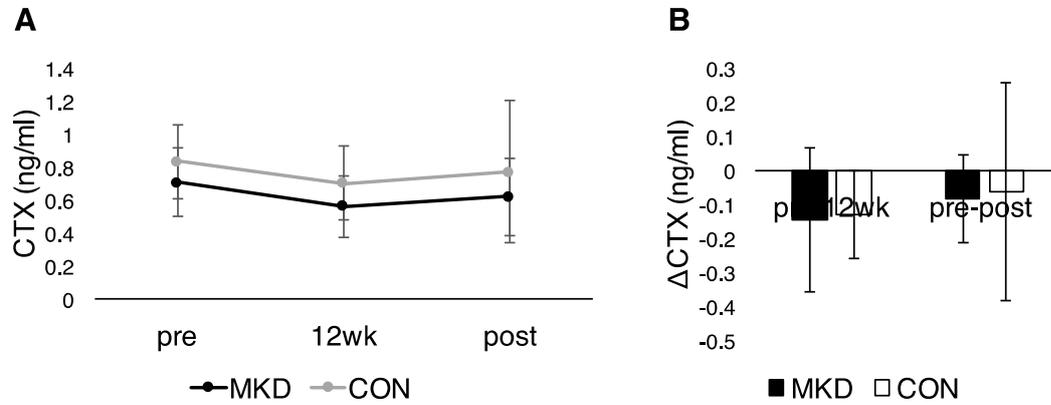


図 13. CTX の変化

2-4. 各指標の変化の関連性

Δ両足BMDは、preからpostのΔΔst ($r = -0.412$, $P = 0.04$) および preから12wkのΔCTX ($r = -0.543$, $P < 0.01$) と有意な負の相関が認められた (図14-A,B)。Δ骨盤BMDは、preから12wkのΔCTX ($r = -0.418$, $P = 0.03$) と有意な負の相関が認められた (図14-C)。ΔTBLH BMDは、preから12wkのΔCTX ($r = -0.447$, $P = 0.03$) と有意な負の相関が認められた (図14-D)。また、preから12wkのΔ25(OH)Dは、preから12wkのΔTNF-αと有意な負の相関が認められた ($r = -0.398$, $P = 0.049$) (図14-E)。preからpostのΔ25(OH)Dは、preからpostのΔTNF-αと負の相関の傾向が認められた ($r = -0.373$, $P = 0.07$)。

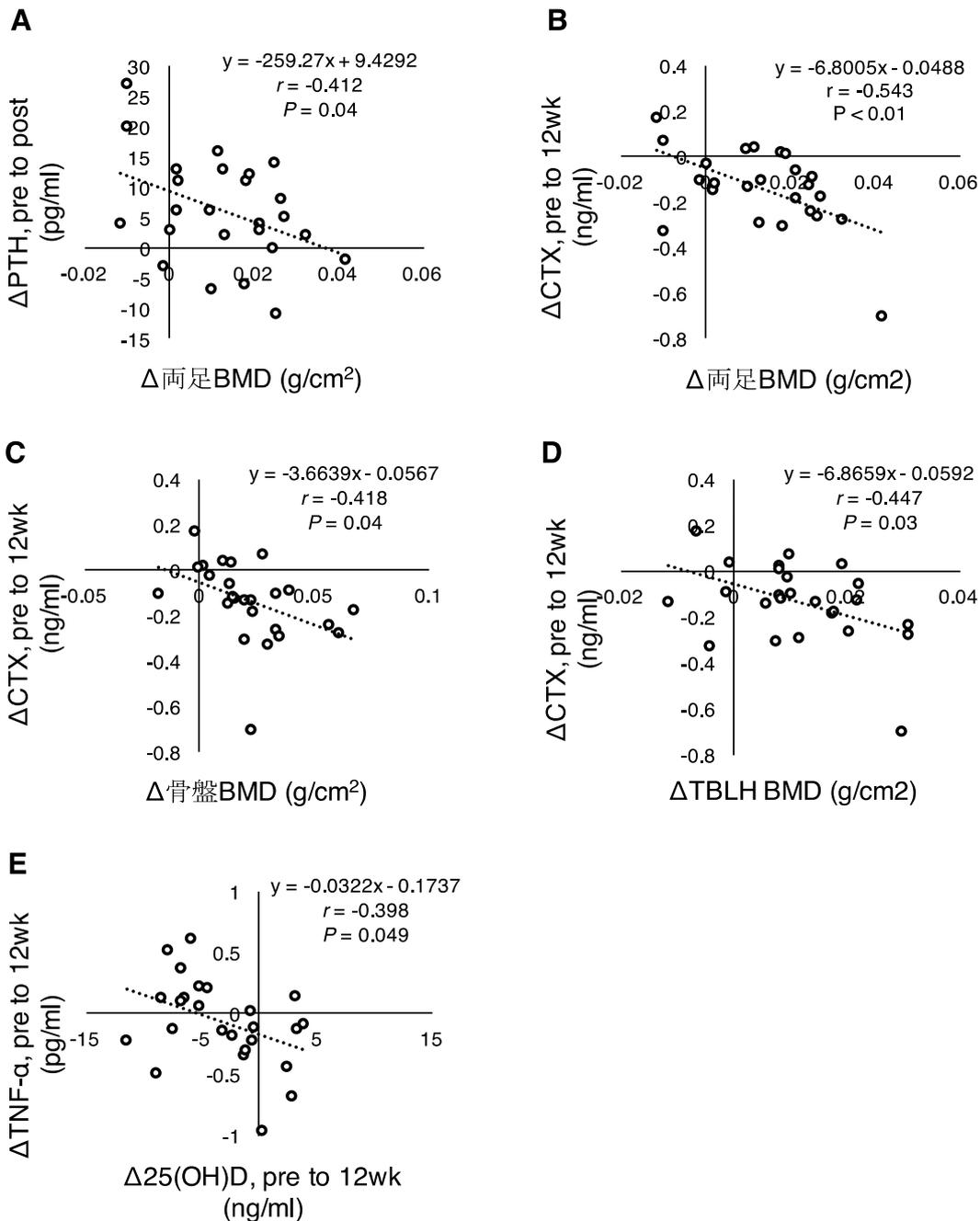


図14. 各指標との相関関係

考 察

本研究は、まず、一過性運動実験において、乳飲料およびビタミン D が骨代謝に及ぼす影響を検討した。MK および MK+D は CON と比較して、運動前後の CTX 値が有意に低かった。また、運動誘発性の CTX の増加量は、PTH の増加量と有意な正の相関を示したことから、一過性の運動においては PTH 濃度の増加が CTX の増加に参与することが示唆された。一方で、MK+D の PTH は、day1 において、CON と比較して有意な増加が認められた。これについては、pre の採血を乳飲料およびビタミン D サプリメントを摂取した後に行っているため、pre での PTH 値が安静時より、低下していた可能性が考えられる。したがって、day1 の採血時には、PTH 値が通常の安静レベルに戻ったことで、pre からの変化量が増加したことが考えられた。

運動中の PTH 濃度の増加は、25(OH)D 値が高いほど抑制された。さらに iCa の増加量と PTH の増加量に負の相関が認められ、25(OH)D と iCa の増加量には正の相関の傾向が認められた。すなわち、25(OH)D が iCa および PTH 濃度の調節に関わり、運動中の変化に影響する可能性が示された。

以上のことから、一過性の運動時における乳飲料およびビタミン D サプリメントの併用摂取は、25(OH)D 値が高まることで乳飲料由来のカルシウム吸収を促進し、iCa を高め、PTH 分泌を抑制し、CTX の増加を抑制する可能性が示唆された。しかし、急性の乳飲料およびビタミン D サプリメントの併用摂取は、TNF α の抑制効果や骨代謝に及ぼす影響は少ないことが考えられた。

また、本研究では、乳飲料およびビタミン D の長期介入（6 ヶ月間）が骨密度および骨代謝に及ぼす影響も検討した。今回の介入期間中に疲労骨折を発症した者はいなかったため、骨密度および骨代謝マーカーへの効果について検討を行った。乳飲料およびビタミン D 摂取群（MKD）は、介入期間中における 25(OH)D の低下を抑制した。PTH 濃度は、CON と比較して MKD において、pre から post の増加量に低値傾向が認められ、TNF- α は MKD にのみ、有意な低下が認められた。これは、25(OH)D の炎症性サイトカインの分泌抑制効果であることが示唆される^{11,12)}。しかし、CTX および骨密度において、群間に有意な差は認められなかった。一方で、pre から 12 wk の CTX の増加量は両足、骨盤および TBLH BMD の増加量と負の相関を示したことから、CTX の増加は BMD の増加を妨げることが示された。さらに、PTH の増加量と両足 BMD の増加量にも負の相関が認められたことから、部位特異的ではあるが、PTH の増加も BMD の増加を妨げることが示唆された。しかし、PTH は CTX との関連が認められなかった。また、MKD でのみ抑制効果が認められた TNF- α は、CTX および BMD のいずれの部位においても関連は認められなかった。

以上の 2 つの実験結果より、一過性の運動前の乳飲料およびビタミン D サプリメントの摂取は血中のカルシウム濃度を高め、PTH 分泌を抑制することで骨吸収を抑制し、長期間の介入においては、炎症性サイトカインである TNF- α の抑制が認められた。したがって、乳飲料およびビタミン D サプリメントの併用摂取は、PTH および TNF- α の抑制を介して骨量維持に関与する可能性が考えられた。しかし、長期実験において骨密度への効果が認められていない。さらに、本研究では、疲労骨折の発症に関わるものが考えられるリスク因子に対する影響を検討できたのみで、疲労骨折の発症予防効果については、期間中に発症者がいなかったことから検討を行うことができなかった。したがって、サンプルサイズの増加、介入期間の延長、乳飲料およびビタミン D の摂取量の調整等、今後さらなる検討が必要である。

参考文献

- 1) Barrack, M. T., Rauh, M. J., and Nichols, J. F. (2008). Prevalence of and traits associated with low BMD among female adolescent runners. *Med Sci Sports Exerc* **40**: 2015-21.
- 2) Bilanin, J. E., M. S. Blanchard and E. Russek-Cohen (1989). Lower vertebral bone density in male long distance runners. *Med Sci Sports Exerc* **21**: 66-70.
- 3) Tenforde, A. S., Fredericson, M., Sayres, L. C., Cutti, P., and Sainani, K. L. (2015). Identifying sex-specific risk factors for low bone mineral density in adolescent runners. *Am J Sports Med* **43**: 1494-1504.
- 4) Nieves JW, Melsop K, Curtis M, Kelsey JL, Bachrach LK, Greendale G, Sowers MF, Sainani KL (2010). Nutritional factors that influence change in bone density and stress fracture risk among young female cross-country runners. *PM R*, **2**: 740-750; quiz 794.
- 5) Davey T, Lanham-New SA, Shaw AM, Hale B, Cobley R, Berry JL, Roch M, Allsopp AJ, Fallowfield JL (2016). Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of stress fracture during Royal Marine recruit training. *Osteoporos Int*, **27**:171-179.
- 6) Scott JP, Sale C, Greeves JP, Casey A, Dutton J, Fraser WD (2011). The role of exercise intensity in the bone metabolic response to an acute bout of weight-bearing exercise. *J Appl Physiol (1985)*, **110**:423-432.
- 7) Barry DW, Hansen KC, van Pelt RE, Witten M, Wolfe P, Kohrt WM (2011). Acute calcium ingestion attenuates exercise-induced disruption of calcium homeostasis. *Med Sci Sports Exerc*, **43**:617-623.
- 8) Mezil YA, Allison D, Kish K, Ditor D, Ward WE, Tsiani E, Klentrou P (2015). Response of Bone Turnover Markers and Cytokines to High-Intensity Low-Impact Exercise. *Med Sci Sports Exerc*, **47**:1495-1502.
- 9) Shea KL, Barry DW, Sherk VD, Hansen KC, Wolfe P, Kohrt WM (2014) Calcium supplementation and parathyroid hormone response to vigorous walking in postmenopausal women. *Med Sci Sports Exerc*, **46**:2007-2013.
- 10) Rossini M, Adami S, Viapiana O, Fracassi E, Idolazzi L, Povino MR, Gatti D (2012). Dose-dependent short-term effects of single high doses of oral vitamin D(3) on bone turnover markers. *Calcif Tissue Int*, **91**:365-9.
- 11) Willis KS, Smith DT, Broughton KS, Larson-Meyer DE (2012). Vitamin D status and biomarkers of inflammation in runners. *Open Access J Sports Med*, **3**:35-42.
- 12) Choi M, Park H, Cho S, Lee M (2013). Vitamin D3 supplementation modulates inflammatory responses from the muscle damage induced by high-intensity exercise in SD rats. *Cytokine*, **63**:27-35.