

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：33908

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500865

研究課題名(和文)メカニカルストレスが骨から分泌されるホルモンに及ぼす影響

研究課題名(英文)Mechanical stress alters the endocrine activity of osteocytes

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) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：骨細胞からは線維芽細胞増殖因子23(FGF23)等が血液中に分泌され、ホルモン様に全身に情報を伝え、カルシウム・リン代謝に影響を与えている。本研究においては、ラットにジャンプトレーニングを行わせ、骨にメカニカルストレスを加えることがこれらの物質の血中濃度やカルシウム・リン代謝へ与える影響を検討した。実験の結果、ジャンプトレーニングを開始した初期段階において、血清FGF23は低下すること、また血清無機リン濃度および総カルシウム濃度も低値を示すことが明らかとなった。メカニカルストレスは全身性のリン・カルシウム代謝に影響を与えていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Recent studies have reported that fibroblast growth factor 23 (FGF23) and other proteins are secreted by osteocytes into the systemic circulation and acts as an endocrine hormone to modulate whole body calcium and phosphorus homeostasis. This study assessed the effects of mechanical stress imposed by jump exercise on serum FGF23 levels and calcium and phosphorus metabolism in rats. Mechanical stress decreased serum FGF23, inorganic phosphorus, and total calcium concentrations during the early stages of jump training. These results indicate that external loads modulate internal whole body calcium and phosphorus metabolism through effects on the endocrine activity of osteocytes.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学、応用健康科学

キーワード：メカニカルストレス 骨代謝 FGF23 カルシウム代謝 リン代謝 運動処方

## 1. 研究開始当初の背景

線維芽細胞増殖因子 23 (fibroblast growth factor 23: FGF23) は常染色体優性遺伝性低リン血症性くる病 / 骨軟化症の責任遺伝子として同定されたタンパクで、骨細胞から分泌され腎臓に働きかけ、尿中へのリン排泄量を増加させること、また活性型ビタミン D の生合成を低下させることにより腸管からのカルシウム・リンの吸収を低下させることが明らかとなった。すなわち、FGF23 は骨細胞から分泌されるホルモンで、全身のカルシウム・リン代謝を調節していると考えられる。

また、骨芽細胞にて作られ骨の基質の一部となるオステオカルシン(OCN)も血液中に分泌されホルモン様に働き、全身の糖・エネルギー代謝に影響を与えていることが報告された。

一方、私はラットを用いる先行研究において、ジャンプトレーニングのような大きなメカニカルストレスを骨に与える身体的トレーニングは、効率的に骨代謝を変化させて骨塩量を増加させることを報告している。ジャンプトレーニングにおいては1日10回程度という低回数ジャンプにおいて、骨塩量を高めて骨代謝を変化させるため、直接的な筋や脂肪組織への影響は少なく、骨を特異的に鍛えることができると考えられる。このメカニカルストレスが骨代謝に与える影響は、負荷のかかった場所に局所的であることが知られているが、体内のカルシウム量が相当量増えることを考えれば、全身性のカルシウム・リン代謝に何らかの影響を与えていると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究においては、ラットのジャンプトレーニングを用いて骨にメカニカルストレスを与えることが、血液中の FGF23 および OCN 濃度にどのような影響を及ぼすか、また全身のカルシウム・リン代謝にどのような影響を与えているのかについて研究を行った。すなわち、メカニカルストレスの加わった骨細胞から、全身性のカルシウム・リン代謝などに影響を与えるような情報が、ホルモンを介して行われているとの仮説を検証する目的である。本研究では、下記の設定における3実験を遂行し、血液データおよび骨関連データを採取し、骨から分泌されるホルモンの血清濃度の変化およびカルシウム・リン代謝の変化を明らかにした。

(1) 2週間のジャンプトレーニング期間における FGF23 および OCN の変動

(2) 4週間のジャンプトレーニング期間およびそれに引き続く2週間の脱トレーニング期間における FGF23 の変動

(3) 2週間のジャンプトレーニング期間後の FGF23 およびカルシウム・リン代謝の変化

## 3. 研究の方法

### 実験(1)

8週齢のウイスター系雄性ラット20匹をジャンプトレーニング群(J群: n=10)とコントロール群(C群: n=10)に分け、J群のラットには、高さ40cmの箱の縁に跳びあがらせるジャンプを毎日20回2週間行わせた。その期間C群のラットには特別なトレーニングを行わなかった。全飼育期間において人工照明により午後6時から午前6時までの12時間を明期とし、他を暗期とした。また全飼育期間を通して設定温度を $23 \pm 1$ とし、飼料は標準飼料を用い、水は水道水として飼育期間を通して自由摂取とした。

ジャンプトレーニング開始前日、開始4日目、7日目、14日目の午前9時から採血を行い、ELISA法にて血清 FGF23 および OCN を測定した。また、2週間のトレーニング期間終了後に脛骨を摘出し、脛骨全体の骨密度(BMD)および骨塩量(BMC)を、二重エネルギーX線吸収法(DXA法)を用いて測定した。本実験は中京大学動物実験委員会の承認を得て行われた。

### 実験(2)

9週齢のウイスター系雄性ラット24匹を、ジャンプトレーニング群(J群: n=12)およびコントロール群(C群: n=12)に分け、4週間のジャンプトレーニング期間を設けた。その期間J群のラットには、高さ40cmのジャンプを1日20回、週6日、行わせた。その後の2週間は脱トレーニング期間として、トレーニングをしなかった。すべての期間においてC群のラットには特別なトレーニングを行わなかった。飼育条件は実験(1)に準じて行われた。

ジャンプトレーニング開始前日、開始1週目、2週目、4週目および6週目の午後6時に採血を行い、ELISA法にて血清 FGF23 を測定した。また、ジャンプトレーニング開始前日、開始1週目、2週目、4週目および6週目においてDXA法を用いて、ラット麻酔下における生体内の左脛骨のBMDを測定した。本実験は中京大学動物実験委員会の承認を得て行われた。

### 実験(3)

8週齢のウイスター系雄性ラット20匹をジャンプトレーニング群(J群: n=10)とコントロール群(C群: n=10)に分け、実験(1)と準じた設定で2週間のトレーニングを行い、2週間後に血液を採取して、FGF23、OCNの他、リン・カルシウム代謝関連物質を測定した。採血時間は午前9時からに設定した。本実験は中京大学動物実験委員会の承認を得て行われた。

#### 4. 研究成果

##### 実験(1)

2週間のジャンプトレーニング期間におけるFGF23の血清濃度は、二元配置分散分析の結果、時間の主効果が有意であり( $P < 0.05$ )、下位検定の結果トレーニング前に比べてトレーニング開始後4、7、14日目において有意に高かった(図1)。交互作用については有意ではなかった( $P = 0.69$ )。しかし、下位検定を行うとトレーニング7日目においてJ群はC群よりも有意に低い値を示した( $P < 0.05$ )。

図2には2週間のジャンプトレーニング期間におけるOCNの血清濃度の変化を示す。二元配置分散分析の結果、時間の主効果が有意であり( $P < 0.01$ )、下位検定の結果トレーニング前および開始後7、14日目より、4日目の値が有意に高かった。交互作用についても有意であり( $P < 0.05$ )、トレーニング開始前においてJ群とC群の差が有意であった( $P < 0.05$ )。しかし、ジャンプトレーニングが血清OCN濃度に与える影響は明らかにならなかった。

2週間トレーニング後の抽出脛骨のBMDの結果においては、C群に比べ有意にJ群が高くなっており、ジャンプトレーニングはトレーニング期間が短期間(2週間)であっても骨密度を増加させることが確認された。BMCジャンプトレーニング群が高値を示したが、有意差には至らなかった(図3)。

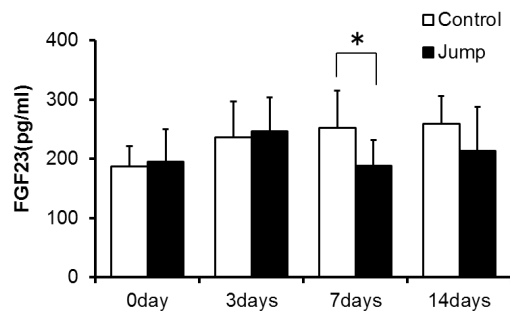


図1. 2週間のジャンプトレーニング期間における血清 FGF23 の変化

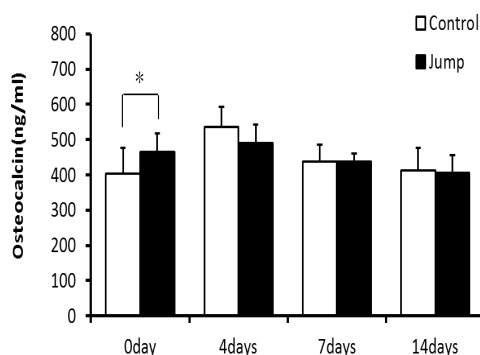


図2. 2週間のジャンプトレーニング期間における血清 OCN の変化

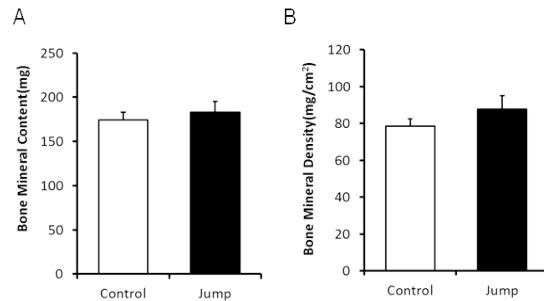


図3 2週間のジャンプトレーニング後の骨塩量(A)と骨密度(B)

本実験の結果、ジャンプトレーニングは少なくともトレーニングを開始した一時期において、血清 FGF23 濃度を変化させる可能性があることが示された。

##### 実験(2)

実験(2)においては実験(1)の結果を受けて、トレーニング期間を4週間とし、さらにそれに引き続く2週間の脱トレーニング期間を設けて FGF23 の血清濃度の変化を検討することとした。また、採血時間を午前9時から午後6時に変更して実験を行った。

血清 FGF23 濃度について二元配置分散分析の結果、時間の主効果が有意であり、2週間以降は Pre と比較すると有意な上昇を示した(図4)。しかし、交互作用やトレーニングの主効果はなく、本実験の設定においては、血清 FGF23 はトレーニングや脱トレーニングの影響を受けないことが明らかとなった。実験(1)との結果が異なる理由は、採血した時間帯が異なったことにあると考えられた。血清 FGF23 は日内変動があることが知られており、本実験では日内において低値を示すと考えられる午後6時に設定したが、ジャンプトレーニングによる差は有意ではなかった。しかし、ジャンプトレーニングが血清 FGF23 に及ぼす影響は、高いレベルである午前中において顕著であることが明らかとなった。

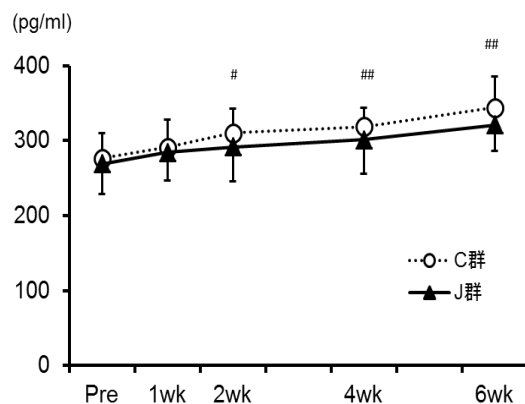


図4. FGF23 の経時的変化

BMD は 2 週間以降 J 群が C 群よりも有意な高値を示し、ジャンプトレーニングの効果が認められた。トレーニングを中止しても J 群の BMD は高いまま維持されており、短期間の脱トレーニングの影響は見られなかった。

#### 実験(3)

実験(3)においては採血時間を午前 9 時に戻して実験を行ない、ジャンプトレーニング 2 週間後において、血清 FGF23 に加えて、リン・カルシウム代謝関連物質の血清濃度について測定を行った。その結果、2 週間のトレーニング期間終了後、J 群の血清 FGF23 は C 群に比べて有意に低い値( $P < 0.05$ )を示した。OCN には有意な群間差はなかった。また、血清無機リン( $P < 0.01$ )および血清総カルシウム( $P < 0.01$ )は J 群が有意に低い値であった。一方、活性型ビタミン D および副甲状腺ホルモン(PTH)の血清濃度には群間差は認められなかった。血清 FGF23 濃度は血清無機リン酸濃度に影響されることが指摘されているので、本実験においてジャンプトレーニングによって血清 FGF23 濃度が定値を示した理由の一つは血清無機リン酸の低下に起因すると考えられた。

以上の 3 つの実験結果から、骨にメカニカルストレスを与えるトレーニングをすると、少なくとも一時期において骨細胞から分泌される FGF23 の血清濃度が低下すること、この変化に関連して血清無機リン濃度、血清総カルシウム濃度が低下することなどが明らかとなった。運動が骨へ与える影響は局所的であると考えられているが、全身性のリン・カルシウム代謝にも影響を与えていることが示された。

#### 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 2 件)

梅村義久、本田亜紀子、原田健次、十河直太、水野貴正、2 週間のジャンプトレーニング期間における血清 FGF23 の動態、中京大学体育研究所紀要、査読無、28 巻、2014、1-5

本田亜紀子、水野貴正、王国棟、原田健次、瀧本未来、梅村義久、トレーニングがラット血清 FGF23 濃度に及ぼす影響、中京大学体育研究所紀要、査読無、27 巻、2013、51-54

##### [学会発表](計 2 件)

本田亜紀子、梅村義久、トレーニングがラットの血清 FGF23 濃度に及ぼす影響、第 17 回日本体力医学会東海地方会、2013 年 3 月 16 日、愛知学院大学

梅村義久、骨密度・骨強度を高める運動、日本体育学会第 62 回大会、2011 年 9 月 25 日、鹿屋体育大学

#### 6. 研究組織

##### (1) 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