

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：33939

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01970

研究課題名（和文）ロコモティブシンドローム予防を目指した適正なビタミン摂取についての基盤研究

研究課題名（英文）Basic research on proper vitamin intake aimed at preventing locomotive syndrome

研究代表者

池田 彩子（Ikeda, Saiko）

名古屋学芸大学・管理栄養学部・教授

研究者番号：80308808

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、骨代謝に対するビタミンE、K、Cの影響を、ラットを用いて解析した。オスのWistarラットおよびODSラットに、RRR- α -トコフェロール、フィロキノン、L-アスコルビン酸の含量が異なる飼料を一定期間摂取させた。ビタミンEおよびKの摂取量の違いは、ラットの骨密度や骨代謝のマーカースにほとんど影響を与えなかった。一方、ビタミンCの摂取不足によって、骨密度や骨代謝マーカースは変動した。以上の結果から、これらのビタミンの中で、骨代謝に及ぼす影響が最も大きいのはビタミンCであることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ロコモティブシンドローム（運動器症候群、以下ロコモと略す）とは、加齢や生活習慣病などが原因となって生じる運動器の衰えや障害のために、要介護状態になる、あるいはそのリスクが高まる状態のことをいう。ロコモの中でも骨粗鬆症に対する薬物療法はほぼ確立しているが、ロコモ予防に有効な栄養療法についての知見はいまだ十分ではない。そこで、本研究では、ロコモの予防を目指した栄養療法の基礎データを得るために、骨代謝に及ぼすビタミンE、K、およびCの摂取の影響を、実験動物を用いて解析した。本研究の結果、骨の健康維持に対するビタミンCの重要性が示された。

研究成果の概要（英文）：In this study, the effects of vitamins E, K, and C on bone metabolism were examined using rats. Male Wistar and ODS rats were fed a diet with different contents of RRR- α -tocopherol, phylloquinone, and L-ascorbic acid for a certain period of time. Differences in vitamin E and K intake had little effect on markers of bone mineral density and bone metabolism in rats. On the other hand, bone density and bone metabolism markers fluctuated due to insufficient intake of vitamin C. Therefore, it was suggested that among these vitamins, vitamin C has the greatest effect on bone metabolism.

研究分野：栄養学

キーワード：ビタミン 骨

1. 研究開始当初の背景

(1) ビタミン E と骨量についての相反する結果

ビタミン E は脂溶性であるが、過剰に摂取しても肝臓で代謝分解されるため、長い間「ビタミン E に過剰症はない」と考えられてきた。ところが、2012 年に東京医科歯科大の竹田秀先生のグループが、ビタミン E が破骨細胞を活性化させてマウスとラットの骨量を減少させることを、*nature medicine* 誌に報告した (Fujita ら 2012)。この現象は、ヒトがサプリメント等で摂取する量のビタミン E で観察されるというものであった。骨に対するビタミン E の作用は、実験動物レベルからヒト対象のものまで含めても「良い」または「効果なし」であり、悪影響を示す報告は竹田先生らが初めてであった。そのため、すぐに別の複数のグループによる追試が始まった。現在までに、3 つの追試が報告された (Iwaniec ら 2013, Kasai ら 2015, Ikegami ら 2017)。しかし、いずれも、ビタミン E 摂取によるマウスとラットの骨量減少は再現できていない。この相反する結果の理由は不明である。

(2) 私たちのそれまでの研究成果

ところで、私たちは以前より動物を用いてビタミン E 代謝に関する研究を行ってきた。ビタミン E の代謝産物と代謝経路の詳細は、1990 年代後半に明らかになった。さらに、ビタミン E と同一の側鎖をもつビタミン K についても、ビタミン E と同様の代謝経路を辿ることが 2009 年に明らかになった。そこで、私たちは、ビタミン E と K の代謝類似性をヒントにその相互作用について検討した結果、ラットにビタミン E を摂取させると、肝臓以外のさまざまな臓器・組織のフィロキノン (PK、ビタミン K1) 濃度がビタミン E 摂取量依存的に低下することを見出した (Hanzawa ら 2014)。

(3) ビタミン E と骨量に対する私たちの仮説

ビタミン K が骨量維持に有効であることは、よく知られている (骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015 年版)。したがって、上述のビタミン E と骨量についての相反する報告と、私たちの研究成果を考え合わせて、次のような仮説を立てた。すなわち「多量のビタミン E を摂取した場合には骨のビタミン K が減少し、ビタミン K 不足としての骨量減少が起こったのではないか」という仮説である。実験動物用飼料に含まれるビタミン K は、種類 (PK かメナジオンか) や量が飼料の種類によって異なる場合が多い。そこで、飼料中のビタミン K の種類や含量の違いによって、ビタミン E の過剰摂取による骨量減少が認められたり認められなかったりするのではないかと考えた。本研究では、この仮説を検証することとした。

2. 研究の目的

前述のように、2012 年にビタミン E が骨量を減少させる可能性が報告された。また、ビタミン C 欠乏動物の代表的な表現型は、コラーゲン合成不良による骨形成不全である。さらに、ビタミン K が骨のコラーゲン蓄積に関与することも明らかになった。そして、ビタミン E と C は抗酸化ビタミンとして共役的に機能している。このような三者の関連性から、本研究では、骨代謝に対するビタミン E、K、C の相互作用を、動物レベルで解析することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験 1

Wistar 系雄性ラットを 4 群に分け、RRR- α -トコフェロール 50 mg/kg を含むビタミン K 無添加飼料 (K 無添加群)、RRR- α -トコフェロール添加量を 0 (E 無添加群)、50 mg/kg (対照群) または 500 mg/kg (E 過剰群) とした PK 添加 (0.75 mg/kg) 飼料を、それぞれ 3 ヶ月間摂取させた。

(2) 実験 2

実験には、遺伝的にビタミン C を合成できない ODS od/od ラット (ODS ラット) を用いた。

実験 2-1: 4 週齢の雄性 ODS ラットを 4 群に分け、2 群には基本飼料 (対照群) またはビタミン K 無添加・ビタミン C 過剰飼料 (-K+C 群) を 18 週間摂取させた。残りの 2 群にはビタミン K 無添加飼料または PK 過剰飼料を 16 週間摂取させ、それぞれをビタミン K・C 無添加飼料 (-K-C 群) とビタミン C 無添加・PK 過剰飼料 (-C+K 群) に切り替えて、さらに 2 週間飼育した。ビタミン C として L-アスコルビン酸を用いた。基本飼料には L-アスコルビン酸 (300mg/kg) を含む AIN-93 飼料を用い、過剰飼料のビタミン含量は各基本量の 10 倍量とした。

実験 2-2: ビタミン E と C の添加量の異なる飼料を用いて対照群、-E-C 群、-E+C 群、-C+E 群の 4 群を設け、実験 2-1 と同様の実験を行った。

(3) 実験 3

6~7ヶ月齢のWistar系雄性ラット30匹のうち、5匹は1週間の予備飼育後に屠殺した。残りの25匹をRRR- α -トコフェロールとPKの含量の異なる5種類の飼料で9ヶ月間飼育した。飼料中のPK含量は0.075または0.75mg/kgとし、RRR- α -トコフェロール含量は5、50、または500mg/kgとした。

(4) 実験 4

実験1から3では、ビタミンE、K、C、およびこれらを組み合わせて摂取した場合の骨への影響を、ラットを用いて調べた。その結果、これらの3種のビタミンのうち、ビタミンCの骨への影響が最も大きかった。そこで、実験4では、骨に対するビタミンC摂取の影響をさらに詳しく調べた。

ODSラット20匹を、対照群5匹および欠乏群15匹に分けた。対照群には、L-アスコルビン酸添加飼料を15日間摂取させた。欠乏群には、ビタミンC無添加飼料を11、13または15日間摂取させた。

4. 研究成果

(1) 実験 1

肝臓のPK濃度はE無添加群に比べてE過剰群で高かったが、脛骨のPK濃度はE無添加群に比べて対照群で低く、対照群に比べてE過剰群でさらに低かった。肝臓のメナキノン-4(MK-4)濃度は、E無添加群と対照群に比べてE過剰群で高かったが、脛骨のE無添加群、対照群およびE過剰群のMK-4濃度はほぼ同じであった。血液凝固活性は他の群に比べてK無添加群で低下していたが、 α -トコフェロール摂取による血液凝固活性の変動は見られなかった。さらに、PK摂取と α -トコフェロール摂取は、血清の低カルボキシル化オステオカルシン濃度、大腿骨の骨密度、大腿骨における骨吸収および骨形成関連遺伝子のmRNAレベルに影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、ラットにおいて α -トコフェロール摂取は骨のPK濃度を低下させるが、骨代謝には影響を与えないことが示唆された。

(2) 実験 2

実験2-1: 主要臓器のPKおよびMK-4濃度は、-K-C群と-K+C群の間に差はなかった。主要臓器のビタミンC濃度は、-K-C群と-C+K群の間に差はなかった。大腿骨骨密度は、対照群に比べて-K-C群と-C+K群で低下していた。

実験2-2: 主要臓器の α -トコフェロール濃度は、-E-C群と-E+C群の間に差はなかった。主要臓器のビタミンC濃度は、-E-C群と-C+E群の間に差はなかった。大腿骨骨密度は、対照群に比べて-E-C群と-C+E群で低下する傾向が見られた。

以上の結果から、ビタミンC不足が骨量を低下させることと、ビタミンKやEの栄養状態の違いは成長期のラットの骨量に大きな影響を与えないことが推察された。

(3) 実験 3

PK含量0.075mg/kg飼料の摂取は、0.75mg/kg飼料に比べて、活性化部分トロンボプラスチン時間を延長させた。予備飼育後に屠殺したラットに比べて、実験飼料を9ヶ月間摂取させたラットの大腿骨骨密度は有意に低下し、特に海綿骨の骨量の減少が顕著であった。しかし、 α -トコフェロールとPKの摂取量の違いは、これらの骨指標に明らかな影響を与えなかった。

したがって、高齢ラットにおいて、ビタミンEとKの摂取量の違いは骨密度に大きな影響を与えないことが示唆された。

(4) 実験 4

最終体重および肝臓重量は、すべての群で差がなかった。欠乏群の肝臓のビタミンC濃度は、11日目で対照群の8%、13日目で7%、15日目で4%であった。血清オステオカルシン濃度および低カルボキシル化オステオカルシン濃度は、いずれも11日間のビタミンC欠乏によってすでに対照群の60%以下に低下しており、15日目には対照群の35%以下であった。また、皮質骨と骨梁骨の骨密度も、11日間のビタミンC欠乏によってすでに低下していた。一方、血清コルチコステロン濃度は、11日間のビタミンC欠乏では変化せず、13日目以降に著しく上昇した。血清の副腎皮質刺激ホルモン濃度は、15日間のビタミンC欠乏によって上昇する傾向が見られた。

以上の結果から、ビタミンC欠乏時の骨の変化は、ビタミンC欠乏によって引き起こされる炎症様反応に伴うグルココルチコイド濃度の上昇よりも前に生じることが、初めて明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ikeda S, Nomura S, Hanzawa F, Takahashi S, Oda H, Fujiwara Y, Uchida T.	4. 巻 64
2. 論文標題 -Tocopherol intake decreases phyloquinone concentration in bone but does not affect bone metabolism in rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)	6. 最初と最後の頁 243-250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.64.243.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda S, Hanzawa F, Takahashi S, Suzuki N, Sano K, Oda H, Uchida T.	4. 巻 64
2. 論文標題 Tissue distribution of menaquinone-7 and the effect of -tocopherol intake on menaquinone-7 concentration in rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 64: 391-398 (2018)	6. 最初と最後の頁 391-398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.64.391.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小田 裕昭 (Oda Hiroaki) (20204208)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授 (13901)	
研究分担者	藤原 葉子 (Fujiwara Yoko) (50293105)	お茶の水女子大学・基幹研究院・教授 (12611)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------