

ラット大腿骨における不動中の鍼通電刺激の影響

福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻博士前期課程2年

中井 真悟

福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻博士前期課程2年

高橋 将人

ライフデザイン学部健康スポーツ学科教授

大迫 正文

要 旨

本研究は、非活動的な生活でもたらされる骨の萎縮に対する鍼通電刺激の抑制効果について検討することを目的とした。

材料として7週齢のwistar系雄性ラット24匹を用い、それらを不動群（IM）、不動・鍼通電刺激群（IMEA）および対照群（CO）に分類した。IMとIMEAの膝関節に不動装置を装着した。IMEAは、不動処置と同時に大腿骨の骨膜まで鍼を刺入し、交流鍼通電刺激(刺激条件:250 μ sec、50Hz、0.24mA)を10分／日、毎日、2週間行った。いずれの群においても実験期間終了後に大腿骨を摘出し、組織学的観察および骨強度測定を行った。

不動化により、骨内膜面および骨膜面の活発な骨吸収ならびに血管腔の断面積の拡大が多く認められた。IMEAの骨膜はCOとIMに比べ全体的に厚かったが、そのような状態は中央および遠位部の皮質骨前面で顕著であった。破断試験による全てのパラメータの値はCO、IMEA、IMの順で低くなっていた。テトラサイクリンによる時刻描記法で各群の骨形成量を比較すると、群間に差は認められなかった。TRAP染色はIMで特に強い反応がみられたが、IMEAではほとんど反応を示さなかった。

鍼通電刺激は不動化に伴って退縮した皮質骨に対して、骨量を増加させずに骨吸収を著しく抑制した。このことから、不動化による骨量減少を抑制するのに鍼通電刺激が有効であることが示唆された。

キーワード：鍼通電刺激、不動化、骨量減少抑制

はじめに

近年、我が国では超高齢社会を迎え、運動機能低下による転倒や、それに起因する長期入院患者が増加しており、そのような患者へのサポートは医療財政を圧迫する要因となっている。また、骨粗鬆症患者も増加の一途をたどり¹⁾、これによる骨折は日常活動動作(ADL)に大きく影響することから、骨の健康維持に対する意識が高まっている。そのような長期臥床や不活動環境における骨の廃用性萎縮を想定し、動物を用いて不動実験や尾部懸垂実験などが行われてきた^{2,3)}。

後肢不動化⁴⁾や尾部懸垂⁵⁾などの加重低減による骨構造への影響を比較した報告では、骨量減少を引き起こすことが示されている。一方、尾部懸垂によって大腿骨の骨量がすでに減少したラットを用いて、20～50Hzの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⁶⁾。その報告では不動後に鍼通電刺激を行っているが、後肢不動化と尾部懸垂とでは、通電刺激を行わなくても組織に及ぼす影響が異なることが示されている⁷⁾。また、寝たきり状態やリハビリ中における骨量減少に対して抑制することを想定した不動化中の鍼通電刺激の効果についても報告がない。本研究は非活動的な状態を想定し、後肢不動化中のラット大腿への鍼電気刺激が大腿骨骨幹中央および遠位部の皮質骨の骨量減少を抑制するか否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

7週齢のwistar系雄性ラット24匹を用い、それらを不動群 (IM)、不動・鍼通電刺激群 (IMEA) および対照群 (CO) に分類した。

不動装置および鍼通電刺激条件

IMとIMEAにおける後肢膝関節の不動化では、片脚の不動化を行った沖田ら⁸⁾の方法に従い、本実験では両脚に不動装置を2週間装着した。また、IMEAには不動処置と同時に大腿骨の骨膜まで鍼を刺入し、連続的交流鍼通電刺激を行った。低周波刺激装置 (テクノリンク社製、ラスパーエース) を用い、通電刺激は250 μ sec、50Hz、0.24mA (500 Ω 負荷時) の条件で実験期間中10分/日、毎日、2週間実施した。筋が収縮した際に鍼が抜けないようにするため、鍼は皮膚表面に対して45° の角度で刺鍼した。いずれの群も実験期間終了後に大腿骨を摘出し、後述する方法で骨幹中央部と遠位1/3部を決定し、組織学的および形態計測学的に観察した。

刺鍼部位

IMEAの刺鍼部位は大腿部中央および遠位部とし、ポピドンヨードにて消毒した後、大腿

骨の骨膜まで刺入した。(図1)

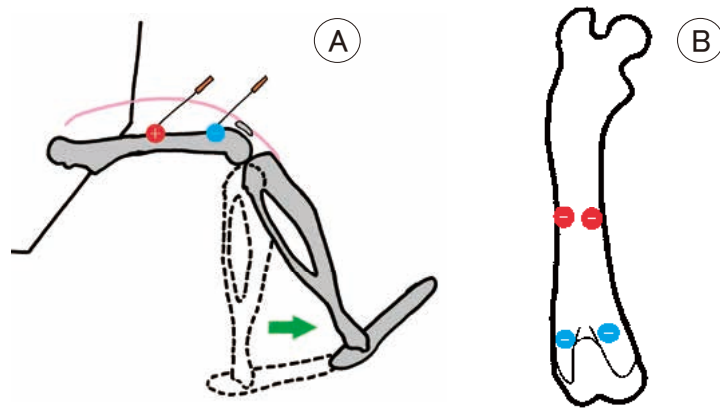


図1 刺鍼部位 A:側方 B:前方

標本の摘出および固定

標本摘出に際して、苦痛を軽減するためにラットを炭酸ガス吸引によって安楽死させた。死亡を確認後、筋や神経、結合組織などの軟組織を丁寧に除去し、骨膜が付着した状態で大腿骨を摘出した。右脚を骨強度試験用とし、左脚を組織構造観察および骨形態計測用とした。両脚ともにノギスを用いて大腿骨の長さを計測し、大腿骨長の中間および遠位1/3部を決定し、それらをそれぞれ大腿骨における中央および遠位部とした。摘出した大腿骨を速やかに固定液(カルノブスキー液)に浸漬した後、骨形態計測および組織構造観察用の標本作製した。

組織学的標本の作製と観察

骨の形成状態について観察するために、実験開始3日目とサンプリング当日にテトラサイクリンを腹注した。

大腿骨の摘出後速やかに0.1Mカコジル酸ナトリウム(pH7.4)で緩衝されたカルノブスキー液により一晩浸漬固定した(4℃)。充分固定されているのを確認して水洗後、脱灰せずに真空状態にてアルコール系列(70・90・100%)で脱水し、それに続いてアセトンにより透徹し、リゴラック樹脂を浸透させた。その後、徐々に加温重合(37、45、55および60℃：各一日)を行い、硬化させた。そのブロックをバンドソーにて適切な大きさにトリミングした後、砥石および研磨用フィルムで厚さ150 μ mの横断標本作製した。その後、1Nの塩酸に浸漬し、酸腐蝕(エッチング)を行い、水洗の後、70℃に加温したトルイジンブルー溶液で染色を施した。この中央および遠位部の標本を用いて光学ならびに蛍光顕微鏡により組織学的に観察するとともに骨形態計測を行った。(図2)

骨膜面側からの骨吸収を観察するために、各群の脱灰パラフィン矢状断切片にTRAP染色

を施した。

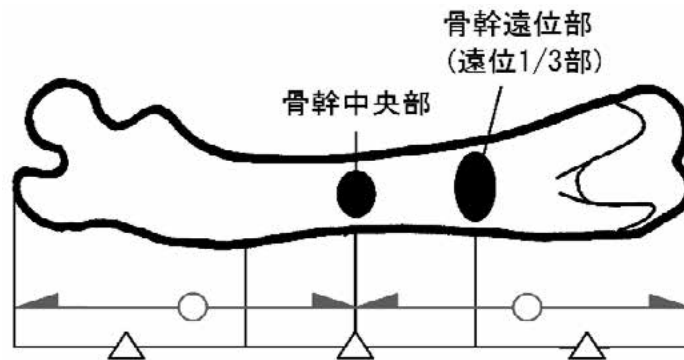


図2 観察部位

骨形態計測

大腿骨の中央および遠位部におけるリゴラック樹脂包埋非脱灰研磨標本に、トルイジンブルー染色を施した。その標本を光学顕微鏡により撮影後、モニターに投影し、画像解析ソフト(WinROOF V7.4)を用いて、中央および遠位部における大腿骨断面の前後および内外径を求めるとともに、皮質骨全体の断面積や大腿骨の内、外、前および後面における皮質骨や骨膜の厚さを計測した。

大腿骨の断面は前後方向よりも内外方向に長い楕円形を示した。本研究では内外径の最長のものを中央および遠位部における内外径とした。その内外径を求めた線上の midpoint で垂線を引き、それと交わる前面と後面の皮質骨における骨膜面の間の距離を前後径とした。内外径および前後径を求めた線上の皮質骨の厚さを計測し、それぞれ内、外、前および後面における皮質骨厚とした。前後面における皮質骨厚においても同様な方法で求めた。また、骨膜の厚さの計測は、内外および前後の径を求めた線上で、骨膜の厚さを求めた。なお、計測にあたりデータの適切性および再現性を高めるために、各計測項目を2度計測し、その平均値を求めた。(図3)

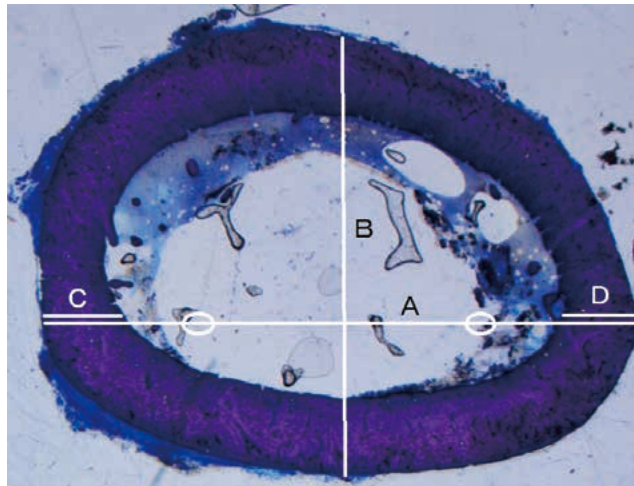


図3 骨形態計測部位

A : 内外径 最大長
B : 前後径 内外径の中心に垂直に交わる線
C+D: 皮質骨厚

破断試験法の条件設定

大腿骨を前方中央部から破断するため、まずその部位をマーキングした。大腿骨を破断試験器(TK-252 室町機械)の支持台にセットし、クロスヘッドがその部位へ的確にあたるように設置して、3点支持試験を行った。著者ら⁹⁾は、井上ら¹⁰⁾の破断条件にしたがって、各部位の強度を測定し、その結果をすでに報告している。本実験でも同様の手法を用いて骨の強度を測定し、骨の応力-ひずみ曲線¹¹⁾を求めた。

統計処理

形態計測によって得られた各パラメータの平均値と標準偏差をもとめ、SPSSソフト(IBM社)を用いて各パラメータの一元配置分散分析を行った。有意差が認められた場合はTurkey-HSD法により、各群間での多重比較を行い、5%以下を有意とした。

所 見

1) 骨形態計測

皮質骨

大腿骨の太さを表わす前後および内外径は、中央ならびに遠位部のいずれにおいてもIMとIMEAはCOより有意に($P < 0.05$ または $P < 0.001$)細かった。IMとIMEAの間には有意差が認められなかった。(図4)

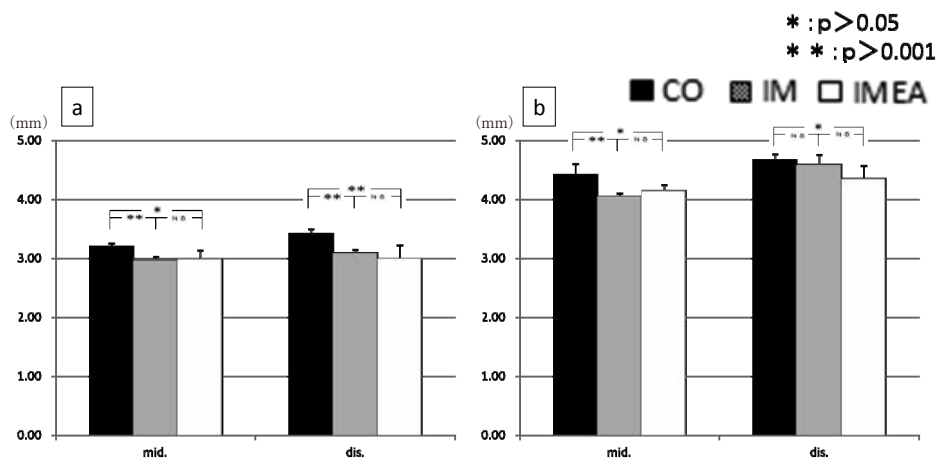


図4 各群における大腿骨の太さの比較

a:前後径 b:内外径

皮質骨の前後および内外厚は、各群の中央および遠位部のいずれにおいてもIMはIMEAおよびCOより有意に低かったのに対し、遠位部の前後厚以外のCOとIMEAを比較すると、遠位部の前後厚を除いて、それらの間に有意差は見られなかった。さらに内外厚に対する前後厚の比をみると、中央部ではCO : 0.75倍、IM : 0.97倍、IMEA : 0.80倍であり、IMの前後および内外厚はほぼ同じであった。それに対し、遠位部ではCO : 1.03倍、IM : 1.40倍、IMEA : 1.00倍となり、CO、IMEAでは同じ厚さであるにも関わらず、IMでは内外厚の薄さが顕著であった。次に、断面積は中央および遠位部においてIMが他の群と比較し、有意な減少を認めた。(図5)

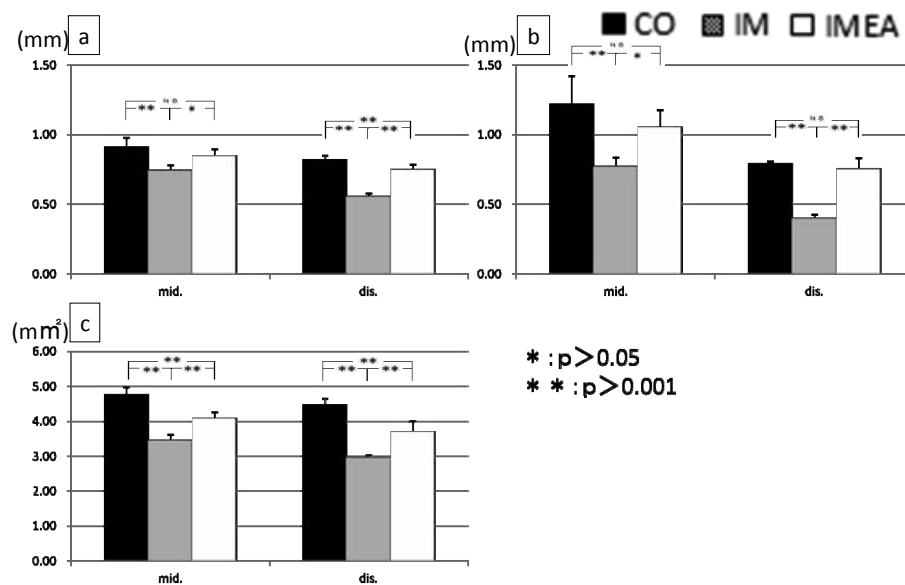


図5 各群の皮質厚および断面積の比較

a:前後径 b:内外径 c:断面積

骨膜

各群の中央および遠位部における前(A)、後(P)、内(M)および外(L)面の骨膜厚を比較すると、IMおよびIMEAの骨膜厚はほとんどの面でCOと同等またはそれより低値を示したが、IMEAの前面は中央および遠位部ともに、COより厚かった。(図6)

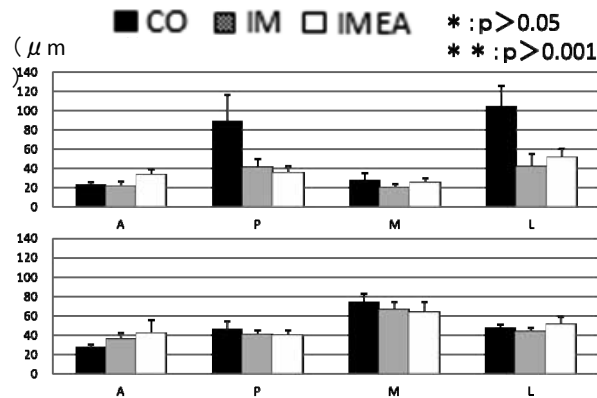


図6 骨膜の厚さ 上段:中央部 下段:遠位部

2) 骨破断試験

Deformationに関して、IMは他群と比較すると有意に低値を示したが、IMEAとCOとの間に有意差はみられなかった。IMおよびIMEAのStrengthはCOより有意に低かったが、IMEAはIMより有意に高かった。(図7)

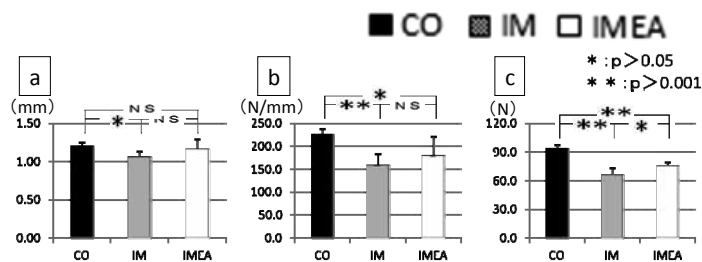


図7 各群における骨破断試験のデータの比較

A:Deformation B:Stiffness C:Strength

3) 皮質骨の組織構造

樹脂包埋された標本を光学顕微鏡で観察すると、中央および遠位部ではCOに比べてIMおよびIMEAの皮質骨が薄く、特にIMの方が顕著であった。中央部では外方へ突出する第三転子付近の厚さの減少が認められ、遠位部では皮質骨全体の減少が観察された。特に前方から内方にかけて「ヘアブラシ様」の構造が認められた。(図8、9) 不動化すると骨内膜面のみならず骨膜面でも骨吸収が顕著に現れ、血管腔の断面が拡大した。また、石灰化度の高い幼若な骨が皮質骨内で占める割合も増加することが認められた。(図8) 皮質骨前面の拡大像を

観察すると、IMの中央および遠位部では横断研磨標本で縦断または斜断される血管腔が多く存在し、他の群では横断される血管腔が多く見られた。(図9)

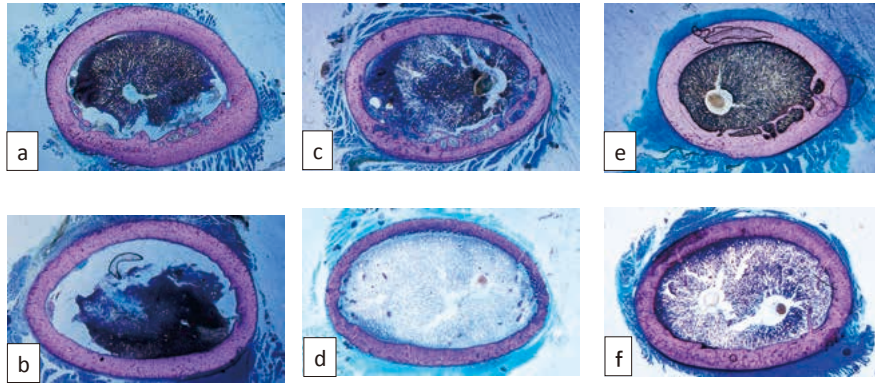


図8 各群の大腿骨横断面の弱拡大像

a,b:CO c,d:IM e,f:IMEA
a,c,e:中央部 b,d,f:遠位部

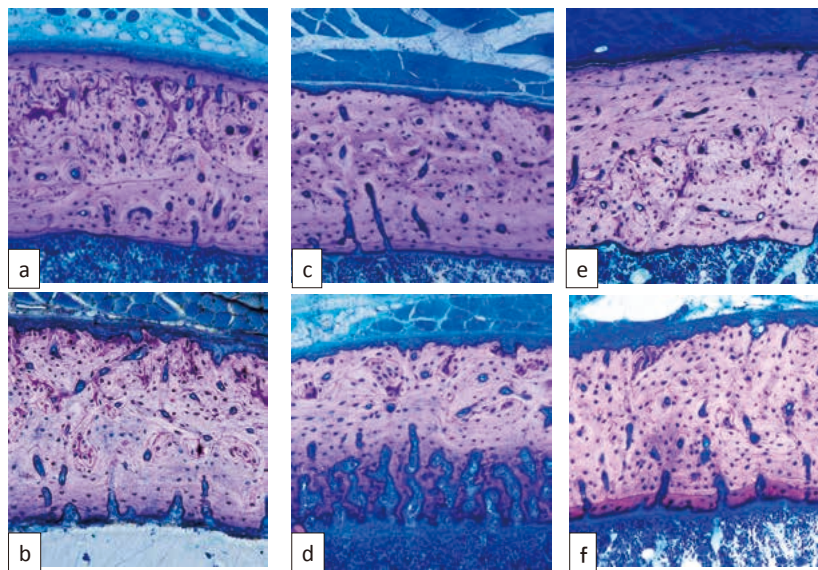


図9 前方皮質骨横断面の拡大像

a,b:CO c,d:IM e,f:IMEA
a,c,e:中央部 b,d,f:遠位部

4) テトラサイクリンによる時刻描記法

COの遠位部では骨内膜面の表層にテトラサイクリンのラベルが存在し、実験開始3日目から終了時点まで、遠位部ではわずかし骨が形成されなかった。また、中央部ではそれより深部にラベルがみられた。COの遠位部と同様に、IMおよびIMEAにおけるラベルも骨内膜面の表層に存在し、骨形成がわずかであった。(図10)

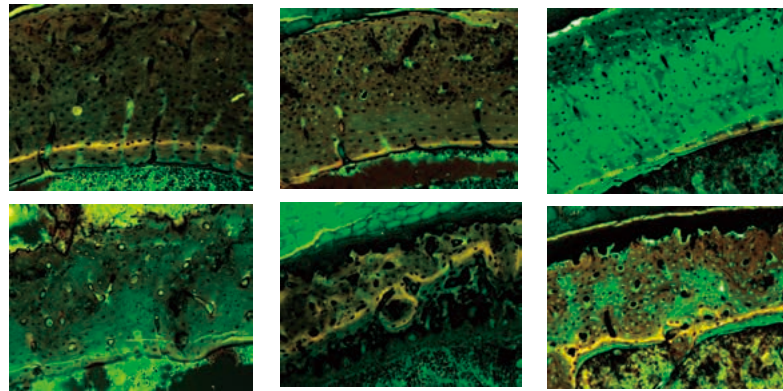


図10. 骨形成状態(テトラサイクリンによる時刻描記法)
上段:中央部 下段:遠位部
左からCO、IM、IMEA

5) TRAP染色による骨吸収像

COでは皮質骨前面遠位部においてのみTRAP染色陽性反応を示す細胞や吸収窩が認められた。IMでは皮質骨前・後面の中央および遠位部のいずれにもそれらの強い反応が多く観察されたが、IMEAはほとんど反応を示さなかった。(図11)

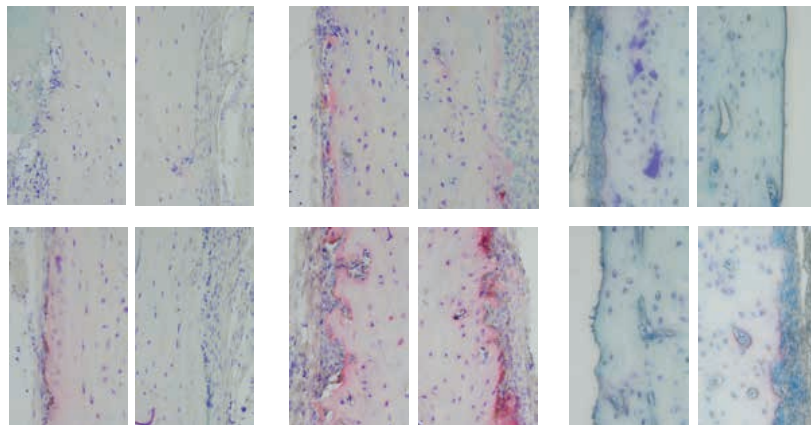


図11 骨吸収像(TRAP染色)

上段:中央部 下段:遠位部 左からCO、IM、IMEA 各群の左が前面 右が後面

6) 染色性による骨基質の分類

大腿骨の中央および遠位部の脱灰パラフィン切片にマッソントリクローム染色を施すと、皮質骨の深部には基質が主として青色に染まる部分がみられ、それより表層にはややピンク色に染まるが層板構造のみられない部分が存在した。このような皮質骨は大腿骨の遠位部でしばしば観察され、これ以降前者の骨をType Aとし、後者の骨をType Bとする。それに対して、大腿骨中央部の皮質骨表層には典型的な層板構造を示す部分が認められ、この部分の骨をType Cとした。(図12) 遠位部では、Type Bが多く占めているが、黄緑色のType Aが

後面とわずかに前方にみられる。IMやIMEAでは、Type BよりもType Aが多く存在するが、それらの基本的な分布はCOに類似していた。COの中央部は、基本的にType Aで構成され、後外面にはType Bが存在し、このような構成はIMおよびIMEAでも同様であった。このことから骨構造は均質では無く層構造をなしていることが理解された。(図13)



図12. 染色性による皮質骨の分類

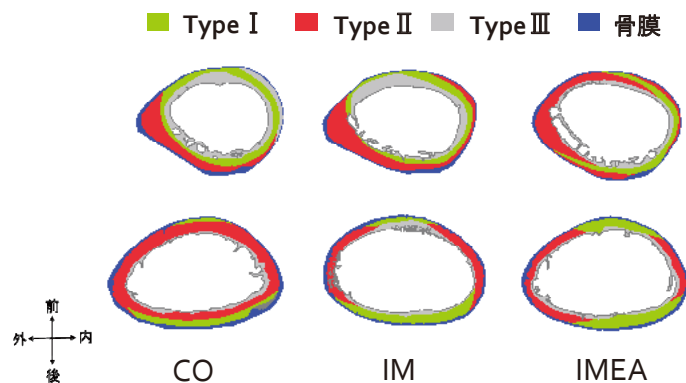


図13. 各群の皮質骨におけるタイプ別骨基質の変化

上段:中央部 下段:遠位部
左からCO、IM、IMEA

考 察

鍼刺激の手技には生体内に鍼を刺入し、一定時間放置しておく置鍼法や上下に振戦する雀啄法などがある。近年では、その技術を応用して低周波治療器を用いた鍼通電法が普及している。その効果について、池宗ら¹³⁾は後肢不動化ラットの筋に対して鍼通電刺激を行い、ミオスタチンの発現抑制による筋肥大が起こるとしている。中島ら¹⁴⁾は、鍼通電刺激が骨折モデルのラットにおよぼす影響を破断試験および軟X線により骨強度を測定し、骨折の早期治癒がみられることを報告した。また、ラットに尾部懸垂処置を行って廃用性萎縮を起こさせた後に、鍼通電刺激によって骨量回復が促進したことも示されている⁴⁾。これらの報告はすべて骨の廃用性萎縮がみられた後の鍼通電刺激の効果について検討したものである。しかし、疾病によるベッドレスト中や傷害によるリハビリ期に一定期間の安静状態中に生じる骨量減少を抑制することは、その後のADL維持には重要なことである。そのような観点から、本

研究では後肢不動状態にあるラット大腿に鍼通電刺激を施し、それによる大腿骨骨幹中央部の皮質骨および遠位骨幹端の海綿骨の構造に及ぼす影響について検討した。

一般的に骨の強度Strengthには、硬さStiffnessとしなやかさDeformationが関わることが知られている。加齢による皮質骨内の石灰化度の上昇¹⁶⁾やAGEs増加によってStiffnessが増加するが、それに伴ってDeformationが低下することにより、結果的にStrengthは低下する^{17,18)}。これらのパラメータは運動により維持¹⁹⁾または増加¹⁵⁾し、一方、尾部懸垂⁵⁾や後肢不動化⁴⁾の状態では減少することも示されている。IMのDeformationは他群と比較すると有意に低値を示したが、IMEAとCOに有意差はみられなかった。IMおよびIMEAのStiffnessとStrengthはいずれもCOより低い値を示したが、IMEAのStrengthはIMより有意に高かった。この結果はIMのDeformationとStiffnessのいずれもCOより低かったために、Strengthの低下を招いたと思われる。それに対し、IMEAのそれらのパラメータは、COより有意な低値を示さず、このことがIMEAのStrengthをCOとIMとの間にとどめていたと考えられる。

著者ら⁹⁾は骨基質内の構造や骨膜の厚さが骨強度に与える影響について、すでに報告している。それによると、ラットの大腿骨では中央部の骨内膜面は楕円形を示すが、骨膜面は第三転子に相当する部位が外方に突出し、そのため中央部の皮質骨は第三転子の部位付近のみが厚かった。遠位部では骨膜面および骨内膜面ともに楕円形であった。大腿骨では遠位骨幹端に骨端板が存在し、大腿骨は発育に伴い、その部位から遠位方向に伸長する。したがって、中央部における第三転子は大腿骨遠位部の骨端板による軟骨内骨化によって形成されたものではなく、中央部付近の膜内骨化によって新たに形成されたものであると考えられる。

IMEAとCOの断面形態はいずれの部位もほぼ同様であったが、IMEAの方がやや薄かった。一方、IMの断面形態は他群と異なり、中央部では外後面の皮質骨が薄く、他群のような第三転子を形成する骨膜面の突出が認められなかった。また、遠位部においては全体的に皮質骨が薄くなっており、特に皮質骨の内外面の厚さが薄かった。形態計測の結果、IMの皮質骨厚および断面積はCOに比べて、有意に低い値を示した。それに対し、IMEAの値はCOとIMの中間的な値を示し、特に内外面の皮質骨厚が維持されていた。これらのことから、前後方向への破断条件では内外面が脆弱部位となるため、骨強度へ影響する一因になったと思われる。

また、骨膜厚を各面ごとに計測すると、IMEAの中央および遠位部ではCOより高い傾向がみられた。一般的には骨膜は発育とともに薄くなり、血管密度や細胞数が減少する^{20,21)}ことが知られ、刺激部位が大腿骨前面であったことから、鍼による侵襲刺激または通電刺激の影響が考えられる。一方、著者ら⁹⁾は骨膜の厚さとDeformationの関連を報告しており、同程度の厚さであるIMEAとCOが有意差を示さず、骨強度へ影響したと考えられる。

基質線維²²⁾や血管を通すハバース層板²³⁾は加重分散する方向に配列することが示されている。本研究においては、IMの中央および遠位部の皮質骨前方部では、横断研磨標本で縦断

または斜断される血管腔が多く存在し、他の群では横断される血管腔が多く見られた。このことから、加重減によってIMの基質線維の配向性が乱れたと考えられる。一方、IMEAも加重減となっていたが、横断される血管が多く認められたことから、鍼通電刺激と加重刺激は類似した反応を起こさせる可能性が示唆された。

岸本ら²⁴⁾は骨吸収窩には応力が集中するため強度的に弱点になると指摘している。材質特性について骨の石灰化度やコラーゲンの密度などが関与しており、石灰化度が高まると剛性(stiffness)は高値を示し、靱性(Deformation)は低下する。古い骨単位は無機質の沈着が促進して強度が高まり、新生された骨単位は低い。コラーゲン架橋の増加が骨の強度を高め、脆い骨構造を形成すると考えられている。その他、皮質骨の多孔性も骨強度に関わるが、石灰化度の方が大きな要素とされている^{25,26)}。一方、基質変形を伴う力学刺激に対する骨芽細胞内Ca²⁺応答の負荷周波数依存性を報告²⁷⁾もあり、通電刺激による石灰化度への影響が知られている。

マッソントリクローム染色のような物理染色の染色結果と透過電子顕微鏡による観察所見の関連性について検討した報告²⁸⁾では、基質線維の密度および配列状態による骨機質の分類が行われている。このように骨基質内の各面の深度や分化により石灰化度が異なることから、本研究では基質の分布をトレースし、鍼通電刺激の影響について検討した。トルイジンブルー溶液の非脱灰樹脂研磨標本への染色性を参考とした。トルイジンブルー染色では石灰化軟骨基質と骨基質が異なる染色性を示す。硝子軟骨や線維軟骨の細胞領域基質と同程度の酸性ムコ多糖類を含んでおり、好塩基性を示すため^{29,30)}、硝子軟骨様のメタクロマジーを起こすことが知られている³¹⁾。また、骨膜面周囲にできる骨前質と骨基質の石灰化軟骨基質は、双方とも幼若な骨であるが発生機序は異なる。前者は膜性の骨化様式により形成されているため石灰化度が低く、後者は成長軟骨からの軟骨性の骨化様式により形成され、長軸方向へ移行していく。このことは時間の経過とともに石灰化度が増し、硬さをもたらすと考えられる。

大迫ら¹²⁾は骨基質の物理染色による結果と透過電子顕微鏡の観察所見から、骨組織を分類している。マッソントリクローム染色により、淡い青に染まる領域では基質線維が疎で配列が不規則であり、赤色に染まる領域は基質線維が密で配列が規則的になっていることや、層板構造を示す部位があることを報告している。同様にトルイジンブルー染色にて赤紫色に濃染する部位は石灰化軟骨および幼若な骨基質のため石灰化度が高い。配列は不規則で、疎である部位¹²⁾をType Aとし、層板構造を成す部位は最も成熟した骨基質をType Cとした。Type AからType Cにかけて成熟度が増し、その移行的な部分をType Bとした。我々は、酸腐食させたSEM標本をSEMで観察することにより、石灰化物の、溶出度が部位によって異なることを認めている。この像は、光顕で観察したものと同様にType Aは石灰化度が高いため、基質表面は滑沢となり、Type Cは層板状にコラーゲンが配列し、線維成分が多く粗造である部位はType Bに相当した。

中央部では骨内膜面表層にType Cが環状に存在し、その外側を取り囲むようにType Aが配列しており、大腿骨の外側では第三転子の部に相当して、そのType Aの表面にType Bが位置していた。遠位部では中央部と同じようにType Cが骨内膜面表層に存在しており、前後にType A、内外にType Bが位置していた。各群ともにこの様な構造を示した。

無機構造内に電位差が生じることはすでに知られているが、深田ら³²⁾により、摘出骨への長軸方向から圧を加えることでピエゾ電位を発生することが報告されている。一方、ラット大腿骨に直接コイルや圧電フィルムを巻き付けて通電し、陰極に骨形成されたと報告しており、逆圧電効果が証明された^{33,34)}。

本実験では、COの中央部はテトラサイクリンのラベルが深部まであり活発な骨形成が行われていたのに対して、その他の部位では骨内膜面の表層にのみラベルが見られた。そこでは、骨形成は促進されていなかった。次に、TRAP染色による骨膜側からの骨吸収像はIMで最も多く、広い範囲でみられた。このことは、不動化による骨吸収が促進したことを意味している。COでもこの染色で、TRAP陽性部位が見られるが、これは発育期ラットを用いているため骨代謝回転が盛んであり、通常でも見られるものすると考えられる。しかし、IMEAではそのような像がほぼ見られない。このことは骨膜側からの骨吸収が抑制されていることを示している。

以上のことから、IMEAの骨吸収抑制により骨量が維持されることが理解された。このことは骨量が減少した状態からの回復期における通電刺激が骨芽細胞を活性化する一方で、破骨細胞の働きを抑制するということを示し、これは先行研究と相反する⁶⁾。しかし、本実験は不動中の鍼通電刺激の影響について検討するものであり、本実験とLamらの報告とは鍼通電刺激による介入時期が異なることから、結果の違いをもたらしたと考えられる。

また、本実験の結果は骨代謝回転を強力に抑制する薬剤として有名であるビスホスホネートやデノスマブの効果に類似していると考えられる。つまりそれらの薬剤では、投与期間の制限や共通の副作用（ARONJ）が存在し、薬剤投与期の歯科処置による顎骨壊死が報告や、非定型の大腿骨転子下骨折・骨幹部骨折（AFF）などの疲労骨折様骨折が起りやすく、また、治癒しにくくなることも報告されている³⁵⁾。

近年では、骨芽細胞が活性化する薬剤として、活性ビタミンD3やテリパラチドが用いられている。これは骨の代謝回転を活性化し、形成が吸収を上回るため骨量を増加する。このように作用機序は異なるが、骨吸収抑制薬との併用療法による有効性も報告されており³⁶⁾、薬剤との併用または処置期間や頻度について今後も検討していく必要がある。

結 論

後肢不動化中の鍼通電刺激によって、骨形成は促進されないが、骨吸収が著しく抑制され、それによって骨量の減少が抑えられるであろうことが示唆された。

倫理審査

本研究は東洋大学動物実験委員会および福祉社会デザイン研究科研究等倫理委員会の審査により承認された。

謝 辞

稿を終わるに望み、多くのご協力を頂いた研究室の方々に深謝致します。

参考文献

- 1) 折茂肇：第4回大腿骨頸部骨折全国頻度調査成績.日本医事新報 4180：25-30,2004.
- 2) 津志和美、山崎俊明：非荷重期間の相違が廃用性筋萎縮後のラットヒラメ筋の回復過程に与える影響.理学療法科学 28：365-370,2013.
- 3) Li Mosekilde, et al：Treatment With Risedronate or Alendronate Prevents Hind-Limb Immobilization-induced Loss of Bone Density and Strength in Adult Female Rats. Bone 27：639-645,2000.
- 4) 田巻弘之、他：坐骨神経の凍結麻痺により一過性に不動化したラット脛骨骨梁構造の変化.体力科学 57：189-196,2008.
- 5) 山内秀樹、他：非荷重ならびに最荷重に伴う骨応答と等尺性抵抗運動の影響.リハビリテーション医学 40：41-48,2003.
- 6) Hoyan Lam, Yi-Xian Qin.：The Effects of Frequency-Dependent Dynamic Muscle Stimulation on Inhibition of Trabecular Bone Loss in a Disuse Model. Bone 43：1093-1100,2008.
- 7) 鈴木健太、中世古梨奈、大迫正文：ラット関節軟骨および関節包の構造に及ぼす後肢不動化と尾部懸垂の影響の比較. 東洋大学ライフデザイン学研究 10：237-249,2014.
- 8) 沖田実、坂本淳哉、中野治郎、加藤克知：関節の固定肢位の違いが筋線維、ならびに筋肉膜コラーゲン線維におよぼす影響. 理学療法学 25：128-134,1998.
- 9) 中井真悟、高橋将人、大迫正文：ラット大腿骨における基質と骨膜の構造の部位差に関する研究. 東洋大学大学院紀要 51：203-217,2014.
- 10) 井上知、守田剛、大迫正文：ラット脛骨皮質骨における構造と強度の部位差に関する研究. 東洋大学大学院紀要 49：305-320,2012.
- 11) 安達泰治、富田佳宏、坂上弘、田中正夫：応力の局所不均一性による骨梁表面再構築モデルと形態変化シミュレーション. 日本機械学会論文集 63：777-784,1997.
- 12) 大迫正文：ラット下顎骨関節突起の発育と機能に関する組織学的研究. 口腔病学会雑誌 60：47-96,1993.
- 13) 池宗佐知子、他：後肢懸垂により引き起こされる筋萎縮の回復過程における鍼通電の効

- 果. 全日本鍼灸学会雑誌 60 : 707-715,2010.
- 14) 中島美和、井上基浩、糸井恵：ラット脛骨骨折モデルの骨癒合能の及ぼす鍼通電刺激の効果. 全日本鍼灸学会雑誌 59 : 477-485,2009.
 - 15) 白崎芳夫、立石哲也、宮永豊：骨の力学的特性と骨密度に及ぼす運動効果. 日本レオロジー学会誌 20 : 36-39,1992.
 - 16) 飯田治三、福田俊：ラットの加齢に伴う骨重量および含有成分量の変化. *Experimental Animals*. 42 : 349-356,1993.
 - 17) M Saito, K Marumo : Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporosis International* 21 : 195-214,2010
 - 18) M. Saito,K. Fujii,Y. Mori,K. Marumo : Role of collagen enzymatic and glycation induced cross-links as a determinant of bone quality in spontaneously diabetic WBN/Kob rats. *Osteoporosis International* 17 : 1514-1523, 2006.
 - 19) Eun Sang soo et al ; 大腿骨骨萎縮の予防に関する実験的研究.リハビリテーション医学 38 : 203-210,2001.
 - 20) 李繁良：ラット骨膜血管の加齢変化-その微細構築と透過性について-.日本歯周病学会会誌 33 : 799-823,1991.
 - 21) Wei fan et al : Structural and cellular difference between metaphyseal and diaphyseal periosteum in different aged rats. *Bone* 42:81-89,2008.
 - 22) 滝沢彩音、荻原優、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.
 - 23) G. Marotti, M.A. Muglia, D. Zaffe : A SEM study of osteocyte orientation in alternately structured osteons. *Bone* 6 : 331-334,1985.
 - 24) 岸本英彰：骨・関節疾患と骨質－Mechanostat theory(Frost)から－. 日本リウマチ・関節外科学会雑誌 24 : 373-379,2006.
 - 25) Currey,J.D. : The mechanical properties of bone. *Clinical Orthopaedics* 73 : 210-231,1970.
 - 26) Currey,J.D. : Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. *Osteoporosis International* 14 : 29-36,2003.
 - 27) 松浦直樹、田中茂雄：三次元培養骨芽細胞の骨内Ca²⁺動態観察と力学刺激応答. *K-INET Kanazawa University* 21 : 146-148,2009.
 - 28) 大迫 正文、他：ラット下顎頭の軟骨内骨化にともなう骨基質の構造変化について. 口腔病学会雑誌 56 : 396,1989.
 - 29) Huysseune, A. : Late skeletal development at the articulation between upper

- pharyngeal jaws and neurocranial base in the fish, *Astatotilapia elegans*, with the participation of a chondroid form of bone. *American journal of anatomy* 177 : 119-137,1986.
- 30) Huysseune, A. & Verraes, W. : Chondroid bone on the upper pharyngeal jaws and neurocranial base in the adult fish *Astatotilapia elegans*. *American journal of anatomy* 177 : 527-535,1986.
- 31) 秋元 あずさ、他 : 骨, 軟骨と軟骨様骨の形態的相違－光学顕微鏡的および電子顕微鏡的研究－. *昭和歯学会雑誌* 10 : 450-456,1990.
- 32) E.Fukada, I.Yasuda : On the piezoelectric effect of bone. *Journal of the Physical Society of Japan* 12 : 1158-1162,1957.
- 33) 保田岩夫 : 骨折治療に関する基礎的諸問題. *京都医学会雑誌* 4 : 395-406,1953.
- 34) 高橋元 : 微小電気刺激による骨再生促進効果の機序に関する研究. *日本補綴歯科学会雑誌* 42 : 479 - 509,1998.
- 35) 萩野浩、林原雅子、清水正人 : ビスホスホネートによる非定型大腿骨骨折. *臨床整形外科* 47 : 774-777,2012.
- 36) 川口浩 : 骨粗鬆症の薬物療法. *日本ペインクリニック学会誌* 22 : 17-26,2015.

Effects of electro-acupuncture stimulation on femoral structures and strength during immobilization in rats

NAKAI, Shingo
TAKAHASHI, Masato
OHSAKO, Masafumi

SUMMARY

Purpose of this study was to investigate an inhibitory effects of an acupuncture electricity stimulation on a bone atrophy that was caused by an inactive life.

Twenty-four male rats (wistar strain, 7-week-old) were used as materials, and they were divided into an immobilization group (IM), an immobilization and electro-acupuncture stimulation group (IMEA) and a control group (CO). Immobilization apparatuses were put on knee joints of rats in IM and IMEA. Acupunctures were inserted until a periosteum through skin, and an alternating current electro-acupuncture stimulations (250 μ sec, 50Hz, 0.24mA) were gave to femurs of rats of IMEA for 10min/day, every day, for two weeks.

Femurs were extracted from each group after the experimental period, and they were used for a histological observations and a measurements of bone strength. Images of active bone resorptions and enlargements of cross-section areas of blood vessel cavities were recognized at the area near the periosteal and endosteal face of a cortical bone. A periosteum of IMEA was thicker than CO and IM, and those tendencies was found remarkably at the anterior face of central and distal portions of the cortical bone. As compared the bone masses that was formed in each group, no differences was recognized between them. CO showed highest values and IM indicated lowest value in all parameters obtained by bone strength tests

Thus, the acupuncture electricity stimulations inhibited the bone resorption that was caused by the immobilization without increasing the bone mass. Then, it was suggested that the acupuncture electricity stimulations were effective for inhibition of decrease in the bone mass caused by immobilization.

Key words: acupuncture electricity stimulation, immobilization, inhibition of bone loss