

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：34605

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11273

研究課題名（和文）糖尿病ラットに対する全身振動刺激の骨特性（骨量、骨構造、機械的骨強度）への影響

研究課題名（英文）Effects of whole body vibration on bone properties in rats with diabetes mellitus

研究代表者

峯松 亮（Minematsu, Akira）

畿央大学・健康科学部・教授

研究者番号：50368601

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：2型糖尿病を誘因とする骨脆弱化に対する予防および進行抑制の手段として、全身振動刺激の骨特性（骨量、骨構造、機械的骨強度）に対する影響について糖尿病モデルラットを用いて調査した。6週齢糖尿病モデルに対する全身指導刺激（骨脆弱化の予防効果）は、特に皮質骨の骨量、骨構造の劣化を抑制することはできなかったが、機械的骨強度の低下を遅らせる可能性が示された。一方、20週齢糖尿病モデルに対する全身指導刺激（骨脆弱化の進行抑制）は、皮質骨の組織骨密度を除く海綿骨と皮質骨の骨量、骨構造、機械的骨強度の劣化を抑制できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血糖値が上昇する前段階では、全身指導刺激は機械的骨強度の低下を遅らせる可能性が示された。一方、高血糖状態における全身指導刺激は骨特性の劣化を抑制できず、骨脆弱化の進行抑制効果は認められなかった。ラットの結果をヒトにそのまま用いるにはさらなる調査が必要であるが、糖尿病モデルラットに対する全身指導刺激の骨特性への影響は、介入開始時の血糖値の状態によって異なることが考えられ、血糖コントロールを含めて振動刺激条件を考慮した上で、骨脆弱化の予防策としての全身指導刺激早期介入の有効性を再検証する一助となると思われる。

研究成果の概要（英文）：The present study investigated the effects of whole-body vibration (WBV) on bone properties in a rat model of type 2 diabetes. In 6-week-old male type 2 diabetes model rats, WBV delayed the decrease of bone mechanical strength, but did not prevent the deterioration of bone mass and structure, especially of the cortical bone. In 20-week-old male type 2 diabetes model rats, WBV did not inhibit the deterioration of trabecular and cortical bone mass, structure, and mechanical strength. These findings suggest that the effects of WBV on bone properties differed under glycaemic conditions, and provide insight into the effectiveness of early-stage WBV on preventing type 2 diabetes-induced bone fragility.

研究分野：複合領域

キーワード：糖尿病ラット 全身振動刺激 骨特性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の糖尿病(以下DM)有病者、予備軍はともに約1000万人と推計されている。本症の合併症の一つに骨粗鬆症が挙げられ、本症患者では骨折リスクが高い状態にある。中でも2型DMは生活習慣が関連していることがほとんどであり、本症の予防には生活習慣の改善が必要となる。2型DM患者に対する運動療法はその予防や治療手段として有効性が認められており、骨量増加、骨折リスク軽減に対しても有効であるとの報告がある。しかしながら、運動に対する意欲や身体状況などの原因により、2型DM患者にとって運動の継続は容易でないことがある。一方近年、全身振動刺激(以下WBV)の骨量への有効性や筋力の維持・改善やバランス能力の維持・改善を含めた転倒リスクの低下が認められたとの報告がある。WBVは簡便に実施でき、一般的な施行条件での安全性が認められている。また、2型DM患者に対してもWBVが身体機能(バランス機能、筋力) 下肢血流、脂肪量、血糖コントロール(HbA1c、空腹時血糖)を改善した、との報告がみられる。しかし、2型DM患者に対するWBVの骨への影響を調査した研究は見当たらない。また、動物実験においてもWBVの骨への影響を調査した研究は少なく、骨構造、機械的骨強度の改善(劣化・低下抑制)が認められたとの報告がある一方、骨密度、骨構造、機械的骨強度の改善は認められなかったとの報告もあり、2型DMに対するWBVの骨特性への効果は一定していない。そのため、2型DMに対するWBVの骨特性(骨量、骨微細構造、機械的骨強度)への影響を調査することは、DM誘因骨粗鬆症の予防策、骨折リスクの軽減策を検討する上でも重要であると考えられる。

2. 研究の目的

2型DM患者では骨密度は比較的高く保たれるものの骨折リスクは高い状態にあるため、骨強度は骨折予防を検討するための重要な手段となる。骨強度は骨量、骨質によって規定される。また、2型DMは骨質や骨代謝にも影響を与えるため、量的・質的の両面から骨特性に対するWBVの作用を調査することは、骨強度の維持・改善の予防策を講じるには重要である。

本研究ではWBVは2型DM誘因による骨脆弱化に対する予防策として有効であるか、WBVは2型DM誘因による骨脆弱化に対する劣化進行抑制として有効であるか、について明らかにするため、2型DMモデルラットを対象として、WBVが骨強度をはじめ、骨量、骨質、骨構造、骨代謝に与える影響を調査することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 2型DM発症前におけるWBVの骨特性への影響(2型DM誘因の骨脆弱化に対する全身振動刺激の予防効果)について調査するため、6週齢、雄性ZFDM-*Lepr^{fa}*ラット(DMモデル; DM群)20匹およびZFDM-*Lepr^{fa/+}*ラット(対照モデル; 対照群)10匹を対象とした。DM群の半数はWBV群とし、振動機器システム(Big Wave G-MasterPRO; (有)旭製作所、東京)を用いて周波数45Hz、加速度0.5gのWBVを15分間/日、5日間/週で8週間実施した。また、実験開始時から終了時まで非空腹時血糖を血糖測定器(ワンタッチベリオビュー®; LifeScan Japan株式会社、東京)と測定用センサー(ワンタッチベリオセンサー®; LifeScan Japan株式会社、東京)にて週1回測定した。実験期間中は飼料、水とも自由摂取とした。実験終了後、採血し、両下肢のひらめ筋、長趾伸筋、脛骨を採取した。筋および脛骨は重量を測定し、体重で補正した値を算出した。右脛骨は万能試験機(Autograph AGS; (株)島津製作所、京都)を用い、3点曲げ強度試験にて機械的骨強度として最大荷重値と破断点を測定した。左脛骨はマイクロCTにてスキャンし、画像をパーソナルコンピュータに取り込んだ後、脛骨近位端の海綿骨微細構造および脛骨骨幹中央部の皮質骨構造を3次元骨解析ソフト(TRI BON 3D; (株)ラトックシステムエンジニアリング、東京)を用いて解析した。海綿骨微細構造の解析項目は海綿骨体積比(BV/TV)、骨梁厚(Tb.Th)、骨梁数(Tb.N)、骨梁間隙(Tb.Sp)、骨梁連結度(Conn.D)、海綿骨パターンファクター(TBPF)、組織骨密度(TMD)、骨塩量(BMC)、体積骨密度(vBMD)とした。また、皮質骨構造の解析項目は皮質骨体積(Ct.V)、髓腔体積(MV)、皮質骨体積比(Ct.V/AV)、皮質骨幅(Ct.Th)、皮質骨断面積(Ct.Ar)、骨膜周囲長(Ps.Pm)、骨内膜周囲長(Ec.Pm)、組織骨密度(TMD)、骨塩量(BMC)とした。また、左脛骨は骨構造の解析後、脱水、乾燥して乾燥骨重量を測定し、その後燃焼して灰量を測定した。生化学的分析として採取血液から血清を分離し、骨代謝マーカー(骨型アルカリフォスファターゼ(BALP)、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ(TRACP-5b)、ホモシステイン)、インスリン、レプチン、終末糖化産物(AGE)、カルシウム(Ca)、無機リン(IP)、アルブミン(ALB)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、総蛋白(TP)、総コレステロール(TC)、中性脂肪(TG)、遊離脂肪酸(NEFA)、低密度リポ蛋白質(LDL-C)、高密度リポ蛋白質(HDL-C)、グルコース(GLU)、グルコアルブミン(GA)、総ケトン体(T-KB)の血清濃度を求めた。また、血中HbA1c濃度を求めた。得られた項目ごとに対照群、DM群、WBV間の比較(統計学的解析)を行い、WBVの骨特性への影響を検討した。

(2) 2型DMにおけるWBVの骨特性への影響(2型糖尿病誘因の骨脆弱化に対する全身振動刺激

の進行抑制効果)について調査するため、20週齢、雄性 ZFDM-*Lep^{fa}* ラット 20 匹および ZFDM-*Lep^{fa/+}* ラット 10 匹を対象とした。DM 群の半数は WBV 群とし、上記(1)と同一の振動機器システムを使用し、同条件の WBV(周波数、加速度、時間、頻度、期間)を実施した。また、上記(1)と同一の血糖測定器と測定用センサーにて実験開始時から終了時まで非空腹時血糖を週 1 回測定した。実験期間中は飼料、水とも自由摂取とした。実験終了後、採血し、両下肢のひらめ筋、長趾伸筋、脛骨を採取した後、これらの重量を測定し、体重で補正した値を算出した。右脛骨は上記(1)と同じ要領で機械的骨強度(最大荷重値と破断点)を測定した。左脛骨はマイクロ CT にてスキャンし、画像をパーソナルコンピュータに取り込んだ後、脛骨近位端の海綿骨微細構造および脛骨骨幹中央部の皮質骨構造を 3 次元骨解析ソフト(上記(1)と同様)を用いて解析した。海綿骨微細構造および皮質骨構造の解析項目は上記(1)と同様とした。左下肢骨は骨構造の解析後、脱水、乾燥して乾燥骨重量を測定し、その後燃焼して灰量を測定した。また、上記(1)と同様に生化学的分析を行った(レプチン、AEG を除く)。得られた項目ごとに対照群、DM 群、WBV 群間の比較(統計学的解析)を行い、WBV の骨特性への影響を検討した。

4. 研究成果

(1) DM 群と WBV 群の最終体重、飼料摂取量は対照群と比して有意に高値を示し、飼料摂取量は DM 群で WBV 群よりも有意に高値を示した。また、筋重量体重補正值、骨長、骨重量体重補正值、灰量は DM 群、WBV 群で対照群と比して有意に低値を示した。骨量指標では対照群と比して、海綿骨 TMD、皮質骨 BMC は DM 群と WBV 群で、海綿骨 BMC、vBMD は DM 群で有意に低値を示した。また、皮質骨 TMD は WBV 群で DM 群よりも有意に低値であった。対照群と比して海綿骨微細構造指標では Tb.Th は DM 群と WBV 群で、BV/TV は DM 群で有意に低値を示し、TBPf は DM 群で有意に高値を示した。また、皮質骨構造では Ct.V、Ct.V/AV、Ct.Ar、Ps.Pm は DM 群と WBV 群で有意に低値を示した。一方、DM 群の最大荷重値は対照群のそれよりも、また破断点は WBV 群のそれよりも有意に低値であった。生化学検査においては、骨形成マーカーの BALP は WBV 群で対照群よりも有意に低値を示した。また、Ca、BUN、TP、TC、TG、NEFA、HDL-C、GLU、GA、HbA1c、インスリン、レプチンレベルは DM 群、WBV 群とも対照群よりも有意に高値を示していたが、BUN、GLU、HbA1c レベルは WBV 群で DM 群よりも有意に低値もしくは低値傾向を示した。さらに CRE レベルは DM 群、WBV 群とも対照群よりも有意に低値を示し、WBV 群で DM 群よりも有意に低値を示した。ALB レベルは WBV 群で DM 群よりも有意に高値であった。前 DM 状態にある 6 週齢 DM モデルラットに対する WBV は、骨量、骨構造の劣化を抑制することはできなかった。しかし、WBV 群では DM 群に比して血糖コントロールはできており、最大荷重値の低下を遅らせる可能性が示唆された。先行研究とは対象、振動条件が異なるため、WBV の 2 型 DM モデル動物の骨に対する影響は異なっている部分もみられた。そのため、本研究での結果を踏まえて、2 型 DM 誘因による骨脆弱化に対する予防策としての有効性の可能性を検証するためにも対象数を増やし、振動条件も考慮した上で追試を行う必要があると考えられる。

(2) WBV 群の最終体重は DM 群と対照群のそれよりも有意に高値を示した。また、DM 群と WBV 群の飼料摂取量は対照群と比して有意に高値を示し、DM 群で WBV 群よりも有意に高値を示した。また、筋重量体重補正值、骨長、骨重量体重補正值、灰量は DM 群、WBV 群で対照群と比して有意に低値を示した。骨量指標では対照群と比して、海綿骨 TMD、BMC、vBMD、皮質骨 BMC は DM 群と WBV 群で有意に低値を示した。皮質骨 TMD は DM 群と WBV 群で対照群のそれよりも、WBV 群で DM 群よりも有意に高値を示した。対照群と比して海綿骨微細構造指標では BV/TV、Tb.Th、Tb.N、Conn.D は DM 群と WBV 群で有意に低値を示し、TBPf は有意に高値を示した。また、皮質骨構造では Ct.V、Ct.V/AV、Ct.Ar、Ps.Pm、Ec.Pm は DM 群と WBV 群で有意に低値を示した。DM 群と WBV 群の最大荷重値は対照群のそれよりも有意に低値であった。生化学検査においては、骨形成マーカーの BALP、骨吸収マーカーの TRACP-5b とも DM 群と WBV 群で対照群よりも有意に高値であった。また、Ca、BUN、TP、TC、TG、LDL-C、HDL-C、GLU、GA、HbA1c、インスリンレベルは DM 群、WBV 群とも対照群よりも有意に高値を示していたが、BUN、GLU レベルは WBV 群で DM 群よりも有意に低値を示した。さらに ALB、CRE レベルは DM 群、WBV 群とも対照群よりも有意に低値を示した。DM 状態にある 20 週齢 DM モデルラットに対する WBV は、骨量、骨構造、機械的骨強度の劣化を抑制することはできなかった。新たな振動条件も含めて、高血糖状態における骨脆弱化の進行抑制に対する運動条件を検討していく必要があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 峯松 亮
2. 発表標題 前糖尿病モデルラットにおける骨劣化に対する全身振動刺激の抑制効果
3. 学会等名 第43回日本骨形態計測学会
4. 発表年 2023年

〔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
研究分担者	西井 康恵 (Nishii Yasue) (50461207)	畿央大学・健康科学部・助教 (34605)	

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
---------	---------