

氏 名	奥 裕乃
学 位 の 種 類	博士（学術）
学位記の番号	甲第247号
学位授与年月日	2023（令和5）年3月20日
学位授与の要件	日本女子大学学位規程第5条第1項該当
学位論文題目	ビタミンD制限や高脂肪食が骨強度およびアルカリホスファターゼに及ぼす影響
論文審査委員	主査 五関正江 （人間発達学専攻 教授） 副査 新藤一敏 （生活環境学専攻 教授） 太田正人 （人間発達学専攻 教授）

氏名 : 奥 裕乃

学位論文題目 : ビタミンD制限や高脂肪食が骨強度およびアルカリホスファターゼに  
及ぼす影響

## 論文の内容の要旨

日本は 2007 年に超高齢社会を迎え、2021 年には高齢化率が 28.9%と、世界一高齢化が進んだ国となった。内閣府の令和 4 年版高齢社会白書によると、団塊の世代全員が 75 歳以上の後期高齢者になる 2025 年には、高齢化率は 30.0%で約 3 人に一人が高齢者になると推計されている[1]。令和元年時点での平均寿命は男性で 81.4 歳、女性で 87.5 歳なのに対して、健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間を示す健康寿命は、男性で 72.7 歳、女性で 75.4 歳であり[2]、平均寿命と健康寿命の差を縮小することが課題となっている。65 歳以上の要介護者において、介護が必要になった主な原因の 4 位が「骨折・転倒」、5 位が「関節疾患」と、運動器疾患によるものが全体の約 5 分の 1 を占めており[2]、運動器の維持のための対策が望まれる。骨粗鬆症は、世界保健機関（WHO）によって「低骨量と骨組織の微細構造の異常を特徴とし、骨の脆弱性が増大し、骨折の危険性が増大する疾患」と定義されている。女性の場合、閉経は骨リモデリングに影響を与え、骨形成と骨吸収のアンバランスを引き起こし、骨量を減少させる。骨粗鬆症のリスクを軽減させるために、成長期に最大骨量（peak bone mass）を高めておくことが、閉経後や高齢になってからの骨量減少を防ぐために重要であると考えられる。

近年、ビタミン D の摂取不足が世界的な課題となっている。ビタミン D は、骨代謝に深く関わる栄養素の 1 つであり、主に腸管からのカルシウムやリンの吸収促進に関与している。ビタミン D の不足は、骨石灰化障害や骨密度の低下を招くことで骨折リスクを高めるだけでなく、骨格筋の萎縮や筋力の低下にも関与している[3]。これまでの日本人の成人男女を対象とした先行研究において、ビタミン D が充足している者の割合は 9.1%であり[4]、ビタミン D 不足やビタミン D 欠乏に該当する者の割合は、それぞれ 81.3%、1.2%であることが報告されている[5]。一方、ビタミン D の摂取不足と並び、脂質摂取量の増加も課題となっている。令和元年国民健康・栄養調査結果によると、脂肪エネルギー比率が 30%以上の者の割合は、20 歳以上の男性で 35.0%、女性で 44.4%であることが報告されている[6]。骨粗鬆症と肥満の関連については、骨芽細胞と脂肪細胞がともに間葉系幹細胞由来であるため、骨形成と脂肪形成のそれぞれの転写因子が作用することで骨形成と脂肪形成のバランスを制御していると考えられている[7]。また、肥満とビタミン D 不足との関連については、肥満者では血清ビタミン D 濃度が低いことが知られている[8]。

骨代謝に関連のある酵素としては、アルカリホスファターゼ（alkaline phosphatase; ALP, EC3.1.3.1）があげられる。ALP は細胞膜に存在する糖タンパク質であり、至適 pH がアルカリ性（pH 8-10）で、リン酸エステルを無機リンとアルコールに加水分解する反応を触媒する亜鉛含有酵素である。ALP は基質特異性が低く、ほとんど全ての低分子リン酸モノエステル化合物とピロリン酸結合を加水分解する。ヒトでは骨や肝臓、腎臓などに存在する組織非特異型 ALP（tissue-nonspecific alkaline phosphatase; TNSALP）、小腸由来の小腸

型 ALP (intestinal alkaline phosphatase; IAP) , 胎盤型 ALP , 生殖細胞型 ALP の少なくとも 4 種のアイソザイムに分類されている。いずれのアイソザイムにおいても、リン酸化合物を加水分解して無機リン酸を提供することでリン酸代謝に関わっており、共通の生理的機能を有することが報告されている[9]。骨組織に存在する TNSALP は TNSALP 遺伝子欠損により引き起こされる低ホスファターゼ症 (hypophosphatasia; HPP) の研究から、骨の石灰化に深く関与していることが示されている[10]。一方、小腸に存在する IAP については、小腸上皮細胞の刷子縁膜に高濃度に存在し、エンドトキシン (lipopolysaccharide; LPS) を脱リン酸化して解毒することで、消化管由来の炎症を予防している可能性が示唆されている[11]。また、脂質やラクトースなど食事性因子との関連が示されているが[12, 13], 生理機能については未だ不明な点が多い。食事性因子が ALP に及ぼす作用について検討することは、ALP の機能解明だけでなく、食事性因子によるリン代謝や腸管における恒常性維持などの生体内での役割についても新たな証拠が得られることが期待され、骨粗鬆症予防や、生活習慣病予防の観点からも重要であると考えられる。

本論文では、骨粗鬆症の予防において食事性因子が重要な位置づけであることを踏まえ、以下の 3 章から構成した。

## 第 1 章 ビタミン D 制限や高脂肪食が体組成や骨強度に及ぼす影響

### 【研究 1】

高脂肪食摂取時の雌性ラットの骨密度、体組成および筋肉に対するビタミン D 制限の影響

### 【研究 2】

高脂肪食摂取時の雄性ラットの骨密度、体組成および筋肉に対するビタミン D 制限の影響

### 【研究 3】

ラットへの高脂肪食投与が体組成および腰椎骨強度に及ぼす影響の性差の比較検討

## 第 2 章 ビタミン D 制限や高脂肪食がアルカリホスファターゼに及ぼす影響

### 【研究 4】

高脂肪食摂取時のビタミン D 制限がアルカリホスファターゼならびに血清エンドトキシンに及ぼす影響

## 第 3 章 ビタミン D 制限や高脂肪食がビタミン D 水酸化酵素の遺伝子発現に及ぼす影響

### 【研究 5】

高脂肪食摂取時のビタミン D 制限が肝臓のビタミン D 水酸化酵素の遺伝子発現に及ぼす影響

食事性因子として高脂肪食摂取時のビタミン D 不足に着目し、第 1 章 (研究 1~3) では食事性因子が体組成や骨強度に及ぼす影響について検討した。また、骨粗鬆症において

は、転倒による骨折予防も重要であることから、これらの食事性因子が筋肉代謝に及ぼす影響についても検討を行った。第2章（研究4）では、食事性因子が骨組織や小腸などの各組織におけるALP活性や、ALPにより解毒され则认为られている血清LPSに及ぼす影響について検討し、第3章（研究5）では食事性因子が肝臓のビタミンD代謝酵素に及ぼす影響について検討を行った。

## 第1章 ビタミンD制限や高脂肪食が体組成や骨強度に及ぼす影響

肥満者では血清ビタミンD濃度が低いことが報告されており[8]、ビタミンD不足と肥満は互いに影響し合い、骨代謝に影響を及ぼしている可能性が示唆されているが、高脂肪食摂取条件下のビタミンD制限が体組成や骨強度に及ぼす影響についての研究は少ない。また、高脂肪食が骨代謝に及ぼす影響について、雌雄差を比較した研究も少ない。そこで今回、【研究1】では、雌性ラット、【研究2】では雄性ラットを用い、高脂肪食摂取時のビタミンD制限が体組成や骨密度に及ぼす影響について検討を行った。さらに【研究3】では同週齢の雌雄ラットを用い、高脂肪食摂取が体組成および腰椎骨強度に及ぼす影響についての性差について比較検討を行った。

まず、【研究1】では、11週齢Sprague-Dawley（SD）系雌性ラットを「基準食群」、 「ビタミンD制限食群」、脂肪エネルギー比率を約40%に調製した「高脂肪食群」、高脂肪食のビタミンDを制限した食餌を与えた「高脂肪ビタミンD制限食群」の計4群に分けて28日間飼育した。ビタミンD制限と高脂肪食を因子とした二元配置分散分析で解析を行ったところ、血清25(OH)D濃度において、ビタミンD制限の主効果が有意であり、「ビタミンD制限食群」と「高脂肪ビタミンD制限食群」は、「基準食群」と「高脂肪食群」と比較し、有意に低値を示した。体重100gあたりのヒラメ筋と腓腹筋の重量は、高脂肪食の主効果が有意であり、「高脂肪食群」と「高脂肪ビタミンD制限食群」は、「基準食群」と「ビタミンD制限食群」に比べ有意に低値を示した。大腿骨の皮質骨密度は、「ビタミンD制限食群」が「基準食群」に比べ有意に低値を示した。Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction（RT-PCR）分析により、筋肉分化調節因子である*myogenin* 遺伝子のmRNA発現量について比較した。その結果、腓腹筋において、「ビタミンD制限食群」と「高脂肪食群」の*myogenin* のmRNA発現量は「基準食群」に比べて有意に低下した。

次に【研究2】では、11週齢SD系雄性ラットを用いて検討を行った。＜実験1＞では、雄性ラット28匹を「基準食群」、 「ビタミンD制限食群」、 「高脂肪食群」、 「高脂肪ビタミンD制限食群」の計4群に分け、28日間飼育した。＜実験2＞では、雄性ラットを「基準食群」と「ビタミンD制限食群」の2群に分け、0日目、14日目に試料を採取した。さらに、「基準食群」と「ビタミンD制限食群」の他に、14日目以降にビタミンD制限食から基準食に切り替える群についても検討を加えた。＜実験1＞の結果をビタミンD制限と高脂肪食を因子とした二元配置分散分析で解析したところ、大腿骨の骨体積ならびに曲げに対する強さを表す最小断面2次モーメントは、「ビタミンD制限食群」と「高脂

肪食群」が「基準食群」と比べて有意に低下した。＜実験 2＞において RT-PCR 分析により、腓腹筋とヒラメ筋の筋肉分化調節因子である *MyoD* 遺伝子の mRNA 発現量について比較したところ、「ビタミン D 制限食群」は「基準食群」と比べて低下していた。さらに、14 日間のビタミン D 制限食により低下した *MyoD* 遺伝子の mRNA 発現量は、その後 14 日間基準食投与を行ったところ回復することが示された。

【研究 1】【研究 2】の結果より、ビタミン D 制限や高脂肪食が骨代謝や筋肉代謝に影響を及ぼすことが示唆された。

さらに、【研究 3】では、高脂肪食摂取が体組成および腰椎の骨強度に及ぼす影響を、11 週齢の SD 系の雌性または雄性ラットについて、「基準食群」と「高脂肪食群」の 2 群で性差を比較した。高脂肪食と性別を因子とした二元配置分散分析の結果、最終体重は雄が雌に比べて有意に高値であり、「高脂肪食群」が「基準食群」に比べて有意に高値を示した。内臓脂肪量は、「高脂肪食群」が「基準食群」より有意に高値を示した。さらに、腰椎の骨強度指標を雌雄別に比較したところ、雌性ラットでは、曲げに対する強さを表す最小断面 2 次モーメントとねじれに対する強さを表す断面 2 次極モーメントが「高脂肪食群」が「基準食群」よりも有意に低下したのに対し、雄性ラットでは両群で有意な差は認められなかった。その結果、短期間の高脂肪食の骨強度への影響は雌雄で異なり、28 日間の高脂肪食摂取により雌性ラットの腰椎骨強度が有意に低下し、骨折のリスクを高める可能性を示すことができた。

第 1 章において、高脂肪食やビタミン D 制限が骨強度および筋肉代謝に影響を及ぼすことや、雌雄差などについても示すことができた。今後は、高脂肪食やビタミン D 制限の骨強度低下のメカニズムについて、より詳細な検討を行うことにより、骨粗鬆症予防の一助となることが期待されよう。

## 第 2 章 ビタミン D 制限や高脂肪食がアルカリホスファターゼに及ぼす影響

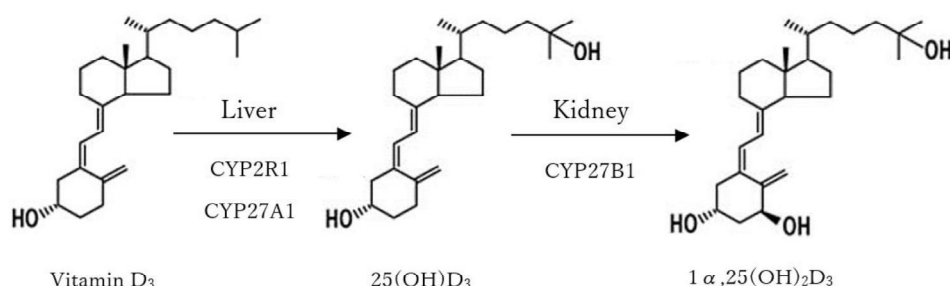
IAP には腸内細菌由来のリポ多糖 (lipopolysaccharide; LPS) などを脱リン酸化して解毒することで、消化管由来の全身性炎症を予防する粘膜防御因子としての作用が報告されている[14]。さらに、最近の研究では、IAP の経口投与により加齢に伴う腸管透過性と腸管由来の全身性炎症を改善させ、長寿に寄与することが、マウスを用いた実験で示されている[15]。これまで、高脂肪食が血清 LPS 濃度に及ぼす影響に関する研究は行われているが、高脂肪食摂取時のビタミン D 制限が各組織の ALP 活性や血清 LPS 濃度に及ぼす影響については検討されていない。そこで、【研究 4】では高脂肪食およびビタミン D 制限が、小腸をはじめとする各組織の ALP 活性や血清 LPS 濃度へ及ぼす影響について検討を行った。

【研究 4】では、11 週齢 SD 系雌性ラットを「基準食群」、「ビタミン D 制限食群」、脂肪エネルギー比率を約 40%に調製した「高脂肪食群」、高脂肪食のビタミン D を制限した食餌を与えた「高脂肪ビタミン D 制限食群」の計 4 群に分けて 28 日間飼育した。ビタミン D 制限と高脂肪食を因子とした二元配置分散分析の結果、回腸上部の ALP 比活性は、

ビタミン D 制限の主効果が有意であり、「ビタミン D 制限食群」と「高脂肪ビタミン D 制限食群」が「基準食群」と「高脂肪食群」に比べて有意に低値を示した。また、高脂肪食の主効果も有意であり、「高脂肪食群」と「高脂肪ビタミン D 制限食群」が「基準食群」と「ビタミン D 制限食群」に比べて有意に高値を示した。また、小腸 ALP は LPS を解毒して全身性炎症を予防していると考えられているため、血清 LPS 濃度を測定したところ、ビタミン D 制限の主効果が有意であり、「ビタミン D 制限食群」と「高脂肪ビタミン D 制限食群」が「基準食群」と「高脂肪食群」に比べて有意に高値を示した。また、高脂肪食の主効果も有意であり、「高脂肪食群」と「高脂肪ビタミン D 制限食群」が「基準食群」と「ビタミン D 制限食群」に比べて有意に高値を示した。これらより、高脂肪食やビタミン D 制限が代謝性エンドトキシン血症のリスクを高めている可能性が示された。

### 第 3 章 ビタミン D 制限や高脂肪食がビタミン D 水酸化酵素の遺伝子発現に及ぼす影響

食事から摂取あるいは皮膚で合成されたビタミン D<sub>3</sub> は、大部分が肝臓の 25 位水酸化酵素により代謝されて 25-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> [25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>; 25(OH)D<sub>3</sub>] に変換される。25(OH)D<sub>3</sub> はビタミン D 結合タンパク質 (vitamin D binding protein; DBP) と結合して血中を循環し、腎臓で 1 $\alpha$  位水酸化酵素により活性型ビタミン D である 1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> [1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>; 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] に代謝され、標的細胞の核内に存在するビタミン D 受容体との結合を介して生理作用を発揮する[16]。ビタミン D の活性型である 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> はカルシウム代謝を調節するホルモンであり、25(OH)D<sub>3</sub> は体内のビタミン D 栄養状態の指標である[17]。



[18]改変

ビタミン D から 25(OH)D<sub>3</sub> への変換には、肝臓における 25 位水酸化酵素である、シトクロム P450 (CYP) 酵素の CYP2R1 (cytochrome P450 family 2 subfamily R member 1) が生理的に重要であると考えられている。25(OH)D<sub>3</sub> 濃度低下の主要な要因の一つとして CYP2R1 遺伝子の変異が関連していることが、先行研究で示されている[19]。動物実験では、マウスに 10 週間高脂肪食を与えると、CYP2R1 酵素の発現が低下することが示されており[20]、肥満者では CYP2R1 酵素の発現が低下している可能性が示唆されている[21]。さらに、肥満者は非肥満者と比べて血清 25(OH)D<sub>3</sub> 濃度が低いことが報告されている[22]。

【研究 5】では、11 週齢 SD 系雄性ラットを「基準食群」、「ビタミン D 制限食群」、脂肪エネルギー比率を約 40%に調製した「高脂肪食群」、高脂肪食のビタミン D を制限した食餌を与えた「高脂肪ビタミン D 制限食群」の計 4 群に分けて 28 日間飼育した。実験

食開始 28 日後の肝臓中のビタミン D 水酸化酵素である *Cyp2r1* 遺伝子の発現量をビタミン D 制限と高脂肪食を因子とした二元配置分散分析で解析したところ、ビタミン D 制限と高脂肪食のいずれにおいても有意な主効果は認められなかった。今後はさらに飼育期間や他のビタミン D 関連遺伝子発現なども含めた詳細な検討を進めることで、ビタミン D 代謝に関する新たな知見が得られると考えられる。

第 1 章～第 3 章の結果から、高脂肪食やビタミン D 制限が骨強度や筋肉代謝に影響を及ぼすことと、小腸の ALP 活性や血清エンドトキシン濃度に影響を及ぼすことが示され、適切な脂肪エネルギー比およびビタミン D の摂取が骨粗鬆症予防を含む生活習慣病予防に重要であることが示唆された。今後、様々な食事性因子が体組成や骨強度、ALP の酵素活性や遺伝子発現などに及ぼす影響について詳細に検討を進めることにより、骨粗鬆症予防のための重要なデータが得られることが期待されよう。

#### 主要な参考文献

- [1] 内閣府：令和 4 年版高齢社会白書「高齢化の現状と将来像」
- [2] 内閣府：令和 4 年版高齢社会白書「高齢者の健康・福祉」
- [3] Bischoff-Ferrari HA, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ Journals*. 339:b3692, 2009.
- [4] Nakamura K, et al. Impact of demographic, environmental, and lifestyle factors on vitamin D sufficiency in 9084 Japanese adults. *Bone*. 74:10-7, 2015.
- [5] Yoshimura N, et al. Profiles of vitamin D insufficiency and deficiency in Japanese men and women: association with biological, environmental, and nutritional factors and coexisting disorders: the ROAD study. *Osteoporos Int*. 24:2775-87, 2013.
- [6] 厚生労働省：令和元年国民健康・栄養調査報告
- [7] Chen Q, et al. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? *Cell Death Differ*. 23:1128-1139, 2016.
- [8] Earthman CP, et al. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes Lond*. 36:387-96, 2012.
- [9] 五関正江ら．骨のアルカリホスファターゼの構造と生理的機能．*日本骨代謝学会誌*. 8:9-19, 1990.
- [10] Millán JL. *Mammalian Alkaline Phosphatases*. Weinheim: WILEY-VCH. 2006.
- [11] Narisawa S, et al. Accelerated fat absorption in intestinal alkaline phosphatase knockout mice. *Mol Cell Biol*. 23:7525-30, 2003.
- [12] Goseki-Sone M, et al. Expression of mRNA encoding intestinal type alkaline phosphatase in rat liver and its increase by fat-feeding. *Liver*. 16:358-64, 1996.
- [13] Sogabe N, et al. Enhancement by lactose of intestinal alkaline phosphatase expression in rats. *Bone*. 35:249-55, 2004.
- [14] Kaliannan K, et al. Intestinal alkaline phosphatase prevents metabolic syndrome in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 110:7003-8, 2013.

- [15] Kühn F, et al. Intestinal alkaline phosphatase targets the gut barrier to prevent aging. *JCI Insight*. 5:e134049, 2020.
- [16] 厚生労働省策定：日本人の食事摂取基準（2020年版），第一出版，東京，2020.
- [17] Shinkov A, et al. Winter 25-hydroxyvitamin D levels in young urban adults are affected by smoking, body mass index and educational level. *Eur J Clin Nutr*. 69:355-60, 2015.
- [18] 榎利之. 代謝研究に基づくビタミン D 作用メカニズムの再考. *生化学*. 87:438-444, 2015.
- [19] Wang TJ, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*. 376:180-8, 2010.
- [20] Roizen JD, et al. Obesity Decreases Hepatic 25-Hydroxylase Activity Causing Low Serum 25-Hydroxyvitamin D. *J Bone Miner Res*. 34:1068-73, 2019.
- [21] Elkhwanky MS, et al. Obesity Represses CYP2R1, the Vitamin D 25-Hydroxylase, in the Liver and Extrahepatic Tissues. *JBMR Plus*. 4:e10397, 2020.
- [22] Pereira-Santos M, et al. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 16:341-9, 2015.



氏名 : 奥 裕乃

学位論文題目 : ビタミンD制限や高脂肪食が骨強度およびアルカリホスファターゼに及ぼす影響

## 論文審査結果の要旨

超高齢社会となった日本において、平均寿命と健康寿命の差を縮小するためにも、骨粗鬆症の予防は重要な課題となっている。骨代謝に関連する栄養素としてビタミンDがあげられる。ビタミンDは主に腸管からのカルシウムとリンの吸収を促進し、骨の石灰化に関与する栄養素であるが、現代の日本人において不足が懸念されている。ビタミンDの不足と並び、脂質摂取量の増加による肥満も課題である。また、肥満者では血清ビタミンD濃度が低いことが報告されており、ビタミンD作用不足と肥満が互いに影響し合い、骨代謝に影響を及ぼしている可能性が示唆されており、本研究では、食事性因子としてビタミンD制限と高脂肪食に注目した。

骨代謝に関連のある酵素として、アルカリホスファターゼ (Alkaline phosphatase) (以下、ALP) があげられる。ALPはリン酸エステルを無機リン酸とアルコールに加水分解する反応を触媒する酵素である。ヒトにおいては、骨や肝臓・腎臓などに存在する組織非特異型ALP、小腸に存在する小腸型ALP、胎盤型ALP、生殖細胞型ALPの4つのアイソザイムに分類されている。骨に存在する組織非特異型ALPは、骨組織の石灰化に深く関与していることが示されている。一方、小腸型ALPは脂質やラクトース摂取により活性が上昇することが報告されており、食事性因子との関連が示されている。また、小腸型ALPには腸内細菌由来のリポ多糖 (lipopolysaccharide ; リポポリサッカライド) (以下LPS)などを脱リン酸化して解毒することで、消化管由来の全身性炎症を予防する粘膜防御因子としての作用が報告されている。食事性因子がALPに及ぼす影響について検討することは、ALPの機能解明や腸管における生体の防御と恒常性の維持といった生体内での役割についても新たな証拠が得られることが期待される。

本研究では、以下の述べる3章から構成される論文にまとめた。まず、第1章(研究1~3)では、ビタミンD制限や高脂肪食が体組成や骨強度に及ぼす影響について検討を行った。研究1では、雌性ラットにおいて、大腿骨の皮質骨密度が「ビタミンD制限食群」で「基準食群」に比べて低値を示した。また、腓腹筋における筋肉分化調節因子である*myogenin*遺伝子のmRNA発現量において、「ビタミンD制限食群」と「高脂肪食群」のいずれにおいても、「基準食群」に比べて有意に低下した。研究2では雄性ラットにおいて、大腿骨の海綿骨体積と全骨体積は「ビタミンD制限食群」と「高脂肪食群」で「基準食群」と比べてそれぞれ低値を示した。さらに、大腿骨の海綿骨塩量は高脂肪食により低下した。また、腓腹筋およびヒラメ筋において、筋肉分化調節因子の1つである*MyoD*遺伝子発現量が14日間のビタミンD制限で低下したが、その後14日間の基準食投与により回復した。研究3では、腰椎の骨強度指標を雌雄別に比較したところ、雌性ラットでは、曲げに対する強さを表す最小断面2次モーメントと、ねじれに対する強さを表す断面2次極モーメントがいずれも「高脂肪食群」で「基準食群」よりも有意に低下したのに対し、雄性ラットでは両群間で有意な差は認められなかった。高脂肪食の骨強度への影響は雌雄

で異なり、高脂肪食摂取は雌性ラットの腰椎骨強度を有意に低下させ、骨折のリスクを高めている可能性が示された。

第2章（研究4）では、ビタミンD制限や高脂肪食がアルカリホスファターゼに及ぼす影響について検討を行った。研究4では、高脂肪食摂取時におけるビタミンD制限がALPと血清エンドトキシンに及ぼす影響について検討を行った。回腸上部のALP活性が高脂肪食により上昇し、ビタミンD制限により低下した。一方、エンドトキシンとして測定した血清のLPS濃度は、高脂肪食とビタミンD制限のいずれにおいても上昇した。これらの結果より、高脂肪食やビタミンD制限が代謝性エンドトキシン血症のリスクを高めている可能性が示唆された。

第3章（研究5）では、ビタミンD制限や高脂肪食がビタミンD水酸化酵素の遺伝子発現に及ぼす影響について検討を行った。研究5では、肝臓のビタミンD25位水酸化酵素の遺伝子発現量について検討した結果、28日間の高脂肪食とビタミンD制限による肝臓の*Cyp2r1* 遺伝子発現量に及ぼす影響は認められなかった。

第1章～第3章の結果から、高脂肪食やビタミンD制限が骨強度や筋肉代謝に及ぼす影響について示すことができ、さらに小腸のALP活性や血清エンドトキシン濃度に影響を及ぼすことを示すことができた。適切な脂肪エネルギー比とビタミンDの摂取が骨粗鬆症予防を含む生活習慣病予防に重要であることが示唆された。これらの結果は、ALPの機能解明のみならず、腸管の恒常性維持や、骨代謝をはじめとする生体でのリン代謝調節の機序解明に役立つことが考えられた。

以上のことから、本研究は研究目的の独創性と重要性、研究方法の新規性と妥当性、研究結果の再現性と正確性、研究内容の意義から審査し、総合的に博士課程論文として十分な内容に到達していると判断し報告する。