



Title	デュアルトレーサ法によるラットモデル代謝性骨疾患の定量的評価
Author(s)	井原, 典成;瀬戸,光
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1989, 49(5), p. 657-666
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16144
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

デュアルトレーサ法によるラットモデル代謝性骨疾患の定量的評価

富山医科薬科大学医学部放射線医学教室

井原 典成 濑戸 光

（昭和63年12月8日受付特別掲載）

（平成元年2月14日最終原稿受付）

Quantitative Assessment of Metabolic Bone Disease in Rat Models by Dual Tracer Method

Fumishige Ihara and Hikaru Seto

Department of Radiology, Toyama Medical and Pharmaceutical University

Research Code No. : 731.4

Key Words : Metabolic bone disease, Whole-body retention,
 ^{47}Ca -chloride, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP

The usefulness of radionuclide techniques for early differential diagnosis of metabolic bone disease has been controversial. We tried to develop a new method to distinguish alterations in bone metabolism prior to radiologic changes, measuring 24-hr whole-body retention (WBR) and femoral uptake of two radiopharmaceuticals (^{47}Ca -chloride, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP). Control normal (C), osteoporosis (P) osteomalacia (M) and steroid-induced osteoporosis (S) were produced in 60 eight-week old Wistar male rats by means of dietary manipulation and steroid administration. Fine detail radiographs of the femurs and bone specimens were obtained over six weeks at two week intervals.

Good correlation between WBR and femoral uptake of ^{47}Ca was noted ($r=0.86$, $p<0.01$). WBR ratios of ^{47}Ca were significantly higher in the M and S groups and were lower in the P group when compared to the C group throughout the study. WBR ratios of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP were significantly higher in the M group and were lower in the S group from the 2nd week. Fine detail radiographs analyzed by microdensitometry revealed significant osteopenia in the S, M and P groups from the 4th week. The dual tracer method was found to distinguish alterations in bone metabolism in the groups examined prior to detectable radiologic changes.

緒 言

骨代謝の研究は第二次世界大戦後、骨親和性の放射性核種であるカルシウムやアルカリ土類金属の入手が容易になり、急速な発展を遂げた。当時の研究は主に腸管からの放射性カルシウムの吸収を評価するものであり^{1)~5)}、尿および糞便中の放射能の測定が不可欠であった。その後、体外計測法も報告されているが⁶⁾⁷⁾、代謝性骨疾患を早期に鑑別する方法は確立されていない。

骨親和性放射性核種の早期（数時間）の骨摂取は骨新生速度よりも他の因子、即ち、血流、骨表面への結合および毛細血管の透過性などが関与していると考えられており^{8)~10)}、晚期（数日）の骨摂取は不活性骨細胞への拡散もあるが、主として新生骨への集積が関与していると言われている¹¹⁾。従って、放射性核種の骨摂取を測定する際、測定時間が非常に重要になってくる。

Wilsonら¹²⁾は放射性アルカリ土類金属であ

る⁸⁵Sr-chloride および¹³¹Ba-nitrate ならびにリン酸化合物の¹¹¹In-EDTMPなどを使用して、代謝性骨疾患モデルラットの大腿骨の晚期(4~6日)骨摂取率から代謝性骨疾患の鑑別診断を試みているが、骨の一部である大腿骨の変化が必ずしも全身骨の変化を反映していないこともあり¹³⁾¹⁴⁾、また⁸⁵Sr や¹³¹Ba は臨床では使用される可能性は少なく、さらに数日後の骨摂取率の測定では遅すぎるなど問題を残していた。Fogelman ら¹³⁾は臨床応用をめざして、リン酸化合物である^{99m}Tc-HEDP (hydroxylidene diphosphonate) の全身残留率をヒューマンカウンタで経時的に24時間まで測定し、代謝性骨疾患での有用性を報告している。しかし、^{99m}Tc-HEDP のみの使用では骨粗鬆症群と対照群では有意差を認めず、さらに骨 X 線像との比較検討についても言及されておらず、依然、問題を残していた。

われわれは代謝性骨疾患モデルラット群を作製し、リン酸化合物では、より骨への集積が高い¹⁵⁾¹⁶⁾、^{99m}Tc-MDP (methylene diphosphonate) と⁴⁷Ca-chloride の二種類の放射性薬剤を使用するいわゆるデュアルトレーサ法を開発し、これらの両放射性薬剤の24時間全身残留率を測定することにより、1) 早期鑑別診断が可能か、2) 骨 X 線像の変化に先行するか、3) 骨組織像の変化との関係はどうかの三項目について検討した。

対象および方法

1) 実験動物

8週齢のウィスター系雄ラット60匹を3匹ずつ飼育ケージに入れ、下記の特殊飼料で、対照群(C群)、骨粗鬆症群(P群)、骨軟化症群(M群)およびステロイド誘発骨粗鬆症群(S群)の4群に分けて、6週間飼育した¹²⁾¹⁷⁾。

M群には黄色トウモロコシ：75.5%，小麦粉：20.0%，CaCO₃：3.5%，NaCl：1.0%の組成の飼料を、P群には黄色トウモロコシ：78.482%，小麦粉：20.0%，CaCO₃：0.018%，NaCl：0%，K₂HPO₄：1.5%eqm の組成で100g当たり、50,000IUのvitamin D₃を含んだ飼料を、C群には黄色トウモロコシ：74.0%，小麦粉：20.0%，CaCO₃：3.5%，NaCl：1.0%，K₂HPO₄：1.5%eqm の組

成の飼料にP群と同量のvitamin D₃を添加したもので飼育した。S群にはC群と同内容の飼料で飼育するとともに酢酸ヒドロコルチゾン(富士製薬)5mgを毎日皮下注射し、ステロイド誘発骨粗鬆症の作製を試みた¹⁸⁾。

2) 放射性薬剤

⁴⁷Ca-chloride(アマシャム化学、英国)を30μCi(1.11×10⁶Bq)、^{99m}Tc-MDP(第一ラジオアイソotope研究所)200μCi(7.4×10⁶Bq)をラットの尾静脈より、1ml用の注射器を使って、2，4，6週に静注した。

3) In vivo 測定

in vivo 測定には甲状腺摂取率測定装置(島津製UTC 8型)を使用し、測定部位が等感度になるようコリメータをはずして測定した¹⁹⁾。放射性薬剤を注射したラットをプラスチック容器内に固定し、検出器下方40cmに配置した。5分後、24時間後にラット全身の放射能を測定し、減衰を補正して、それぞれの放射性薬剤の24時間全身残留率(24-hr whole-body retention: WBR)を測定した。測定時のエネルギーインドウは^{99m}Tcは140keV±10%，⁴⁷Caは400keV以上とした。

4) In vitro 測定

6週後に両放射性薬剤の24-hr WBRを測定し、その後ラットを屠殺した。大腿骨を取り出し付着している軟部組織を取り除き、重量を測定し、その後ウェル型シンチレーションカウンタで放射能を測定して、単位重量当たりの骨摂取率(% dose/g)を求めた。

5) 骨 X 線撮影および骨密度測定

2週間ごとに各群3匹ずつ屠殺し、取り出した大腿骨を撮影した。撮影条件は焦点—フィルム間距離150cm、管電圧150kVp、管電流100mAで曝射時間は0.25secとした。また6週間後に全群屠殺し、大腿骨を上記の条件で撮影し、マイクロデンシトメータで骨X線写真の陰影濃度の黒化度を測定し²⁰⁾、大腿骨中央部における骨幅(D:骨幅、d:骨髓幅)および骨厚(GSmax:最高骨厚、GSmin:最小骨厚)の指標を求め、各群で比較した。

6) 骨組織標本の作製

2週ごとに各群3匹ずつ屠殺し、取り出した大腿骨、腸骨、腰椎を15%緩衝ホルマリン液で固定し、さらに1%N-メチルモルフォリンを含んだ0.5%塩化シアヌル酸で再度固定した。その後、蒸溜水中で10%EDTA-4Naで脱灰し、3ミクロンの厚さの切片を作製して、ヘマトキシリンおよびエオジンにより染色した²¹⁾。

7) 生化学的評価

6週後の屠殺時に頸動脈より採血し、血漿中のカルシウム(Ca)、無機リン酸(inorganic phosphate)、アルカリファスファターゼ(Al-P)および副甲状腺ホルモン(PTH)を測定し、各群で比較した。PTHはラットPTH-MM RIAキット(Incstar社、米国)を使用して、測定した。

方法の各項における種々の検査結果はC群に対する各群(P, M, S)の有意差を検討するため、Student's t testを施行した。またin vivoおよびin vitroの⁴⁷Ca摂取率の比較は回帰解析(regression analysis)を行なった。

結 果

1) 生化学的評価

飼育6週後の各群の血漿中の生化学的検査結果をTable 1に示す。C群に比較してP群ではCaはやや低く、逆に無機リン酸とAl-Pが上昇している。M群ではCaは上昇しており、無機リン酸とAl-Pは低下している。S群ではCaは正常範囲であるが、無機リン酸は著明に上昇し、Al-Pは低下している。PTHはP, M群は正常範囲であるが、S群では若干低下していた。

2) In vivoおよびin vitro測定

2週間ごとに6週まで経時的に⁴⁷Ca-chlorideおよび^{99m}Tc-MDPの24時間全身残留率(24-hr WBR)を各群で測定した。^{99m}Tc-MDPのラット

の24時間全身シンチグラムでは人間と若干異なり、数パーセントの肝摂取を認めるが、全身骨が描画されており、24-hr WBRは全身骨摂取を反映していることが分る(Fig. 1)。また遊離の^{99m}TcO₄⁻の存在を示唆する甲状腺や胃粘膜の描出は認めなかった。

⁴⁷Ca-chlorideの24-hr WBRではC群に比較して、第2週よりP群では有意に高く、M群、S群では低値を示した。第4週、6週と時間が経つにつれ、その傾向は著明になっている。

^{99m}Tc-MDPの24-hr WBRでは第2週よりM群では有意に高く、S群では低値を示している。第4週、6週でもその傾向は持続している。P群では

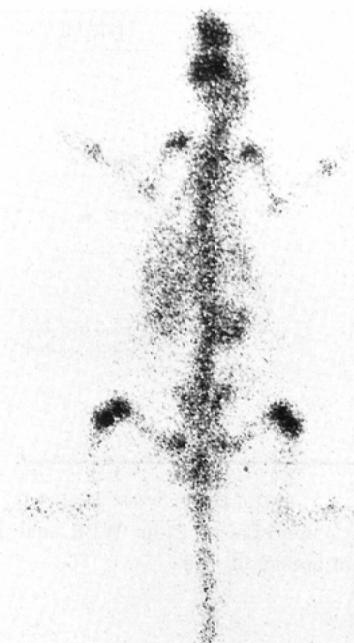


Fig. 1 24-hr whole-body scintigram of a rat with ^{99m}Tc-MDP

Table 1 Biochemical data in plasma in four groups of rats at the 6th week

	Control (n=8)	Osteoporotic (n=7)	Osteomalacic (n=7)	Steroid-induced (n=7)
Ca(mEq/l)	5.40±0.19	5.21±0.23*	7.00±0.48**	5.31±0.36
Inorganic P(mg/dl)	11.3±0.26	14.2±2.2*	7.4±1.1**	19.0±8.7**
Al-P(mU/ml)	572.6±101.3	899.0±122.0**	415.5±191.7**	244.2±104.9**
PTH(ng/ml)	3.63±0.24	3.66±0.31	3.82±0.16	3.26±0.13**

Significance : *P<0.05, **P<0.01

Table 2 Serial 24-hr whole-body retention of radiopharmaceutical in four groups of rats (%)

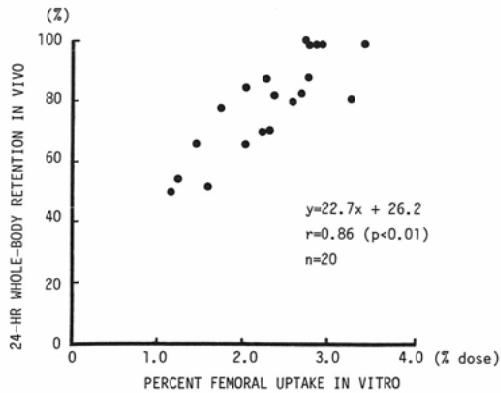
Radiopharmaceutical	Control (n=8)	Osteoporotic (n=7)	Osteomalacic (n=7)	Steroid-induced (n=7)
⁴⁷ Ca-chloride				
2nd week	79.4±2.3	95.5±2.8*	70.7±10.2*	60.2±3.5*
4th week	82.6±2.8	99.2±3.6*	74.5±6.2*	59.4±4.9*
6th week	83.9±3.2	99.6±3.8*	79.4±10.3*	56.8±12.2*
^{99m} Tc-MDP				
2nd week	53.8±2.8	48.7±2.4*	68.5±5.9*	32.9±2.5*
4th week	50.8±2.2	51.5±4.4	73.7±6.0*	30.2±1.7*
6th week	52.8±2.0	51.9±7.0	77.4±9.0*	33.7±4.8*

Significance : *P<0.01

Table 3 24-hr percent femoral uptake of ⁴⁷Ca in four groups of rats
(% dose/gram)

Time	Control (n=8)	Osteoporotic (n=8)	Osteomalacic (n=8)	Steroid-induced (n=8)
6th week	4.17±0.67	5.47±0.76*	3.32±0.87	3.30±0.91

Significance : *P<0.05

Fig. 2 Comparison of 24-hr WBR and percent femoral uptake of ⁴⁷Ca

第2週ではやや低値を示したが、第4週、6週では正常範囲となっている（Table 2）。

第6週の大腿骨の⁴⁷Ca-chlorideの単位重量当たりの骨摂取率（% dose/g）を各群で比較した（Table 3）。C群に比較してP群では有意に高く、M群およびS群では平均値は低下しているも有意差は認めなかった。

⁴⁷Ca-chlorideの24-hr WBR（%）と全大腿骨の摂取率（% dose）を比較すると相関係数は $r=0.86(p<0.01)$ と、高い相関があり、回帰式は $y=$

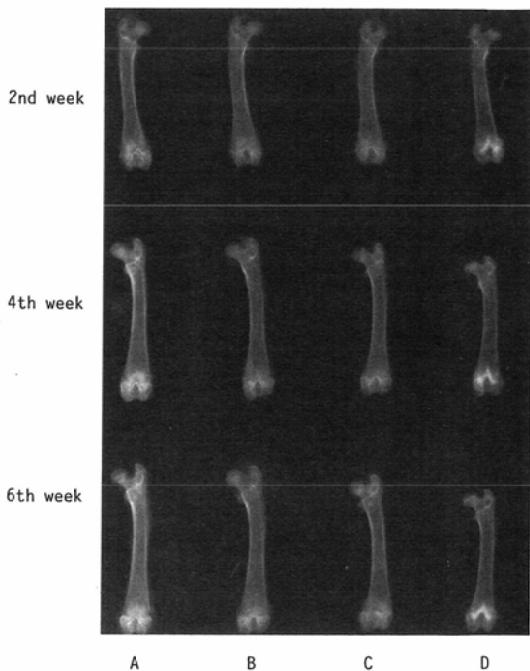


Fig. 3 Serial fine detail radiographs of femurs in four groups of rats

A: Control, B: Osteoporotic, C: Osteomalacic, D: Steroid-induced

$22.7x+26.2$ であった（Fig. 2）。

3) 骨X線像および骨密度

経的に 2 週間ごとに 6 週まで各群のラット大腿骨の骨 X 線写真を撮影した(Fig. 3)。第 2 週では各疾患群のラットの大腿骨の骨減少は明瞭でないが、第 4 週から S, M, P 群の順で骨減少および全般的な脱灰所見が認められ、第 6 週では C 群に比較して、その程度が増強している。S 群では他の所見として骨幹端の硬化所見が第 2 週から認められた。

マイクロデンシトメータによる骨 X 線写真的定量的解析では 2 週間ごと 6 週までの経時的な各群 3 個の大腿骨の解析では、P 群においては骨幅および骨厚の指標とも有意差を認めない。M 群では骨厚の指標である GSmax が第 2 週より有意に減少しており、経的には増悪傾向が認められた。S 群でも骨幅の指標は有意差を認めず、GSmax

のみが第 4 週から有意に低下していた (Table 4A)。

第 6 週の各群の大腿骨の個数が 8 個の場合の検討では疾患群の P, M, S 群はいずれも C 群に比較して骨幅および骨厚指標に有意差が認められ、S, M, P 群の順で骨減少が著明であった (Table 4B)。

4) 骨組織像

経的に 2 週ごと 6 週まで各群の腰椎の骨標本を作製し、その組織像を比較した。第 2 週ですでに P 群で骨梁の減少を示し、軽度の骨粗鬆症所見が認められ、M 群では骨梁の周囲に明らかな類骨組織が存在し、軽度の骨軟化症所見が認められる。S 群では骨梁の減少と骨髓の空洞化が著明であり、中等度の骨粗鬆症所見が認められる。いずれの

Table 4-A Indices of bone width and thickness measured by microdensitometry every 2 weeks

Index	Control (n=3)	Osteoporotic (n=3)	Osteomalacic (n=3)	Steroid-induced (n=3)
Bone width				
D	2nd week 4th week 6th week	2.59±0.04 3.04±0.20 2.99±0.15	2.26±0.05 2.91±0.19 3.10±0.24	2.74±0.20 2.80±0.04 2.83±0.22
d	2nd week 4th week 6th week	1.76±0.06 2.00±0.08 1.99±0.09	1.87±0.07 2.04±0.05 2.20±0.11	1.88±0.17 2.04±0.05 2.07±0.17
Bone thickness				
GSmin	2nd week 4th week 6th week	0.98±0.09 1.07±0.16 1.06±0.11	0.88±0.13 0.90±0.14 0.85±0.07	0.92±0.05 0.88±0.07 0.84±0.04
GSmax	2nd week 4th week 6th week	1.59±0.07 1.71±0.13 1.73±0.15	1.43±0.15 1.46±0.18 1.44±0.01	1.41±0.13* 1.36±0.15* 1.32±0.03*

Significance : *P<0.05

Table 4-B Indices of bone width and thickness measured by microdensitometry at the 6th week.

Index	Control (n=8)	Osteoporotic (n=8)	Osteomalacic (n=8)	Steroid-induced (n=8)
Bone width				
D	2.92±0.20	2.97±0.20	2.78±0.16	2.69±0.14*
d	1.78±0.29	2.11±0.14*	1.97±0.14	1.91±0.12
Bone thickness				
GSmin	1.10±0.11	0.94±0.88*	0.89±0.06*	0.88±0.07*
GSmax	1.75±0.14	1.56±0.11*	1.45±0.11*	1.42±0.10*

Significance : *P<0.01

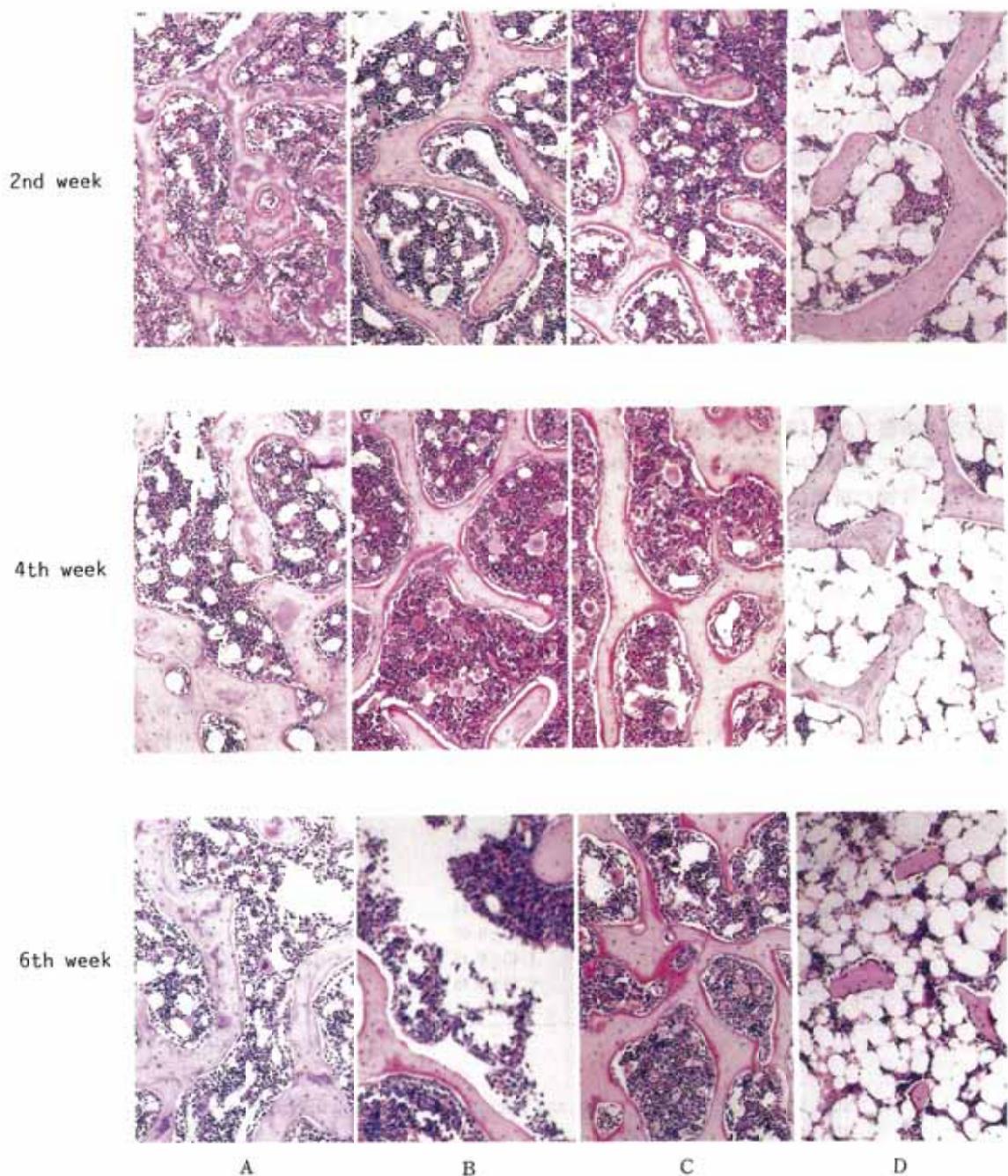


Fig. 4 Histologic study of vertebrae in four groups of rats at the 6th week. $\times 200$
A : Control, B : Osteoporotic, C : Osteomalacic, D : Steroid-induced

所見も第4週、6週と経時に増悪傾向が認められた。第4週以降ではP群に中等度の骨粗鬆症所見に軽度の骨軟化症所見の混在が認められた

(Fig. 4).

考 察
第二次世界大戦後、放射性カルシウムの入手が

容易になり、カルシウムの経口投与による腸管からの吸収の研究が人間で盛んに行なわれた^{1)~7)}。しかし、尿や糞便中の放射能の測定を必要とし、繁雑なため、現在ではほとんど使用されなくなっている。

一方、骨親和性放射性薬剤を静注して、代謝性骨疾患動物モデルで早期鑑別診断が可能かどうかを検討した報告は非常に少なく、骨の一部の放射能¹²⁾や血中の濃度²²⁾を測定するもので満足すべき方法とは言えなかった。また骨 X 線像との比較においても定量性に欠け、さらに骨 X 線像の経時的な変化と放射性薬剤の経時的な骨摂取率や血中残留率との比較がなされていなかった。

骨親和性放射性薬剤の骨摂取を測定する場合、その測定時間および標識の安定性が重要になってくる。晚期の骨摂取が新生骨への集積を反映するため¹¹⁾、晚期の測定が好ましいとの報告があるが¹²⁾、投与から数日後では^{99m}Tc のような短半減期核種は使用できず、さらに臨床目的では時間がかかりすぎる欠点がある。Fogelman ら¹³⁾は^{99m}Tc-HEDP の全身残留率をヒューマンカウンタで経時に 24 時間まで測定し、8 時間以降の測定で十分、臨床診断が可能であったと報告している。さらに Harrison ら²²⁾は安定同位体のストロンチウムを代謝性骨疾患モデルラットで使用し、血漿単位表示の 24 時間残留率が骨新生の評価に有用であったと報告している。これらの結果より、鑑別診断には測定時間が数日後という長時間待つ必要はなく、24 時間で十分と考えられた。

今回、われわれは^{99m}Tc-HEDP よりも 50% 骨集積が高い^{99m}Tc-MDP を使用した¹⁵⁾。

^{99m}Tc-MDP の安定性に関しては in vitro における放射化学的純度は 97.8% と非常に良好であり¹⁶⁾、また生体内でも遊離した^{99m}TcO₄⁻が集積する甲状腺や胃粘膜の排出はラットや人間の 24 時間像でも認められず、安定と考えられた¹³⁾¹⁹⁾。一方、^{99m}Tc 標識リン酸化合物の全身残留率が必ずしも骨新生を反映するとは限らないため¹³⁾¹⁴⁾同時に⁴⁷Ca-chloride の 24 時間全身残留率 (24-hr WBR) も測定するいわゆるデュアルトレーサ法を開発した。骨親和性の放射性薬剤の 24 時間全身

残留率から骨摂取を予測する場合、高度の腎機能障害が無いことが不可欠である。慢性腎不全で血液透析を受けている患者では代謝性骨疾患の程度いかんにかかわらず、腎からの排泄が無いため 24-hr WBR が 100% 前後になる¹⁹⁾。ラットの腎機能が完全に荒廃した場合は両放射性薬剤の WBR が 100% になることになるが、われわれの実験結果 (Table 2) および解剖所見から、高度の腎機能障害は認めなかつた。

2 週ごとの経時的な腰椎の組織像 (Fig. 4) の所見では第 2 週すでに各疾患群で疾患に特徴的な病理所見が認められ、第 4 週、6 週と時間がたつにつれ増悪傾向が認められた。これらの骨組織像所見より、われわれが作製した実験モデルラット群の正しいことが立証された。またわれわれの飼育条件では 8 週齢のラットで短期間の飼育で各群とも組織学的に腰椎に陽性所見が出現することが分った。また 2 週ごとに経時に撮影した大腿骨の X 線写真 (Fig. 3) では第 2 週では P, M, S 群の骨減少は明瞭ではないが、第 4 週以降では疾患群では骨減少が出現し、特に S, M 群で著明であった。第 6 週ではさらに顕著になっていた。P 群では大腿骨の長軸の長さは正常であるがび漫性の脱灰が疑われた。S 群では第 2 週より、骨幹端の硬化像が認められた。しかし、このような定性的評価では疾患群の鑑別診断は困難であった。マイクロデンシトメトリによる骨 X 線写真の大腿骨中央部の黒化度表示による骨幅および骨厚の指標の比較では、個数 3 の 2 週ごとの経時的な検討では P 群においては第 6 週まで有意差を認めず、M 群では第 2 週より、S 群では第 4 週より骨厚指標が有意に減少していた (Table 4A)。また第 6 週の各群の個数が 8 個の場合の検討では P, M, S 群とも骨厚度および骨幅指標の有意義な減少を認めた (Table 4B)。このように定量的に評価することにより、定性的評価より早期に診断が可能になる。しかし骨組織像と骨 X 線像の変化を比較すると予想された通り、ミクロの変化が観察できる骨組織像では各疾患群とも第 2 週より陽性所見が観察されたが、マクロの形態の変化をみる骨 X 線像では一般に 4 週以降に陽性所見が観察された。

一方、代謝性変化の指標であるデュアルトレーサ法による24-hr WBRでは⁴⁷Ca-chlorideでは第2週より、C群に比べてP群が有意に高く、M,S群では低い。第4週6週となるにつれてその傾向が強調されている。また^{99m}Tc-MDPでは第2週よりM群が有意に高く、S群では低い、第4週、6週でも同様な傾向がみられた。P群では第2週のみ軽度の低下を認めるが、第4週以降、正常範囲となっている(Table 2)。これらの結果から、デュアルトレーサ法の24-hr WBRを測定することにより代謝性骨疾患モデルラット群を骨X線像の変化に先行して第2週から、早期に鑑別できることが分った。

第6週の大腿骨の⁴⁷Ca-chlorideの単位重量当たりの骨摂取率(% dose/g)はP群では有意に高いが、M,S群では平均値は低いが有意差は認めなかつた(Table 3)。In vivoデータである24-hr WBR値とin vitroデータである大腿骨摂取率を比較すると相関係数は $r=0.86$ ($p<0.01$)と非常に良好であり(Fig. 2), ⁴⁷Ca-chlorideの24-hr WBRが全身骨の摂取を反映していると考えられた。⁴⁷Caのオートラジオグラフィでも晚期摂取は新生骨への集積であることが実証されている⁵⁾。^{99m}Tc-MDPの24-hr WBRもラットの全身シンチグラムの24時間像でも人間と異なり、数パーセントの肝集積は認めるも全身骨に集積しており、骨摂取を反映していることが分る(Fig. 1)。その骨組織への集積部位は幼若コラーゲン線維との関連の報告²³⁾もあるが、マウスのオートラジオグラフィの研究では石灰化している骨および軟骨部に認められている²⁴⁾。

24-hr WBRを各群で比較するとS群では⁴⁷Ca-chlorideおよび^{99m}Tc-MDPとも低下しており、骨組織像とAl-P値の低下を合せて検討すると、ステロイド剤のため骨新生が著明に低下し²⁵⁾²⁶⁾、骨破壊が亢進しているためと考えられた。P群では⁴⁷Ca-chlorideの摂取率の亢進がみられるが^{99m}Tc-MDPのそれは正常範囲であり、これは飼料が低カルシウムで正常なリン酸成分を反映していると思われた。また骨X線像および骨組織像では骨減少症の所見が認められるが⁴⁷Ca-chlorideの摂

取が非常に高く、またAl-P値も高いことを考えると骨新生が亢進している状態にあるが骨吸収がそれを上回っている状態にあると考えられた。食飼性骨粗鬆症は二次性副甲状腺機能亢進症²⁷⁾によるとの報告もあるが、今回のわれわれの実験ではP群のPTH値は正常範囲であった。M群では⁴⁷Ca-chlorideの摂取率とAl-P値が若干低下しており、暗室での飼育とvitamin D₃欠乏食のためCaの骨への利用が抑制されているためと考えられた。^{99m}Tc-MDPの摂取率は逆に亢進しており、人間の骨軟化症例でも同様にWBRが亢進した結果が得られている¹³⁾¹⁹⁾。

まとめ

⁴⁷Ca-chlorideおよび^{99m}Tc-MDPの二種類の放射性薬剤を同時に使用するデュアルトレーサ法の24時間全身残留率(24-hr WBR)の測定を特殊飼料とステロイド剤の併用により作製した4種類の代謝性骨疾患モデルラット群で2週間ごと経時的に6週まで行ない、本法により早期鑑別診断が可能かを骨X線像および骨組織像と比較して検討した。

1) In vivoデータである⁴⁷Ca-chlorideの24-hr WBR(%)とin vitroデータの全大腿骨の摂取率(% dose)とは高い相関($r=0.86$, $p<0.01$)が認められ、⁴⁷Ca-chlorideの24-hr WBRが全身骨摂取を反映していると考えられた。また^{99m}Tc-MDPの24時間後の全身シンチグラムでも数パーセントの肝摂取がみられるも、全身骨が明瞭に描出されており、^{99m}Tc-MDPの24-hr WBRが全身骨摂取を反映していることが分った。

2) 腰椎の骨組織像では第2週より、P群では軽度の骨粗鬆症、M群では軽度の骨軟化症、S群では中等度の骨粗鬆症所見があり、経時に増悪傾向が認められた。

3) 大腿骨の骨X線像では定性的評価もマイクロデンシトメトリによる定量的評価からも一般に第4週からS,M,P群の順で骨減少が認められたが、これらの疾患群の鑑別診断は困難であった。

4) 24-WBR値は⁴⁷Ca-chlorideでは第2週より、C群に比較してP群では有意に上昇し、M,S群では低下しており、この傾向は第6週まで認め

られた。一方、^{99m}Tc-MDP では M 群では有意に上昇し、S 群では低下、この傾向は第 6 週まで認められた。P 群は第 2 週で軽度低下を認めたが第 4 週以降は正常範囲となった。

以上の結果から、デュアルトレーサ法の 24 時間全身残留率を測定することにより代謝性骨疾患モデルラット群を骨 X 線像の変化に先行して、早期に鑑別診断が可能であることが分った。

御校閲を賜りました柿下正雄教授に深甚なる謝意を表します。また、骨組織標本作製に御助力して戴いた本学病理学教室野田誠博士および測定に御協力して戴いた放射線部核医学部門、安井正一、稻垣晶一技師、並びに放射線医学教室の先輩諸兄の先生および道林清美嬢に厚く御礼申し上げます。

本研究の一部は昭和 60、61 年度文部省一般研究(C)課題番号 60570475 によった。また本文の要旨は第 45 回日本医学放射線学会総会で発表した。

文 献

- 1) Bellin J, Laszlo D: Metabolism and removal in man. *Science* 117: 331-335, 1953
- 2) Bauer GCH, Carlsson A, Lindquist B: A comparative study of ⁹⁰Srontium and ⁴⁵Calcium. *Acta Physiol Scand* 35: 56-66, 1955
- 3) Aubert JP, Bronner F, Richelle LJ: Quantitation of calcium metabolism theory. *J Clin Invest* 42: 885-897, 1963
- 4) Heany RP, Skillman TG: Secretion and excretion of calcium by the human gastrointestinal tract. *J Lab Clin Med* 64: 29-41, 1964
- 5) Ellasasser JC, Barnham JE, Marshall JH: Comparative kinetics and autoradiography of ⁴⁵Ca and ¹³³Ba in ten-year-old beagle dogs: The diffuse component distribution throughout the skeleton. *J Bone Joint Surg* 51A: 1397-1412, 1969
- 6) Curtis FK, Fellows H, Rich C: Estimation of human calcium absorption by external radioisotope counting. *J Lab Clin Med* 69: 1036-1041, 1967
- 7) 山本逸雄、福永仁夫、土光義治、他: Human counter による腸管のカルシウム吸収測定法について、医学のあゆみ、114: 348-350, 1980
- 8) Genant HK, Bautovich GJ, Singh M, et al: Bone-seeking radionuclides: An in vivo study of factors affecting skeletal uptake. *Radiology* 113: 373-382, 1974
- 9) Garnett ES, Bown BM, Coates G, et al: An analysis of factors which influence the local accumulation of bone-seeking radiopharmaceuticals. *Invest Radiol* 10: 564-568, 1975
- 10) Siegel BA, Donovan RL, Alderson PO: Skeletal uptake of ^{99m}Tc-diphosphonate in relation to local bone blood flow. *Radiology* 120: 121-123, 1976
- 11) Rowland RE: Exchangeable bone calcium. *Clin Orthop* 49: 233-248, 1966
- 12) Wilson JS, Genant HK, Hattner RS, et al: Ratio of late to early radionuclide uptake: A method for distinguishing osteoporosis from osteomalacia in animal models. *Radiology* 126: 185-191, 1978
- 13) Fogelman I, Bessent RG, Turner JG, et al: The use of whole-body retention of Tc-99m diphosphonate in the diagnosis of metabolic bone disease. *J Nucl Med* 19: 270-275, 1978
- 14) Seto H, Ihara F, Kakishita M: 24-hr whole-body retention of ⁴⁷Ca-chloride: An index of global bone metabolism in rat models. *Nucl Med Biol* in press
- 15) 利波紀久、瀬戸 光、上野恭一、他: 骨シンチグラフィ用 ^{99m}Tc-Methylene disphosphonate kit の基礎的臨床的検討、核医学、14: 911-921, 1977
- 16) Seto H, Kakishita M, Futatsuya R: Measurement of 24-hour whole-body retention of Tc-99mMDP with a thyroid uptake probe. *Radioisotope* 30: 263-267, 1981
- 17) Steenbock H, Herting DC: Vitamin D and growth. *J Nutrition* 57: 449-468, 1955
- 18) Lien J, Kaye M: Changes in the red cell, plasma and insulin spaces and total water content of rat femurs in cortisone-induced osteoporosis. *Calc Tiss Res* 25: 245-248, 1978
- 19) Seto H, Futatsuya R, Ihara F, et al: Measurement of 24-hour whole-body retention of Tc-99m MDP with a thyroid uptake probe: Quantitative assessment of metabolic and metastatic bone diseases. *Radiat Med* 2: 87-92, 1984
- 20) 井上哲郎、串田一博、宮本繁仁、他: X 線像による骨萎縮度判定の試み、骨代謝、13: 187-195, 1980
- 21) Yoshiki S: A simple histological method for identification of osteoid matrix in decalcified bone. *Stain Technol* 48: 233-238, 1983
- 22) Harrison M, Fraser R: Bone structure and metabolism in calcium deficient rats. *J Endocrinol* 21: 197-207, 1960
- 23) Kaye M, Silverton S, Rosenthal L: Technetium-99m pyrophosphate: Studies in vivo and in vitro. *J Nucl Med* 16: 40-45, 1975

- 24) Nicolay OF, Heeley JD, Jeffcoat MK, et al: Autoradiographic localizaton of technetium-99m methylene diphosphonate in growth sites of young mice. *Nucl Med Biol* 15: 157-163, 1988
- 25) Carr EA Jr, Carroll M, Montes M: Effect of vitamin D₃, other drugs altering serum calcium or phosphorus concentrations, and desoxycorticosterone on the distributin of Tc-99m pyrophosphate between target and nontarget tis-
sues. *J Nucl Med* 22: 526-534, 1981
- 26) Carr EA Jr, Carroll M, Montes M, et al: Uptake of technetium-99m methylene diphosphonate by fractured and osteoporotic bone after a pulse dose of vitamin D₃. *J Nucl Med* 26: 385-389, 1985
- 27) Salomon CD: Osteoporosis following calcium deficiency in rats. *Calc Tiss Res* 8: 320-333, 1972