成長期虚弱骨に対する高カルシウム食, カルシトニンの併用療法に関する実験的研究

— 下顎頭の変化 —

門 司 靖 廣

九州歯科大学大学院歯学研究科小児歯科学専攻 (指導: 木村光孝教授)

平成3年10月25日受理

An Experimental Study on a Combined Treatment Method of High-calcium Diet and Calcitonin on Bone Debility at Growth Stage — Changes in the Mandibular Condyle —

Yasuhiro Monji

Department of Pedodontics (Director: Prof. Mitsutaka Kimura)
Kyusyu Dental College, Kitakyusyu, Japan

Three-week-old male rats of Wistar strain were given a calcium-free diet for three weeks and the state of bone debility was induced in them. The rats were then given a high-calcium diet and eel calcitonin (ECT) for three weeks and the effect on the mandibular condyle was investigated.

The results were as follows :

1. Histopathological findings

As compared with the control group, the Ca-free diet group showed marked increase of the cartilage layer due to increase of the hypertrophic zone. Most of the trabecular were in the state of low calcification and were narrow in width and were running disorderly. The Ca-deficient diet + high-Ca diet group, as compared with the Ca-free diet group, had a narrower cartilage layer in the hypertrophic zone and findings of active erosion by chondroclast was observed. Trabeculae were more orderly but their widths were narrower as compared with those of the control group. The Ca-free diet + high-Ca diet + ECT group showed even narrower width of the cartilage layer. Although trabeculae became thicker, they were running irregularly as compared with the control group.

2. Scanning electron microscopic findings

Calcospherites were observed on the cartilage lacuna wall in each group, but in the Ca-free diet group, its state of fusion was weakest and longitudinal matrices were ruptured in many parts. The Ca-free diet + high-Ca diet group and Ca-free diet + high-Ca diet + ECT group both showed strong fusion among calcospherites as compared with the Ca-deficient diet group but incomplete fusion as compared with the control group, and ruptures of

longitudinal matrices were seen in part. Trabeculae were observed in both resorption sites and bone formation sites in the control group and collagenous fibers were running regularly. In the Ca-free diet group, bone resorption sites increased and many collagenous fibril networks were scattered. In the Ca-deficient diet + high-Ca diet group, bone matrices increased and collagenous fibrils were running regularly.

In the Ca-free diet + high-Ca diet + ECT group, many osteocyte lacunae were observed and matrices around them were formed by collagenous fibers. On the matrices surfaces collagenous fiber networks were scattered. Openings of bone canaliculi were observed, and some of them were distinct and the others were indistinct.

On the basis of the foregoing findings, combined administration of high-calcium diet and ECT to the rat mandibular condyle showing experimental bone debility proved to accelerate formation of calcified cartilages and also to have an acceleration effect on bone construction in bone growth thereafter.

Key words : Bone debility/Mandibular condyle/High-Ca diet/ECT/Wistar rat

緒 言

骨粗鬆症は骨代謝回転が何らかの原因で阻害され徐々に骨量が減少していく疾患であり、臨床ではこのような状態に陥った骨を虚弱骨と呼んでいる。骨量は小児期から徐々に増加し、20～30才で最大量、いわゆる peak bone mass を獲得しその後は緩やかに低下する。このことを考慮すると、成長発育期に十分な栄養素の摂取を心がけ、高い peak bone mass が得られるような環境を整えることが、その後の骨粗鬆症の予防の面からも重要な点である。しかしながら、国民栄養調査¹⁾の結果を見ると、依然としてカルシウム摂取量（以下、Ca 摂取量と記す）は必要量に達していない。その他の主要栄養素の摂取量が必要量を超えて増加する傾向にあるにもかかわらず、Ca 摂取量はむしろ減少しているとさえ考えられる。

このようなことから考えて、小児期から peak bone mass に到達する年齢にかけて Ca 不足の状態に陥っている可能性が高い。そこで当教室では、実験的に骨虚弱状態を惹起させたラットの骨組織を正常に回復させるべく、食餌の改善および生理活性物質の応用という両面から究明を進めてきた。その内容を見ると竹島（1987）²⁾、鯉坂（1988）³⁾ は、ウナギ鰓後腺より抽出されたカルシトニンの誘導体エルカトニン（東洋醸造社製エルシトニン、以下 ECT と略す）の応用、井上（1988）⁴⁾、森高（1987）⁵⁾、岩永（1989）⁶⁾、大倉（1990）⁷⁾、高野（1990）⁸⁾ らは、活性型ビタミン D₃ の応用、また、渡辺

（1990）⁹⁾、黄本（1990）¹⁰⁾ はイワシパウダーを高 Ca 源とした高 Ca 飼料の使用により、骨虚弱状態の改善を目指している。その結果いずれもかなりの骨組織の改善は認められてはいるが、いまだ完全に回復させるには至っていない。

Ca 吸収量は食品の種類およびその食品の Ca 含有量に大きく左右されることが知られている¹¹⁾。そこで、木村ら（1990）¹²⁾ の実験を基礎として著者は高 Ca 源となるイワシパウダーに変えて、牛骨を原材料とした粉末で、Ca 含有量が非常に高く、かつその主要成分である Ca と P の比率が 2 : 1 と、非常に吸収しやすいと思われるキャットルボーン（バイオクリーン社製）を用い、さらに ECT を併用することを考えた。

成長期ラットに Ca 欠乏食を与えて骨虚弱状態を惹起させた後、高 Ca 源としてキャットルボーンを用い、さらに ECT の併用療法による骨組織への影響を検索し、いささかの知見を得たので報告する。

材料ならびに方法

材料は生後 3 週齢の Wistar 系雄ラット 40 匹を使用した。実験ラットは無作為に次のような 4 群に分けた。

正常対照群（標準飼料）：オリエンタル酵母のラット標準飼料と水道水で 6 週間飼育した。

Ca 欠乏食群：オリエンタル酵母の A 食変型 Ca 欠乏飼料と蒸留水で 3 週間飼育した。

Ca 欠乏食・高 Ca 食群：オリエンタル酵母の A 食変型 Ca 欠乏飼料と蒸留水で飼育 3 週間後、高 Ca 食（標

準飼料2とキャットボーン1の混合飼料)と水道水で3週間飼育しながら、生理食塩水を大腿後部に0.2 cc/100 g 毎日筋注した。

Ca 欠乏食・高Ca食・ECT群：オリエンタル酵母のA食変型Ca欠乏飼料と蒸留水で飼育3週間後、高Ca食と水道水で3週間飼育しながら、ECTを0.2 U/kg大腿後部に毎日筋注した。

飼育完了後、全てのラットを深麻酔下にて屠殺した。ただちに頭部を採取し、正中で左右に切断し10%中性ホルマリン液にて浸漬固定した。

固定後の頭部を、Softex typeのCSMを用いて管電圧35 kVp、管電流5 mA、撮影時間60秒および焦点・皮膚間距離70 cmの条件下で軟X線撮影を行った。軟X線フィルムはFuji Softex Film FGを使用した。

次に下顎頭におけるCaとPの分布状態を観察するために、エネルギー分散型X線マイクロアナライザー(SED 880, セイコー EG&G)を用いて、点分析による定量分析を行った。

試料は5%硝酸脱灰し、セロイジン包埋後、頭骨の顎関節を矢状断で15 μm連続脱灰切片標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン重染色を施した。

下顎頭の一部は走査電子顕微鏡試料作製に供し、光顕的観察と並行して軟骨表面および骨梁表面を形態的に観察した。関節頭を摘出し、phosphate buffer (pH 7.2)に浸漬し、超音波洗浄器で洗浄した。試料は2.5% glutaraldehydeで1時間浸漬固定したのち、1% osmic acid (phosphate buffer, pH 7.2)に4℃で約2時間浸漬した。固定後の試料は軟骨表面を露出させ、上昇ethanol系列にて脱水を行い、2-methyl-2-propanolを経て凍結乾燥装置(ID-2型, エイコーエンジニアリング)にて凍結乾燥を行った。試料表面には、イオンスバッタ(JFC-1100, 日本電子)を用いてAu coatingを行い、走査型電子顕微鏡(JSM T-300, 日本電子)にて観察した。

結 果

1. X線学的所見

対照群の下顎頭は、外形は滑らかな丸みを帯びた形態を呈していた。外周には強いX線不透過性を示す緻密な骨層が明瞭に認められた。骨梁はそれに続くX線不透過像として下顎頭表層からほぼ垂直に規則的に配列していた(Fig. 1)。

Ca欠乏食群の下顎頭では、その外形は小さく対照群の下顎頭で認められた外周の緻密な骨層はほとんど認め

Fig. 1 Radiogram of the 6th week.
Control group
Arrow : Mandibular condyle

Fig. 2 Radiogram of the 3rd week.
Ca-deficient diet group
Arrow : Mandibular condyle

られなかった。骨梁のX線不透過性は弱くその配列も不規則となっていた(Fig. 2)。

Ca欠乏食・高Ca食群の下顎頭では、その外形はCa欠乏食群に比較して滑らかさを増していた。外周には骨層が認められるものの、そのX線不透過性は対照群に比較して弱い。骨梁の配列も対照群に比較して疎でありそのX線不透過性も弱くなっていた(Fig. 3)。

Ca欠乏食・高Ca食・ECT群の下顎頭では、その外形はCa欠乏食・高Ca食群のそれに比べてさらに滑らかになっていた。外周に見られる骨層のX線不透過性も、Ca欠乏食・高Ca食群に比べて強くなっており、ほぼ対照群と同様な所見を呈していた。またそれに続く骨梁もCa欠乏食・高Ca食群に比較して強いX線不透過像としてさらに密に配列しており、対照群とほぼ同様な

Fig. 3 Radiogram of the 6th week.
Ca-deficient mixed diet group
Arrow : Mandibular condyle

Fig. 4 Radiogram of the 6th week.
Ca-deficient mixed diet ECT group
Arrow : Mandibular condyle

Fig. 5 Analysis of Ca and P in mandibular condyle by X-ray microanalyzer.

- a : Control group
- b : Ca-deficient diet group
- c : Ca-deficient mixed diet group
- d : Ca-deficient mixed diet ECT group

Table 1 Analysis of the Ca and P of mandibular condyle X-ray microanalyzer (%)

Exp. group	Ca		P	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.
Control group	19.40	0.91	13.70	0.32
Ca-deficient diet group	5.94**	0.21	4.00**	0.80
Ca-deficient-mixed diet group	17.34	0.86	10.75*	1.00
Ca-deficient-mixed diet-ECT group	19.51	0.56	11.16**	0.34

**p<0.01

*p<0.05

Table 2 Relative percentages of Ca and P in mandibular condyle by quantitative X-ray microanalysis and comparison with those of the control group (Ca/[Ca]c and P/[P]c)

Exp. Group	Ca/(Ca+P) (%)	P/(Ca+P) (%)	Ca/[Ca]c	P/[P]c
Control group	58.61	41.39	1	1
Ca-deficient diet group	59.76	40.24	0.31	0.29
Ca-deficient-mixed diet group	61.73	38.27	0.89	0.78
Ca-deficient-mixed diet-ECT group	63.61	36.39	1.01	0.81

所見を呈していた (Fig. 4).

2. X線マイクロアナライザーによる分析所見

X線マイクロアナライザーによる分析結果を見ると、Ca および P 共に、そのピークは対照群が最も高く、Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群、Ca 欠乏食・高 Ca 食群、Ca 欠乏食群の順に低値を示した (Fig. 5, a~d). 各実験群の下顎頭の Ca および P の点分析による定量分析についてみると、Ca 量は対照群の 19.40% に比べ、Ca 欠乏食群では 5.94% と著しく低い値を示した。Ca 欠乏食・高 Ca 食群ならびに Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群では対照群と Ca 量に大きな差はなく、それぞれ、17.34%、19.51% であった。また、P 量は対照群で 13.70% であったが、Ca 欠乏食群では 4.00% と著しく低くなった。Ca 欠乏食・高 Ca 食群ならびに Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群においても対照群より低い値となり、それぞれ 10.75%、11.16% であった (Table 1).

Ca 量と P 量の割合 [Ca/(Ca+P)%, P/(Ca+P)%] は光顕レベルで石灰化度が最も高いと思われる部位の値を示している。次に対照群と比較した相対 Ca 量比 (Ca/[Ca]c) および P 量比 (P/[P]c) を求めた。Ca 量比についてみると、Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群が対照

群とはほぼ同率という最も高い値を示し、次いで Ca 欠乏食・高 Ca 食群、Ca 欠乏食群の順に低値を示した。P 量比についても、Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群が高い値を示し、次いで Ca 欠乏食・高 Ca 食群、Ca 欠乏食群の順に低値を示した。Ca 欠乏食群の相対量比は Ca、P のいずれにおいても著しく低かった (Table 2).

3. 病理組織学的所見

対照群における下顎頭の側頭部外側より 5 mm の部の矢状断組織像では、下顎頭の細胞配列は次の 5 つの区域に分けることができる。第 1 は表層に見られる静止帯であり、その細胞は細長く、長軸を関節面に平行にして配列している。第 2 は静止帯の直下に位置する増殖帯で、長方形でやや小さな細胞や円形でやや大型の細胞からなっている。第 3 は増殖帯の直下に位置する肥大帯である。この区域の軟骨細胞は比較的わずかな量の細胞間基質によって取り囲まれており、細胞の外形はより円形に近く、いわゆる蜂巢状を呈している。この区域の細胞周囲では低いレベルで石灰化が行われている。第 4 は肥大帯直下に位置する侵食帯である。この区域は軟骨吸収細胞によって低レベルに石灰化された細胞間基質が侵食されている部分である。第 5 は侵食帯の直下に位置し骨形成

が活発に行われている軟骨下骨形成帯である。骨梁表面には骨芽細胞および破骨細胞が認められ、骨形成が活発に行われている状態を呈している (Fig. 6, 7)。

Ca 欠乏食群の下顎頭では、軟骨細胞の配列は対照群に比較して不規則である。静止帯軟骨細胞には著しい変化は認められないが、増殖帯の厚さは減少している。また肥大帯はその厚さを増しているが、軟骨細胞を取り囲む石灰化基質は減少し細胞の胞体および核はともに変形し部分的に集合している。侵食帯の軟骨吸収細胞や軟骨下骨形成帯における骨形成所見もほとんど認められない。全体的に骨梁は大幅に減少し細くなって非常に乱れた構造となっている。骨梁表面に骨芽細胞は認められるものの、骨梁のほとんどが低石灰化層となっている (Fig. 8, 9)。

Ca 欠乏食・高 Ca 食群の下顎頭では、Ca 欠乏食群に比較して軟骨細胞の配列は規則的になっている。肥大帯

は Ca 欠乏食群に比較してその幅を減じているが、対照群に比較すると厚くなっている。肥大帯軟骨細胞を取り囲む細胞間基質は Ca 欠乏食群に比較して増加しその石灰化も高くなっている。侵食帯では軟骨吸収細胞による侵食所見も活発に認められるが、対照群に比較するとその幅は依然としてやや狭い。軟骨下骨形成帯では、多数の骨芽細胞および破骨細胞が認められ、活発な骨形成が行われている状態を呈し、骨梁も Ca 欠乏食群に比較すると太く規則的に走行しているが、その幅は対照群に比較すると依然としてやや細かった (Fig. 10, 11)。

Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群の下顎頭では、Ca 欠乏食群および Ca 欠乏食・高 Ca 食群に比べて軟骨細胞の配列はより規則的になっている。肥大帯の幅は Ca 欠乏食・高 Ca 食群と比較してもほぼ変化はなく、細胞間石灰化基質も対照群と同等に認められるが、侵食帯は Ca 欠乏食・高 Ca 食群に比べてその幅を減じている。軟骨

Fig. 6 Mandibular condyle of the 6th week.
Control group
H·E Stain (× 20)

Fig. 8 Mandibular condyle of the 3rd week.
Ca-deficient diet group
H·E Stain (× 20)

Fig. 7 A higher magnification of Fig. 6.
H·E Stain (× 100)

Fig. 9 A higher magnification of Fig. 8.
H·E Stain (× 100)

Fig. 10 Mandibular condyle of the 6th week.
Ca-deficient · mixed diet group
H · E Stain (× 20)

Fig. 13 A higher magnification of Fig. 12.
H · E Stain (× 100)

Fig. 11 A higher magnification of Fig. 10.
H · E Stain (× 100)

Fig. 14 Mandibular condyle of the 6th week.
Control group (SEM × 35)

Fig. 12 Mandibular condyle of the 6th week.
Ca-deficient · mixed diet group
H · E Stain (× 20)

Fig. 15 A magnification of Fig. 14.
(SEM)

Fig. 16 A magnification of Fig. 14.
(SEM)

Fig. 17 Mandibular condyle of the 3rd week.
Ca-deficient diet group (SEM×35)

Fig. 18 A magnification of Fig. 17.
(SEM)

下骨形成帯下方の骨梁表面には、多数の骨芽細胞および破骨細胞が認められ骨形成が活発に行われている。骨梁は増加しその幅も部分的に対照群よりも太くなっている所もあるが、配列はやや不規則である (Fig. 12, 13).

4. 走査型電子顕微鏡学的所見

対照群の下顎頭では、軟骨層は規則的に蜂巢状に配列している。静止帯から骨梁に至る5層は明瞭に区画されている (Fig. 14).

軟骨層の一部を拡大すると、直径約 $20\mu\text{m}$ 程度の軟骨小腔が蜂巢状に規則正しく配列しており、その形態はほぼ円形を呈している。小腔壁には直径約 $1\sim 2\mu\text{m}$ の石灰化小球が存在しており、相互に癒合し小腔壁は平滑になっている。縦走基質は太く明瞭に認められ、軟骨小腔をはっきりと区画している (Fig. 15).

骨梁を観察すると骨吸収部と骨形成部共に多数認められた。骨梁表面には長径約 $10\mu\text{m}$ の楕円形を呈する骨小腔が認められ、小腔壁表面にはコラーゲン線維が密に集積し規則的に走行しており、直径約 $1\sim 2\mu\text{m}$ の骨細管が多数開口していた (Fig. 16).

Ca 欠乏食群の下顎頭を観察すると、静止帯にほとんど変化は認められなかったが、増殖帯および肥大帯軟骨細胞の配列は対照群に比較して著しく乱れており、細胞間基質の量も著しく減少している。対照群で認められた軟骨細胞の規則的な蜂巢状構造は著しく乱れている。肥大帯は厚みを増しているものの、細胞間基質量は著しく減少しそれに続く侵食帯ではさらに構造が無秩序となり、軟骨下骨形成帯では規則的な骨梁新生はほとんどなく、骨梁も配列が著しく乱れており疎になっている。全体的に対照群で見られた静止帯から軟骨下骨形成帯に至る5層の細胞層の区画が、著しく不明瞭となっている (Fig. 17).

軟骨層の一部を拡大し観察すると、長径約 $20\mu\text{m}$ の軟骨小腔が認められ、小腔壁には対照群に比較してやや小型の直径約 $1\mu\text{m}$ 前後の石灰化小球が存在している。石灰化小球相互は癒合しているものの、対照群に比較して癒合状態が不完全である。縦走基質は対照群に比較すると細く断裂している部分が多く認められ、軟骨小腔相互の区画も不明瞭である (Fig. 18).

骨梁を観察すると、コラーゲン原線維網は著しく乱れかつ疎に走行し、その部には石灰化小球が散在している (Fig. 19). また、骨梁表面は大部分が吸収所見で占められていた。典型的な骨形成部分はほとんど認められず、部分的に吸収部分周囲に骨小片が偏在する程度であった (Fig. 20).

Fig. 19 A magnification of Fig. 17.
(SEM)

Fig. 20 A magnification of Fig. 17.
(SEM)

Fig. 21 Mandibular condyle of the 3rd week.
Ca-deficient · mixed diet group
(SEM× 200)

Fig. 22 A magnification of Fig. 21.
(SEM× 2,000)

Ca 欠乏食・高 Ca 食群の下顎頭を観察すると、静止帯、増殖帯には対照群との明らかな差異は認められなかった。肥大帯は対照群に比べ厚くなっているが、Ca 欠乏食群に比較するとその幅は減じている。対照群と比較すると、肥大帯の軟骨小腔は大型化しており細胞間石灰化基質も厚く、各細胞小腔間の区画が明瞭に認められる。侵食帯を観察すると、Ca 欠乏食群では侵食帯からその下部の軟骨下骨形成帯にかけての構造が無秩序であったのに対してこの2層がはっきりと区画されるようになり、その幅が増加し軟骨吸収細胞による侵食が活発に行われている状態が観察される。肥大帯の大型化した軟骨小腔間の石灰化基質が吸収され、軟骨小腔がお互いに癒合している状態が Ca 欠乏食群に比較して著明に観

察される。さらに軟骨下骨形成帯の幅は増加しており、その直下の骨梁を観察すると Ca 欠乏食群に比較して骨梁は太く規則的に配列しているが、対照群と比較すると細かった (Fig. 21)。軟骨層の一部を拡大すると直径約 $20\mu\text{m}$ の軟骨小腔が認められ、その大きさは対照群とほぼ同等であるが形態はやや変形している。小腔壁表面には直径約 $1\mu\text{m}$ で対照群に比較して小型の石灰化球が観察された。石灰化球は互いに癒合し平滑な小腔壁を形成している部分がほとんどを占めていたが、癒合の状態が対照群に比較して劣っており小腔壁の部分的な断裂が多く認められた。それに伴い縦走基質も、断裂し区画が不明瞭になっている部分が多かった (Fig. 22)。

骨梁を一部拡大すると、骨梁表面の深部では骨基質を

Fig. 23 A magnification of Fig. 21.
(SEM)

Fig. 25 A magnification of Fig. 24.
(SEM)

Fig. 24 Mandibular condyle of the 3rd week.
Ca-deficient · mixed diet · ECT group
(SEM× 35)

Fig. 26 A magnification of Fig. 24.
(SEM)

形成している密なコラーゲン線維束が認められたが、その表層部ではコラーゲン線維網が不規則に吻合した部分が多く観察された (Fig. 23).

Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群の下顎頭を観察すると、静止帯は対照群および Ca 欠乏食・高 Ca 食群と比較して著明な変化は認められなかった。増殖帯では軟骨細胞の配列は Ca 欠乏食群に比較して規則的になっており、その直下の肥大帯軟骨細胞と共に蜂巢状構造を呈している。肥大帯は Ca 欠乏食・高 Ca 食群に比較してその幅を減じているものの、対照群に比較すると広く、細胞間基質は対照群とほぼ同程度に認められた。侵食帯は Ca 欠乏食・高 Ca 食群に比較してその幅を減じており、対照群とほぼ同等の幅となっている。その直下に認められ

る軟骨下骨形成帯および骨梁は Ca 欠乏食・高 Ca 食群に比較して太さが増大しているものの、骨梁の走行はやや不規則であった (Fig. 24).

軟骨層を一部拡大すると、直径約 $20\mu\text{m}$ のほぼ半球形を呈する軟骨小腔が認められ、その大きさおよび形態ともに対照群とほぼ同等である。軟骨小腔壁は直径約 $1\sim 2\mu\text{m}$ の石灰化球で占められ、その大部分の石灰化球はお互いに癒合し小腔壁は平滑になっているが、一部には癒合が完全ではなくわずかに小腔壁が断裂しコラーゲン線維が露出している部分も観察された。縦走基質は太く形成されており、一部断裂している部分を除いて軟骨小腔をはっきりと区画していた (Fig. 25).

骨梁を観察すると、表面には比較的浅い骨小腔が認め

られるが、小腔表面のコラーゲン線維網が不規則に集積し、吻合しているのが観察された。対照群と比較するとその走行状態は規則性を欠いているが、Ca 欠乏食・高Ca 食群に認められた疎に不規則に走行している部分は減少している。骨小腔長径は約 $20\ \mu\text{m}$ であり、小腔壁の骨細管開口部はやや不明瞭であった (Fig. 26)。

考 察

骨成長に関与する因子は、多くの報告があり明らかにされつつある。特に近年細胞培養技術が進歩し、各因子の純粋な生理作用が明らかにされている。現在血清 Ca 上昇因子としては、PTH, $1.25\ (\text{OH})_2\text{VD}_3$, $1\ \text{L-1}$, $1\ \text{L-6}$, TNF α , $1\ \text{FN-}\alpha$, 下降因子としてはカルシトニン (以下 CT と略す), $1.25\ (\text{OH})_2\text{VD}_3$, $1\ \text{L-4}$, などが知られている。CT は Hirsch ら (1963)¹³⁾ によって発見されたホルモンであり、骨代謝に深く関与する生理活性物質としては比較的その発見が新しい物質であるにもかかわらず、すでに臨床的にはさまざまな疾患の治療薬として応用されている。特に骨粗鬆症に対しては、骨塩遊離を抑制することによって骨量低下の防止や本疾患に特有に認められる骨痛改善を目的として使用され劇的な効果をもたらしている¹⁴⁾。CT が大量長期投与される疾患としては Paget 病¹⁵⁾ がある。本疾患は非常に早い骨代謝回転が特徴であり、この代謝回転を破骨細胞抑制により鈍化させるために CT が使用されている。CT は従来より破骨細胞の活性および形成の抑制により高 Ca 血症の抑制作用を発揮する¹⁶⁾ と考えられていた。しかし、藤田ら (1990)¹⁷⁾ はプラセボを対照薬とした二重盲検試験により、CT が骨量減少抑制のみならず骨量増加作用を示したことを報告している。このように現在では骨粗鬆症患者や Paget 病患者における治療効果は、一概に Nicholson ら (1986)¹⁸⁾ の CT が破骨細胞に受容体を介して特異的に作用する唯一のホルモンであるという考え方では説明しにくくなってきており、薬理的な作用機序あるいは作用点は明らかでないのが現状である。

本実験では、虚弱骨の回復を目指して牛骨粉を原料とするキャットルボーンを Ca 源とした高 Ca 含有食 (キャットルボーン 1 と標準食 2 の混合食) を使用した。骨代謝回転が何らかの原因により異常をきたし骨吸収が骨形成を上回る状態での Ca 投与 (補給) にはさまざまな報告がある。Horsman ら (1977)¹⁹⁾ は、閉経後の女性の皮質骨に対して Ca 補給が有効であったと報告し、Ettinger ら (1987)²⁰⁾ は同様に閉経後の女性の皮質骨に Ca 補給が有効であるが脊椎骨には無効であり、エ

ストロゲンとの併用で効果が認められたと述べている。また、Riis ら (1987)²¹⁾ は閉経後の骨量低下に対しての Ca 補給効果はわずかで、皮質骨に対しては有効であるが海綿骨には無効であると報告している。このように Ca 補給療法はその評価が別れるところであるが、わが国の国民栄養調査¹⁾ の結果の示すとおり Ca 摂取量が厚生省が定めた Ca 所要量 $600\ \text{mg/day}$ には依然として達していないこと、体格が欧米並みに達しようとしているにもかかわらず厚生省の定める数字 $600\ \text{mg/day}$ が、各国の定める必要量よりも低い²²⁾ ことに加えて、特に年齢別にみて 20 歳代の Ca 摂取量が、 $390\ \text{mg/day}$ と極端に低いこと²³⁾ などを考え合わせると、虚弱状態に陥った骨は言うに及ばず正常と思われる固体に対しても 20～30 歳で獲得する peak bone mass を高める目的で積極的に Ca を多量に摂取させることが必要であると思われる。

当教室では、現在まで一貫して骨虚弱状態に陥った骨組織を正常な状態まで回復させるべく様々な治療法を試みている。しかし木村ら (1990)¹²⁾ によるイワシパウダーを Ca 源として用いた虚弱骨の回復実験では、正常状態までの完全な回復は得られておらず、ある程度の骨構築促進効果を認めたにとどまっており、イワシパウダーを高 Ca 源とした骨構築の促進効果の限界が示唆される。そこで本実験では、新しい試みとして高 Ca 源にキャットルボーンを使用し、ECT との併用療法により虚弱状態に陥った下顎頭に対して骨形成の活性化と破骨細胞の抑制を目的として本研究を行ったので考察する。

1. X 線学的所見.

岩永 (1989)⁶⁾ は生後 3 週齢の Wistar 系雄ラットに Ca 欠乏食を 4 週間与えたあとの下顎頭の変化を観察し、対照群に比較して形態的に小型となり、外形は不明瞭で骨梁は減少し走行も不規則になっていると報告している。また高野 (1990)⁸⁾ は生後 3 週齢の Wistar 系雄ラットに Ca 欠乏食を与えて 3 週間飼育後、標準食と生理活性物質である活性型 VD_3 の併用療法を行っており、Ca 欠乏食で飼育した群では下顎頭の形態は小さく、表面は不整で、骨梁の数が減少し走行も不規則になっていると報告している。これらの報告から、Ca 欠乏食で飼育した場合の下顎頭の X 線学的変化は表面の緻密な骨層の喪失、骨梁の減少および走行の不規則化、形態的にはその小型化であると考えられる。

本実験の Ca 欠乏食群においてもほぼ同様な所見を呈し、表面の骨層および骨梁の X 線不透過性が著しく低下していた。高野 (1990)⁸⁾ は、Ca 欠乏食から標準食に

変えた群ではその下顎頭の形態は小さく、緻密な骨層が存在し、表面は不規則であるが、骨梁はCa欠乏食群よりも増加していると述べている。本実験ではラット標準飼料に変えて高Ca食を用いたが、表面の骨層および骨梁のX線不透過性は対照群に比べ劣っており、さらに骨梁の配列状態も疎であった。

Riisら(1987)²¹⁾は閉経後の女性に対するCa補給について検索し、その効果は軽微であり皮質骨に対する有効性はあるものの海綿骨に関しては無効であったとし、渡辺(1990)⁹⁾も、高Ca食を単独で用いるよりも活性化型VD₃あるいはCTを併用する方が有効ではないかと考察している。このようにいったん虚弱状態に陥った骨組織の回復が高Ca含有食の投与のみではいかに困難かが示唆される。

本実験のCa欠乏食・高Ca食・ECT群の下顎頭は表面の骨層および骨梁のX線不透過性、骨梁の密度ともに対照群とほぼ同等であった。橋本(1987)²⁴⁾は生後3週齢のWistar系雄ラットに標準飼料を与えるとともにECTを投与することにより緻密な骨層が厚く下顎頭外周に見られ、骨梁もその数を増し緻密に走行している様子を観察しており、ECT投与によって骨形成が促進されると述べている。また、骨形成能がCTによって活性化される可能性^{25, 26)}や、CTによって骨芽細胞増殖促進を認めたとする報告²⁷⁾もされている。本実験におけるECT投与群、すなわちCa欠乏食・高Ca食・ECT群に認められた下顎頭外周の骨層および骨梁のX線不透過性増強所見はこれらの報告と良く一致する。

高野(1990)⁸⁾は虚弱骨回復に生理活性物質のひとつである活性化型VD₃を応用した実験を行い、Caを一定量与えれば骨芽細胞-骨細胞系に対する活性化作用が増強されるとし、さらにCa投与量を増すことでその効果がより著明になるのではないかと推論している。したがって本実験においては高Ca食とECTの相乗効果により骨虚弱状態からの脱却及び骨構築が促進されたと考えられる。

2. X線マイクロアナライザーによる分析所見

藤本ら(1980, 1981)^{28, 29)}は、成長期ラットの下顎頭軟骨のX線マイクロアナライザーによる分析を行い、石灰化の進行に伴ってCaおよびPのピークが著明になりCaにおいて著しかったと述べている。したがって本実験では、下顎頭骨梁において最も石灰化が進行していると考えられるのは、Ca欠乏食・高Ca食・ECT群であり、対照群、Ca欠乏食・高Ca食群、Ca欠乏食群の順に石灰化度が低下する傾向がみられた。陳(1989)³⁰⁾

は生後3週齢のWistar系雄ラットにイワシパウダーを高Ca源とした高Ca食を与えて、飼育4, 5, 6週目の状態を観察し、また柳(1991)³¹⁾はこの実験を基礎とし、飼育8, 9, 10週目の観察を行いX線マイクロアナライザーによる分析を行っている。それによると、虚弱状態に陥っていない正常骨組織に対してはイワシパウダーをCa源とした高Ca食の使用で石灰化が促進され、骨構築に有効であったことがわかる。本実験の結果を見ると、Ca欠乏食・高Ca食群では、対照群に比較してやや低くなる傾向を示しており、陳(1989)³⁰⁾、柳(1991)³¹⁾の成績よりも劣っている。この原因は高Ca食摂取開始時における骨の状態にあると考えられる。つまり、高Ca源としてキャットルボーンを用いても骨が虚弱状態にある場合、その完全な回復は高Ca食単独摂取では困難であることが明らかである。本実験では、Ca欠乏食・高Ca食・ECT群のみが、対照群とほぼ等しい値を示し、石灰化の促進が示唆された。橋本(1987)²⁴⁾、竹島(1987)²⁾らは、ECTに対して骨形成促進作用を認めているが、この骨形成促進作用が直接骨の石灰化度の増加につながるとすれば、著者のCa欠乏食・高Ca食・ECT群の結果はこれらの報告と一致するものである。

CTの主たる作用は、高Ca血症の抑制と骨の保護作用である¹⁶⁾。CTは受容体を介して破骨細胞に作用する唯一のホルモン¹⁸⁾であり、従来この破骨細胞への抑制作用が主たるものであると考えられてきたが、近年CTによる骨形成能の増加を認める報告^{17, 32)}や、骨形成能がCTによって活性化される可能性を示唆する報告^{25, 26)}がなされている。小澤(1990)³³⁾は、骨芽細胞から破骨細胞への活性化因子とは逆に破骨細胞から骨芽細胞活性化の因子があるのではないかと推論し、このようなCTの骨形成能促進効果はその現れではないかとしている。

また、骨格の成長には成長軟骨細胞の増殖、細胞外基質合成およびその石灰化が必要であり石灰化軟骨のみが新生骨と置換できる³⁴⁾こと、さらにCTが軟骨石灰化の強力なモジュレーターである可能性が強いとする報告³⁵⁾などを考慮すると、本実験のECT投与群においても何らかの形で骨形成系に活性化がもたらされたと考えられる。

3. 病理組織学的所見

対照群下顎頭では静止帯、増殖帯、肥大帯、侵食帯、軟骨下骨形成帯の5層が整然と配列しており、各層は明瞭に区分されている。Ca欠乏食群では対照群と比較して軟骨層は著しく厚くなっており、この変化は主に肥大帯軟骨細胞の増加によるものであり、さらに各層の区画は

不明瞭となっていた。このような所見は篠崎 (1987)³⁶⁾、竹島 (1987)²⁾、中尾 (1987)³⁷⁾、岩永 (1989)⁶⁾、高野 (1990)⁸⁾らの報告にも見られる。渡辺 (1990)⁹⁾は、虚弱骨に対して標準食およびイワシパウダーを高Ca源とした高Ca食を与え、両者に肥大帯軟骨細胞の減少を認めているが増殖帯軟骨細胞の変化は指摘していない。高野 (1990)⁸⁾はCa欠乏食に変えて標準食を投与した群においては軟骨細胞の配列はいまだ不規則であるとし、さらに肥大帯軟骨細胞の減少、侵食帯の拡大を観察している。正常な下顎頭の成長においては、肥大帯軟骨細胞の減少による軟骨層の菲薄化が認められ、Ca欠乏飼料からCaを含有する飼料に変えた場合の変化としては、肥大帯軟骨細胞の減少が第一に起こるものと考えられる。しかしながら軟骨層全般にわたる変化はCaの含有量および投与される骨の状態に左右され、Ca含有量が高くなり、かつ骨組織が正常に近い状態で投与されると肥大帯のみならずその上層部である増殖帯にまで達すると考えられる。土屋ら (1990)³⁸⁾によると腸管からのCa吸収経路は、1. 担体による細胞内輸送経路、2. 小胞体による細胞内移送経路、3. 細胞側路からの移動、の3つである。この中で細胞側路からの移動は腸粘膜相互間をイオン濃度勾配に従って移動する受動輸送で、腸管内のCa濃度が上がればそれに比例して吸収も増加する。したがって本実験のCa欠乏食・高Ca食群ではCaの腸管吸収も増加していたのではないかと考えられるが、投与開始時において骨組織が虚弱状態にあったために肥大帯軟骨細胞の減少という変化にとどまっており、このため軟骨層は対照群に比較してやや拡大した状態を呈していたと思われる。しかしながら、Ca欠乏食群と比較すると侵食帯における侵食所見および軟骨下骨形成は大幅に向上しており、Ca多量投与によって虚弱状態から脱するための変化が活発に行われていると考えられる。

本実験のCa欠乏食・高Ca食・ECT群における下顎頭軟骨の変動は侵食帯の幅の減少となって現れており、それによって軟骨層の厚さはほぼ対照群と等しいところまで菲薄化している。また、Ca欠乏食・高Ca食群とCa欠乏食・高Ca食・ECT群を比較すると、肥大帯軟骨細胞の変化は明らかではなく、過去の研究者^{2, 24)}が報告しているようなECTの肥大帯軟骨細胞への形態的影響は見いだせなかった。

本実験では一旦虚弱状態に陥った骨の回復を目指しており、ECT投与を行った群では侵食帯の幅の減少と軟骨下骨形成の活性化および骨梁の幅の増加、走行の緻密

化が認められた。この所見は橋本 (1987)²⁴⁾、竹島 (1987)²⁾らの所見と一致するところである。反面、骨梁の走行状態はECTを投与しないCa欠乏食・高Ca食群に比較してやや乱れる傾向が認められた。骨組織では成熟後においても光顕レベルで骨吸収と形成が常に行われており、これをリモデリングと呼んでいる。リモデリングは破骨細胞の活性化 (activation) によって骨吸収 (resorption) が起こり、引き続き活動の逆転 (reversal) により骨芽細胞による骨形成 (formation) という順序で行われている。このリモデリングの最小単位を海綿骨では骨梁単位と呼んでいる³⁹⁾。骨代謝回転の引き金になるのは破骨細胞の活性化であり⁴⁰⁾、Laussonら (1990)⁴¹⁾は、14日間にわたるCT投与によっても鉋物代謝に対する効果は失われてはいないことを報告している。本実験においても実験終了時までECTの効果が継続していると考えれば、リモデリングの最小単位である骨梁における吸収が長期にわたって抑制された結果、骨梁の走行の不規則化が認められたのではないかと考えられる。岩永 (1989)⁶⁾、高野 (1990)⁸⁾、木下 (1987)⁴²⁾らは活性型VD₃の投与により骨梁がやや細くなる変化を認めている。この報告からも血清Ca調節因子の投与によって下顎頭の構造的変化がもたらされることが如実に示されており、破骨細胞の活性化因子としても作用する活性型VD₃をCTあるいはCaの多量投与と組み合わせることでさらに虚弱骨の回復が効果的になされるのではないかとと思われる。

4. 走査電子顕微鏡所見

下顎頭は軟骨内骨化によって形態的および構造的に成長する器官である。下顎頭の成長は他の部位に起こる軟骨内化骨に比較して比較的長期にわたり、その成長の方向および絶対量は基質的要因および環境要因、いわゆるfunctional matrixに左右される器官であると考えられている。下顎頭が成長していく環境要因には栄養、運動等が考えられる。これらの変化による下顎頭の受ける影響について過去の研究者の報告^{2, 6-9, 30, 37, 42)}を見ると、下顎頭軟骨層における変化およびそれに続く骨梁の変化が認められている。軟骨小腔内の石灰化球の微細構造がその石灰化度と関係し⁴³⁾、骨格の成長において石灰化軟骨のみが新生骨と置換することができる³⁴⁾ことを考慮すると、軟骨層における石灰化球の状態およびそれによって形成されていく縦走基質と軟骨層の蜂巢状構造さらに下部の骨梁の構造に変化が生じることは理解できる。

また、骨は石灰化した細胞外マトリックスから構成されている。そのため骨吸収には、石灰化した細胞外マト

リックスの脱灰が起こり、次いで主に I 型コラーゲンよりなる細胞外マトリックスを分解するという過程がある⁴⁴⁾。骨代謝回転の引き金になるのは破骨細胞の活性化である⁴⁰⁾。本実験では破骨細胞にレセプターの存在する ECT を Ca の多量投与と併用しており、この骨代謝回転に対して何らかの影響があったことはエックス線学的所見、X 線マイクロアナライザーの所見、病理組織学的所見から明らかなところである。本実験における各群の軟骨層を観察したところ、そのいずれについても藤本 (1982)⁴⁵⁾、Boyde (1972)⁴⁶⁾ が観察した球状構造物と同じであろうと思われる石灰化球が認められた。しかしながら、その癒合の状態および縦走基質の走行状態は各群で異なっていた。対照群では石灰化球は相互に癒合し平滑な軟骨小腔壁を形成しており、縦走基質もそれに伴って太く明瞭に認められたのに対して、Ca 欠乏食群の石灰化球相互の癒合は最も弱く縦走基質および軟骨小腔窩底には断裂している部分が多く認められた。Ca 欠乏食・高 Ca 食群および Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群では、前者 2 群の中間程度の癒合状態となっていた。藤本 (1982)⁴⁵⁾ は球状構造物がしだいに癒合し縦走基質を形成することを観察している。また、鈴木ら (1979)⁴⁷⁾ は、骨小腔壁を走査電顕によって観察し球状構造物と小腔壁との関連性が様でなく一部分が癒合しているものや、そのほとんどが癒合しているものなど基質形成のさまざまな段階を観察している。このような変化が石灰化および基質形成における成熟過程だと考えれば、本実験において走査電顕的に最も成熟しているのは対照群であり、続いて Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群、Ca 欠乏食・高 Ca 食群、Ca 欠乏食群の順である。しかし X 線マイクロアナライザーの分析によれば Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群は対照群と同等の石灰化を呈しており走査電顕所見とは矛盾が見られる。すなわち構造的には劣っているにもかかわらず、その骨ミネラルはほとんど同レベルかそれ以上に達している。石灰化基質の主要成分はハイドロキシアパタイトであるが、このハイドロキシアパタイトの結晶は石灰化の初期では、ある程度の大きさまでしか成長しないことが結晶学的に知られている⁴⁸⁾。藤本 (1982)⁴⁵⁾ は、持続的な添加性の石灰化には結晶化を進める場と因子が必要ではないかと推論している。さらに Jaeger ら (1986)⁴⁹⁾ は、甲状腺副甲状腺摘出後のラットに標準食を与えながら CT を長期投与 (14 日間) した場合と、Ca 欠乏食を与えながら CT を長期間投与 (14 日間) する実験を行っている。その結果、標準食群に血清 1.25 (OH)₂D₃ レベルの上昇と同時に CT の作

用とは一見相いれない血清 Ca レベルの上昇を認めている。さらに彼は、Ca 欠乏食群の血清 1.25 (OH)₂D₃ レベル、および血清 Ca レベルに変化がなかったことや、Paget 病に対する CT 長期投与によっても血清 Ca レベルの低下が見られないことを挙げ、標準食群における血清 Ca レベルの上昇原因は CT 投与による血清 1.25 (OH)₂D₃ レベル上昇による腸管 Ca 吸収の増加であると推論している。

これらの報告から、本実験では Ca の多量投与により腸管内 Ca 濃度が上昇し、それにともない受動輸送が増加し、くわえて ECT の持続的な長期投与によって認められる 1.25 (OH)₂D₃ レベル上昇による能動的 Ca 吸収増加が相乗的に作用することで結晶化推進の場、あるいは因子が与えられ、骨ミネラルの増加につながったと考ええる。

骨梁表面の観察では ECT を使用した、Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群で骨吸収像がほとんど認められなかった。したがって本実験でも ECT の効果は実験終了時まで継続していると思われ、Lausson ら (1990)⁴¹⁾ の報告を裏づける結果が得られた。病理組織学的所見と同様に ECT 使用群の骨梁の走行状態は、対照群および Ca 欠乏食・高 Ca 食群に比較するとやや不規則であった。また Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群の骨梁表面のコラーゲン線維の走行状態、密度、吻合状態は対照群に比較すると劣っていた。

総合的に見て下顎頭の構造的には、走査電顕所見からは藤田ら (1990)¹⁷⁾、Mazzuoli ら (1989)³²⁾、Ito ら (1987)²⁵⁾、Farley ら (1988, 1989)^{26, 27)} が報告しているような CT の骨形成促進効果を思わせる明かな結果は得られなかった。しかしながら Ettinger ら (1987)²⁰⁾ の報告では、閉経期の骨梁減少に対しては Ca 投与単独では効果が認められなかったものの極低用量のエストロゲンとの併用で骨量減少に対して効果が認められており、また高野 (1990)⁸⁾ は、VD₃ と標準食との併用で骨梁の構造的回復を認めている。本実験の Ca 欠乏食・高 Ca 食・ECT 群では骨ミネラルは対照群とほぼ同レベルまで増加し回復が得られたが、構造的にはいまだ対照群には劣るものであった。今後、VD₃、エストロゲン等、他の物質やその投与量の工夫あるいは Ca 多量投与との組み合わせによって、よりよい骨構築がなされていくであろうと思われる。

結 論

生後 3 週齢の Wistar 系雄ラットに Ca 欠乏食を 3 週

間与え骨虚弱状態を惹起させた後、高Ca食およびエルカトニン（ECT）投与を3週間行い、下顎頭における骨構築促進効果を、X線学的、X線マイクロアナライザーによる定量分析、病理組織学的および走査電子顕微鏡学的に検索し次のような結果を得た。

1. X線学的所見

対照群と比較してCa欠乏食群の下顎頭は形態的に小さく、表層の骨層および骨梁のX線不透過性は弱く骨梁の走行も不規則であった。Ca欠乏食・高Ca食群では、表層の骨層および骨梁のX線不透過性はCa欠乏食群よりも強くなり、骨梁の走行も規則的になっていた。Ca欠乏食・高Ca食・ECT群では、表層の骨層および骨梁のX線不透過性はさらに強くなり、対照群に近い状態であった。

2. X線マイクロアナライザーによる分析所見

下顎頭における骨梁の定量分析をCaおよびPについて行ったところ、Ca量についてはCa欠乏食群が著しく低い値を示し、対照群とCa欠乏食・高Ca食群およびCa欠乏食・高Ca食・ECT群の間には大きな差は認められなかった。P量についてみると対照群が最も高値を示し、次いでCa欠乏食・高Ca食・ECT群、Ca欠乏食・高Ca食群の順で、Ca欠乏食群が著しく低い値を示した。さらに定量分析結果から各群におけるCa量とP量の割合〔Ca/(Ca+P)%, P/(Ca+P)%〕ならびに対照群と比較した相対Ca量比（Ca/[Ca]c）および相対P量比（P/[P]c）を求めた。（Ca/[Ca]c）は、Ca欠乏食・高Ca食・ECT群が対照群とほぼ同等の高い値を示し、Ca欠乏食・高Ca食群、Ca欠乏食群は低値を示した。（P/[P]c）についてみると各群ともに対照群よりも低い値を示した。（Ca/[Ca]c）、（P/[P]c）ともにCa欠乏食群において著しく低値を示していた。

3. 病理組織学的所見

対照群と比較してCa欠乏食群では、肥大帯の増殖による軟骨層の拡大が著しく認められた。骨梁のほとんどは低石灰化状態であり、幅は狭く無秩序に走行していた。Ca欠乏食・高Ca食群では肥大帯軟骨層がCa欠乏食群に比べ狭くなり、軟骨吸収細胞による侵食所見も活発に認められた。骨梁は規則性を増しているが、対照群と比較するとその幅は細い。Ca欠乏食・高Ca食・ECT群では、軟骨層の幅はさらに狭い。骨梁はさらに太くなっているものの、その走行状態は対照群と比較するとやや不規則であった。

4. 走査電子顕微鏡学的所見

各群の軟骨小腔壁には石灰化球が観察されたが、その

癒合状態はCa欠乏食群が最も弱く、縦走基質の断裂が多く認められた。Ca欠乏食・高Ca食群、Ca欠乏食・高Ca食・ECT群ともに石灰化球相互の癒合状態はCa欠乏食群と比較して強くなっているが対照群と比較すると不完全で、部分的に縦走基質の断裂が認められた。骨梁を観察すると対照群では骨吸収部および形成部ともに認められ、コラーゲン原線維束が規則的に走行していた。Ca欠乏食群では骨吸収部分が増加し、コラーゲン原線維網が豊富に分布していた。Ca欠乏食・高Ca食群では骨基質が多くなり、一部を除いてコラーゲン原線維束も一定方向に走行していた。Ca欠乏食・高Ca食・ECT群では骨小腔が多数認められるようになり、周囲基質はコラーゲン原線維束で形成され、表層部にはコラーゲン原線維網が認められた。骨細管は明瞭な部分と不明瞭な部分が認められた。

以上のことから、実験的骨虚弱状態を呈するラットの下顎頭に対して、高Ca食、ECTを併用することにより石灰化軟骨の形成が促進され、その後の骨成長に対しても促進効果が認められることが明らかとなった。

稿を終るにあたり、終始日夜を問わず懇篤なるご指導ならびにご校閲の労を賜った恩師木村光孝教授に深甚なる感謝の意を捧げます。また実験にご協力頂いた九州歯科大学小児歯科学教室の各位に深く感謝致します。

参考文献

- 1) 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年度版）。第一出版，東京，1987。
- 2) 竹島 勇：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—とくに下顎頭に及ぼす影響—。九州歯会誌 41：1025-1051，1987。
- 3) 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。
- 4) 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D₃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。
- 5) 森高久恵：活性型ビタミンD（1 α -OH-D₃）の歯槽骨に及ぼす影響に関する実験的研究。九州歯会誌 41：122-147，1987。
- 6) 岩永典人：実験的骨粗鬆症に対する活性型ビタミンD₃の影響に関するX線的、光顕的ならびに電顕的研究—とくに成長期下顎頭の変化—。九州歯会誌 43：226-262，1989。
- 7) 大倉秀一郎：ビタミンDの成長期下顎頭に及ぼす影響に関する実験的研究。九州歯会誌 44：1-38，1990。
- 8) 高野 治：虚弱骨に対する生理活性物質の影響に関するX線的、光顕的ならびに電顕的研究—とくに下顎頭の変

- 化一. 九州歯会誌 44: 890-919, 1990.
- 9) 渡辺尚海: 成長期顎骨の実験的骨粗鬆症に対するカルシウムの影響に関する研究—とくに下顎頭の変化—. 九州歯会誌 44: 310-342, 1990.
 - 10) 黄本恒裕: 実験的骨粗鬆症に対するカルシウムの影響に関する X 線学的ならびに病理組織学的研究—とくに成熟期の歯槽骨—. 九州歯会誌 44: 556-581, 1990.
 - 11) 兼松重幸: 成人における各種食品中のカルシウム利用ならびにカルシウム所要量に関する研究. 栄養と食糧 6: 47-59, 1953.
 - 12) 木村光孝, 西田郁子, 牧 憲司, 加来昭典, 矢野目鎮照, 高橋由丈, 松田容士子: 虚弱骨に対する食餌の影響に関する実験的研究—とくに下顎骨について—. 小児歯誌 28: 949-955, 1990.
 - 13) Hirsch, P. F., Gauthier, G. F. and Munson, P. L.: Thyroid hypocalcemic principle and recurrent laryngeal nerve injury as factors affecting the response to parathyroidectomy in rats. Endocrinol. 73: 244-252, 1963.
 - 14) 橋本 淳, 高岡邦夫, 小野啓郎: 骨粗鬆症のホルモン療法. 薬局 41: 191-195, 1990.
 - 15) 萩野幹夫: カルシトニンの薬理作用と臨床応用, 骨 Paget 病のカルシトニンによる治療. 骨・関節・靱帯 4: 817-822, 1991.
 - 16) Feldman, J. and Raisz, L. G.: Thyrocalcitonin: Inhibitor of bone resorption in tissue culture. Science 150: 1465, 1965.
 - 17) 藤田拓男, 井上哲朗, 折茂 肇, 高橋英明, 森田陸司, 山室隆夫, 山本吉蔵, 吉川靖三: 骨粗鬆症に対するエルカトニンの効果プラセボを対照薬とした多施設二重盲検比較試験. 医学のあゆみ 152: 261-282, 1990.
 - 18) Nicholson, G. C., Moseley, J. M., Sexton, P., Mendelsohn, F. A. O. and Martin, T. J.: Abundant calcitonin receptors in isolated rat osteoclasts. Biochemical and autoradiographic characterization. J. Clin. Invest. 78: 335-360, 1986.
 - 19) Horsman, A., Gallagher, J. C., Simpson, M. and Nordin, B. E. C.: Prospective trial of estrogen and calcium in postmenopausal women. Br. Med. J. 24: 789-792, 1977.
 - 20) Ettinger, B., Genant, H. K. and Cann, C. E.: Postmenopausal bone loss is prevented by treatment with low dosage estrogen with calcium. Ann. Inter. Med. 106: 40-45, 1987.
 - 21) Riis, B., Thomsen, K. and Christiansen, C.: Dose calcium supplementation prevent postmenopausal bone loss?. N. Engl. J. Med. 316: 173-177, 1987.
 - 22) 藤田拓男, Janet Lacey: 骨粗鬆症患者の日米の栄養摂取比較. Pharma Medica 5: 93-96, 1987.
 - 23) 第4次改定日本人の栄養所要量. 第一出版, 東京, 1989.
 - 24) 橋本敏昭: カルシトニンの成長期顎骨に及ぼす影響に関する実験的研究—とくに下顎頭の変化—. 九州歯会誌 41: 886-915, 1987.
 - 25) Ito, N., Yamazaki, H., Nakazaki, M., Miyasita, T., Kozuka, H. and Sudo, H.: Response of osteoblastic clonal cell line (MC3T3-E1) to $[Asu^{1-7}]$ eel calcitonin at a specific cell density or differentiation stage. Calcif. Tissue Int. 40: 200-205, 1987.
 - 26) Farley, J. R., Tarbauk, N. M., Vermeiden, J. P. W. and Baylink, D. J.: *In vitro* evidence that local and systemic skeletal effectors can regulate $^3[H]$ -Thymidine incorporation in chick calvarial cell cultures and modulate the stimulatory actions (s) of embryonic chick bone extract. Calcif. Tissue Int. 42: 23-33, 1988.
 - 27) Farley, J. R., Hall, S. L. and Tarbauk, N. M.: Calcitonin (But not calcitonin gene-related peptide) increases mouse bone cell proliferation in a dose-dependent manner, and increases mouse bone formation, alone and in combination with fluoride. Calcif. Tissue Int. 45: 214-221, 1989.
 - 28) 藤本 誠, 谷内良弘, 滝口励司: 下顎頭軟骨のエネルギー分散 X 線分析. 歯基礎誌 22: 412-417, 1980.
 - 29) 藤本 誠, 後藤 清, 滝口励司: 下顎頭軟骨のエネルギー分散型 X 線分析と走査電子顕微鏡的観察. 解剖誌 56: 72-78, 1981.
 - 30) 陳 溢宮: 成長期顎骨とカルシウム摂取に関する実験的研究—とくに下顎頭の変化—. 九州歯会誌 43: 710-745, 1989.
 - 31) 柳 進士: 成熟期顎骨とカルシウム摂取に関する X 線学的ならびに病理組織学的研究. 九州歯会誌 45: 353-376, 1991.
 - 32) Mazzuoli, G. F., Passeri, M., Gennari, C., Minisola, S., Antonelli, R., Valtorta, C., Palummeri, E., Cervellini, G. F., Gonnelli, S. and Francini, G.: Effect of salmon calcitonin in postmenopausal osteoporosis: a controlled double blind study. Calcif. Tissue Int. 38: 3-8, 1989.
 - 33) 小澤英浩: 骨芽細胞と破骨細胞の細胞連関. ホルモンと臨床 38: 415-421, 1990.
 - 34) 新美仁男: カルシトニンと骨成長. 骨・関節・靱帯 4: 587-591, 1991.
 - 35) Kato, Y., Shimazu, A., Nakashima, K., Suzuki, F., Jikko, A. and Iwamoto, M.: Effect of parathyroid hormone and calcitonin on alkaline phosphatase activity and matrix calcification in rabbit growth-plate chondrocyte cultures. Endocrinology 127: 114-118, 1990.
 - 36) 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—とくに下顎頭について—. 九州歯会誌 41: 102-121, 1987.
 - 37) 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.
 - 38) 土屋 裕, 古藤しのぶ, 横山哲夫, 長谷川行洋, 長谷川泰延: 発育期のカルシウム摂取と腸管吸収. The Bone

- 4 : 45-55, 1990.
- 39) 古田佳久, 高橋栄明: 骨粗鬆症の病態生理と臨床診断. *Medicina* 25 : 1548-1551, 1988.
- 40) 林 泰史: 骨粗鬆症とカルシトニン. 骨・関節・靱帯 4 : 649-658, 1991.
- 41) Lausson, S., Tracqui, P., Toubiana, L., Milhaud, G., Perault-Staub, A. M. and Staub, J. F. : Reagulation of plasma calcium and phosphate in calcitonin-infused rats. *Am. J. Physiol.* 259 : E 370-377, 1990.
- 42) 木下孝昭: 活性型ビタミン D (1α -OH-D₃) の成長期顎骨に及ぼす影響に関する実験的研究—とくに下顎頭の変化—. 九州歯会誌 41 : 593-622, 1987.
- 43) Bonucci, E. : Fine structure of early cartilage calcification. *J. Ultrast. Res.* 20 : 33-50, 1967.
- 44) 森下 肇, 富田勝郎, 土屋弘行, 五之治行雄: 骨腫瘍とカルシトニン—骨腫瘍の骨破壊機序とカルシトニン療法—. 骨・関節・靱帯 4 : 684-688, 1991.
- 45) 藤本 誠: 下顎頭軟骨基質の石灰化についての走査電子顕微鏡的観察. 歯基礎誌 24 : 62-71, 1982.
- 46) Boyde, A. : Scanning Electron Microscope Studies of Bone : In the biochemistry and physiology of bone (ed. by Bourne, G. H.). Academic Press, New York and London, 1972, 259-310.
- 47) 鈴木いくよ, 後藤 清, 後藤周二, 滝口励司: 骨小腔壁の走査電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌 21 : 622-628, 1979.
- 48) Anderson, H. C. : Electron microscopic studies of induced cartilage development and calcification. *J. Cell Biol.* 35 : 81-101, 1967.
- 49) Jaeger, P., Jones, W. and Hayslett, J. P. : Evidence that calcitonin stimulates 1, 25-dihydroxy vitamin D Production intestinal absorption of calcium *in vivo*. *J. Clin. Invest.* 78 : 456-461, 1986.