

発育期における低カルシウム食と運動習慣が運動器系の発達に及ぼす影響

平野朋枝* 林 万紀** 西沢富江*** 生田香明* 春日規克****
Tomoe HIRANO Maki HAYASHI Tomie NISHIZAWA
Komei IKUTA Norikatsu KASUGA

*大阪大学人間科学研究科

**財団法人名古屋市教育スポーツ振興事業団

***中京女子大学短期大学部

****保健体育講座

1. 緒 言

我が国で「カルシウムの不足」が叫ばれるようになって久しいが、依然として国民の平均カルシウム摂取量は不十分であると言われている。発育期の身体にはさらに多くのカルシウムが必要であり、厚生省公衆衛生局が示す数値では学童期のカルシウム所要量は成人の1.2~1.5倍程度であるとされている。

カルシウム不足は骨の脆弱化を招く。特に発育期においては、より早い時期からのカルシウム不足は骨に対して大きく影響すると報告されている^{1,2)}。

カルシウムは骨だけでなく、身体のあらゆる組織で働き、細胞の分裂や増殖、機能維持などに重要な役割を果たしている。特に骨格筋ではその収縮機能や蛋白分解機能を果たすためにカルシウムは必要不可欠である。

しかし、カルシウム不足が骨に及ぼす影響については様々な研究報告がなされている^{3,4,5,6)}一方で、骨格筋に及ぼす影響に関する報告は少ない。

本研究では、低カルシウム食が骨格筋の機能にどのような影響を及ぼすか、さらに、骨強度の増大や筋肥大を引き起こす運動習慣と低カルシウム食とを組み合わせた場合の効果について検討する。

2. 方 法

実験には、Fischer 系雄性ラット23匹を用いた。実験動物は、生後4週齢において体重の平均がほぼ等しくなるように、通常食対照 [NC] 群 (6匹)、低カルシウム食対照 [LC] 群 (6匹)、通常食トレーニング [NT] 群 (6匹)、低カルシウム食トレーニング [LT] 群 (5匹) に分けた。

NC・NT 群には、日本クレア社製のマウス・ラット用固形飼料 (CE-2) を、LC・LT 群には低カルシウム高糖食として、カルシウム量が通常飼料の1/2である粉末飼料 (オリエンタル酵母工業社製 MF) に水を加えてオープンで焼成し固形化したものを与えた。餌、水

ともに自由摂取とした。

NT・LT 群には、生後4週齢より13週齢まで持久的走トレーニングを行わせた。傾斜角度0°の動物用トレッドミルを用い、走行速度・走行時間を段階的に漸増し、生後5週齢以降は35m/分で90分間の走運動を1日1回、週6日の頻度で負荷した。

生後13週齢において、麻酔下で屠殺した後、下腿筋である足底筋・ヒラメ筋・長指伸筋・腓腹筋、及び大腿骨・下腿骨を摘出し、骨長、骨重量、筋長、筋重量、筋の酸化系酵素及び解糖系酵素活性、筋線維組成を測定した。

酸化系酵素及び解糖系酵素活性の測定には各個体の右脚の足底筋・ヒラメ筋・長指伸筋を用いた。これらの筋をホモジナイズし、酸化系酵素であるコハク酸脱水素酵素 (SDH) 活性及び解糖系酵素であるフォスフォフルクトキナーゼ (PFK) 活性を測定した。

左脚の足底筋は摘出後直ちに凍結し、-20°Cのクリ

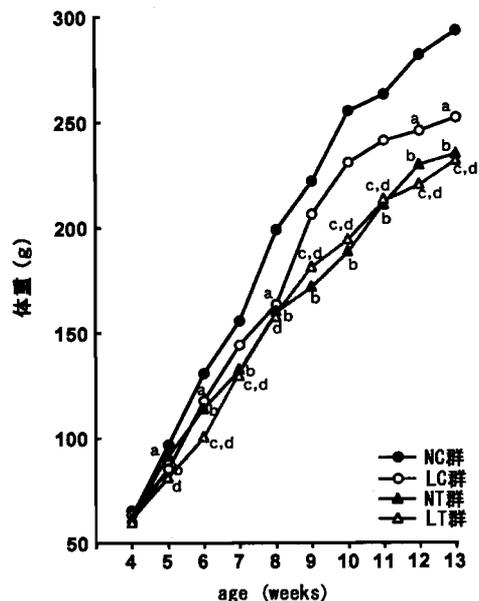


図1 各群の発育に伴う体重変化

(a ; LC 群 vs NC 群, b ; NT 群 vs NC 群, c ; LT 群 vs LC 群, d ; LT 群 vs NC 群, $P < 0.05$)

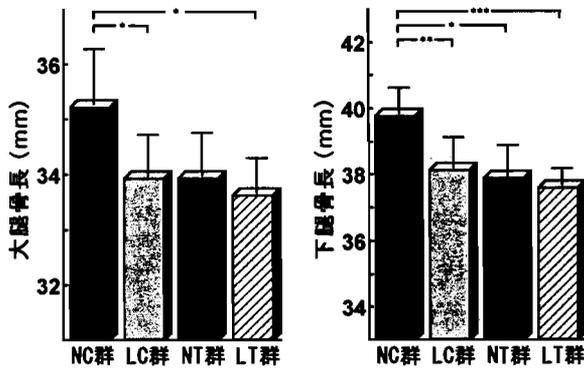


図2 各群の大腿骨長, 下腿骨長
(平均値±標準偏差)
(***p<0.001 **p<0.01 *p<0.05)

オスタット内で凍結横断切片を作成した。これらの切片に酸性プレインキュベーションによる myosin-ATPase 染色と SDH 染色を施して各筋線維の組織化学的タイプを同定し, 筋線維構成比を算出した。

平均値の差の検定には Student's t-test を用い, 有意水準は危険率 5%, 1% 及び 0.1% 未満とした。

3. 結 果

図1に各群の体重変化を示した。LC群の体重は、低カルシウム食での飼育1週間後である生後5週齢よりNC群に比べて低値を示す傾向にあった。また、NT群、LT群では、それぞれ5週齢、6週齢以降でNC群に比べて有意に低い値を示した。

図2に各群の大腿骨長及び下腿骨長を示した。LC群・NT群・LT群ともにNC群に対して有意に低い値であった。

大腿骨と下腿骨の湿重量及び乾燥重量, 及びこれらの体重に対する相対値を群間で比較した(表1)。湿重

量及び乾燥重量は、大腿骨・下腿骨ともにLC群がNC群に比べて有意に低値を示した。また体重に対する相対的骨重量では、NT群がNC群よりも高値を示した。また、低カルシウム食の影響を調べたLC群はNC群よりも低い傾向にあったが、低カルシウム食に運動を加えたLT群はLC群と比較すると有意に高く、NC群と同程度であった。

心重量, 及び足底筋・ヒラメ筋・腓腹筋・長指伸筋の筋重量を体重に対する相対値で比較した(図3)。LC群の心重量, 及び足底筋・腓腹筋・長指伸筋の筋重量はNC群に比べ有意に低値を示した。同じくヒラメ筋重量を除く4つの組織重量では、NT群がNC群に対して高値であった。LT群は、4つの組織重量ともにLC群よりも高い値を示し、NC群と同程度であった。ヒラメ筋は他の4つの組織とは全く異なる傾向を示し、LC群・NT群がNC群に比べて高値であった。

図4に、各群の足底筋・ヒラメ筋・長指伸筋のSDH活性を示した。両運動群が両非運動群よりも高値を示す傾向にあった。

同じく足底筋・ヒラメ筋・長指伸筋でのPFK活性を比較した(図5)。両低カルシウム食群が両通常食群に比べて低い傾向であった。またヒラメ筋において、NT群はNC群に比べ高値を示した。

各群の足底筋の筋線維組成を図6に示した。LC群・NT群・LT群ともにNC群に比べて、type II Bが少なく、type II Aが多かった。NC群とLC群とを比較すると、低カルシウム食により type II Bが減少し、type II Xが増加したことがわかる。また、NC群とNT群との比較から、運動による type II Bの減少には、より大きな type II Aの増加をともなっていた。LT群はNT群とほぼ同様の筋線維組成を示した。

表1 各群の骨湿重量, 骨乾燥重量, 及び体重に対する相対的骨重量 (平均値±標準偏差)
(a ; LC群 vs NC群, b ; NT群 vs NC群, c ; LT群 vs LC群, d ; LT群 vs NC群, P<0.05)

	骨湿重量 (mg)		骨湿重量/体重 (mg/100g)	
	大腿骨	下腿骨	大腿骨	下腿骨
NC群	1492.2±116.6	1235.2± 84.2	5.09± 0.26	4.21± 0.10
LC群	1213.8± 84.2 ^a	960.7± 67.3 ^a	4.81± 0.12	3.81± 0.13 ^a
NT群	1369.4± 76.8	1109.4± 85.3	5.75± 0.47 ^b	4.65± 0.38 ^b
LT群	1231.2± 63.5 ^d	1019.2± 33.2 ^d	5.31± 0.10 ^c	4.40± 0.06 ^{c,d}

	骨乾燥重量 (mg)		骨乾燥重量/体重 (mg/100g)	
	大腿骨	下腿骨	大腿骨	下腿骨
NC群	1017.5± 79.5	883.2± 63.9	3.47± 0.14	3.01± 0.08
LC群	785.8± 47.8 ^a	664.5± 41.2 ^a	3.12± 0.05 ^a	2.64± 0.06 ^a
NT群	931.4± 60.5 ^b	797.8± 64.3 ^b	3.91± 0.32 ^b	3.35± 0.28 ^b
LT群	809.0± 37.1 ^d	717.0± 28.4 ^d	3.49± 0.03 ^c	3.09± 0.05 ^c

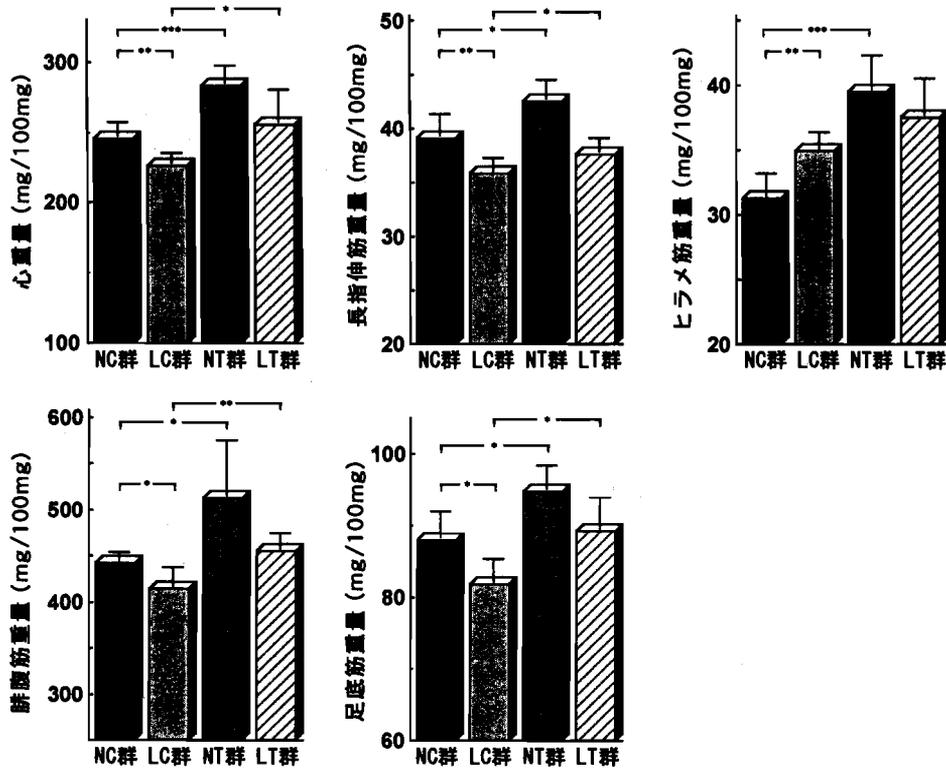


図3 各群の心重量及び筋重量
(平均値±標準偏差)
(***p<0.001 **p<0.01 *p<0.05)

4. 考 察

発育期の身体変化は、長軸方向の発育（長育）と横軸方向の発育（幅育）との複合変化である。長育は、発育期の急激な変化を経て、成熟後には停止する。一方、幅育に対しては生活環境や生活状況の影響が非常に大きく、栄養摂取状況や活動量などが骨格筋や骨といった運動器に生涯にわたって影響を及ぼすことが知られている。

体重、筋重量、骨重量などの指標からは、長育と幅育を総合的に判断することができる。LC群にみられた体重抑制は、カルシウム摂取不足による血中カルシウム濃度の変化が中枢神経系や代謝機能に影響した結果であると考えられる。渡辺ら²⁾は、ラットに3・5・7週齢から低カルシウム食を与えた場合、3週齢から与えた群に顕著な摂餌量の低下が認められたことを報告している。この場合、低カルシウム食による血圧の上昇や交感神経の興奮が摂餌量の減少と消化・吸収能の低下を引き起こした可能性があると考えられている。

一方、運動習慣が体重増加を抑制するという報告は多く、NT群では、運動による消費カロリーの増大に加えて、強制運動のストレスが体重増加に大きく影響したと考えられる。また、LT群については、低カルシウム食と強制運動との両影響を相乗的に受けたと推測されるが、NT群と同程度の体重変化を示した。運

動によって小腸でのカルシウムの吸収能が亢進するという報告もあり⁷⁾、運動習慣が低カルシウム食に対する生体内カルシウムバランスの不均衡を緩和し、体重増加抑制を軽減した可能性もある。また、運動にともなう自律機能の改善や代謝機能の発達が、骨などに含まれるカルシウムの有効利用を促し、摂餌量の低下や栄養素の消化吸収能を高めたことも考えられる。

骨の長軸方向への発育に対する運動の影響については、運動習慣が骨の長育を助長する^{8,9)}という報告があるが、反対に抑制効果をもたらす^{10,11)}との報告もある。勝田ら¹²⁾の研究結果では、Wistar系雄性ラットに対す

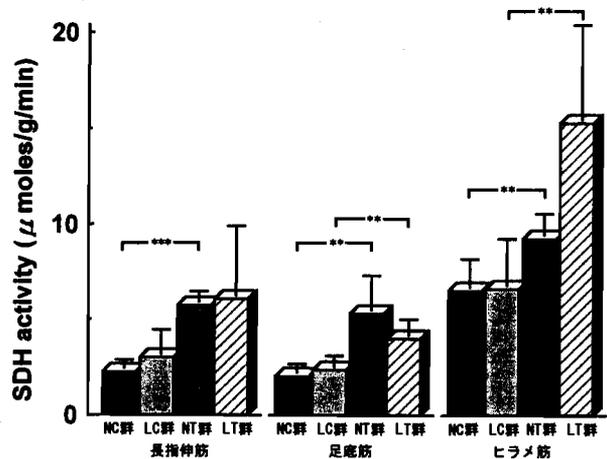


図4 各群のSDH活性 (平均値±標準偏差)
(***p<0.001 **p<0.01 *p<0.05)

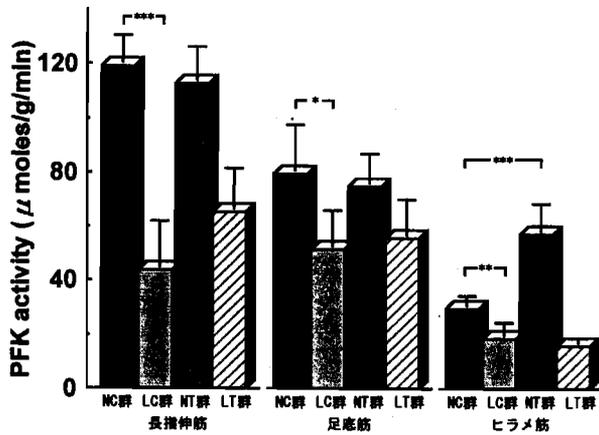


図5 各群の PFK 活性 (平均値±標準偏差)
 (***P<0.001 **P<0.01 *P<0.05)

る12週間の走トレーニングにより、体重は対照群に比べて有意に低値を示したが、骨長には差が認められていない。また、40m/min以下の強度でのトレーニングは骨長軸成長率を高め、逆に50m/minでのトレーニングではこの成長促進効果が得られないと報告している。本研究の走速度は35m/minであったが、Wistar系よりも小型のFischer系ラットを用いているため、走速度についての直接的な比較はできない。しかし、Fischer系ラットの成熟後の体長がWistar系の3分の2程度であることを考えると、35m/minという速度は高強度であった可能性がある。

カルシウム摂取量と骨との関係については、骨塩量や骨密度を調べた研究が多数みられ^{13,14)}、カルシウム摂取量は骨塩量と正の相関を示すことが報告されている。本研究では骨塩濃度に関する指標については測定していないが、低カルシウム食によりLC群がNC群に比べ有意に低い相対的骨乾燥重量を示した。このことは、カルシウム摂取不足による骨塩量の減少が影響していると推察される。

カルシウムは体内のホルモン調節に大きく関与している。成長ホルモン分泌においても重要な役割を果たしていることから、カルシウムの摂取不足は成長ホルモンの分泌を抑制し、軟骨の骨化が妨げられたと考えられる。また成長ホルモンの分泌異常は筋の成長をも阻害した可能性が高いと考えられる。

LC群は、相対的筋重量においても、NC群に比べて有意に低いという結果が得られた。Fujita¹⁵⁾は、紀伊半島の古座川流域の住民に見られるALS (Amyotrophic lateral sclerosis) の患者では、骨塩量が低く、脊椎の圧迫骨折や、大動脈での石灰沈着の割合が高いことを報告している。さらに、筋においても萎縮が認められている。カルシウムの摂取不足は血中カルシウムの低下を引き起こし、それを補うために副甲状腺ホルモンが分泌され、骨から血中へのカルシウム吸収を促進する。この副甲状腺ホルモン分泌と血中カルシウムの増加によって、脳や神経といった細胞内にはカルシウム

が増える。同様に筋細胞内でもカルシウムが過剰となる。筋での細胞内カルシウムイオン濃度の増大は、カルパイン等のカルシウム依存性中性プロテアーゼを刺激することが知られている¹⁶⁾。この結果、筋タンパクの分解が起こり、筋重量の低下につながった可能性が高い。

Hirotaら¹³⁾とMetzら¹⁴⁾は、青年女性において、カルシウム摂取量だけでなく運動量も骨塩量と正の相関を示すと報告している。本研究においても、体重に対する相対的骨重量においてNT群がNC群よりも高値を示していることから、本研究で用いた走トレーニングは骨の長軸方向への発育に対しては抑制的に働いたが、骨の全体的な発育、特に横軸方向への骨形成には有効的であったと考えられる。

運動による筋の肥大効果についてはよく知られている。ヒラメ筋以外の筋重量及び心重量でNT群がNC群に対して有意に高い値を示したことから、本研究で用いた走トレーニング条件は、筋のタンパク同化作用や呼吸循環機能を促進するのに十分な運動刺激であったと思われる。LT群ではこれらの重量がLC群に対して増大しNC群と同程度であったことは、運動による筋肥大効果、あるいは運動による代謝機能の発達、カルシウムの摂取不足による筋重量の損失に対して抑制効果をもたらしたと考えられる。しかし、これは筋の重量という形態面のみで観察された効果であり、機能とどう結びついているかを今後明らかにすることが重要である。

一方、筋重量と同様に骨重量の相対値においても、LC群で観察された低カルシウム食による負の影響はLT群では認められなかった。これらの結果から、運動習慣は骨形成や筋タンパク同化を促進することにより、カルシウム摂取不足による骨や筋への発育抑制をある程度緩和すると考えられた。常に抗重力筋として働くヒラメ筋には低カルシウム食による筋重量の低下が認められないことから、日常的な筋の使用量の増大が発育抑制に対し有効的なはたらきをすることを示

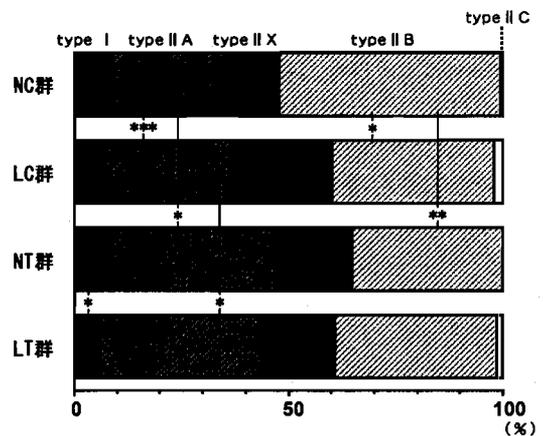


図6 各群の足底筋の筋線維タイプ組成
 (***P<0.001 **P<0.01 *P<0.05)

唆する結果と思われた。

両運動群の筋中 SDH 活性が両非運動群に比べて高値を示したことから、本研究で用いた走トレーニングはミトコンドリア機能を亢進し、持久性の発達をもたらす刺激として充分であったと考えられる。また、PFK 活性において両低カルシウム食群が両通常食群に比べて低値を示した機序については不明であるが、酵素の特異性や筋筋質の無機物代謝が影響していることが考えられる。

NC 群に対する NT 群の筋線維タイプ組成の変化は、持久的トレーニングによる多くの研究結果と一致する。一方、LC群は、NC 群に比べて type II B が減少し、type II X が増加していた。低カルシウム食にトレーニングを加えた群では、type II B の割合は低カルシウム食のみの場合と同程度であったが、より高い type II A 線維占有率を示した。低カルシウム食の状態にあっても、持久的トレーニングの影響が、より酸化能の高いタイプへの移行を引き起こしたと考えられる。

Patten ら¹⁷⁾は、副甲状腺の機能亢進により type I 線維と type II 線維に萎縮が見られたことを報告している。また、type I 線維には異常は認められないが、type II 線維では膨潤した筋線維が存在したという報告がある¹⁵⁾。Sultan ら^{18,19)}は、骨格筋に対する低頻度での慢性電気刺激による筋線維タイプ移行の研究から、筋線維タイプに特異的な蛋白分解機構が存在することを示しており、カルシウム摂取不足によって細胞内カルシウムが過剰になった場合にも、筋タンパク分解能に対して筋線維タイプによる違いが生じる可能性が考えられる。

筋中におけるカルシウムイオンの取り込みを担う SR に関連するタンパクの発現は遅筋線維と速筋線維で異なることが知られている²⁰⁾。また、筋細胞内にカルシウムイオンが過剰になった場合にはミトコンドリアに取り込まれることが知られているが、ミトコンドリアのカルシウムイオン取り込み量についても筋線維タイプにより異なる可能性が示されている²¹⁾。また、ホルモン性の影響として、甲状腺ホルモンは、筋収縮タンパクの発現を変化させて収縮特性に変化を及ぼすが²²⁾、SR におけるカルシウム・ポンプのタンパク発現にも関与することが知られている²³⁾。このような筋線維タイプによる種々の構造及び機能的な違いが、ホルモンの影響を受けながらカルシウム摂取不足時の筋線維組成に影響を及ぼした可能性は十分考えられる。

これらの結果から、発育期におけるカルシウム摂取不足は、骨の構造に影響するだけでなく、筋に対しても発育抑制に働き、筋線維タイプにも影響を及ぼすことが示された。また、カルシウム摂取不足という条件下での運動習慣は、低カルシウムが引き起こした筋重量や骨重量に対する発育抑制を緩和することが示唆された。

5. 要 約

本研究では、発育期における低カルシウム食と運動習慣が骨格筋及び骨の発達に及ぼす影響を調べた。

生後 4 週齢より低カルシウム食を与えた場合、体重、骨長、骨重量、筋重量に発育抑制が認められた。また、筋線維タイプ組成では、type II B が減少し、type II X が増加した。一方、低カルシウム食での飼育に加えて 90 分/日の持久的走トレーニングを週 6 日行わせた群では、体重と骨長に抑制傾向を示したものの、骨重量、筋重量の減少は認められず、低カルシウム食飼育群に比べると、より酸化能能力の高い type II A の割合が高かった。

参 考 文 献

- 1) 佐藤和子, 太田久子, 伊藤美雪, 植田正子, 渡邊貢次, 田中治夫, 森田穰: カルシウム摂取量からみたラットの骨発育に関する研究 II 報. 低カルシウム食が発育期ラットの骨密度および骨強度に及ぼす影響. 学校保健研究, 26(4): 179-184, 1984.
- 2) 渡邊貢次, 太田久子, 伊藤美雪, 植田正子, 佐藤和子, 田中治夫, 森田穰: カルシウム摂取量からみたラットの骨発育に関する研究 I 報. 低カルシウム食が発育期ラットの発育, 血清および骨形成に及ぼす影響. 学校保健研究, 26(4): 173-178, 1984.
- 3) Angus RM, Sambrook PN, Pocock NA, Eisman JA.: Dietary intake and bone mineral density. Bone Miner. Jul;4(3):265-277, 1988.
- 4) Kaufman JM.: Role of calcium and vitamin D in the prevention and the treatment of postmenopausal osteoporosis: an overview. Clin. Rheumatol. Sep;14 Suppl 3:9-13, 1995.
- 5) Nordin BE.: Calcium and osteoporosis. Nutrition. Jul-Aug;13(7-8):664-686, 1997.
- 6) Suleiman S, Nelson M, Li F, Buxton-Thomas M, Moniz C.: Effect of calcium intake and physical activity level on bone mass and turnover in healthy, white, postmenopausal women. Am. J. Clin. Nutr. Oct;66(4):937-943, 1997.
- 7) 七五三木聡; 勝田茂監修: 運動生理学 20 講 第 2 版. 朝倉書店. 東京, pp85-90.
- 8) Borer KT, Kelch RP.: Increased serum growth hormone and somatic growth in exercising adult hamsters. Am. J. Physiol. Jun;234(6):E611-616, 1978.
- 9) Borer KT.: The effects of exercise on growth. Sports Med. Dec;20(6):375-397, 1995.
- 10) 福田理香, 向井直樹, 天貝均, 林浩一郎, 高松薫: 成長期及び成熟初期の走トレーニングがラットの骨形成に及ぼす影響. 体力科学, 45: 141-150, 1996.
- 11) Matsuda JJ, Zeirnicke RF, Vailas AC, Pedrini VA, Pedrine-Mille A.: Structural and mechanical adaptation of mature bone to strenuous exercise. J. Appl. Physiol. 60: 2028-2034, 1986.
- 12) 勝田茂, 七五三木聡, 池田賢, 天貝均, 大野敦也: 運動強度の違いがラットの骨成長に及ぼす影響. 体育学研究, 36: 39-51, 1991.

- 13) Hirota T, Nara M, Ohguri M, Manago E, Hirota K. : Effect of diet and lifestyle on bone mass in Asian young women. *Am. J. Clin. Nutr.* Jun;55(6):1168-1173, 1992.
- 14) Metz JA, Anderson JJ, Gallagher PN Jr. : Intakes of calcium, phosphorus, and protein, and physical-activity level are related to radial bone mass in young adult women. *Am. J. Clin. Nutr.* Oct;58(4):537-542, 1993.
- 15) Fujita T, Palmire MA. : Calcium paradox disease : Calcium deficiency prompting secondary hyperparathyroidism and cellular calcium overload. *J. Bone Miner. Metab.* 18:109-125, 2000.
- 16) Belcastro AN, Shewchuk LD, Raj DA. : Exercise-induced muscle injury: a calpain hypothesis. *Mol. Cell Biochem.* Feb;179(1-2):135-145, 1998.
- 17) Patten BM, Bilezikian JP, Mallette LE, Prince A, Engel K, Aurbach GD. : Neuromuscular disease in primary hyperparathyroidism. *Ann. Intern. Med.* 80:182-183, 1974.
- 18) Sultan KR, Dittrich BT, Pette D. : Calpain activity in fast, slow, transforming, and regenerating skeletal muscles of rat. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* Sep;279(3):C639-647, 2000.
- 19) Sultan KR, Dittrich BT, Leisner E, Paul N, Pette D. : Fiber type-specific expression of major proteolytic systems in fast- to slow-transforming rabbit muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* Feb;280(2):C239-247, 2001.
- 20) 大日方昂監修 : 運動分子生物学. ナップ, p.77-104, 2000.
- 21) Sembrowich WL, Quintinskie JJ, Li G. : Calcium uptake in mitochondria from different skeletal muscle types. *J. Appl. Physiol.* Jul;59(1):137-141, 1985.
- 22) Caiozzo VJ, Baker MJ, Baldwin KM. : Novel transitions in MHC isoforms: separate and combined effects of thyroid hormone and mechanical unloading. *J. Appl. Physiol.* Dec;85(6):2237-2248, 1998.
- 23) Sayen MR, Rohrer DK, Dillmann WH. : Thyroid hormone response of slow and fast sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase mRNA in striated muscle. *Mol. Cell Endocrinol.* Sep;87(1-3):87-93, 1992.

(平成14年9月11日受理)