

着地時の遠心性収縮が発育期ラットの骨構造に及ぼす影響

内野智貴¹⁾ 南園 航²⁾ 八嶋奈央³⁾ 水藤飛来²⁾ 柏崎保昌³⁾
眞鍋和親³⁾ 森山伸一³⁾ 中井真悟^{3, 4)}

1)日本鍼灸理療専門学校 2)東洋大学大学院ライフデザイン研究科
3)常葉大学健康プロデュース学部 4)東洋大学ライフイノベーション研究所

Effect of Efferent Contraction of Landing motion on Bone Structure in Growing Rat.

Tomoki UCHINO¹⁾, Wataru MINAMIZONO²⁾, Nao YASHIMA³⁾, Hirai SUITOU²⁾
Yasuaki KASHIWASAKI³⁾, Kazuchika MANABE³⁾, Shinichi MORIYAMA³⁾
and Shingo NAKAI^{3, 4)}

- 1) The Japan School of Acupuncture, Moxibustion and Physiotherapy.
- 2) Graduate School of Human Life Design, Toyo University.
- 3) Faculty of Health Promotional Sciences, Tokoha University.
- 4) Institute of Life Innovation Studies, Toyo University.

要 旨

本研究は緩衝動作による遠心性収縮を反復させ、下肢骨に及ぼす影響について形態学的な変化を観察することを目的とした。材料として7週齢のウィスター系雄性ラットを20匹用い、それらを通常飼育する群(CO)と緩衝動作を100回させる群(EX)に大別し、1週間飼育した群をCO1, EX1とし、2週間飼育した群をCO2, EX2とした。COは発育に伴って、長骨の中央部の前後および内外径が増大した。EXも経時的に前後径、内外径が増したが、特に内外径で顕著であった。骨小腔はEX1, 2ともに狭小化し、骨幹部よりも骨端部で著明であった。着地時の遠心性収縮によって生じた長骨腱附着部の牽引力が骨基質の発達を促し、そのような変化は経時的に増加することが示された。

キーワード：接地動作、腱附着部、皮質骨

Abstract

The purpose of this study was to examine morphological changes to investigate how repeated eccentric contractions with impact-attenuating movements affect bones of the lower limbs. Twenty male Wistar rats at seven weeks old were divided into two major groups: a control (CO) group which was raised conventionally and an experiment (EX) group which performed impact-attenuating movements 100 times. These groups were then subdivided into groups raised under the control and experimental conditions for one week (CO1 and EX1 groups, respectively) and those raised under these conditions for two weeks (CO2 and EX2 groups). As the rats in the CO groups grew, the diameters proximal and distal to the long bone diaphysis and the long bone inner and outer diameters became larger. The rats in the EX groups also had these diameters enlarge over time, and the increases in inner and outer diameters were particularly marked. Both EX1 and EX2 groups showed narrowing of lacunae which was more marked in the epiphysis than diaphysis. Our results show that eccentric contractions during landing promoted bone matrix development due to traction force at tendon entheses of the long bone and indicate that such changes increase over time.

Keywords : landing motion, tendon attachment, cortical bone

1. 緒 言

わが国では、2007年に日本整形外科学会によってロコモティブシンドロームの概念が提唱された¹⁾。本症は運動器障害による移動機能が低下した状態であり、転倒リスクが高まるため、その予防法が求められている²⁾。転倒予防には平衡性の維持が重要であり、さらには転倒による骨折の予防には骨強度の維持も必須である。特に、後者は若年期の運動習慣が肝要であることが知られている^{1,2)}。これは若年期に骨量の高原相を引き上げることによって、退行性の骨量減少を遅滞化させることを示している。以上の背景から実験動物を用いた報告は多く^{3,9)}、跳躍運動などの運動負荷による筋からの張力は骨量維持に寄与することが示されている。これらはいずれも跳躍運動が骨に及ぼす影響について報告したものであり、跳躍時の能動的動作と着地時の他動的動作に大別した報告ではない。

本実験では発育期ラットを用い、跳躍後の受動的な緩衝動作を反復させることによって、接地時の遠心性収縮が発育期の下肢長骨に与える影響を経時的に観察して比較、検討することを目的とした。

2. 材料および方法

2.1 実験動物

7週齢のウィスター系雄性ラットを20匹用い、それらを通常飼育する群(CO)と落下時に緩衝動作をさせる群(EX)に大別し、さらに飼育期間によって後述する5群に分類した。7週齢(CO0)のラットを1週間飼育した群はそれぞれCO1, EX1とし、2週間飼育した群はそれぞれCO2, EX2とした。

2.2 落下条件

EXは落下による足底の損傷を予防するため、サーフェスを木材とした枠と、50cmの筒をガイドとして用い、実験期間中は毎日100回の緩衝動作をさせた(図1)。落下の際は、後肢から確実に接地させて緩衝動作を反復した。

2.3 標本の摘出方法

実験期間終了後、イソフルランの過剰投与による安楽死を確認した。その後、筋や神経、結合組織などの軟部組織を除去し、下肢骨を摘出した。右脚は膝関節を摘出し、左脚は大腿骨と脛骨を分割して摘出した。なお、大腿骨は大転子尖から外側顆までの長さ、脛骨は近位外側顆から外果までの長さをノギスにて計測して全長を求め、その中間点を骨幹部、大腿骨遠位1/3部と脛骨近位1/3部を骨幹部の観察部位とした(図2)。

2.4 組織学的標本の作製と観察

摘出した標本は、4%パラホルムアルデヒド溶液に浸漬固定した(4°C, Over night)。浸漬固定された非脱灰標本は通法に従い³⁾、真空下にて脱水を行った。その後、アセトンによる透徹およびゴラック樹脂の浸透を行って、矢状断標本および水平断標本の非脱灰樹脂包埋標本作製し、150 μ mの厚さになるまで研磨した。さらに、観察面を酸腐蝕(0.1N塩酸に30秒浸漬)し、トルイジンブルー染色を施した。作製した標本は光学顕微鏡で観察を行った。

2.5 計測方法

通法に従い³⁾、水平断標本の内外径の最大長を計測し、その中点上の垂線を前後径とした(図3)。さらに、骨小腔の面積を求めるため、矢状断標本を用いて骨幹および骨幹端部の骨小腔を最大から10カ所計測した。それらの平均値を1個体の数値とし、各群の平均値を求めた。また、水平断標本の内外径および前後径の相対値を求めた。

2.6 統計処理

本研究で得られたデータは、「CO1 vs. EX1」および「CO2 vs. EX2」の対応のないt-testを行った。危険率は5%未満を有意とした。

3. 結 果

3.1 骨形態計測

大腿骨の内外径(mm)はCO0:3.27 \pm 0.12, CO1:3.28 \pm 0.06, CO2:3.35 \pm 0.03, EX1:3.26 \pm 0.18, EX2:3.46 \pm 0.08を示し、前後径(mm)はCO0:2.61 \pm 0.08, CO1:2.67 \pm 0.03, CO2:2.65 \pm 0.01, EX1:2.61 \pm 0.15, EX2:2.67 \pm 0.19であった。一方、内外径はCOに比べEXでは高値を示し、前後径には差を認めなかった。脛骨の内外径(mm)はCO0:2.10 \pm 0.13, CO1:2.25 \pm 0.24, CO2:2.32 \pm 0.13, EX1:2.05 \pm 0.04, EX2:2.19 \pm 0.05であり、前後径(mm)はCO0:2.02 \pm 0.09, CO1:2.11 \pm 0.16, CO2:2.06 \pm 0.11, EX1:2.00 \pm 0.07, EX2:2.01 \pm 0.05であった。いずれのパラメータも有意差はみられなかったが、COに比べてEXで低値を示した。

3.2 二次パラメータ

相対値は大腿骨がCO0:0.80, CO1:0.81, CO2:0.79, EX1:0.80, EX2:0.77であった。いずれのパラメータもCOに比べ、EXが低値であった。脛骨は、CO0:0.96, CO1:0.94, CO2:0.89, EX1:0.98, EX2:0.92いずれのパラメータもCOに比べてEXで高値を示した。

3.3 骨小腔の面積

大腿骨の骨幹部の骨小腔 (μm^2) は CO0: 85.77 ± 8.05 , CO1: 83.24 ± 3.71 , CO2: 81.93 ± 11.48 , EX1: 79.31 ± 5.65 , EX2: 80.76 ± 5.33 を示し, 骨幹端部では CO0: 82.76 ± 6.62 , CO1: 82.23 ± 4.27 , CO2: 80.24 ± 4.89 , EX1: 78.87 ± 2.41 , EX2: 76.87 ± 1.21 であった. 脛骨の骨幹部の骨小腔 (μm^2) では CO0: 85.99 ± 10.98 , CO1: 88.55 ± 2.09 , CO2: 83.18 ± 4.96 , EX1: 83.10 ± 3.78 , EX2: 81.44 ± 7.06 であり, 骨幹端部では CO0: 89.72 ± 8.69 , CO1: 87.96 ± 2.75 , CO2: 87.56 ± 4.74 , EX1: 79.61 ± 9.04 , EX2: 77.02 ± 4.61 であった. 脛骨の骨幹部では有意に低い値を示した (図4).

3.4 皮質骨の組織像

水平断された大腿骨および脛骨の骨幹部は発育に伴って皮質骨が厚くなっていた. EX は CO に比べて大腿骨では外側部, 脛骨では前内側部に突出していた (図5). いずれも EX2 で顕著であった. さらに, 大腿骨外側部における石灰化軟骨基質周囲の骨基質の厚さは CO1 と CO2 に差を認めなかったが, CO1 より EX1, および CO2 より EX2 で厚くなっていた (図6). 大腿骨矢状断切片の CO2 と EX2 の骨幹部では皮質骨内の構造に差を認めなかったが, 骨幹端部では血管腔数が減少し皮質骨内が緻密であった (図7). 一方, 脛骨では骨幹端部, 骨幹部ともに CO2 よりも EX2 で緻密であった (図8).

4. 考 察

要介護状態の前段階であるとされるロコモティブシンドロームだが, その予防として若年期の運動が健康寿命延伸に寄与するとされている¹⁾. このことから, 先行研究では発育期ラットを用いて能動的動作が骨構造に及ぼす影響について報告されている^{4,7)}. 西本ら⁴⁾は発育期ラットに対して跳躍運動を反復させ, 骨梁の増加に筋からの牽引力が関わっていることを報告している. また, 尾淵ら⁵⁾は跳躍運動の負荷回数に依存して骨吸収が抑制されることを示した. 本研究では跳躍運動を分解し, 緩衝動作が骨に及ぼす影響について比較, 検討することを目的とした.

骨の強度には石灰化度やコラーゲンの密度などにより硬さとしなやかさの異なる骨基質が関与していることが知られている³⁾. そのため, 発育期ラットの皮質骨はしなやかさを維持し, 硬さを増加させることで骨の強度を高めると報告されている^{3,9)}. また, 大腿骨は成長にしたがって中央部では同心円状に骨添加および骨吸収がされ, さらに石灰化軟骨梁を芯として骨が添加されている. 一方, 脛骨では前内方に移動するように骨添加と骨吸収が行われ棒状から S 字状に変化する⁹⁾. 本実験では大腿骨の内外径が CO と比べて EX で高値を示した. しかし, 前後径には差を認めなかった. 大腿骨骨幹部の外側には腱が

付着しており, その牽引力により層板様の構造がみられる領域に骨形成が促進され, 外側凸の変化を示したことが考えられる. 脛骨の内外径および前後径は CO と比べて EX で低値を示した. 脛骨の前内側部には腱が付着しており, 運動によって牽引され前内側部の骨形成が促進されたと推測される. このことから遠心性収縮による腱の牽引力が骨の横径の増大に関わっていることが推測される. 成長期はこの骨形成が顕著に現れる時期であり, この時期の運動は骨量の高原相を高めることにつながると考える.

長骨の骨幹部断面の内外径および前後径を求め, それをもとに相対値を求めた. 大腿骨の内外径および前後径の相対値は CO に比べ, EX が低値であった. 一方, 脛骨の相対値は, CO よりも EX で高値を示した. 本実験では緩衝動作の反復が皮質骨の骨形成を促進させた. これは緩衝動作によって生じる腱付着部の遠心性の収縮によると考えられる. 相対値は 1 に近づくことで円形になることを示しているため, 円形に近い形から楕円形に近づいたことを示す. これは大腿骨外側の腱付着部の牽引力が, 外側部を突出させたと考えられる. また, 脛骨では相対値が増加し前方凸の二等辺三角形に近づいたことを示した.

骨小腔内に存在する骨細胞は骨芽細胞に情報伝達を行い, 骨形成と骨吸収を調整する役割を担う. 高橋らはメカニカルストレスの増加によって骨芽細胞の分化が促進し, 骨形成が活性化されると報告している¹¹⁾. 本研究では緩衝動作によって骨小腔が狭小化していた. このことから骨芽細胞が活性化されて骨の溶出を抑制したことが示唆された. 骨は成長するにしたがって, 骨幹端部から骨幹部, すなわち海綿質から緻密質に移行する. 大腿骨では骨幹部に比べ, 骨幹端部で狭小化傾向が顕著にみられた. これは, 着地時に生じるメカニカルストレスが脛骨を伝わり, 大腿骨では遠位端部に限局するため骨幹端部で狭小化傾向が顕著に表れたと推測する. 一方, 脛骨では着地時に直接脛骨全体へメカニカルストレスが作用するため全体的に骨小腔が狭小化したと考える.

長管骨では, 骨幹端部と骨幹部で骨基質の構造が異なっている⁸⁾. 骨幹端部では内側のみ層板骨が形成されるため 2 層構造になっているが¹²⁾, それが骨幹部に成長するにしたがって外側にも層板骨が形成され 3 層構造となる^{3,8)}. 中心には石灰化軟骨基質や分化度の低い骨基質が存在し時間依存的に石灰化度が高まっている³⁾. 中井ら¹⁰⁾は大腿骨前面に付着する大腿四頭筋腱は骨表面に対して平行に近い角度で緩く付着しているのに対し, 後面から外面に付着する内転筋群の腱線維は垂直に近い角度で付着し, 骨膜が厚くなっていることを報告している. 骨表面に対して垂直に付着する部位では, 筋肉の収縮によって加わる骨への牽引力が大きいと考えられる.

大腿骨および脛骨の骨幹部を水平断した切片を観察すると, 発育に伴って皮質骨が厚くなった. 大腿骨では

EX が CO に比べて腱付着部である外側部に突出し、脛骨では前内側部の皮質骨が突出していた。いずれも EX2 で顕著であった。さらに、大腿骨外側部における石灰化軟骨基質周囲の皮質骨の厚さは CO1 と CO2 に差を認めなかったが、CO1 より EX1、および CO2 より EX2 で厚くなっていた。これは第三転子後面に付着している内転筋群による牽引力が CO よりも EX の方が大きいためであると推測される。脛骨では前方に腱が付着し、その腱の牽引力により大腿骨同様に突出したと考えられる。発育期に適刺激を加えることで骨形成が促進され、その運動に適応した骨が形成されることが示唆された。

大腿骨矢状断切片を観察すると、CO2 と EX2 の骨幹部では差を認めなかったが、骨幹端部では血管腔の減少および骨小腔の狭小化によって皮質骨内の構造が緻密化していた。一方、脛骨では骨幹端部、骨幹部ともに CO2 に比べて EX2 で緻密化していた。これは適刺激の運動を反復することで骨形成が促進され、CO で存在していた血管腔数が EX で減少して緻密化したことを示す。このことは、成長期の適刺激は骨形成を促進して骨強度にも影響することを示している。

5. 結 語

着地時の遠心性収縮による牽引力は皮質骨腱付着部の発達や骨小腔の狭小化を促し、このことは経時的に増加することが示唆された。

6. 倫理審査

本研究は常葉大学動物実験委員会の審査により承認された (第 2019-A27)。

7. 謝 辞

本論文を執筆するにあたり、ご助言を下さいました常葉大学健康プロデュース学部健康柔道整復学科の教員の先生方には厚く御礼申し上げます。また、研究活動の苦楽を共に過ごした正田凌也氏、鈴木光星氏には感謝いたします。このように、多くの方々に支えられて本論文を執筆させていただきましたことを心より感謝申し上げます。

8. 引用文献

- 1) 日本整形外科学会：ロコモパンフレット 2015 年度。
- 2) 日本骨粗鬆症学会：予防と治療ガイドライン, 2015。
- 3) 中井真悟, 他：発育期ラット大腿骨の構造と骨強度の変化に関する研究, 柔道整復接骨医学 27：69-75, 2018。
- 4) 西本哲也, 他：発育期ラットにおける筋付着部の骨構造に及ぼすメカニカルストレスの影響. 東洋大学ライフデザイン学研究 9：333-347, 2013。
- 5) 尾淵紀之,：ラット脛骨海綿骨の構造に及ぼす異なる強度の運動負荷の影響. 東洋大学ライフデザイン学研究 6：73-84, 2010。
- 6) 勝田茂, 他：運動強度の違いがラットの骨成長に及ぼす影響. 筑波大学体育学研究 36：39-51, 1991。
- 7) 長澤省吾, 他：ラットのジャンプトレーニングにおけるジャンプ時の床反力と骨強度および骨重量との関係. 中京大学体育学論叢 42：27-31, 2001。
- 8) 中井真悟, 他：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。
- 9) 守田剛, 他：発育期に伴うラット脛骨の形態変化ならびにリモデリングに関する研究. ライフデザイン学研究 6：197-209, 2010。
- 10) 中井真悟, 他：異なる非加重条件によるラット大腿骨の骨量減少に対する鍼通電刺激の影響. 東洋大学大学院紀要 53：213-230, 2016。
- 11) 高橋将人, 他：発育期ラット脛骨における短期間不動後の運動刺激が骨形成に及ぼす影響. ライフデザイン学研究 8：161-175, 2012。
- 12) 南園航, 他：発育に伴うラット大腿骨遠位骨幹端部の骨折線の形状変化と骨構造との関連性. 常葉大学健康プロデュース学部雑誌 14：141-144, 2019。

9. 図・表および図表の説明文

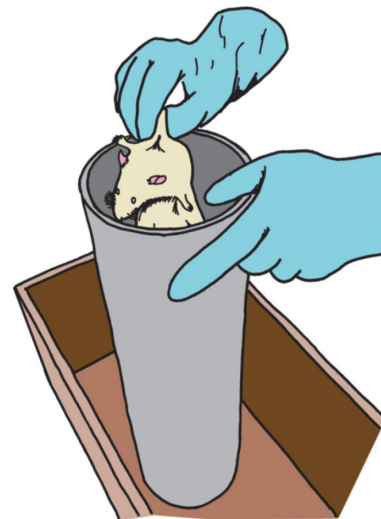


図 1. 実験プロトコル

落下による足底の損傷を予防するため、50cm の筒をガイドとして使い、サーフェスを木材とした。実験期間中は毎日 100 回の緩衝動作をさせ、後肢から確実に接地させて緩衝動作を回復した。

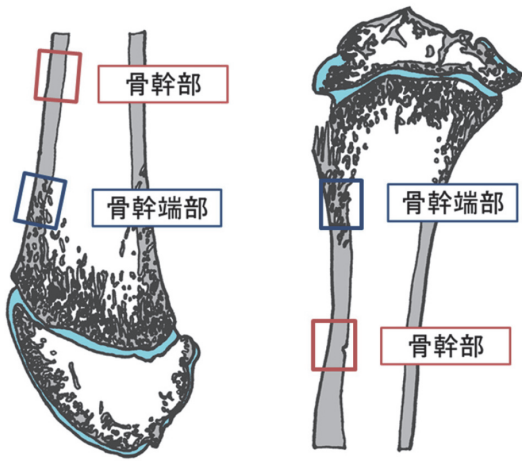


図2. 観察部位(左:大腿骨, 右:脛骨)

大腿骨は大転子尖から外側顆までの長さ, 脛骨は近位外側顆から外果までの長さをノギスにて計測して全長を求め, その中間点を骨幹部, 大腿骨遠位 1/3 部と脛骨付近 1/3 部を骨幹端部の観察部位とした。

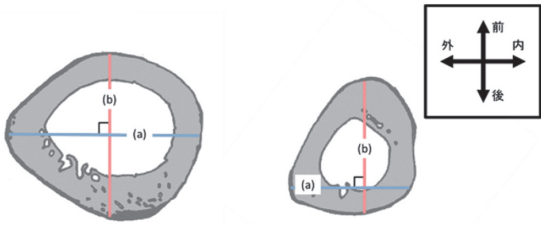


図3. 計測方法

a: 内外径 最大長

b: 前後径 内外径の midpoint と直交する線

水平断標本の内外径の最大長を計測し, その midpoint 上の垂線を前後径とした。

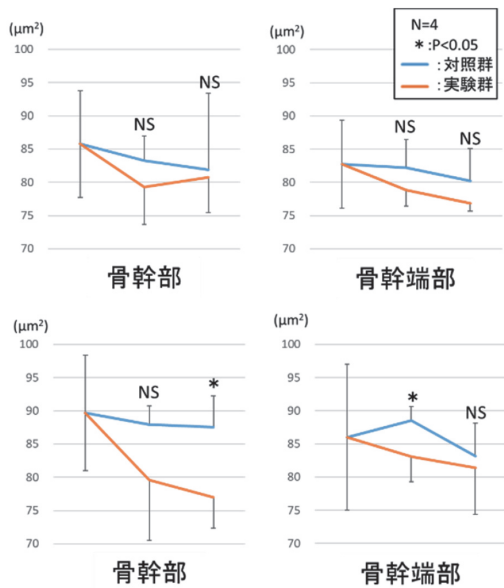


図4. 長骨骨幹部における骨小腔の大きさ (上段: 大腿骨, 下段: 脛骨)

長骨骨幹部の骨小腔は発育に伴って狭小化するが, その傾向は実験群で顕著であった。脛骨の骨幹部では有意に低い値を示した。

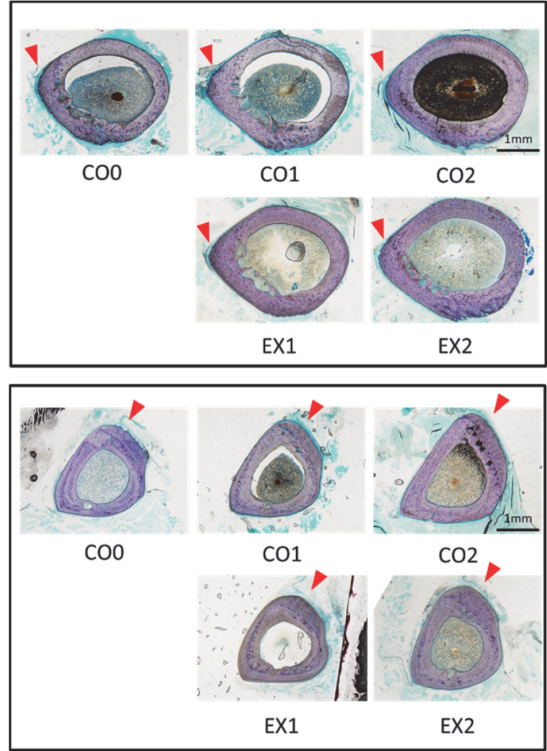


図5. 長骨骨幹部の弱拡大像

(上段: 大腿骨, 下段: 脛骨, 赤矢頭: 突出部)

EX は CO に比べて大腿骨では外側部, 脛骨では前内側部に突出していた。

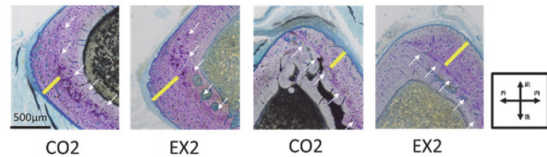


図6. 脛付着部の拡大像

(左: 大腿骨, 右: 脛骨, 白矢印: 石灰化軟骨基質の内側縁, 黄線: 石灰化軟骨基質周囲に付加された骨基質)

大腿骨外側部における石灰化軟骨基質周囲の骨基質は CO2 より EX2 で厚くなっていた。

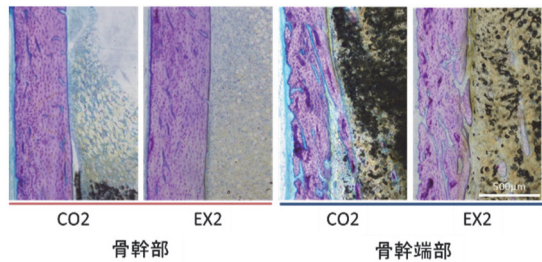


図7. 大腿骨の拡大像

皮質骨内の構造に差を認めなかったが, 骨幹端部では血管腔数が減少し皮質骨内が緻密であった。

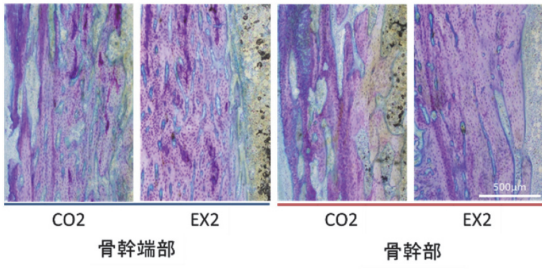


図 8. 脛骨の拡大像

骨幹端部, 骨幹部ともに CO2 よりも EX2 で緻密であった.