

# NEWS RELEASE

2012年7月10日

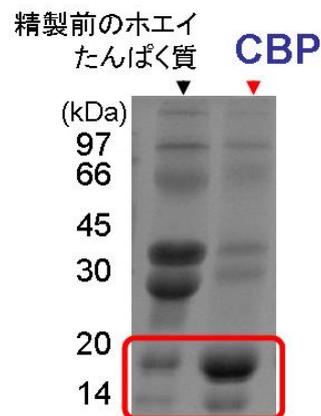
濃縮乳清活性たんぱく質『CBP』による、骨強化への新たなアプローチ  
石灰化を誘導させる ATF4 レベルを上昇させて、  
骨芽細胞の分化を促進させる効果を確認

牛乳や母乳に含まれるホエイに含まれているたんぱく質の低分子画分（1-30 kDa）を濃縮させた濃縮乳清活性たんぱく質（CBP）は *in vivo* や臨床試験において骨を強化することが報告されています。当社の DHC 第二研究所・基礎研究室は、CBP が骨芽細胞にどのような作用機序で骨強化の効果をもたらしているのかを明らかにするために研究を進めてまいりました。

## 研究の背景

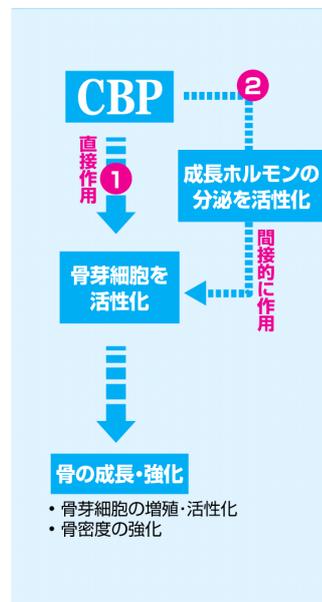
### 『骨形成を活性化する成分 “CBP”』

古くから、牛乳は優良な栄養価値を持つカルシウム源として知られており、消費されてきた歴史を持ちます。一方で、牛乳に含まれているホエイたんぱくには骨を強化するのに役立つことが報告されています<sup>[1,2]</sup>。最近になって、ニュージーランドの研究グループがホエイたんぱくの低分子画分（1~30 kDa）には骨形成の促進を担う活性成分が含まれていることを発見し、その成分を濃縮させることでさらに高機能化させた骨強化に役立つ機能性栄養素として濃縮乳清活性たんぱく（Concentrated Bovine-milk whey active Protein; CBP）と命名されました<sup>[3]</sup>。



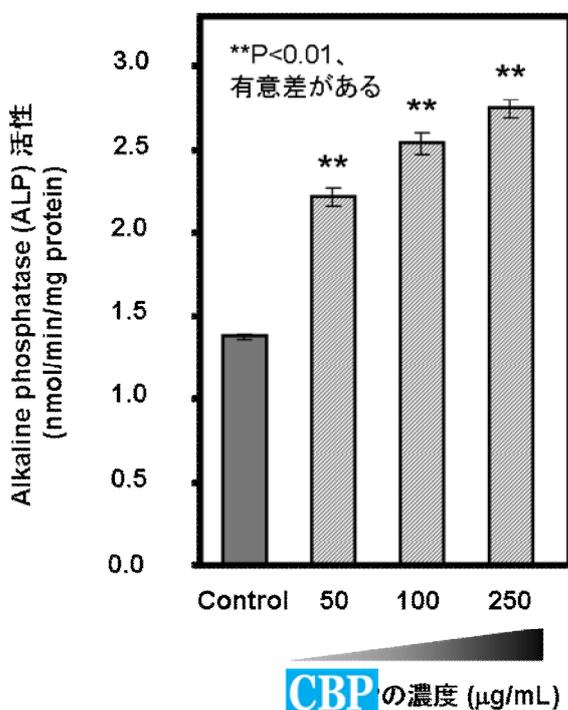
## 『CBPには2つの作用がある』

CBPの骨強化は、2つの作用によってその効果が得られ手いることが分かっています。それらの作用はそれぞれ骨形成を活性化へ導くことが報告されています<sup>[3,4]</sup>。1つは、CBPが直接的に骨芽細胞を活性化することが挙げられており、もう1つは成長ホルモンの分泌を活性化することで間接的に骨芽細胞を活性化することが証明されています。これらの2つ作用により、CBPは骨密度の強化する効果に加え、骨を伸長する効果がみだされていることから、成長期から高齢期まで骨の強化対策として期待できる有望な機能性栄養素とされています。



## CBPの検証データ

### 『CBPは骨芽細胞の活性化させる』



これまでCBPの骨強化に関して *in vivo* や臨床試験のデータはありましたが、CBPがどのように骨芽細胞を活性化させているのか、その詳細な作用機序は不明でした<sup>[3,5]</sup>。今回、CBPが実際にヒト由来の正常骨芽細胞を使ってどのような変化をもたらすのかについて検証を行いました。

最初に、CBPのヒト由来の骨芽細胞を活性化させるか検証するため、骨芽細胞の活性化のマーカー酵素であるアルカリホスファターゼ (ALP)の活性をCBPの投与時と非投与時との比較する検証を進めました。

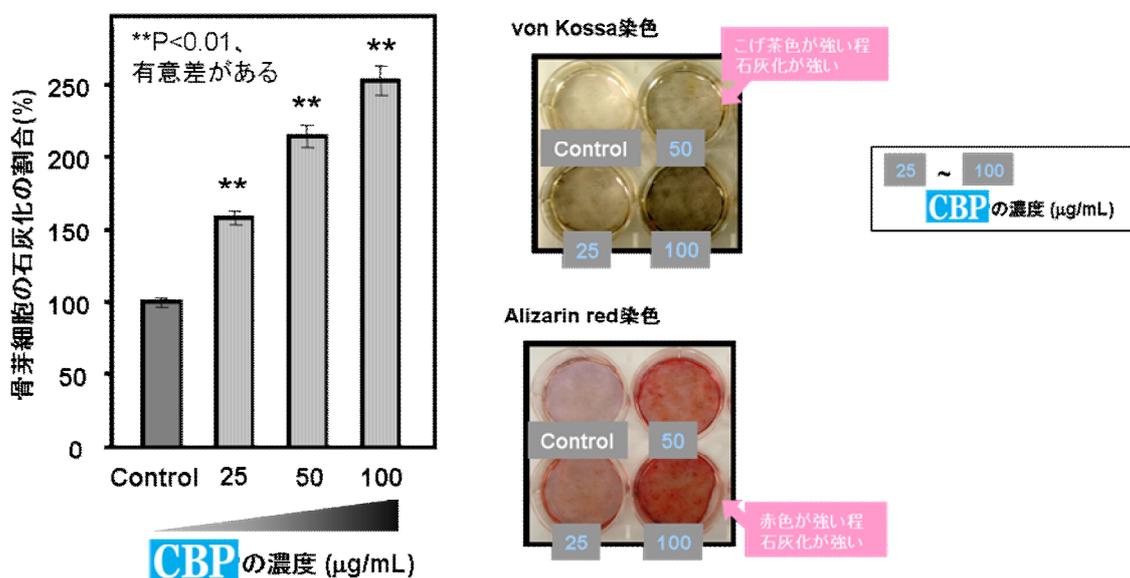
その結果、CBP投与時におけるALPの活性は非投与時に比べて有意に増加しており、

その活性化の強さは CBP の濃度に依存して増加していました。これまではマウス由来の骨芽細胞での検証がほとんどでしたが、今回の結果からヒト由来の骨芽細胞にも CBP が有効であることが確認されました。

### 『CBP は骨芽細胞の石灰化を促進させる』

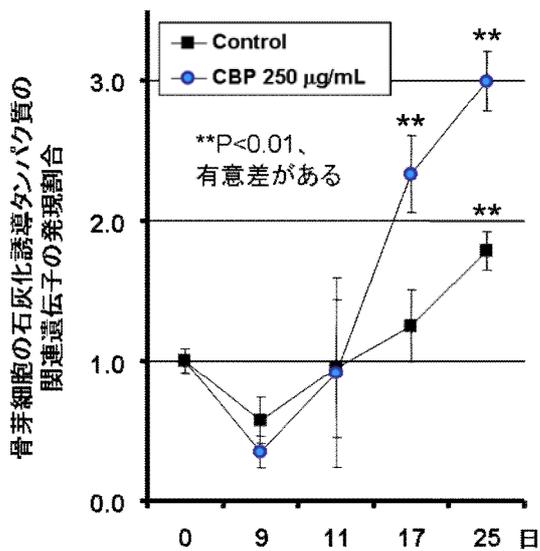
骨が新しく生まれ変わるには、骨芽細胞自身が最終的に骨化（石灰化）することが必要であることが知られています。そこで、CBP の骨芽細胞を活性化させる効果が、最終的に石灰化に好転をもたらしているのか検証を進めました。

石灰化の検出は、25 日間培養をさせた骨芽細胞を回収し、von Kossa 染色または Alizarin red 染色によりカルシウム石灰化の可視化およびカルシウム濃度を測定することで行いました。CBP 未添加サンプルの吸光度値を 100%として相対比較を行った結果、CBP 投与の骨芽細胞において石灰化の割合が有意に増加していることが明らかとなりました。このことは 2 つの異なる染色法を用いた染色図でも明らかでした。このことから、CBP は骨芽細胞の石灰化を促進させることが今回の検証で初めて明らかとなりました。



### 『CBP は骨芽細胞の石灰化までの期間を早める』

なぜ、CBP を投与した骨芽細胞は石灰化のレベルが高いのかについて検証を行うために、骨芽細胞に内在する石灰化誘導タンパク質の関連遺伝子 (c-jun NH2-terminal kinase-activating transcription factor 4, ATF4) の発現レベルを RealTime-PCR 法により調べました。



その結果、CBP を投与していない骨芽細胞が 25 日目で発現レベルに増加が見られるのに対して、CBP を投与した骨芽細胞は 17 日目で未投与の 25 日目を上回る発現レベルで増加しており、25 日目に非常に高いレベルで増加していることが明らかとなりました。

この結果から、CBP には骨芽細胞の ATF4 の発現を増加させることで石灰化に至るまでの期間を短縮させる効果がある可能性が示唆されました。

本研究において示された結果は、CBP がヒト由来の骨芽細胞における骨強化作用のメカニズムを解明するものであり、この CBP の有効性を今後の健康食品へ応用する予定です。

この研究成果は、学術雑誌 *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* に掲載されました。また、この研究成果は、3 月 22～26 日に京都にて開催された日本農芸化学会 2012 年度大会にて口頭発表を行いました。

#### 掲載された学術雑誌

『*Biosci. Biotech. Biochem.*』, 2012, 76 (6), pp 1150–1154

[http://www.jsbba.or.jp/pub/pub\\_journal\\_bbb.html](http://www.jsbba.or.jp/pub/pub_journal_bbb.html)

[タイトル] Concentrated Bovine Milk Whey Active Proteins Facilitate Osteogenesis through Activation of the JNK-ATF4 Pathway

[著者] 内藤健太郎、他。

#### 学会発表

日本農芸化学会

<http://www.jsbba.or.jp/>

[タイトル] 濃縮乳清活性タンパクは JNK-ATF4 経路を介して骨形成を促進する

Concentrated bovine milk whey active protein facilitates osteogenesis through activation of

the JNK-ATF4 pathway.

[発表者] 内藤健太郎、他。

参考論文

- [1] Donovan S.M., et al. : Annu Rev Nutr. 1994;14:147- 67.
- [2] Aoe S., et al. : Biosci Biotechnol Biochem. 2001;65:913-8.
- [3] Lee J., et al. : J. Food Sci. Nutr. 2007;12:1-6.
- [4] Knighton D.R., et al. : Biosci Biotechnol Biochem. 2008;72:1-6.
- [5] 内藤健太郎、他 : 日本統合医療学会誌、2009; 2:1-4.