

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：34605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350652

研究課題名(和文)運動器に対する局所的磁場の影響

研究課題名(英文)Influence of magnetic implant on trabecular bone and leg muscles in rats

研究代表者

西井 康恵 (Nishii, Yasue)

畿央大学・健康科学部・助手

研究者番号：50461207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：骨量減少モデルとして卵巣摘出ラット(OVX)と坐骨神経切除ラット(DN)を用いて膝関節部の静磁場(mg)が運動器に与える影響を検討した。静磁場により脛骨骨梁幅の有意な増加(OVXmg vs SHAM)、骨粗鬆指標の有意な改善(OVXmg vs OVX)、大腿直筋FG線維の横断面積増大(OVXmg > OVX > SHAM)、関節軟骨の代謝を示す血中 型コラーゲン減少(OVX > SHAM OVXmg)がみられた。局所性骨量減少モデルでは大腿直筋湿重量の有意な増加(DNmg > DN)がみられ、全身性骨量減少と坐骨神経切除による筋萎縮が静磁場により抑制される傾向であると示唆された。

研究成果の概要(英文)：Static magnetic field (SMF) was reported to inhibit reduction of bone mineral density in ovariectomized (OVX) rats. The purpose of this study is to examine the influence of SMF on bone microarchitecture and leg muscles in OVX or denervated rats. Final body weights of the OVX+MG and OVX groups were significantly heavier than the SHAM group. Trabecular bone microarchitecture was remarkably deteriorated by OVX. The ratio of decrease for bone volume fraction was 81% in the OVX group and 69% in the OVX+MG group compared with the SHAM group. Compared with the OVX group, the degree of deterioration was smaller and  $V^{*tr}$  was significantly higher in the OVX+MG group. In this study, SMF was likely to inhibit deterioration of trabecular bone microarchitecture and decreases of the relative area of fast-twitch glycolytic fibers in rectus femoris in the animal model. We need to consider the SMF conditions, the timing and term of interventions.

研究分野：実験動物学

キーワード：静磁場 ラット

### 1. 研究開始当初の背景

高齢者における骨の脆弱化は易骨折性を来し、生命予後に重篤な悪影響を与える。骨折の治癒促進を目的とする物理療法として磁気パルス治療や超音波照射がなされているが、実験機器の特殊性からか、先行研究において磁場が骨、筋肉、ならびに関節へ及ぼす影響についての報告はほとんどない。パルス電磁場についての先行研究では、卵巣摘出ラットに対して骨量減少を遅延させるとの報告がある。永久磁石においても静磁場刺激が骨の成長を誘導するとの報告や、慢性疼痛状態にある関節炎ラットに対する疼痛軽減効果、筋肉量増加効果が認められたとの報告がある。永久磁石がパルス磁場と類似して治療の一助となれば、運動療法や通院が困難な状態の高齢者における治療の一助となり得ると期待される。

### 2. 研究の目的

磁場が骨に及ぼす影響についての報告は少なく、骨折部位に磁石を埋没する方法や軟X線撮影による骨密度の報告はあるが、海綿骨骨梁の微細構造を解析した報告はほとんどない。高齢者の骨量減少モデルとしてラットに卵巣摘出術を行った全身性の骨量減少と、運動や荷重の制限で生じる局所性の骨量減少に対して、永久磁石が骨、筋肉、関節軟骨へ及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 全身性骨量減少モデルラット

SD メスリタイヤラットを次の4群、1) 偽手術(SHAM)群、2) 偽手術+磁場曝露 (SHAM+Mg)群、3) 卵巣摘出(OVX)群、4) 卵巣摘出+磁場曝露 (OVX+Mg)群に分けて手術を行った。磁場曝露として外側右膝関節皮下に永久磁石埋没術を行い、左側には非着磁で同サイズのステンレス円盤を埋没した。磁場曝露を行わない2群については左右外側膝関節皮下にステンレス円盤各1個を埋没した。20週間飼育後に安楽死処置を行い採血、右側の大腿骨と脛骨の摘出、右側の大腿直筋とヒラメ筋、長趾伸筋の摘出を行った。摘出した骨をmicroCTで撮影後に非脱灰標本を作製した。摘出筋に組織化学染色を行い筋線維タイプ分けを行った。血清は-80℃保存し、オステオカルシン(骨形成マーカー)、TRACP-5b(破骨細胞マーカー)、CTX-(関節マーカー)の測定を行った。

#### (2) 局所性骨量減少モデルラット

SD メスリタイヤラットを次の3群、1) 偽手術(SHAM)群、2) 坐骨神経切除(DN)群、3) 坐骨神経切除+磁場曝露 (DN+Mg)群に分けて手術を行った。磁場曝露の方法は(1)と同様である。10週間飼育後に安楽死処置を行いmicroCTにて大腿骨と脛骨を撮影した。

#### (3) 倫理的配慮

全ての動物実験は畿央大学動物実験委員

会の承認を得、畿央大学動物実験管理規程、その他関係法令に従って行われた。磁石埋没術を行うため、全群のラットを1ケージに1匹で飼育した。エンリッチメントとしてステンレス製バケツ型シェルターを全群のケージに各1個、配置した。

#### (4) 統計処理

データは平均±標準偏差で表し、一元配置分散分析(Scheffe)を行い $P<0.05$ をもって有意とした。

### 4. 研究の成果

#### (1) 全身性骨量減少モデルラット

卵巣摘出術3週後でOVX群とOVX+Mg群はSHAM群とSHAM+Mg群よりも有意に体重が増加した。脛骨海綿骨の骨量(BV/TV)はSHAM群と比べてOVX群で約81%、OVX+Mg群では約69%減少しており、OVXによる骨量減少を静磁場が抑制する傾向がみられた。骨梁数(Tb.N)、骨梁厚(Tb.Th)、骨梁幅(Tb.W)においてもOVX+Mg群ではSHAM群より有意に高値であった。また骨量平均体積( $V*tr$ )でOVX+Mg群はSHAM群とOVX群に対して有意に高値を示した。骨芽細胞により合成されるオステオカルシン(骨形成マーカー)と破骨細胞に局在するTRACP-5b(骨吸収マーカー)においては各群間で有意差は認められなかった。TRACP-5b濃度は破骨細胞数に反映されることから、OVXによる全身の骨量減少で破骨細胞数とTRACP-5bも経時的に減少するはずである。しかし今回のOVX群とOVX+Mg群ではTRACP-5bの大幅な減少は認められなかった。また、OVXにより高値を示す軟骨成分のCTX-はOVX+Mg群において高値を示さずSHAM群と同様であった。

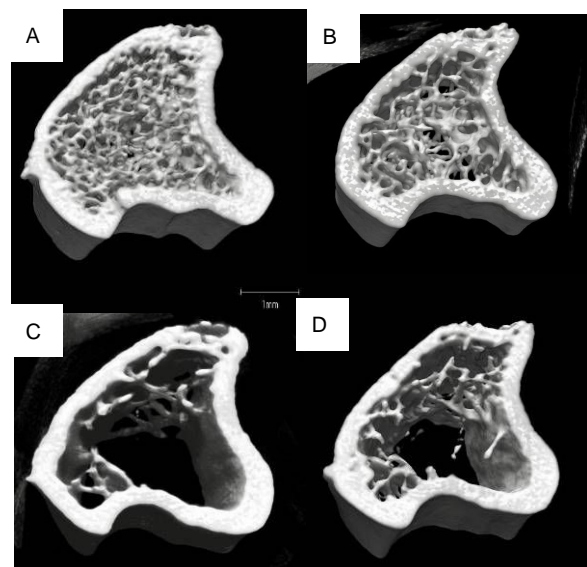


図1 脛骨近位端のCT画像

A: SHAM、B: SHAM+Mg、C: OVX、D: OVX+Mg

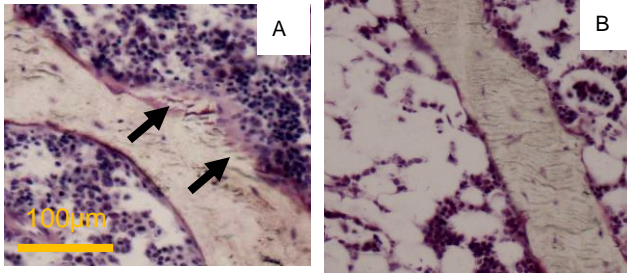


図2 脛骨近位端の非脱灰薄切標本  
A:OVX、B:OVX+Mg  
破骨細胞面(黒矢印)

表1. OVX 後 20 週時の体重と脛骨の解析  
パラメーター、血清中の骨指標マーカー

	SHAM	SHAM+Mg	OVX	OVX+Mg
体重 (g)	406.9 ± 15.7	405.4 ± 16.8	468.7 ± 40.6	476.1 ± 12.8
BV/TV (%)	13.7 ± 4.0	12.7 ± 4.1	2.6 ± 1.3*	4.2 ± 1.4*
Tb.N (1/mm)	1.37 ± 0.43	1.19 ± 0.46	0.25 ± 0.09*	0.37 ± 0.17*
Tb.Th (µm)	73.5 ± 3.7	72.3 ± 2.5	81.4 ± 3.8	81.9 ± 7.0*
Tb.W (µm)	119.8 ± 7.5	122.7 ± 4.0	130.4 ± 6.3	134.9 ± 1.2*
V*tr (mm <sup>3</sup> )	0.017 ± 0.003	0.018 ± 0.004	0.014 ± 0.006	0.024 ± 0.004*#
Osteocalcin (µg/mL)	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.12 ± 0.02
TRACP-5b (U/L)	3.62 ± 0.93	2.99 ± 0.63	3.24 ± 0.98	2.96 ± 0.73
CTX- (ng/mL)	0.56 ± 0.11	0.55 ± 0.14	0.77 ± 0.13	0.58 ± 0.20

\*P<0.05 vs. SHAM group,  
#P<0.05 vs. OVX group

骨標本において OVX 群では骨吸収による分岐していない島状の骨が目立ち、骨芽細胞面が高値を示す高代謝回転状態を示したが、OVX+Mg 群においては骨表面に対する骨芽細胞面と破骨細胞面が同様の割合を示し、骨吸収が低下していることを示した。

大腿骨においては SHAM 群に比して OVX 群は海綿骨骨量(BV/TV)が約 85%、OVX+Mg 群で

は 74%が減少し、骨梁厚(Tb.Th)、骨梁幅(Tb.W)は SHAM 群に対して OVX 群は有意に低値を示し、OVX+Mg 群は OVX 群よりも高値を示したが脛骨のように SHAM 群よりも有意に高値は示さなかった。

大腿直筋、ヒラメ筋、長趾伸筋における筋湿重量(g/体重 100g)は全群において差は認められなかったが、ATPase 染色による筋線維タイプ分けの横断面積では大腿直筋の FG(Fast-twitch glycolytic)線維において、OVX-Mg 群が OVX 群よりも増大傾向であった。

## (2)局所性骨量減少モデルラット

偽手術(SHAM)群、坐骨神経切除(DN)群、坐骨神経切除+磁場曝露(DN+Mg)群における海綿骨骨量(BV/TV)は大腿骨、脛骨ともに 3 群間に差は認められなかった。術式としては、全群において右大腿部の皮膚ならびに筋肉の切開、坐骨神経露出までを行い SHAM 群は閉創、他 2 群は坐骨神経を約 1cm の摘出切除を行い、さらに膝関節部の皮膚切開と SHAM 群と DN 群にステンレス円盤、DN+Mg 群に磁石円盤の埋没を行った。そのため、右後肢の皮膚、筋肉において全群に切開創が 2 か所生じ坐骨神経切除の影響よりは少ないが SHAM 群にも若干の不動期間が生じたことが影響したと示唆される。しかし、大腿骨と脛骨において骨梁数(Tb.N)が DN+Mg > SHAM DN の傾向を示した。

また、血中の骨形成マーカーにも群間に差は認められなかった。しかし、筋湿重量(g/体重 100g)において SHAM 群を 100%とすると DN 群、DN+Mg 群の順にヒラメ筋で 23.2、24.6%、長趾伸筋で 27.7、39.6%、大腿直筋で 97.0、104.0% (P<0.05)と磁場曝露により筋の萎縮が抑制される傾向にあり、大腿直筋においては筋横断面積の増大が確認された。

以上より、全身性骨量減少に対して静磁場は骨量減少を抑制する傾向がみられた。しかし、介入期間が 20 週間と長期であり卵巣摘出の影響と静磁場の影響とでは、卵巣摘出の方がより強く海綿骨骨量に影響を及ぼしたと示唆される。また、SHAM+Mg 群においては SHAM 群と比べて磁場曝露の骨量と筋湿重量への影響が認められなかったことから、静磁場は正常な海綿骨あるいは筋細胞に対しての増強効果は認められず、局所性骨量減少モデルの DN+Mg 群が DN 群と比べて大腿直筋湿重量(P<0.05)と筋横断面積の増大が認められたことから、骨量減少状態の海綿骨、損傷状態の筋に作用するのではないかと示唆された。

## 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)

[学会発表](計 1 件)

Nishii Y, Minematsu A. Influence of

magnet implant on tibial trabecular bone architecture in ovariectomized rats. 13th Congress of the International Society of Bone Morphometry, Tokyo, April 27-29, 2015

6 . 研究組織

(1)研究代表者

西井 康恵 (NISHII Yasue)  
畿央大学・健康科学部・助手  
研究者番号：50461207

(2)研究分担者

峯松 亮 (MINEMATSU Akira)  
畿央大学・健康科学部・教授  
研究者番号：50368601