

爪のミネラルが骨塩量のバイオマーカーになるか？ 栄養介入研究

光塩学園女子短期大学・食物栄養科・助教授 山岡 節子

研究代表者：山岡 節子 (光塩学園女子短期大学・食物栄養科・助教授)

研究分担者：藤本 真奈美 (光塩学園女子短期大学・食物栄養科・助教授)

西岡 弘晶 (京都大学附属病院・老年内科・助手)

森 真理 (武庫川女子大学国際健康開発研究所・研究員)

((財)生産開発研究所・研究員)

橋本 晃 (光塩学園女子短期大学・食物栄養科・教授)

研究協力者：石井 智美 (酪農学園大学・酪農学部・助教授)

要 約

2、30年後には4人に1人が65歳以上となると推計されており、超高齢化社会への対応が急務とされている。そこで「健康日本21」では国民の健康寿命の伸展や生活の質の改善に向けてさまざまな取り組みがなされ、特に食生活のあり方は生活習慣病の一次予防として重要であるが、若い世代では、社会の多様な価値観を反映するような食習慣がみられると同時に、食生活の乱れが指摘され、また、依然としてCaの摂取量が不足している実態も報告されている。本研究では、本学で実施されている栄養バランスの良い給食に加えて、体内でのCa吸収率が高く、その上摂取が容易である牛乳を摂取することでCa摂取不足を改善し、それによって骨代謝にどのような効果が生じるか、と同時に、爪のミネラル塩量が骨の代謝マーカーになりうるかの検討を行った。

夏から冬にかけて行われた栄養介入であったため、体脂肪率に多少の上昇は見られたが、中性脂肪や総コレステロールは介入前後で低下し、効果的に生活習慣病のリスク軽減効果もあることが明らかになった。また、骨代謝においても、形成マーカー(オステオカルシン)では有意な上昇が認められ、骨吸収マーカー(DPD・NTx)では有意な低下が認められ、Ca強化による骨代謝回転において顕著な効果が示唆された。

しかし、栄養介入前の健診で採取された尿や血液のサンプルから得られたこれら骨代謝マーカーとその約40日後に採取された爪サンプルに含まれるミネラル塩濃度との相関は認められなかった。

キーワード：Ca 栄養介入、爪のミネラル塩濃度、骨代謝マーカー

はじめに

2035年には4人に1人が65歳以上になると推計されており、超高齢化社会への対応が急務とされている。そこで「健康日本21」では国民の健康寿命の伸展や生活の質の改善に向けてさまざまな取り組みがなされ、特に食生活のあり方は生活習慣病の一次予防として重要であるとしている。しかし、若い世代では、社会の多様な価値観を反映するような食習慣がみられると同時に、食生活の乱れが指摘され、健康に効果的であるとされる日本の伝統食離れも顕著である。また、平成14年度の国民栄養調査によると、依然としてCaの摂取量が不足している実態も報告されている。

これらの現状を踏まえ、山岡らは平成16年に日本の伝統食である大豆や魚介類を強化した給食を摂取することで、生活習慣病罹患のリスクをどの程度軽減できるかを調査・研究した。その結果、体脂肪率や中性脂肪の低下を認め、リスク軽減の効果が示唆された。また、同時に爪を採集し、含有するミネラル塩濃度の測定も行い、被験者の約1/3にCa不足が疑われる結果を得た。人の骨の発育は、思春期に急速に骨密度・骨強度を獲得し、20歳台で最大骨密度となるとされており、若い世代のCa摂取不足は骨密度に深刻な影響を与えかねない。骨密度低下は骨折リスクの上昇のみならず、特に女性においては、閉経後の骨粗鬆症発症のリスク増大を招くことが予測される。

体内のCa塩量を評価する場合、血清Ca濃度は恒常性が高く、変動幅もほとんど見られないので、難しいとされている。現在、骨粗鬆症診断の指標となる骨密度測定には、DXA法による測定が一般的には最も信頼性が高いとされているが、DXA法による測定はX線を利用するため、施設などの制限を受ける。しかし、採取した爪で爪に含まれるCa塩量から骨密度の予測が可能となれば、簡便に骨代謝の状態が把握でき、Ca摂取に向けての取り組みが助長され、その結果、骨粗鬆症発症のリスクを下げ、さらに骨折の予防や、寝たきりの軽減につながると思われる。しかし、爪のミネラル濃度と骨密度の相関については未だ明らかにされていない。そこで、本研究では、本学で実施されている給食に加えて、体内でのCa吸収率が高く、その上摂取が容易である牛乳を摂取することでCa摂取不足を改善し、それによって骨代謝にどのような効果が生じるか、と同時に、爪のミネラル塩量が骨の代謝マーカーになりうるかの検討を行った。

1. 研究方法と研究計画

研究対象者

光塩学園女子短期大学食物栄養科2年の学生と酪農学園大学酪農学部の2～4年の女子学生に本研究の趣旨と内容について説明をした後、同意が得られた学生に対して食事調査と健康診断を実施し、酪農学園大学の学生35名を対照群、光塩学園女子短期大学の学生76名をCa摂取強化群とした。

研究期間と研究計画

Ca強化期間は夏休み明けの平成18年9月11日から平成18年12月15日までの約3カ月間とし、Ca強化群の学生には、平日は本学の給食（一食あたりCa200mg以上を含む）と牛乳（Ca量180mg）を摂取してもらい、道民健康づくり調査委員会の調査結果をもとに朝食・夕食から平均300mg（一日あたり平均450mg）Ca量を摂取しているものとして、一日600mg以上のCa摂取量めざした。休日など牛乳がとれない日は、タブレットやCaを強化したクッキーで約200mgのCaを補った。本学で提供される昼食は第6次改定日本人の栄養所要量を参考とし、生活活動強度Ⅱ〔やや低い〕女性（18～29歳）を基準とした。本学の昼食のエネルギー摂取量は一日の30～40%とし、その栄養所要量を表1に示した。対照群の学生には、特別な指示はせず、通常通りの生活をしてもらった。

表1 給食による栄養所要量

	一日の所要量	昼食（給食）
エネルギー（kcal）	1800	630～720
脂質（g）	40～50	14～20
タンパク質（g）	55	19～22
食塩（g）	10未満	3.5～4.5
カルシウム（mg）	600	200～240

栄養介入前と介入後に、それぞれ検診を実施し、身長、体重、血圧、体脂肪率を測定した。血圧（オムロン社HEM-907）は2回測定してその平均を採用し、体脂肪率はタニタ社BC113により測定を行った。また、空腹時採血とアリコートカップによる24時間尿の採取により、血液および尿の生化学的検査を行った。生化学的検査項目は、血液に関しては、血球数、中性脂肪、総コレステロール、HDLをそれぞれ測定した。骨形成マーカーとしてオステオカルシン（血液）、骨型ALP（血液）、骨吸収マーカーとしてDPD（尿）、NTX（尿）、その他にソマトメジン（成長ホルモン）をそれぞれ測定した。手爪は介入前の身体状況を示すものとして、10月中旬と介入後の12月中旬に採集し、Ca、Mg、P、Na、K、Zn、Cu、Se、Cr、Mn、Co、Mo、Al、Pb、Hg、As、Cdのミネラル塩量を測定した。

栄養介入研究参加学生には、栄養調査を実施し、Ca摂取量を把握した。

本研究は、ヘルシンキ宣言に則り、Ca栄養介入研究に参加することで身体への悪影響は考えられないことを説明した後に実施され、日本栄養改善学会の倫理委員会の承認を得て行われた。

手爪採取とミネラル塩量の測定

手爪回収予定日の約2週間前にカバー付の爪きりと回収用の袋を配布し、両手指の伸びた爪を数回にわたり切り落として採集した後、櫛イービーエスに送付し、分析をした。

手爪ミネラル塩量測定の手順は以下のものである。測定に先立って、J. Kristianse らによる方法を一部改良した前処理を行った。試料の洗浄は、爪をサンプリングチューブにいれ、高純度アセトンを入れた後、小型旋回ミキサーにて 10 分間攪拌しアセトンを捨てる。0.1%TRITON X-100 液を入れ、再び小型旋回ミキサーにて 10 分間攪拌する。ラックごと超音波洗浄器に入れ、50℃で 15 分間洗浄する。超音波洗浄器から出して TRITON 液を捨てる。超純水を入れて十分に攪拌し、超純水を捨てる。この超純水による洗浄操作を 5 回繰り返す。十分に洗浄した樹脂製ピンセットで試料を取り出し、洗浄乾燥させたろ紙の上に載せ、定温乾燥器内にて 70℃で一晩乾燥させる。その後、デシケータに移す。洗浄された試料は、マイクロウェーブ酸分解法による前処理を行う。洗浄乾燥した試料を秤量し、マイクロウェーブ用テフロン分解容器に入れ、超純水 4.5ml、次に高純度硝酸 0.5ml を加え、分解容器を密閉するようにセグメントにセットする。爪分解プログラムに従って約 40 分間かけてマイクロウェーブで分解する。セグメントごと流水で 20～30 分冷却する。分解液を分析用チューブに移す。洗瓶を用い、超純水で分解容器内壁に残った分解液を洗い流し、チューブに移す。超純水でフィルアップする。定量分析測定は(株)島津製作所の ICP 質量分析装置 (ICPM-8500) により行われた。

統計処理

骨代謝マーカーと爪のミネラル塩量の相関、爪に含まれるそれぞれのミネラルの相関は Pearson の相関係数で検討した。栄養介入の効果による判定は t 検定で行ない、 $p < 0.05$ を有意とした。

2. 結 果

対象者の身体的特徴

Ca 強化群は、光塩学園女子短期大学の女子学生 76 名、対照群は酪農学園大学の女子学生 35 名でそれぞれの身体的特徴は表 2 に示した。

表 2 各群の身体的特徴

	Ca 強化群 (光塩学園女子短期大学) (n=76)	対照群 (酪農学園大学) (n=35)
身長 (cm)	159.4 ± 4.9	158.6 ± 5.0
体重 (kg)	53.1 ± 9.1	54.1 ± 8.6
BMI (kg/m ²)	20.9 ± 3.1	21.5 ± 3.1
体脂肪率 (%)	29.1 ± 5.8	29.9 ± 6.0

栄養介入による変化

それぞれの群の介入前後の BMI・体脂肪率・中性脂肪・総コレステロール・骨型 ALP・オステオカルシン・DPD（換算）・NTx（換算）の変化を表 3 に示した。

表 3 栄養介入による変化

		Ca 強化群	対照群
BMI (kg/m ²)	介入前	20.9±3.1	21.5±3.1
	介入後	21.2±3.0	21.3±2.8
体脂肪率 (%)	介入前	29.1±5.8	29.9±6.0
	介入後	29.8±5.3	30.2±5.1
中性脂肪 (mg/dL)	介入前	65.6±41.8	65.1±32.1
	介入後	53.2±21.6**	70.4±26.1
総コレステロール (mg/dL)	介入前	192.0±26.8	189.6±25.9
	介入後	185.2±25.7**	188.1±26.1
骨型 ALP (U/L)	介入前	23.0±5.7	20.8±6.4
	介入後	20.1±4.7**	22.4±6.4**
オステオカルシン (ng/mL)	介入前	2.3±1.0	4.1±1.2
	介入後	4.4±1.2**	4.4±1.4
DPD (換算) (nmol/mmoOCRE)	介入前	7.6±3.0	5.0±1.6
	介入後	6.1±1.4**	6.8±2.0**
NTx (換算) (nmolBCE/mmoOCRE)	介入前	46.0±15.0	39.6±13.6
	介入後	37.3±12.9**	52.8±29.0

** :p<0.01 介入前 vs 介入後、* :p<0.05 介入前 vs 介入後

Ca 強化群は、介入前後で中性脂肪(65.6±41.8~53.2±21.6)・総コレステロール(192.0±26.8~185.2±25.7)・骨型 ALP(23.0±5.7~20.1±4.7)・オステオカルシン(2.3±1.0~4.4±1.2)・DPD(換算)(7.6±3.0~6.1±1.4)・NTx(換算)(46.0±15.0~37.3±12.9)の項目で有意差(p<0.01)が認められた。対照群では骨型 ALP(20.8±6.4~22.4±6.4)・DPD(換算)(5.0±1.6~6.8±2.0)で有意差(p<0.01)が認められた。また、介入前のそれぞれの値に差がみられたため、群間差の検定は行わなかった。Ca 強化群では、Ca 摂取の介入によって骨形成マーカーである骨型 ALP(基準値 7.9~29.0)は低下したものの、オステオカルシン(基準値 2.5~13.0)は有意に上昇し、骨吸収マ-

カーである DPD (基準値 2.8~7.6)、NTx(基準値 9.3~54.3)は有意に低下した。その結果、骨代謝回転が抑制されていることが示唆された。一方、対照群では骨形成マーカーである骨型 ALP では上昇が見られたが、骨吸収マーカーである DPD や NTx において上昇がみられ、骨代謝回転が亢進していることが示唆された。また、Ca 強化群では、中性脂肪や総コレステロールにおいても低下がみられ、Ca 摂取が生活習慣病予防に関する脂質への効果が認められた。

爪に含まれるミネラル塩濃度とミネラル間の相関

介入前のそれぞれの群について、測定の結果得られた爪に含まれるミネラル塩濃度を表 4 に示した。また、Ca 強化の効果を検討するために、12 月中旬に爪を採取して分析を依頼しているが、諸事情によりまだ分析結果が得られていないため、今回は、報告をしない。

表 4 爪に含まれるミネラル塩濃度

	Ca	Mg	Na	K	P	Zn
対照群	711.0±241.0	84.0±26.7	68.9±32.2	42.2±23.4	290.0±76.1	196.5±77.0
(ng/mg)						
Ca 強化群	674.4±241.8	84.5±30.4	76.7±73.7	41.8±37.3	274.7±91.9	160.8±63.9
(ng/mg)						

	Cu	Se	Cr	Mn	Co	Mo
対照群	6.24±1.74	1.06±0.11	0.76±0.46	0.25±0.40	0.03±0.09	0.02±0.015
(ng/mg)						
Ca 強化群	1.30±1.10	0.79±0.26	0.80±0.29	0.17±0.08	0.02±0.09	0.01±0.004
(ng/mg)						

	Al	Pb	Hg	As	Cd
対照群	20.3±24.0	0.56±0.42	0.59±0.02	0.11±0.04	0.044±0.029
(ng/mg)					
Ca 強化群	14.9±7.8	0.58±0.87	0.56±0.30	0.11±0.05	0.036±0.045
(ng/mg)					

次に骨代謝に関与していると思われるミネラル、Ca, Mg, Na, K, P, Zn のミネラル塩濃度間の相関について検討し、その結果を表5に示した。

表5 ミネラル塩濃度間の相関

	Ca 強化群		対照群	
	Pearson の相関係数	有意確率 (両側)	Pearson の相関係数	有意確率 (両側)
Ca : Mg	r = 0.684**	p=0.000	r = 0.645**	p=0.000
Ca : Na	r = 0.194	p=0.096	r = 0.198	p=0.348
Ca : K	r = 0.171	p=0.143	r = 0.190	p=0.344
Ca : P	r = 0.674**	p=0.000	r = 0.726**	p=0.000
Ca : Zn	r = 0.170	p=0.144	r = 0.033	p=0.868
Na : Mg	r = 0.389**	p=0.001	r = 0.222	p=0.266
Na : K	r = 0.832**	p=0.000	r = 0.718**	p=0.000
Na : P	r = 0.139	p=0.235	r = 0.478*	p=0.012
Na : Zn	r = 0.070	p=0.552	r = 0.172*	p=0.392
Mg : K	r = 0.441**	p=0.000	r = 0.409*	p=0.034
Mg : P	r = 0.460**	p=0.000	r = 0.435*	p=0.023
Mg : Zn	r = 0.220	p=0.058	r = -0.073	p=0.718
P : K	r = 0.195	p=0.094	r = 0.314	p=0.110
P : Zn	r = 0.045	p=0.699	r = 0.101	p=0.589
K : Zn	r = 0.115	p=0.325	r = 0.173	p=0.389

** : p < 0.01, * : p < 0.05

爪に含まれるそれぞれのミネラル塩濃度の相関は、両群共通に Ca : Mg、Ca : P、Na : K の間、Ca 強化群の Na : Mg、Mg : K、Mg : P に強い相関が認められ、対照群の Na : P、Mg : K、Mg : P の間にやや強い相関が認められた。

爪の Ca 塩濃度と骨代謝マーカーとの相関

Ca 介入前の爪の Ca 塩濃度とそれぞれの骨代謝マーカーとの相関を検討した結果を表6に示した。

表 6 爪の Ca 塩濃度と骨代謝マーカ－との相関

	Ca 強化群		対照群	
	Pearson の相関係数	有意確率 (両側)	Pearson の相関係数	有意確率 (両側)
骨形成マーカ－				
骨型 ALP	r =-0.040	p=0.736	r =-0.284	p=0.151
オステオカルシン	r =-0.05	p=0.690	r =-0.042	p=0.835
骨吸収マーカ－				
DPD	r =0.047	p=0.693	r =-0.042	p=0.835
NTx	r =-0.155	p=0.192	r =-0.354	p=0.070

Ca 介入前の爪の Ca 塩濃度とそれぞれの骨代謝マーカ－との間には、相関が認められなかった。当初の計画では、10 月・12 月の爪のミネラル塩濃度の変化と骨マーカ－の変化量の比較などを検討していたが、12 月の爪サンプルの分析結果が間に合わず、検討が行われていない。

3. 考 察

健康寿命の延伸は、高齢化社会において重要な課題であるが、その健康寿命を支える食習慣は特に若い世代において、その乱れが顕著となっている。従来日本人は、魚・大豆を中心とした多種類の食物をとる食文化を営んできたが、現在は肉食中心で、食品の数も少なくなり、栄養バランスは悪くなっている。肉はタンパク質として重要であるが、摂りすぎると Ca の尿中への排出を促し、また、Na の摂りすぎも Ca の排出を促すと報告されている。

健康寿命を縮める原因のひとつとして、骨粗鬆症による骨折から寝たきりになることはよく知られている。骨粗鬆症予防には、成長期に十分な Ca を摂取するとともに運動などを行って、最大骨量を増加させておくことが重要とされている。しかし、食生活の乱れとともに Ca の摂取は、益々困難となっている。Ca 供給源としての牛乳は、体内への吸収率も他の食品に比べて高い上、調理の手間をかけなくても利用できる食材である。しかし、牛乳に含まれる乳脂肪は、肥満やコレステロールの増加の原因になると思われており、その摂取に歯止めがかかっている。今回の研究では、1 日一回の栄養バランスの良い食事と 1 日一本の牛乳を強化することによって、夏から冬にかけて行われた栄養介入であったため、体脂肪率に多少の上昇は見られたが、中性脂肪や総コレステロールは介入前後で低下し、効果的に生活習慣病のリスク軽減効果もあることが明らかになった。

また、骨代謝においても、Ca 強化群では、形成マーカ－(オステオカルシン)では有意な上昇が認

められ、骨吸収マーカー（DPD・NTx）では有意な低下が認められ、Ca 強化による骨代謝回転において顕著な効果が示唆された。

しかし、栄養介入前の健診で採取された尿や血液のサンプルから得られたこれら骨代謝マーカーとその約 40 日後に採取された爪サンプルに含まれるミネラル塩濃度との相関は認められなかった。Towler, MR らは、骨折のリスク軽減において重要である骨を形成するタンパク質のひとつであるケラチンの変化と爪に含まれるケラチンの変化に相関がみられ、爪と骨密度の間に密接な関りがあることを報告している。爪の成長は、上皮の折れ曲がりである爪根（nail root）でおこる。爪末端部分（爪根）は、末節骨の骨膜と近接しており、爪と骨を構成する元素濃度間に何らかの関連がある可能性が考えられている。このため、爪の形、構造、外観の変化は臨床的にも重要であり、この変化は人体の代謝に関する病気を示唆していることもある。たとえば、慢性呼吸器疾患、甲状腺疾患、AIDS では爪が黄変する。また、爪に含まれるそれぞれのミネラル塩濃度間に見られた相関では、骨形成に関りがあると考えられる Ca, Mg, P のミネラル間に強い相関が見られると同時に、Na と K の間にも相関が認められたことは興味深い。荻田らは、女性高齢者の骨密度と爪に含まれるミネラル塩濃度との関係の中で、Ca 塩濃度と Zn 塩濃度の相関と骨密度との間での相関を報告しているが、今回では認められなかった。高齢女性は一般的に複数回出産を経ているため、今回行った若年女性の結果と異なるのかもしれない。しかしながら、これらの相関が体内のどのような代謝を反映しているかは不明であり、今後の解明が必要となる。爪に含まれる Ca 塩濃度については、正木らが、女子学生で 4 ヶ月間、1 日あたり 600mg の Ca を摂取し、その結果爪に含まれる Ca 塩濃度が有意に減少したこと、超音波法による骨密度と爪の Ca 塩濃度には相関がみられなかったことを報告し、Ca 摂取により骨形成が亢進し、骨吸収が抑制され、爪に含まれる Ca 塩濃度が減少したとその原因を考察している。一方で、Ca 摂取強化によって骨代謝回転が抑制されて、骨密度に反映されるまでには少なくとも 6 ヶ月は必要であるとの報告もあり、本研究のように 3 ヶ月という短期間ではその効果は顕著に表れず、もう少し長い介入期間が必要なのかもしれない。

栄養介入後の状態を反映する爪のサンプルの分析をまだ終えていないので、爪サンプル分析後、骨代謝マーカーの変動（変化率）と爪のミネラル塩濃度の変動の関連、また、現在もっとも信頼性が高いとされている DXA 法による測定結果を得た上で、今後、爪における骨量評価を総合的に検討したい。

4. 結 論

本学で実施されている栄養バランスの良い給食に加えて、体内での Ca 吸収率が高く、その上摂取が容易である牛乳を摂取することで Ca 摂取不足を改善し、それによって骨代謝にどのような効果が生じるか、と同時に、爪のミネラル塩量が骨の代謝マーカーになりうるかの検討を行った。

夏から冬にかけて行われた栄養介入であったため、体脂肪率に多少の上昇は見られたが、中性脂

肪や総コレステロールは介入前後で低下し、効果的に生活習慣病のリスク軽減効果もあることが明らかになった。また、骨代謝においても、形成マーカー(オステオカルシン)では有意な上昇が認められ、骨吸収マーカー(DPD・NTx)では有意な低下が認められ、Ca強化による骨代謝回転において顕著な効果が示唆された。

しかし、栄養介入前の健診で採取された尿や血液のサンプルから得られたこれら骨代謝マーカーとその約40日後に採取された爪サンプルに含まれるミネラル塩濃度との相関は認められなかった。

謝 辞

本研究遂行にあたっては、酪農学園大学食品学研究室石井智美先生をはじめ学生の皆さん、光塩学園女子短期大学の学生のご協力をいただきましたこと、(株)イービーエスの皆様のご援助いただいたことに対してお礼申し上げますとともに、深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状 平成14年厚生労働省国民栄養調査結果(2004) 第1出版
- 2) 平成17年度 北海道の栄養の現状 北海道平成16年度健康づくり道民調査
- 3) J. Kristiansen, J. M. Christensen, T. Henriksen, N. H. Nielsen, T. Menne. Determination of nickel in fingernails and forearm skin(stratum corneum) Anal. Chem. Acta. 4003.265(2000)
- 4) K. Masaki, H. Satoh. Relationship between Calcium Supplementation and the Fingernail Calcium Concentration in Female University Students. Jpn. J. Nutr. Diet, 62(5)285-291(2004)
- 5) K. Karita, T. Takano. Relation of Fingernail Mineral Concentrations to Bone Mineral Density in Elderly Japanese Women. Jp. J. Pub. 41(8)759-763(1994)
- 6) T. Kitano. Basic and Epidemiological Studies on Calcium Nutrition for Japanese People. Jpn. J. Nutr. Diet. 63(5)253-259(2005)
- 7) 骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用に関する指針検討委員会、骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン(2004年度版)
- 8) 三木隆己、斎藤真一、骨代謝マーカーの使い方、総合臨床 54(11)2849-2854(2005)
- 9) P. Moran, M. R. Towler, S. Chowdhury, et. al. Preliminary work on the development of A novel detection method for osteoporosis. J. Mater. Sci. Mater. Med. Jan. (2007)
- 10) M. R. Towler, A. Wren, N. Rushe, et. al. Raman spectroscopy of the human nail: A potential tool for evaluating bone health? J. Mater. Sci. Mater. Med. Nov. (2006)