

PTH 間歇投与による骨 geometry および骨微細構造の変化： 運動負荷との比較検討

森 啓弥

川崎医科大学整形外科, 〒701-0192 倉敷市松島577

抄録 副甲状腺ホルモン (PTH) の間歇投与が、海綿骨量を増加させることは多数報告されている。しかし、PTH 間欠投与の骨微細構造に対する影響を運動などの生理的刺激による変化と比較した報告はほとんどみられない。今回我々は、非荷重に伴う大腿骨海綿骨微細構造劣化後の回復に対する PTH 投与および運動負荷の効果について、マイクロ CT を用いて比較検討した。

生後8週齢の Wistar 系雄性ラット32匹を対照群 (CON)、懸垂安静回復群 (S+C)、懸垂 PTH 投与群 (S+P)、および懸垂ジャンプ運動群 (S+J) の4群に分けた。S+P 群には、2週間の尾部懸垂後、ヒト PTH (1-34) を1日75 μ g/kg、週5回、5週間にわたり間歇投与した。S+J 群には、高さ40cm、1日10回、週5日の頻度で5週間ジャンプ運動を行わせた。実験終了後、両大腿骨を摘出し、右大腿骨遠位骨幹端海綿骨領域を、マイクロ CT により撮像した。得られた断層データから、三次元画像解析装置を用いて骨梁構造指標を求めた。さらに、骨幹部の幾何学的特性を評価するため、マイクロ CT を用いて左大腿骨中央部を撮像し、次いで、3点支持の破断試験を行って骨強度を測定した。

S+P 群と S+J 群はいずれも、S+C 群に比べ、大腿骨骨幹端海綿骨の骨量、骨表面積、骨量体積率、フラクタル次元、連結性密度、骨梁幅、骨梁数および構造異方性が有意な高値を、骨梁間隙、骨梁パターン因子 (TBPf) および構造モデル指標 (SMI) が有意な低値を示した。一方、骨幹部の皮質骨面積、厚さおよび骨強度は、S+J 群が S+C 群に比べ有意な高値を示したのに対し、S+P 群は皮質骨厚を除いて S+C 群と有意な差を認めなかった。以上の結果より、PTH の間歇的投与は、海綿骨の微細構造に対してはジャンプ運動に類似した変化をもたらすが、皮質骨の幾何学的特性と骨強度には PTH の効果が少ないことが示唆された。

(平成21年10月8日受理)

キーワード：PTH, 運動負荷, 尾部懸垂ラット, 骨微細構造, マイクロCT

緒 言

人間が地球上で生活する限り、骨は常に重力や筋収縮負荷などのメカニカルストレスの影響を受けている。メカニカルストレスを受けることで骨は形成と吸収のバランスを保っている。骨代謝はホルモンやサイトカイン、メカニカル

ストレスによって調節されており、そのうちメカニカルストレスの影響が約40%を占めるといわれ、骨代謝において重要な役割を担っている。以前より骨はメカニカルストレスの大きさに応じて異なった反応を示すことが知られており、宇宙飛行や長期臥床などのメカニカルスト

レスが乏しい環境では骨量は減少するが¹⁻⁴⁾、日常生活程度のメカニカルストレスでは形成と吸収のバランスがとれたりモデリングが行われ、骨量は維持される。さらに運動負荷などでメカニカルストレスが大きくなると骨形成優位に骨代謝回転が亢進し、モデリングにより骨量が増加する。このように骨は与えられたメカニカルストレスに応じてモデリングとリモデリングのオン、オフが切り替わる機構を備えている。

近年、骨にはメカニカルストレスを感知する mechanoreceptor があることが明らかにされている⁵⁾。主に骨細胞がメカニカルストレスを感知し、一酸化窒素やプロスタグランジン E を放出して骨代謝回転が活性化される⁶⁻¹⁰⁾。副甲状腺ホルモン (PTH) はこのメカニカルストレスに対する骨の反応を増強する^{11,12)}。また、PTH の間歇投与は骨密度の増加効果や骨折抑制効果を示し¹³⁻¹⁷⁾、骨形成促進効果を持つ骨粗鬆症治療薬として期待されている。しかしながら、PTH の骨強度増強作用の機序についてはいまだ不明な点が多く、その詳細は明らかにされていない。2000年に開催された National Institute of Health (NIH) の Consensus Development Conference によると、骨強度は「主に骨密度と骨質の統合的な状態を反映する」とされている^{18,19)}。これは骨強度が骨密度の他に微細構造、骨代謝回転、微小骨折、石灰化などの骨質に関する要因にも規定されることを意味しているが、このように骨強度が骨密度だけでなく骨質も含めた概念とされた背景には、骨密度の低下だけでは骨折リスクの説明が困難であることが明らかにされてきたことが影響している。

そこで、今回我々は骨密度とともに骨質の面からの重要な骨強度規定因子である骨微細構造に着目し、骨粗鬆症モデル動物における PTH の骨強度増強効果の作用機序を検討した。骨微細構造の劣化に対する治療効果については、運動負荷による変化を理想的な構造変化の一つと考えて、それとの比較を行った。

材料および方法

骨粗鬆症モデルラットの作製

実験動物には7週齢の Wistar 系雄性ラット 32匹を用いた。ラットは1週間の予備飼育の後、実験的骨粗鬆症を惹起するために、2週間の尾部懸垂を行った。懸垂飼育中は前肢で自由に行動させ、餌は体重を毎日測定し、各群の平均体重が同等になるように調節して標準固形食を与えた。水は吸水ビンの市水を自由に摂取させた。

実験群および負荷プロトコール

実験群として、①尾部懸垂を行わない対照群 (CON)、②尾部懸垂後に通常飼育を行った懸垂後安静回復群 (S+C)、③尾部懸垂後に PTH の投与を行った PTH 投与群 (S+P)、④尾部懸垂後にジャンプ運動を行わせたジャンプ運動群 (S+J 群) の計4群を各群8匹で作製した。PTH は、ヒト副甲状腺ホルモン (human PTH (1-34)) を1日75 μ g/kg body weight で、4週間にわたり週5日腹腔内に投与した。ジャンプ運動は高さ40cm、1日10回、週5日の頻度で4週間行わせた。各群の実験プロトコールの概要を図1、図2に示す。

各群の実験終了時にエーテル麻酔下で屠殺し、両側大腿骨を摘出した。摘出した大腿骨は-40度で冷凍保存し、2週以内に各種の計測に使用した。

骨密度測定

ラット左大腿骨遠位1/3部位での骨密度 (bone mineral density: BMD) を Hologic 社製 QDR-2000 を用いて二重エネルギー X 線吸収測定法 (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA) により測定した。測定は骨を生理食塩水に浸した状態でを行い、大腿骨が正確に前後方向に投射されるように厳密に位置決めした後、ultra-high-resolution モードで実施した。

マイクロ CT による撮影と解析

摘出した右大腿骨の遠位骨幹端海綿骨領

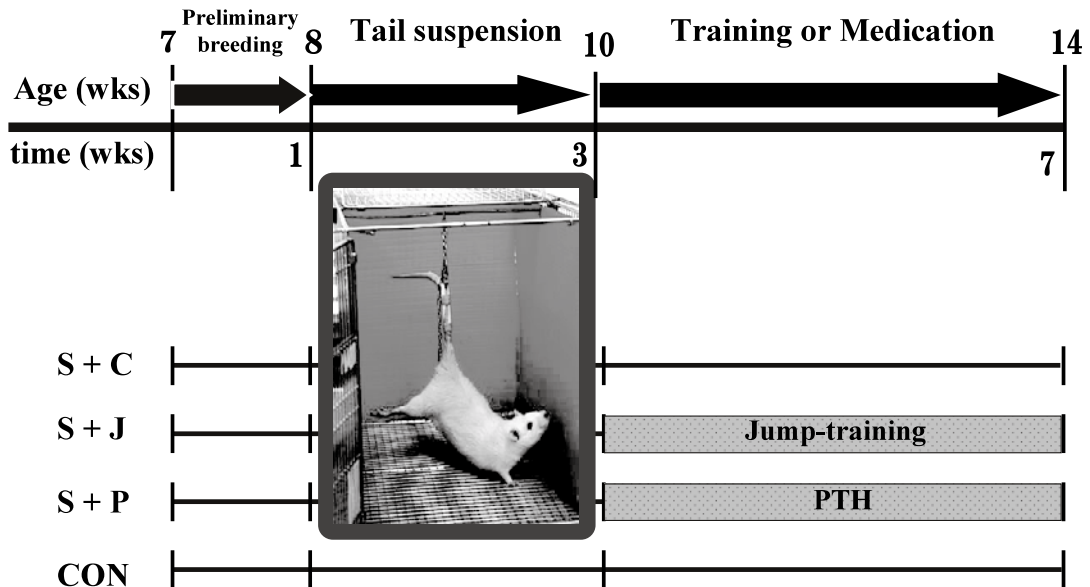
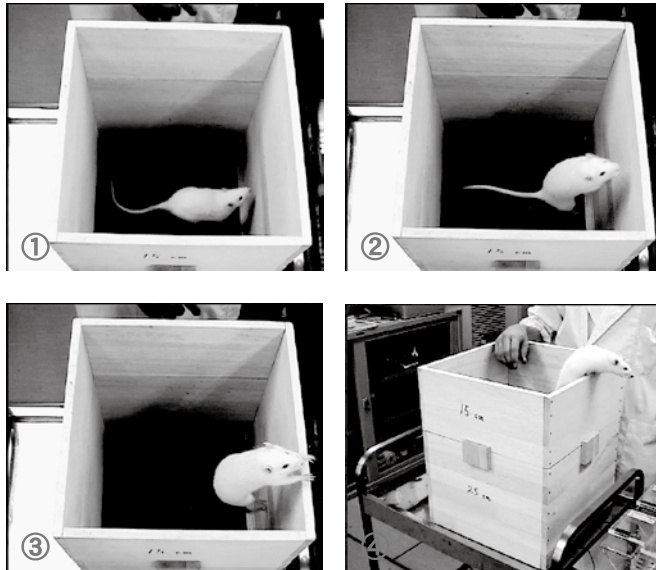


図1 実験プロトコル

1 週間の予備飼育を行ったのち、8 週齢時より尾部懸垂を開始した。対照群 (CON)：6 週間飼育のみで、尾部懸垂を行わない群。懸垂群 (S+C)：2 週間の尾部懸垂後、4 週間の安静に回復させた群。ジャンプ運動群 (S+J)：2 週間の尾部懸垂後、4 週間のジャンプを行わせた群。PTH 投与群 (S+P)：2 週間の尾部懸垂後、4 週間の PTH 間歇投与を行った群。



Jump exercise

- 10 week old at start
- 40 cm height
- 30 times/day
- five times a week
- for 4 weeks

図2 ジャンプトレーニングのプロトコル

ジャンプ運動は10週齢時に開始し、上記写真のように高さ40cm、1日10回、週5日の頻度で4週間行わせた。

域をマイクロ CT (microfocus X-ray computed tomography system, ELE Scan mini, 日鉄エレクトロニクス社製) で撮影し (図 3), 三次元画像解析装

置 (TRI/3D-BON, ラトックシステムエンジニアリング) にて骨梁構造指標を求めた。大腿骨の撮影は、骨の長軸を回転軸と一致させ、撮

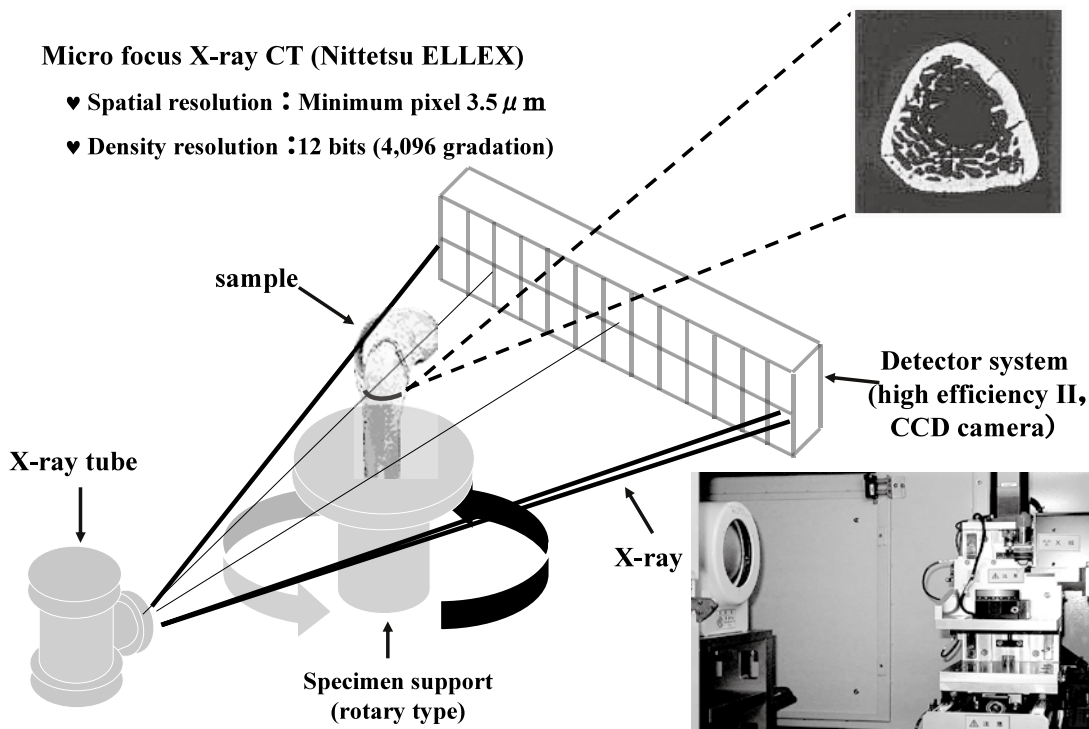


図3 マイクロCTの構成図

摘出したラットの大腿骨をX線管と検出器の間に位置した試料台に置き、試料台を回転することにより多方向からの投影データを取得し、画像再構成プログラムにより回転中心軸に直交した断面の連続断層像を作成した。分解能（画素径）は、試料台とX線管や検出器との間の距離を変えることにより調整した。

影の中心領域を大腿骨の遠位関節面から3.8mm離れた位置に設定し、管電流 $100 \mu\text{A}$ 、管電圧30kV、マトリックス径 512×512 、画素径 $17.6 \mu\text{m}$ 、スライス厚 $14.06 \mu\text{m}$ 、プロジェクション数200、積算回数5の条件で行い、250枚の連続断層画像を得た。

さらに、大腿骨骨幹部断面の幾何学的特性を求めるため、マイクロCTを用いて同様の撮影条件で大腿骨中央部の断層画像を得た。幾何学的特性の指標としては、総面積、皮質骨面積、骨髓腔面積および皮質骨厚を求めた。皮質骨厚は骨幹部の断面がリング状の形態をしていることを仮定して、皮質骨面積と骨髓腔面積から計算した。

骨強度測定

左大腿骨骨幹部の1回負荷による破断強

度を3点曲げ装置（MZ-500D, Maruto Testing Machine 社製）を用いて測定した。

統計学的処理

各測定データは平均 \pm 標準偏差で表記した。統計処理ソフトとしてStatistical Package for the Social Sciences（SPSS 16.0 for Windows SPSS, Chicago, IL）を用いた。多群間の比較は、一元配置の分散分析を用い、有意差が認められた場合はleast significant differenceにより各群間の比較を行った。すべての統計処理において危険率5%未満を有意とした。本研究は川崎医療福祉大学実験委員会の承認を受け（08-013）、川崎医療福祉大学および川崎医科大学の動物実験指針に基づき実施した。

結 果

BMD

図4に大腿骨のBMDを示す。S+J群はS+C群より84%，CON群より59%，S+P群より19%高く、いずれも有意な高値を示した。S+P群もS+J群と同様にS+C群より54%，CON群より平均17%の有意な高値を示した。S+C群とCON群の間には有意な差は認められなかった。

海綿骨微細構造

大腿骨遠位骨幹端海綿骨の三次元骨微細構造

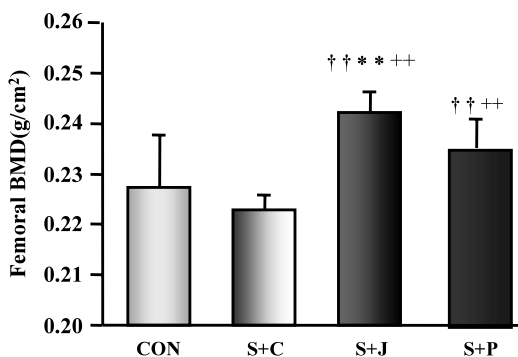


図4 大腿骨遠位1/3部位での骨密度測定結果

S-CON群はCON群より有意な低値を示し、S+J群とS+P群はいずれもS+C群より有意な高値を示した。S+J群とS+P群の間にも有意差が認められた。

*p<0.05, **p<0.001 vs. CON; ††p<0.001 vs. S+C; ++p<0.001 vs. S+P.

解析の結果を表1に示す。骨量 (bone volume : BV)，骨表面積 (bone surface : BS)，骨量体積率 (bone volume fraction : BV/TV)，フラクタル次元 (fractal dimension : FD)，連結性密度 (connectivity density: β 1/TV)，構造異方性 (degree of anisotropy : DA) はS+J群とS+P群のいずれもS+C群より著しい高値を示した。また、骨梁数 (trabecular number : Tb.N) および骨梁幅 (trabecular thickness : Tb.Th) も同様にS+J群、S+P群ではS+C群より著しい高値を示した。骨梁間隙 (trabecular separation : Tb.Sp)，骨梁パターン因子 (trabecular bone pattern factor : TBPf)，構造モデル指標 (structure model index : SMI) は、S+J群、S+P群ともにS+C群より低値を示した。図5にマイクロCTの水平断面画像、矢状断面画像を示す。CON群、S+C群と比較してS+J群、S+P群の遠位骨幹端部の海綿骨、骨梁の増加が明らかである。

骨幹部の断面幾何学的指標と骨強度 (表2)

S+C群では、総面積 (total bone area)，皮質骨厚 (cortical width)，皮質骨面積 (cortical bone area) および骨破断強度 (maximum load) がCON群より有意な低値を示し、骨髓腔面積 (bone marrow area) も同様の傾向を示した。

尾部懸垂によるこれらの変化はジャンプ運動

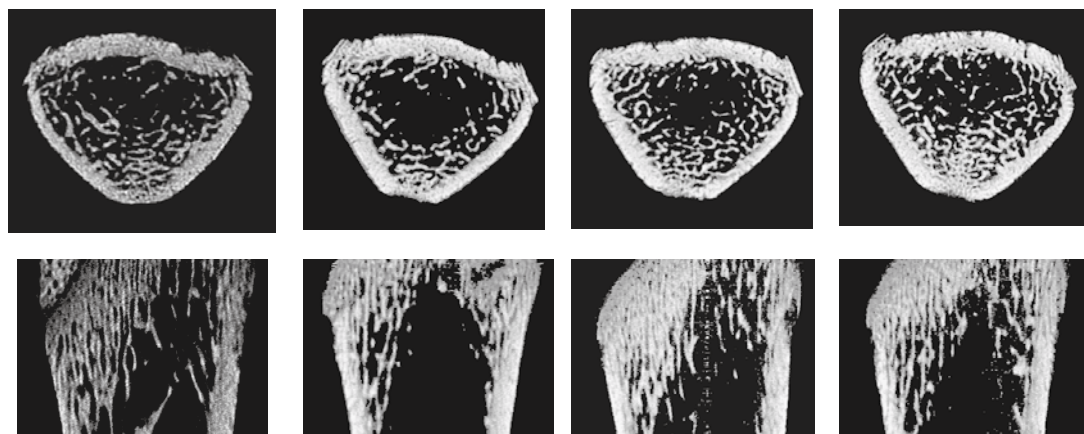
表1 大腿骨遠位骨幹端海綿骨領域の解析結果

Index	CON	S+C	S+J	S+P
TV (mm ³)	24.58 ± 2.93	22.75 ± 1.67	23.11 ± 1.43	22.59 ± 1.13*
BV (mm ³)	2.47 ± 0.57	1.74 ± 0.31*	4.49 ± 0.54 ^{††}	3.48 ± 0.67 ^{††}
BS (mm ²)	110.19 ± 21.89	82.48 ± 13.42*	158.37 ± 21.54 [†]	143.99 ± 23.74 [†]
BV/TV (%)	10.00 ± 1.58	7.63 ± 0.99*	19.40 ± 1.64 ^{†††}	15.39 ± 2.74 ^{†††}
Tb.Th (μm)	26.52 ± 3.70	22.58 ± 2.45	32.79 ± 6.53* ^{†††}	28.85 ± 3.74 ^{†††}
Tb.N (/mm)	0.18 ± 0.03	0.12 ± 0.03*	0.25 ± 0.03 ^{†††}	0.27 ± 0.06 ^{†††}
Tb.Sp (μm)	195.97 ± 29.57	204.76 ± 17.28	168.12 ± 6.33 ^{†††}	173.76 ± 13.25 ^{†††}
β 1/TV	36.59 ± 6.45	24.61 ± 3.35	60.70 ± 9.41 [†]	52.90 ± 12.43 ^{††}
TBPf (/mm)	15.33 ± 1.58	15.33 ± 1.58**	9.18 ± 0.82 ^{†††}	12.87 ± 1.58 ^{††}
FD	2.22 ± 0.03	2.15 ± 0.02***	2.34 ± 0.02 ^{†††}	2.28 ± 0.03 ^{†††}
SMI	2.24 ± 0.10	2.32 ± 0.07*	2.05 ± 0.07 ^{†††}	2.07 ± 0.17 ^{†††}
DA	1.30 ± 0.09	1.30 ± 0.06	1.46 ± 0.08* [†]	1.38 ± 0.08* [†]

TV : 組織容量, BV : 骨量, BS : 骨表面積, BV/TV : 骨量体積率, Tb.Th : 骨梁幅, Tb.N : 骨梁数, Tb.Sp : 骨梁間隙, β 1/TV : 連結性密度, TBPf : 骨梁パターン因子, FD : フラクタル次元, SMI : 構造モデル指標, DA : 構造異方性

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs. CON

[†] p<0.05, ^{††} p<0.01, ^{†††} p<0.001 vs. S+CON



CON

S+C

S+J

S+P

図5 大腿骨遠位骨幹端領域のマイクロCT像

上段に横断像を，下段に矢状断像を示す．CON群，S+C群と比較して，S+J群，S+P群では海綿骨の骨梁増加が観察される．

表2 大腿骨骨幹中央部皮質骨の解析結果

Index	CON	S+C	S+J	S+P
Total bonearea (mm ²)	9.78 ± 0.95	8.74 ± 0.56**	9.31 ± 0.53* [†] +	8.76 ± 0.27**
Corticalwidth (mm)	0.61 ± 0.03	0.57 ± 0.02**	0.61 ± 0.02 [†] †	0.60 ± 0.02 [†]
Corticalbonearea (mm ²)	5.60 ± 0.43	5.02 ± 0.16**	5.31 ± 0.13* [†]	5.13 ± 0.25*
Bonemarrowarea (mm ²)	4.18 ± 0.52	3.72 ± 0.40	3.99 ± 0.45 [†] †++	3.63 ± 0.24
Maximumload (kgf)	15.6 ± 1.0	13.9 ± 0.7*	15.4 ± 0.5 [†] †++	14.3 ± 1.0*

Total bonearea：総骨面積，Corticalwidth：皮質骨厚，Corticalbonearea：皮質骨面積，Bonemarrowarea：骨髓腔面積，Maximumload：骨破断強度
数値は平均±標準偏差で表示した

*p<0.05,**p<0.01vs.CON; [†]p<0.05,††p<0.01vs.S+CON; +p<0.05,++p<0.01vs.S+P.

により回復傾向がみられ，いずれの指標も S+J 群の方が S+C 群より有意な高値を示した．また，皮質骨厚，骨髓腔面積，骨破断強度については CON 群と有意差がないレベルにまで回復した．

一方，S+P 群では皮質骨厚のみが S+C 群より有意な高値を示した．骨髓腔面積は S+C 群よりやや低い値を示し，他の指標については有意差はみられなかったが，ジャンプ運動と同様の傾向を示した．

考 察

PTH は，生体内では主に骨吸収の促進作用を示し，血中 Ca 濃度を調節するホルモンとし

て知られている．近年，このような異化作用に加えて骨形成促進という同化作用の存在が明らかとなり，間歇的投与による骨量増加の報告が散見されるようになった²⁰⁻²⁷⁾．しかしながら，PTH 間歇投与が運動によるメカニカルストレスと比較して骨微細構造レベルでどのように異なるかについては明らかにされていない．そこで，本研究では PTH 間歇投与と運動負荷の骨微細構造に対する効果について，ラット尾部懸垂骨粗鬆症モデルを用いて比較検討した．

骨粗鬆症モデルには卵巣摘出ラットや坐骨神経切除ラットなどの様々なモデルがあるが，本研究では尾部懸垂ラットをモデルとして用いた．尾部懸垂ラットは1980年代はじめにアメリ

カの NASA のグループによって発表された力学的負荷軽減モデルである^{30,31)}。ラットの尾部を懸垂し、前肢のみで接地させ後肢を重力による力学的負荷から解放することにより、短期間のうちに後肢の骨量が正常ラットと比較して有意に低値となる。尾部懸垂ラットは、前肢での自由歩行が可能であるため飲水、摂食が可能であり、後肢も運動が制限されないことからストレスなどの全身性の影響が比較的少ない。また、卵巣摘出や坐骨神経切除などの外科的処置を加えるモデルよりも侵襲が少なく、簡便な方法である。さらに、坐骨神経切除法と異なり、免荷後の再荷重が可能である。したがって、力学的負荷軽減とその後の回復過程における局所的な骨微細構造を観察するのに適切なモデルと考え、本研究に用いた。

PTH は間歇的に投与することにより、げっ歯類やイヌのみならず、ヒトの腸骨においても海綿骨の骨形成を促進し、骨量を増加させることが知られている³²⁻³⁷⁾。今回、我々の研究でも PTH 間歇投与は懸垂回復群と比較して有意に骨量を増加させた。Hori ら²³⁾、Liu ら²⁵⁾、Shen ら²⁶⁾ は卵巣摘出ラットに対して PTH を間歇投与し、いずれも骨量の増加を報告している。Tada ら²⁴⁾ は副甲状腺を切除して内因性の PTH の影響を排除し、さらに片側脊髄切断と卵巣摘出術を加えたラットに対してヒト PTH を 15 $\mu\text{g/kg/day}$ 、週 6 回筋注し、有意な骨量増加を報告している。今回の検討では、骨量増加の程度は運動群より劣る傾向を示したが、PTH の投与期間や投与量を調整すればさらに強い骨量増加効果が予想される。

しかしながら、冒頭でも述べたように骨量の増加だけでは骨強度改善の評価に十分とはいえない。そこで我々は骨強度との関連が強い三次元骨微細構造にも着目し、マイクロ CT を用いて検討した。その結果、PTH 間歇投与群では、海綿骨の骨量、骨梁数、骨梁幅のみならず、連結性を示す指標も懸垂回復群より増加し、運動群と同様の結果が得られた。PTH 間歇投与による骨梁構造変化についてはこれまでもいく

つかの報告がみられる。諸家らは脱灰標本を用いた二次元的解析結果であるが、PTH 間歇投与により、正常ラットで骨梁構造を維持したまま骨梁幅が増加すること^{35,36)}や、卵巣摘出ラットで骨梁幅や骨梁連結性が増加する³⁷⁾と報告している。また、運動負荷が骨梁構造を変化させることについても、走行運動やジャンプ運動のモデルで報告されている^{39,40)}。今回の研究でみられた PTH 間歇投与と運動負荷の効果はいずれも従来の報告とほぼ同様の傾向を示した。一方、骨微細構造は実験モデルによって変化のパターンが少し異なるため、個別の実験結果からの詳細な比較は難しい。本研究では同じ骨粗鬆症モデルで、骨に対する PTH 間歇投与と運動の効果と比較した。さらに本研究の特徴として、マイクロ CT を用いたことで、病理切片などの二次元的観察では把握困難な三次元的構造変化を詳細に評価できたことが挙げられる。骨梁の幅や連結の状態は二次元的評価では限界があり、さらに、三次元的解析では二次元データからは得られない構造指標による評価が可能である。Structure model index (SMI) は、骨梁の形態を rod 様 (柱状) 構造から plate 様 (板状) 構造まで連続的に変化する構造モデルに当てはめて、数値化した三次元構造指標であるが、PTH 間歇投与群とジャンプ運動群はいずれも、懸垂安静回復群よりも低い SMI を示し、plate 様に近い骨梁構造を示した。これらの結果は、PTH 間歇投与が海綿骨微細構造に対してジャンプ運動と類似した作用を示すことを示唆している。

さらに皮質骨に及ぼす影響を明らかにするために、骨幹中央部の断面構造を検討した。ジャンプ運動群では、骨髓腔面積の有意な拡大がみられ、皮質骨内側の骨吸収が促進されているものと考えられた。しかし、PTH 間歇投与群では骨髓腔面積の拡大は認めず、懸垂回復群よりもやや低い値を示した。

一般に、皮質骨内側側の Havers 管における骨代謝、すなわち intracortical (Haversian) remodeling に対する PTH の作用は少ないと考

えられており、それを支持する結果と考えられる。一方、PTH 間歇投与群では、皮質骨厚は懸垂回復群より有意な高値を示し、皮質骨面積も懸垂回復群より増大傾向を示していた。一般的に PTH は皮質骨に対しても骨形成促進作用を有することが知られているが、総骨面積では懸垂回復群と比較してもほとんど拡大しておらず、かつ皮質骨厚、皮質骨面積が増大していたことから考えると、本研究モデルでは PTH 間歇投与は外膜側の骨形成促進よりも、内膜側での骨吸収抑制に強く作用したものと考えられる。しかしながら、有意差は皮質骨厚のみでしか認めておらず、PTH 間歇投与の皮質骨に対する効果が明らかであったとは言い難い。今回の検討と従来の報告をあわせると、骨吸収に関しては様々で一定していない^{20, 21, 27)}。報告により、対象動物、週齢、PTH の投与方法、投与期間、投与量、評価方法などが異なり、それらの差によるものと思われた。

3 点曲げ破断強度の結果では、ジャンプ運動群が対照群と同等の骨強度まで回復したのに対し、PTH 間歇投与群では骨強度の有意な回復は認めなかった。諸家らの報告³⁸⁾では、ラットやヒトにおいて PTH 間歇投与による骨強度の改善が示されているが、いずれも海綿骨を主体とした骨試料の検討結果である。PTH 間歇投与は皮質骨に対しては石灰化密度をやや低下させるなど骨強度に不利な変化も示すことが知られており、骨強度を増加させる断面形態の変化と相殺して、有意な変化が示されなかった可能性が考えられる。

PTH の間歇的投与は現在広く用いられている骨吸収抑制薬と異なり骨形成促進作用を有することから、特に骨量減少の著しい骨粗鬆症患者に対して期待されている。既に臨床応用も進められているが²⁷⁻²⁹⁾、その骨強度増加機序に関しては未だ明らかになっていない部分もあり、また、その投与方法、投与量、投与回数、投与期間、他薬剤との併用法、長期投与時の薬剤中止後の変化など臨床的に解決すべき問題も残されている。今後、さらに検討が進むことにより、

骨粗鬆症の治療薬としてより適切で有効な利用につながる事が期待される。

結 語

今回我々は骨質の規定因子の一つである骨微細構造に着目し、非荷重に伴う大腿骨海綿骨微細構造劣化の回復に対する PTH 投与および運動負荷の効果について、マイクロ CT を用いて比較検討した。その結果、

(1) 大腿骨骨幹端海綿骨ではジャンプ運動群、PTH 群のいずれも、懸垂安静回復群に比べ、骨量、骨梁幅、骨梁数、骨梁連結性および構造異方性が有意な高値を示し、rod 様構造に対する plate 様構造の比率も高値を示すことが明らかとなった。

(2) 骨幹中央皮質骨ではジャンプ運動群の皮質骨の厚さと骨強度は懸垂安静回復群より有意な高値を示したのに対し、PTH 群では厚さで有意な高値を示したものの、骨強度試験では有意差を認めなかった。

(3) PTH の間歇投与は、大腿骨骨幹端海綿骨の微細構造に対して、ジャンプ運動に類似した変化をもたらす効果を持つと考えられた。一方、皮質骨に対しては幾何学的特性の改善効果はみられたが、ジャンプ運動よりも骨強度増加効果が乏しい傾向を示し、骨構造以外の質的要因の関与が示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、御指導と御高覧を賜りました川崎医科大学整形外科科学教室の三河義弘教授ならびに放射線医学（核医学）教室の福永仁夫教授、曾根照喜准教授に深甚なる謝意を表します。また研究の技術的面にご協力頂きました川崎医療福祉大学の朱容仁講師、川崎医療福祉大学動物実験センターの皆様へ深謝いたします。なお、本研究は川崎医科大学プロジェクト研究費（No.18-605）の援助により行われた。

引用文献

- 1) Cann CE, Adachi RR : Bone resorption and mineral excretion in rats during spaceflight. *Am J Physiol* 244: R327-331, 1983

- 2) Morey ER, Baylink DJ: Inhibition of bone formation during spaceflight. *Science* 201 : 1138-1141, 1978
- 3) Vico L, Chappard D, Alexander C, Palle S, Minaire P, Riffat G, Morukov B, Rakhmanov S : Effects of a 120 day period of bed-rest on bone mass and bone cell activities in man : attempts at countermeasure. *Bone Miner* 2 : 383-394, 1987
- 4) Rabin R, Gordon SL, Lymn RW, Todd PW, Frey MA, Sulzman FM : Effects of spaceflight on the musculoskeletal system : NIH and NASA future direction. *FASEB J* 7 : 396-398, 1993
- 5) Cowin SC, Moss-Salentijn L, Moss ML : Candidates for the mechanosensory system in bone. *J Biomech Eng* 113 : 191-197, 1991
- 6) Lanyon LE : Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. *Calcif Tissue Int* 53 : S102-107, 1993
- 7) Aarden EM, Burger EH, Nijweide PJ : Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem* 55 : 287-299, 1994
- 8) Klein- Nulend J, Semeins CM, Ajubi NE, Nijweide PJ, Burger EH : Pulsating fluid flow increases nitric oxide (NO) synthesis by osteocytes but not periosteal fibroblast-correlation with prostaglandin up-regulation. *Biochem Biophys Res Commun* 217 : 640-648, 1995
- 9) Somjen D, Binderman I, Berger E, Harell A : Bone remodeling induced by physical stress is prostaglandin E₂ mediate. *Biochem Biophys Acta* 627 : 91-100 , 1980
- 10) Zaman G, Pittsillides AA, Rawlinson SC, Suswillo RF, Mosley JR, Cheng MZ, Platts LA, Hukkanen M, Polak JM, Lanyon LE. : Mechanical strain stimulates nitric oxide production by rapid activation of endothelial nitric oxide synthase in osteocytes. *J Bone Miner Res* 14 : 1123-1131 , 1999
- 11) Chow JW, Fox S, Jagger CJ, Chambers TJ : Role for parathyroid hormone in mechanical responsiveness of rat bone . *Am J Physiol* : E146-154 , 1998
- 12) Miyauchi A, Notoya K, Mikuni-Takagaki Y : Parathyroid hormone-activated volume-sensitive calcium influx pathways in mechanically loaded osteocytes. *J Biol Chem* 275 : 3335-3342 , 2000
- 13) Sato M, Zeng GQ, Turner CH : Biosynthetic human parathyroid hormone (1-34) effects on bone quality in aged ovariectomized rats. *Endocrinology* 138 : 4330-4337 , 1997
- 14) Ejersted C, Oxlund H, Andreassen TT : Bisphosphonate maintains parathyroid hormone (1-34) – induced cortical bone mass and mechanical strength in old rats. *Calcif Tissue Int* 62 : 316-322 , 1998
- 15) Jerome CP : Anabolic effect high doses of human parathyroid hormone (1-38) in mature intact female rats. *J Bone Miner Res* 9 : 933-942 , 1994
- 16) Hirano T, Burr DB, Turner CH, Sato M, Cain RL, Hock JM : Anabolic effects of human biosynthetic parathyroid hormone fragment (1-34), LY333334, on remodeling and mechanical properties of cortical bone in rabbits. *J Bone Miner Res* 14 : 536-545 , 1999
- 17) Mosekilde L, Thomsen JS, McOsker JE : No loss of biomechanical effects after withdrawal of short-term PTH treatment in an aged, osteopenic, ovariectomized rat model, *Bone* 20 : 429-437 , 1997
- 18) 折茂 肇, 林 泰史, 福永仁夫, 他 : 原発性骨粗鬆症の診断基準 (2000年度改訂版). *日骨代謝会誌* 18 : 76-82, 2001
- 19) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. NIH Consensus Statement. 17 : 1-45, 2000.
- 20) Tam CS, Heersche JNM, Murray TM, Parsons JA : Parathyroid hormone stimulates the bone apposition rate independently of its resorptive action : Differential effects of intermittent and continuous administration. *Endocrinol* 110 : 506-512, 1988
- 21) 堀 正幸 : PTH, 骨粗鬆症研究の進歩 ,5, 120-125, 1990.
- 22) Hock JM, Hummert JR, Fonseca J, Raisz LG : Resorption is not essential for the stimulation of bone growth by hPTH (1-34) in rats in vivo. *J Bone Miner Res* 4 : 449-458, 1988
- 23) Hori M, Uzawa T, Morita K, Noda T, Takahashi H, Inoue J : Effect of human parathyroid hormone (PTH (1-34)) on experimental osteopenia of rats induced by ovariectomy. *Bone Miner* 3 : 193-199, 1988
- 24) Tada K, Yamamuro T, Okumura H, Kasai R, Takahashi H : Restoration of axial and appendicular bone volumes by h-PTH (1-34) in parathyroidectomized and osteopenic rats. *Bone* 11 : 163-169 , 1990
- 25) Liu CC, Kalu DN : Human Parathyroid hormone (1-34) prevents bone loss and augments bone formation in sexually mature ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 5 : 973-982, 1990
- 26) Shen V, Dempster DW, Mellish RWE, Birchman R, Horbert W, Lindsay R : Effects of combined and intermittent administration of low-dose human parathyroid hormone fragment (1-34) and 17 β -estradiol on bone histomorphometry in ovariectomized

- rats with established osteopenia. *Calcif Tissue Int* 50 : 214-220, 1992
- 27) Hodsman AB, Steer BM, Fraher LJ, Drost DJ : Bone densitometric and histomorphometric responses to sequential human parathyroid hormone (1-38) and salmon calcitonin in osteoporotic patients. *Bone Miner* 14 : 67-83, 1991
 - 28) Hesch RD, Busch U, Prokop M, Delling G, Rittinghaus EF : Increase of vertebral density by combination therapy with pulsatile 1-38hPTH and sequential addition of calcitonin nasal spray in osteoporosis patients. *Calcif Tissue Int* 44 : 176-180, 1989
 - 29) Reeve J, Bradbeer JN, Arlot M, *et al.* : hPTH 1-34 treatment of osteoporosis with added hormone replacement therapy : Biochemical, kinetic and histological responses. *Osteoporosis Int* 1 : 162-170, 1990
 - 30) Simmons DJ, Grazman B, Russell JE, Walker WV, Bikle DD, Morey ER : Simulating certain aspects of hypogravity : effects on bone maturation in the non-weight bearing skeleton. *Aviat Space Environ Med* 54 : 1080-1084, 1983
 - 31) Globus RK, Bikle DD, Morey-Holton E : Effects of simulated weightlessness on bone mineral metabolism. *Endocrinology* 114 : 2264-2270, 1984
 - 32) Takami M, Nakatsuka K, Naka H, Masaki H, Imanishi Y, Ito M, Inaba M, Morii H, Nishizawa Y : Effect and safety of intermittent weekly administration of human parathyroid hormone (1-34) in patients with primary osteoporosis evaluated by histomorphometry and microstructural analysis of iliac trabecular bone before and after 1 year of treatment. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 22 : 569-576, 2004
 - 33) Takahashi HE, Tanizawa T, Hori M, Uzawa T : Effect of intermittent administration of human parathyroid hormone (1-34) on experimental osteopenia of rats induced by ovariectomy. *Cell and Materials Suppl* 1 : 113-117, 1991
 - 34) Kimmel DB, Bozzato RP, Kronis KA, Coble T, Sindrey D, Kwong P, Recker RP : The effect of recombinant human (1-84) or synthetic human (1-34) parathyroid hormone on the skeleton of adult osteopenic ovariectomized rats. *Endocrinol* 132 : 1577-1584, 1993
 - 35) 鶴沢豊暢, 堀正幸, 江尻貞一, 小澤英浩 : 骨形態計測法による副甲状腺ホルモン (PTH) の骨代謝に対する作用の検討 - ラットにおける骨の部位による効果の比較. *日骨代謝誌* 11 : 211-214, 1993
 - 36) 真柴賛, 高橋栄明, 谷澤龍彦, 遠藤直人, 西田三郎, 内山陽介, 藤本隆平, 乗松尋道 : human PTH (1-34) のラット腰椎海綿骨に対する影響 : 週齢による応答の相違. *日骨形態誌* 3 : 223-227, 1993
 - 37) 佐藤 毅, 佐藤光三, 永澤 雄, 石垣 智, 成田裕一郎, 鶴木栄樹 : 実験的骨粗鬆症ラットに対するヒト副甲状腺ホルモン間欠投与の影響 - 形態計測による検討 - . *日骨形態誌* 3 : 55-62, 1993
 - 38) 伊東昌子 : 骨粗鬆症治療薬が骨力学特性に及ぼす作用メカニズムの解明 - 骨量と骨質の両面から海綿骨・皮質骨の変化を解明する試み -. *Osteoporosis Japan* 11 : 51-56, 2003
 - 39) Sone T, Joo Y, Okamoto T, Miyashita K, Fukunaga M, Onodera S : Effects of jump exercise on trabecular architecture during remobilization after suspension-induced osteopenia in young rats : comparison with treadmill running. *Bone* 36 : S433-434, 2005
 - 40) Joo YI, Sone T, Fukunaga M, Lim SG, Onodera S : Effects of endurance exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in young growing rats. *Bone* 33 : 485-493, 2003

Changes in bone geometry and microarchitecture caused by intermittent administration of PTH: comparison with those by exercise load

Keiia MORI

Department of Orthopedic Surgery, Kawasaki Medical School, 577 Matsushima, Kurashiki, 701-0192, Japan

ABSTRACT There have been several studies showing that periodical intermittent medication

with parathyroid hormone (PTH) causes increases in cancellous bone mass. However, there have been almost no reports comparing the effects of periodical intermittent PTH medication on bone microarchitecture with changes caused by physiological stimulation such as exercise load. In this study, we compared the effects of these two interventions on the microarchitectural deterioration of femoral cancellous bone associated with unloading, using micro-computed tomography (micro-CT), and the effects of PTH administration and motion loading on improvement of the deteriorated structure.

In the study, 32 eight-week-old male Wistar rats were divided into four groups: 1) a control group without tail suspension (CON), 2) a control recovery group after suspension (S+C), 3) a suspension/PTH group (S+P), and 4) a suspension/jumping exercise group (S+J). Periodical intermittent human PTH (1 - 34) was given periodically to the S+P group rats at a dose of 75 $\mu\text{g/kg/day}$ five times a week for five weeks, after two weeks of exercise with suspension of the tail. The rats in the S+J group performed 40 cm-high jumping 10 times/day five times a week for five weeks. After this conditioning, upon examination, bilateral femurs were removed and the right distal metaphysis was scanned using micro-CT to obtain images of the cancellous bone region of the femur. Based on the tomographic data, indices of cancellous bone microarchitecture was the index of trabecular bone structure were determined by using three-dimensional image analysis system. In addition, to examine the geometric properties of the diaphysis, mid-portion images of the bone shaft of the left femur were obtained by micro-CT, and then the mechanical bone strength of the left femur was determined by performing a three-point bending test.

Compared to the S+C group, the S+P and S+J groups showed significantly higher bone volume, bone surface mass values, superficial bone area, bone volume fraction rates, fractal dimensions, connectivity density, trabecular thickness, trabecular bone number and degrees of anisotropy. They conversely showed significantly lower bone volume ratio values, trabecular bone separation, trabecular bone pattern factors, and structural model indices. However, the area values, thickness, and strength of femoral diaphysis cortical bone in the S+J group were significantly higher than those in the S+C group. The S+P group showed no significant difference other than cortical bone thickness. These data suggest that periodical intermittent medication with PTH could cause changes in the fine structure of the femoral metaphysic cancellous bone microarchitecture that are similar to changes caused by jumping exercise, but the effects of PTH seem to be small on the geometric properties and bone strength of the cortical bone.

(Accepted on October 8, 2009)

Key words : Parathyroid hormone, Exercise load, Tail-suspended rat, Microarchitecture, Micro CT

Corresponding author

Keiya Mori

Department of Orthopedic Surgery, Kawasaki Medical
School, 577 Matsushima, Kurashiki, 701-0192, Japan

Phone : 81 86 462 1111

Fax : 81 86 462 1199

E-mail : keiya@med.kawasaki-m.ac.jp

