

氏 名（本籍） ^さ笹 ^{じま}島 ^{こう}功 ^{いち}一

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 4 9 4 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 2 月 2 4 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 6 0 年 3 月 2 2 日
弘前大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 Dual Energy X-ray Absorptiometry 法による
ラット脛骨の成長期および骨萎縮時における骨密
度変化の研究

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 桜 井 実 教 授 坂 本 澄 彦

教 授 半 田 康 延

論文内容要旨

目 的

最近、優れた再現性で非侵襲的に骨量を測定できる Dual Energy X-ray absorptiometry (DEXA) を用いた骨代謝の実験が in vivo で行われるようになった。特にラット脛骨は取扱いが容易で DEXA の測定部位として有用と考えられ、その報告も散見されるようになった。しかし測定部位に関してはいまだ一定の見解が得られていない。そこで本研究では成長期および実験的廃用性骨萎縮に関して、DEXA の測定部位（関心領域）を脛骨全体、海綿骨部分を多く含む脛骨近位部、および皮質骨が優位な脛骨中央部に設定し、それぞれにおいて骨量の変動が最も鋭敏に出現する部位を検討した。

方 法

1. ラット脛骨全長に対する近位海綿骨部分の長さの比の検討：関心領域の決定

Wistar 系雌ラット15匹30肢の脛骨を用いた。摘出脛骨をレントゲンで撮影し、その画像を計測して脛骨全長に対する膝関節面から海綿骨部の遠位端までの長さの比を求め、海綿骨を含む脛骨近位部の関心領域を決定した。

2. 脛骨各関心領域の再現性の検討

脛骨全体、近位部、中央部の DEXA 測定値の再現性を検討した。前述した摘出脛骨の5肢を無作為に選び、DEXA を用いてそれぞれ5回ずつ関心領域別に骨密度を測定しその再現性を変動係数によって検討した。

3. 成長に伴う骨量の測定と組織学的観察

Wistar 系雌ラット4, 7, 12カ月齢の各5匹、計30肢の摘出脛骨を DEXA で測定した。脛骨全体、近位部、中央部の骨密度を関心領域別に測定し、4～7カ月齢間と7～12カ月齢間の骨密度増加率を求めた。また脛骨を摘出する1週間前にテトラサイクリンのラベリングを行なった。摘出脛骨から非脱灰標本を作成し蛍光顕微鏡で観察した。

4. 実験的骨粗鬆症による骨量の測定と組織学的観察

Wistar 系雌8カ月齢ラット13匹に右坐骨神経切断を行なった。右脛骨を骨粗鬆症モデルとし、左脛骨を対照とした。坐骨神経切断前と術後1週間毎に10週まで DEXA で脛骨全体、近位部、中央部の関心領域別に骨密度を測定した。各関心領域別の骨量の推移を、左右骨密度比（右脛骨骨密度/左脛骨骨密度×100%）の変化として検討した。一部のラットに対して実験前と10週後の実験終了時にテトラサイクリンを腹腔内注射してダブルラベリングを行なった。摘出脛骨から非

脱灰標本を作成し蛍光顕微鏡で観察した。

結 果

1. ラット脛骨全長に対する近位海綿骨部分の長さの比の検討

脛骨全長に対する近位海綿骨部分の比は平均0.19であり膝関節面から海綿骨部の遠位端までがほぼ脛骨近位1/5までに含まれることを確認した。これにより脛骨近位部の関心領域を脛骨近位1/5とし、中央部の関心領域も中央1/5を測定することとした。

2. 脛骨各関心領域の再現性の検討

脛骨全体、近位1/5及び中央1/5の変動係数は1.9, 2.4及び2.7%であり優れた再現性を示した。以上より脛骨全体、近位1/5、中央1/5の関心領域がDEXA測定において妥当な再現性を有することを確認した。

3. 成長に伴う骨量の変化

4～7カ月齢間と7～12カ月齢間の骨密度増加率を脛骨全体、近位1/5、中央1/5と関心領域別に比較すると、4～7カ月齢間で、それぞれ平均17.6, 25.9, 17.8%, 7～12カ月齢間で11.4, 12.3, 11.5%であった。4～7カ月齢間の近位1/5の骨密度増加率が他の部位と比較して有意に高い増加率であった ($p < 0.05$)。蛍光顕微鏡の観察では4カ月齢の脛骨近位部において最もテトラサイクリンのラベリングが顕著で骨形成が盛んであることが推定された。

4. 実験的骨粗鬆症モデルによる骨量の変化

左右骨密度比は脛骨全体が術後5週で94.7%, 近位1/5が術後3週で93.0%, 中央1/5が術後6週で97.5%と有意に減少した (それぞれ, $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.01$)。蛍光顕微鏡の所見はダブルラベリングの部位とその間隔に関して左右差はあきらかでなく、骨形成は左右同等と推定された。

考 察 と 結 論

DEXAによるin vivoの実験の利点は同一個体を経時的に測定することで実験の精度を高め、また実験動物の数を侵襲的方法と比較して大幅に減らし得る点である。DEXAを用いた本実験によって従来侵襲的方法で測定されてきたラットの成長と廃用性骨萎縮による骨量の増減が捉えられた。特に海綿骨が豊富で血流量も多いとされる脛骨近位1/5の関心領域で骨量の変動が最も鋭敏であった。さらにDEXAによる骨量測定と組織学的手法を相互に利用した新たな骨代謝実験の可能性が示唆された。

審査結果の要旨

近年、高齢者の骨組織の萎縮による骨折の多発や変形などが治療上の問題になりつつある。カルシウムを含む骨組織の正確な定量化と、診断や治療効果の判定に如何なる方法を用いるかの研究が急速に進歩して来た。その中で1988年以来導入されている Dual Energy X-ray absorptiometry (DEXA) は非侵襲的且つ良好な再現性をもって骨量を測定出来ることから臨床分野で普及しつつある。

一般に骨組織は構築学的に皮質骨と海綿骨から構成されており、骨代謝の変動に差異が生ずると推察されるが、詳細な検討は行なわれていない。この点を解明する目的で著者は従来からよく用いられているラットの脛骨を測定の対象として詳細な研究計画を立てた。即ちウイスター系の雌のラットを4か月齢以降12か月齢迄、30の脛骨を通常のレントゲン写真で計測した後、その形態学的な特長と対比してDEXAによる計測値の再現性を検討した。その結果、再現性は脛骨全体で1.9%と極めて優れたものである事が確認され、その基本的条件に基づいて成長に伴う骨量の変化と形態学的変化の対比を行なった。その結果骨密度の増加率は脛骨全体で4～7か月齢の間で平均17.6%、近位5分の1の部分で25.9%、中央5分の1で17.8%の値である事が確認された。その後の成長期の7～12か月齢では増加率はやや減少し平均で11.4%となった。この事実から成長期においては脛骨近位5分の1の海綿骨の豊富な部分で骨組織の成長が盛んであることが示唆された。これは同時にテトラサイクリングラベリン法で骨量密度の増加と骨成長の様相からも裏付けられる結果であった。

次に、骨粗鬆症のモデルとして坐骨神経を一側の下肢で切断し廃用性運動障害に伴う骨密度の減少を定期的に検索した。8か月齢ラット13匹に手術を施し、1週間毎に10週迄連続してDEXAによる骨密度の計測を行なった結果、近位5分の1の部分で2週後には89.3%と減少し、歩行能力が減退したために非手術側も97.9%に減少したがその差は $p < 0.05$ で有意差が確認された。非手術側と対比した骨密度の比率は海綿骨の多い近位が3週後で93.0%に対し、皮質骨の優位な中央部分の位置は97.5%と有意の差を示した。このように骨萎縮が進行する過程で代謝回転が早いといわれる海綿骨は著明に骨密度が減少して行くことがDEXA並びにテトラサイクリングラベリン法によって確認された。

これらの情報は、骨粗鬆症を含む骨代謝疾患においてDEXAによる測定部位、即ち関心領域は長管骨においては特に海綿骨の豊富な骨幹端部に設定すべき事を示唆する極めて重要な研究結果である。特に非侵襲的なDEXAの繁用されつつある現今において経時的に骨の成長並びに骨萎縮に陥る時間的経過を詳細に検討した点は極めて優れたもので、十分学位に相応しい論文と見做し得る。