Osteolathyrisism におけるラット大腿骨の病理学的研究

小野 木 正 章

北海道大学歯学部 口腔病理学講座 (指導: 雨宮 璋)

[受付: 昭和57年12月20日]

Pathological studies of the femora in osteolathyrism rats

Masaaki Onoki

*Department of Oral pathology, Hokkaido University School of Dentistry
(Director ; Prof. Akira Amemiya) Kita 13, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060*

[Accepted for publication : December 20, 1982]

Key words : osteolathyrism/aminoacetonitrile/hyperostosis/scanning electron microscopy/morphometry

Abstract : The present studies were undertaken to clarify the mechanism of bone metabolism in osteolathyrism and the entity of hyperostosis in lathyrism rats.

370 male young rats, Wistar strain, were divided into the following four groups. In Group I, 2.5% aqueous solution of Aminoacetonitrile (AAN) at a dose of 200 mg/kg was intraperitoneally injected daily. Animals were sacrificed during the period of 24 days. In Group II, weight-pair controls for group I were made. In Group III, after cessation of AAN administration for 14-days, animals were sacrificed during the period of 2nd to 10th day. In Group IV, weight-pair controls for Group III were made. In Group V, normal controls were made. The femora of the rats were examined histologically, scanning electron microscopically, and morphometrically.

The scanning electron microscopy revealed that the typical new bone was characterized by irregular pumice-like structure constructed of anastomosing thin trabeculae with surface pattern of clustered calcifying globules.

On the other hand, the morphometrical examination revealed that lathyrism femora were composed of rich water and poor ash and were poorly calcified new bone trabeculae.

After cessation of AAN administration, the hyperostosis showed a trend to recovery, but bone matrix during the recovery process were different from that of normal bone.

These findings indicate that in the osteolathyrism an accelerated abnormal bone formation associated with rapid increase of water, resulting in characteristic pumice-like structure was occurred. It is suggested that the pathological processes were possibly caused by disturbance of the bone forming cells and functional demand on the impaired cells.

<北海道大学審査学位論文>

緒 言

人が、Lathyrus 科の植物の種子 (L. sativus) を大量に摂取すると、足の強直性麻痺などの神経系統の症候群を引き起こすことは、Stockmann (1929)¹⁾により Lathyrism として報告されている。Paissios ら (1962)²⁾によると、この疾患の記載の歴史は古く、遠く Hippocrates の著書 On Epidemics や、古代 Hindu の文献などに見られるという。また19世紀には、パンの材料の一部としてよくこの豆が使用され、当時の流行病であっ

札幌市北区北13条西7丁目(060)

たという。

一方、この神経系に発生する Lathyrism とは別に、骨格系に起こる変化が Geiger ら (1933)³⁾により報告された。彼らは、L. odoratus の種子で飼育したラットにおいて、長管骨の変形、脊柱彎曲、および胸骨彎曲などが認められたと述べている。

骨格系に起こる Lathyrism は、Geiger らの他に、Robinson ら (1934)⁴⁾、Ponseti ら (1954)⁵⁾などにより報告され、Ponseti ら (1954) は、L. odoratus の種子が、中胚葉系組織に系統的疾患を引き起こすことを示唆した。そして Selye (1957)⁶⁾

は、この骨格系の Lathyrism に対して Osteolathyrism の名称を与えて、神経系に起こる Neurolathyrism と区別した。

その後現在まで、幾多の研究により、動物に *L. odoratus* の種子^{1-5,7-17)}、その有効成分である β -Aminopropionitrile (BAPN; $\text{H}_2\text{N}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CN}$)^{10,15,17-39)}、あるいは化学的類似物質である Aminoacetonitrile (AAN; $\text{H}_2\text{N}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CN}$)^{6,17,40-62,73,74)}、Methyleneaminoacetonitrile (MAAN; $\text{CH}_2=\text{N}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CN}$)^{16,47)} などの lathyrogen を投与すると、骨組織筋付着部の過骨症^{2,3,7-10,12,13,17,28,30,32,40,43,46,49,51,55,57,59,60,62,73,74)}、骨端軟骨の異常^{7,13,17,25,28,30,41,43,46,48,53,54,57,60,62,73)}、骨多孔症^{3,13-15,25,43,46,48,60,62,73)}、など骨を中心とした間葉系組織に重篤な病変が起きることが知られてきた。

特に古くから、Osteolathyrism の最も著明な変化として過骨症が注目されてきた。これらの記載に基づいて、その発生過程および形成過程を追ってみると、Robinson ら (1934)⁴⁾ は、肉眼的に、筋付着部における仮骨様の外観をした不規則な骨形成を認めた。Gardner ら (1958)¹³⁾ は、肉眼的には、骨の変形を、X線学的には、筋付着部における境界部の不規則な不透過像を認め、さらに組織学的検索の結果、この部位に、幼若な結合組織の増殖、間葉系細胞から骨芽細胞への分化、および未熟で不規則な骨梁の形成を認めた。また Selye (1957) は、組織学的に、筋付着部の骨膜の著明な増殖と、この増殖した結合組織が軟骨や骨梁へ化生することを認め、さらにこの骨膜下の結合組織内に、好塩基性小球体が発生することを認めた。

このような過骨症の発生に、機械的因子が関与していることは、古くから注目されていた。Robinson ら (1934) は、lathyrogen の毒性因子が、骨代謝に影響を及ぼすため過骨症が発生すると考え、さらにこの過程における筋の機械的刺激の重要性を指摘した。機械的刺激をもたらす筋の牽引力が二次的因子として重要なことは、Hamre ら (1957)⁹⁾ の筋の切断、あるいは Hamre ら (1958)¹²⁾ の支配神経の切断により、牽引力の加わらない部位には過骨症の発生をみないという報告によりさらに裏付けられ、Bergquist ら (1963)⁴⁹⁾ によっても、筋の牽引力は骨芽細胞の分化を引き起こすた

めに必要な因子として重要視された。

一方、鈴木 (1959)⁴⁶⁾ は、AAN 投与幼若ラットの大腿骨を検索して、極めて旺盛に有機基質および無機基質を形成する過骨症部と、有機基質および無機基質の著しい形成障害を示す骨端軟骨部とを、形成量の変化および基質の変化の両面から比較検討した。その結果、lathyrogen の根本的作用機序は共通であっても、おのおのの組成の組織化の相異によって反対の病変を生じうるかもしれないと推定し、過骨症は AAN によって生じたある代謝機能の障害に、筋腱の牽引力が直接加わって生じた特別のものであると述べた。

このような過骨症を主体とする骨格系の変化は、lathyrogen の投与を中止すると、比較的速やかに修復されることが知られているが、回復期に関する検索は少なく、Ramamurti ら (1958)¹⁹⁾、Barrington ら (1966)⁷¹⁾、および入 (1964)⁷⁴⁾ の報告がみられるだけである。Ramamurti ら (1958) は、lathyrogen の投与を中止すると、骨幹部過骨症の過剰部位に吸収が起こり、2 週間で正常に復したことを認めた。Barrington ら (1960) は、歯周組織を検索し、歯槽骨を中心に回復の傾向を認めたが、基質の形成量は不十分であることを述べている。

このように Osteolathyrism 過骨症骨に関して、種々の研究がなされているが、その多くは組織学的あるいは組織化学的な方法を用いた定性的検索が主体であり、過骨症の形成機序およびその本態について今なお不明な点が多い。

一方、形態学的な変化をより定量的にとらえようとする試みは古くからなされており、Osteolathyrism の場合にも、湿重量、水分含量、および灰分含量などについて計量学的検索が試みられている^{2,7,30,32,34,38,43,47,53-55,58,60,62)}。しかし、その多くは重量を基準にした検索により、大腿骨骨基質内、特に骨端部における水分の著明な増加が認められることを記載しているに過ぎない^{30,34,43,47,53-55,58)}。

形態計量学的検索は、臓器、組織の細胞や基質の立体的分布および配列を把握し、さらに、病変時における構成細胞や基質の変化を把握するために有用な方法と思われる。

また、走査型電子顕微鏡は、臓器、組織の表面あるいは断面での立体的構造の観察を可能にし、特に硬組織の検索には非常に有用な観察手段であり、形態計量学的方法と併用して両者の所見を比較検討することは、病変時の組織の変化をより明確に解析するために、大変意義のある検索方法と考えられる。

今回、著者は、Aminoacetonitrile(AAN)の投与により、急速に形成される過骨症部新生骨の形成過程と、AANの投与中止後の回復過程を、X線学および立体的な微細構造を中心に病理形態学的に検索し、さらに、大腿骨骨基質成分の組成および性状を形態計量学的に明らかにして、おのおのの所見を比較検討することにより、過骨症の発生過程ならびに回復期における変化を解明し、Osteolathyrismにおける骨の代謝機構と過骨症の本態を究明する目的で、以下の実験を行った。

実験材料と方法

実験動物は、平均体重100gのWistar系幼若雄性ラット370匹を用い、オリエンタル固型飼料と水道水を与えて飼育した。実験動物は次の5群に分けた。1. Osteolathyrism群；Aminoacetonitrile 酸性硫酸塩（東京化成）の2.5%水溶液を200mg/kg体重の割合で連日腹腔内に投与し、投与開始後1, 3, 5, 7, 10, 14, 17, 21, 24日目におのおの10匹ずつ屠殺した。2. Osteolathyrism群のWeight-Pair対照群。3. Osteolathyrism回復群；AANを14日間連続投与後、投与を中止して2, 3, 5, 7, 10日目におのおの10匹ずつ屠殺した。4. Osteolathyrism回復群のWeight-Pair対照群。5. 正常対照群。

実験動物を屠殺後、直ちに両側大腿骨を摘出して、10%中性ホルマリンおよび一部を5%グルタルアルデヒド(0.1Mリン酸緩衝液, pH 7.4, 4°C)にて固定した。これらの大腿骨を試料としてX線学的、病理形態学的、および形態計量学的に検索した。

1. X線学的観察および病理形態学的観察

- 1) X線学的観察；軟X線装置（ソフテックス社、Softex-CSH型）にて試料を撮影した。
- 2) 肉眼的観察；一部の試料の軟組織を可及的に

除去して肉眼的に観察した。

3) 病理組織学的観察；一部の試料をPlank-Rychloの迅速脱灰液にて脱灰したのち、通法によりパラフィン包埋して薄切した。この薄切切片にHE染色、PAM染色、PAS染色、Alcian blue染色、Toluidine blue染色、およびAzan-Mallory染色を施し光学顕微鏡にて観察した。またグルタルアルデヒドで前固定した試料を2%オスミック酸（リン酸緩衝液, pH 7.4）で後固定し、通法によりEpon 812で包埋して1~1.5μmの半超薄切片を作製した。この半超薄切片に、Toluidine blue染色、Kossa-Toluidine blue重染色を施し光学顕微鏡にて観察した。

4) 走査型電子顕微鏡の観察；一部の試料を60°Cの恒温器内で1% NaOH水溶液に浸漬して軟組織を溶解除去し、蒸留水で充分水洗して超音波洗滌器で洗滌した。この試料をエタノール系列で脱水し、自然乾燥および臨界点乾燥して筋付着部を中心に観察試料を作製した。試料の観察面に金イオンスパッタコーティングを施し、加速電圧15kVで観察した。観察には、日本電子JEOL-35型走査型電子顕微鏡を用いた。

2. 形態計量学的検索

一部の試料の軟組織を可及的に除去して湿重量を測定し、アルキメデスの原理を応用して体積を測定した。試料を恒温器内で105°C、120分間恒量になるまで乾燥脱水して乾燥重量を測定した。さらに電気炉で650°C、12時間恒量になるまで乾式灰化して灰分重量を測定した。以上の測定値から、大腿骨の体積、湿重量、密度、水分重量、乾燥重量、粗有機成分重量および灰分重量を算定し、乾燥重量に対する灰分の比率および湿重量あるいは体積に対する水分、粗有機成分、灰分の比率を算出した。

結 果

Osteolathyrism群の体重は、AAN投与開始後14日目まで若干の減少を示したが、投与開始後14日目以後は、若干の増加を示した。

Osteolathyrism回復群の体重は、AAN投与中止後比較的速やかに増加した。

Osteolathyrism群では、一般にAAN投与開

始後10日目頃より、四肢の筋腱付着部に過骨症骨を触知でき、この時期を境にして動物は次第に歩行困難となった。投与開始後14日目頃には、過骨症と浮腫性の腫張のため、顔貌は著しく変形した。投与開始後21日目頃には、四肢の過骨症および腫脹が著しくなり、歩行も著しく困難となった。

Osteolathyrism 回復群では、投与中止後大腿骨過骨症部に若干の縮小が認められるものの、投与中止後10日目には依然として著しい変形が認められた。

1. X線学的所見および病理形態学的所見

1) X線学的所見

(1) Osteolathyrism 期

AAN 投与開始後1日目、3日目、および5日目；大腿骨の外形線は鮮明であり、正常対照群と異なる所見はほとんど認められなかった。

AAN 投与開始後7日目；骨幹部近心伸側面の筋付着部にわずかな小隆起を認めたが、一般に外形線は鮮明であり、正常対照群の外形線と類似していた (Fig. 1)。

AAN 投与開始後10日目；骨幹部近心側、特に屈側粗線部に著しい隆起が認められた。この隆起部の外形線は、不規則かつ不鮮明であり、微細な針状構造が既存骨皮質に直交する方向に配列していた。

AAN 投与開始後14日目および17日目；骨幹部の隆起は既存骨をほぼ覆い尽し、骨腫様膨隆を呈した。この膨隆部の外形線は一部を除いて、一般に微細な針状構造からなっていた。また骨幹部屈側の一部には陥凹が認められた (Fig. 2)。

AAN 投与開始後21日目および24日目；膝関節部を含む著しい骨腫様膨隆が認められ、その内部は若干透過性が増加した。外形線の一部は比較的鮮明となったが、大部分は微細な針状構造からなり、不鮮明であった (Fig. 3)。

(2) Osteolathyrism 回復期

投与中止後2日目、3日目、および5日目；基本的には、大量に形成された骨腫様膨隆により大腿骨が覆われていた。膨隆部の外形線は比較的鮮明となったが、骨幹部屈側の陥凹部の外形線は境界不鮮明であり、微細な針状構造が認められた。

投与中止後7日目および10日目；大腿骨全体を覆っていた骨腫様膨隆の外形線は、比較的鮮明となったが、骨幹部屈側の陥凹部周辺には、若干の針状構造が認められた。

2) 肉眼的所見

(1) Osteolathyrism 期

AAN 投与開始後1日目、3日目、および5日目；大腿骨骨表面は比較的滑沢であり、正常対照群と異なる所見は認められなかった。

AAN 投与開始後7日目；骨幹部近心伸側面の筋付着部にわずかな小隆起を認めたが、基本的には正常対照群に類似していた (Fig. 4)。

AAN 開与開始後10日目；骨幹部近心伸側面、大転子遠心伸側面、および屈側粗線上に小隆起が認められた。また膝関節部に膨隆が認められた。

AAN 投与開始後14日目および17日目；大転子遠心伸側面、小転子伸側面、屈側粗線部、および膝関節部内側上顆ならびに外側上顆周囲に及ぶ著明な骨腫様膨隆が認められ、膝関節部は若干内側に彎曲していた (Fig. 5)。また骨幹部屈側の膨隆部に陥凹が認められた。

AAN 投与開始後21日目および24日目；膨隆はさらに増大し、特に小転子部において著明であった。また膝関節部は内側に彎曲していた。

(2) Osteolathyrism 回復期

投与中止後2日目および3日目；大腿骨全体を覆う骨腫様膨隆が、屈側粗線部、大転子部、および小転子部を中心に認められた。また膝関節部は内側に彎曲しており、骨幹部屈側には陥凹が認められた。

投与中止後5日目；大腿骨の骨腫様膨隆は、屈側粗線部、小転子伸側面、および膝関節部において若干縮小したが、一部には比較的平坦な面が認められた。

投与中止後7日目および10日目；大腿骨の膨隆は大部分消失し、屈側粗線部と小転子部の筋付着部にのみわずかな小隆起が認められた。膝関節部の膨隆はほとんど消失し、大腿骨の骨表面は比較的平坦になった。

3) 病理組織学的所見

(1) Osteolathyrism 期

AAN 投与開始後1日目；大腿骨骨幹部で

は、筋付着部の骨膜に若干の細胞増殖と線維成分の増加が認められた。骨幹部では、正常対照群と異なる所見はほとんど認められなかった。

AAN 投与開始後3日目；骨幹部筋付着部では、紡錘形細胞の増殖による骨膜の肥厚(Fig. 6)と類骨組織の増生が認められ、骨膜下の一部には出血巣も認められた。

一方骨端軟骨細胞層では、肥大層の細胞配列に軽度の乱れが認められたが、石灰化層の新生骨梁は比較的太く、正常の新生骨梁との区別は困難であった。

AAN 投与開始後5日目；骨幹部筋付着部では、紡錘形および類円形の骨芽細胞により形成された類骨組織に若干の増加を認めた。また類骨組織内の一部の骨芽細胞において、若干小型で形態の異常な細胞が認められた(Fig. 7)。

骨端軟骨細胞層では、肥大層の軟骨細胞配列に若干の乱れが認められ、石灰化層の新生骨梁は大部分が若干細く、しかも数も少なかった。

AAN 投与開始後7日目；骨幹部筋付着部では、肥厚した骨膜、類骨組織、および石灰化骨梁が認められた(Fig. 8)。石灰化骨梁は、既存骨皮質から骨膜方向に延び、波状に結合組織内に入り組み、その周辺の骨芽細胞による盛んな新生を伺わせた。これら新生骨梁は、既存骨と容易に区別でき、骨梁の一部は相互に結合していた。また骨梁間隙には、毛細血管と線維性結合組織が分布していた。

骨端軟骨細胞層では、細胞配列に著しい乱れが認められ、肥大層軟骨細胞周囲の殻状基質に類円形好塩基性およびPAS陽性小顆粒が散存性に認められた。また石灰化層の新生骨梁は細く短かった。

AAN 投与開始後10日目；骨幹部筋付着部では、広範な類骨組織および骨梁の形成が認められたが、既存骨と新生骨梁の境界は比較的明瞭であった。新生骨梁は、径1～5 μm の類円形好塩基性およびPAS陽性小顆粒が相互に癒着して鈴なりに配列され、既存骨皮質に直交する方向に並走し、一部の骨梁は相互に連結されていた。類骨組織内の骨芽細胞は、若干小型で多角あるいは星状など、形態の異常を示していた。骨梁間隙には、

毛細血管と線維性結合組織が分布していた。また既存骨骨髓側に若干の吸収が認められた。

AAN 投与開始後14日目および17日目；骨幹部筋付着部では、広範な類骨組織および骨梁の形成が認められ、骨膜は著しく肥厚していた。この肥厚した結合組織層には、紡錘形細胞と無定形好酸性類骨組織が交互に柵状に配列する部位や、細胞が類骨組織を取り囲むように配列する部位も認められ(Fig. 9)、さらに一部では、軟骨内化骨による新生骨梁の添加形成が認められた。また新生骨梁周囲には、多数の骨芽細胞が配列し、活発な骨形成を営んでいる部位(Fig. 10)、好酸性基質内に球状好塩基性小顆粒が鈴なりに集積している部位(Fig. 11)が認められた。一方細胞の少ない骨梁の間隙は、毛細血管や線維性結合組織が分布しており、このような骨梁間隙は、一部で骨吸収により薄く多孔性となった既存骨皮質を介して骨髓側と連続していた(Fig. 12)。

また既存骨皮質上に、類骨組織がほとんど存在せず、大部分が過骨症部と同程度の厚さに発達した結合組織からなる部位が認められた。この組織内には紡錘形から多角形等の種々の形態の細胞が認められ、大部分が結合組織線維と無定形で均質な好酸性物質からなり、既存骨上にわずかに充血した血管腔を認めるに過ぎなかった。

骨端軟骨細胞層では、肥大層の細胞配列に著しい乱れが認められ、石灰化層の新生骨梁は細く短かった(Fig. 13)。

AAN 投与開始後21日目および24日目；骨幹部筋付着部では、類骨組織は石灰化されて既存骨皮質に直交する新生骨梁へと変化し、骨膜直下の骨梁は、相互に先端部が連結して比較的平坦な表面構造を呈した。骨梁間隙の骨芽細胞は、骨膜下の骨梁周囲にのみ認められ、空隙は骨髓腔様を呈していた。骨膜下の一部には軟骨内化骨による骨梁形成も認められ(Fig. 14)、球状小顆粒が鈴なりに集積している殻状基質も認められた。骨膜下の新生骨梁部には、破骨細胞による骨吸収と骨改造を伺わせる部位も認められ、骨梁は吸収されて細くなり、骨梁間隙は若干広くなった。

(2) Osteolathyrisism 回復期

投与中止後2日目および3日目；骨幹部筋付着

部では、骨膜が菲薄化し、新生骨梁の先端部は相互に連結して比較的平坦な骨表面になった。過骨症内部では、新生骨梁が相互に連結して網目状構造を呈し、骨梁間隙の大部分を充血した血管腔が占め、一部の骨梁周囲には若干の破骨細胞が認められた。

過骨症部と同程度に肥厚した結合組織部では、比較的径の太いコラーゲン線維が方向性をもって緻密に並走しており、多数の紡錘形細胞とわずかの血管腔が認められた。また結合組織周囲の新生骨梁および既存骨皮質付近には、球状小顆粒を含む類骨組織が若干認められた。

投与中止後5日目および7日目；骨幹部骨表面は連続して平坦となり、過骨症骨内部では、新生骨梁の吸収により比較的広い二次性骨髓腔が認められた (Fig. 15)。また一部に球状小顆粒を含む類骨組織や、周囲に骨芽細胞が密に配列した骨梁も認められた (Fig. 16)。

骨端軟骨細胞層では、細胞配列の乱れがほぼ回復し、比較的規則的な配列を呈していた。

投与中止後10日目；骨幹部過骨症部では、網目状構造を呈した新生骨梁が太さを増し、骨梁間隙は骨髓腔様を呈した。

4) 走査型電子顕微鏡的所見

(1) 正常対照群

比較的幼若なラットの大腿骨骨表面は、一般に平坦であるが、筋付着部では、基本的に径 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ の紡錘形石灰化物が密集し、さらに径 $10 \sim 20 \mu\text{m}$ の小窩および径 $30 \sim 80 \mu\text{m}$ の小孔が多数認められた (Fig. 17)。このような部位では、相互に癒合した細い骨梁が平坦な面から若干盛り上っており、区別が容易であった。

骨内膜下の骨質では、一般に径 $100 \sim 200 \mu\text{m}$ の孔や、径 $10 \sim 20 \mu\text{m}$ の小孔および小窩が均一に分布した比較的平坦な表面構造が認められたが、一部で、平盤状あるいは痂皮状の石灰化物の集積が認められた。また小窩の内壁には径 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ の微細な線維網が、窩底には径 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ の微細な孔が認められた。

成熟したラットの大腿骨骨表面は、一般に平坦であり、径 $10 \sim 20 \mu\text{m}$ の小孔および小窩が均一に多数認められた (Fig. 18)。一方筋付着部では、

粗糙に形成された細い骨梁が、平坦な骨表面から盛り上り、骨梁の表面には多数の孔や小孔が認められた (Fig. 19)。また骨表面の一部には紡錘形石灰化物が密集していたが、この石灰化物の表面には皺状縞模様が認められ、皺状縞模様と骨表面の微細な線維状石灰化物との連続も散見された。

(2) Osteolathyrism 期

AAN 投与開始後1日目および3日目；大腿骨筋付着部では、凹凸粗糙な隆起および小孔周囲に密に配列した径 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ の紡錘形石灰化物が認められた (Fig. 21)。この紡錘形石灰化物の表面には、皺状縞模様が認められた。凹凸粗糙な隆起の一部には、鈴なり配列して細い骨梁を形成している径 $0.5 \sim 3 \mu\text{m}$ の石灰化球が認められた (Fig. 22)。この石灰化球の表面の一部に皺状縞模様が認められたが、径 $3 \mu\text{m}$ 程度の石灰化球は、癒合した径 $0.5 \mu\text{m}$ 程度の微細な石灰化球から構成されていた。

AAN 投与開始後5日目；骨幹部筋付着部の骨表面は、比較的平坦な面から凹凸粗糙な面へと移行的に変化を示しており、この粗糙な部位では、石灰化球が痂皮状に癒着して、既存骨小孔周囲に同心円状に盛り上り、過骨症骨表面は軽石状を呈していた。

AAN 投与開始後7日目；基本的には投与開始後5日目の所見に類似していたが、凹凸粗糙な隆起がさらに著明に認められ (Fig. 23)、新生骨梁の形成部位では、無数の骨梁と径 $100 \sim 150 \mu\text{m}$ の小陥凹とからなる特徴的な軽石状構造が認められた。この新生骨梁表面には、径 $0.5 \mu\text{m}$ 程度の微細な線維状石灰化物および線維状構造と石灰化球からなる数珠状の構造が認められた。

過骨症部の切断面では、粗糙な既存骨上に空隙を介した新生骨梁が認められ、骨表面側程多数の孔が存在し、凹凸の激しい粗糙な構造が認められた (Fig. 24, 25)。

一方比較的平坦な面では、線維状構造が一定方向に規則的に配列し、正常対照群の表面構造と類似していた。

AAN 投与開始後10日目；大腿骨筋付着部の過骨症部の切断面では、菲薄化した既存骨皮質上に直交して配列している比較的細い骨梁が認められ

た。この骨梁は相互に癒合し、骨梁間の円筒状の空隙は過骨症部表面へ開放しており、この空隙と新生骨梁の先端の凹凸からなる特徴的な軽石状構造が認められた (Fig. 26)。この骨表面には、すり鉢状小陥凹および縁が明瞭で底に微細な孔のある小陥凹が認められた。前者のすり鉢状小陥凹には、微細な線維状構造の束による棘状の構造が認められ、後者の小陥凹には、針状の微細な線維状物が集合した平坦な面、径 $0.1 \mu\text{m}$ 程度の微細な石灰化球、および微細孔が認められた (Fig. 27)。

AAN 投与開始後14日目および17日目；骨幹部の過骨症骨表面では、特徴的な軽石状構造が認められた。

過骨症部切断面では、不明瞭となった既存骨皮質にはほぼ直交して配列している新生骨梁が認められた (Fig. 28)。薄い平盤状の新生骨梁表面には、多数の小窩が認められ、一部の骨梁では、数本束になった微細な線維状構造と石灰化球からなる数珠状の構造が認められた (Fig. 29)。

骨髄側既存骨面は著しく多孔性であり、特徴的な虫喰状構造が認められた (Fig. 30)。

AAN 投与開始後21日目および24日目；過骨症骨表面では、凹凸粗雑な面に多数の小孔が認められたが、経日的に比較的平坦な面へ変化した (Fig. 31)。この骨梁表面には鈴なりに集積した石灰化球が認められた。

過骨症部切断面では、既存骨皮質が吸収されて不明瞭となり、新生骨梁も既存骨皮質側へ吸収され、骨髄腔の拡大が認められた。

骨髄側骨面では、無数の小窩およびすり鉢状小陥凹が認められ、多孔性の骨面を示した。

(3) Osteolathyrism 回復期

投与中止後2日目および3日目；過骨症部骨表面では、多数の小孔が認められたが、一部に平坦化している面が認められた (Fig. 32)。

過骨症部切断面では、過骨症内部の新生骨梁が、既存骨皮質とわずかな空隙を介して骨皮質に直交して配列し、緻密な網目状構造が認められた。骨梁表面の石灰化球は痂皮状に集積し、一部では微細な線維状構造により数珠状の構造を呈する石灰化球も認められた。

投与中止後5日目および7日目；過骨症骨表面

では、凹凸粗雑な面およびすり鉢状小陥凹の密集する面が認められた (Fig. 33)。一部の新生骨梁表面には、数珠状の構造を呈する石灰化球が認められた。

骨髄側骨面では、すり鉢状小陥凹が密集し、陥凹底に径 $0.2 \sim 0.5 \mu\text{m}$ の微細な線維状構造の束からなる棘状の構造が認められた。

投与中止後10日目；過骨症骨表面では、すり鉢状小陥凹が密集し、一部に過骨症内部の空隙が認められたが、経日的に比較的平坦な骨表面を示した。

過骨症部切断面では、過骨症内部の網目状の骨梁構造が緻密さを増したが、正常な大腿骨の緻密な骨基質とは、明らかに異っていた。

骨髄側既存骨では、すり鉢状小陥凹は数も少なく、小孔間に若干認められるのみであり、次第に平坦な骨面を呈した。

2. 形態計量学的所見

1) Osteolathyrism 期

(1) 体積

正常対照群では、経日的に直線的な増加を示した。Osteolathyrism 群では、投与開始後5日目頃から急激に増加し、投与開始後7日目に正常対照群を凌ぎ、投与開始後21日目で実験開始後の値の約4.2倍、正常対照群同日の値の約2.8倍にまで

Fig. 34 Osteolathyrism
OL ; Group I WPC ; Group II NC ; Group V

増加した (Fig. 34)。

(2) 湿重量

基本的には体積と同様の変化を示した。正常対照群では、体積の増加と共に直接的な増加を示した。Osteolathyrism 群では、投与開始後5日目頃から急激に増加し、投与開始後10日目には正常対照群を凌ぎ、投与開始後21日目で実験開始時の値の約4.0倍、正常対照群同日の値の約2.5倍にまで増加した (Fig. 35)。

(3) 密度

Fig. 35 Osteolathyrism

Fig. 36 Osteolathyrism

正常対照群では、経日的に漸増し他の群より常に高い値を示した。Osteolathyrism 群では、経日的にゆるやかに減少して投与開始後14日目には最低値を示した。その後漸増したが実験開始時の値まで回復せず、投与開始後24日目に正常対照群同日の値より約13.0%の減少を示した。また Weight-Pair 対照群では、終始正常対照群と Osteolathyrism 群の間の値を取って漸増した (Fig. 36)。

(4) 水分重量

基本的には、体積および湿重量と類似の変化を示した。正常対照群では、経日的な増加を示した。Osteolathyrism 群では、投与開始後5日目から急激に増加し、投与開始後7日目には正常対照群を凌ぎ、投与開始後21日目に実験開始時の値の約4.4倍、正常対照群同日の値の約3.3倍にまで増加した。Weight-Pair 対照群では、漸増を示したが、正常対照群に比すとその増加はやや下回っていた (Fig. 37)。

(5) 乾燥重量

正常対照群では経日的な増加を示した。Osteolathyrism 群では、投与開始後10日目まで正常対照群より若干低い値であったが、投与開始後14日目から正常対照群を凌ぎ、投与開始後24日目に実験開始時の値の約3.4倍、正常対照群同日の値の

Fig. 37 Osteolathyrism

約1.5倍になった (Fig. 38)。

(6) 粗有機成分重量

正常対照群では、経日的に漸増した。Osteolathyrisms 群では、投与開始後10日目から正常対照群を凌いで増加し、投与開始後24日目に最大となり実験開始時の値の約3.8倍、正常対照群同日の値の約1.9倍に達した。Weight-Pair 対照群では、経日的に漸増したが、正常対照群に比すとその増加は少なかった (Fig. 39)。

(7) 灰分重量

正常対照群では、経日的に漸増した。Osteolathyrisms 群では、投与開始時から投与開始後10日目まではほぼ一定であったが、投与開始後17日目に正常対照群を凌ぎ、投与開始後24日目には実験開始時の値の約3.0倍、正常対照群同日の値の約1.2倍となった。Weight-Pair 対照群では、漸増したが、終始正常対照群より低い値であった (Fig. 40)。

Fig. 38 Osteolathyrisms

Fig. 39 Osteolathyrisms

Fig. 40 Osteolathyrisms

(8) 乾燥重量に対する灰分重量の比率 Percentage ash weights

$$(\text{PAW} = \frac{\text{灰分重量}}{\text{乾燥重量}} \times 100)$$

正常対照群では、平均 54.0 ± 2.2 の値を示し Weight-Pair 対照群では、平均 53.7 ± 1.7 の値を示した。Osteolathyrisms 群では、平均 45.1 ± 4.5 の値を示し正常対照群に比し高度の有意差 ($P < 0.01$) を示した (Fig. 41)。

(9) 湿重量に対する水分、粗有機成分および灰分重量の比率

正常対照群では、経日的に水分比率の漸減と灰分比率の漸増が認められ、粗有機成分比率はほぼ一定値であった。Osteolathyrisms 群では、水分比率の増加が認められ、灰分比率は相対的に著しい減少を示した。投与開始後14日目には、水分比率は71%の最大値を示し、灰分比率は11%であった。投与開始後17日目以後は、水分比率65%前後、灰分比率17%前後の一定値を示した。また粗有機成分比率は、経日的に減少し投与開始後10日目以後18%前後の値を示した。一方 Weight-Pair 対照群では、水分比率の漸減と灰分比率の漸増が認められたが、粗有機成分比率はほとんど変動しなかった (Fig. 42)。

(10) 体積に対する水分・粗有機成分および灰分重量の比率

正常対照群では、水分比率は経日的に漸減したが、灰分比率は著しく増加し実験開始時の値の約1.8倍になった。Osteolathyrisms 群では、水分比

Percentage ash weights (PAW)*

	DAYS		50		%
			ASH	ORGANIC MATTER	
OSTEOLATHYRISM	3	48			
	5	48			
	7	43			
	10	42			
	14	39			
	17	53			
	21	43			
	24	45			
WEIGHT-PAIR CONTROL	3	51			
	5	51			
	7	54			
	10	55			
	14	55			
	17	54			
	21	53			
	24	56			
NORMAL CONTROL	0	51			
	3	56			
	5	51			
	7	55			
	10	55			
	14	51			
	17	55			
	21	56			
	24	57			

Fig. 41 Osteolathyrisism

$$*PAW = \frac{ASH \text{ WEIGHTS}}{DRY \text{ WEIGHTS}} \times 100$$

率は漸増し投与開始後17日目まで最大となり、その後投与開始後24日目まで減少した。粗有機成分比率は投与開始後10日目まで漸減し、その後若干増加した。灰分比率は投与開始後著しく減少し投与開始後14日目に実験開始時の値の約49.9%となったが、その後漸増した (Fig. 43)。

2) Osteolathyrisism 回復群

(1) 体積

投与中止後さらに増加し、中止後5日目に最大となり実験開始時の値の約4.3倍、正常対照群同日の値の約2.9倍を示した。中止後7日目以後は減少した (Fig. 44)。

(2) 湿重量

投与中止後さらに増加し続け、中止後5日目に最大となり実験開始時の値の約4.2倍、正常対照群同日の値の約2.6倍を示した。中止後7日目以後は減少した (Fig. 45)。

(3) 密度

投与中止後3日目から増加を示したが、中止後10日目で正常対照群同日の値より約8.0% 低下し

Water weights per unit wet weight, organic matter weights per wet weight, and ash weights per unit wet weight

	DAYS		50			%
			WATER	O.M.	ASH	
OSTEOLATHYRISM	3	57		23	20	
	5	60		21	19	
	7	65		20	15	
	10	69		18	13	
	14	71		18	11	
	17	66		16	18	
	21	66		19	15	
	24	62		21	17	
WEIGHT-PAIR CONTROL	3	57		21	22	
	5	58		21	22	
	7	57		20	23	
	10	55		20	25	
	14	54		20	26	
	17	53		22	25	
	21	52		23	25	
	24	48		23	29	
NORMAL CONTROL	0	59		20	21	
	3	49		23	28	
	5	49		23	28	
	7	51		22	27	
	10	57		19	24	
	14	53		23	24	
	17	51		22	27	
	21	50		22	28	
	24	49		22	29	

Fig. 42 Osteolathyrisism

た。なお Weight-Pair 対照群では投与中止後増加して正常対照群へ漸近した (Fig. 46)。

(4) 水分重量

基本的には、体積および湿重量と類似の変化を示した。投与中止後も増加し中止後5日目に実験開始時の値の約4.3倍、正常対照群同日の値の約3.1倍を示し、Osteolathyrisism 群の最大値と大差はなかった。しかし中止後7日目以後減少した (Fig. 47)。

(5) 乾燥重量

投与中止後も正常対照群を凌いで増加し、中止後5日目に実験開始時の値の約3.9倍、正常対照群同日の値の約1.9倍を示した。以後漸減した (Fig. 48)。

(6) 粗有機成分重量

投与中止後も正常対照群を凌いで増加し、中止後3日目に実験開始時の値の約4.6倍、正常対照群同日の値の約2.5倍を示し、Osteolathyrisism 群の最大値をも凌いだ。中止後5日目以後は減少した (Fig. 49)。

Water weights per unit volume, organic matter weights per unit volume, ash weights per unit volume, and density of femur

DAYS	0.50		1.00		mg/mm ³	DENSITY
	WATER	O.M.	ASH			
OSTEOLATHYRISM	3	0.77	0.30	0.27		1.34
	5	0.73	0.26	0.24		1.23
	7	0.73	0.23	0.24		1.20
	10	0.80	0.21	0.16		1.17
	14	0.81	0.21	0.13		1.15
	17	0.82	0.20	0.23		1.25
	21	0.78	0.23	0.17		1.18
	24	0.75	0.25	0.20		1.20
WEIGHT - PAIR CONTROL	3	0.72	0.27	0.28		1.27
	5	0.74	0.26	0.28		1.28
	7	0.73	0.25	0.29		1.27
	10	0.71	0.26	0.31		1.28
	14	0.69	0.27	0.33		1.29
	17	0.69	0.28	0.32		1.29
	21	0.69	0.29	0.33		1.31
	24	0.65	0.30	0.39		1.34
NORMAL CONTROL	0	0.75	0.25	0.26		1.26
	3	0.67	0.30	0.39		1.36
	5	0.73	0.28	0.29		1.30
	7	0.69	0.29	0.36		1.34
	10	0.73	0.25	0.30		1.28
	14	0.71	0.30	0.32		1.33
	17	0.69	0.29	0.36		1.34
	21	0.68	0.30	0.39		1.37
24	0.68	0.30	0.40		1.38	

Fig. 43 Osteolathyrisrm

Fig. 44 Osteolathyrisrm-recovery
OL ; Group III WPC ; Group
IV NC ; Group V

Fig. 45 Osteolathyrisrm-recovery

Fig. 46 Osteolathyrism-recovery

Fig. 49 Osteolathyrism-recovery

Fig. 47 Osteolathyrism-recovery

Fig. 50 Osteolathyrism-recovery

Fig. 48 Osteolathyrism-recovery

(7) 灰分重量

投与中止後3日目には正常対照群を凌ぎ、中止後5日目に実験開始時の値の約3.3倍、正常対照群同日の値の約1.5倍となり、その後減少して正常対照群の値に漸近した (Fig. 50)。

(8) 乾燥重量に対する灰分重量の比率

投与中止後も減少し、中止後3日目で最低値34.9を示したが、その後漸増して実験開始時の値まで回復した。回復群は平均 42.4 ± 6.3 の値を示した (Fig. 51)。

(9) 湿重量に対する水分、粗有機成分および灰分重量の比率

投与中止後、水分比率は漸減し、灰分比率およ

Percentage ash weights

	DAYS	50		%
		ASH	ORGANIC MATTER	
OSTEOLATHYRISM-RECOVERY	3	48		
	5	48		
	7	43		
	10	42		
	14	39		
	16;14-2*	38		
	17;14-3	35		
	19;14-5	43		
	21;14-7	46		
	24;14-10	51		
WEIGHT-PAIR CONTROL	3	51		
	5	51		
	7	54		
	10	55		
	14	55		
	16;14-2	48		
	17;14-3	53		
	19;14-5	51		
	21;14-7	50		
	24;14-10	53		

Fig. 51 Osteolathyrisism-recovery

*total days ; days of AAN administration- days after cessation

Water weights per unit wet weight, organic matter weights per unit wet weight, and ash weights per unit wet weight

	DAYS	50				%
		WATER	O.M.	ASH		
OSTEOLATHYRISM-RECOVERY	3	57		21	20	
	5	60		21	19	
	7	65		20	15	
	10	69		18	13	
	14	71		18	11	
	16;14-2	71		18	11	
	17;14-3	64		23	13	
	19;14-5	62		22	16	
	21;14-7	60		22	18	
	24;14-10	60		20	20	
WEIGHT-PAIR CONTROL	3	57		21	22	
	5	58		20	22	
	7	57		20	23	
	10	55		20	25	
	14	54		20	26	
	16;14-2	55		23	22	
	17;14-3	53		22	25	
	19;14-5	47		26	27	
	21;14-7	42		29	29	
	24;14-10	43		27	30	

Fig. 52 Osteolathyrisism-recovery

Water weights per unit volume, organic matter weights per unit volume, ash weights per unit volume, and density of femus.

	DAYS	0.50			1.00			mg/mm ³	DENSITY
		WATER	O.M.	ASH	0.30	0.27			
OSTEOLATHYRISM-RECOVERY	3	0.77						1.34	
	5	0.73		0.26		0.24		1.23	
	7	0.73		0.23		0.24		1.20	
	10	0.80		0.21		0.16		1.17	
	14	0.81		0.21		0.13		1.15	
	16;14-2	0.81		0.21		0.12		1.14	
	17;14-3	0.74		0.27		0.15		1.16	
	19;14-5	0.75		0.26		0.20		1.21	
	21;14-7	0.74		0.27		0.22		1.23	
	24;14-10	0.76		0.25		0.26		1.27	
WEIGHT-PAIR CONTROL	3	0.72		0.27		0.28		1.27	
	5	0.74		0.26		0.28		1.28	
	7	0.73		0.25		0.29		1.27	
	10	0.71		0.26		0.31		1.28	
	14	0.69		0.27		0.33		1.29	
	16;14-2	0.69		0.30		0.28		1.27	
	17;14-3	0.68		0.29		0.32		1.29	
	19;14-5	0.62		0.35		0.36		1.33	
	21;14-7	0.56		0.39		0.39		1.34	
	24;14-10	0.59		0.37		0.41		1.37	

Fig. 53 Osteolathyrisism-recovery

び粗有機成分比率は漸増して中止後10日目に実験開始時の値に漸近した (Fig. 52)。

(10) 体積に対する水分、粗有機成分および灰分重量の比率

投与中止後、水分比率は減少し、灰分比率および粗有機成分比率は若干増加して中止後10日目に実験開始時の値まで回復した (Fig. 53)。

考 察

Osteolathyrisism の幾多の研究により動物に lathyrogen を投与すると、骨組織筋付着部の過骨症、骨端軟骨の異常および骨多孔症など骨を中心とした間葉系組織に重篤な病変が起こることが知られており、特に Osteolathyrisism の最も著明

な変化として過骨症の発生が注目されてきた。従来の記載に基づいて過骨症の発生過程および形成過程を総括してみる。

過骨症は、肉眼的に筋付着部の仮骨様外観を呈した不規則な骨形成として認められ^{4,32,62)}、この骨形成部は、X線学的に境界の不規則な不透過像として認められた^{13,62)}。また過骨症の発生過程を組織学的に検索した結果、過骨症部では筋付着部骨膜の線維芽細胞が増殖し、さらに骨芽細胞に分化して類骨組織が形成され、好塩基性小球体の集積により未熟で不規則な骨梁が形成されることが明らかにされた^{4,6,46,49,73)}。そしてこの過骨症の発生には、lathyrogen の投与と筋による機械的牽引力とが不可欠の条件とされ^{4,9,12,46,49)}、機械的刺激のない部位には、一般に過骨症の発生をみないとされている^{9,12,32)}。

しかしこのような形態学的な検索にもかかわらず過骨症部新生骨梁の立体的な微細構造の検索はほとんどなされていないのが現状である。

一方 Osteolathyrism の大腿骨の形態学的な変化を定量的にとらえ、どのような骨基質からなっているかという点についても未だ充分明らかにされていない。従来の計量学的検索は重量を基準にしてなされており、大腿骨骨端部における水分重量の著しい増加が起ることを報告しているに過ぎない^{30,34,43,47,53-55,58)}。

しかし今回の形態計量学的検索によると、Osteolathyrism の病変時の骨基質の変化を明らかにすることが可能と考えられる。その上走査電顕的検索による過骨症骨の立体的な微細構造の所見と比較検討することにより Osteolathyrism の代謝機構および骨病変の本態を解明する一つの手がかりが得られるものと思われる。

従来 Osteolathyrism 過骨症骨の形成過程の検索と共に、過骨症骨回復過程の検索もわずかではあるがなされている。lathyrogen の投与を中止すると、骨幹部過骨症の過剰部位に吸収が起り、過骨症骨は正常構造へ回復するが、正常な大腿骨に比し基質形成量は不充分であることが明らかにされてきた^{19,71,74)}。Osteolathyrism の骨代謝機構を考察する上で回復過程の結果を比較検討することは意義あることと考えられる。

以上のような観点から、過骨症部新生骨の形成過程と過骨症の回復過程とを走査電顕を用いて立体的な微細構造を中心に検索し、一方過骨症骨を含む大腿骨と回復期の大腿骨との骨基質成分の組成および性状を形態計量学的に検索したので、これらの所見を基にX線学的、肉眼的および病理組織学的所見と比較検討し、Osteolathyrism における骨の代謝機構およびその本態について考察を加えたい。

1. 過骨症骨形成過程のX線学的、肉眼的および病理組織学的所見について

過骨症骨梁の形成過程について従来から多くの報告がなされている。X線学的には、過骨症は筋付着部既存骨皮質上に境界部の不規則な不透過像として発生し、既存骨皮質に直交する針状不透過像が認められた^{13,49,62)}。肉眼的には、筋付着部における仮骨様外観を呈した不規則な骨形成部として発生し、大腿骨は著しく変形した^{4,13,32,62)}。病理組織学的には、過骨症は筋付着部において骨膜の線維芽細胞の増殖ならびに類骨組織の形成が認められ、類骨組織内の好塩基性小球体の集積により、未熟で不規則な新生骨梁が形成され、骨梁は相互に癒合していた^{4,6,28,43,46,49,56,57,73)}。

今回著者の検索でも、一部を除いてはX線学的、肉眼的および病理組織学的に、ほぼ同様の所見を認めた。X線学的には、過骨症は筋付着部の不透過性隆起として認められ、その外形線は不規則かつ不鮮明で、内部には既存骨皮質に直交する方向に微細な針状構造が配列していた。肉眼的には、過骨症は筋付着部の小隆起として認められ、経日的に増大して骨腫様膨隆を呈し、大腿骨は著しく変形した。病理組織学的には、過骨症は筋付着部の骨膜の肥厚、若干小型で形態の異常な骨芽細胞による類骨組織の形成およびその石灰化による著明な骨組織の増殖として認められ、未熟な新生骨梁部には径1—5 μm の好塩基性球状小顆粒が多数存在していた。

しかし投与開始後14日目以前の所見は従来の記載とほぼ一致するものの、投与開始後17日目以後の所見は従来の記載と若干異なり、X線学的に骨隆起部の透過性が若干増して、膨隆部外形線は一部で比較的鮮明になった。また同部には、病理組

組織的に吸収されて細くなった新生骨梁や、若干広くなった骨梁間隙が認められた。

Lathyrogen を比較的長期間投与した従来の報告では、Bergquist ら (1963)⁴⁹⁾ は、AAN 1g/l 含有飲料水で49日間飼育した幼若ラット大腿骨のマイクラジオグラフィによる検索から、投与21日目を過ぎると骨皮質は菲薄化し、過骨症部に二次性および三次性骨皮質が形成されると述べている。また伊藤 (1966)⁷³⁾ は、0.2% AAN 含有飲料水で71日間飼育した幼若ラット大腿骨を組織学的に検索した。その結果過骨症部の未熟な新生骨梁は吸収されて、成熟した緻密な骨梁に改造され、骨膜直下の骨梁は相互に結合して新たに骨皮質を形成し、既存骨皮質と共に内外二層の骨皮質を形成すると述べている。

このように長期間の AAN 含有飲料水摂取により発生した過骨症骨が、回復期の過骨症骨に類似してくる点について、伊藤 (1966) は、投与17日目以後のラットは AAN 含有飲料水の摂取量が激減することに関連があると推定し、lathyrogen の摂取が減少するため回復期の過骨症骨に類似すると考えた。

今回の著者の投与方法は、AAN を毎日一定量腹腔内へ投与しているため、Osteolathyrism の変化が回復することなく発症したものであり、本来の過骨症の変化を呈していると考えられる。

AAN を連日投与してゆくと、大腿骨過骨症骨内部の骨梁は次第に細くなり、空隙の多い鬆疎な骨基質になることが明らかにされた。このことは、AAN の骨の代謝に及ぼす障害効果が持続していることを示唆している。

2. AAN 投与中止後の過骨症回復過程のX線学的、肉眼的および病理組織学的所見について

Osteolathyrism の過骨症を主体とする骨格系の変化は、lathyrogen の投与を中止することにより比較的速やかに修復されるといわれている。しかしその回復過程に関する検索は少ない。したがって回復過程の変化を把握し、これと過骨症形成過程の変化を比較検討することは、Osteolathyrism の骨代謝機構およびその本態を解明する上で大変意義あることと考えられる。

従来の回復過程の検索において、Ramamurti ら (1958)¹⁹⁾ は、0.5% AAN 飼料で3週間飼育した幼若ラットを正常食に戻して過骨症部を組織学的に検索した。その結果過骨症過剰部は吸収され、正常食2週目で正常対照群に類似し、わずかな過剰部を残すのみとなり、正常食3週目で過剰部はほとんど消失したと述べている。入 (1964)⁷⁴⁾ は、200 mg/kg 体重の割合で AAN を2週間皮下投与した幼若ラットの投与中止後の過骨症部を組織学的に検索した。その結果投与中止後14日目に過骨症部は改善され、一部に軟骨あるいは線維性組織を認めるのみとなり、中止後80日目には増生した幼若細胞がみられず、過骨症表面は緻密骨におおわれ、既存骨皮質と共に内外二層の緻密骨からなると述べている。

今回著者の検索では、X線学的には、骨隆起部の外形線が比較的鮮明になり、膨隆部分の幅が若干縮小して、内部の骨梁は緻密となった。肉眼的には、膨隆が経目的に若干縮小し、過骨症骨表面は平坦化した。大腿骨にはなお著しい変形が認められた。病理組織学的には、骨膜下の新生骨梁先端部が相互に連結して過骨症骨表面は次第に平坦となり過骨症内部の新生骨梁は破骨細胞により吸収されたり、骨芽細胞により骨添加を受け、盛んに改造されていた。

今回の検索結果は、検索期間が Ramamurti ら (1958) の3週間あるいは入 (1964) の80日間に比し比較的短いため、彼らの報告の中間過程の結果が現われたものと考えられる。一般に lathyrogen を一定期間投与して著しい過骨症を形成した大腿骨は、入 (1964) の述べているように長期の回復期間においてもその骨基質は容易に正常構造まで回復されず、内外二層の骨皮質がみられるものと考えられる。

このように lathyrogen により発生した骨の代謝機構の障害は、投与中止後も残存し、大腿骨のように変形の著しい場合には、その完全な修復には長期間を要するものと思われる。

3. 過骨症骨形成過程の走査電顕的所見について

従来 Osteolathyrism の検索は、病理組織学的あるいは組織化学的な検索が大部分であり、硬組

織の立体的な微細構造の検索はほとんどなされていなかった。走査電顕の検索はこの立体的観察に適しており、過骨症骨の微細構造を明らかにしてその本態を把握できる有用な手段である。

今回の Osteolathyrism の走査電顕的検索による最も特徴的な所見は、筋付着部の軽石状過骨症骨の形成であった。筋付着部において過骨症骨表面は凹凸粗糙で石灰化球が鈴なりに配列していた。既存骨小孔周囲においては、新生骨梁が痂皮状に癒着して同心円状に盛り上り、過骨症骨表面では円筒状の空隙を呈していた。このような過骨症骨表面は円筒状空隙と骨梁先端部の凹凸により特徴的な軽石状構造を示していた。

一方過骨症骨の断面では、新生骨梁が既存骨皮質にほぼ直交する方向に配列し、骨梁は相互に癒合していた。しかし投与開始後17日目を過ぎると、この過骨症骨の凹凸粗糙な軽石状の表面は、骨梁先端部が相互に癒合して比較的平坦になる傾向を示した。過骨症骨の内部は、新生骨梁が吸収されてさらに細くなり、既存骨皮質は菲薄化して骨髓腔が拡大された。

今回の検索による AAN 投与開始後17日目以降の結果は従来報告されていないが、この点については、高堀 (1971)⁶⁵⁾ の Osteolathyrism ラットの過骨症と骨多孔症に及ぼす食餌性 Ca の影響について検討した報告が重要な示唆を与えるものと思われる。その結果によると、低 Ca 食の場合、過骨症骨に沈着する Ca の³/₄は既存骨の骨吸収に依存しているが、高 Ca 食の場合過骨症骨に沈着する Ca は大部分食餌に依存し、その結果骨多孔症は起こらないことを明らかにした。

今回比較的長期間の AAN 投与によって起こる過骨症骨の一連の変化は、継続して起こる外骨膜性骨新生のために必要な Ca が既存の骨質のみからではなく、比較的早期に形成された過骨症骨の骨梁の吸収により供給されていることを示すものと思われる。

今回の走査電顕的検索により、新生骨梁は、径 0.5 μm 程度の微細な石灰化球が癒着して径 0.5 ~ 3 μm の石灰化球を形成し、この石灰化球の集合により形成されることが明らかになった。これらの石灰化球は、大きさや存在位置から従来の光顕

的観察により知られている径 1 ~ 5 μm の類円形好塩基性および PAS 陽性小顆粒に一致するものであると考えられ、その基質は染色性から判断して Acid Mucopolysaccharides (AMPS) を主成分とする物質から成り立っていることが推定される。

Osteolathyrism 過骨症骨の新生骨梁の検索において、好塩基性あるいは PAS 陽性小顆粒^{6,17,28,32,40,49)} および球状石灰化物^{43,62)} が好酸性基質や骨梁周辺に観察されることはよく知られている。Hooff (1963)²⁸⁾ は、過骨症部に径 1 μm 前後の好塩基性小球体を認め、この小球体が Ca を取り込み、不規則で粗糙な骨梁を形成すると推定して、好塩基性小球体の沈着による石灰化基質の形成過程は病的な過程であると述べている。また Selye (1957)⁶⁾ は、この好塩基性小球体は Osteolathyrism に限らず骨移植時、仮骨形成時および骨の炎症時にも生ずると述べ、なおかつ急速に石灰化する病的な部位に観察されることを示唆した。

一方正常な石灰化について Bernard ら (1969)⁷²⁾ は、マウス胎児頭蓋冠における初期線維骨の石灰化パターンの透過電顕的検索から、初期石灰化は類骨組織内の骨芽細胞突起において、単一のハイドロキシアパタイト結晶として開始され、この結晶は径 0.15 ~ 0.75 μm の小球体までの多くの中間段階を経て成長することを認めた。そして個々の小球体が放射状にハイドロキシアパタイトを結晶化してさらに大きな径の骨小結節へ成長し、この骨小結節が相互に癒着して骨縫合線が形成されることを明らかにした。

このように好塩基性小球体は、石灰化前線部に一般的に認められるが、その大量の存在は急速な石灰化を示唆する所見と思われる。

今回観察された径 0.5 μm の微細な石灰化球および径 2 μm 前後の石灰化球は、Bernard ら (1969) の観察した小球体および小球体が放射状にハイドロキシアパタイトを結晶化してさらに大きな骨小結節を形成するまでの中間過程と類似している。Osteolathyrism 大腿骨の過骨症骨を電顕的に検索した Amemiya (1966)⁵¹⁾ は、基質の形態学的異常と平坦な石灰化前線および不均一な斑状石灰化を特徴として述べている。Martino ら (1979)³⁹⁾ も

同様に結節状石灰化を観察し、このような石灰化の様式は急速に形成された線維骨に特徴的なものであろうと述べている。

また Sela (1977)⁶⁹⁾は、走査電顕により腫瘍性石灰化骨梁を観察し、骨梁は径 1 ~ 3 μm の石灰化小球体から形成され、この小球体表面は径 0.1 ~ 0.3 μm の微細な小球体の集積からなっていると述べている。著者ら (1981)⁶⁸⁾は、幼若ラット骨折部仮骨の骨梁表面に径 0.5 ~ 3 μm の石灰化球が無数に集積していることを観察した。このように胎生期や急速に起こる骨の石灰化は、基本的に微細な小球体の集積からなる石灰化球が多数集合して、その癒合により新生骨梁が形成される点で類似性があると考えられる。この点についても病的な石灰化の初期変化に関して Sela (1979)⁷⁰⁾も、基本的に類似のパターンをとることを示唆している。

4. AAN 投与中止後の過骨症回復過程の走査電顕的所見について

Osteolathyrism の回復過程の観察は、病理組織的検索に限られており、走査電顕的検索は皆無に等しく、立体的な微細構造の変化はよく知られていない。したがって Osteolathyrism の過骨症骨の本態を把握するために、過骨症の回復過程の立体的な微細構造の変化を検索し、過骨症骨の形成過程と比較検討することは意義あることと考えられる。

今回の検索では、特徴的な軽石状を呈した過骨症骨表面は、経日的に変化して多数の小孔からなる比較的平坦な面、骨吸収によるすり鉢状小陥凹の密集する面、さらには骨の添加による比較的平坦な表面構造を呈するようになった。また過骨症内部では、新生骨梁が既存骨皮質とわずかな空隙を介して骨皮質に直交する方向に配列しており、相互に癒合して網目状構造を呈している骨梁は、経日的に緻密化したが、その形態は正常な大腿骨の内部構造とは異なった。これらの新生骨梁の一部の表面には、石灰化球が微細な線維状構造により数珠状に連っている部位も認められた。これらの走査電顕的所見は病理組織学的所見と概ね一致した。

過骨症骨表面は経日的にすり鉢状小陥凹の密集

する面へ変化するが、この小陥凹は Sela (1977)⁶⁹⁾が破骨細胞による骨吸収面に観察した径 20 μm 程度の鋭利な縁のある小窩と形態や大きさが類似しており、破骨細胞による過骨症骨の吸収を示す所見と思われる。

回復過程の初期には、過骨症骨内部の骨梁表面に微細な線維状構造と石灰化球による数珠状の構造が認められたが、この構造は AAN 投与開始後 14 日目の所見と類似していた。数珠状構造は投与中止後 3 日目を境に減少してゆくが、投与中止後 3 日目には石灰化球の占める割合が微細な線維状構造に比し若干高率を示した。この変化は過骨症回復過程の特徴的な初期変化であろうと考えられる。また投与中止後も過骨症骨内部の新生骨梁は網目状構造を呈しており、投与中止後 10 日目においても正常構造とは異なり、過骨症の特徴を示す構造は消失しなかった。このような所見は、lathyrogen による骨の代謝機構の障害が、投与中止後も残存することを示唆するものと考えられる。

5. 大腿骨の形態計量学的所見について

形態計量学的検索方法は、臓器、組織の細胞や基質の立体的分布を把握し、病変時における構成細胞や基質の変化を把握できる有用な方法である。今回 Osteolathyrism の過骨症骨を含む大腿骨について形態計量学的検索を試み、大腿骨全体の構成要素を解析したのでその結果を基に Osteolathyrism における骨の代謝機構およびその本態について考察を加えたい。

骨格系の計量学的検索の歴史は古く、骨組織の乾燥による水分重量の測定⁶⁴⁾、灰化法による無機成分および灰分の測定⁶⁵⁾、乾燥重量に対する灰分の比率の測定⁶⁶⁾および密度の測定⁶⁷⁾などがなされている。

Osteolathyrism の場合にも、乾燥脱水法により水分重量の増加がみられることや^{30,34,43,47,53-55,58,60,62)}、大腿骨灰分重量の減少がみられること^{2,7)}などが報告されている。しかし測定的大部分は重量を基準にしたものであり、大腿骨全体を計量したものはほとんどみられない。

一方 AAN 投与中止後の回復過程の検索は、従来組織学的な定性的検索に限られていた。Barri-

ngton ら (1966)⁷¹⁾は、投与中止後の歯周組織の回復過程を組織学的に検索し、歯槽骨は構造的に回復の傾向を示すが、その形成基質は量的に不足していることを明らかにしている。

今回特に定量的な解析により、Osteolathyrisism 回復期の大腿骨全体の組成および性状の変化をも検索し、その結果を Osteolathyrisism 期の大腿骨の検索結果と比較検討して、Osteolathyrisism における骨の代謝機構および過骨症骨の本態について考察してみたい。

1) 体積

体積の値は、成長による増加と過骨症形成量を示し、肉眼的な観察結果を数値的に表示するものとして計量上有用な値である。

従来の検索は少なく、わずかに Yeager ら (1965)³²⁾、(1968)³⁸⁾の大腿骨過骨症部の最大横断面における肉眼的な検索があるに過ぎない。彼らは、過骨症の発生に伴い定量的に体積が増加すると述べている。

今回の検索において、Osteolathyrisism 群では過骨症が肉眼的に認められる投与開始後 7 日目以後体積は急激な増加を示し、投与開始後 21 日目に正常対照群同日の値の約 2.8 倍まで増加した。この時期の大腿骨の病理形態学的観察から、過骨症の形成過程に計量値の変動がよく一致していることが明らかにされた。また Weight-Pair 対照群の値と比較してみると明らかになるように、Osteolathyrisism 群における体積の増加量の大部分は過骨症骨の形成によるものと考えられる。

Osteolathyrisism 回復群では、AAN 投与中止後も体積が増加し続け、AAN 投与中止後 5 日目に正常対照群同日の値の約 2.9 倍を示した。従来 AAN 投与中止後速やかに過骨症の縮小が起こることが知られているが、今回の結果は従来の報告と異なる結果となった。この時期の病理形態学的観察から、過骨症の凹凸粗澁の軽石状骨表面は、小孔周囲の新生骨梁に骨基質が形成添加され、移行的に比較的平坦になった。したがってこの添加容積分が体積増加の一因となっているものと考えられる。

一方下顎骨では、AAN の投与中止後体積の速やかな減少が認められたが⁶²⁾、両者間の相異は、

大腿骨においては障害が著しく、その効果が残存し回復に若干のずれが生ずるためと考えられる。

2) 湿重量

湿重量の値は、大腿骨の基本的成分である水分重量と乾燥重量の和を示し、Osteolathyrisism の過骨症骨の変動を示す一つの指標である。したがって大腿骨湿重量の変化の特徴を把握すれば、過骨症骨の組成の一部が判明するものと考えられる。

従来の検索では、Osteolathyrisism の長管骨骨端軟骨部の湿重量が増加するという報告はあるが、大腿骨全体の定量的分析による湿重量の増加は、高堀 (1971)⁶⁰⁾の報告があるに過ぎない。

今回の検索において、Osteolathyrisism 群では、投与開始後 7 日目以後湿重量は急激な増加を示し、投与開始後 21 日目に正常対照群同日の値の約 2.5 倍まで増加した。この時期の大腿骨の病理形態学的観察から、過骨症形成過程に計量値がよく一致していることが明らかにされた。このような湿重量の増加は、過骨症骨の形成量にほぼ対応するものと思われる。

Osteolathyrisism 回復群では、AAN の投与中止後 5 日目に正常対照群同日の値の約 2.6 倍を示した。このように湿重量においても、投与中止後速やかな減少を示さず、一定期間増加し続けた。一方この時期の病理組織学および走査電顕的検索により、過骨症骨表面の小孔周囲の新生骨梁に骨基質が形成添加され、しかも過骨症骨内部の新生骨梁が緻密になることが観察された。このようなことが、回復の遅延と相まって湿重量の増加効果をもたらしているものと思われる。

3) 密度

骨組織の密度は、基本的に成長と共に基質の石灰化に伴って増加する。したがって新生骨梁の石灰化の程度を検索する場合、密度は一つの指標となり、有用な計量値と考えられる。Broman ら (1958)⁷³⁾は、乾燥骨単位体積あたりの乾燥骨重量を密度として計測している。しかし今回の検索では、骨組織本来の状態により近い条件で分析するため、単位体積あたりの湿重量の値を密度として算出した。

今回の検索において、Osteolathyrisism 群では

過骨症の発生に伴い密度が減少し、AAN 投与開始後14日目に最低値を示して正常対照群同日の値に対して約13.6%の低い値を示した。また投与開始後14日目以後は若干回復するものの、正常対照群同日の値に対する減少率が平均13.5%の値を示し、正常大腿骨より密度が低いことを示した。体積および湿重量の計量値から体積の増加率が湿重量の増加率を凌ぐことが認められた。したがって体積および湿重量が増加するにもかかわらず密度が低下するものと考えられる。このような結果は大量の過骨症骨を含む大腿骨は密度の低い鬆疎な骨基質よりなることを示唆するものと思われる。

一方 Osteolathyrism 回復群では、投与中止後密度が増加し投与中止後10日目に実験開始時の値まで回復した。しかし投与中止後の大腿骨は正常対照群同日の値に対する減少率が平均11.3%の値を示し、正常対照群の大腿骨と比較すると低い密度の骨基質からなることが明らかになった。

ところで下顎骨において、AAN 投与開始後14日目に正常対照群同日の値に対する密度の減少率は約13.8%を示し、大腿骨の減少率と類似の値であった。しかし AAN 投与中止後下顎骨の密度は速やかに回復し、投与中止後7日目に正常対照群の値へ漸近した⁶²⁾。この時期の病理形態学的観察から、下顎骨では過骨症骨の形成量が大腿骨に比し比較的少量であることが認められた。したがって下顎骨では回復が比較的速やかに起こるものと考えられる。また下顎骨の密度の値が大腿骨より若干高い値であることは、下顎骨の骨髓腔が大腿骨より少なく、緻密な骨基質から成っていることを示唆しているものと考えられる。したがって Osteolathyrism の場合、下顎骨の密度の値に及ぼす過骨症骨の鬆疎な骨基質の効果は、大腿骨のそれに比し若干少ないものと思われる。

4) 水分重量

Osteolathyrism の場合硬組織の水分の変動は、従来多くの研究者により検索され、骨端軟骨部の水分の増加の起こることが認められている^{30,34,43,47,53,54)}。また骨組織については不変⁵⁴⁾あるいは減少する⁴⁹⁾という報告もみられるが、一般には骨基質の水分の増加が報告されている^{55,58,60)}。とくに入倉ら(1967)⁵⁵⁾は、大腿骨の水分含量を計量して

水分の増加を認めた。しかもこの増加は、ラットでは幼若動物ほど多く、lathrogen の投与期間が2週間を超えると幼若動物より成熟動物の方が多くなると報告している。

このように従来から Osteolathyrism の骨組織の特徴として水分重量の増加が知られてきた。しかし増加の原因については諸説があり一致した見解はない。

今回の検索において、Osteolathyrism 群では基本的に体積および湿重量と類似の変化を示した。投与開始後5日目から水分重量は急激に増加して投与開始後21日目に正常対照群同日の値の約3.3倍まで増加した。この時期の大腿骨の病理形態学的観察から、水分重量の増加は過骨症の形成過程とよく一致することが明らかにされた。したがって既存骨皮質の吸収により、骨髓腔が若干拡大されるものの、大量の過骨症骨の形成に伴い大腿骨の水分重量は増加するものと考えられる。

従来この水分重量の増加について多くの検索がなされて来たが、一般的に産生基質内で水分増加が起こるとされている。Borle ら(1959)⁴³⁾は、細胞外性に水分増加が起こると推定し、硫酸代謝障害が基質に陰イオンの不足をもたらし、その結果浸透圧が変化して二次的に水分の増加が起こると述べている。この浸透圧の変化については、Berntsen(1967)⁵⁴⁾も水分増加の主因と考え、さらに酸性ムコ多糖類が水分増加に何らかの関与をしていると推定した。また水分増加の原因をコラーゲンに求める説もある。Kundel(1964)³⁰⁾は、コラーゲンのX線学的解析から正常コラーゲンと質的相異がないことを明らかにして、コラーゲン分子間隙に若干の水分の蓄積の可能性があると述べている。また Levene(1966)³⁴⁾は基質水分は塩可溶性コラーゲン量と比例関係にあることからコラーゲンは水和し易くなるのではないかと推定している。

そこで従来の諸説と今回の検索結果を考え合わせると、AAN 投与と筋の機械的刺激により筋付着部を中心に過骨症骨が形成され、この未熟な組織内の増殖細胞成分と基質成分内の含水量の増加により、大腿骨の水分の増加が起るものと考えられる。

Osteolathyrism 回復群では、水分重量は基本的に湿重量と類似の変動を示して投与中止後も増加し、投与中止後5日目に正常対照群同日の値の約3.1倍を示した。しかし投与中止後の増加率は著しく低下し、投与中止後5日目以後水分重量は減少を示した。このように水分重量においても、投与中止後速やかな減少を示さず、一定期間増加し続ける。これは基本的に湿重量の場合と同様に、AAN 投与により発現した骨組織を中心とする間葉系組織の障害が投与中止後一定期間継続することを示唆していると考えられる。

5) 乾燥重量

乾燥重量は粗有機成分重量と灰分重量の総和であり、間葉系組織の主要構成成分とみなされる。したがって間葉系組織、特に骨組織の代謝を検索する上で非常に有用な指標となると考えられる。

従来 Osteolathyrism の骨組織の乾燥重量の検索により、乾燥重量が概ね増加することが知られている。Levene(1966)³⁴⁾は、AANを注入した鶏卵を14日間孵化し幼鶏の大腿骨全体を測定して乾燥重量のわずかな増加を認めた。入倉ら(1967)⁵⁵⁾は、0.1% AAN 飼料で20日間飼育した幼若ラット大腿骨を計量学的に検索し、乾燥重量は正常なラットと同様であったことを記載している。しかし生後60日目以後のラット大腿骨では、正常なラットに比し乾燥重量が増加したと記載している。

今回の検索において、Osteolathyrism 群では投与開始後10日目頃から正常対照群を凌ぎ投与開始後24日目に正常対照群同日の値の約1.5倍を示した。乾燥重量の増加開始時期は、湿重量や水分重量に比し若干の遅延が認められたが、水分増加の開始時期に比べて石灰化基質の添加時期が若干遅延するためであろうと考えられる。この時期の大腿骨の病理形態学的観察により、過骨症部の類骨組織および石灰化骨梁の形成が認められた。したがって乾燥重量が正常対照群を凌いで増加したものと考えられる。

Osteolathyrism 回復群では、AAN 投与中止後も乾燥重量が増加し続け投与中止後5日目に正常対照群同日の値の約2.0倍を示し、以後若干減少して正常対照群へ漸近した。この時期の病理形態学的観察から、投与中止後過骨症骨表面は軽石状

から比較的平坦な面へと変化し、過骨症骨の内部は緻密化しているのが認められた。

一方下顎骨においても、乾燥重量は正常対照群より終始低い値を示す⁶²⁾以外、基本的に大腿骨と類似の変動を示した。下顎骨は大腿骨に比し過骨症骨の形成量が少なく、乾燥重量も正常対照群より終始低い値を示すものと考えられる。

次に乾燥重量の構成成分である粗有機成分重量、灰分重量および乾燥重量に対する灰分重量の比率について考察する。

(1) 粗有機成分重量

今回計量した粗有機成分重量には、コラーゲンやムコ多糖類(MPS)などの骨基質成分および線維芽細胞や骨芽細胞などの細胞成分が含まれている。またアパタイト結晶周囲の水和殻および結晶格子内の水分なども極く微量ながら含まれているものと思われる。

従来粗有機成分の主要な基質成分であるコラーゲンについての検索から、lathrogen の作用により架橋結合の障害が起こることが知られている^{20,21,24,27,29,52)}。Lathrogen は細胞体外に放出された可溶性コラーゲンが不溶性膠原線維束に成熟する過程を障害し^{23,45,52,55,59,61)}、その結果間葉系組織内に可溶性コラーゲンが著しく増加するものと考えられている^{20,21,35-37,44,52,55,58,59,61)}。しかし Osteolathyrism のコラーゲン分子は、正常なコラーゲン分子と質的相異はないと考える者が多い^{17,29,30,45,58)}。

一方基質の重要な構成要素である MPS は従来骨端軟骨部でよく検索され、MPS 代謝障害^{11,17,22,25,26,32,42,51,57)}、あるいは MPS の減少^{14,25,26)}、Galactosamine の減少^{41,42,50)}、Hexosamine の減少^{41,42,50)}、およびコンドロイチン硫酸の合成阻害^{17,47,57)}、などが起こると報告されている。しかしながら MPS や硫酸代謝が正常と同様であるとする報告や^{8,33,61,63)}骨幹部の細胞間質が増加し、MPS やコンドロイチン硫酸の過剰な蓄積がみられるとする報告もあり^{10,16,58)}、未だ一致した見解が得られていない。

今回の検索では、それぞれの有機成分を一塊として計量している。Osteolathyrism 群では、過骨症骨の形成時期に対応して投与開始後10日目頃

から正常対照群を凌ぎ、投与開始後24日目に正常対照群同日の値の約1.9倍を示した。この時期の病理形態学的観察から、大腿骨の骨髓側既存骨皮質およびその周囲の新生骨梁が吸収され、骨端軟骨部の骨梁形成が抑制されるけれども、過骨症部間葉系組織内の細胞増殖や基質の著しい増加が認められた。したがって過骨症部の過剰な基質形成によって粗有機成分の増加が起これと考えられる。

従来の基質形成に関する検索によると、鈴木(1959)⁴⁶⁾は、Osteolathyrismの大腿骨において、骨端軟骨層では成長抑制による有機成分の減少が起これ、骨幹部過骨症部では有機成分が極めて旺盛に形成されると述べている。佐藤(1968)⁵⁷⁾も同様に、大腿骨骨端軟骨部のコンドロイチン硫酸の合成過程は阻害されるが、骨幹部筋付着部の過骨症の形成は旺盛であり、PAS陽性の異常基質が多量に蓄積されると述べている。

今回の検索においても、大腿骨骨幹部部では基質産生が抑制され、骨幹部筋付着部では大量の基質が産生されることが認められた。基質産生に関して Enzinger ら(1960)¹⁵⁾は AAN を投与したラット腹壁にビニールスポンジを埋入し、組織学的に検索した。その結果過剰な組織形成を認めず、このことから Osteolathyrism の基本的変化は結合組織の形成不全と成熟障害であり、機械的ストレス下にみられる線維の過剰形成は一つの修復現象であろうと述べている。

以上のことを合せ考察すると、Osteolathyrism は本来 lathyrogen による間葉系組織の代謝機構の障害の発現により基質形成は抑制を受けるが、骨幹部筋付着部などの機械的刺激が作用する部位では、一つの修復現象として基質が旺盛に産生されるものと考えられる。今回計量した粗有機成分重量には細胞成分が含まれているものの、単に細胞成分が増殖するだけではなく、鈴木(1959)や佐藤(1968)の示唆したように基質成分においても多量に増加するものと考えられる。

Osteolathyrism 回復群では、AAN 投与中止後も粗有機成分重量は増加し続け、投与中止後3日目に正常対照群同日の値の約2.6倍を示し、以後減少して正常対照群へ漸近した。この時期の病理

形態学的観察から、過骨症骨表面は軽石状から比較的平坦な面へ変化し、過骨症骨の内部は骨基質が緻密化され、細胞および基質成分が増加することが認められた。したがって粗有機成分重量が増加するものと考えられる。また過剰に形成された組織は改造機転により吸収され、その結果投与中止後数日後に粗有機成分が減少し、正常対照群へ漸近するものと考えられる。

一方下顎骨において、粗有機成分重量は正常対照群を若干凌ぐ増加を示したが⁶²⁾、下顎骨は大腿骨に比し過骨症骨の形成量が少ないため、粗有機成分重量も比較的増加量が少ないものと考えられる。

(2) 灰分重量

灰分重量は間葉系組織の石灰化の程度に比例して変化し、特に骨組織の成長の度合や新生骨梁の石灰化成熟過程の程度を示す重要な指標である。

従来の灰分重量の検索において、Geiger ら(1933)²⁾は、Lathyrism の場合成熟ラット大腿骨の灰分重量は正常範囲にあるが、幼若ラット大腿骨の灰分重量は減少すると述べている。一方 Ba-uer ら(1955)¹⁸⁾は、0.1% BAPN 飲料水で20~26日間飼育したラット大腿骨骨端部の灰分重量は減少するが、骨幹部の灰分重量は著しく増加すると述べている。このように灰分重量の変化については一致した結果が得られていない。

今回の検索において、Osteolathyrism 群では、投与開始後10日目頃から正常対照群を凌ぎ、投与開始後24日目に正常対照群同日の値の約1.5倍を示した。この時期の病理形態学的観察から、大腿骨骨端部で基質産生が抑制されていたが、骨幹部筋付着には大量の過骨症骨が認められた。したがってこの大量の過骨症骨の形成により大腿骨の灰分重量が正常対照群を凌いで増加するものと考えられる。

Osteolathyrism 群の灰分重量が正常対照群を凌ぐ増加を示すことは、粗有機成分の増加とも関連して、Enzinger ら(1960)¹⁵⁾の指摘したように一種の修復現象であり、機械的ストレス下における線維成分の過剰形成に続発する間葉系組織の反応であろうと考えられる。そしてこの一連の変化は硬組織としての機能を維持するために機能的要

請に応じて起こる変化であると考えられる。

Osteolathyrism 回復群では、AAN 投与中止後も灰分重量は増加し続け、投与中止後 5 日目に正常対照群同日の値の約 1.5 倍、Weight-Pair 対照群同日の値の約 2.1 倍まで増加を示した。以後若干減少して正常対照群に漸近した。この時期の病理形態学的観察から、過骨症骨表面は軽石状を呈する小孔周囲が次第に石灰化されて比較的平坦になり、過骨症骨の内部では新生骨梁が緻密になることが認められた。したがって投与中止後も過剰に形成された過骨症部の基質の石灰化により灰分重量が増加し続けるものと考えられる。回復群では、石灰化の亢進と共に骨改造の過程も進行するため、骨吸収により灰分重量が減少する。そして投与中止後数日後灰分重量は正常対照群へ漸近すると考えられる。

一方下顎骨において、灰分重量は正常対照群に比し終始低い値を示したが、基本的な変動は大腿骨に類似していた⁶²⁾。このように下顎骨は、湿重量、水分重量および乾燥重量などが基本的に類似の変動を示すが、大腿骨に比し過骨症骨の形成量は少なく、正常対照群より低い値を示すものと考えられる。

(3) 乾燥重量に対する灰分重量の比率 (PAW)

乾燥重量に対する灰分の比率は、Trotter ら (1962)⁶⁰⁾によれば、密度と異なり加齢による変動がなく、海綿骨が多い時にその変位は大きいものの、骨髄の存在に余り影響を受けない値であると述べられている。したがって大腿骨など骨髄の占める割合が比較的大きい長管骨骨皮質の石灰化の程度を検索するためには、非常に有用な計測値であると考えられる。

今回の検索において、正常対照群の PAW は 50.9~56.5 の範囲で平均 54.0 $\pm$ 2.2 の値を示した。Osteolathyrism 群では、AAN 投与開始後 PAW は経日的に減少して投与開始後 14 日目に最低値 39.1 を示した。しかも全実験期間の平均値は 45.1 $\pm$ 4.5 であり、正常対照群との間に高度の有意差 ($P<0.01$) を示した。したがって形態計量学的に、Osteolathyrism の場合の大腿骨は、正常対照群に比し著しく灰分比率の低い石灰化不良の骨基質から成り立っていることが示唆された。この時期

の病理形態学的観察から、大腿骨筋付着部に軽石状の過骨症骨が著しく形成されていることが認められた。したがって過骨症の発生過程に一致して PAW が低下するものと考えられ、この PAW 低下の要因は灰分の著しい低下にあると考えられる。

Osteolathyrism 回復群では、AAN 投与中止後も PAW は減少し続け、投与中止後 3 日目に最低値 34.9 を示した。以後 PAW は若干増加して投与中止後 10 日目に実験開始時の値を凌いだ。正常対照群同日の値までは回復しなかった。この時期においてもなお大腿骨の粗有機成分重量の増加率が灰分重量の増加率を凌ぐものと思われる。しかし投与中止後 5 日目以後の病理形態学的観察から、過骨症骨表面が次第に吸収改造され比較的平坦な面となり、過骨症骨の内部では新生骨梁が緻密になることが認められた。このように回復期に過骨症骨の石灰化が促進された結果、灰分重量の比率が増加し、PAW の値が若干増加すると考えられる。

一方下顎骨において、正常対照群の PAW は 65~68 の範囲で平均 66.4 $\pm$ 1.3 を示した。Osteolathyrism 群の PAW は投与開始後低下して投与開始後 14 日目に 64.1 を示したが、投与中止後は若干増加し、投与中止後 7 日目に 66.5 の値を示して正常対照群の値へ漸近した⁶²⁾。

Trotter ら (1962) は、120 例の成人骨格について骨髄組織を可及的に除去して PAW を計測した。その結果人種や性別により相異が認められるが、大腿骨では平均 66.63 $\pm$ 0.52、下顎骨では最も大きく平均 69.55 $\pm$ 1.02 であると述べている。今回の検索では正常ラットにおいて、下顎骨に比し大腿骨の PAW はかなり低値を示したが、この相異も Osteolathyrism の過骨症の発現の程度に若干の影響を与えているものと思われる。

6) 湿重量および体積に対する水分、粗有機成分および灰分重量の比率

(1) 湿重量に対する三成分の比率

従来 Osteolathyrism の検索は、重量を基準にした計測が多く、水分の比率が増加し^{30,34,43,47,53-55,58,60,62)}、灰分の比率が減少することを報告している。しかし大腿骨全体の湿重量に対する比率を

報告したものはほとんどない。

硬組織の骨代謝を検索する場合、湿重量に対する三成分の比率を計測することは、病変の本質を考察する上で有用な指標となると考えられる。

今回の検索において、正常対照群では、加齢的な水分の比率の減少と灰分の比率の増加を示したが、粗有機成分の比率は $21.9 \pm 1.3\%$ とほぼ一定値を示した。

Osteolathyrisms 群では、投与開始後著しい水分の比率の増加と灰分の比率の減少を示したが、投与開始後17日目以後水分の比率は一定値65.2%、灰分の比率は一定値17.2%を示した。また粗有機成分の比率は投与開始後若干の減少を示したが、投与開始後10日目以後一定値17.6%を示した。したがって形態計量学的に、Osteolathyrisms の大腿骨は、水分の比率が著しく高く、灰分の比率および粗有機成分の比率の低い異常な成分比率の骨基質となったことが認められた。また病理形態学的観察から、大腿骨筋付着部に過骨症骨が形成される時期によく対応して三成分の比率が変動する。したがってこの三成分の比率は過骨症部に形成された骨基質を含む大腿骨の変化をよく反映しているものと考えられる。

Osteolathyrisms 群の灰分重量は、同 Weight-Pair 対照群および正常対照群よりも増加したが、湿重量に対する灰分の比率は低下した。しかし Weight-Pair 対照群および正常対照群の灰分の比率は経日的に漸増を示した。したがって Osteolathyrisms の大腿骨は、過骨症部を中心に骨形成素材である Ca が不足しており、新生骨梁は石灰化不良な骨基質からなることが示唆される。

Osteolathyrisms 回復群では、水分の比率の減少と灰分の比率の若干の増加を示した。しかし投与中止後10日目でもなお大腿骨は正常な大腿骨の組成とは異なり、水分の比率が高く灰分の比率が低い異常な成分比率であることが認められた。

今回の形態計量的結果は、従来の Ramamurti ら (1958) による Osteolathyrisms 回復過程の大腿骨は形態学的に正常構造へ回復したとする報告と異なった。この相異は、著者の実験検索期間が比較的短いため、彼らの結果と直接対比はできないが、おそらく回復期の間過程を計量した結果に

基づくものと考えられ、入 (1964) も指摘しているように、Osteolathyrisms の回復にはさらに長期間を要するものと考えられる。

(2) 体積に対する三成分の比率

硬組織を構成している細胞や基質の配列および分布を立体的に検索することは、病変の本質を考察する上で不可欠なことと考えられる。しかし従来の形態計量学的検索において体積に対する三成分の比率は、ほとんど計量されていなかった。

今回の検索において、正常対照群では加齢的な水分の比率の漸減、粗有機成分の比率の漸増および灰分の比率の増加が認められた。特に灰分の比率は、実験開始後24日目に実験開始時の値の約1.5倍に増加し、大腿骨の密度の増加の主因となっていることが明らかにされた。

Osteolathyrisms 群では、経日的に水分の比率が増加して投与開始後17日目に最高値を示し、以後若干減少した。灰分の比率は著しく減少して投与開始後14日目に投与開始時の値の50%の最低値を示し、以後若干増加した。粗有機成分比率は減少して投与開始後17日目に最低値を示し、以後若干増加した。

また Osteolathyrisms 群と正常対照群を比較すると、水分の比率は若干増加し、粗有機成分の比率は若干減少するが、灰分の比率は著しく減少した。また病理形態学的検索による過骨症形成過程に形態計量学的変化がよく対応しており、灰分重量が正常大腿骨を凌いで増加するにもかかわらず、Osteolathyrisms の大腿骨の灰分の比率は著しく低下した。このように Osteolathyrisms の大腿骨は、水分の比率が高く、灰分の比率が著しく低い鬆疎な骨基質からなっていることが明らかであり、Osteolathyrisms による骨の代謝障害の重篤さが示唆される。

Osteolathyrisms 回復群では、AAN 投与中止後水分の比率は減少し、粗有機成分の比率は増加して投与中止後3日目に実験開始時の値まで回復した。灰分の比率は投与中止後増加するが、その回復は遅く投与中止後10日目に実験開始時の値にまで回復した。正常対照群と比較すると投与中止後10日目の大腿骨は、水分の比率が高く、粗有機成分の比率および灰分の比率が低い異常な骨基質成

分の比率を示し、特に灰分の比率は正常対照群同日の値より約65%低い値を示した。大腿骨は下顎骨に比し、その障害の程度が著しく、AAN 投与中止後 Ca 代謝を中心とする骨の代謝機能は回復の傾向を示すものの、AAN による代謝機構の障害の影響が長く残存するものと考えられる。

6. 過骨症を中心とする Osteolathyrism の病変の本態について

動物に lathyrogen を投与すると骨組織筋付着部の過骨症、骨端軟骨の異常、骨多孔症等骨を中心とした間葉系組織に重篤な病変が起きることが知られてきた。特に過骨症形成は Osteolathyrism の最も特徴的な変化として古くから注目されてきた。今回の検索結果を基に過骨症骨の代謝機構およびその本態について考察を加えてみたい。

今回の検索によると、Osteolathyrism の過骨症骨の形成過程の基本的な変化は、筋付着部の骨膜の肥厚とこれに続く類骨組織および石灰化骨梁の形成である。筋付着部の骨膜の肥厚については、古くから lathyrogen の作用と筋による機械的刺激が不可欠であることが示唆されてきた。そして Enzinger ら (1960)¹⁵⁾は、機械的牽引力の存在下にみられる線維の過剰形成を一つの修復現象であろうと推定した。

さらに類骨組織および石灰化骨梁形成については、従来好塩基性小顆粒が石灰化部位に認められたが、その詳細な微細構造に及ぶ記載はない。類骨組織を産生する骨芽細胞は、若干小型で形態の異常な細胞であったが、この細胞を電顕的に検索した Amemiya (1960)⁵¹⁾は、この異常な形態の骨芽細胞の小器官に發育不全を観察し、過骨症骨梁の基質の形態学的異常と不均一な斑状石灰化を過骨症部の特徴的所見として記載している。また Martino ら (1979)³⁹⁾も、電顕的に過骨症骨を検索し、同様の結節状石灰化を観察した。そしてこのような石灰化様式は急速に形成される線維骨に特徴的なものであろうと述べている。

今回の走査電顕的検索によると、過骨症骨は、相互に連絡している細い骨梁と骨梁間の円筒状の空隙よりなる特徴的な軽石状構造を示しておりその表面には無数の石灰化球が認められた。さらに形態計量学的検索により過骨症骨は水分が著し

く多く、灰分の少ない石灰化不良の骨質よりなることが明らかにされた。

今回の検索により Osteolathyrism の場合の過骨症骨は、形態学的にも形態計量学的にも、石灰化の不良な鬆疎な骨質よりなることが明らかになったが、このような過骨症は機能している筋の付着部のみ認められていることから、すでに記載されているように、筋による機械的刺激が過骨症の発現に重要な因子として関与しているものと思われる。近年、組織や器官の構造がその機能と密接に関係していることが明らかにされつつあるが、Osteolathyrism の場合の骨組織においても、lathyrogen により障害された組織に、筋の牽引力が機能的要請として作用し、質的欠陥を代償するために、水分が多く石灰化の不良な鬆疎な骨を大量に形成するものと考えられる。

結 論

Aminoacetonitrile (AAN) の投与により発生する過骨症骨の形成過程と、AAN 投与中止後の回復過程を、立体的な微細構造を中心に走査電顕を用いて検索し、さらに過骨症骨を含む大腿骨と、回復期の大腿骨の骨基質成分の組成および性状を形態計量学的に検索し、これらの所見をX線学的、肉眼的および病理組織学的所見と比較検討した。その結果を要約すると次の如くである。

1. AAN 投与により大腿骨筋付着部を中心に骨隆起が起り、大腿骨は著しく変形した。

2. 骨隆起は、X線学的に不規則で微細な針状構造を示し、外形線は一般的に不鮮明でその一部は経日的に比較的鮮明となったが、内部は若干透過性を増した。

3. 過骨症部では、病理組織学的に骨膜が肥厚し、若干小型で形態の異常な骨芽細胞により多量の類骨組織が形成されたが、類骨組織内には多数の好塩基性小顆粒が存在し、それらが次第に癒合する像が認められた。

4. 走査電顕的観察により、過骨症骨は相互に連絡する細い新生骨梁と円筒状空隙からなる特徴的な軽石状の構造をしていることが明らかにされた。この新生骨梁の表面には径 $0.5 \sim 3 \mu\text{m}$ の石灰化球が認められた。

5. 形態計量学的に Osteolathyrism の場合の大腿骨は、体積と水分の著しい増加を示し、灰分は正常値を凌いで増加するにもかかわらず、密度は著しく低下した。

6. 形態学および形態計量学的所見から Osteolathyrism の場合の過骨症骨は、水分が著しく多く、無機成分に乏しい鬆疎な骨質よりなることが明らかにされた。

7. AAN の投与を中止すると、過骨症骨表面は吸収改造されて次第に平坦になり、内部の骨梁は緻密化したが、形態および組成の完全な回復は認められなかった。

今回の検索結果を基にして Osteolathyrism における骨の代謝機構およびその本態について考察を加えた。

謝辞：稿を終えるに臨み、終始御指導と御鞭撻を賜りました雨宮璋教授に深甚なる感謝の意を表します。

また本研究に御協力いただきました口腔病理学講座の皆様にも深く感謝致します。

本論文の要旨は、第23回国際歯科研究学会日本部会総会（1976年12月）、第27回国際歯科研究学会日本部会総会（1979年12月）および第2回北海道歯学会（1981年5月）において発表した。

抄録：Osteolathyrism における、骨の代謝機構および過骨症骨の本態を明らかにする目的で、AAN を投与したラット大腿骨の過骨症部を中心に、走査電顕的ならびに形態計量学的に検索し、組織学的所見等と併せて比較検討した。

過骨症骨は、表面に無数の石灰化球が付着した骨梁よりなる、特徴的な軽石状構造を呈していることが、走査電顕的に観察された。一方、形態計量学的には、水分に富み、無機成分に乏しい石灰化不良の鬆疎な骨質であることが解明された。AAN の投与を中止すると、過骨症は回復の傾向を示すが、走査電顕的にも、計量学的にも、正常な骨組織とは異なっていることが明らかにされた。

このような過骨症は、機能している筋の存在下により認められることから、筋による機械的刺激が、AAN の投与により障害された細胞組織に対して、機能的要請として作用し、水分が多く石灰化の不良な鬆疎な骨基質が、代償性に大量に形成されるのであろうと考えられる。

文 献

- 1) Stockman, R. : Lathyrism. J. Pharm. Exp. Ther. 37 : 43-53, 1929.
- 2) Paissios, C. S. and Demopoulos, T. : Human Lathyrism ; A clinical and skeletal study. Clin. Orthop. 23 : 236-249, 1962.
- 3) Geiger, B. J., Steenbock, H. and Parsons, H. J. : Lathyrism in the rat. J. Nutrition 6 : 427-442, 1933.
- 4) Robinson, J. J. and Bast, T. H. : Bone changes due to lathyrism in rats. Anat. Rec. 59 : 283-295, 1934.
- 5) Ponseti, I. V. and Shepard, R. S. : Lesions of the skeleton and other mesodermal tissues in rats fed sweet-pea (*Lathyrus odoratus*) seeds. J. Bone Joint Surg. 36A : 1031-1058, 1954.
- 6) Selye, H. : Lathyrism. Rev. Can. Biol. 16 : 1-82, 1957.
- 7) Dasler, W. : Incisor ash versus femur ash in sweet pea lathyrism (Odoratism). J. Nutrition 54 : 397-402, 1954.
- 8) Ponseti, I. V., Wawzonek, S., Shepard, R. S., Evans, T. C. and Stearns, G. : Further studies on lathyrism in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92 : 366-369, 1956.
- 9) Hamre, C. J. and Yeager, V. L. : Influence of muscle section on exostoses of lathyrism rats. Arch. Pathol. 64 : 426-433, 1957.
- 10) Menzies, D. W. and Mills, K. W. : The aortic and skeletal lesions of lathyrism in rats on a diet of sweet pea. J. Pathol. Bact. 73 : 223-237, 1957.
- 11) Pyörälä, K., Punsar, S., Seppälä, T. and Marilsson, K. : Mucopolysaccharides of the aorta and epiphyseal cartilage in lathyrism growing rats and rat fetuses. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 41 : 497-510, 1957.
- 12) Hamre, C. J. and Yeager, V. L. : Influence of denervated muscles on exostoses of rats fed a sweet-pea diet. A. M. A. Arch. Path. 65 : 215-227, 1957.
- 13) Gardner, A. F., Dasler, W. and Weinmann, J. P. : Masticatory apparatus of albino rats in experimental lathyrism. J. Dent. Res. 37 : 492-515, 1958.
- 14) Bélanger, L. F. : Observations on the manifestations of osteolathyrism in the chick. J. Bone Joint Surg. 41B : 581-589, 1959.
- 15) Enzinger, F. M. and Warner, E. D. : Experimental lathyrism. ; Effect of aminoacetone-trile on connective tissue formation in adult

- rats. Arch. Pathol. 69 : 333-341, 1960.
- 16) Gabay, S., Vivanco, F., Ramos, F. and Diaz, C. J. : Influence of DL-Thyroxine and cortisone on femurs of rats with odoratism. Arch. Biochem. Biophys. 92 : 87-93, 1961.
 - 17) Kennedy, J. S. and Kennedy, G. D. C. : Autoradiographic studies in experimental lathyrism. J. Pathol. Bact. 84 : 123-135, 1962.
 - 18) Bauer, G. C. H. : Skeletal uptake of sulfate and phosphate in β -aminopropionitrile poisoned rats. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 37 : 407-413, 1955.
 - 19) Ramamurti, P. and Taylor, H. E. : Histochemical studies of the evolution and regression skeletal deformities due to beta-aminoacetonitrile (BAPN). Lab. Invest. 7 : 115-125, 1958.
 - 20) Levene, C. I. and Gross, J. : Alterations in state of molecular aggregation of collagen induced in chick embryos by β -Aminopropionitrile (Lathyrus Factor). J. Exp. Med. 110 : 771-790, 1959.
 - 21) Martin, G. R., Gross, J., Piez, K. A. and Lewis, M. S. : On the intermolecular cross-linking of collagen in lathyratic rats. Biochim. Biophys. Acta 53 : 599-601, 1961.
 - 22) Shintani, Y. K. and Taylor, H. E. : Radioautographic study of $S^{35}O_4$ uptake by epiphyseal cartilage in experimental lathyrism. Can. J. Biochem. Phys. 40 : 565-570, 1962.
 - 23) Smiley, J. D., Yeager, H. and Ziff, M. : Collagen metabolism in osteolathyrism in chick embryos : Site of action of β -aminopropionitrile. J. Exp. Med. 116 : 45-54, 1962.
 - 24) Gross, J. : An intermolecular defect of collagen in experimental lathyrism. Biochem. Biophys. Acta 74 : 314-316, 1963.
 - 25) Hartmann, F. : Die enchandrale Mineralisationsstörung beim experimentellen Lathyrismus. Verh. Dtsch. Ges. Path. 47 : 161-165, 1963.
 - 26) Hartmann, F., Seifert, K. and Bölsing : Experimenteller Lathyrismus Modell einer generalisierenden Mesenchymkrankung. Zeitschrift für Zellforschung. 59 : 358-394, 1963.
 - 27) Hausmann, E. : The formation and dissolution of gels from collagen solutions : The effect of β -aminopropionitrile. Arch. Biochem. Biophys. 103 : 227-230, 1963.
 - 28) Hooff, A. V. D. : On the ossification defect in lathyrism. Pathol. Microbiol. 26 : 753-767, 1963.
 - 29) Martin, G. R., Piez, K. A. and Lewis, M. S. : The incorporation of $[^{14}C]$ glycine into the subunits of collagens from normal and lathyratic animals. Biochem. Biophys. Acta 62 : 472-479, 1963.
 - 30) Kundel, H. L. : Osteolathyrism in the rat. An X-ray diffraction study of collagen from normal and lathyratic rats. Radiology 82 : 67-76, 1964.
 - 31) Tanzer, M. L. and Hunt, R. O. : Experimental lathyrism an Autoradiographic study. J. Cell Biol 22 : 623-631, 1964.
 - 32) Yeager, V. L. and Taylor, J. J. : Periosteal response in lathyrism after semistarvation. Arch. Pathol. 80 : 647-650, 1965.
 - 33) Levene, C. I., Kranzler, J. and Franco-Browder, S. : Acid muco-polysaccharides of chick-embryo cartilage in osteolathyrism. Biochem. J. 101 : 435-440, 1966.
 - 34) Levene, C. I. : The hydrating effect of lathyrigenic compounds on chick-embryo cartilage in vivo. Biochem. J. 101 : 441-447, 1966.
 - 35) Naber, E. C., Scott, K. and Johnson, R. M. : Relationships of divalent cations to experimental lathyrism and collagen formation. Fed. Proc. 26 : 121-128, 1967.
 - 36) Golub, L., Stern, B., Glimcher, M. and Goldhaber, P. : The inhibition of the maturation of newly synthesized bone collagen by β -aminopropionitrile in tissue culture. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 129 : 465-469, 1968.
 - 37) Golub, L., Stern, B., Glimcher, M. and Goldhaber, P. : The effect of a lathyrigenic agent on the synthesis and degradation of mouse bone collagen in tissue culture. Arch. Oral Biol. 13 : 1395-1398, 1968.
 - 38) Yeager, V. L. and Taylor, J. J. : Lathyrism and aging. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 129 : 44-46, 1968.
 - 39) Martino, L. J., Yeager, V. L. and Taylor, J. J. : An ultra-structural study of the role of calcification nodules in the mineralization of woven bone. Calcif. Tissue Int. 27 : 57-64, 1979.
 - 40) Selye, H. : Induction by aminoacetonitrile of a predisposition to giant callus formation. Br. J. Exp. Pathol. 38 : 186-189, 1957.
 - 41) Castellani, A. A. and Castellani-Bisi, C. : Decrease in hexosamine content of epiphyseal plates in experimental lathyrism. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 98 : 318-320, 1958.
 - 42) Follis, R. H. Jr. and Tousimis, A. J. : Experimental lathyrism in the rat. Nature of defect in epiphyseal cartilage. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 98 : 843-848, 1958.
 - 43) Borle, A. B., Karnovsky, M. J. and Nichols, G. Jr. : Changes in inorganic composition of tissues in experimental osteolathyrism. Am. J. Physiol. 197 : 1224-1228, 1959.
 - 44) Castellani, A. A., Castellani-Bisi, C. and Frigerio, E. R. : Amino sugars and basic amino acids in epiphyseal plates of normal and aminoacetonitrile-treated rabbits. Arch. Biochem. Biophys. 80 : 57-60, 1959.
 - 45) Pedrini, V. and Pedrini-Mille, A. : Decrease

- of enzymatic synthesis of hexosamine in epiphyseal plates of aminoacetonitrile-treated rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 101 : 358-360, 1959.
- 46) 鈴木暁俊 : Aminoacetonitrile 注射による大黒鼠の硬組織病変に関する研究。お茶の水医学誌 7 : 2469-2484, 1959.
- 47) Karnovsky, M. J. and Karnovsky, M. L. : Metabolic effects of lathyrogenic agents on cartilage in vivo and in vitro. *J. Exp. Med.* 113 : 381-403, 1961.
- 48) Kuhlman, R. E. : Enzyme alterations in the epiphyseal plate of the rabbit resulting from aminoacetonitrile administration. *J. Bone Joint Surg.* 43A : 669-678, 1961.
- 49) Bergquist, E. and Hulth, A. : A study of newly formed bone in lathyratic rats. ; microradiographic, tetracycline labelling, and microangiographic techniques. *Virchows Arch. [Pathol. Anat.]* 337 : 195-204, 1963.
- 50) Pedrini-Mille, A. and Pedrini, V. : Mucopolysaccharide defect in experimental lathyris. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 119 : 322-325, 1965.
- 51) Amemiya, A. : Electron microscopic study of periosteal hyperostosis in rats with lathyris induced by aminoacetonitrile. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* 13 : 319-348, 1966.
- 52) Smith, D. J. : Biochemical aspects of repair in lathyris. *J. Dent. Res.* 45 : 500-502, 1966.
- 53) Berntsen, E. : Epiphyseal growth zones in acute lathyris up-take and distribution of $^{35}\text{SO}_4$ in cartilage and bone. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 124 : 731-734, 1967.
- 54) Berntsen, E. : Epiphyseal growth zones in acute lathyris. Determinations of sodium, potassium and chloride. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 124 : 985-987, 1967.
- 55) 入倉 勉, 西納啓吾, 篠田泰誉, 長谷川嘉成, 牛山敬一 : Aminoacetonitrile およびその関連化合物の研究(第1報)動物の年令と lathyris の関係。薬学雑誌 87 : 1170-1174, 1967.
- 56) 西原円一郎 : 実験的 Osteolathyris に関する組織化学的研究。とくに歯牙および長管骨における変化。歯科学報 67 : 258-278, 1967.
- 57) 佐藤温重 : Lathyrogen の作用機序に関する研究。お茶の水医学雑誌 16 : 47-65, 1968.
- 58) 西納啓吾, 牛山敬一, 篠田泰誉, 入倉 勉 : Aminoacetonitrile およびその関連化合物の研究。(第3報) Lathyris における酸性ムコ多糖体の動態。薬学雑誌 90 : 521-527, 1970.
- 59) 三友善夫, 瀬山義幸, 坂本義光, 森 陽, 新延信吉 : 実験的 Osteolathyris の病理形態学的および生化学的研究。骨代謝 4 : 13-20, 1971.
- 60) 高堀恒男 : Aminoacetonitrile 投与により生ずるラットの外骨症骨の骨塩代謝に及ぼす食餌性因子の影響。お茶の水医学雑誌 19 : 13-30, 1971.
- 61) 岡 静夫 : Lathyris の場合の骨端軟骨の不溶性 collagen の変化についての組織学的研究。口病誌 40 : 215-241, 1973.
- 62) 雨宮 璋, 小野木正章, 大橋勝広 : Osteolathyris におけるラット下顎骨の病理学的研究——形態計量学的所見を中心に——。歯基礎誌 22 : 366-387, 1980.
- 63) Rosmus, J., Trnavsky, K. and Deyl, Z. : Experimental lathyris a molecular disease. *Biochem Pharmacol.* 15 : 1405-1410, 1966.
- 64) 小椋秀亮, 佐々木哲 : 乾燥法および水定量法。歯の研究法 p. 552-559, 医歯薬出版, 東京 1973.
- 65) 小椋秀亮, 加藤有三, 佐々木哲 : 灰化法, 脱有機法。歯の研究法 p. 545-552, 医歯薬出版, 東京 1973.
- 66) Trotter, M. and Peterson, R. R. : The relationship of ash weight and organic weight of human skeletons. *J. Bone Joint Surg.* 44A : 669-681, 1962.
- 67) Broman, G. E., Trotter, M. and Peterson, R. R. : The density of selected bones of the human skeleton. *Am. J. Phys. Anthropol.* 16 : 197-211, 1958.
- 68) Onoki, M., Kogo, T. and Amemiya A. : A scanning electron microscopic study of fracture callus in rats. *J. Dent. Res.* 60B : 1231, 1981.
- 69) Sela, J. : Bone remodeling in pathologic conditions ; A scanning electron microscopic study. *Calcif. Tissue Res.* 23 : 229-234, 1977.
- 70) Sela, J. and Bab, I. A. : The relationship between extracellular matrix vesicles and calcospherites in primary mineralization of neoplastic bone tissue TEM and SEM studies osteosarcoma. *Virchows Arch. [Parhol. Anat.]* 382 : 1-9, 1979.
- 71) Barrington, E. P. : Recovery of the rat dental organ from experimental lathyris. *J. Periodont.* 37 : 453-467, 1966.
- 72) Bernard, G. W. and Rease, D. C. : An electron microscopic study of initial intramembranous osteogenesis. *Am. J. Anat.* 125 : 271-290, 1969.
- 73) 伊藤正通 : 実験的 osteolathyris の病理組織学的研究。歯科学報 66 : 115-151, 1966.
- 74) 入 久巳 : Aminoacetonitrile (AAN) の骨におよぼす影響について。日本病理誌 53 : 266-267, 1964.

Explanation of Figures

- Fig. 1 On the 7th day of AAN administration ; Osteolathyric left femur. A softex-photograph. A slight bump (arrow) at the sites of muscle attachment on medial side of diaphysis. $\times 1.8$
- Fig. 2 On the 14th day of AAN administration ; Osteolathyric left femur. A softex-photograph. An osteoma-like protuberance on diaphysis and a hollow on bending side of diaphysis. $\times 1.8$
- Fig. 3 On the 21st day of AAN administration ; Osteolathyric left femur. A softex-photograph. Fine needle-like structure on the osteoma-like protuberance. $\times 1.8$
- Fig. 4 On the 7th day of AAN administration ; Osteolathyric left femur. A slight bump at the sites of muscle attachment on medial-extension side of diaphysis. $\times 1.7$
- Fig. 5 On the 14th day of AAN administration ; Osteolathyric right femur. The osteoma-like protuberance on diaphysis. $\times 1.7$
- Fig. 6 On the 3rd day of AAN administration ; A thickening of periosteum at the sites of muscle attachment. HE $\times 500$
- Fig. 7 On the 5th day of AAN administration ; Osteoid tissue and some small and irregular-shaped osteoblasts at the sites of muscle attachment. HE $\times 1000$
- Fig. 8 On the 7th day of AAN administration ; Osteoid tissue, newly formed bone trabeculae, and primary cortex at the sites of muscle attachment of the femur. HE $\times 100$
- Fig. 9 On the 14th day of AAN administration ; Osteoblasts surrounding the osteoid tissue. HE $\times 250$
- Fig. 10 On the 14th day of AAN administration ; Active new bone formation. Osteoblasts lining newly formed bone trabeculae. HE $\times 250$
- Fig. 11 On the 17th day of AAN administration ; Eosinophilic spherical granules within the osteoid tissue. HE $\times 500$
- Fig. 12 On the 14th day of AAN administration ; An osteoporotic primary cortex and newly formed bone trabeculae arranged at right angles to the primary cortex. HE $\times 100$
- Fig. 13 On the 17th day of AAN administration ; Epiphyseal cartilage. Remarkably irregular arrangement of chondrocytes in the zone of cell hypertrophy and thin, short trabeculae in the zone of calcification. HE $\times 100$

- Fig. 14 On the 24th day of AAN administration ; Enchondral ossification on the surface of hyperostosis and some osteoblasts lining the newly formed bone trabeculae. HE $\times 100$
- Fig. 15 On the 7th day after cessation of AAN administration ; Newly formed bone trabeculae were resorbed by osteoclasts and thinned down. HE $\times 250$
- Fig. 16 On the 7th day after cessation of AAN administration ; Sub-periosteal trabeculae surrounded with crowded osteoblasts. HE $\times 250$
- Fig. 17 Normal control (young rat) ; SEM-photograph. Small holes (SH) on the surface of femur. $\times 1300$
- Fig. 18 Normal control (adult rat) ; SEM-photograph. Rough surface at the sites of muscle attachment (M) of femur. $\times 30$
- Fig. 19 Normal control (adult rat) ; SEM-photograph. Magnification of the rough surface at the sites of muscle attachment. Sponge-like structure. $\times 130$
- Fig. 20 On the 3rd day of AAN administration ; SEM-photograph. The rough surface of the hyperostosis at the sites of muscle attachment. $\times 130$
- Fig. 21 On the 3rd day of AAN administration ; SEM-photograph. Magnification of the rough surface. Spindle-shaped calcifying granules, 1-3 μm in diameter, were arranged closely. $\times 1300$
- Fig. 22 On the 3rd day of AAN administration ; SEM-photograph. Magnification at the sites of muscle attachment. Clustered calcifying globules, 0.5-3 μm in diameter. $\times 2600$
- Fig. 23 On the 7th day of AAN administration ; SEM-photograph. A part forming bone trabeculae at the sites of muscle attachment. The surface of femur transformed from smooth to rough ones. $\times 50$
- Fig. 24 On the 7th day of AAN administration ; SEM-photograph. Cracked surface of the hyperostosis. Newly formed bone trabeculae arranged at right angles to primary cortex of femur. $\times 50$
- Fig. 25 On the 7th day of AAN administration ; SEM-photograph. The surface on the hyperostosis. Characteristic pumice-like structure. $\times 50$
- Fig. 26 On the 10th day of AAN administration ; SEM-photograph. Cracked surface. Newly formed bone trabeculae arranged at right angles to thin primary cortex, and osteoporotic endosteal surface of the primary bone (OP). $\times 50$
- Fig. 27 On the 10th day of AAN administration ; SEM-photograph. The resorbed endosteal surface of the primary bone. An exposed osteocytic lacuna is perforated by canaliculae. $\times 2600$
- Fig. 28 On the 14th day of AAN administration ; SEM-photograph. The cracked surface of the hyperostosis. $\times 50$
- Fig. 29 On the 14th day of AAN administration ; SEM-photograph. Newly formed bone trabeculae. A rosary-shaped structure composed of calcified fiber bundles and numerous calcifying globules. $\times 1300$
- Fig. 30 On the 14th day of AAN administration ; SEM-photograph. The endosteal surface of the primary bone. Remarkable osteoporosis and characteristic worm-eaten structure. $\times 50$
- Fig. 31 On the 24th day of AAN administration ; SEM-photograph. The surface of the hyperostosis. Relatively smooth surface with numerous holes. $\times 50$
- Fig. 32 On the 3rd day after cessation of AAN administration ; SEM-photograph. The surface of the hyperostosis during recovery-process. The surface of the bone with numerous holes. $\times 25$
- Fig. 33 On the 7th day after cessation of AAN administration ; SEM-photograph. The surface of the hyperostosis. Numerous conical hollows formed by resorption. $\times 50$