

乳の強塩基性たんぱく質は成長を促進する

地球に生命が誕生してから 35 億年、幾多の動物種が絶滅したなかにあつて哺乳類は 2 億年にわたり生きながらえ、新しい遺伝形質を獲得しつつ進化してきた。なかでも“小産・少死”は哺乳動物の大きな特徴である。例えば、マグロは一回の産卵で約 30 万個の卵を産むが、成体まで育つのは 1~2 匹に過ぎない。誕生から成体に達する歩留まりを高める上でもっとも重要なのは、哺乳類が乳で新生児を育てることにあつたと思われる。哺乳とは無縁の男性の胸にも乳首の痕跡が残されていることは、“乳”の重要性を如実に物語っている。太古の哺乳類はカップルで新生児の授乳にあつていただろう。これまで度々触れたように、動きが鈍い新生児は他の動物により捕食され易い。更に、無菌で母胎から生まれ出たとたん、身体に微生物・ウイルスが寄生するようになる。新生児は獲得免疫が無いので、自然免疫だけで感染症を防御しなければならない。一方、出生すると、母親から独立して乳からエネルギーを摂取し、熱発生による体温維持、代謝のコントロール、脳を発達させて学習しなければならない。新生児は、急速に一人前にならなければ淘汰される運命にある。これほどのストレスにさらされつつ成長してゆくゆえに、未知の精妙な機構が働

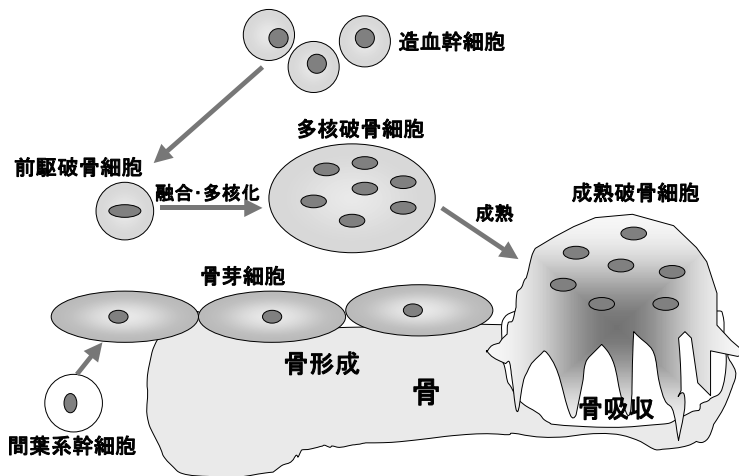


図 1. 骨代謝のあらまし

ているはずだ。その機構は、これまでフロンティアとして放置されてきた分野である。

新生児の成長にとって中心に位置する乳には、食物として栄養を与える役割の他に、生存に必須の①免疫賦活し、②脳神経系と③内分泌系の三機能をコントロールする機能があると考えられる。これらの機能の帰結として、

乳には成長を促進する作用があるはずである。

乳はいろいろな生理活性物質の集合体で、その中には骨の形成を促進するタンパク質が含まれていても不思議ではない。図 1 に示すように、成人における骨の健康は、成長に関与する骨芽細胞と骨のミネラルを溶解（骨吸収）する破骨細胞のバランスで決まると言われている。乳は①”骨が成長する過程”と②”成長後に骨の健康を維持する過程”に大きな影響を及ぼしているはずである。①は幼若期の骨端にコラーゲンからなる軟骨が合成され、コラーゲンのマトリックスにミネラルが沈着する過程、②は”骨形成”と”骨吸収”のバランスが

崩れて発症するいろいろな疾病、例えば、骨粗鬆症、歯周病、骨吸収が活発になる種々のがんに関連している。そこで、牛乳のタンパク質が骨代謝に影響を与えていると主張する論文を紹介することにしたい。紹介するのは骨成長因子としてのラクトフェリン (LF) に焦点を当てたニュージーランド・オークランド大の研究グループによる論文⁽¹⁾と牛乳のラクトフェリン(bLF)を含む牛乳の強塩基性たんぱく質(MBP)には骨芽細胞の増殖因子と破骨細胞の阻害因子が含まれていることを証明した雪印乳業のグループの論文⁽²⁾である。

表 1. 骨代謝に影響する牛乳の強塩基性蛋白質群

名 称	作 用	文 献
lactoferrin	骨芽細胞の増殖因子、前駆破骨細胞の分化阻害	Clin Med & Res 2005; 2: 93-101 ⁽¹⁾
lactoperoxidase	骨形成促進剤 皮膚コラーゲンの合成促進剤 骨吸収抑制剤	特許公開 2005-60321 特許公開 2004-331565 特許公開 2004-238320
kininogen fragment 1-2	骨芽細胞の増殖を促進する因子	J Biochem. 2006; 140: 825-30 ⁽³⁾
angiogenin	破骨細胞による骨吸収を阻害する因子	Bone. 2008; 42:380-7 ⁽⁴⁾ .
cystatin C	in vivo における骨吸収の阻害剤. Cathepsin C の強力な阻害剤	Biosci Biotechnol Biochem. 2002; 66: 2531-6 ⁽⁵⁾ .
HMG-like protein	骨芽細胞の増殖を促進する因子	BBRC. 1999; 261: 113-7 ⁽⁶⁾ .

乳の強塩基性たんぱく質 (milk basic proteins; MBP) は、主要乳タンパク質であるカゼインを除去した乳清(ホエイ)に含まれ、スルホン酸型強酸性イオン交換樹脂に吸着され、食塩水により溶出・精製される蛋白画分である。これまでに報告された骨代謝に関係がある塩基性乳蛋白質を表 1 に示した。bLF は MBP の主要タンパク質であるが、MBP は bLF の他にもラクトパーオキシダーゼを始め、興味ある生理活性を呈する超微量成分を含んでいる。MBP の骨代謝改善に関する有用性は、二重盲検試験で証明されている⁽²⁾。MBP が呈する骨芽細胞の活性化と破骨細胞の活性抑制は、青少年の骨成長を促進するだけでなく、骨粗鬆症、歯周病及びある種のがんのような骨代謝異常に関連する。それだけに、今後、研究の発展と実用化に向けた開発が期待される。

乳は骨の成長を促進する！

育児用調整粉乳(粉ミルク)を飲み続けた乳児たちが重篤な腎障害を発症し、多数の死亡者まで出した痛ましい事件が中国で起こった。原料乳にメラミンが混入されていたためである。モンゴル、チベットなどの遊牧民は例外だが、中国料理はもともと乳を活用する発想に乏しかった。しかし、月刊誌”文芸春秋”2008年12月号⁽⁷⁾が紹介したように、近年、中国は大酪農国に変身していたのである。それには次のような背景があった。

ここ半世紀というものの、日本人の体位は著しく改善された。例えば、18歳の高卒男子の身長は60年前と比べると10cm以上も伸び、手足が長く格好よい体形になったのである。50年前には身長が五尺八寸(約176cm)もあれば大男といわれたが、現在では身長180cmはおろか190cmを越す男性も珍しくなくなった。その原因として栄養改善と科学知識の普及があったことはもちろんだが、最大の原因は学校給食に牛乳が取り入れられたことにある。初期の学校給食は脱脂粉乳、1960年代に入ると牛乳が採用され、すべての児童が乳を飲むよう習慣付けられたのである。昔の日本人は背が低かったので、中国人は日本人を「コビト」を意味する“倭人”と呼んで蔑視していた。日本人児童の体位が、同年齢の中国人を上回るようになったのだから穏やかではない。そこで国家的に酪農を振興し、児童の学校給食に採用し、国民の体位向上をはかる大号令が発せられたのである。

わが国中央酪農会議の資料によると、戦後の高度経済成長とパンや牛乳といった学校給食に代表される食生活の洋風化に支えられ、牛乳・乳製品の消費は急速に拡大した。生乳生産量は2003年度(平成15年度)で840万4000トンと1963年度(昭和38年度)当時の約2.9倍に達している。日本で本格的な酪農が始まってわずか半世紀程だが、牛乳・乳製品は、現在、日本の基礎食品として多くの人に支持されるようになった。一方、中国でも国策に沿って酪農製品の生産と消費は年々大幅に増加し、1998年から2007年にかけての10年間に、中国人一人当たりの年間牛乳消費量は5.3kgから27.9kgと約5倍になった。つまり、酪農に関して日本が戦後半世紀かけて達成したことを、中国はわずか10年で追い上げに成功したのである。牛乳と乳製品が「国民の体質を向上させるために」いかに重視されてきたかは明瞭である。それならば、牛乳に含まれる”骨の成長を促進する因子”とは何であろうか。

ラクトフェリンは骨芽細胞の増殖を促進する

前述のように、乳には種々の骨成長因子が豊富に含まれ、新生児期における骨格の急速な成長・発達を促進している。乳は骨のためのアナボリック効果を持つ諸因子の集合体なのである。既に、乳清蛋白質を骨芽細胞の初代培養に加えると、増殖を促進する効果があることが幾つか報告されている。骨芽細胞の増殖活性を指標として分画した活性画分を高速液体クロマトで分析すると、主要な活性物質は、きまって糖蛋白質の bLF と同定されてきたのである。図 2 はその一例で、ラット骨芽細胞を放射性チミジンとヒト・ラクトフェリンを含む培地で 24 時間培養し、細胞に取り込まれたチミジン量を示した。

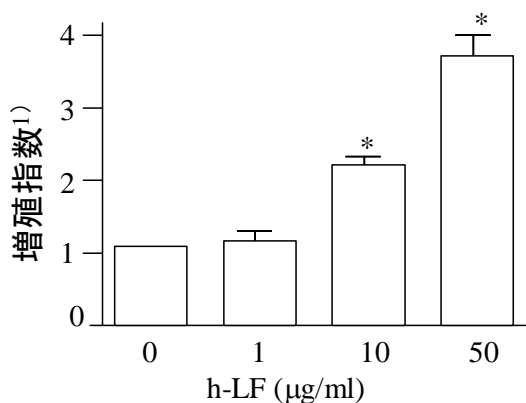


図 2. ラクトフェリンは骨芽細胞の増殖を促進する

ラット骨芽細胞を 24 時間放射性チミジンを含む培地で培養し、DNA へのチミジン取込を測定した。h-LF；遺伝子組み換えによりつくったヒトラクトフェリン。増殖指数；ラクトフェリン無添加時の増殖を 1 とした場合のチミジン取込の割合。数値；Mean±SE, N=4, *P<0.05

最近、bLF は、無血清培地で骨芽細胞に誘発されるアポトーシスを阻害することがわかってきた。図 3 に示すように bLF は 10µg/ml から用量依存性に骨芽細胞のアポトーシスを抑制している。したがって、①骨芽細胞の増殖促進と②そのアポトーシス阻害の両面からラクトフェリンは新しい骨の形成を促進していることはほぼ確かである。

骨芽細胞の増殖はラクトフェリン濃度 10µg/ml で有意に促進されている。健康人の血清におけるラクトフェリン濃度は 2～7µg/ml なので、ラクトフェリンは生理的な濃度範囲で骨芽細胞の増殖を促進していると考えられる。表 1 に示すように、乳の強塩基性蛋白質には種々な微量成分が含まれているので、牛乳を bLF の原料とする限り、微量成分が骨芽細胞の増殖を促進した可能性を排除できない。しかし、図 2 に示したように遺伝子組換えによりつくられたラクトフェリンは、乳由来の微量成分は混入しない。図 2 の増殖促進効果は、ラクトフェリンそのものに起因するのである。

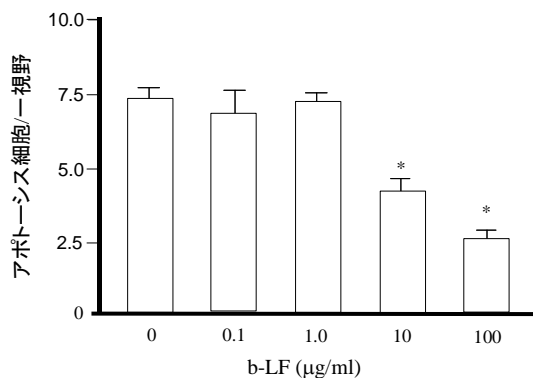


図 3. ラクトフェリンのアポトーシス保護効果

顕微鏡の一視野あたりのアポトーシスした細胞数を計測し、Mean±SE として図示した。(n=4)
*P<0.05

ラクトフェリンは骨吸収を低下させる

骨芽細胞の増殖と分化を促進する諸因子は、骨を溶解する破骨細胞に対しても固有の経路を通じて影響を及ぼす。副甲状腺ホルモン PTH は、骨芽細胞と破骨細胞の両活性を誘発して骨の代謝回転を加速する。一方、膵β細胞からインスリンと一緒に分泌されるホルモン、アミリンやインターロイキン-18 は骨芽細胞の骨形成活性を誘発すると同時に、破骨細胞の骨吸収を阻害し骨重量の自然増をもたらす。破骨細胞の分化と活性に及ぼす影響を *in vitro* しらべるには、複数の方法が知られている。まず、マウス骨髄の培養では、培養8日後に生ずる多核細胞の数は、前駆細胞が破骨細胞に分化した活性の尺度になりうる。図1に示すように、破骨細胞は多核であり、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 陽性に染色されるので、顕微鏡下に計測することができる。bLF を培養2日目と4日目に加える

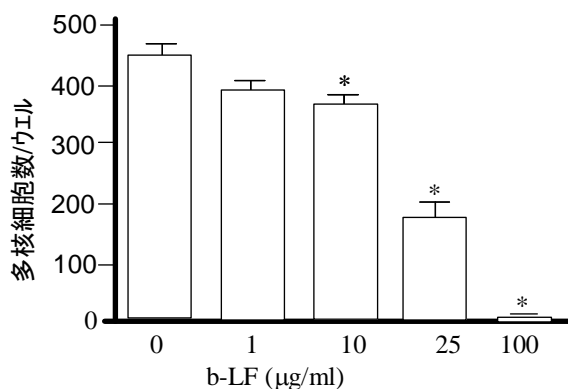


図4. 破骨細胞への分化に及ぼすラクトフェリンの影響

マウス骨髄細胞を培養してウェルあたりに多核の破骨細胞へ分化した細胞数を図示した。数値； Mean±SE. (n=4), *P<0.05

ると、用量依存性に破骨細胞の形成が阻害され、その濃度が 100μg/ml に到達すると破骨細胞の増加は完全に停止する(図3)。Cornish 等⁽⁸⁾はウシ・bLF をウサギの骨髄細胞培養に加えると、破骨細胞への成熟が阻害され、骨吸収が抑制されることを報告した。この方法は、破骨細胞を多く含むラット骨髄細胞の懸濁液を骨のスライス上で 20 時間培養する。スライス上の TRAP 陽性細胞を数えた後、破骨細胞が骨吸収して骨面に生じた小孔(ピット)を計測する。破骨細胞あたりのピット数は、成熟破骨細胞の活性尺度である。bLF はこの実験系では 100 μg/ml までは影響がない。放射性 ⁴⁵Ca をあらかじめ注射したマウス新生仔の頭蓋骨を培養し、培地への ⁴⁵Ca 放出により破骨細胞の活性を測定することもできる。この実験系で得た成績から、bLF は成熟破骨細胞の活性には影響を与えないことがわかった。すなわち、bLF は完全に成熟した破骨細胞の骨吸収は阻害しないが、前駆細胞が破骨細胞に分化する過程を阻害する。bLF の骨代謝への影響は、破骨細胞への成熟を抑制することにより、成熟破骨細胞数を減少させ、結果的に骨吸収を低下させることにある。bLF による骨量の増加は、前駆細胞から破骨細胞への分化を抑制するためである。

牛乳の塩基性蛋白質は骨の成長を促す蛋白質の混合物

雪印乳業(株)が命名した MBP(milk basic protein)なる混合物は、正確な組成が公表されておらず、何が有効成分なのか明らかでないのが欠点である。同社の研究者達は明海大歯学部並びに埼玉医大と共同で健康人男女のボランティアの参加を得て MBP の骨代謝への影響をしらべ、骨代謝の改善効果を報告している。山村等⁹⁾は健康な成人女性に 6 ヶ月連日 MBP を摂取してもらい、前腕のトウ骨々密度に及ぼす影響をしらべた。すなわち、33 名の健康成人女性ボランティア(平均年齢±SE ; 28.8±8.7)をランダムに二群に分け、一群を MBP(40 mg/day, n=17)連日摂取群、他方をプラセボ群(n=16)として、MBP は乳酸、甘味料とフレーバーを含む 50ml の飲料として与え、プラセボ群は MBP を含まない飲料を摂取させた。各ボランティアのトウ骨の骨密度を試験開始時と摂取 6 ヶ月後に測定した。その結果、6 ヶ月目の MBP 群における橈骨の骨密度は、対照群と比べて有意に高まることが明らかになった。

さらに、青江等¹¹⁾も山村等⁹⁾と同一の二重盲検試験において健康な成人女性のかかとの骨である踵骨密度に及ぼす MBP の影響をしらべた。健康な女性ボランティアを MBP 群(40mg/day, n=17)と偽薬群(n=16)にわけ、6 ヶ月の二重盲検試験を行った。踵骨においても MBP 摂取群の骨密度は、対照群と比べて有意に高まった。したがって、健康な成人女性が MBP を連日摂取すると、骨のミネラル密度を有意に増加すると結論している。

さらに、鳥羽等¹⁰⁾は、健康男性(n=30, 年齢 ; 36.2±8.5)の骨代謝マーカーに及ぼす MBP の影響を報告している。MBP を 300mg 含有する飲料を 30 人の健康男性に 16 日間連日摂取させた。骨形成のマーカーである血清オステオカルシン濃度は MBP 飲料を 16 日間摂取すると有意に上昇し、タイプ I コラーゲンの分解物で骨吸収のマーカー、N-telopeptides(NTx)の尿排泄は、16 日後に有意に減少した(表 2)。また、摂取 16 日後の NTx 尿排泄は血清オステオカルシン濃度と有意に相関していた。これらの結果は MBP が一方では骨のリモデリングを持続させながら、骨形成を促進する一方で、骨吸収を抑制したことを示唆する。

表 2. 健康人男性の血清オステオカルシン濃度と尿 NTx 排泄量

	摂取前	摂取 16 日後
血清オステオカルシン (ng/ml)	3.7±1.8	5.4±1.8***
NTx の尿排泄 (nmol/mmol creatinin)	31.5±10.2	26.8±9.6***

(n=30) Mean±SE. ***P<0.0001

“弱ったときは、卵に牛乳”という諺が示すように、20 世紀初頭までの日本は牛乳の処女地だった。戦後における牛乳の学校給食は、数千万人の児童を巻き込む壮大な実験だったのである。これは数千年前から乳利用の食文化を発達させた牧畜民族には不可能な実験だった。酪農製品は我々の食生活を豊かにし、牛乳の学校給食は日本人の体位は向上させた。紹介したように牛乳が骨の成長を促進し、体位を向上させる複数の因子を含んでいることは確かである。今後は体位向上ばかりでなく、この知見を骨粗鬆症、歯周病及びある種の

がんのように骨代謝異常が起こる疾患の治療・予防に役立つべきだろう。引用文献

- (1) Naot D et al. Clin Med & Res. 2005; 2: 93-101
- (2) Kawakami H. Food Sci Technol Res. 2005; 11: 1-8
- (3) Yamamura J et al. J Biochem. 2006; 140: 825-30
- (4) Morita y et al. Bone. 2008; 42:380-7
- (5) Matsuoka Y et al. Biosci Biotechnol Biochem. 2002; 66: 2531-6
- (6) Yamamura et al. BBRC. 1999; 261: 113-7
- (7) 興梠一郎、文芸春秋、2008年12月号、
- (8) Cornish J et al. Endocrinol. 2004; 145: 4366-4374
- (9) Yamamura J et al. Biosci Biotechnol Biochem. 2002; 66: 702-704
- (10)Toba Y et al. Biosci Biotechnol Biochem. 2001; 65: 1353-1357
- (11)Aoe S et al. Biosci Biotechnol Biochem. 2001; 65: 913-918 梠

以上