

主論文の要旨

**Effect of acupuncture at the Shenshu point
on the bones of ovariectomized rats**

〔 卵巣摘出ラットの骨に対する腎兪穴への鍼治療の影響 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
健康増進医学講座 健康スポーツ医学分野

(指導：押田 芳治 教授)

武田 充史

【はじめに】

伝統的な中国医学のひとつである鍼治療は、骨粗鬆症の治療へも臨床的に使用されている。卵巣摘出ラット（OVX ラット）を用いた研究においては、鍼治療が骨吸収マーカーである尿中デオキシピリジノリンを低下させ骨形成マーカーである血中オステオカルシンを増加させることより、骨吸収を抑制し、そして骨形成を促進することを示唆する報告がある。しかし、その効果と根底にあるメカニズムの解明については未だ明確になっているとは言えない。そこで我々は、腎兪穴への鍼治療が骨密度、尿中 1 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド（NTx）、血漿エストラジオールおよびテストステロンレベルへ及ぼす影響を OVX ラットと偽手術ラットの両方を用いて評価し、さらに骨質についてマイクロ CT を用いて骨梁構造を解析し、検討を行った。

【方法】

7 週齢の Sprague-Dawley 雌性ラット 48 匹（ 192 ± 9 g）を購入し、1 週間の予備飼育の後に実験を開始した。ラットを偽手術のみ（Sham）、偽手術と鍼治療（Sham ACP）、卵巣摘出のみ（OVX）、卵巣摘出と鍼治療（OVX ACP）の 4 つの群に分割した。そして 9 週齢時に両側卵巣切除術または偽手術をペントバルビタール麻酔下で行った。術後 1 週間後の 11 週齢から 26 週齢までの 15 週間、継続して週 3 回の鍼治療を行った。治療穴は中国伝統医学の古典『黄帝内経・素問』の説に従い腎兪穴とし、部位は第 2 腰椎棘突起下縁の外方 1 cm へ取った。そして両側の腎兪穴に直径 0.3mm の鍼灸針を刺入して非拘束で 10 分間留置した。実験の期間中、経時的に体重、食餌量、骨密度そして NTx を計測し、27 週齢時に血液および骨サンプルを採取して血漿中のエストラジオールとテストステロンそして骨梁構造を解析した。評価項目の計測方法は、骨密度は DEXA 法、骨梁構造はマイクロ CT を用いた三次元骨梁構造解析法、NTx、エストラジオールそしてテストステロンは ELISA 法を用いた。

【結果】

骨密度のデータを表 1 に示す。14 週齢において OVX ラットの腰椎骨密度は、Sham ラットと比較して有意な低値を示し、鍼治療を開始して 7 週間後にあたる 18 週齢にて OVX ACP ラットは OVX ラットと比較して高値を示した。

骨梁構造解析のデータを表 2 に示す。測定部位は第 6 腰椎椎体の尾側縁より吻側に向かって 500 から 600 μ m の間とした。OVX ACP ラットの骨梁間隔（Tb.Sp）は OVX ラットと比較して有意な低値を示した。

尿中 NTx の 24 時間排出量を図 1 に示す。鍼治療開始後 3 週間後にあたる 14 週齢時において、OVX ラットの尿中 NTx 量は Sham ラットと比較して有意な高値を示した。そして OVX ACP ラットの尿中 NTx 量は OVX ラットと比較して有意な低値を示した。18、22 そして 26 週齢において群間差異は認められなかった。

血漿エストラジオールおよびテストステロン濃度を図 2 に示す。27 週齢時において OVX ラットの血漿エストラジオール濃度は Sham ラットおよび Sham ACP ラットと

比較して有意な低値を示し、OVX ACP ラットは OVX ラットと比較して有意な高値を示した。血漿テストステロンにおいて Sham ラット、OVX ラットそして OVX ACP ラットの間には有意な差異は認められなかったが、これら 3 群と比較して Sham ACP ラットの血漿テストステロン濃度は有意な高値を示した。

経時的な体重の変化を図 3 に示す。OVX ラットの体重は、12 週齢時の Sham ラットの体重より高値を示し、この差異は実験終了まで持続した。さらに鍼治療は 14 週齢より OVX ACP ラットの体重を有意に減少させ、その効果はその後も続いた。そして鍼治療は Sham ACP ラットの体重へは影響しなかった。

カロリー摂取量の経時変化を図 4 へ示す。13 週齢および 14 週齢において OVX ラットは、Sham および Sham ACP ラットよりも有意に高いカロリー摂取量を示した。14 週齢時のみ OVX ACP ラットのカロリー摂取量は OVX ラットより有意な低値を示した。

【考察】

OVX ラットに対する 7 週間の鍼治療の効果は十分ではなかったが、腰椎骨密度の低下を有意に逆転させることができた。マイクロ CT を用いた分析結果は OVX ACP ラットの骨梁間隔が OVX ラットよりも狭いことを示し、NTx の増加抑制は骨吸収の減少を意味している。さらに OVX ACP ラットの血漿エストラジオールレベルを増加させた。また、これらの効果は Sham ACP ラットでは観察されなかった。そして鍼治療は Sham ACP ラットのテストステロン濃度を上昇させた。これらのデータは、OVX ラットの骨の脆弱性を予防する上での腎兪穴に対する鍼治療の役割を示している。我々を含むいくつかのグループにより卵巣摘出ラットの骨量減少および骨構造の劣化に対する鍼治療の予防効果が報告されている。先行研究では使用している経穴が異なり、また複数の経穴を用いているが我々は腎兪穴のみで研究を行った。我々の研究では、腎兪穴への鍼治療は骨吸収マーカーである尿中 NTx を有意に減少させることを示した。しかしながら、この効果は一時的であり鍼治療開始後 3 週にのみ観察され、以後は観察されなかった。これらは 7 週間の治療において見られた腰椎骨密度の一時的な増加を説明するかもしれない。そして我々の研究では 27 週齢時の OVX ACP ラットにて血漿エストラジオールレベルが増加した。この現象は先行研究にも報告があり、また電気鍼治療にて性腺外における芳香化が増強されることが報告されている。さらに、Sham ACP ラットでは Sham ラットと比較して血漿テストステロンレベルが有意に上昇したが OVX と OVX ACP ラットではテストステロンレベルに有意な差異はなかった。先行研究では SAM-P6 マウス（骨粗鬆症モデル）の腎兪穴に対する鍼治療にてテストステロンレベルの上昇が報告されている。先行研究の研究結果を合わせて考察すると、本研究におけるエストラジオールレベルの上昇は、鍼治療によって増加したテストステロンがエストラジオールへ変換されて生じた可能性がある。エストロゲン濃度の低下は肥満を引き起こすため卵巣摘出ラットは手術後に体重が増加する。本研究では、3 週間の鍼治療の後に OVX ACP ラットの体重は OVX ラットよりも有意な低

値を示し、この差異は実験終了まで維持された。そして OVX ACP ラットのカロリー摂取量は OVX ラットよりも有意な低値であった。卵巣摘出術後の肥満は、血清レプチンの上昇および視床下部と脂肪組織におけるそのレセプターが関連している。またレプチンは骨形成を抑制することが報告されている。よって本研究における鍼治療の結果について、レプチンが機序に関わっている可能性がある。本研究は OVX ラットに対する鍼治療の効果をマイクロ CT にて解析した最初の報告である。鍼治療後の OVX ACP ラットの腰椎における骨梁間隔は OVX ラットと比較して有意な低値を示した。本研究には限界がある。7 週間の鍼治療で腰椎骨密度は変化するが、3 週間の鍼治療後におけるエストラジオールとテストステロンレベルを調べたところ上昇していなかった。(データは示していない。)しかし、末梢のエストロゲンレベルの変化は異なっている可能性があり、それが本研究の骨吸収のデータの違いを説明する可能性がある。

【結論】

卵巣摘出ラットの腎兪穴に対する鍼治療は骨吸収を抑制することにより骨量減少を予防する。鍼治療をした OVX ラットと鍼治療をした Sham ラットでの鍼治療効果は、骨量減少予防効果がエストロゲンレベルの上昇と関連する可能性があることを示唆する。マイクロ CT による骨の構造解析は、鍼治療の効果が有益であったことを支持する。