

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670671

研究課題名(和文)レジスタンストレーニングによる骨粗鬆症予防を微小循環から考える

研究課題名(英文)Mechanisms of the resistance training for preventing osteoporosis: the contribution of microcirculation

研究代表者

福田 裕康 (FUKUTA, Hiroyasu)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：90444984

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：骨粗鬆症をおこす骨代謝異常には加齢に伴う骨組織の循環障害が関与すると考えられる。しかし、骨膜微小血管の収縮制御機構は明らかではない。骨粗鬆症の予防・改善には筋力トレーニング(筋トレ)が有効な手段の一つである。本研究では筋トレによる骨膜細動脈機能の変化について検討した。筋トレを行った前脛骨筋に隣接する脛骨骨膜細動脈は、経壁的神経刺激により収縮とそれに続いて弛緩を生じたが、筋トレをしていない標本では弛緩は見られなかった。受容体阻害薬は、この神経性の収縮と弛緩を抑制し、NO合成阻害薬は、神経性弛緩のみを抑制した。以上の結果から、筋トレは骨血流増加を起こす変化を生じている事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The peripheral circulation failure in bone tissue may play an important role to cause bone metabolism disorders which make osteoporosis. Exercises are thought to be one of the best ways to prevent and improve the osteoporosis. The objective of this project is to examine the functional change of the periosteal arterioles by the muscle training.

The transmural nerve stimulation evoked phasic constriction followed by relaxation on the tibia periosteum arterioles adjacent to the tibialis anterior muscle after the training, while only vasoconstriction on the control preparations. An  $\alpha$  blocker inhibited the nerve-evoked vasoconstriction and relaxation while an inhibitor of nitric oxide synthase inhibited the nerve-evoked relaxation only. Because the vasorelaxation on this vascular bed must increase the blood flow to the bone, these results suggest that the muscle strength training evokes some sort of alteration in the circulatory system which improves the blood flow into the bone.

研究分野：平滑筋

キーワード：血管平滑筋 微小血管 骨膜 骨粗鬆症 筋力トレーニング

### 1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症は組織の代謝機構の異状であるとの見方から、骨代謝を調節するメカニズムに注目した。一般に臓器の代謝維持にはそこに分布する微小循環が正常に働いている必要があるから、骨組織の維持にも骨に分布する微小血管が重要なはたらきを演じていると考えられる。一方、レジスタンストレーニングが骨粗鬆症の発症や進展を遅らせる効果が報告された。また、このトレーニングが骨代謝を正常化し骨量を増加させるという骨組織に直接働いているような効果を持つことも報告されており、この機構には骨代謝に関するメカニズムの関与が考えられる。

現在までに、モルモット脛骨の骨膜上の細動脈には律動的自発収縮をもつこと、感覚神経によって支配されていること、さらに、週齢による変化があることがわかった。そこで、骨組織の維持にもそこに分布する血管の働きが重要であり、トレーニングによって骨循環を制御する感覚神経の働き方や血管運動を改善することで骨組織の改善に寄与しているという可能性について検討した。

### 2. 研究の目的

骨粗鬆症発症原因の一つとして、骨代謝を預かる微小循環動態に着目してトレーニングによる症状改善機構を明らかにし、ひいてはより効果的な予防法もしくは治療法の確立を目指すために以下の研究目標をあげる。

- (1) 負荷を制御できるようにしたトレーニングを小動物の下肢に施す方法を確立する。
- (2) トレーニングによって骨膜の細動脈の律動的自発運動や関与が知られている自律神経と感覚神経による支配の仕方がどのように変化するのか、さらにその変化の機構を解明する。

### 3. 研究の方法

#### 方法の概要

自作した足関節運動装置によって、モルモットの後肢に人為的に負荷を与えてトレーニングを施した状態をつくれるようにした(図1)。

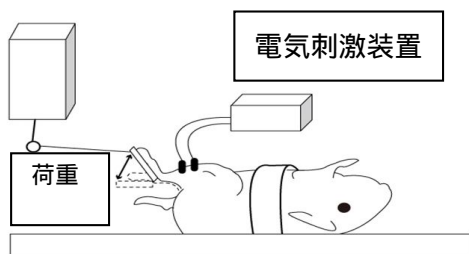


図1 トレーニングの模式図

イソフルラン麻酔下で6週齢雄性モルモットの足関節を底屈し、片側の前脛骨筋に表面電極により電気刺激を与え荷重に抗する運動を週1回、30分間、計10週行った。同一個体の対側前脛骨筋をコントロールとして、

筋収縮性の変化から反復トレーニングの効果の評価した。10週後に屠殺、脛骨から微小血管を含む骨膜組織標本を作製した。骨膜細動脈の血管径の経時変化を血管壁ビデオ追跡システムにより計測した。この血管標本の律動的自発収縮の観察に加え、経壁神経刺激により自発活動の神経性制御機構の検討を行った。収縮反応の大きさは(% of resting diameter) = (収縮量(μm)) / (非刺激時の静止時直径(μm)) × 100で表した。薬物は灌流溶液中に溶解した。データは平均値 ± 標準誤差で表した。

さらに、骨膜血管標本の免疫染色法による観察を行い、神経や血管の組織学的変化と生理機能的変化との関連を検討し、トレーニング効果の機構を探った。

### 4. 研究成果

#### (1) トレーニングによる前脛骨筋の収縮力の変化

当初、5秒毎に、5Hz 20回の電気刺激を30分行った。前脛骨筋収縮の振幅は徐々に減衰したが、筋力トレーニングによりしだいに筋収縮力は高いレベルで維持されるようになった(図2)。

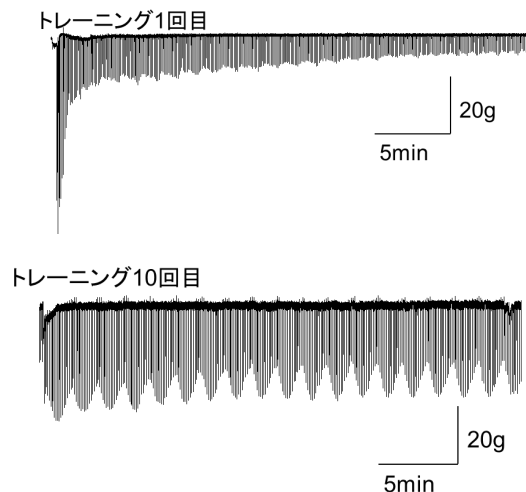


図2 筋力トレーニングによる前脛骨の収縮力の変化

#### (2) 6週齢およびトレーニングを行った16週齢モルモット骨膜細動脈

6週齢のモルモット(左)、トレーニングを行った16週齢モルモット(右)の骨膜組織標本では直径10~40μmの微小血管が観察され、平滑筋アクチン(SMA)染色により輪状に走行する血管平滑筋が観察される動脈と非紡錘形の平滑筋細胞が観察される静脈が識別された。両モルモットにおける血管径の違いは認められなかった(図3)。

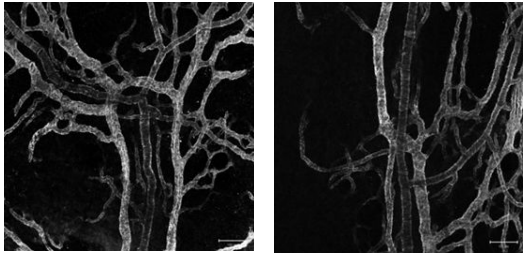


図3 SMA染色

(3)骨膜細動脈の神経支配

免疫組織化学染色により、微小血管に沿って交感神経マーカーである tyrosin hydroxylase (TH) 陽性神経線維が観察された。6週齢モルモット(左) トレーニングを行った16週齢モルモット(右)では差異は認められず、ノルアドレナリン作動性の血管収縮性神経支配を受けていることが示唆された。

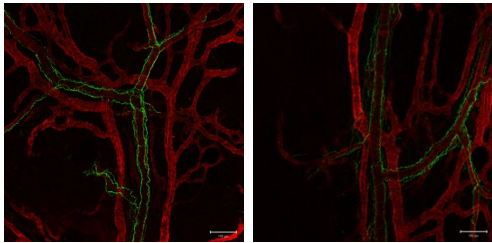


図4 TH陽性神経線維染色

(4)骨膜細動脈の律動的自発収縮

骨膜細動脈の律動的自発収縮は6週齢モルモット(上段) トレーニングを行った16週齢モルモット(下段)とも骨膜細動脈は周期的な自発収縮を発生していた(図5)。

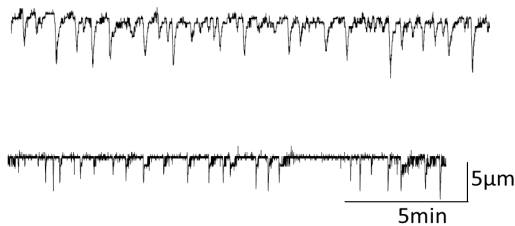


図5 律動的自発収縮運動

(5)経壁電気刺激による神経性反応

トレーニング側では経壁神経刺激により収縮とそれに引き続く弛緩を生じた(上段)が、コントロール側では収縮のみ生じた(下段)。トレーニング側では受容体阻害薬であるフェントラミンは神経性収縮、弛緩ともに抑制した。1 受容体阻害薬であるプラゾシンは神経性収縮のみを抑制し、弛緩には影響がなかった。2 受容体阻害薬であるヨヒンピンは神経性収縮には影響なく、弛緩を抑制した。NO合成阻害薬であるニトリアルギニン(L-NA)は、神経性弛緩のみを抑制した(図6 グラフのプラス部分は神経性収縮、マイナス部分は神経性弛緩の最大値を示す)。

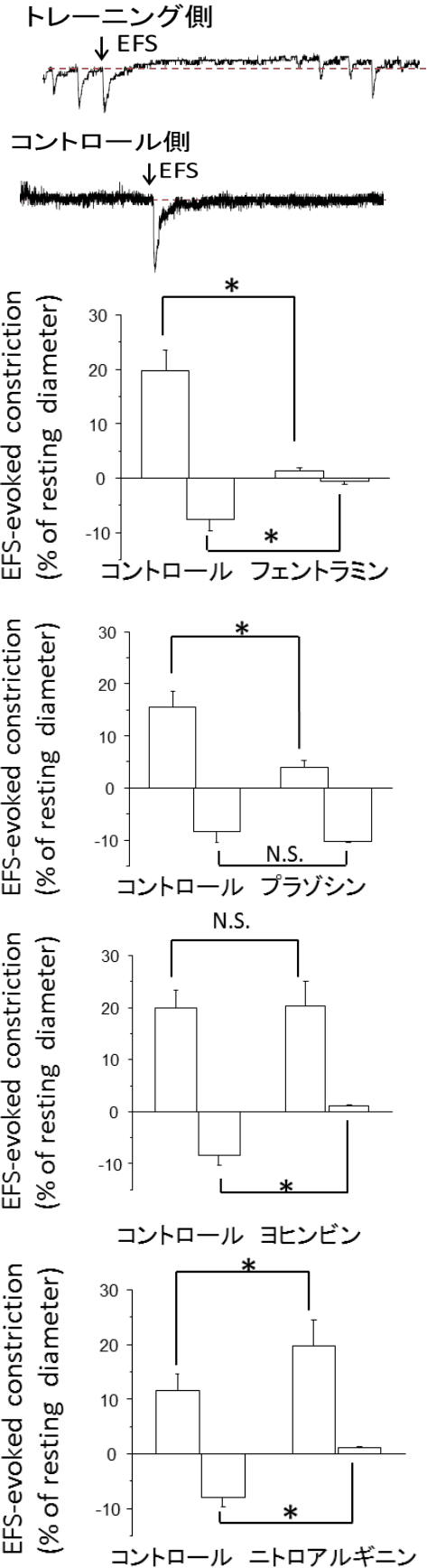


図6 神経性収縮・弛緩

(6)外因性ノルアドレナリン(NAd)の作用

外因性 NAd は濃度依存性に収縮をおこし、トレーニング側では一過性収縮（上段）を引きおこした。L-NA 存在下ではトレーニング側では 100 nM 以上では収縮が増大し、持続的な収縮を生じた（下段）。コントロール側では L-NA による収縮の増大は観察されなかった（図 7）。

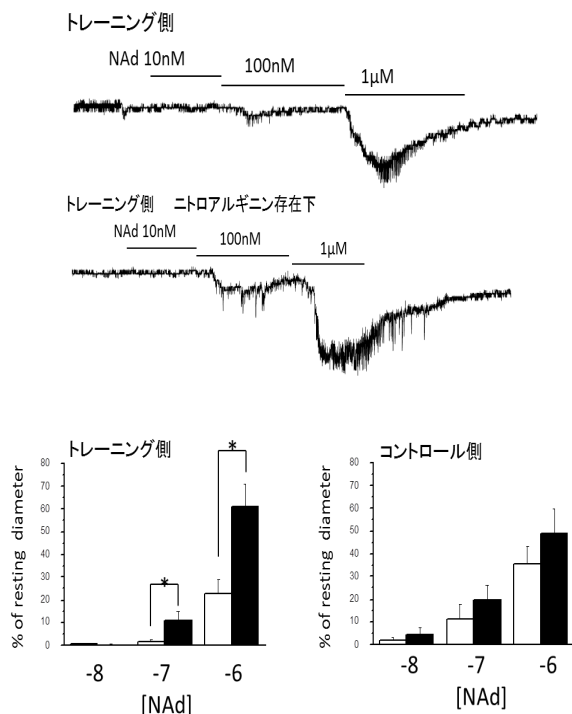


図 7 外因性ノルアドレナリンの作用

以上の結果から前脛骨筋のトレーニングによって、電気刺激による前脛骨筋の収縮の振幅の減衰は減少し、トレーニングの効果が認められた。隣接する脛骨骨膜細動脈では、コントロール側では見られなかった神経性弛緩を生じるようになった。収縮・弛緩ともに交感神経から放出されるノルアドレナリンの受容体を介した作用であり、弛緩は一酸化窒素産生を介していると考えられた。一方、トレーニングによる骨格筋の機能改善については、神経系の改善、筋力の増加、筋肥大、筋線維組織の変化といった代謝にかかわる知見が報告されている。今回の知見と合わせると骨代謝の増加に対応して、骨血流増加を担う適応反応が生じている事が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Hiroyasu Fukuta, Retsu Mitsui, Hiromichi Takano, Hikaru Hashitani Pflugers Arch - European journal of physiology 2017, 査読有, in press  
DOI 10.1007/s00424-017-1980-4

〔学会発表〕(計 3 件)

福田裕康、モルモット前脛骨筋反復トレーニングに伴う骨膜細動脈の機能変化、第 58 回日本平滑筋学会総会、H28 年 8 月 18 日～8 月 19 日、東北医科薬科大学（宮城県・仙台市）

福田裕康、モルモット脛骨細動脈におけるアセチルコリンとサブスタンス P による抑制反応、第 57 回日本平滑筋学会総会、H27 年 8 月 26 日～8 月 27 日、山口大学小串キャンパス（山口県・宇部市）

福田裕康、モルモット脛骨微小血管の加齢による機能形態変化、第 56 回日本平滑筋学会総会、H26 年 8 月 7 日～8 月 8 日、新横浜プリンスホテル（神奈川県・横浜市）

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 裕康 (FUKUTA, Hiroyasu)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

員

研究者番号: 90444984