成長期の虚弱下顎骨における食餌療法に関する X 線的, 光顕的および超微形態的研究 — 骨基質形成 —

斎 藤 朗

九州歯科大学小児歯科学講座 (指導: 木村光孝教授)

平成 9 年 12 月 25 日受理

Radiographic, Microscopic and Ultrastructural Study on Dietary Treatment of Mandibular Bone Loss at Growth Stage: Formation of Bone Matrix

Akira Saito

Department of Pediatric Dentistry (Director: Prof. Mitsutaka Kimura)
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

There have scarcely been reports on bone matrix formation after dietary treatment of mandibular bone loss resulting from inadequate calcium intake at growing age. Here we present the study on bone matrix formation of mandible after calcium-containing supplements, for bone loss from calcium deficiency and low calcium feeding, using male Wistar rats of 3 and 6 weeks of age, corresponding to weaning period and school childhood in human beings respectively.

I. Body weight

Calcium deficiency group showed lower values in 3 weeks of age, compared with control group ($p < 0.05$). No significant difference was revealed between 6-week-old groups, which showed increased values over 3-week group.

II. Radiographic bone density

Calcium deficiency and low calcium groups showed significantly lower density than control group ($p < 0.01$ and $p < 0.05$ respectively) in 3-week-old groups. No difference was demonstrated significantly among the 6-week groups, which showed higher values than 3-week groups.

III. Radiographic microanalysis

Calcium was revealed higher in density than phosphorus in area analysis of characteristic radiogram in both 3 and 6 weeks of age.

IV. Histopathologic findings

3-week-old

As compared with calcium deficiency group, low calcium group showed increased lamellar

bone and remodeling layers; but it was revealed that lamellar bone and osteocytic lacunae decreased significantly, arranged irregularly, and bone marrow cavity was enlarged.

6-week-old

Low calcium group showed identical bundle bone structure as in control group, regularly-arranged lacunae, thickened compact bone, and decreased lamellar bone.

V. Scanning electronic microscopic findings

3-week-old

Collagen fibrils were shown to be scarce, and resorptive zone abundant in calcium deficiency and low calcium group, comparing with control group.

6-week-old

Bone formation was revealed more than resorption in low calcium group, with collagen fibrils arranged in regular direction, compared with that in control group. Decreased bone formation was identified where the trabeculae were scarce.

VI. Hemotologic findings

3-week-old

Calcium deficiency and low calcium groups showed decreased serum calcium compared with control group ($p < 0.05$).

6-week-old

As compared with control group, GPT was shown elevated in calcium deficiency and low calcium group ($p < 0.05$); and CPK elevated in low calcium group ($p < 0.05$). No significant difference was found at endocrinological examination in both 3- and 6-week groups.

On the basis of these results, it was shown that calcium-containing dietary treatment could not contribute to the bone construction adequately in calcium intake insufficiency circumstances during weaning and schoolchild period.

Key words: Growth stage / Mandibular bone loss / Dietary treatment / Bone matrix / Rat

緒 言

成長発育の小児期の中でも特に乳歯の萌出を開始する離乳期と永久歯が萌出する混合歯列期にあたる学童期の食生活は重要な意義がある。離乳期についてみると、離乳は一般的には満4～5ヵ月からの開始し、生後1歳頃には完了するのが目標である。特に栄養学的な観点から離乳食の特徴は、9ヵ月頃から満1歳頃には離乳完了のケースが多く、この時期は細菌に対する抵抗力も弱く、衛生面で安全性が要求されることである。咀嚼機能の面から考えると離乳期は「口唇を使用する（口唇を閉じて飲み込む）」→「舌を使用する（前後運動で食物をつぶす）」→「歯ぐきを使用する（舌の左右運動）」→「乳歯の萌出による歯を使用する（咀嚼の基本ができる）」の順

で緩やかな咀嚼の発達を中心に十分な学習をさせる重要な時期である。

学童期についてみると、最も大切なことは学校教育で、しかも成長期の中で最も安定した時期ということである。日常生活の中で食習慣が身についてくる時期でもあるため十分な生活習慣を確立することが要求される。

このような流れの中で下顎骨の成長は、後天的環境要因として日常の食生活の中では第二次性徴期の大きく変化する時期までに十分量のカルシウムを骨に貯え最大骨量にしておかなければならない。そのためにはバランスのとれた食餌療法が必要となってくる。そこで離乳期と学童期にカルシウム不足に陥入ると成長期の下顎骨の骨基質形成にどのような影響を及ぼすか、また虚弱骨に対してカルシウムを含有したバランスのとれた食餌療法を

行うことによって骨の回復、いわゆる骨構築状態はどのように変化するかを、著者はヒトの離乳期および学童期に相当するラットを用いて、カルシウム欠乏食および低カルシウム食を与えて虚弱骨を惹起させたのち、カルシウムを含有した標準食に切り換え、下顎骨の骨基質形成

に及ぼす影響について実験的に観察を行った結果、いささかの知見を得たので報告する。

材料ならびに方法

生後3週齢(体重45g前後)と生後6週齢(体重

Table 1-1 Composition of experimental diets

	Control group	
Ingredients (%)	β -corn starch	38.0
	Vitamin-free casein	25.0
	α -potato starch	10.0
	Cellulose powder	8.0
	Soy bean oil	6.0
	Mineral mixture	6.0
	Granulated sugar	5.0
	Vitamin mixture	2.0
Mineral mixture (per 100 g)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	14.56 g
	KH_2PO_4	25.72 g
	Na_2HPO_4	9.35 g
	NaCl	4.66 g
	Ca-lactate	35.09 g
	Fe-citrate	3.18 g
	MgSO_4	7.17 g
	ZnCO_3	0.11 g
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4-5\text{H}_2\text{O}$	0.12 g
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.03 g
	KI	0.01 g
Vitamin mixture (per 100 g)	Vitamin A · acetate	50000 IU
	Vitamin D ₃	10000 IU
	Vitamin E · acetate	500 mg
	Vitamin K ₃	520 mg
	Vitamin B ₁ · HCl	120 mg
	Vitamin B ₂	400 mg
	Vitamin B ₆ · HCl	80 mg
	Vitamin B ₁₂	0.05 mg
	Vitamin C	3000 mg
	D-biotin	2 mg
	Folic acid	20 mg
	Calcium pantothenate	500 mg
	<i>p</i> -aminobenzoic acid	500 mg
	Nicotinic acid	600 mg
	Inositol	600 mg
	Choline chloride	20000 mg
	Cellulose	ect.

Table 1-2 Composition of experimental diets

	Ca-deficient diet group	
Ingredients (%)	β -corn starch	38.0
	Vitamin-free casein	25.0
	α -potato starch	10.0
	Cellulose powder	8.0
	Soy bean oil	6.0
	Mineral mixture	6.0
	Granulated sugar	5.0
	Vitamin mixture	2.0
Mineral mixture (per 100 g)	NaCl	4.680 g
	MgSO ₄	7.187 g
	Na ₂ HPO ₄	9.380 g
	KH ₂ PO ₄	28.333 g
	K ₂ HPO ₄	9.550 g
	Fe-citrate	3.187 g
	KI	5.50 mg
	ZnCl ₂	104.25 mg
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	32.75 mg
	MnSO ₄ · 4-5H ₂ O	128.17 mg
	Cellulose	ect.
Vitamin mixture (per 100 g)	Vitamin A · acetate	50000 IU
	Vitamin D ₃	10000 IU
	Vitamin E · acetate	500 mg
	Vitamin K ₃	520 mg
	Vitamin B ₁ · HCl	120 mg
	Vitamin B ₂	400 mg
	Vitamin B ₆ · HCl	80 mg
	Vitamin B ₁₂	0.05 mg
	Vitamin C	3000 mg
	D-biotin	2 mg
	Folic acid	20 mg
	Calcium pantothenate	500 mg
	p -aminobenzoic acid	500 mg
	Nicotinic acid	600 mg
	Inositol	600 mg
	Choline chloride	20000 mg
	Cellulose	ect.

160 g 前後) の Wistar 系雄ラット 30 匹を使用した。

対照群 (I): 生後 3 週齢のラットを標準飼料 (オリエンタル酵母) と水道水で 6 週間飼育した。

カルシウム欠乏食群 (I): 生後 3 週齢のラットを A 食変型カルシウム欠乏食飼料 (オリエンタル酵母) と蒸

留水で 3 週間飼育後、標準飼料にきりかえ 3 週間飼育した。

低カルシウム食群 (I): 生後 3 週齢のラットを A 食変型低カルシウム飼料 (30%) と水道水で 3 週間飼育後、標準飼料にきりかえ 3 週間飼育した。

Table 1-3 Composition of experimental diets

	Ca-low deficient diet group	
Ingredients (%)	β -corn starch	37.64
	Vitamin-free casein	25.00
	α -potato starch	10.00
	Cellulose powder	8.00
	Soy bean oil	6.00
	Mineral mixture	6.00
	Granulated sugar	5.00
	Vitamin mixture	2.00
	CaCO ₃	0.36
Mineral mixture (per 100 g)	NaCl	4.680 g
	MgSO ₄	7.187 g
	Na ₂ HPO ₄	9.380 g
	KH ₂ PO ₄	28.333 g
	K ₂ HPO ₄	9.550 g
	Fe-citrate	3.187 g
	KI	5.50 mg
	ZnCl ₂	104.25 mg
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	32.75 mg
	MnSO ₄ · 4-5H ₂ O	128.17 mg
	Cellulose	ect.
Vitamin mixture (per 100 g)	Vitamin A · acetate	50000 IU
	Vitamin D ₃	10000 IU
	Vitamin E · acetate	500 mg
	Vitamin K ₃	520 mg
	Vitamin B ₁ · HCl	120 mg
	Vitamin B ₂	400 mg
	Vitamin B ₆ · HCl	80 mg
	Vitamin B ₁₂	0.05 mg
	Vitamin C	3000 mg
	D-biotin	2 mg
	Folic acid	20 mg
	Calcium pantothenate	500 mg
	ρ -aminobenzoic acid	500 mg
	Nicotinic acid	600 mg
	Inositol	600 mg
	Choline chloride	20000 mg
	Cellulose	ect.

対照群 (Ⅱ): 生後 6 週齢のラットを標準飼料 (オリエンタル酵母) と水道水で 6 週間飼育した。

カルシウム欠乏食群 (Ⅱ): 生後 6 週齢のラットを A 食変型カルシウム欠乏食飼料 (オリエンタル酵母) と蒸

留水で 3 週間飼育後, 標準飼料にきりかえ 3 週間飼育した。

低カルシウム食群 (Ⅱ): 生後 6 週齢のラットを A 食変型低カルシウム飼料 (30 %) と水道水で 3 週間飼育

Table 1-4 The origin of the element content from the mineral mixture (mg/100 g)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
Ca	480	0.01	144
P	650	612	612
Mg	87	87	87
Na	220	293	293
K	440	746	746
Fe	32	32	32
Cu	0.46	0.5	0.5
Zn	3.4	3.0	3.0
Mn	1.6	2.6	2.6
I	0.46	0.3	0.3
Cl	170	174	174

後、標準飼料にきりかえ3週間飼育した。

なお、飼料の成分は当教室の本研究用に配合されたもので、その構成成分はTable 1-1～1-4に示す通りである。

飼育期間中は毎日体重測定を行った。

全ての実験群は6週間飼育後、pentobarbital sodium（ネンブータル、大日本製薬）を腹腔内に注射後、深麻酔下にて安楽死させた。直ちに下顎骨を採取し、10%中性ホルマリン液で固定した。固定後の下顎骨は左右に分けてSoftex typeのCSM（ESM-2、ソフテックス）を用いて管電圧35 kVp、管電流5 mA、撮影時間60秒、焦点・フィルム間距離70 cmの条件下で、軟X線撮影を行った。軟X線撮影にあたっては軟X線フィルム（Fuji softex film FG）にアルミニウムステップを貼って撮影した。

軟X線写真により肉眼的観察を行い、マイクロフォトメーター（デンスitomーター PDS-15、コニカ）を用いて骨塩量の測定を行った。測定方法は、光速スリット幅10×500 μm、光速スリットのスピード0.1 mm/secで行った。測定方向は、下顎下縁より歯槽骨へ走査し scanning patternを描出した。測定の際に scanning directionを250 μmずつ平行移動させ3か所の scanning patternを取り、そのピーク値の平均値を骨塩量とした。

エネルギー分散型X線マイクロアナライザー（SED 800、セイコー EG&G）を用いて、下顎骨におけるCaとPについて面分析からは特性X線像による同一骨梁内の濃度を調べた。

光学顕微鏡的検索にあたって、試料は5%硝酸脱灰し、セロイジン包埋後、前額断で15 μm連続切片標本を

作製し、ヘマトキシリン・エオジン重染色を施し鏡検した。

走査型電子顕微鏡的検索については、下顎骨を形態的に観察するため切断し、phosphate buffer (pH 7.2) に浸し、超音波洗浄器にて十分洗浄した後2.5% glutaraldehydeで1時間浸漬固定した。さらに phosphate bufferにて洗浄し、後固定として4℃の1% osmic acid (phosphate buffer, pH 7.2) で約2時間浸漬した。固定後の試料は8～10%次亜塩素酸ナトリウムを用いて骨表面を露出させ流水下にて洗浄した。脱水は上昇 ethanol 系列にて行い、2-Methyl-2-propanolで置換し、凍結乾燥機（ID-2型、エイコーエンジニアリング）にて臨界点乾燥を行った。その後、イオンスパッタ（JFC-1100、日本電子）を用いて、試料表面にAu coatingを行い、走査型電子顕微鏡（JSM T-300、日本電子）で観察を行った。

血液検査は、血液中のCa、P、Ca/P、Na、K、Clなどの電解質、CPK、LDH、ALP、GOT、GPTなどの生化学検査およびC-PTH、N-PTH、Calcitonin、1,25(OH)₂D₃などの内分泌機能検査を行い、F検定により有意差を求めた。

以上の動物実験は「九州歯科大学における動物実験に関する指針」に従って行った。

結 果

I. 体重

3週齢では対照群に比べカルシウム欠乏食群が有意に低値を示した（ $p<0.05$ ）。6週齢では対照群に比べカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群の間には有意差

Table 2-1 Differences of body weight between the control group and the experimental group (g)

	Pre-ex	6th week
Control group (age of 3 weeks)	42.67±1.66	321.38±13.19
Control group (age of 6 weeks)	159.73±1.60	409.81±19.66
Ca-deficient diet group (age of 3 weeks)	42.43±1.57	253.19±21.10
Ca-deficient diet group (age of 6 weeks)	159.72±1.61	419.26±33.59
Ca-low deficient diet group (age of 3 weeks)	45.67±0.69	307.49±26.06
Ca-low deficient diet group (age of 6 weeks)	160.38±2.33	438.24±28.45

Table 2-2 Differences of body weight between the control group and the experimental group

	1 ⇔ 2	1 ⇔ 3	2 ⇔ 3
Age of 3 weeks	*	—	—
Age of 6 weeks	—	—	—

*: p<0.05

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

Table 2-3 Differences of body weight between the control group and the experimental group

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
Age of 3 weeks × Age of 6 weeks	**	**	**

**: p<0.01

は認められなかった。3週齢と6週齢を比べると、全ての群において6週齢が体重の増加が認められた (Table 2-1 ~ 2-3)。

II. X線学的所見

A. 軟X線写真による肉眼的観察

1. 歯槽骨およびオトガイ部

3週齢

対照群

歯槽骨はほぼ均一な厚さを保って切歯を覆っている。歯槽骨中央部には所々に骨梁が疎な部分も認められX線透過像として認められる。オトガイ部ではオトガイ隆

起の発達がみられる。全体的に骨梁は緻密に配列しX線不透過像が認められる (Fig. 1)。

カルシウム欠乏食群

対照群と同様に歯槽骨の成長はみられるが、骨梁は顕著に疎な状態でX線透過像の範囲が広く認められる。オトガイ部では対照群に比べ厚さの減少が認められる。骨梁の配列も不規則で数の減少がみられる。さらにオトガイ隆起の発達が減少している (Fig. 2)。

低カルシウム食群

対照群と同様に歯槽骨の厚さはほぼ均一性を保っている。カルシウム欠乏食群に比べ骨梁の部分は緻密となり

Fig. 1 Radiogram of the 6th week.
Control group (age of 3 weeks)
Arrow: Alveolar bone

Fig. 4 Radiogram of the 6th week.
Control group (age of 6 weeks)
Arrow: Alveolar bone

Fig. 2 Radiogram of the 6th week.
Ca-deficient diet group (age of 3 weeks)
Arrow: Alveolar bone

Fig. 5 Radiogram of the 6th week.
Ca-deficient diet group (age of 6 weeks)
Arrow: Alveolar bone

Fig. 3 Radiogram of the 6th week.
Ca-low deficient diet group (age of 3 weeks)
Arrow: Alveolar bone

Ⅴ線不透過像が顕著となっている。オトガイ部ではカルシウム欠乏食群に比べ明らかに骨層の厚さは全体的に増加している。オトガイ隆起の発達も回復し対照群と同様な所見としてみられる。X線透過性は減少している (Fig. 3)。

6 週齢

対照群

3 週齢に比べ歯槽骨全体は大幅に厚さが増加し均一な幅を保って切歯を覆っている。骨梁は緻密で規則正しい配列を示している。オトガイ隆起もよく発達し、全体的に X 線不透過性の像として顕著に認められる (Fig. 4)。

カルシウム欠乏食群

3 週齢に比べ対照群と同様に骨層全体は大幅に厚さの増加がみられる。歯槽骨には部分的に疎な部分も存在

Fig. 6 Radiogram of the 6th week.
Ca-low deficient diet group (age of 6 weeks)
Arrow: Alveolar bone

し、その周囲は骨梁が不規則に認められる。オトガイ部では3週齢に比べオトガイ隆起の発達は促進されているが、対照群に比べると骨梁は不規則で厚さの減少がみられる (Fig. 5).

低カルシウム食群

対照群に比べ歯槽骨の厚さはほぼ同一で均一性を保っている。骨梁も緻密で回復所見が著明であるが、歯槽骨の切端部方向では厚さの減少がみられる。オトガイ部の隆起も対照群と同様な所見を呈し、骨梁は緻密で規則的に配列しているのが明瞭である (Fig. 6).

Ⅲ. 骨塩量

3週齢では対照群とカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群の間に有意差がみられ、カルシウム欠乏食群

Table 3-1 Density of alveolar bone in the equivalent aluminum (mm)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
Age of 3 weeks	1.42 ± 0.17	1.08 ± 0.20	1.21 ± 0.16
Age of 6 weeks	2.51 ± 0.24	2.12 ± 0.35	2.20 ± 0.60

Mean $\pm$ S. D.

Table 3-2 Density of alveolar bone in the equivalent aluminum

	1 $\leftrightarrow$ 2	1 $\leftrightarrow$ 3	2 $\leftrightarrow$ 3
Age of 3 weeks	**	*	—
Age of 6 weeks	—	—	—

** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

Table 3-3 Density of alveolar bone in the equivalent aluminum

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
Age of 3 weeks $\times$ Age of 6 weeks	**	**	**

** : $p < 0.01$

Fig. 7 Characteristic X-ray images of alveolar bone.

Control group (age of 3 weeks)

Fig. 9 Characteristic X-ray images of alveolar bone.

Ca-low deficient diet group (age of 3 weeks)

Fig. 8 Characteristic X-ray images of alveolar bone.

Ca-deficient diet group (age of 3 weeks)

Fig.10 Characteristic X-ray images of alveolar bone.

Control group (age of 6 weeks)

($p < 0.01$) および低カルシウム食群が低値を示した ($p < 0.05$). 6週齢では全ての群において有意差はみられなかった. 3週齢と6週齢を比べると6週齢が全ての群において高値を示した ($p < 0.01$) (Table 3-1 ~ 3-3).

IV. X線マイクロアナライザーによるCa, Pの分析所見

面分析から特性X線像による同一骨梁内で3週齢, 6週齢ともに全ての群において濃度は $Ca > P$ であった (Fig. 7a, b ~ 12a, b).

V. 病理組織学的所見

生後3週齢

対照群

切歯の前額断組織像で全体像をみると、歯槽骨は切歯を中心にして舌側, 中央側, 頬側および唇側歯槽骨からなっている. 舌側歯槽骨は歯根膜に接し, 歯根膜のシャープ線維束で柵状に貫かれている束状骨には, ハバース管はみられず, 骨小腔が整然と歯槽面に並んでいる束状骨に隣接した層板骨には大小の骨髄がみられる. その骨髄を囲んで骨層全体にわたってハバース系がみられ, 骨小腔はハバース管を中心に同心性に配列している海綿骨がみられる. 舌側の歯槽骨が最も厚く, 層板骨の中にヘマトキシリンに濃染された骨の再構築層がみられ, その隣接する部位に骨髄が散在している. 海綿骨に連続した緻密骨の最表層には骨小腔が歯槽骨面に平行に

Fig.11 Characteristic X-ray images of alveolar bone.
Ca-deficient diet group (age of 6 weeks)

Fig.12 Characteristic X-ray images of alveolar bone.
Ca-low deficient diet group (age of 6 weeks)

Fig. 13 Alveolar bone of the 6th week.
Control group (age of 3 weeks)
H·E stain ($\times 20$)
AB: Alveolar bone (lingual)
I : Incisor
BM: Bone marrow

Fig. 14 Alveolar bone of the 6th week.
Control group (age of 3 weeks)
H·E stain ($\times 20$)
AB: Alveolar bone (lingual)
ab : Alveolar bone (labial)
I : Incisor
E : Enamel
EO : Enamel organ

切歯の前額断組織像である (Fig. 19~24). 対照群のものと比べ、歯槽骨の形態には何ら変化はみられないが、海綿骨の部は大幅に骨髓で満たされている。歯根膜に接した束状骨の吸収層は顕著にみられ、一部のシャープー線維束が存在しているが骨小腔が不規則に配列している。層板骨は対照群に比べ大幅に減少している。舌側

Fig. 15 A higher magnification of Fig. 13.
H·E stain (×100)
HS: Haversian system
OL: Osteocytic lacunae
RL: Remodeling layer
BM: Bone marrow

Fig. 17 A higher magnification of Fig. 13.
H·E stain (×100)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber
HS: Haversian system
RL: Remodeling layer

Fig. 16 A higher magnification of Fig. 13.
H·E stain (×100)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber
HS: Haversian system
OL: Osteocytic lacunae
RL: Remodeling layer

Fig. 18 A higher magnification of Fig. 14.
H·E stain (×100)
E : Enamel
EO: Enamel organ
CT: Connective tissue
OL: Osteocytic lacunae

Fig. 19 Alveolar bone of the 6th week.
Ca-deficient diet group (age of 3 weeks)
H·E stain ($\times 20$)
AB: Alveolar bone (lingual)
S : Sharpey's fiber
I : Incisor

Fig. 21 A higher magnification of Fig. 19.
H·E stain ($\times 100$)
HS: Haversian system
RL: Remodeling layer
BM: Bone marrow
OL: Osteocytic lacunae

Fig. 20 Alveolar bone of the 6th week.
Ca-deficient diet group (age of 3 weeks)
H·E stain ($\times 20$)
AB: Alveolar bone (lingual)
ab : Alveolar bone (labial)
I : Incisor
E : Enamel
EO: Enamel organ

Fig. 22 A higher magnification of Fig. 19.
H·E stain ($\times 100$)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber
AB: Alveolar bone (lingual)
RZ: Resorptive zone
NS: Neurovascular space

歯槽骨では骨髓の占める範囲が大きく、骨の再構築層が部分的に散見される。骨小腔は少なく、不規則に配列している。中央側歯槽骨は歯根膜に接する部の束状骨は連続して鋸歯状に吸収され、吸収層は歯根膜に沿って広範囲にみられる。ハバース管を中心に同心性に配列している骨小腔はわずかにみられる程度である。骨小腔は減少し不規則に配列している。頬側歯槽骨の骨層は中央側歯槽骨に比べ厚く形成されているが骨髓の介在もみられ、束状骨は中央側歯槽骨と同様に連続して吸収され、骨小

腔の配列も不規則で少なく、散見される。ハバース管を中心に同心性に配列して骨小腔が散見される。唇側歯槽骨の吸収所見は中央側、頬側歯槽骨に比べ増加し、骨組織には結合組織の介在が多く、骨小腔も大幅に減少し不規則に配列している。

低カルシウム食群

切歯の前額断組織像である (Fig. 25~29)。カルシウム欠乏食群のものと比べ、シャーピー線維束で柵状に貫かれている束状骨は大幅に増加しているが対照群に比べ

Fig. 23 A higher magnification of Fig. 19.

H·E stain (×100)

I : Incisor

S : Sharpey's fiber

RZ : Resorptive zone

OL : Osteocytic lacunae

Fig. 24 A higher magnification of Fig. 20.

H·E stain (×100)

E : Enamel

EO : Enamel organ

OL : Osteocytic lacunae

ると未だ骨小腔は減少している。束状骨に連続した海綿骨における層板骨は増加し、ヘマトキシリンに濃染された骨の再構築層も促進されている。さらに表層部にみられる緻密骨は対照群に比べ骨小腔が減少しているもののほぼ、不規則的に配列しているのが明瞭である。舌側歯槽骨は全般的にハバース管を中心に同心性に配列している骨小腔が増加している。いまだ対照群と比べると、骨髓の拡大もみられるが、ヘマトキシリンに濃染されている骨の再構築層も増加傾向にある。中央側歯槽骨の束状骨には骨芽細胞と破骨細胞がみられる。ヘマトキシリンに濃染された骨の再構築層も促進されている。頬側歯槽

Fig. 25 Alveolar bone of the 6th week.

Ca-low deficient diet group (age of 3 weeks)

H·E stain (×20)

AB : Alveolar bone (lingual)

ab : Alveolar bone (labial)

I : Incisor

E : Enamel

EO : Enamel organ

Fig. 26 A higher magnification of Fig. 25.

H·E stain (×100)

OL : Osteocytic lacunae

RL : Remodeling layer

BM : Bone marrow

HC : Haversian canal

Fig. 27 A higher magnification of Fig. 25.
H·E stain (×100)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber
RZ: Resorptive zone
OL: Osteocytic lacunae
RL: Remodeling layer

Fig. 28 A higher magnification of Fig. 25.
H·E stain (×100)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber
HS: Haversian system
RZ: Resorptive zone
RL: Remodeling layer
BM: Bone marrow

Fig. 29 A higher magnification of Fig. 25.
H·E stain (×100)
E : Enamel
EO: Enamel organ
RZ: Resorptive zone
OL: Osteocytic lacunae

Fig. 30 Alveolar bone of the 6th week.
Control group (age of 6 weeks)
H·E stain (×20)
AB: Alveolar bone (lingual)
S : Sharpey's fiber
I : Incisor

骨の束状骨は連続した大小の吸収所見がみられる。骨髓もみられるが、隣接する部位に骨の再構築層も促進されている。唇側歯槽骨部では結合織に連続して吸収所見がみられ、骨基質面にみられる骨小腔は不規則に配列している。

生後6週齢

対照群

切歯の前額断組織像である (Fig. 30~34)。3週齢対照群と比べ、骨層全体はとくに皮質骨は大幅に厚く形成されているのが明瞭である。舌側歯槽骨の海綿骨は、ハ

Fig. 31 A higher magnification of Fig. 30.

H·E stain (×100)

HS: Haversian system

OL: Osteocytic lacunae

RL: Remodeling layer

BM: Bone marrow

Fig. 33 A higher magnification of Fig. 30.

H·E stain (×100)

E: Enamel

S: Sharpey's fiber

RL: Remodeling layer

BM: Bone marrow

I: Incisor

Fig. 32 A higher magnification of Fig. 30.

H·E stain (×100)

I: Incisor

S: Sharpey's fiber

OL: Osteocytic lacunae

RL: Remodeling layer

Fig. 34 Alveolar bone of the 6th week.

Control group (age of 6 weeks)

H·E stain (×100)

E: Enamel

EO: Enamel organ

OL: Osteocytic lacunae

バース系は大幅に増加し骨小腔も多くなって、ハバース管を中心に同心性に配列し、一部は歯槽面に緻密に配列している。骨髓の所見は縮小し、隣接する骨の再構築層が増加傾向にある。中央側歯槽骨における束状骨は顕著にみられるが、シャープー線維束が緻密に柵状に貫かれている部分と吸収所見が混在している。ハバース系はほとんどみられないが、骨小腔が規則的に配列している。頬側歯槽骨の束状骨に接した歯根膜線維側には脈管神経隙もみられ柵状に貫かれている。層板骨は多く、骨の再構築層は顕著である。骨小腔も増加し、規則的に配列している。唇側歯槽骨で3週齢の対照群に比べ厚くなり骨小腔も大幅に増加し、ほぼ規則的に配列している。疎性結合組織に接した骨層は連続した吸収所見がみられる。

カルシウム欠乏食群

切歯の前額断組織像である (Fig. 35~39)。3週齢のカルシウム欠乏食群のものと比べ、歯槽骨の皮質骨は全体的に大幅に厚くなっている。舌側歯槽骨の海綿骨の部分では、骨髓は拡大しているが3週齢と比べて層板骨が増加し、それに伴ってハバース系の増加も著しく、骨小腔も増加し、ハバース管を中心に同心性に配列しているものと、歯槽面に平行に配列しているのがみられる。さらにヘマトキシリンに濃染されている骨の再構築層が顕著にみられるのが特徴的所見である。骨髓と接する層板骨は吸収によって断裂しているが、厚く形成されている。中央側歯槽骨の束状骨はシャープー線維束で柵状に貫かれているが、シャープー線維束の不明瞭化と走行の不規則性がみられる。骨小腔は増加傾向にあるが不規則

Fig. 35 Alveolar bone of the 6th week.
Ca-deficient diet group (age of 6 weeks)
H·E stain (×20)
AB: Alveolar bone (lingual)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber

Fig. 36 A higher magnification of Fig. 35.
H·E stain (×100)
HS: Haversian system
BM: Bone marrow
OL: Osteocytic lacunae
RL: Remodeling layer

Fig. 37 A higher magnification of Fig. 35.
H·E stain (×100)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber
OL: Osteocytic lacunae

に配列している。骨の再構築層も促進され、大小の類円形、紡錓形、楕円形などの骨小腔が増加している。頬側歯槽骨では、層板骨が厚くなってハバース系の存在もみられ、ハバース管を中心に同心性に配列しているものと歯槽面に配列しているものがみられる。骨の再構築層も

Fig. 38 A higher magnification of Fig. 35.
H·E stain (×100)
RZ: Resorptive zone
BM: Bone marrow
RL: Remodeling layer
I : Incisor

みられ、層板骨の表面に吸収所見も散見される。唇側歯槽骨では、結合組織の介在もみられるが骨小腔は増加している。

低カルシウム食群

切歯の前額断組織像である (Fig. 40~45)。3週齢の低カルシウム食群と比べ、歯槽骨の皮質骨は大幅に厚く、緻密にみられ対照群とほぼ同様な所見を呈している。舌側歯槽骨では、束状骨は対照群とほぼ同様であるが、海綿骨は減少しているのが特徴的所見である。ハ

Fig. 40 Alveolar bone of the 6th week.
Ca-low deficient diet group (age of 6 weeks)
H·E stain (×20)
AB: Alveolar bone (lingual)
I : Incisor
S : Sharpey's fiber

Fig. 39 Alveolar bone of the 6th week.
Ca-deficient diet group (age of 6 weeks)
H·E stain (×100)
I : Incisor
E : Enamel
EO: Enamel organ
AB: Alveolar bone (lingual)

Fig. 41 Alveolar bone of the 6th week.
Ca-low deficient diet group (age of 6 weeks)
H·E stain (×20)
E : Enamel
EO: Enamel organ
I : Incisor

バース系は増加し、それに伴って骨小腔も増加しているが対照群に比べて未だ骨梁は減少している。ハバース管を中心に同心性に配列しているものや、大部分の骨小腔は歯槽面に平行により規則的に配列している。骨の再構築層も促進されている。骨層全体は対照群と同様に厚く

形成されているが、層板骨は対照群と比べ減少している。中央側歯槽骨は束状骨は大幅に吸収所見がみられるが、骨の再構築層もみられる。層板骨における骨小腔は増え、緻密に配列している。頬側歯槽骨では骨の添加もみられ、その部では骨小腔は減少している。ハバース系

Fig. 42 A higher magnification of Fig. 40.
H·E stain (×100)

HS: Haversian system
BM: Bone marrow
OL: Osteocytic lacunae
RL: Remodeling layer

Fig. 44 A higher magnification of Fig. 40.
H·E stain (×100)

I : Incisor
S : Sharpey's fiber
RZ: Resorptive zone
RL: Remodeling layer
HS: Haversian system

Fig. 43 A higher magnification of Fig. 40.
H·E stain (×100)

I : Incisor
S : Sharpey's fiber
RZ: Resorptive zone
OL: Osteocytic lacunae
RL: Remodeling layer

Fig. 45 A higher magnification of Fig. 41.
H·E stain (×100)

EO: Enamel organ
HS: Haversian system
OL: Osteocytic lacunae

もみられ、骨小腔は増加し、緻密に配列している。唇側歯槽骨は対照群と同様な所見を呈し、厚くなっているが、骨小腔は比較的大型の細胞からなっている。

VI. 走査電子顕微鏡学的所見

3週齢

対照群

骨基質形成部はコラーゲン原線維束が一定方向に走行している。その最表層部には密なコラーゲン原線維網が集合し、交錯、吻合し、基質面に癒合している。骨小腔は明瞭で周囲基質との境界は明瞭であるが、大小不同のものも多く認められる。一方、隣接した部には吸収所見も幅広く認められるが骨形成部には密なコラーゲン原線維で形成されている骨細管が明瞭に認められる。

骨基質形成部は骨吸収部も多くみられ、不完全な骨小腔も多数認められる。骨基質表層部にはコラーゲン原線維網が集合して認められる (Fig. 46)。

カルシウム欠乏食群

対照群と比べ骨形成部に隣接して骨吸収部が多数認められる。骨吸収により露出し骨細管が認められ、吸収高底は浅く、骨小腔の周囲基質との境界は不明瞭な部分が多数認められる (Fig. 47)。

低カルシウム食群

対照群と比べ骨吸収部と骨形成部が隣接して認められ、骨吸収部に比べ骨形成部が上回っている (Fig. 48)。骨梁は疎な部も多く、一定方向に走行するコラーゲン原線維束と交錯、吻合するコラーゲン原線維が認められる。

6週齢

対照群

3週齢に比べ骨基質形成部にみられるコラーゲン原線維束の走向、密なコラーゲン原線維、コラーゲン原線維網と基質部の癒合、骨小腔と周囲基質などの所見が平均的に上回っている。いわゆる、骨基質が全体的に疎な部から密に移行している所見が多数認められる。さらに骨吸収部から骨形成部の所見が区画を明瞭にしている。

骨基質形成部は一定方向に走行するコラーゲン原線維束や表層部にみられるコラーゲン原線維網にはカルシウム塊が多数沈着している。長径 $20\mu\text{m}$ 大の骨小腔は周囲基質との境界部を明瞭にし、密なコラーゲン原線維により形成された骨細管の開口部が認められる (Fig. 49)。また隣接した部には骨吸収所見がみられ、比較的浅いものから深いものまでみられる。

カルシウム欠乏食群

骨基質形成部には骨吸収所見も幅広くみられ、微細顆

Fig. 46 Alveolar bone of the 6th week. (SEM)
Control group (age of 3 weeks)

Fig.47 Alveolar bone of the 6th week. (SEM)
Ca-deficient diet group (age of 3 weeks)

Fig.48 Alveolar bone of the 6th week. (SEM)
Ca-low deficient diet group (age of 3 weeks)

Fig. 49 Alveolar bone of the 6th week. (SEM)
Control group (age of 6 weeks)

Fig. 50 Alveolar bone of the 6th week. (SEM)
Ca-deficient diet group (age of 6 weeks)

粒状のカルシウム塊の集合も認められる。コラーゲン原線維網も交錯、吻合し、骨梁は疎な部分も多く認められる (Fig. 50).

低カルシウム食群

対照群に比べ骨基質形成部はコラーゲン原線維束が一定方向に走行しているが、疎な部分も多く、コラーゲン原線維網が癒合している部も多く認められる。その部にはカルシウムが顆粒状に沈着して散在していた。長径

15 μ m 大の骨小腔は周囲基質との境界を明瞭にしているが疎な部も多く認められる。骨細管の部分には顆粒状のカルシウム沈着物も散在している (Fig. 51).

VII. 血液検査

3 週齢では Ca については対照群とカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群の間に有意差がみられ、カルシウム欠乏食群および低カルシウム食群が低値を示した ($p < 0.01$). さらに生化学検査では何ら変化はみられな

Fig. 51 Alveolar bone of the 6th week. (SEM)
Ca-low deficient diet group (age of 6 weeks)

Table 4-1 Laboratory values of electrolytes (age of 3 weeks)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
Ca	10.53 $\pm$ 0.09	10.10 $\pm$ 0.08	9.77 $\pm$ 0.05
P	8.57 $\pm$ 0.83	8.50 $\pm$ 0.41	8.93 $\pm$ 0.21
Ca/P	1.23 $\pm$ 0.12	1.20 $\pm$ 0.08	1.10 $\pm$ 0.01
Na	143.67 $\pm$ 0.94	142.67 $\pm$ 0.94	141.00 $\pm$ 1.41
K	5.60 $\pm$ 0.73	5.00 $\pm$ 0.16	5.57 $\pm$ 0.74
Cl	101.33 $\pm$ 0.94	100.67 $\pm$ 0.47	100.67 $\pm$ 0.47

Mean $\pm$ S. D.

Table 4-2 Laboratory values of electrolytes (age of 3 weeks)

	1 $\leftrightarrow$ 2	1 $\leftrightarrow$ 3	2 $\leftrightarrow$ 3
Ca	**	**	**
P	—	—	—
Ca/P	—	—	—
Na	—	—	—
K	—	—	—
Cl	—	—	—

** : p<0.01

1 group : Control group

2 group : Ca-deficient diet group

3 group : Ca-low deficient diet group

Table 4-3 Laboratory values of blood chemistry (age of 3 weeks)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
GOT	236.00 $\pm$ 92.46	171.00 $\pm$ 18.71	132.67 $\pm$ 26.04
GPT	51.67 $\pm$ 18.63	38.00 $\pm$ 6.16	33.33 $\pm$ 1.25
LDH	2289.00 $\pm$ 582.22	1785.00 $\pm$ 333.81	3030.33 $\pm$ 1312.72
CPK	9303.00 $\pm$ 7664.13	3920.00 $\pm$ 1070.43	3460.33 $\pm$ 978.87
ALP	290.67 $\pm$ 12.23	252.00 $\pm$ 18.06	758.00 $\pm$ 281.97

Mean $\pm$ S. D.

Table 4-4 Laboratory values of blood chemistry (age of 3 weeks)

	1 $\leftrightarrow$ 2	1 $\leftrightarrow$ 3	2 $\leftrightarrow$ 3
GOT	—	—	—
GPT	—	—	—
LDH	—	—	—
CPK	—	—	—
ALP	—	—	—

— : Not significant

1 group : Control group

2 group : Ca-deficient diet group

3 group : Ca-low deficient diet group

Table 5-1 Laboratory values of electrolytes (age of 6 weeks)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
Ca	9.90±0.22	10.13±0.19	10.20±0.29
P	7.23±0.09	7.03±0.69	7.27±0.87
Ca/P	1.37±0.05	1.47±0.17	1.43±0.17
Na	143.67±1.70	143.67±1.70	143.33±0.47
K	5.13±0.38	6.03±0.40	5.33±0.19
Cl	104.00±0.82	103.67±0.94	102.00±2.83

Mean±S. D.

Table 5-2 Laboratory values of electrolytes (age of 6 weeks)

	1 ⇔ 2	1 ⇔ 3	2 ⇔ 3
Ca	—	—	—
P	—	—	—
Ca/P	—	—	—
Na	—	—	—
K	—	—	—
Cl	—	—	—

—: Not significant

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

Table 5-3 Laboratory values of blood chemistry (age of 6 weeks)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
GOT	131.00± 24.06	135.67± 48.31	183.67± 37.56
GPT	21.33± 1.25	28.33± 3.30	29.33± 3.09
LDH	889.00±266.37	1803.67±322.40	2244.67±1093.52
CPK	1217.00±210.70	1299.00±270.34	1822.00± 85.56
ALP	148.67± 35.19	373.67±180.78	399.00± 169.24

Mean±S. D.

Table 5-4 Laboratory values of blood chemistry (age of 6 weeks)

	1 $\leftrightarrow$ 2	1 $\leftrightarrow$ 3	2 $\leftrightarrow$ 3
GOT	—	—	—
GPT	*	*	—
LDH	*	—	—
CPK	—	*	—
ALP	—	—	—

*: $p < 0.05$

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

Table 6-1 Laboratory values of electrolytes (age of 3 weeks $\times$ age of 6 weeks)

	1 $\leftrightarrow$ 1	2 $\leftrightarrow$ 2	3 $\leftrightarrow$ 3
Ca	*	—	—
P	—	—	—
Ca/P	—	—	*
Na	—	—	—
K	—	*	—
Cl	*	*	—

*: $p < 0.05$

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

Table 6-2 Laboratory values of blood chemistry (age of 3 weeks $\times$ age of 6 weeks)

	1 $\leftrightarrow$ 1	2 $\leftrightarrow$ 2	3 $\leftrightarrow$ 3
GOT	—	—	—
GPT	—	—	—
LDH	*	—	—
CPK	—	*	—
ALP	*	—	—

*: $p < 0.05$

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

Table 7-1 Laboratory values of endocrine functional test (age of 3 weeks)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
N-PTH	0.70 ± 0.00	0.75 ± 0.05	0.70 ± 0.00
C-PTH	203.00 ± 0.00	200.00 ± 0.00	202.00 ± 0.00
Calcitonin	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
1,25(OH) ₂ D ₃	161.00 ± 31.00	163.00 ± 32.00	162.00 ± 30.00

Mean ± S. D.

Table 7-2 Laboratory values of endocrine functional test (age of 3 weeks)

	1 ↔ 2	1 ↔ 3	2 ↔ 3
N-PTH	—	—	—
C-PTH	—	—	—
Calcitonin	—	—	—
1,25(OH) ₂ D ₃	—	—	—

—: Not significant

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

Table 7-3 Laboratory values of endocrine functional test (age of 6 weeks)

	Control group	Ca-deficient diet group	Ca-low deficient diet group
N-PTH	0.73 ± 0.05	0.70 ± 0.05	0.72 ± 0.00
C-PTH	198.00 ± 0.00	200.00 ± 0.05	199.00 ± 0.00
Calcitonin	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
1,25(OH) ₂ D ₃	164.00 ± 32.00	163.00 ± 30.00	160.00 ± 30.00

Mean ± S. D.

かった (Table 4-1 ~ 4-4).

6週齢では電解質検査では何ら変化はみられなかった。生化学検査はGPTは対照群に比べカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群がそれぞれ高値を示した ($p < 0.05$)。LDHは対照群と比べ、カルシウム欠乏食群が高値 ($p < 0.05$)、CPKは低カルシウム食群が高値 ($p < 0.05$)を示した (Table 5-1 ~ 5-4)。

次に3週齢と6週齢について、Caでは対照群間、Ca/Pでは低カルシウム食群間、Kではカルシウム欠乏食群間、Clではカルシウム欠乏食群間および低カルシウム食群間に有意差が認められた ($p < 0.05$) (Table 6-1 ~ 6-2)。

内分泌機能検査では3週齢および6週齢の各群間において有意差は認められなかった (Table 7-1 ~ 7-4)。

Table 7-4 Laboratory values of endocrine functional test (age of 6 weeks)

	1 $\leftrightarrow$ 2	1 $\leftrightarrow$ 3	2 $\leftrightarrow$ 3
N-PTH	—	—	—
C-PTH	—	—	—
Calcitonin	—	—	—
1,25(OH) ₂ D ₃	—	—	—

—: Not significant

1 group: Control group

2 group: Ca-deficient diet group

3 group: Ca-low deficient diet group

考 察

成長期の虚弱下顎骨に対して食餌療法を長期間継続的に行うことによって骨構築状態を検索した。とくに離乳期と学童期について X 線的、光顕的および超微形態的に検索を行ったので過去の研究者の報告と比較して考察する。

1. 体重

小児期から成人に至る体重の指標としては一般に Scammon¹⁾ の发育曲線の一般型を参考にしている。第一次性徴期に増加し、さらに第二次性徴期では体重は著しく顕著となるのが一般的である。とくに体重は歴史時代を通してその文化と関わりをもち食生活による後天的環境要因に大きく左右されることはいうまでもない。一方では体重の増減は身体健康と密接な関係をもっている。とくに小児期では成長過程の中で大きな指標となる。首藤 (1992)²⁾ は食物の硬軟による歯槽骨の変化をみているが、その中で体重に関して生後 3 週齢の Wistar 系ラットを用い、対照群、練標準食群および練混合食群、粉末標準食群、粉末混合食群において 6 週間飼育し体重の変化がみられなかったと報告している。梅津 (1991)³⁾ は成長期のラットを用いて骨組織の減少は体重の減少に関連性があると述べている。カルシウムが欠乏すると体重の減少を引き起こすことは、飯田ら (1981)⁴⁾、Nagayama ら (1985)⁵⁾ も報告している。高橋 (1993)⁶⁾、若杉 (1994)⁷⁾ らは生後 3 週齢のラットを用いた実験でカルシウム欠乏食群では体重の減少を認め、Salomon ら (1972)⁸⁾ も同一の見解をとっている。

一方、Amano (1989)⁹⁾ は 30 日齢のラットを用い 90 % 減少低カルシウム食での体重に関しては対照群と

ほぼ同等であると述べ、Liu ら (1984)¹⁰⁾ は体重 95 g のラットを使用し、カルシウム欠乏食群では対照群と比べわずかであったと報告している。

著者の研究では生後 3 週齢では先人の報告と一致性をみるが、低カルシウム食 (30 %) 群では何ら変化はみられなかった。さらに生後 6 週齢に関しては対照群、カルシウム欠乏食群、低カルシウム食群ともに有意差は認められなかった。このことは学童期に至るまでは、栄養状態のいかに係らずカルシウムを骨に貯蔵することができることを示唆し、12 週齢になると骨代謝性ホルモンの働きが多いに関与していることが示唆される。この様なことから、体重の変化は身体の成長、发育状態、骨構築状態の判定材料となりうる。

渡辺 (1995)¹¹⁾ は若年期のラットを用い、対照群、カルシウム欠乏食群、低カルシウム欠乏食群 (30 %) で 3 週間飼育し、体重変化を観察している。それによると、対照群とカルシウム欠乏食群との間に有意差を認め対照群が高値 ($p < 0.01$) を示し、対照群と低カルシウム食群との間には対照群が高値 ($p < 0.01$) を示している。このことは木村 (1997)¹²⁾ の報告にもみられるように若年期までに最大骨量 (peak bone mass) を保っておけばたとえ一時的に虚弱状態に陥っても、直ちにカルシウム含有の標準食による食餌療法を長期間継続して与えることによる低カルシウム食 (30 %) では対照群と有意差はなく体重の増加を認めている。

虚弱骨に関しては最大骨量 (peak bone mass) と体重は密接な関係があることがわかる。しかし骨組織の増減に伴う体重の増減は骨形成に関与する諸組織の関連性もあり、カルシウムによる骨梁の形成結果からのみで判断することはできない。

II. X線学的所見および骨塩量

客観的に骨の内部構造を観察するためには肉眼的および骨塩量による方法がある。

木村ら（1991）¹³⁾、首藤（1992）²⁾らはラットを用いて硬さの異なった飼料を用いて歯槽骨を観察している。それによると、硬軟飼料によって骨梁の数の減少、不規則な配列、厚さの減少などを明らかにしている。骨塩量に関しても関連性があることを実証している。さらに住本（1986）¹⁴⁾は同じ歯槽骨でも咬合外圧によっても骨塩量に変化がみられると述べている。首藤²⁾は食物の硬さとカルシウム含有量の差によって骨塩量に変化が認められることも明らかにしている。

著者の研究では3週齢では対照群に比べカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群間に有意差がみられた。このことから直ちに石灰化度の判定を行うことはできないが内部構造に変化があることを示唆しているものと思われる。このことは先にも述べたように最大骨量との関連性も考えなければならない。6週齢に関しては3群ともに有意差が認められなかった。このことは3週齢と6週齢の比較からも明らかなように形態的にも大きさが異なり、骨に含まれるカルシウム含有量、咬合力、咀嚼能力、成長発育の程度などから考えて6週齢が3週齢に比べすべての群において高値を示しているといえる。

さらに離乳期までに骨に貯蔵してきたカルシウムと学童期までの骨内カルシウムの含有量の差によって骨塩量に変化がみられたことを示唆している。

III. X線マイクロアナライザーによるCa, Pの分析

同一骨梁内での特性X線像によるCa, Pの濃度に関しては、過去多くの先人の報告がみられる。面分析に関して、首藤²⁾は生後3週齢のラットを用いた食物の硬軟による歯槽骨の変化において全ての群でCa, Pと比べCa濃度が高いことを報告している。さらに中園（1991）¹⁵⁾、加来（1992）¹⁶⁾、坂本（1994）¹⁷⁾、小野（1995）¹⁸⁾らもCaの特性X線像は対照群と実験群の全ての群においてカルシウム濃度がPに比べ高いと報告している。

著者の実験では3週齢、6週齢ともに全ての群において面分析による特性X線の濃度はカルシウムに比べリンが低いことが明らかとなった。このことはカルシウム不足により一時的には虚弱骨を惹起したものの、直ちにバランスのとれた栄養食を長期間にわたって継続して摂取しているため、3週齢では9週齢、6週齢では12週齢に至るまで成長発育を行っていることから両者ともに骨代謝性ホルモンによって代謝機能を円滑に行っていることから、カルシウムとリンのバランスがとれていること

を示唆している。

V. 病理組織学的及び走査電子顕微鏡学的所見

下顎骨全体像を観察すると、一般的にはラットを用いた研究では、骨改造現象が盛んに行われている。このことは外来刺激に対応するために歯根膜線維が存在する舌側歯槽骨で緻密な骨質と歯根膜の存在はなく疎性結合組織によって占められている唇側歯槽骨、いわゆる形態的にも機能的にもことなる2つの歯槽骨に大別することができる。

骨組織が著しい変化に富んでいるのは、咬合力、咀嚼能力という常に機械的刺激に対応しているために吸収添加を繰り返している。骨吸収、再生が繰り返行われている。隣接した層板の間にはcementing lineが存在する。とくに幅広く形成されている舌側歯槽骨はコラーゲン原線維束の間隙に神経脈管隙が存在し、固有歯槽骨と支持歯槽骨によって形成されている。さらに緻密骨と海綿骨に区別でき、緻密骨はハバース管を中心にして層板骨からなっている。本研究は生後離乳期と学童期においてカルシウム不足による虚弱骨を惹起させた後、食餌療法を長期間継続しているためにカルシウムの動員により骨芽細胞と破骨細胞との間にcouplingが生じ、破骨細胞が古い骨を吸収する反面、骨芽細胞はカルシウムの助けにより新生骨を形成し、常に骨形成と骨吸収のバランスをとっていることはいうまでもない。

先にも述べたようにラットの下顎骨を前額断組織像でみると、舌側歯槽骨と唇側歯槽骨に大別され、さらに中央側歯槽骨と頬側歯槽骨が連続している。舌側歯槽骨では半永久的に咬合力や咀嚼能力という機械的刺激を常に受けながら歯根膜線維を介して適応しているために骨の変換にも大きな影響を受けていることになる。このようなことから歯根膜を介して線維骨、海綿骨、皮質骨という厚い歯槽骨が食物の摂取-咬合-咀嚼による力に対応している。そのためには骨組織全体を考えるとカルシウムを中心としたミネラルの恒常性にも関連している。このようなことから食生活、機械的刺激、骨代謝性ホルモンなどの全身的な因子によってコントロールされるとともに舌側歯槽骨は活発な骨の変換が行われている。

一方、唇側歯槽骨は歯根膜線維が存在しないことから、主に持続的で連続した骨吸収を示しているのが特徴的な所見である。さらに歯の萌出と関連のあるエナメル質を境として血管を含む疎性結合組織と対応していることから舌側歯槽骨と比べ唇側歯槽骨は薄くなっている。このようなことから下顎骨の中での歯槽骨は形態的にも機能的にも咬合力や咀嚼能力によって伝達される。刺激

はその部位によって大きく変化していることが明らかである。

ここで先人の報告をみると、住本 (1986)¹⁴⁾ は3週齢のWistar系ラットを用い、虚弱骨に対して食餌療法を4週間行い、歯槽骨を観察している。それによると、対照群と比べ歯槽骨上部と歯槽骨下部の下層は薄く、骨小腔の数の減少を特徴的所見として報告している。同じく同様な実験で木村ら (1991)¹³⁾ は虚弱骨に対して食餌療法を行い歯槽骨を超微形態的に観察している。それによると、骨層全体はカルシウム欠乏食に比べ活発な骨の改造所見をみ、骨基質形成部では一定方向に走向するコラーゲン原線維束を認め、その表層部には密なコラーゲン原線維網を認めている。木村ら (1989)¹⁹⁾ は離乳期ラットを用いて、成長期顎骨の実験的骨粗鬆症に対して高カルシウム食を与えた研究の中で標準食群では骨梁の増加、骨髓の減少、ハバース管を中心とした骨小腔の増加が認められたと報告している。梅津 (1991)³⁾、加来 (1992)¹⁶⁾、中河原 (1992)²⁰⁾ とも同様の実験を行い、標準食を与えることにより骨量の増加、骨の改造機転の進行を報告している。Salomonら (1972)⁸⁾ は骨膜性新生骨はみられたが健全な骨層の厚さまでには至らなかったと述べている。Weinrebら (1991)²¹⁾ は学童期に相当するラットを用いた実験で対照群と低カルシウム欠乏食群との間にはあまり変化は認められなかったと述べている。著者の研究では生後3週齢では全体的な所見として舌側、唇側、中央側、頬側の歯槽骨は低カルシウム食群においては束状骨、骨小腔の増加、再構築層の促進などがみられ骨の回復が進行中である。生後6週齢では骨層の全体像として3週齢の低カルシウム群と比べ歯槽骨は厚く形成され、対照群とほぼ同様な所見を呈した。しかし、ハバース系、骨の再構築層に伴う層板骨にみられる骨小腔は未だ減少していた。

3週齢のカルシウム欠乏食群はコラーゲン原線維束は疎で不定形で連続した吸収窩が多数認められた。骨梁の形成部においても不完全な骨小腔が多数認められ、周囲基質との境界も不明瞭な所も多く認められた。低カルシウム食群ではカルシウム欠乏食群と同様にコラーゲン原線維束が疎な部が多く、吸収窩も多数認められた。

本研究では3週齢では骨の成長にとって未熟な時期に、しかも骨に貯えているカルシウムも母親からの離乳期に至る母乳から食事療法に切り替える時期で生体の骨にとってカルシウムの吸収が旺盛である。このような時期にカルシウムが欠乏に陥ると骨の内部構造は形態的にもコラーゲン原線維束は疎な状態で吸収所見も多く認め

られることが推察される。

低カルシウム食群では生体組織に30%のカルシウムを与えていることから、骨芽細胞の活性に与える影響も大きいことから形態的にもコラーゲン原線維束が一定方向に走向する所見がみられることが推察される。

6週齢のカルシウム欠乏食群は3週齢に比べると、ある程度のカルシウムを骨に貯えることができるため、カルシウム欠乏に陥っても、形態的には骨梁は疎な部も認められるがコラーゲン原線維網も密に集合し交錯、吻合し、カルシウムの集合した沈着した所見が認められる。

低カルシウム食群はちあ将軍に見られるような所見も多く認められるが、骨基質形成は不完全ではなく、コラーゲン原せんしおくの不規則性、骨小腔と周囲基質の不明瞭化などの所見も多くみられる。

以上のことから、生後3週齢と生後6週齢ではそれぞれ9週齢と12週齢まで成長しているが、未だ食餌療法によると、とくに6週齢では対照群の骨構築状態に近く回復していることが明らかとなった。しかし、3週齢においても骨構築が促進されていることは年齢的にみて食餌療法を長期間継続しており、9週齢に達していることから、カルシウムの骨へ沈着が大であった。同時に血液所見からみても内分泌機能が正常に働いていることから骨代謝性ホルモンの活発な働きにより骨の改造機転に大きな手助けとなっていることが示唆される。

VI. 血液学的所見

生体の代謝状態を把握するための臨床検査は診断、治療を行う上で大変重要である。

電解質は一般的にはとくにCa、Pが加齢とともに減少し大きな変化がみられることは言うまでもない。

酵素についてGOTは一般的には成年期、壮年期に最も減少し、GPTは老年期では最も大きな値を示し、LDH、CPKは思春期で最も大きな値を示し、ALPは老年期に顕著に減少することが一般的である。このことによって離乳期、幼児期、学童期、思春期までの小児期と成年期、壮年期、老年期の酵素の流れを十分知っておく必要がある。内分泌ホルモンに関してはC-PTHは老年期では一般的に顕著な高値を示す傾向にあり、N-PTHでは大きな変化はみられない。calcitoninは、小児期、成人を通してほとんど変化はみられない。1,25(OH)₂D₃は壮年期から老年期にかけて大きな変化を示し、顕著に低値を示すのが一般的である。

著者の実験では3週齢ではCaは対照群と比べカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群は低値 ($p < 0.01$) を示したが、生化学検査、内分泌機能検査では何ら変化

はみられなかった。このことは骨代謝性ホルモンは順調に活動していることを示唆している。さらに6週齢ではGPTは対照群に比べカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群がそれぞれ高値 ($p < 0.05$)、LDHはカルシウム欠乏食群が高値 ($p < 0.05$)、CPKは低カルシウム食群が高値 ($p < 0.05$)を示したが、内分泌機能検査については何ら変化はみられなかった。このことは、電解質、生化学、内分泌機能検査値からみて特別な全身疾患はみられず、また食生活の変化の中でも血液検査結果は順調な代謝が行われていることを示唆している。3週齢、6週齢ともに特に骨代謝に関しては何ら異常がみられないことから骨構築にとって大きな手助けとなっていることが明らかである。

結 論

成長期の中でもとくに離乳期と学童期にカルシウム不足により惹起した虚弱下顎骨の食餌療法による骨基質形成についての報告はほとんどみられない。そこで著者はヒトの離乳期（3週齢）および学童期（6週齢）に相当するWistar系雄ラットにカルシウム欠乏食および低カルシウム食を与え虚弱下顎骨を惹起させ、直ちにカルシウムを含有した食餌療法に切り換え下顎骨の骨基質形成に及ぼす影響を検討し、次のような結果を得た。

I. 体重

3週齢では対照群に比べカルシウム欠乏食群が低値 ($p < 0.05$)を示したほかは6週齢は全ての群において有意差はみられなかった。3週齢に比べ6週齢が体重の増加がみられた。

II. X線学的骨塩量

3週齢では対照群に比べカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群の間に有意差がみられ、カルシウム食群 ($p < 0.01$) および低カルシウム食群 ($p < 0.05$) が低値を示した。6週齢では全ての群に有意差はみられなかった。また、3週齢に比べ6週齢が高値を示した。

III. X線マイクロアナライザーによるCa, Pの分析所見

面分析から特性X線像による同一骨梁内では3週齢、6週齢ともに全ての群においてCaがPに比べ高い濃度を示した。

IV. 病理組織学的所見

3週齢

低カルシウム食群はカルシウム欠乏食群に比べ束状骨、海綿骨における層板骨は増加し、再構築層も促進されているが、対照群に比べると骨小腔の減少、不規則な

配列、骨髓の拡大などが認められた。

6週齢

低カルシウム食群ではカルシウム欠乏食群と比べ、束状骨は対照群とほぼ同様な所見を呈し、骨小腔は規則的に配列し、皮質骨は大幅に厚く形成されているが、海綿骨における層板骨の減少が認められた。

V. 走査電子顕微鏡学的所見

3週齢

対照群に比べ、カルシウム欠乏食群および低カルシウム食群はコラーゲン原線維は疎で、吸収窩も多数認められた。

6週齢

対照群と比べ低カルシウム食群は骨吸収を骨形成が上回りコラーゲン原線維束は一定方向に走行する骨基質形成が認められたが、骨梁は疎な部分も多く骨基質形成は低下していた。

VI. 血液学検査

3週齢

Caについてみると、対照群と比べカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群が低値を示した ($p < 0.01$)。

6週齢

生化学検査では対照群に比べGPTはカルシウム欠乏食群および低カルシウム食群は高値 ($p < 0.05$)、LDHはカルシウム欠乏食群が高値 ($p < 0.05$)、CPKは低カルシウム食群が高値 ($p < 0.05$)を示した3週齢、6週齢ともに内分泌機能検査に関しては全ての群で有意差はみられなかった。

以上のことから、小児期における離乳期、学童期のカルシウム摂取不足はカルシウムを含有した食餌療法を行っても対照群に比較して骨構築は不完全であった。

稿を終るにあたり、懇篤なるご指導、ご鞭撻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敬意と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感謝致します。

本論文の要旨は、第35回日本小児歯科学会大会および総会（1997年5月23、24日、東京都）において発表した。

文 献

- 1) 下岡正八, 五十嵐清治, 内村 登, 木村光孝, 鈴木康生, 大道道治, 本川 渉, 渡辺茂編集: 新小児歯科学, クインテッセンス出版, 東京, 1996, 14-21.

- 2) 首藤洋治: 顎骨の成長に関する X 線的, 光顕的ならびに走査電顕的研究—食物の硬軟による歯槽骨の変化—. 九州歯会誌 46: 574-595, 1992.
- 3) 梅津哲夫: 虚弱骨に対する高カルシウム食の影響に関する X 線的, 光顕的および走査電顕的研究—歯槽骨の変化—. 九州歯会誌 45: 629-652, 1991.
- 4) 飯田 勝, 恩地主典, 磯部 暁, 桜田豊三, 渡辺 晋, 早野和夫, 折茂 肇: 実験的骨粗鬆症に対するエルカトニンの効果. 骨代謝 14: 228-233, 1981.
- 5) Nagayama, M., Saburi, N., Oka, T. and Matsumoto, A.: Endochondral ossification of the condyle in rats on a strontium or low-calcium diet. J. Oral Maxillofac. Surg. 43: 693-703, 1985.
- 6) 高橋宙丈: 成長期下顎骨の高タンパク質の影響に関する実験的研究—とくに骨基質形成—. 九州歯会誌 47: 459-479, 1993.
- 7) 若杉淳二郎: 虚弱下顎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—歯槽骨の変化—. 九州歯会誌 48: 350-369, 1994.
- 8) Salomon, C. D. and Volpin, G.: The effect of calcium-deficient diet on breaking strength and other physical parameters on rat bones. Clin. Orthop. Res. 82: 207-213, 1972.
- 9) Amano, H.: A histomorphometric analysis of the alveolar bone resorption process in calcium-deficient rats. Jpn. J. Oral Biol. 31: 404-416, 1989.
- 10) Liu, C. C. and Baylink, D. J.: Differential response in alveolar bone osteoclasts residing at two different bone sites. Calcif. Tissue Int. 36: 182-188, 1984.
- 11) 渡邊美和: 成長期顎骨における若年性虚弱骨に関する実験的研究—歯槽骨について—. 九州歯会誌 49: 20-40, 1995.
- 12) 木村京子: 成長期ラットの虚弱骨における食餌療法に関する X 線学的骨塩量および病理組織学的研究—脛骨骨幹皮質骨について—. 九州歯会誌 51: 41-72, 1997.
- 13) 木村光孝, 西田郁子, 牧 憲司, 高橋宙丈, 渡辺博文, 野沢典央, 堤隆夫, 岡裕美子: 食物の硬軟による成長期下顎骨の変化に関する実験的研究. 小児歯誌 29: 291-298, 1991.
- 14) 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.
- 15) 中園志保: 顎骨の成長に関する X 線的, 光顕的ならびに走査電顕的研究—食物の硬軟による下顎頭の変化—. 九州歯会誌 45: 1-23, 1991.
- 16) 加来弘志: 虚弱骨に対するカルシウム含有, 活性型ビタミン D₃ の併用療法に関する実験的研究. 九州歯会誌 46: 462-481, 1992.
- 17) 坂本淑子: 虚弱下顎頭に対するカルシウム, カルシトニン併用療法に関する光顕的ならびに超微形態的研究. 九州歯会誌 48: 6-28, 1994.
- 18) 小野清一郎: 虚弱歯槽骨に対する高カルシウム食・カルシトニン併用療法に食餌療法に関する実験的研究. 九州歯会誌 49: 70-90, 1995.
- 19) 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: 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—. 九州歯会誌 43: 778-801, 1989.
- 20) 中河原哲朗: 虚弱下顎頭に対するカルシウム療法に関する病理組織学的および超微形態学的研究—とくに骨基質形成—. 九州歯会誌 46: 764-781, 1992.
- 21) Weinreb, M., Rodan, G. A. and Thompson, D. D.: Immobilization-related bone loss in the rat is increased by calcium deficiency. Calcif. Tissue Int. 48: 93-100, 1991.