Diphosphonate による骨, 軟骨石灰化障害及び 骨吸収障害に関する実験的研究

——骨折治癒過程に及ぼす Ethane-1-Hydroxy-1,
1-Diphosphonate (EHDP) の影響——

九州大学医学部整形外科

塩 田 悦 仁・江 口 正 雄
川 村 秀 哉・山 口 司
黒 木 健 文・柴 田 堅一郎
島 内 卓・和 田 文 夫
橋 口 重 明

The Effects of Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP) on the Fracture Healing in Rats

by

E. Shiota, M. Eguchi, H. Kawamura, T. Yamaguchi, T. Kuroki,
K. Shibata, T. Shimauhi, F. Wada and S. Hashiguchi

Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, Kyushu University,
3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 812, Japan

The effects of high doses of EHDP on the healing process of non-immobilized fractures in young female rats tibia were observed roentgenographically and histologically.

EHDP (60 mg/kg/day for 7 days) failed to affect the formation of the fibrocartilaginous and bony callus, but strongly inhibited the mineralization and calcification of the callus at two weeks after fracture.

At 4-6 weeks after fracture, resorption of the dead bone and remodelling of the callus were also inhibited and fracture callus seemed to be osteoporotic roentgenographically in EHDP-treated rats.

はじめに

我々は, Diphosphonate 投与による 幼若ラットの
脛骨近位部骨端軟骨板に及ぼす影響を中心に検討し,
Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP)
が少量投与で骨吸収抑制作用, 又大量投与で石灰化抑
制作用という 2 面の効果を発揮し, その臨床応用の可
能性ととともに, 骨代謝の基礎を理解する上でも, きわ
めて興味深い薬剤であることを報告してきた¹⁻⁵⁾。

今回は, 骨折治癒過程において, EHDP 1 週間大量

投与が, 仮骨の形成, 石灰化及びモデリングなどに関
してどのような影響を及ぼすかを検討し, 若干の知見
を得たので報告する。

実験材料及び方法

実験動物として生後 4 週令の Wistar-King A ×
スラット (BW: 70-80 g) を使用し, 日本クレア CE
-2 固型飼料 (Ca=1.16%, P=0.96%, Vit D₃=
2000 IU/kg) にて飼育した。(九州大学 医学部動物実
験施設 SPF)

Pentobarbital (1 ml/kg) の全麻下に、右脛骨骨幹部中央に、用手的に皮下横骨折をおこし、とくに外固定を加えることなく放置した。EHDP は生食に溶解して、pH=7.4 に調整し、60 mg/kg を皮下に、骨折当日より7日間連続投与した。骨折後10日、2, 3, 4, 5, 6, 7, 8週目に経時的に、脱血と殺し、両後肢を採取して、Softex 撮影、脱灰 HE 染色、Micro-radiography 硬組織の Tetrachrome 染色、仮骨の Von Kossa, HE 染色などにより検討した。

結果及び考察

図1に、骨折後2, 4, 6, 8週目のレ線所見を示した。Control 群においては、骨折後5日目より仮骨形成が始まり、2週目には図に示したように、骨折部両端からの外骨膜性仮骨が顕著となる。4週目では仮骨は増生して架橋形成をなし、骨折端部のリモデリング

もかなり進行している。一方 EHDP 投与群では、レ線上10日目までは全く仮骨形成を認めず、2週目に至りようやく、図に示したように骨折端部にわずかな石灰化陰影を認めるにすぎない。4週目には、架橋形成をなした仮骨にも、全体的に石灰化を呈してくるが、骨折端部の原骨皮質は6週目になっても未だ吸収されずに残存している。又、仮骨はレ線上、全体として Osteoporotic にみえる。これらの所見は8週目には、ほぼ Control に近い状態に回復している。この期間は、既に報告した EHDP 1週間大量投与後の骨成長抑制効果の持続期間とほぼ一致している⁹⁾。近位部骨端軟骨板の所見は、今まで報告してきた所見と同様であり、EHDP 投与による石灰化障害作用は、骨折後2週即ち EHDP 投与中止後1週まで継続し、以後は石灰化を生じていくことが、図に示したように、骨折側脛骨においても確認された。

図1 骨折治癒過程に及ぼす EHDP の影響

図2 骨折後2週目のH&E染色(×6)
A: Control
B: EHDP投与群

図2は、骨折後2週目の脱灰HE染色の所見であり、軟骨性及び骨性仮骨の形成は、ControlとEHDP投与群とで大差がないことがわかる。つまり、EHDP投与群では、レ線所見で認められたように、石灰化が障害されてはいるものの、仮骨の形成は良好であったことが判明した。この事実は、非脱灰硬組織標本のMicroradiographyと、その同一標本のTetrachrome染色の関係からも確認された。

更に仮骨の石灰化の状態を詳細に知る目的で、骨膜下に仮骨を剥離し、Von Kossa, HE染色を施したものが、図3である。夫々、図にむかって左側に新生骨組織、右側に軟骨部を示している。EHDP投与群では、軟骨性及び骨性仮骨の形成は両者とも、Control

群とほぼ同等であるが、石灰化は全く認められなかった。

ま と め

正常ラットの骨折治癒過程を、経時的に観察し、これと対比してEHDP大量投与の影響を検討し次の結果を得た。

EHDP投与により、軟骨性及び骨性仮骨の形成に著しい障害は認められなかったが、軟骨性及び骨性仮骨の明らかな石灰化障害を認めた。

文 献

- 1) 江口正雄・他: Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP) による骨、軟骨石灰化障害に関する実験的研究—EHDP大量投与ラットに発生する骨、軟骨石灰化障害におよぼす活性型ビタミンD₃の影響—。整形外科基礎科学8: 353, 1981.
- 2) Eguchi, M., et al.: Evidence for the Promotion of Calcification and Bone Formation [Asu¹⁷] -eel-Calcitonin in EHDP Induced Rickets. Bone Metabolism 15: 72, 1982.
- 3) Eguchi, M., et al.: Fault of Ossification and Calcification and Angular Deformities of Long Bones in the Mouse Fetuses Caused by High Doses of Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP) During Pregnancy. Cong. Anom., 22: 47, 1982.
- 4) 塩田悦仁・他: Diphosphonateによる骨、軟骨石灰化障害及び骨吸収障害に関する実験的研究—Ethane-1-hydroxy-1, 1-diphosphonate (EH-

図3 仮骨のVon Kossa, H&E染色(×80)
A: Control
B: EHDP投与群

- DP) 及び Dichloromethylene diphosphonate (Cl_2MDP) 投与によるラット骨, 軟骨変化のX線学的及び光顕組織学的検討一. 整形外科と災害外科, 30: 175, 1981.
- 5) 塩田悦仁・他: Ethane-1-hydroxy-1, 1-diphosphonate (EHDP) による骨, 軟骨石灰化障害及び吸収障害に関する実験的研究—EHDP 1 回大量投与後のラット骨の経時的变化一. 中部整災誌, 24: 224, 1982.
- 6) 塩田悦仁・他: Diphosphonate による骨, 軟骨石灰化障害及び骨吸収障害に関する実験的研究—Ethane-1-hydroxy-1, 1-diphosphonate (EHDP) 短期大量投与のラット骨成長に及ぼす影響一. 整形外科と災害外科, 30: 816, 1982.
-