

運動刺激による骨組織の形成と吸収

田巻弘之*

Effects of mechanical loading on bone formation and bone resorption

Hiroyuki TAMAKI *

Summary

Bone mass is controlled by the balance between bone formation and bone resorption. In bone remodeling process, bone metabolism is achieved by the co-ordinated actions of osteoclasts, osteoblasts, osteocytes within the bone matrix and lining cells that cover the surface of bone. Remodeling starts with signals that initiate osteoclast formation followed by osteoclastic bone resorption, and then bone matrix formation mediated by osteoblasts, followed by mineralization of the matrix. Appropriate exercise training results in adaptive changes in bone that improves bone strength and inhibits bone loss. Constant mechanical stress is essential for the maintenance of bone mass and strength, which is achieved through the cooperative functions of osteoblasts and osteoclasts. Mechanical stress can promote osteoblast differentiation and osteoblastic bone formation. Mechanical stress also suppresses osteoclast differentiation and inhibits bone resorption. The effects of mechanical loading, however, would be dependent on the magnitude, duration, and rate of the applied load. This review summarizes the published data on the effects of mechanical stress on bone formation and resorption.

Key words: osteoblast, osteoclast, mechanical stress

I. 骨形成と骨吸収およびそのカップリング

A. 骨芽細胞の分化とその働き：骨形成

骨形成を担う骨芽細胞は、骨髄の未分化間葉系細胞が増殖、分化して最終的に成熟した骨芽細胞となり、その機能を発揮する（図1）。骨芽細胞の場合、まず分化を促すサイトカインからの刺激を受けて、細胞の中では転写因子（Runx2/Cbfa1, Osterix）が活性化し¹⁾、I型コラーゲン、アルカリフォスファターゼ（ALP）、オステオポンチン、オステオカルシンなど、骨芽細胞としての分化マーカーを発現して、前骨芽細胞を経て成熟骨芽細胞へと至る。骨芽細胞

はメカニカルストレスの感知機構としても注目されている骨細胞とも連結しており、異なる細胞からの情報伝達も示唆されている。骨芽細胞の働きの第一は骨基質の主成分となるI型コラーゲンを産生し、類骨（オステオイド）を形成することである。第二の石灰化は、ALP活性により有機基質に特異的にアパタイト結晶が沈着する現象である²⁾。第三に、非コラーゲン性タンパク質やサイトカインの分泌、貯蔵の機能がある。骨芽細胞は、オステオポンチンやオステオネクチン、オステオカルシンなどの分泌に加え、TGF- β 、IGF、BMPなどのサイトカインを産

* 新潟医療福祉大学理学療法学科運動機能医科学研究所（〒950-3198 新潟県新潟市北区島見町1398）
Institute for Human Movement and Medical Sciences, Niigata University of Health and Welfare 1398, Shimami, Kita-ku, Niigata, Niigata 950-3198, Japan

生し、オートクライン・パラクライン的に骨芽細胞に作用してその増殖やコラーゲン合成を促進する。同時にこれらは骨基質中にも貯蔵され、後述する骨形成と吸収のカップリングを担う仕組みに関連するひとつと考えられている。

B. 破骨細胞の分化とその働き：骨吸収

骨吸収機能を発現する破骨細胞は、造血幹細胞（単球・マクロファージ系前駆細胞）を起源とし、増殖分化して前駆破骨細胞となり、融合して多核の巨大な細胞になる（図1）。組織学的にはTRAP（酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ：骨吸収マーカーの1つ）陽性細胞として確認可能である。破骨細胞はその骨吸収機能を発現するためにまず骨基質に接着しなければならない。基質タンパクであるオステオポンチンやオステオネクチン（骨芽細胞が分泌している）を認識して、 $\alpha v \beta_3$ インテグリンにより接着を可能にしていると考えられている³⁾。骨基質と接した破骨細胞の吸収面は波状縁（ruffled border）構造を形成して、そこから放出される H^+ と Cl^- （塩酸）によって吸収窩が酸性環境となり、骨ミネラル（ハイドロキシアパタイト）の分解除去により行わ

れる。さらに、カテプシンK、メタロプロテアーゼ9（MMP-9）などを産生し、骨基質の構成成分であるI型コラーゲンの分解により骨吸収が行われる。

C. カップリング

破骨細胞により骨基質が分解されるが、それと同時に骨芽細胞によって基質中に貯蔵されていた増殖因子、サイトカイン（TGF- β , BMP, IGF など）が遊離することになる。これがマトリクリン的に骨芽細胞に作用して、骨形成が促進される。また、骨芽細胞表面に発現するRANKL（破骨細胞分化因子：receptor activator of NF- κ B ligand）と前駆破骨細胞にあるRANKLの受容体であるRANKが互いに結合し、骨芽細胞が分泌するM-CSF（マクロファージコロニー刺激因子）と共同して破骨細胞形成が促進される。このように骨芽細胞と破骨細胞は細胞間で情報伝達をして機能的にカップリングしている（図1）。

II. 骨芽細胞と破骨細胞への運動刺激の影響

骨芽細胞や破骨細胞に対する「運動」の効果を論

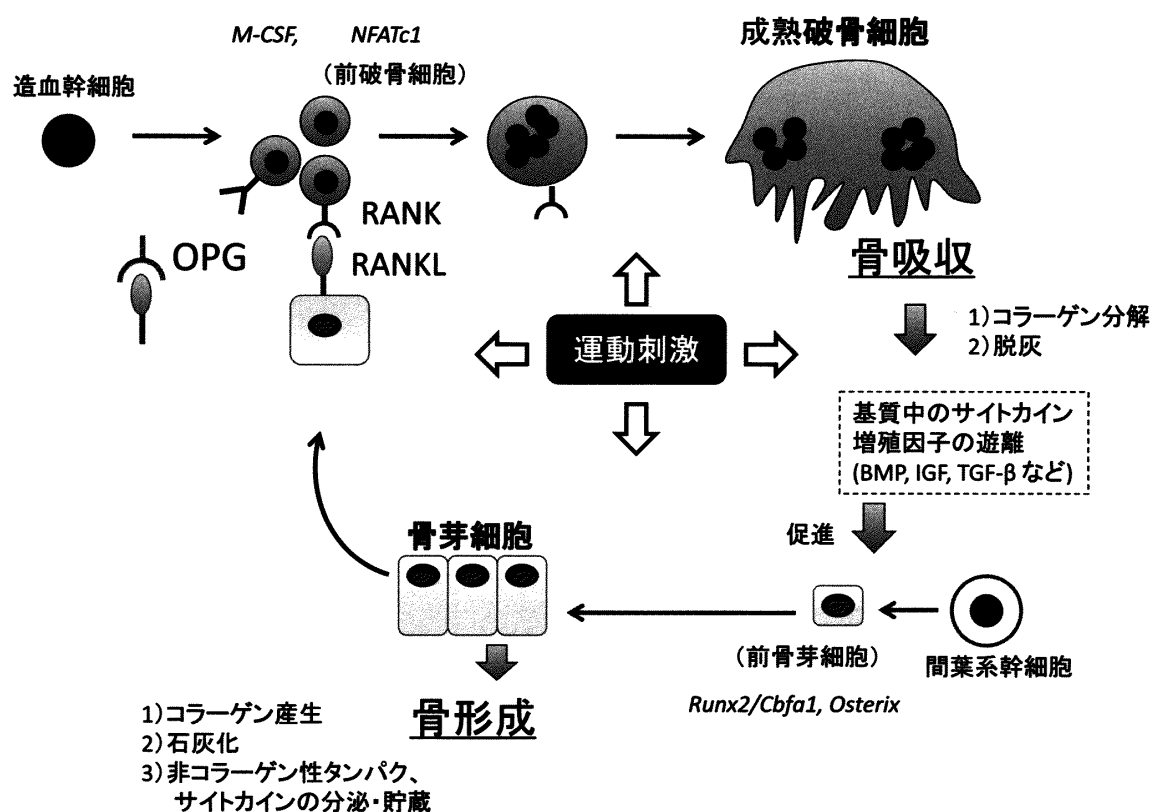


Fig. 1 Schematic representation of osteoblast and osteoclast differentiation

ずるとき、力学的因子だけでなく、循環や内分泌、温度、神経活動など運動誘発性の様々な因子が複合的、直接的かつ間接的に影響することになる。仮に、骨に対するメカニカルストレスの影響を検討してみても、骨組織のひずみ応力・圧力 (strain/loading)、振動 (vibration)、液流ずり応力 (shear stress)、流動電位 (streaming potential) など複合的な関連因子として各細胞に働きかけるため、単一因子の影響を検討することが困難である。従って、骨に対する運動刺激という場合、種々の要因が複合的に影響していることを念頭において以下に解説する。

A. 骨芽細胞への影響

まず骨芽細胞に対する運動の影響については、細胞数を増加させるという報告が多くなされている。運動の種類においては、低インパクトなランニングから高インパクトなジャンプトレーニングにおいて効果が認められている。生体条件については、若齢期から中年期、卵巣摘出によるエストロゲン欠乏などにおいても骨芽細胞数の増加を報告している。若齢期のジャンプトレーニングを1日20ジャンプ、5日/週、4週間実施した研究では⁴⁾、海綿骨周囲のRunx2陽性細胞数が増加し、骨髄におけるBMP, osterix, Runx2 mRNA発現レベルが増大することを示しており、ジャンプトレーニングが骨芽細胞形成プロセスに促進的な影響を及ぼすことを示唆している。また4週間のクライミング運動 (金網をよじ登る荷重運動) においても、骨梁表面の骨芽細胞数は増加している⁵⁾。仮に、メカニカルストレスを受容するもしくはshear stress等を感知するのに適している骨細胞からシグナル伝達を受けたとして、最終的に骨形成に至るためには多くの成熟骨芽細胞がリクルートされる必要がある。休止型細胞とされるbone lining cellの活性化がそのひとつの候補として報告されているが⁶⁾、骨髄間葉系細胞からの分化も考慮するに十分値する。

次に、骨芽細胞の機能 (骨形成) に対する運動の影響について、多くの報告がポジティブな効果を認めている。コラーゲン産生による類骨形成や石灰化が促進される。メカニカルストレスの影響を検討すると、機械的負荷や振動刺激で石灰化速度、骨形成速度及びアルカリフォスファターゼ活性レベルの増大がみられている^{7,8)}。メカニカルストレスの効果の

程度は、受け手側 (生体) の生理的条件により異なるといわれるが、特に加齢によってその効果が減弱する^{9,10)}。高齢期では、運動として、ジャンプやランニング、ウォーキングで骨強度や骨量増加及び類骨形成の増加が報告されているが¹¹⁻¹⁵⁾、一方で、ランニングや全身振動刺激で骨形成マーカーの減少や骨芽細胞数が増加しないなどの影響も散見される^{16,17)}。運動刺激の条件 (量・時間・頻度・種類) もさることながら、外的刺激とそれを受容する生体の生理的条件とがうまくマッチングすることで、より望ましい効果の獲得につながるのかもしれない。

B. 破骨細胞への影響

破骨細胞に対する運動刺激効果は、観察条件により結果が異なる。成長期ラットにランニングを処方した場合、2-3週目で破骨細胞数の減少がみられるが、4-5週目以降では有意な減少がみられない報告がある^{18,19)}。また卵巣摘出を行った場合、破骨細胞数は増加するが、ランニングトレーニング実施後10週目では、破骨細胞面積は減少するが、その数が有意に減少するに至らなかったとする報告もある^{20,21)}。ランニング運動などは機械的因子のみならず、液性因子等も複合的に影響していると思われるため、動物個体を用いる研究だけではメカニカルストレスの破骨細胞形成 (osteoclastogenesis) 作用について断定的に述べることは困難と思われる。そこで、in vitroの報告に注目すると、fluid flow (shear stress) を1時間加えた場合、破骨細胞数は対象群と比べ半減し、破骨細胞分化因子であるRANKL発現は減少し、OPG発現は増大して、破骨細胞形成を抑制する²²⁾。振動刺激についてもRANKL/OPG比は減少し、破骨細胞数も減少するが、特に核数が10個以下の比較的小型のものよりも10個以上の破骨細胞において減少効果が報告されている²³⁾。またひずみを負荷した場合においても、その強度に応じてRANKL mRNA発現レベルが減少している²⁴⁾。機械的刺激の破骨細胞数減少への効果はin vitroにおいては認められるが、しがしながらin vivo、特に高齢期のランニングや全身振動刺激によって、逆に破骨細胞数の増加やその活性が亢進するという報告も一部見られ^{16,17)}、種々の因子が混在するシステムにおいてはその反応が異なることも想像される。

次に破骨細胞による骨吸収機能 (osteoclastic

bone resorption) について言及する。破骨細胞への直接的なメカニカルストレス (stretch, shear stress) を負荷したした場合、骨吸収を抑制せず逆に一過性 (24時間後) に骨吸収マーカーの増加を示唆する報告も見られ^{25, 26)}、概ね、MMP-9やcathepsin-Kなどのタンパク質分解に関連するmRNA発現レベルの減少、脱灰に関連するプロトンポンプ機能の低下等の骨吸収抑制作用が示唆されている^{27, 28)}。

運動という複合的な刺激を生体を与えた場合、運動に内在する種々の因子 (力学的因子や液性因子) もしくは運動によって誘発される種々の生体反応を介して、骨形成や骨吸収の機能が調節される。各因子が骨芽細胞や破骨細胞に及ぼす影響の程度や関わりの大きさにより、バランスとしての骨組織の量が決定される。また、メカニカルストレスは上記のように骨形成及び骨吸収の両方に強く関与するが、機械的刺激から各細胞において生物反応を惹起するまでに種々のステップを経由する。その機械的刺激を感受すると考えられている骨細胞のふるまいについては特段の注意を要する。機械的刺激を受けた骨細胞は、骨芽細胞形成や破骨細胞形成を調節していることが示唆されており^{23, 29, 30)}、運動によって骨組織全体へのメカニカルストレスを与える場合は、骨細胞を介した tripartite な関係を考慮することも今後の課題と思われる。

引用文献

- 1) Komori T (2005) Regulation of skeletal development by the Runx family of transcription factors. *J Cell Biochem* 95: 445-453
- 2) Duong LT, Lakkakorpi P, Nakamura I, Rodan GA (2000) Integrins and signaling in osteoclast function. *Matrix Biol* 19: 97-105
- 3) Hessle L, Johnson KA, Anderson HC, Narisawa S, Sali A, Goding JW, Terkeltaub R, Millan JL (2002) Tissue-nonspecific alkaline phosphatase and plasma cell membrane glycoprotein-1 are central antagonistic regulators of bone mineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 9445-9449
- 4) Yuki A, Yotani K, Tamaki H, Kasuga N, Takekura H (2010) Upregulation of osteogenic factors induced by high-impact jumping suppresses adipogenesis in marrow but not adipogenic transcription factors in rat tibiae. *Eur J Appl Physiol* 109: 641-650
- 5) Menuki K, Mori T, Sakai A, Sakuma M, Okimoto N, Shimizu Y, Kunugita N, Nakamura T (2008) Climbing exercise enhances osteoblast differentiation and inhibits adipogenic differentiation with high expression of PTH/PTHrP receptor in bone marrow cells. *Bone* 43: 613-620
- 6) Chow JW, Wilson AJ, Chambers TJ, Fox SW (1998) Mechanical loading stimulates bone formation by reactivation of bone lining cells in 13-week-old rats. *J Bone Miner Res* 13: 1760-1767.
- 7) Oxlund BS, Ørtoft G, Andreassen TT, Oxlund H (2003) Low-intensity, high-frequency vibration appears to prevent the decrease in strength of the femur and tibia associated with ovariectomy of adult rats. *Bone* 32: 69-77
- 8) Boppart MD, Kimmel DB, Yee JA, Cullen DM (1998) Time course of osteoblast appearance after in vivo mechanical loading. *Bone* 23: 409-415
- 9) Turner CH, Takano Y, Owan I (1995) Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats. *J Bone Miner Res* 10: 1544-1549
- 10) Rubin CT, Bain SD, McLeod KJ (1992) Suppression of the osteogenic response in the aging skeleton. *Calcif Tissue Int* 50: 306-513
- 11) Umemura Y, Ishiko T, Tsujimoto H, Miura H, Mokushi N, Suzuki H (1995) Effects of jump training on bone hypertrophy in young and old rats. *Int J Sports Med* 16: 364-736
- 12) Yeh JK, Aloia JF, Chen MM, Tierney JM, Sprintz S (1993) Influence of exercise on cancellous bone of the aged female rat. *J Bone Miner Res* 8: 1117-1125
- 13) Beyer RE, Huang JC, Wilshire GB (1985) The effect of endurance exercise on bone dimensions, collagen, and calcium in the aged male rat. *Exp Gerontol* 20: 315-323
- 14) Raab DM, Smith EL, Crenshaw TD, Thomas DP (1990) Bone mechanical properties after exercise training in young and old rats. *J Appl Physiol* 68: 130-134
- 15) Tamaki H, Yotani K, Yuki A, Kirimoto H, Ogita F (2011) Effects of voluntary wheel running on trabecular bone architecture in old rats. *Adv Exerc Sports Physiol* 17: 73
- 16) Sipos W, Rauner M, Skaliczky M, Viidik A, Hofbauer G, Schett G, Redlich K, Lang S, Pi-

- etschmann P (2008) Running has a negative effect on bone metabolism and proinflammatory status in male aged rats. *Exp Gerontol* 43: 578-583
- 17) Wenger KH, Freeman JD, Fulzele S, Immel DM, Powell BD, Molitor P, Chao YJ, Gao HS, Elsalanty M, Hamrick MW, Isales CM, Yu JC (2010) Effect of whole-body vibration on bone properties in aging mice. *Bone* 47: 746-755
 - 18) Bourrin S, Palle S, Pupier R, Vico L, Alexandre C (1995) Effect of physical training on bone adaptation in three zones of the rat tibia. *J Bone Miner Res* 10: 1745-1752
 - 19) Mori T, Okimoto N, Sakai A, Okazaki Y, Nakura N, Notomi T, Nakamura T (2003) Climbing exercise increases bone mass and trabecular bone turnover through transient regulation of marrow osteogenic and osteoclastogenic potentials in mice. *J Bone Miner Res* 18: 2002-2009
 - 20) Tamaki H, Akamine T, Goshi N, Kurata H, Sakou T (1998) Effects of exercise training and etidronate treatment on bone mineral density and trabecular bone in ovariectomized rats. *Bone* 23: 147-153
 - 21) Bonnet N, Benhamou CL, Beaupied H, Laroche N, Vico L, Dolleans E, Courteix D (2007) Doping dose of salbutamol and exercise: deleterious effect on cancellous and cortical bones in adult rats. *J Appl Physiol* 102: 1502-1509
 - 22) Kim CH, You L, Yellowley CE, Jacobs CR (2006) Oscillatory fluid flow-induced shear stress decreases osteoclastogenesis through RANKL and OPG signaling. *Bone* 39: 1043-1047.
 - 23) Lau E, Al-Dujaili S, Guenther A, Liu D, Wang L, You L (2010) Effect of low-magnitude, high-frequency vibration on osteocytes in the regulation of osteoclasts. *Bone* 46: 1508-1515
 - 24) Rubin J, Murphy TC, Zhu L, Roy E, Nanes MS, Fan X (2003) Mechanical strain differentially regulates endothelial nitric-oxide synthase and receptor activator of nuclear kappa B ligand expression via ERK1/2 MAPK. *J Biol Chem* 278: 34018-34025
 - 25) Kurata K, Uemura T, Nemoto A, Tateishi T, Murakami T, Higaki H, Miura H, Iwamoto Y (2001) Mechanical strain effect on bone-resorbing activity and messenger RNA expressions of marker enzymes in isolated osteoclast culture. *J Bone Miner Res* 16: 722-730
 - 26) Zhang Q, Liang X, Zhu B, Dong Q, Xu L, Xia L, Hu J, Fu J, Liu M (2006) Effects of fluid shear stress on mRNA expression of carbonic anhydrase II in polarized rat osteoclasts. *Cell Biol Int* 30: 714-720
 - 27) Suzuki N, Yoshimura Y, Deyama Y, Suzuki K, Kitagawa Y (2008) Mechanical stress directly suppresses osteoclast differentiation in RAW264.7 cells. *Int J Mol Med* 21: 291-296
 - 28) Shibata K, Yoshimura Y, Kikuri T, Hasegawa T, Taniguchi Y, Deyama Y, Suzuki K, Iida J (2011) Effect of the release from mechanical stress on osteoclastogenesis in RAW264.7 cells. *Int J Mol Med* 28: 73-79
 - 29) Taylor AF, Saunders MM, Shingle DL, Cimbala JM, Zhou Z, Donahue HJ (2007) Mechanically stimulated osteocytes regulate osteoblastic activity via gap junctions. *Am J Physiol Cell Physiol* 292: C545-552
 - 30) Kulkarni RN, Bakker AD, Everts V, Klein-Nulend J (2010) Inhibition of osteoclastogenesis by mechanically loaded osteocytes: involvement of MEPE. *Calcif Tissue Int* 87: 461-468

(2012年1月31日受理)