

# 加重低減に伴うラット大腿骨の構造変化に及ぼす 異なる周波数の通電刺激の影響

Effects of electrical stimulations with different frequencies on structural changes of rat's femur by mechanical unloading

小林宗弘\* 望月将希\* 大迫正文\*

KOBAYASHI Munehiro, MOCHIDUKI Masaki, OHSAKO Masafumi

## 要旨

本研究では低周波治療器を用い、異なる周波数の搬送波を用いて経皮通電刺激の骨吸収の抑制効果を比較、検討した。

本研究では、7週齢のウィスター系雄性ラット40匹を用い、それらを実験的に後肢懸垂群HS、後肢懸垂通電群TEおよび対照群COに分類し、さらに、TEは搬送周波数の違いによりTE40、TE60、TE80と分けた。HSおよびTEは、ラットの尾部を天井から二週間吊した。TEは、低周波治療器を用いて、大腿遠位部の左右から通電刺激（直流60V）を10分/日、5日/週、2週間行った。搬送波周波数は群により40kHz、60kHzおよび80kHzに設定した。実験期間終了後、各群のラットを安楽死させ、大腿骨を摘出し、それらを組織学的に分析した。

TE60およびTE80の海綿骨ではTE40に比べて太い骨梁が密に存在したが、配列方向はCOよりも不規則であった。TE60とTE80の骨梁の太さは同様であったが、TE80はTE60よりも密度がやや高く、配列方向も規則的に上下方向に配列した。

加重低減によって引き起こされた骨量減少に対しては、直流の通電刺激に60kHz以上の周波数の搬送波を用いることによって、明瞭な抑制効果が得られることが理解された。

キーワード：加重低減、通電刺激、骨吸収抑制

---

\*東洋大学ライフデザイン学部健康スポーツ学科 Toyo Univ. Faculty of Human Life Design  
連絡先：〒351-8510 埼玉県朝霞市岡48-1

## はじめに

骨粗鬆症の治療には、運動療法や薬物療法、通電刺激が存在する。運動療法は、骨粗鬆症を発症した後は運動の遂行が困難であるため、身体運動機能が衰える前の段階から、予防的に導入するのが望ましいとされている<sup>1)</sup>。薬物療法については、これまで窒素含有ビスフォスフォネート<sup>2)</sup>、抗ランクル抗体<sup>3)</sup>、選択的エストロゲン受容体モジュレーター<sup>4)</sup>、副甲状腺ホルモン<sup>5)</sup>、抗スクレロスチン抗体<sup>6)</sup>、新規活性型ビタミンD<sub>32</sub><sup>4)</sup>が用いられ、これらには粗鬆症治療薬としての明瞭な効果が示されている<sup>7)</sup>。しかしながら、長期間の投与には副作用があることが指摘され、ビスフォスフォネートでは、顎骨壊死や大腿骨骨折のリスクが上昇することが知られている<sup>7)</sup>。それに対して、通電刺激には副作用は見られず、実験動物を用いた研究からは、後肢の加重低減を回ったラットに鍼通電刺激を施した実験では、副作用なしに骨量減少の抑制が確認されたことが報告されている<sup>8,9)</sup>。しかし、従来、鍼通電刺激で用いられていた交流タイプの低周波治療器では、経皮的な通電で、必ずしも良好な結果が得られていない<sup>10)</sup>。その後、高周波の電流を搬送波として用いた低周波治療器が開発され、それを経皮通電刺激に用いることによって加重低減に伴う骨量減少を抑制することが可能となった<sup>9,11)</sup>。その研究で用いられた搬送波の周波数は80 kHzであるが、搬送波の生体への影響を考慮すると、低い周波数の方が、安全性が高いと推測される。しかし、異なる周波数の搬送波が骨にどのような影響及ぼすかについては明らかにされていない。本研究では後者の装置を用い、異なる周波数の搬送波を用いて経皮通電刺激の骨吸収の抑制効果を比較、検討した。

## 方 法

### 実験動物および実験群の分類

本研究では、7週齢のウイスター系雄性ラット40匹を用い、それらを無作為に後肢懸垂群HS、後肢懸垂通電群TEおよび対照群COに分類し、さらに、TEは搬送周波数の違いによりTE40、TE60、TE80と分けた。

### 後肢懸垂実験

HSおよびTEは、後肢の加重低減を行うため、ラットの尾部を天井から二週間吊した。その作業時には、ラットに過度な不安や苦痛を与えないように、事前に3種混合麻酔薬（塩酸メドミジン0.15mg/kg、ミタゾラム2mg/kg、酒石酸ブトルフェール2.5mg/kg）を腹腔内投与した。また、ラットが後肢懸垂状態でも給餌給水が容易にできるようにケージの床付近に餌箱と給水瓶を設置した。

### 経皮通電実験

実験開始の前日に、TEの3群では左右の大腿を剃毛した後、以下の方法により、低周波治療器（大島製作所製、Bio Trainer1）を用いて、経皮通電刺激を行った。ラットに対する不快感や不安感を取り除くために、剃毛や通電を行う際は、事前に上記の3種混合麻酔薬を腹腔内投与した。麻酔下で低周波治療器を用いて、大腿遠位部の左右から通電刺激した。通電の条件は、60Vの直流で、基本周波

数50 Hz、200 $\mu$ sec、搬送波周波数は群により40kHz、60kHzおよび80kHzに設定した。この条件で、10分/日、5日/週、2週間の実験を行った。

### 標本の摘出および固定

実験期間終了後に、各群のラットに炭酸ガス吸引により安楽死させ、死亡を確認した後、大腿骨を摘出した。摘出した大腿骨は歯科用ハンドモーターにて大腿骨の内外的中央部で矢状方向に切断し、遠位1/4部を切断した。それらの標本は切断後、速やかに4%パラフォルムアルデヒド液（PFA）およびカルノブスキー液（KAR）に浸漬し、固定処置を行った。いずれの固定液も0.1Mリン酸ナトリウムバッファー（pH7.4）にて緩衝した。

### 肉眼的観察

PFAで固定した標本の有機質を除去するため、30%次亜塩素酸ナトリウムに浸漬し、その骨表面および骨髓腔面を肉眼的に観察した。

### 組織学的観察

PFAで固定した標本を8%EDTA液に、3週間浸漬して脱灰した後、真空に保ったデシゲーターの中で70、90および100%エタノールに20分間ずつ浸漬し脱水した。その後、安息香酸メチルⅠ～Ⅲ（デシゲーターの中で各2時間）、ベンゼンⅠ、Ⅱ（各30分）およびベンゼンパラフィン（60分）、パラフィンⅠ～Ⅲ（各15時間）に浸漬して透徹およびパラフィンの浸透を行い、パラフィンに標本を包埋した。包埋した標本をミクロトームで、厚さ4 $\mu$ mの連続切片を製作した。それらの切片に酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（TRAP）染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

非脱灰の標本として、リゴラック樹脂包埋標本は以下のように作製した。通法に従って脱水を行い、アセトンⅠ、Ⅱに各30分浸漬して透徹を行った後、アセトンとリゴラック樹脂の混合液（1：1、1：3、1：7）に各4時間浸漬した。その標本をリゴラック樹脂原液Ⅰ、Ⅱに各24時間浸漬した後、樹脂に包埋し、1日ごとに温度を上げ（37、45、55、60 $^{\circ}$ C）、加温重合した。重合が完了したブロックを砥石および研磨用フィルムを用いて厚さ約100 $\mu$ mになるまで研磨した。それに0.1N塩酸による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て観察した。

KARに浸漬した標本は、0.1Mリン酸ナトリウム（pH7.4）緩衝1%オスミウム液で4時間後固定し、上記同様に脱水を行い、T-ブチルに30分2回浸漬し、凍結乾燥装置を用いて乾燥した。さらに、その標本の表面にカーボンおよびプラチナを真空蒸着した。走査電子顕微鏡（SEM）を用いて、この標本の遠位骨幹端の皮質骨表面および海綿骨の構造を観察した。

## 結 果

各群の大腿骨を次亜塩素酸処理し乾燥した後、外面を肉眼的に観察するといずれの群においても滑沢な状態にあった。（図1）その表面をSEMで拡大して観察すると、いずれも粗造であるが詳細に見ると、COではその中でも比較的滑沢な部分と粗造な部分が混在し、粗造な部分は無数の小さなくぼ

みからなっていた。それに対して、HSではCOに比べ滑沢な部分が少なく、ほとんどが粗造な部分によって占められていた。TE40の表面はHSとほぼ同様であり、小さなくぼみが密に存在して全体的に粗造な状態にあった。TE60でも小さいくぼみが多く認められたが、その中に滑沢な部分も出現した。さらにTE80になると、小さなくぼみが減少し、反対に滑沢な部分が増え、結果的にCOに近い状態にあった。(図2)



図1. 皮質骨外面 (次亜塩素酸処理標本、肉眼観察像)  
a : CO, b : HS, c : TE40, d : TE60, e : TE80

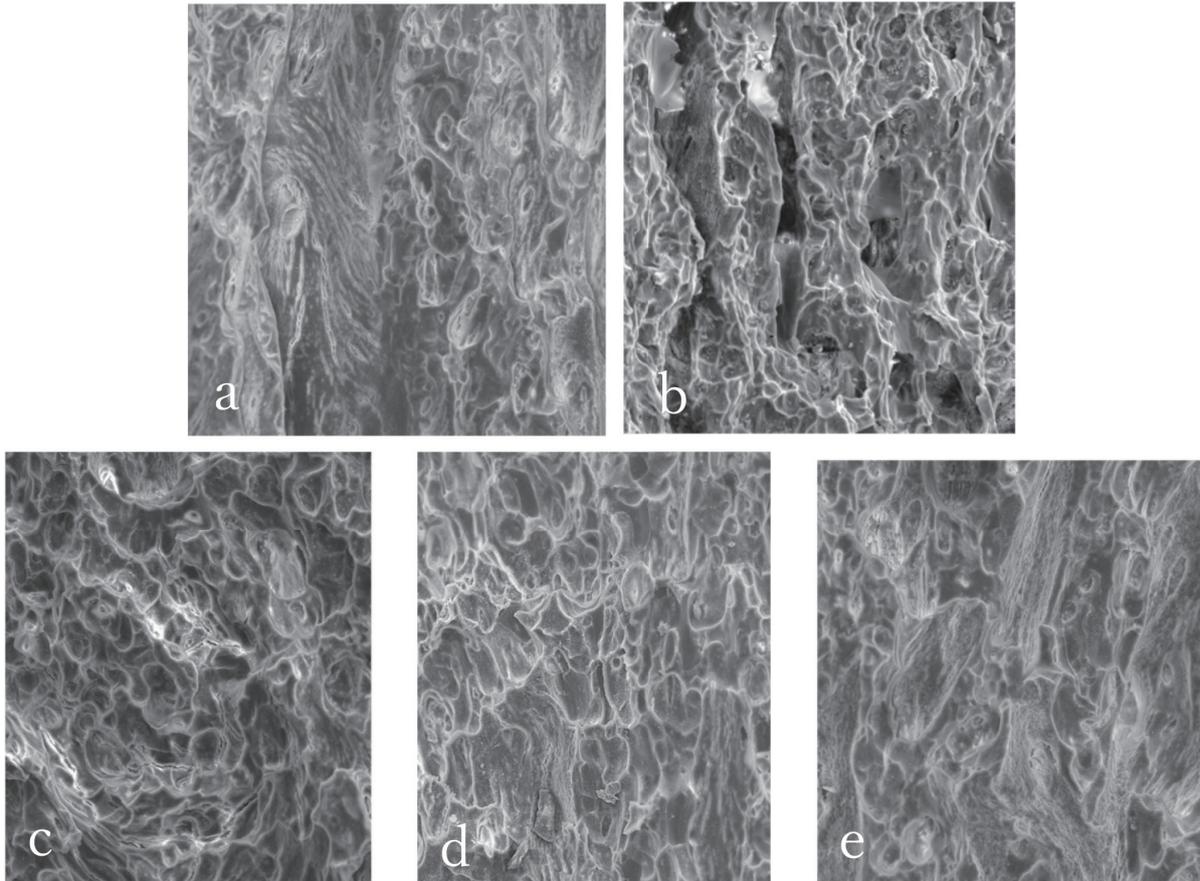


図2. 皮質骨外面の拡大像（次亜塩素酸処理標本、SEM像）

図1の赤枠部分の拡大

a : CO, b : HS, c : TE40, d : TE60, e : TE80

各群の大腿骨を内外的中央部で矢状切断し、次亜塩素酸処理した後、切断面側から観察すると骨端および骨幹端に海綿骨が認められた。骨端の海綿骨は太くて疎な骨梁で構成されているが、骨幹端の骨梁は全体的にそれより細く密に存在した。その部位を詳細に観察すると骨端板付近はより細かい骨梁が密に存在し、そこから骨幹中央部に向かうにしたがって骨梁は太さを増すが密度は低下した。このような構造がいずれの群においても認められるが、それらを群間で比較すると、次のような所見がみられた。すなわち、COの骨幹端の海綿骨は全体的に密な骨梁で構成されているが、HSでは骨幹端のとくに二次海綿骨がCOに比べて著しく疎な骨梁で構成された。TE40、TE60およびTE80の二次海綿骨では肉眼的にいずれも骨梁が密に存在していた。（図3）

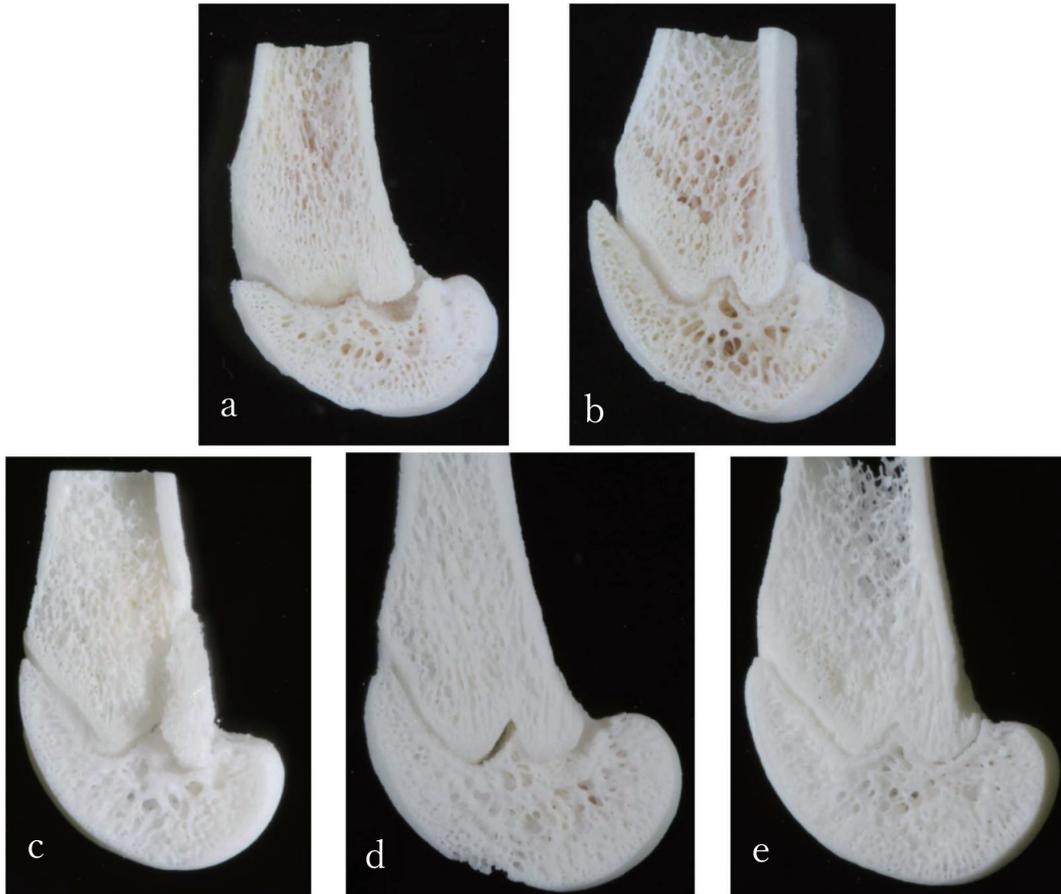


図3. 皮質骨内面（次亜塩素酸処理標本、肉眼観察像）  
a : CO, b : HS, c : TE40, d : TE60, e : TE80

COの大腿骨骨幹端には、トリジンブルー染色でメタクロマジーを起こす骨端板が存在し、それより上部に一次および二次海綿骨が認められた。一次海綿骨には細い骨梁が密に存在し、その配列は網状ではなく、骨端板の下縁から垂直方向に細い骨梁が直線的に伸びていた。二次海綿骨ではやや太い骨梁が主として上下方向に配列し、骨幹中央部の方に向かって配列した。HSにおいても一次海綿骨が骨端板に隣接して存在するが、それはCOとは異なり細い骨梁が網状配列し、また、その海綿骨の上下的な幅の減少も認められた。また、二次海綿骨も上下的な幅がCOよりもかなり減少し、やや細い骨梁が多く存在した。それらの配列方向はCOとは異なり上下方向よりも、全体的に不規則で網状に配列していた。さらに、皮質骨付近では骨梁の消失が顕著であった。通電群の一次海綿骨については、いずれも上下的な幅の減少と顕著な骨梁の密度の低下が認められたが、TE40、TE60、TE80になるに従って太く密になり、TE80においては上下方向に直線的な配列を示すものも見られた。TE40では二次海綿骨の骨梁がCOよりも細く短いものが見られ、密度も著しく低下したが、HSのような不規則な配列ではなく上下方向に配列した。TE60およびTE80の海綿骨ではTE40に比べて太い骨梁が密に存在したが、配列方向はCOよりも不規則であった。TE60とTE80の骨梁の太さは同様であったが、TE80はTE60よりも密度がやや高く、配列方向も規則的に上下方向に配列し、海綿骨全体で見ればそれらは骨幹中央部を起点に、骨端板に向けて放射状に配列した。(図4)

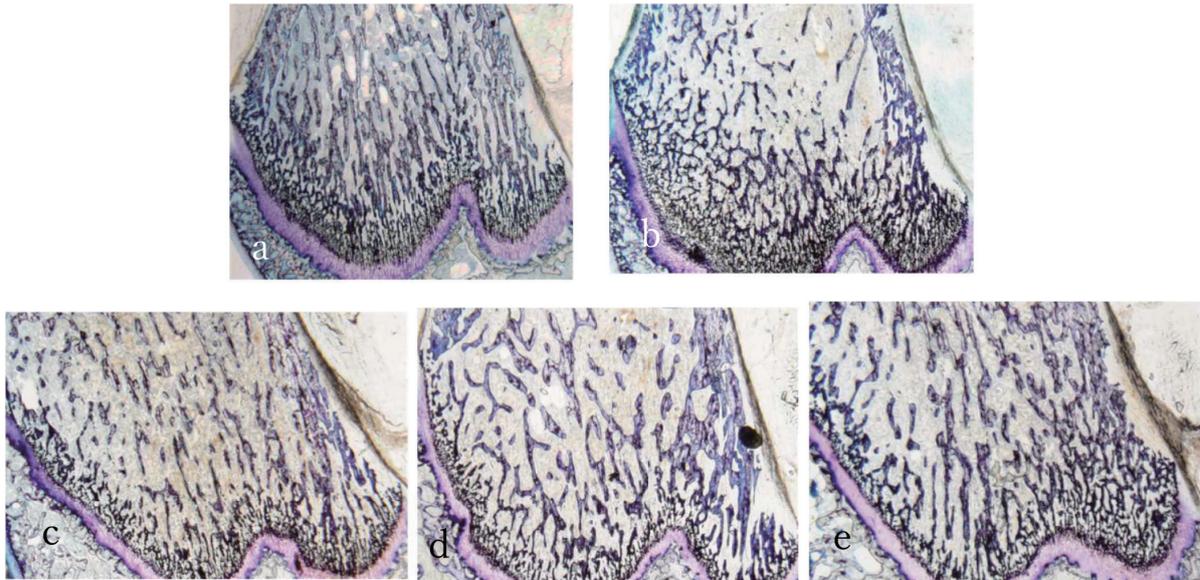


図4. 骨幹端における海綿骨の構造の比較  
 (非脱灰樹脂包埋研磨標本、トルイジンブルー染色)  
 a : CO, b : HS, c : TE40, d : TE60, e : TE80

各群の二次海綿骨における骨量を比較すると、後肢懸垂を行ったいずれの群も、COに比べて骨密度の低下が認められたが、CO、TE60およびTE80の間では、骨量に有意 ( $P < 0.05$ ) な差が認められず、それらはHSより有意 ( $P < 0.05$ ) に高かった。しかし、TE40はHSより高値を示し、その差も有意 ( $P < 0.05$ ) であったが、COとも有意差 ( $P < 0.05$ ) が認められた。骨梁の幅を群間で比較すると、HSはCOおよびTE60よりも狭かったが、有意 ( $P < 0.05$ ) な差ではなかった。(図5)

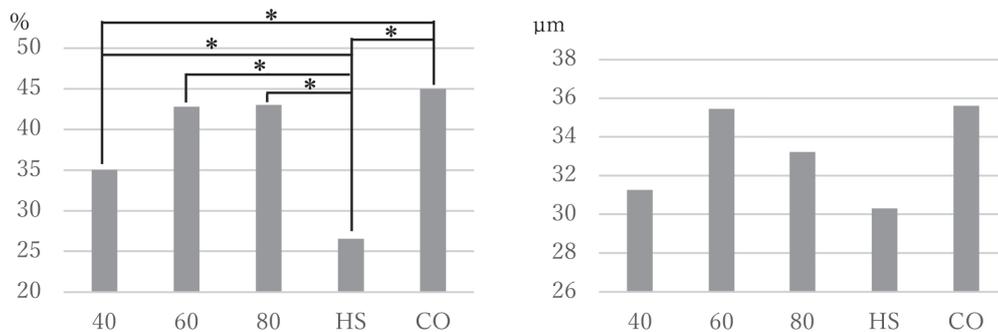


図5. 各群における二次海綿骨の骨形態計測データ  
 左：骨密度、右：骨梁幅  
 (\* :  $P < 0.05$ )

TRAP染色した脱灰パラフィン切片で骨端板と一次海綿骨の境界部付近を観察すると、いずれの群においてもその部位にTRAP反応陽性細胞が認められた。しかし、その細胞の出現状態には群間に差が見られCOは少なくHSはかなり多く存在した。通電群では、その細胞はTE40、TE60、TE80の順で少なくなり、TE80はCOとほぼ同様であった。(図6)

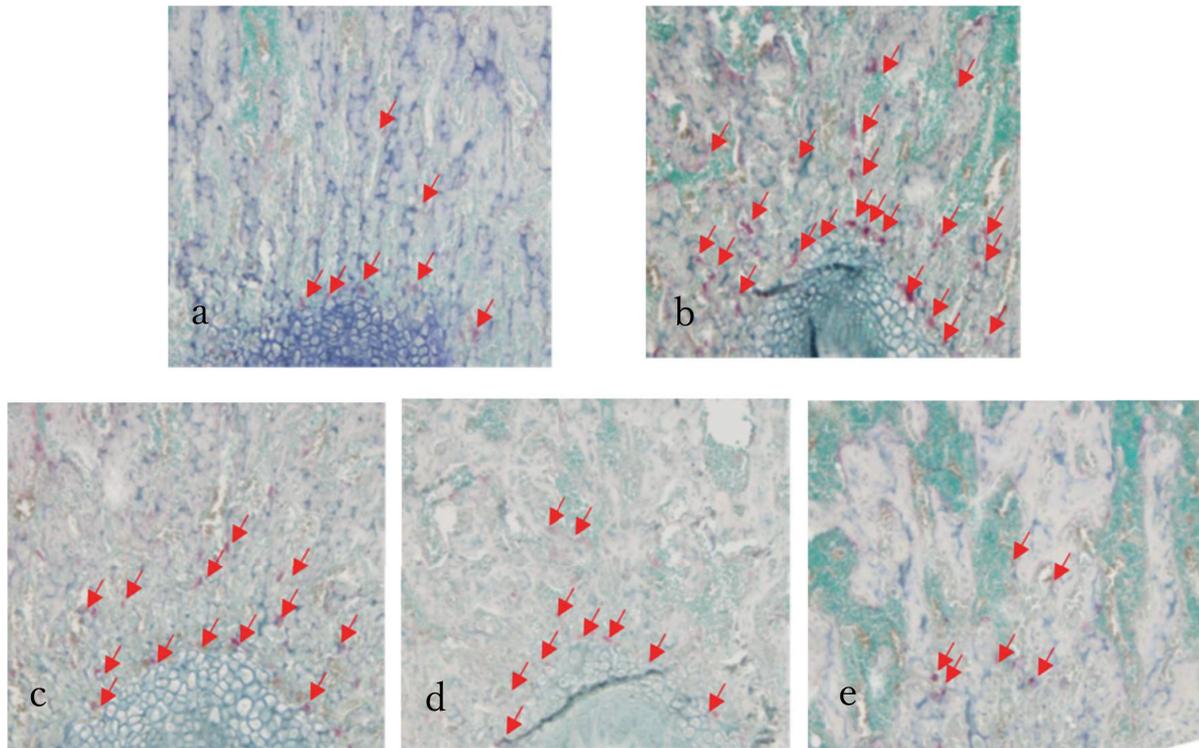


図6. 各群の一次および二次海綿骨における破骨細胞の出現状態の比較  
(脱灰パラフィン切片、TRAP染色)

a : CO, b : HS, c : TE40, d : TE60, e : TE80

## 考 察

中井ら<sup>8)</sup>は9週齢の通常飼育したラットを用いて、大腿骨の中央部および遠位部における脱灰標本の矢状断面を観察し、その前面および後面は滑沢な状態にあると報告している。著者ら<sup>11)</sup>も同様の標本で、中井らと同じ結果を得ている。一方、次亜塩素酸ナトリウムにて骨表面の有機質を溶出したラット大腿骨の表面を走査電子顕微鏡で観察した報告<sup>9)</sup>では、その遠位部全体に無数の小さなくぼみが存在することが示されている。大腿骨では骨幹端から骨端に向かうに従って前後のおよび内外的な径が急激に大きさを増して、膝関節での大きな関節面を形成する。発育期にはそのような外径を維持しつつ大きさを増すために骨幹端付近では骨の吸収が行われる。本研究では、肉眼的な標本においていかなる群でも滑沢に見えたがSEMで拡大して観察するとやはり無数の小窩が観察され、それは正常なモデリングの結果であると思われる。

後肢懸垂<sup>9)</sup>を行った研究では、次亜塩素酸ナトリウム処理された大腿骨の表面に、先に述べた正常な状態に比べ遙かに多くの小窩が出現することが示されている。本研究においてもそれらの報告と同様に小窩の顕著な増加が認められた。その小窩をSEMで拡大すると、破骨細胞による吸収窩様の構造が見られることが報告され<sup>9)</sup>、一方、その部位をTRAP染色した標本で観察するとその染色に陽性反応を示す基質や細胞が存在することが示されている<sup>8,12)</sup>。このように本研究のHSにおいて観察された無数の小窩は吸収窩であり、正常なモデリングで見られたものよりもそれが多く見られることから、皮質骨表面においても脆弱化が進むことを意味すると思われる。

TE40、TE60およびTE80のように搬送波の周波数が高まるにしたがって、骨の表面には小窩が減少し平滑な部位が出現し、COの状態に近づいた。このことから、皮質骨遠位部の表面における構造の面から考えると、その搬送周波数が高いほど後肢懸垂に伴う加重低減の影響が抑制されているであろうことが推測される。

発育期の海綿骨は増齢に伴って上下的な幅が増し、また、個々骨梁の太さと密度が増加することにより力学的な強度を高めることが示されている<sup>13)</sup>。これは発育に伴う自重や活動性の増加によるものであり、いずれも機械的な刺激に対応した生体の変化として捉えることができる<sup>14)</sup>。一方、その機械的刺激を減少した時にはそれらとは逆の状況が見られることが知られている<sup>8,9,11)</sup>。本研究のHSでは、海綿骨の上下的な幅の減少に加え、骨梁の密度ならびに幅の顕著な減少が認められた。骨は日常的に受ける機械的刺激に見合うように構造は変化する<sup>14)</sup>ことが示されており、HSにおける骨梁構造の変化はメカニカルストレスの低下が反映されていると思われる。

骨梁の配列方向と加重の力線の方向が一致することが古くから指摘され<sup>15)</sup>、このことはその後、多くの実験で確認されている<sup>16-18)</sup>。また、その考え方を継承し、骨は常に重力などの機械的な刺激を受け、その刺激に見合うような構造を獲得することにより、骨の強度を維持することが示されている<sup>19)</sup>。

後肢の加重低減を図ったラットに鍼通電刺激を施すことにより骨量の減少が抑制されることが報告されている<sup>8,9)</sup>。しかし、鍼通電ではなく経皮的に通電した場合、必ずしも良好な結果が得られていない<sup>10)</sup>。中井<sup>10)</sup>は交流タイプの低周波治療器を用いて、本研究と同様に、加重低減を図ったラット後肢に対して経皮的に通電刺激を行ったが、骨吸収の抑制効果は得られなかったとしている。その後、高周波の電流を搬送波として用いた低周波治療器が開発され、それを通電刺激に用いることによって加重低減に伴う骨量減少を抑制することが可能となった<sup>9,11)</sup>。その研究で用いられた搬送波の周波数は80 kHzであるが、その生体への影響を考慮すると、搬送波の周波数は低い方が、安全性が高いと推測される。しかし、搬送波の異なる周波数が生体に及ぼす影響については明らかにされていない。本研究では後者の装置を用い、搬送波の周波数を変えることによってその効果を検討した。本研究では、後肢懸垂を行なったいずれの群も、COに比べて骨量の低下が認められたが、その差は通電群では有意 ( $P < 0.05$ ) ではなかった。また、HSの骨密度は通電群より有意 ( $P < 0.05$ ) に低かった。しかし、TE40に関してはCOとも有意差 ( $P < 0.05$ ) が存在した。このように、骨密度の維持という観点からは、60 kHz以上の搬送波でより効果が得られると思われる。それに対して、骨量幅については、本研究では80 kHzよりも60 kHzの搬送波によって高い維持効果が認められた。しかし、TE60とTE80の海綿骨の骨梁構造を比較すると、確かに前者は太い骨梁が多く認められるが、その配列が不規則となっている。一方、後者の骨梁配列は、局所的に見れば骨端板から骨幹中央部に向けて直線的に配列し、また、海綿骨全体で見ればそれらは骨幹中央部を起点に、骨端板に向けて放射状に配列した。TE80の骨梁密度はCOに比べて明らかに低い、TE80における骨梁の配列状態はCOに類似しており、この配列は骨端から伝わる加重を周囲の皮質骨に分散、伝達するのに適した構造であると考えられる。発育に伴うラットの脛骨近位海綿骨の二次海綿骨の構造変化について検討した報告<sup>20)</sup>によると、3週齢では海綿骨の中でも前方および中央部は上下的な幅が狭く、後方部では厚く、そこに存在する骨梁は後下方に向かって配列し、後方の皮質骨に融合する。この報告<sup>20)</sup>では二次海綿骨は発育に伴って上下的な幅が増すが、骨梁の配列状態は成長しても変化がなく、いずれの週齢においても二次海綿骨の

中央および後方部の骨梁の下端は後方の皮質骨に融合することが示されている。このことは、大腿骨側からの加重は脛骨の近位海綿骨を介して後方の皮質骨で受け止めることを意味する。このような骨梁の配列状態は正常飼育されたもので観察されることから、骨梁が整然と規則的に配列することが加重の効率的な分散、伝達を可能にしていると思われる。このような観点から、本研究の結果を見ると、TE60およびTE80では骨梁の太さが増していたが、規則的な配列を示したTE80でより加重への抵抗性が増しているであろうことが推測される。

このような二次海綿骨の構造は、基本的に一次海綿骨のリモデリングによって形成されるものである<sup>20)</sup>。一次海綿骨は発育期における長骨の骨端板直下で見られ、骨端板とともに増齢に伴って上下的な幅が減少する<sup>21-24)</sup>。したがって、二次海綿骨の構造は一次海綿骨の構造が基礎となる。本研究におけるCOの一次海綿骨では、細い骨梁が密に存在し、それらが骨端板の下縁から細い骨梁が直線的に伸びる状態が多く認められた。しかし、HSの一次海綿骨では細い骨梁が網状配列した。通電群ではいずれも一次海綿骨の上下的な幅の減少と顕著な骨梁の密度の低下が認められた。後肢懸垂を行った通電群のすべてにおいて二次海綿骨の骨梁密度が低下していることから、一次海綿骨の上下的な幅および密度が二次海綿骨の構造に影響しているであろうことが推測される。各群のTRAP染色結果についてみると、TRAP陽性細胞の出現状態はCOでは少なく、逆にHSではかなり多く認められた。通電を施した3群の出現状態については、いずれもCOとHSの間に位置するが、TE40、TE60、TE80の順で陽性細胞の減少が認められた。このTRAP反応に陽性細胞は破骨細胞であり、これが多く存在することは活発な骨吸収がなされることを意味する。CO、HSの破骨細胞の出現状態に加え、TE40からTE80までの破骨細胞の減少状態は、すでに述べたそれぞれの群の一次および二次海綿骨の骨量に一致すると思われる。このように搬送波の周波数が高いほど破骨細胞の出現を抑制することが理解される。低周波の直流電流に加えられた搬送波は生体の深部に到達するが、搬送波の周波数が高いほどその効果が顕著に表れることが理解された。

## 結 論

加重低減によって引き起こされた骨量減少に対しては、直流の通電刺激に60kHz以上の周波数の搬送波を用いることによって、明瞭な抑制効果が得られることが理解された。

本研究の要旨は、第74回日本体力医学会（於・筑波）において口頭発表した。

## 倫理審査

本研究は東洋大学動物実験委員会の審査により承認された。

## 謝辞

稿を終るに望み、ご協力をいただいた研究室の大学院生、学部生の方々および卒業生の中井真悟さん、荒木美智子さん、内田明希さんに深謝致します。本研究の実験を進めるにあたり、株式会社大島製作所から拝借した低周波刺激装置を使用した。ここに心より御礼申し上げます。

## 参考文献

1. 宮腰尚久. “骨粗鬆症と運動療法.” 日本リハビリテーション医学会 56.5 (2019) : 367-370.
2. 竹内靖博. “3. ビスフォスフォネート.” 日本内科学会雑誌 94.4 (2005) : 696-701.
3. 保田尚孝. “骨粗鬆症に適応が拡大された抗 RANKL 抗体.” 日本臨床免疫学会会誌 36.4 (2013) : 209-216.
4. 松本俊夫. “9. 骨粗鬆症治療の進歩.” 日本内科学会雑誌 96.3 (2007) : 539-543.
5. 建部廣明. “歯科領域でも応用が期待される骨粗鬆症治療薬.” 北海道医療大学歯学雑誌 33.2 (2014) : 40.
6. 駒場大峰, 深川雅史. “骨・ミネラル代謝異常に対する分子標的治療.” 日腎会誌 58.4 (2016) : 581-586
7. 萩野浩. “骨粗鬆症の薬物治療.” 日本リハビリテーション医学会56.5 (2019) : 361-366.
8. 中井真悟, 高橋将人, 大迫正文. “ラット大腿骨における不動中の鍼通電刺激の影響.” 大学院紀要 (2015) : 255-271.
9. 望月将希, 小林宗弘, 大迫正文. “加重低減に伴うラット大腿骨の骨量減少に対する経皮および鍼通電刺激の効果に関する研究.” ライフデザイン学研究 14 (2019) : 101-109.
10. 中井真悟, 吉良裕一郎, 大迫正文. “ラット大腿骨の骨構造に種々の電気刺激が及ぼす影響の比較.” 大学院紀要 54 (2017) : 291-301.
11. 小林宗弘, 望月将希, 大迫正文. “Effects of transcutaneous electrical stimulation of different voltages on structure of femur in hind-limb suspended rats.” (2020).
12. 中井真悟, et al. “Effects of electrical acupuncture stimulations on bone volume of rats’ femur under different unloading conditions.” (2016).
13. 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(2011) : 101-115.
14. Frost.H.M : Oh rho, a marrow mediator, and estrogen : their roles in bone strength and “mass” in human females, osteopeians, and osetoporoses-insights from a new paradigm.J. Bone Miner Res.9, 1559-1564, 1994
15. Wolff J : The law of Bone Remodling. Springer. Berlin. Germany. 1986
16. Cowin.S.C : Bone stress adaptation model, Trans. ASME, J. Biomech. Eng. 115, 4B. 528-533.1993
17. 中野貴由, 馬越佑吉 : 骨組織における生体アパタイト結晶の配向性とその力学機能. 生体医工学 44 : 503-510, 2006.
18. 大崎弥枝子. “Wolffの法則と有限要素法による骨梁の可視化.” 日本歯科大学紀要. 一般教育系 35 (2006) : 25-28.
19. Frost.H.M : Oh rho, a marrow mediator, and estrogen : their roles in bone strength and “mass” in human females, osteopeians, and osetoporoses-insights from a new paradigm.J. Bone Miner Res.9, 1559-1564, 1994
20. 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 (2011) : 101-115.
21. 大迫正文, 他 : 発育期ラットの皮質骨形成に関する組織学的研究. スポーツ健康科学紀要 4 : 55-65, 2004.
22. 大迫正文 : 発育にともなうラット下顎頭軟骨の各細胞の構成変化について. 東洋大学紀要教養課程篇 (保 健体育) 3 : 35-58, 1993.
23. 上田晃三, 他 : 骨の成長発達. バイオメカニズム学会誌 32 : 57-60, 2008
24. 大迫正文, 他 : 発育に伴う脛骨海綿骨の構造変化に関する観察. スポーツ健康科学紀要, 3 : 51-61, 2003.

Effects of electrical stimulations with different frequencies on structural changes of rat's femur by mechanical unloading

KOBAYASHI Munehiro, MOCHIDUKI Masaki, OHSAKO Masafumi

**Abstract**

This study aimed to investigate an effect of transcutaneous electrical stimulation of different frequencies on the bone loss of rat's femur by decrease in mechanical stress.

Forty Wister male rats (7-week-old) were randomly divided into three groups : hind-limb suspended group (HS), hind-limb suspended and electrically stimulated group (TE) and control (CO). Furthermore, TE was divided into TE40, TE60, and TE80 according to the difference in carrier frequency. HS and TE were hind limb suspended for 2weeks. TE was transcutaneous-electrical-stimulated (DC 60V) for 10 minutes / day, 5 days / week, and 2 weeks. The carrier frequency was set to 40kHz, 60kHz and 80kHz depending on the group. After the experimental period, femur in each group was excised and analyzed histologically and morphometrically.

The cancellous bones of TE60 and TE80 had thicker trabeculae than TE40. Their array direction was more irregular than CO. TE80 was slightly denser than TE60 and arranged regularly.

It was understood that decrease in bone volume caused by decline of the mechanical stress could be inhibited by the transcutaneous electrical stimulation using over than 60kHz carrier wave.

**Keywords** : Decrease in mechanical loading, Electrical stimulation, Inhibition of bone resorption