

氏名	鬼頭 巧
学位の種類	博士(医療科学)
学位記番号	甲第7号
学位授与の日付	2019年3月10日
学位論文題名	Effect of shaking and vibration stimulation on lumbar vertebrae in ovariectomized mice 「卵巣摘出マウスの腰椎に対する振盪・振動刺激の影響」
指導教授	山田 晃 司
論文審査委員	主査 教授 金 田 嘉 清 副査 教授 櫻 井 宏 明 教授 松 井 太 衛

#### 論文内容の要旨

目的：骨粗鬆症は高齢者に多い疾患であり、骨折を誘発し易い状態である。骨折は日常生活活動に影響を及ぼし、生活の質を低下させる可能性があるため予防策の検討が必要である。骨粗鬆症に伴う骨折の好発部位には大腿骨頸部や腰椎椎体などがある。本研究では骨粗鬆症に伴う骨折の予防を目的とし新規刺激装置を作製した。新規刺激装置は振動刺激と振盪刺激の2種類の刺激を組み合わせたコンビネーション刺激装置である。振動刺激は筋力を維持することが可能な刺激であると考えられている。また、振盪刺激は水平板がずれることで姿勢を維持するために、全身性の筋肉が活動し転倒しないように“踏ん張る動作”を促すことで膝蓋腱反射を誘発し、持続的に筋収縮を促す等尺性収縮の状態を作り出す。これらのことより振動刺激と振盪刺激を組み合わせる事で、強制的な筋収縮とそれに伴う骨への直接的な刺激が骨密度低下の緩和に相乗的な効果をもたらすのではないかと考えた。本研究では骨密度低下モデルマウスを対象とし、新規刺激装置の効果の検討を行った。

材料と方法：マウスICR のメス9週齢に対して卵巣摘出術を施し、骨密度低下モデルを作成した。卵巣摘出後1週間順化させ、10週齢から新規刺激装置による刺激を行った。刺激を行った実験群は1日1回30分間の刺激を6日間連続で行い、1日休息するスケジュールで10週間継続して行った。刺激を行わない対照群は実験群と同一環境下で飼った。骨形態計測による解析を行うため骨のサンプル採取より96時間前にテトラサイクリンを、その48時間後にカルセインを皮下投与し骨の二重標識を行った。最終刺激後のマウスの腰椎を採取し、非脱灰薄切標本を作成し、骨形態計測法を用いて解析を行った。また、筋から分泌されるタンパク質の解析も同時に行った。

結果：類骨量(OV)、類骨面(OS)、類骨幅(O.Th)、類骨量(OV/BV)、骨石灰化速度(MAR)、組織を基準とした骨形成速度(BFR/TV)において対象群である刺激なし群に比べ刺激あり群が有意に高い値を示した(p<0.05)。骨芽細胞数(N.Ob) と骨梁数(Tb.N) は刺激あり群に

比べ刺激なし群で高い値を示す傾向が認められ (p=0.082、p=0.053)、骨梁間隙(Tb.Sp)は刺激あり群が刺激なし群に比べ低い値を示した (p=0.067)。また、大腿四頭筋におけるBMP-2、IL-1 $\beta$ 、MyoDなどの発現解析においても刺激あり群が刺激なし群に比べ有意に高い値を示した(p<0.05)。

考察：OV、OS、O.Th、OV/BVにおいて刺激あり群が刺激なし群に比べ高い値を示した。さらに、MAR、BFR/TVにおいて刺激あり群が刺激なし群に比べ有意に高い値を示した。これらのことから本研究に使用した刺激装置は、骨形成に必要である類骨の増加と同時に骨石灰化速度を促進し、刺激あり群で骨形成を促したことが推測された。N.ObとTb.N、Tb.Spの結果から骨量自体の増加が促されている傾向にあり、今後骨量の増加が行われる段階であることが推察された。また、BMP-2やIL-1 $\beta$ が刺激あり群で有意に高い値を示したことから骨代謝が現在進行形で活発に行われている可能性が示唆された。しかし、骨量(BV/TV)、骨量幅(Tb.Th)、骨梁数(Tb.N)の明らかな増加は認められなかった。このことから本研究では骨代謝は活発に促されるが、骨形成過程の途中段階に留まったと推察された。今回MyoDの発現は刺激あり群が刺激なし群に比べ有意に高い値を示した(p<0.05)。この結果から本刺激装置は、筋肥大を誘発するために筋収縮をさせる十分な刺激を行うことの出来る装置であると考えられた。本刺激装置は骨格筋の収縮を促し、骨への腱を介した物理的な直接刺激による骨形成を促進させている可能性が推測された。

結論：本刺激装置は骨密度低下モデルマウスに対して骨形成を促進させ骨密度の低下を予防できる可能性が示唆された。また、今後本装置をヒトへの発展、応用を考えた際、受動的刺激であり呼吸器や循環器への負荷が一般的な筋力強化などに比べ少なく、身体的障害などがあっても適応できると考えられ、将来的な可能性があると考えられた。

#### 論文審査結果の要旨

被審査者である鬼頭巧君に対し、主査および2名の副査から論文内容について質問があった。本研究は、骨粗鬆症に伴う骨折の予防を目的とし新規刺激装置を作製し、骨密度低下モデルマウスを対象に行われ、骨代謝の低下した状態に対して骨代謝の低下予防と促進に効果を得た研究であった。最終試験において、十分な方法の説明、結果の表示方法などについて、それぞれ根拠を含めて回答し、審査員が概ね了解できる内容であった。また、本研究は、新規性があり、妥当な方法を用いて検討されており、本専攻の博士論文として認められる内容であった。したがって、同君は博士(医療科学)を受けるに十分な能力があると考える。