

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：33908

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K11114

研究課題名(和文) 運動および脱荷重が骨から分泌される多臓器連関制御物質に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of exercise and unloading on multi-organ linkage substances secreted by bone

研究代表者

梅村 義久 (Umemura, Yoshihisa)

中京大学・スポーツ科学部・教授

研究者番号：00193946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではメカニカルストレスの増減によって生じる骨代謝の変化が、骨細胞または骨芽細胞から分泌される多臓器連関制御物質の血中濃度に影響を与える影響について検討した。その結果、非カルボキシル化オステオカルシン(Glu-OC)および線維芽細胞増殖因子23(FGF23)の血中濃度は、継続的な荷重の増減によっては影響を受けないことが明らかとなった。一方、5分以上の一過性の運動直後にはGlu-OCの血中濃度が上昇することが明らかとなった。しかし、Glu-OCの血中濃度が上昇する要因について、骨へのメカニカルストレスが主要因であるのか、筋収縮が主要因であるのかについては明らかとはならなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

体内の種々な細胞からは他臓器や器官に情報を伝達し、全身性の種々な代謝等の調節因子となる多臓器連関制御物質が放出されている。骨細胞または骨芽細胞から分泌される非カルボキシル化オステオカルシン(Glu-OC)や線維芽細胞増殖因子23(FGF23)も多臓器連関制御物質として働いていることが知られている。それらの作用についてはある程度解明が進んでいるものの、骨代謝がそれらの分泌にどのように影響しているかについては明らかとなっていない。本研究ではメカニカルストレスを増減させることにより骨代謝を変化させて、血中の多臓器連関制御物質の濃度を調べる点とした点に、学術的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, I investigated the effect of changes in bone metabolism caused by the increase or decrease in mechanical stress on the blood concentration of multi-organ linkage substances secreted from osteoblasts. The results revealed that blood levels of non-carboxylated osteocalcin (Glu-OC) and fibroblast growth factor 23 (FGF23) were not be affected by continuous load increases and decreases. On the other hand, it was revealed that the blood concentration of Glu-OC increased immediately after the acute exercise for 5 minutes or more. However, it was not clear whether mechanical stress on bone was the main factor or muscle contraction was the main factor for the increase in blood concentration of Glu-OC.

研究分野：運動生理学

キーワード：オステオカルシン FGF23 メカニカルストレス 多臓器連関制御物質

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

骨芽細胞から分泌されるオステオカルシン (OC) はカルボキシル化されて Gla-OC となり骨の基質となるが、一部は血液中に放出されるため、骨形成マーカーとしても用いられている。近年の研究では血液中の OC、特にカルボキシル化される前の Glu-OC はホルモン様に働き多臓器連関制御に関わっていることが明らかとなった。Glu-OC は膵臓や脂肪細胞に働きインスリン感受性の低下を抑制しているなど、糖・脂肪代謝の調節因子となり、運動能にも関連していることが報告されている。

同じく骨芽細胞または骨細胞から分泌される線維芽細胞増殖因子 23 (FGF23) も多臓器連関制御物質であり、リン代謝およびカルシウム代謝の調節因子として強く働いている。FGF23 のレセプターは腎臓に存在し、リンの排泄を増加させ、また活性型ビタミン D の生成を阻害することなどが明らかとなった。さらに、血中 FGF23 濃度は血管石灰化や心臓の左心室肥大にも関連していることが報告された。

このように OC および FGF23 は全身性の糖・脂肪代謝やカルシウム・リン代謝に関与していると報告されたが、骨代謝の変化がこれらの多臓器連関制御物質の血中濃度にどのように影響を与えるかについては明らかとなっていない。

### 2. 研究の目的

運動によりメカニカルストレスを与えることにより骨塩量・骨強度が増加すること、逆にベクトレストのように荷重を軽減すると骨塩量・骨強度が減少することは広く知られている。この機序についての詳細は明らかとはなっていないが、骨細胞または骨芽細胞が重要な役割を果たしていることが知られている。すなわち、運動または脱荷重は骨細胞の代謝を変化させると考えられる。本研究ではメカニカルストレスの増減によって生じる骨代謝の変化が、骨細胞から分泌される多臓器連関制御物質の血中濃度にどのように影響を与えるか、また多臓器連関制御物質を介してカルシウム・リンおよび糖・脂質代謝がどのように変化するかを検証することとした。そのためにラットを用いる動物実験を行い、以下のことを明らかとすることを目的とした。

(1) 4 週間の運動介入および尾部懸垂による脱荷重が、骨から分泌される多臓器連関制御物質である Glu-OC および FGF23 等の血液濃度に及ぼす影響を明らかとすること。

(2) いくつかの種類の一過性の運動介入が、介入後の血中 Glu-OC および糖・脂質代謝に及ぼす影響を明らかとすること。

(3) 一過性の運動介入が介入直後の血中 Glu-OC を上昇させる要因について、メカニカルストレスと筋収縮に焦点を絞って検討すること。

### 3. 研究の方法

研究(1) 10 週齢のウイスター系雄性ラット 25 匹を以下の 3 群に分け、各介入を 4 週間行った。

コントロール群 (C: n=9)

ホイールランニング群 (W: n=8)

尾部懸垂群 (T: n=8)

ホイールランニング群は回転ケージでの飼育を行い、常時自発走運動ができるようにした。

尾部懸垂群は、尾部に尾懸垂クリップワイヤーをセットし、ケージの上部のワイヤーに吊るすことにより後肢が接地しないように懸垂した。前肢で移動することによって、餌、水は自由摂取することができる状態にて飼育した。

4 週間の介入期間終了後、脛骨を摘出し、骨塩量、骨密度 (DXA 法) と骨強度 (3 点支持の破断試験) を測定した。トレーニング期間終了後の血清については FGF-23、Gla-OC、Glu-OC 等の多臓器連関制御物質の血中濃度を測定した。

全飼育期間を通して設定温度を  $23 \pm 1$  とし、中京大学動物実験棟の飼育室にて、1 匹ずつ専用ケージで飼育した。

研究(2) 10 週齢のウイスター系雄性ラット 36 匹を以下の 5 群に分け、各種一過性の運動介入をした。

走運動群 (Run: n=7)

20 回ジャンプ群 (Twenty: n=8)

100 回ジャンプ群 (Hundred: n=7)

遊泳群 (Swim: n=7)

コントロール群 (Control: n=7)

走運動群のラットには小動物用トレッドミルを用いて、スピード 20m/分で 40 分間の走運動を

させた。

2つのジャンプ群のラットには、四方の板で囲んだ箱の底から、高さ40cmの箱の上端に上肢で捕まるまでのジャンプをさせた。ジャンプの間隔は約3秒で、20回ジャンプ群は約1分、100回ジャンプ群は約5分の運動であった。

遊泳群のラットには、約30ℓの水を入れた大型ポリ容器の中で、尾部に体重の1%以下の錘を負荷したうえで、40分間の遊泳運動をさせた。

これらの一過性の運動前から2時間後までの血清を採集し、Gla-OC、Glu-OC等の血中濃度の動態を測定した。また、OCが糖・脂質代謝にどのように影響を与えるのかを明らかにするため、血液の糖・脂質代謝関連物質濃度を測定した。

研究(3)本研究では一過性の運動が血清Glu-OCを上昇させる要因について検討を加えるために、以下の介入を行い、その前後のGlu-OC濃度の変化について測定を行った。実験には10週齢のウィスター系雄性ラット40匹を用いた。

筋収縮とそれに伴う大きなメカニカルストレスが骨に加わるジャンプ運動100回(Jump: n=10)

大きな筋収縮が伴わないが大きなメカニカルストレスが加わるフリーフォール100回(Free Fall: n=10)

大きなメカニカルストレスが加わらない電気刺激(EMS)による筋収縮(足底屈)両足各100回(EMS: n=10)

コントロール群(Control: n=10)

これらの一過性の介入前と介入10分後において血清を採集し、Gla-OC、Glu-OC等の血中濃度の動態を測定した。また、Glu-OCの上昇により筋からの分泌が亢進されると報告されているIL-6の血中濃度についても測定を行った。

#### 4. 研究成果

研究(1)本研究における4週間の介入においては、脛骨の骨強度には3群間に有意差が認められなかったが、脛骨の骨密度は尾部懸垂群が他の2群に比べて有意に低値を示した。また、骨形成の指標と考えられるGla-OCについては尾部懸垂群およびホイールランニング群においてコントロール群よりも低値を示した。従って、尾部懸垂による荷重の減少は骨形成を抑制させ、骨塩量を低下させることが示唆された。多臓器関連制御物質として機能すると考えられるGlu-OCについては3群間に有意差は認められず(図1)、本研究の介入においては骨代謝がOCを介して糖・脂肪代謝に影響を与えていることは証明されなかった。また、FGF23についても3群間に有意差は認められず、この条件において骨代謝がFGF23を介してリン・カルシウム代謝に影響を与えていることは証明されなかった。

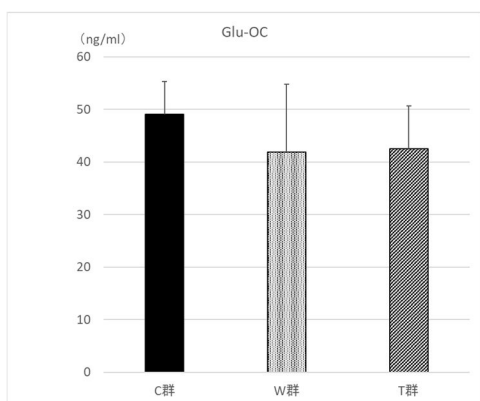


図1 各群のGlu-OCの血清濃度(C: コントロール群、W: ホイールランニング群、T: 尾部懸垂群)

研究(2)本研究では、ラットにおいて約5分の100回のジャンプ運動は、40分のランニング運動および遊泳運動と同様に、運動直後の血清のGla-OCおよびGlu-OCの濃度を上昇させることが明らかとなった。一方、約1分の20回のジャンプ運動では血清のGlu-OCおよびGla-OCに影響を及ぼさないことも明らかとなった(図2)。この結果から一過性の運動後に血清OCが上昇する原因の機序に、骨のメカニカルセンサーが寄与している可能性を示した。しかしながら、運動にはいくつかの生理的要素が含まれており、メカニカルストレス以外の要因が働いた可能性も否定できないと考えられた。

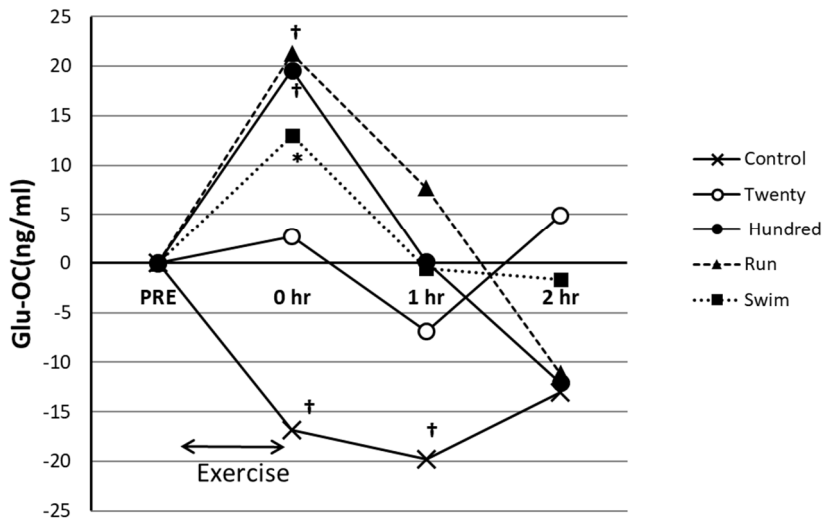


図 2 各群の血清 Glu-OC の変化量、(Control: コントロール群、Twenty: 20 回ジャンプ群、Hundred: 100 回ジャンプ群、Run: 走運動群、Swim: 遊泳群)

研究(3) 本研究の結果、大きな筋収縮と大きなメカニカルストレスが加わるジャンプだけでなく、大きな筋収縮がないフリーフォールおよび大きなメカニカルストレスが加わらない EMS においても同程度に介入直後に Glu-OC が上昇する結果となった。このため、骨に加わるメカニカルストレス、または筋収縮のみが Glu-OC を上昇させる要因ではないことが明らかとなった。また、本実験の介入による血清 Glu-OC の上昇は、筋から分泌される多臓器関連制御物質である IL-6 の血中濃度に有意な差をもたらさなかった。少なくとも介入直後において、血清 Glu-OC は筋の IL-6 放出の調節因子とならない可能性を示した。

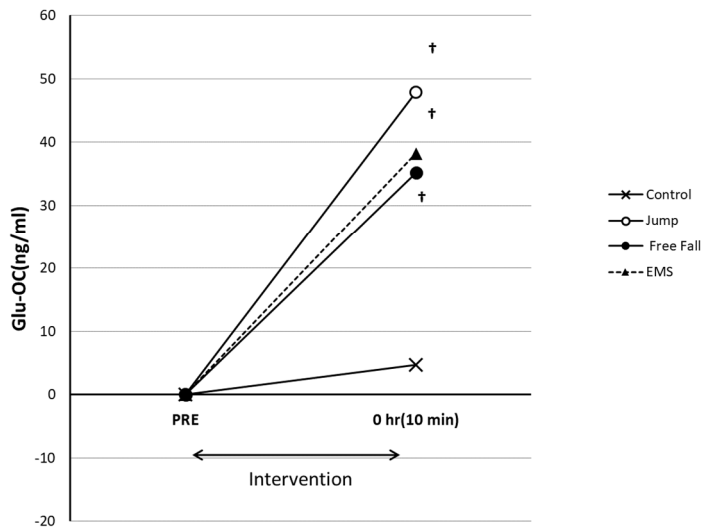


図 3 各群の血清 Glu-OC の変化量 (Control: コントロール群、Jump: 100 回ジャンプ群、Free Fall: 100 回フリーフォール群、EMS: 100 回電気刺激群)

以上の結果より、骨から分泌される多臓器関連制御物質である Glu-OC および FGF23 の血中濃度は、継続的な荷重の増減によっては影響を受けない可能性があることが明らかとなった。一方、5 分以上の一過性の運動直後には Glu-OC の血中濃度が上昇することが明らかとなった。しかしながら、その Glu-OC の血中濃度が上昇する要因について、骨へのメカニカルストレスが主要因であるのか、筋収縮が主要因であるのかについては明らかとならず、今後他の要因を含めて検討をしていく必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	野村 はるか  (NOMURA Haruka)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関