

高血圧自然発症ラットの骨形態並びに骨形成関連遺伝子発現に対するパルス磁場刺激の影響

田巻弘之¹, 幸 篤武², 與谷謙吾³, 友利幸之介⁴,
菅原和弘¹, 鈴木 誠¹, 桐本 光¹, 大西秀明¹, 大山峰生¹

¹新潟医療福祉大学 運動機能医科学研究所

²愛知教育大学

³鹿屋体育大学

⁴神奈川県立保健福祉大学

【背景】

静磁場やパルス磁気刺激により、骨折治癒に有効であることや骨形成が促進されることが組織細胞、タンパク質レベルで示唆されている。本研究では経頭蓋磁気刺激装置(TMS)を用いてパルス磁気刺激時の骨内磁場強度分布を刺激距離やポジションなどを変えて 810 条件で実測確認した。またラット下肢骨への反復刺激による一過性効果を骨形成関連遺伝子について mRNA 発現レベルで検討した。

【方法】

磁束密度センサーを挿入した Wistar 系雄性ラット(n=3)脛骨を 3 軸精密台に固定し、その直上から磁気刺激用コイルで単一パルス磁気刺激を与えた。刺激強度は磁気刺激装置の最大出力の 10-100%までの 10%間隔の 10 種類で、刺激距離が 10-90mm までの 10mm 間隔の 9 種類、並びに X-Y 平面上の 10mm 格子間隔の 9 ポジションについて、全 810 条件での長軸方向の磁場強度(PEMF strength)のピーク値をガウスメーターで計測した。PEMF 強度-刺激強度関係、PEMF 強度-距離関係について各ポジションで相関係数、回帰式を求め、それらの差の検定(直線の差の検定、非線形回帰カーブフィット)を行った。計測の精度及び再現性は、反復計測の変動係数、再計測(test-retest)、Bland-Altman プロット等から確認した。さらに、骨内に微小ワイヤー電極を挿入し、その位置を μ CT にてスキャンして場所を確認したのち導体存在下での誘導電流を確認した(図 1)。次に、骨内磁気刺激強度 40-60mT で反復磁気刺激を麻酔下で若齢(Young, 6w)及び高血圧自然発症ラット(SHR, 33w)の下肢に行った(n=8)。24 時間後に脛骨骨髓を採取して real-time RT-PCR により BMP-2, 4, TGF- β_2 , COL-I, OCN mRNA 発現量を調べ、非刺激骨(Control)と比較した。

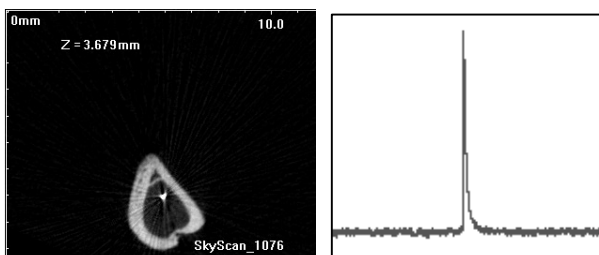


図 1 骨内微小ワイヤー電極の位置(左)と PEMF strength の確認。左:脛骨横断面、内部の小さな白色点がワイヤー先端。右:パルス刺激時の電流計測。

【結果】

いずれのポジションにおいても骨内 PEMF 強度と刺激強度の関係において有意に高い正相関を示し($r^2=0.999-1.0$, $P<0.0001$)、磁気刺激装置の強度設定により骨内 PEMF 強度が推定可能であろうと思われた(強度依存性)。また刺激距離の増大に伴い指数的減衰を示し、距離が 30mm 付近にその変曲点を有した(距離依存性)(図 2)。X-Y 水平面のポジションでは、3 領域に大別される PEMF 強度分布パターンを示した(ポジション依存性)。また、距離が大きくなるほど Focality は小さくなった。SHR ラットの骨形態は若齢期のものと比較して狭小化しており、骨梁面積は有意に($P<0.05$)低かった。反復磁気刺激 24 時間後の BMP-2, 4 及び TGF- β mRNA の発現量はコントロールと比較して若齢期では有意に up-regulate したが($P<0.05$)、SHR では変化はなかった(図 3)。

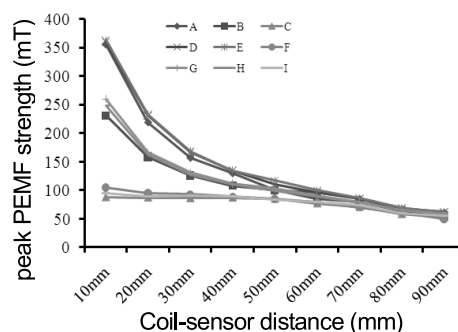


図 2 刺激強度 50%でパルス磁気刺激を行ったときの刺激距離と PEMF ピーク値との関係。

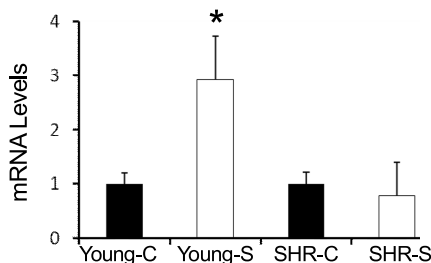


図 3 TGF- β_2 mRNA 発現レベルへの磁気刺激による一過性影響。C:コントロール, S:磁気刺激。* $P<0.05$ vs. C.

【考察】

骨内 PEMF 強度は刺激強度、距離及びポジション依存性があり、特に距離が 30mm を境に強度や Focality の変化率が大きく異なることが示唆された。また、骨形成関連遺伝子の発現に対する一過性の効果は、若齢期において特に有効であると考えられた。しかしながら SHR においては、刺激強度を含め至適刺激条件の検索が必要であると思われた。

【結論】

本研究における 810 条件での実測データは、生体磁気刺激の応用目的において、組織内で生じている PEMF 強度を推定するための条件設定に有用となる。また、反復磁気刺激の骨形成に対する一過性効果を得るには、生体の状況に応じて刺激強度等の条件設定の工夫が必要と思われた。