



## Assessment of spine bone mineral density in ovariectomized rats using DXA

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山内, 秀樹 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1525">http://hdl.handle.net/10271/1525</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 248号	学位授与年月日	平成 9年 3月 7日
氏 名	山 内 秀 樹		
論文題目	Assessment of spine bone mineral density in ovariectomized rats using DXA (DXA 法による卵巣摘出ラットにおける腰椎骨塩量の検討)		

博士(医学) 山内秀樹

## 論文題目

Assessment of spine bone mineral density in ovariectomized rats using DXA

(DXA 法による卵巣摘出ラットにおける腰椎骨塩量の検討)

## 論文の内容の要旨

### [はじめに]

近年骨塩定量法として実用化された dual energy x-ray absorptiometry (DXA) は、ソフトウェアの向上によりラットなどの小動物に対しても応用が可能である。今回我々は、ラット腰椎骨塩量を DXA 法を用いて測定し、その測定精度について検討した。また実験系の基礎データである“発育による骨塩量の変化”を知るために、経時的に腰椎骨塩量を計測し、その加齢的变化を検討した。さらに卵巣摘出術 (OVX) を施行して実験的骨粗鬆症モデルラットを作製し、腰椎骨塩量を経時的に測定し検討した。

### [対象ならびに方法]

実験には Wistar 系雌ラットを使用した。飼育期間中はラット用固型飼料 (Cal. 4%) と水を自由摂取させた。腰椎骨塩量は QDR-1000W (Hologic Inc., Waltham, MA) の ultra high resolution mode を使用した。In vivo の測定は、腹腔内増麻酔したラットを仰臥位にて測定し、in vitro の計測は摘出した全腰椎 (L1-6) を水槽内に置き腰椎骨塩量を測定した。

- (1) 測定精度の検討: in vivo の測定精度は、9 週齢 (体重 185g) と 33 週齢 (体重 325g) ラットを用いて腰椎骨塩量を各々 5 回測定した。In vitro の測定精度は、同一ラットの摘出腰椎を水深 0、1.5、3、4.5cm に置き各々 5 回測定し検討した。さらに accuracy として 8、10、15、20、25、50 週齢ラット各々 2 匹の腰椎 ash weight と腰椎骨塩量との相関性を検討した。
- (2) 発育によるラット腰椎骨塩量の変化の検討: 5 匹のラットを 6 週齢から 58 週齢まで飼育し、経時的に腰椎骨塩量を麻酔下に測定し、発育による骨塩量の変化を求めた。さらに同じ週齢のラット摘出腰椎を水深 3 cm に置き in vitro における腰椎骨塩量を各々測定した。
- (3) 卵巣摘出術 (OVX) による腰椎骨塩量の変化の検討: 8、23 週齢ラット各々 5 匹に OVX を施行し腰椎骨塩量を経時的に測定した。また同じ週齢の sham ラット 5 匹を各々対照群として測定し比較検討した。測定は OVX 後 5 週まで行った。

### [結 果]

- (1) 測定精度: in vivo と in vitro の測定精度は、各々 0.73~1.04% CV と 0.36~1.56% CV であり、特に水深 3 cm に摘出腰椎を置いて測定した場合も高い再現性を認め、9 週齢ラットでは 0.53% CV、33 週齢ラットでは 0.36% CV であった。Ash weight と骨塩量の相関性を求めることにより accuracy の検討を行ったところ、 $r=0.93$  ( $p<0.01$ ) と高い相関関係を認めた。水深 3 cm で測定した骨塩量が最も高い再現性を認め、in vivo の骨塩量と最も近似しており、in vivo と in vitro の骨塩量は  $r=0.98$  ( $p<0.01$ ) と高い相関関係を認めた。以上の結果より、in vitro の計測は水深 3 cm にて腰椎骨塩量を計測することにした。
- (2) 発育による腰椎骨塩量の変化: in vivo と in vitro (水深 3 cm) の腰椎骨塩量の変化は、6 週齢から 23 週齢まで徐々に増加したが、以後 58 週齢までは有意な変化は認めず定常化した。

(3) 卵巣摘出術 (OVX) による腰椎骨塩量の変化：8週齢ラットに OVX を施行した腰椎骨塩量は、sham ラットと比較して有意に低値を示していたが、術前の骨塩量に比較して明らかな減少は認めなかった。23週齢ラットに OVX を施行した場合には、OVX ラットの腰椎骨塩量は sham ラットと比較すると OVX 後1週から有意に低値を示し、OVX 前の腰椎骨塩量が  $0.243 \pm 0.002 \text{ g/cm}^2$  から術後3週では  $0.220 \pm 0.003 \text{ g/cm}^2$  と速やかに減少した。8週齢ラットの体重の変化は OVX、sham ラット共に増加したが、sham ラットでは術後4週で1.8%、OVX ラットでは1.4%増加した。また23週齢ラットの体重の変化は OVX、sham ラット共に増加したが有意差はなかった。

#### [考 察]

DXA 法によるラット腰椎骨塩量の測定は、0.36~1.56% CV と高い測定精度で測定可能であり、また今回の結果より *in vitro* での測定はラットの体厚に近似する水深3cmにて測定することが望ましいと考えた。発育による腰椎骨塩量の変化を基礎にして実験的骨粗鬆症モデルラットを作製したところ、腰椎骨塩量の増加傾向にある8週齢ラットに OVX を施行すると、OVX ラットの腰椎骨塩量は sham ラットに比して有意に低値を示しているが、OVX 後減少を認めなかった。腰椎骨塩量が定常化する23週齢ラットに OVX を施行した場合は、腰椎骨塩量は OVX 後減少しており、閉経後骨粗鬆症モデルにより適していると考えた。

#### [結 論]

今後ラットを用いた骨粗鬆症モデル実験を行うには、ラットの発育による変化を理解し、どの時期のラットを使用するのか、このラットがヒトにおける閉経後骨粗鬆症モデルに成り得るかなどを考慮することが大切であると考えた。

### 論文審査の結果の要旨

近年骨塩定量法として実用化された dual energy x-ray absorptiometry (DXA) は、ソフトウェアの向上によりラットなどの小動物に対しても応用が可能となってきた。申請者は、ラット腰椎骨塩量を DXA 法を用いて測定し、その測定精度について検討すると共に、経時的に腰椎骨塩量を計測し、「ラット発育による骨塩量の変化」を検討、さらに卵巣摘出術 (OVX) を施行して実験的骨粗鬆症モデルラットを作製した。

実験には Wistar 系雌ラットを使用、腰椎骨塩量は腹腔内麻酔したラットを仰臥位にして QDR-1000W (Hologic Inc., Waltham, MA) の ultra high resolution mode を用いて測定し、*in vitro* の計測は摘出した腰椎を水槽内に置き水深0、1.5、3、4.5cmにて腰椎骨塩量を測定した。発育によるラット腰椎骨塩量の変化に関する検討では6週齢から58週齢までのラットの腰椎骨塩量を測定し、また同じ週齢のラット摘出腰椎を水深3cmに置き測定した。さらに8週齢と23週齢ラット各々5匹に卵巣摘出術 (OVX) 及び sham 術を施行し腰椎骨塩量の変化を検討した。測定は OVX 後5週まで行った。

その結果、*in vivo* と *in vitro* の測定精度は、各々0.73~1.04% CV と0.36~1.56% CV であり、特に水深3cmに摘出腰椎を置いて測定した場合に最も高い再現性が認められた。Ash weight と骨塩量の相関係数は  $r=0.93$  ( $p<0.01$ ) であった。*In vivo* と *in vitro* (水深3cm) の骨塩量は  $r=0.98$  ( $p<0.01$ ) と高い相関関係が認められた。以上より、*in vitro* の計測は水深3cmにて腰椎骨塩量を計測することにした。発育による腰椎骨塩量の変化は、*in vivo* と *in vitro* (水深3cm) 共に6週齢から23週齢まで徐々

に増加したが、以後58週齢までは有意な変化は認めず定常化した。8週齢ラットに OVX を施行した腰椎骨塩量は、sham ラットと比較して低値を示していたが、術前の骨塩量に比して明らかな減少を認めなかった。23週齢ラットに OVX を施行した場合には、OVX ラットの腰椎骨塩量は術前より明らかに減少し、OVX 後1週から sham ラットと比較して有意に低値を示していた。OVX ラットの体重は8週齢、23週齢共に増加した。

以上の成績より、DXA 法によるラット腰椎骨塩量の測定は、高い測定精度で測定可能であり、*in vitro* での測定はラットの体厚に近似する水深3 cmにて測定することが望ましいことがわかった。発育による腰椎骨塩量の変化を基礎にして実験的骨粗鬆症モデルラットを作製したところ、腰椎骨塩量の増加傾向にある8週齢ラットに OVX を施行すると、OVX ラットの腰椎骨塩量は減少を認めず、この減少しない理由として成長ホルモンや骨形成因子が骨形成に影響を及ぼし、OVX の影響を受けないものと考えられた。一方、腰椎骨塩量が定常化する23週齢ラットに OVX を施行した場合は、エストロゲン欠乏による骨吸収促進がみられ腰椎骨塩量は OVX 後減少を認め、閉経後骨粗鬆症モデルにより適していると考えられた。

本研究はラット腰椎骨塩量が DXA 法にて測定可能であることを証明し、これに基づいてラット発育による骨塩量の変化を検討し、発育の時期の違いにより OVX 後の腰椎骨塩量の変化が異なることを明らかにしたものである。本研究により閉経後骨粗鬆症モデルが作製されたことになり、今後、骨粗鬆症に関する研究に資するところ大であると考えられ、本研究の意義は大きいものと高く評価された。

申請者の発表に対し、次のような質疑が行われた。

- 1) DXA 法の測定原理、分解能と本研究における精度との関係について
- 2) DXA 法以外の骨塩測定法について
- 3) 実験動物の測定における ultra high resolution mode の原理について
- 4) DXA 法における *in vivo* (皮下脂肪など) と *in vitro* (水) の測定上の差について
- 5) 骨塩量と成長ホルモンや骨形成因子との関係について
- 6) 成長によるエストロゲン分泌、骨エストロゲンレセプターの変化について
- 7) OVX による腰椎骨塩量減少の原因について
- 8) OVX による体重増加の原因について
- 9) 実験動物の発育とヒトとの比較について
- 10) 将来、この閉経後骨粗鬆症モデルを用いてどんな研究がなされるか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 金 子 昌 生      副査 助教授 西 村 正 彦