

## 同位体顕微鏡および振動分光法による骨質の解析

### Characterization of bone qualities by isotope microscope and vibrational spectroscopy

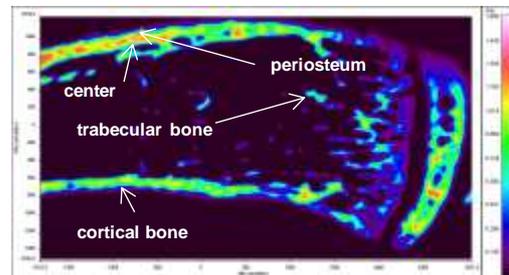
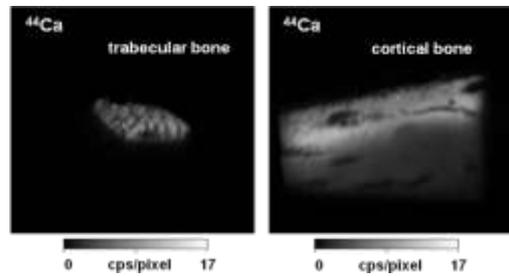
バイオ・マテリアル学科 木村-須田廣美 (Hiromi KIMURA-SUDA)

We describe the analysis by isotope microscope system, Fourier transform infrared (FTIR) imaging system and Raman spectroscopy to characterize bone mineral turnover in proximal tibias of 7-week male mice fed a diet containing calcium stable isotope ( $^{44}\text{Ca}$ ). In isotope microscope images,  $^{44}\text{Ca}$  was observed in both trabecular and cortical bone in mouse fed the diet for 4 days. FTIR and Raman spectra of cortical bone indicate the mean mineral: matrix ratios of periosteum and endosteum are lower than that of the center.  $^{44}\text{Ca}$  was observed in the area of the lower mineral: matrix ratio.

骨粗鬆症は骨強度が低下して骨折が起きやすくなる疾患で、老人の寝たきり状態を生み出す原因となっている。骨強度は骨密度が 70%、骨質（骨構造、骨代謝回転、骨疲労、石灰化度、骨基質）が 30%の割合で決定される[1,2]。本研究では骨代謝回転に着目し、マウスにカルシウム安定同位体を食餌性に摂取させ、その代謝を同位体顕微鏡、赤外イメージングおよびラマン分光を用いて解析したので報告する。

7 週齢の雄マウス群にカルシウム安定同位体( $^{44}\text{Ca}$ )を一定期間食餌性に摂取させ、脛骨を摘出した。脛骨は PMMA で包埋した後、長軸に対して並行に二等分し、その断面を同位体顕微鏡、赤外イメージングおよびラマン分光(1064nm)を用いて測定した。

Fig.1 には、安定同位体  $^{44}\text{Ca}$  を 0.6% 餌に混ぜて 4 日間継続して摂取させた雄マウスの脛骨の  $^{44}\text{Ca}$  イメージを示した。これまで、プローブを用いず骨のカルシウム代謝を可視化した報告はなく、今回初めて成功した。 $^{44}\text{Ca}$  イメージにおいて、コントラストの明るい部分（白色）には  $^{44}\text{Ca}$  が多く分布しており、皮質骨（右）と海綿骨（左）すべてにおいて  $^{44}\text{Ca}$  の陰影により短期間に石灰化が行われていることが明らかとなった。骨代謝は、成長時に観察される積極的な骨形成（モデリング）と、成長後の骨吸収とのカップリングによる骨形成（リモデリング）がある。本実験で使用したマウスは 7 週齢であることから、観察されたカルシウム代謝はモデリングとリモデリングの両方の可能性が考えられる。Fig.2 には同試料の赤外イメージ ( $\text{PO}_4^{3-}$  の分布)を示した。赤外イメージから抽出した赤外スペクトルのリン酸とアミド I のバンド比から石灰化度を検討した結果、骨膜と骨内膜に近い部位は、中心部に比べて石灰化度が低いことが確認された。同様の結果は、ラマンスペクトルからも得られている。また、石灰化度が低い部位は、 $^{44}\text{Ca}$  イメージと良く一致していた。これらの結果から、同位体顕微鏡観察、赤外イメージングおよびラマン分光法の併用は、カルシウム代謝の解析に有効であることが示された。



#### 参考文献：

- [1] 須田立雄 et al., 新骨の科学, 医歯薬出版株式会社, pp.279-286 (2007).
- [2] 木村-須田廣美, 大和英之, 腎と骨代謝, Vol.22, pp.207-214 (2009).