

White Paper

MBP® - A Clinically Tested Bone Health Ingredient for Life

MBP® - 生涯のために臨床的に試験された骨の健康成分

Abstract

要約

Bone remodeling, the metabolic process in which mature bone tissue is destroyed and new bone tissue is formed, occurs throughout a person's lifetime. The bone remodeling balance is critical for optimizing bone mass later in life. Strategies that suppress bone resorption and enhance bone formation should start early in life. MBP® is a clinically tested natural ingredient derived from milk that contains biologically active proteins that help it increase the number of osteoblasts, the bone-forming cells, as well as inhibit osteoclasts, the bone-destroying cells. In vitro and animal models have shown that MBP® encourages healthy bone remodeling via multiple mechanisms of action. A number of randomized, double-blind, placebo-controlled trials have shown that MBP® increases bone mineral density in both young and older adults. MBP® is a safe and effective ingredient for use in foods and dietary supplements for supporting optimal bone health for all stages in life.

成熟した骨組織が吸収され、新しい骨組織が形成される代謝プロセスである、骨のリモデリングは、生涯を通して起こる。骨のリモデリングのバランスは、中年期以降の骨量を最適化するために重要である。骨の再吸収を抑制し、骨形成を促進する戦略は、若年期から始めるべきである。MBP®は、骨を形成する骨芽細胞の数を増加させ、骨を吸収する破骨細胞を阻害するのに役立つ、生物学的に活性なタンパク質を含む、ミルク由来の臨床試験された天然成分である。インビトロおよび動物実験は、MBP®が複数の作用機序を介して、健康的な骨のリモデリングを促進することを示している。いくつかの無作為化二重盲検プラセボ対照試験では、MBP®が若年者と高齢者の両方で骨密度を上昇させることが示されている。MBP®は、生涯のあらゆる段階において最適な骨の健康をサポートするための食品や栄養補助食品に使用するための安全かつ有効な成分である。

Introduction

序論

The human skeletal system is dynamic and metabolically active, undergoing remodeling throughout life. Bone remodeling, the process of resorption of bone followed by replacement with new bone, is necessary for adjusting bone architecture to meet changing mechanical needs, helping repair microdamage in bone matrix, and maintaining plasma calcium homeostasis.¹ Bone remodeling is accomplished by the activity of two types of bone cells, those that synthesize bone tissue (osteoblasts) and those that break down bone tissue (osteoclasts). Overall skeletal health requires the right proportion between these two types of body cells.

ヒトの骨格組織は動的かつ代謝的に活性であり、人生を通してリモデリングされる。変化する機械的要求に適合し、骨基質における微小損傷を修復し、および血漿カルシウムの恒常性を維持し、骨構造を調節するためには、骨のリモデリング、骨の再吸収およびその後の新しい骨への置換が必要である。骨のリモデリングは、骨組織を合成するもの（骨芽細胞）と骨組織を吸収するもの（破骨細胞）の2種類の骨細胞の活性によって達成される。骨格全体の健康状態には、これらの2種類の体細胞の間において適切な比率が必要である。

Osteoblasts form new bone by creating collagen, the reinforcing rods of bones, and coating it with proteins that act as a paste so that calcium can adhere to the collagen. The calcium carried by the blood naturally adheres to the area covered with paste and new bone is created. Osteoclasts originate as a type of blood cell that is stimulated by hormones and becomes differentiated into osteoclasts inside bone. These osteoclasts dissolve the calcium and collagen of aged bones with acid and enzymes. The dissolved calcium is again carried throughout the body through the blood vessels.

骨芽細胞は骨の鉄筋であるコラーゲンを作り、カルシウムがコラーゲンに付着する接着剤として作用するタンパク質でコーティングして新しい骨を形成する。血液に運ばれたカルシウムは、この接着剤で覆われた領域に自然に付着し、新しい骨が形成される。破骨細胞は、ホルモンによって刺激され、骨の中の破骨細胞に分化するようになる血球の一種を起源とする。これらの破骨細胞は、老化した骨のカルシウムおよびコラーゲンを酸および酵素で溶解する。溶解したカルシウムは、再び血管を通じて体全体に運ばれる。

Bone metabolism changes based on age. The growth stage, which occurs during adolescence, is when bones are vigorously formed because the formation of bone exceeds resorption, resulting in a net accrual of bone. Formation will continue to outpace resorption until peak bone mass (maximum bone density and strength) is reached in early adulthood. Ninety percent of bone mass is obtained by age 20. After the age of 30, the maturity period, bone resorption very slowly begins to exceed bone formation. Women of menopausal age experience rapid bone loss within a few years following menopause.² In old age, both the bone-forming function and bone-destroying function weaken, but the bone-destroying function is stronger. An acute imbalance between bone loss and reformation, combined with a less than optimal peak bone mass early in life, can result in osteoporosis, a disease characterized by increased risk of bone fractures.

骨代謝は年齢に従い変化する。青年期に起こる成長期は、骨の形成が吸収を超えて骨が活発に形成され、その結果として骨が実質的に形成される。成人早期のピーク骨量（最大骨密度および強度）に達するまで、骨の形成は吸収を上回り続ける。骨量の90%は20歳までに得られる。成熟期である30歳後、骨吸収は骨形成を非常にゆっくりと上回り始める。更年期の女性は、閉経後数年以内に急速な骨量減少を経験する。高齢期では、骨形成機能と骨吸収機能の両方が弱くなるが、骨吸収機能はより上回る。骨量減少と再形成との間

の急激な不均衡は、若年期の最適な骨量低下と相まって、骨折リスクの増大を特徴とする骨粗鬆症をもたらす可能性がある。

While bone loss is a normal part of aging, there are several proactive strategies for maximizing peak bone mass and preventing bone loss and osteoporosis. According to the National Osteoporosis Foundation, individuals can adopt bone-supporting habits at any stage in life, such as engaging in regular exercise, getting enough calcium and vitamin D, and eating foods that are good for bone health. It is recommended, however, that bone-loss prevention should begin in childhood and continue throughout life.³

骨量減少は正常な老化の一部であるが、ピーク骨量を最大にし、骨量減少と骨粗鬆症を予防するためのいくつかの積極的な戦略がある。国立骨粗鬆症財団によれば、定期的な運動、十分なカルシウムとビタミンDの摂取、骨の健康に良い食べ物の摂取など、人はあらゆる段階で骨をサポートする習慣を身につけることができる。しかし、骨損失の予防は幼少期に始めて、一生を通して続けることが推奨される。

One such proactive strategy is supplementation with MBP[®], a natural protein made from the basic isoelectric fraction of milk whey protein. Although milk is high in protein, MBP[®] accounts for only a small fraction of its overall protein content. Therefore, it is not practical to ingest a recommended dose of MBP[®] through the consumption of dairy products. MBP[®] can help maximize bone formation during the growth stage by helping optimize peak bone mass via its action on osteoblasts. Moreover, MBP[®] can help suppress bone resorption in the maturity period and old age. MBP[®] has been evaluated for safety and has FDA-notified GRAS status for use in foods and beverages.^{4,5} MBP[®] has also been reported to present no increased risk of allergy for milk-allergic subjects.⁶

そのような積極的な戦略の1つは、乳清タンパク質の塩基性等電点画分から作られた天然タンパク質であるMBP[®]を補うことである。牛乳はタンパク質含量が高いが、MBP[®]は全体のタンパク質含量のわずかししか占めていない。したがって、乳製品の摂取によりMBP[®]の推奨摂取量を摂取することは現実的ではない。MBP[®]は、骨芽細胞に対する作用を介してピーク骨量を最適化することを助けることによつて、成長段階の間に骨形成を最大限にするのを助けることができる。さらに、MBP[®]は、成熟期および高齢期における骨吸収を抑制するのに役立ち得る。MBP[®]は安全性の評価を受けており、FDAが食品および飲料に使用するGRAS通知のステータスを得ている。MBP[®]は、牛乳アレルギー対象者に対して、アレルギーのリスクを増加させることはないことが報告されている。

Mechanisms of Action

作用機序

In numerous in vitro models, MBP[®] has been shown to inhibit bone resorption and osteoclastogenesis and stimulate proliferation of osteoblasts and collagen production. In animal models, MBP[®]'s activity has resulted in increased bone mineral density (BMD), femur strength, bone strength, and improvement in

bone metabolism. MBP® contains several biologically active proteins that have been shown to enhance bone remodeling.

多くのインビトロモデルにおいて、MBP®は骨吸収および破骨細胞形成を阻害し、骨芽細胞の増殖およびコラーゲン産生を刺激することが示されている。動物実験において、MBP®の活性は、骨密度（BMD）の増加、大腿骨の強度、骨強度、および骨代謝の改善をもたらした。MBP®は、骨のリモデリングを促進することが示されているいくつかの生物学的に活性なタンパク質を含む。

MBP® consists of approximately 54% lactoferrin and 41% lactoperoxidase, angiogenin, and cystatin C, high-mobility group proteins that have an influence on bone structure via an effect on both osteoblasts and osteoclasts. Lactoperoxidase, angiogenin, and cystatin C in MBP® all independently suppress bone resorption through different mechanisms. Treatment of osteoclasts with purified angiogenin resulted in an impairment of the formation of the F-actin ring, a dense, belt-like structure that makes up the sealing zone where the osteoclast attaches tightly to the bone matrix. Since bone tissue degradation requires a physical attachment between the osteoclast and the bone, interfering with the F-actin ring will help inhibit bone resorption. Angiogenin was also shown to reduce the mRNA levels of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and cathepsin K, markers for osteoclasts and primary mediators of the degradation of bone matrix by the cells.⁷ Inhibiting the synthesis of osteoclasts is another mechanism that helps reduce bone resorption. Lactoperoxidase isolated and purified from MBP® was shown to be a predominant inhibitor of osteoclastogenesis by downregulating levels of reactive oxygen species in osteoclasts.⁸ Another mechanism by which MBP® obstructs bone resorption is through inhibiting the enzymes that help destroy bone tissue. cystatin C has been shown to impede bone resorption by acting as a cysteine protease inhibitor, one of the enzymes secreted by osteoclasts to digest collagen in the bone matrix.⁹

MBP®は、骨芽細胞および破骨細胞の両方に影響を及ぼすことにより、骨の構造に影響を及ぼす、約54%のラクトフェリンおよび41%のラクトパーオキシダーゼ、およびシスタチンC、HMG様タンパク質、アンジオジェニンからなる。MBP®中のラクトパーオキシダーゼ、アンジオジェニン、およびシスタチンCは、独立した異なる作用機序により骨吸収を抑制する。破骨細胞を精製されたアンジオジェニンで処理すると、破骨細胞が骨基質にしっかりと付着するシーリングゾーンを構成する高密度の帯状構造であるF-アクチンリングの形成が損なわれた。骨組織の吸収は、破骨細胞と骨とが接触する必要があるため、F-アクチンリングの形成を阻害することは、骨吸収を阻害するのに役立つ。アンジオジェニンはまた、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（TRAP）およびカテプシンKのmRNAレベルを低下させることが示され、これは細胞による骨基質の吸収の破骨細胞および一次メデイエーターのマーカである。破骨細胞の分化を阻害することは、骨吸収を減少させるのに役立つ別のメカニズムである。MBP®から単離精製されたラクトパーオキシダーゼは、破骨細胞中の活性酸素のレベルを抑制することにより、破骨細胞形成の主要な阻害剤であることが示された。MBP®が骨吸収を妨げる別のメカニズムは、骨組織を吸収する酵素を阻害することによるものである。シスタチンCは、破骨細胞によって分泌されて骨基質中のコラーゲンを分解

する酵素の1つであるシステインプロテアーゼ阻害剤として作用することにより、骨吸収を妨げることが示されている。

While *in vitro* and animal studies have shown that lactoferrin from milk may improve bone metabolism,^{10, 11} the contribution of lactoferrin to the bone-strengthening activity of MBP® is unclear. In one study that compared the effects of MBP® and lactoferrin on bone cells *in vitro* and bone strength *in vivo*, MBP® resulted in a greater stimulatory effect on the proliferation and differentiation of osteoblasts compared to lactoferrin. MBP® was also more effective than lactoferrin in terms of inhibiting bone resorption by osteoclasts. The force required to break bones in ovariectomised rats was significantly greater in rats fed 0.1% MBP® than in rats fed 0.1% lactoferrin. These results suggest that the effects of MBP on bone metabolism are not solely due to lactoferrin. In fact, it is theorized that multiple components in MBP® may act together to improve bone metabolism.¹²

インビトロおよび動物試験では、乳由来のラクトフェリンが骨代謝を改善することが示されているが、MBP®の骨強化活性に対するラクトフェリンの寄与は不明である。インビトロで骨細胞に対するMBP®およびラクトフェリンの効果、およびインビボでの骨強度を比較した研究において、MBP®はラクトフェリンと比較して骨芽細胞の増殖および分化に対してより大きな刺激効果をもたらした。MBP®はまた、破骨細胞による骨吸収を阻害する点でラクトフェリンよりも効果的であった。卵巣摘出ラットの骨吸収に必要な効力は、0.1%ラクトフェリンを与えたラットより0.1% MBP®を投与したラットにおいて有意に大きかった。これらの結果は、MBP®が骨代謝に及ぼす影響がラクトフェリンのみによるものではないことを示唆している。実際、MBP®の複数の成分が骨代謝を改善するために一緒に作用することが理論化されている。

Studies in osteoblast lines have also shown that MBP® stimulates proliferation of osteoblasts in a concentration-dependent manner and the production of procollagen I carboxy-terminal propeptide (PICP), which is an indicator of synthesis of collagen on a bone matrix. By increasing collagen, MBP® helps calcium adhere to bone. Culturing MBP® with osteoclasts isolated from rabbit femurs resulted in fewer osteoclast resorption pits than culturing without MBP® did. This data provides additional evidence of MBP®'s suppressive effect on bone resorption.⁶

骨芽細胞の研究は、MBP®が骨芽細胞の増殖を濃度依存的に刺激すること、および骨基質上のコラーゲンの合成の指標であるプロコラーゲンIカルボキシ末端プロペプチド (PICP) の産生を示すことを示している。コラーゲンを増やすことによって、MBP®はカルシウムが骨に付着するのを助ける。ウサギ大腿骨から単離した破骨細胞を用いてMBP®を培養すると、破骨細胞再吸収ピットは、MBP®なしの培養よりも少なかった。このデータは、骨吸収に対するMBP®の抑制効果のさらなる証拠となる。

Clinical Evidence

臨床的証拠

The effect of MBP® on bone metabolism has been the topic of a number of human clinical studies, particularly with women. Bone loss is more prevalent among women as they have smaller skeletons than men do, so the maximum bone mass stored in their bodies is lower. In addition, the female hormone estrogen exerts a major influence on bone metabolism. Estrogen works to inhibit the bone-destroying function of osteoclasts, but the secretion of this hormone nearly ceases with the onset of menopause, causing excess activity of osteoclasts.

MBP®が骨代謝に及ぼす影響は、特に女性の多くの臨床試験のテーマであった。骨量の減少は、男性よりも骨格が小さく、体内に蓄えられる最大骨量が少ない女性に多く見られる。さらに、女性ホルモンエストロゲンは、骨代謝に大きな影響を及ぼす。エストロゲンは、破骨細胞の骨吸収機能を阻害する働きをするが、このホルモンの分泌は、閉経の開始とともにほぼ消失し、破骨細胞の過剰な活性を引き起こす。

Three studies have been completed in healthy adult women within the maturity period (late 20s to early 30s) to determine the effect of MBP® on BMD. All were randomized, double-blind, placebo-controlled trials in which volunteers were randomly assigned to the MBP® group, which received 40 mg of MBP® in an experimental beverage, or a matching placebo beverage. In all three studies, the women were instructed to drink one beverage (50 mL) per day for 6 months.

成熟期（20代後半から30年代初め）の健康な成人女性の3つの研究が実施され、MBP®がBMDに及ぼす影響を判定した。全ては無作為化された二重盲検プラセボ対照試験で、ボランティアはランダムにMBP®群に割り当てられ、MBP®群にはMBP®が40mg含まれる実験用飲料中が、あるいはプラセボ飲料が与えられた。3つの研究すべてにおいて、女性は1日1本（50mL）を6ヶ月間飲むよう指示された。

In the first study, the BMD of the left calcaneus of each subject was measured in the beginning of the study and after 6 months of treatment. MBP® supplementation resulted in significantly higher BMD gain in the left calcaneus (3.42% vs. 2.01%) compared with placebo. In addition, biochemical indexes of bone metabolism, specifically the ratio of urinary cross-linked telopeptides (NTx) of type I collagen/creatinine and deoxypyridinoline/creatinine, were significantly decreased.¹³

第1の研究では、各被験者の左踵骨のBMDを、試験開始時および6ヶ月後に測定した。MBP®摂取は、プラセボと比較して左踵骨（3.42%対2.01%）において有意に高いBMD増加をもたらした。さらに、骨代謝の生化学的指標、具体的には、尿中I型コラーゲンNテロペプチド(NTx)/クレアチニン比と、尿中デオキシピリジノリン/クレアチニン比が有意に減少した。

In the second study, the mean radial BMD was measured. Six months of MBP® supplementation resulted in a significant increase at both 1/6 and 1/10 portion from

the distal end of the radius. In addition, the BMD gain of individual volunteers was significantly higher in the MBP® group.¹⁴

第2の研究では、平均ラジアルBMDを測定した。6ヶ月間のMBP®摂取は、半径の遠位端から1/6および1/10部分の両方で有意な増加をもたらした。さらに、個々の被験者のBMD増加は、MBP®群において有意に高かった。

In the third study, the BMD of lumbar vertebrae L2–L4 and serum and urine indexes of bone metabolism were measured at 0 and 6 months of treatment. The mean rate of gain of lumbar BMD was significantly higher in the MBP® group compared with placebo (1.57% vs. 0.13%). Also, the urinary NTx of type I collagen was significantly decreased, and the serum osteocalcin, a calcium-binding protein produced by osteoblasts, was significantly increased at 6 months.¹⁵

第3の研究では、試験の0ヶ月および6ヶ月で、腰椎L2-L4のBMDおよび骨代謝の血清および尿インデックスを測定した。腰椎BMDの平均増加率は、プラセボと比較してMBP®群で有意に高かった（1.57%対0.13%）。また、I型コラーゲンの尿中NTxは有意に低下し、骨芽細胞によって産生されたカルシウム結合タンパク質である血清オステオカルシンは6ヶ月で有意に増加した。

Menopause accentuates the imbalance between bone resorption and bone formation. A 6-month randomized, double-blind, placebo-controlled trial was completed with healthy women of menopausal age (mean age of 50.5 years). The MBP® group also received 40 mg of MBP® in an experimental beverage. The BMD of the lumbar vertebrae and serum biomarkers were measured at 0 and 6 months. The mean rate of gain of lumbar BMD was significantly higher in the MBP® group compared with the placebo (1.21% vs. -0.66%), and urinary NTx of type I collagen was significantly decreased at 6 months. There was no significant difference in serum osteocalcin between the two groups.¹⁶

閉経は、骨吸収と骨形成との不均衡を際立たせる。6ヶ月無作為化二重盲検プラセボ対照試験が、閉経期（平均年齢50.5歳）の健康な女性で実施された。MBP®群は、MBP® 40mgを配合した実験用飲料を摂取した。腰椎のBMDおよび血清バイオマーカーを0および6ヶ月後に測定した。MBP®群では、プラセボ群（1.21% vs. -0.66%）と比較して、腰部BMDの平均増加率が有意に高く、6ヶ月後にI型コラーゲンの尿中NTxが有意に減少した。2群間で血清オステオカルシンに有意差はなかった。

The effect of MBP® supplementation was also investigated in 100 healthy older women (65–86 years). In this randomized, controlled trial, volunteers were randomly assigned to either an MBP® group (which received 40 mg of MBP® in an experimental beverage) or a control group (no supplementation). Biochemical markers of bone metabolism and forearm and calcaneal BMD were measured at 6 and 12 months. Physical activity, as measured daily by electronic pedometer/accelerometer, was averaged at 6 months and 12 months. After 12 months, the MBP® group had significantly less excretion of deoxyypyridinoline and urinary NTx of

type I collagen at 12 months compared with the control group. The MBP® group maintained BMD and had a 1.5% increase of OSI (osteosonic index) at 12 months. After adjustments for age and base line bone parameters, osteocalcin, deoxypyridinoline, NTx, and/or OSI at 12 months was also shown to be significantly related to step count and/or duration of activity.¹⁷

健康な高齢の女性100人（65～86歳）でMBP補給の効果も調査された。この無作為化対照試験では、ボランティアを、MBP®群（MBP40mgを配合した実験用飲料を摂取）または対照群（MBP摂取なし）のいずれかにランダムに割り当てた。骨代謝および前腕および踵骨BMDの生化学的マーカーを6および12ヶ月で測定した。電子歩数計/加速度計によって毎日測定された身体活動は、6ヶ月および12ヶ月で平均した。12ヶ月後、MBP®群は、コントロール群と比較して、12ヶ月後にデオキシピリジノリン排泄量とI型コラーゲン尿中NTxを有意に減少させた。MBP®群はBMDを維持し、12ヶ月でOSI（骨形成指数）が1.5%増加した。年齢および試験前の骨パラメーターの調整後、12ヶ月のオステオカルシン、デオキシピリジノリン、NTxおよび/またはOSIもまた、歩数および/または活動期間に有意に関連することが示された。

Lastly, MBP® has also been clinically tested in healthy men (mean age 36.2 years). In an open-label trial, 30 healthy men received 300 mg of MBP® in an experimental beverage and were instructed to drink one beverage per day for 16 days. Serum and urine indexes of bone metabolism were measured at base line and at the end of the study. This study also reported a decrease in urinary cross-linked NTx of type I collagen excretion, as well as an increase in serum osteocalcin concentration. The results of this study also indicated that the subjects who had a higher activity of bone formation also had a higher activity of bone resorption after 16 days ingestion. This phenomenon suggests that, while MBP® suppressed bone resorption, it did not block bone resorption by bone remodeling. We consider that MBP® promoted bone formation and suppressed bone resorption while maintaining the balance of bone remodeling.¹⁸

最後に、健康な男性（平均36.2歳）で、MBP®の臨床試験が実施されている。非盲検試験では、30名の健康な男性に対して、MBP 300mgを配合した実験飲料を16日間毎日に1本摂取するように指示した。骨代謝の血清および尿インデックスは、試験前および試験終了時に測定した。この臨床試験では、タイプIコラーゲン排泄の尿中NTxの減少、ならびに血清オステオカルシン濃度の増加も報告された。この研究の結果はまた、より高い骨形成活性を有する被験者はまた、16日間の摂取後に骨吸収活性が高くなることを示した。この現象は、MBP®は骨再吸収を抑制したが一方で、骨再形成のリモデリングによる骨吸収をブロックしなかったことを示唆している。我々は、MBP®が骨形成を促進し、骨のリモデリングのバランスを維持しながら、骨吸収を抑制したと考えている。

Conclusion

結語

MBP® is a milk protein fraction found in human and bovine milk with clinical evidence supporting its ability to inhibit bone resorption and enhance bone formation. The constituents found in MBP® have been shown to suppress bone resorption directly through multiple mechanisms, including impairing the ability of osteoclasts to adhere to the bone matrix, reducing levels of enzymes that mediate the degradation of bone matrix by the cells, inhibiting enzymes that help digest collagen, and inhibiting osteoclastogenesis by downregulating levels of reactive oxygen species in osteoclasts. Enhanced bone formation is achieved by improving osteoblast differentiation and formation and modulation of immune function. MBP® has been clinically tested in different age groups, resulting in improved bone mineral density in healthy young women and men, menopausal women, and older women. MBP® can be used safely in foods and dietary supplements to promote bone formation while also inhibiting excess bone destruction.

MBP®は、ヒトおよび牛乳中に見出される乳タンパク質画分であり、骨吸収を阻害し、骨形成を促進する効果を裏付ける臨床試験結果を有する。MBP®に見られる成分は、破骨細胞が骨基質に接着する能力を抑制すること、破骨細胞による骨基質の分解を媒介する酵素のレベルを低下させること、分解を助ける酵素を阻害することを含む、複数のメカニズムを介して直接的に骨吸収を抑制することが示される、コラーゲンおよび破骨細胞形成を阻害するための方法および組成物を提供する。骨形成の強化は、骨芽細胞の分化および免疫機能の形成および調節を改善することによって達成される。MBP®は様々な年齢層で臨床試験されており、健康な若い女性および男性、更年期の女性、および高齢の女性において骨密度が改善される。MBP®は、過剰な骨吸収を抑制しながら、骨形成を促進するための食品および栄養補助食品において安全に使用することができる。

¹ Hadjidakis DJ and II Androulakis. "Bone Remodeling." *Ann NY Acad Sci* 2006. 1092:385-396.

² Crowther-Radulewicz CL and KL McCance. "Alterations in Musculoskeletal Function," in *Understanding Pathophysiology*, 6th ed., Huether SE and KL McCance, eds. (Elsevier, 2017), 1001.

³<https://www.nof.org/preventing-fractures/general-facts/>.

⁴ FDA, 2006. Agency response letter, GRAS No. GRN 000196. <https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm154673.htm>.

⁵ Kawakami H. "Biological Significance of Milk Basic Protein (MBP) for Bone Health." *Food Sci Technol Res* 2005. 11(1):1-8.

⁶ Goodman RE, SL Taylor, J. Yamanura, T. Kobayashi, H. Kawakami, CL Kruger, GP Thompson. "Assessment of the Potential Allergenicity of a Milk Basic Protein Fraction." *Food Chem Tox* 2007. 45:1787-1794.

- ⁷ Morita Y., H. Matsuyama, A. Serizawa, T. Takeya, H. Kawakami. "Identification of Angiogenin as the Osteoclastic Bone Resorption-Inhibitory Factor in Bovine Milk." *Bone*. 2008. 42:380–387.
- ⁸ Morita Y., A. Ono, A. Serizawa, K. Yogo, N. Ishida-Kitagawa, T. Takeya, T. Ogawa. "Purification and Identification of Lactoperoxidase in Milk Basic Proteins as an Inhibitor of Osteoclastogenesis." *J Dairy Sci Assoc* 2011. 94:2270–2279.
- ⁹ Matsuoka Y., A. Serizawa, T. Yoshioka, J. Yamamura, Y. Morita, H. Kawakami, Y. Toba, Y. Takada, M. Kumegawa. "Cystatin C in Milk Basic Protein (MBP) and Its Inhibitory Effect on Bone Resorption in Vitro." *Biosci Biotechnol Biochem* 2002. 66(12):2531–2536.
- ¹⁰ Blais A, Malet A, Mikogami T, Martin-Rouas C, Tomé D. Oral bovine lactoferrin improves bone status of ovariectomized mice. *Am J Physiol; Endocrinol Metab*. 2009. 296(6):E1281-8.
- ¹¹ Malet A, Bournaud E, Lan A, Mikogami T, Tomé D, Blais A. Bovine lactoferrin improves bone status of ovariectomized mice via immune function modulation. *Bone*. 2011. 48(5):1028-35.
- ¹² Morita Y., Ono-Ohmachi, A., Higurashi, S. Matsuyama, H. Serizawa, A., Takeya, T. "The bone strengthening activity of milk basic protein is not dependent on lactoferrin." *Int Dairy J* 2012. 27:40-46.
- ¹³ Aoe S.Y., Toba, J. Yamamura, H. Kawakami, M. Yahiro, M. Kumegawa, A. Itabashi, Y. Takada. "Controlled Trial on the Effects of Milk Basic Protein (MBP) Supplementation on Bone Metabolism in Healthy Adult Women." *Biosci Biotechnol Biochem* 2001. 65(4):913–918.
- ¹⁴ Yamamura J., S. Aoe, Y. Toba, M. Motouri, H. Kawakami, M. Kumegawa, A. Itabashi, Y. Takada. "Milk Basic Protein (MBP) Increases Radial Bone Mineral Density in Healthy Adult Women." *Biosci Biotechnol Biochem* 2002. 66(3):702–704.
- ¹⁵ Uenishi K., H. Ishida, Y. Toba, S. Aoe, A. Itabashi, Y. Takada. "Milk Basic Protein Increases Bone Mineral Density and Improves Bone Metabolism in Healthy Young Women." *Osteoporos Int* 2007. 18:385–390.
- ¹⁶ Aoe S., T. Koyama, Y. Toba, A. Itabashi, Y. Takada. "A Controlled Trial of the Effect of Milk Basic Protein (MBP) Supplementation on Bone Metabolism in Healthy Menopausal Women." *Osteoporos Int* 2005. 16:2123–2128.
- ¹⁷ Aoyagi Y., H. Park, S. Park, K. Yoshiuchi, H. Kikuchi, H. Kawakami, Y. Morita, A. Ono, R. Shepherd. "Interactive Effects of Milk Basic Protein Supplements and Habitual Physical Activity on Bone Health in Older Women: A 1-Year Randomized Controlled Trial." *Int Dairy J* 2010. 20:724–730.

¹⁸ Toba Y., Y. Takada, Y. Matsuoka, Y. Morita, M. Motouri, T. Hirai, T. Suguri, S. Aoe, H. Kawakami, M. Kumegawa, A. Takeuchi, A. Itabashi. "Milk Basic Protein Promotes Bone Formation and Suppresses Bone Resorption in Healthy Adult Men." *Biosci Biotechnol Biochem* 2001. 65(6):1353-1357.