

## 異なる頻度の緩衝動作がラット膝関節の構造に及ぼす影響

藤城 楓<sup>1)</sup> 中井真悟<sup>1,2)</sup>

1) 常葉大学健康プロデュース学部 2) 東洋大学ライフイノベーション研究所

## Effect of Different Frequent Landing Motions on the Structure of the Knee Joint in Rats

Kaede FUJISHIRO<sup>1)</sup> and Shingo NAKAI<sup>1,2)</sup>

1) Faculty of Health Promotional Sciences, Tokoha University.

2) Institute of Life Innovation Studies, Toyo University.

### 要 旨

本研究ではラットに緩衝動作を反復させ、膝関節周囲に生じた構造の変化を観察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12匹を実験群(EX)と対照群(CO)に大別し、さらにEXを100回落下させた群(EX1)、200回落下させた群(EX2)に分類して2週間の実験を行った。大腿骨および脛骨骨端部の中・後部に骨梁構造が占める割合は、EXで高値となり関節軟骨の構造も明瞭となった。骨端軟骨の厚さには有意な差を認めなかったが、EXでは頻度依存的に肥大細胞層の肥厚を認めた。また、EX1では骨梁間隙が減少し、EX2は骨梁幅が高値となった。緩衝動作は、膝関節の中・後部に影響を及ぼすことが示された。

**キーワード**：膝関節、発育期ラット、緩衝動作

### Abstract

The purpose of this study was to observe the structural changes that occurred around the knee joint by making rats perform repetitive landing motion. Twelve 7-week-old male Wistar rats were divided into two groups: an experimental group (EX) and a control group (CO). EX was classified into groups of 100 times (EX1) and 200 times (EX2) for a 2-week experiment. The proportion of the epiphyseal structure in the mid and posterior portions of the femur and tibia was higher in EX, and the articular cartilage structure was clearer. The thickness of the epiphyseal cartilage was not significantly different, but the hypertrophic cell layer thickened in EX in a frequency-dependent manner. In addition, the interosseous gap was reduced in EX1, and the interosseous width was high in EX2. The landing motion was shown to affect the middle and posterior portions of the knee joint.

**Keywords** : knee joint, growing rat, landing motion

## 1. 緒 言

骨脆弱化の予防として、トレッドミル走や跳躍運動などの能動的動作が下肢骨骨端軟骨直下の骨梁構造に影響を及ぼすことが報告されている<sup>1)</sup>。しかし、緩衝動作などの受動的動作による影響については報告が多くない。よって本研究ではラットに着地時の緩衝動作を反復させ、膝関節周囲に生じた構造の変化を観察することを目的とした。

## 2. 材料および方法

### 2.1 実験動物

本研究では、7週齢のウィスター系雄性ラット12匹を用い、実験群(EX)と対称群(CO)に大別し、さらにEXを100回落下させた群(EX1)、200回落下させた群(EX2)に分類した。

### 2.2 実験条件

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、緩衝動作をさせた。実験期間を2週間とした。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<sup>2)</sup>(図1)。



図1 落下の様子(文献2より引用)

### 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、筋や神経、結合組織などの軟部組織を除去し、下肢骨を摘出した後、歯科用ハンドモーターにて両顆部を矢状方向に割断し、速やかに4%パラホルムアルデヒド溶液(4%PFA)に浸漬固定を行った(4°C, Over night)。

### 2.4 組織学的標本の作製と観察

4%PFAで固定した標本は流水水洗(1~3時間)した後、通法<sup>3)</sup>に従って脱水透徹を行った。その後、リゴラック樹脂へ包埋・加温重合によって非脱灰樹脂包埋研磨標本(以下、樹脂標本)を作製した。完成したブロックはバンドソーにて小さくトリミングし、砥石および3段階のラッピングフィルムにて最終的に約150 $\mu$ mの厚さになるまで

研磨した。観察面は大腿骨遠位部および脛骨近位部の内外中央部とし、その面に酸腐蝕を行い、トルイジンブルー染色を施して光学顕微鏡にて観察した。

### 2.5 骨形態計測

八嶋らの手法<sup>4)</sup>に従って計測を行った。骨端軟骨の前端と後端を結ぶ線を三等分し、垂線を引いて、それぞれ前部、中部、後部の3領域に大別した。各領域の面積と領域内の骨梁構造の面積をそれぞれ計測し、骨端部に骨梁構造が占める割合を求めた(図2)。さらに、骨端軟骨およびその直下の一次海綿骨の厚さ、また二次海綿骨の骨梁幅、骨梁間隙、骨梁数を計測した。これらは中部を計測部位とした。

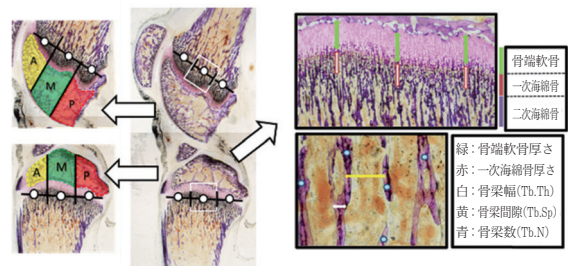


図2 骨端部と骨幹板直下の計測部位  
(文献4より引用)

A:前部 M:中部 P:後部

### 2.6 観察部位

観察部位は、大腿骨および脛骨における骨端軟骨とその直下の一次海綿骨、関節軟骨とした。なお、内外中央部である脛骨顆間隆起部には関節軟骨が存在していないことから、大腿骨のみを観察した。

### 2.7 統計処理

本研究で得られたデータによって平均値と標準偏差を求め、各パラメータの一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合はTurkey-HSD法によって各群間で多重比較を行った。棄却率は5%水準未満を有意とした。

## 3. 結 果

### 3.1 骨形態計測

大腿骨および脛骨の骨端部に海綿骨が占める割合は、いずれのパラメータも落下頻度に比例して高値を示し、中・後部で顕著であった(図3)。

骨端軟骨の厚さは、有意な差を認めなかった。一次海綿骨の厚さも大腿骨では有意差を認めなかったが、脛骨ではCOに比べてEX2が有意に高値となった(図4)。

二次海綿骨の骨梁幅は大腿骨においてEX2が最も高く、骨梁間隙では大腿骨・脛骨ともCOよりEX1,2が低値であった。また、骨梁数は大腿骨・脛骨ともEX1が高い値を示した(図5)。

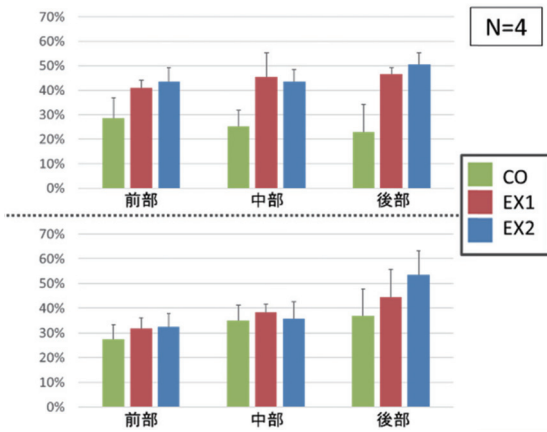


図3 大腿骨(上段)および脛骨(下段)骨端部に海綿構造が占める割合

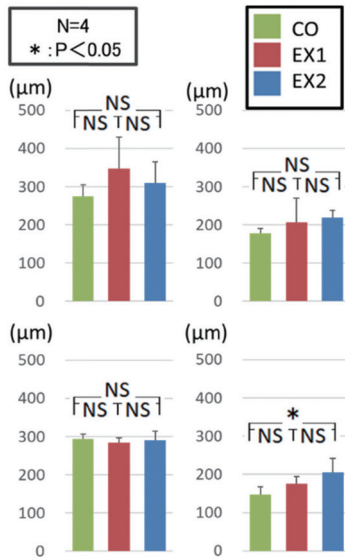


図4 骨端軟骨(上段)と一次海綿骨(下段)の厚さ

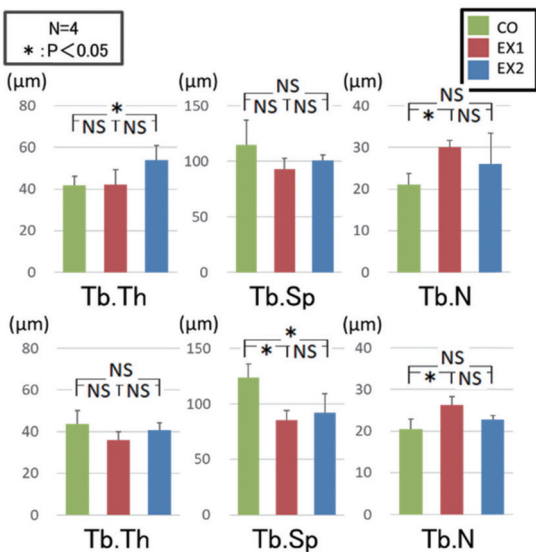


図5 二次海面骨の計測パラメータ(上段:大腿骨)と(下段:脛骨)

### 3.2 組織学的所見

大腿骨および脛骨の骨端軟骨の厚さには差を認めなかったが、軟骨細胞柱の層を区分して観察すると頻度依存的に肥大細胞層が肥厚していた。さらに、骨端軟骨直下にある一次海綿骨も頻度依存的に密となっていた(図6)。大腿骨における関節軟骨の軟骨細胞柱はアーケード状に配列し、落下頻度に依存して明瞭となり、それは中・後部に顕著であった(図7)。

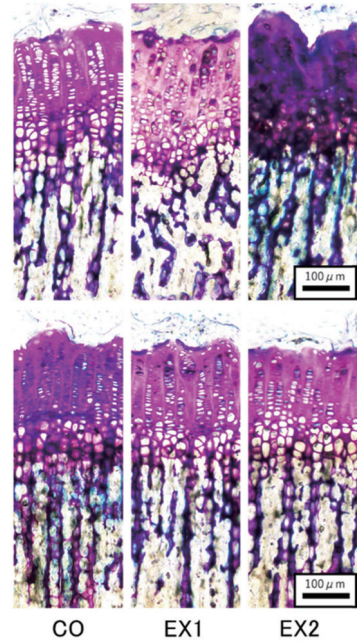


図6 大腿骨(上)および脛骨(下)における骨端板直下の構造

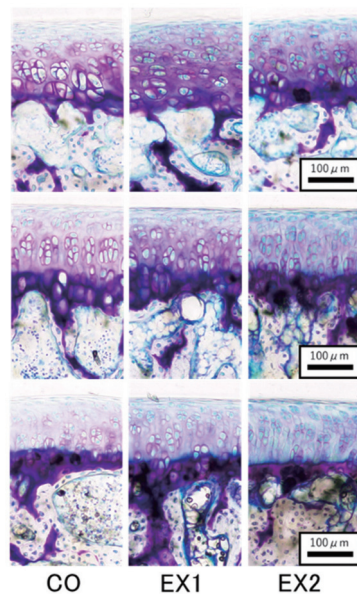


図7 関節軟骨における軟骨細胞柱の配列  
上段:前部、中段; 中部、下段:後部

#### 4. 考 察

大腿骨および脛骨の骨端部に骨梁構造が占める割合は、いずれの部位もCOよりEXが高値を示したが、特に中・後部で顕著であった。これは反復的な緩衝動作によって生じたメカニカルストレスに抗するように中・後部の骨梁が発達し、骨端部に占める割合の増加に寄与したと考えられる。

本研究では大腿骨および脛骨の骨端軟骨の厚さには変化を認めなかったが、軟骨細胞柱の層を区分して観察すると頻度依存的に肥大細胞層が肥厚していた。また、骨端軟骨直下にある一次海綿骨の厚さには有意な差を認めなかったが、頻度依存的に密となっていた。このように、骨端軟骨直下の厚さには有意な差を認めなかったものの、EX1,2では肥大細胞層が厚くなっており、緩衝動作が骨端軟骨直下の構造変化に及ぼす影響を示唆する結果となったことから、軟骨細胞の分化に影響していることが推測される。大腿骨では二次海綿骨の骨梁幅がEX2で最も高く、骨梁間隙では大腿骨・脛骨ともCOよりEX1,2が低値であった。また、骨梁数は大腿骨・脛骨ともEX1が高い値を示した。このような骨梁構造の違いは、高負荷のメカニカルストレスによって生じる骨形成の抑制<sup>6)</sup>や、骨端軟骨下層への血管侵入の促進<sup>9)</sup>などが寄与したと推測される。

関節軟骨の軟骨細胞柱はアーケード状に配列することが知られているが、落下頻度に依存して、その構造が明瞭となり、特に中・後部に顕著であった。このように中・後部ともアーケード状の構造は長軸方向からの力に抵抗し得る構造であることから<sup>7)</sup>、緩衝動作の衝撃に抗する構造に変化したと推測される。

#### 5. 結 語

本研究では緩衝動作によって生じた関節への圧迫力が軟骨および骨構造に影響を与えることを示され、それは頻度依存的であ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. 引用文献

- 1) ARAKI M et.al.: Effects of mechanical loading on bone formation in tibia primary cancellous bone of growing rats, Journal of Human Life Design 12:187-199, 2017.
- 2) 内野智貴, 他: 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, 常葉大学健康プロデュース学部

雑誌 15:85-90, 2021.

- 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) 八嶋奈央, 他: 長期ギブス固定を想定した関節不動状態がラット膝関節周囲の腱付着部に及ぼす影響, 常葉大学健康プロデュース学部雑誌 15:91-96, 2021.
- 5) 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, 体育学研究 36:39-51, 1991.
- 6) 奥山典子, 他: 内軟骨性骨化における破(軟)骨細胞機能障害の影響, 奥羽大学歯学誌 33:57-64, 2006.
- 7) 古澤満, 他: 成長に伴うラット関節軟骨細胞外基質の変化に関する免疫組織学的研究, 歯科基礎医学会雑誌 37:37-49, 1995.

#### 8. 謝 辞

本論文は、卒業研究論文の代替として執筆したものであり、ご指導下さいました学科の先生方には厚く御礼申し上げます。また、大学生活の苦楽を共に過ごしたゼミ生の皆様には感謝しております。