実験的骨粗鬆症に対する Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP) の少量, 長期投与の効果

九州大学医学部整形外科

塩田悦仁・江口正雄
山口司・河野洋一
津村弘・姫野信吉
柴田堅一郎・川村秀哉

The Effects of Long-Term Low-Dose EHDP on Experimental Osteoporosis

by

E. Shiota, M. Eguchi, T. Yamaguchi, Y. Kawano,
H. Tsumura, S. Himeno, K. Shibata
and H. Kawamura

Department of Orthopaedic Surgery, Faculty
of Medicine, Kyushu University

The effects of long-term, low-dose EHDP administration on experimental osteoporosis in female Wistar rats were studied.

The experimental osteoporosis was induced by sciatic nerve dissection at major trochanter level, and EHDP was given at a dose of 0, 0.1, 1, 5 mg/kg daily for six months.

In the control group, denervated limb became osteopenic and the cortical thickness decreased markedly. Histological examination revealed thin and coarse bone trabeculae, similar to that seen in human osteoporosis. This osteoporosis was clearly prevented by EHDP given at a dose of 1 and 5 mg/kg/day. However in the rats given 5 mg/kg/day, the thickness of the epiphyseal growth plate was increased and the accumulation of nonmineralized osteoid tissue was demonstrated.

So, if a proper dose is chosen, we think that EHDP is a valuable drug for the treatment of osteoporosis.

はじめに

著者らは、第60回の本学会などで、EHDPの大量投与によって発生する石灰化障害の実験モデルを検討し、その骨代謝研究上での有用性について報告した¹⁾²⁾³⁾。

今回は、本薬剤を少量投与することによって発揮される骨吸収抑制作用に注目して、ラットの坐骨神経切除による実験的骨粗鬆症に対する影響を検討した結果について報告した。

実験材料と方法

実験動物として生後11週のWistar-King Aのメスラット(体重: 230~250 g)を使用し、日本クレアCE-2固型飼料(Ca=1.16%, P=0.96%, Vit D₃=2,000 IU/kg)にて恒温、恒湿下に飼育した。(九州大学医学部動物実験施設 SPF)

骨粗鬆症の実験モデルの作製はPentobarbital (1 ml/kg, ip)による全麻下に右坐骨神経を大転子部近位にて約1 cm切除し、右後肢の運動麻痺を発生させ

6 か月間放置する方法を用いた。手術当日より Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP) を生食に溶解して pH=7.4 に調整し, 0, 0.1, 1, 5 mg/kg をと殺前日まで連日皮下投与した。実験終了後, 脱血と殺し, 血清 Ca, Pi, アルカリフォスファ

ターゼ値を測定し, 両後肢の Softex (C-SM) 撮影, 光顕組織, 非脱灰硬組織の Contact Microradiography (CMR) などにより検討を加えた。

結果及び考察

脱神経後 6 か月になると, レ線線麻痺肢に明瞭な骨萎縮像と骨皮質幅の減少を認めた。

図 1 は, EHDP 非投与群の CMR 所見と脱灰 HE 染色の所見を対比して示したもので, それぞれ向って左側が脱神経肢, 右側が対照肢である。麻痺側では, 健側と比較して骨梁が粗で, それぞれの骨梁自体も細くなり, 組織学的にも明らかな Bone Volume の減少が認められ, いわゆる 骨粗鬆症の所見に呈していた。

このような骨粗鬆症の実験モデルに対して EHDP を少量, 6 か月間投与した場合, いかなる効果をおよぼすかを検討した。図 2 に各群の脱神経肢を比較して示した。EHDP 投与群では, その dose に応じた骨梁密度の増加が認められる。即ち, 0.1 mg/kg/day 投与群では明らかでないが, 1 mg/kg/day 投与群では Metaphysis 近位部において, 矢印で示すように帯状の骨梁密度の増加が認められる。5 mg/kg/day 投与群では, これに加えて Growth Plate の拡大が認められ, 下段の HE 染色で示すように, エオジンで

(a) 脱神経肢 (b) 対照肢

上段が CMR 所見 (×2.5), 下段が脱灰 HE 染色所見 (×10)。脱神経肢では骨梁が細く, 粗であり, 明らかな Bone Volume の減少を認める。

図 1 ラット坐骨神経切除による骨粗鬆症

(a) Control (b) EHDP 0.1mg/kg/day (c) EHDP 1mg/kg/day (d) EHDP 5mg/kg/day

上段が CMR 所見 (×2.5), 下段が脱灰 HE 染色所見 (×10)。EHDP 1mg/kg/day 投与群では矢印で示すように帯状の骨梁密度の増加が顕著である。5mg/kg/day 投与群では, Growth Plate の拡大とエオジンで濃染した Osteoid の堆積 (矢印) を認める。

図 2 実験的骨粗鬆症に対する EHDP の少量, 長期投与の効果

濃染した Osteoid が大量に推積しており、本薬剤の蓄積作用によると思われる石灰化障害を呈していた。

血清生化学では、各群とも血清 Ca および Pi には変化なかったが、アルカリフォスファターゼ値は、5 mg/kg/day 投与群で上昇の傾向が認められた。

ま と め

ラットの坐骨神経切除による実験的骨粗鬆症に対する EHDP の少量、長期投与の効果を検討し、次の結果を得た。

1) 術後6か月で、脱神経肢に明瞭な骨萎縮と骨皮質幅の減少を認めた。

2) EHDP 1 および 5 mg/kg/day 投与群では明らかな骨萎縮の改善を呈した。

3) 投与量を慎重に選択すれば、EHDP は、骨粗鬆症に対して有用な薬剤であると考えられる。

文 献

- 1) 江口正雄, 塩田悦仁: 骨形成と骨吸収におよぼす Diphosphonate の影響とその意義, 日整会誌 56: 900, 1982.
- 2) Shiota, E., Eguchi, M., Yamaguchi, T., Kuroki, T., Hashiguchi, S., Kawamura, H. and Shibata, K.: Effect of Diphosphonate on Mineralization and Resorption of Bone and Cartilage-Morphological and Serological Studies on Rats Treated with Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP) and Dichloromethylene Diphosphonate (Cl_2MDP)-, Bone Metabolism 15: 1982.
- 3) 塩田悦仁, 江口正雄, 黒木健文, 山口 司, 柴田堅一郎, 島内 卓, 川村秀哉, 和田文夫, 橋口重明: Ethane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonate (EHDP) 大量投与で生ずる骨折治癒障害に対するカルチトニンの石灰化促進効果, 整形外科と災害外科 31: 149, 1982.

質 問

大分医大 真角 昭吾

① 実験系として神経性骨粗鬆症を用いるよりも、代謝性骨粗鬆症を使った方がよいと思う。

② 左右下肢の比較ですが、対照群(コントロール)として健側肢をとっておられますが、健側肢といえども EHDP の薬剤効果がおよんでいるので、これを対照とするのは如何でしょうか。

質 問

鳥取大学整形外科 岸本 英彰

① EHDP 1 mg/kg および 5 mg/kg 投与群では、EHDP 投与により bone mass が増加したということですが、その起序について、先生はどう考えられるか。

② Bone mass の評価法として、MD 法を用いているが、MD 法計測時の写真による誤差をなくすためにアルミステップなどを用いて、測定を行われたか。

回 答

大分医大 真角教授へ

① 低カルシウム食投与や卵巣摘出などによる骨粗鬆症についても、今後検討していきたいと思います。

② ご指摘の通りで、正確には健側同志の比較が正常骨に対する EHDP の影響を、脱神経肢同志の比較が骨粗鬆症に対する EHDP の影響をみることになります。

鳥取大 岸本先生へ

① 骨吸収の抑制のみでなく、骨形成の促進もあるのではないかと考えております。

② 0.5 mm ほどのアルミステップを用いました。ラットの脛骨は、断面が三角形であるため、置き方による誤差が大きいのではないかと考えます。