

令和元年度研究報告書

研究代表者

所属 島根大学医学部内科学講座 内科学第一

氏名 山内美香、杉本利嗣

1. 研究テーマ

ビタミン充足指標である 25 水酸化ビタミン D におよぼす因子の検討

2. 研究者氏名

杉本利嗣¹⁾²⁾、山内美香¹⁾、名和田清子¹⁾³⁾、野津雅和¹⁾、田中賢一郎¹⁾

島根大学医学部内科学講座内科学第一¹⁾、栄宏会小野病院²⁾、島根県立大学健康栄養学科³⁾

3. 研究概要

(1) 目的

ビタミン D 不足・欠乏は明らかな骨粗鬆症のリスク因子である。ビタミン D は食事から摂取、あるいは皮膚の日光曝露により皮膚で合成されると、大部分が肝臓で血清 25 水酸化ビタミン D[25(OH)D]濃度に代謝される。その後、25(OH)D は腎臓で 1α 位水酸化酵素により活性型である 1,25-ジヒドロキシビタミン D[1,25(OH)₂D]に代謝される。また、25(OH)D と 1,25(OH)₂D は 24 位水酸化酵素により不活化される。線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23) は、 1α 位水酸化酵素の発現を抑制し、24 位水酸化酵素の発現を亢進させることで、ビタミン D 代謝に関与する。1,25(OH)₂D の半減期は 4～6 時間と短い、25(OH)D の半減期は 2～3 週間と長いことから、25(OH)D はビタミン D の充足状態を示す最もよい指標とされる。近年、骨粗鬆症患者におけるビタミン D 充足状況を判定するために血清 25(OH)D 濃度の測定が可能となった。

一方、日本人の食事摂取基準 2015 年版では、健康の維持・増進と欠乏症予防を目的として設定された指標である推定平均必要量及び推奨量が示されている。しかしビタミン D についてはこれらを算定するに十分な科学的根拠が得られないことから、健康な人を対象として実施された疫学的研究をもとに特定の集団において不足状態を示す人がほとんど観察されない量とする「目安量」が算定されている。成人では、血中副甲状腺ホルモン濃度の上昇を認めなかった血中

25(OH)D 濃度 50nmol/L (20ng/mL)を下回らない集団の摂取量の中央値を目安量とみなし、性、年齢に関わらず一律に 5.5 μ g/日とされている^{1),2)}。

平成 29 年国民健康・栄養調査の結果によると、成人の平均ビタミン D 摂取量は 7.3 μ g/日であり、日本人の食事摂取基準の目安量を上回っている。しかし、わが国におけるビタミン D 欠乏・不足例の頻度は極めて高いことが報告されており、我々も同様の結果を得ている³⁾。日本における健常成人 9,084 名を対象とした報告において、25(OH)D が 30ng/mL 以上と充足状態であったのは 9.1%のみで、53.6%が 20ng/mL 未満と欠乏状態であったとされる⁴⁾。閉経後女性 1,211 名を対象とした検討においても、52.0%が欠乏状態を示したとされる⁵⁾。ビタミン D 不足・欠乏状態は、骨代謝異常だけではなく、転倒や筋力低下、血管疾患、感染防御、死亡率などに関連することが明らかにされており、25(OH)D 濃度をより高くすることが望まれる。

血中 25(OH)D 濃度は日光曝露時間やビタミン D 摂取量に加え、脂質摂取量や体脂肪量、腎機能などの影響を受けることが報告されている。さらに、25(OH)D の 1 α 位水酸化の促進には PTH が、抑制には FGF23 が関与し、24 位水酸化の促進には FGF23 が、抑制には PTH が関与する。このように 25(OH)D は様々な因子の影響を受ける可能性があるが、その詳細は明らかではない。そこで、血中 25(OH)D 濃度に影響を与える因子について検討を行った。

(2) 方法

1) 対象

骨と血管ドックを受けた健常者のうち、本研究に対して同意の得られた閉経後女性 200 名とした。骨代謝に影響を及ぼす疾患の合併や薬剤の服用歴を認める者は除外した。

2) 方法

血液検査では、Ca、P、Cr、intact PTH、25(OH)D、1 型プロコラーゲン-N-プロペプチド(P1NP)、1 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド(CTX)、FGF23 を測定した。骨密度(BMD)は DXA 法(QDR-4500, Hologic 社)を用い、腰椎(L2-4)及び大腿骨頸部(FN)を測定した。身長、体重を測定し、BMI を算出した。身体組成はインピーダンス法(BODY FAT ANALYZER TBF-215, TANITA 社)により測定した。屋外活動時間は自記式の調査用紙を用い、医師により確認した。栄養素摂取量は食物摂取頻度調査法(エクセル栄養君食物摂取頻度調査 FFQ Ver5)を用い、管理栄養士が個別の聞き取り調査を行い算出した。

3) 統計解析

25(OH)D と屋外活動時間との相関はスピアマンの順位相関分析にて、その他の因子との相関はピアソンの積率相関分析にて検討し、相関を有した場合は重回帰分析を行った。統計解析は PASW Statistics 17 を用い、いずれの場合

も危険率 5%未満をもって有意とした。

4) 倫理的配慮

本研究はヘルシンキ宣言を遵守し、島根大学医学部医の倫理委員会の承認を得て行った。

(3) 結果

1) 対象者の背景

対象者の背景を表 1 に示す。

表1 対象者の背景

平均±標準偏差 基準値			平均±標準偏差 基準値		
対象者数(名)	200		Ca (mg/dL)	9.1 ± 0.3	8.7-10.3
椎体骨折者(名)	45		P (mg/dL)	3.5 ± 0.4	2.5-4.6
非椎体骨折者(名)	35		intact PTH (pg/mL)	45.9 ± 15.0	10-65
全脆弱性骨折者(名)	70		25(OH)D (ng/mL)	16.2 ± 4.3	30以上
			PINP (ng/mL)	54.3 ± 16.5	26.4-98.2
年齢(歳)	63.4 ± 7.5		CTX (ng/mL)	0.41 ± 0.15	0.112-0.738
身長(cm)	151.6 ± 5.3		FGF23 (pg/mL)	33.9 ± 9.1	10-50
体重(kg)	52.8 ± 7.3		BMD (L2-4) (g/cm ²)	0.841 ± 0.147	
BMI (kg/m ²)	23.0 ± 3.1		Z値	0.3 ± 1.1	
体脂肪量(kg)	15.4 ± 4.7		T値	-1.5 ± 1.3	
体脂肪率(%)	28.6 ± 5.4		BMD (FN) (g/cm ²)	0.622 ± 0.090	
除脂肪量(kg)	37.4 ± 3.5		Z値	0.1 ± 1.0	
			T値	-1.5 ± 0.8	
Cr (mg/dL)	0.6 ± 0.1	0.47-0.79			
eGFR (mL/min/1.73m ²)	82.5 ± 16.1	90以上	屋外活動時間(時間)	1.9 ± 1.6	
Ccr (mL/min)	99.5 ± 21.3			(0 - 7.0)	

平均年齢は 63.4±7.5 歳、25(OH)D は 16.2±4.3ng/mL で、ビタミン D 不足状態である 20ng/mL 以上 30ng/mL 未満が 37 名(18.5%)、欠乏状態である 20ng/mL 未満が 81.5%を占め、そのうち 10 以上 20ng/mL 未満 153 名(76.5%)、10ng/mL 未満は 10 名(5.0%)であった。充足状態とされる 30ng/mL 以上は認めなかった。BMD Z 値は L2-4 が 0.3±1.1、FN 0.1±1.0 であり、年齢相応の BMD を有する群であった。屋外活動時間は 1.9±1.6 時間(0~7.0 時間)とばらつきが認められた。

栄養素摂取量を表 2 に示す。

表2 栄養素摂取量

	Mean ± SD	日本人の食事摂取基準2015年	H29年国民健康・栄養調査結果
エネルギー (kcal)	1912 ± 374	推定エネルギー必要量 1741 ± 211	1794
たんぱく質 (g)	69.5 ± 16.4	推奨量 50.0	69.3
脂質 (g)	55.9 ± 16.3		58.0
(エネルギー%)	26.1 ± 4.3	目標量 20以上30未満	28.7
カルシウム (mg)	656 ± 192	推奨量 650	552
マグネシウム (mg)	281 ± 71	推奨量 285 ± 9	262
リン (mg)	1092 ± 255	目安量 800	1013
ナトリウム (mg)	5236 ± 1724		3869
食塩相当量 (g)	13.3 ± 4.4	目標量 7.0 未満	9.8
ビタミンD (μg)	9.9 ± 3.9	目安量 5.5	7.8
ビタミンK (μg)	267 ± 83	目安量 150	264

ビタミンD摂取量は9.9±3.9 μg/日と目安量を満たしていた。カルシウム摂取量は656±192mg/日と推奨量を満たしていた。

2) 25(OH)D と各因子の単相関

25(OH)D と各因子の単相関を表3に示す。

表3 25(OH)Dと各因子の単相関

25(OH)D			25(OH)D		
	r	p値		r	p値
年齢 (歳)	-0.257	<0.001**	Ca (mg/dL)	0.169	0.017*
BMI (kg/m ²)	0.123	0.082	P (mg/dL)	-0.111	0.119
体脂肪量 (kg)	0.165	0.019*	intact PTH (pg/mL)	-0.225	0.001**
体脂肪率 (%)	0.157	0.027*	P1NP (ng/mL)	-0.143	0.043*
除脂肪量 (kg)	0.153	0.031*	CTX (ng/mL)	-0.183	0.010*
Cr (mg/dL)	-0.116	0.101	FGF23 (pg/mL)	0.050	0.496
eGFR (mL/min/1.73m ²)	0.147	0.038*	BMD (L2-4) (g/cm ²)	0.226	0.001**
Ccr (mL/min)	0.268	<0.001**	BMD (FN) (g/cm ²)	0.292	<0.001**
			屋外活動時間 (時間)	0.083	0.246

* p<0.05, ** p<0.01

25(OH)D は年齢、intact PTH、P1NP、CTX と負相関、体脂肪量、体脂肪率、除脂肪量、血中 Ca 値、BMD と正相関を認めた。一方、BMI、Cr、P、FGF23

及び屋外活動時間との関連は認めなかった。

3) 25(OH)D と栄養素摂取量との単相関

25(OH)D と栄養素摂取量との単相関を表 4 に示す。

表4 25(OH)Dと栄養素摂取量の単相関

	25(OH)D	
	r	p値
エネルギー (kcal)	0.014	0.845
たんぱく質 (g)	0.214	0.002 ^{**}
脂質 (g)	0.030	0.674
炭水化物 (g)	-0.104	0.144
カルシウム (mg)	0.156	0.028 [*]
マグネシウム (mg)	0.211	0.003 ^{**}
リン (mg)	0.202	0.004 ^{**}
ナトリウム (mg)	0.026	0.712
ビタミンD (μg)	0.315	<0.001 ^{**}
ビタミンK (μg)	0.181	0.010 [*]

* p<0.05, ** p<0.01

25(OH)D は、たんぱく質、カルシウム、マグネシウム、リン、ビタミン D、ビタミン K 摂取量と有意な正相関を認めた。

4) 25(OH)D と各因子の関連

25(OH)D を従属変数、年齢、BMI、体脂肪率、Ca、P、PTH、CTX、Cr、FGF23、BMD(FN)、屋外活動時間、単相関を認めた栄養素摂取量（たんぱく質、カルシウム、マグネシウム、リン、ビタミン D、ビタミン K）を独立因子として検討したところ、年齢、PTH、CTX と有意な負相関、BMD(FN)、ビタミン D 摂取量と有意な正相関を認め、ビタミン D 摂取量は年齢に次いで、強く関連する因子として選択された(表 5)。

表5 25(OH)Dと各因子との関連

独立因子	25(OH)D		独立因子	25(OH)D	
	r	p値		r	p値
年齢(歳)	-0.354	<0.001**	たんぱく質摂取量(g)	-0.072	0.854
BMI(kg/m ²)	0.041	0.792	カルシウム摂取量(mg)	0.045	0.868
体脂肪率(%)	0.031	0.843	マグネシウム摂取量(mg)	0.142	0.585
Ca(mg/dL)	0.104	0.119	リン摂取量(g)	-0.322	0.588
P(mg/dL)	-0.137	0.055	ビタミンD摂取量(μg)	0.348	0.003**
intact PTH(pg/mL)	-0.144	0.041*	ビタミンK摂取量(μg)	0.188	0.194
CTX(ng/mL)	-0.164	0.021*			
Cr(mL/min)	-0.048	0.476			
FGF23(pg/mL)	0.046	0.519			
BMD(FN)(g/cm ²)	0.139	0.049*			
屋外活動時間(時間)	0.058	0.398			

* P<0.05, ** p<0.01

(4) 考察

今回の検討において、血清 25(OH)D 濃度に影響を及ぼす因子として、ビタミン D 摂取量が重要であることを、閉経後女性を対象とした検討で明らかにした。

ビタミン D は食事からの摂取に加えて、紫外線の作用により皮膚で合成される。このため、血清 25(OH)D 濃度は日光照射時間の影響を受け、夏期に高値となるとの報告がある⁶⁾。一方、日本人の妊婦を対象とした検討において季節間変動を認めなかったという報告も存在し⁷⁾、一致した見解は得られていない。本検討では、25(OH)D 濃度は屋外活動時間と関連を認めなかった。今回の対象は農作業従事者を多く含み、屋外活動時間にばらつきが多かったことや、日焼け止めの使用の有無を考慮していなかったことなどにより、関連を認めなかった可能性が考えられる。

一方、ビタミン D は脂溶性ビタミンであることから、25(OH)D と脂質との関連について検討した報告が散見される。健常高齢男女を対象とした検討において、食事の脂質の存在がビタミン D サプリメントの吸収を促進したとの報告がある⁸⁾。また、健常成人を対象とした検討において、油乳型ビタミン D₃ サプリメントがチュアブル型タブレットやカプセル型に比べ、血清 25(OH)D の吸収を高めたと報告している⁹⁾。本検討では、25(OH)D と脂質摂取量との間に相関を認めなかった。また、25(OH)D と体脂肪量との関連については、負の相関を認めたとの報告や¹⁰⁾、システマティックレビューにおいて BMI と負相関を示すとの報告があるが¹¹⁾、本検討では体脂肪量や体脂肪率と重回帰分析にて有意な相関を認めなかった。ビタミン D は脂溶性ビタミンのため、体脂肪が多い場合、脂肪組織に移

行し、血中濃度が低くなると考えられているが、本検討では、BMI が 30kg/m^2 を超えるような肥満例がいなかったため、体脂肪量との相関は認めなかった可能性が考えられる。

腎機能とビタミン D との関係については、腎機能が低下すると $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ が著明に低下することはよく知られている。一方、 $25(\text{OH})\text{D}$ も $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ よりは緩やかではあるが腎機能低下にともない低下を認めることが報告されている¹²⁾。本検討でも同様に、腎機能が低い方が $25(\text{OH})\text{D}$ が低いとの結果であった。しかし、 $25(\text{OH})\text{D}$ とビタミン D 摂取量の相関は腎機能で補正後も有意であった。

FGF23 はビタミン $\text{D}1\alpha$ 水酸化酵素の発現を抑制することで、ビタミン D の活性化を阻害し、P を低下させる方向に作用する。さらに、FGF23 は 24 位水酸化酵素の発現を亢進させ、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ を不活性化させる。24 位水酸化酵素は $25(\text{OH})\text{D}$ も $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ に変換することから、FGF23 と $25(\text{OH})\text{D}$ に関連を認める可能性が考えられたが、今回の検討ではこれらの血中濃度の間に相関は認めなかった。

本検討において、ビタミン D 摂取量は年齢に次いで、 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度に強く関連する因子として選択された。さらに、日本人の食事摂取基準 2015 年版に示されている目安量である $5.5\mu\text{g}/\text{日}$ を摂取している例であってもビタミン D 欠乏を示すことを明らかにした。高齢者では、ビタミン D 吸収能の低下が存在する可能性も示唆される。ビタミン D を充足させるためのビタミン D 摂取必要量について、今後さらなる検討が必要である。

(5) 結語

閉経後女性において、ビタミン D 摂取量は年齢や屋外活動時間、腎機能などとは独立して、 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度に影響を及ぼす因子であることを示した。ビタミン D の充足、そして骨粗鬆症予防のためには、ビタミン D 摂取についての栄養面からの介入が極めて重要であることが再確認された。

(6) 文献

- 1) 厚生労働省：日本人の食事摂取基準(2010 年版), 124-129, 2009
- 2) 厚生労働省：日本人の食事摂取基準(2015 年版)策定検討会」報告書, 170-175, 2014
- 3) Yamauchi M, Kaji H, Nawata K, et al: Role of parathyroid hormone in bone fragility of postmenopausal women with vitamin D insufficiency. *Calcif Tissue Int* 88: 362-369, 2011
- 4) Nakamura K, Kitamura K, Takachi R, et al: Impact of demographic, environmental, and lifestyle factors on vitamin D sufficiency in 9084 Japanese adults. *Bone* 74: 10-17, 2015
- 5) Tamaki J, Iki M, Sato Y, et al: Total 25-hydroxyvitamin D levels predict fracture risk: results from the 15-year follow-up of the Japanese Population-based

Osteoporosis (JPOS) Cohort Study Osteoporos Int 28:1903–1913, 2017

- 6) Merlijn T, Swart KMA, Lips P, et al: Prediction of insufficient serum vitamin D status in older women: a validated model. Osteoporos Int 29: 1539-1547, 2018
- 7) Shiraishi M, Haruna M, Matsuzaki M, et al: Demographic and lifestyle factors associated with vitamin D status in pregnant Japanese women. J Nutr Sci Vitaminol 60: 420-428, 2014
- 8) Dawson-Hughes B, Harris SS, et al: Lichtenstein AH, et al: Dietary fat increases vitamin D-3 absorption. J Acad Nutr Diet 115: 225-230, 2015
- 9) Traub ML, Finnell JS, Bhandiwad A, et al: Impact of vitamin D3 dietary supplement matrix on clinical response. J Clin Endocrinol Metab 99: 2720-2728, 2014
- 10) Han SS, Kim M, Lee SM, et al: Impact of vitamin D3 dietary supplement matrix on clinical response. Asia Pac J Clin Nutr 23: 65-75, 2014
- 11) Saneei P, Salehi-Abargouei A, Esmailzadeh A: Serum 25-hydroxy vitamin D levels in relation to body mass index: a systematic review and meta-analysis. Obes Rev 14: 393-404, 2013
- 12) Levin A, Bakris GL, Molitch M, et al: Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. Kidney Int 71: 31-38, 2007

(7) 図表説明

表 1. 対象者の背景

25(OH)D: 25 水酸化ビタミン D, P1NP: 1 型プロコラーゲン-N-プロペプチド, CTX: 1 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド, FGF23: 線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23), BMD(L2-4) : 腰椎骨密度, BMD(FN) : 大腿骨頸部骨密度

表 2. 栄養素摂取量

表 3. 25(OH)D と各因子の単相関

25(OH)D と屋外活動時間との相関はスピアマンの順位相関分、その他の因子との相関はピアソンの積率相関分析を行った。

表 4. 25(OH)D と栄養素摂取量の単相関

25(OH)D と栄養素摂取量との相関はピアソンの積率相関分析を行った。

表 5. 25(OH)D と各因子との関連

25(OH)D を従属変数、年齢、BMI、体脂肪率、Ca、P、PTH、CTX、Cr、FGF23、BMD(FN)、日光曝露時間、単相関を認めた栄養素摂取量（たんぱく質、カルシウム、マグネシウム、リン、ビタミン D、ビタミン K）を独立因子として重回帰分析を行った

4. 学会機関紙もしくは学会への関連論文（演題）発表状況
論文等

- 1) Yamamoto M, Yamauchi M, Sugimoto T. Prevalent vertebral fracture is dominantly associated with spinal microstructural deterioration rather than bone mineral density in patients with type 2 diabetes mellitus. PLoS One. 14(9): e0222571. 2019
- 2) Notsu M, Yamauchi M, Morita M, Nawata K, Sugimoto T. Papillary thyroid carcinoma is a risk factor for severe osteoporosis. J Bone Miner Metab. 38(2):264-270, 2020
- 3) Takedani K, Notsu M, Yamauchi M, Nawata K, Sugimoto T, Kanasaki K. Graves' disease and vertebral fracture: possible pathogenic link in postmenopausal women. Clin Endocrinol in press.
- 4) 名和田清子, 山内美香, 山本昌弘, 杉本利嗣: 血清 25 水酸化ビタミン D 濃度に影響を与える因子についての検討. The Journal of Japan Osteoporosis Society 5: 437-444, 2019

学会発表

- 1) Nawata K, Yamauchi M, Yamamoto M, Sugimoto T. Identification of factors that affect serum levels of 25-hydroxyvitamin D. American Society for Bone and Mineral Research 2019 Annual Meeting, 2019 (Orland)
- 2) 野津雅和, 山内美香, 竹谷海, 竹野歩, 田中賢一郎, 田中小百合, 守田美和, 金沢一平, 山本昌弘, 名和田清子, 杉本利嗣: 未閉経バセドウ病女性における椎体骨折リスクの検討. 第 92 回日本内分泌学会総会. 仙台. 2019 年 5 月
- 3) 竹谷海, 野津雅和, 山内美香, 竹野歩, 田中賢一郎, 田中小百合, 守田美和, 金沢一平, 山本昌弘, 名和田清子, 杉本利嗣: 閉経後バセドウ病女性における椎体骨折についての検討. 第 92 回日本内分泌学会総会. 仙台. 2019 年 5 月
- 4) 名和田清子, 山内美香, 山本昌弘, 杉本 利嗣: 閉経後女性の Trabecular bone score(TBS)に影響を与える因子についての検討. 第 21 回日本骨粗鬆症学会. 神戸. 2019 年 10 月
- 5) 野津雅和, 山内美香, 竹谷海, 竹野歩, 田中賢一郎, 田中小百合, 守田美和, 金沢一平, 山本昌弘, 杉本利嗣: バセドウ病を合併した未閉経女性における椎体骨折症例の検討. 第 21 回日本骨粗鬆症学会. 神戸. 2019 年 10 月
- 6) 山本昌弘, 山内美香, 杉本 利嗣: 2 型糖尿病の椎体骨折者では椎体微細構造の劣化が存在する. 第 21 回日本骨粗鬆症学会. 神戸. 2019 年 10 月
- 7) 竹谷海, 野津雅和, 山内美香, 竹野歩, 田中賢一郎, 金沢一平, 山本昌弘, 名和田清子, 杉本利嗣: バセドウ病が椎体骨折におよぼす影響: 閉経後女性における検討. 第 37 回日本骨代謝学会学術集会. 神戸. 2019 年 10 月