

激しい運動はビタミンDの消費を促進するか？ —アスリートのビタミンD補給の必要性—

愛媛大学 池戸 葵

Does Intense Exercise Necessitate Vitamin D Supplementation in Athletes?

by

Ikedo Aoi

*Division of Integrative Pathophysiology,
Proteo-Science Center, Ehime University*

ABSTRACT

High intensity exercise has been reported to induce increases in systemic parathyroid hormone (PTH) levels. PTH is involved in the conversion of 25-hydroxyvitamin D (25 (OH) D) to 1 alpha, 25-hydroxyvitamin D₃ (1 α, 25 (OH) ₂D₃) ; thus, 25 (OH) D levels may potentially decrease through conversion to 1 α, 25 (OH) ₂D₃ following exercise induced increase in PTH levels. The purpose of this study was to investigate the influence of differences in exercise volume on 25 (OH) D levels and bone mass. Seven-week-old female C57/BL6j mice were divided into three groups: sedentary (CON, n = 5), exercise once a day (EX-1, n = 5), and exercise three times a day (EX-3, n = 5) . The exercise groups were subjected to 30 minutes of treadmill running at 12 m/min on a 5° incline; animals exercised 5 days a week for 4 weeks. Following the final exercise session of week 4, serum PTH levels had significantly increased in the EX-3 group compared with the CON group (p < 0.05). At the same time point, the number of mice where no serum 25 (OH) D could be detected were 50% in the EX-3 group. Muscle wet weight was increased in the EX-3 group compared with the CON group (p < 0.05). Bone mineral density (BMD) was increased in the EX-3 group

compared with both the CON ($p < 0.05$) and EX-1 groups ($p < 0.05$). This study was suggest that increased exercise volume has the potential to decrease 25 (OH) D levels, although it was seen to be increased in muscle wet weight and BMD. Therefore, we conclude that athletes with intense training regimens should consume diets rich in vitamin D.

要 旨

強度の高い運動は、副甲状腺ホルモン (PTH) の循環レベルを増加させる。PTH は 25 水酸化ビタミン D [25(OH)D] を活性型ビタミン D [$1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$] へ変換する作用を有する。そのため、25(OH)D は、運動による PTH の増加により $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ への変換が促進されることで血中レベルが低下する可能性が考えられる。本研究では、異なる運動量に伴う PTH の増加量の違いが 25(OH)D 濃度及び骨量に与える影響を検討した。7 週齢の C57/BL6j 雌マウスを安静群 (CON), 1 日 1 回運動群 (EX-1), 1 日 3 回運動群 (EX-3) の 3 群 (各群 $n = 5$) に分けた。運動群は速度 12 m/min, 傾斜 5 度, 30 分間のトレッドミル運動を週 5 日, 計 4 週間実施した。4 週間の運動終了後、血清 PTH 濃度は CON と比較して EX-3 で有意に増加した ($p < 0.05$)。血清 25(OH)D 濃度は検出できなかったマウスが EX-3 で 50% 認められた。筋湿重量と骨密度 (BMD) は、CON および EX-1 と比較して、EX-3 で有意な増加が認められた。以上のことから、運動量の増加は、筋量や骨量を増加に有効であるが、PTH の増加に伴い 25(OH)D 濃度を低下させる可能性が考えられた。従って、激しい運動トレーニングを行うアスリートは、ビタミン D が豊富な食品等を積極的に摂る必要があるだろう。

緒 言

ビタミン D 不足は疲労骨折発症率を増加させ

る。アスリートのビタミン D 不足及び欠乏の罹患率は、春季や冬季及び室内競技に多く、全体で約 56% に上る¹⁾。通常、ビタミン D の不足は紫外線暴露の減少により皮膚でのビタミン D_3 合成が低下及び食事からのビタミン D_3 不足に起因すると考えられている。一方で、室外競技である長距離陸上競技でも 42% のランナーがビタミン D 不足であったことも報告されており²⁾、疲労骨折リスクを高めている。長距離ランナーと同様に疲労骨折リスクの高い軍隊新兵を対象とした先行研究では、基礎体力トレーニング期間中において、血中の 25 水酸化ビタミン D 濃度 [25(OH)D] が低下することが認められている^{3,4)}。この機序については不明な点が多いが、1 つの可能性として副甲状腺ホルモン (PTH) の影響が考えられる。PTH は運動強度及び時間依存的に増加する⁵⁾。PTH は 25(OH)D を活性型ビタミン D [$1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$] に変換させる作用を持つため、過剰に変換作用が誘発されると 25(OH)D が低下する可能性が考えられる。実際に、骨粗鬆症の治療薬として用いられている PTH 製剤の使用期間中には血中の $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が増加し、25(OH)D が低下することが認められている⁶⁾。これらのことから、日々、激しい長時間運動に従事する軍隊新兵や長距離ランナー等は PTH の増加量及び増加頻度が増えることで 25(OH)D 濃度を低下させている可能性が考えられる。しかし、激しい長時間運動に伴う PTH の変化が 25(OH)D 濃度に与える影響を検討した報告は見られない。そこで本研究の目的は、異なる運動量に伴う PTH の増加量

の違いが 25(OH)D 濃度及び骨量に与える影響を検討することとした。

1. 研究方法

1. 1 実験動物

単回運動実験用 (n = 15) と運動トレーニング介入実験用 (n = 15) の 6 週齢の C57Bl/6J 雌マウスを日本クレア株式会社から購入した。動物の飼育環境は、室温 22±2°C, 12:12 明暗サイクルとし、餌 (MF, Oriental Yeast Co., Ltd. Tokyo, Japan) および水は自由摂取とした。マウスは 1 週間の予備飼育後に、安静群 (CON), 1 日 1 回運動群 (EX-1), 1 日 3 回運動群 (EX-3) に群分けし、単回運動実験および 4 週間の運動トレーニング介入実験をそれぞれ実施した。

1. 2 単回運動実験

運動による血中 PTH 濃度の変化を確認するために単回運動実験を行った。運動は、先行研究で血中 PTH 濃度の増加が報告されている、速度 12 m/min, 傾斜 5°, 30 分間のトレッドミル運動^{7, 8)}とし、① 1 回運動群 (EX-1; n = 5), ② 3 回運動群 (EX-3; n = 5), ③ 安静群 (CON; n = 5) の 3 群に分け実施した。3 回運動群は 3 回のトレッドミル運動の間に 30 分の安静を挟み実施した。尚、CON のマウスはトレッドミル装置の側で運動群の運動終了まで安静状態を保った。サンプリングは運動終了後 30 分以内に、ケタミンとキシラジン (1:3) 混合麻酔薬を投与した後に実施した。採血は腹大動脈から行い、採血管 (Mini correct, Greiner Bio-One GmbH, Japan) に血液を採取し、3000g, 4°C, 10 分間で遠心分離を行った。分離された血清は解析まで -80°C で保存した。

1. 3 4 週間の運動トレーニング介入実験

運動トレーニングは、単回運動実験と同様の速度 12 m/min, 傾斜 5°, 30 分間のトレッドミル運動を、週 5 回、4 週間実施した。マウスは、① EX-1 (n = 5), ② EX-3 (n = 5), ③ CON (n = 5) の 3 群に分けて実施した。EX-3 は 3 回のトレッドミル運動の間に 30 分の安静を挟み実施した。尚、CON のマウスはトレッドミル装置の側で運動群の運動終了まで安静状態を保った。また、血中の PTH 濃度や 25(OH)D 濃度に摂餌量の影響が出ないように、運動トレーニング期間中の EX-1 および CON への給餌量は EX-3 の摂餌量と同様になるように給餌した。サンプリングは、4 週間の運動トレーニング期間終了後の翌日から 3 日間に分け、単回運動実験と同様に採血を行い、血清を -80°C で保存した。加えて、脛骨を採取し、4% パラホルムアルデヒドに浸漬し、オーバーナイトで固定した後、70% エタノールに置換し、解析まで -4°C で保存した。また、腓腹筋とヒラメ筋を採取し、湿重量の測定を行った。

血液解析

-80°C で保存した血清を解凍し、PTH 濃度 (Mouse PTH 1-84 ELISA Kit, Immutopics, Inc. San Clemente, CA) および 25(OH)D 濃度 (25(OH)-Vitamin D direct day ELISA, Immundiagnostik AG, Germany) を ELISA 法にて測定した。

1. 4 血液解析

骨密度測定

骨密度 (BMD) は、二重エネルギー X 線吸収法 (DXA) を用いた骨密度測定機 (DCS-600EX, ALOKA) により測定し、全体の BMD および全体を 20 分割した各部位の BMD の評価を行なった。

1. 5 骨密度測定

統計解析

結果は平均値 ± 標準誤差で示した。3 群間の比較には一元配置分散分析を用い、3 群間の介入前後の比較には二元配置分散分析を用いた。多重比較検定においては、等分散が仮定された場合

1. 6 統計解析

結果は平均値 ± 標準誤差で示した。3 群間の比較には一元配置分散分析を用い、3 群間の介入前後の比較には二元配置分散分析を用いた。多重比較検定においては、等分散が仮定された場合

Turkey's test を用い、等分散が仮定されない場合 Kruskal-Wallis test を用いた。統計解析には IBM SPSS Statistics version 22 を用い、有意水準は 5% 未満とした。また、効果量は η^2 を示し、0.01 以上が効果量小、0.06 以上が効果量中、0.14 以上が効果量大とした。

2. 結果

2. 1 単回のトレッドミル運動による血液指標の変化

マウスの体重はグループ間で有意な差は認められなかった (CON $18.8 \pm 0.3\text{g}$, EX-1 $18.8 \pm 0.3\text{g}$, EX-3 $18.8 \pm 0.3\text{g}$)。血清 PTH 濃度は、群間で有意な差は認められなかったが、CON と比較して EX-3 では 50.1% 高い値を示した ($p = 0.62$, $\eta^2 = 0.27$; 効果量大)。25(OH)D 濃度においても、群間で有意な差は認められなかったものの、CON と比較して EX-1 および EX-3 では約 23% 低い値を示した ($p = 0.26$, $\eta^2 = 0.08$; 効果量中)。以上のことから、各血液指標に有意な差は認められなかったものの、運動量の増加によって血清 PTH 濃度が増加し、血清 25(OH)D 濃度が低下する傾向がみられた (図 1)。

2. 2 運動トレーニング介入後の体重および血液指標

運動トレーニング前後における各群の体重を表 1 に示した。CON および EX-3 の体重は、運動トレーニング期間中に有意な増加を認めた。一方、EX-1 の体重に有意な変化は認められなかった。

表 1 運動トレーニング前後の体重

Group	Weight (g)	
	pre	post
CON	18.3 ± 0.3	$19.4 \pm 0.4^*$
EX-1	18.4 ± 0.4	19.5 ± 0.6
EX-3	18.3 ± 0.2	$19.9 \pm 0.2^{**}$

値は平均 \pm 標準誤差で示した。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

運動トレーニング介入後の各群の血清 PTH 濃度および血清 25(OH)D 濃度を表 2 に示した。解剖時に EX-3 のマウスうち 1 匹の採血ができなかったため、EX-3 のみ $n = 4$ での解析となった。血清 PTH 濃度は、CON および EX-1 に比べて、EX-3 で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。血清 25(OH)D 濃度は、群間に有意な差は認められなかった。しかし、血清から 25(OH)D が検出できなかったマウスが EX-1 において 5 匹中 1 匹、EX-3 において 4 匹中 2 匹認められた。

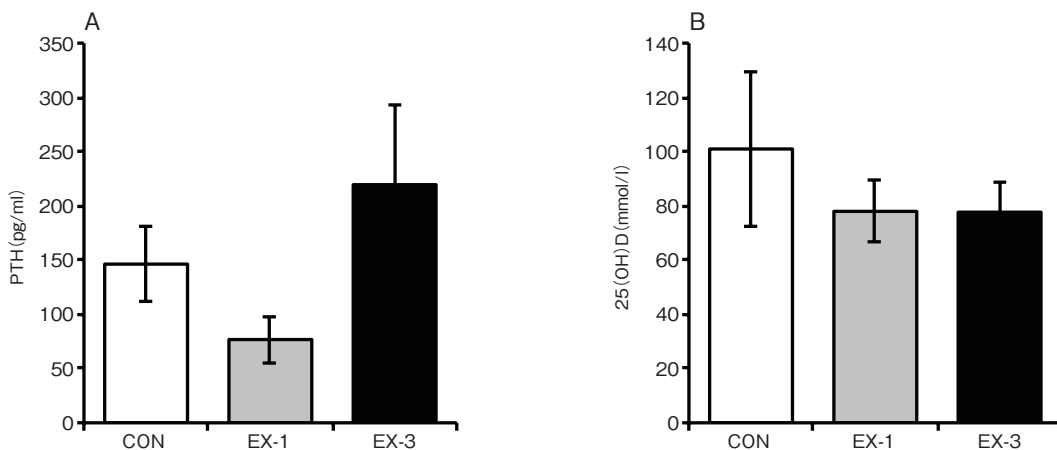


図 1 単回のトレッドミル運動後の各血液指標 (A) 血清 PTH 濃度の群間比較, (B) 血清 25(OH)D 濃度の群間比較

表2 運動トレーニング介入後の各群のPTH濃度および25(OH)D濃度

	CON(n=5)	EX-1(n=5)	EX-3(n=4)
PTH (pg/ml)	136.5±39.7	128.5±30.9	388.4±102.1 ^{†*}
25(OH)D(nmol/l)	44.4±5.1	29.9±9.4	49.6±10.0
25(OH)D検出/全数	0/5	1/5	2/4

値は平均±標準誤差で示した。^{*}EX-1 vs. EX-3, [†]Con vs. EX-3, p<0.05

2. 2 運動トレーニング介入後の筋湿重量および骨密度

運動トレーニング介入後の腓腹筋およびヒラメ筋の総湿重量およびBMDの群間比較を図2に示した。腓腹筋+ヒラメ筋の総湿重量は、CONと比較してEX-3で有意な増加を認めた(p<0.05)(図2.A)。BMDは、全体の値に有意な群間差は認められなかった(図2.B)ものの、20分割して解析した場合、骨幹部の中心から近位側部分のBMDに有意な群間差が認められた。骨幹部のD7, 8部位ではCONと比較してEX-1は有意に低い値を示した(p<0.05)。骨幹部のD8, 9, 10, 11部位では、EX-3と比較してEX-1は有意に低い値を示した(p<0.05)。D11部位では、CONと比較してEX-3で有意に高い値を示した(p<0.05)(図2.C)。

3. 考察

本研究の目的は、異なる運動量に伴うPTHの

増加量の違いが25(OH)D濃度及び骨量に与える影響を検討することであった。

主な結果として、運動量が最も多かったEX-3は、筋湿重量およびBMDの有意な増加を認めた。一方で、EX-3は血清PTH濃度が他の群に比べて有意に高く、25(OH)Dが検出できなかったマウスが半数を占め、他の群と比べて多かった。これらのことから、運動量の増加による血清PTH濃度の増加は血清25(OH)D濃度を低下させる可能性が推察された。

現在、PTHは骨粗鬆症の治療薬として使用されており、間歇的な投与により骨形成作用を持つ。骨粗鬆症である閉経後女性および高齢期男性を対象とした、PTH製剤(テリパラチド)の無作為化プラセボ対照二重盲検比較試験の中でビタミンD代謝の変化を検討したCosman F et al.の報告では、PTH製剤を投与した群はプラセボ群と比較して25(OH)D濃度が約20%低下したことが示されている⁶⁾。この結果は、本研究のEX-3におけるPTHがCONおよびEX1より有意に高く、25(OH)Dが検出できなかったマウスが半数を占めていたという点が類似しており、運動により増加するPTHにおいても同様に作用することを示唆するような結果となった。PTHの増加により25(OH)D濃度が低下する機序について、Cosman

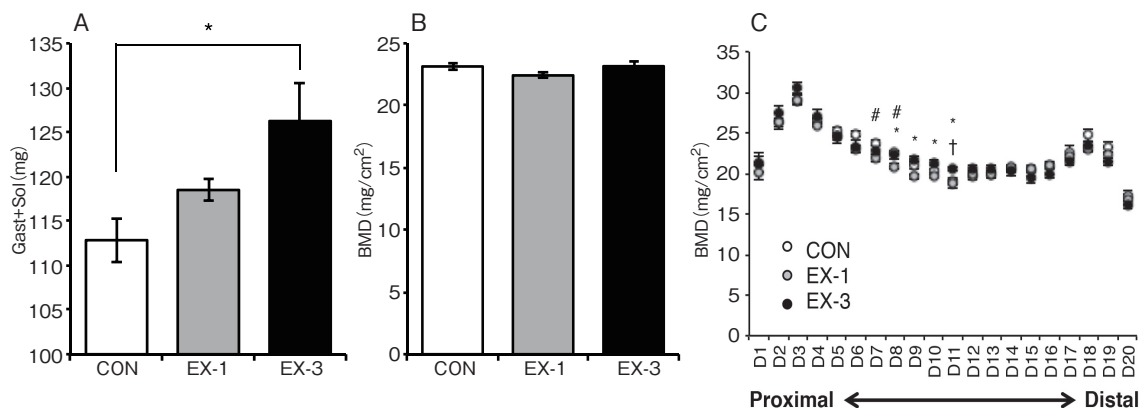


図2 運動トレーニング介入後の腓腹筋+ヒラメ筋の総湿重量および骨密度

Gast: gastrocnemius (腓腹筋), Sol: soleus (ヒラメ筋). *p<0.05. (B) 脛骨BMDの群間比較. (C) 脛骨BMDを20分割した場合の群間比較. #Con vs. EX-1, *EX-1 vs. EX-3, †Con vs. EX-3 p<0.05. 値は平均±標準誤差で示した。

F et al. は、PTH 製剤投与群ではプラセボ群と比較して $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の有意な増加が認められたことから、 $25(\text{OH})\text{D}$ の $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ への変換が促進されたことが関与していると結論付けている。しかし、他のビタミン D 代謝に関わるホルモンや代謝酵素等の影響は、先行研究および本研究においても検討できていない。したがって、血中 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度が低下する機序については、今後さらなる詳細な検討が望まれる。

本研究において、EX-3 は CON と比較して筋湿重量の増加と骨幹部の BMD での増加が認められた。Gardiner et al. は PTH が増加するトレッドミル運動を 3 週間行い骨量および骨構造の変化を検討したところ、海綿骨量の有意な増加を認めたが、運動期間中に PTH の阻害剤を投与することでこの効果は阻害された。さらに、運動期間中に PTH 投与し、PTH シグナルを増強させると運動単独よりも皮質骨量が増加したことを報告している⁸⁾。本研究では同様の運動方法を用いており、EX3 においても最も高い PTH 濃度が認められていることから、運動頻度の増加による PTH の増加が骨量の増加に寄与した可能性が考えられた。また、筋湿重量の増加は、運動量依存的に認められていることから、トレッドミル運動によるメカニカルストレスの増加や成長因子の増加⁹⁾等が関与していることが推察される。しかし、PTH の増加がどのように関与しているかについては不明な点が多く、今後の詳細な検討が望まれる。

一方で運動による血中 PTH 濃度の増加は運動強度時間依存的に高まることが報告されている⁵⁾。そのため、特に長時間の運動を行う持久性運動従事者は $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度の低下が促進されやすい可能性が推察される。 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度の低下は、疲労骨折リスクの増加^{3, 10)} やアスリートのパフォーマンスの低下に関与する¹¹⁾ことが報告されていることから、アスリートは意識的なビタミン D 摂取が必要であることが考えられる。

本研究はいくつかの限界点が挙げられる。まずは、サンプル数が少ないことである。本研究では EX-1 において PTH 濃度の増加が認められなかった。EX-1 と同様のトレッドミル運動を用いた Gardinier JD et al. の報告では、運動 30 分後における PTH 濃度が約 2 倍増加していた⁸⁾。この先行研究では各群 10 匹以上のマウスを使用していたのに対し、本研究では各群 5 匹であった。実際に血清 PTH 濃度および血清 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度の標準誤差は大きかった。しかし、単回のトレッドミル運動における血清 PTH 濃度および $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度の各群の実質的な差に対する効果量は大～中 (PTH: $\eta^2 = 0.27$, $25(\text{OH})\text{D}$: $\eta^2 = 0.08$) であったため、今後は誤差範囲に応じたサンプル数により検討し、本結果の信憑性を高める必要がある。また、今回の実験では、血液量が足りず $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の測定を行えなかった。そのため、PTH の増加により $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の変換が促進されているかについて検討できていない。最後に、本研究では PTH と $25(\text{OH})\text{D}$ の直接的な関連については検討できていない。従って、今後は運動中の PTH の増加を阻害する薬剤の投与による $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度の変化の検討等、 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度が低下する機序に関する詳細な検討が必要である。

4. 結 論

本研究は、運動量の違いによる PTH 濃度の変化が $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度および骨量に与える影響を検討した。その結果、運動量の増加は骨格筋量や骨密度の増加に有効であるが、PTH の増加に伴い、 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度が低下する可能性が考えられた。従って、日々強度の高い運動トレーニングを実施するアスリートにおいてはビタミン D を豊富に含む食品等の意識的な摂取が望まれる。

謝 辞

本研究に対して、ご助成賜りました公益財団法人

人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に心より御礼申し上げます。また、本研究の遂行にあたり多大なご協力を賜りました愛媛大学・今井祐記教授に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Farrokhyar F., Tabasinejad R., Dao D., Peterson D., Ayeni O.R., Hadioonzadeh R., Bhandari M., Prevalence of vitamin D inadequacy in athletes: a systematic-review and meta-analysis, *Sports medicine*, 45(3):365-378(2015)
- 2) Willis K.S., Smith D.T., Broughton K.S., Larson-Meyer D.E., Vitamin D status and biomarkers of inflammation in runners, *Open access journal of Sports medicine*, 3:35-42(2012)
- 3) Davey T. L.-N.S., Shaw A.M., Hale B., Cobley R., Berry J.L., Roch M., Allsopp A.J., Fallowfield J.L., Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of stress fracture during Royal Marine recruit training, *Osteoporosis International*, 27(1):171-179(2016)
- 4) Lutz L.J. K.J., Rood J.C., Cable S.J., Williams K.W., Young A.J., McClung J.P., Vitamin D status, dietary intake, and bone turnover in female Soldiers during military training: a longitudinal study, *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, 9(1):38(2012)
- 5) Scott J.P. S.C., Greeves J.P., Casey A., Dutton J., Fraser W.D., The role of exercise intensity in the bone metabolic response to an acute bout of weight-bearing exercise, *J. Appl. Physiol.*(1985)., 110(2):423-432(2011)
- 6) Cosman F. D.-H.B., Wan X., Krege J.H., Changes in vitamin D metabolites during teriparatide treatment, *Bone*, 50(6):1368-1371(2012)
- 7) Gardinier J.D., Al-Omaishi S., Morris M.D., Kohn D.H., PTH signaling mediates perilacunar remodeling during exercise, *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology*, 52-54:162-175(2016)
- 8) Gardinier J.D., Mohamed F., Kohn D.H., PTH Signaling During Exercise Contributes to Bone Adaptation, *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 30(6):1053-1063(2015)
- 9) Kim J. L.Y., Yi H.K., Gradual downhill running improves age-related skeletal muscle and bone weakness: implication of autophagy and bone morphogenetic proteins, *Exp. Physiol.*, 101(12):1528-1540(2016)
- 10) Burgi A.A. G.E., Garland C.F., Mohr S.B., Garland F.C., Zeng K., Thompson K., Lappe J.M., High serum 25-hydroxyvitamin D is associated with a low incidence of stress fractures, *J. Bone Miner. Res.*, 26(10):2371-2377(2011)
- 11) Angeline M.E. G.A., Shindle M., Warren R.F., Rodeo S.A., The effects of vitamin D deficiency in athletes, *Am. J. Sports Med.*, 41(2):461-464(2013)