実験的骨粗鬆症に対する NaF の効果

長崎記念病院整形外科

長 戸 文 明

長崎掖済会病院整形外科

山 本 登

長崎大学医学部整形外科

岩 崎 勝 郎・平 野 徹

The Effect of Fluoride on Disused Osteoporosis of The Rat

by

Fumiaki Nagato

Department of Orthopaedic Surgery Nagasaki University
School of medicine

Noboru Yamamoto

Department of Orthopaedic Surgery Nagasaki University

Katsurou Iwasaki, Touru Hirano

Department of Orthopedic Surgery Nagasaki University
School of Medicine

The therapeutic effects of fluoride alone or fluoride and calcium administration on the osteoporosis induced by disuse of the rat limb were investigated.

The limb disuse was carried out by extraction of one third of the left distal femur and an ipsilateral patellectomy.

Then they were fed by fluoride alone, fluoride and calcium.

After 8 weeks, the femur and tibia were examined for bone mass by radiographical and histomorphometrical methods.

Evaluation by microdensitometrical method. Showed that fluoride alone, and fluoride and calcium groups were improved.

But there was no precise difference between them without tVsp by histomorphometrical study.

There was suggestion that fluoride probably has a general effect on bone mineralization.

要 旨

Wistar 系成熟雄ラット (12 週令) を用い、大腿骨遠位 1/3 部切除 (左側) を行い、実験的骨粗鬆症を術側肢に作成した。

またこれらに NaF および Ca を術直後より投与した群を作成し、骨粗鬆の進行を阻止できるか否かをレ線的、組織学的に、各群間を比較検討した。

NaF 単独投与群では、MD 法にて $\Sigma GS/D$ 、GSmax

骨パターンにおいて改善傾向を示していた。NaF+Ca 同時併用群では、MD 法の $\Sigma GS/D$ 、骨形態計測による単位骨量で改善していた。

は じ め に

骨粗鬆症に対するフッ素 (F) の効果に関しては 1937 年 Roholm の報告以来、実験的、臨床的に研究されており、最近では VitD、Ca および F の三者併用で骨量が増加する報告が散見されている。しかし F の作用機

MD法による手術側、非手術側の比較

図1 手術側ではΣGS/D GSmaxにおいて上記の危険率で健側との有意差を認めた。MCIでは差は認めなかった。

序に関してはまだ不明点が多く、その効果も使用量、期間、併用薬の違いにより、有効・無効と種々の結果が生じているのが現状である。

今回われわれはラットに不働性骨粗鬆症を作成し、これに対するFの効果を検討した。

実験方法

Wister系成熟雄Rat (12週令)を使用し、ペントバルビツール麻酔下にて外側皮切にて、血管神経を損傷しないように注意しつつ、左大腿遠位1/3部を切除し、また膝蓋骨を摘出した。術後Ratは大型ゲージにてオリエンタル酵母工業MF固型飼料、水道水で自由摂取飼育した。Ratはゲージ内を自由に行動したが患肢による跛行を認めた。Ratは8週間飼育後屠殺し、両大腿骨、脛骨を摘出し軟部組織を除去した後以下の検索をおこなった。

骨形態計測による手術側、非手術側の比較

図2 手術側は単位骨量(tVsp)、平均骨梁幅(MTT)、平均骨皮質幅(MCT)において上記の危険率で減少していた。

(1) MD法による骨量の計測⁸⁾

軟部組織を除去した下腿骨を脛骨腓骨が同一平面上になる様発泡スチロールで固定し、アルミステップをおき、焦点距離1m, 70KV, 5.5秒にて撮影した。脛骨中央部をMD法により各パラメータを算出し、手術側と非手術側を比較した。

(2) 骨形態計測

大腿骨をホルマリン固定後脱灰し、小転子レベルにて横切し厚さ14μmの薄切切片標本を作成しHE染色およびテトラクローム染色(Rális)⁹⁾を行った。Leiz A. S. M. 画像解析装置を使用し、単位骨量(tVsp)、平均骨梁幅(MTT)、分画形成面(Fr FS) 分画吸収面(Fr RS)、平均骨皮質幅(MCT)を計測した。

まず手術側と非手術側それぞれ10側においてMD法および骨形態計測上どの程度の差があるかを検定してみると図1, 2に示すごとく、手術側には明らかに骨量が減少していることがわかった。それでこれを実験的骨粗鬆症の対照群とした。次に同様の大腿骨膝蓋骨切除をおこなった実験モデルに対しF投与内容により以下の3群にわけた。

第I群(F): NaFをFとして50ppm蒸留水に溶解し、飲水として投与した(5匹)。

図3 $\Sigma GS/D$ ；I 群術側はIII群術側より増加を認めた。II群内では術側健側間に差を認めなかった。 GS_{max} ；I 群内で術側、健側間の差がなくなっていた。MCI；手術側健側いずれの間でも差は認めなかった。

第II群 (F+Ca)：I 群のF量にCaを乳酸カルシウムとして5g/lを混入し同時投与した(5匹)。

第III群 (Cont)：前述対照群(10匹)

結 果 (図3)

1. $\Sigma GS/D$ ；III群では危険率1%で手術側の値が低かった。I 群では危険率5%でやはり実験側の値が低かった。しかしII群内では両者間の差は認められなかった。また群間の比較ではI 群はIIIII群にくらべ危険率1%で値が上昇しているがII群とIII群では差はなかった。

2. GS_{max} ；III群では0.1%の危険率、II群では5

%の危険率で手術側の値が低かったが、I 群内では差はみられなかった。

3. MCI；手術側、非手術側間に差はみられず、また群間にも差はみられなかった。

4. MDパターン；III群内においては、図のごとく手術側が右方へ移動し、その分布に差を認めた。I 群術側では左方へ改善傾向を示した。II群でははっきりした変化は認めなかった(図-4)。

(1) 骨形態計測 (図5, 6)

1. 単位骨量；III群およびI 群では術側の骨量は有意に低かったが、II群では有意差はみられなかった。また各群間において差はなかった。

2. 平均骨梁幅；各群内において手術側の骨梁幅が非手術側にくらべ減少していたが群間の比較では差はなかった。

3. 平均骨皮質幅；手術側、非手術側および群間に差はなかった。

4. 分画形成面；手術側非手術側間および群間に差

MD法による骨パターン分画比較

図4 III群では術側健側間に分布の差を認めた。I 群では術側が改善傾向を示した。

はなかった。

5. 分画吸収面；群間および手術側，非手術側間に差はなかった。

考 案

Fの骨に対する作用について諸家の報告が種々なされている。動物実験ではMilicic (1968)⁷⁾は、NaF投与下にCatの9週間不働化尾椎骨で類骨形成は増加するが総骨量は減少し、骨萎縮の進行は阻止できなかったとのべている。Gedalia (1970)²⁾は8週間後右後肢固定RatにNaFなどを与えた研究でCa/p比率をかえず骨幅灰分の減少を防止したと報告している。Riggins (1974)⁹⁾はRat大腿骨にてF投与は骨直径は増加するが骨強度は不変ないし低下したと述べている。一方

図5 tVsp；II群の術側健側間に差を認めなかった。MTT；各群内において改善傾向は認めなかった。

図6 FrFS；各群間において差はなかったが各群とも術側の増加傾向を認めた。FrRS；各群間および群内において差を認めなかった。

Rosen (1975) はRat尾骨を不働化させ60日間NaF, Ca, VitD併用により骨強度ミネラル濃度において骨粗鬆の進行を一部防止できたと報告している。また臨床的にはRich (1961)などが正のCa出納研究の報告をし、その後Bertstein (1967), Cohen (1969), Franke (1974)などにより骨形成刺激作用、Manzke (1977)のコラーゲン合成作用などが報告されている。またF, Ca, VitDの三者併用療法はJowsey⁶⁾(1972), Meunier (1981), Vincent (1983)などによりおこなわれ、骨形成亢進、骨量の増加を認めたと報告されている。一方本邦では滝沢(1980)¹¹⁾などはFの長期投与により逆に骨粗鬆症は進行してくるとの報告もあり、その使用

は一般化されていないようである。これらの原因として病態の明確でない骨粗鬆症という疾患に対し、投与量投与方法が一定せず、また評価判定法、判定期間などが一定でないために種々多彩な結果が生じているものと考えられる。

本実験では MD 法による評価では、I 群は GSmax, Σ GS/D, 骨パターンで、II 群が Σ GS/D で改善していた。一方骨形態計測では、II 群が単位骨量において増加していたが、他のパラメータでは差は認められなかった。骨形態計測において F が骨の形成面、吸収面には影響なく、MD 法では骨量の増加をみたということは、骨量は増加せずミネラル化が増加していると考えられ、骨には生物学的変化とは別に MD 法に影響するような物理的作用がおこっているのではないかと考えられた。

今後さらに Ca, F 量, 投与方法, 他剤併用を加えさらに検索をかさねていく予定である。

ま と め

1. 骨粗鬆症に対する F の効果を判定するために以下の実験を行った。

2. Rat 大腿骨遠位 1/3 部切除により不働性骨粗鬆症をつくり、F および F+Ca を 2 カ月間投与し対照側と比較した。

3. MD 法では F 投与群、F+Ca 併用群で骨粗鬆の進行が一部阻止されていた。

4. 骨形態計測では F+Ca 併用群が単位骨量計測において改善されていたが F 投与群では差を認めなかった。

5. 以上のことから F は骨量の増加にある程度作用しうることが示唆された。

参 考 文 献

- 1) 江口正雄：骨粗鬆症。協和企画、日本、1983。
- 2) Gedalia, I.: The effect of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride on bone immobilization in rat. Calcif. Tiss. Res. 5: 146-152, 1970.

- 3) 後藤澄雄：骨形成不全症の硬組織学的検討と NaF 投与治療について。整形外科, 27, 1105-1113, 1976。
- 4) 林 泰史：骨粗鬆症。協和企画、日本、1983。
- 5) 岩崎勝郎：脱灰標本における類骨の染色法。整形外科, 37: 917-923, 1986。
- 6) Jowsey, J.: Effect of combined therapy with sodium fluoride vitamin D and calcium in osteoporosis. The american journal of medicine 53: 43-49, 1972.
- 7) Milicic, M.: Effect of fluoride on disuse osteoporosis in the cat. The journal of bone and joint surgery 50-A 701-708, 1968.
- 8) 奥村秀雄：Microdensitometry による実験動物の肢骨 X 線像解析。骨形態計測, 3: 99-108, 1984。
- 9) Riggins R.S.: The effect of sodium fluoride on bone breaking strength. Calc. Tiss. Res. 14: 283-289, 1974.
- 10) 鈴木章俊：フッ素の作用機序に関する研究骨代謝, 11: 334-339, 1978。
- 11) 滝沢 博：老人性骨粗鬆症に対する薬物療法。日整会誌, 54: 345-355, 1980。
- 12) Vigorita: The microscopic morphology of fluoride-induced bone. Clinical Orthopaedics and Related Research 177: 274-282, 1983。

質 問 鳥取大学 山本 吉藏

実験結果でデンストメトリーでは骨量増加が得られているのに、骨形態計測では増加が得られていないとの報告ですが、この両者の discrepancy をいかに考えてしょうか。

解 答 長崎記念病院 長戸 文明

結果から、そのまま解釈すれば、ミネラル化した骨質そのものの変化によると考えられますが、まだ症例数が少なく、そのため有意差がでないのかもしれませんが、今後症例数を増やして確認していく予定です。

追 加 琉球大学 乗松 尋通

実験グループにカルシウム単独投与群をもうけていただければ、フッ化ナトリウムの効果を明確に出来ると考えます。