

発育期ラット脛骨における短期間不動後の 運動刺激が骨形成に及ぼす影響

Effects of exercise after short-term immobilization on
bone structure in growing rat

高橋 将人* 西本 哲也* 大迫 正文*
TAKAHASHI Masato NISHIMOTO Tetsuya OHSAKO Masafumio

要 旨

発育期長骨における骨端板直下の一次海綿骨ならびに二次海綿骨は、それぞれ異なる機能と形成過程を有している。それらに及ぼすメカニカルストレスの増減の影響、特に不動と運動の両条件下における影響に関しては報告がない。そこで、本研究は、短期間の不動処置後の運動が一次および二次海綿骨の骨形成に、どのような影響をもたらすかについて検討することを目的とした。

材料として、5週齢のウィスター系雄性ラット30匹を用い、それらを以下のように無作為に分類した。すなわち、①4日間の後肢不動化を図る群（IM-1）と、その②対照群（CO-1）、③4日間の不動化の後、4日間の運動を負荷する群（IM・EX）、④4日間の不動化の後、4日間通常飼育する群（IM・CO）および⑤全実験期間を通して通常飼育する群（CO-2）に分類した。各群のラットに後肢不動化または跳躍運動を課し、実験期間終了後、安楽死させた上、脛骨を摘出して標本を作製し、形態計測学および組織学的に観察した。

形態計測学的には、IM-1の二次海綿骨の骨量および骨密度は低下したが、IM-COやIM-EXでは回復しなかった。組織学的には、IM-1で二次海綿骨の骨梁が減少したが、IM-COやIM-EXでは回復は認められなかった。しかし、IM-1の一次海綿骨に関しては、骨梁幅の減少がみられるが、IM-COやIM-EXでは太さが増加した。IM-EXの骨端板直下では、IM-COに比べて、石灰化軟骨梁が吸収されにくく、軟骨小腔開放部位に近い部位から骨が形成され、その部位にはオステオカルシンの免疫染色陽性の細胞が多く認められた。

これらのことから、短期間の不動後のメカニカルストレス増加の影響は一次海綿骨において顕著に認められ、ここでは骨芽細胞の分化促進と、骨形成の活性化が生じることが理解された。

キーワード：運動 不動 骨構造

*東洋大学ライフデザイン学部 Toyo University, Faculty of Human Life Design

住所：〒351-8510 朝霞市岡48-1（東洋大学）

電話・ファックス：048-468-6371（研究室直通）

はじめに

長骨の両端には海綿骨があり、それは隣接する骨からの加重を一点で受け止めず、周囲の皮質骨に分散する役割を担っている。発育期の長骨の骨幹端には、骨の長軸方向への成長に関わる骨端板が存在し、その直下の海綿骨は一次海綿骨と二次海綿骨に区分される。二次海綿骨を構成する骨梁は太く、隣接する骨からの加重の分散に大きく貢献する。しかし、一次海綿骨では細く、短い骨梁が網状配列しており、そのため強度的には弱く、発育期の子供においては骨端線離開を起こしやすい構造となっている¹⁾。

一次海綿骨の骨梁は、骨端板で形成された石灰化軟骨梁を芯として骨が添加されることによって形成されるが、発育初期では石灰化軟骨梁のみで構成されるものも多くみられる。成熟段階に近づいたがって、その骨梁への骨の添加量が増加し、骨端板直下においても一次海綿骨の骨梁は太くなる。しかし、そのような変化とメカニカルストレスとの関連性、特に、不動条件下に置かれた後にメカニカルストレスの増加が骨梁構造にどのような影響をもたらすかについては明らかにされていない。

一方、アルカリフォスファターゼ (ALP)、オステオカルシン (OCN) およびオステオポンチン (OPN) は、メカニカルストレスと骨芽細胞の分化との関連性についてみた研究^{2,3)}において、骨芽細胞の分化マーカーとしてしばしば用いられている。骨端板直下では、造骨系細胞から幼若な骨芽細胞、さらにより分化度の高い骨芽細胞へと細胞の分化が進行する。しかし、骨端板直下に存在する骨芽細胞の分化に、メカニカルストレスがいかなる影響を及ぼすかについても報告がない。

本研究は、短期間の不動処置後の運動が一次および二次海綿骨の骨形成に、どのような影響をもたらすかについて検討することを目的とした。

実験方法

実験動物及び実験群の分類

材料として、5週齢のウィスター系雄性ラット30匹を用い、それらを以下のような実験プロトコールにより無作為に分類した。すなわち、①4日間の後肢不動化を図る群 (IM-1) と、②その対照群 (CO-1)、③4日間の不動化の後、4日間の運動を負荷する群 (IM-EX)、④4日間の不動化の後、4日間通常飼育する群 (IM-CO) および⑤全実験期間 (8日間) を通して通常飼育する群 (CO-2) に分類した。なお、各群のラットは搬入後、実験動物飼養室にて2日間の予備飼育を行い、その間にハンドリング等も含め、験者および実験の環境に慣れさせた。

IM-1およびIM-EXには、以下のような方法により、不動または運動を実施し、CO-1、IM-COおよびCO-2では、上記の期間ケージ内にて通常飼育した。

なお、本実験におけるいずれの群も、給餌給水は自由摂取とし、飼養施設は気温22℃に保ち、また、1日のなかで昼間は明期、夜間は暗期とするように努めた。

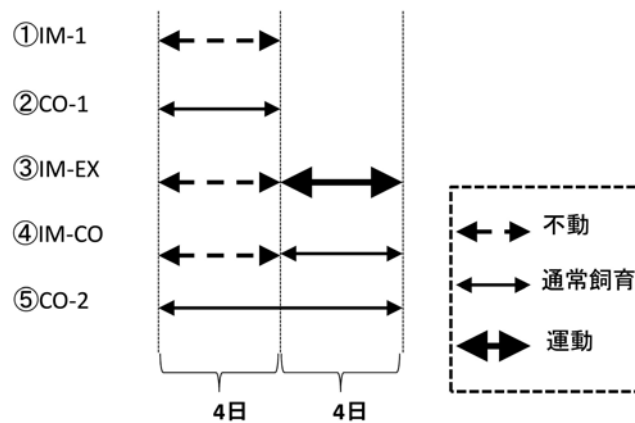


図1. 各群における実験プロトコール

不動実験

IM-1には、後肢膝関節に不動装置を4日間装着し、後肢の運動を制限した。不動装置装着に際して、ペントバルビタールNa (40mg/kg体重) を腹注し、麻酔下にて装置を装着した。不動期間を通して、装置装着に伴う下肢の血行障害や外傷を防止するため、毎日足先の皮膚の色や腫れの有無を確認し、障害等がみられた場合には、速やかに装置を外し、実験を中止した。

運動実験

IM-EXには、IM-1と同様に4日間の後肢不動化を図り、その後4日間の反復跳躍運動を行わせた。その運動は梅村ら⁴⁾ および尾淵ら⁵⁾ の方法に従い、高さ40cmの跳躍運動を約1～3秒間の間隔で、一日に100回連続して行わせた。この運動負荷の実験群に関しては、予備飼育期間にあらかじめ跳躍運動の練習を行った。跳躍運動装置の床面には、電気刺激装置が設置されており、予備飼育期間の練習時には、数回の電気刺激を行うことによって、ラットに跳躍の反射運動を獲得させた。そのため、実験期間においては、電気刺激を用いることなく自発的な跳躍運動が可能であった。

標本の摘出および固定

各群の実験期間終了後、ラットに致死量 (通常麻酔量の2～4倍: 100～120mg/kg体重) のペントバルビタールNaを投与して、安楽死処置を行った。死亡を確認後、ラット後肢の皮を剥離し、軟組織を極力除去して、脛骨を摘出した。歯科用ハンドモーターにて、脛骨の内外的中央部で矢状切断し、速やかに4%パラフォルムアルデヒド、または5%グルタルアルデヒドと4%パラフォルムアルデヒドを含むカルノブスキー液に浸漬し、固定処置を行った。

肉眼および組織学的観察

固定された矢状切断標本にTRAP染色を施し、切断面を実体顕微鏡により観察した。他の固定標本は、10% NaOH水溶液または次亜塩素酸ナトリウムに浸漬して有機質を除去し、その後アルコール系列および真空凍結乾燥機にて脱水、乾燥した。さらに、カーボンとプラチナの真空蒸着を施し、

走査電子顕微鏡にて一次および二次海綿骨の構造を観察した。

他の固定標本を用いて、脱水、透徹の後、パラフィンまたはリゴラック樹脂を浸透させ、それぞれのブロックを作製した。パラフィン包埋ブロックはマイクロトームにて薄切し、厚さ約5ミクロンの完全連続切片を作製し、OCNの免疫染色を施して光学顕微鏡により観察した。また、リゴラック樹脂包埋ブロックは、3段階の砥石ならびに、研磨用フィルムを用いて研磨し、厚さ約100ミクロンの研磨標本を作製した。それに1N塩酸による酸エッチング処理を行い、トルイジンブルー染色を施して、光学顕微鏡により観察した。

骨形態計測

非脱灰リゴラック樹脂包埋標本を研磨し、トルイジンブルー染色を施して光学顕微鏡により観察した。各群の二次海綿骨の構造変化を骨形態計測法により測定した。数値データは平均値±標準偏差で表し、群間の平均値における差の統計的な有意性はSPSSソフトを用いて、対応のないMann-Whitney U testにより検定した。

所見

TRAP染色を施した脛骨の矢状断面を肉眼的に観察すると、いずれの群においても骨端の骨内膜と、骨端板直下の海綿骨ならびに、後方皮質骨の外表面にTRAP陽性反応が認められる。骨端板直下の海綿骨における陽性反応には、群間で次のような違いが認められる。すなわち、CO-1では骨端板に近い領域にやや強い反応が見られるが、その上下的範囲は狭く、それより下方の反応は弱い。それに対して、IM-1では骨端板直下の反応は強く、しかもCO-1に比べてその陽性反応の範囲が広い。CO-2の反応は、基本的にCO-1とほぼ同様である。IM-CO、IM-EXのいずれも、骨端板直下の反応はIM-1よりかなり弱い。また、その反応を詳細に見ると、CO-1、IM-1、およびCO-2に見られた、骨端板直下の強い反応はこれらの群にほとんど認められない。また、IM-COとIM-EXを比較すると、IM-EXの反応の方がやや強い(図4)。

樹脂包埋された非脱灰研磨標本を用いて、骨形態計測学的手法により、各種パラメータを計測すると、4日間の後肢不動化を図ったIM-1の二次海綿骨の骨量(図2)および骨密度(図3)には、CO-1より有意な減少がみられる。その後通常飼育したIM-COと、運動を課したIM-EXの骨量(図2)および骨密度(図3)はやや増加し、CO-1との有意差は認められない。

矢状切断された標本の研磨面を次亜塩素酸ナトリウムにて処理し、その二次海綿骨下部を走査電子顕微鏡にて観察すると、CO-1では骨梁が密な網状構造を示しているが、骨梁は主に上下方向に配列し、その下端は皮質骨に融合している。同様な部位のIM-1を観察すると、ここにおいても骨梁が網状に配列しているが、それらはCO-1に比べ全体的に疎となり、それらの配列も不規則になっている。また、海綿骨の下部では骨梁の消失が観察される。IM-COでは、IM-1で見られた不規則な配列の骨梁が見られなくなり、海綿骨下部の空洞がやや広がって観察される。その空洞に面する海綿骨の辺縁では、配列の不規則な骨梁がわずかに認められる。IM-EXもIM-COと同様に、海綿骨下部の空洞部分が拡大しているが、IM-COと異なって、空洞辺縁の不規則な配列を示す骨梁も消失している(図5~8)。

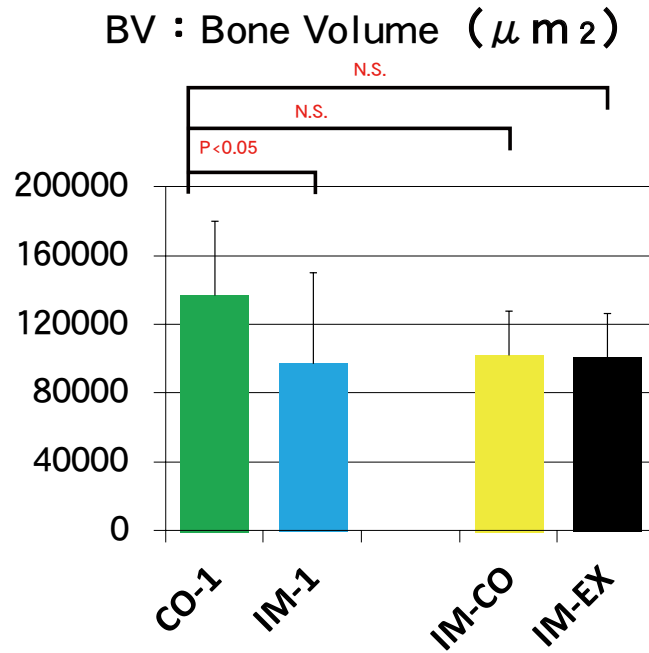


図2. 各群の二次海綿骨における骨量の計測結果

4日間の後肢不動化を図ったIM-1群の二次海綿骨の骨量は、CO-1より有意に減少した。その後通常飼育したIM-CO群と、運動を課したIM-EX群の骨量はやや増加し、CO-1群との有意差は認められなくなった。

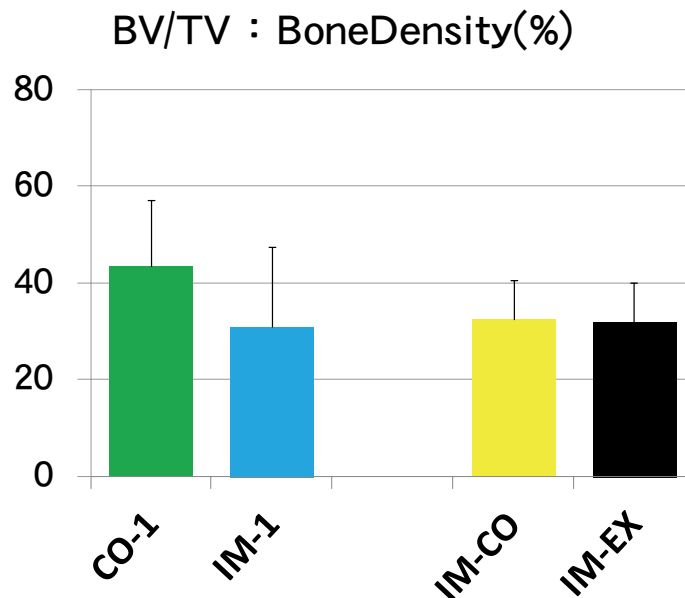


図3. 各群の二次海綿骨における骨密度の計測結果

4日間の後肢不動化を図ったIM-1群の二次海綿骨の骨密度は、CO-1より有意に減少した。その後通常飼育したIM-CO群と、運動を課したIM-EX群の骨密度はやや増加し、CO-1群との有意差は認められなくなった。

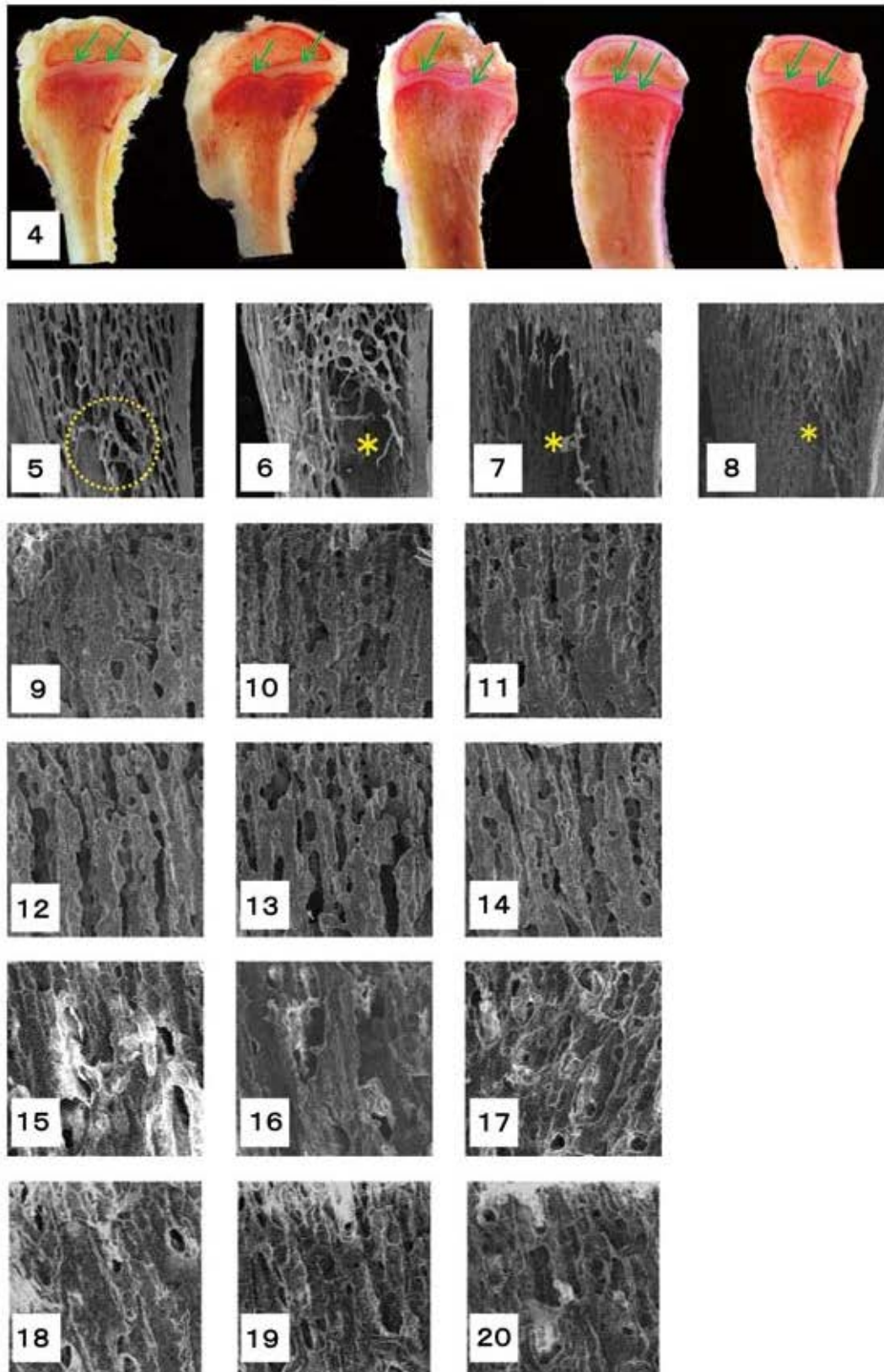


図4. 各群における脛骨のTRAP反応（矢状断面、TRAP染色）

写真左側から順に、CO-1、IM-1、CO-2、IM-CO、IM-EXを示す。通常飼育したCO-1およびCO-2では、骨端板（矢印）の下方の部位でTRAP染色に陽性の反応が認められた。4日間の不動状態におか

れたIM-1では、その反応は強まり、またその範囲も広がりを示した。不動後、通常飼育に戻したIM-COおよび運動を行ったIM-EXでは、その反応はやや低下するが、範囲はIM-1とほぼ同様であった。

図5～8. 各群における二次海綿骨の走査電子顕微鏡像

(図5：CO-1、図6：IM-1、図7：IM-CO、図8：IM-EX)

4日間通常飼育されたCO-1では、二次海綿骨下方の領域（点線内）に骨梁の疎な部位が認められ、同期間の後肢不動化を図ったIM-1ではその部位に骨梁の顕著な消失が観察された。その後、通常飼育（IM-CO）や運動（IM-EX）を行っても、その骨梁の減少は回復されなかった。

図9～20. 各群における一次海綿骨の走査電子顕微鏡像

(図9～11：左から順に、CO-1の前方部、中央部、後方部)

(図12～14：左から順に、IM-1の前方部、中央部、後方部)

(図15～17：左から順に、IM-COの前方部、中央部、後方部)

(図18～20：左から順に、IM-EXの前方部、中央部、後方部)

4日間の不動により一次海綿骨の骨梁は太さが減少するとともに、数も減少した。しかし、その後通常飼育されたIM-COおよび運動負荷されたIM-EXでは個々の骨梁の太さが増した。

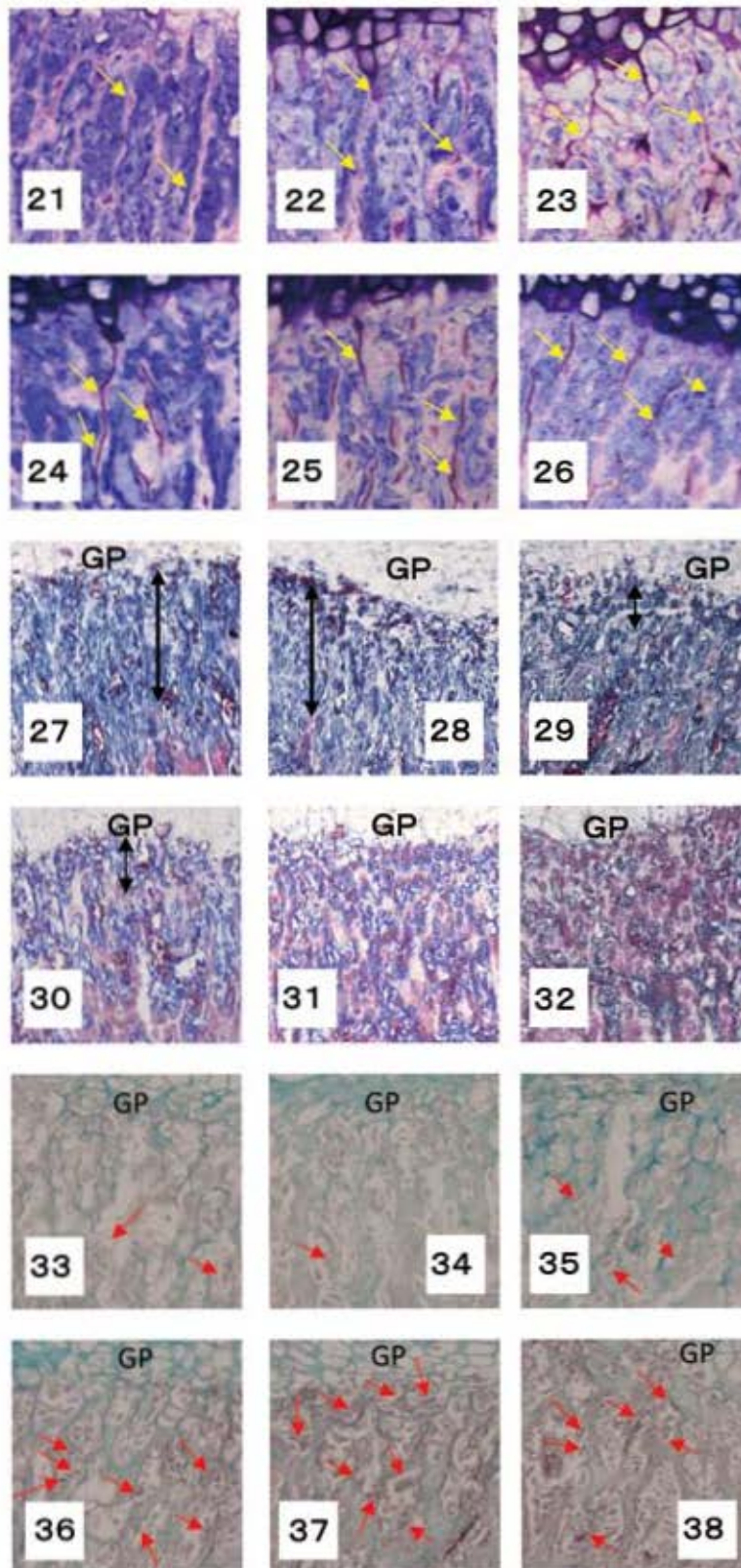


図21~26. IM-CO およびIM-EXにおける骨端軟骨直下の石灰化軟骨梁
(リゴラック樹脂包埋研磨標本、トルイジンブルー染色)
(図21~23: 左から順に、IM-COの前方部、中央部、後方部)

図24～26：左から順に、IM-EXの前方部、中央部、後方部)

骨端板下縁から下方に伸びる石灰化軟骨梁は、IM-COでは細く分断されるものもみられるが、IM-EXのそれは連続性が高く、直線的に伸びるものが多い。

図27～32. IM-COおよびIM-EXの一次海綿骨における骨の形成開始部位

(脱灰パラフィン切片、マッソン・トリクローム染色、GP：骨端板)

(図27～29：左から順に、IM-COの前方部、中央部、後方部

図30～32：左から順に、IM-EXの前方部、中央部、後方部)

軟骨小腔開放部位から石灰化軟骨梁周囲に骨（赤色に染色される骨）が形成され始めるまでの間隔（矢印）は、IM-COに比べてIM-EXの方が短い。

図33～38. IM-CO およびIM-EXにおけるオステオカルシン陽性細胞の局在

(脱灰パラフィン切片、オステオカルシンの免疫染色)

(図33～35：左から順に、IM-COの前方部、中央部、後方部

図36～38：左から順に、IM-EXの前方部、中央部、後方部)

両群におけるオステオカルシンの陽性細胞は、骨端板（GP）直下の一次海綿骨で認められるが、その数はIM-EXの方が多く、また、IM-EXの方が骨端板に近い部位から出現する。

脛骨の矢状割断標本に研磨を施し、上記とは異なりNaOHにて処理し、一次海綿骨を中心に観察すると、CO-1では前方および後方部には太い骨梁が形成されているが、中央部の骨梁はそれらに比べてやや細い。IM-1ではいずれの部位もCO-1の骨梁に比べて細くなり、特に中央および後方部で骨梁の太さの減少が明らかに見られる。IM-COおよびIM-EXではいずれの部位の骨梁もIM-1より太いものが多く、特にそのような状態はIM-EXで顕著となっている。これらの群における骨梁の間隙は狭く、IM-1に比べていずれの部位も骨梁が密に存在している(図9~20)。

リゴラック樹脂包埋標本を研磨し、トルイジンブルー染色を施して一次海綿骨を観察すると、IM-COの前方部では細い石灰化軟骨梁が骨端板下縁より下方に伸びているが、それらは分断されているものが見られる。そのような石灰化軟骨梁の分断は中央および後方部においても見られ、また、後方部では直線的な石灰化軟骨梁よりも蛇行するものが多い。それに対して、IM-EXにおけるそれらは分断されるものもあるが、IM-COに比べ直線的に下方へ向かって伸びるものが著しく認められる(図21~26)。

脱灰パラフィン切片にマッソン・トリクローム染色を施し、一次海綿骨を観察すると、IM-COでは骨端板からやや離れた位置でボンソーフクシンに赤く染まる骨が形成され始める。しかし、IM-EXではいずれの部位においても、IM-COに比べて同様に赤く染まる骨は骨端板にかなり近い部位から形成され始めている(図27~32)。

両群におけるOCNの陽性細胞は、骨端板直下の一次海綿骨で認められるが、その数はIM-EXの方が多く、また、IM-EXの方が骨端板に近い部位から出現する(図33~38)。

考 察

本研究は、短期間の不動処置後の運動が骨形成に及ぼす影響について検討するものであり、以下に本実験によって得られた所見に基づいて考察を進める。

軟骨や骨の構造に及ぼすメカニカルストレスの増減の影響については、広く検討がなされている⁵⁻¹⁰⁾。東城⁶⁾はラット後肢膝関節を不動化することにより、関節軟骨の厚さの減少や軟骨細胞の小型化ならびに密度低下がみられたことを報告している。また、荻原⁷⁾もラット後肢の不動化によって、脛骨関節軟骨の構造変化、特に軟骨細胞層の構成に焦点を当て、それに及ぼす影響について検討している。その結果、不動によって軟骨各細胞層の中でも、軟骨の基質合成に重要な役割を担う中間層で顕著な厚さの減少が認められたことを報告している。

メカニカルストレス低減の骨に及ぼす影響について検討した報告には、高齢者の寝たきり状態をシミュレートした実験⁸⁾や、運動不足状態にある発育期の児童をシミュレートした実験⁹⁾がある。前者では、40週齢の成熟段階にあるラット後肢を用いて、ギプスによる不動化を図ることにより、脛骨の海綿骨の減少と皮質骨の厚さの減少に加え、骨の外形も細くなることが示されている。それに対して、発育期ラットを用いた後者では、海綿骨の減少と皮質骨の厚さの減少がみられることは前者と同様であるが、脛骨の外形には不動の影響はほとんどみられないとされている。これらのメカニカルストレス減少の影響について検討した報告では、いずれも後肢の不動化が用いられ、その期間も4週間以上となっている。これらの報告では、海綿骨の上下的な幅の減少がみられ、それは骨端板付近にま

で及ぶとされている。

短期間の不動の影響について検討したものには、飛田¹⁰⁾の報告がある。そこでは、5週齢のラット後肢に4日間という短期間の不動処置が行われている。それにより脛骨近位海綿骨の中でも、一次海綿骨では顕著な変化がみられないことが示されている。また、二次海綿骨に関しても、骨梁の減少はほとんどみられないが、その下方の部位においてのみ骨梁が減少し、その部位に洞状の空洞が現れたとしている。本研究でも、飛田と同様の実験を行い、その結果、一次および二次海綿骨にみられる影響に関しては上記の報告に一致するものが認められている。

ラット後肢に4、7および14日間の不動化を図った守田¹¹⁾の報告によると、実験期間の延長に伴って、海綿骨の減少量が増え、しかもそれが下方から上方に向かって拡がるとされている。また、発育期における海綿骨の形成過程について考えると、二次海綿骨の上下的な幅は発育に伴って増加する¹²⁾。安達¹³⁾は海綿骨欠損部領域での骨梁再生のシミュレーション実験を行い、その部位に薄い海綿骨様の組織が形成され、石灰化に伴って、骨梁が形成されることを認めている。このことから、欠損部内の骨梁構造が、力学的機能を有する構造であることを明らかにしている。そのため、骨梁の密度や配列方向には、骨にかかる負荷の大きさや方向性が深く関わり、海綿骨の上下的な幅は、骨梁による外力の分散されるべき広さに一致する。このようなことから、本研究で二次海綿骨の下方の部位にのみ骨梁の減少がみられたのは、短期間の不動化に伴う脛骨へのメカニカルストレスの減少を意味するものと考えられる。

骨端板の下部、すなわち肥大細胞層の下方の領域では予備石灰化が生じ、それは骨端板下縁で軟骨小腔が解放した後は石灰化軟骨梁となる。一次海綿骨の骨梁は、細く、網状に配列しているが、それは骨端板下縁付近では石灰化軟骨梁のみで構成される。発育期の骨端板における軟骨細胞の密度を部位別（前方、中央および後方部）に比較すると、中央部が最も密度が高い¹⁴⁾。このことは、骨端板から下方に伸びる石灰化軟骨梁が中央部では細く、それ以外のところは太いということの意味する。一次海綿骨では、その石灰化軟骨梁を芯として骨が添加されて、骨梁が形成されるが、中央部のように石灰化軟骨梁が細い部位とその他の部位を比較すると、中央部の骨梁は他の部位よりも細い可能性がある。事実、本研究で対照群の一次海綿骨の太さを比較すると、そのような状態が観察されている。日常的に膝を屈曲して生活するラットの場合、大腿骨側からの加重は脛骨近位端の中でも、中央および後方部にもたらされる。そのことに関連して、二次海綿骨の骨梁は、中央および後方部は前方部よりも発達し、太くて長い骨梁が多く認められる¹⁵⁾。このように、二次海綿骨の骨梁の密度ならびに配列状態に関しては、大腿骨側からの加重条件が深く関わる。しかし、一次海綿骨の骨梁に関しては、太さや配列に二次海綿骨とは異なる状況が観察されることから、その構造には大腿骨側からのメカニカルストレスの大きさの違いよりも、骨端板の軟骨細胞および基質の分化が影響しているものと思われる。

川島³⁾は、マウス頭蓋冠縫合部にみられる骨芽細胞に張力をかけた状態で培養し、24時間後に類骨の形成がなされることを認めている。このような一次海綿骨の骨梁にも、メカニカルストレスの増減の影響は現れ、本研究では4日間の不動によって、いずれの部位の骨梁も細くなり、反対にその後の不動からの解放または運動の実践によって、いずれの部位にも太さの増大がみられている。川島³⁾が示すように、張力を負荷した後、早期のうちに骨形成が行われる可能性があり、本研究においては

後肢の不動化によって一度骨梁が吸収を受けても、その後のメカニカルストレスによって速やかに骨形成が活性化されていたものと思われる。

本研究における著者の観察によると、不動後通常飼育に戻した群では、骨端板直下の石灰化軟骨梁は不連続なものが多く、特に後方部では非直線的なものがしばしばみられる。それに対して、不動後運動を負荷した群では、いずれの部位でも石灰化軟骨梁が直線的に伸び、先の群に比べて連続性が高い。上述したごとく、この部位では、石灰化軟骨梁を芯として骨が添加されて骨梁が形成される。そのため、骨梁の深部に石灰化軟骨梁が位置するものが多くみられるが、不動後通常飼育した群では、石灰化軟骨梁が分断されており、このことは骨端板直下で骨梁の配列方向を変えるために行われていると思われる。しかしながら、骨端板から一次海綿骨への加重の伝達という意味からは、この石灰化軟骨梁の吸収はその伝達機能を阻害するものである。このように、不動により一次海綿骨の骨梁が分断されることから、不動された群では、骨端板から一次海綿骨への加重伝達がほとんどなされていないであろうことが推測される。

それに対して、不動後運動を課した群では、石灰化軟骨梁の直線的な配列が維持されており、このことはこの部位における骨梁の形成を容易にするとともに、骨端板から一次海綿骨への円滑な力の分散がなされているものと思われる。事実、この部位の切片にマッソン・トリクローム染色を施して観察すると、不動後通常飼育した群では、骨端板の下縁からある程度離れた部位でボンソーフクシンに染まる骨が形成されていることが認められる。また、不動後運動を課した群では、いずれの部位においても骨端板の直下からすでに骨形成が開始されている。このように、骨端板から下方に伸びる石灰化軟骨梁が、不動後の運動によって直線的かつ連続的に伸びることによって、骨芽細胞による骨の添加が促進され、そのために、この群ではいずれの部位も骨端板直下から太い骨梁が形成されていると考えられる。

高橋²⁾は、マウス骨芽細胞様細胞およびラット頭頂骨由来骨芽細胞様細胞を用いて、*in vitro*におけるメカニカルストレスが、ALP産生能、OCNの発現、骨芽細胞の分化に必須な転写因子Runx2、AP-1の活性化などの骨形成因子の発現と、シグナル伝達機構に及ぼす影響について検討した。その結果、メカニカルストレスは骨芽細胞様細胞に対し、その分化と機能を亢進させると報告している。本研究では、不動後通常飼育しても、また不動後に運動を課しても、OCNの陽性細胞が骨端板直下の一次海綿骨で認められる。しかし、その数は不動後に運動を行った方が多く、また、それは骨端板に近い部位から出現することが観察されている。川島³⁾は、マウス頭蓋冠縫合部にみられる骨芽細胞に、歯科矯正用ワイヤーを用いて作製したスプリングで、その縫合部を引き離すような張力をかけ、それらの細胞の骨形成能とメカニカルストレスとの関連性についてすでに検討している。その結果、張力負荷により頭蓋冠縫合部の細胞は、扁平化するとともに張力負荷方向に平行に配列し、細胞数が次第に増加して、ALP陽性細胞も縫合中心部に向かって伸び出す。また、6時間後では、それらの細胞がOCNおよびOPN陰性であることから前骨芽細胞と考え、24時間後では類骨の形成も認めている。48時間後には類骨の形成やALP陽性で、OCNやOPNの発現も確認しており、この段階では成熟した骨芽細胞であると考えている。また、そのような骨芽細胞の分化は72時間後により顕著になったとしている。このように、張力を負荷された骨芽細胞は、比較的早期のうちにALP、OCNおよびOPNを発現し、成熟した段階まで分化する。本研究では、不動期間後通常飼育した群に比べ、

運動を負荷した群の方が骨端板直下でOCNを発現する細胞が多くみられている。このことに川島の報告を関連づけて考えると、不動処置を凶ってもその後、通常の生活に戻すよりも、運動を実践することによって、骨芽細胞の分化が促進され、また、そのような分化の開始部位がより骨端板に近い部位になることが推測される。

以上のように、不動期間に減少した二次海綿骨の骨梁はその後通常生活に戻しても、また、運動を行っても早期のうちに回復する可能性は低い。しかし、一次海綿骨に関しては、不動後にメカニカルストレスをかけることによって、石灰化軟骨梁の連続性が維持されるとともに、骨芽細胞の分化が促進され、その結果、海綿骨では骨梁の太さが維持され、配列も規則的になると考えられる。

本研究では、不動期間後に通常飼育または運動という群を設け、運動期間前の不動がどのような影響をもたらすかについて検討しているが、実験プロトコルとして、さらに、他の実験群の設定も必要と思われ、このことに関しては今後の検討課題である。

結 論

短期間の不動後のメカニカルストレス増加の影響は一次海綿骨において顕著に現れ、そこでは骨芽細胞の分化促進と、骨形成の活性化が生じることが理解された。

謝 辞

本研究を進めるに当たり、多くのご協力をいただいた研究室の大学院生および学部生の方々に深謝致します。

本研究の実験は東洋大学動物実験委員会ならびにライフデザイン学部研究等倫理委員会において承認された。

なお、本研究の要旨は第67回日本体力医学会大会（於・岐阜市）において発表した。

参考文献

- 1) 光武聖史, 他: 脛骨近位骨端線損傷2例の治療経験. 整形外科と災害外科. 55: 455-458, 2006.
- 2) 高橋 哲, 他: 骨芽細胞様細胞におけるメカニカルストレスによる骨形成因子の発現増強とシグナル伝達. 九州歯科学会雑誌 54: 185, 2005.
- 3) 川島博行: メカニカルストレスにより誘導される骨芽細胞の分化と骨形成. 新潟歯学会雑誌 30: 173-182, 2000.
- 4) 梅村義久, 他: ジャンプトレーニングがラットの骨形態・強度に及ぼす影響. 体力科学 45: 311-318, 1996.
- 5) 尾淵紀之, 守田 剛, 大迫正文: ラット脛骨海綿骨の構造に及ぼす異なる強度の運動負荷の影響. ライフデザイン学研究 6: 73-84, 2010.
- 6) 東城希未, 羽田真洋, 大迫正文: ラット後肢不動化に伴う関節軟骨の構造変化に関する組織学的研究. 東洋大学大学院紀要 46: 231-239, 2009.
- 7) 荻原優, 東城希未, 大迫正文: ラット膝関節における軟骨細胞層の構成に及ぼす不動の影響. 東洋大学

- 大学院紀要 46：217-230, 2009.
- 8) 大迫正文：筋の萎縮による骨構造の変化に関する研究－「寝たきり」高齢者における筋と骨の脆弱化防止のための基礎的研究として－. 東洋大学紀要教養課程篇（保健体育）10：57-67, 2000.
 - 9) 大迫正文, 他：発育期ラット脛骨の構造に及ぼす不動の影響. スポーツ健康科学紀要 1：95-102, 2001.
 - 10) 飛田哲也, 秋山和歌子, 大迫正文：発育期ラット脛骨の構造に及ぼす短期間不動の影響. ライフデザイン学研究 7：257-271, 2011.
 - 11) 守田剛, 滝沢彩音, 大迫正文：発育期ラットにおける骨梁構造の特徴に関する研究. 東洋大学大学院紀要 48：101-115, 2011.
 - 12) 滝沢彩音, 荻原 憂, 大迫正文：発育期ラット脛骨海綿骨における骨の形成過程に関する観察. 東洋大学大学院紀要 47：257-268, 2010.
 - 13) 安達泰治, 他：海綿骨欠損部内の骨梁形態形成シミュレーション：反応拡散系によるモデル化. バイオエンジニアリング講演会講演論文集 16：39-40, 2004
 - 14) 藤川芳織, 他：発育期ラット脛骨の関節軟骨および骨端板の構造的特徴－軟骨下骨と一次海綿骨における骨形成過程－. 第67回日本体力医学会大会予稿集 p278, 2012.
 - 15) 守田 剛, 尾淵紀之, 大迫正文：発育に伴うラット脛骨の形態変化ならびにリモデリングに関する研究. ライフデザイン学研究 6：197-209, 2010.

Effects of exercise after short-term immobilization on
bone structure in growing rat

TAKAHASHI Masato, NISHIMOTO Tetsuya, OHSAKO Masafumi

Abstract

The purpose of this study was to investigate effects of exercise following short-term immobilization on bone formation of primary and secondary cancellous bone. Wistar strain male rats were used as materials and they were divided into several groups (ex. four-days-immobilization group, four-days-normal-feed following four-days-immobilization group:IM-CO and four-days-exercise following four-days-immobilization group:IM-EX.) Their tibiae were analyzed histologically.

Calcified cartilage trabeculae just under growth plate weren't able to be resolved in IM-EX, compared to IM-CO, and bone was formed from portion near erosion zone of chondrocyte's lacunae. And, at that portion, osteocalcin reaction positive cells appeared. From these facts, it was understood that remarkable effects of mechanical stress following short-term immobilization were appeared at primary cancellous bone, and promotion of osteoblastic differentiation and activation of bone formation were also found.

Keywords: exercise, immobilization, bone structure