Age-related Changes in Bone Weights and Their Components in Rats

Haruzo IIDA and Satoshi FUKUDA

*Division of Comparative Radiotoxicology, National Institute of Radiological Sciences, 4-9-1
Anagawa, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba 263, Japan*

(Received 20 October 1992/Accepted 29 January 1993)

Age-related changes in the wet, dry and ash weights and components such as water, organic substance, ash, calcium and phosphorus of femur, tibia and first lumbar vertebra and serum biochemical constituents related to bone metabolism were examined in Wistar rats. A total of 60 males and 60 females were used, and every five rats of both sexes were examined at 1 and 2 months of age and then at intervals of 3 months between 3 and 30 months of age. Each bone weight increased rapidly up to 3 months of age and then gradually up to 12 months of age in females and 9 months of age in males, but thereafter decreased at 27 and 30 months of age in males. Between 1 and 6 or 9 months of age in both sexes, a decrease in water content, increases in ash, calcium and phosphorus, and almost no change in organic substance in each bone were observed. After 15 months of age in males, an increase in water content, decreases in ash content, calcium and phosphorus, and almost no changes in organic substance were observed in males. The value of serum calcium decreased up to 12 months of age but then increased after 18 months of age in both sexes. Serum phosphorus and alkaline phosphatase activity decreased up to 9 months of age in both sexes. The data obtained in this study supported the results in our previous study that the peak bone strength of the femur and peak bone volume of trabecular bone of the proximal metaphysis of the tibia were at 12 months of age in both sexes in Wistar rats.

—KEY WORDS: age-related change, bone components, bone weight, calcium, rat

ラットの加齢に伴う骨重量および含有成分量の変化

飯田 治三・福田 俊

放射線医学総合研究所内部被ばく研究部

ラットは骨に関する基礎研究や疾患の研究にも多く用いられているが、ラットの骨は個体が成熟に達した以降も骨端に成長軟骨帯が永く残る[3]ために長さが、また太さも増加し続け、さらに組織学的な動態も成長期に観察されるモデリング様式を示し続ける[1]点で成人の骨とは異なることが指摘されている。

著者らはラットの加齢に伴う骨の変化を骨強度試験法や骨梁骨の組織形態計測法によって、ラットにも人[4]と同様な骨量のピークが存在することを認め、この共通点はラットを骨に関する実験に使用する年齢を決めたり、実験結果を考察する上で重要な指標になる

ことを報告した[2]。

しかしラットの骨重量、特に含有成分量の加齢に伴う変化に関する詳細な報告は少なく[6-9]、しかもそれらの結果には相違がみられる。また骨梁骨と皮質骨では代謝や薬物などに対する反応に相違があることが報告されている[5]。したがって、骨の重量や含有成分量についても加齢に伴う変化を明確にし、また骨強度や骨梁骨と形態計測の結果と比較することは、ラットと人の骨に関する種差を検討するだけでなく、薬物や種々の実験処置に対する影響を評価する上でも重要である。

そこで本研究では、ラットの骨の重量、含有成分量および骨代謝に関連した血清成分の年齢変化について検討した。

材料および方法

動物は、本研究所動物生産施設で生産された Wistar-Mishima (WM) ラットの雄60匹、雌60匹、計120匹を用いた。飼育室の条件は、温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 5\%$ 、照明12時間明暗サイクル (AM 8:00点燈, PM 8:00消燈) とした。飼料は市販のマウス・ラット用固型飼料 (MB-1, 株式会社船橋農場, カルシウム含有量: 1.10%, リン含有量: 1.40%) を、飲水は給水瓶を用いて市水をそれぞれ自由摂取させた。飼育ケージはラット飼育用ステンレス製金網床ケージ (縦34cm, 横46cm, 高さ23cm, トキワ科学器械株式会社) を用いた。

骨の観察は生後1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27および30ヵ月齢の計12時点で行った。各時点で雄5匹、雌5匹を供し、クロロホルム麻酔下で腹大静脈から採血した後、右側の大腿骨、脛骨および第1腰椎を採取した。

骨重量および各含有成分量の測定は、以下のような方法で行った。まず、採取した骨の筋肉や髄を完全に切り除いた後、その骨 (以下生骨と略す) の重量を測定した。次に、乾燥器で 100°C 、24時間乾燥し (以下乾燥骨と略す)、その重量を測定した。さらに乾燥骨を電気炉で 600°C 、24時間灰化し (以下灰化骨と略す)、重量を測定した。

灰化骨は硝酸で完全に溶解後、適正な測定濃度にするために、イオン交換水で希釈してカルシウムおよびリン値の測定を行った。カルシウム値は Ortho-cresolphthalein complexone 発色法 (Calcium C-test, 和光純薬株式会社)、リン値は Molybdenum blue 法 (Phosphar B-test, 和光純薬株式会社) を用いて測定した。

得られた各重量の値から、以下のようにして各含有成分量を計算した。

$$\text{水分含有量 (\%)} = \frac{\text{生骨重量} - \text{乾燥骨重量}}{\text{生骨重量}} \times 100$$

$$\text{有機成分含有量 (\%)} = \frac{\text{乾燥骨重量} - \text{灰化骨重量}}{\text{生骨重量}} \times 100$$

$$\text{灰分含有量 (\%)} = \frac{\text{灰化骨重量}}{\text{生骨重量}} \times 100$$

$$\text{カルシウム含有量 (\%)} = \frac{\text{カルシウム量}}{\text{生骨重量}} \times 100$$

$$\text{リン含有量 (\%)} = \frac{\text{リン量}}{\text{生骨重量}} \times 100$$

血液は、3,000rpm, 15分間遠心し、血清を分離した。血清総カルシウム値およびリン値は、骨の場合と同じ方法で測定した。アルカリフォスファターゼ活性値は Bessey-Lowry 法 (オートバック ALP・opt ベーリンガー・マンハイム) を用いて測定した。

成 績

1. 体重 (Table 1.)

雄の体重は9ヵ月齢まで増加したが、27ヵ月齢以降減少した。雌は12ヵ月齢まで増加し、さらに18ヵ月齢以降も増加がみられた。

2. 骨重量 (Table 2.)

(1) 大腿骨 雄の生骨、乾燥骨および灰化骨重量はいずれも9ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。しかし生骨および乾燥骨重量は30ヵ月齢、灰化骨重量は27および30ヵ月齢で低い値を示した。雌では生骨重量は6ヵ月齢、乾燥骨重量は9ヵ月齢、灰化骨重量は12ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。

(2) 脛骨 雄の生骨、乾燥骨および灰化骨重量はいずれも9ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。しかし生骨および乾燥骨重量は27ヵ月齢、灰化骨重量は

Table 1. Age-related changes in the body weight of both sexes

Sex	Age in months											
	1	2	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Male	50	236	298	379	412	430	430	447	448	431	402	408
(g)	± 3	± 7	± 17	± 13	± 13	± 18	± 13	± 42	± 14	± 47	± 25	± 12
Female	50	139	186	234	250	292	291	317	321	318	337	326
(g)	± 3	± 11	± 17	± 8	± 14	± 14	± 22	± 27	± 14	± 25	± 21	± 25

Each value indicates the mean $\pm$ S.D. for 5 rats.

Table 2. Wet, dry and ash weights of femur, tibia and first lumbar vertebra

Items	Sex	Age in months											
		1	2	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
<i>Femur</i>													
Wet bone weight (g)	M	0.270 ±0.006	0.526 ±0.047	0.743 ±0.052	0.926 ±0.005	0.956 ±0.058	0.932 ±0.051	0.986 ±0.040	1.032 ±0.037	0.962 ±0.031	0.963 ±0.048	1.020 ±0.025	0.915 ±0.041
	F	0.239 ±0.016	0.430 ±0.031	0.493 ±0.032	0.614 ±0.013	0.615 ±0.025	0.628 ±0.029	0.623 ±0.018	0.623 ±0.051	0.629 ±0.017	0.597 ±0.044	0.576 ±0.042	0.600 ±0.051
Dry bone weight (g)	M	0.116 ±0.004	0.324 ±0.032	0.536 ±0.031	0.709 ±0.011	0.762 ±0.046	0.705 ±0.055	0.752 ±0.034	0.761 ±0.032	0.722 ±0.028	0.713 ±0.039	0.739 ±0.023	0.576 ±0.072
	F	0.109 ±0.008	0.315 ±0.022	0.374 ±0.023	0.463 ±0.010	0.519 ±0.017	0.526 ±0.021	0.517 ±0.016	0.524 ±0.042	0.533 ±0.015	0.490 ±0.039	0.475 ±0.033	0.479 ±0.065
Ash bone weight (g)	M	0.060 ±0.002	0.195 ±0.020	0.336 ±0.022	0.462 ±0.006	0.483 ±0.030	0.461 ±0.036	0.494 ±0.040	0.483 ±0.023	0.452 ±0.015	0.472 ±0.032	0.451 ±0.011	0.358 ±0.053
	F	0.059 ±0.004	0.205 ±0.017	0.245 ±0.015	0.293 ±0.007	0.319 ±0.013	0.341 ±0.012	0.322 ±0.013	0.338 ±0.023	0.346 ±0.009	0.318 ±0.026	0.308 ±0.029	0.314 ±0.042
<i>Tibia</i>													
Wet bone weight (g)	M	0.184 ±0.009	0.555 ±0.013	0.596 ±0.039	0.669 ±0.012	0.740 ±0.016	0.734 ±0.031	0.750 ±0.041	0.740 ±0.020	0.750 ±0.051	0.740 ±0.051	0.700 ±0.042	0.700 ±0.017
	F	0.174 ±0.008	0.344 ±0.020	0.411 ±0.031	0.466 ±0.005	0.478 ±0.012	0.482 ±0.019	0.477 ±0.017	0.484 ±0.033	0.489 ±0.011	0.481 ±0.012	0.483 ±0.014	0.469 ±0.034
Dry bone weight (g)	M	0.101 ±0.004	0.404 ±0.010	0.435 ±0.029	0.555 ±0.011	0.596 ±0.015	0.577 ±0.024	0.591 ±0.027	0.586 ±0.018	0.595 ±0.009	0.559 ±0.040	0.478 ±0.057	0.477 ±0.015
	F	0.104 ±0.006	0.258 ±0.016	0.311 ±0.019	0.376 ±0.007	0.387 ±0.012	0.391 ±0.016	0.395 ±0.019	0.400 ±0.032	0.398 ±0.010	0.385 ±0.011	0.387 ±0.013	0.380 ±0.042
Ash bone weight (g)	M	0.053 ±0.002	0.229 ±0.006	0.265 ±0.020	0.346 ±0.005	0.356 ±0.013	0.357 ±0.015	0.355 ±0.016	0.351 ±0.016	0.347 ±0.008	0.331 ±0.021	0.277 ±0.028	0.265 ±0.009
	F	0.053 ±0.003	0.169 ±0.011	0.197 ±0.011	0.236 ±0.004	0.239 ±0.006	0.241 ±0.010	0.238 ±0.008	0.242 ±0.012	0.246 ±0.008	0.242 ±0.011	0.239 ±0.010	0.226 ±0.029
<i>First lumbar vertebra</i>													
Wet bone weight (g)	M	0.044 ±0.006	0.185 ±0.012	0.198 ±0.013	0.225 ±0.027	0.233 ±0.016	0.223 ±0.020	0.231 ±0.025	0.279 ±0.010	0.254 ±0.032	0.252 ±0.038	0.231 ±0.033	0.224 ±0.022
	F	0.040 ±0.003	0.111 ±0.016	0.146 ±0.015	0.152 ±0.011	0.163 ±0.015	0.172 ±0.024	0.163 ±0.009	0.157 ±0.016	0.170 ±0.008	0.153 ±0.018	0.154 ±0.021	0.169 ±0.023
Dry bone weight (g)	M	0.025 ±0.003	0.121 ±0.007	0.132 ±0.007	0.150 ±0.016	0.156 ±0.008	0.155 ±0.013	0.156 ±0.015	0.183 ±0.010	0.161 ±0.020	0.159 ±0.024	0.137 ±0.019	0.135 ±0.018
	F	0.024 ±0.001	0.075 ±0.012	0.098 ±0.010	0.108 ±0.006	0.116 ±0.009	0.130 ±0.015	0.127 ±0.005	0.121 ±0.014	0.126 ±0.008	0.106 ±0.015	0.110 ±0.016	0.121 ±0.022
Ash bone weight (g)	M	0.015 ±0.002	0.072 ±0.006	0.082 ±0.005	0.096 ±0.005	0.099 ±0.013	0.097 ±0.015	0.097 ±0.016	0.111 ±0.016	0.095 ±0.008	0.092 ±0.021	0.078 ±0.008	0.078 ±0.019
	F	0.013 ±0.006	0.052 ±0.010	0.062 ±0.007	0.065 ±0.007	0.070 ±0.005	0.086 ±0.010	0.077 ±0.010	0.076 ±0.006	0.076 ±0.010	0.064 ±0.011	0.068 ±0.013	0.074 ±0.012

Each value indicates the mean±S.D. for 5 rats.

Table 3. Water, organic substance and ash contents relative to wet weight of femur, tibia and first lumbar vertebra

Items	Sex	Age in months											
		1	2	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
<i>Femur</i> Water content (%)	M	57.8 ±0.9	32.4 ±1.2	27.8 ±1.2	23.4 ±1.2	20.2 ±0.7	23.4 ±0.6	23.7 ±0.8	26.2 ±1.7	25.0 ±2.6	26.0 ±1.9	27.6 ±2.5	37.2 ±5.7
	F	54.4 ±0.8	26.6 ±0.4	24.2 ±0.9	24.5 ±0.6	15.7 ±1.3	16.2 ±0.8	17.0 ±0.3	15.9 ±2.0	15.3 ±0.8	15.4 ±1.0	17.6 ±0.6	20.5 ±5.0
Organic substance content (%)	M	20.1 ±0.9	24.9 ±0.9	26.9 ±0.9	27.0 ±1.5	29.2 ±1.0	28.7 ±0.7	26.2 ±2.1	27.0 ±0.8	28.1 ±1.1	25.1 ±0.6	28.2 ±2.5	23.8 ±1.8
	F	20.7 ±0.8	25.7 ±1.1	26.1 ±0.6	27.7 ±0.8	32.4 ±0.9	29.5 ±0.3	31.4 ±1.2	29.8 ±1.1	29.9 ±1.2	29.7 ±0.8	29.0 ±1.6	27.3 ±2.3
Ash content (%)	M	22.1 ±0.4	45.3 ±0.6	45.3 ±0.6	46.6 ±1.1	50.6 ±0.7	47.9 ±0.8	50.1 ±2.4	46.8 ±1.3	47.0 ±1.5	49.0 ±1.8	44.2 ±0.3	39.0 ±4.5
	F	24.9 ±0.3	47.7 ±1.3	49.7 ±0.5	47.8 ±0.4	51.8 ±0.8	54.3 ±1.0	51.7 ±1.2	54.2 ±1.4	54.8 ±0.5	54.9 ±1.4	53.4 ±1.6	52.2 ±3.3
<i>Tibia</i> Water content (%)	M	45.3 ±1.0	26.5 ±0.7	27.0 ±1.1	21.3 ±1.1	20.3 ±0.8	21.4 ±0.8	21.1 ±0.9	20.8 ±0.9	21.3 ±0.7	24.5 ±1.7	30.2 ±2.4	21.9 ±0.8
	F	41.1 ±1.5	25.4 ±0.7	24.2 ±1.9	19.1 ±0.6	19.0 ±0.8	19.0 ±0.8	17.5 ±1.0	17.4 ±1.8	18.6 ±0.6	19.9 ±1.2	19.9 ±0.6	19.2 ±3.5
Organic substance content (%)	M	25.7 ±0.8	31.8 ±1.8	28.6 ±0.6	29.2 ±1.6	32.5 ±1.5	30.0 ±0.9	31.5 ±0.4	31.8 ±1.0	33.0 ±0.3	30.8 ±0.9	30.3 ±2.9	30.2 ±1.0
	F	28.5 ±1.5	25.9 ±0.7	27.8 ±1.9	30.2 ±0.6	31.0 ±0.8	31.0 ±0.8	32.7 ±1.0	32.5 ±1.8	31.0 ±0.6	29.8 ±1.2	30.6 ±0.6	31.5 ±1.0
Ash content (%)	M	29.0 ±0.6	41.7 ±1.5	44.4 ±0.8	49.5 ±0.7	48.1 ±1.0	48.6 ±0.5	47.4 ±0.5	47.4 ±1.0	46.3 ±1.0	44.7 ±1.1	39.5 ±2.5	37.9 ±0.7
	F	30.3 ±0.7	49.2 ±0.9	47.9 ±1.4	49.0 ±0.5	50.0 ±0.4	50.1 ±0.1	49.9 ±0.6	49.9 ±1.5	50.4 ±0.9	50.3 ±1.6	49.5 ±0.7	48.1 ±3.0
<i>First lumbar vertebra</i> Water content (%)	M	43.1 ±1.4	34.2 ±2.0	33.2 ±1.0	33.1 ±1.1	32.8 ±2.1	30.3 ±1.0	32.3 ±2.1	34.2 ±1.5	36.1 ±6.5	37.0 ±1.7	40.7 ±2.1	39.6 ±4.0
	F	40.5 ±3.5	32.8 ±1.8	31.0 ±0.8	29.1 ±1.7	26.7 ±3.7	24.4 ±2.0	22.4 ±1.8	24.1 ±1.2	25.8 ±1.2	27.7 ±2.9	28.3 ±1.3	28.7 ±4.4
Organic substance content (%)	M	23.8 ±1.8	26.6 ±1.3	25.4 ±0.3	24.4 ±1.2	24.0 ±4.0	26.1 ±0.7	25.7 ±0.8	25.9 ±0.9	26.2 ±2.8	26.5 ±0.6	25.5 ±0.8	25.6 ±2.0
	F	27.7 ±2.8	23.4 ±1.2	25.4 ±0.6	27.9 ±1.3	29.0 ±1.6	27.6 ±2.2	30.6 ±0.8	28.4 ±2.0	29.3 ±2.7	28.5 ±1.0	27.7 ±1.5	27.6 ±2.8
Ash content (%)	M	34.0 ±2.3	39.2 ±1.3	41.4 ±0.6	42.6 ±0.9	43.2 ±2.8	43.5 ±1.3	42.0 ±1.4	39.8 ±1.0	37.7 ±4.0	36.6 ±1.2	34.0 ±1.5	34.8 ±2.1
	F	31.8 ±2.5	43.8 ±1.8	43.8 ±0.6	42.9 ±1.1	44.3 ±3.3	48.0 ±3.0	47.0 ±1.5	47.5 ±1.2	44.9 ±2.1	43.7 ±2.6	44.0 ±1.3	43.7 ±2.4

Each value indicates the mean±S.D. for 5 rats.

Table 4. Calcium and phosphorus contents relative to wet weights of femur, tibia and first lumbar vertebra

Items	Sex	Age in months											
		1	2	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
<i>Femur</i>													
Calcium content (%)	M	6.6 ±1.0	15.3 ±1.6	16.5 ±1.2	20.0 ±1.4	21.0 ±1.4	20.4 ±0.5	26.0 ±2.2	23.7 ±2.8	22.4 ±1.9	22.8 ±2.6	22.1 ±2.3	19.6 ±3.3
	F	8.9 ±3.0	19.3 ±2.1	19.3 ±2.9	21.3 ±0.9	23.4 ±0.4	24.1 ±1.6	22.3 ±1.9	24.1 ±2.2	25.0 ±3.2	24.9 ±1.3	21.3 ±7.3	24.3 ±4.0
Phosphorus content (%)	M	5.7 ±0.5	7.3 ±0.8	7.3 ±0.4	9.0 ±0.3	8.6 ±0.5	8.8 ±0.5	9.3 ±1.1	9.1 ±1.3	7.7 ±0.8	8.5 ±1.4	10.6 ±0.3	9.5 ±0.9
	F	6.4 ±0.3	6.9 ±1.7	12.2 ±0.4	11.4 ±0.9	11.9 ±0.2	13.1 ±0.2	12.6 ±0.4	13.2 ±0.3	12.8 ±1.4	13.2 ±0.7	12.9 ±1.0	12.4 ±0.8
<i>Tibia</i>													
Calcium content (%)	M	12.4 ±0.8	16.8 ±1.1	18.3 ±0.6	21.3 ±0.7	21.4 ±0.7	21.3 ±0.9	21.5 ±0.5	18.1 ±0.5	19.2 ±3.5	16.7 ±0.7	15.9 ±1.2	15.1 ±0.4
	F	11.5 ±0.5	17.6 ±0.8	17.1 ±1.0	20.7 ±1.4	21.2 ±2.0	20.4 ±1.1	20.1 ±1.6	21.1 ±1.0	21.1 ±0.3	20.8 ±1.0	20.7 ±1.1	20.1 ±1.9
Phosphorus content (%)	M	5.6 ±0.2	8.7 ±0.7	8.8 ±0.4	9.8 ±0.4	9.4 ±1.1	9.3 ±0.5	9.7 ±0.5	9.4 ±0.9	9.2 ±1.4	8.7 ±0.8	8.6 ±0.5	8.0 ±0.3
	F	5.7 ±0.3	9.1 ±0.1	8.4 ±0.7	9.2 ±0.6	8.8 ±0.9	8.7 ±0.7	9.0 ±0.4	8.8 ±0.2	9.3 ±0.5	9.4 ±0.3	9.5 ±0.6	9.4 ±0.6
<i>First lumbar vertebra</i>													
Calcium content (%)	M	15.1 ±1.4	14.4 ±2.0	16.9 ±1.0	15.8 ±1.1	18.0 ±2.1	16.5 ±1.0	17.2 ±2.1	14.5 ±1.5	13.6 ±6.5	14.5 ±1.7	12.4 ±2.1	13.2 ±4.0
	F	15.2 ±2.4	15.4 ±0.6	13.9 ±0.3	15.5 ±1.4	16.0 ±1.4	17.5 ±1.6	17.8 ±1.0	18.4 ±1.3	18.4 ±0.9	17.2 ±1.1	16.9 ±0.6	17.0 ±1.4
Phosphorus content (%)	M	6.1 ±0.6	7.4 ±0.5	8.6 ±0.7	8.2 ±0.4	8.7 ±1.2	8.2 ±0.3	8.5 ±0.6	7.4 ±0.5	6.8 ±0.7	7.2 ±0.9	6.1 ±0.6	6.5 ±0.9
	F	5.9 ±0.2	8.4 ±0.2	7.2 ±0.3	7.4 ±0.6	7.3 ±0.5	8.5 ±0.3	9.0 ±0.2	9.7 ±1.1	8.8 ±0.8	8.6 ±0.9	8.2 ±0.3	7.7 ±0.9

Each value indicates the mean±S.D. for 5 rats.

24ヵ月齢以降減少した。雌の各重量はいずれも12ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。

(3) 第1腰椎 雄では各重量とも6ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。しかし灰化骨重量は27ヵ月齢以降減少した。雌では生骨重量は9ヵ月齢、乾燥骨および灰化骨重量は12ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。

3. 各骨の含有水分、有機成分および灰分量 (Table 3.)

(1) 大腿骨 雄の水分含有量は6ヵ月齢まで減少した後変化しなかったが、24ヵ月齢以降増加した。有機成分含有量は6ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。灰分含有量は9ヵ月齢まで増加した後変化しなかつ

たが、27ヵ月齢以降減少した。雌では水分含有量は9ヵ月齢まで減少、有機成分含有量は9ヵ月齢まで増加、灰分含有量は12ヵ月齢まで増加した後変化しなかつ

(2) 脛骨 雄の水分含有量は6ヵ月齢まで減少した後変化しなかったが、24ヵ月齢以降増加した。有機成分含有量は2ヵ月齢以降変化しなかった。灰分含有量は6ヵ月齢まで増加した後変化しなかったが、15ヵ月齢以降減少した。雌では水分含有量は6ヵ月齢まで減少した後変化しなかった。有機成分含有量は1～3ヵ月齢でやや低値を示したが、以降変化しなかった。灰分含有量は6ヵ月齢まで増加した後変化しなかつ

Table 5. Serum biochemical constituents

Items	Sex	Age in months											
		1	2	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Calcium concentration (mg/dℓ)	M	11.2 ±0.4	10.3 ±0.5	10.0 ±0.8	9.9 ±0.5	9.8 ±0.5	9.5 ±0.3	9.8 ±0.7	10.3 ±0.6	10.3 ±0.4	10.2 ±0.4	10.8 ±0.5	10.8 ±0.8
	F	11.3 ±0.5	10.3 ±0.8	10.2 ±0.8	10.3 ±0.4	10.1 ±0.6	9.9 ±0.3	9.9 ±0.6	10.8 ±0.1	10.7 ±0.4	10.6 ±0.7	10.7 ±0.7	11.0 ±0.7
Phosphorus concentration (mg/dℓ)	M	10.0 ±0.7	8.5 ±0.6	8.2 ±0.8	8.0 ±0.4	6.5 ±0.3	6.3 ±0.7	6.2 ±0.8	5.9 ±0.8	5.9 ±0.2	5.9 ±0.7	6.7 ±0.9	6.8 ±0.6
	F	10.3 ±0.4	8.0 ±0.7	7.2 ±0.6	6.9 ±0.2	6.0 ±0.9	5.7 ±0.5	5.6 ±0.8	6.0 ±0.5	5.7 ±0.6	5.7 ±0.8	5.7 ±0.6	6.9 ±0.9
Alkaline phosphatase activity (U/ℓ)	M	541 ±35	318 ±54	218 ±29	133 ±17	108 ±10	113 ±12	102 ±7	96 ±11	99 ±14	89 ±18	93 ±15	93 ±16
	F	505 ±50	263 ±16	186 ±20	138 ±15	114 ±19	118 ±18	132 ±23	107 ±29	97 ±12	99 ±24	91 ±22	107 ±11

Each value indicates the mean±S.D. for 5 rats.

(3) 第1腰椎 雄の水分含有量は12ヵ月齢まで減少した後、15ヵ月齢以降増加した。有機成分含有量の変化はみられなかった。灰分含有量は6ヵ月齢まで増加した後変化しなかったが、18ヵ月齢以降減少した。雌の水分含有量は15ヵ月齢まで減少した後、18ヵ月齢以降増加した。有機成分含有量の変化はみられなかった。灰分含有量は12ヵ月齢まで増加した後、減少した。

4. 各骨のカルシウムおよびリン含有量 (Table 4.)

(1) 大腿骨 カルシウム含有量は雄では15ヵ月齢まで増加した後減少した。雌では12ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。リン含有量は雄では6ヵ月齢まで、雌では12ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。

(2) 脛骨 カルシウム含有量は雄では6ヵ月齢まで増加した後変化しなかったが、18ヵ月齢以降減少した。雌では6ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。リン含有量は雄では2ヵ月齢以降12ヵ月齢まで変化しなかったが、15ヵ月齢以降減少した。雌では2ヵ月齢以降変化しなかった。

(3) 第1腰椎 カルシウム含有量は雄では9ヵ月齢まで増加した後変化しなかったが、18ヵ月齢以降減少した。雌では18ヵ月齢まで増加した後減少した。リン含有量は雄では3ヵ月まで増加した後変化しなかったが、18ヵ月齢以降減少した。雌では18ヵ月齢まで増加した後減少した。

5. 血清総カルシウム、リン値およびアルカリフォスファターゼ活性値 (Table 5.)

血清総カルシウム値は雌雄とも12ヵ月齢まで減少し

たが、18ヵ月齢以降やや高い値であった。血清総リン値および血清アルカリフォスファターゼ活性値はそれぞれ雌雄ともに9ヵ月齢まで減少した後変化しなかった。

考 察

成長に伴う変化をみると、大腿骨、脛骨および第1腰椎のいずれの重量も雌雄ともに急速な増体重がみられる1-3ヵ月齢において著しく増加した。この成長に伴って骨格が形成される時期の骨の含有水分、有機成分および灰分量の変化はそれぞれ異なり、水分量は減少、逆に灰分量は増加するが、有機成分量はほとんど変化しなかった。この結果は、骨の成長に伴って骨基質が骨の大きさや重さに対応して形成され、この基質の石灰化が盛んに進んでいることを示していると推察された。このような変化は3ヵ月齢以降もみられ、骨重量、カルシウムやリン含有量の変化も併せると、ラットの成長に伴う骨成分の変化がなくなり、いわゆる成熟骨の状態に達するのは雄が6ヵ月齢、雌が9ヵ月齢頃であると推察された。Legrosら[8]は1ヵ月齢と12ヵ月齢の2時点における長骨皮質骨のカルシウム含有量は有意な差がないことから、成長期におけるカルシウム含有量は一定であると報告しているが、本実験の結果とは異なっていた。

血清中の総カルシウム値、リン値やアルカリフォスファターゼ活性値の変化は、成長に伴って骨形成や骨芽細胞の活性が減少していることを反映していると考え

えられ、骨重量や含有成分量のそれと一致していた。

成長に伴う変化がわずかになったと考えられる12ヵ月齢以降では、骨重量は雌雄とも27あるいは30ヵ月齢で減少するが、含有成分量の変化はこれよりも早く15ヵ月齢以降から始まり、有機成分量は多少の増減がみられるものの一定の範囲にあるが、水分量は増加、灰分量は減少することが認められ、この変化は雄の方が雌よりも明確であった。骨中のカルシウムとリン含有量は、雄では大腿骨および脛骨では18あるいは21ヵ月齢以降にカルシウム含有量の連続的な減少が、第1腰椎ではカルシウムとリン含有量の減少が18ヵ月齢以降に認められる。しかし雌では明確な変化は認められなかった。これらの変化は、成長期には水分含有量が減少、灰分含有が増加した結果と反対の現象であった。これは、とくに雄の15ヵ月齢以降に加齢に伴って骨基質の状態に変化が起こっていることを示唆していると考えられた。

Kiebzak ら[6, 7]はウィスターラットの6, 12および24ヵ月齢の3時点における大腿骨骨幹の乾燥重量1g当たりのカルシウム含有量を比べ、24ヵ月齢の雄では12ヵ月齢よりも有意に減少したが、雌では減少は認められないことを観察し、本実験の結果と同様に加齢に伴う変化に雌雄差がみられることを報告している。一方、Safadi ら[9]は雌のウィスターラットの7ヵ月齢と27ヵ月齢の2時点における第4, 5腰椎のカルシウム含有量は7ヵ月齢に比べ27ヵ月齢では有意に減少していることを観察しており、本実験において差がみられなかった結果とは相違が認められた。Kiebzak らやSafadi らの報告は、いずれも観察年齢が少なく、カルシウム含有量以外の本実験と共通した成分については詳細に測定していない。

本実験において骨の含有成分量の加齢性変化に雌雄差があり、雄において強く認められた結果に関しては明確な要因は明らかには出来なかった。ただ体重と骨含有成分量とを比較すると、雄の体重は27ヵ月齢以降に減少したが、雌では18ヵ月齢以降増加する傾向を示したことから、雌では体重の増加が骨の刺激因子となり、骨ミネラル量や含有成分の変化を小さくした可能性が考えられる。その他の要因として、運動量や性ホルモンの動態などの差も考えられるが、本実験に使用したラットは雌雄ともに同じ大きさのケージ内で飼育したことから、著しい差はないものと思われる。いずれにしても、雌雄差の原因に関しては体重、行動や性ホルモンの動態、栄養などの要因が関与していると考

えられたが、今後の検討課題である。

著者ら[2]は本実験と同一の系統の雌雄ラットの大腿骨の骨強度と組織学的形態計測法で脛骨近位骨幹端の secondary spongiosa の梁骨エリアの単位組織中の骨量（単位骨量）のピークは12ヵ月齢に認められることを報告しているが、本実験で測定した重量や含有成分に比べて時期的な差がみられた。この原因は観察の対象が骨全体あるいは部分であること、骨皮質と骨梁骨で種々の変化に対する感受性が異なること[5]、骨の種類や同一骨内の部位によって代謝速度が異なること[10]などが考えられる。しかし、本実験の結果を成長やそれに続く変化と加齢に伴う変化を詳細にかつ総合的に検討すると、単位骨量のピークすなわち変位点が12ヵ月齢にみられた結果と著しい相違はないと判断された。

要 約

雌雄 Wistar ラットにおける骨の重量、含有成分量および骨関連血清成分の年齢変化を雄60匹、雌60匹を用いて検索した。1, 2および3から30ヵ月齢までは3ヵ月間隔の計12時点でそれぞれ雄5匹、雌5匹を供し、大腿骨、脛骨、第1腰椎の生骨、乾燥骨および灰化骨の重量、水分、有機成分、灰分、カルシウムおよびリン含有量と血清中の総カルシウム値、リン値およびアルカリフォスファターゼ活性値を測定した。各骨の重量は、雌雄とも3ヵ月齢まで急速に、それ以降雌では12ヵ月齢、雄では9ヵ月齢まで増加した後変化しなかった。しかし雄では27ヵ月齢以降減少がみられた。1ヵ月齢から6あるいは9ヵ月齢まで雌雄の各骨の含有水分量は減少、灰分量、カルシウムおよびリン含有量は増加したが、有機成分量はほとんど変化しなかった。しかし雄では15ヵ月齢以降有機成分量は変化しなかったが、水分含有量は増加、灰分量、カルシウムおよびリン量は減少した。血清総カルシウム値は雌雄とも12ヵ月齢まで減少し、18ヵ月齢以降増加した。リン値およびアルカリフォスファターゼ活性値は9ヵ月齢まで減少した。本実験で得られた成果は、既報のラットの骨強度や組織形態計測学的に測定した単位骨量のピークが12ヵ月齢に認められた成果とはほぼ一致した。

文 献

- [1] Frost, H. M. (1973). In Bone remodeling and its relationship to metabolic bone diseases, Orthopaedic lecture III. pp28-53, Charles C Thomas, Springfield.

- [2] 福田俊・飯田治三(1991). 加齢に伴う雌雄ラットの骨代謝の変化と卵巣、精巣摘出年齢による影響の差. 日骨形態誌, **1**, 89-94.
- [3] Fukuda, S. and Matsuoka, O. (1979). Maturation process of secondary ossification centers in the rat and assessment of bone age. *Exp. Anim.*, **28**, 1-9.
- [4] Harrison, J. E., Patt, N., Muller, C., Bayler, T. A., Budden, F. H., Josse, R. G., Murray, T. M., Sturtridge, W. C., Strauss, A., and Goudwin, S. (1991). Bone mineral mass associated with post-menopausal vertebral deformities. *Bone Miner.*, **10**, 243-251.
- [5] Jowsey, J. (1977). Metabolic diseases of bone. pp 41-47, WB Saunders, Philadelphia.
- [6] Kiebzak, G. M., Smith, R., Howe, J. C., Gundberg, C. C., and Sacktor, B. (1988). Bone status of senescent male rats: Chemical, morphometric, and biomechanical analyses. *J. Bone Miner. Res.*, **3**, 37-45.
- [7] Kiebzak, G. M., Smith, R., Gundberg, C. C., Howe, J. C., and Sacktor, B. (1988). Bone status of senescent female rats: Chemical, morphometric, and biomechanical analyses. *J. Bone Miner. Res.*, **3**, 439-446.
- [8] Legros, R., Balnain, N., and Bonel, G. (1987). Age-related changes in mineral of rat and bovine cortical bone. *Calcif. Tissue Int.*, **41**, 137-144.
- [9] Safadi, M., Shapira, D., Leichter, I., Reznick, A., and Silbermann, M. (1988). Ability of different techniques of measuring bone mass to determine vertebral bone loss in aging female rats. *Calcif. Tissue Int.*, **42**, 375-382.
- [10] Wronski, T. J., Smith, J. M., and Jee, W. S. S. (1981). Variations in mineral appositional rate of trabecular bone within the beagle skeleton. *Calcif. Tissue Int.*, **33**, 583-586.