

メカニカルストレスが脳卒中易発症性自然発症高血圧ラット (SHRSP) の骨密度に及ぼす影響

梅村義久* 長澤省吾** 本田亜紀子*** 十河直太**** 佐藤はるか*****

Effect of mechanical stress on bone mineral density
in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP)

Yoshihisa UMEMURA, Seigo NAGASAWA, Akiko HONDA,
Naota SOGO and Haruka SATO

Abstract

To assess the effects of mechanical stress on bone mineral density in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP), ten-week-old SHRSP were assigned to a jump exercise (SHR-E, n=11) or a sedentary group (SHR-S, n=11). Normotensive Wistar-Kyoto rats (WKY) were also assigned to a jump exercise (WKY-E, n=11) or sedentary group (WKY-S, n=11). Rats in the exercise groups jumped 10 times/day, 5 days/wk, for 6 weeks, with a jumping height of 40 cm. After the experiment, the bone mineral density of dissected left tibia was measured using dual energy X-ray absorptiometry. There were no significant differences in final body weight or systolic blood pressure between either the SHR-E and SHR-S or the WKY-E and WKY-S. Tibial bone mineral density was greater in SHR-E (+4.1%, $P < 0.05$) than in SHR-S, and in WKY-E (+5.8%, $P < 0.01$) than in WKY-S. Tibial bone mineral content was also greater in SHR-E (+10.0%, $P < 0.01$) than in SHR-S, and in WKY-E (+6.5%, $P < 0.05$) than in WKY-S. From these results, we conclude that, despite their abnormal calcium metabolism, the bones of SHRSP have the potential to increase bone mineral density by adapting to jump exercise as same as the bones of WKY.

I. 緒言

自然発症高血圧ラット (Spontaneously Hypertensive Rat: SHR) は人間の本態性高血圧症のモデル動物であり、岡本、青木¹⁾によって Wistar-Kyoto 系のラット (WKY) の中から血圧の高い個体を交配することによって分離された系統である。また、脳卒中易発症性自然発症高血圧ラット (Stroke-prone Spontaneously Hypertensive Rats: SHRSP) は SHR の中でも脳卒

中を自然発症しやすい系統で、家森²⁾によって研究開発された。これらは高血圧や高血圧性血管障害を自然発症する動物モデルとして世界的に広く研究されている。

この SHR および SHRSP は遺伝的に高血圧・脳卒中になるだけでなく、種々のカルシウム代謝異常を持っていることが知られている。このため、コントロールラットである WKY よりも骨密度が低い、骨の含有ミネラル成分量が少ないなどの特徴を示す³⁾。このような傾向は

*教授、**嘱託講師、***非常勤講師、****大学院生

SHRSPで特に強く表れると報告されている⁴⁾。

一方、運動などによってメカニカルストレスが骨に与えられると、骨は重量を増し強度が強くなることが知られている。その理由はメカニカルストレスが骨を歪ませ、この歪みが刺激となって骨量が増強されるからと考えられている^{5,6)}。この適応は局所的に起こる、すなわちメカニカルストレスによって歪みが生じた部分だけが適応を起こす。しかし、全身性(体液性)のホルモンや代謝の影響も関係していて、適応が起こる歪みの閾値を変化させていると考えられている^{5,6)}。

従って、遺伝的にカルシウム代謝異常があり骨減少症となる SHRSP の骨は、メカニカルストレスに対する適応力が WKY とは異なる可能性が考えられる。実際に先行研究によるとランニング⁷⁾やスイミング⁸⁾などの運動は SHRSP の骨密度や骨塩量を逆に低下させることが報告されている。しかし、ラットのランニングやスイミング運動では十分なメカニカルストレスが与えられるかどうかは疑問である。

そこで、本研究ではジャンプ運動により強いメカニカルストレスを与えるトレーニングが SHRSP の骨密度・骨塩量にどのような影響を与えるかについて検討することを目的とした。

II. 実験方法

1) 動物および飼育方法

実験動物として7週齢のSHRSPおよびWKY系雌ラットを各22匹購入した(星野試験動物)。3週間の予備飼育後、ランダムに次の4群(各n=11)に分けた。

- ① WKY セデンタリー群(非運動コントロール群)(WKY-S)
- ② WKY ジャンプ運動群(WKY-E)
- ③ SHRSP セデンタリー群(非運動コントロール群)(SHR-S)
- ④ SHRSP ジャンプ運動群(SHR-E)

ジャンプ運動群には10週齢時から6週間のジャンプトレーニングをさせた。ジャンプ運動は4方を40cmの高さの板で囲んだ箱の底か

ら、板の上端に上肢で捕まるまでのジャンプをさせるトレーニング方法であり¹⁶⁾¹⁷⁾、ジャンプ回数は1日10回、トレーニング頻度は週5回とした。箱の底には電気刺激板が置いてあり、ラットがジャンプをしない場合には四肢の先に電流が流される。しかし、ラットは2~3日でトレーニングを覚えるため、その後はほとんど電流を受けることはなくなる。箱の上に登ってきたラットは手で捕らえられ、つぎのジャンプのために再び箱の底に戻される。このときには足にメカニカルストレスが加わらないように静かに底に戻される。従って、足の骨に大きなメカニカルストレスが加わるのは、ラットがジャンプのために踏み切るときである。

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。トレーニングは暗期に行った。標準飼料(固形CE-2、日本クレア)および水(水道水)は自由摂取とし、室温は23℃に設定した。ジャンプ運動群およびセデンタリー群ともに飼育用ケージの中での運動は制限しなかった。本研究は中京大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施された。

2) 収縮期血圧の測定

10週齢から2週間ごとに尾動脈の収縮期血圧をTale Pulse Pick-up法(NK-210、夏目)で測定した。測定時にはラットを保定したまま約37度で加温して、尾動脈の血流を強くした。測定は4回以上おこない、平均値を個体の代表値とした。

3) 骨密度の測定

トレーニング期間終了後、胫骨を摘出して二重エネルギーX線吸収法(DXA)による骨密度測定器(DCS-600EX、アロカ)を用いて骨密度(BMD)および骨塩量(BMC)を測定した。まず、全胫骨のBMDとBMCを測定した後、胫骨を近位から遠位までの20部位(A1~A20)に分割して、それぞれの部位でのBMDおよびBMCを測定した。

4) 統計的手法

各項目の値はすべて平均±標準偏差で示した。運動群とセデンタリー群間の平均値の差の検定は対応のない t-test を用いて行い、危険率 5% 以下を有意水準とした。

Ⅲ. 結果

図1にトレーニング期間中の体重の変化を示す。SHRSPとWKYを比べるとWKYの方が重かった。実験期間を通してWKY-SとWKY-Eの間には体重に有意な差はなかった。また、SHR-EとSHR-Sの差も15週齢時以外においては有意ではなかった。

図2にトレーニング期間中の収縮期血圧の変化を示す。SHRSPの収縮期血圧は190 mmHg以上の高い値を示し、年齢とともに上昇する傾向があった。WKYの収縮期血圧は140~150 mmHg程度で上昇する傾向はなかった。また、SHRSP、WKYともに運動群とセデンタリー群の群間差は有意ではなかった。

図3に全胫骨の骨密度の結果を示す。SHRSPとWKYを比べるとWKYの方が高かった。また、WKY-EはWKY-Sに比べ有意に高く(+5.8%)、SHR-EはSHR-Sに比べ有意に高かった(+4.1%)。

図4に全胫骨の骨塩量の結果を示す。SHRSPとWKYを比べるとWKYの方が高かった。ま

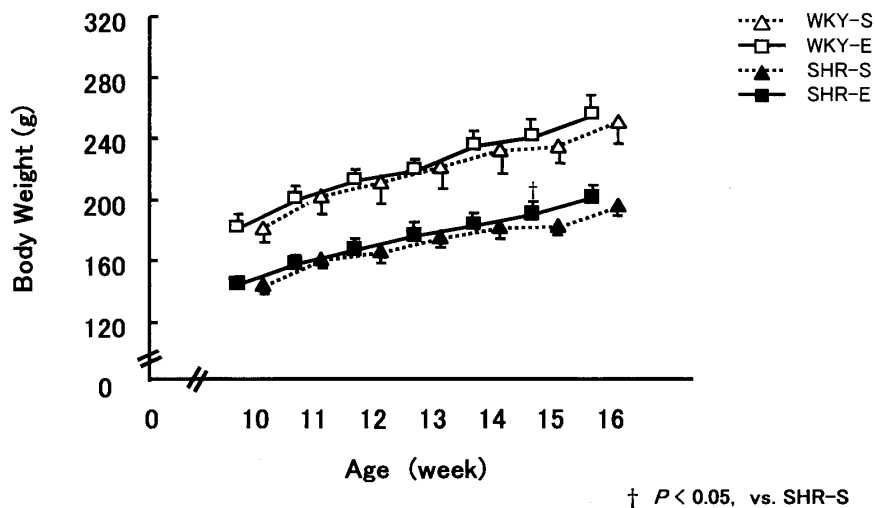


図1. 体重の経時的変化

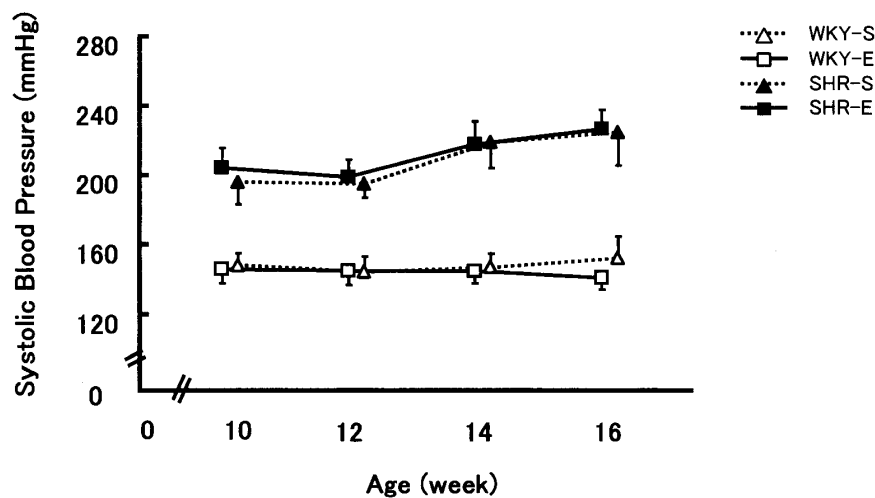


図2. 収縮期血圧の経時的変化

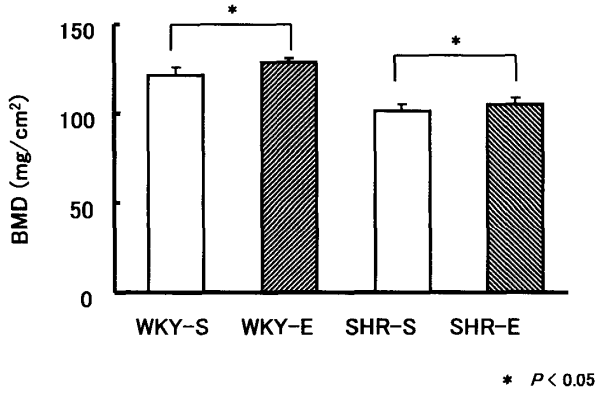


図3. 全胫骨の骨密度

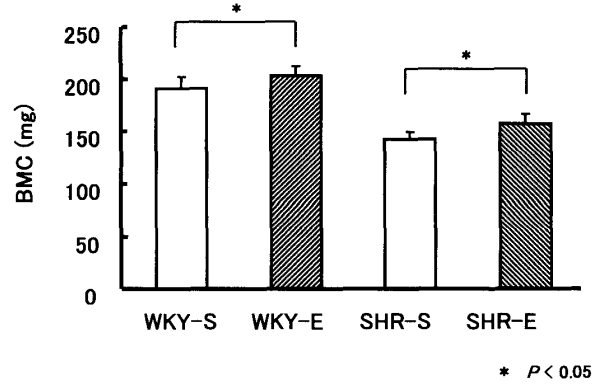


図4. 全胫骨の骨塩量

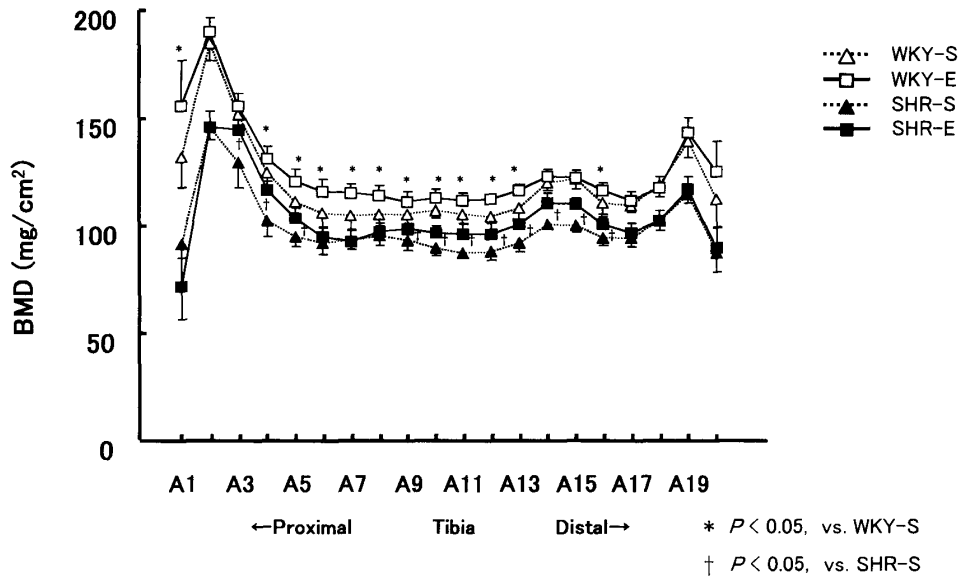


図5. 胫骨の部位別骨密度

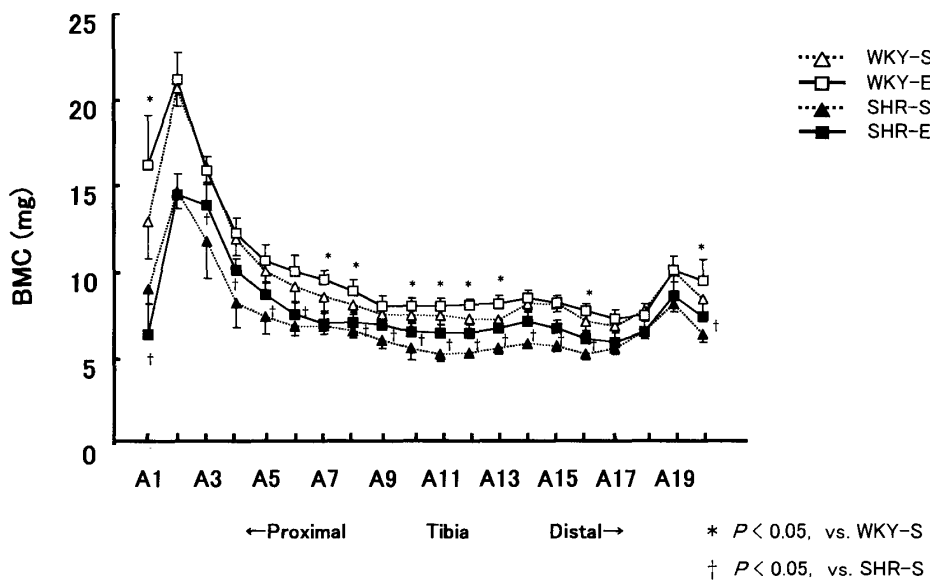


図6. 胫骨の部位別骨塩量

た、WKY-EはWKY-Sに比べ有意に高く (+6.5%)、SHR-EはSHR-Sに比べ有意に高かった (+10.0%)。

図5、図6に胫骨の部位別骨密度および骨塩量の結果を示す。WKY、SHRSPともに運動群で有意に高くなっている部位は骨幹部に多く、A2部位やA19部位などの骨端部では有意な差がなかった。

IV. 考察

本研究で明らかとなったことは、カルシウム代謝異常を持ち骨減少症の病態を示すSHRSPにおいてもジャンプトレーニングは有効であり、胫骨の骨密度・骨塩量を高めることである。非運動群と比較した場合、運動群の骨密度の増加率はSHRSPで+5.8%、WKYでは+4.1%とほぼ同程度であった。また、運動群の骨塩量の増加率はSHRSPで+6.5%、WKYでは+10.0%と、むしろSHRSP群の伸び率が高かった。SHRSPにおけるカルシウム代謝異常によって、ジャンプ運動により与えられるメカニカルストレスに対する骨の反応性が減ずることはないことが明らかとなった。

SHRにおいては種々のカルシウム代謝異常が報告されている。尿中カルシウム排泄量が多い⁹⁾、副甲状腺ホルモン濃度が高い⁹⁾¹⁰⁾、カルシトニン濃度が高い¹¹⁾、血液中無機リン酸濃度が低い¹¹⁾¹²⁾、ビタミンDの濃度が低い³⁾などである。SHRは体内のカルシウム保持能力が低く体外へ流失してしまいやすい特性があり、この異常を代償するために種々の変化がおきていると考えられる¹³⁾。また、これらの異常が一因となり高血圧症になると考えられている。さらに、骨減少症になる原因とも考えられる。これらの異常はSHRSPにも共通する特徴である⁴⁾。

体液性のカルシウム代謝異常は骨のメカニカルストレスに対する適応性を変化させる可能性がある。Frost⁵⁾⁶⁾のメカノスタット理論によると、骨はメカニカルストレスによってある閾値以上の歪みを与えられると骨量を増加させる適応を起し、反対にある閾値以下の歪みしか与え

られていないと骨量を減少させる適応を起すとされている。そして、ホルモンなどの体液性の因子はこれらの閾値を変化させることによって、骨のメカニカルストレスに対する適応を変化させると考えている。しかし、SHRSPにおけるカルシウム代謝異常に伴う体液性の変化は、骨のメカニカルストレスに対する適応閾値を大きくは変化させなかったと考えられる。

Kimらはスイミング⁸⁾やランニング⁷⁾によるトレーニングはSHRSPの大腿骨の骨密度および骨強度を低下させると報告している。しかし、本研究で用いたジャンプによるトレーニングでは胫骨の骨密度が上昇した。この違いはトレーニング方法が異なることで説明できる。すなわち、スイミングやランニングではジャンプ運動ほど大きなメカニカルストレスが与えられないため、骨密度が上昇しなかったと考えられる。反対に骨密度が低下した理由は、スイミングやランニングの運動強度が強すぎたことが指摘される。運動強度が強いトレーニングでは、ストレスホルモンなどの影響で骨密度が低下する場合のあることが報告されているからである¹⁴⁾¹⁵⁾。一方、我々の用いたジャンプトレーニングでは大きなメカニカルストレスが与えられる。また、1日10回ジャンプさせるだけなので1分以内に終わるトレーニングであるため¹⁶⁾¹⁷⁾、ラットに与える精神的なストレスが少ないと考えられる。ジャンプ運動群と非運動群に体重の差が表れないことが、ジャンプトレーニングではストレスが少ないことの一つの傍証となっている。

適度な全身持久的な運動はSHR¹⁸⁾およびSHRSP¹⁹⁾の高血圧を改善させることが報告されている。また、全身持久的な運動はSHRのカルシウム代謝異常を改善させて血圧を降圧させるという可能性についても報告されている²⁰⁾。しかし、本研究においてはジャンプ運動の降圧降下は見られなかった。その理由は、ジャンプ運動は全身持久的運動ではなく、メカニカルストレスによる骨密度の上昇は骨の局所的な適応であり、全身的なカルシウム代謝の改善には結びつかなかったからと考えられる。

胫骨の部位別骨密度および骨塩量をみてみると、ジャンプ運動の効果は胫骨の骨幹部によく表れており骨端部には効果が少ないことがわかる。このことから、ジャンプの際には特に骨幹部に力が集中して骨が歪んだものと考えられる。

以上の結果から、カルシウム代謝異常を持ち骨減少症の病態を示す SHRSP においても強いメカニカルストレスは局所の骨密度・骨塩量を高めることが明らかとなった。すなわち、SHRSP におけるカルシウム代謝異常に伴う体液性の変化は、骨のメカニカルストレスに対する適応閾値を大きくは変化させないことが示された。

本研究は平成14年度中京大学特定研究助成によって行われた。

参考文献

- 1) Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 27: 282-93, 1963.
- 2) Yamori Y. Physiopathology of the various strains of spontaneously hypertensive rats. 556-581. *Hypertension*. Genest J. et al. (Eds.), McGraw-Hill, Montreal, 1983.
- 3) Lucas PA, Brown RC, Drueke T, Lacour B, Metz JA, McCarron DA. Abnormal vitamin D metabolism, intestinal calcium transport, and bone calcium status in the spontaneously hypertensive rat compared with its genetic control. *J Clin Invest* 78: 221-7, 1986.
- 4) Yamori Y, Fukuda S, Tsuchikura S, Ikeda K, Nara Y, Horie R. Stroke-prone SHR (SHRSP) as a model for osteoporosis. *Clin Exp Hypertens A* 13: 755-62, 1991.
- 5) Frost HM. Bone "mass" and the "mechanostat": a proposal. *Anat Rec* 219: 1-9, 1987.
- 6) Frost HM. On our age-related bone loss: insights from a new paradigm. *J Bone Miner Res* 12: 1539-46, 1997.
- 7) Kim CS, Fukuoka H, Igawa S, Miyazaki M, Ohta F. Compulsive running exercise induces osteoporosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP). *J Human-Enviro Sys* 2: 47-56, 1999.
- 8) Kim CS, Nakajima D, Yang CY, Oh TW, Igawa S, Miyazaki M, Fukuoka H, Ohta F. Prolonged swimming exercise training induce hypophosphatemic osteopenia in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP). *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 19: 271-7, 2000.
- 9) McCarron DA, Yung NN, Ugoretz BA, Krutzik S. Disturbances of calcium metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 3 (suppl 1): 162-7, 1981.
- 10) Merke J, Lucas PA, Szabo A, Cournot-Witmer G, Mall G, Bouillon R, Drueke T, Mann J, Ritz E. Hyperparathyroidism and abnormal calcitriol metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 13: 233-42, 1989.
- 11) Bindels RJ, van den Broek LA, Jongen MJ, Hackeng WH, Lowik CW, van Os CH. Increased plasma calcitonin levels in young spontaneously hypertensive rats: role in disturbed phosphate homeostasis. *Pflugers Arch* 408: 395-400, 1987.
- 12) Bindels RJ, van den Broek LA, van Os CH. Phosphate and calcium homeostasis in young spontaneously hypertensive rats. *Prog Clin Biol Res* 252: 93-8, 1988.
- 13) McCarron DA, Morris CD, Bukoski R. The calcium paradox of essential hypertension. *Am J Med* 82(1B): 27-33, 1987.
- 14) Bourrin S, Genty C, Palle S, Gharib C, Alexandre C. Adverse effects of strenuous exercise: a densitometric and histomorphometric study in the rat. *J Appl Physiol* 76: 1999-2005, 1994.
- 15) Wheeler DL, Graves JE, Miller GJ, Vander Griend RE, Wronski TJ, Powers SK, Park

- HM. Effects of running on the torsional strength, morphometry, and bone mass of the rat skeleton. *Med Sci Sports Exerc* 274: 520-9, 1995.
- 16) 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.
 - 17) Umemura Y, Sogo N and Honda A. Effects of intervals between jumps or bouts on osteogenic response to loading. *J Appl Physiol* 93: 1345-1348, 2002.
 - 18) Tipton CM, Sebastian LA, Overton JM, Woodman CR, Williams SB. Chronic exercise and its hemodynamic influences on resting blood pressure of hypertensive rats. *J Appl Physiol* 71: 2206-10, 1991.
 - 19) Tipton CM, McMahan S, Leininger JR, Pauli EL, Lauber C. Exercise training and incidence of cerebrovascular lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Appl Physiol* 68: 1080-5, 1990.
 - 20) Umemura Y, Ishiko T, Aoki K, Gunji A. Effects of voluntary exercise on bone growth and calcium metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Int J Sports Med* 13: 476-80, 1992.