妊娠・授乳がマウス下顎骨の骨密度に及ぼす影響

篠原 淳・正橋鉄夫*・風岡宜暁・川瀬哲人
久野 一・森 篤志・加藤康弘・山田史郎

Changes in mandibular bone mineral density during pregnancy and lactation in mice

Atsushi SHINOHARA・Tetsuo MASAHASHI*・Yoshiaki KAZAOKA・Tetsuhito KAWASE
Hajime KUNO・Atsushi MORI・Yasuhiro KATO・Shiro YAMADA

Abstract: We studied the changes in mandibular bone mineral density (M-BMD) associated with pregnancy and lactation in mice.

Methods

Five female ddy mice were used in each of the following groups: control groups consisting of non-pregnant mice 8, 11, 14, 17 weeks old; pregnant, non-lactating groups consisting of 8-week-old pre-pregnant mice, 11-week old post partum mice, and 14- and 17-week-old puerperal, non-lactating mice; and pregnant, lactating groups, used to investigate the effect of lactation on M-BMD, consisting of 11-week-old post partum mice, and 14- and 17-week-old puerperal, lactating mice (both groups lactating for 3 weeks). Portions of the left mandible were resected, and bone mineral content (BMC) was measured by dual-energy x-ray absorptiometry (DXA; ultrahigh resolution mode, Hologic QDR 1000). Mandibular area (cm²) was measured with the use of an image analysis program (Ultimage, I&I). Bone mineral density was obtained from BMC and mandibular area.

A factorial ANOVA was used for statistical analysis.

Results

- 1) There was no difference in M-BMD associated with pregnancy.
- 2) M-BMD was significantly lower in puerperal 14-week-old lactating mice, but this difference rapidly disappeared after lactation was discontinued.

Key words: pregnant (妊娠), lactation (授乳), mandibular bone (下顎骨), DXA (二重エネルギー X線吸収測定装置), bone mineral density (骨密度)

緒 言

近年、産婦人科領域では妊娠・産褥期の骨代謝に関して骨密度、骨代謝パラメーター、女性・妊娠関連ホ

ルモンの測定による臨床検討や動物実験がなされてきた^{1~11)}。これらの報告からは、この時期での活発な骨吸収や骨形成が示唆されており、骨密度の変動を指摘する報告もみられる。一方、骨代謝と顎・口腔領域疾

愛知医科大学附属病院歯科口腔外科
(主任：山田史郎助教授)
*愛知医科大学産婦人科講座
(主任：中西正美教授)
Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
Aichi Medical University (Chief: Associate Prof.

Shiro Yamada)
*Department of Obstetrics and Gynecology, Aichi
Medical University (Chief: Prof. Masami
Nakanishi)
受付日：平成11年3月26日

図1 群分け

実験方法

1. 実験動物および飼育環境

実験動物として雌の ddy マウスを用い、6 週齢よりクリーン conv 環境下（水：滅菌水道水、照明：8：00 点灯、12：00 消灯の 12 時間明暗、室温：23±1℃、湿度：50±15%、換気：26 回／時、飼育ケージ：オートクレブ滅菌）で飼育を開始し、餌（クレア CE-7）・水は自由摂取とした。

2. 群分け

マウスは 3 群に分けた。対照群は非妊娠 8、11、14、17 週齢とし、この群に対して妊娠・出産による影響を検討する目的で妊娠前 8 週齢、出産直後 11 週齢、出産後非授乳の 14 週齢と 17 週齢からなる非授乳群を設定した（図 1）。さらに非授乳群に対して授乳による影響を検討するために出産直後 11 週齢、出産後 3 週間授乳させた 14 週齢、出産後 3 週間授乳させた後に断乳した 17 週齢からなる授乳群を設定した（図 1）。なお、各群の各週齢では 5 匹づつのマウスを体重測定を行った後に無痛下に薬殺して用いた。また、非授乳群と授乳群の仔マウス数には偏りが無いことを確認している。

3. 下顎骨骨密度の測定

マウス下顎骨骨密度の計測は以下の方法により計測した。

1) 骨塩量の測定

各マウスの左側下顎骨を摘出後、二重エネルギー X 線吸収測定装置（Hologic QDR-1000）を用い小動物測定モードである Ultrahigh resolution mode で骨塩量（mgams）の測定をアクリル板使用法でおこなった¹⁶⁾。骨塩量の測定時には測定用のステントを使用し、下顎骨骨体部の最下点と角突起最下点を結ぶ直線（以下、直線 A とする）と QDR-1000 の放射線の測定経路が直角になるように位置を設定した（写真 1、図 2）。

写真1 ステントによる下顎骨の位置設定

患の関係については骨粗鬆症動物モデルでの下顎頭の骨梁減少¹²⁾、顎骨皮質骨密度と骨梁密度の低下¹³⁾の確認に続き、根尖病変拡大¹⁴⁾の報告があり、また、骨粗鬆症による骨塩量の低下と顎関節症との関連を示唆する臨床検討¹⁵⁾がある。

以上の観点からは妊娠・産褥期の顎骨においても骨密度と顎・口腔疾患の関連が考えられる。しかし現在までに妊娠・産褥期の母体の下顎骨骨密度の推移を二重エネルギー X 線吸収測定装置を用いて検討した報告は見られない。そこで今回われわれは妊娠および産褥期マウスを用いて、妊娠および授乳が下顎骨骨密度に与える影響を二重エネルギー X 線吸収測定装置の小動物測定モードを用いた計測法（以下 DXA 法）により骨密度を測定し、検討したので報告する。

図2 DXA 法による下顎骨骨塩量の測定部位の設定

		対照群	非授乳群	授乳群
ANOVA	群		*	N.S
	週齢		**	N.S
	交互作用		*	N.S
週齢	8	29.3±1.7	29.8±1.6	
	11	31.6±0.6	40.3±0.9	40.4±1.4
	14	37.7±2.5	36.3±2.8	40.9±3.1
	17	41.4±3.7	43.1±6.7	39.6±3.5
		(g)		
ANOVA		*: P<0.05, **: P<0.01 Bonferroni ◆—◆ : P<0.01		

図3 体重の推移

また、下顎切歯の影響を極力避けるために骨塩量の測定部位を、切歯から臼歯へ移行する変曲点（点 A）を通り直線 A と直交する垂線（垂線 B）で切歯部と臼歯および切歯歯根部を含む下顎骨部（以下、下顎骨部）に分け、下顎骨部の骨塩量を測定した（図 2）。なお、マウス下顎骨部骨塩量の coefficient of variation 値は2.1%であった。

2）下顎骨部面積（cm²）の測定
骨密度測定用のステントを使用して下顎骨の位置を設定後、下顎骨を 2 倍の倍率で写真撮影を行った。画像はコンピューター（power macintosh 8500/120）に取り込んだ後、画像解析ソフト（Ultimage: I&I 社）を用いて先に設定した下顎骨部の面積を測定した。

図4 下顎骨密度の推移

3) 下顎骨骨密度 (mgrams/cm²) の計算
骨密度 (mgrams/cm²) = 骨塩量 (mgrams) / 面積 (cm²) より下顎骨部の骨密度を面積密度として算出した。

4. 下顎骨骨密度の統計解析
骨密度については群と週齢を変動要因として2元配置分散分析 (Factorial ANOVA) で解析を行った。また群間、週齢間の比較には Bonferroni-test を用いた。

結 果

1. 体重
1) 妊娠・出産による影響
対照群と非授乳群の体重の比較では、群および週齢による有意差を認め、さらに週齢と群による交互作用を認めた。週齢間の比較では体重は経時的に増加したが、11週齢から14週齢間では有意差を認めなかった。これには出産直後である非授乳群の11週齢の体重が同週齢の対照群の体重より重かったことが関与していた (図3)。

2) 授乳による影響
非授乳群と授乳群において、出産直後からの体重の比較を行ったところ有意差を認めなかった (図3)。

2. 下顎骨部骨密度
1) 妊娠・出産による影響
対照群と非授乳群の下顎骨密度の比較では、下顎骨密度は週齢による有意差を認めたが、群による有意差は認めなかった。また週齢と群による交互作用は認め

なかった。週齢間の比較では骨密度は8週齢から14週齢間に有意に増加した (図4)。

2) 授乳による影響
授乳群と非授乳群において、出産直後からの下顎骨密度の比較を行ったところ、骨密度は週齢および授乳の有無による有意差を認めた。また週齢と授乳の有無には交互作用を認めた。週齢間の比較から11週齢、14週齢より17週齢の骨密度は有意に増加したが、11週齢と14週齢間では有意差を認めなかった。群間の比較では14週齢の授乳群の骨密度は同週齢の非授乳群の骨密度より低下していたが、17週齢では両群間に差を認めなかった (図4)。

考 察

妊娠・産褥期には胎盤や授乳を介して母体から胎児・新生児にかなりのカルシウムやリンが移行し^{3, 17, 18)}、そのため母体ではカルシウムの補充機構が働くものの、なお骨密度や骨代謝への影響があるのではと考えられている³⁾。近年、妊娠・産褥期での骨密度の検討がヒトでは主に超音波骨密度測定装置^{1~3)}、動物ではDXA法を用いて^{4, 5)} 橈骨、踵骨、大腿骨、腰椎で行われてきた。これらの検討によると、妊娠後期では骨密度はやや低下するとの報告^{2, 5)}がある一方で、妊娠中は無変化であるとする報告もある^{6~8)}。しかし授乳期では骨密度は低下するとの報告が多く^{3, 5, 19)}、授乳期間が長いほどこの傾向は強くなり²⁰⁾、断乳により次第に回復すると考えられている^{9, 10)}。しかし、これらの結果について、特にヒトでは個々の食物摂取のばらつきの問題や妊娠・産褥期での身体活動の影響^{21~24)}

が指摘されていた。そこでわれわれは DXA 法によるマウスの骨密度の検討を行うにあたり、食物摂取については餌の種類は同一であり、身体活動の影響については力学的影響の観点から体重の増加による持続的な負荷や身体活動の違いの影響を受けにくいことや下顎骨骨密度の検討がないことを考慮して、下顎骨を選択した。さらに、骨密度の測定範囲は、ラットでは完成臼歯のミネラル代謝はほとんどないが切歯のそれは活発²⁵⁾であることを考慮し、主に下顎骨骨密度の変化を描出すべく測定範囲からマウスの切歯を可及的に除外した。その結果から、マウス下顎骨骨密度は妊娠による影響は受けないこと、授乳による影響は受けて授乳時には下顎骨骨密度の増加は抑制され非授乳時より低値を示すこと、断乳後はすみやかに骨密度が回復することが判明した。

一方、骨密度の変化には骨の代謝回転がその背景として存在しており、骨代謝回転の検討が骨形態計測や骨量に先行し、より鋭敏な骨代謝回転の指標である骨代謝マーカーにより測定されてきた。その結果、妊娠期や産褥期の骨代謝ではコントロール群との比較や授乳の有無の比較で骨密度に差がみられない場合でも骨代謝のレベルでは変化が生じている、または長期に継続している可能性が指摘されており^{2, 3, 11)}、顎骨においてもさらに骨代謝レベルでの検討の余地があると考えられる。

さらに、授乳による骨吸収促進の要因では骨の吸収に関係する副甲状腺ホルモンや吸収抑制に関係するエストロゲンなどのホルモンの検討から、副甲状腺ホルモンの高値、出産後のエストロゲン値の急激な低下、非授乳に比べて長い低エストロゲン状態の関与が示唆されており、母体のミネラル摂取量や濃度、子供への移行の問題も考えられている^{1~3, 11, 17, 18)}。このようなミネラルの問題については、低Ca食給餌ラットの授乳期に発現する大腿骨骨密度の低下は、Caの補充で改善できるとする報告⁴⁾や、Ca摂取の重要性を説く報告¹⁾がある。われわれの研究ではマウスの餌は自由摂取^{26, 27)}であり、かつ下顎骨での検討にもかかわらず授乳によって正常な骨密度の増加が抑制され、非授乳群に比べ低い骨密度値を示したことから、授乳期では母マウスと仔マウス間でのミネラル移行量の不均衡、摂取ミネラル濃度やホルモン等の要因が関与しているのではと考えられた。

結 語

妊娠および産褥期マウスを用いて、妊娠と授乳が下顎骨骨密度に与える影響を DXA 法により検討し以下の結果を得た。

1. 対照群と非授乳群間の骨密度の比較では、両群ともに骨密度は8週齢から14週齢間に有意に増加した

が群による有意差は認めず、妊娠・出産による骨密度への影響は認めなかった。

2. 非授乳群と授乳群間では骨密度に有意差を認めた。この差は出産後3週間授乳させた14週齢の授乳群の骨密度が同週齢の非授乳群に比べ低い結果によるものであった。

3. 授乳による下顎骨骨密度の低値は断乳により速やかに回復した。

引 用 文 献

- 1) 米山京子, 池田順子, 他: 母乳中カルシウム濃度と授乳婦の乳, 乳製品摂取, 骨吸収および骨密度との相互関係. 日衛誌 51: 770-779 1997.
- 2) 真鍋麻美, 鍵谷昭文, 他: 妊娠産褥期の骨代謝について. 青森臨産婦医会誌 10: 37-43 1995.
- 3) 水口弘司, 多賀理吉, 他: 産褥期の骨・カルシウム代謝. Bone 18: 89-95 1994.
- 4) 菊池武夫, 藤井祐二, 他: 授乳期ラットにおける卵殻カルシウムの骨塩量維持効果. 日栄・食糧会誌 47: 11-14 1994.
- 5) Tojo, Y., Kurabayashi, T., et al.: Bone structural and metabolic changes at the end of pregnancy and lactation in rats. Am J Obstet Gynecol 178: 180-185 1998.
- 6) 古謝将一郎, 永田行博: 妊娠・産褥期の骨量の変化. 臨産 48: 1086-1087 1994.
- 7) Sowers, M.F., Crutchfield, M., et al.: A prospective evaluation of bone mineral change in pregnancy. Obstet Gynecol 77: 841-845 1991.
- 8) Christiansen, C., Rødbro, P., et al.: Unchanged total body calcium in normal human pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 55: 141-143 1976.
- 9) Sowers, M.F., Corton, G., et al.: Changes in bone density with lactation. JAMA 269: 3130-3135 1993.
- 10) 浜本 保, 出田和久: 褥婦骨密度の測定一産後の骨密度の推移と分娩間隔による変化. Osteoporosis Japan 2: 139-141 1994.
- 11) 春名めぐみ, 福岡秀典: 骨代謝マーカーによる妊娠・産褥期の骨代謝動態に関する検討. 体力研 91: 109-115 1996.
- 12) 石田 悟: 実験的骨粗鬆症ラットにおける下顎頭の変化に関する研究一大腿骨頭および脊椎骨との比較一. 日口外誌 41: 957-969 1995.
- 13) 小林 博: 骨粗鬆症が顎骨などにおよぼす影響についての実験的および臨床的研究. 歯科学報 92: 711-727 1992.
- 14) 柴田直樹: ラットの実験的根尖病変の形成におよぼす卵巣摘出骨粗鬆症の影響. 愛院大誌 34: 159-179 1996.
- 15) 佐藤真弥子, 角田左武郎, 他: 閉経後の顎関節

- 症患者における骨塩量と下顎頭の変形(抄). 昭和歯会誌 18: 107-108 1998.
- 16) 高橋喜久彌, 三浦久幸, 中村 勝, 望月 博, 大石勝也, 他: DEXA 法による小動物モードの基礎的研究. コニカ X-レイ写真研究 46: 6-9 1995.
- 17) Atkinson, P.J., West R.R.: Loss of skeletal calcium in lactating women. J Obstet Gynaecol British Commonwealth 77: 555-560 1970.
- 18) Lamke, B., Brundin, J., et al.: Changes of bone mineral content during pregnancy and lactation. Acta Obstet Gynecol Scand 56: 217-219 1977.
- 19) Hayship, C., Klein, T., et al.: The effect of lactation on bone mineral content in healthy postpartum women. Obstet Gynecol 73: 588-592 1989.
- 20) Wardraw, G.M., Pike, A.: The effect of lactation on peak adult shaft and ultradistal forearm bone mass in women. Am J Clin Nutr 44: 283-286 1986.
- 21) Drinkwater, B.L., Chesnut, CH III.: Bone density changes during pregnancy and lactation in active women: a longitudinal study. Bone Miner 14: 153-160 1991.
- 22) Tylavsky, F.A., Curtis, C.: Changes in radial and vertebral bone mass due to pregnancy and lactation in humans. J Bone Miner Res S414 1989.
- 23) Brooks, G.G., Thomas, B.V., et al.: Hip pain in late pregnancy. J Reprod Med 35: 969-970 1990.
- 24) 古謝将一郎, 児島信子, 永田行博: 妊娠・産褥婦人の骨量の推移—特に長期授乳の影響について. Bone 8: 97-104 1994.
- 25) 茂田貫一: 歯牙硬組織の代謝に関する研究. 口科誌 8: 392 1959.
- 26) 岡本 徹: 硬組織および血清中 P 量の妊娠による変動. 口科誌 23: 1-7 1974.
- 27) 滝川 尚: 硬組織および血清中の Ca, Mg 濃度の妊娠による変動. 口科誌 22: 328-337 1973.