

ランダム化比較試験によるカルシウムの骨粗鬆症予防効果の解明

新潟大学大学院医歯学総合研究科地域予防医学講座

社会・環境医学分野：中村 和利

新潟医療福祉大学健康科学部

：齋藤 トシ子

要 旨

カルシウムは日本人に不足している最も代表的なミネラルであるが、日本人閉経後女性のカルシウム低摂取の骨への悪影響を明らかにした疫学研究は少なく、介入研究は見られない。本研究の目的は、ランダム化比較試験（RCT）のデザインを用いて、カルシウム摂取量増加の骨量低下抑制作用を明らかにすることである。閉経後女性450人のボランティアを募り、次の3群のいずれかにランダムに割り付けた。すなわち、1)カルシウム250mg/日を服用する群（150人）、2)カルシウム500mg/日を服用する群（150人）、3)プラセボを服用する群（150人）である。予定通り、450人のボランティア参加者を集めて、介入試験を開始した。2008年11月にベースライン医学検査を行ない、2009年11月に1年後中間検査を行なった。アウトカムは腰椎および大腿骨頸部骨密度、血中副甲状腺ホルモン濃度、オステオカルシン濃度（骨形成の指標）、Type I collagen cross-linked N-telopeptides濃度（骨吸収の指標）であった。ベースラインにおける参加者のカルシウム摂取量の平均値は490mg/日であった。中間医学検査では、425人（94.4%）が参加し、この時点で、錠剤の服用を中止するとした者は28人（6.6%）であった。2010年11月に最終検査を行なう予定であり、高い参加率が期待される。

キーワード：介入試験、カルシウム、骨粗鬆症予防、骨密度、閉経後女性

1 緒言

カルシウムは、日本人に不足している最も代表的なミネラルであり、その十分な摂取が推奨されている。平成18年国民健康・栄養調査によると、閉経後女性（50～69歳）のカルシウム摂取の平均値は561mg/日¹⁾であり、2010年版日本人の食事摂取基準²⁾における同年代のカルシウム摂取推奨量の650mg/日より明らかに少ない。しかしながら、日本人閉経後女性のカルシウム低摂取の骨への悪影響を明らかにした疫学研究は少なく、また介入研究は皆無であり、カルシウム摂取と骨の健康に関して日本人を対象としたエビデンスはほとんどないのが現状である²⁾。

本研究の目的は、ランダム化比較試験（RCT）のデザインを用いて、カルシウム摂取量の増加は閉経後女性の骨量低下抑制に効果があるのか、あるとすればどの程度のカルシウム摂取量増加が有効か、を明らかにすることである。今回は、本RCTの基本デザインを提示し、ベースライン調査および1年後中間検査の結果を基に本研究集団の特性を明らかにする。なお、RCTの厳密性を保つため、中間時点における3群間の比較解析は行わない。

2 対象と方法

2.1 研究デザイン

研究デザインは、プラセボを用いた2重盲検ランダム化比較試験（RCT）である。本研究は臨床試験登録システム（UMIN-CTR）に登録済みであり、UMIN000001176のIDを取得している。イン

フォームドコンセントは書面でもった。本調査研究計画は新潟大学医学部倫理委員会の承諾を得た。

2.2 対象者

50～74歳の女性450人を対象とし、新潟県内在住の栄養士、食生活改善推進委員、JA女性部より、本研究の趣旨を十分理解したうえで対象者となることに協力する者を募った。除外基準はカルシウムサプリメント使用者、骨粗鬆症治療薬服用者、ステロイド剤服用者、内分泌疾患有病者、悪性腫瘍有病者、尿路系結石の既往のある者とした。最終的に450人の参加者を得た。

2.3 研究期間

2008年11月9日から20日にベースライン調査を行い、基本属性、栄養評価（カルシウム摂取量など）、医学・血液生化学検査を行った。介入継続期間は2年とした。2009年の11月には中間医学検査を、2010年の11月には最終医学検査を行い、最終結果報告を行う。

2.4 介入

対象者450人を次の3群のいずれかにブロックランダム法によりランダムに割り付け、それぞれの錠剤（5錠/日）を毎日服用することとした。すなわち、1)カルシウム250mgを服用する群（150人）、2)カルシウム500mgを服用する群（150人）、3)プラセボを服用する群（150人）である。ランダム化において層化は行わなかった。カルシウムを含む錠剤は炭酸カルシウム剤として作成した（アピ（株）、岐阜）。服用は食事と共に行なうこととした。5錠の介入用錠剤をどのように服用するかについては、原則として各自の自由とし、ライフスタイルに合わせて服用することとしたが、一日2回または3回に分けて服用することが望ましいと伝えた。介入用錠剤のコンプライアンスは残薬により評価することとした。

2.5 アウトカム

以下の項目につき、2年間の変化率をアウトカムする。すなわち、骨粗鬆症関連マーカーとしての腰椎および大腿骨頸部骨密度（BMD）、血中副甲状腺ホルモン濃度（Intact PTH：低カルシウム摂取による二次性副甲状腺機能亢進症の指標）、オステオカルシン（OC）濃度（骨形成の指標）、Type I collagen cross-linked N-telopeptides（NTX）濃度（骨吸収の指標）である。

2.6 ベースライン医学検査

ベースラインにおける対象者の基本属性・生活習慣情報の把握のための面接および医学検査は、新潟県内の11会場（糸魚川市、上越市、妙高市、十日町市、南魚沼市、魚沼市、長岡市、三条市、新潟市、新発田市、村上市）において、2008年11月の12日間に行った。

面接では、基本属性の他、病歴、職業、嗜好品、カルシウム摂取量、活動量に関する情報を得た。カルシウム摂取量の評価には、半定量的食物摂取頻度調査法であるUenishiらの方法³⁾を用いた。日常の活動量については、以下の活動を1週間に少なくとも1回行うかどうかを聞き取った。1)軽度の運動（たとえば、ゲートボール、散歩など）、2)中等度の運動（たとえば、畑仕事、庭仕事など）。

身長と体重は、それぞれ1mmおよび100gの単位まで測定した。体重（kg）を身長（m）の二乗で

除し、ボディーマスインデックス (BMI) を算出した。左右の握力はデジタル握力計で測定した。腰椎 (L2-4) と大腿骨頸部の骨密度は、QDR4500a (Hologic Inc., Bedford, MA, USA) を用いてDEXA法により測定した。

空腹時血液を採取した (採血は日中)。採血後、血液を直ちに4°Cで保管し、3000rpmで10分の遠心により血清を分離した。血清は生化学分析を行うまで-80°Cで保存した。血液生化学検査はBML社に依頼した。血中Intact PTHはtwo-site immunoradiometric assay (Nichols Institute Diagnostics, San Clemente, CA, USA) で測定した。血中OCはimmunoradiometric assay (Mitsubishi Kagaku Medical, Inc., Tokyo, Japan) で測定した。血中NTXは、enzyme-linked immunosorbent assay (Osteomark NTX Serum, Ostex International, Inc., Seattle, WA, USA) で測定した。

2.7 中間医学検査

1年後の中間医学検査は2009年11月の12日間に、ベースライン検査と同じ会場で行った。骨密度および血液検査については、ベースラインと全く同じ要領で同じ項目の測定を行なった。面接では、過去一年間の体調について尋ねた。

2.8 サンプルサイズの妥当性

アジア人 (マレーシア人) においてカルシウム1000mgを付加した縦断研究では、介入群と非介入群の2年間の大腿骨頸部骨密度変化の差は平均で約2% (標準偏差4.7~5.0%) であった⁴⁾。これより、検出力 $(1-\beta)=90\%$ 、有意水準 $\alpha=0.05$ (両側) でこの骨密度の差を検出するには、両群で84~131例必要と算出される⁴⁾。この数字は、途中の脱落を考慮した本研究の対象者数と同等と考えられる。実際、過去の同様なRCT (2年間) においても、1つの介入群において50~100例で行なわれていることが多い。また、本研究は、骨密度の2年間 (2点) の変化の差を見るのではなく、2年間に3回骨密度を測定し、その変化率をエンドポイントとする。これは、単純な2点の差より精度がより良いため、より大きい検出力が得られる。

2.9 統計解析

連続変数については、その正規性を確認した。血中NTXおよびIntact PTHは正規分布しなかったため、有意差検定の際に自然対数変換を行って解析した。2分位変数である活動量に関して、活動をしている場合は1、していない場合は0とコードした。2つの連続変数の平均値の差の検定にはt-検定を用いた。カルシウム摂取の四分位群とアウトカムとの関連の傾向を見出すため、重回帰分析を用いた。ベースラインと中間医学検査の変化の検定には、対応のあるt-検定を用いた。統計解析ソフトはSASを用いた (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)。有意水準0.05未満の場合に有意差ありとした。最終結果の統計解析では、Intention-to-treatおよびPer protocolの両方において、3群の骨密度低下率およびその他の結果指標の変化率を分散分析により解析する予定である。

3 結果

ベースライン医学検査における参加ボランティア450人の特性を、過去に行った疫学調査（横越研究⁵⁾）における閉経後女性の集団の結果と比較して表1に示した。本研究の参加ボランティア集団は、一般地域住民集団と比較し3.8歳若く、BMIは小さい傾向にあった。中等度の運動を行っている人の割合は一般地域住民集団より高く、そのためか、握力、骨密度とも高い傾向にあった。カルシウム摂取量の分布を図1に示した。カルシウム摂取量は一般集団より少なかった。

ベースラインにおけるカルシウムの栄養状態を評価する目的で、カルシウム摂取量と各アウトカムとの関連性を分析した（表2）。カルシウム摂取量と年齢には有意な正の関連、カルシウム摂取量とBMIには有意な負の関連が見られた。

中間医学検査では、425人（94.4%）が参加した。425人の検査結果およびベースライン検査からの変化を表3に示した。体重は有意に増加していたが、大腿骨頸部BMD、腰椎BMD、血中OC濃度は有意に低下していた。

中間医学検査の時点で、錠剤の服用を中止すると申告した者は28人（6.2%）であった。

4 考察

著者らは、本邦初の閉経後女性カルシウム付加の骨への影響を明らかにするRCTを計画し、計画通りに450人の参加ボランティアを集め、ベースライン医学検査を行なった。また、1年後のドロップアウト率も6.2%と非常に少なかった。最終検査においても高い参加率が期待される。

今回、1年後の中間医学検査を行なったが、RCTの厳密性を保つため、介入3群間の中間比較解析は行わなかった。仮に中間解析を行って研究者の予想した結果となっていれば問題ないが、予想されない結果がでた場合、研究者による公平な介入が損なわれる可能性が否定できないからである。同様の理由で、介入3群間のベースラインの特性も比較を行わなかった。これらは、厳密なRCTを遂行する上で非常に重要な要素であると考えている。

これまでの観察型疫学研究では、カルシウム摂取と骨粗鬆症に関する諸問題を解決できていない。その理由はカルシウム摂取量を正確に評価できないことに尽きる。本介入研究は、この点を克服するものである。本研究の最大の特色は、カルシウム低摂取集団である日本人における世界で初めてのカルシウム付加のRCTであると共に、プラセボを用いることによる科学的厳密性である。

欧米諸国では、すでに（サプリメントによる）カルシウム付加の骨量低下抑制効果に関するRCTが複数行なわれている。システマティックレビューによると、カルシウムのみの付加（1000～1200mg/日）に閉経後女性の骨量低下予防効果はないと結論づけている⁶⁾。しかしながら、この結論はカルシウム摂取量が日本人より明らかに多い欧米白人のRCTより得られたものであり、カルシウム摂取量が少ない日本人には適用できない。いくつかの観察研究では、日本人のカルシウム低摂取者における骨代謝異常が認められるからである。例えば、カルシウム摂取量が日本人の平均値以下の閉経後女性の腰椎圧迫骨折発生のリスクは、平均値以上の女性より約2倍高いこと⁷⁾、さらにカルシウム低摂取群では骨質が低下していること⁸⁾、が報告されている。このような現状において、日本人の骨粗鬆症予防におけるカルシウム摂取増加の効果を介入研究によって解明することは非常に重要であり、日本人の食事・生活習慣に見合ったカルシウム摂取増加量を提案することが求められている。

介入によるカルシウム摂取増加の骨量低下抑制または骨代謝改善効果が明らかになれば、乳製

品をはじめとしたカルシウム含有食品摂取増加の有用性を支持することになる。RCTである本研究より得られる結果は、単独の研究としては最も高いレベルのエビデンスを提供し得る。現在の食事摂取基準は十分なエビデンスに基づいているとは言えない現状であり²⁾、本研究により食事からのカルシウム摂取量の低い日本人を含むアジア人の新しい食事摂取基準の基礎データとなる。仮に250mg/日（牛乳約1本分のカルシウム）または500mg/日（牛乳約2本分のカルシウム）のカルシウム摂取量増加に骨密度低下抑制効果が示されれば、それはカルシウム摂取量の少ないアジア人におけるグローバルスタンダードとなるであろう。

5 おわりに

著者らは、本邦初の地域住民を対象としたカルシウム付加のRCTを計画し、予定通り450人の閉経後女性ボランティアを集め、介入試験を開始した。1年後の中間点では、94.4%の高い参加率を得た。2年後の最終検査においても高い参加率が期待される。

6 謝辞

本研究を遂行するにあたり、助成をいただきました社団法人日本酪農乳業協会に深謝いたします。

7 参考文献

- 1) 健康・栄養情報研究会. 国民健康・栄養の現状：平成18年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より. 東京：第一出版, 2009.
- 2) 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準（2010年版）。東京：厚生労働省, 2009.
- 3) Uenishi K, Ishida H, Nakamura K. Development of a simple food frequency questionnaire to estimate intakes of calcium and other nutrients for the prevention and management of osteoporosis. *J Nutr Sci Vitaminol* 2008;54, 25-9.
- 4) Chee WS, Suriah AR, Chan SP, et al. The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese women in Malaysia. *Osteoporos Int* 2003,14:828-34.
- 5) Nakamura K, Tsugawa N, Saito T, et al. Vitamin D status, bone mass, and bone metabolism in home-dwelling postmenopausal Japanese women: Yokogoshi Study. *Bone* 2008;42:271-7.
- 6) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington, DC: National Academy Press, 1997.
- 7) Nakamura K, Kurahashi N, Ishihara J, et al. Calcium intake and the 10-year incidence of self-reported vertebral fractures in women and men: the Japan Public Health Centre-based Prospective Study. *Br J Nutr* 2009;101:285-94.
- 8) Nakamura K, Saito T, Yoshihara A, et al. Low calcium intake is associated with increased bone resorption in postmenopausal Japanese women: Yokogoshi Study. *Public Health Nutr* 2009;12:2366-70.

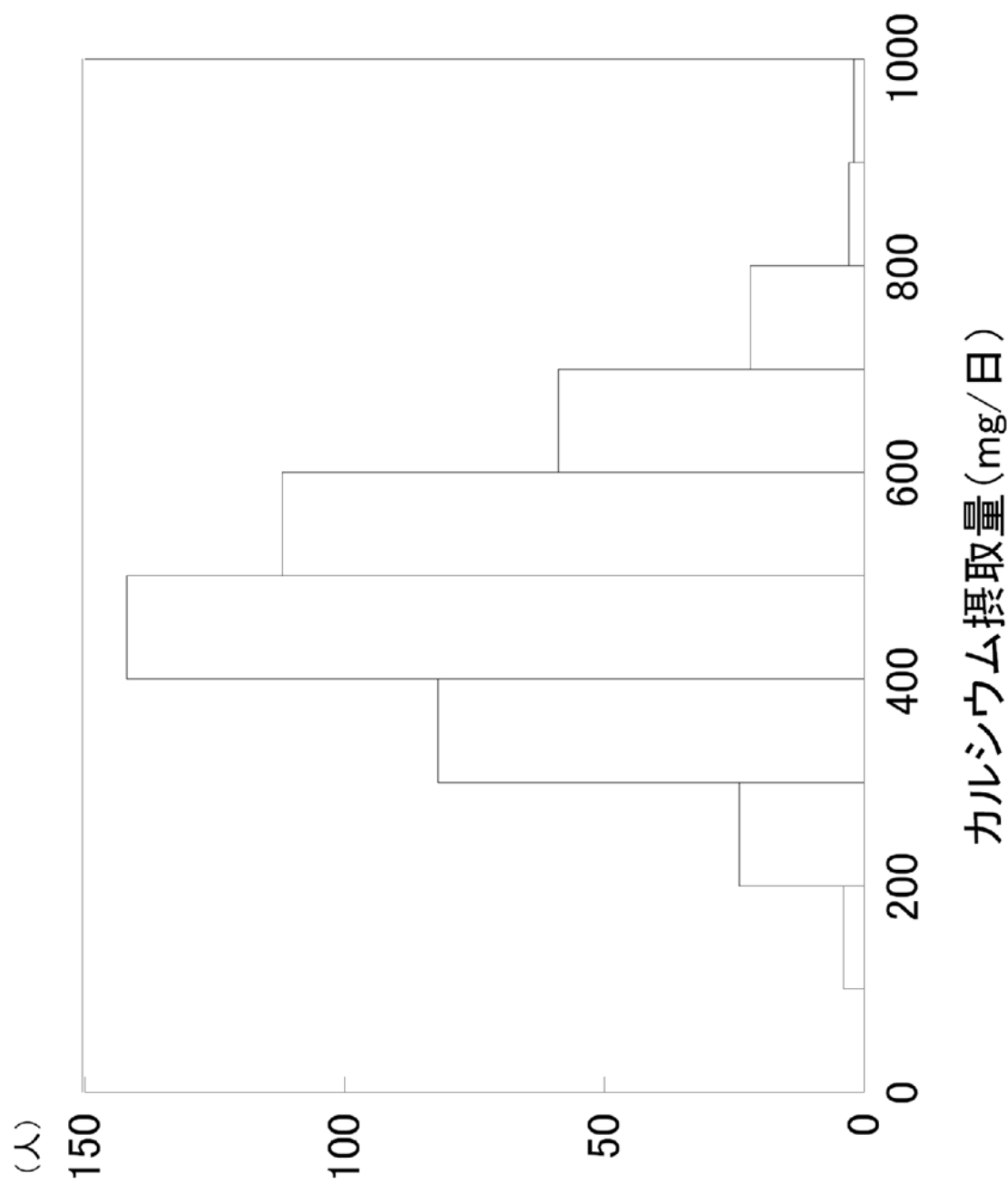


図1 参加者のカルシウム摂取量の分布
カルシウム摂取量は一般集団（表1）より少なかった。

表1 ベースライン時の本集団と過去に行った地域女性住民の健康特性の比較

	本研究集団(n=450)		横越研究(n=600)	
	平均値または割合	標準偏差	平均値または割合	標準偏差
年齢	59.7*	5.9	63.5	5.8
閉経年齢	49.9*	4.0	51.0	8.3
身長(cm)	153.6*	5.3	150.7	5.5
体重(kg)	53.4	7.5	53.1	8.3
BMI(kg/m ²)	22.6*	3.0	23.4	3.5
握力(kg)	25.6*	3.7	23.2	3.9
カルシウム摂取量(mg/日)	490*	130	527	160
大腿骨頸部 BMD(g/cm ²)	0.691*	0.097	0.668	0.094
腰椎 BMD(g/cm ²)	0.906*	0.153	0.846	0.147
血中 Intact PTH(pg/ml)	43.1*	14.9	40.0	13.2
血中 OC(ng/ml)	8.1*	2.2	9.9	4.0
血中 NTX(nMBCE/l)	17.5*	5.4	21.0	6.5
家事を行う	98.9%*	-	95.3%	-
軽度の運動を行う	43.2%	-	41.7%	-
中等度の運動	78.2%*	-	49.7%	-

*P<0.05

BMI：ボディーマスインデックス，BMD：骨密度，Intact PTH：副甲状腺ホルモン，OC：オステオカルシン，NTX：type I collagen cross-linked N-telopeptides

表2 カルシウム摂取量 (mg/日) の4分位群別の諸変数の比較

	カルシウム摂取 (mg/日) の4分位				傾向の P 値*
	Q1(<403)	Q2(403-487)	Q3(488-578)	Q4(≥578)	
年齢	57.6	59.6	59.7	61.8	<0.0001
体重(kg)	54.4	53.1	54.0	52.0	0.1292
BMI(kg/m ²)	22.8	22.6	22.9	22.2	0.0478
握力(kg)	25.7	25.4	26.0	25.3	0.3896
大腿骨頸部 BMD(g/cm ²)	0.700	0.688	0.695	0.682	0.7258
腰椎 BMD(g/cm ²)	0.909	0.900	0.905	0.909	0.1103
Intact PTH(pg/ml)	43.0	43.6	41.3	44.5	0.9719
OC(ng/ml)	8.2	8.1	8.2	8.0	0.5712
NTX(nMBCE/l)	17.5	18.2	16.9	17.3	0.3185

*年齢調整後 (「年齢」を除く)

BMI : ボディーマスインデックス, BMD : 骨密度, Intact PTH : 副甲状腺ホルモン, OC : オステオカルシン, NTX : type I collagen cross-linked N-telopeptides

表3 1年後中間医学検査における結果およびベースラインからの変化

	中間医学検査結果(n=425)		ベースラインからの変化		
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	P-値
体重(kg)	54.4	7.6	+1.0	1.6	<0.0001
握力(kg)	25.8	3.7	0.0	2.1	0.7106
大腿骨頸部 BMD(g/cm ²)	0.678	0.094	-0.014	0.024	<0.0001
腰椎 BMD(g/cm ²)	0.890	0.146	-0.018	0.027	<0.0001
血中 iPTH(pg/ml)	41.8	13.9	-0.9	10.7	0.0704
血中 OC(ng/ml)	7.6	2.5	-0.5	1.9	<0.0001
血中 NTX(nMBCE/l)	17.5	6.2	+0.1	4.3	0.7183

BMD : 骨密度, iPTH : インタクト副甲状腺ホルモン, OC : オステオカルシン, NTX : type I collagen cross-linked N-telopeptides