成長期の下顎頭軟骨におけるユニカル[®]の 影響に関する実験的研究

森 本 彰 子

九州歯科大学小児歯科学講座（指導：木村光孝教授）

平成 11 年 12 月 27 日受理

Effects of Unical[®] Diet on the Development of the Mandibular Condyle Cartilage at the Growth Stage

Akiko Morimoto

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

Male Wistar rats, six-week-old corresponding to the human school age were used, and the effect of high calcium diet intake on bone formation in the mandibular condyle at the growing stage was investigated.

The results were as follows:

1. Body weight

The rats, 6-week old, were divided into their respective groups and maintained to 11-week old. As a result, no significant differences ($p < 0.01$) were found among the groups.

2. Hematologic findings

No changes were found in electrolyte in blood serum and in biochemical examinations among the groups.

3. Histopathological findings

Calcium deficient food group, as compared with the controls, showed decrease in calcified matrix enclosing hypertrophic layer and in chondroclasts resorbing calcified matrix.

Calcium-low diet group, especially Unical[®] diet group, showed increase in chondroclasts and in invasion of calcified matrix around, which continued with densely arranged bone trabeculae where bone formation was identified active by increased osteoblasts and osteoclasts. The group showed marked findings of recovery of bone architecture and approximated the control group.

4. Scanning electron microscopic findings

Calcium deficient food group, as compared with the controls, showed decrease in calcified matrix in cartilage lacuna. Calcium-low diet group showed increased calcified matrix in cartilage lacuna. Particularly Unical[®] diet group showed active bone formation while bone formation and resorption areas mixed.

From the above results, calcium facilitated bone formation in rat's condylar cartilage.

Dietary treatment itself could not help with recovery of bone tissue from calcium deficiency in weaning age; while the restoration and promotion of bone matrix formation were revealed in school childhood, where bone loss from calcium insufficiency was followed by continuing balanced dietary therapy. The action was thought to be related to the activity of hormones regulating bone metabolism

Key words: Mandibular condyle cartilage/Growth stage/Food therapy

緒 言

ヒトの成長に欠かせないミネラルであるカルシウムは、日本が火山灰地であるために最も摂取不足に陥りやすい無機質の一つである。カルシウムの一日摂取量は近年増加傾向にあるものの、現在の一日摂取量は573 mgであり、必要量の600 mgには達していないのが現状である¹⁾。成長発育期における小児にとってカルシウム摂取量は骨の内部構造に大きな影響を与えるために、咬合力や咀嚼能力との関連が注目されている。成長期における栄養不足、とくにカルシウム摂取不足による栄養障害は、骨の形態の変化のみならず、内部構造にもかなりの変化が見られる²⁻⁵⁾。過去の研究者の報告を見ると、カルシウム不足になり一旦骨虚弱状態に陥ったラットに対し、活性型ビタミンD₃^{6,7)}やカルチトニン^{8,9)}などの化学物質による臨床的治療を行う方法や、カルシウム含有量の改善による食餌療法^{10,11)}も試みられ良い結果が得られている。カルシウム不足は下顎頭軟骨にも影響を及ぼし、西田ら(1992)¹²⁾はわが国で最も魚獲量の多いイワシパウダーを用いて虚弱下顎頭に及ぼす影響を検索した。牧ら(1994)¹³⁾は同じく牛骨粉を用いて骨構築の状態を検索し、両者は骨構築への促進効果があることを報告している。

顎関節は側頭骨の関節窩と下顎骨の下顎頭の間に構成されて関節円板が両者の間に介在し関節腔を上下に2分している。解剖学的にも機能的にも他の諸関節とは異なり歯の咬合関係と相互に調和を保ちながら咀嚼、嚥下、発音などの複雑微妙な口腔顎系の機能が行われるような構造を有している。そのために機能的にも形態病理的にも興味深く、様々な研究がなされている¹⁴⁻¹⁷⁾。近年、顎関節症が咬合との関連において顎関節運動とともに臨床的に注目され、その原因究明のために各種の動物を用いて病理学的研究が盛んに行われている。その中で、ラットは血統が純潔で廉価で短期間で成長する。

本研究においては成長期に骨虚弱状態に陥ったラット

を用い、高カルシウム食(ユニカル[®])による影響を下顎頭軟骨を用いて軟骨内骨化による骨基質形成について検索した。ユニカル[®]はウニの殻を主成分としたカルシウム食である。

材料ならびに方法

実験動物は、生後6週齢のWistar系雄ラット(体重160 g前後のもの)30匹を用い、無作為に以下の5群に分け5週間飼育した。試料として、ラット標準飼料(オリエンタル酵母工業)、A食変型カルシウム欠乏食飼料(オリエンタル酵母工業)、A食変型低カルシウム飼料(30%) (オリエンタル酵母工業)ならびにユニカル[®]食(オリエンタル酵母工業)を用いた。飼料の構成成分についてはTable 1-1, 1-2に示している通りである。

対照群: ラット標準飼料と水道水にて5週間飼育した。

カルシウム欠乏食・標準食群: A食変型カルシウム欠乏食飼料と蒸留水で3週間飼育し虚弱骨を惹起させたのち、標準食に切り替え水道水で2週間飼育した。

カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群: A食変型カルシウム欠乏食飼料と蒸留水で3週間飼育し虚弱骨を惹起させたのち、標準食およびユニカル[®]の混合食と水道水で2週間飼育した。

低カルシウム食・標準食群: A食変型低カルシウム飼料(30%)と水道水で3週間飼育し虚弱骨を惹起させたのち、標準食に切り替え水道水で2週間飼育した。

低カルシウム食・ユニカル[®]食群: A食変型低カルシウム飼料(30%)と水道水で3週間飼育し虚弱骨を惹起させたのち、標準食およびユニカル[®]の混合食と水道水で2週間飼育した。

体重については毎日、一定時間に測定を行い記録した。血液検査に関しては血清中のCa, IP, Ca/P, Na, K, Clなどの電解質, CPK, LDH, AL-P, GOP, GPTなどの生化学検査を行った。統計学的処理にはF検定を用いた。

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

(mg/100 g)

	Normal diet	Ca-deficient diet	Ca-low (30 %) diet	Unical® diet
Ca	480	—	144	1697
P	650	612	612	612
Mg	87	87	87	111
Na	220	293	293	221
K	440	746	746	412
Fe	32	32	32	30
Cu	0.46	0.5	0.5	0.43
Zn	3.4	3.0	3.0	3.18
Mn	1.6	2.6	2.6	1.50
I	0.46	0.3	0.3	0.43
Cl	170	174	174	158.95

Table 1-2 Composition of vitamin mixture

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 ₁₂	0.05 mg
Vitamin B ₆ HCl	80 mg
Vitamin C	3000 mg
D-biotin	2 mg
Folic acid	20 mg
Calcium pantothenate	500 mg
Nicotinic acid	600 mg
α -aminobenzonic acid	500 mg
Inositol	600 mg
Choline choride	20000 mg
Cellulose	rest

飼育完了後チアラミラルナトリウム (イソゾール) 25 mg/100 g で腹腔内注射し安楽死させた後、直ちに頭部を摂取し、10 %ホルマリン液にて浸漬固定した。固定後頭部を正中で分離し、試料は5 %硝酸脱灰し、パラフィン包埋後、矢状断で7 μ m 連続切片標本作製し、ヘマトキシリン・エオジン重染色を施し鏡検した。

一方、下顎頭の矢状断面を超微形態学的に観察するた

めに、走査電顕資料を作製した。まず下顎頭を phosphate buffer (pH 7.2) に浸し、超音波洗浄器にて付着物を除去した。次いで2.5 % glutaraldehyde で1時間浸漬固定した後、phosphate buffer にて洗浄し、後固定として1 % osmic acid (phosphate buffer, PH 7.2) に約2時間浸漬した。固定後の試料は上昇 ethanol 系列にて脱水し、2-methyl-2-propanol で置換後、凍結乾燥法 (ID-2 型, エイコーエンジニアリング) により乾燥した。試料表面にイオンスパッタ (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) で観察した。

なお、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

1. 体重

体重測定結果ならびに統計処理結果を Table 2-1, 2-2 に示す。

実験開始時におけるラットの体重の平均値は約 151-170 g 程度であったが、実験5週間目には、対照群は 376.00 g, カルシウム欠乏食・標準食群は 376.58 g, カルシウム欠乏食・ユニカル®食群は 375.00 g, 低カルシウム食・標準食群は 379.33 g, 低カルシウム食・ユニカル®食群は 381.33 g であった。それぞれの平均値の差について検定を行ったところ有意差は認められなかった。

2. 血液学的所見

電解質検査結果ならびに統計処理結果を Table 3-1, 3-2 に示す。

Table 2-1 Body weight between the control and each experimental groups (g)

	Pre-ex	5 W
A	161.02±2.00	376.00±13.08
B	158.22±2.65	376.58±20.00
C	160.33±2.52	375.00± 7.81
D	159.59±3.61	379.33± 5.13
E	160.18±5.29	381.33± 3.21

Mean±S. D.

A: Standard diet group

B: Ca-deficient and standard diet group

C: Ca-deficient and Unical[®] diet group

D: Ca-low and standard diet group

E: Ca-low and Unical[®] diet group

対照群の血清 Ca の平均値は 10.43 mg/dl であるのに
対しカルシウム欠乏食・標準食群は 10.27 mg/dl, カル
シウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 10.37 mg/dl であっ
た。低カルシウム・標準食群は 10.20 mg/dl, 低カルシ
ウム・ユニカル[®]食群は 10.57 mg/dl であった。各群間
に有意差は認められなかった。

対照群の血清 P の平均値は 7.50 mg/dl, カルシウム
欠乏食・標準食群は 7.07 mg/dl, カルシウム欠乏食・ユ
ニカル[®]食群は 7.17 mg/dl であった。低カルシウム・標
準食群は 7.13 mg/dl, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は
7.47 mg/dl であった。各群間に有意差は認められな
かった。

対照群の血清 Ca と血清 P の比の平均は 1.40, カルシ

Table 2-2 Difference in body weight among the five groups

	A⇔B	A⇔C	A⇔D	A⇔E	B⇔C	B⇔D	B⇔E	C⇔D	C⇔E	D⇔E
Pre-ex	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 W	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—: Not significant

Table 3-1 Laboratory values of electrolytes

	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Ca/P	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
A	10.43±0.17	7.50±0.16	1.40±0.08	144.33±1.25	4.77±0.17	100.67±2.05
B	10.27±0.90	7.07±1.27	1.50±0.22	143.33±0.47	4.67±0.25	101.33±1.89
C	10.37±0.17	7.17±0.61	1.43±0.12	143.67±0.94	4.63±0.49	101.00±0.82
D	10.20±0.33	7.13±0.90	1.47±0.17	143.67±0.94	4.87±0.34	100.67±2.49
E	10.57±0.60	7.47±0.12	1.43±0.05	144.00±0.82	4.67±0.25	99.67±1.25

Mean±S. D.

Table 3-2 Difference of laboratory values among the five groups

	A⇔B	A⇔C	A⇔D	A⇔E	B⇔C	B⇔D	B⇔E	C⇔D	C⇔E	D⇔E
Ca	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ca/P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Na	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cl	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—: Not significant

Table 4-1 Laboratory values of blood chemistry

(IU/L)

	GOT	GPT	LDH	CPK	ALP
A	115.33±15.92	27.67±5.25	2637.33±470.73	1872.00± 66.07	439.00± 87.29
B	121.67±10.78	27.00±5.35	2791.67±591.39	1697.00±327.92	423.33±118.76
C	111.33± 5.56	24.00±2.16	2498.33±219.60	1722.33±194.59	579.00±111.19
D	122.00± 3.56	26.00±2.16	2427.67±263.34	1981.67±901.21	357.33± 53.77
E	107.67±11.73	25.33±1.70	2505.33±453.03	1790.33± 95.90	454.00± 29.81

Mean±S. D.

Table 4-2 Difference of laboratory values of blood chemistry among the five groups

	A⇔B	A⇔C	A⇔D	A⇔E	B⇔C	B⇔D	B⇔E	C⇔D	C⇔E	D⇔E
GOT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GPT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LDH	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CPK	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ALP	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—: Not significant

ウム欠乏食・標準食群は 1.50, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 1.43 であった。低カルシウム・標準食群は 1.47, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 1.4 であった。各群間に有意差は認められなかった。

対照群の血清 Na の平均値は 144.33 mEq/l, カルシウム欠乏食・標準食群は 143.33 mEq/l, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 143.67 mEq/l であった。低カルシウム・標準食群は 143.67 mEq/l, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 144.00 mEq/l であった。各群間に有意差は認められなかった。

対照群の血清 K の平均値は 4.77 mEq/l, カルシウム欠乏食・標準食群は 4.67 mEq/l, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 4.63 mEq/l であった。低カルシウム・標準食群は 4.87 mEq/l, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 4.67 mEq/l であった。各群間に有意差は認められなかった。

対照群の血清 Cl の平均値は 100.67 mEq/l, カルシウム欠乏食・標準食群は 101.33 mEq/l, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 101.00 mEq/l であった。低カルシウム・標準食群は 100.67 mEq/l, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 99.67 mEq/l であった。各群間に有意差は認められなかった。

生化学検査結果ならびに統計処理結果を Table 4-1,

4-2 に示す。

対照群の GOT の平均値は 115.33 U, カルシウム欠乏食・標準食群は 121.67 U, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 111.33 U であった。低カルシウム・標準食群は 122.00 U, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 107.67 U であった。各群間に有意差は認められなかった。

対照群の GPT の平均値は 27.67 U, カルシウム欠乏食・標準食群は 27.00 U, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 24.00 U であった。低カルシウム・標準食群は 26.00 U, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 25.33 U であった。各群間に有意差は認められなかった。

対照群の LDH の平均値は 2637.33 U, カルシウム欠乏食・標準食群は 2791.67 U, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 2498.33 U であった。低カルシウム・標準食群は 2427.67 U, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 2505.33 U であった。各群間に有意差は認められなかった。

対照群の CPK の平均値は 1872.00 U, カルシウム欠乏食・標準食群は 1697.00 U, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 1722.33 U であった。低カルシウム・標準食群は 1981.67 U, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 1790.33 U であった。各群間に有意差は認められなかった。

Fig. 1 Mandibular condyle of the 5th week.
Control group
H·E stain (×50)
CL: Cartilage layer
Tr: Trabeculae

Fig. 3 A higher magnification of Fig. 1.
H·E stain (×200)
HL: Hypertrophic layer
EL: Erosive layer
MNC: Multinuclear cell (chondroclast)
E: Erosion
Tr: Trabeculae

Fig. 2 A higher magnification of Fig. 1.
H·E stain (×200)
RL: Rest layer
PL: Proliferative layer
HL: Hypertrophic layer

Fig. 4 A higher magnification of Fig. 1.
H·E stain (×200)
Ob: Osteoblast
Ocl: Osteoclast
Tr: Trabeculae

対照群の ALP の平均値は 439.00 U, カルシウム欠乏食・標準食群は 423.33 U, カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群は 579.00 U であった。低カルシウム・標準食群は 357.33 U, 低カルシウム・ユニカル[®]食群は 454.00 U であった。各群間に有意差は認められなかった。

3. 光学顕微鏡所見

対照群の光学顕微鏡所見ならびにその強拡大を Fig. 1-4 に示す。下顎頭軟骨表面から骨梁に至るまで、特徴を異にする軟骨細胞帯が存在し、表層にみられる静止帯軟骨細胞層は細長く、長軸と平行に配列している。その直下に位置する増殖帯軟骨細胞層は、長方形、円形を呈

する細胞からなっている。その直下に位置する肥大帯軟骨細胞層において、軟骨細胞はわずかな量の細胞間質によって囲まれ、肥大型軟骨細胞の周囲には石灰化基質がみられる。その直下には侵食帯軟骨細胞層がみられ、軟骨細胞を囲む石灰化基質を侵食する所見と軟骨吸収細胞がみられる。さらに下方に位置する軟骨下骨形成帯では軟骨性骨化がみられ、さらに骨梁が存在し、その表面には骨芽細胞と破骨細胞の出現がみられる。

カルシウム欠乏食・標準食群の光学顕微鏡所見を Fig. 5-8 に示す。静止帯軟骨細胞は対照群と比べ減少し、形態は円形となり不規則に配列している。増殖帯軟骨細胞

Fig. 5 Mandibular condyle of the 5th week.
Ca-deficient and standard diet group
H·E stain (×50)
CL: Cartilage layer
Tr: Trabeculae

Fig. 7 A higher magnification of Fig. 5.
H·E stain (×200)
HL: Hypertrophic layer
EL: Erosive layer
MNC: Multinuclear cell (chondroclast)
E: Erosion
Tr: Trabeculae
CM: Calcified matrix

Fig. 6 A higher magnification of Fig. 5.
H·E stain (×200)
RL: Rest layer
PL: Proliferative layer
HL: Hypertrophic layer

Fig. 8 A higher magnification of Fig. 5.
H·E stain (×200)
Ob: Osteoblast
Ocl: Osteoclast
Tr: Trabeculae

も減少し、疎に配列している。細胞は不定形となり肥大型軟骨細胞には核の空洞化が認められ不規則に配列している。肥大帯軟骨細胞を囲む石灰化基質は減少し、小胞体と核が共に変形した細胞が部分的に集合している。肥大帯と侵食帯との境界は不明瞭であり、軟骨吸収細胞の数および軟骨性骨化も減少し、骨梁は細く短く、そのほとんどは低石灰化層で、骨梁表面には骨芽細胞や破骨細胞が認められる。

カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群の光学顕微鏡所見を Fig. 9-12 に示す。カルシウム欠乏食・標準食群と比

べ静止帯軟骨細胞は増加傾向にある。増殖帯軟骨細胞は増加し、緻密に配列している。細胞は長方形で小型である。肥大帯軟骨細胞の周囲に見られる石灰化基質は明瞭となり増加し、緻密となっている。軟骨吸収細胞による侵食所見は増加し、骨梁の数は増加し、骨形成は活発で、関節表面に対して垂直に配列している。

Fig. 13-16 に低カルシウム食・標準食群の光学顕微鏡所見を示す。対照群と比較すると、静止帯軟骨細胞は扁平や楕円形を呈し、細胞は減少し不規則に配列している。増殖帯軟骨細胞は長方形で小さいもの、丸く大型の

Fig. 9 Mandibular condyle of the 5th week.
Ca-deficient and Unical[®] diet group
H·E stain (×50)
CL: Cartilage layer
Tr: Trabeculae

Fig. 11 A higher magnification of Fig. 9.
H·E stain (×200)
HL: Hypertrophic layer
EL: Erosive layer
MNC: Multinuclear cell (chondroclast)
E: Erosion
Tr: Trabeculae
CM: Calcified matrix

Fig. 10 A higher magnification of Fig. 9.
H·E stain (×200)
RL: Rest layer
PL: Proliferative layer
HL: Hypertrophic layer

Fig. 12 A higher magnification of Fig. 9.
H·E stain (×200)
Ob: Osteoblast
Ocl: Osteoclast
Tr: Trabeculae

細胞や不定形の細胞が混在している。肥大型軟骨細胞層の形態は対照群と類似するが、不規則に配列している。軟骨吸収細胞の促進により、侵食所見や成長軟骨層に見られる基質の石灰化は活発で、軟骨細胞から骨細胞へ分化し新生骨と連続しているが骨梁は細く形成されている。

低カルシウム食・ユニカル[®]食群の光学顕微鏡所見を Fig. 17-20 に示す。

対照群と比べて静止帯軟骨細胞は少なく形態は細長く配列している。増殖帯軟骨細胞は同じであるが細胞の形

態は不定形のものも見られる。肥大帯軟骨細胞の形態は対照群と同様な所見を呈している。肥大帯軟骨細胞を囲む石灰化基質の増加も見られたが、対照群に比べて低下している。軟骨吸収細胞による侵食所見も低カルシウム食・標準食群と比べると増加し、下方の骨形成も促進しており、対照群と同程度の骨基質形成所見が見られる。

4. 走査型電子顕微鏡所見

対照群の走査型電子顕微鏡所見を Fig. 21-23 に示す。全体として軟骨層から骨梁に到るまで光顕レベルと平行して観察した。光顕レベルで軟骨層に相当する部分は、

Fig. 13 Mandibular condyle of the 5th week.
Ca-low and standard diet group
H·E stain (×50)
CL: Cartilage layer
Tr: Trabeculae

Fig. 15 A higher magnification of Fig. 13.
H·E stain (×200)
HL: Hypertrophic layer
MNC: Multinuclear cell (chondroclast)
E: Erosion
Tr: Trabeculae
CM: Calcified matrix

Fig. 14 A higher magnification of Fig. 13.
H·E stain (×200)
RL: Rest layer
PL: Proliferative layer
HL: Hypertrophic layer
CM: Calcified matrix

Fig. 16 A higher magnification of Fig. 13.
H·E stain (×200)
Ob: Osteoblast
Ocl: Osteoclast
Tr: Trabeculae

超微形態学的にもいわゆる静止帯，増殖帯，肥大帯，侵食帯，軟骨下骨形成帯として認められ，深層には幅広く厚い骨梁，さらには小骨髓腔が認められる。軟骨下骨形成帯が活発で，骨梁は幅広く形成されている。軟骨層では，軟骨小腔が明瞭に区画されている。増殖帯直下の肥大帯では，小腔壁は比較的密なコラーゲン原線維によって形成されている。さらに下方の軟骨小腔壁には，石灰化小球と思われる球形を呈した構造物が存在する。肥大帯下部は，長径約 20～25 μm の軟骨小腔が認められ，その形は類円形，卵円形，楕円形，不正円形など様々な形

態を呈している。軟骨小腔壁には，長径約 1～3 μm 前後の石灰化小球が多数形成され癒合している。石灰化小球の表層部はコラーゲン原線維網が形成され，小球の間隙には疎なコラーゲン原線維網が認められる。次に骨梁について観察すると，骨吸収面と骨形成面が広範囲にわたって認められる。骨吸収面には不定形の大小の吸収窩が多数集合しており，その窩底は比較的浅く，境界は不明瞭で凹凸を呈している。吸収窩底には，吸収によって露出した骨小腔が認められる。骨形成面は比較的平坦な面を呈し，類円形や不定形の骨小腔が散在しているが，

Fig. 17 Mandibular condyle of the 5th week.
Ca-low and Unical[®] diet group
H·E stain (×50)
CL: Cartilage layer
Tr: Trabeculae

Fig. 19 A higher magnification of Fig. 17.
H·E stain (×200)
HL: Hypertrophic layer
MNC: Multinuclear cell (chondroclast)
E: Erosion
Tr: Trabeculae
CM: Calcified matrix

Fig. 18 A higher magnification of Fig. 17.
H·E stain (×200)
RL: Rest layer
PL: Proliferative layer
HL: Hypertrophic layer

Fig. 20 A higher magnification of Fig. 17.
H·E stain (×200)
Ob: Osteoblast
Ocl: Osteoclast
Tr: Trabeculae

常に骨改造機転が旺盛なため骨吸収面が隣接している移行部が認められる。さらに骨形成面には、密なコラーゲン原線維で形成されており、側枝が、隣接するコラーゲン原線維と交叉、吻合している。またコラーゲン原線維には、直径約 $0.3\mu\text{m}$ の微細顆粒物が多数密に集合しているところも存在する。骨形成面の骨小腔壁面には、不規則に走行するコラーゲン原線維からなるコラーゲン原線維網で形成された部位や、一定方向に走行する密なコラーゲン原線維網で形成されている部位が認められる。また骨小腔を中心として周囲基質も密なコラーゲン原線維によって形成されている。中には骨小腔を横断する多

数のコラーゲン原線維束も認められる。骨小腔は浅く、類円形や不定形を呈し、多数の骨細管の開口部が存在する。

カルシウム欠乏食・標準食群の走査型電子顕微鏡所見を Fig. 24-26 に示す。対照群と比べ、軟骨層は幅広く形成され、各軟骨細胞層の区画を不明瞭とする部も多い。骨梁は細長い形態を呈し走行も不規則である。軟骨層には軟骨小腔を認めるものの、不完全な部位も多く、小腔面は断裂した壁面となり、各区分は不明瞭である。その大部分は、コラーゲン原線維の集合である。小腔底部には石灰化小球も認めるが、コラーゲン原線維網によって

Fig. 21 Mandibular condyle of the 5th week. Control group(SEM)

Fig. 24 Mandibular condyle of the 5th week. Ca-deficient and standard diet group (SEM)

Fig. 22 A higher magnification of Fig. 21. (SEM)

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

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

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

Fig. 27 Mandibular condyle of the 5th week.
Ca-deficient and Unical® diet group (SEM)

Fig. 28 A higher magnification of Fig. 27. (SEM)

Fig. 29 A higher magnification of Fig. 27. (SEM)

占められている部位がほとんどである。骨梁全体の観察では、大幅な骨吸収を認め、全域にわたって大小の吸収窩が連続して増加している。骨梁のほとんどは、対照群にみられるようなスムーズな部位は減少し、凹凸を呈する。骨小腔周囲をとりまく骨形成部では、コラーゲン原線維が分布しているものの、疎な部分も多い。また、骨小腔壁面に近い部では、比較的コラーゲン原線維が密に分布しているのに対し小腔壁面から離れた周囲基質では、比較的疎な状態となっている。小腔内部にコラーゲン原線維網によって形成された骨細管の開口部を認め、そこではコラーゲン原線維は交錯し、網状構造を呈し、その輪郭は不明瞭である。とくに対照群と比べ特徴的所見は軟骨細胞層の幅は広く骨梁の構築が減少している。軟骨小腔は縦走基質の断裂している部分や癒合の不十分な石灰化小球が存在し、コラーゲン繊維の露出も認められる。骨小腔基底部では、骨細管が密に分布しているところや疎に存在しているところが混在している。

カルシウム欠乏食・ユニカル®食群の走査型電子顕微鏡所見を Fig. 27-29 に示す。軟骨層全体を観察すると、軟骨細胞層はさらに薄くなっており骨化層では骨髓腔の形成も見られ、骨梁の幅は広くなり、骨層はかなり平滑に、緻密になっている。軟骨層には直径約 20 μm 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。骨層には骨小腔が認められその回りには石灰化した骨基質により活発に骨が形成されているのが観察される。小腔底部には骨細管が開口しその周囲にも骨基質が集積していた。骨梁表面の深部では骨基質を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る。

低カルシウム食・標準食群の走査型電子顕微鏡所見を Fig. 30-32 に示す。カルシウム欠乏食群と比較すると軟骨細胞層はさらに薄くなっており、骨梁は厚く太く形成されている (Fig. 30)。軟骨層を見ると、長径 20-25 μm 大の多数の卵円形、だ円形、不正円形を呈する軟骨小腔が認められ、区画の境界は明瞭である。小腔壁では疎なコラーゲン原線維に石灰化小球が散在しているところやコラーゲン原線維によって密なコラーゲン原線維網が形成されている所見が多く認められている。カルシウム欠乏食群にくらべて明瞭に区画されるようになっている。小腔内は石灰化小球癒合部や形成途上の豊富なコラーゲン原線維が密に交差している所見も認められる。軟骨下骨形成帯に連続した下方の骨梁についてみると、吸収窩の減少、骨形成部の増加が見られるが、対照群と比較す

Fig. 30 Mandibular condyle of the 5th week. Ca-low and standard diet group (SEM)

Fig. 33 Mandibular condyle of the 5th week. Ca-low and Unical® diet group (SEM)

Fig. 31 A higher magnification of Fig. 30. (SEM)

Fig. 34 A higher magnification of Fig. 33. (SEM)

Fig. 32 A higher magnification of Fig. 30. (SEM)

Fig. 35 A higher magnification of Fig. 33. (SEM)

ると骨梁の細い部分も多く、走行も不規則である。骨基質は密なコラーゲン原繊維によって形成されており骨小腔も多数見られ、小腔底部の骨細管も一部を除いて明瞭な部分も多く見られる。

低カルシウム食・ユニカル[®]食群の走査型電子顕微鏡所見を Fig. 33-35 に示す。低カルシウム食・標準食群と比べるとさらに軟骨細胞層は薄くなり骨梁は厚くなっている。軟骨層は明瞭に区分され、軟骨小腔は明瞭に認められる。軟骨下骨形成帯に連続した下方の骨梁は対照群と同様に一定方向に走行する密なコラーゲン繊維が多く、その上部にコラーゲン繊維網が観察される。またコラーゲン原繊維からの側枝も認められる。骨形成面には骨小腔が認められるが、不完全に形成された骨小腔も散見される。骨梁はさらに対照群と同程度に回復している所見が見られる。

考 察

軟骨組織や骨組織は基本的には支持組織であり、比較発生学的にも個体発生学的にも両組織の間には密接な関係がある。このため軟骨組織の多くは胎生期の骨のモデルとして存在し、肥大型軟骨細胞層が急速に石灰化して骨組織に置換され、体幹形態の決定、筋肉の支持・配置に関与している。一方、生物の進化の過程で哺乳類の多くは、カルシウムの豊富な海水中から淡水を経て陸生へと進化し、地球の重力下で自重を支え、ミネラルを貯蔵し、さらに造血の場を提供する組織として骨を発達させてきた。その意味で骨組織は支持組織であるとともにカルシウムやリンなど各種ミネラルの貯蔵庫としても、また体液のイオン調節機構の担い手としても重要な組織であり、種々の外力やホルモンなどによっても影響を受け、それらに敏感に対応する組織でもある¹⁸⁾。

軟骨は無血管系の特殊な支持組織で、軟骨細胞と細胞間基質からなる。細胞間基質はコンドロイチン硫酸を主体とする無定形なゲル状構造物とその中に埋め込まれた線維成分からなり、線維の種類、量によって軟骨組織は硝子軟骨、弾性軟骨、繊維軟骨に分けられる¹⁸⁾。

骨は絶えず吸収と添加を繰り返しながらその代謝が営まれているが、身長が増加とともに骨が形成され骨量が増加する。骨量はヒトの場合おおよそ20-30歳でその最大量 (peak bone mass) に達しその後毎年男性で0.5%, 女性で1%の速さで減少していく¹⁹⁾。減少の速さは性差、閉経の時期、遺伝、栄養、年齢、日常活動度に依存している。骨粗鬆症予防のためには30代までできるだけ最大骨量が高めることと、加齢や閉経に伴う

骨量減少を阻止することが重要である。また顎骨の小進化の発生機序の一つとしても、カルシウムの代謝異常の関与が報告されている^{2-4, 20-24)}。このような弊害の予防として栄養・食生活、運動などが一般的に提唱されている。

日本は火山国で欧米に比べてカルシウムが少ない土壌のため水や野菜・果物もカルシウムが不足しており、さらに体内のカルシウムを多く奪う加工食品が食卓に増えている。このような食生活ではカルシウムが不足しがちで意識して取らなければ必要量を満たすことは困難なのが現状である。骨の無機成分の主体であるカルシウムが成長期に不足すると、骨量や構築に大きな影響を及ぼし、下顎頭は骨虚弱状態に陥ることが明らかにされてきた²⁵⁻³⁰⁾。このことは下顎頭の形成がカルシウムの摂取量に関して非常に敏感に反応する組織であるといえる。また、いったん虚弱状態に陥った骨は、食餌療法によっても生理活性物質との併用両方によっても完全な回復は困難であることも示唆されている。このため実験的に骨虚弱状態に陥ったラットにカルシウムを配合した食餌療法を行った報告があり、陳 (1989)²³⁾、渡辺 (1990)³¹⁾、西田ら (1992)¹²⁾ のイワシパウダーや、牛骨粉³²⁻³⁵⁾ などが用いられている。本研究ではウニの殻を主成分とするユニカル[®]を用いて行った。ウニは遙か太古の昔から海で生息しワカメやコンブから必要な栄養素を吸収する独自の知恵で生き延びてきた。ウニの殻を構成しているカルシウムを主成分としているユニカル[®]は、ラット腸管内吸収試験において高い吸収率が実証されている³⁶⁾。また骨粗鬆症のヒトに対してユニカル[®]を投与した結果、骨塩量の変化に有意な改善が認められたと報告されている³⁷⁾。ユニカル[®]にはカルシウム、マグネシウム、亜鉛ほか各種ミネラルがバランスよく含まれている。最近、カルシウム摂取量に対してマグネシウムの相対的摂取不足が様々な疾患の誘因として重要視されるようになり、マグネシウム摂取不足により生体のカルシウム代謝が乱れ、骨に影響するといわれ、カルシウムとマグネシウムの摂取比率はほぼ2:1が良いと言われている³⁸⁾。亜鉛については、西田 (1998)³⁹⁾ により骨基質形成の促進効果に大きく働くことが立証されている。このようにカルシウム他各種ミネラルを含むユニカル[®]は骨基質形成に大きく働くと考えられる。

本研究はヒトの学童期に当たるラットを用い、カルシウム不足により惹起した実験的虚弱骨に対しユニカル[®]を含む高カルシウム食を投与し、骨基質形成について検索した。

1. 体重

野々部 (1992)⁴⁰⁾ によるとラットの体重は出生後5週から6か月までは急速に増加しその後は徐々に増加する傾向が認められていると述べている。このような成長期の体重の増加は健康のバロメーターとされ⁴¹⁾, Amano (1989)⁴²⁾ は70-80 gのラットに90%減の低カルシウム食を与えた実験でも体重は対照群とほぼ同様に増加したと報告している。尾崎 (1997)⁴³⁾, 木村 (1997)⁴⁴⁾ らは若年期のラットを用いて虚弱骨を惹起させた後食餌療法を長期間行うことにより, カルシウム欠乏食群および低カルシウム欠乏 (30%) 食群でも体重においてはほぼ回復しうることを報告している。これは思春期という第二次性徴期の発現期は, 骨芽細胞の活動と骨代謝性ホルモンが活発な時期であるため, バランスのとれた食餌療法を長期間にわたって継続すれば, スムーズに体重増加が見られたと考察している。

梅津 (1991)³²⁾ によると, 離乳期に当たる生後3週齢のラットにカルシウム食, 低カルシウム食を与えた結果, 体重増加は大幅に減少していた。成年期にあたる場合 (重久, 1997)⁴⁵⁾, 壮年期にあたる場合 (赤穂, 1998)⁴⁶⁾ も同様に体重には有意差はなかったと報告されている。これはこの時期になると十分量のカルシウムを貯蔵しているためだと考察している。

成長, 発育過程の尺度として, ラットにでも人間にでも共通する生理的年令, つまり身長, 体重, 骨格, 筋肉, などを含めた一般系や, 神経系, リンパ系, 生殖器系などの各器官の発育状態を考えると生後6週令のラットは人の学童期に当たる。

本研究では成長の著しいヒトの学童期にあたる生後6週齢のラットを11週齢まで飼育している。このためとくに, 低カルシウム食群では虚弱骨を惹起させたにも関わらず直ちに標準食, ユニカル[®]食に切り替えたため全ての群において体重の変化は見られなかった。これは学童期までに充分量のカルシウムを摂取していれば, 骨にカルシウムが蓄積されており, 一時的にカルシウム不足に陥っても直ちにカルシウムを補っていけば骨代謝には何ら問題はないということを示唆している。さらにこの時期になると骨基質の形成にとって, 食餌療法と骨代謝ホルモンの助けによることが考えられる。

2. 血液学的所見

生体の代謝状態を把握するために血液検査は重要な役割をもつ。血液は身体内をくまなく灌流し, 組織細胞内の液状成分との間で盛んに物質交換を行っており生命維持に重要な役割を果たしている⁴⁷⁾ためである。

電解質検査については, 各群間に有意差は認められな

かった。

武田ら (1989)⁴⁸⁾ によれば, 骨粗鬆症, いわゆる虚弱骨においては血清Ca値に変化は見られないとしており, Albright ら (1940)⁴⁹⁾ は骨粗鬆症の血液学的所見について血清Ca, P, ALP値が正常であることが特徴であると述べている。石井 (1986)²⁾ の報告によると実験的骨粗鬆症の実験においては血清Ca群は対照群に比べかなり低いが, 血清IP値については差は認められたが一定の変動傾向は認められなかったとし, 血清Caと血清IPの比は対照群が高値であり, 血清Naと血清Kは一定の傾向が認められず, 血清Cl値は実験群が高値であったと述べている。また真田 (1966)⁵⁰⁾ はALP値が高値であったとしており, 骨粗鬆症の電解質所見についての報告は一定の見解を示していない。

本研究では学童期まで十分なカルシウムを骨内に含有しており, 一時的にカルシウム不足に陥ってもその後の食事療法によって生体の恒常性を維持できているものと考えられる。

骨粗鬆症においては生化学検査についても正常範囲にあることが特徴的である。本研究ではGOT値, GOP値, ALP値等について正常範囲に収まっており, 各群間に有意差は認められなかった。

以上のように各群において有意差が出ないことは代謝がスムーズに行われており, homeostatic mechanism が働いていることによる生体の恒常性が保持されているためであることが示唆された。

3. 光学顕微鏡所見

カルシウム欠乏食群では, 増殖帯軟骨細胞の減少と肥大軟骨細胞の増加が顕著で, 肥大軟骨細胞周囲の石灰化基質は減少し変形した細胞が見られた。侵食帯と肥大帯の境界は不明瞭であり, 軟骨吸収細胞はほとんど認められず, 軟骨下形成帯も著明に減少していた。木村ら (1986, 1987, 1991)^{4, 23, 41)} の報告によると, 増殖帯軟骨細胞の減少と肥大軟骨細胞の増加が著明であり, 低石灰化層の増加, 骨髄の拡大骨梁の減少などの特徴的な所見を呈する。また, カルシウム欠乏によって, 骨内のカルシウムが動員され, 骨形成量に対し骨吸収量が上回り, 骨構築が低下していることがわかっている。一旦骨虚弱状態に陥った後, カルシウムを与え, 虚弱状態を改善させる様々な試みがなされている。森田 (1982)⁵¹⁾ はラット下顎頭軟骨の生後発育に関して, 生後10日齢では下顎頭軟骨は前後的に増大し, 出生直後の約3倍となるが, 逆に厚さは減少傾向にあり半円状を呈すること, また一次海綿骨量の占める割合は広く, 骨梁には高い活

性を示す骨芽細胞が多数観察されたと報告している。生後15日齢では下顎頭軟骨の繊維層基質は豊富で、増殖細胞層、肥大細胞層の幅が減少し、骨梁の肥厚、増大よりも骨髓腔の拡張傾向が見られることを報告している。10日齢を見ると、繊維層、増殖細胞層、成熟細胞層、肥大細胞層の順に軟骨細胞層の幅が増大している。

陳(1989)²³⁾は成長期ラットに高カルシウム食を与えた結果、対照群よりも肥大帯の軟骨細胞層の減少と配列の緻密化、石灰化基質の侵食所見の増加が多く見られ軟骨内骨形成も促進されていたと報告している。また西田ら(1992)¹²⁾も下顎頭において軟骨細胞層の菲薄化、軟骨吸収細胞による石灰化基質の浸食さらに軟骨下骨形成が増加し、虚弱骨に対するカルシウム投与は軟骨下骨形成が増加し、軟骨細胞および骨組織に対し成長促進作用があり、標準食投与群よりも高カルシウム投与群の方が虚弱状態からの回復がより早くなっていたと報告している。本研究では低カルシウム食・ユニカル[®]食群では、低カルシウム食・標準食群に比べて軟骨層の幅の減少、肥大帯の配列の緻密化、石灰化基質の侵食所見の増加などが認められ、対照群とほぼ同様の状態にまで回復していた。

牧ら(1994)¹³⁾はラットを用い牛骨粉を用いた虚弱下顎頭に高カルシウム食療法を用い、カルシウム含有量が増加すれば虚弱状態に陥った下顎頭は軟骨細胞層の各区分が明瞭となり、肥大帯軟骨細胞は減少し、その周囲石灰化基質は増加しているが、骨梁の形成は未だ幅は細く完全に回復していなかったと報告している。西田ら(1992)¹²⁾は高カルシウム療法としてイワシパウダーを用い、標準食とイワシパウダーを用い、標準食とイワシパウダーを2:1の割合で含有する混合食を与えた結果、軟骨細胞層の区分は明瞭となり、肥大帯軟骨細胞は減少し、軟骨下骨形成帯の骨梁は太くなり活発な骨形成が見られたと報告している。これらのことから、カルシウム投与が増すことにより、腸管からのカルシウム吸収量が増加し、石灰化が活発になることが推察される。しかしながらカルシウムの含有量が高くなると骨構築に正の因子を与えるわけではなく、中河原(1992)⁵²⁾は、イワシパウダーと標準食が2:3の割合の混合食を与えたところ、標準食群の骨吸収像が増加し、むしろ骨改造による骨構築の再建を抑制していることを明らかにしている。これらの結果はカルシウムの腸管吸収について関係があると思われ、カルシウムの摂取量が少ないと小腸管腔内のカルシウム濃度が低くなり、十二指腸、空腸での吸収率が高まる。吸収量が増え、カルシウム濃度が高まると

回腸部における受動輸送が優位を占め、吸収率を低下させるためであることが考えられる。

本研究ではカルシウム不足による成長軟骨層の基質の石灰化についてヒトの学童期に相当する生後6週齢の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骨を惹起させた後、直ちにカルシウム(ユニカル[®])を含有した食餌療法を長期間継続した。このユニカル[®]混合食群では、肥大帯軟骨層は減少し、軟骨下骨形成帯の骨梁は太くなり活発な骨形成が見られた。このことはユニカル[®]が腸管の吸収率がよく、そのためカルシウムの吸収量が増加し、さらにはカルシウム、マグネシウムほか各種ミネラルがバランスよく含まれており、このためスムーズに骨形成に寄与したと考えられる。

4. 走査電子顕微鏡的所見

下顎骨は軟骨性骨化によって成長する組織で、さらに膜性骨化の骨構築によって下顎骨の形成に関与している。

対照群は、佐伯(1996)⁵³⁾の報告同様、各軟骨層が明瞭に区分され、それに連続する骨梁は、幅広く厚く形成されていた。軟骨層では、軟骨小腔が明瞭に認められ、さらに肥大帯下部には多数の石灰化小球が癒合した形で存在した。石灰化小球は2層構造からなり、Scherft(1968)⁵⁴⁾によると石灰化小球の外層は、最表層の密な微細繊維網と顆粒からなり、内層は比較的疎なコラーゲン原線維網とコラーゲン原線維に付着する顆粒からなる。藤本ら(1980)⁵⁵⁾は下顎頭軟骨基質の石灰化について走査電子顕微鏡的観察をおこなった。その結果下顎頭軟骨細胞は上部、中部、下部の3つの区に分けられ、肥大帯上部は密なコラーゲン原線維によって縦走基質が形成され、コラーゲン原線維上には球状の構造物の形成が見られることを報告した。さらに肥大帯中部の縦走基質の表面は石灰化しているが、内部は密なコラーゲン原線維網によって形成され、その部には石灰化球状構造物も認められる。肥大帯下部に至ると多数の石灰化球が認められ、表層は密なコラーゲン原線維網によって形成されると述べている。Bonucci(1967)⁵⁶⁾は胎児軟骨の石灰化の際に出現する石灰化小球の超微細構造について報告している。それによると、石灰化小球は密な微細繊維網と顆粒からなる外層と、比較的疎な膠原原線維網と顆粒から成っている内層の二層から構成されるとしており、膠原原線維に付着する顆粒は多糖体であろうと考察している。本研究では石灰化球の表層構造に、これらの報告に見られる所見と一致性が認められる。また、石灰化小球はハイドロキシアパタイトの結晶とされ^{55, 57)}、軟骨内

骨化における初期石灰化との密接な関係が論じられている。このようなことから本実験で見られる石灰化小球は、ハイドロキシアパタイトやコラーゲン原線維の関与により、軟骨基質を形成しているものと思われる。

軟骨下骨形成体では骨基質面には骨吸収面と骨形成面が広範囲に見られ、骨改造機転が旺盛な所見も見られた。谷内 (1981)⁵⁸⁾ は骨細管の開口部について、骨芽細胞の骨基質側には発達した細胞質突起が存在しこの突起が骨小腔壁を通し類骨層を貫き、石灰化した骨基質内に入り骨細胞の突起を結合しているためと述べている。また骨基質形成部の周囲には吸収が認められるが、これは骨の改造が活発に行われているためと考えられる。

カルシウム欠乏食・標準食群では、対照群と比べ、軟骨層は厚く、特に肥大帯の幅の増加が認められた。骨梁は全体的に細く形成され、対照群に見られる太い骨基質形成は認められなかった。軟骨小腔壁面の石灰化小球の癒合は不完全で、不規則で断裂したコラーゲン原線維と骨吸収面が多く認められた。西田ら (1992)¹²⁾ によると、カルシウム欠乏食から高カルシウム食に変えたラットにおいて、標準食に切り替えた群に比べて、軟骨層はさらに薄くなり、骨化層では骨髓腔の形成もみられ骨梁は広くなっていたと報告している。本研究でも高カルシウム食群は標準食群に比べ軟骨層は薄く、骨吸収面は減少し、骨の再構築は促進していた。カルシウム含量の多い食餌により骨構築に促進効果が認められたことが明らかである。

低カルシウム食群の下顎頭軟骨においては軟骨層の幅はやや広く、軟骨小腔の境界も不明瞭であった。石灰化小球の癒合は不完全であった。小野 (1995)⁵⁹⁾ によると、生後3週齢のラットによる低カルシウム食から標準食に切り替えた食餌療法では、骨吸収所見が広い範囲で認められ十分に回復し得なかったと報告している。尾崎 (1997)⁴³⁾ によると生後8週齢からの低カルシウム食・標準食のラットにおいて、骨吸収面に比べ休止面が多数みられ、骨形成面ではコラーゲン原線維束に富み、対照群に近い骨構築状態であった。生後5週齢のラットを用いた金澤 (1998)⁶⁰⁾ によると、骨吸収所見が多く見られたものの骨構築の改善が見られた。さらに、本実験において低カルシウム食・ユニカル[®]食群においては軟骨細胞層は薄くなり骨梁は厚くなっていた。軟骨層は明瞭に区分され、軟骨小腔は明瞭に認められ、密なコラーゲン線維と、その上部にコラーゲン線維網が認められる。骨梁は対照群と同程度に回復している所見が見られた。

これらのことにより、成長の著しいヒトの離乳期から

幼児期においてカルシウム摂取量が低下すれば、軽度な欠乏であっても幼児期および学童期、思春期からのカルシウムの欠乏よりも影響が大きく、十分に回復することが困難なことが示唆される。また、学童期からの十分なカルシウム摂取により、それまでの骨虚弱状態からほぼ回復しうることが示唆される。

結 論

成長期の虚弱骨に対し確立された治療法はなく、対処療法を行っているにすぎない。そこでヒトの学童期に相当する生後6週齢のWistar系雄ラットを用い、カルシウム欠乏食および低カルシウム食を与え虚弱骨を惹起させたのち、高カルシウム食 (ユニカル[®]混合食) を与えて下顎頭軟骨の軟骨内骨化による骨基質形成について検索し、次のような結果を得た。

1. 体重

対照群に比べカルシウム欠乏群および低カルシウム食群の間には有意差は認められなかった。

2. 血液学的所見

血液中の電解質ならびに生化学検査には変化は見られなかった。

3. 病理組織学的所見

対照群と比べ、カルシウム欠乏食群では、軟骨層は厚く肥大帯軟骨細胞を囲む石灰化基質、浸食帯の軟骨吸収細胞や軟骨化骨形成も減少していた。低カルシウム群、とくにユニカル[®]混合食群は、カルシウム欠乏食群と比べ肥大帯軟骨細胞を囲む石灰化基質の侵食に伴って、軟骨吸収細胞の増加とともに、軟骨化骨形成も増加するなど活発な骨形成が見られ、対照群と同程度の回復した所見が見られた。

4. 走査電顕的所見

カルシウム欠乏食・標準食群のラットの下顎頭は軟骨細胞層の幅は広く軟骨小腔の区画は不明瞭な部分も見られた。軟骨下骨形成体の骨梁は、吸収面が増加し骨梁の減少傾向が見られた。

カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群においては標準食群と比べ骨構築に改善傾向が見られるが、骨吸収も未だ多く、吸収窩は不定形をしていた。

低カルシウム食群になると骨構築の改善が見られ、軟骨層も厚くなり、その下方に連続する軟骨下骨形成帯においても一定方向に走行するコラーゲンが認められた。とくにユニカル[®]食群は標準食群に近い骨梁形成像が見られた。

軟骨小腔壁においては石灰化小球が観察されたが、そ

の癒合状態はカルシウム欠乏食・標準食群が最も弱く、縦走基質の断裂が見られた。カルシウム欠乏食・ユニカル[®]食群、低カルシウム・標準食群、低カルシウム・ユニカル[®]食群、対照群の順に石灰化球相互の癒合状態は強くなっている。学童期までは十分にカルシウムを摂取し、一時的にカルシウム摂取不足で骨虚弱状態を惹起しても、学童期までに正常な食餌により一定量の骨量を確保するとその後骨虚弱状態に陥ってもユニカル[®]混合食により対照群と同程度の骨基質形成の回復所見が認められることが明らかとなった。

稿を終わるに当たり、日夜を問わず終始懇切なる御指導とご校閲の労を賜りまし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、実験に御協力いただいた九州歯科大学小児歯科学教室の各位にお礼申し上げます。

本論文の要旨は、第37回日本小児歯科学会大会および総会（平成11年5月22、23日、大阪）において発表した。

引用文献

- 1) 国民栄養調査（平成8年国民調査成績）。第一出版、東京、1998、29-64.
- 2) 石井貴三男：成長期顎骨における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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) Salomon, C. D.: Osteoporosis following calcium deficiency in rats. Calcif. Tissue Res. 8: 320-333, 1972.
- 6) 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.
- 7) 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線の、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.
- 8) 鯨坂一郎：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.
- 9) 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.
- 10) 住本和隆：実験的骨粗鬆症に対する食事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事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) 西田郁子、曾我富美雄、松田容士子、竹下尚利、赤嶺秀紀、高橋甫文、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.
- 13) 牧 憲司、葛 立宏、吉永久秋、龔 瑞泰、竹下尚利、松田容士子、木村光孝：虚弱下顎頭に対する高カルシウム食療法—とくに牛骨粉について—。小児歯誌 32(3)：552-565, 1994.
- 14) 山下靖雄：顎関節とその周囲組織の解剖—顎骨の発生と発育—。顎関節症の臨床。医歯薬出版、東京、1989、13-24.
- 15) 一條 尚：下顎骨の一生。日本歯科評論、1983、153-159.
- 16) 浦郷篤史：顎関節の成長と加齢変化。顎関節症の臨床。医歯薬出版、東京、1989、41-52.
- 17) 荻原和彦、河野寿一：子供の顎関節症への対応—その文献展望と臨床例—。日歯医師会誌 49：4-16, 1996.
- 18) 小澤英浩、江尻貞一：骨・軟骨の微細構造。分子骨代謝学と骨粗鬆症（松本俊夫編）。メディカルレビュー、東京、1996、11-28.
- 19) Riggs, B. L., Wahner, H. W., Dunn, W. L., Mazess, R. B., Offord, K. P. and Melton, L. J.: Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis. J. Clin. Invest. 67: 328, 1981.
- 20) 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.
- 21) 木村光孝、内野公一、佐藤秀輝、竹中正史、原田和己、栗生 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.
- 22) 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.
- 23) 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.
- 24) 木村光孝：小児における顎骨の小進化の予防。歯科ジャーナル 29：1065-1073, 1989.
- 25) 古谷充朗：低カルシウム食若年期の食餌療法における下顎骨の変化に関する実験的研究—骨基質形成について—。九州歯会誌 51：800-820, 1997.
- 26) 大里泰照：カルシウムの摂取不足による下顎頭軟骨の成長に関する実験的研究。九州歯会誌 41：601-622, 1992.
- 27) 高野 治：虚弱骨に対する生理活性物質の影響に関するX線の、光顕的ならびに電顕的研究—とくに下顎頭の変化—。九州歯会誌 44：890-919, 1990.
- 28) 松田容士子：成長期下顎頭の骨基質形成に関するX線の、光顕的および超微形態的研究—高タンパク食の影響—。九州歯会誌 49：1-19, 1995.
- 29) 高橋甫文：成長期下顎骨に対する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.
- 30) 福島直樹: 成長期下顎骨の骨基質形成に関する電子顕微鏡学的研究—高タンパク質の影響—, 九州歯会誌 47: 75-98, 1993.
- 31) 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.
- 32) 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 線の, 光顕および走査電顕の研究—歯槽骨の変化—, 九州歯会誌 45: 629-652, 1991.
- 33) 門司靖廣: 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—, 九州歯会誌 45: 678-694, 1991.
- 34) 木村光孝, 牧 憲司, 木村京子, 太田和子, 今村隆子, 高江洲旭, 秀島 治, Braham, R. L.: 虚弱骨に対する高カルシウム食, 生理活性物質の併用療法に関する走査電顕的研究—とくに下顎頭の変化—, 小児歯誌 29: 582-593, 1991.
- 35) 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.
- 36) (株) アニマルケア ビビテック事業部開発室の実験報告書, アニマルケア, 東京, 1994.
- 37) 戸原震一, 妻夫木茂, 松浦達雄, 原敬二郎: 骨粗鬆症に対する漢方治療併用の試み, Pharma Medica 14: 168-169, 1996.
- 38) 江澤郁子: 骨粗鬆症と栄養, 栄養と健康のライフサイエンス 3: 18-22, 1998.
- 39) 西田郁子: 亜鉛がラットの下顎頭軟骨の成長発育におよぼす影響—活性型ビタミン D₃ の併用—, 九州歯会誌 52: 585-602, 1998.
- 40) 野々部憲志: ラットの下顎頭の加齢的变化に関する組織学的ならびに組織形態学的研究, 愛知大歯誌 30: 91-108, 1992.
- 41) 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 46: 6-28, 1992.
- 42) Amano, H.: A histomorphometric analysis of the alveolar bone resorption process in calcium-deficient rats, Jpn. J. Oral Biol. 31: 404-416, 1989.
- 43) 尾崎章寿: 若年期虚弱脛骨における食餌療法に関する実験的研究—脛骨骨幹皮質骨について—, 九州歯会誌 51: 441-461, 1997.
- 44) 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.
- 45) 重久 偉: 成長期の虚弱骨に関する X 線の, 光顕および超微形態的研究—脛骨骨幹皮質骨について—, 九州歯会誌 51: 543-579, 1997.
- 46) 赤穂ゆかり: 壮年期ラットの下顎頭軟骨の生後発育に関する微細構造学的, 細胞科学的研究, 日矯歯誌 41: 171-201, 1982.
- 47) 真島英信: 生理, 文光堂, 東京, 1956, 279-309.
- 48) 武田和夫, 内山政二, 高橋栄明: 骨粗鬆症の鑑別, リウマチ科 1: 433-442, 1989.
- 49) Albright, F., Bloomberg, E. and Smith, P. H.: Postmenopausal osteoporosis, Trans. Amer. Phys. 55: 298-305, 1940.
- 50) 真田孝三: 骨粗鬆症の臨床像, 慈恵医大誌 80: 617-635, 1966.
- 51) 森田修一: ラット下顎頭軟骨の生後発育に関する微細構造学的, 細胞科学的研究, 日矯歯誌 41: 171-201, 1982.
- 52) 中河原哲朗: 虚弱骨に対するカルシウム療法に関する病理組織学および超微形態的研究—とくに骨基質形成—, 九州歯会誌 46: 764-781, 1992.
- 53) 佐伯 桂: 成長期ラットの下顎頭におけるカルシウムの吸収に及ぼす高タンパク質の影響—電子顕微鏡学的検索—, 九州歯会誌 50: 119-140, 1996.
- 54) Scherft, J. P.: The ultrastructure of the organic matrix of calcified cartilage and bone in embryonic mouse raddi, J. Ultrast. Res. 23: 333-343, 1968.
- 55) 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.
- 56) Bonucci, E.: Fine structure of early cartilage calcification, J. Ultrast. Res. 20: 33-50, 1967.
- 57) 新村明達, 江川 薫: 軟骨内骨化による骨基質形成層の立体超微形態学的研究, 昭歯誌 5: 118-126, 1985.
- 58) 谷内良弘: 形成期の骨表面の超微形態学的研究, 歯科医学 44: 125-137, 1981.
- 59) 小野清一郎: 虚弱歯槽骨に対する高カルシウム食・カルシトニンの併用療法に関する実験的研究, 九州歯会誌 49: 70-90, 1995.
- 60) 金澤憲孝: 成長期ラット虚弱骨における食餌療法に関する超微形態学的及び酵素組織化学的研究—骨基質形成—, 九州歯会誌 52: 63-79, 1998.