

疲労困憊にいたる長時間の漸増負荷走トレーニングに対する骨応答

福田理香, 向井直樹, 高松 篤
(筑波大学体育科学系)

Bone adaptation to exhaustive endurance running training in young and adult rats

Rika FUKUDA, Naoki MUKAI and Kaoru TAKAMATSU
(University of TSUKUBA, Institute of Health and Sport Sciences)

Abstract. The purpose of this study was to investigate the influence of the exhaustive running training for 9 weeks on the adaptation of the bone mineral, and structural and mechanical properties of the tibial mid-diaphysial in young and adult rats. Female Wistar Inamichi strain 4-week (Young) and 10-week old (Adult) were divided into training (T) and control (C) group, respectively. The running training was conducted on a treadmill with gradual increasing speed and slope until exhaustion. Peripheral quantitative computed tomography (pQCT) was used to examine the changes in bone mineral content (BMC) and volumetric bone mineral density (vBMD) in cortical area. Dynamic stiffness and $\tan \sigma$ were measured with a viscoelastic spectrometer, and a three-point bending test was performed with an Instron-type universal testing machine. We also cut cross-sectional sections from the mid-shaft and evaluated morphometrical properties. By strenuous exercise training, cortical mid-shaft was markedly hypertrophied and BMC increased, whereas BMD was only increased in both age groups. In dynamic mechanical test, dynamic stiffness was significant decreased and loss tangent ($\tan \sigma$) significant increased in Y-T, whereas in A-T, both parameters was significant enhanced. In Y-T, ultimate load, ultimate deformation and stored energy were improved, while static stiffness was slightly decreased. In Adult rats, although exercise enhanced fracture load and stored energy, ultimate deformation and static stiffness did not change. These results suggest that although the exhaustive endurance training, what is relatively same intensity for Young and Adult rats, produced hypertrophy of tibial cortical area in both immature and mature, immature bone change into a more compliant material, whereas maure bone is excellent in viscoelasticity and stiff.

1. 緒言

身体活動に対する骨の適応は、強度依存的である (Booth et al. 1975)。宇宙環境暴露や寝たきり、ギプス固定など、外部からのメカニカルストレスが減弱した場合は、骨の脆弱化が起こるのに対して、適度な生理的範囲の負荷が課せられた場合は、モデリング・リモデリングが活性化され量的、構造的にポジティブな効果が表れるることは良く知られたことである。しかし、さらに負荷が強くなり骨の歪みが生理的閾値を越えると、微細な骨破綻が生じ、負荷の持続によって骨疲労は急速に進行し、やがては疲労骨折に至る (Frost, 1992)。これまで、メカニカルストレスに対する骨の応答に関する研究は数多く行われているが、骨破綻を生じるような生理的範囲を超えたストレスに関する研究は少なく (Margulies et al., 1986), 過剰なストレスに対する骨適応については不明な点が多い。Bourrin et al. (1994) や Hou

et al. (1990) は、約 80% VO₂ max 強度のトレーニングをラットに課し、骨の構造的、機械的適応について検討しているが、これらは骨粗鬆症の関心領域である大腿骨頸部や腰椎など、海面骨を多く含む部位の応答に焦点が当てられている。競技スポーツ場面でとくに問題とされる骨障害の一つに疲労骨折があげられるが、これは主に皮質骨に発症する。特に陸上競技長距離競技者の下肢でみられる疲労骨折は、激しいトレーニングによるホルモン環境の異常とともに、繰り返されるメカニカルストレスによるものと考えられる。先に我々は、生理的負荷範囲を超える骨疲労を生じさせることのできるトレーニングモデルを作成することに成功した (福田ら, 1998)。このトレーニングモデルを用いることによって、人工的な負荷ではなく、身体運動による過剰なメカニカルストレスに対する骨の応答を探ることができる。また、メカニカルストレスに対する骨応答は、骨の成熟度によっても大きく異なるため、この点も考慮に入れる必要がある。

そこで本研究では、トレーニングが負荷される時の骨成熟度の違いに焦点を当て、exhaustion にいたる長時間高強度の走トレーニングに対する脛骨皮質骨の応答について検討することを目的とした。

2. 研究方法

2. 1 被検動物

実験には、Wistar-Imamichi 系雌ラット、3 週齢 (Young 群) および 9 週齢 (Adult 群) を各 16 匹ずつ用いた。1 週間の予備飼育後、それぞれトレーニング群とコントロール群の 2 群、計 4 群 (Young-trained : Y-T, Young-control : Y-C, Adult-trained : A-T, Adult-control : A-C) に分けた。なお、Young および Adult の設定は、我々の先行研究の結果 (Fukuda et al., 1998)、すなわちラットの成長を体重や骨密度等で検討した場合、9 週齢頃まで著しく増加し、その後プラトーになるというデータに基づいて行った。

2. 2 トレーニング

トレーニング群 (Y-T, A-T) に対してトレッドミル (夏目製作所製、KN-73) を用い、走トレーニングを 2 回/日 (午前、午後)、5 回/週、9 週間行わせた。最初の 2 週間は予備走行期間として、ランニングスピードを 10m/min から 30m/min に、またランニング時間を 10 分から 60 分にそれぞれ漸増した。3 週目以降は、あらかじめ 1 週間単位の漸増負荷法式によるトレーニングプロトコールを作成し、これに基づき exhaustion にいたるまで走行させた。すなわち、最終条件にいたるまでの過程 (走行速度、傾斜、各条件での持続時間) は YT 群および AT 群とも同一であり、最終条件での持続時間のみ各個体によって異なるようにした。表 1 は、スタートおよび exhaustion 時点の走行条件を示したものである。exhaustion の判断基準は、電気刺激に反応しなくなった時点、あるいは電気刺激に反応はするが継続的な走行が不可能になった時点とした。なお、コントロール群は、ケージでの飼育のみとした。

2. 3 剖検

血中のエストロゲン濃度測定のために、屠殺日を同一性周期にあわせる必要がある。そのため、実験開始 7 週目から膣スメアにて性周期を確認し、すべて発情期に屠殺した。したがって、屠殺は 3 日間にまたがった。各個体、発情期の早朝に、ネンブタール麻酔を腹腔投与

して安樂死させ、血液を採取した後、ヒラメ筋、腓腹筋、両側の脛骨、心臓および両側の卵巢を摘出した。ヒラメ筋、腓腹筋、心室および卵巢は、直ちに湿重量を秤量した。脛骨は長さを計測した後、右側は 70% エタノールに浸漬し 4°C で、左側は -80°C でそれぞれ分析まで保存した。血液は血清に分離後、分析まで -80°C で保存した。

2. 4 分析項目および方法

2. 4. 1 血清 17β -エストラジオール濃度

血清 17β -エストラジオール濃度は、EIA 法による Estradiol Enzyme Immunoassay Kit (Cayman Chemical 社製) で二重測定した。

2. 4. 2 骨密度

摘出した右側脛骨を用いた。骨密度の測定には、Peripheral Quantitative Computed Tomography (pQCT; ノーランド社製, Stratec XCT-960) を用いた。これは、rotate-translate 方式の CT 技術を用いた末梢骨骨密度測定装置であり、3 次元の測定が可能であるため、本研究のような著しい骨サイズの変化が期待される実験における骨密度の評価には最適な装置である。70% エタノールで満たされたラット摘出骨用サンプル・ホルダー内に投影方向が一定になるよう脛骨を固定し、スキャンした。測定部位は、骨幹部 1/2 部位とし、横断皮質骨面積、骨塩量 (bone mineral content : BMC) および骨密度 (volumetric bone mineral density : vBMD) のデータを得た。

2. 4. 3 組織学的形態

骨密度測定後、骨幹部 1/2 部位を含む骨小片をメチルメタクリレートで包埋し、バンドソー (盟和商事製, BS-3000) およびグラインダーを用いて約 50 μ の非脱灰横断薄切研磨標本を作製した。その後、光学顕微鏡で拡大し、画像解析装置を用いて、皮質骨面積、骨髓腔面積および総横断面積 (皮質骨面積 + 骨髓腔面積) を計測し、% 皮質骨面積 (総横断面積に対する皮質骨面積の割合) を算出した。

2. 4. 4 力学試験

摘出した左側脛骨を使用した。動的粘弾性の測定は、Biomechanical spectrometer (オリエンテック社製) を用いた。スパン幅 18mm の試料台に脛骨後面を上にして固定後、骨長の 1/2 部位に黄銅の圧子を当て、まず骨に静的圧縮 150g を負荷した。次に、振幅 60g の動的荷重を 35Hz で負荷し、その時の変位量と荷重応答を測定した。すなわち、荷重

$$F = F_0 + F_1 \sin \omega t$$

に対する変位

Table 1. Protocol of exhaustive running training.

		Starting condition	Final condition
1st and 2nd week*	speed (m/min) uphill slope (degree)	10.0 0.0	30.0 0.0
3rd week	speed (m/min) uphill slope (degree)	30.0 5.0	45.0 7.5
4th week	speed (m/min) uphill slope (degree)	35.0 0.0	45.0 7.5
5th week	speed (m/min) uphill slope (degree)	37.5 0.0	47.5 7.5
6th week	speed (m/min) uphill slope (degree)	40.0 5.0	47.5 7.5
7th week	speed (m/min) uphill slope (degree)	42.5 0.0	47.5 7.5
8th week	speed (m/min) uphill slope (degree)	42.5 5.0	50.0 7.5
9th week	speed (m/min) uphill slope (degree)	42.5 5.0	50.0 7.5

a: The speed and duration of each running training session was gradually increased from 10m/minutes to 30m/minutes for 60 minutes.

$$D = D_0 + D_1 \sin(\omega t - \delta)$$

より、動的スティフネス

$$\text{Dynamic stiffness} = F_1/D_1 (\text{KN/mm})$$

および位相差 δ ($\tan \delta$) を求めた(図 1)。なお、Dynamic stiffness は剛性、 $\tan \delta$ は粘弾性効果の指標として

用いた。ここで、 F_0 は静的圧縮 (150g), F_1 は動的荷重 (60g), ω は動的荷重の周波数 (35Hz), σ は位相差である。

静的試験には、三点曲げ試験(図 2)を採用し、インストロンタイプの万能試験機を用いた。動的試験で用いたものと同様の試料台に固定し、クロスヘッド

下降速度 1.0mm/min により骨に破断が生ずるまで荷重した。荷重の大きさはロードセルを介して、ストレインアンプで増幅後、ペンレコーダーに記録した(図 3)。得られた荷重(N)-変形曲線より、極限破断荷重(fracture load)および極限破断変形(ultimate deformation)を求め、さらに極限破断荷重を極限破断変形で除することにより静的スティフネス(static stiffness: 静的曲げ剛性の指標)を算出した。また破断までの変形エネルギー量(stored energy)を求めた。

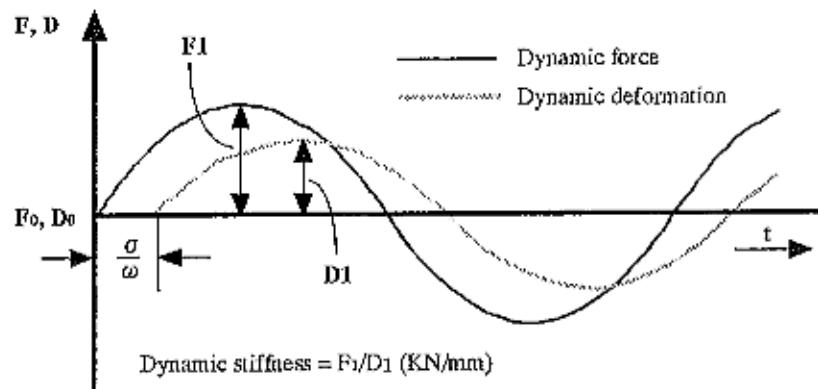


Fig. 1. Definition of dynamic stiffness and phase-lag in dynamic mechanical test.

ω : angular frequency, σ : phase lag

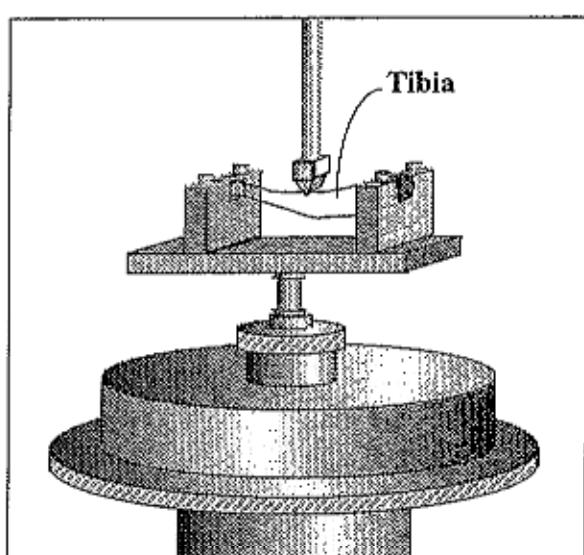


Fig. 2. Three-point bending test set-up.

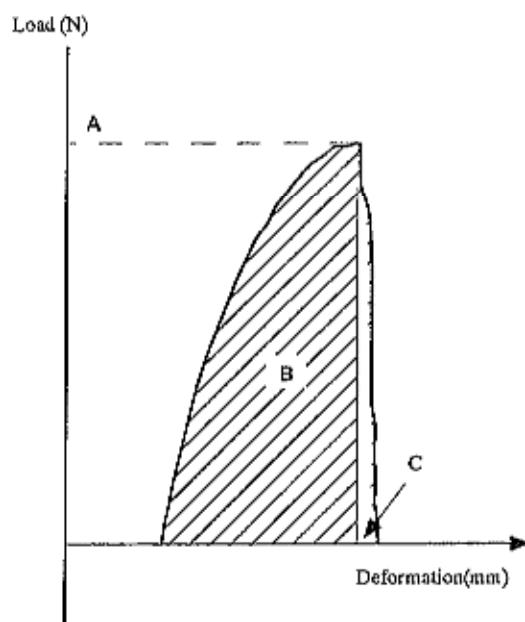


Fig. 3. Load-deformation curve in three-point bending test.

A = maximum load (N), B = stored energy (J),
C = deformation at maximum load (mm)

2. 6 統計処理

トレーニングの効果および週齢の違いによる検討を行うために、二元配置の分散分析を行った。また、各週齢におけるトレーニング効果を検討するために、C および T 群間で *t* 検定を行った。

3. 結果

3. 1 exhaustion 時間

午前・午後をあわせた 1 日あたりの平均走行時間は、Y-T 群では（最低 172.7 分、最高 230.9 分）であり、A-T 群では（最低 167.4 分、最高 222.6 分）であった。Y-T 群が A-T 群と比較して長い傾向にあったが、両群間に統計学的有意差は認められなかった。

3. 2 体重

図 4 に、実験期間中の体重の変化を示した。Young 群では、T 群、C 群とともに著しく増加し、実験期間を通して両群間に差は認められなかった。一方、Adult 群では Young 群と比較して緩やかな増加を示し、実験終了時点においては T 群が C 群と比較して有意に低値を示した。このことより、先行研究 (Fukuda et al., 1998) と同様に、Young 群は発育期に、Adult 群は発育が落ちていた時期であったことを確認した。

3. 3 筋、心室および卵巣の湿重量

表 2 に、腓腹筋、ヒラメ筋、心室および卵巣の湿重量を示した。腓腹筋、ヒラメ筋および卵巣重量は、Young、Adult 群ともに T 群と C 群との間に有意差は認められなかった。これに対して、心室重量は、Young、Adult 群ともに T 群が C 群と比較して顕著に高値を示した。このことは、本研究で行った exhaustion にいたる走トレーニングが、心機能に効果的なものであったことを示唆するものである。

3. 4 血清 17 β -エストラジオール濃度

血清 17 β -エストラジオール濃度は、Young 群、Adult 群とともに、トレーニングの影響は認められなかった (Y-C : 216±38 pg/ml, Y-T : 243±67 pg/ml, A-C : 225±53 pg/ml, A-T : 193±45 pg/ml)。

3. 5 骨密度

図 5 に、脛骨骨幹 1/2 部位の皮質骨における BMC および vBMD の結果を示した。BMC、vBMD は、Young 群、Adult 群ともに T 群が C 群と比較して有意に高値を示した。しかし、トレーニングの影響をコントロール群に対する増加率でみると、BMC は Young 群では 26.8%，Adult 群では 14.7%，vBMD はそれぞれ 2.0%，3.1% であり、Young 群、Adult 群とともに、vBMD の増加はわずかであるのに対して、BMC は著しいものであった。

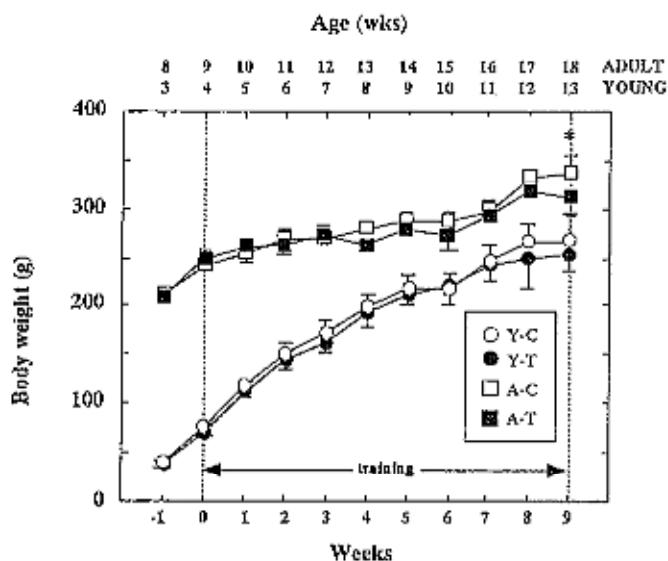


Fig. 4. Body weight during the experimental period.

*: $p < 0.05$ vs age-matched trained group.

Table 2 . Effects of exhaustive running training on wet weights of muscles, heart and ovary.

	YOUNG		ADULT	
	C (n=9)	T (n=8)	C (n=9)	T (n=6)
Muscle weight				
Gastro. (g)	1.30 ± 0.08	1.23 ± 0.08	1.59 ± 0.13	1.53 ± 0.11
Gastro. / BW (g/kg)	4.91 ± 0.39	4.840 ± 0.17	4.74 ± 0.26	4.89 ± 0.44
Soleus(g)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.02
Soleus / BW (g/kg)	0.43 ± 0.02	0.43 ± 0.03	0.41 ± 0.03	0.43 ± 0.05
Heart weight				
Heart(g)	0.86 ± 0.07	1.05 ± 0.07***	0.98 ± 0.06	1.20 ± 0.05**
Heart / BW (g/kg)	3.24 ± 0.21	4.13 ± 0.36***	2.91 ± 0.19	3.83 ± 0.08***
Ovary weight				
Ovary(g)	0.049 ± 0.011	0.051 ± 0.013	0.045 ± 0.008	0.044 ± 0.004
Ovary / BW (g/kg)	0.19 ± 0.05	0.20 ± 0.05	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.02

Values are means ± SD.

* Significantly different from age-matched control group (** : P < 0.001).

BW : body weight

3. 6 組織学的形態

表 3 に、脛骨長および骨幹部 1/2 部位における横断面の形態の結果を示した。脛骨長は、Young 群、Adult とともに T 群と C 群との間に有意差は認められなかった。皮質骨の形態に関しては、Young 群では、T 群が C 群と比較して皮質骨面積、骨髓腔面積とともに有意に高値を示し、総横断面積も有意に高値を示したが、% 皮質骨面積には両群間に有意差は認められなかつた。これに対して、Adult 群では、T 群が C 群と比較して皮質骨面積および総横断面積は有意に高値を示したが、骨髓腔面積には両群間に有意差は認められなかつたため、% 皮質骨面積は有意に高値を示した。

3. 7 力学特性

表 4 に、動的および静的力学試験の結果を示した。動的力学試験においては、

Young 群では、T 群が C 群と比較して動的スティフネスは有意に低値を示し、 $\tan \sigma$ は有意に高値を示した。これに対して、Adult 群では、T 群が C 群と比較して動的スティフネスおよび $\tan \sigma$ とも有意に高値を示した。一方静的力学試験においては、Young 群では、T 群が C 群と比較して破断荷重、極限破断変形量、変形エネルギー量とともに有意に高値を示したが、静的スティフネスは低値を示す傾向にあった。これに対して、Adult 群では T 群が C 群と比較して破断荷重は有意に高値を示したが、極限破断変形量には両群間に有意差は認められなかつたため、静的スティフネス、変形エネルギー量は高値を示す傾向にあつた。

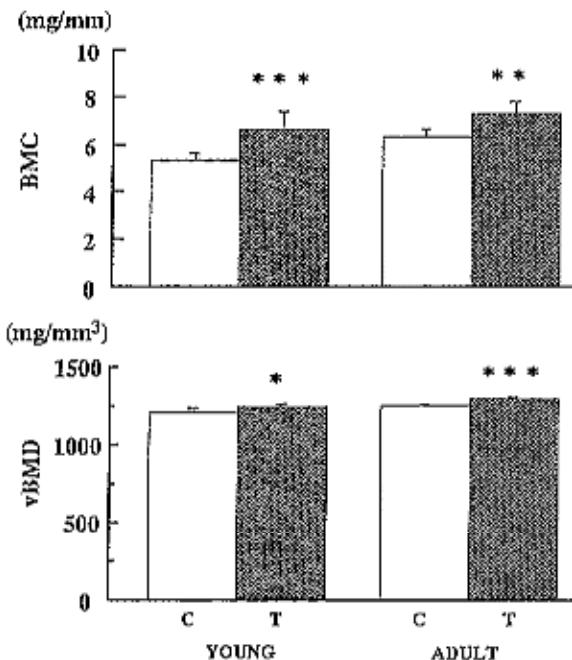


Fig. 5. Effect of exhaustive running training on pQCT parameters of the midshaft in tibia.

* : p < 0.05, * * : p < 0.01, * * * : p < 0.001 vs age-matched training group.

Table 3. Effects of exhaustive running training on bone length and morphometric properties at midshaft in tibia.

	YOUNG		ADULT	
	C (n=9)	T (n=8)	C (n=9)	T (n=6)
Bone length (cm)	3.64 ± 0.05	3.61 ± 0.04	3.83 ± 0.09	3.83 ± 0.06
Total area (mm ²)	5.46 ± 0.29	6.44 ± 0.43 ***	6.04 ± 0.28	6.48 ± 0.37 *
Cortical area (mm ²)	3.62 ± 0.21	4.44 ± 0.47 ***	4.13 ± 0.15	4.62 ± 0.32 **
Medullary area (mm ²)	1.84 ± 0.15	2.01 ± 0.14 *	1.91 ± 0.20	1.86 ± 0.08
% Cortical area (%)	66.3 ± 1.9	68.7 ± 3.4	68.4 ± 2.2	71.3 ± 1.1 *

Values are means ± SD.

* Significantly different from age-matched control group (* : P < 0.05, ** : P < 0.01, *** : P < 0.001).

Table 4. Effects of exhaustive running training on the tibial mechanical properties.

	YOUNG		ADULT	
	C (n=9)	T (n=8)	C (n=9)	T (n=8)
Dynamic				
Stiffness (N/mm)	295 ± 14	264 ± 8 ***	295 ± 20	394 ± 37 ***
tan σ (×10 ³)	34.2 ± 5.7	49.9 ± 3.0 ***	40.0 ± 8.0	66.0 ± 7.0 ***
Static				
Fracture Load (N)	62.7 ± 5.8	74.4 ± 5.1 ***	85.3 ± 12.0	103.7 ± 11.2 **
Ultimate deformation (mm)	0.59 ± 0.11	0.74 ± 0.07 **	0.60 ± 0.12	0.61 ± 0.09
Stiffness (N/mm)	195 ± 24	187 ± 20	273 ± 39	280 ± 36
Stored energy (J×10 ⁻²)	2.41 ± 0.63	3.55 ± 0.71 **	3.33 ± 1.06	4.52 ± 1.73

Values are means ± SD.

* Significantly different from age-matched control group (* : P < 0.05, ** : P < 0.01, *** : P < 0.001).

4. 考察

本研究では、exhaustion にいたる長時間高強度の走トレーニングに対する脛骨骨幹部皮質骨の応答について、トレーニング開始時の骨成熟度の違いに着目して検討した。

ラットも走トレーニングによって $\dot{V}O_{2\text{max}}$ が大幅に向上することが報告されている (Bourrin et al. 1994)。本研究では、9週間のトレーニング終了後、心室の湿重量は Y-T 群で 21.5%，A-T 群で 23.3%，体重あたりの重量でも Y-T 群で 27.5%，A-T 群で 31.6% 増加し、それぞれの C 群と比較して有意に高値を示した（表 2）ことから、本研究で用いたトレーニングプログラムは、ラットの有酸素能力を高めるのに十分な高強度の走運動であったと推察される。また、トレーニング過程で適応がみられたとしても、実験期間を通して相対的運動強度は 80% $\dot{V}O_{2\text{max}}$ 以上に維持されていたと考えられる (Shepherd et al. 1976)。したがって、本トレーニングプログラムは、心機能に対して充分な負荷が加えられ、また四肢に対しては局所的なメカニカルストレスが繰り返し課されていたものと推察され、長時間高強度のトレーニングとして位置づけることができる。なお、血清エストロゲン濃度へのトレーニングの影響は認められなかったことから、本研究で得られた結果には、少なくとも性ホルモンの影響はなかったものと考えられる。

形態計測の結果、骨幹部皮質骨、すなわち横軸方向への成長に対して顕著なトレーニング

の影響が認められ、さらに Young 群と Adult 群との間で形態的特徴に差があらわれた。Young 群では、T 群が C 群と比較して皮質骨面積、骨髓腔面積とともに有意に高値を示し、総横断面積も有意に高値を示したが、%皮質骨面積には両群間に顕著な差は認められなかつた（表 3）。このことは、長時間高強度の走トレーニングによって骨外膜面の骨添加および骨内膜面の骨吸収が著しく活性化されたことを示すものと考えられる。七五三木ら（1990）は、運動時間が成長期の骨応答へ及ぼす影響について検討している。その結果、運動時間に関係なく、骨外膜面のみに骨添加が観察されたことから、造血組織の機能的需要が亢進する成長期においては、骨髓腔を浸食しない形態の変化は生体として合目的的な適応であるとしている。本研究で用いたトレーニング負荷は、速度、持続時間、走行面の傾斜のいずれの面からみても上述の研究より明らかに高強度で量的にも多い。このために、さらに造血機能の亢進が強まり、それに対する適応の一つとして、骨内膜面の骨吸収が亢進され、骨髓腔が拡張されたものと推察される。また、支持器官としての構造的適応の観点からも、内径および外径を増加させることは材料としての強度を決定する慣性二次モーメントを高めることにつながり、生体として理にかなった適応であると考えられる。一方 Adult 群では、T 群が C 群と比較して皮質骨面積は高値を示したが、骨髓腔面積はわずかに低値を示したために、総横断面積、%皮質骨面積ともに有意に高値を示すことが認められた（表 3）。このことは、前述した Y-T 群とは異なり、トレーニングによって骨外膜面、骨内膜面とともに骨形成が活性化されたことを示すものである。このような Young 群との適応の差は、造血器官としての需要の差、およびメカニカルストレスに対する感受性の差によるものと考えられる。

一方、脛骨長、すなわち長軸方向への成長に対しては、Young、Adult 両群ともにトレーニングの影響は認められなかつた（表 3）。これは、激しい運動トレーニングによって未成熟骨の長軸方向への成長が抑制されたとするヒト（Pedrini-Mille et al. 1988）や動物（Kiiskinen et al. 1978）を用いた研究とは異なる結果であった。骨の長軸方向への成長は成長軟骨の増殖・分化によって営まれているので、骨長にトレーニングの影響が認められなくても、成長軟骨の成長率には変化が観察されたとする報告（勝田ら、1991）もある。したがって、詳細な形態計測を行うことによってトレーニングの影響を明らかにできるかもしれない。

pQCT 法による骨密度測定の結果、Young、Adult 両群ともにトレーニングによって BMC は著しく増加（26.8%，14.7%）したのに対して、vBMD はわずかな増加（2.0%，3.1%）にとどまるという興味深い結果が得られた（図 5）。これまで、メカニカルなストレスがかかる運動（impact loading exercise）により、BMC および BMD ともに増加することがヒト（Karlsson et al. 1993；Huddleston et al. 1980）および動物（Yeh et al. 1993）を対象にした多くの研究で報告されているが、本研究の結果はこれらとは異なる。この大きな原因の一つとして、骨密度測定装置の違いがあげられる。これまでの研究で用いられている装置のほとんどは DEXA（dual energy X-ray absorptiometry）法であるが、この装置は 2 次元の分析であるため、投影面積が密度の値に大きく影響する。すなわち密度が同じであっても、投影面積が大きければ高く見積もってしまうという欠点がある。これに対して、本研究で用いた pQCT 法は、rotate-translate 方式の CT 技術を用いた装置であり、3 次元の測定が可能であるため、真の密度を測定することが可能である。実際、pQCT で得られた横断面積は、横断薄切切片の形態計測から得られた横断面積と 0.95 以上の高い相関関係が認め

られている。考えられる他の原因として、運動強度と量の影響があげられる。すなわち、長時間高強度のトレーニングおよび適度な強度のトレーニングに対する適応の違いも推察される。しかし、疲労骨折等の骨障害を発症したことのないテニスプレーヤーの前腕を pQCT で測定した Ashizawa et al. (1999) の研究においても、vBMD には利き腕と非利き腕との間に有意な差は認められず、BMC のみの増加を伴った利き腕の肥大が観察されていることから、運動強度の影響は排除できると考えられる。したがって、形態計測の結果と併せて考えると、トレーニング開始時期の骨成熟度に関係なく、トレーニングによる皮質骨の形態的な変化は、質的な変化をほとんど伴わない、量的な増加であることが考えられる。しかし、適応の過程で vBMD が高くなる時期があるか否かについては、未だ不明な点があるので今後さらに検討する必要がある。

骨は「身体の支持」という役割を担っていることから、力学的特性という観点から検討することは重要である。多くの研究では、骨に静的負荷を加え、強度と剛性を測定する方法が用いられている。しかし、実際の身体活動の場面では、負荷が繰り返し加えられるため、静的試験のみでは骨の力学的特性を充分に明らかにすることはできない。そこで、本研究では静的試験に加えて動的粘弾性試験も行った。

Young 群の動的試験においては、T 群が C 群と比較して動的スティフネスは有意に低値を示し、 $\tan \delta$ は有意に高値を示すことが認められた（表 4）。このことは、長時間高強度の走トレーニングによって脆く壊れやすい材料に変化したことを見せるものである。また静的試験において、T 群が C 群と比較して破断荷重、極限破断変形量、変形エネルギー量とともに有意に高値を示し、静的スティフネスは低値を示す傾向が認められた（表 4）。このことは、やや柔らかい材料に変化し、破断まで多くのエネルギーを吸収していることを示すものと考えられる。一方 Adult 群では、T 群が C 群と比較して動的スティフネス、 $\tan \delta$ とともに有意に高値を示すことが認められた（表 4）。このことは、長時間高強度の走トレーニングによって弾性的特性が高まり荷重支持性および衝撃吸収性に優れた材質に変化したことを示すものである。また静的試験では、T 群が C 群と比較して極限破断変形に有意差がないにもかかわらず、破断荷重は有意に高値を示し、静的スティフネスおよび変形エネルギー量も高値を示す傾向が認められた（表 4）。このことは、トレーニングによって強度が増加したことを示すものと考えられる。

骨の強度や剛性を決定する要因として、骨の形状と大きさがあげられる。「曲げ」に対しては断面積と中立軸周りの骨組織の分布を計算に入れた断面二次モーメントとが関係し、材質が同一であれば、この値が大きいほど骨の強度と剛性は大きい。本研究においては、Young 群ではトレーニングによって横断面は著しく肥大し、さらに骨密度もわずかであるが増加したにもかかわらず、柔らかい脆弱な材質に変化した。この一見矛盾した結果の原因として、骨中の有機質含有量の影響が考えられる。骨成分の約 25% をしめる有機質は、そのほとんどがコラーゲンというタンパク質の一種であり、カルシウムやヒドロキシアパタイトといった無機質を結合させる役目を担っており、骨の韌性を決定する要因の一つでもある。Young 群では、成長期のタンパク質需要が著しく亢進している状況で誤された激しいトレーニングによってさらに需要が亢進したために、タンパク供給が追いつかず、骨中コラーゲンが不足に落ち入ったことは容易に推察することができる。そしてこのことが、骨形態の変化および無機質含有量という観点からは骨の「曲げ」に対する強度・剛性に対してポジティブな影響

をもたらしながら、動的および静的力学的特性にはネガティブな影響を与えたものと考えられる。一方 Adult 群では動的および静的力学的特性とともにトレーニングによって向上した。このような Young 群と異なる影響が生じた原因として、両群のメカニカルストレスに対する感受性の差が考えられる。しかし、白崎らの水泳トレーニング（1995）や走トレーニング（1998）によって得られた結果と比較すると、Adult 群のトレーニング効果は少ないものであるので、さらに長時間の高強度トレーニングを継続することによって、Young 群で観察されたネガティブな方向に進んでいくことも充分考えられる。このことについては、今後さらに検討する必要がある。

5. 結語

本研究では、exhaustion にいたる長時間高強度の走トレーニングに対する脛骨皮質骨の応答について、トレーニング開始時の骨成熟度の違いに焦点をあてて検討することを目的とした。4 および 10 過齢の雌ラット各 16 匹を用い、1 日 2 回の exhaustion に至る長時間高強度の走トレーニングを 9 遅間課した。実験期間終了後に脛骨を摘出し、骨幹部皮質骨の横断面の形態計測、pQCT による骨量と骨密度測定、および動的粘弾性試験と静的力学試験を行った。得られた主な結果は次の通りである。

1) Young 群、Adult 群ともに、脛骨長には T 群と C 群の間に有意な差は認められなかった。

2) Young 群、Adult 群ともに、骨幹部皮質骨の総横断面積は T 群が C 群と比較して有意に高値を示した。しかし、Young 群では T 群が C 群と比較して、皮質骨面積、骨髓腔面積ともに有意に高値を示したのに対して、Adult 群では T 群が C 群と比較して骨髓腔面積に顕著な差がないにも関わらず、皮質骨面積のみ有意に高値を示した。

3) Young 群、Adult 群ともに、BMC と vBMD は T 群が C 群と比較して有意に高値を示したが、その差は BMC が vBMD に比較して著しく大きかった。

4) Young 群では、T 群が C 群と比較して動的スティフネスは有意に低値を示し、 $\tan \sigma$ （位相差 σ ）は有意に高値を示した。一方 Adult 群では、T 群が C 群と比較して両パラメーターともに有意に高値を示した。

5) Young 群では、T 群が C 群と比較して破断荷重、極限破断変形量、変形エネルギー量ともに有意に高値を示したが、静的スティフネスは低値を示す傾向にあった。これに対して Adult 群では、T 群が C 群と比較して破断荷重は有意に高値を示したが、極限破断変形量には両群間に有意差は認められなかったために、静的スティフネス、変形エネルギー量は高値を示す傾向にあった。

以上の結果から、exhaustion に至る相対的同一強度の長時間高強度の走トレーニングによって、未成熟骨、成熟骨とともに顕著に肥大するが、前者は力学的には柔らかい脆弱な材料に、後者は弾性特性および強度の高い優れた材質に変化すること、およびその変化の仕方はトレーニング開始時の骨成熟度によって異なることが示唆された。

謝辞

力学的特性の測定およびデータ解析に対して多大なご協力をくださいました、独立行政法人産業技術総合研究所の白崎芳夫主任研究官に心より感謝いたします。

参考文献

- Ashizawa, N., Nonaka, K., Michikami, S., Mizuki, T., Amagai, H., Tokuyama, K. and Suzuki, M. (1999) Tomographical description of tennis-loaded radius: reciprocal relation between bone size and volumetric BMD. *J Appl Physiol* **86**:1347-1351.
- Booth, F. W. and Gould, E. W. (1975) Training and disuse on connective tissue. *Exerc Sports Sci Rev* **3**:88-112.
- Bourrin, S., Genty, C., Palle, S., Gharib, C. and Alexandre, C. (1994) Adverse effects of strenuous exercise : A densitometric and histomorphometric study in the rat. *J Appl Physiol* **7**:1999-2005.
- Frost, H. M. (1992) Perspectives: bone's mechanical usage windows. *Bone Miner* **19**: 257-271.
- 福田理香, 向井直樹, 天貝 均, 白杵 慎, 高松 薫 (1998) 高強度走トレーニングによる骨疲労モデル作成の試み. *体育科学* **47** : 872
- Fukuda, R., Usuki, S., Amagai, H., Hayashi, K. and Takamatsu, K. (1998) Serum insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein-3, sex steroid, osteocalcin and bone mineral density in male and female rats. *Gynecol Endocrinol* **5**:297-305.
- Hou, J. C., Salem, G. J., Zernicke, R. F. and Barnard, R. J. (1990) Structural and mechanical adaptations of immature trabecular bone to strenuous exercise. *J Appl Physiol* **69**: 1309-14.
- 勝田 茂, 七五三木聰, 池田 賢, 天貝 均, 大野敦也 (1991) 運動強度の違いがラットの骨成長におよぼす影響. *体育学研究* **36** : 39-51.
- Karlsson, M. K., Johnell, O. and Obrant, K. J. (1993) Bone mineral density in weight lifters. *Calcif Tissue Int* **52**:212-215.
- Kiiskinen, A. and Heikkinen, E. (1978) Physical training on connective tissues in young mice: biochemistry of long bones. *J Appl Physiol* **44**:50-54.
- Huddleston, A. L., Rockwell, D., Kulud, D. N. and Harrison, R. B. (1980) Bone mass in life tennis athletes. *JAMA* **244**:1107-1109.
- Margulies, J. Y., Simkin, A., Leichter, I., Bivas, A., Steinberg, R., Giladi, M., Stein, M., Kashtan, H. and Milgrom, C. (1986) Effect of intense physical activity on the bone-mineral content in the lower limbs of young adults. *J Bone Joint Surg* **68A**:1090-1093.
- Pedrini-Mille, A., Pedrini, V. A., Maynard, J. A. and Vailas, A. C. (1988) Response of immature chicken meniscus to strenous exercise: biochemical studies of proteoglycan and collagen. *J Orthop Res* **6**:196-204.
- Shepherd, R. E. and Gollnick, P. D. (1976) Oxygen uptake of rats at different work intensities. *Eur J Physiol* **362**:219-222.
- 七五三木聰, 勝田 茂, 天貝 均, 大野敦也 (1990) 成長期の運動が引き起こす骨肥大. *体力科学* **39** : 181-188.
- 白崎芳夫, 立石哲也, 宮永 豊, 小林和彦 (1995) 骨密度および力学的性質におよぼす運動効果の年齢依存性. *日本レオロジー学会誌* **23** : 33-38.
- 白崎芳夫, 立石哲也, 木内敦詞, 勝田 茂 (1998) 骨の力学的特性と骨密度におよぼす運動後効果. *日本レオロジー学会誌* **26** : 115-118.

Yeh, J. K., Aloia, J. F., Tierney, J. M. and Sprintz, S. (1993) Effect of treadmill exercise on vertebral and tibial bone mineral content and bone mineral density in the aged adult rat: determined by dual energy X-ray absorptiometry. *Calcif Tissue Int* 52:234-238.