九州歯会誌 43(5):778~801, 1989.

成長期顎骨の実験的骨粗鬆症に対する 高カルシウム食の影響に関する研究

—とくに歯槽骨の変化—

九州歯科大学小児歯科学講座（主任：木村光孝教授）

木村 光孝・西田 郁子・牧 憲司・横本 満
曾我富美雄・尾崎 章寿・古谷 充朗・高橋 宙丈

平成元年8月5日受付

A Study on the Effect of a Calcium-enriched Diet on Experimental Osteoporosis of Mandible at Growth Stage

—Change in the Alveolar Bone in Particular—

Mitsutaka Kimura, Ikuko Nishida, Kenshi Maki, Mitsuru Yokomoto,
Humio Soga, Akitoshi Ozaki, Mitsuaki Huruya and Hirotake Takahashi

Department of Pedodontics (Chief: Prof. Mitsutaka Kimura)
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

Three-week-old male rats of Wistar strain were given a calcium-deficient diet for four weeks and debility of bone was induced. These rats were then maintained with the diet changed to a calcium-enriched diet containing a large quantity of calcium, and the effect of the diet on the alveolar bone at growth stage was investigated.

The results were as follows:

1. Both the control and experimental groups showed increase in body weight with elapse of the experiment days. No significant difference was found between the two groups.
2. Radiological and light microscopic findings showed that the experimental group showed thinner trabeculae and lower bone density of the alveolar bone than the control group. Densitometric curves however showed stable patterns.
3. Photodensitometric findings showed higher bone density of the alveolar bone for the control group than for the experimental group.
4. Histopathological findings showed decrease in CMR images of the alveolar bone and general tissue findings showed decrease in bone marrow with elapse of the experimental days for the control and experimental groups. Osseous layers became dense in both groups. The experimental groups showed more Haversian canals than the control group and decrease in bone lacunae.

Scanning electron observation showed calcified matrix in bone formation surfaces mor-

phologically and dense networks of collagen fibrills internally.

5. Hemological findings showed no abnormal findings. On the basis of the foregoing findings, intake of a calcium-enriched diet promoted the formation of bone tissue in debilitative alveolar bones. Construction of bone tissue however was delayed in the experimental group as compared with the control group.

Key words : *Mandible at growth stage/Osteoporosis/Calcium-enriched diet/Alveolar bone/Wistar rat*

緒 言

カルシウムは人体の構成成分の中で、有機物を構成する CNHO について多く存在する元素であり、無機物質の中では最も多いものである。人体のカルシウムの99%が骨と歯に存在することはよく知られた事実であるが、量的には少なくとも、その他の各種組織にも広く体の各部分に分布している¹⁾。骨組織はコラーゲンを主体とする有機質に、カルシウムやリンを主体とする無機質が沈着したものである。カルシウムの吸収を左右する因子は色々指摘されているが、そのほとんどが生体側の受け入れ態勢と蛋白質、アミノ酸、カルシウム含有水準およびカルシウムとリンとの比率などの供給する食物側の状態に分けることができる²⁾。

したがって蛋白質が不足すると、コラーゲン合成のために必要なアミノ酸の供給が不足し、カルシウムやリンが不足すれば石灰化に障害を引き起こすことになる。しかし実際には、普通食物を摂取している限り、リンの不足はほとんど起こらず、骨組織の栄養素としては蛋白質とカルシウムが中心となる³⁾。このうちとくに骨形成の栄養素としては、主にカルシウムの摂取不足または吸収不足が論じられている³⁻⁷⁾。成長期骨組織の骨粗鬆症の発生機序の1つとして、カルシウムの摂取不足が報告され、血中カルシウムの低下とこれに伴う虚弱骨組織の形成が観察されている^{8,9)}。これらの事実を基にして、成長期におけるカルシウムの摂取は重要な栄養指導であることはいうまでもない。

我が国で最も漁獲量の多いイワシをカルシウム源として、成長期骨組織の形成に促進効果があることは、すでに木村ら(1987)⁶⁾の報告によって実証されている。また、教室の住本(1986)¹⁰⁾、篠崎(1987)¹¹⁾らはカルシウム摂取不足によって骨粗鬆症を惹起させ、その治療法にはバランスのとれたカルシウムの補給が重要であることを実証している。

そこで今回著者らは、カルシウム摂取不足によって骨

虚弱状態に陥った歯槽骨を改善する目的でカルシウム含有量が高く、しかも良質の蛋白質、エイコサペニタニン酸などの栄養素を含み最も吸収率のよいイワシパウダーを利用し、検索を行ったので報告する。

実験材料ならびに方法

実験材料は生後3週齢の Wistar 系雄ラットを用い、体重は40g 前後のものを30匹使用した。対照群はオリエンタル酵母のB食変型カルシウム欠乏食飼料と蒸留水で4週間飼育後オリエンタル酵母のラット標準固型飼料と水道水に変え飼育した。実験群はオリエンタル酵母のB食変型カルシウム欠乏食飼料と蒸留水で4週間飼育後、蛋白質源開発社製イワシパウダーとオリエンタル酵母のラット標準固型飼料(1:2)の混合飼料と水道水に変え飼育した。

飼育後5週目、6週目、7週目にそれぞれ大腿動脈より放血し、採血しながら致死させた。致死後直ちに頭部を採取し、10%中性ホルマリン液にて固定した。

固定後の頭部を正中で左右に分離し、softex type のCSM を用いて管電圧35kVp、管電流5mA、撮影時間60秒および焦点・皮膚間距離70cmの条件下で軟X線撮影を行った。また、撮影に際しては軟X線フィルム(Fuji Softex FG)にアルミニウム・スロープを貼って撮影した。

さらにX線学的観察は、肉眼的観察以外にさくらミクロフォトメーター PDS-15を用いて光学的観察を行った。濃度測定は光速スリット幅10×500μmで行い、測定方向は石井(1984)¹²⁾の方法に準じて、下顎骨下縁より歯槽骨へ走査し scanning pattern を描出した。その後エネルギー分散型X線マイクロアナライザー(セイコー EG & G, SED800)を用いて、歯槽骨におけるCaおよびPの分布状態を面分析ならびに点分析による定量分析を行った。

次に顎骨をアルコール系列にて脱水し、Rigolac に包埋し、前額断で60~80μmの非脱灰切断標本を作製した。

切断標本は Softex type の CSM を用い、管電圧20 kVp, 管電流 5 mA, 撮影時間16分, 焦点・フィルム間距離 30cm の条件下で撮影した。フィルムは Kodak 社製 Spectroscopic plate Type 649-0 を用い、現像液は Kodak の D-15 で現像を行い、microradiogram を作製した。

さらに顎骨は 5%硝酸脱灰し、セロイジン包埋後、顎骨を前顎断で 15 μ m 連続切片標本とし、ヘマトキシリン・エオジン重染色を施して鏡見した。

なお一部の標本は歯槽骨を形態的に観察するため走査電顕試料とした。歯槽骨を切断し pH7.2 の phosphate buffer に浸し、超音波洗浄器にて洗浄した。電顕試料は 2.5% glutaraldehyde で 1 時間浸漬固定後、phosphate buffer にて洗浄を行い、1% の osmic acid (phosphate buffer pH=7.2) に 4°C で 1~2 時間浸漬し後固定とした。固定後の試料は 8~10% の次亜塩素酸ナトリウムを用いて、流水下にて洗浄した。アルコール系列にて脱水し、isoamyl acetate を経て、臨界点乾燥を行った。試料は Electric Conductive-Dotite paint D-550 にて付着し、Au coating を施した。また撮影は日本電子製 JSM T-300 により行い、詳細に観察した。

血液検査は血清中の Ca, IP, Ca/2p, Na, K, Cl などの電解質, CPK, LDH, AL-P, GOT, GPT などの生化学および N-PTH, C-PTH, CT などの内分泌機能検査を行った。

実験結果

1. 体重

実験開始時、体重は全て 40g 前後であったものが、対照群、実験群ともに日数経過とともに増加し、実験後 5 週目に対照群は 161.55g, 実験群は 154.88g である。実験後 6 週目には、対照群は 221.79g, 実験群は 213.92g と増加している。さらに実験後 7 週目経過すると対照群は 269.08g, 実験群は 255.63g と増加傾向になる。このように両群の体重の平均値の変化をみると、カルシウム欠乏食飼料からラット標準固型飼料および混合食飼料に変えることによって体重が急速に増加している。各週における対照群と実験群の平均値の差の検定を行ったところ、両群の間に有意差が認められなかった(表 1)。

2. X線学的ならびに光学的所見

1) 実験後 5 週目

対照群の歯槽骨は、骨梁が整然とした配列を呈しており、ほぼ一定の厚さをもって切歯の表面を被っている

表 1 対照群と実験群における体重変化

(g)

実験日数	対 照 群		実 験 群	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.
実験開始時	41.52	2.30	42.27	2.38
1 週	72.67	5.70	74.05	5.79
2 週	85.61	7.32	81.75	6.60
3 週	89.09	9.37	85.30	8.64
4 週	93.05	9.24	90.08	8.59
5 週	161.55	13.93	154.88	17.00
6 週	221.79	16.96	213.92	23.95
7 週	269.08	18.69	255.63	21.69

* $p < 0.01$

** $p < 0.05$

(写真 1)。実験群の歯槽骨は厚さはほぼ同じであるが対照群の歯槽骨と比べ、骨梁はやや細くなっている(写真 2)。対照群の microphotogram における歯槽骨を示す濃度曲線(矢印)は、骨梁の配列状態が凹凸の少ない patternn として描出されている(図 1)。実験群の microphotogram における歯槽骨を示す濃度曲線(矢印)は、対照群のものと比べ安定した patternn を呈しているが濃度曲線はやや低下している(図 2)。

2) 実験後 6 週目

対照群の歯槽骨は 5 週目の対照群に比べ厚さを増し、骨梁も増え緻密に配列している(写真 3)。実験群の歯

写真 1 下顎骨の X 線写真
対照群, 5 週目
矢印: 歯槽骨

写真2 下顎骨のX線写真
実験群, 5週目
矢印: 歯槽骨

図2 写真2のMicrophotogram
矢印: 歯槽骨

図1 写真1のMicrophotogram
矢印: 歯槽骨

写真3 下顎骨のX線写真
対照群, 6週目
矢印: 歯槽骨

槽骨においても, 5週目の実験群に比べ厚さは増加し, 骨梁も多く, 厚さを増しているが細く疎に配列している(写真4)。

対照群の microphotogram における歯槽骨を示す濃度曲線(矢印)は, 5週目の対照群に比べ, 骨梁の配列が凹凸になり高い濃度曲線として描出されている(図3)。実験群の microphotogram における歯槽骨を示す濃度曲線(矢印)は, 5週目の実験群に比べ凹凸になって高い濃度曲線を呈している。また6週目の対照群に比べ, さらに全体的に低い濃度曲線として描出されている(図4)。

3) 実験後7週目

対照群の歯槽骨は6週目の対照群に比べ急速に厚さを

写真4 下顎骨のX線写真
実験群, 6週目
矢印: 歯槽骨

図3 写真3の Microphotogram
矢印：歯槽骨

図4 写真4の Microphotogram
矢印：歯槽骨

増し、骨梁が緻密に配列している（写真5）。実験群の歯槽骨においても、6週目に比べ厚さを増し、骨梁も緻密に配列しているが、7週目の対照群に比べ骨梁は全般的に細く、その厚さは薄い（写真6）。

対照群の microphotogram における歯槽骨を示す濃度曲線（矢印）は、6週目の対照群に比べ凹凸が激しくなり、高い濃度曲線として描出されている（図5）。実験群の microphotogram における歯槽骨を示す濃度曲線（矢印）は、6週目の実験群に比べさらに安定し、高

写真5 下顎骨のX線写真
対照群，7週目
矢印：歯槽骨

写真6 下顎骨のX線写真
実験群，7週目
矢印：歯槽骨

図5 写真5の Microphotogram
矢印：歯槽骨

図6 写真6の Microphotogram
矢印：歯槽骨

い濃度曲線として認められる (図6)。

3. 写真濃度所見

対照群と実験群のX線写真における歯槽骨の骨濃度をAl当量に換算した厚さを求めた。実験後5週目における歯槽骨の対照群の平均値は1.15mm, 実験群の歯槽骨は1.09mmである。実験後6週目に至ると, 対照群の歯槽骨は1.34mmと厚さを増し, 実験群の歯槽骨は1.22mmとなり, 対照群と実験群の平均値の差の検定を行ったところ, 5%の危険率で対照群の骨濃度が有意に高値であった。実験後7週目に至ると, 対照群の歯槽骨は1.62mm, 実験群の歯槽骨は1.48mmとなり, ともに急速に増加傾向を示している。対照群と実験群の平均値の差の検定を行ったところ, 1%の危険率で対照群の骨濃度が有意に高値であった (表2)。

表2 対照群と実験群における歯槽骨骨濃度変化
(mm)

実験日数	群別	対 照 群		実 験 群	
		Mean	S.D.	Mean	S.D.
5 週		1.15	0.25	1.09	0.06
6 週		1.34	0.09	1.22*	0.12
7 週		1.62	0.09	1.48**	0.13

**p<0.01

* p<0.05

4. X線マイクロアナライザーによる分析所見

1) 実験後5週目

対照群, 実験群の歯槽骨は, X線マイクロアナライザーによる分析結果はCaはPに比べつねに高いピークを示している (図7 a, b)。

2) 実験後6週目

対照群, 実験群の歯槽骨は, X線マイクロアナライザーによる分析結果はCaはPに比べつねに高いピークを示している (図7 c, d)。

3) 実験後7週目

対照群, 実験群の歯槽骨は, X線マイクロアナライザーによる分析結果はCaはPに比べつねに高いピークを示している (図7 e, f)。

次に面分析について実験後6週目と7週目のCa, Pの濃度を調べた。実験後6週目の対照群Caの特性X線像は同一骨梁の範囲内で見るとPに比べ濃度が高い (写真7 a, b, c)。実験群についてもCa特性X線像はPに比べ濃度が高い (写真8 a, b, c)。実験後7週目のCa, Pの濃度は6週目と同様の所見が認められる。 (写真9 a, b, c, 写真10 a, b, c)。

次にX線マイクロアナライザーにおけるCaとPの点分析による定量分析を行うと, 各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ, 実験6週目においてはCaは1%危険率で両群の間に有意差が認められ, 実験群が低値であった (表3)。また実験後7週目においてはPは5%の危険率で両群の間に有意差が認められ, 実験群が低値であった (表3)。

しかし, この値だけでCa, Pのそれぞれの増減を判断することはできないので, コントロールと比較した相対Ca量比 ($\text{Ca}/[\text{Ca}]_c$) およびP量比 ($\text{P}/[\text{P}]_c$) を求めた。その結果は表4に示している通りである。各週における ($\text{Ca}/[\text{Ca}]_c$) は5週目, 6週目, 7週目のすべてにおいて対照群に比べ実験群が低い値を示した。また ($\text{P}/[\text{P}]_c$) は6週目において対照群に比べ実験群が高い値を示した。

5. 病理組織学的所見

1) Contact microradiogram (以下, CMR と略す) の所見

i) 実験後5週目

対照群の歯槽骨CMR像では大小の骨髓がみられ, さらにハバース管の周囲には骨小腔が点在している。石灰化度も高くみられる (写真11)。対照群の歯槽骨と比べ, 実験群の骨量はやや少なく, ハバース管と点在している骨小腔も減少している (写真12)。

図7 X線マイクロアナライザーによるCaおよびPの分析

- a : 対照群, 実験後5週目
- b : 実験群, 実験後5週目
- c : 対照群, 実験後6週目
- d : 実験群, 実験後6週目
- e : 対照群, 実験後7週目
- f : 実験群, 実験後7週目

写真7 歯槽骨における Ca, P の特性 X 線像
(同一骨梁内) 対照群, 実験後 6 週目
a : 歯槽骨
b : Ca 特性 X 線像
c : P 特性 X 線像

写真8 歯槽骨における Ca, P の特性 X 線像
(同一骨梁内) 実験群, 実験後 6 週目
a : 歯槽骨
b : Ca 特性 X 線像
c : P 特性 X 線像

写真9 歯槽骨における Ca, P の特性 X 線像
 (同一骨梁内) 対照群, 実験後 7 週目
 a : 歯槽骨
 b : Ca 特性 X 線像
 c : P 特性 X 線像

写真10 歯槽骨における Ca, P の特性 X 線像
 (同一骨梁内) 実験群, 実験後 7 週目
 a : 歯槽骨
 b : Ca 特性 X 線像
 c : P 特性 X 線像

表3 X線マイクロアナライザーによる Ca および P の分析 (%)

週		対 照 群		実 験 群	
		Mean	S.D.	Mean	S.D.
5 週	Ca	12.72	0.70	12.20	2.21
	P	8.99	0.73	8.48	3.34
6 週	Ca	14.90**	0.57	11.61	0.13
	P	8.47	0.67	8.85	0.99
7 週	Ca	15.29	0.40	14.66	0.64
	P	14.91*	1.39	11.47	0.96

**p<0.01

*p<0.05

表4 X線マイクロアナライザーによる Ca および P の相対比

週	群	相 対 比	
		Ca/[Ca] _c	P/[P] _c
5 週	対 照 群	1	1
	実 験 群	0.96	0.94
6 週	対 照 群	1.28	0.96
	実 験 群	1	1
7 週	対 照 群	1.04	1.30
	実 験 群	1	1

写真12 歯槽骨の contact microradiogram 実験群, 5週目 ×20

ii) 実験後6週目

対照群歯槽骨の CMR 像は, 5 週目の対照群と比べ緻密となり, ハバース管周囲の骨小腔は増加し, 石灰化度は高い(写真13). 実験群の歯槽骨 CMR 像においても, 5 週目の実験群に比べ厚さを増し, さらに6 週目の対照

写真13 歯槽骨の contact microradiogram 対照群, 6週目 ×20

写真11 歯槽骨の contact microradiogram 対照群, 5週目 ×20

写真14 歯槽骨の contact microradiogram 実験群, 6週目 ×20

群と比べハバース管周囲の骨小腔は減少している(写真14)。

iii) 実験後7週目

対照群の歯槽骨 CMR 像は、6週目の対照群と比べ厚さを増し緻密となり、ハバース管と骨小腔も増加し石灰化度も高い(写真15)。実験群の歯槽骨 CMR 像においては、6週目の実験群に比べ骨層は緻密となり、骨小腔も増加し、7週目の対照群に比べハバース管は多く石灰化度は低い(写真16)。

写真15 歯槽骨の contact microradiogram 対照群, 7週目 ×20

写真16 歯槽骨の contact microradiogram 実験群, 7週目 ×20

2) 一般組織所見

i) 実験後5週目

対照群の第一臼歯前方3mmの部の歯槽骨前額断組織像においては、歯根膜のシャープ線維束で柵状に貫かれている部分はハバース管はほとんどなく骨小腔が歯槽面に平行に並んでいる。大小数個の骨髄を囲む部分は骨小腔がハバース管を中心にして同心性に配列している(写真17)。

写真17 歯槽骨
対照群, 5週目 (H・E染色 ×20)

走査電顕で観察すると、骨形成面は石灰化した大小の顆粒状構造物が密に集合し融合した所見が認められる。また浅い間隙部にはコラーゲン原線維網が交錯、吻合しその部には石灰化した細顆粒状構造物が沈着している(写真18, 19)。

対照群の歯槽骨と比べ実験群はハバース管が多く、ハバース管を中心に同心性に配列している骨小腔はやや疎になって配列している(写真20)。走査電顕で観察すると、対照群とほぼ同様な所見を呈しているが、骨形成面には石灰化した細顆粒状構造物に隣接して石灰化した無構造物が散在している。骨形成面の内部にはコラーゲン原線維網が密に存在している(写真21, 22)。

ii) 実験後6週目

対照群の歯槽骨前額断組織像は5週目に比べ骨梁は増加し、骨髄は減少している。ハバース管を中心に同心性に配列している骨小腔と歯槽面に平行に配列している骨小腔が増加している(写真23)。走査電顕で観察すると、骨形成面は石灰化した基質と粗な線維束がみられ、骨小腔の底部にはコラーゲン原線維束が認められ、その部に微細顆粒が散在し付着している所見を呈している(写真24, 25)。実験群の歯槽骨は5週目に比べ骨髄は減少し、骨層は緻密になっている。また6週目の対照群に比べ、ハバース管は多く、骨小腔は比較的減少している(写真26)。走査電顕で観察すると、骨形成面では石灰化した基質は緻密となり、その間隙部はコラーゲン原線維網と微細顆粒によって満たされている(写真27, 28)。

写真18 歯槽骨
対照群, 5 週目 (SEM $\times 2,000$)

写真19 歯槽骨
写真18の一部拡大像 (SEM $\times 5,000$)

写真20 歯槽骨
実験群, 5週目 (H・E 染色 ×20)

写真21 歯槽骨
実験群, 5週目 (SEM ×2,000)

写真22 歯槽骨
実験群, 5 週目 (SEM $\times 2,000$)

写真23 歯槽骨
対照群, 6 週目 (H・E 染色 $\times 20$)

写真24 歯槽骨
対照群, 6週目 (SEM $\times 2,000$)

写真25 歯槽骨
対照群, 6週目 (SEM $\times 10,000$)

写真26 歯槽骨
実験群, 6 週目 (H・E 染色 ×20)

写真27 歯槽骨
実験群, 6 週目 (SEM ×1,000)

写真28 歯槽骨
実験群, 6週目 (SEM $\times 5,000$)

iii) 実験後7週目

対照群の歯槽骨は, 6週目に比べさらに厚くなり, 緻密さを増している. 骨小腔はさらに増加している (写真29). 走査電顕で観察すると, 骨形成面は石灰化した顆粒状構造物と無構造物としての基質が混在している. 骨基質面にはコラーゲン原線維網が密に交錯し, 走行は不

写真29 歯槽骨
対照群, 7週目 (H・E 染色 $\times 20$)

規則である. 形成途上の骨小腔も認められる (写真30, 31). 実験群の歯槽骨は6週目に比べさらに厚くみられるが, 7週目の対照群に比べ, ハバース管は多く認められ骨小腔は減少している (写真32). 走査電顕で観察すると, この時期になると歯槽骨の表面は形態的に石灰化した基質が著明にみられる. 骨層表面は全体にわたって平滑面を呈している. 骨層の内部は顆粒状構造物や無構造物が融合し石灰化した基質とし認められ, その部にはコラーゲン原線維は比較的少ない (写真33, 34).

6. 血液学的所見

1) 電解質

i) 血清 Ca

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ, 有意差は認められなかった (表5-1).

ii) 血清 IP

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった (表5-1).

iii) 血清 Ca と血清 IP との比 (Ca/IP)

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった (表5-1).

iv) 血清 Na

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ, 実験後7週目において5%の危険率で両

写真30 歯槽骨
対照群, 7 週目 (SEM $\times 3,500$)

写真31 歯槽骨
対照群, 7 週目 (SEM $\times 7,000$)

写真32 歯槽骨
実験群, 7週目 (H・E染色 ×20)

写真33 歯槽骨
実験群, 7週目 (SEM ×35)

写真34 写真33の一部拡大像
(SEM ×5,000)

表5-1. 対照群および実験群における血液電解質検査値

実 験 日 数	Ca				IP				Ca/IP			
	対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
5 週	8.80	0.34	8.83	0.31	8.50	0.25	8.72	0.30	1.0	0.1	1.0	0.1
6 週	10.08	0.08	10.55	0.67	9.90	0.70	10.30	0.60	1.0	0.1	1.0	0.1
7 週	9.90	0.27	9.77	0.33	9.30	0.55	9.55	0.35	1.1	0.1	1.0	0.1

**p<0.01

*p<0.05

表5-2. 対照群および実験群における血液電解質検査値

実 験 日 数	Na				K				Cl			
	対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
5 週	144.25	0.83	145.25	1.30	7.68	0.79	6.65	0.65	107.75	1.64	109.00	1.22
6 週	145.00	2.00	147.75	1.30	6.20	0.43	6.80	1.12	107.50	0.50	109.50	1.50
7 週	145.25	0.83	146.75*	0.43	5.60	0.49	5.70	0.12	105.75	0.43	106.50	1.12*

**p<0.01

*p<0.05

群の間に有意差が認められ、実験群の方が高値であった（表5—2）。

V) 血清K

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表5—2）。

vi) 血清Cl

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表5—2）。

2) 生化学

i) CPK

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表6—1）。

ii) LDH

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ、実験後6週目において5%の危険率で両群の間に有意差が認められ、実験群の方が低値であった（表6—1）。

iii) AL-P

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表6—1）。

iv) GOT

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表6—2）。

v) GPT

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表6—2）。

3) 内分泌機能検査

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表7）。

i) N-PTH

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表7）。

ii) CT

各週における対照群と実験群との平均値の差の検定を行ったところ有意差は認められなかった（表7）。

表6—1. 対照群および実験群における血液生化学検査値

実 験 日 数	CPK				LDH				AL-P			
	対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	D.S.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
5 週	684.900	720.31	6,076.00	3,103.23	1,574.75	239.79	1,317.25	313.00	374.25	41.76	480.50	113.43
6 週	13,408.50	9,697.16	7,293.50	5,647.87	3,659.25	469.66	2,268.50*	738.55	289.25	41.88	355.00	34.92
7 週	3,436.25	729.16	2,994.00	601.20	1,367.25	265.60	1,389.75	201.27	281.75	42.45	218.00	23.97

** $p < 0.01$

* $p < 0.05$

表6—2. 対照群および実験群における血液生化学検査値

実 験 日 数	GOT				GPT			
	対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
5 週	145.50	24.03	160.75	17.51	38.25	4.97	35.75	8.87
6 週	219.75	68.54	196.50	61.03	59.25	16.13	47.75	9.98
7 週	145.50	24.03	160.75	17.51	38.25	4.97	35.75	8.87

** $p < 0.01$

* $p < 0.05$

表 7 対照群および実験群における内分泌機能検査値

実 験 日 数	C-PTH				N-PTH				CT			
	対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群		対 照 群		実 験 群	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
5 週	6.65	0.46	6.93	0.48	0.03	0.01	0.04	0.01	447.50	57.61	405.00	53.15
6 週	7.43	1.87	8.85	0.47	0.03	0.00	0.06	0.02	502.50	204.62	229.25	163.33
7 週	6.80	1.36	6.73	0.45	0.03	0.00	0.03	0.00	300.00	47.43	345.00	57.23

**p<0.01

*p<0.05

考 察

カルシウムの1日の摂取量は厚生省の栄養所要量の基準によれば、体重1kgについて10mgであり、1日400～700mgが望まないとされているが¹³⁾、諸外国の基準はさらに高く、1日1000mgに達している。日本は世界でも、有数の低カルシウム摂取国であり、これはカルシウムを多く含む牛乳やチーズが日本食となじまないことにもよる¹⁴⁾。また、日本は火山列島のため土壌は酸性であり、そこを流れる水にはカルシウム分が非常に少ない。水にカルシウム分が少なければ、その酸性土壌でできる農作物のカルシウム含有量が少なくなる。そこで国民の栄養状態がいくら向上してもカルシウムを十分摂取しているとはいえない。

木村(1986)⁵⁾、石井(1986)⁸⁾らは離乳直後のラットにカルシウム欠乏食を与えた実験において、歯槽骨と脛骨の成長が停滞し、骨組織は虚弱状態に陥ったと報告している。Hartlesら(1961)¹⁵⁾、Fergusonら(1963)¹⁶⁾はビタミンDのみの欠乏は体重に影響はみられないが、カルシウムのみの欠乏やカルシウム・ビタミンDの欠乏の場合には体重の減少が認められると報告している。このことは骨の形成にとってカルシウムの欠乏は骨組織構築に大きな影響を及ぼすが、ビタミンDのみの欠乏では骨形成にとって大きく関与しているとは思われないが、カルシウムの多寡に左右されるのもであることが考えられる。人体にカルシウムが入る唯一の経路は経口摂取である。住本(1986)¹⁰⁾、篠崎(1987)¹¹⁾らはラットにカルシウム欠乏食を与え、骨の虚弱状態を惹起させ、正常カルシウム量を含む標準食にきりかえた結果、骨の成長と虚弱状態は改善されたが、正常対照群に比べ、総体的には差がみられたと報告している。木村ら(1987)⁶⁾は豊富なカルシウムと良質の蛋白質をもち、し

かも水溶性、不溶性の蛋白質とカルシウムが自然の状態に結合され、カルシウムの吸収率が良いイワシパウダーを離乳直後のラットに与えた結果、正常対照群の骨組織よりも骨形成が促進していることを報告している。そこで、著者らは木村(1987)⁶⁾の報告を基礎として今回成長期のラットにカルシウム欠乏食を与え、骨虚弱状態を惹起させた後、カルシウムの含有量が高い食事療法を行うことによりどの程度まで骨の成長が行われるか検索した。本研究では体重の変化についてみると、対照群と実験群との差はみられなかった。住本(1986)¹⁰⁾、Salomonら(1972)¹⁷⁾のカルシウム欠乏食や低カルシウム食投与後、標準食に変えた実験群においては、実験群のみの体重の増加はみられたが、対照群(実験開始から完了まで標準食で飼育した群)との差がみられたと報告している。このことは過去の研究者の報告と比べ、本研究ではイワシパウダー混合食による高カルシウム食で、カルシウム含有量の多い食事療法を行った結果、骨梁が促進されていることを示唆している。

木村ら(1987)⁶⁾の標準食とイワシパウダー混合食を正常ラットに投与した実験においては、実験群の歯槽骨はX線学的ならびに光学的所見では、実験群8週目に骨濃度が高くなったと述べている。このことはカルシウムを短期間に多量に摂取しても歯槽骨における骨形成の促進効果は少いが、長期間にわたってバランスよくカルシウムを含む食事療法を行えば骨の促進は認められると指摘している。著者らの実験においては、実験群歯槽骨のX線所見は実験日数の経過につれ、骨梁が増加し緻密に走行しているが対照群に比べ骨梁が細い所見を呈している。また実験群の歯槽骨の光学的所見についても、対照群のものより骨濃度に低いが、安定した pattern として描出されている。

本研究の実験群の光学的所見では、歯槽骨骨濃度は対

照群のものよりも低いことは、写真濃度所見においても一致性がみられた。X線マイクロアナライザーにおけるコントロールと比較した相対 Ca 量比 ($\text{Ca}/[\text{Ca}]_c$) は各週のすべてにおいて対照群が実験群に比べ高い値を示し、P 量比 ($\text{P}/[\text{P}]_c$) は 6 週目において対照群が実験群に比べ低い値を示した。

また非脱灰標本による CMR 像においてもハバース管が多く、骨小腔が少ない所見と一致している。このことは虚弱骨に対して高カルシウム食を投与しても短期間に骨の促進効果は認められない。しかし骨組織は安定した成長過程にあり骨梁が増加傾向にあることは本研究から示唆される。木村 (1987)⁶⁾ の CMR 像所見においては、実験後 9 週目に至るとハバース管が減少し、骨小腔が増加すると述べている。著者らの研究では虚弱骨に対して高カルシウム食を含有し食事療法を行うことによって骨の形成は対照群に比べ遅れてはいるものの、ハバース管を中心にして骨小腔の多量の存在により骨組織構築によって、骨形成の促進に良い効果をもたらしていることが実証された。虚弱骨におけるカルシウム摂取量の重要性は Heaney (1986)¹⁸⁾ の研究によっても裏付けられている。また、吉川ら (1988)¹⁹⁾ はカルシウム欠乏食の治療には、1 日 1 g 程度のカルシウムを補給することが合理的であると報告している。

化学物質を応用した報告としては、井上 (1988)²⁰⁾ はラットにカルシウム欠乏食を与え、骨虚弱状態を惹起させ、化学物質である $1\alpha\text{-OH-D}_3$ を経口投与し、次のように述べている。1) 体重は対照群に比べ減少しているがカルシウム欠乏食群より増加した。2) X線マイクロアナライザーによる定量分析では、Ca および P の対照群との相対比はカルシウム欠乏食群に比べ高い値を示した。3) 一般組織所見では骨梁の増加、ハバース管と骨小腔の増加、吸収窩の増加がみられたと述べている。このことは成長発育の過程にある骨が一旦虚弱状態に陥入るといかに効力のある化学物質を投与しても生体組織が十分量のカルシウムを補給しない限り骨の回復は望めないことを実証している。また、鯉坂 (1988)²¹⁾ はラットにカルシウム欠乏食を与え、骨虚弱状態を惹起させ化学物質であるカルチトニンを筋注し、井上 (1988)²⁰⁾ とほぼ同様の見解を述べ、化学物質の単独使用のみでは正常な骨の発育は望めないとしている。しかし骨吸収の抑制や石灰化の促進ならびに骨形成促進作用は認められると実証している。このような流れのなかで著者らの研究はカルシウム摂取不足による骨虚弱状態の改善法として化学物質を用いないが高カルシウム食による食事療法を行った結

果、体重に関しては対照群と比べ有意の差は認めることなく骨梁の促進効果が示唆された。しかし骨濃度や X 線マイクロアナライザーによる Ca および P の相対比、さらには病理組織学的所見からみて、高カルシウム食を与えることによって骨梁の促進効果は認められるものの正常食対照群に比べ骨の形成は遅れていることが実証された。このことは過去の研究者の井上 (1988)²⁰⁾、鯉坂 (1988)²¹⁾ らの報告をふまえ、さらに著者の研究から明らかなように成長発育期の骨が一旦虚弱状態に陥入ると長期間にわたって生体組織にバランスのとれた高カルシウム食の補給を行うとともに化学物質を用いることが必要であると思われる。今後検討すべき課題である。

最後に著者らの実験による血液学的検査の結果は何ら異常所見は認められないことが実証された。

結 論

3 週齢の Wistar 系雄ラットに、カルシウム欠乏食を 4 週間与えて、実験的骨虚弱状態を惹起させ、このラットにカルシウムが多量に含まれている高カルシウム食に変えて飼育し、成長期歯槽骨に及ぼす影響を検索し、次のような結果を得た。

1) 体重は対照群および実験群ともに実験日数の経過とともに増加し、両群の間に有意差はみられなかった。

2) X線学的および光学的所見は、対照群に比べ実験群の骨梁は細く、歯槽骨骨濃度は対照群に比べ実験群は低下した。しかし、濃度曲線は安定した pattern として描出されていた。

3) 写真濃度所見は、対照群の歯槽骨骨濃度は実験群のものよりも高かった。

4) X線マイクロアナライザーにおけるコントロールと比較した相対 Ca 量比 ($\text{Ca}/[\text{Ca}]_c$) は各週のすべてにおいて対照群が実験群に比べ高い値を示し、P 量比 ($\text{P}/[\text{P}]_c$) は 6 週目において対照群が実験群に比べ低い値を示した。

5) 病理組織学的所見は、対照群および実験群の歯槽骨 CMR 像および一般組織所見は経日的に骨髄は減少し、骨層は緻密になっていたが、対照群に比べ実験群のハバース管は多く、骨小腔の減少が認められた。

走査電顕で観察すると、形態的には実験群および対照群は骨形成面は石灰化した基質がみられ、内部にはコラーゲン原線維網が密に存在していた。

6) 血液学的所見は何ら異常所見はみられなかった。

以上の結果により、虚弱歯槽骨は高カルシウム食の摂食によって骨組織の形成促進効果は認められたが、対照群に比べ骨組織の構築は遅延していた。

引用文献

- 1) 藤田拓男：総論—人体とカルシウム—，藤田拓男編“カルシウムの臨床。”科学評論社，東京，1979，1.
- 2) 速水 決：カルシウムとリンの吸収と栄養，藤田拓男ら編“カルシウム—基礎と臨床—”。医歯薬出版，1980，61—18.
- 3) 江澤郁子：骨の成長と栄養．歯科ジャーナル 26：803—910，1987.
- 4) 木村光孝：成長期顎骨とカルシウム摂取．歯科ジャーナル 26：871—885，1987.
- 5) 木村光孝：カルシウム不足の小児歯槽骨への影響．医学のあゆみ 137：43，1986.
- 6) 木村光孝・内野公一・佐藤秀輝・竹中正史・原田和己・粟生 悟：カルシウムの成長期顎骨に及ぼす影響に関するX線学的検索．小児歯誌 25：521—530，1987.
- 7) 木村光孝：成長期発育期の顎骨に及ぼすカルシウムの影響—とくに歯槽骨と下顎頭の変化—．福岡県歯科医師会誌 40：1—11，1987.
- 8) 石井貴三男：成長期顎骨における実験的骨粗鬆症に関する研究—とくに歯槽骨について—．九州歯会誌 40：530—554，1986.
- 9) 中尾利夫：成長期顎骨における実験的骨粗鬆症に関する研究—とくに下顎頭の変化—．九州歯会誌 41：46—67，1987.
- 10) 住本和隆：実験的骨粗鬆症に対する食餌の影響に関する研究—とくに歯槽骨の変化—．九州歯会誌 40：1245—1268，1986.
- 11) 篠崎英一：実験的骨粗鬆症に対する食餌の影響に関する研究—とくに下顎頭の変化—．九州歯会誌 41：102—121，1987.
- 12) 石井貴三男・木村光孝・楊 榮展：成長期顎骨の骨粗鬆症に関する実験的研究（会）．小児歯誌 22：777—778，1984.
- 13) 厚生省保健医療局健康増進栄養課編：日本人の栄養所要量（昭和62年版）．第一出版，東京，1987.
- 14) 藤田拓男：カルシウム代謝とその異常．日本歯科新聞第567号：6—7，1985.
- 15) Hartles, R.L. and Leaver, A.G.: Citrate in mineralized tissues-III. The effect of purified diet low in calcium and vitamin D on the citrate content of the rat femur. *Arch. Oral Biol.* 5: 274—283, 1961.
- 16) Ferguson, H.W. and Hartles, R.L.: The effect of vitamin D on the bones of young rats receiving diet low in calcium or phosphorus. *Arch. Oral Biol.* 8: 407—418, 1963.
- 17) Salomon, C.D. and Volpin, G.: The effect of calcium-deficient diet on breaking strength and other physical parameters of rat bones. *Clin. Orthop. Res.* 82: 207—213, 1972.
- 18) Heaney, R.P.: Calcium, bone health and osteoporosis. Bone and Mineral Research 4.ed. by Peck, W.A., Elsevier, Amsterdam, 1986, 255—301.
- 19) 吉川靖三・大野敦世・茂呂公夫・松本昌夫・根本 元・関 寛之・金子二司夫・細川於兔輔・石島弘之：骨粗鬆症に対する 1α (OH) D_3 と Ca 補給併用療法の効果．日整会誌 62：723—732，1988.
- 20) 井上秀人：成長期顎骨の実験的骨粗鬆症に対する活性型ビタミン D_3 の影響に関する研究—とくに歯槽骨の変化—．九州歯会誌 42：918—948，1988.
- 21) 鯉坂一郎：実験的骨粗鬆症に対するカルチトニンの効果に関する研究—とくに歯槽骨の変化—．九州歯会誌 42：523—558，1988.