



Title	異所性骨形成に対するEthane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonateの作用
Author(s)	中原, 治彦
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35262
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	中 原 治 彦
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 7682 号
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	異所性骨形成に対する Ethane-1-Hydroxy-1,1-Diphosphonate の作用
論文審査委員	(主査) 教授 小野 啓郎 (副査) 教授 坂本 幸哉 教授 薮内 百治

論文内容の要旨

[目的]

EHD P はその石灰化抑制作用等に注目され、臨床上化骨性筋炎等異所性に骨形成を来す疾患に対して使用されつつある。そこで EHD P の異所性骨形成に対する作用を検討する目的でマウス骨肉腫由来骨形成因子により惹起される異所性骨形成実験系を用いて、(1)EHD P 投与による異所性骨形成の抑制効果の有無、(2)EHD P の骨形成量に及ぼす影響、(3)EHD P 投与中止後の回復過程につき検討した。

[方法]

- (1) 異所性骨形成実験系：CBA マウスにて継代維持されている Dunn 骨肉腫の脱脂乾燥粉末を、4M 塩酸グアニジンにて抽出後、可溶化分画をリン酸緩衝液 (10mM, pH7.4) に対して透析し、析出した分画を回収し蛋白量 8mg の均一な遠沈 pellet とした。これを凍結乾燥してマウス背部筋膜下に移植すると約 3 週で骨形成が認められるが、この時の骨形成量は移植した pellet の蛋白量に依存する。従って一定の蛋白量の pellet を移植することにより、骨形成を定量化することが可能である。
- (2) EHD P の投与：上記 pellet を 4 週齢オス ddY マウス背部筋膜下に移植し、翌日より control 群として生理食塩水、low- 及び high-dose 投与群としてそれぞれ 3 及び 30mg/kg の EHD P を連日腹腔内投与し、移植後 30 日まで経時に移植片を回収し骨形成過程を観察した。一方、各群につき移植後 30 日まで EHD P の投与を中止し、回復過程を観察した。回収移植片に対して以下の検索を行った。
- (3) 軟 X 線学的検索：回収移植片を軟 X 線撮影後、移植片の大きさ (mm) を digitizer を用いて計測した。
- (4) 組織学的検索：吉木らの方法により、回収移植片を塩化シアヌル固定後脱灰し、H-E 染色を行った。

(5) 軟骨基質形成量の定量：Reddi らの方法により，³⁵S を用いて軟骨基質形成量を定量化した。

(6) 石灰化の定量：Elves の方法に準じ，⁸⁵Sr を用いて移植片の石灰化を定量化した。

[結 果]

上述の検索項目の範囲内では，low-dose投与群における骨形成は，control群と全く差を認めなかった。以下に，主に high-dose投与群における結果を control群と対比しながら示す。

(1) 軟X線学的検索：EHD P投与期間中は，high-dose投与群においては移植片の石灰化は著明に抑制されていた。すなわち，移植後30日まではcontrol群においては骨梁構造がみとめられるのに対し，high-dose投与群においては石灰化はほとんど観察されなかった。しかし，high-dose投与群の回復実験において投与中止後30日では，移植片は石灰化し，ほぼ正常の骨梁構造が認められた。

(2) 形成された骨の大きさ (size)：全経過を通じて，high-dose投与群において形成された骨はやや小さい傾向はあったが，各群間で有意差を認めなかった。

(3) 軟骨基質形成量：各群間で軟骨基質形成量に有意差を認めなかった。

(4) 石灰化量：control群及びlow-dose投与群に比し，high-dose投与群においては，EHD P投与期間中は⁸⁵Sr uptakeすなわち移植片の石灰化は著明に抑制されていた。しかし，EHD Pの投与を中止すると逆にcontrol群及びlow-dose投与群に比し有意に増加した。

(5) 組織学的検索：移植後12日において，いずれの群においても軟骨形成が認められ，各群間に組織学的な差は認められなかった。以後内軟骨性骨化過程を経る骨形成が各群において進行したが，移植後30日のhigh-dose投与群においては，吉木法により赤く染色される類骨組織のみが観察され，石灰化障害が認められた。また，この群においては骨梁の幅は厚く骨髓形成が乏しい傾向がみとめられた。これを偏光顕微鏡で観察すると，control群ではlamellar boneであるのに対して，high-dose投与群ではwoven boneであった。回復実験として，high-dose群投与群の投与中止後30日の移植片の組織像においては，骨基質の大部分はすでに石灰化を認め骨梁の幅は薄くなっており，偏光顕微鏡による観察ではlamellar boneであった。

[総 括]

骨形成因子を用いた異所性骨形成の実験系は，骨形成を短期間にかつ定量的に観察することが可能であり，ホルモン，薬剤等の骨形成に対する作用を評価するのにすぐれた実験系であると考えられた。この実験系を用いて EHD P の異所性骨形成に対する作用を検討し以下の結果を得た。

(1) 3 mg/kg投与群においては骨形成はcontrol群と差がなかった。

(2) 30mg/kg投与群においては，骨形成は時間的に遅延することなく進行するが，形成された軟骨及び類骨の石灰化障害が認められた。また類骨の吸収及びremodellingの障害も認められた。

(3) EHD P は骨形成量には影響を及ぼさなかった。

(4) 30mg/kg投与群の回復実験においては骨組織像は投与中止後30日でほぼ正常化した。

論文の審査結果の要旨

本研究は、石灰化抑制作用を有するEthane-1-Hydroxy-1, 1-Diphosphonateを用いて骨形成、骨吸収と石灰化との関連を検討したものである。その結果、石灰化を抑制しても内軟骨性骨化は進行すること、すなわち石灰化は内軟骨性骨化に必ずしも必須の過程でないこと、および石灰化を抑制しても骨形成量には影響を及ぼさないことが明らかとなった。また、Ethane-1-Diphosphonate投与中止後の回復実験において骨吸収における骨基質石灰化の重要性が示唆された。

以上の結果は、骨形成、骨吸収における石灰化の役割りを解明する上で重要な知見であり、医学博士の学位に値するものと考える。