

# 後肢懸垂ラットの異なる部位の骨構造に及ぼす 経皮通電刺激の影響

Effects of transdermal electrical stimulations on  
tibial bone structures at different sites in hindlimb-suspended rats

望月将希\* 小林宗弘\* 大迫正文\*

MOCHIDUKI Masaki, KOBAYASHI Munehiro, OHSAKO Masafumi

## 要旨

本研究は、低周波刺激装置を用い、加重低減による骨吸収に及ぼす経皮通電刺激（直流）の効果を、皮下組織の厚い部位と薄い部位で比較、検討することを目的とした。

7週齢のウィスター系雄性ラット32匹を用い、それらを後肢懸垂群HS、後肢懸垂・経皮通電群TEおよび対照群COに分類し、TEはさらに下腿前面刺激群ANと下腿後面刺激群POに分類した。CO以外の3群は、2週間尾部懸垂を行った。TEは皮下組織の薄い部位である下腿前面と、厚い部位である下腿後面に分け、それぞれにパッドを貼り、通電した（条件：搬送波を用いた直流）。これらの通電刺激は10分/日、5日/週、2週間行い、実験期間終了後、各群から脛骨を摘出して組織学的に分析した。

HSの海綿骨にはTRAP反応陽性細胞が多く観察されるが、AN、POおよびCOでは少なかった。二次海綿骨に着目すると、HSはCOに比べて骨梁が細く、密度もかなり低かった。骨梁幅に関してはAN、POはCOに近い状況にあり、特にANの幅は広がった。

以上のことから、搬送波を用いた直流の経皮通電刺激は、基本的に加重低減に伴う骨量減少に抑制的に作用するが、その効果には皮下の軟組織の厚さが影響し、それが薄い部位で顕著に見られることが理解された。

キーワード：後肢懸垂、経皮通電刺激、皮下組織の厚さ

---

\*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

近年の高齢化に伴い、非活動的な生活によって骨への加重が減少することにより、骨量の低下を来たすことが多くみられる。その結果、骨粗鬆症による骨折を生じ寝たきり状態に至る場合もある<sup>1)</sup>。その骨量減少を防ぐ方法論を検討したものとして、電気刺激や超音波を用いた研究<sup>2)</sup>がある。中井ら<sup>3)</sup>は、寝たきりや無重力による加重負荷の低減をモデル化した後肢懸垂ラットを用いて、鍼通電刺激が骨量の維持に有効であることを明らかにした。また、中井ら<sup>4)</sup>は従来型の交流の低周波刺激装置を用いた経皮通電刺激と、鍼通電刺激の骨量維持効果を比較し、前者では明瞭な効果が得られず、経皮的な通電では皮下の軟組織によって刺激が減衰したためであるとしている。著者<sup>5)</sup>は、後肢懸垂によって骨量が減少したラットに、通電刺激の直流電流に高周波の搬送波を用いた経皮通電と、従来型の低周波刺激装置による鍼通電刺激を行い、いずれにおいても良好な結果が得られたが、その効果は鍼通電刺激の方が顕著であることが報告されている。このことから皮下の軟組織が通電刺激を減衰させる可能性が推測されるが、このことを実証した報告はなされていない。

本研究は後肢懸垂を行ったラットを用い、脛骨の海綿骨および皮質骨の骨量減少に対する経皮通電刺激の効果を、皮下組織の薄い下腿前面と、厚い下腿後面とで比較検討した。

## 実験方法

### 実験動物および実験群の分類

7週齢のウィスター系雄性ラット32匹を用い、それらを後肢懸垂群HS、後肢懸垂・経皮通電群TE、対照群COに分類し、TEはさらに下腿前面刺激群ANと下腿後面刺激群POに分類した。

### 後肢懸垂実験

CO以外の3群、すなわちHS、ANおよびPOは、通常より20cm高い天井のケージを用いて、尾部を天井から2週間吊した。その尾部を吊す作業時には、ラットが痛みや不必要な不安感を覚えないように、あらかじめ三種混合麻酔薬（塩酸メデトミジン0.15mg/kg+ミダゾラム2mg/kg+酒石酸プロルフェノール2.5mg/kg）を腹注し、麻酔した。また、後肢懸垂状態でも給餌給水を容易にできるように給水瓶口を床面近くにセットし、えさ箱もケージの床面上に配置した。

### 経皮通電刺激

実験に先立ってTEの下腿を剃毛した。通電は直流式の低周波治療器（大島製作所製、Bio Trainer I型）を用い、通電条件は80kHzの搬送波を用いた60Vの直流電流で、周波数を50Hz、200 $\mu$ secとし、この条件で10分/日、5日/週、2週間刺激を与えた。またANに関しては下腿の前面に、POは下腿後面にパッドを装着し通電した。なお、この剃毛および通電刺激は麻酔下で行った。

### 標本の摘出および固定

実験期間終了後に、各群のラットを炭酸ガス吸引により安楽死させた。死亡を確認後、各群から後肢の皮を剥離して脛骨を摘出し、歯科用ハンドモーターにて脛骨の内外的中央部で矢状方向に切断した。さらに、脛骨近位1/4部を切断して、そこより近位部を肉眼的および組織学的観察に用いた。これらの標本は摘出後速やかに4%パラフォルムアルデヒド液（PFA）、または4%PFAおよび5%グ

ルターアルデヒドを含むカルノブスキー液（KAR）に浸漬し、固定処置を行った。いずれの固定液もリン酸バッファー（PH7.4）で緩衝した。

#### 肉眼的観察

4%PFAで固定した一部の標本を30%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に浸漬し、骨表面および骨髄中の有機質を除去した。これらの標本を水洗、乾燥後、肉眼的に観察した。

#### 組織学的観察

4%PFAで固定した他の標本を8%EDTA液に、30日間浸漬して脱灰した。それらを水洗した後、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。さらに、安息香酸メチルⅠ～Ⅲ（デシゲーターの中で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った。その後、それらの標本をパラフィンに包埋し、ブロックを木製台に取り付けた後、ミクロトームにて厚さ4 $\mu$ mの連続切片を作製した。それらの切片にポリクローム染色およびTRAP染色を施し、光学顕微鏡（オリンパス社製、BX53-33-FL-2）により観察した。

非脱灰標本は通法に従い脱水した後、アセトンⅠ、Ⅱに30分ずつ浸漬し、透徹を行った。さらに、アセトンとリゴラック樹脂の混合液（1：1、1：3、1：7）およびリゴラック樹脂原液Ⅰ、Ⅱに浸漬（24時間）し、同樹脂に包埋して加温重合した（37、45、55、60 $^{\circ}$ C：各1日）。重合が完成したブロックを歯科用エンジンにてトリミングし、砥石およびの研磨用フィルム（いずれも3段階）にて研磨して、最終的に厚さ約100 $\mu$ mの非脱灰研磨標本を作製した。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より観察した。

KARで固定された矢状断標本は、後固定として0.1Mカコジル酸ナトリウム（pH7.4）緩衝1%オスミウム液に浸漬した（4時間）。次に70、90、100%エタノール（各30分）で真空脱水し、トプチルに30分、2回浸漬した後、フリーズドライヤー（日立社製 ES-2000）にて凍結乾燥を行い、さらにカーボンコーター（真空デバイス社製 VC-100）を用いてカーボンの真空蒸着を行った。その後、イオンスプッター（日立社製 E-1010/E-1-2）を用いてプラチナコーティングを施し、走査電子顕微鏡（SEM：日立社製、S-3400N）により脛骨近位部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

### 1) 骨形態計測

HS、ANおよびPOにおける二次海綿骨の骨梁の密度（骨密度）は、COよりも有意に（ $P<0.05$ ）低かった。また、HSとANとPOの間には有意な差が認められなかった。HSの骨梁幅はCOより有意に（ $P<0.05$ ）低値を示したが、COとANおよびPOの間には有意な差が見られなかった。（図1）

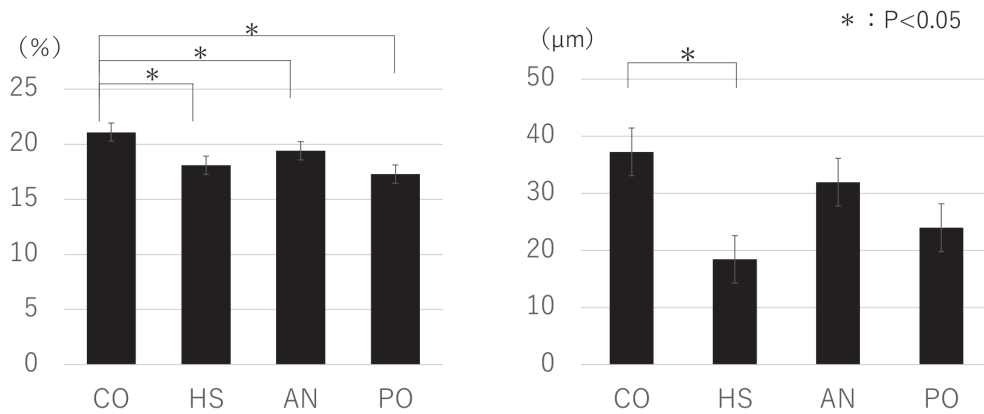


図1. 各群の骨形態計測の結果  
左：骨密度、 右：骨梁幅

## 2) 骨膜面および骨内膜面の肉眼的観察

次亜塩素酸ナトリウムで処理した脛骨近位部の骨膜面は、いずれの群も肉眼的に滑沢な状態にあるが、その部位を詳細に観察すると、それらの中でもHSとPOでは粗造な面が多く見られた。ANとCOで特に滑沢な面が広がった。(図2、図3)

## 3) 骨膜面および骨内膜面の構造

各群の骨膜面をSEMで観察すると、そこには滑沢な部位と小さな無数の窪みが見られ、その窪みはCOを含めすべての群で認められた。しかし、ANとPOでは、HSより滑沢な部位が多く観察された。また、COには長く続く滑沢な部位が見られ、ANもそれに次いでいる。HSは滑沢な部位が少なく、あらゆる部位で窪みが存在した。(図4)

表面に窪みが多く全体的に粗造な部位はHSでは多く確認できるが、COは少なく通電群もそれに次いでいる。海綿骨の骨梁構造を拡大して観察すると、骨膜面の場合と同様に、いずれの骨梁表面にも窪みが存在した。しかし、それは、後肢懸垂を行っていないCOでは少なく、HSが最も多く観察された。(図5)

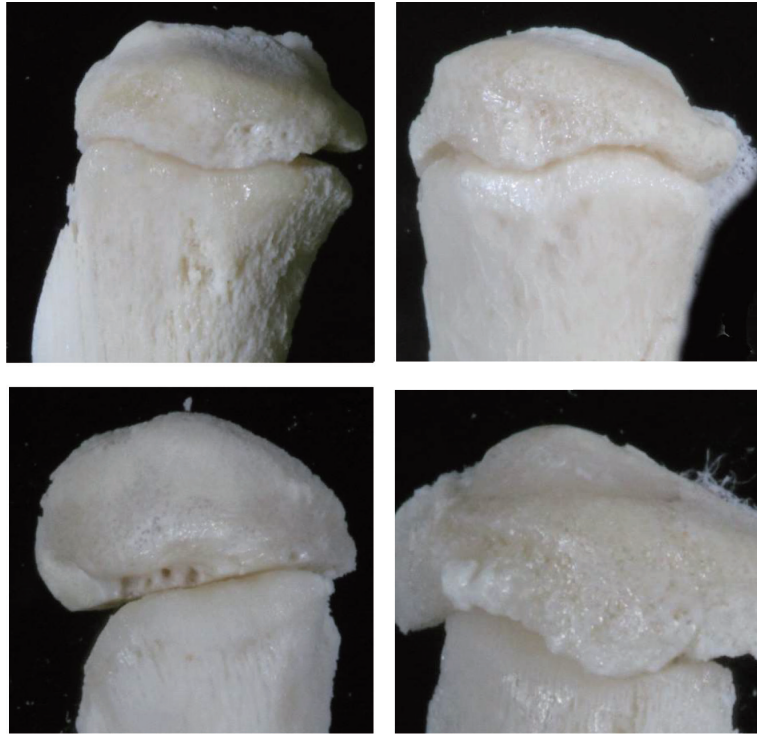


図2. 各群の脛骨骨膜面の肉眼観察像  
左上：CO、 右上：HS、 左下：AN、 右下：PO



図3. 各群の脛骨骨内膜面の肉眼観察像  
左上：CO、 右上：HS、 左下：AN、 右下：PO



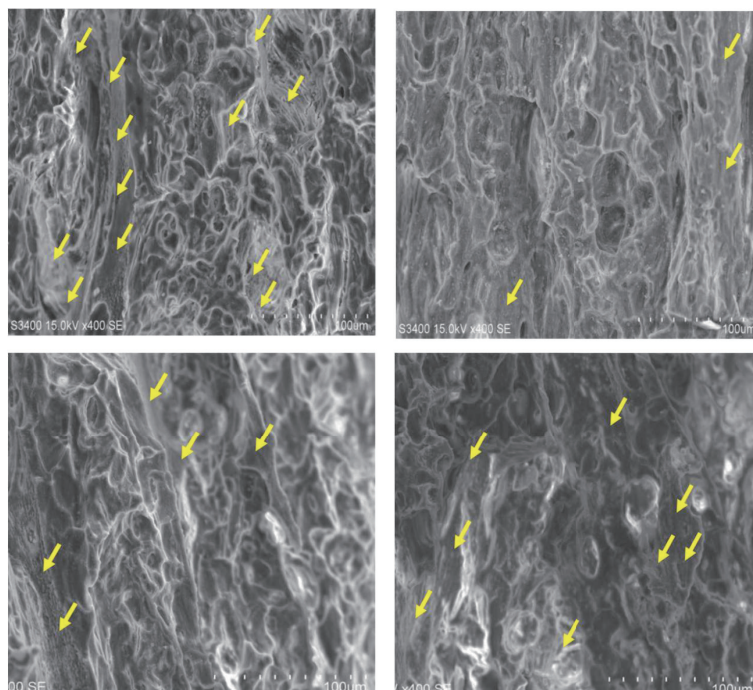


図4. 脛骨骨膜面の拡大 (SEM像)  
 左上: CO、 右上: HS、 左下: AN、 右下: PO  
 黄色矢印: 皮質骨骨膜面における滑沢な部位

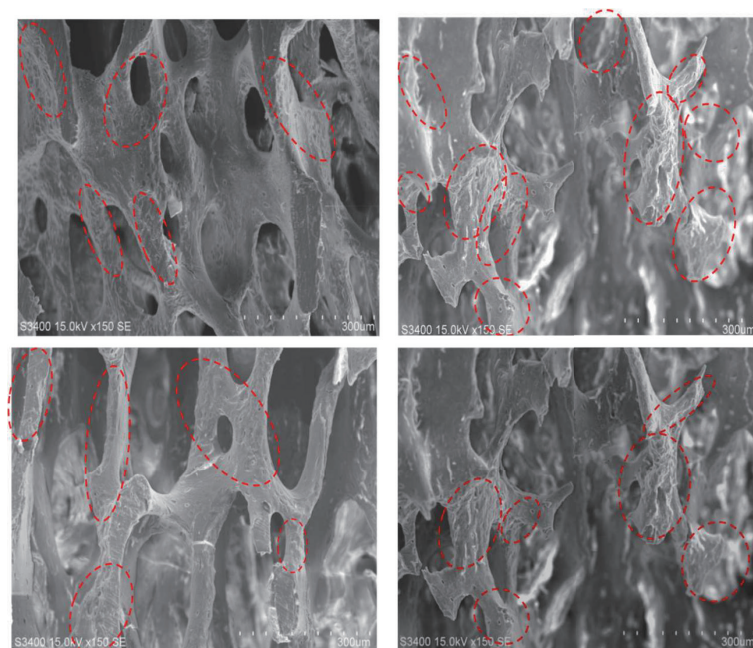


図5. 脛骨骨内膜面の拡大 (SEM像)  
 左上: CO、 右上: HS、 左下: AN、 右下: PO  
 赤いサークル: 無数に存在する小さな陥凹

#### 4) 各群における二次海綿骨の構造

脛骨の近位骨幹端の脱灰パラフィン切片にポリクローム染色を施して観察すると、形態計測の結果と同様に、骨梁はHSが最も少なく、PO、AN、COの順で多かった。また、COでは一次海綿骨から

二次海綿骨に向けて骨梁が徐々に太さを増すとともに減少した。一方、HS、ANおよびPOではその移行が急激に表れ骨端板付近から、やや太い骨梁が存在した。（この急激な骨梁の変化は前述のHS、ANおよびPOにおける一次海綿骨の消失に相当すると思われる）HSに関しては骨梁幅の太いものが見られず、通電群ではそれが維持されていた。（図6）

同様に脱灰パラフィン切片にTRAP染色を施して観察すると、COでは骨梁表面にTRAP反応陽性細胞はほとんど存在せず、AN、POがそれに次いで少なく、HSが一番多く観察された。その陽性細胞の出現状態を骨端板付近で比べると、COが最も少なく、他の群では多く観察された。それより下方の海綿骨について見るとHSは二次海綿骨に集中して反応が見られていて通電群では陽性細胞が減りまばらである。（図7）

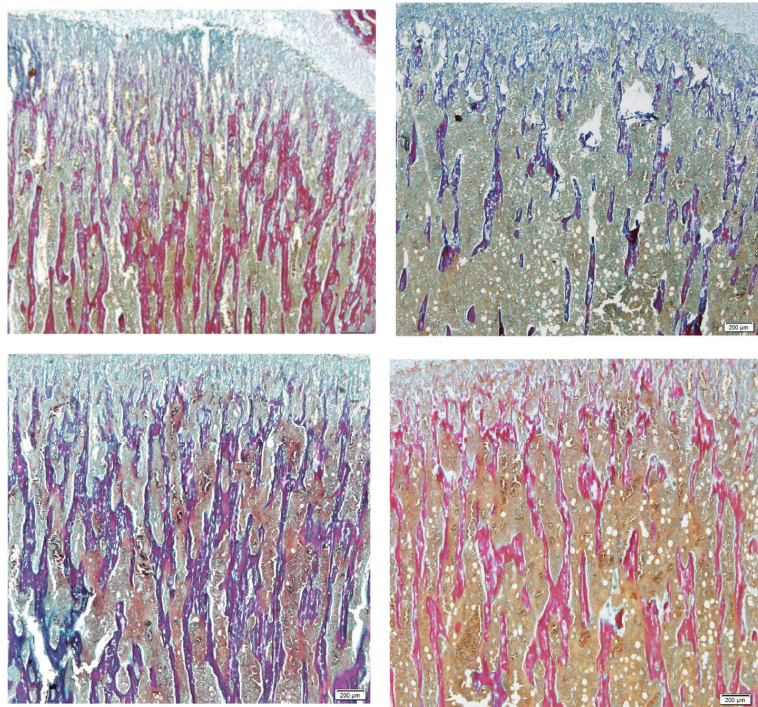


図6. 各群の二次海綿骨における骨梁構造の比較  
（脱灰パラフィン切片、ポリクローム染色）  
左上：CO、 右上：HS、 左下：AN、 右下：PO



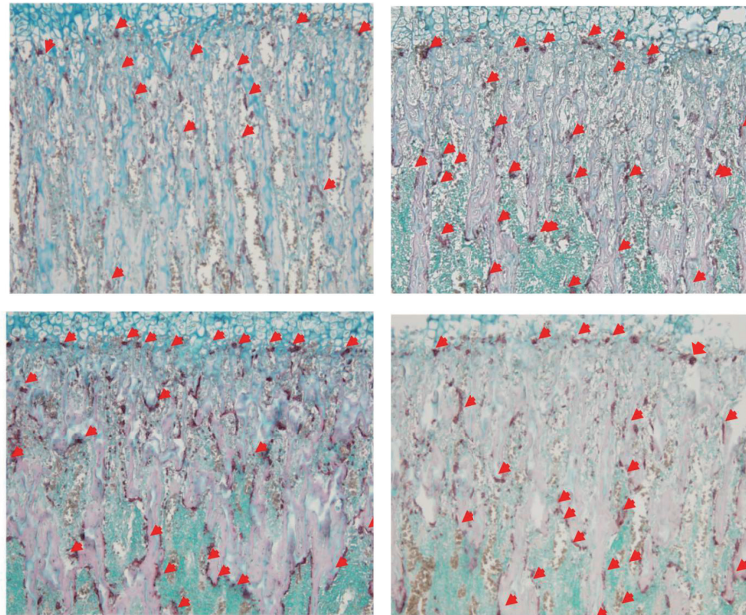


図7. 二次海綿骨におけるTRAP反応陽性細胞の出現状態  
(脱灰パラフィン切片、TRAP染色)  
左上：CO、 右上：HS、 左下：AN、 右下：PO

## 考 察

### 1. 皮質骨表面の変化

骨組織は、細胞レベルでは絶えず骨吸収と骨形成を繰り返し、質的および量的に一定の組織が維持されている。近年、骨代謝は重力や加重のようなメカニカルストレスによる影響によって促進され、また電気刺激や超音波なども同様な効果を持つことが明らかにされてきた<sup>2)</sup>。皮質骨は一般に骨膜側と骨内膜側に骨が添加されることによって厚さが増す。また、骨が添加される際、骨芽細胞が分泌したコラーゲン線維に無機質の結晶が沈着し骨としての強度が高められる。その無機質の結晶が皮質骨内で時間の経過に伴って成長し、その結果、骨は硬さが増すが脆くなる。そのようなことを回避するために骨組織内ではリモデリングが行われる。これは皮質骨全体で起こるのではなく、皮質骨の中でも形成後の長い時間を経過した部位で選択的に行われる。Parffitら<sup>6)</sup>によると、そのような部位ではアポトーシスを誘導された骨細胞からシグナルを受けた骨芽細胞が、活性化され骨形成が亢進すると考えられている。また、横瀬ら<sup>7)</sup>はラット脛骨を用いて、レーザー照射による骨形成促進の方法を考案した。この実験では、レーザーによってダメージを受けた部位に破骨細胞による骨吸収がみられるが、その部位から新たな骨形成が誘導されることを示されている。本研究<sup>8)</sup>で、ラット脛骨近位部を次亜塩素酸ナトリウムで処理した標本をSEMで観察すると、脛骨骨膜面の血管周囲に粗造な部位と、滑沢でわずかに陥凹している部位が見られた。後者の部位は破骨細胞によって吸収された吸収窩を示していると考えられる。後肢懸垂したHS、ANおよびPOでは、この吸収がCOより多く観察されたが、電気刺激を加えた群ANおよびPOでは滑沢な部位がHSより多くみられた。これは破骨細胞によって骨が吸収された部位に通電刺激が血管周囲部の骨芽細胞に活性下のシグナルを送り吸収を妨げたと考えられる<sup>9)</sup>。



## 2. 二次海綿骨の変化

骨強度は骨量だけではなく骨構造や骨質も重要である。骨粗鬆症の治療薬に関して、主流はビスフォスフォネート製剤のうち、第3世代のリセドロネートに移り変わってきている<sup>10)</sup>。田中ら<sup>11)</sup>の研究ではアレンドロネートにおける投薬治療で大腿骨頭の高梁幅における骨梁幅の増加や骨密度の維持が認められている。また坂田<sup>12)</sup>の研究においても同様な結果が得られているが、これらの投薬治療には副作用があり、長期間の投与において消化器官の障害を伴うと示されている。また佐藤<sup>13)</sup>は骨代謝に問題がない人の急死剖検例の腸骨を用いて観察したところ、骨密度の高い症例は平均骨梁幅が太い傾向にあり、それらは高い相関関係を示すとしている。一方、玉越ら<sup>14)</sup>は卵巣摘出手術を行った骨梁減少モデルのラットの骨微細構造の変化を調べ、骨梁減少に伴い骨密度、骨梁幅のどちらも有意に減少したことが示されている。つまり、骨密度が高ければ骨梁幅も太くなるが、骨量が減少すると骨密度、骨梁幅ともに減少することになる。しかし、本研究では後肢懸垂により骨量が減少し、先行研究と同様に骨密度、骨梁幅のどちらもが減少した。それに対して通電刺激を行った群では骨密度に違いは見られないが、骨梁幅が維持された。このように通電刺激は、副作用を伴わずに投薬と同様な効果を得ていた。本来、骨に力学的負荷が加わるとその圧電特性により骨表面に電気が生じ、それから発生する電流が骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞を取り巻く環境を変えるように作用する。その電流はピエゾ電流と呼ばれ、骨形成を促進するものと考えられている<sup>15)</sup>。しかし、本研究において骨梁幅が維持されたのは主として骨吸収の抑制によるものである。このように骨にもたらされた通電刺激は骨形成促進に寄与すると考えられているが、本研究では主として骨吸収の抑制に関わっており、これらの点は今後の検討課題になるべきものと思われる。

## 3. 一次海綿骨の変化

海綿骨は骨にもたらされた外力を周囲の皮質骨に分散、伝達する役割を担う。そのため外力が強ければそれに見合う海綿骨の骨梁の太さや配列状態が形成され、より外力に対して抵抗性を示す構造が構築される<sup>1)</sup>。海綿骨は骨端板直下の一次海綿骨とそれより後方の領域の二次海綿骨に分類される。守田ら<sup>18)</sup>は、発育期ラット脛骨における一次海綿骨の上下的な幅は週齢が進むにしたがって減少し、逆に二次海綿骨の幅は増加することを報告している。本研究では、後肢懸垂に伴う力学的負荷の減少により、一次および二次海綿骨においてTRAP陽性細胞が多く観察された。その結果、後肢懸垂群ではいずれの海綿骨の上下的な幅の減少に加え、骨梁の太さの減少と密度の低下が認められた。しかし、通電刺激を行った群の海綿骨の構造はCOに近い状態にあり、一次海綿骨の上下的な幅は減少するが、二次海綿骨の幅は増した。これは発達後期の骨構造の変化に一致するものであり<sup>19)</sup>、通電刺激にはそのような効果があるものと思われる。大野<sup>20)</sup>は通常飼育されたマウスの細胞に直流通電刺激を施しその部位の微小電流が骨芽細胞の分化をもたらしと述べている。本研究では、後肢懸垂したラット後肢に経皮通電を行い海綿骨にTARP陽性細胞の減少を認めているが、骨芽細胞の変化については詳細を確認できなかった。しかし、大野の報告も併せて考えると、通電刺激は破骨細胞の不活性化のみならず、骨芽細胞の分化にも関わっているであろうことが推測される。

## 4. 部位差における通電刺激の効果

本研究では、異なる厚さの皮下組織の部位で経皮的に通電刺激を行い、それが後肢懸垂によって生じた骨量減少に対してどのような効果の違いをもたらすかについて検討した。石川ら<sup>21)</sup>は皮膚および、

皮下に存在する種々の軟組織の電氣的抵抗について検討し、その結果、皮膚、筋膜、血管および神経には抵抗があるが、筋肉は抵抗が低く電気が通りやすいことを明らかにした。毛は非伝導性であるため本研究では剃毛を行っており、本研究の結果には毛は関与していない。このことから、経皮通電の刺激は皮下に存在する筋肉の厚さには影響されず、筋以外の軟組織によって通電刺激が皮下で減衰するであろうことが推測される。筋肉から分泌されるサイトカインはマイオカインとも呼ばれ、その一つであるミオスタチンを欠乏させると破骨細胞形成が阻害され<sup>22)</sup>、そのため骨密度維持にはミオスタチン欠乏が大きな意味を持つことが老齢マウスを用いた実験で、明らかにされている<sup>23)</sup>。また、大田ら<sup>24)</sup>によると長期反復鍼通電刺激は、ミオスタチン遺伝子発現を効果的に抑制することが示されている。また、高岡ら<sup>25)</sup>も電気鍼治療 (EA) がミオスタチン発現および遺伝子の顕著な抑制に効果があることを示している。本研究の下腿後面では前面に比べて厚い筋肉を介して通電しており、鍼通電と同じように筋肉中にも通電が正確に起こっているのであれば、後面からの刺激はこのミオスタチンの分泌抑制によって骨梁が維持されたのではないかと推測できる。しかし本研究では下腿前面からの刺激の方が、より骨梁を維持させたことから、組織の厚さと電気抵抗が経皮通電刺激においては重要になるのではないかと考えられる。

## 結 論

経皮通電刺激は皮質骨表面のみならず骨内部の海綿骨構造もたらした。しかし、その効果は、皮下組織の厚さで比較すると、皮下の軟組織の薄い方が維持されていた。

本研究の要旨は、第74回日本体力医学会大会 (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

稿を終わるに望み、多くのご協力をいただいた研究室の方々に深謝致します。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) 井上大輔：無重力における骨代謝と骨粗鬆症. 四国医誌58：296-301 (2002).
- 2) 反町武史、山本謙吾、正岡利紀、宮川直樹、森下恭資、木村大：低出力超音波刺激の骨形成促進作用についての基礎的研究. 東医大誌61：531-538 (2003).
- 3) 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. 東洋大学大学院紀要52：255-

- 271 (2015).
- 4) 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 291-301 (2017).
  - 5) 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14：101-109 (2019).
  - 6) Parfitt,A.M.：Targeted and nontargeted bone remodeling：relationship to basic multicellular unit origination and pro-gression. *Bone* 30：5-7 (2002).
  - 7) 横瀬敏志、中貴弘：Wolffの法則とFrostの理論からレーザー刺激と骨再生を考える. *日レ歯誌*21：192-196 (2010).
  - 8) 中村輝夫：骨吸収面の走査電子顕微鏡的研究. *Jpn. J. Oral Biol.* 24：591-601, (1982).
  - 9) 山名裕見：破骨細胞性骨吸収過程における骨芽細胞の関与について. *Jim. J. Oral Biol.*, 28：519-532 (1986).
  - 10) 坂田仁：リセドロネートによる骨粗鬆症の治療経験. *名寄市病誌*15：14-18 (2007).
  - 11) 田中寿人、黒川宏亮、大野晴子：アレンドロネートの骨粗鬆症患者に対する骨量及び、骨梁構造維持作用について. *整形外科と災害外科*55：147-150 (2006).
  - 12) 坂田仁：アレンドロネートによる骨粗鬆症の治療経験. *名寄市病誌*14：16-20 (2006).
  - 13) 佐藤隆俊：腸骨海綿骨の骨梁幅の組織計測的観察. *東北大学リポジトリ* 1596：33-36 (1984).
  - 14) 玉越敬悟、峯松亮、西井康恵：骨梁減少モデルラットにおける骨微細構造の変化. *理学療法系*48：3-123 (2009).
  - 15) 保田岩夫：力学的仮骨と電気的仮骨ならびに骨の圧電気現象." *日本機械学会誌*76：1029-1035 (1973).
  - 16) Frost,H.M.：Bone mass and the mechanostat：A proposal. *Anat. Rec.* 219：1-9 (1987).
  - 17) 堤定美：Wolffの法則. *Bone* 8：101-108 (1994).
  - 18) 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).
  - 19) 滝沢彩音、萩原優、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).
  - 20) 大野敬：骨原性細胞株MC3T3-E1に対する微小電流刺激の効果. *東北歯科大学口腔外科学会雑誌*34：15-23 (1988).
  - 21) 藤田六朗：種々の組織の電気抵抗. *日本東洋医学会誌*17：61-62 (1966).
  - 22) 東浩太郎：骨粗鬆症発症のメカニズム. *日本老年医学会雑誌*56：116-123 (2019).
  - 23) Morissette M.R., et al.：Effects of myostatin deletion in aging mice. *Aging Cell* 8：573-583 (2009).
  - 24) 高岡裕、大田美香、三浦研爾、後藤修司：長期反復針通電刺激はミオスタチン遺伝子発現を効果的に抑制する." *全日本鍼灸学会雑誌*57：431 (2007)
  - 25) Yutaka Takaoka, Mika Ohta, et al.：Electroacupuncture suppresses myostatin gene expression：cell proliferative reaction in mouse skeletal muscle. *Physiol Genomics* 30：102-110 (2007).



Effects of transdermal electrical stimulations on  
tibial bone structures at different sites in hindlimb-suspended rats

MOCHIDUKI Masaki, KOBAYASHI Munehiro, OHSAKO Masafumi

**Abstract**

This study was aimed to compare and investigate effects of transcutaneous electrical stimulation on a bone resorption accompanied with a decrease in mechanical loading at the portions of thick and thin transcutaneous. Thirty two male rats (Seven-week-old) were used as materials. They were divided into a hindlimb suspended group (HS), a hindlimb suspended and transcutaneous electrical stimulated group (TE) and a control group (CO). Moreover, TE was subdivided into a group stimulating to an anterior site of crus (AN) and a group stimulating to a posterior site of that (PO). The hindlimbs of three groups, except for CO, were suspended from a ceiling of cage for two weeks. The anterior and posterior sites of the crus were electrical-stimulated transcutaneously (ten minutes per day, five days per week, two weeks). Tibias were excised and were analyzed histologically.

Many TRAP-reacted cells were observed at the cancellous bone of HS but they weren't almost seen in AN, PO and CO. A bone trabecular of a secondary cancellous bone was thinner and looser compared to CO. Thickness of the bone trabecular of AN and PO was similar to CO and that of AN was thick particularly.

From these facts, it was understood that the transcutaneous electrical stimulation using a carrier wave fundamentally inhibited a bone loss by a decrease in mechanical loading, and the effectiveness was affected by the thickness of a soft tissue. It was understood that it was seen conspicuously in a thin part.

**Keywords** : Hindlimb suspension, Transcutaneous electrical stimulation, Thickness of subcutaneous tissue