

計畫名稱：

中文：副甲狀腺素治療對自發性高血壓大白鼠所引發骨質流失的研究

英文：Parathyroid hormone restores bone mass for osteopenia in the

spontaneously hypertensive rat

計畫編號：NSC87-2314-B-039-017

執行期限：86/08/01~87/07/31

主持人：王天美

執行機構及單位：中國醫藥學院附設醫院牙科部

E-mail：d5311@hpd.cmch.org.tw

一、中文摘要

19 週大的雄性自發性高血壓大白鼠 (spontaneously hypertensive rat, SHR)，按隨機抽樣法分為 4 組，每天以皮下注射方式分別給予分級劑量 0、4、8 或 16 微克/100g 的人類副甲狀腺素 (human parathyroid hormone, hPTH1-34)，連續 14 天，以探討骨量變化情形。結果發現，21 週大未接受 hPTH 治療的 SHR，脛骨近側端的鬆質骨骨量較同齡之 Wistar Kyoto 大白鼠(WKY rat) 來得低，且結構上也較為鬆散。此時鬆質骨的骨小樑厚度減少和骨小樑平均間隙增加，然骨小樑數目卻未有改變。在 hPTH 的治療組，其脛骨近側端的鬆質骨骨量及骨小樑厚度均有增加，同時造骨細胞數及其貼附於骨小樑的表面有增加的情形。至於骨吸收表面百分比及破骨細胞數雖有增加，惟在 16 微克 hPTH 的治療組卻降低，然對照組則未有明顯的差異。綜上知，hPTH 會增加骨小樑的骨生成速率，卻對骨吸收作用未有明顯增加，致使骨量有增加的效果。間歇性皮下注射 hPTH 可增加骨量的機轉，目前尚不清楚。然由骨組織形態學參數的檢測發現，hPTH 對於骨組織所產生的合成性代謝作用，主要與活化和刺激造骨細胞的功能有關。

關鍵詞：副甲狀腺素、骨質疏鬆症、自發性高血壓、骨質流失、骨中細胞

Abstract

Daily subcutaneous injection of graded doses of 0, 4, 8, or 16 μg / 100g hPTH 1-34 of 19-week-old male spontaneously hypertensive rat (SHR) of five rats in each group for 14 days were done. The 21-week-old SHR exhibited a significant lower metaphyseal trabecular bone volume osteopenia accompanied by poor trabecular architecture than in Wistar-Kyoto (WKY) rats were observed in the study. The preservation of trabecular bone volume in the PTH-treated rats was associated with an increase in number of osteoblasts, bone surface extent of osteoblasts, double labelled bone surface, mineral apposition rate and trabecular thickness. Trabecular number remained comparable to control. Measurements of resorption such as percent eroded surface and numbers of osteoclasts also remained comparable to control values. These dual effects increase the bone formation rate and in the absence of significant resorption, result in a net increase in bone mass. The above findings of histomorphometric data support the hypothesis that the PTH increase bone mass by specific effects on osteoblast activation and function.

Key word: Parathyroid hormone, osteo-porosis, spontaneous hypertensive rat, osteopenia, bone cell.

二、緣由與目的

中華民國在台灣人口從西元 1990 年至 2036 年之間，人口中大於 65 歲的比率會從 6% 增至 20.5%，即由 123 萬增至 517 萬(1)。因此，對於骨質疏鬆症及骨折多方面的研究和防治，已是刻不容緩。

骨質疏鬆症(osteoporosis)是一種全身性的骨骼疾病，由於骨量減少(osteopenia)，容易發生骨折(2)。1993 年王天美提出，到西元 2020 年治療我國在台灣地區的老年人口因骨質疏鬆症而造成骨折的費用，每年將耗費新台幣 1600 億元(3)。由以上知，骨質疏鬆症所引起的問題實不可忽視。

自發性高血壓大白鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)和正常血壓大白鼠(Wistar-Kyoto WKY, rat)都是經由 Wistar 大白鼠繁殖而成。SHR 血壓於 4 週齡後會開始自然升高，而 WKY 大白鼠則沒有此一現象。因此，WKY 大白鼠可於實驗中成為 SHR 理想的對照組(5)。

人類副甲狀腺素(hPTH)除了會增加骨量外，對骨強度亦會增加(6)。因此，本研究旨在探討：建立自發性骨質疏鬆症的動物模式和 hPTH 對 SHR 骨組織的影響情形。

三、結果與討論

(一)、血壓與體重之變化

SHR 及 WKY 大白鼠在 5 週大前，血壓值無明顯差異。它們隨著年齡增加，血壓也跟著上升。WKY 大白鼠在 10 週以後，血壓值維持一定，不再升高；SHR 之血壓則不斷增高，甚至達到 200 毫米汞柱的高血

壓。20 週以後，SHR 血壓維持在高原期。在 10-25 週的各不同週齡層 SHR 的血壓明顯的比同齡的 WKY 大白鼠來得高。經 hPTH 治療 14 天後的 SHR 的血壓值與未治療的 SHR 組比較，無明顯的差異。

WKY 大白鼠之體重，顯著高於同齡層的 SHR 體重。經 hPTH 治療後的 SHR 體重，也較未經治療的 SHR 組來得高。

(二)、生化參數分析

I、鈣和磷離子濃度的變化

WKY 大白鼠的鈣離子濃度較 SHR 高，且具統計學上差異。經 hPTH 治療後各 SHR 組的鈣離子濃度與未治療的 SHR 比較，並無明顯的差異。WKY 大白鼠的磷離子濃度與 SHR 比較，並無明顯變化。治療後各 SHR 組的磷離子濃度明顯高於未治療的 SHR 組。

II、鹼性磷酸 濃度的變化

WKY 大白鼠的血清鹼性磷酸與 SHR 者比較，無明顯的變化。治療後各 SHR 組的鹼性磷酸濃度高於 WKY 組和未治療的 SHR 組。惟只在 8 或 16 微克 hPTH 的治療組，始具統計學上意義。

III、尿素氮和肌酸酐濃度的變化

WKY 大白鼠的尿素氮濃度與 SHR 比較，並未有明顯的變化。治療後各 SHR 組的尿素氮濃度明顯高於 WKY 組和未治療的 SHR 組。惟各組間，肌酸酐濃度並未有明顯的差異。

(三)、接觸性顯微放射攝影像之分析
SHR 與 WKY 大白鼠的鬆質骨量比較，有明顯減少的現象。經分級劑量 hPTH 治療後的各 SHR 組，其

鬆質骨量與未治療的 SHR 組比較，均有明顯增加的情形，且有隨治療劑量增加，而增多的趨勢。

(四)、脛骨近側端生長板各參數的變化

I、生長板厚度：WKY 大白鼠和各治療的 SHR 組顯著高於未治療的 SHR 組。

II、生長板肥大細胞腔隙高度：WKY 大白鼠和各治療的 SHR 組明顯高於未治療的 SHR 組。

III、增殖細胞數：WKY 大白鼠和各治療的 SHR 組明顯多於未治療的 SHR 組。

IV、骨縱向生長速率：WKY 大白鼠和各治療的 SHR 組明顯高於未治療的 SHR 組。

(五)、脛骨近側端骨中細胞各參數的變化

I、單位長度造骨細胞數：WKY 大白鼠和各治療的 SHR 組明顯多於未治療的 SHR 組。

II、單位長度破骨細胞數：WKY 大白鼠明顯多於 SHR。以 4 或 8 微克 hPTH 治療的 SHR 組，明顯高於未治療的 SHR 組。然在 16 微克治療組與未治療的 SHR 組比較，則無明顯差異。

III、破骨細胞數及造骨細胞數之比：SHR 明顯高於 WKY 大白鼠。未治療的 SHR 組，也高於 hPTH 治療的各 SHR 組。

IV、破骨細胞平均含核數：WKY 大白鼠明顯高於 SHR。以 4 或 8 微克 hPTH 治療的 SHR 組，明顯高於未治療的 SHR 組。然在 16 克治療的 SHR 組與未治療的 SHR 組比較，則無統計學上的差異。

V、破骨細胞吸收表面：WKY 大白鼠明顯高於 SHR。以 4 或 8 微

克 hPTH 治療的 SHR 組明顯高於未治療的 SHR 組。然在 16 微

克治療的 SHR 組與未治療的 SHR 組比較，則無統計學上差異。

(六)、脛骨近側端靜態參數的變化

I、骨百分比：WKY 大白鼠明顯高 SHR。以 hPTH 治療的各 SHR 組均明顯高於未治療的 SHR 組，且隨劑量增加而增加的趨勢。

II、骨小樑平均厚度：WKY 大白鼠明顯高於 SHR。以 hPTH 治療的各 SHR 組均明顯高於未治療的 SHR 組。其中以 16 微克 hPTH 治療組的骨小樑平均厚度的增加為最多。

III、骨小樑平均數目：各組間皆未具有統計學上的差異。

IV、骨小樑平均間隙：WKY 大白鼠明顯低於 SHR。以 hPTH 治療的各 SHR 組均低於對照組，且有隨劑量的增加，而減少的趨勢。

(七)、脛骨近側端動態參數的變化

鬆質骨的礦物質沉積速率、表面螢光標示，表面螢光標示百分比及骨小樑生成速率，在 WKY 大白鼠明顯高於 SHR。而以 hPTH 治療的各 SHR 組，均明顯高於未治療的 SHR 組，且有隨劑量增加，而增加的現象。

四、討論：

SHR 在 21 週的血清，鈣離子及磷離子濃度較同齡的 WKY 對照組低。此結果與 Bindels 等在 1987 年所報告的結果相同(7)。給予 hPTH 治療後，血中磷離子濃度增加。此點可能與小腸增加磷離子的吸收或增加腎小管對磷離子的重吸收作用(8)有關。

血中鹼性磷酸 濃度，可當作造骨

細胞功能的指標(marker)。其濃度隨著造骨細胞的數目和活性的增加而增加，且與分化成造骨細胞有關(9)。經 hPTH 處理後的 SHR 組，血清鹼性磷酸 有明顯的增加，為造骨細胞的數目和活性增加提供了一項證據。

血清尿素氮和肌酸酐濃度代表腎功能指標，在比較 SHR 與 WKY 兩組間並無明顯變化。此結果與 McCarron 等人的發現相同(10)。尿素是體內的胺基酸，經肝和腎的脫氮作用，其指標可反映出肝臟和腎臟的功能(11)。因此，經 hPTH 治療後，血清中尿素氮濃度升高而肌酸酐並無特別變化，可能是肝功能異常或是體內蛋白質代謝作用旺盛所致。

SHR 在脛骨近側幹 端鬆質骨骨量，有明顯流失的現象，而經過 hPTH 處理 14 天後，其骨量即有明顯增加的作用。其結果與正常大白鼠於去卵巢後造成骨量流失(12)和骨質疏鬆症患者(13)等經 hPTH 治療後，均會增加鬆質骨骨量的結果是一致的。

SHR 的骨生成能力(bone-forming activity)比 WKY 對照組低，此結果與王天美等(14)觀察 26 週 SHR 的脛骨組織有相似的發現。經 hPTH 處理 14 天後的 SHR 組，其骨生成能力皆比未接受 hPTH 處理的 SHR 組來得高，且隨劑量的增加有升高的趨勢。此點說明了 hPTH 會刺激原始造骨細胞(osteoprogenitor cells)的增殖和分化作用(15)。

經 hPTH 處理後，其破骨細胞的相關參數，均比未接受 hPTH 處理的 SHR 組高；然在 SHR+16 μ g hPTH 組卻與未經治療的 SHR 組無明顯差異。由此知，不同劑量的 hPTH 對破骨細胞會產生不同的作用，且在較低劑量(SHR+4 or 8 μ g hPTH)處理時，會間接經由造骨細胞來

增加破骨細胞的功能，而在較高劑量(SHR+16 μ g hPTH)時，會直接抑制破骨細胞的功能。

經 hPTH 處理後的 SHR 組，其骨小樑靜態參數的變化結果與 Guinness 等(16)利用 hPTH 來治療去卵巢大白鼠的實驗結果相仿。hPTH 會使骨小樑平均厚度增加和結構的聯繫較緊密，它是以沉積性的方式增加鬆質骨的骨量，同時也會使長骨的生物應力 (biomechanical competence)增加。

經 hPTH 處理的 SHR 組，骨小樑礦物質沉積速率明顯的高於未接受 hPTH 治療的 SHR 組。此結果與去卵巢後的大白鼠，經 hPTH 治療，可以發現礦物質沉積速率有增加的現象(12)相仿。此點說明了 hPTH 有促進骨生成的作用。

五、計畫成果自評：

本計畫進行時，從動物處理，各項參數之計量工作，到統計分析都很順利，以致結果亦很圓滿。研究成果廚具學術參考價值外，亦可與以發表於高血壓、內分泌和硬組織等相關的醫學雜誌上。

五、參考文獻

1. 中華民國台灣地區民國 79 年至 80 年人口推寄，行政院經濟建設委員會人力規劃處編印，1992。
2. Consensus Development Conference: Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. Am. J. Med. 94: 646-650, 1993.
3. Wang, T.M. : Report of 4th International Convention of Osteoporosis. Science Development, Monthly, NSC, ROC 21(10):1049-1051, 1993.

4. Okamoto K and Aoki K: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* 27:282-293, 1963.
5. Yamori Y.: *Handbook of Hypertension : Experimental and Genetic Models of Hypertension.* Elsevier Science Publishers BV, 1984.
6. Moseki L, Sogaard CH, Danielsen CC, Topping O and Nilsson MHL: The anabolic effects of hPTH on rat vertebral body mass are also reflected in the quality of bone, assessed by biomechanical testing : a comparison study between hPTH-(1-34) and -(1-84). *Endocrinology* 129:421-428, 1991.
7. Bindels RJM, Brock LAM, Jongen MJM, Hackeng WHL and Lowik WJM: Increased plasma calcitonin levels in young spontaneously hypertensive rats: Role in disturbed phosphate homeostasis. *Pflugers Arch.* 408: 395-400, 1987.
8. Bindels RJM, Geertsen JA and Os CH: Increased transport of inorganic phosphate in renal brush borders of spontaneously hypertensive rats. *Am.J. physiol.* 250: F470-F475, 1986.
9. Hanazawa S, Ohmori Y, Amano S, Hirose K, and Kitano S: Human purified interleukin-1 inhibits DNA synthesis and cell growth of osteoblastic cell line, but enhance alkaline phosphatase activity in the cells, *FEBS Letters* 203: 279-284, 1986.
10. McCarron D, Yung NN, Ugoretz BA and Krutzik S: Disturbances of calcium metabolism in the spontaneously hypertensive rat : Attenuation of hypertension by calcium supplementation. *Hypertension* 43: 1162-1167, 1981.
11. Stern N, Lee DBN, Silis V, Beck FWJ, Deftos L and Sowers JR : Effects of high calcium intake on blood pressure and calcium intake on blood pressure and calcium metabolism in young SHR. *Hypertension* 6: 639-646, 1984.
12. Gasser JA and Jerome CP: Parathyroid hormone : a cure for osteoporosis? *Triangle* 31: 111-121, 1992.
13. Reeve J, Williams D, Hesp R, Hulme P, Kleneman L, Zanelli JM and Parsons JA : Anabolic effect of low doses of a fragment of human parathyroid hormone on the skeleton in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1:1035-1038, 1976.
14. Wang TM, Hsu JF, Jee WSS and Matthews JL : Evidence for reduced cancellous bone mass in the spontaneously hypertensive rat. *Bone Miner.* 20:251-264, 1993.
15. Owen M: Cellular dynamics of bone. In: Bourne GH (ed) *The biochemistry and physiology of bone*, 2nd ed., Vol.3. Academic Press, New York, 1971, pp. 271-298.
16. Gunness M and Hock JM: Anabolic effect of parathyroid hormone on cancellous and cortical bone histology. *Bone* 14: 277-281, 1993.

