

牛乳製品摂取による閉経後骨粗鬆症の予防

名古屋大学医学部附属病院整形外科 教授 岩田 久
薬 劑 部 山 村 恵 子
分院薬劑部 長 田 孝 司

“牛乳製品摂取による閉経後骨粗鬆症の予防”の基礎的検討として、卵巣摘出ラットに対するE2-HAPの効果を継続的にデータ集積し、HAPデリバリーシステムの臨床応用への検討を行った。

1) E2-HAPの調製方法

disk状のHAP (径6.3mm、厚さ2.81mm、重量0.152g : NGK Co.) を、HAPの吸水率 $0.0296\text{ml}/\text{disk}$ より換算したE2エタノール溶液 ($1.69\text{mg}/\text{ml}$) 中に減圧下で浸漬したのち、HAP表面の余分な溶液を拭き取り、vialに入れ、フリーズドライ装置 (図1) に設置しアスピレーターを用いて減圧乾燥を行い、乾燥後、デシケーター中央のデバイスを用いて、vial capを押し込み無菌的に均一なE2-HAP ($500\mu\text{g}/\text{HAP}$) を調製することが可能となった。

2) E2-HAPからのE2放出挙動 (in vitro)

E2-HAPからリン酸バッファー、20%および40%メタノール水溶液中へのE2放出挙動と、リン酸バッファーにおけるE2-HAP中のE2安定性をHPLCを用いて測定した。HPLCは移動相：60(v/v)%アセトニトリル、検出波長：280nm、カラム： μ -Bondapak C₁₈ (10 μm , 30cm \times 3.9mm id., Waters Co.)、流速：1.0ml/minの条件で行った。E2-HAPからの各溶媒に対するE2放出速度は40%メタノール水溶液で $13.39\mu\text{g}/\text{day}$ 、20%メタノール水溶液で $6.78\mu\text{g}/\text{day}$ 、リン酸バッファーで $3.42\mu\text{g}/\text{day}$ と順に遅延する傾向を示した。HAPからのE2の放出速度は溶媒中のE2溶解度に影響を受けると考えられた。E2-HAPからリン酸バッファー中へのE2の放出は0次放出速度を示し、放出量は $3.42\mu\text{g}/\text{day}$ であった (図2)。

3) E2-HAPからのE2放出挙動 (in vivo)

SDラット (♀、10週齢) を1週間予備飼育したのち、ペントバルビタール麻酔下で開腹し両側卵巣摘出手術 (OVX) を行い、E2-HAPをそれぞれ1個ずつ右後脚付根より皮下に埋植した。埋植したE2-HAPを経時的に摘出し、E2-HAPに残存するE2量をHPLCを用いて測定してin vivoにおける放出挙動を観察した。E2-HAPのE2残存量は1週間後に85.2%、2週間後81.0%、3週間後77.2%、1ヶ月後71.9%と埋植初期にバースト現象と思われる放出がみられるが、1週間から1ヶ月後までは0次放出が観察された (図3)。HAPからのE2放出挙動はin vitroの結果とほぼ同様のパターンを示し、in vitro実験よりin vivo放出挙動を推測することが可能であると考えられた。

4) 卵巣摘出ラットに対するE2-HAPの骨塩量減少抑制効果

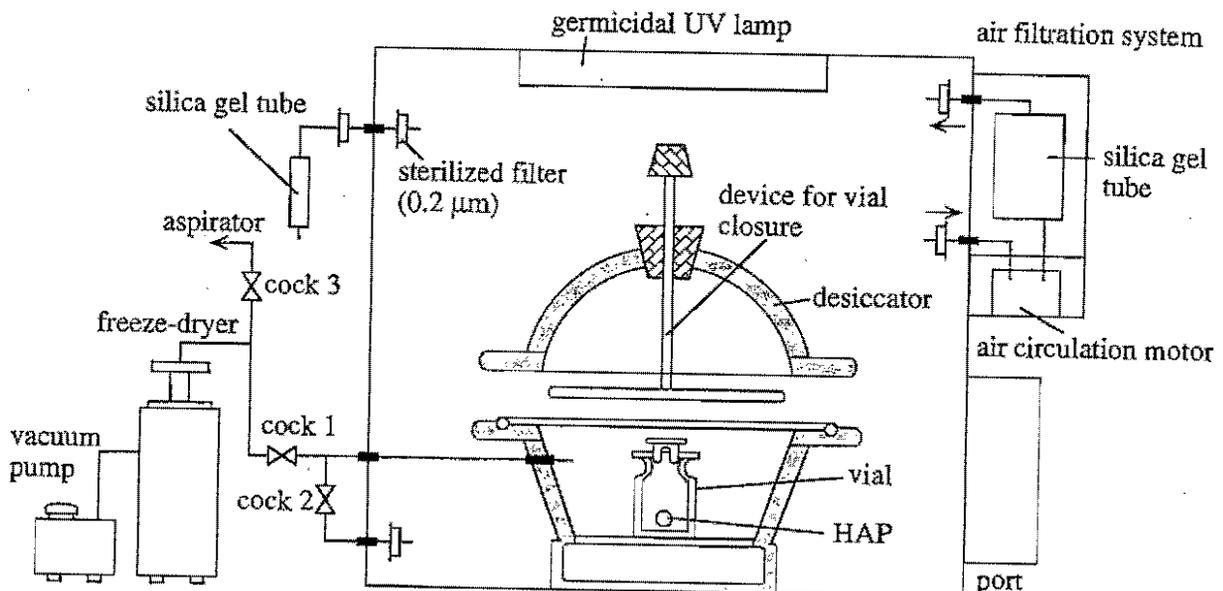
in vivoにおけるE2放出挙動の測定と同様にSDラットにOVXを行ったのち2群に分け、1群にはE2-HAP 1個を皮下に埋植し、E2-HAP群とした。残りの1群はE2-HAPを投与せずOVX群とした。control群は両側卵巣摘出を行わない偽手術群とした。術後180日まで腰椎骨(L2-L5)の骨密度(BMD)はdual energy法で測定し、3群間で比較検討した。OVX群のBMDは術後90日で手術前の約90%に減少した。一方、E2-HAP投与群のBMDは術後90日まで増加したものの、その増加にはE2-HAP群とnormal群との間に有意な差は認められなかった。しかしながら、E2-HAP摘出後はゆるやかに減少した。これより、骨粗鬆症の早期治療における皮下埋植型E2-HAPの有用性が示唆された。

(成果の発表)

第11回日本DDS学会(広島)「卵巣摘出ラットに対するestradiol-loaded hydroxyapatite (E2-HAP)の骨塩量減少抑制効果とE2放出挙動」

○長田孝司¹、山村恵子¹、林哲夫¹、岩田久²、四ツ柳智久³、鍋島俊隆¹(名大病・薬剤部¹、名大整形外科²、名市大・薬³)

図1 Assembly for Preparation of Drug-Loaded HAP



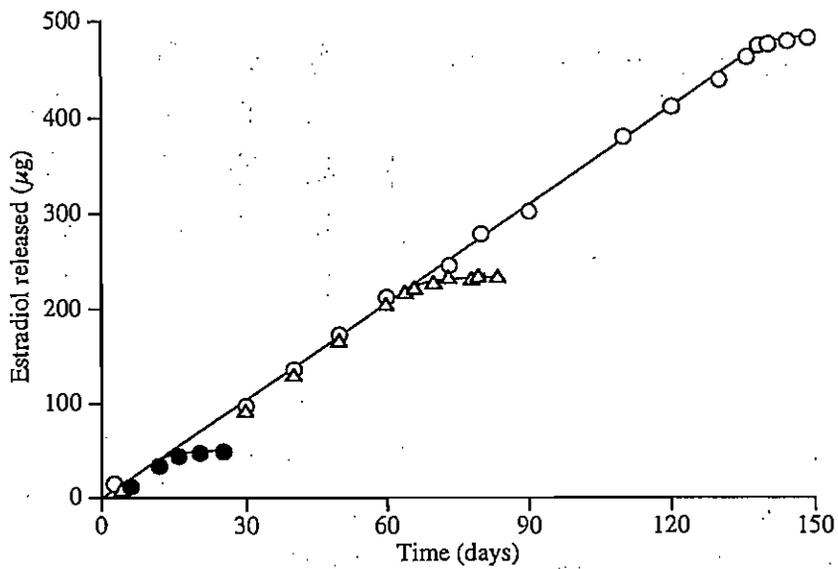


Fig 2 Cumulative amount of estradiol in vitro from various E2-HAP disks into receiving fluid consisting of phosphate buffer (pH 7.4). (●), 50 µg E2-HAP disk; (△), 250 µg E2-HAP disk; (○), 500 µg E2-HAP disk. Each plot represents the average value for three samples.

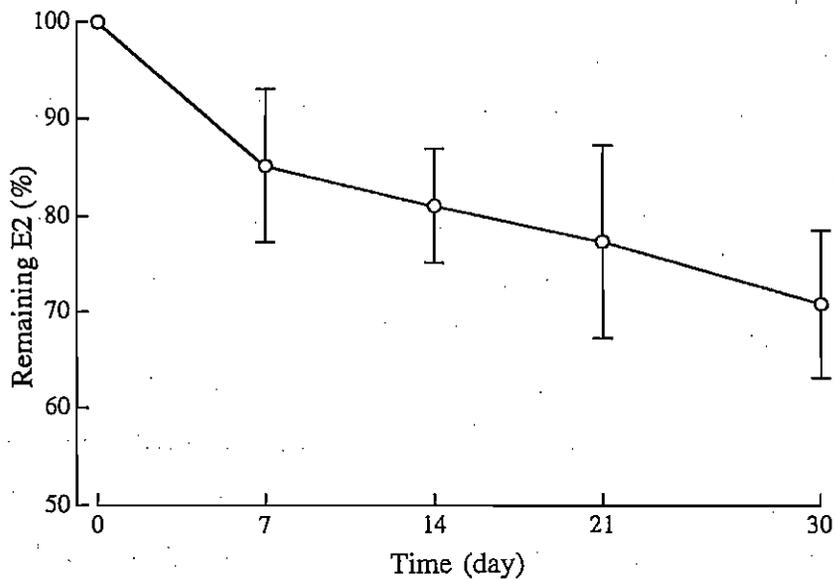


Fig 3 Remaining (%) of estradiol in the disks implanted in ovariectomized rat at various time intervals. Values are expressed as mean \pm SE (N=3-5).