

ミネラル供給源としての牛乳

—運動・ストレス・加齢とミネラルバランス—

順天堂大学医学部衛生学教室 助教授 千 葉 百 子
講 師 篠 原 厚 子
渡 辺 弘 美
関 根 美 和

1. はじめに

本研究は運動・ストレス・加齢が体内のミネラルバランスに及ぼす影響を明らかにすることと、ミネラル補給源として普遍的でかつ低廉な牛乳の有効性を実験的に観察することである。初年度の昨年は市販の牛乳と粉ミルクに含有される元素の種類と濃度を測定し、比較検討を行った。すなわち(a)牛乳4銘柄、(b)乳児用粉ミルク6銘柄、(c)フォローアップミルク5銘柄を分析試料とし、48元素の濃度を測定した。結果として次のような特徴が把握できた。(1)セレン、リン、ナトリウム、マグネシウム、カルシウムおよびカリウムは牛乳中濃度が明らかに高値である、(2)銅と鉄は牛乳中の濃度は低値である、(3)牛乳中の亜鉛濃度は乳児用粉ミルクと同程度であり、フォローアップミルクではそれらの1/2以下である、(4)牛乳中の銅はフォローアップミルクと同程度であるが、粉ミルク中濃度と比べると非常に低く、1/5以下である、(5)牛乳中セレン濃度は粉ミルク中の2~3倍高値である、(6)銘柄による元素濃度のバラツキは比較的小さい、(7)カドミウム、コバルト、リチウム、鉛、バナジウムは全て0.01 μ g/mL以下であり、次に示す元素は全て検出限界以下であった：銀、砒素、バリウム、ベリリウム、ビスマス、セシウム、ジスプロシウム、エルビウム、ユウロビウム、ガリウム、カドリニウム、ゲルマニウム、水銀、ポロニウム、インジウム、ランタン、ルテチウム、モリブデン、ネオジム、パラジウム、プラセオジム、白金、アンチモン、サマリウム、テルビウム、テルル、チタン、タリウム、トリウム、イットリウム、イッテルビウム、ジルコニウム。

中間年である本年度はモデル動物として10~70週齢のマウスを使い、自由運動をさせ、血液、骨及び筋肉中の微量元素濃度、カルシウム代謝関連物質の測定、骨密度及び骨の力学特性の測定を行い、牛乳給与の効果을判定するための実験の基礎データを得た。来年度(最終年度)は昨年度と本年度の結果を組み合わせて、牛乳給与実験に取り組む。

2. 材料と方法

【材 料】

(a)動物：ICR系雌性マウスを9週齢で購入し、1週間の予備飼育後、2群に分け、対照群(n=10)は通

常の飼育、運動群(n=10)は自由に歯車を回転させて走行運動ができ、走行距離数の計測器の付いたケージに一匹ずつ入れて飼育した。

(b)飼育条件：被験動物は、温度 $23 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ 、明7:00~19:00、暗17:00~7:00に設定されている人工気候室内で飼育した。餌(日本クレア社製CE-2)と飲料水(脱イオン精製水)は自由に摂取させた。

(c)体重と運動量の測定：1週間に一度全動物の体重と運動群の走行距離数をチェックした。

【方 法】

実験期間終了時(70週齢時)にエーテル麻酔下で心臓から血液を採取したのち、頸椎を脱臼させてから大腿部の筋肉と骨を採取した。血液は血漿を分離して使用した。

(a)大腿骨計測：右大腿骨の軟組織を剥離して、重量および長さを測定した。

(b)骨密度および骨皮質幅指数の計測：microdensitometry(MD法)を採用した。すなわち軟X線撮影を行い、現像したフィルムをマイクロデンシトメータにかけ、計測した。(図1参照)

(c)骨力学特性の計測：オートグラフを用いて、右大腿骨の三点曲げ試験により、最大荷量、最大応力、変形量、および弾性係数を計測した。(図2参照)

(d)血漿中のカルシウム代謝関連物質の測定：C-PTH(パラソルモン)とCT(カルチトニン)はRIA法、Ca(カルシウム)は原子吸光法、P(リン)は比色法で測定した。

(e)血漿、骨、筋肉中の元素濃度の測定：血漿は硝酸と過酸化水素を添加して、マイクロ波オーブンで分解し、0.5%硝酸で適宜希釈したものを元素濃度測定用試料とした。骨と筋肉は 110°C で乾燥させ、硝酸と過塩素酸を添加して、アルミブロック炉で分解したものを0.5%硝酸で適宜希釈したものを元素濃度測定用試料とした。

Ca、Mg(マグネシウム)及びK(カリウム)は原子吸光法で、Pは比色法で、その他の元素 [Li(リチウム)、V(バナジウム)、Cr(クロム)、Fe(鉄)、Co(コバルト)、Ni(ニッケル)、Cu(銅)、Zn(亜鉛)、Rb(ルビジウム)、Sr(ストロンチウム)、Cd(カドミウム)、Se(セレン)] はプラズマ-質量分析法(MIP-MS)で測定した。

3. 結 果

(a)体重：図3に示すように運動群の体重は実験開始後10週以後、対照群の体重より低値を示し、40週齢(実験開始後30週)以降は両群間に統計的に有為な差が認められた。運動群の1日当たりの走行距離数は実験週数が進み、週齢が増すにつれ低下した。実験期間の60週間を20週ずつ3期に分けてみると、各期の間有意な差が観察された。(図4参照)

(b)骨密度と骨皮質幅指数：図5に示すように骨密度、骨皮質幅指数共に対照群より運動群で高値を示したが、骨密度のみ統計的に有意であった。

(c)骨力学特性：最大荷量、最大応力および弾性係数は対照群より運動群で有意に高値であったが、変形量は両群間に差はなかった。(図5参照)

(d)血漿中のカルシウム代謝関連物質：C-PTHおよびCTは2群間に差はなかった(図省略)。CaとP濃度は次項を参照。

(e)血漿、骨、筋肉中の元素濃度：血漿中の16種の元素濃度を図6に、骨中および筋肉中の15種の結果をそれぞれ図7と図8に示す。Seは血漿試料のみで測定できた。血漿中ではPのみが運動群で有意に高かった。逆に骨中のPは有意に運動群で低かった。Ca濃度に両群間の差はなかった。その他、骨中ではK、Mg、Fe、Niが運動群で有意に高かった。筋肉中ではMg、Fe、Cuが運動群で高かった。

4. 考 察

マウスを10週齢から70週齢まで自由運動をさせた群とさせない群について観察した。この週齢はマウスの平均寿命(約2年)から考えて、成長期、成熟期および初老期に該当すると考えられる。自由運動によって体重の増加は抑制され、骨密度や骨皮質幅指数は増加した。しかし、カルシウム代謝に関連する血漿中の酵素、C-PTHとCTの活性は対照群と差がなかった。骨密度と測定した元素濃度との相関をみると血漿中のMgとPのみが有意な正相関を示した($r=0.55$, $r=0.63$, $p<0.05$) (図9参照)。骨密度と骨中元素との相関はK、Fe、Niとの間に正相関($r=0.47$, $r=0.49$, $r=0.54$, $p<0.05$)、Pとの間に負相関($r=-0.59$, $p<0.05$)があった(図10参照)。血漿と骨中の元素濃度の相関を見たところPのみに有意な負相関があった。骨、筋のFeの増加は血行が良くなることを反映しているのではないかと考えられる。Mgも骨、筋では有意に、血漿では有意ではないが増加傾向が観察されているが、この事実はMgが骨代謝回転を高回転型にする作用をもつことと関係すると考えられる。すなわち、MgはPTHや活性型ビタミンDの作用を介さずに、直接破骨細胞の活性を昂め、これにより骨吸収を亢進し、血中のCaやP濃度は上昇し、結果として骨密度上昇につながったと考えられる。参考までに図10に骨中Mgと骨密度の相関図を記載した。これまで、牛乳中のCa効用は広く知られ、疑う人はいないが、Mgの効用も大きいと考えられる。

これまでに私達はICR系雌マウスを使って、水泳負荷群または加重負荷群では対照群に比して体重が減少し、骨密度が高くなること⁽¹⁾、成長期、青年期、老年期に分けて自由運動をさせると、運動をしている期間は体重増加が抑制されるが、運動を止めた後は対照群より体重増加が著しいこと⁽²⁾、老年期であっても自由運動によって骨密度は増加すること⁽³⁾を報告した。また、老年期の雌雄老化促進マウス(SAM-R1)を使って水泳負荷を行い、雌雄ともに骨密度の増加を認め報告した^(4, 5)。老齢期にあっても水泳負荷(1日40分、1週間に5日、連続6週間)すると確実に骨密度は増加する。骨はカルシウム(Ca)、リン(P)のみならず、マグネシウム(Mg)、亜鉛(Zn)などの貯蔵庫でもある。骨密度の増加により多くのミネラルの補給が必要となる。また一方では元素の欠乏を来す状況下では骨吸収に

よる元素供給が必要となり、骨密度、骨量、骨中元素濃度の低下が生じると考えられる。骨だけではなく臓器のミネラルは特にそのバランスが重要である。このような観点から私達はZn欠乏食実験も行った。その結果、基礎食群ではこれまでも明らかなように、自由運動をさせると骨密度は増加するが、Zn欠乏食を与えると、運動をしても骨密度は増加しない⁽⁶⁾。骨の成長、形成にZnは重要な役割を持つ。Znの供給源としても、牛乳をコンスタントに摂取することはMgと同様に効果は大きいと考えられる。

本年度の研究結果から、運動と生体内元素の動きを明確にすることができた。昨年度は牛乳中のミネラルの分析を行った。その結果、牛乳中にはカルシウム、リン以外にもマグネシウム、亜鉛、カリウム、セレンが他の乳製品よりも多く含まれていることが解った。これらの結果を基礎に置き、来年度は牛乳の摂取量、摂取方法などによる体内ミネラルバランスの変化、吸収の割合を検討し、さらに牛乳摂取により体内に増加した元素の牛乳中における化学種分析を含めて研究を行う。

5. 文 献

1. Hoshi A, Watanabe H, Chiba M, Inaba Y : Effects of swimming and weight loading on bone density and mechanical properties of femoral bone in mice. *Environ Health Prev Med*, 1 : 128-132, 1996.
2. Hoshi A, Watanabe H, Chiba M, Inaba Y : Effects of exercise at different ages on bone density and mechanical properties of femoral bone of aged mice, *Tohoku J Exper Med*, 185 : 15-24, 1998.
3. 星 秋夫、渡辺弘美、千葉百子、稲葉 裕 : 老齢マウスの骨密度と力学的特性に及ぼす運動の影響. *日衛誌*, 50 : 440, 1995.
4. 千葉百子、渡辺弘美 : 運動が微量元素および酸化的傷害防御に及ぼす影響—老化促進モデルマウスを用いて—. *理研シンポジウム生体微量元素'97抄録集*, I-09, 1997.
5. Hoshi A, Chiba M. et al : Bone density and mechanical properties in femoral bone of swim-loaded aged mice, *Biomed. Environ. Sciences*, 11 : 243-250, 1998.
6. 渡辺弘美、星 秋夫、千葉百子、稲葉 裕 : 亜鉛欠乏状態の運動がマウス肝臓中メタロチオネインに及ぼす影響. *日衛誌*(印刷中)

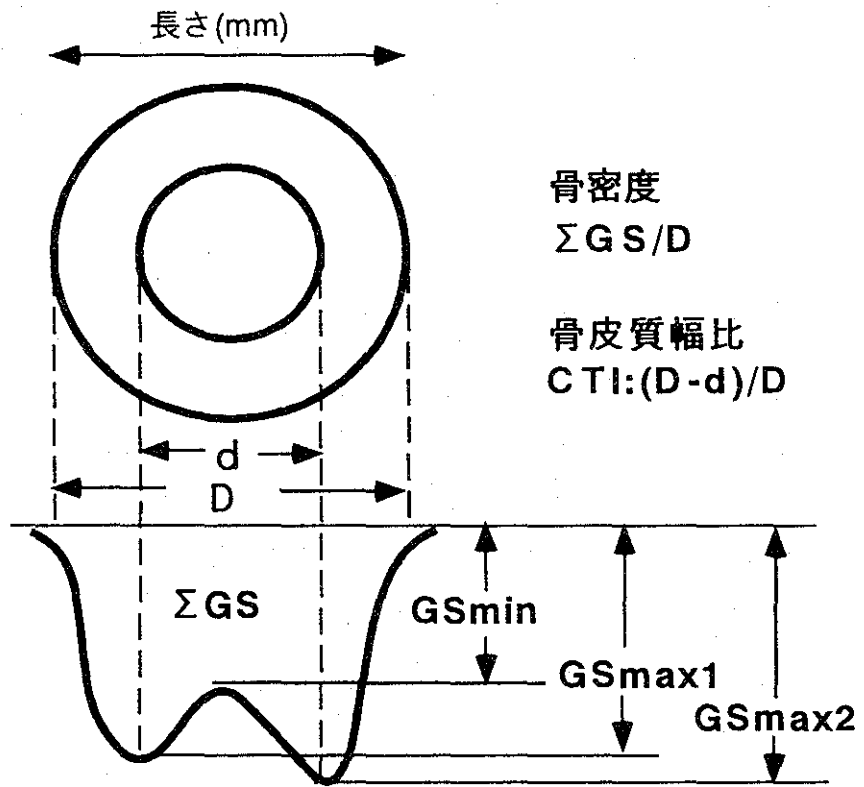
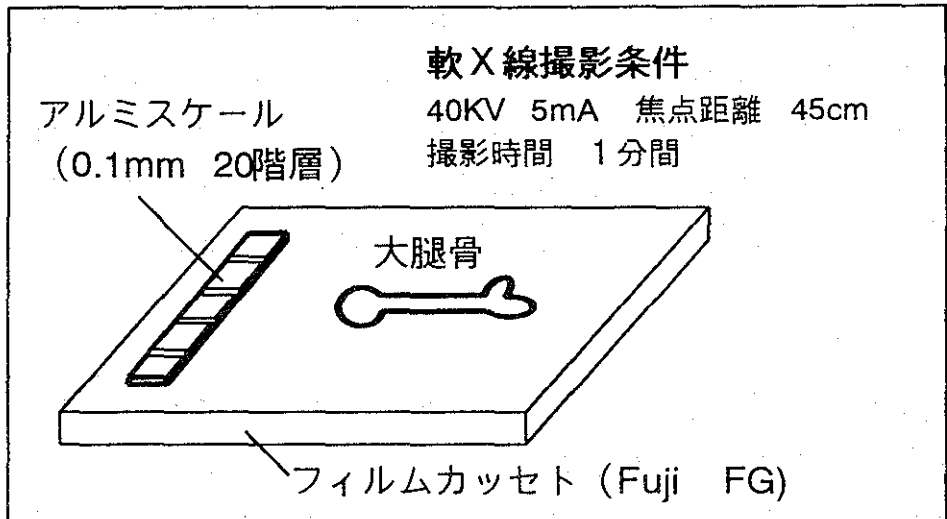
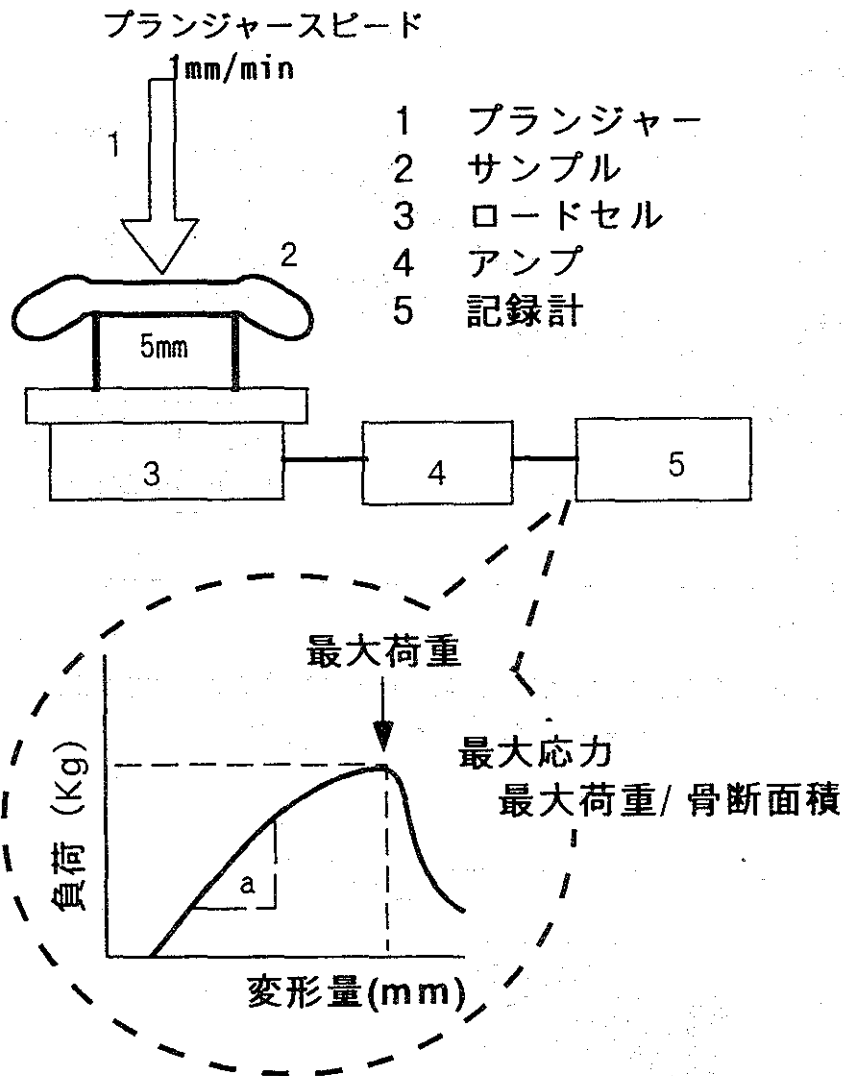


図1 MD法による骨密度および骨皮質幅指数の計測



a 弾性係数
初期直線勾配の頂値 /
骨断面積 / (変形量 / 曲げ幅)

図2 骨の力学的特性の計測

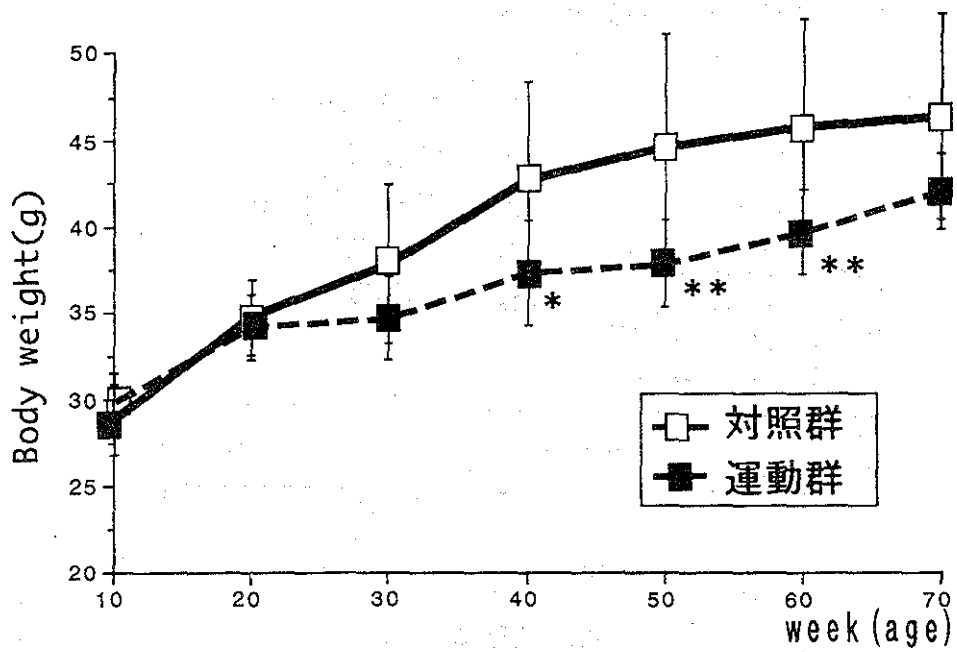


図3 10週齢から60週間の運動トレーニングによる体重の変化
対照群との有意差；* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

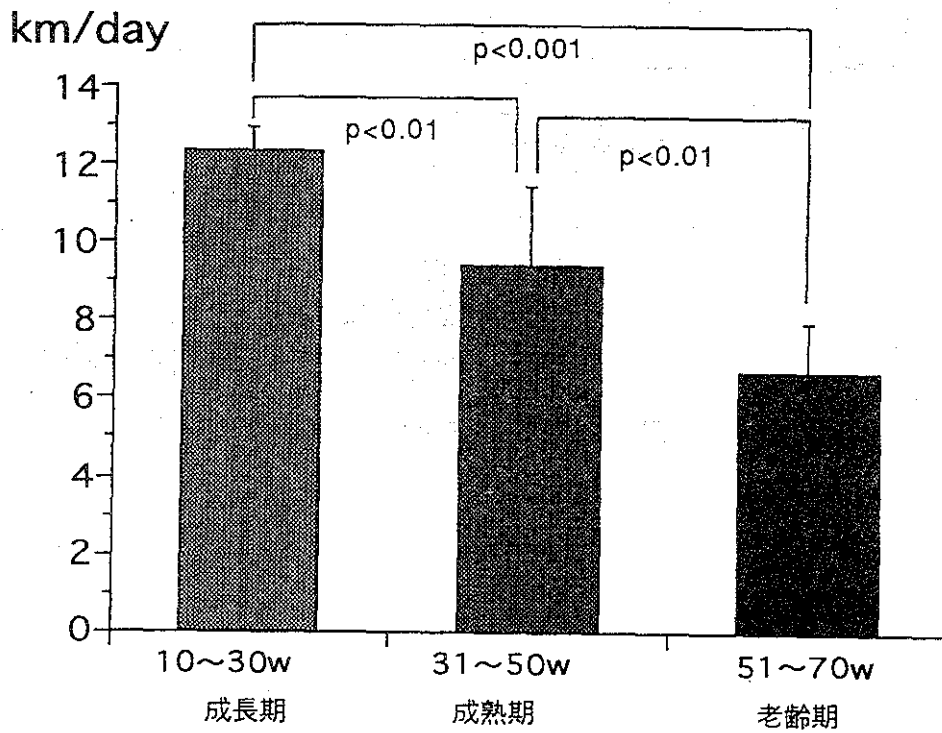


図4 各成長期間における走行距離

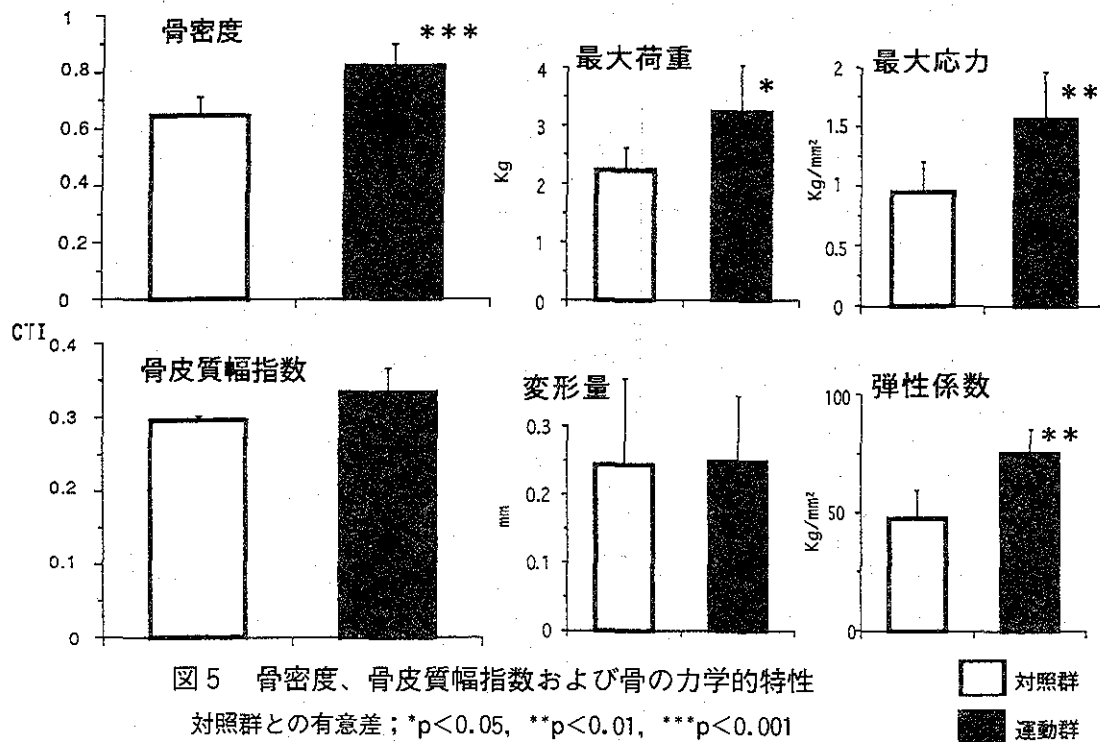


図5 骨密度、骨皮質幅指数および骨の力学的特性
対照群との有意差；* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

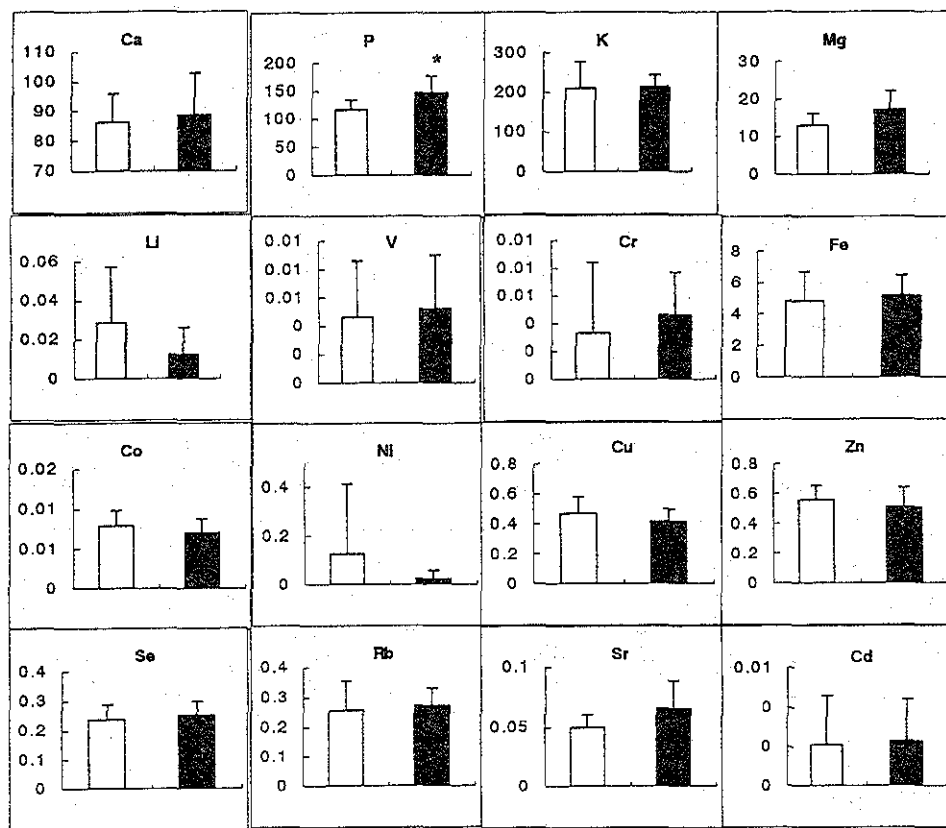


図6 plasma中の元素濃度 (n=6~9)
単位 $\mu\text{g/ml}$ controlとの有意差 * $p < 0.05$

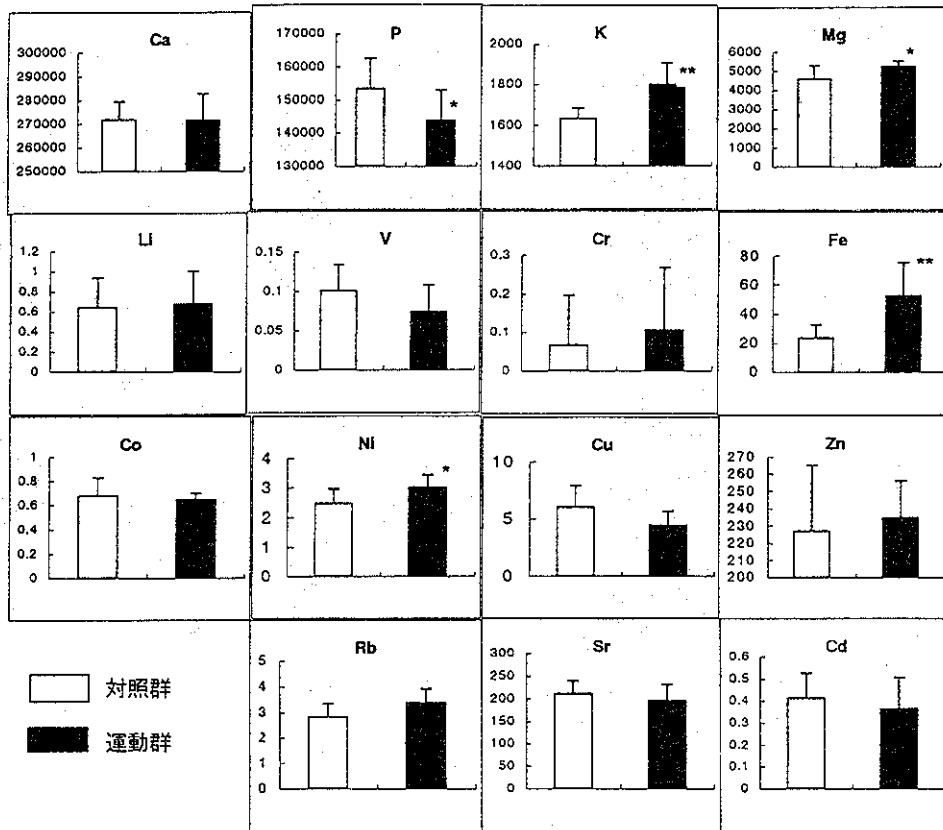


図7 Bone中の元素濃度(n=9~10)

単位µg/g dry 対照群との有意差 *p<0.05, **p<0.01

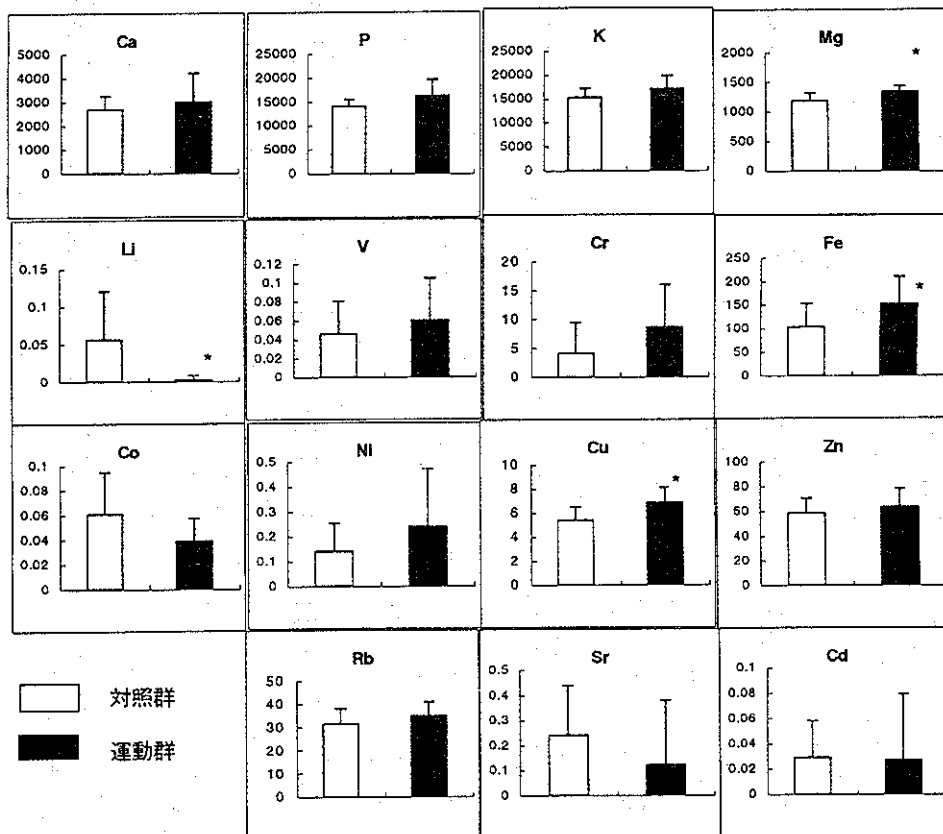


図8 Muscle中の元素濃度(n=9~10)

単位; µg/g dry 対照群との有意差 *p<0.05

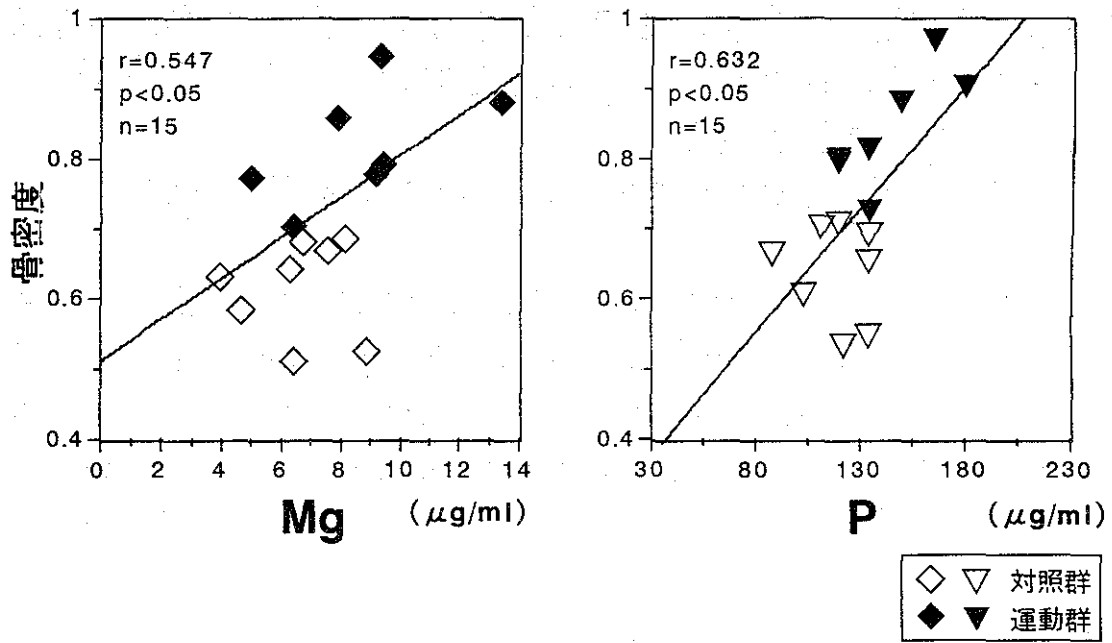


図9 血漿中元素濃度と骨密度の相関関係

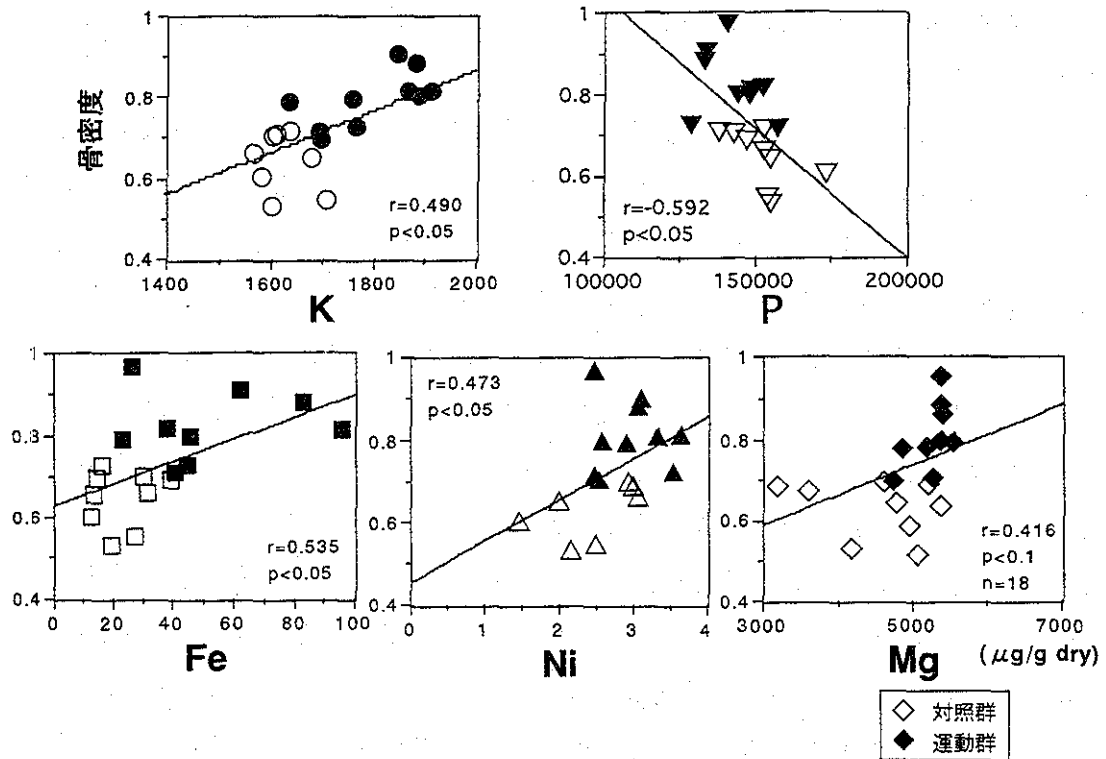


図10 骨中元素濃度と骨密度の相関関係