原著

微小部 X 線回折によるラット大腿骨の加齢変化の研究

諏訪武利^{1, 2)}、寒河江登志朗³⁾、中田浩史²⁾、沼田靖子⁴⁾、佐藤 勇¹⁾、大塚 誠⁵⁾

¹⁾ 日本大学理工学部量子科学研究所 〒274-8501 千葉県船橋市 習志野台 7-24-1

²⁾ 日本大学松戸歯学部顎口腔義歯リハビリテーション学講座 〒271-8587 千葉県松戸市栄町西 2-870-1

³⁾ 日本大学松戸歯学部組織・発生・解剖学講座 〒271-8587 千葉県松戸市栄町西 2-870-1

⁴⁾ 日本大学大学院松戸歯学研究科 〒271-8587 千葉県松戸市栄町西 2-870-1

⁵⁾ 武蔵野大学薬学部製剤学研究室 〒202-0023 東京都西東京市新町 1-1-20

(受理：2007 年 11 月 2 日)

抄録：われわれは高齢ラットの骨を Micro-XRD により分析を行っていたところ、興味ある結果を得たので報告する。

試料は 96 週齢の大腿骨とし、コントロールは 8 週および 48 週後の大腿骨とした。測定は合計 10 点を 1,800 sec 行った。

96 週齢の骨の結晶はコントロールと比較して、ピークの出ない部位が多く、結晶の悪い部位が多かった。

A Study of Age-Related Changes of Rat Thighbone by The Micro-XRD

Suwa Taketoshi^{1, 2)}, Sakae Toshiro³⁾, Nakada Hiroshi²⁾, Numata Yasuko⁴⁾, Sato Isamu¹⁾, Otsuka Makoto⁵⁾

¹⁾ Laboratory for Electron Beam Research and Application, Nihon University

²⁾ Gnatho-Oral Prosthetic Rehabilitation, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

³⁾ Department of Histology, Cytology and Development, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

⁴⁾ Complete Denture Prosthodontics, Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo

⁵⁾ Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Musashino University

Abstract: We obtained interesting results when analyzed the bones of the aged rats by the Micro-XRD. The samples were in a rat thighbone after 96 weeks and in rat thighbone after 8 weeks and 48 weeks as control group. The samples were analyzed ten points and 1,800 sec by the Micro-XRD. The crystal after 96 weeks was worse than control group.

Key Words: Aged rat, Micro-XRD

緒言

これまでわれわれは、ウサギの骨結晶について研究を行ってきた¹⁻⁴⁾。その中で、骨の結晶は同じ骨において、部位により一様でないことが分かってきた^{1, 2)}。今回、96 週齢の高齢ラットの骨における結晶分析を微小部 X 線回折装置 (Micro-XRD) により行ったところ興味ある結果を得たので報告する。

材料および方法

試料

高齢ラットの骨は、96 週後に大腿骨を摘出し 10% ホルマリンで固定を行った。コントロールは、8 週および 48 週後の大腿骨とし、同様に摘出後 10% ホルマリンで固定を行った。

Micro-XRD による分析

Micro-XRD による分析は、RINT-2500 湾曲 Position Sensitive Proportional Counter (PSPC) 型微小部 X 線回折装置 (Rigaku) により以下の測定・解析条件により行った。

X 線発生装置：リガク回転対陰極型強力 X 線発生装置、対陰極：Cu、加速電圧：50kV、加速電流：200 mA、X 線モノクロメーター：グラファイト結晶、X 線波長：1.542 Å (CuKα) X 線ビームコリメータ：直径 100 の円形、測定領域：X 線ビーム径 100μm (試料面上で直径 292μm 短径 100μm の楕円形) 試料揺動：入射 X 線方向に対する傾き (ω)：20 度固定、/ 直交方向の傾き (χ)：-30 ~ 30 度、試料回転 (φ)：0 度 (中心位置) および 1 度 (揺動幅) 検出器：リガク湾曲 PSPC (Position Sensitive Proportional Counter) 測定

図1. 8週齢、48週齢および96週齢の測定部位を示す。

左：8週齢、中：48週齢および96週齢。 ☆：ピークの出た部位、 ●：ピークの出なかった部位。

図2. 8週齢、48週齢および96週齢のMicro-XRDパターン。

角度範囲：0度～160度(2θ)PHA(Pulse Height Analyzer): 標準設定、角度分解能：0.04度、計測時間：1800 sec、データ解析ソフト：JADE5.0+ (MDI社)。
測定は、皮質骨および骨髓部を合計10点行った。

結果

図1には、ピークの出た部位を印および出なかった部位を印で示した。また図2には、ピークの出たチャートを各週齢1つずつ示した。ピークの出た結晶の良い部位では、骨特有のチャート⁵⁾が得られた。どの週齢においても部位により、ピークにばらつきがあった。部位による結晶の良し悪しが各週齢であるものの、8週齢、48週齢および96週齢では、大きな違いは認められなかった(図2)。しかし、96週齢ではピークのでない部位が明らかに多かった(図1)。

考察

各週齢において、これまでのウサギの骨における分析結果と同様に結晶が部位により様でなかった^{1,2)}。

今回、高齢ラットである96週齢の骨の結晶はコントロールと比較して、良い部位においてほとんど違いはなかった。しかしながら、明らかにコントロールよりも、ピークの出ない部位が多く、結晶の悪い部位が多かった。これは、コントロールに比較して骨質が弱くなっていると考えられる。今回の結果から、高齢ラットの骨の結晶はある一定の時期を過ぎると、悪い部位が多くなることが示唆された。しかしながら、今回サンプル数も少なく、測定が10点と限られていることから、個体数および測定部位を増やすなど、さ

らに分析をしていかなければならない。

謝辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金(研究基盤(C)課題番号17591927および若手研究(B)課題番号19791462)により行われた。また、本研究に於いて利用したMicro-XRDは、日本大学量子科学研究所電子線利用研究施設(LEBRA)に設置されたものであり、LEBRAの関係者各位に深く謝意を表します。

参考文献

1. 諏訪武利、寒河江登志朗、中田浩史、加藤仁夫、小林喜平: アパタイトプラスト処理インプラント周囲における新生骨の結晶性の評価. 日本口腔インプラント学会誌. 19: 453-460, 2006
2. Suwa T, Sakae T, Nakada H, LeGeros RZ and Kobayashi K: Variation in Composition of Bone Surrounding Implants. Key Engineering Materials 309-311:19-22, 2006
3. 諏訪武利、寒河江登志朗、中田浩史、小林喜平: ウサギ脛骨における炭酸カルシウム結晶の検出 - 微小X線回析法による研究 -. Journal of Hard Tissue Biology. 16, 2007 (印刷中)
4. 中田浩史、寒河江登志朗、町田 健、加藤仁夫、小林喜平: プラスト処理したインプラント周囲の骨形成パターン - ウサギ脛骨における反射電子顕微鏡像観察 -. 日本口腔インプラント誌. 16: 477-484, 2003
5. LeGeros RZ. Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine. Karger, Basel; 1991. p. 108-29.