

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462310

研究課題名(和文)容量電場刺激を用いた新たな骨粗鬆症治療法の開発

研究課題名(英文)Development of the new osteoporotic therapy using the capacitive coupling type electric field stimulation

研究代表者

吉田 隆司(Yoshida, Takashi)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：10546641

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文):目的:容量電気刺激を用いた新規の骨粗鬆症治療の開発と評価方法の検討 方法:10週齢のWistar / ST雄ラットを用いた。半数の卵巣を摘出しOVX群とした。手術後2,4,8,12週間で、ペントバルビタールナトリウムを用いて動物を屠殺した。両側脛骨を摘出し、右脛骨をMR画像撮像に、左脛骨をマイクロCT撮像に使用した。脛骨近位1/3の部分 ROIとしSWIFT法による信号雑音比の評価とマイクロCTでの骨密度を測定した。結果:SWIFTでのSNRが、手術後8,12週の時点のOVX群において対照群より有意に高値であった。結論:SWIFT法は骨粗鬆症による皮質骨の変化を早期に検出できる可能性がある。

研究成果の概要(英文):PURPOSE:Development of new osteoporosis treatment using the capacity electrical stimulation and examination of the evaluation method
MATERIALS AND METHODS:We used Wistar / ST male rat of 10 weeks of age. We resected a haploid ovary and were OVX group. In 2, 4,8,12 weeks, we killed an animal using pentobarbital sodium. We resected both tibias and used the left tibia for micro CT imaging for an MR image imaging with the right tibia. We assumed a part of proximal tibia 1/3 ROI and measured the evaluation of the signal-to-noise ratio by the SWIFT method and bone density in micro CT. RESULTS:SWIFT-SNR was significantly from the control group high level after surgery in OVX group as of 8, 12 weeks.
CONCLUSION:The SWIFT findings suggest that the SWIFT technique may depict early changes in cortical bone quality.

研究分野:小児整形外科領域

キーワード: MRI 骨粗鬆症 容量電気刺激 SWIFT法

1. 研究開始当初の背景

わが国における骨粗鬆症患者は1000万人を超え、骨折が寝たきりや要介護者増加の原因となっている。骨粗鬆症の治療としてPTH製剤やBP製剤といった薬物療法が挙げられるが高価で副作用を認めることがあり薬物の使用を制限されることがある。そのため経済的で安全な骨粗鬆症治療法が必要とされている。

健康寿命の延伸に伴い、機能障害だけでなく生命予後にも影響する骨折を未然に防ぐことは喫緊の課題である。食事・運動・薬物療法を柱として、骨粗鬆症に対する治療が行われているが、骨折患者数の減少には至っていない。宇宙飛行や重力の研究からもメカニカルストレスが骨密度維持に極めて大きい要因であるにも関わらず、運動療法は浸透しているとは言えない。

運動自体が行えない、あるいはそれが逆に危険な高齢者も多数存在するのが現状である。そこでわれわれの研究テーマである電気・物理刺激を用いることで、簡便かつ非侵襲的に荷重肢や脊椎の骨密度が上昇できないか考えた。電気・物理刺激は、主に難治性骨折に対して応用され、80-90%の有効性が示されており、本法を骨粗鬆症に先駆けて導入するため、この研究を考案した。



大腿骨近位部での骨折



なんと年間150万人以上！！

**問題は骨折
だけではない**

(京都新聞、運動器の健康、2012.)

～死亡率(非骨折例と比較)～

- 股関節部の骨折・・・6倍以上
- 背骨の骨折・・・8倍以上

骨粗鬆症治療は、積極的に行われているはずなのに足りない?? **メカニカルストレス!**

⇒ **非侵襲的に電気・物理刺激を加える**

Capacitively coupled electric fields(CCEF)刺激はBrightonにより1981年に開発された。骨折部をはさむ2カ所の皮膚に電極を貼付し、電極間に低電圧の交流波をかける方法である。これまでに偽関節や骨折治療に広く使用され明らかな副作用を認めないことから安全な骨折治療法と認識されている。CCEF刺激の作用機序として

Brightonらは細胞膜内で電位依存性カルシウムイオンチャンネルを通してカルシウムイオンの流入が増加し、その結果、細胞質ゾル内の活性カルモジュリンが増加し、DNA量・細胞分裂の増加することを見出した。さらに電気刺激によってTGF- β 1やPGE2などの骨成長因子の合成・活性化の増進が報告されている。CCEF刺激はこれらの作用を有することから骨粗鬆症に伴う骨質と骨量低下に効果を示す可能性があると考えた。

骨質と骨量調節にはWntシグナル経路(Wnt/LRP5/b-catenin)およびRANKL-RANKシグナル経路が重要であることはよく知られている。

Wntシグナル経路のうち β -カテニン経路は間葉系幹細胞からの軟骨細胞と脂肪細胞への分化を抑制するが、骨芽細胞と骨細胞への分化を促進する。分化した骨細胞はDkk1やスクレロスチン等のWntシグナル経路の抑制因子を分泌して、骨芽細胞の分化と機能を抑制する。また、骨芽細胞からはreceptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) (破骨細胞の活性化因子)のデコイ受容体であるオステオプロテゲリン(osteoprotegerin, OPG)が産生され、破骨細胞の活性を阻害する結果、骨形成を促進すると考えられている。

また、生体の骨量調節においては脂肪細胞を増やす作用を持つPPAR γ (ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 γ)が関与し、Wnt5aはそのPPAR γ の機能制御を介して骨量調節を行っていることが明らかとなっている(本文転載)。それゆえにCCEF刺激後のWntシグナル経路、RANKL-RANK経路およびPPAR γ の活性を評価することでCCEF刺激の骨粗鬆症抑制効果を検討することができる。

Sukenariらは高磁場MRIによるSWIFT法を用いて骨皮質の評価を行ったと報告し、ObaraらはMRスペクトロスコピーを用いて海綿骨の脂肪髄化を評価したと報告している。SWIFT法やMRスペクトロスコピーを用いることで骨皮質および海綿骨の骨粗鬆症性変化を捉えることができると考えた。

2. 研究の目的

(1) μ CTや高磁場MR装置を用いたSWIFT法を用いて骨粗鬆症モデルにおける大腿骨内の微小構造変化と骨髄内組織組成変化について検討すること。

(2) 骨粗鬆症モデルに対するCCEF刺激による骨粗鬆症治療効果を検討すること。

3. 研究の方法

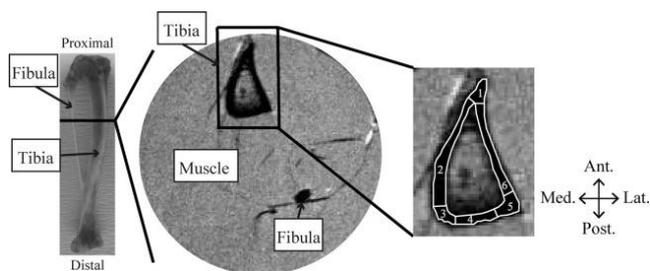
(1) μ CTおよび高磁場MR装置を用いたSWIFT法を用いた骨粗鬆症モデルにおける大腿骨内の微小構造変化と骨髄内組織組成変化についての検討

①動物モデル

10 週齢の Wistar / ST 雄ラットを用いた。この設備は、23~24℃の温度で、12 時間明/暗スケジュールで維持した。すべての動物に食物および水を自由に与えた。我々は、ラットを骨粗鬆症および対照群にランダム化した。すべての rat をイソフルランによる吸入麻酔下に腹部切開を行い、卵巣摘出 (ovary ectomized:OVX) 群からは卵巣を摘出した。対照群はそのまま閉腹した。手術後 2, 4, 8, 12 週間で、ペントバルビタールナトリウムを用いて動物を屠殺した。OVX 群は解剖時に子宮角質萎縮を認めた。両側脛骨を摘出し、右脛骨を MR 画像撮像に、左脛骨を μ CT 撮像に使用した。

②MRI

MR 画像の撮像は、高磁場 MRI システム (Varian MRI system 7.04T, Agilent Technologies, Palo Alto, CA) と 3*3cm のサーフェスコイルを用いて行った。SWIFT 撮像およびプロトン強調画像は以下のパラメータで行った。SWIFT: repetition time (TR), 12.5 msec; FA, 25°; spirals, 16; matrix, 256*256*256; views, 8192; average, 1; field of view (FOV), 40*240*40mm³; resolution, 0.156*0.938*0.156mm³; bandwidth, 62.5 kHz PDWI: TR, 2000 msec; echo spacing (ESP), 9.54 msec; echo train length, 4; average, 1; matrix, 256*256; FOV, 40*40mm²; resolution, 0.156*0.156mm²; axial slice, 30; slice thickness, 1mm; bandwidth, 100 kHz
ROI は脛骨の 6 つの領域をすべて含む脛骨近位 1/3 のスライスの脛骨骨皮質においた。SWIFT と PDWI でそれぞれの信号対雑音比 (signal-to-noise ratio:SNR) を測定した。



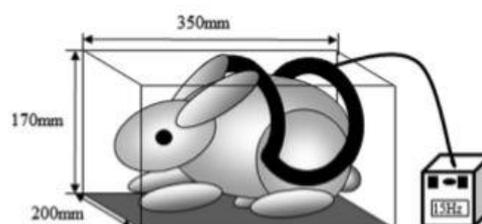
③ μ CT

μ CT は ICT (micro focus 2D/3D, ScanXmate-E090S40, Comscantecno, Kanagawa, Japan) を用いて行った。撮影パラメータは以下のとおりである。voltage, 60kV; electric current, 85 IA; and voxel size, 37.5 μ m MRI と同様の ROI の皮質の BMD を画像解析ソフト (TRI/3DBON、Ratoc システム工学、日本国東京) を用いて測定した。

(2) 骨粗鬆症モデルに対する CCEF 刺激による骨粗鬆症治療効果の検討

① 動物モデル

28 週齢 3-4 kg 日本白色家兎を用いた。23~24℃の温度で、12 時間明/暗スケジュールで飼育した。すべての動物に食物および水を自由に与えた。ラット群とすべての家兎の卵巣を摘出した。手術後 12 週間から、電気治療群 (以下 EF 群) の家兎には 1 日 10 時間 1 週間の間、EF 刺激用のケージ内に移動した。移動中も水分や飼料の摂取は自由とした。EF 刺激には BI Bone Healing System (Biomet Osteobiologics, Parsippany, NJ) を用いた。EF 刺激用ケージは底面 200mm*350 mm 高さ 170 mm で、家兎の動きをある程度制限し、内部に電気刺激用コイルの装着が可能なものとし、下図のように刺激を行った。



1 週間の刺激後、ペントバルビタールナトリウムを用いて動物を屠殺した。両側脛骨を摘出し、右脛骨を MR 画像撮像に、左脛骨を μ CT 撮像に使用した。

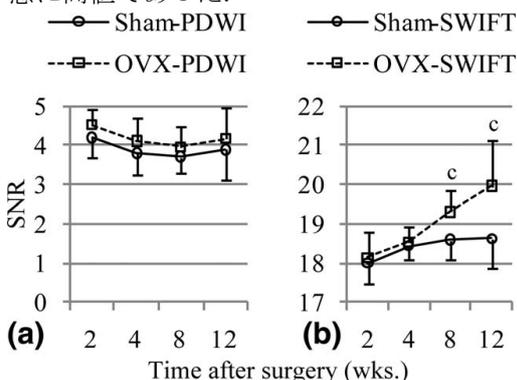
(1) と同様の条件で MRI, μ CT を撮像する。

4. 研究成果

(1) μ CT および高磁場 MR 装置を用いた SWIFT 法を用いた骨粗鬆症モデルにおける大腿骨内の微小構造変化と骨髄内組織組成変化についての検討

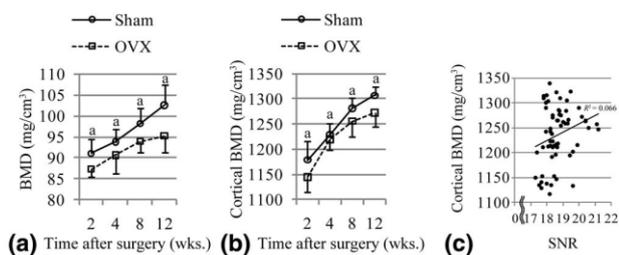
MRI:

PDWI における SNR (PDWI-SNR) では OVX 群と対照群で有意な差を認めなかった。一方 SWIFT での SNR (SWIFT-SNR) では、手術後 8, 12 週の時点の OVX 群において対照群より有意に高値であった。



μ CT による BMD 測定では OVX 群は対照群より

有意に低値であった。
 μ CTによるBMD値とSWIFT-SNRは弱い正の相関を認めた。



SWIFT 技術を用いた MR 画像撮像によって OVX 群の皮質骨でコントロールに比べてより高い SNR を示した。これらの変化は皮質骨内の結合水の増加を反映したものと考えられる。SWIFT 技術を用いた SNR の測定は、ヒト骨粗鬆症における初期の皮質骨の変化を定量化することが可能であった。

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 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 隆司 (Yoshida Takashi)
 京都府立医科大学大学院医学研究科
 運動器機能再生外科学
 (整形外科学教室) 講師
 研究者番号: 10546641

(2) 研究協力者

金 郁ちよる (Kim Wook-Cheol)
 京都府立医科大学大学院医学研究科
 運動器機能再生外科学
 (整形外科学教室) 特任教授
 研究者番号: 50244603