

跳躍が雄ラットの骨代謝におよぼす効果

—跳躍時刻の比較—

末田 香里, 鬼頭 信子*, 大森 幸子**,
安達 恵子+, 奥村 恭子+, 望月 利恵+, 森島香葉子+

The Effect of 6-week Jump-training on Bone Turnover in Young Male Rats —Comparison of Jumping Times of Day—

Kaori SUEDA, Nobuko KITOU*, Sachiko OHMORI**,
Keiko ADACHI+, Kyouko OKUMURA+, Rie MOCHIZUKI+ and Kanako MORISHIMA+

緒 言

思春期において骨密度が急激に増加し、さらに10歳代の終わりに骨密度はそのピークの90%に達する¹⁾。従って骨粗鬆症予防のために10歳代のはじめに最大骨量を増やしておくよう指導されている²⁾。一般に運動や荷重により骨量は増加する。これは骨に加えられた機械的圧力方向に骨量が増加するため³⁾と考えられているが、運動が骨代謝に及ぼすメカニズムについては十分解明されていない。また、運動種目により骨代謝に対する反応性は異なり、骨粗鬆症患者においても運動の骨の代謝回転に対する効果は一定ではない。

近年種々の骨代謝マーカーが開発され、その中でも尿中デオキシピリジノリンは最もすぐれた吸収マーカーの一つとされている⁴⁾。デオキシピリジノリンはタイプIコラーゲンの架橋物質であり、コラーゲン線維の安定性に寄与している。コラーゲンが新生され、骨基質に取り込まれた後に、コラーゲン分子間にはじめて生成されるため、骨形成時には存在せず、骨吸収時の骨破壊により放出される。骨中酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼは破骨細胞で合成され骨吸収の指標であり、骨中アルカリ性ホスファターゼは分化した骨芽細胞で産生され、骨芽細胞の骨形成機能をよく反映する⁵⁾。

一方血清中のPTHや血清中のカルシウムイオン濃度をはじめ骨形成や骨吸収に関わる様々な過程に概日リズムが報告されている⁶⁾。Blumsohnらは、閉経前女性におけるカルシウム剤補充の効果は、投与時刻により異なり、投与のタイミングも考慮すべきであると述べている⁷⁾。

本実験では成長期雄ラットに跳躍を負荷し、骨量への効果ならびに生化学指標をもちいて骨代謝に及ぼす効果について検討した。また異なる時刻に同じ量の跳躍を負荷した場合についても比較した。

*名古屋女子大学大学院生活学研究科, **名古屋大学環境医学研究所,
+名古屋女子大学家政学部平成10年卒業

方 法

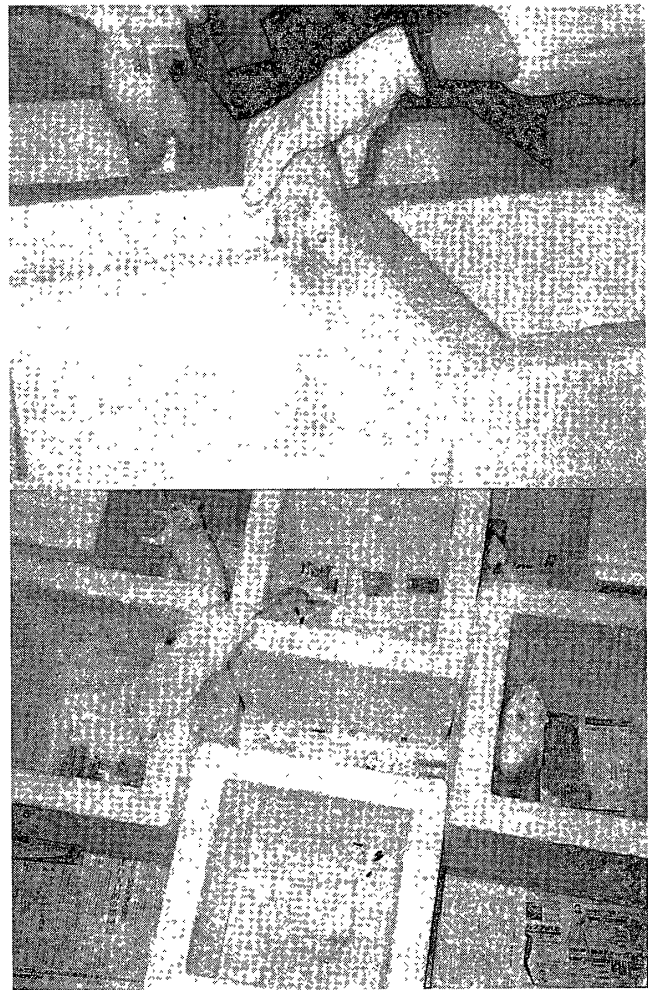
1. 実験動物

4週齢の Fischer 344雄ラットを購入し、室温 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 2\%$ 、照明8:00~20:00の人工灯環境下で、個別ケージで飼育した。飼料(日本クレア株式会社CE-2)、水は自由摂取とした。1週間の予備飼育後、ラットを「対照群」、「寝る前跳躍群」、「目覚め跳躍群」の三群に分けた。ラットは夜行性なので、寝る前跳躍群は午前9時に、目覚め跳躍群は午後5時に跳躍を負荷した。各週1回代謝ケージに移し、24時間尿を採取した。6週間跳躍負荷終了の翌日、エーテル麻酔したラットの下大静脈より採血後、臓器を摘出した。

跳躍負荷はUmemuraらの方法⁸⁾を参考にして、ストレスの影響を少なくするため電気刺激をもちいず、複数のラットを同時時間帯に、自発的に跳躍させた。図1に示すように、発泡スチロール(内径 $22 \times 22\text{ cm}$)の枠を並べて、枠内にラットを入れた。ラットを底から跳躍させ、発泡スチロール上端に上肢ではいあがる動作をさせ、さらに次の跳躍をさせるため検者はラットを掴んで底に落とす、という一連の動作を繰り返しおこなった。一匹ずつの跳躍回数を数え、終了したラットはケージに戻した。跳躍負荷は週に5日とし、1週目は18cmの高さを30回、2週目には40回、3週目には30cmの高さを30回、それ以降週に10回ずつ回数を多くし、6週目には60回の跳躍を課した。10回の跳躍所要時間は寝る前跳躍群では 9.9 ± 2.8 分、目覚め跳躍群では 9.0 ± 3.0 分であった。

2. 分析項目および方法

- 1) 脱脂乾燥重量：骨をクロロフォルム・メタノール(2:1)混合液に5日間浸漬後、 120°C で1時間乾燥し、重量を測定した。
- 2) カルシウム：骨中カルシウムは、骨を灰化後、塩酸で溶解し、EDTA逆滴定法で測定した。尿中カルシウムもEDTA逆滴定法で測定した。
- 3) 骨ホスファターゼ活性：大腿骨をドライアイス・アセトン中で凍結後、乳鉢で粉砕し、骨



週	1	2	3	4	5	6
高さcm	18	18	30	30	30	30
回数	30	40	30	40	50	60

図1 ラットの跳躍

重量の10倍量の水を加えて酵素を抽出した。この抽出液のアルカリ性ホスファターゼ活性および酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ活性を、フェニルリン酸基質法(和光純薬工業株式会社, テストワコー)で測定した。

4) 尿中コルチコステロン, デオキシピリジノリン: 尿中の遊離型コルチコステロンをジクロロメタン抽出後, ラジオイムノアッセイで測定した。尿中デオキシピリジノリンはエンザイムノアッセイ(Metra Biosystems, PYRILINKS)で測定した。

3. 統計処理

コントロール群と跳躍群および跳躍群間の値をStudent's t 検定をもちいて検討した。統計的有意水準は5%以下とした。

結 果

1. 体重および摂餌量

最終体重は対照群, 寝る前跳躍群および目覚め跳躍群の三群間で差はなかった。6週間の総摂餌量は三群間で差はなく, 飼料効率も三群間で差はなかった(表1)。

表1. 跳躍6週間負荷後の体重, 摂餌量および飼料効率

	検体数	最終体重	体重増加量	総摂餌量	飼料効率
		g	g	g	(体重増加量/総摂餌量)
対照群	5	208.9±23.5	121.9±21.4	679.2±58.9	0.180±0.020
寝る前跳躍群	5	211.3±20.3	124.3±19.2	665.2±61.4	0.187±0.013
目覚め跳躍群	6	199.7±13.1	113.4±10.9	667.6±35.5	0.170±0.013

Mean ± SD

2. 臓器重量・筋肉重量

肝臓, 胸腺, 副腎重量, 睪丸および睪丸皮下脂肪は三群間で差はなかった。ヒラメ筋, ヒフク筋重量は三群間で差はなかった(表2)。

表2. 跳躍6週間負荷後の臓器および筋肉重量

	検体数	肝臓	胸腺	副腎	睪丸	睪丸皮下脂肪	ヒラメ筋	ヒフク筋
		g	g	mg	g	g	mg	g
対照群	5	7.94±1.03	0.28±0.06	36.4±4.0	2.36±0.44	2.15±0.72	62.8±11.6	1.17±0.15
寝る前跳躍群	5	8.05±0.79	0.32±0.04	42.7±2.3	1.98±0.69	2.01±0.63	70.3± 7.3	1.25±0.18
目覚め跳躍群	6	7.67±0.65	0.28±0.04	34.2±8.3	2.20±0.24	1.82±1.10	62.4± 6.3	1.23±0.08

Mean ± SD

3. 骨重量, カルシウム含有量および骨中ホスファターゼ活性

上腕骨重量は, 対照群と比較して跳躍群で重くなる傾向にはあるが, 差はなかった。大腿骨湿重量, 脱脂乾燥重量, 灰化重量およびカルシウム量は, 対照群に比較して両跳躍群で重い傾向にあるが, 有意差はなかった(表3)。

表3. 跳躍6週間負荷後の大腿骨重量, 灰化重量およびカルシウム量

	検体数	上腕骨		大 腿 骨		カルシウム量 mg
		湿重量	湿重量	脱脂乾燥重量	灰化重量	
		g	g	g	g	
対照群	5	0.27±0.04	0.63±0.08	0.38±0.05	0.21±0.03	77.8±11.4
寝る前跳躍群	5	0.30±0.02	0.68±0.06	0.40±0.04	0.23±0.02	83.9± 6.3
目覚め跳躍群	6	0.30±0.01	0.68±0.04	0.42±0.03	0.23±0.01	82.7± 4.5

Mean±SD

表4. 跳躍6週間負荷後の大腿骨ホスファターゼ活性

／骨	検体数	アルカリ性ホスファターゼ	酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ
		KA単位	KA単位
対照群	5	0.362±0.117	0.581±0.190
寝る前跳躍群	5	0.470±0.169	0.666±0.158
目覚め跳躍群	6	0.545±0.131	0.817±0.206

Mean±SD

表5. 尿中デオキシピリジノリン, カルシウムおよびコルチコステロン合計値

検体数	デオキシピリジノリン	カルシウム	遊離型コルチコステロン
	nmol/5日間	mg/6日間	µg/6日間
対照群	42.6± 4.4	1.126±0.206	1.190±0.123
寝る前跳躍群	63.6± 8.0*	1.059±0.251	0.946±0.172*
目覚め跳躍群	73.4±15.1**	0.973±0.282	0.981±0.095*

Mean±SD, *p<0.05, **p<0.01(vs. 対照群)

大腿骨アルカリ性ホスファターゼ活性, 酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ活性ともに, 跳躍群で高い傾向にあるが, 対照群と差はなかった(表4)。

4. 尿中デオキシピリジノリン, カルシウム, 遊離型コルチコステロン

尿中デオキシピリジノリンは, 対照群と比較して, 1週目は寝る前跳躍群で, 3, 4週目では目覚め跳躍群が多かった(図2)。最終日の尿中デオキシピリジノリン量は, 対照群より両跳躍群で多い傾向にあった。5日間の尿中デオキシピリジノリン合計値は, 対照群に比較して, 両跳躍群で高かった(表5)。

尿中カルシウムはいずれの週においても, 三群間で差はなかった。6日間の合計カルシウム量も三群間で差はなかった。

尿中遊離型コルチコステロンは, 1, 2, 5週目において対照群と跳躍群の間で差があったが, 一定の傾向はなかった。6日間合計値は対照群に比較して, 両跳躍群で低かった。

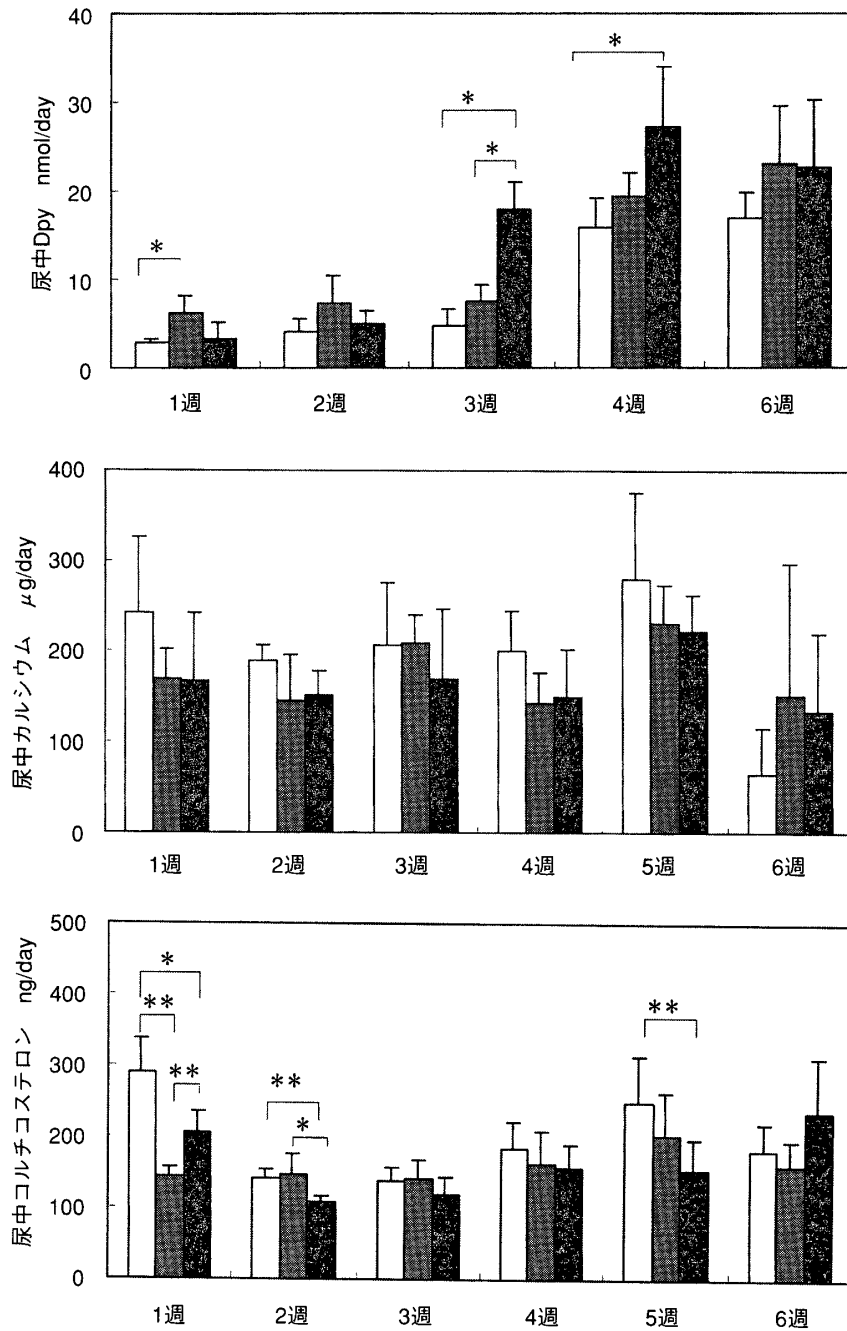


図2 尿中デオキシビリジノン，カルシウムおよび遊離型コルチコステロンの経週変化
 □対象群 ■寝る前跳躍群 ■目覚め跳躍群
 Mean±SD, *p < 0.05, **p < 0.01を示す

考 察

運動は骨量を増加させる重要な要因だと考えられてきた⁹⁻¹¹⁾。しかし、運動が骨代謝におよぼすメカニズムについては十分解明されていない。中学、高校などの運動部では授業開始前の朝練、放課後練習が行われているが、今回それを模して成長期雄ラットに睡眠の前後に6週間

の跳躍を負荷した。

6週間の跳躍後、最終体重、総摂餌量は、対照群と跳躍群で差はなかった。副腎、胸腺重量は対照群と跳躍群で差がなく、6日間の尿中遊離型コルチコステロン合計量は、むしろ跳躍群で低い傾向であった。跳躍負荷はラットにとってさほど強いストレスではなかったと推察された。

上腕骨重量、大腿骨重量、大腿骨中灰分およびカルシウム量は、対照群と比較して、跳躍群で重い傾向にあったが、有意な増加ではなかった。跳躍群のヒラメ筋、ヒフク筋とも対照群と差がなかった。Umemuraら⁸⁾は雌ラットにおいて、週5回、8週間の跳躍負荷で骨量、破弾力が増すと報告している。性差が大きい要因であると推察されるが、跳躍期間、運動強度も関係しているであろう。

デオキシピリジノリンの尿中濃度は骨吸収の有力な指標である⁴⁾。尿中デオキシピリジノリンの経過変化をみると、対照群と比較して、両跳躍群で常に高い傾向にあり、5日間合計デオキシピリジノリン値は跳躍群で高かった。すなわち、全期間を通じて跳躍群で骨吸収が亢進していた。尿中遊離型コルチコステロン量と尿中デオキシピリジノリン量の対応がみられないことより、骨分解にストレスホルモンの関与は少ないと推察された。

一方骨量(大腿骨、上腕骨)は跳躍群と対照群で差がなく、むしろ跳躍群で重い傾向にあり、合計尿中カルシウム量(6日間)は対照群と跳躍群で差がなかった。跳躍群において骨吸収が亢進しているにもかかわらず、骨量、尿中カルシウム排泄量が変わらなかったことより、跳躍群では骨合成も亢進していると考えられる。すなわち跳躍群では骨合成・骨吸収の代謝回転が亢進していたと推察された。跳躍6週間後の骨芽細胞が合成する骨中アルカリ性ホスファターゼ活性、破骨細胞の指標である酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ活性が、有意差はなかったが、跳躍群でともに高い傾向であったことも、高代謝回転を示唆している。

ラットにおける跳躍負荷が骨代謝回転を亢進する結果は、Woitgeら¹²⁾のヒト無酸素トレーニングでの結果と一致する。彼らは無酸素トレーニング群では骨代謝回転が亢進し、骨量の増加は顕著ではないと報告している。一方有酸素トレーニング群では、骨形成は変わらず、骨吸収が抑制され、その結果骨量が増加する、故に骨代謝におよぼす効果は運動の種類により異なると述べている。長期間の無酸素トレーニングが骨代謝におよぼす効果についてのデータではないが、Nishiyamaら¹³⁾は、血中オステオカルシン濃度を測定し、運動選手は非運動選手より骨の代謝回転が速いと推測している。Woitgeらとは異なり、Umemuraら¹⁴⁾は雌ラットにおいて跳躍トレーニングは走行トレーニングより下肢骨に与える効果が大きいと述べている。また、Eliakinら¹⁵⁾は5週間の持続トレーニングで、骨形成指標が上昇し、骨吸収指標が低下すると報告している。

跳躍負荷時刻が9時と17時の場合を比較すると、最終骨量ならびに骨代謝回転に及ぼす効果に差はなかった。運動パフォーマンスは早朝より夕方のほうがよい、それは体温の概日リズムが関係しているだろうと報告されている¹⁶⁾が、今回のラット跳躍の所要時間は二群間に有意な差はなかった。

要 約

成長期ラットに6週間の跳躍運動を負荷し、骨代謝に及ぼす効果を検討し、跳躍負荷時刻についても比較した。5週齢のフィッシャー系雄性ラットを、対照群、寝る前跳躍群(9時に跳躍)と目覚めに跳躍群(17時に跳躍)の3群に分け、6週間の跳躍を負荷した。

その結果、1) 体重、副腎、胸腺重量は対照群、寝る前跳躍群、目覚め跳躍群の三群間で差はなかった。ヒラメ筋、ヒフク筋重量は三群間で差はなかった。2) 大腿骨重量、灰化重量、カルシウム量、上腕骨重量は対照群、跳躍群間で差はなかった。骨中アルカリホスファターゼ活性、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ活性は、対照群と跳躍群で差はなかったが、跳躍群で高い傾向にあった。3) 尿中デオキシピリジノリン合計値(5日間)は、対照群と比較して、両跳躍群で大きく、骨吸収が亢進していた。尿中カルシウム合計値(6日間)は三群間で差はなかった。尿中遊離型コルチコステロン合計値(6日間)は対照群と比較して、跳躍群で小さかった。

以上6週間の跳躍により骨の合成・分解の代謝回転が亢進したと推察された。跳躍負荷時刻による差はなかった。

参 考 文 献

- 1) Glastre C, Braillon P, David L, Cochat P, Meunierr PJ, Delmas PD: Measurement of bone mineral content of the lumbar spine by dual energy X-ray absorptiometry in normal children: correlations with growth parameters, *J Clin Endocrinol Metab*, **70**, 1330-1333(1990)
- 2) 清野佳起, 田中弘之, 西山宗六: 日本人若年女子の最大骨量, *医学のあゆみ*, **170**, 1041-1042 (1994)
- 3) Basett CAL: Biophysical principles affecting Bone structure. In: *The Biochemistry and Physiology of Bone*. VOL.III. (Bourne GH. Ed)pl, Academic Press, New York(1972)
- 4) Robins SP, Woitge HW, Hesley T, Ju J, Seyedin S, Seibel MJ: Direct enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res*, **9**, 1643-1649(1994)
- 5) 小山岩雄, 中孝則, 河合信一郎, 稲苺茂, 菰田二一: 骨代謝マーカーとしての骨型ALP, *臨床検査*, **42**・2, 161-164(1998)
- 6) 篠田壽: 骨代謝の時間薬理学, *Molecular Medicine*, **34**・3, 310-317(1997)
- 7) Blumsohn A, Herrington K, Hannon RA, Shao P, Eyre DR and Eastell R: The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone formation, *J Clin Endocrinol Metab*, **79**, 730-739(1994)
- 8) Umemura Y, Ishiko T, Yamauchi T, Kurono M and Mashiko S: Five jumps per day increase bone mass and breaking force in rats, *J Bone Miner Res*, **12**, 1480-1485(1997)
- 9) Forwood MR, Burr DB: Physical activity and bone mass: Exercises in fertility?, *Bone Miner*, **21**, 89-112(1993)
- 10) Gutin B, Kasper MJ: Can vigorous exercise play a role in osteoporosis prevention? A review. *Osteoporos Int*, **2**, 55-69(1992)
- 11) Rutherford OM: The role of exercise in prevention of osteoporosis, *Physiotherapy*, **76**, 522-526(1990)
- 12) Woitge HW, Friedmann B, Suttner S, Farahmand I, Muller M, Schmidt-Gayk H, Baertsch P, Ziegler R and Seibel MJ: Changes in bone turnover induced by aerobic and anaerobic exercise in young males, *J Bone Mine*, **13**・12, 1797-1804(1998)
- 13) Nishiyama S, Tomoeda S, Ohta T, Higuchi A and Matuda I: Differences in basal and postexercise osteocalcin levels in atheletic and nonatheletic humans, *Calcif Tissue Int*, **43**, 150-154 (1988)

- 14) Umemura Y, Ishiko T, Tsujimoto H, Miura H, Mokushi N and Suzuki H: Effects of jump training on bone hypertrophy in young and old rats, *Int J Sports Med*, **16**· 6, 364–367(1995)
- 15) Elhakim A, Raisz LG, Brasel JA and Cooper DM. Evidence for increased bone formation following a brief endurance-type training intervention in adolescent males. *J Bone Miner Res*, **12**, 1708–1713(1997)
- 16) Bernard T, Giacomoni M, Gavarry O, Seymat M: Time-of-day Effects in maximal anaerobic leg exercise. *Eur J Appl Physiol*, **77**, 133–138(1998)