

ビタミンD・カルシウム強化牛乳が 思春期小児の骨密度増加に与える影響の検討

尚絅大学生生活科学部栄養科学科：酒井 一樹

尚絅大学生生活科学部栄養科学科：西山 宗六

順天堂大学医学部小児科：鈴木 光幸

順天堂大学医学部小児科：成高 中之

要旨

思春期前後の小児を対象にビタミンD・カルシウム強化牛乳（強化牛乳）を負荷する介入手法により、強化牛乳が小児の骨密度増強に及ぼす効果を検討した。また介入中の尿中カルシウム（Ca）排泄量を調査し、強化牛乳負荷の安全性について検討した。

熊本市の慈恵病院で募集した女子13名、男子4名の計17名を対象とし、全ての対象者に強化牛乳の介入を行った。介入期間は女子で 5.2 ± 1.4 か月、男子で 5.4 ± 1.2 か月であった。Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) 法を用いて介入前後で第2-4腰椎の骨密度（BMDL2-4）を測定し、SDスコア（BMDL2-4SDスコア）を算出して差を比較した。介入前には対象者の栄養摂取量、運動歴、思春期発達度を調査し、血液、随時尿を採取した。また介入中は定期的に随時尿を採取した。血中25-hydroxy vitamin D (25OHD), intact PTH, Ca, アルブミン (Alb), 無機リン (Pi) を測定し、介入前のビタミンD、Ca状態を確認した。また尿中Ca排泄量の変化を確認するため尿中Ca, ナトリウム (Na), クレアチニン (Cre) を測定し、介入前と介入中でカルシウム/クレアチニン比 (Ca/Cr) を比較した。主な結果は以下の通りであった。

- ①女子では介入前から介入後にかけてBMDL2-4SDスコアの上昇傾向が認められた。
- ②女子では介入中にCa/Crの上昇傾向が認められた。介入中Ca/Cr 0.22以上の高値が女子で48回測定中4回に認められたが、高値が連続することはなく一過的であった。
- ③男女とも尿中Ca排泄とNa排泄の間には有意な正の相関が認められた。
- ④Na摂取量と介入前BMDL2-4SDスコアの間には有意な負の相関が認められた。

以上の結果から思春期前後の小児に対する強化牛乳の負荷は骨密度の増強に有効であり、尿路結石を配慮した安全性は高いと考えられる。ただし、継続的に強化牛乳を摂取する場合は定期的に尿中Ca/Crを確認し、Na摂取を控える等の指導を行うことが望ましい。

緒言

骨粗鬆症は加齢に伴う骨密度減少により骨が脆弱化する病態である。我が国の骨粗鬆症患者は現在1000万人を超えると推定されており、それに伴う医療費の増加が問題となっている。骨密度は男子では20歳、女子では18歳頃までに最大を迎え、その後35歳頃から加齢に伴って徐々に減少していくことが知られている。加齢に伴う骨密度の減少を抑制することは容易ではなく、骨粗鬆症を予防するためには若年時、とりわけ骨密度の増加が著し

い思春期前後に十分な骨密度を獲得し、最大骨密度を高めることが重要である。最大骨密度の決定には遺伝要因と環境要因が関与することが知られている¹⁻³⁾。近年若年者の骨密度が減少傾向にあることが示唆されているが、その背景には若年者の運動習慣や栄養摂取の変化があるものと考えられる。我が国の成人女性を対象とした調査では、ビタミン D 状態を反映する指標である 25OHD の値は、不足とされる 20 ng/ml 以下が全体の 55 %にみられると報告している⁴⁾。小児においても成人と同様にビタミン D 不足が存在することが推測される。Ca 摂取量については平成 24 年の国民健康・栄養調査の結果では、7~14 歳の摂取量が女子では 620 mg, 男子では 704 mg であり、日本人の食事摂取基準 2010 年版（摂取基準）の推奨量 800 mg, 1000 mg を満たしていない。

海外では小児を対象とする Ca による介入研究がいくつか報告されており骨密度増強効果が認められている⁵⁻⁷⁾。我が国で小児を対象としたビタミン D、Ca 摂取と骨密度の関係について調査した研究はいくつか報告されているものの、介入研究はほとんど実施されていない。人種間の遺伝的背景や食事や運動などの生活習慣の違いを考慮して、我が国独自のデータを蓄積することが必要である。我々は強化牛乳を用いて、6-13 歳の小児を対象とした介入試験を実施し、骨密度に及ぼす影響を調査した。

実験方法

1 対象者

対象は 6-13 歳の男女 17 名とした。女子は 13 名 (10.67±1.65 歳)、男子は 4 名で (10.91±2.03 歳) であった。慈恵病院（熊本市）で出生し、思春期前後の男女から募集した。対象者とその保護者に研究の趣旨と、内容について十分に説明をした後、書面で同意をとった。

2 強化牛乳の介入方法と組成

対象者全員に強化牛乳（明治ミルクで元気）180ml を毎日飲用するように説明した。強化牛乳は対象者の住居に直接配達し、飲用の時間は指定せず、対象者の自由とした。介入に用いた強化牛乳の成分組成は表 1 に示す。

表1. 明治ミルクで元気 栄養成分

成分	180ml当たり
エネルギー	109kcal
たんぱく質	6.7g
脂質	4.1g
炭水化物	11.3g
ナトリウム	87mg
カルシウム	700mg
鉄分	7.5mg
ビタミンD	10.0 μg
葉酸	60 μg

3 調査・測定の手順

強化牛乳の介入前に対象者の栄養摂取量、運動歴、思春期発達度を調査し、血液、随時尿を採取し、BMDL2-4を測定した。その後、強化牛乳による6か月間の介入を実施し、再度BMDL2-4を測定した。また介入開始後およそ1-3か月毎に随時尿を採取した。介入は対象者の都合に合わせて2013年4月以降順次実施した。本報告作成時に介入期間が6か月に満たない対象は、介入期間終了前に、中間調査としてBMDL2-4を測定した。本報告での対象の平均介入期間は女子で 5.2 ± 1.4 か月、 5.4 ± 1.2 か月であった。

a) 栄養摂取量調査

栄養調査は簡易型自記式食事歴法質問票⁸⁾(BDHQ 10y)を用いて過去1か月間の食習慣を対象者本人または保護者から聞き取り調査し、1日の栄養素別平均摂取量と平均摂取カロリーを算出した。栄養摂取量調査を実施し得た対象は女子8名であった。

b) 運動歴・思春期発達度調査

運動歴・思春期発達度は対象者本人または保護者からの聞き取り調査により行った。運動歴は過去に何らかの運動を一定期間定期的に(週に2回以上を1年以上)実施していた経験の有無を調査した。

思春期発達度は女子の対象者に対して初経発来の有無、初経発来の年齢を聞き取り調査により行った。

c) 血液・尿検査

血液については対象者の任意の時間に採血を行い、ビタミンD、Ca状態を調査するために、血中25OHD(RIA2抗体法), intact PTH(ECLIA法), Ca(アルセナゾⅢ法), Alb(BCP改良法), Pi(モリブデン酸直接法)を測定した。

尿については対象者の任意の時間に採取し、尿中Ca排泄量を確認するため、尿中Ca(アルセナゾⅢ法), Na(電極法), Cre(酵素法)を測定した。

d) 栄養摂取量調査

骨密度はDXA法で測定し、QDR-Discovery(Hologic)を測定機器に用いた。測定部位は第2-4腰椎とした。測定した骨密度は小児骨密度基準値⁹⁾を参照してBMDL2-4SDSを算出し、介入前後でBMDL2-4SDSを比較した。

4 統計解析

統計処理ソフトにはR for Windowsを用い、介入前後の差の検定はpaired t-testで行った。二変量間の単相関については、Pearsonの相関係数を求めた。各々の検定において危険率5%未満を有意水準とし、10%未満を傾向ありとした。なお表中の数値は平均値±標準偏差により表した。

結果

1 運動歴、思春期発達度調査

介入前の調査では女子では13名中2名が運動歴有り、男子では運動歴有りの対象はいなかった。思春期発達度は女子の13名中2名が初経発来有り、初経発来年齢はそれぞれ11歳0か月と11歳4か月であった。また介入期間中の初経発来はなかった。

2 介入前後の腰椎骨密度の比較 (表2)

介入による骨密度への効果は介入前後のBMDL2-4SDスコアの比較により行った。女子では介入前後で上昇傾向が認められ、男子では有意な変動は認められなかった。身長、体重についても介入前後でSDスコアの比較を行ったが、女子、男子ともに有意な変動は認められなかった。また運動歴の有無、初経発来の有無によって介入前、介入後のBMDL2-4SDスコアに有意差は認められなかった。

表2. 介入前後の身長・体重・骨密度の比較

女子(n=13)			
	介入前	介入後	有意差
年齢(歳)	10.67±1.65	11.49±1.30	-
身長(cm)	138.5±12.2	143.7±10.4	-
身長SDスコア	-0.43±0.98	-0.40±1.02	p=0.637
体重(kg)	32.7±7.2	36.44±7.05	-
体重SDスコア	-0.50±0.57	-0.44±0.62	p=0.232
BMDL2-4 (g/cm ²)	0.68±0.13	0.74±0.13	-
BMDL2-4SDスコア	-1.30±1.49	-0.97±1.47	p=0.050

男子(n=4)			
	介入前	介入後	有意差
年齢(歳)	10.91±2.03	12.16±2.07	-
身長(cm)	136.6±10.4	145.2±16.4	-
身長SDスコア	-0.83±1.37	-0.83±1.36	p=0.996
体重(kg)	35.0±10.0	40.1±13.1	-
体重SDスコア	-0.30±0.99	-0.41±0.52	p=0.692
BMDL2-4 (g/cm ²)	0.65±0.04	0.70±0.11	-
BMDL2-4SDスコア	-1.40±1.34	-1.08±1.74	p=0.232

3 介入前の対象のビタミンD、カルシウム状態について (表3, 図1)

介入前の血中25OHD濃度は30 ng/ml未満が女子では2例、男子では1例であった。この3例はいずれも20 ng/ml以上であり、対象者に重度のビタミンD不足は認められなかった。また女子の対象者で介入前の血中25OHD濃度とBMDL2-4SDスコアの相関を確認したが、有意な相関は示されなかった。血中Intact PTH, 血中Ca, 血中Alb, 血中Piは男女ともすべての対象で正常の範囲内であった。

表3. 介入前のビタミンD・カルシウム状態

	女子	男子
血中25OHD (ng/ml)	33.42±5.53	34.50±16.26
血中intact PTH (pg/ml)	26.50±9.14	24.75±6.02
血中Ca (mg/dl)	9.72±0.49	9.65±0.51
血中Alb (g/dl)	4.87±0.37	4.64±0.59
血中Pi (mg/dl)	4.94±0.54	4.95±0.83

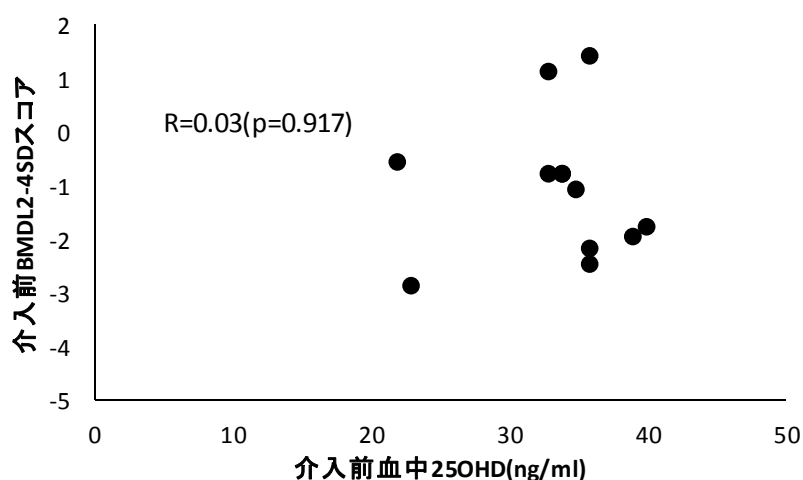


図1. 介入前の対象の血中25OHD濃度とBMDL2-4SDスコアの相関(女子)

4 介入前後の尿中 Ca 排泄量の比較 (表 4, 図 2)

尿の採取は介入前にそれぞれの対象で各 1 回実施し、介入期間中それぞれの対象で各 1-5 回 (女子ではのべ 48 回、男子ではのべ 13 回) 実施した。介入期間中、複数回尿を採取した場合は、平均値をその対象の介入期間中の尿中 Ca・Na 排泄量とした。尿中 Ca・Na は尿中 Cre で補正した。女子では介入期間中に尿中 Ca/Cre の上昇傾向が認められ、尿中 Na/Cre は有意に減少した。男子では尿中 Ca/Cre, 尿中 Na/Cre に有意な変動は認められなかった。また尿路結石を考慮して Ca/Cre 0.22 以上を高値の指標とすると、介入前は男女ともに Ca/Cre 0.22 以上の高値は認められなかったが、介入中は女子では 48 回測定中 4 回で Ca/Cre 0.22 以上の高値が認められた。男子では介入中も 0.22 以上の高値は認められなかった。また尿中 Ca 排泄量と尿中 Na 排泄量の相関を確認すると、男女ともに有意な正の相関が認められた。

表4. 介入前後の尿中Ca・Na排泄量の比較

女子			
	介入前	介入期間中	有意差
尿中Ca/Cre	0.0744±0.0574	0.0992±0.0536	p=0.076
尿中Na/Cre	1.6196±0.5342	1.1909±0.3223	p=0.005

男子			
	介入前	介入期間中	有意差
尿中Ca/Cre	0.0958±0.0796	0.1088±0.0242	p=0.736
尿中Na/Cre	2.0078±1.4291	1.7975±0.5813	p=0.817

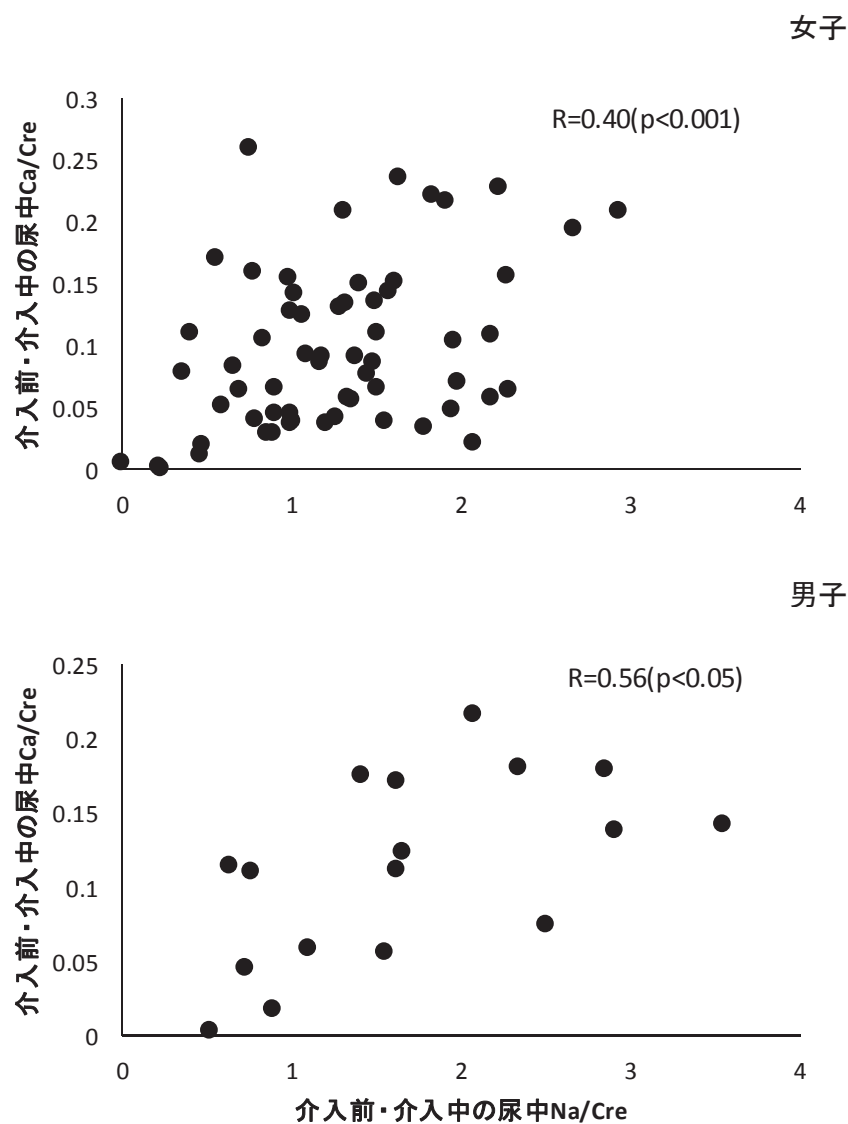


図2. 尿中Ca排泄量と尿中Na排泄量の相関

5 栄養摂取量調査（表 5, 図 3, 図 4）

対象者の内、女子 8 名に対して栄養摂取量調査を実施した。調査対象者の年齢は 11.37 ± 0.82 歳であった。摂取基準では 11 歳女子の一日当たりの推定エネルギー必要量（身体活動レベル：普通）は 2000 kcal、タンパク質推奨量は 45 g、脂質目標量は 44-66 g、炭水化物目標量は 250-350 g、Na 目標量は 3000 mg 未満、Ca 推奨量は 700 mg、Pi 目安量は 1100 mg、ビタミン D 目安量は $3.5 \mu\text{g}$ である。今回の結果をそれぞれの基準値と比較するとエネルギーは 92 %、タンパク質は 150 %、脂質は目標量の範囲内、炭水化物は目標量下限の 99 %、Na は 126 %、Ca は 105 %、Pi は 101 %、ビタミン D は 285 %の摂取量であった。

またビタミン D 摂取量と介入前の血中 25OHD 濃度、ビタミン D, Ca, Na 摂取量と介入前の BMDL2-4SD スコアの相関について確認した。Na 摂取量と介入前の BMDL2-4SD スコアの間に有意な負の相関が認められ、その他に有意な相関は認められなかった。

表5.対象者の栄養摂取量調査

女子(n=8, 11.37 ± 0.82 歳)	
成分	摂取量/日
エネルギー(kcal)	1842 ± 308
たんぱく質(g)	67.52 ± 14.84
脂質(g)	62.47 ± 9.39
炭水化物(g)	247.84 ± 49.74
ナトリウム(mg)	3780 ± 899
カルシウム(mg)	738 ± 138
リン(mg)	1106 ± 216
ビタミンD(μg)	9.98 ± 4.94

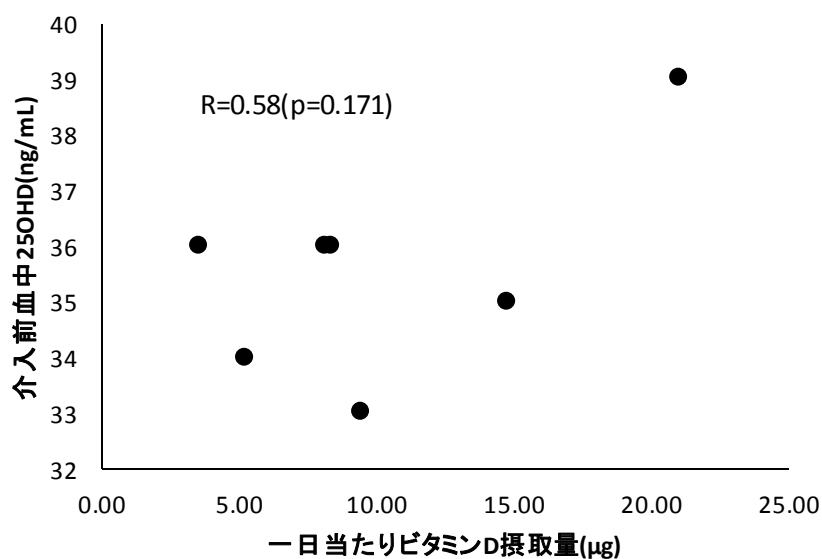


図3. ビタミンD摂取量と介入前血中25OHDの相関

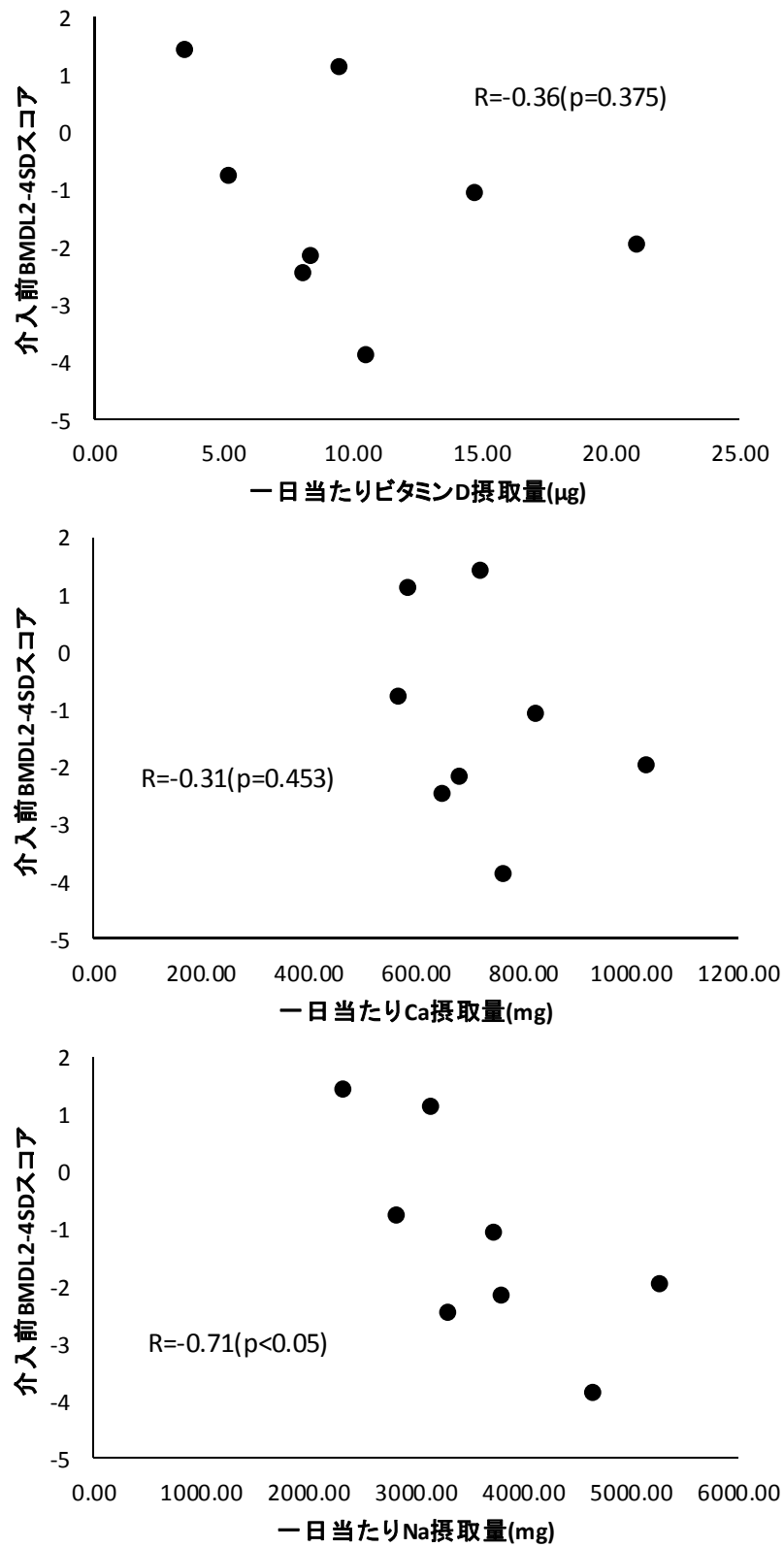


図4. ビタミンD, Ca, Na摂取量と介入前BMDL2-4SDスコアの相関

考察

今回の検討ではビタミン D・Ca 強化牛乳を用いて思春期前後の小児に対する骨密度の増強効果を調査した。約 5 か月間の強化牛乳による介入で女子の BMDL2-4SD スコアは 0.33 SD の増加傾向が認められた。身長・体重の SD スコアは介入前後で有意な差が認められなかった。この結果は、海外で行われた Ca 介入試験の結果と一致する^{5,7)}。女子では 11-12 歳頃から思春期発達とともにエストロゲンの分泌が増加するため、骨量増加に影響を与えている可能性も考えられる。介入前の聞き取り調査では対象の女子で初経発来有りの対象が 2 例で、また介入中に初経発来は認められなかったことから、今回の検討において、思春期発達が与えた影響は少なく、BMDL2-4SD スコアの上昇は強化牛乳による効果と考えられる。今回の検討では対象者が少なく、対照群を設定した比較試験が実施できなかった。思春期発達、栄養摂取量等を考慮し、詳細な解析をするためには、対照群を設定した比較試験を検討する必要があると考えられる。また男子では対象数が 4 例と少なく介入前後で SD スコアの有意な変動は認められなかった。

介入前の血中 25OHD 濃度は女子では 33.42 ± 5.53 ng/ml、男子では 34.50 ± 16.26 ng/ml で男女ともに 20 ng/ml 未満は認められなかった。血中 25OHD 濃度は国際的に 30 ng/ml 未満が軽度不足、20 ng/ml 未満は不足でおおよそ一致している。我が国で近年実施された、血中 PTH 濃度を指標に適正な血中 25OHD 濃度を調査した報告でも、28 ng/ml 未満は不足であると結論付けられている¹⁰⁾。今回の対象のビタミン D 状態は比較的良好であった。日本人女性の血中 25OHD 濃度を調査した報告では 20 ng/ml 未満が全体の 55%と報告されており⁴⁾、今回の対象が小児のビタミン D 状態を反映しているかは疑問である。今回の介入に用いた強化牛乳はビタミン D を 10 µg 含む。血中 25OHD 濃度が低く、ビタミン D が不足している対象に対しては、骨密度に対して今回よりも高い介入効果を示す可能性も考えられる。介入後の血中 25OHD 濃度に関しては本報告時までに測定できなかった。今後測定して強化牛乳介入がビタミン D 状態に与える影響を検討したい。

今回使用した強化牛乳には Ca を 700 mg 含む。今回栄養摂取量調査を実施することが出来た対象の女子 8 名の Ca 摂取量は 738 ± 138 mg で平成 24 年国民健康・栄養調査の 620mg と比較してやや多い摂取量であった。これらの対象に強化牛乳を介入すると摂取量は 1438 mg となり、摂取基準で設定されている 10-11 歳の推奨量 700 mg を上回る。Ca 過剰摂取のリスクとして尿路結石が考えられる。介入中は尿路結石に配慮して尿中 Ca/Cre を定期的に測定した。女子では尿中 Ca/Cre は上昇傾向を示した。これは介入による Ca の摂取量の増加によるものと考えられる。また尿路結石を考慮した基準を Ca/Cre 0.22 とすると、介入後に女子の 48 回測定中 4 回で基準を超える高値が認められた。しかしこれらの高値は一過的で 1 例の対象に複数回の連続的な高値は認められず、強化牛乳介入による尿路結石を考慮した安全性は高いと考えられる。また尿中 Ca 排泄は Na 排泄と共役することが報告されており¹¹⁾、今回の検討でも有意に正の相関が認められている。対象の Na 摂取量は摂取基準の目標量に比して高く、対象の Na の過剰摂取が Ca 排泄の増加に関与している可能性もある。長期間連続して強化牛乳を引用する場合は定期的に尿中 Ca/Cre を測定し、高値が連続するようであれば、分割して摂取する、摂取量を減らす、Na 摂取量を控える等の指導をすることが望ましいと考えられる。

文献

- 1) Valimaki MJ, Karkkainen M, Lamberg-Allardt C, et al. Exercise, smoking, and calcium intake during adolescence and early adulthood as determinants of peak bone mass. *BMJ* 1994; 309: 230-5.
- 2) Specker B, Binkley T. Randomized trial of physical activity and calcium supplementation on bone mineral content in 3- to 5-year-old children. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 885-92.
- 3) 浦野友彦, 井上聡. 骨粗鬆症原因遺伝子探索の現状と展望. *内科* 2009; 104: 511-5.
- 4) 岡野登志夫, 津川尚子, 須原義智, 他. 高齢者を中心とする日本人成人女性のビタミン D 栄養状態と骨代謝関連指標について. *Osteoporosis Jpn* 2004; 12: 76-9.
- 7) Lloyd T, Andon MB, Rollings N, et al. Calcium Supplementation and Bone Mineral Density in Adolescent Girls. *JAMA*. 1993;270:841-844.
- 6) Dibba B, Prentice A, Ceesay M, et al. Effect of calcium supplementation on bone mineral accretion in gambian children accustomed to a low-calcium diet. *Am J Clin Nutr*. 2000;71:544-549.
- 5) Matkovic V, Goel PK, Badenhop-stevens NE, et al. Calcium supplementation and bone mineral density in females from childhood to young adulthood: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr* 2005; 81: 175-88.
- 8) 佐々木敏. 生体指標ならびに食事歴法質問票を用いた個人に対する食事評価法の開発・検証 (分担研究総合報告書). 厚生科学研究費補助金 がん予防等健康科学総合研究事業:「健康日本 21」における栄養・食生活プログラムの評価方法に関する研究 (総合研究報告書:平成 13~15 年度:主任研究者:田中平三). 2004: 10-44.
- 9) Nishiyama S, Okada T. Bone Mineral Density in Japanese Children and Adolescents. *Clin Pediatr Endocrinol* 2001; 10: 113-20.
- 10) Okazaki R, Sugimoto T, Kaji H, et al. Vitamin D insufficiency defined by serum 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone before and after oral vitamin D₃ load in Japanese subjects. *J Bone Miner Metab* 2011; 29: 103-10.
- 11) Matkovic V, Ilich JZ, Andon MB, et al. Urinary calcium, sodium, and bone mass of young females. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 417-425.