

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 29 日現在

機関番号：33801

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350637

研究課題名(和文)トレッドミル走行は2型糖尿病罹患者の大腿骨骨密度・骨質低下の予防に寄与できるか

研究課題名(英文) Does a treadmill running exercise contribute to preventing deterioration of bone mineral density and bone quality of the femur in KK-Ay mice, a type 2 diabetic animal model?

研究代表者

高木 聖 (TAKAGI, Satoshi)

常葉大学・保健医療学部・教授

研究者番号：70712305

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病罹患者の大腿骨骨密度・骨質低下を予防するためのトレッドミル走行の有効性ならびにその機序に關与する因子を解明するために2型糖尿病モデル動物(KK-Ayマウス)を用いて検証した。2型糖尿病においては、低強度・長時間の運動が高強度・短時間の運動よりも大腿骨骨密度に有益であることが明らかになり、それには血糖コントロールやインスリン感受性、内臓脂肪量などが關与することが示された。また、運動による骨吸収抑制作用の關与も示唆された。

しかしながら、骨微細構造については大きな変化がみられなかったことから、骨質低下を予防する有効なプログラム確立のためにさらなる研究が必要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We examined the protective effect of treadmill running exercise on decreasing bone mineral density (BMD) and bone quality in diabetes mellitus using KK-Ay mice, an animal model of type 2 diabetes. It was clarified that running at slow speed for a long duration was more effective to the BMD of the femur than fast speed and short duration in type 2 diabetes, and that glycemic control, insulin sensitivity and fat mass were associated with the mechanism. In addition, it was suggested that a decrease in bone resorption action by exercise was also associated with that. However we could not find the change in microarchitecture of the femur. Further investigations will be necessary to establish the most appropriate exercise program to prevent deterioration of bone quality.

研究分野：代謝理学療法学

キーワード：2型糖尿病 トレッドミル走行 骨密度 骨質 骨代謝 糖・脂質代謝

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 身体活動量の低下や脂肪摂取量の増大を背景に糖尿病罹患者は増加の一途を辿っており、2012年においては糖尿病が強く疑われる者とその可能性を否定できない者を合わせて2050万人に達している。一方、高齢者人口の増大により骨粗鬆症に起因する大腿骨近位部骨折患者は年間約18万人にも達している。以前はこれら2つの病因は異なるものと考えられていたが、近年、糖・脂質代謝と骨代謝との関連性について数多くの研究成果が報告されるようになった。

(2) 1型糖尿病においてはインスリンの絶対的作用不足によって骨密度の減少が生じ、それが骨折リスクを上昇させることが古くから知られている。それに対し、2型糖尿病においては大腿骨近位部の骨密度が非罹患対照群と同等あるいは高値であるにもかかわらず、骨折リスクの高いことがメタアナリシス (Vestergaard. *Osteoporos Int* 2007) によって示されている。しかし、臨床研究と2型糖尿病モデル動物を用いた基礎的研究の双方において大腿骨骨密度が減少することが報告されており、未だ一致した見解は得られていない。

(3) 「骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン2011年版」において、荷重運動が大腿骨骨密度増大に有効であり、グレードAとして強く勧められている。また、正常モデル動物や骨量減少モデル動物を用いた基礎的研究においても、高強度・短時間のトレッドミル走行が大腿骨骨密度増加に寄与することが示されており、その機序に骨代謝に関連するタンパク質量の変化が関与することが示唆されている。しかし、それが2型糖尿病罹患患者においても同様であるか否かは明確にされておらず、2型糖尿病罹患患者に対する「骨折予

防のための運動療法」は未だ確立されていない。

## 2. 研究の目的

(1) 上述した背景をふまえ、本研究計画ではトレッドミル走行が2型糖尿病罹患患者の大腿骨近位部・骨幹中央部の骨密度減少ならびに骨質低下の予防に寄与できるか否か検証することを目的とする。

具体的には2型糖尿病モデル動物 (KK-Ayマウス) を用いて骨密度ならびに骨質に有益なトレッドミル走行の至適運動強度と時間を明らかにする。また、生化学実験によってその機序に關与する因子を解明する。

(2) 我々はKK-Ayマウスを用いた基礎的研究で、大腿骨近位部の骨密度が週齢に伴う血糖値の上昇とともに減少すること、そして骨形成タンパク質であるオステオカルシンの減少がその機序に關与していることを明らかにした (Takagi et al. *Biol Pharm Bull* 2012)。

また、同じくKK-Ayマウスを用いた基礎的研究において、低強度・長時間のトレッドミル走行により血糖値ならびに血中インスリン値が低下することを明らかにした (Miura, Takagi et al. *J Trad Med* 2007)。

以上の成果に基づき本研究計画を遂行する。この研究を通して2型糖尿病罹患患者における大腿骨近位部骨折の予防を目的とした運動療法についての新たな指針を示したい。

## 3. 研究の方法

### (1) 動物

2型糖尿病モデル動物であるKK-Ayマウス (雄性、6週齢) を購入し、2週間の予備飼育後に実験に使用した。なお、実験には随時血糖値が300 mg/dL以上のものを使用した。

### (2) トレッドミル走行の強度・時間の設定

速度を運動強度の指標とし、8週齢のマウスを高強度・短時間走行群（12 m/min、7%勾配、30分間）（以下、FS群）ならびに低強度・長時間走行群（5 m/min、7%勾配、120分間）（以下、SL群）、そして非走行群（以下、コントロール群）の3群に分けた。各群10匹のマウスを使用した。

トレッドミル走行は5日/週、10週間実施した。

### (3) 測定項目

トレッドミル走行開始から10週後に以下の項目について測定した。

#### ①大腿骨骨密度

抱水クロラール麻酔下にて二重 X 線吸収法 (dual energy X-ray absorptiometry; DXA) にて近位部および骨幹中央部の骨密度をそれぞれ測定した。

#### ②随時血糖値

血液サンプルは眼窩静脈洞より採取し、グルコース CII・テストワコー（和光純薬工業）を用いて測定した。

#### ③空腹時血中インスリン値

18時間の絶食後に眼窩静脈洞より採血し、ELISA kit を用いて測定した。

#### ④経口糖負荷試験

18時間の絶食後に2 g/kg 体重のグルコースを経口投与し、30・60・120分後の血糖値を測定した。また、血糖上昇曲線下面積 (area under curve; AUC) を測定した。

#### ⑤内臓（肝・腸間膜）脂肪量

肝臓を摘出後に Folch 法にて肝臓1g中に含まれるコレステロールおよび中性脂肪量を測定した。また、腸間膜における脂肪を剥ぎ取り、その湿重量を測定した。

#### ⑥骨代謝マーカー値

血液サンプルを用いて骨形成マーカーであるオステオカルシンならびに骨吸収マーカーである酒石酸抵抗性酸性ホスホター

ゼ (tartrate-resistant acid phosphatase; TRAP) を ELISA kit を使用して測定した。

#### ⑦骨質マーカー値

血液サンプルを用いて骨質のサロゲートマーカーとされるペントシジンならびに C-反応性蛋白質 (C-reactive protein; CRP) を ELISA kit を使用して測定した。

#### ⑧大腿骨微細構造

摘出した大腿骨の微細構造について、近位部は大腿骨頭下縁から 920 μm の範囲、骨幹部は中央 920 μm の範囲をマイクロ X 線 CT (micro-computed tomography; μ-CT) を用いて解析した。

### (4) 統計学的分析

数値は平均±標準誤差で示した。3群間の比較は一元配置分散分析を、多重比較は Turkey の方法を用いて行った。いずれの場合も危険率 5%未満を有意な差と判断した。

## 4. 研究の成果

### (1) 成果

#### ①大腿骨骨密度

近位部においては、SL群の骨密度はコントロール群およびFS群に比べ有意に高かった。骨幹中央部についてはSL群がコントロール群よりも有意に高かった。FS群とコントロール群との間に差はみられなかった。

これらのことから低強度・長時間の運動が高強度・短時間の運動よりも骨密度に有益であると考えられた。

#### ②血糖値・血中インスリン値

SL群の血糖値は他の2群に比べ有意に低かった。また、SL群のインスリン値はコントロール群に比べ有意に低かった。一方、血糖値とインスリン値の双方においてFS群とコントロール群との間に差はみられなかった。

これらのことから高強度・短時間の運動は糖代謝に影響をおよぼすことなく骨への力学的刺激要因となること、また、低強度・長時間の運動は糖代謝を改善させることが確

認された。

### ③経口糖負荷試験

糖負荷後いずれの時間においても SL 群の血糖値はコントロール群に比べ有意に低かった。また、SL 群の AUC はコントロール群に比べ有意に低かった。

これらのことから低強度・長時間の運動は耐糖能を改善させることが明らかとなった。

### ④肝・腸間膜脂肪量

肝コレステロールおよび中性脂肪量は FS 群、SL 群ともにコントロール群よりも有意に少なかった。また、SL 群の腸間膜脂肪量はコントロール群よりも有意に少なかった。

これらのことからトレッドミル走行は内臓脂肪蓄積の抑制効果があると考えられると同時に低強度・長時間の運動がより有効と考えられた。

### ⑤骨代謝マーカー値

オステオカルシン値は 3 群間に差はみられなかった。TRAP 値については FS 群、SL 群ともにコントロール群に比べ有意に低かった。

これらのことからトレッドミル走行は骨形成過程に関与せず、骨吸収の抑制に作用すると考えられた。

### ⑥大腿骨微細構造および骨質マーカー値

微細構造については近位部、骨幹部ともに 3 群間に違いはみられなかった。CRP 値は SL 群においてコントロール群よりも有意に低かったが、ペントシジン値については 3 群間に差はみられなかった。

これらのことから本研究ではトレッドミル走行の骨質および骨質マーカーにおよぼす効果を明らかにすることができなかった。運動強度や実施時間、実施期間などさまざまな因子についてさらなる検討が必要であると考えられた。

## (2) まとめと今後の展望

本研究結果から 2 型糖尿病においてトレッドミル走行が大腿骨骨密度低下の予防に寄

与することが示された。強度と時間については低強度・長時間の運動が有効であると考えられた。その機序として運動による糖・脂質代謝ならびに耐糖能の改善が深く関与することが示唆された。つまり、2 型糖尿病においては骨に対する力学的刺激要因よりも糖・脂質代謝要因の方が骨代謝におよぼす影響がより大きいものと考えられる。

また、運動による骨形成タンパク質量の変化はなく、骨吸収マーカー値の低下がみられたことからトレッドミル走行による 2 型糖尿病の骨密度変化には骨吸収作用の抑制が関与していると考えられた。

骨微細構造については走行群と非走行群との間に差がみられなかったことから他因子についてさらなる検討が必要であると考えられた。

今後は 2 型糖尿病罹患者の骨折予防を目的とした運動療法プログラムの確立に向けて、運動時間や種類、実施期間や時期などについて多方面からさらなる検証が必要と考える。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

① 高木 聖, 山下剛範, 三浦俊宏; 糖尿病患者の骨折リスクと運動療法. *DM Ensemble*, 5 (4), 48-51, 2017. 査読あり.  
<https://www.nittokyo.or.jp/>

② 高木 聖, 山下剛範, 三浦俊宏; 糖尿病における骨の異常. *理学療法学*, 43(Suppl 3), 94, 2016. 査読なし.  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/cjpt/43S3/0/43S3\\_94/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cjpt/43S3/0/43S3_94/_pdf)

[学会発表] (計 4 件)

① 高木 聖; 糖尿病関連骨粗鬆症に対するトレッドミル走行の有効性 - 2 型糖尿病モデル動物を用いた検証 -. 第 54 回日本リハビリテーション医学会学術集会, 岡山, 2017. 6.

② 高木 聖, 山下剛範, 三浦俊宏; 糖尿病

の骨の異常.第 51 回日本理学療法  
学術大会 日本糖尿病理学療法学会,  
札幌,2016.5. (招待講演)

③ 高木 聖, 三浦俊宏, 山下剛範: トレッド  
ミル走行が糖尿病性骨減少症におよぼす  
影響—運動強度・時間とその関連因子につ  
いての検証. 第 70 回日本体力医学会大会,  
和歌山, 2015.9.

④ 高木 聖, 三浦俊宏, 山下剛範: 糖尿病性  
骨減少症に対するトレッドミル走行の有  
効性について—遺伝的 2 型糖尿病モデル  
動物を用いての検討—. 第 52 回日本リハ  
ビリテーション医学会学術集会, 新潟,  
2015.5.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高木 聖 (TAKAGI, Satoshi)  
常葉大学・保健医療学部・理学療法学  
科・教授  
研究者番号 : 70712305

### (2) 研究分担者

山下剛範 (YAMASHITA, Takenori)  
鈴鹿医療科学大学・保健衛生学部・放射  
線技術科学科・准教授  
研究者番号 : 10410937