

計畫名稱：

中文：鮭魚抑鈣素治療對自發性高血壓大白鼠下顎骨骨量流失的防治效果的研究

英文：Study on the preventive and therapeutic effect of salmon calcitonin on osteopenia in the spontaneously hypertensive rat mandible

計畫編號：NSC89-2314-B-039-013

執行期限：88/08/01~89/07/31

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 週和 24 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、1.0 或 2.0 IU 的鮭魚抑鈣素 (salmon calcitonin, sCT)，連續 14 天，以探討下顎骨骨量和牙本質沉積率的變化情形。結果發現：21 週和 26 週大未接受 sCT 治療的 SHR，下顎骨內側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變薄和骨小樑平均間隙加大，然骨小樑數目有稍少的改變。在 sCT 1.0 和 2.0 IU 的治療組，其下顎骨內側的鬆質骨骨量及骨小樑厚度均較未用藥的 sCT 組有增加的趨勢，同時造骨細胞數及其貼附於骨小樑的表面未有增加的情形。至於 sCT 組的骨吸收表面百分比及破骨細胞數較未接受處理的 sCT 組有減少的顯著差異。牙本質沉積率在 sCT 處理組較未接受 sCT 處理組有顯著增加的差異。綜上知，sCT 不論是 1.0 或 2.0 IU 都未有明顯增加下顎骨骨小樑的骨生成速率，惟對骨吸收有明顯抑制的作用，致使骨量有相對增加的效果。對牙本質沉積率的影響係在抑制破牙本質細胞的功能所致。

關鍵詞：抑鈣素、骨質量、骨質流失、骨質疏鬆症、自發性高血壓

Abstract

Daily subcutaneous injection of graded doses of 0, 1.0 or 2.0 IU salmon calcitonin (sCT) of 19- and 24-week-old male spontaneously hypertensive rat (SHR) of five rats in each group for 14 days were done. The 21- and 26-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 1.0 and 2.0 IU sCT treated rats was associated with a remained comparison in number of osteoblasts, bone surface extent of osteoblasts, double labelled bone surface, mineral apposition rate and trabecular number to the WKY rats. Measurements of resorption such as percent eroded surface and numbers of osteoclasts at all sCT groups were decreased when remained compared to the WKY and sCT untreated groups. The effect of sCT on a significant decrease of bone resorption, result in a net increase in bone mass. sCT also increased the dentin apposition rate. The above findings of histomorphometric data support the hypothesis that the sCT increase bone mass and dentin apposition rate by specific inhibitory effect on osteoclast and odontoclast activity and function.

Key word: Salmon calcitonin, bone mass, osteopenia, osteoporosis, spontaneous hypertensive rat.

二、緣由與目的

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 (1)。王天美 1993 年提出，到西元 2020 年在台灣地區的老年人口因骨質疏鬆症而造成骨折的治療費用，每年將耗費新台幣 1600 億元 (2)。由上知，骨質疏鬆症所引起的問題實不可忽視。因此，對於骨質疏鬆症及骨折等方面的研究和防治，是不可疏忽的。

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(3,4)。

鮭魚抑鈣素 (salmon calcitonin, sCT) 會增加骨量，主要機轉在抑制破骨細胞的數目和功能，對骨質疏鬆症有防治的效果(5,6)。本研究旨在探討 sCT 對 SHR 骨組織和牙本質的影響情形。

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

，心縮壓值無明顯差異。惟隨年齡增加，血壓也隨之上升。WKY 大白鼠在 10 週大時，血壓值到高峰，往後則維持一平台值，不再升高。SHR 10 週大後之血壓則不斷增高，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 sCT 治療 14 天後的 SHR 的血壓值與未治療的 SHR 組比較，無統計學上明顯的差異。

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

(二)、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 sCT 治療後的各 SHR 組，其鬆質骨量與未治療的 SHR 組比較，均有統計學上明顯增加的情形，且 1.0 和 2.0 IU sCT 的治療劑量對骨量增加多寡的影響彼此間並不明顯。

(三)、脛骨近側端生長板各參數的變化

I、生長板厚度：WKY 大白鼠的厚度最厚，各治療的 SHR 組的厚度次

之，惟都顯著高於未治療的 SHR 組。

II、生長板肥大細胞腔隙高度：WKY 大白鼠的高度最大，各治療的 SHR 組的高度次之，惟都明顯高於未治療的 SHR 組。

III、增殖細胞數：WKY 大白鼠的細胞數最多，各治療的 SHR 組的細胞數次之，惟都明顯多於未治療的 SHR 組。

IV、骨縱向生長速率：WKY 大白鼠的速率最大，各治療的 SHR 組的速率次之，惟都明顯高於未治療的 SHR 組。

(四)、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 大白鼠的造骨細胞數最多，各治療的 SHR 組的次之，惟都明顯多於未治療的 SHR 組。

II、單位長度破骨細胞數：WKY 大白鼠明顯低於 SHR。以 1.0 或 2.0 IU sCT 治療的 SHR 組，明顯低於未治療的 SHR 組。

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 sCT 治療的 SHR 組。

IV、破骨細胞平均含核數：WKY 大白鼠明顯低於 SHR。以 1.0 或 2.0 IU sCT 治療的 SHR 組，明顯低於未治療的 SHR 組。

V、破骨細胞吸收表面：WKY 大白鼠明顯低於 SHR。以 1.0 或 2.0 IU sCT 治療的 SHR 組明顯低於未治療的 SHR 組。

(五)、脛骨近側幹端靜態參數的變化

I、骨百分比：WKY 大白鼠明顯高於 SHR。以 sCT 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趨勢。

II、骨小樑平均厚度：WKY 大白鼠明顯高於 SHR。以 sCT 治療的各 SHR 組均明顯高於未治療的 SHR 組。其中以 sCT 2.0 IU 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：各組間皆未具有有統計學上的顯著差異。

IV、骨小樑平均間隙：WKY 大白鼠明顯低於 SHR。以 sCT 治療的各 SHR 組均低於未經 sCT 治療的 SHR 組。

(六)、脛骨近側幹 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 sCT 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。

(七)、牙本質沉積率的變化

下顎切齒牙本質的沉積速率，在 WKY 組的大白鼠明顯高於 SHR 組。而以 sCT 治療的各 SHR 組，均高於未經 sCT 治療的 SHR 組，且具統計學上的顯著差異。

四、討論：

SHR 在 21 週和 26 週大時，其脛骨近側幹 端鬆質骨骨量，有明顯流失的現象，經 sCT 處理 14 天後，同週齡 SHR 的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(7)和骨質疏鬆症患者(8)等，經藥物治療後均會增加鬆質骨骨量的結果是一致的。

SHR 在 21 週和 26 週大時，其骨生成能力(bone-forming activity)比 WKY 對照組低，此結果與王天美等(9)觀察 26 週 SHR 的脛骨組織有相似的發現。經 sCT 處理 14 天後的 SHR 組，其骨生成能力皆與未接受 sCT 處理的 SHR 組相仿，未具統計學上的顯著差異 此點說明了 sCT 未有刺激原始造骨細胞(osteoprogenitor cells)的作用(10)。

經 sCT 處理後，其破骨細胞的相關參數，均比未接受 sCT 處理的 SHR 組低。此結果說明了 sCT 對破骨細胞會產生抑制的作用，此點與 Gonzalez 等人在

1986 年所提出 sCT 有抗破骨細胞功能的論點相符。經 sCT 處理後的 SHR 組，其骨小樑靜態參數的變化結果與 Gunness 等(11)利用 hPTH 來治療去卵巢大白鼠的實驗結果相仿。sCT 會使骨小樑平均厚度增加和結構的聯繫較緊密，它是以抗骨吸收的方式相對增加鬆質骨的骨量，而使長物的生物應力增加。

經 sCT 處理的 SHR 組，下顎骨切齒的牙本質沉積速率明顯的高於未接受 sCT 治療的 SHR 組。此結果與去卵巢後的大白鼠，經 sCT 治療，可以發現礦物質沉積速率有增加的現象(7)相仿。此點說明了 sCT 有促進骨生成的作用外，尚可增進牙本質沉積率的效果。惟其機轉主要與 sCT 抑制破骨細胞和破牙本質細胞的作用有密切關係。

五、計畫成果自評：

本計畫進行時，從動物處理，骨組織的獲得，固定，包埋，切片和各項參數之計量工作，到統計分析都順利，以致結果圓滿。研究成果除具學術參考價值外，可發表於硬組織等相關的醫學雜誌上。

五、參考文獻

1. Consensus Development Conference: Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. Am. J. Med. 94: 646-650,1993.
2. Wang TM : Report of 4th International Convention of Osteoporosis. Science Development, Monthly, NSC, ROC 21(10):1049-1051,1993.
3. Okamoto K and Aoki K: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. Jpn. Circ. J. 27:282-293, 1963.
4. Yamori Y: Handbook of Hypertension : Experimental and Genetic Models of Hypertension. Elsevier Science Publishers BV, 1984.
5. Gonzalez D, Gbiringhelli G and Mautalen C: Actue antiosteoclastic effect of salmon calcitonin in osteoporotic women. Calcif. Tissue Int.

- 38: 71-75, 1986.
6. McIntyre I, Whitehead MI, Banks LM, Stevenson JC, Wimalawansa SJ and Healy MJR: Calcitonin for prevention of postmenopausal bone loss. *The Lancet* 900-901, 1988.
 7. Gasser JA and Jerome CP: Parathyroid hormone : a cure for osteoporosis? *Triangle* 31: 111-121, 1992.
 8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. Gunness M and Hock JM: Anabolic effect of parathyroid hormone on cancellous and cortical bone histology. *Bone* 14: 277-281, 1993.

