睾丸除去ラットの骨創傷における testosterone propionate の治癒促進作用と発育促進作用に対する cyproterone acetate の拮抗作用

西 村 享 梁 瑞 峰 佐 藤 清 一

明海大学歯学部歯科薬理学教室 (主任: 佐藤清一教授)

〔受付: 平成2年4月13日〕

Antagonistic effects of cyproterone acetate on testosterone propionate induced acceleration of bone wound healing and growth in castrated rats

Susumu Nishimura, Ruey-Feng Liang and Seiichi Sato

*Department of Dental Pharmacology, Meikai University School of Dentistry, 1-1
Keyakidai, Sakado, Saitama 350-02, Japan*
(Chief: Prof. Seiichi Sato)

〔Accepted for publication: April 13, 1990〕

Key words: Testosterone propionate / cyproterone acetate / bone regeneration / bone growth / agonist-antagonist of androgen

Abstract: The effects of testosterone propionate (TP) on wound healing of rat calvariae and the growth of the femur and the possible antagonism of such effects by cyproterone acetate (CPA) were studied. Three-week-old male rats were castrated, and one week later two holes were drilled into their calvariae and TP and/or CPA were administered s.c. for 2 weeks (TP: 1, 2 and 5 mg/kg; CPA: 5, 10, 20 and 40 mg/kg; TP 1 mg/kg+CPA 10 mg/kg; TP 2 mg/kg+CPA 20 mg/kg). After daily administration of the drugs, the rat body weight was measured and the calvariae containing the wound holes were isolated and soft x-ray photographs were taken. The area of each hole was then measured on the x-ray film. In the case of the groups administration for TP 2 mg/kg and/or CPA 20 mg/kg, the calcium (Ca) and hydroxyproline (HP) contents in the wounded and non-wounded portions of the calvariae were also determined. The results obtained were as follows: 1) The decrease in the body weights of the rats due to the castration was significantly inhibited by TP, and this effect of TP was clearly antagonized by CPA. But the body weights were decreased by CPA. 2) The reduction in the wound hole area was significantly delayed after the castration. TP administration accelerated the reduction of the area dose dependently. 3) CPA showed similar dose dependent effect to TP in higher dosage than TP but this effect was weaker than TP. The effect of TP showed a tendency to be antagonized by the simultaneous administration of CPA, and the value of the area showed about the same as the castrated value or approached that of the castrated value. 4) The growth in the femur was significantly inhibited by castration and TP administration improved that, especially 2 and 5 mg/kg of TP was remarkable. CPA significantly antagonized the TP effect. 5) The castration-induced reduction in HP content of the wounded portion was inhibited by TP, and this effect was antagonized by CPA. A similar tendency was observed for the Ca content of the wounded portion and for both HP and Ca contents of the non-wounded portion of the calvariae; however, the effects were not so clear as in the case of

the HP content of the wounded portion. 6) The decrease in relative weights of prostate, seminal vesicle, and levator ani muscle due to the castration was clearly inhibited by TP, and the TP effects were antagonized by CPA. These results suggest that TP accelerated the regeneration of bone in wounded calvariae and bone growth of castrated rats, and CPA maybe act as an agonist-antagonist of androgen on wound healing and growth of bone.

緒 言

男性ホルモンがタンパク同化作用をもち、骨代謝において重要な因子の1つとして作用していることは古くから知られており、それが直接的あるいは間接的に骨の発育、成熟および再生に関与していると言われている。たとえば、testosterone およびその誘導体が骨の成長と成熟を促進し¹⁻⁴⁾、骨吸収を抑制する^{5,6)}と報告されている。また、男子性腺機能不全患者で骨多孔症がおこり⁷⁻¹⁰⁾、男性ホルモンの投与で改善される^{7,8,10)}ことが認められている。このように、骨代謝において直接的に作用していると報告される一方、直接的な作用はないという報告¹¹⁻¹³⁾もある。骨の創傷治癒に関しても男性ホルモンあるいはその誘導体である種々のタンパク同化ステロイドが影響していると考えられ、骨創傷治癒に対して促進的に作用している¹⁴⁻¹⁶⁾と報告があるものの、未だその詳細は不明である。

そこで今回、発育中の雄ラットに形成した実験的骨創傷の治癒からの骨再生と骨発育に対する男性ホルモンである testosterone propionate (以下 TP と略) の作用と男性ホルモンの特異的拮抗薬である cyproterone acetate (以下 CPA と略) との関係を検討したので、その結果を報告する。

材料および方法

1. 実験動物

Wistar 系雄性ラット (SLC) を使用し、実験期間中固形飼料 (CLEA-CA 1) および水を自由に摂取させた。

2. 使用薬物

TP は Sigma 社製のものを、CPA は日本シェーリング社製のものを使用した。各々の薬物は10% ethanol 添加 sesame-oil に溶解し、以下の実験に使用した。

3. 実験方法

ラットの睾丸を3週齢時に除去し、その1週間後すなわち生後4週齢時にラットを pentobarbital 麻酔 (10mg/kg, i.p.) 下で、頭頂骨皮膚を正中線に沿って切開し、脳に損傷を与えないようにして、頭頂骨に歯科用 round bar (直径0.9mm, Kommet 社製) で、正中縫合線をはさみ左右1個ずつ創傷孔を形成した (Fig. 1 参照)。創傷孔形成後、感染防止のため penicillin (5000unit/ml) と streptomycin (10mg/ml) で局所洗浄を行い、さらに同混合液を大腿部の筋肉内に 0.2ml/100g 投与した。

なお薬物投与実験に先立ち、睾丸除去および薬物投与を行わないラットについて同様に生後4週齢時に創傷孔を形成し、創傷孔形成1, 3, 7, 14, 21, 28日後の創傷孔面積を測定した。

被験薬物の投与は創傷孔形成当日から前記の TP (1, 2, 5 mg/kg), CPA (5, 10, 20, 40mg/kg), TP (1 mg/kg)+CPA (10mg/kg) および TP (2 mg/kg)+CPA (20mg/kg) を1日1回2週間、皮下注射した。創傷孔形成の面積は孔形成後2週間で急速に約56%まで縮小するので、この時期における薬物の反応を調べた。TP と CPA との併用実験では、一般に男性ホルモンに対する CPA の拮抗作用をみるのに男性ホルモンの10~100倍の CPA が用いられている¹⁷⁻¹⁹⁾。今回の実験では CPA のもつ男性ホルモン様作用が強く出ない用量で、抗男性ホルモン様作用をあらわすと考えられる量として TP の10倍量を設定した。薬物は投与容量が体重100g 当たり0.1ml となるよう調整した。薬物投与期間終了後、ラットの体重測定を行い ether で麻酔死させ頭蓋骨から頭頂骨、および大腿骨を切り出した。頭頂骨は創傷孔面積を測定するため軟X線撮影装置 (Softex, CBX-2 type, Softex 社製) を用いて撮影した。創傷孔面積は、軟X線撮影装置で撮影したフィルムを倒立型顕微鏡装置で40倍に拡大撮影した写真上の創傷孔未石灰化部分 (X線透過部分) の面積

Fig. 1 Positions of wound holes in rat calvaria

を画像処理システム (Digitizer-ID, DATA, TABLET/DIGITIZER [武藤工業製] を Canon, BX-1 [Canon 社製] に接続) で画像処理して求めた。また、大腿骨は長径を測定した。

さらに用量を TP 2 mg/kg および CPA 20mg/kg に設定し、それぞれの単独および併用投与群について上述と同様の方法で創傷孔を形成、薬物投与終了後、軟X線撮影を行いたちに頭頂骨を -40°C にて凍結保存し、骨創傷部の生化学的測定を行った。すなわち、用時頭頂骨を解凍し創傷部を中心に直径 6 mm のコルクボールで頭頂骨を抜き取り、6N-HCl を加えて 120°C , 1 時間、加水分解したのち pH 7~8 に調整し、骨の calcium (以下 Ca と略) 量および hydroxyproline (以下 HP と略) 量を測定し、湿重量 1 mg 当たりの含量を計算した。Ca 量は *o*-Cresolphthalein complexon (OCPC) 法 (Calcium C-test Wako, 和光純薬工業社製) で HP 量は Woessner²⁰⁾ の方法でそれぞれ測定した。また、前立腺、精囊および肛門挙筋を摘出し、それぞれの湿重量を測定した。

結 果

1. 体重におよぼす影響

被験薬物を 2 週間連続皮下投与した後の体重の結果は Fig. 2 に示したとおりである。睾丸除去

群は睾丸除去を施さなかった群 (NC 群) に比較して有意に体重が減少し、TP 投与群では用量依存的な体重の増加がみられ、CPA 投与群では 10, 20 および 40 mg/kg で逆に有意の減少がみられた。

TP と CPA を併用した群も有意の体重の減少がみられ、CPA の TP に対する拮抗作用が観察された。

2. 頭頂骨創傷孔面積におよぼす影響

1) 薬物非投与群における骨創傷孔の治癒経過
ラットの頭頂骨に創傷孔を形成し、その後経日的にラットを屠殺してその頭頂骨を摘出し創傷孔の軟X線写真を撮影して写真面上の創傷孔未石灰化部の面積を測定した結果は Fig. 3 に示したとおりである。

すなわち、創傷孔未石灰化部は経日的に縮小し特に 2 週間目まで急速に縮小し、2 週間後で創傷形成時の約 56%、4 週間後では約 44% になった。

2) TP および CPA の単独・併用投与の影響
被験薬物を 2 週間連続投与した後の創傷孔未石灰化部分を睾丸除去群の面積を 100% として求めた結果は Fig. 4 に示したとおりである。

すなわち、睾丸除去群は睾丸除去を施さなかった群 (NC 群) に比較して有意に面積が大きく骨創傷治癒遅延を示した。TP 投与群では用量依存的な創傷孔面積の縮小促進効果がみられ、とくに TP 5 mg/kg では睾丸除去群と比較して有意の面積縮小がみられた。CPA 投与群でも用量依存的な面積の縮小促進効果がみられ、とくに 40 mg/kg 投与群で有意の縮小がみられた。

TP と CPA を併用した群では TP 単独投与群との間に有意の差は認められなかったものの、TP 投与量の 10 倍量の CPA は TP の創傷孔縮小促進作用を抑制する傾向を示し、併用投与群の値は対照群とほぼ同じになった。

3. 大腿骨の長径におよぼす影響

被験薬物を 2 週間連続皮下投与した後、大腿骨の長径を測定した結果は Fig. 5 に示したとおりである。

すなわち、睾丸除去群は睾丸除去を施さなかった群 (NC 群) に比較して有意に長径が短く、骨成長の遅延を示した。TP 投与群では長径の増加がみられ、特に 2 および 5 mg/kg で有意に増加し

Fig. 2 Dose-dependent effect of testosterone propionate and/or cyproterone acetate on the body weights of male rats.

Each column and bar represents the mean $\pm$ S.E. of 5 or 6 animals.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with non-castrated group (NC).

+ $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$, +++ $P < 0.001$ compared with castrated group (control: C).

ΔΔΔ $P < 0.001$ compared with TP.

TP: Testosterone propionate

CPA: Cyproterone acetate

Fig. 3 Time course of the wound hole area of rat calvaria

Each point and bar represents the mean $\pm$ S.E. of 10 to 12 holes.

Fig. 4 Dose-dependent effect of testosterone propionate and/or cyproterone acetate on the wound hole area of the male rat calvaria.

Each column and bar represents the mean $\pm$ S. E. of 10 to 12 holes.

* $P < 0.05$ compared with NC.

+ $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$, +++ $P < 0.001$ compared with C.

For legend see Fig. 2

Fig. 5 Dose-dependent effect of testosterone propionate and/or cyproterone acetate on the femur length of male rat.

Each column and bar represents the mean $\pm$ S. E. of 5 or 6 animals.

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with NC.

+ $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$ compared with C.

△△△ $P < 0.01$ compared with TP.

For legend see Fig. 2

Fig. 6 Effects of testosterone propionate and/or cypoterone acetate on calcium contents in the wound portion and non-wound portion of calvaria of male rats
Each column and bar represents the mean $\pm$ S. E. of 5 or 6 animals.
+ $P < 0.05$ compared with C.
For legend see Fig. 2

た。

CPA 投与群では長径の増加は認められず、TP と CPA を併用した群では有意に TP の長径増加作用を抑制した。

4. 頭頂骨の Ca 量におよぼす影響

TP 2 mg/kg および CPA 20 mg/kg の各単独および併用 2 週間連続皮下投与を行った後、非創傷部頭頂骨と創傷孔を含めた創傷部の頭頂骨の Ca 量を測定した結果は、Fig. 6 に示したとおりである。創傷部頭頂骨の Ca 量は非創傷部に比べいずれの群でも増加していた。そして、睾丸除去により創傷部の Ca 量は減少傾向を示し、TP 投与によって有意にこの減少は抑制された。CPA の単独投与では睾丸除去群との間に有意の差はなかった。TP と CPA とを併用すると有意ではなかったものの TP の作用に拮抗傾向を示した。この傾向は非創傷部頭頂骨でもみられたが、明瞭ではなかった。

5. 頭頂骨の HP 量におよぼす影響

TP 2 mg/kg および CPA 20 mg/kg の各単独および併用 2 週間連続皮下投与を行った後、非創傷部頭頂骨と創傷孔を含めた創傷部の頭頂骨の HP

量を測定した結果は、Fig. 7 に示したとおりである。創傷部と非創傷部頭頂骨との間に Ca でみられたような明瞭な差は認められなかった。創傷部頭頂骨の HP 量は睾丸除去により有意に減少し、TP 投与によりこの減少は抑制された。CPA の単独投与は睾丸除去群と同程度の値を示し、TP と CPA との併用で CPA は TP の作用に有意に拮抗した。この傾向は非創傷部頭頂骨でもみられたが、創傷部頭頂骨ほど明瞭ではなかった。

6. TP 感受性臓器重量におよぼす影響

TP 2 mg/kg および CPA 20 mg/kg の各単独および併用 2 週間連続皮下投与を行った後、TP 感受性臓器重量である前立腺、精囊および肛門挙筋の相対臓器重量を測定した結果は、Fig. 8 に示したとおりである。いずれの相対臓器重量も睾丸除去による減少、TP による増加、CPA の TP に対する拮抗作用が有意に観察された。

考察および結論

男性ホルモンおよびその誘導体である種々のタンパク同化ステロイドが、骨折や抜歯後の治癒を促進することが種々の実験で認められているが、

Fig. 7 Effects of testosterone propionate and/or cyproterone acetate on hydroxyproline contents in the wound portion and non-wound portion of calvaria of male rats

Each column and bar represents the mean $\pm$ S. E. of 5 or 6 animals.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ compared with NC.

† $P < 0.01$ compared with C.

ΔΔ $P < 0.01$ compared with TP.

For legend see Fig. 2

Fig. 8 Effects of testosterone propionate and/or cyproterone acetate on various organ weights in male rats.

Each column and bar represents the mean $\pm$ S. E. of 5 or 6 animals.

* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ compared with NC.

† $P < 0.05$, †† $P < 0.01$, ††† $P < 0.001$ compared with C.

ΔΔΔ $P < 0.01$, ΔΔΔΔ $P < 0.001$ compared with TP.

ΔΔΔΔΔ $P < 0.05$, ΔΔΔΔΔΔ $P < 0.001$ compared with CPA.

For legend see Fig. 2

これに反する結果も報告されている^{21,22)}。このような意見の食い違いは、骨折や抜歯など結果の判定が難しいものが研究の対象になっていることに加えて、内因性ホルモンの影響が実験成績をより複雑なものにしていると考えられる。そこで今回は睾丸除去ラットを用い、また一定サイズの骨創傷が得られる頭頂骨創傷孔を用いて実験を行ったわけである。その結果、アンドロゲンの睾丸における合成・分泌が上昇する以前の3週齢で幼若ラットの睾丸除去を施すことによって、頭頂骨創傷孔面積の縮小遅延、すなわち骨創傷治癒の遅延が観察され、また、体重増加の抑制、大腿骨長径の成長の遅延も観察された。このことは、骨の発育と再生に対する内因性アンドロゲンの重要性を示唆する。男子性腺機能不全患者で骨粗鬆症がおこり⁷⁻¹⁰⁾、また、骨形成能が低下している^{7,8)}という最近の報告も骨の形成と維持にアンドロゲンが関与していることを示している。

睾丸除去ラットに2週間 TP 投与を行った結果、用量依存的な創傷孔面積の縮小促進がみられたことや体重の用量依存的増加、大腿骨長径の成長の促進作用などがみられたことから、発育期における骨の発育と再生に男性ホルモンがやはり重要な役割を果たしていることが考えられる。

骨の主要成分である Ca 量および HP 量を、TP 2mg/kg 2週間投与実験の創傷部および非創傷部頭頂骨において測定した結果でも、創傷部頭頂骨で睾丸除去を施したラットの Ca 量の減少がみられ、TP 投与により、この減少の抑制がみられた。この際、非創傷部と創傷部の Ca 量に相違がみられ、各群とも創傷部の Ca 量は非創傷部より多かったが、今回の実験では創傷孔を含めたその周辺の骨組成について Ca 量、HP 量を測定しており、創傷孔周辺の骨に広範囲な反応性の過石灰化現象がおこっているための結果と考えられる。このことは軟X線写真像でも創傷孔周辺部の過石灰化像が観察されることからうかがえる。非創傷部頭頂骨でも TP 投与による Ca 量の増加傾向がみられたが、創傷部より弱かったことから骨の創傷からの再生・再石灰化に男性ホルモンが促進的に作用し、その作用が睾丸除去動物に男性ホルモンを投与することによって明瞭になると

考えられる。同様の睾丸除去と TP 投与の効果は骨基質の構成成分として重要な HP 量でも観察された。

そこでこの結果をふまえて、TP の治癒促進のメカニズム解明のひとつとして男性ホルモンの特異的拮抗薬である CPA との関係を検討した。その結果、CPA の単独投与実験では TP よりも高用量で TP よりも弱いと同様の創傷孔面積縮小促進効果が得られた。このような弱い TP 様作用については、CPA に男性ホルモン様作用と抗男性ホルモン作用の両作用があることがマウスの腎¹⁷⁾や顎下腺¹⁸⁾で認められており、この男性ホルモン様作用は睾丸除去動物に CPA を大量投与することによりあらわれ¹⁷⁾、一方抗男性ホルモン作用は男性ホルモン存在下でみられ、睾丸除去動物に男性ホルモンを投与することにより明瞭にあらわれることが知られている¹⁷⁾。つまり CPA は男性ホルモンの agonist/antagonist (partial antagonist) として働いていると考えられる。

今回の実験でも TP と CPA を併用した群では TP の骨創傷治癒促進作用が CPA により抑制される傾向を示し、TP の体重増加作用は CPA により拮抗し、TP の大腿骨長径の促進は CPA により拮抗される結果がそれぞれ認められた。また、TP の頭頂骨創傷部 HP 量および Ca 量増加作用は CPA による拮抗ないし拮抗傾向がみられ、非創傷部頭頂骨でも同様の傾向がみられたが非創傷部よりも弱かった。一方、男性ホルモンの標的臓器である前立腺、精囊および肛門挙筋においては、いずれも明らかに強力な拮抗作用が認められた。

男性ホルモンが創傷部からの骨の再生および発育に対して、直接作用しているかどうかについては、従来から骨には男性ホルモンの受容体は存在せず間接的に作用していると考えられてきた。Raiz and Kream^{23,24)} は、男性ホルモンの骨に対する作用の一部は筋に対する同化作用を介していると考えている。ところが、筋にも男性ホルモンの受容体が認められず²⁵⁾、ラットの骨格筋を用いた実験から種々の男性ホルモンがグルココルチコイド受容体と競合的に結合することが認められていることから、男性ホルモンの筋でのタンパク同化作用の一部は、グルココルチコイドの異化作用

に対する受容体レベルでの拮抗によると考えられている²⁶⁾。骨にもグルココルチコイドの受容体があることから同様のことが骨でもおこる可能性があり、前回の実験²¹⁾でもそれを示唆する結果が得られている。これらのことから、今回の実験で、骨の発育と再生における TP の作用は直接受容体に対する作用ではなく、むしろ男性ホルモンの受容体を介さない二次的な作用が関与していると思われる。しかし、最近骨に男性ホルモンの受容体

が存在する²⁶⁾との報告がなされたことから男性ホルモンが直接骨の発育と再生に作用する可能性も残されている。

以上のように、睾丸除去により骨創傷治癒および発育が遅延し、TP により促進され、CPA により拮抗傾向を示したことは、骨の形成と再生に対し男性ホルモンが促進的に働いている可能性を示唆しているものと考えられる。

抄録：発育中のラットの実験的骨創傷の治癒と発育に対する testosterone propionate (TP) の影響と TP に対する cyproterone acetate (CPA) の拮抗作用を検討した。ラットの睾丸を3週齢で除去し、1週間後に頭頂骨に創傷孔を形成し、TP (1, 2, 5mg/kg) および CPA (5, 10, 20, 40mg/kg) の単独または併用 (TP 1mg/kg+CPA 10mg/kg, TP 2mg/kg+CPA 20mg/kg) 2週間皮下投与を行い、体重、頭頂骨創傷孔面積、大腿骨長径および臓器重量を測定した。また、TP 2mg/kg および CPA 20mg/kg の単独・併用投与についてはさらに calcium (Ca) 量、hydroxyproline (HP) 量を測定した。その結果、1) 睾丸除去群は非除去群に比較して有意に体重が減少し、TP 投与群では用量依存的な体重の増加がみられ、CPA 投与群では10, 20, 40mg/kg で逆に有意の減少がみられた。TP+CPA の併用投与群では CPA は TP の作用に拮抗した。2) 骨創傷孔面積の縮小は睾丸除去後、非除去群に比べて有意に遅延し、TP 投与は創傷孔面積の縮小を用量依存的に促進し、睾丸除去による創傷治癒遅延を有意に抑制した。3) TP の競合拮抗薬である CPA の単独投与は高用量で創傷孔面積縮小促進が有意にみられた。TP との併用により CPA は TP の抑制作用に拮抗傾向を示し、睾丸除去群の値に近づく。4) 睾丸除去群は非除去群に比較して有意に大腿骨長径の発育が遅延し、TP 投与群では長径の発育の促進がみられ、特に2および5mg/kg で著しかった。TP+CPA の併用投与群では CPA は TP の作用に拮抗した。5) 頭頂骨創傷部の HP 量は睾丸除去により有意に減少し、TP 投与によりこの減少は抑制され、CPA は TP の作用に拮抗した。同様の傾向は Ca 量および頭頂骨非創傷部の HP 量および Ca 量でもみられたが、創傷部 HP 量の変化ほど明瞭ではなかった。6) 前立腺、精囊、肛門挙筋のいずれの相対湿重量も睾丸除去による減少、TP による増加、CPA の TP に対する拮抗作用が明瞭に認められた。以上のことから、骨創傷治癒および発育に TP は促進的に働き、CPA は agonist-antagonist としての作用をもつことが示唆された。

引用文献

- 1) McCullagh, E. P. and Magurl, F. J.: The effects of testosterone propionate on epiphyseal closure, sodium and chloride balance and on sperm counts. *Endocrinology* **26**: 337-384, 1940.
- 2) Sobel, E. H., Raymond, C. S., Quinn, K. V. and Talbot, N. B.: The use of methyltestosterone to stimulate growth: Relative influence on skeletal maturation and linear growth. *J. Clin. Endocrinol.* **16**: 241-248, 1956.
- 3) Joss, E. E., Zuppinger, K. A. and Sobel, E. H.: Effects of testosterone propionate and methyl testosterone on growth and skeletal maturation in rats. *Endocrinology* **72**: 123-130, 1963.
- 4) Exner, G. U., Prader, A., Elsasser, U. and Anliker, M.: Effects of high dose oestrogen and testosterone treatment in adolescents upon trabecular and compact bone measured by ¹²⁵I computed tomography. A preliminary study. *Acta Endocrinol.* **94**: 126-131, 1980.
- 5) Stern, P. H.: Inhibition by steroids of parathyroid hormone-induced Ca⁴⁵ release from embryonic rat bone *in vitro*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **168**: 211-217, 1969.
- 6) Atkins, D. and Peacock, M.: A comparison of the effects of the calcitonins, steroid hormones and thyroid hormones on the response of bone to parathyroid hormone in tissue culture. *J. Endocrinol.* **64**: 573-583, 1980.

- 1975.
- 7) Baran, D. T., Bergfeld, M. A., Teitelbaum, S. L. and Avioli, L. V.: Effect of testosterone therapy on bone formation in an osteoporotic hypogonadal male. *Calcif. Tissue Res.*, **26**: 103-106, 1978.
- 8) Nordin, B. E. C., Marshall, D. H., Francis, R. M. and Crilly, R. G.: The effects of sex steroid and corticosteroid hormones on bone. *J. Steroid Biochem.* **15**: 171-174, 1981.
- 9) 久保田龍二, 北島 勲, 宇根文穂, 井形昭弘, 吉川靖三: 思春期に発症した male hypogonadal osteoporosis の一例. *日骨代謝誌* **5**(抄): 78, 1987.
- 10) 田中祐司, 福本誠二, 松本俊夫, 尾形悦郎: 男子性腺機能不全症に伴う骨粗鬆症に対する androgen 補充療法の QCT による評価. *日骨代謝誌* **5**(抄): 105, 1987.
- 11) Raisz, L. G., Trummel, C. L., Wener, J. A. and Simmons, H.: Effects of glucocorticoids on bone resorption in tissue culture. *Endocrinology* **90**: 961-967, 1972.
- 12) Caputo, C. B., Meadows, D. and Raisz, L. G.: Failure of estrogens and androgens to inhibit bone resorption in tissue culture. *Endocrinology* **98**: 1065-1068, 1976.
- 13) Canalis, E. and Raisz, L. G.: Effect of sex steroids on bone collagen synthesis in vitro. *Calcif. Tissue Res.*, **25**: 105-110, 1978.
- 14) Kowalewski, K.: Catabolic effect of dihydrotestosterone and anabolic action of 17-ethyl-19-nortestosterone on the uptake of radiolabelled sulphur in a healing fractured bone of the rat. *Acta Endocrinol.* **28**: 119-123, 1958.
- 15) Kolar, J., Babicky, A., Vyhnanek, L. and Janek, J.: Effect of androgenic steroids on the formation of skeletal matrix in rats with fractured bone. *Nature* **206**: 941-942, 1965.
- 16) Pirk, F. W., Elattar, T. M. A. and Roth, G. D.: Effect of analogues of steroid and thyroxine hormones on wound healing in hamsters. *J. Periodont. Res.* **9**: 290-297, 1974.
- 17) Mowszowicz, I., Bieber, D. E., Chung, K. W., Bullock, L. P., and Bardin, C. W.: Synandrogenic and antiandrogenic effect of progestins: Comparison with nonprogestational antiandrogens. *Endocrinology* **95**: 1589-1599, 1974.
- 18) Bullock, L.P., Barthe, P. L., Mowszowicz, I., Orth, D. N., and Bardin, C. W.: The effect of progestins on submaxillary gland epidermal growth factor: Demonstration of androgenic, synandrogenic and antiandrogenic action. *Endocrinology* **97**: 189-195, 1975.
- 19) 陳 健男, 丸山七朗, 山口洋二, 住友律夫, 市川典彦, 佐藤精一: Cyproterone Acetate の睾丸及び睾丸・副腎両除去マウス顎下腺に及ぼす影響. *城歯大紀要* **6**: 135-140, 1977.
- 20) Woessner, J. F. Jr.: The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch. Biochem. Biophys.* **93**: 440-447, 1961.
- 21) 金 陸, 西村 享, 梁 瑞峰: Dexamethasone の骨の発育および骨創傷治療抑制作用に対する各種 Steroid hormone の影響. *明海歯学誌*, **17**: 385-410, 1988.
- 22) Rubinstein, H. S. and Solomon, M. L.: The growth depressing effect of large doses of testosterone propionate in the castrate albino rat. *Endocrinology* **28**: 112-114, 1941.
- 23) Raisz, L. G. and Kream, B. E.: Regulation of bone formation. *New Engl. J. Med.* **309**: 83-89, 1983.
- 24) Raisz, L. G. and Kream, B. E.: Hormonal control of skeletal growth. *Ann. Rev. Physiol.* **43**: 225-238, 1981.
- 25) Mayer, M. and Rosen, F.: Interaction of anabolic steroids with glucocorticoid receptor sites in rat muscle cytosol. *Am. J. Physiol.* **229**: 1381-1386, 1975.
- 26) Colvard, D. S., Eriksen, E. F., Keeting, P. E., Wilson, E. M., Lubahn, D. B., French, F. S., Riggs, B. L. and Spelsberg, T. C.: Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **86**: 854-857, 1989.