食餌療法による成長期の虚弱脛骨骨端, 骨幹端の 変化に関する X 線学的および病理組織学的研究

野 沢 典 央

九州歯科大学小児歯科学講座 (指導: 木村光孝教授)

平成 10 年 4 月 27 日受理

Radiographic and Histopathological Study on Diet Therapy of Bone Loss in Tibial Metaphysis and Epiphysis at Growth Stage

Norio Nozawa

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

Experimental osteoporosis was induced by calcium deficient diet in 3 week-old Wistar rats. Standard diet and mixture of sardine powder and standard diet (1 : 2) was supplemented in control and experimental groups respectively for 8,9 and 10 weeks. Proximal tibia was investigated radiographically and histopathologically.

The results were as follows..

I. Radiographic findings

1. Tibia epiphysis in experimental group was shown to be well shaped compared with control group. The compact bone was thickened and bone surface leveled. Trabeculae increased and regularly oriented.

2. Metaphysis in experimental group showed that trabeculae were increased and densely arranged compared with control group.

II. Histopathologic findings

1. Contact microradiogram

a. Epiphysis

Compared with control group, granulated trabeculae of primary spongiosa in experimental group were shown to be reduced at 9th and 10th week postexperimentally, and those of secondary spongiosa increased and thickened.

b. Metaphysis

Granulated trabeculae of primary spongiosa were shown to be decreased from 9th week postexperimentally, while those of secondary spongiosa increased in amount, more thickened and more radiopaque.

2. Histopathologic findings

a. Epiphysis

Some changes were present in chondrocyte layer 8,9, and 10 weeks after the study started

in experimental group. Mineralized matrix corrosion by chondroclasts was expanded and subchondral ossification increased in both control and experimental groups.

b. Metaphysis

As in control group, the number of chondrocyts in proliferative and hypertrophic layers decreased 8 and 9 weeks postexperimentally. In experimental group, corrosion of mineralized matrix within inter-chondrocytic spaces, which was induced by chondroclasts in hypertrophic layer, increased and endochondral ossification was revealed abundant.

Considering the foregoing results, continued supplementation with mixture of sardine powder was able to facilitate in the endochondral ossification as a dietary therapy for bone loss.

Key words: Growth stage / Bone loss of tibia epiphysis / Metaphysis / Diet therapy / Rat

緒 言

健常人の骨組織では、骨吸収と骨形成が絶えず行われており、この両者が均衡を保っているために骨量は一定に維持されている。しかし、骨粗鬆症に陥ると、骨吸収と骨形成の均衡が破綻をきたし、結果的には骨吸収が骨形成を上回り、骨量の減少が惹起される。骨粗鬆症については Albright ら (1940)¹⁾ の報告をはじめ、その病因は性ホルモン説^{2,3)}やカルシウム減少説^{4,5)}が焦点となっている。森井 (1983)⁶⁾ によると、骨粗鬆症は加齢とともに性ホルモンの減少をきたすことによる一種の生理的現象で、その他の成因が加わって発症すると報告している。その成因の1つとして、カルシウム代謝異常、とくにカルシウム摂取量の不足、腸管からのカルシウム吸収の不足、尿中、便中のカルシウム排泄量の増加などによるカルシウム不足から骨粗鬆症を惹起する、いわゆるカルシウム不足説が報告されている⁷⁻¹¹⁾。とくに成長期におけるカルシウム摂取不足による骨組織への影響は、当教室の一連の研究で明らかにされている¹¹⁻¹⁴⁾。また、最近子供の骨折の多発^{15,16)}および顎骨の小進化¹⁷⁾などの臨床報告もみられ、成長発育期に虚弱状態に陥っている骨組織があることも考えられる。骨粗鬆症の治療法として高蛋白食、ビタミンに富んだ食餌のほか、カルシウム製剤¹⁾、ビタミン剤^{18,19)}、フッ素²⁰⁾などの薬剤および蛋白同化ホルモン²⁾、エストロゲン¹⁾の投与が行われている。住本 (1986)²¹⁾、篠崎 (1987)²²⁾ らは食餌中のカルシウム量の改善、竹島 (1987)²³⁾ はカルチトニンの投与、岩永 (1989)²⁴⁾ は活性型ビタミン D₃ の投与を行った実験で治療効果が報告されている。また、渡辺 (1990)²⁵⁾ は木

村ら (1987)²⁶⁾ が提唱した高カルシウム源のイワシパウダーを使用し、虚弱下顎頭に及ぼす影響を成熟期まで観察し、骨組織の改善が得られたと報告している。しかしながら、短期間では軟骨組織および骨組織に及ぼす効果が不十分であると指摘している。

そこで、著者は渡辺 (1990)²⁵⁾ の方法に準じ、一旦虚弱状態に陥ったラットの下顎頭を観察対象として、成熟期までに及ぼすイワシパウダー投与の影響を、X線学的および病理組織学的に検索したので報告する。

材料ならびに方法

実験材料は、体重 40 g 前後の 3 週齢の Wistar 系雄ラットを使用した。ラットは無作為に次のような対照群と実験群に分けた。

対照群は A 食変型カルシウム欠乏食飼料 (オリエンタル酵母工業) と蒸留水で 4 週間飼育後、ラット標準飼料 (オリエンタル酵母工業) と水道水に変え飼育した。

実験群は A 食変型カルシウム欠乏食飼料と蒸留水で 4 週間飼育後、イワシパウダー (蛋白資源開発) と標準飼料を混合し (1:2)、カルシウム含有を 2 倍とした飼料に変え飼育した (Table 1)。

飼育 8 週目、9 週目、10 週目にそれぞれ pentobarbital sodium (ネプタール、大日本製薬) を腹腔内に注射後、深麻酔下で致死させた。死後直ちに後肢を採取し、左右側ともに 10 % 中性ホルマリン液で固定した。固定後の後肢より脛骨近位端を損傷することのないように剥離し、脛骨近位端とともに Softex type の CSM (ESM-2, ソフテックス) を用いて管電圧 25 kVp、管電流 5 mA、撮影時間 40 秒および焦点・皮膚間距離 40 cm の

Table 1 The origin of the element content from the mineral mixture

(g/100 g)

	Control group	Mixed diet group	Ca-deficient diet group
Ca (g)	1.11	2.2	0.01
P (g)	1.06	1.5	0.75
Mg (g)	0.36	0.4	0.09
Na (g)	0.41	0.55	0.30
K (g)	1.11	1.0	0.76
Fe (g)	0.02	0.03	0.04
Al (g)	0.006	0.007	...
SiO ₂ (g)	0.48	0.35	...
Cu (mg)	0.08	0.09	0.52
Zn (mg)	40.0	34.0	4.00
Co (mg)	0.132	0.15	0
Mn (mg)	1.254	1.24	1.73

条件下で軟 X 線撮影を行った。軟 X 線フィルム (Fuji softex filmFG) を使用した。

その後、脛骨近位端をアルコール系列にて脱水し、Rigolac 樹脂 (日新 EM) に包埋し、外側より矢状断を行い 60~80 μ m の非脱灰切片標本を作製した。切片標本は 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 30 cm の条件下で撮影した。フィルムは Spectroscopic Plate (Type6490, Kodak) を用い、Kodak の D-15 で現像を行い contact microradiogram (以下、CMR と略す) によって観察した。

固定後の後肢は、5%硝酸脱灰し、セロイジン包埋後、後肢骨の膝関節部を矢状断で 15 μ m 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て鏡見した。

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. X 線学的所見

A. 実験後 8 週目

脛骨の近位端

a. 骨端

対照群の膝関節における脛骨骨端の形態は、ほぼ明瞭で、外周に緻密な骨層もみられる。表面は平滑で、骨梁も鮮明で、X 線不透過性の像として規則的に走行していた (Fig. 1)。実験群においては、対照群に比べ、外周にみられる緻密な骨層は厚く、表面も平滑である。骨梁も

Fig. 1 Radiogram of the 8th week.
Control group
Arrow: Epiphysis of tibia

Fig. 2 Radiogram of the 8th week.
Experimental group
Arrow: Epiphysis of tibia

Fig. 3 Radiogram of the 9th week.
Control group
Arrow: Epiphysis of tibia

Fig. 5 Radiogram of the 10th week.
Control group
Arrow: Epiphysis of tibia

Fig. 4 Radiogram of the 9th week.
Experimental group
Arrow: Epiphysis of tibia

Fig. 6 Radiogram of the 10th week.
Experimental group
Arrow: Epiphysis of tibia

多く、規則的に走行していた (Fig. 2).

b. 骨幹端

対照群の脛骨骨幹端の直下にみられる脛骨骨幹端はほぼ漏斗状を呈し、骨梁は明瞭で、ほぼ規則的に走行していた (Fig. 1). 実験群の形態は、対照群と類似した所見を呈し、骨梁も緻密に走行していた (Fig. 2).

B. 実験後 9 週目

脛骨の近位端

a. 骨端

対照群の脛骨骨端の形態は、8週目の対照群と比べ外周の緻密な骨層は厚く、表面は平滑である。骨梁も多く規則的に走行していた (Fig. 3).

実験群の脛骨骨端は、対照群と比べ鮮明で、外周にみられる緻密な骨層は厚く、平滑である。骨梁は多く、密

に走行していた (Fig. 4).

b. 骨幹端

対照群の脛骨骨幹端は8週目に比べ骨梁はさらに増加し緻密に走行していた (Fig. 3). 実験群の形態は、対照群に比べ明瞭で、骨梁も増加し規則的に走行していた (Fig. 4).

C. 実験後 10 週目

脛骨の近位端

a. 骨端

対照群の脛骨骨端は、9週目の対照群と比べ、外周の緻密な骨層は厚さを増し、表面も平滑である。骨梁も増加し緻密に走行していた (Fig. 5). 実験群は、対照群に比べ、外周の緻密な骨層はさらに厚く、表面も平滑である。骨梁はさらに増加し、規則的に走行していた (Fig.

Fig. 7 Contact microradiogram of the 8th week.
Epiphysis of tibia
Control group

Fig. 9 Contact microradiogram of the 8th week.
Metaphysis of tibia
Control group

Fig. 8 Contact microradiogram of the 8th week.
Epiphysis of tibia
Experimental group

Fig.10 Contact microradiogram of the 8th week.
Metaphysis of tibia
Experimental group

6).

b. 骨幹端

対照群の脛骨骨幹端は9週目の対照群と比べ、骨梁も多く規則的に走行していた (Fig. 5). 実験群の脛骨骨幹端は、対照群と比べ明瞭にみられ、骨梁も多く緻密に走行していた (Fig. 6).

II. 病理組織所見

A. contact microradiogram 所見

1. 実験後8週目

脛骨の近位端

a. 骨端

対照群の脛骨骨端 CMR 像における表面の primary spongiosa には粒状の骨梁が減少し、やや疎になって配列していた. secondary spongiosa の骨梁は粒状骨梁に

連続し骨端の表面より縦方向に走行していた (Fig. 7).

実験群の脛骨骨端 CMR 像における primary spongiosa には粒状骨梁は、対照群と比べ緻密に配列している. secondary spongiosa の骨梁は太く増加し、走行していた (Fig. 8).

b. 骨幹端

対照群の脛骨骨幹端 CMR 像における primary spongiosa には、縦方向の緻密な骨梁と、これを横につなぐ細い骨梁がみられる. その下層にある secondary spongiosa の骨梁は鋭縁をなし、緻密に縦方向に走行していた (Fig. 9). 実験群における primary spongiosa の骨梁は、対照群と比べ増加し、緻密に配列していた. さらに secondary spongiosa の骨梁の数、大きさも増加し、緻密に走行していた (Fig. 10).

Fig. 11 Contact microradiogram of the 9th week.
Epiphysis of tibia
Control group

Fig. 13 Contact microradiogram of the 9th week.
Metaphysis of tibia
Control group

Fig. 12 Contact microradiogram of the 9th week.
Epiphysis of tibia
Experimental group

Fig. 14 Contact microradiogram of the 9th week.
Metaphysis of tibia
Experimental group

2. 実験後9週目

脛骨の近位端

a. 骨端

対照群の primary spongiosa の粒状骨梁は、8週目の対照群に比べ減少し、緻密に配列していた。一方, secondary spongiosa の骨梁はさらに多く、太くなって緻密に走行していた (Fig. 11)。

実験群の primary spongiosa の粒状骨梁は、対照群に比べさらに減少している。secondary spongiosa の骨梁は増加し、太くなって緻密に走行していた (Fig. 12)。

b. 骨幹端

対照群の primary spongiosa の粒状骨梁は、8週目の対照群と比べ少なく、secondary spongiosa の骨梁は対照群とほぼ同様の所見を呈していた (Fig. 13)。

実験群の primary spongiosa の粒状骨梁は、対照群に比べ減少傾向にあり緻密に配列していた。secondary spongiosa の骨梁は多く、太くなって緻密に走行していた (Fig. 14)。

3. 実験後10週目

脛骨の近位端

a. 骨端

対照群の primary spongiosa の粒状骨梁は、9週目のものと比べ順次減少し、secondary spongiosa の骨梁は組織癒合が多く、緻密に走行していた (Fig. 15)。

実験群の primary spongiosa の粒状骨梁は、対照群と比べ多く、secondary spongiosa の骨梁の石灰化度は高く、規則的に走行していた (Fig. 16)。

b. 骨幹端

Fig. 15 Contact microradiogram of the 10th week.
Epiphysis of tibia
Control group

Fig. 18 Contact microradiogram of the 10th week.
Metaphysis of tibia
Experimental group

Fig. 16 Contact microradiogram of the 10th week.
Epiphysis of tibia
Experimental group

Fig. 19 Epiphysis of tibia in the 8th week.
Control group
H·E Stain (×20)

Fig. 17 Contact microradiogram of the 10th week.
Metaphysis of tibia
Control group

Fig. 20 A magnification of Fig. 19.
H·E Stain (×100)

Fig. 21 Epiphysis of tibia in the 8th week.
Experimental group
H·E Stain (×20)

Fig. 23 Metaphysis of tibia in the 8th week.
Control group
H·E Stain (×20)

Fig. 22 A magnification of Fig. 21.
H·E Stain (×100)

Fig. 24 A magnification of Fig. 23.
H·E Stain (×100)

対照群の primary spongiosa の粒状骨梁ならびに secondary spongiosa の骨梁は 8 週目の対照群とほぼ同じ所見を呈していた (Fig. 17).

実験群の primary spongiosa の粒状骨梁は、対照群と比べ少なく、secondary spongiosa の骨梁は増加し緻密に走行していた (Fig. 18).

B. 一般組織所見

1. 実験後 8 週目

脛骨の近位端

a. 骨端

対照群の脛骨近位端の外側より 4 mm の部分における骨端の矢状断組織像において、骨端の構造はほぼ下顎頭のものと同様に、5 層からなる軟骨組織層と骨組織層から構成されていた。最表層の 2～3 層は軟骨細胞の長軸が膝関節面に平行に配列した静止帯が認められた。増

殖帯は静止帯の直下に位置し、大小不同の軟骨細胞により構成されている。増殖帯直下には石灰化基質で囲まれた肥大型軟骨細胞を含む肥大帯が存在していた。肥大帯直下あるいは下縁には、石灰化基質を侵食する軟骨吸収細胞が存在する侵食帯がみられた。さらに、この侵食帯直下には軟骨性骨化によって骨の形成がみられる軟骨下骨形成帯が存在し、そこより連続した骨梁の形成は、肥大帯の下縁まで認められる。骨梁表面には骨芽細胞や破骨細胞がみられた (Fig. 19, 20).

実験群の脛骨骨端軟骨層は対照群と比べ全体的に薄い。静止帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞における変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞はかなり減少していた。さらに対照群と同様に肥大型軟骨細胞を囲む石灰化基質は多く、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見も増加していた。軟骨下骨形成は骨梁に至るまで大幅に増加し

Fig. 25 Epiphysis of tibia in the 8th week.
Experimental group
H·E Stain (×20)

Fig. 26 A magnification of Fig. 25.
H·E Stain (×100)

ていた (Fig. 21, 22).

b. 骨幹端

対照群の骨幹端は、軟骨細胞が柱状に配列し、各細胞の区画は明瞭であった。骨端の構造と同様に静止帯、増殖帯、肥大帯、侵食帯および骨形成帯の5つの区域が認められた。しかし、石灰化基質は肥大型軟骨細胞の柱状

Fig. 27 Epiphysis of tibia in the 9th week.
Control group
H·E Stain (×20)

Fig. 28 A magnification of Fig. 27.
H·E Stain (×100)

間隙にみられ、骨形成所見は侵食所見とはほぼ平行にみられ、軟骨内骨形成帯と称するところが骨端の構造と異なっていた。骨梁は侵食帯より垂直に走行し、その表面に骨芽細胞の存在が認められた (Fig. 23, 24).

実験群の骨幹端の軟骨層は対照群と比べ薄くなっていた。静止帯軟骨細胞層の変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞が減少しており、緻密に配列していた。対照群に比べ肥大帯軟骨細胞の柱状間隙にある石灰化基質は増加していた。軟骨吸収細胞は増加し、それに伴って石灰化基質の侵食所見が多くみられた。軟骨内骨化による骨の形成も多くみられ、その結果、骨梁は増加していた (Fig. 25, 26).

2. 実験後9週目

脛骨の近位端

a. 骨端

Fig. 29 Epiphysis of tibia in the 9th week.
Experimental group
H·E Stain (×20)

Fig. 30 A magnification of Fig. 29.
H·E Stain (×100)

対照群の脛骨骨端における軟骨層は8週目の対照群に比べ薄くなっていた。静止帯軟骨細胞の変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞が減少していた。肥大帯軟骨細胞を囲む石灰化基質、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見は多く認められ、軟骨下骨形成は増加していた (Fig. 27, 28)。

実験群の脛骨骨端の軟骨層は対照群とほぼ同様な所見を呈していた。静止帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞の変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞が増加していた。肥大型軟骨細胞を囲む石灰化基質、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見に伴って、軟骨下骨形成は増加していた (Fig. 29, 30)。

b. 骨幹端

対照群の脛骨骨幹端における軟骨層は8週目の対照群と比べ薄くなっていた。静止帯軟骨細胞と増殖帯軟骨細胞

Fig. 31 Metaphysis of tibia in the 9th week.
Control group
H·E Stain (×20)

Fig. 32 A magnification of Fig. 31.
H·E Stain (×100)

胞の変動はみられないが、肥大帯軟骨細胞がやや減少していた。肥大型軟骨細胞の柱状間隙の石灰化基質、軟骨吸収細胞による石灰化基質の吸収に伴って、軟骨下骨形成も増加していた (Fig. 31, 32)。

実験群の脛骨骨幹端の軟骨層には静止帯軟骨細胞の変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞の増加と肥大帯軟骨

Fig. 33 Epiphysis of tibia in the 9th week.
Experimental group
H · E Stain (×20)

Fig. 34 A magnification of Fig. 33.
H · E Stain (×100)

細胞の減少がみられた。対照群に比べ肥大型軟骨細胞の柱状間隙にある石灰化基質、破軟骨細胞による石灰化基質の侵食所見は認められ、軟骨内骨化による骨の形成は増加していた (Fig. 33, 34).

3. 実験後 10 週目

脛骨の近位端

Fig. 35 Epiphysis of tibia in the 10th week.
Control group
H · E Stain (×20)

Fig. 36 A magnification of Fig. 35.
H · E Stain (×100)

Fig. 37 Epiphysis of tibia in the 10th week.
Experimental group
H · E Stain (×20)

Fig. 38 A magnification of Fig. 37.
H·E Stain ($\times 100$)

Fig. 41 Epiphysis of tibia in the 10th week.
Experimental group
H·E Stain ($\times 20$)

Fig. 39 Metaphysis of tibia in the 10th week.
Control group
H·E Stain ($\times 20$)

Fig. 42 A magnification of Fig. 41.
H·E Stain ($\times 100$)

Fig. 40 A magnification of Fig. 39.
H·E Stain ($\times 100$)

a. 骨端

対照群の脛骨骨端における軟骨層は9週目の対照群に比べ全体的に薄くなっていた。静止帯軟骨細胞における変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞が減少していた。肥大型軟骨細胞を囲む石灰化基質、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見は、軟骨下骨形成帯に連続した骨梁は大幅に増加していた (Fig. 35, 36)。

実験群の脛骨骨端の軟骨層についてみると、静止帯軟骨細胞の変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞の増加がみられた。肥大型軟骨細胞を囲む石灰化基質、破軟骨細胞による石灰化基質の侵食所見、軟骨性骨化の様相ならびに骨梁の増加は対照群とほぼ同様な所見を示した (Fig. 37, 38)。

b. 骨幹端

対照群の脛骨骨幹端における軟骨層は9週目の対照群と比べ薄い。静止帯軟骨細胞の変動はみられないが、増殖帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞が減少していた。肥大型軟骨細胞の柱状間隙の石灰化基質、破軟骨細胞による石灰化基質の侵食所見は多く認められ、軟骨内骨化による骨の形成は増加していた (Fig. 39, 40)。

実験群の脛骨骨幹端の軟骨層についてみると、静止帯軟骨細胞、増殖帯軟骨細胞および肥大帯軟骨細胞は減少傾向にあった。対照群と比べ肥大帯軟骨細胞の柱状間隙にある石灰化基質、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食は増加し、それに伴って軟骨内骨形成はより増加していた (Fig. 41, 42)。

考 察

川島 (1984)²⁷⁾ は幼少年における骨折が多発する原因として、カルシウムの多い食物を摂取しないことを挙げている。明治以来、欧米の物質文明の取り込みに急ぐあまり、欧米と日本の土壌や水質の違いをわきまえず、食物の洋風化がその原因であるとも考えられている。日本の国土は火山列島のため、平野は火山灰に被われた土質である。この火山灰土壌にはカルシウム成分が少ない。従って、その土壌から湧く水も、流れる水も、その土に根を伸ばして育つ植物にもカルシウムが少ない。この水を飲み、この食物を食べる日本人は、カルシウムが不足がちである²⁷⁾。カルシウムを多く含有する海草や魚を食べることによってカルシウム不足を補うことができるが、カルシウム量の低い人工食品の氾濫はさらにその現象に拍車をかけている。イワシは本邦において最も漁獲量が多く、豊富なカルシウムと良質の蛋白質、細胞の老化現象を保護する核酸、血液中の中性脂肪を下げる働きのあるエイコサペンタエン酸などの栄養素を含んでいる。またイワシパウダーは、水溶性及び非水溶性の蛋白質とカルシウムが自然の状態で結合された最も吸収率の高いカルシウムである^{26, 28)}。そこで著者は、このイワシパウダーを用いて、成長期ラットの虚弱脛骨骨端及び骨幹端に対する高カルシウム食の影響を検索したので考察する。

I. X線学的所見

陳 (1989)²⁹⁾ は、生後3週齢のラットにイワシパウダーと標準飼料を1:2に混合した高カルシウム食を与えて脛骨骨端及び骨幹端を観察した結果、実験日数の経過に伴う表面の平滑化、外周にみられる緻密な骨層の明瞭化、骨梁の増加が認められたと報告しており、カルシウム投与によって、骨形成は実験日数の経過とともに促

進効果が強くなることを示している。渡辺 (1990)²⁵⁾ は、生後3週齢のラットに実験的骨粗鬆症を惹起させ、その後標準食を与えた群と、イワシパウダーと標準飼料を1:2に混合した高カルシウム食を与えた群とを比較している。それによると、脛骨骨端及び脛骨骨幹端は、高カルシウム食投与群は標準食投与群に比べて実験日数の経過とともに、形態は整い、骨層も厚くなり、骨梁の数も増加し、緻密に走行していた。西田ら (1992)³⁰⁾ も、渡辺と同様の実験を行い、下顎頭における高カルシウム食 (イワシパウダー: 標準飼料=1:2) の影響を検討した結果、軟骨層の成長及び骨組織における骨構築は促進していたと報告している。

一方、竹島 (1987)²³⁾ は虚弱脛骨の近位端に及ぼすカルチトニン投与の影響について検索した結果、脛骨骨端は緻密な骨層が外周にみられ、骨梁の数も増加しており、より幅の広い骨梁となって関節面から垂直に走行しているとしている。また、脛骨骨幹端では、骨梁の数が増加し、その幅が太くなり、骨幹端表面から垂直に走行していたと述べている。しかしながら、正常食対照群と比較して、その骨形成は低下している。岩永 (1989)²⁴⁾ は、同部位における活性型ビタミンD₃投与の影響について、脛骨骨端の形態はやや整い、一部の緻密な骨層がみられ、骨梁は増加しているが、その幅は減少していたと述べている。脛骨骨幹端は、緻密な骨層は明瞭になり、骨梁は緻密に走行しているが、その幅は細くなっていたと報告している。

著者の実験においては、脛骨骨端の形態は日数の経過とともに、形態は整い、外周の緻密な骨層は厚くなり、表面は平滑で、骨梁は増加し規則的に走行していた。また、脛骨骨幹端の形態も実験日数の経過とともに明瞭にみられ、骨梁は増加し緻密に走行していた。このことは、虚弱骨に対するカルシウムの投与が、カルチトニンならびに活性型ビタミンD₃単独投与と比較して、より有効であることを示すものと思われる。また、カルシウム投与は脛骨骨端及び脛骨骨幹端における骨形成を実験日数の経過とともに促進した。ゆえに、一旦虚弱化した骨組織を回復させるためには、可及的長期にわたってカルシウムの投与が行われることが必要であると考えられる。

II. 病理組織学的所見

渡辺 (1990)²⁵⁾ の脛骨骨端と骨幹端におけるCMR像所見をみると、実験日数の経過とともに primary spongiosa の粒状骨梁は減少し、secondary spongiosa の骨梁はより多く、より太くなって緻密に走行していたと述べている。竹島 (1987)²³⁾ のカルチトニンの実験結果を

みると、脛骨骨端ならびに骨幹端では primary spongiosa の粒状骨梁は増加し、secondary spongiosa の骨梁も増加し、さらに骨梁の幅も増し、緻密に走行していたと報告している。岩永 (1989)²⁴⁾ が行ったビタミン D₃ 投与実験の結果では、脛骨骨端及び骨幹端の primary spongiosa の粒状骨梁は多く、secondary spongiosa の骨梁は細くなっていたと述べている。本研究では、渡辺の報告と同様、脛骨骨端及び骨幹端の primary spongiosa の粒状骨梁は、時間の経過とともに減少したが、secondary spongiosa の骨梁は、増加し、より太くなって走行していた。

渡辺 (1990)²⁵⁾ は骨粗鬆症に対するカルシウムの影響について、脛骨骨端では、日数の経過とともに軟骨層の厚さは減少し、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見は5週目で最も多くみられたが、6週目及び7週目になると対照群とほぼ同じ所見を呈すようになり、また、骨梁は日数の経過とともに増加し、緻密に走行していたと述べている。竹島 (1987)²³⁾ は、脱 Ca・ECT 群では、脛骨骨端及び骨幹端の軟骨層は厚く、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食と軟骨下骨形成も多くみられ、骨梁の幅も広いもののそのほとんどが低石灰化層であると報告している。岩永は、活性型ビタミン D₃ を投与することにより、脛骨骨端及び骨幹端の軟骨層は薄くなり、軟骨吸収細胞と石灰化基質の侵食所見は増加し、軟骨内骨形成も多くみられるが、骨梁は細かったとしている。本実験においては、実験日数の経過とともに、脛骨骨端及び骨幹端の軟骨層は薄くなり、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見と軟骨下骨形成は多く認められた。さらに脛骨骨幹端では肥大帯軟骨細胞の柱状間隙に見られる石灰化基質、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見に伴って軟骨内骨化も増加していた。

以上のことから、虚弱骨に対するカルシウムの投与は、カルチトニンならびに活性型ビタミン D₃ の単独投与と比較してより有効であるとともに、長期にわたって投与することによってさらなる骨構築の改善が期待できると考えられる。

著者は、イワシパウダーと標準飼料の混合比を1:2としたが、この混合比についても検討がかさねられている。著者と同様1:2の混合比を用いた研究は、渡辺 (1990)²⁵⁾、西田ら (1992)³⁰⁾ の報告にみられる。また、2:3の混合比を用いた研究では、中河原 (1992)³¹⁾、曾我 (1995)³²⁾ がそれぞれ歯槽骨、下顎頭について検索したものがあつた。1:2の混合比の結果が良好であったのに対し、2:3の混合比では、骨基質形成の低下が報告され

ている^{31, 32)}。さらに曾我 (1995)³²⁾ は、高カルシウムの過剰投与を長期間持続して行くと、骨塩量の減少による骨基質形成の低下が生じたと述べている。その中で曾我は、その理由を以下のように考察している。すなわち、カルシウムの過剰投与を長期間持続したために、腸管からのカルシウムの吸収不良が起こり、さらに腎での再吸収が低下し、カルシウムの排泄量が増加したためと推測している。本研究とこれまで報告されてきた研究の結果から、虚弱骨に対する高カルシウム療法は、飼餌中のカルシウム含有量と投与期間が重要であることが示唆された。

結 論

生後3週齢の Wistar 系雄ラットにカルシウム欠乏食を与えて、実験的虚弱骨を惹起させた後、対照群は標準食、実験群はイワシパウダーと標準食との混合食 (1:2) による食餌療法に切り換え8週、9週、10週間後、脛骨近位端に及ぼす影響を X 線学的および病理組織学的に検索を行い、次のような結果を得た。

I. X 線学的所見

1. 脛骨骨端の形態は対照群に比べ実験群は実験日数の経過とともに整っており、外周の緻密な骨層は厚くなり、表面も平滑で、骨梁は増加し規則的に走行していた。
2. 実験群の脛骨骨幹端の骨梁の形態は対照群と比較すると、実験日数の経過とともに増加し、また緻密に走行していた。

II. 病理組織学的所見

1. Contact microradiogram 所見

a. 脛骨骨端

primary spongiosa における粒状骨梁は、対照群に比べ実験群は9週目、10週目になると減少していた。secondary spongiosa の骨梁は対照群に比べ実験群は実験日数の経過とともにより多く、太さも増していた。

b. 脛骨骨幹端

primary spongiosa の粒状骨梁では、実験後9週目以後は実験日数の経過とともに減少していた。一方 secondary spongiosa の骨梁は対照群と比較すると実験群は実験日数の経過とともに増加し、石灰化度も高く、太さも増していた。

2. 一般組織所見

a. 脛骨骨端

実験群の軟骨層は、対照群に比べ8週目、9週目および10週目に至るまで多少の変化は認められるが、対照群、実験群ともに軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食

所見と軟骨下骨形成は実験日数の経過とともに増加した。

b. 脛骨骨幹端

軟骨層は対照群と同様に8週目、9週目および10週目には増殖帯軟骨細胞と肥大帯軟骨細胞の減少が認められた。対照群に比べ実験群では肥大帯軟骨細胞の柱状間隙にある石灰化基質、軟骨吸収細胞による石灰化基質の侵食所見と軟骨内骨形成は実験日数の経過とともに増加した。

以上のことから、虚弱骨の食餌療法としてイワシパウダーによる混合食を長期間継続することにより軟骨内骨化による骨形成の促進作用がみられた。

稿を終るに望み、恩師木村光孝教授には終始懇篤なご指導とご校閲を賜り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講座の各位にお礼申し上げます。

本論文の要旨は、第34回日本小児歯科学会大会および総会（平成8年6月6、7日、札幌市）において発表した。

引用文献

- 1) Albright, F., Bloomberg, E. and Smith, P. H.: Postmenopausal osteoporosis. *Trans. Asso. Am. Phys.* 55: 298-305, 1940.
- 2) Reifenshtein, E. C.: Relationship of steroid hormone to development and management of osteoporosis in aging people. *Clin. Orthop.* 10: 206-253, 1957.
- 3) Urist, M. R.: The etiology of osteoporosis. *J. A. M. A.* 7: 710-711, 1959.
- 4) Nordin, B. E. C.: Osteomalacia, osteoporosis and calcium deficiency. *Clin. Orthop.* 17: 235-258, 1960.
- 5) Nordin, B. E. C.: International patterns of osteoporosis. *Clin. Orthop.* 45: 17-30, 1966.
- 6) 森井浩世: 栄養の原因—カルシウム—骨粗鬆症と臨床—（藤田拓男・他編）。協和企画通信。東京、1983、91-100.
- 7) 森井浩世: カルシウム摂取と成人病—骨疾患、血管障害との関連—。内科 48: 757-762, 1981.
- 8) 江澤郁子, 尾形悦郎: 栄養と骨粗鬆症—ラット実験モデルによる検討— [会], 日骨代謝誌 1: 29, 1983.
- 9) Matkovic, V., Kostial, K., Simorovic, I., Buzina, R., Brodarec, A. and Nordin, B. E. C.: Bone status and fracture rates in two regions of Yugoslavia. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 540-549, 1979.
- 10) Gallagher, J. C., Riggs, B. L., Elisman, J. Hamastra, A., Arnaud, S. B. and Deluca, H. F.: Intestinal calcium absorption and serum vitamin D metabolites in normal subjects and osteoporotic patients. *J. Clin. Invest.* 64: 729-736, 1979.
- 11) 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実験的研究—とくに歯槽骨について—。九州歯会誌 40: 530-554, 1986.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 木村光孝: 成長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.
- 15) 藤田拓男: カルシウムバイブル。あき書房、東京、1985、64-66.
- 16) 川島四郎: もっとカルシウムもっと青野菜。実業之日本社、東京、1986、18-22.
- 17) 木村光孝: 小児における顎骨の小進化。北九州市歯科医師会誌 136: 1-8, 1989.
- 18) Lund, B., Hjorth, L., Kjaer, I., Reimann, I., Friis, T., Andersen, R. B. and Sorensen, O. H.: Treatment of osteoporosis of ageing with 1α -hydroxycholecalciferol. *Lancet* 2: 1168-1171, 1975.
- 19) Lindgren, J. U. and Lindholm, T. S.: Effect of 1α -OH-vitamin D₃ on osteoporosis in rats induced by oophorectomy. *Calcif. Tissue. Int.* 27: 161-164, 1979.
- 20) Jowsey, J., Schenk, R. K. and Reutter, F. W.: Some results of the effect of fluoride on bone tissue in osteoporosis. *J. Clin. Endocr.* 28: 869-874, 1986.
- 21) 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.
- 22) 篠崎英一: 実験的骨粗鬆症に対する食餌の影響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 41: 102-121, 1987.
- 23) 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.
- 24) 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.
- 25) 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: 310-324, 1990.
- 26) 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.
- 27) 川島四郎: カルシウム不足の日本人。美寿実出版部、東京、1984、26-29.
- 28) 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.
- 29) 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.
- 30) 西田郁子, 曾我富美雄, 松田容士子, 竹下尚利, 赤嶺秀紀, 高橋由丈, 木村光孝: 虚弱骨に対する高カルシウム療法の効果に関する実験的研究—下顎頭の変化—. 小児歯誌 30: 755-766, 1992.
- 31) 中河原哲朗: 虚弱下顎骨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.
- 32) 曾我富美雄: 成長期の虚弱下顎頭に対する食餌療法に関する実験的研究—骨基質形成—. 九州歯会誌 49: 274-287, 1995.