

# 卵巣摘出後の骨代謝異常に関する研究

—脛骨の成長と抜歯創の修復過程について—

遠 藤 実

岩手医科大学歯学部歯科補綴学第一講座（主任：田中久敏教授）

〔受付：1986年9月6日〕

抄録：卵巣機能の低下が無歯顎々骨に及ぼす影響を検討する目的で、卵巣摘出ラットを実験モデルとして用い、脛骨と抜歯後の顎骨の骨動態を術後24週目まで形態学的に観察した。

卵巣摘出群の血清Ca濃度は術後8週目において一過性に低下した。また、この時期に一致して卵巣摘出群の脛骨近位端部における骨梁数は減少し始め、術後24週目には著明な骨梁数の減少と骨髄組織の脂肪化がみられた。術後12週目以降の卵巣摘出群の顎骨内部には骨髄腔の拡大がみられ、術後24週目には骨髄組織の脂肪化も認められた。しかし、血清無機P濃度、初期の抜歯創の修復過程ならびに脛骨の骨幹部骨内膜面と顎骨の歯槽頂部における骨形成の程度に関しては、卵巣摘出群と対照群との間に差異は認められなかった。

以上の所見により、卵巣機能は脛骨および無歯顎々骨では、骨量を維持する重要な役割を担っていることが示唆された。

**Key words** : ovariectomy, alveolar bone resorption, bone metabolism, bone atrophy, bone labelling.

## 結 言

老化にともなう骨の退行性変化は通常、骨の外形の変化をとまわず、皮質骨幅の減少や海綿骨部における骨梁の数と量の減少として認められている<sup>1,2)</sup>。このような骨の退行性変化は骨の老化を基盤として、Ca代謝に関与する諸因子や内分泌相互の変化などが複雑に重なりあって、その変化が促進される。なかでも、骨の退行性変化は閉経後の女性に顕著に認められていることから、卵巣機能の低下、とくにestrogenの欠乏が重要な因子の一つとして考えられている<sup>3,4)</sup>。そこで、骨の退行性変化における病態

生理の解明や治療薬のスクリーニングを目的として、卵巣摘出動物について多くの実験的研究が行われている<sup>5-23)</sup>。

しかしながら、老年歯科医学の立場からみると重要な問題となる顎骨の退行性変化に関する研究は少なく、とくに歯科補綴学において、大きな関心事である無歯顎々骨の退行性変化の要因やその経時的变化については未解決の点が多い。現状では、ヒト剖検例の無歯顎々骨の病理組織像<sup>24,25)</sup>と全身骨における多くの臨床的ならびに実験的研究の成果から、無歯顎々骨の退行性変化の要因やその経時的变化が推察されているにすぎないように思われる。

The effects of the ovariectomy on the tibia and the residual alveolar bone in rats.

Minoru ENDOH

(Department of Removable Prosthodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka 020.)

岩手県盛岡市中央通1-3-27 (〒020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 11 : 175-194, 1986

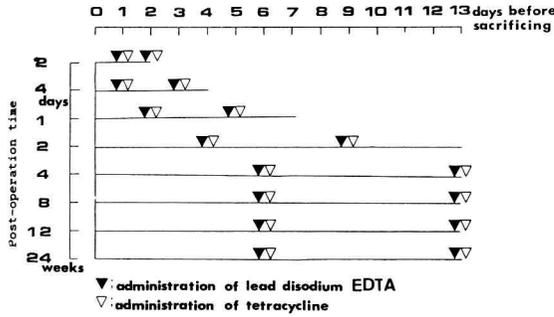


Fig. 1 Schedule of lead disodium EDTA or tetracycline injection for the bone labelling. Injection is given at two stages respectively.

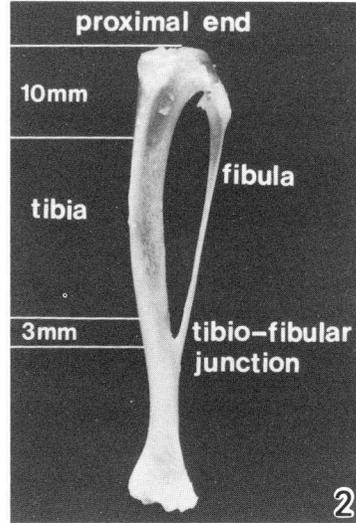


Fig. 2 The sites of the tibia which were observed histologically. The proximal region of the tibia was sectioned longitudinally and the diaphysis near the tibio-fibular junction was cross-sectioned.

そこで、無歯顎々骨の退行性変化を解明する一助として、卵巣摘出実験モデルを用いて卵巣機能の低下が脛骨の成長と抜歯創の修復過程に及ぼす影響について比較検討した。

### 実験方法

#### 1. 実験動物

実験には8週齢 Wistar 系雌ラット(体重130~140g)を168匹使用し、対照群は各群7匹、実験群は各群14匹とした。実験群は pentobarbital 38mg/kg 腹腔内注射により麻酔を施し、背部より卵管を含めて両側卵巣を摘出した。対照群は同一条件下で偽手術 (sham-operation) を施した。同時に、両群とも左右上顎第一臼歯を抜去し、残存歯槽中隔と抜歯窩を含めて顎骨の無歯部とした(以下この部位を無歯部顎骨という)。実験動物は手術後2日、4日、1週、2週、4週、8週、12週、24週目にそれぞれ屠殺した。なお、実験期間中は動物を恒温恒湿の飼育室で飼育し、オリエンタル標準固型飼料 MF と脱イオン蒸留水を自由摂取させた。

#### 2. 骨標識法

抜歯後における顎骨の骨動態の変化を経時的に観察する目的で、EDTA 鉛あるいはテトラサイクリンの2回投与方法を行った。骨標識剤は1

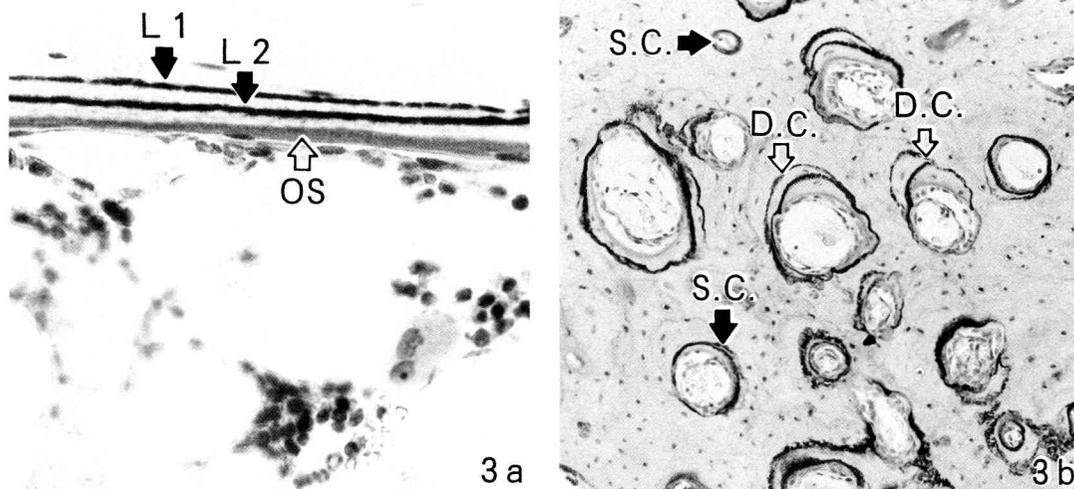
%水溶液として、動物の体重1kg 当たり30mgの割合で背部皮下に2回注射した。すなわち、術後2週間目までは Fig.1 に示すように各観察期間に応じて2回投与し、術後4週目以降は屠殺日の13日前に第1回目、6日前に第2回目の投与を行った。

#### 3. 観察項目

1) 体重の変化: 実験開始日から1週間は毎日、それ以後は週に1回、一定時に動物の体重を測定した。

2) 血清生化学検査: 動物は飼育最終日に一晩絶食させ、エーテル麻酔下で心臓血を採血し、血清中のCa濃度を原子吸光分析法(日立508A原子吸光装置)により測定するとともに、血清中の無機P濃度を Fiske-Subbarow 法により測定した。

3) 組織学的検索: 心採血後、エーテルの過剰吸収にて屠殺し、直ちに下肢骨ならびに上顎骨を摘出し、10%中性緩衝ホルマリンで固定した。



**Fig. 3** Bone labelling by the double staining method and osteoid matrix with lead disodium EDTA.

- a : Endosteal region of the maxillary bone. Two lines resulted from repeated lead labellings. L1 : The first labelling, L2 : the second labelling. And dense-staining site is osteoid matrix (OS.).
- b : Compact substance of the maxillary bone containing cavities with single (S.C.) or double lines (D.C.) of the labelling.

ついで、上顎骨は中央で切断し、さらに脛骨は Fig.2 に示すように近位端10mm の部位で切断するとともに、骨幹部は脛腓結合部より厚さ 3 mm の横断組織片を切り出した。

(1) 脱灰標本の作製 (EDTA 鉛投与群)

骨の組織学的動態を脱灰切片で観察するために、著者らの改良した硬組織成長線鉛描記法と類骨組織染色法の同時応用法<sup>26)</sup>を用いて脱灰切片を作製した。Fig.3 は EDTA 鉛を数日間隔で 2 回投与した例における骨の組織像である。Fig. 3 a において、L1 が第 1 回目、L2 は第 2 回目の EDTA 鉛投与による標識線であり、OS. は類骨組織である。Fig. 3 b において、D.C. は 2 重標識線をもつ管腔であり、S.C. は 1 重標識線をもつ管腔である。

さらに、上顎骨の骨動態の観察にあたっては、その観察部位と範囲をできるだけ一定化することが重要であるので、Fig.4 のような観察部位と範囲が得られるようにパラフィン標本を薄切

した。上顎骨は、第 1 臼歯(M1) の近心根(m)、中央口蓋根(c)、遠心口蓋根(d) 相当部、第二臼歯(M2) の近心口蓋根、遠心口蓋根、第三臼歯(M3) の近心口蓋根を含むように 7 μm の縦断連続切片を作製した。また、観察範囲は黒線で示した第一臼歯近心側の中隔歯槽骨の遠心壁から遠心口蓋根の中隔歯槽骨の遠心壁までの無歯部顎骨とし、無歯部顎骨の口腔側を頂部、頭蓋側を底部とした。

脛骨の骨動態の観察には、脛骨近位端部の縦断切片、骨幹部の横断切片を作製した。

作製した上顎骨と脛骨の切片は、0.1%塩化金溶液で染色後、ケルンエヒトロート染色、ヘマトキシリン・エオジン染色、アザン・マロリー染色、渡銀染色を施して観察した。

(2) 非脱灰標本の作製 (テトラサイクリン投与群)

上顎骨、脛骨ともに 70 μm の研磨標本を作製した後、軟 X 線装置 (Sofron) を使用し、

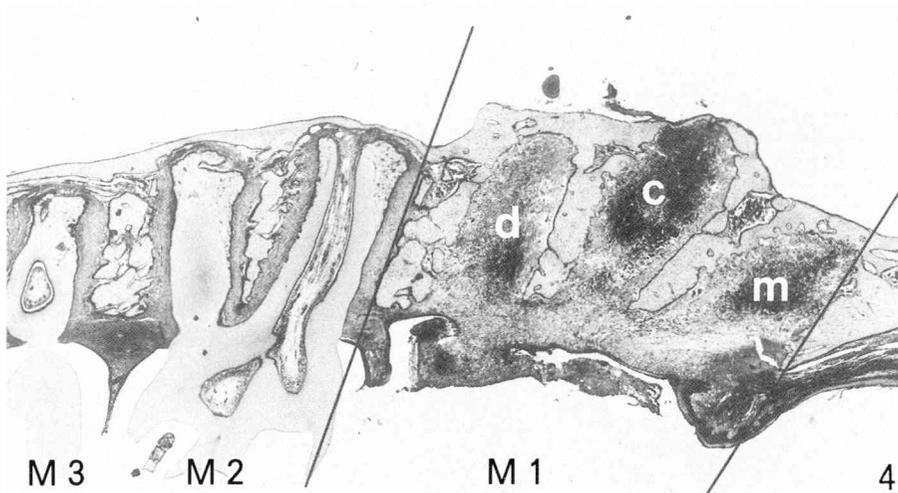


Fig. 4 The longitudinal section through the line drawn along the upper first molar edentulous area.

Spectroscopic Safety Film(Kodak) を用いて、加速電圧 15kv, 管電流 5 mA, 露出時間20分の条件で、contact microradiogram (以下CMRと略す) の撮影を行った。その後、研磨標本を封入し、蛍光顕微鏡下でテトラサイクリンの骨標識像を観察した。

4) 骨形態計測学的検索: 抜歯創の治癒時期と考えられる術後4週目以降の無歯部顎骨と脛骨における骨動態の経時変化に及ぼす卵巣摘出の影響を定量的に把握するため、脱灰切片を用いて骨形態計測学的に検索を行った。なお、骨形態計測に当たっての用語は、骨形態計測研究会で使用されている用語に準じた<sup>27)</sup>。管腔は線維性組織や血管を含むものとし、骨髓腔は造血性の骨髓組織を含むものとして区別した。

#### (1) 骨形態計測法

骨形態計測には、約30 $\mu$ m毎の5枚の脱灰切片を用いた。無歯部顎骨の計測範囲は、Fig.4に示す部位とした。無歯部顎骨の近心側の境界は、各切片毎にFig.5に示すような改造線を基準にして決定した。第1次パラメーターは、画像解析装置(武藤工業)を用いて顕微鏡下で一定の拡大倍率で直接計測し、第2次パラメーターは

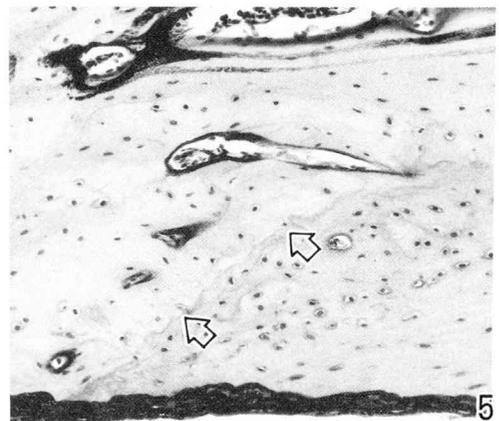


Fig. 5 Photomicrograph indicating the cementing-line (arrow) formed between the socket-filling bone and the alveolar process which is used as the proximal border for the bone histomorphometry.

第1次パラメーターより下記の計算式を用いて求めた。

#### (2) 脛骨の第1次パラメーター

脛骨骨幹部骨内膜面は形成面と吸収面に分けられ、さらに形成面は骨内膜面の外側と背側に存在するので、Fig. 6に示すようにA部とB部

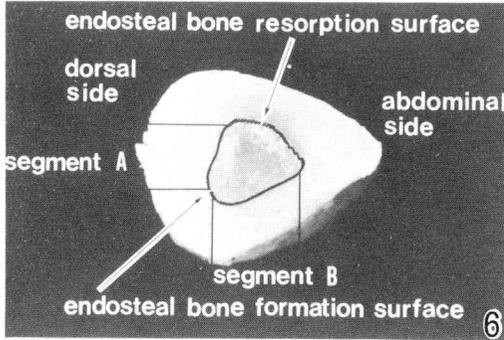


Fig. 6 The measurement of the rate of mineral deposition on the inner endosteal surface of the tibia. The measurement was done at two sites of segment A and B.

に分けて計測を行った。A部およびB部における2重標識幅(μm)は、Fig. 3aに示した2重標識線の間の距離を等間隔に任意の4ヶ所で計測して、その切片標本での平均を求めた。

(3) 脛骨の第2次パラメーター

A部およびB部における石灰化速度(μm/day)は下記の式により求めた。

$$\frac{\text{A部およびB部における2重標識幅}}{(\frac{1}{2})\text{第1回標識日数} + \text{intervalの日数} + (\frac{1}{2})\text{第2回標識日数}}$$

(4) 無歯部顎骨の第1次パラメーター

- a) 無歯部顎骨の総面積(mm<sup>2</sup>)
- b) 全管腔域(mm<sup>2</sup>): 無歯部顎骨中の管腔と骨髓腔の総面積を計測した。
- c) 骨髓腔の総面積(mm<sup>2</sup>): 無歯部顎骨中の骨髓腔の総面積を計測した。
- d) 無歯部顎骨頂部の2重標識幅(μm): 2重標識幅がほぼ安定している中央口蓋根の遠心側中隔齒槽骨頂部相当部付近において、2重標識幅を等間隔に任意の4ヶ所で計測して、その切片標本での平均を求めた。
- e) 2重標識管腔数と1重標識管腔数: 2重標識管腔数と1重標識管腔数は、Fig. 3bに示したように2重標識線をもつ管腔数と1重標識線をもつ管腔数をそれぞれ数えた。

(5) 無歯部顎骨の第2次パラメーター

- a) 石灰化速度(μm/day)は脛骨と同様の計算式により求めた。

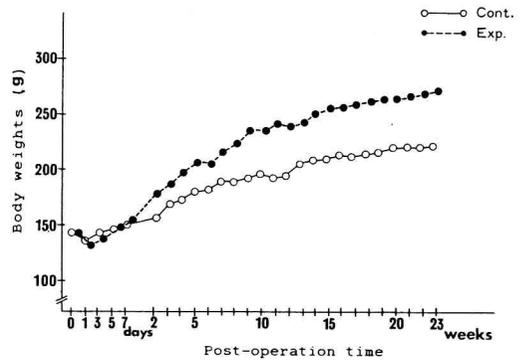


Fig. 7 The changes in the body weight after the ovariectomy.

b) 骨多孔率(%)は下記の式により求めた。

$$\frac{\text{全管腔域}}{\text{無歯部顎骨の総面積}} \times 100$$

c) 骨髓腔率(%)は下記の式により求めた。

$$\frac{\text{骨髓腔の総面積}}{\text{無歯部顎骨の総面積}} \times 100$$

d) 単位面積当たりの2重標識管腔数は下記の式により求めた。

$$\frac{\text{2重標識管腔数}}{\text{無歯部顎骨の総面積}}$$

e) 単位面積当たりの1重標識管腔数は下記の式により求めた。

$$\frac{\text{1重標識管腔数}}{\text{無歯部顎骨の総面積}}$$

実験結果

1. 体重

対照群では術後3日目で術前の体重に復し、その後23週目まで徐々に増加した。実験群では5日目に術前の体重に復した後、7日目以降はFig.7に示すように対照群に比較して急激な増加を示し、10週目では対照群の約1.2倍になった。その後も体重は徐々に増加したが、1.2倍の体重差は23週目まで維持された。

2. 血清Ca濃度および無機P濃度

対照群の血清Ca濃度は術後2日目より24週目まで緩徐に減少していた。実験群の血清Ca

濃度には術後4週目まで対照群との間に著明な差は認められなかった。しかし、Fig. 8 Aに示すように術後8週目に対照群の値より有意に低値を示した。術後12週目以降には、対照群との間に有意の差はみられなかった。

血清無機P濃度は、Fig. 8 Bに示すように両群とも術後24週目まで同様の減少傾向を示したが、両群の間に著明な差は認められなかった。

### 3. 組織学的所見

#### 1) 脛骨近位端部

##### (1) 術後1～4週目

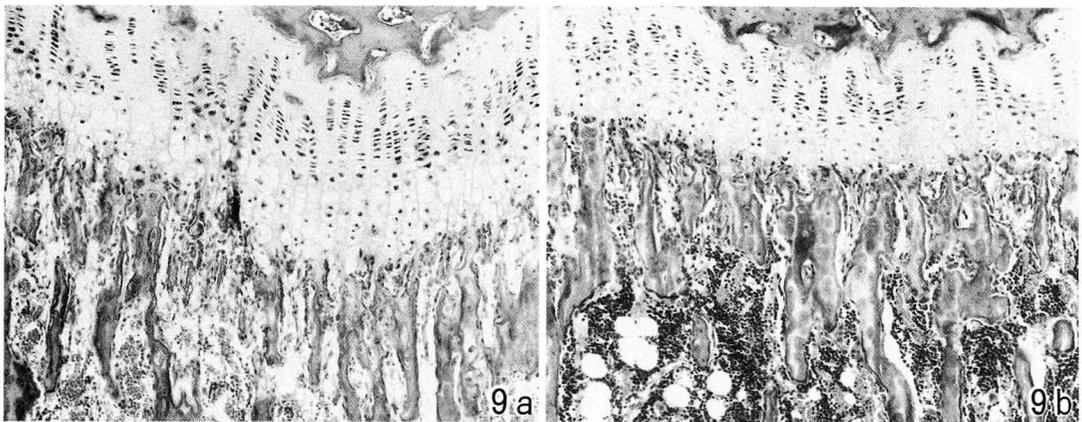


Fig. 9 Photomicrograph of the proximal region of the tibia one week (a) and four weeks (b) after the sham-operation. The reduction of cartilage plate in the tibial metaphysis accompanying with the bone-growth. a and b; H.E. stain,  $\times 25$ .

対照群では、術後1週目においてFig. 9 aに示すように骨端軟骨板は幅が厚く、静止細胞層、増殖細胞層、肥大細胞層、石灰化層が明瞭であり、細胞配列も規則的であった。また、骨端軟骨下の骨梁は密で、骨梁間の造血能を有する骨髓組織も豊富であった。術後2週目においても同様の組織所見を示した。術後4週目になると、Fig. 9 bに示すように骨端軟骨板の幅はやや菲薄となっていたが、骨端軟骨下の骨梁は密であった。実験群でもほぼ同様の組織所見を示した。

##### (2) 術後8週目

対照群では、Fig. 10 aに示すように骨端軟骨

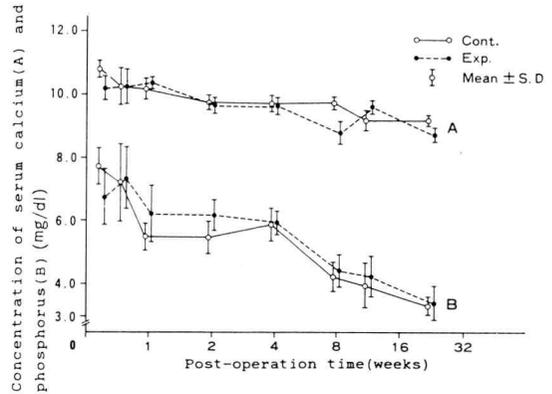


Fig. 8 The serum calcium and phosphorus levels after the ovariectomy.

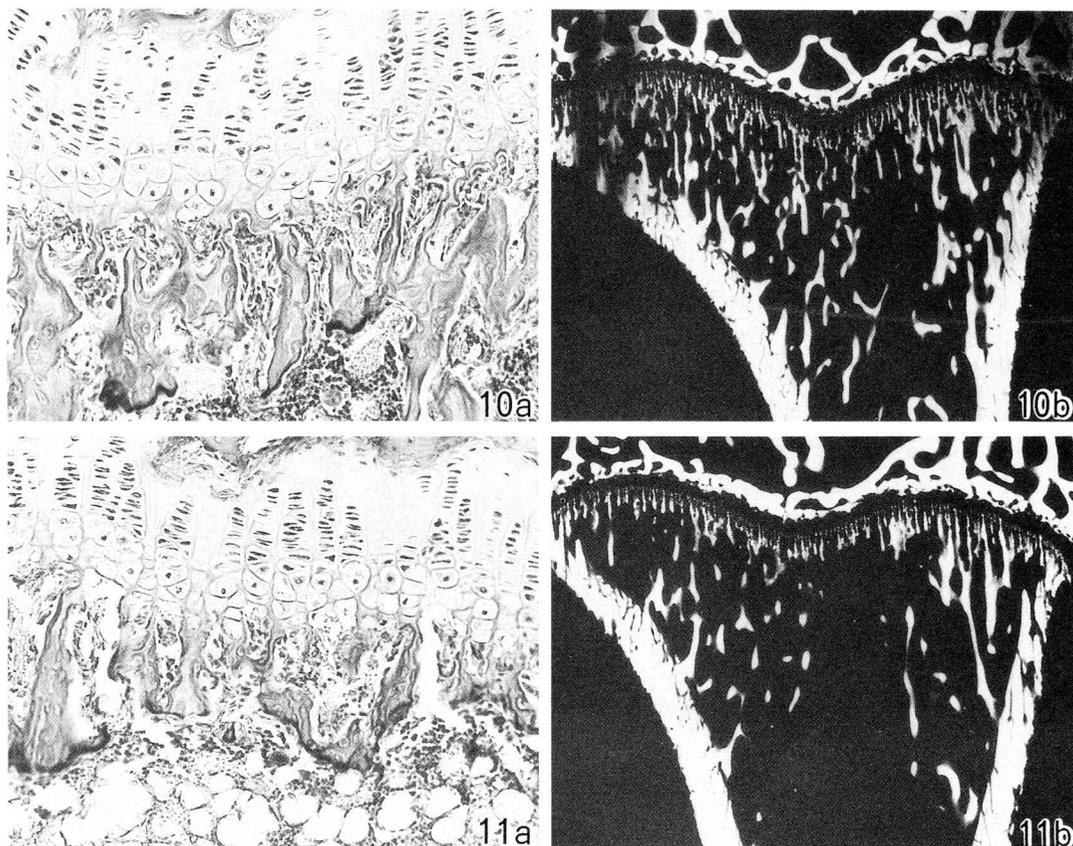
A : Calcium level, B : Phosphorus level.

板の幅はさらに菲薄となり、各層の細胞数も減少していた。また、骨端軟骨下の骨梁数はやや減少していたが、CMRにおいて骨幹側には骨梁が網状にみられた (Fig. 10 b)。

一方、実験群では、この時期より骨端軟骨下の骨梁はFig. 11 aに示すように対照群に比較して短く、その数もやや減少していた。また、CMRにても、骨幹側での骨梁数は対照群に比較して減少していた (Fig. 11 b)。

##### (3) 術後12週目

対照群では、骨端軟骨板の幅はさらに菲薄となり、骨端軟骨下の骨梁は短く、骨幹側の骨梁と一部で融合していた。



**Fig.10** Photomicrograph (a) and contact microradiograph (b) of the proximal region of the tibia eight weeks after the sham-operation.

- a: The cartilage plate continues to be narrowed and the metaphysal trabeculae were decreased, H.E.stain,  $\times 40$ .
- b: The trabeculae are present in the transitional region to the diaphysis as well as in the metaphysis,  $\times 12$ .

**Fig.11** Photomicrograph (a) and contact microradiograph (b) of the proximal region of the tibia eight weeks after the ovariectomy.

- a: A shortening of the metaphysal trabeculae compared with the age-matched control rat is apparent, H.E. stain,  $\times 40$ .
- b: The preferential loss of the trabeculae of the transitional region to the diaphysis,  $\times 12$ .

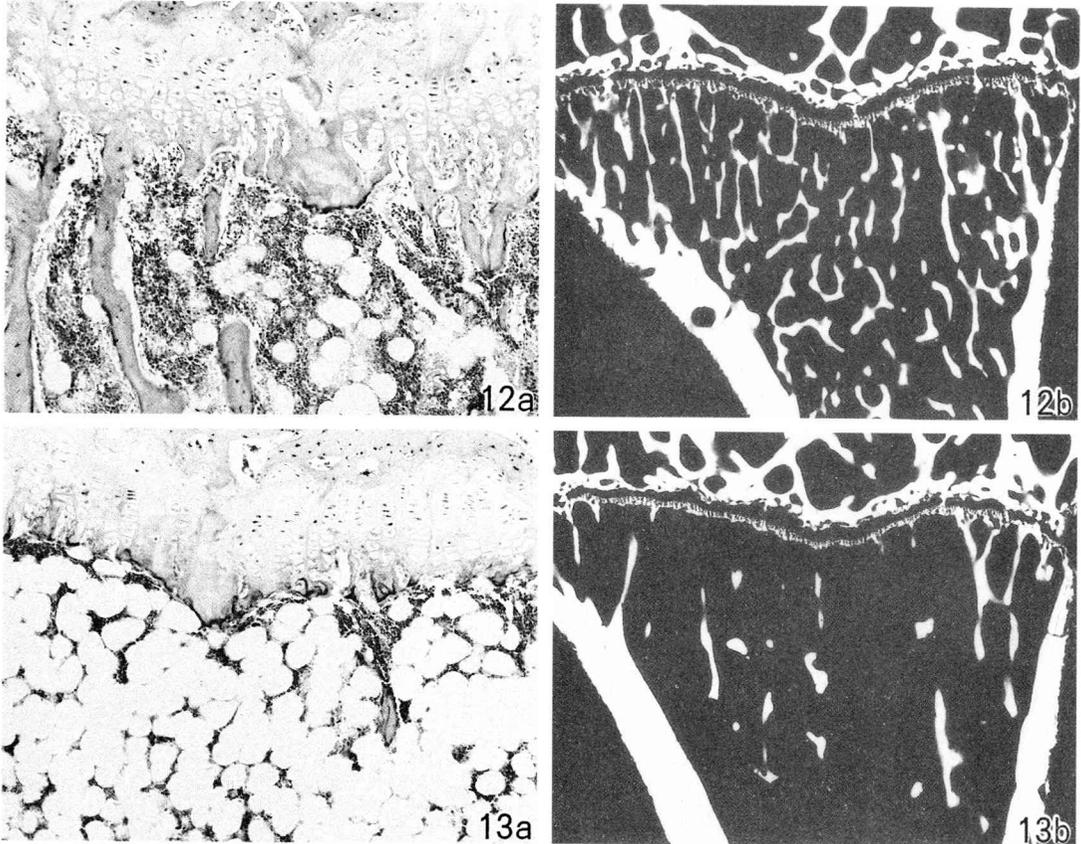
実験群では、対照群に比較して骨端軟骨下の骨梁は一段と短くなり、骨梁間には脂肪髄が多くみられた。

(4) 術後24週目

対照群では、骨端軟骨板の増殖細胞は著しく減少していた。また、Fig.12aに示すように骨端軟骨下の骨梁は、骨端軟骨板と幅広く結合

するとともに、太さを増した骨幹側の骨梁と一部で融合していた。この所見は、CMRにおいて明瞭に認められ、骨端軟骨直下の骨梁はわずかに認められるのみであったが、骨幹側には伸長した太い骨梁が網状に発達しているのがみられた(Fig.12b)。

実験群では、対照群と比較して、Fig.13a



**Fig.12** Photomicrograph (a) and contact microradiograph (b) of the proximal region of the tibia 24 weeks after the sham-operation.

- a : A marked decrease of the cells with basophilic nuclei in the cartilage plate and continuing diminution of the metaphysial trabeculae nearest to the cartilage, H.E. stain,  $\times 25$ .  
 b : The trabeculae are present in the region ranging from the metaphysis to the transitional,  $\times 12$ .

**Fig.13** Photomicrograph (a) and contact microradiograph (b) of the proximal region of the tibia 24 weeks after the ovariectomy.

- a : The altered metaphysis filled with the fatty tissue, H.E. stain,  $\times 25$ .  
 b : Note that most of the trabeculae has been lost,  $\times 12$ .

に示すように骨端軟骨下の骨梁は著しく減少し、骨梁間のほとんどが脂肪髄で占められていた。CMR では、骨端軟骨直下の骨梁はほとんど消失し、骨幹側にも骨梁はわずかしこ認められなかった(Fig.13b)。

## 2) 無歯部顎骨

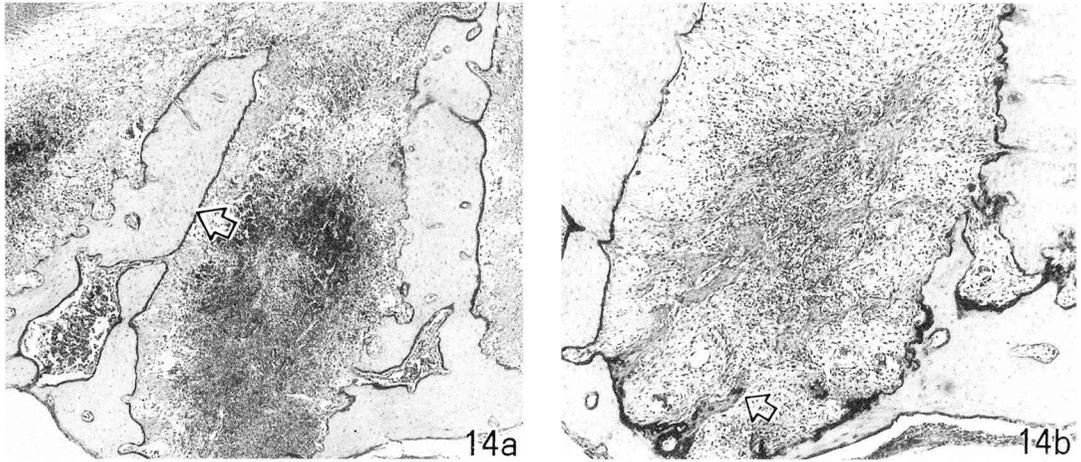
### (1) 術後 2 日目 ~ 2 週目

#### a) 対照群

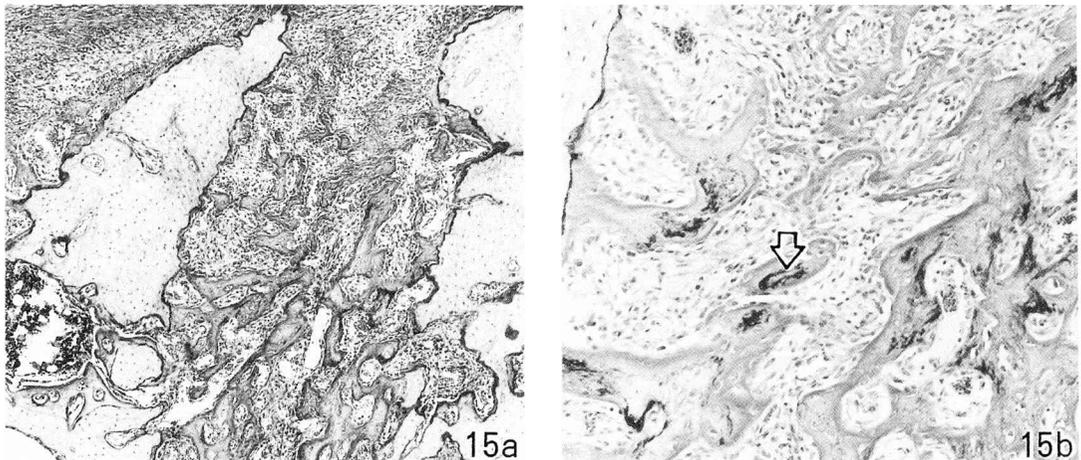
術後 2 日目には抜歯創内は血餅によって満た

され、その周辺に肉芽組織の増生がみられた。また、抜歯創に面する骨壁には、骨外側縁に一致した鉛の 1 重標識線が認められた (Fig.14 a)。

術後 4 日目には抜歯創は肉芽組織によって満たされ、頂部側約  $\frac{2}{3}$  の部位まで梁状の幼若骨が形成されていた。また、一部の幼若骨にはび慢性の鉛の標識像が観察され、わずかながら石灰化が確認された。



**Fig.14** Photomicrographs of the alveolar socket in the control rat.  
 a : The socket is filled with blood clot and labelling line (arrow) is observed only in the border of the alveolus two days after the extraction, H.E. stain,  $\times 16$ .  
 b : The formation of new bone begins at the bottom of the socket and it is apparent that the new bone is also labelled (arrow) four days after the extraction, H.E. stain,  $\times 20$ .

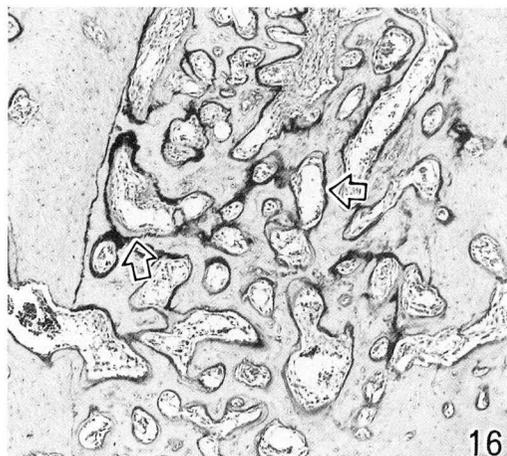


**Fig.15** A site of the alveolar socket one week after the extraction in the control rat.  
 a : A large part of the socket has been filled with new bone until this stage, H.E. stain,  $\times 16$ .  
 b : A higher magnification makes it clear that new bone is labelled (arrow), H.E. stain,  $\times 40$ .

術後1週目には、抜歯創底部側 $\frac{2}{3}$ は周囲に不規則な類骨層をもつ太い梁状骨により、頂部側 $\frac{1}{3}$ は梁状の幼若骨により占められていた (Fig.15a)。また、Fig.15bに示すように底部

側の新生骨梁内部には、旺盛な石灰化を示唆するび慢性の鉛の標識像がみられた。

術後2週目には、新生骨は太さを増すとともに相互に融合し、抜歯創内部を満たしていた。



**Fig.16** The alveolar socket two weeks after the extraction in the control rat. The filling of the socket with new bone is accomplished and the labelling line is formed as a distinctive narrow line (arrow), H.E. stain,  $\times 16$ .

抜歯創頂部の骨による封鎖はこの時期には観察されなかった。また、新生骨梁辺縁部には活発な骨形成を示す類骨層と鉛の1重標識線がみられた(Fig.16)。

#### b) 実験群

対照群とほぼ同様の組織所見を示した。

#### (2) 術後4週目

##### a) 対照群

頂部は平坦で緻密となり、その上部には骨膜様構造がみられた (Fig.17a, 矢印)。また、Fig.17bに示すように、頂部には活発な骨形成を示す間隔の広い鉛の2重標識線と類骨層が認められた。内部の新生骨梁は太さを増し、線維性組織や血管を含む大小の管腔が形成されていた。なかでも、活発な骨形成を示す鉛の2重標識線をもつ管腔が多数観察された (Fig.17c)。

##### b) 実験群

頂部では対照群と同様の所見を呈していたが、内部ではFig.17dに示すように対照群と比較して鉛の1重標識線をもつやや拡大した管腔数が多く、鉛の2重標識線をもつ狭小な管腔数は少ない傾向を示し、内部における骨形成がやや

抑制された像を呈していた。

#### (3) 術後8週目

##### a) 対照群

頂部はさらに緻密で平坦となり、その上部に骨膜様組織が明瞭に認められた。しかし、頂部における鉛の2重標識線の間隔は狭小で、類骨層の幅も減少していた。また、内部の管腔数も減少し、とくに鉛の2重標識線をもつ管腔数が著明に減少し、鉛の1重標識線をもつ管腔数が多く認められた(Fig.18a)。

##### b) 実験群

対照群とほぼ同様の組織所見を呈していた (Fig.18b)。

#### (4) 術後12週目

##### a) 対照群

頂部直上の骨膜様組織中の細胞成分はやや減少し、頂部における鉛の2重標識線の間隔もさらに狭くなっていた。また、類骨層の部分的欠如も認められた。内部においては管腔はやや拡大する傾向を示し、その多くには鉛の1重標識線がみられた(Fig.19a)。

##### b) 実験群

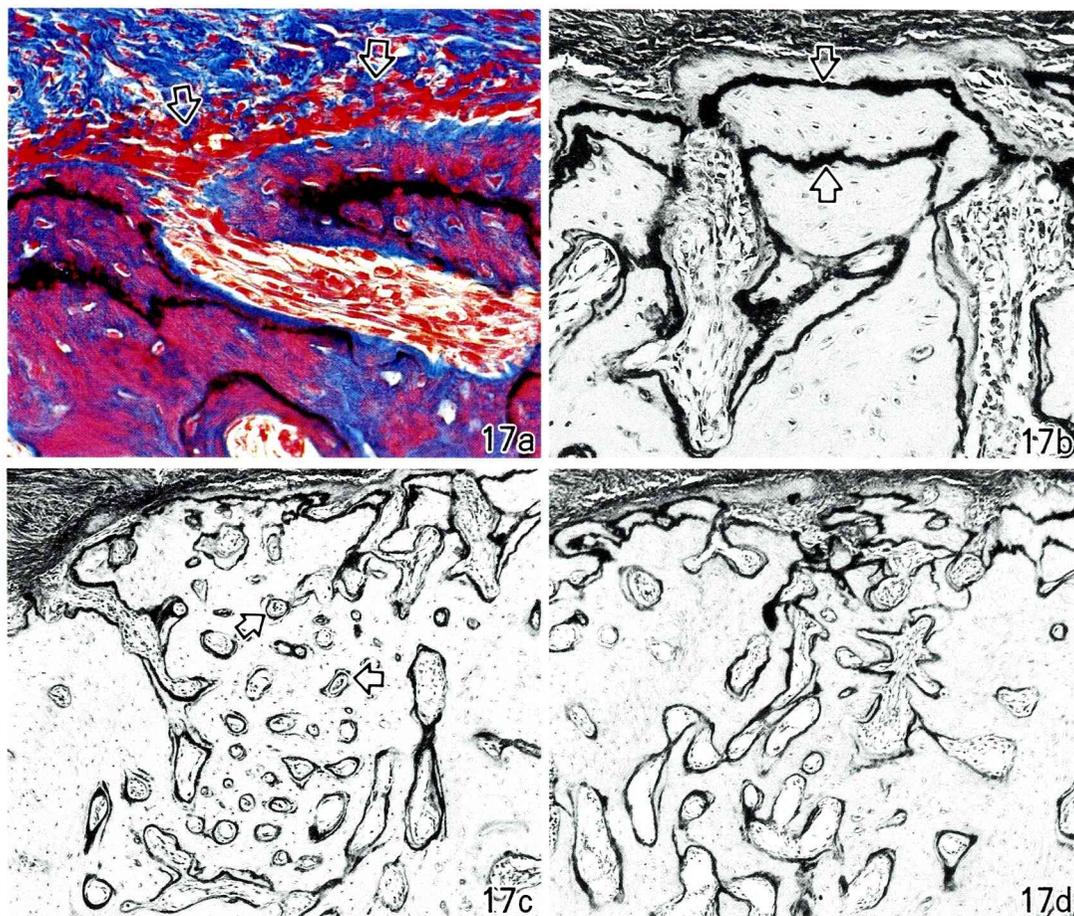
頂部では対照群と同様の所見を呈していた。しかし、内部では対照群に比較してやや拡大した管腔が多く観察され、さらにFig.19bに示すようにこの時期から対照群と比較して骨髓腔の拡大も認められた。また、骨髓腔壁の底部側には類骨層と鉛の2重標識線がみられたが (Fig.19b, 矢印)、骨髓腔壁の頂部側では不規則な骨縁にほぼ一致した鉛の1重標識線がみられた。

#### (5) 術後24週目

##### a) 対照群

頂部の類骨層の幅は狭小で、類骨層が欠如している部位も多く認められた。さらに、Fig.20aに示すように頂部における鉛の2重標識線の間隔は狭小で、1重標識のみの部位も認められ、頂部における骨形成は著明に減退していた。しかし、無歯部顎骨内部の緻密さに著明な変化は認められなかった (Fig.20b)。

##### b) 実験群



**Fig.17** Edentulous area four weeks after the sham-operation (a, b, c) and ovariectomy (d).

- a : The periosteal-like tissue (arrow) is observed in the proximity to the surface of the bony ridge, Azan-Mallory stain,  $\times 80$ .
- b : The larger distance between two labelling-lines (arrow) is observed, H.E. stain,  $\times 40$ .
- c : The bone formed in the socket contains many small cavities surrounded with two labelling-lines besides a few small cavities with a labelling line, H.E. stain,  $\times 20$ .
- d : In the ovariectomized rat, the small cavities with a labelling-line are major, H.E. stain,  $\times 20$ .

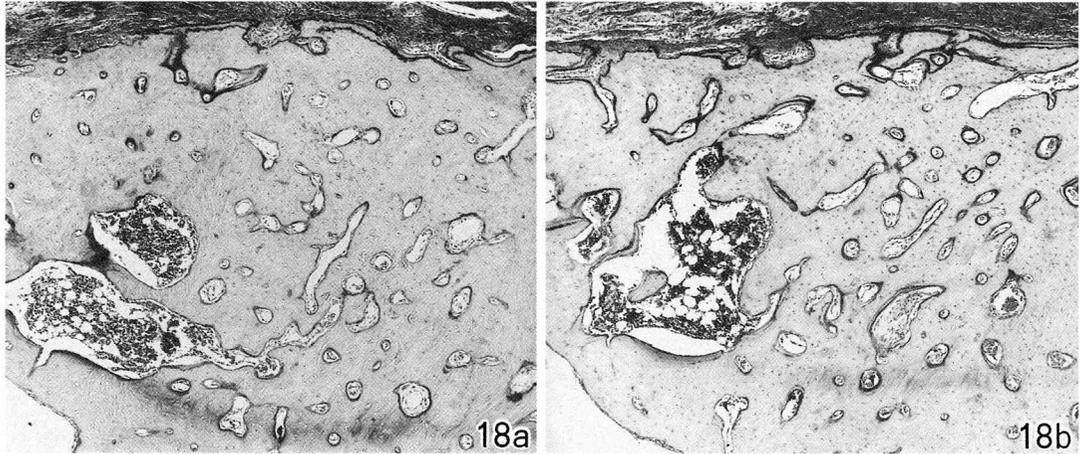
頂部では対照群と同様の所見を呈していたが、対照群と比較して内部の管腔はやや拡大し、Fig.20cに示すように骨髓腔は拡大していた。また、骨髓腔内には脂肪髄が多くみられたが、骨髓腔の拡大にともなう破骨細胞数の増加は認められなかった。

#### 4. 骨形態計測学的所見

##### 1) 脛骨

(1) A部およびB部(Fig.6参照)における石灰化速度

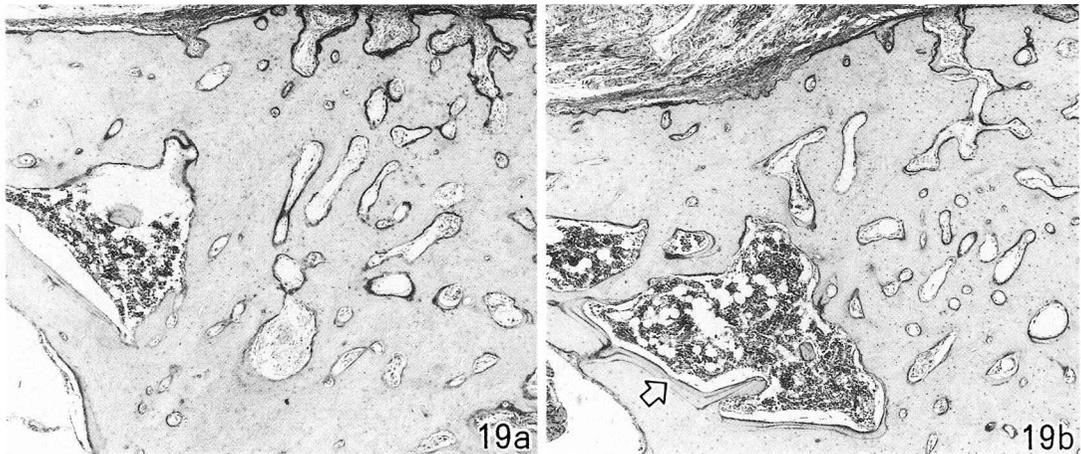
対照群の脛骨骨幹部骨内膜面の石灰化速度はA部よりB部で高い値を示していたが、両部ともに石灰化速度は経時的に減少していた(Fig.21)。



**Fig.18** The edentulous area eight weeks after the sham-operation (a) and the ovariectomy (b).

a : The number of the small cavities observed in the regenerative bone decrease, H.E. stain,  $\times 20$ .

b : Marrow cavity is formed similar extent in the control rat and ovariectomized rat, H.E. stain,  $\times 20$ .



**Fig.19** The edentulous area 12 weeks after the sham-operation (a) and the ovariectomy (b). In this stage, the marrow cavity formed in the ovariectomized rat is apparently larger than that in the control rat, a and b : H.E. stain,  $\times 20$ .

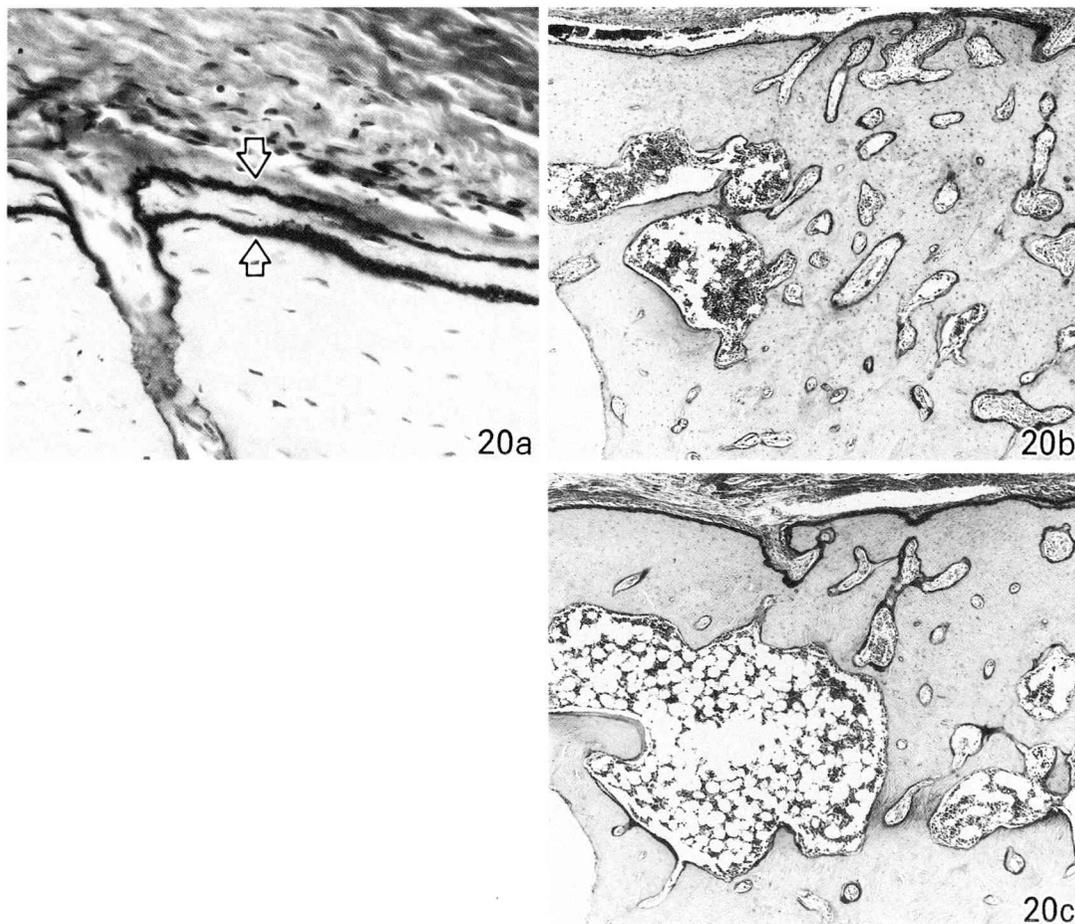
とくに、A 部においては術後 4 週目より 8 週目にかけて急激に減少した。実験群も同様の傾向を示していた。術後 24 週目では脛骨骨幹部骨内膜面の鉛の標識線は 1 重であったため、石灰化速度の定量的な測定は不可能であった。

## 2) 無歯部顎骨

(1) 石灰化速度 : 対照群の石灰化速度は術後 4

週目より 8 週目にかけて急激に減少し、その後 24 週目まで経時的に減少していた。実験群も同様の傾向を示し、両群の間に著明な差は認められなかった (Fig.22)。

(2) 骨多孔率 : 対照群の骨多孔率は術後 4 週目より 8 週目にかけて減少し、その後は 24 週目までわずかな増加傾向を示した (Fig.23—A)。実



**Fig.20** The edentulous area 24 weeks after the sham-operation (a, b) and the ovariectomy (c).  
 a : The distance between two labelling-lines (arrow) in this stage becomes narrower than the prior stage, H.E. stain,  $\times 100$ .  
 b : In the control rat, an enlargement of the marrow cavity does not occur, H.E. stain,  $\times 20$ .  
 c : The marrow cavity continues to enlarge in the ovariectomized rat, H.E. stain,  $\times 20$ .

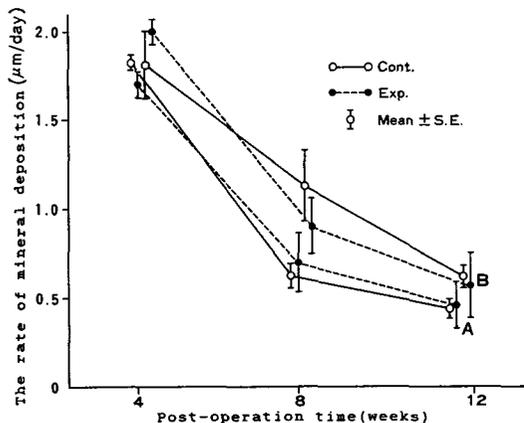
験群の骨多孔率は術後4週目より8週目にかけて減少したが、術後12週目以降では対照群と比較して上昇していた。

(3) 骨髓腔率：対照群の骨髓腔率には経時的に著明な変化はみられなかったが、実験群の骨髓腔率は術後12週目より24週目にかけて上昇し、術後24週目では対照群の約2倍の値を示していた(Fig.23-B)。

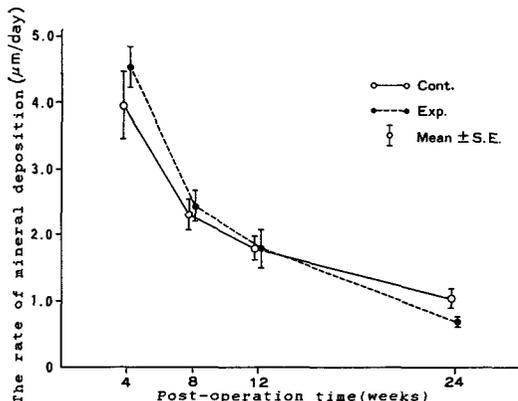
(4) 単位面積当たりの2重標識管腔数：対照群

の鉛の2重標識管腔数は術後4週目より8週目に著明に減少し、その後は術後24週目までわずかに減少した(Fig.24-A)。実験群では、術後4週目で対照群に比較して低値を示したが、その後は対照群との間に著明な差は認められなかった。

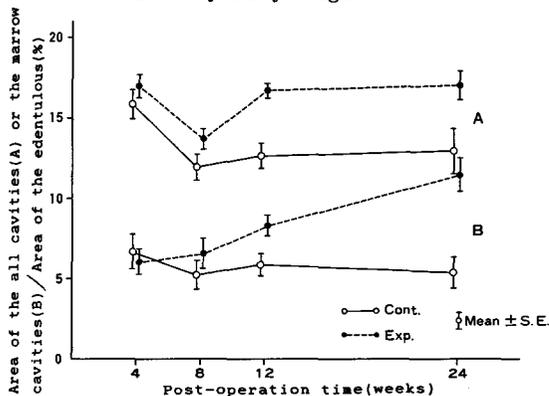
(5) 単位面積当たりの1重標識管腔数：対照群の鉛の1重標識管腔数は術後4週目より8週目に増加し、その後は術後24週目まで著変は認め



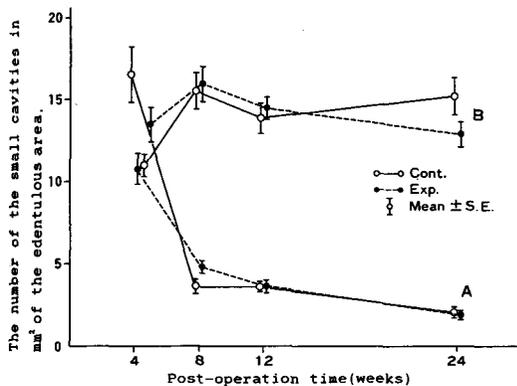
**Fig.21** The changes in the rate of mineral deposition on the endosteal surface of the tibia.  
A : Segment A, B : Segment B (as shown in Fig.6)



**Fig.22** The changes in the rate of mineral deposition on the surface of the maxillary bony ridge.



**Fig.23** The proportion of the areas of the all cavities (A) to the edentulous area.  
A : All cavities, B : The marrow cavities.



**Fig.24** Densities of the small cavities surrounded by two labelling-lines or those by one labelling-line.  
A : The cavities with double lines.  
B : The cavities with single line.

られなかった(Fig.24-B)。実験群でもほぼ同様の傾向を示したが、術後4週目ではやや高く、術後24週目ではやや低い傾向を示した。

考 察

1. 実験方法について

実験開始時期はラットの卵巣機能の成熟，加齢にともなう根尖肥大による抜歯の困難性<sup>28)</sup>を考慮し、生後8週齢とした。また、実験部位は抜歯が容易なことから上顎とした。

骨の組織学的動態を観察するにあたっての標本の条件としては、1)骨標識剤を観察できること、2)類骨組織と石灰化骨とが判別できること、3)骨芽細胞や骨髄細胞も観察できることが挙げられている。本研究では、脱灰切片において類骨組織と同時に骨組織の鉛による標識線を観察することができる著者らの改良した硬組織成長線鉛描記法と類骨組織染色法の同時応用法<sup>29)</sup>を用いたが、本法はこの点に関してきわめて有用であった。

骨形成において最初に類骨組織が形成され、さらに類骨組織は成熟すると、石灰化を開始する。この石灰化が起こる部位を石灰化前線と呼び、石灰化前線の進む速度を石灰化速度と言う<sup>30)</sup>。そこでEDTA 鉛を数日間隔で2回投与した場合、骨形成部位ではFig 3a に示した

ように数日の間に2本の標識線の間が石灰化され、さらに第2回目のEDTA鉛投与以降に類骨組織が形成されたことがわかる。このことにより、同一脱灰切片上で石灰化速度と類骨組織形成量の定量的な観察が可能となった。

骨の組織学的形態計測には従来より写真に対してプラニメーターを用いる方法、写真切り抜き法、Point-Counting法などが用いられてきたが、形態計測には多大な労力と時間を要するものであった<sup>31)</sup>。本研究においてはこれらの点を考慮に入れ、今野らの開発した半自動画像解析装置によるimage-analysis法<sup>32)</sup>を用いた。

骨に関する組織学で骨形成の増減を論ずるためには、骨の組織学的形態計測が必要であるとされ、現在では画像解析装置を使用した計測が行えるように各種のパラメーターが改良されている<sup>27)</sup>。本研究においては、卵巣摘出後における無歯部顎骨と脛骨の骨動態の変化を組織学的に観察するのみならず、得られた所見を定量的に把握するために、無歯部顎骨の骨多孔率、骨髓腔率、頂部における石灰化速度、単位面積当たりの2重標識管腔数と1重標識管腔数および脛骨骨内膜面の石灰化速度の計測を行い、経時的な骨動態の変化を客観的に考察することができた。

## 2. 実験結果について

### 1) 体重変化

Aitkenら<sup>22)</sup>は卵巣摘出後に餌を自由に与えて飼育したところ急速な体重の増加を示したが、その後給餌制限した場合には対照群との間に体重の著明な差はみられなくなったと報告している。また、伊沢ら<sup>17)</sup>は摂餌量と体重の増加は卵巣摘出後10週頃まで著明で、以後は対照群と同様の摂餌量と体重の増加率を示したと報告している。

本研究では摂餌量の制限は行わなかったが、卵巣摘出により体重は1.2倍に増加し、伊沢ら<sup>17)</sup>の報告とほぼ同様の増加傾向がみられた。

### 2) 血清中のCa濃度と無機P濃度について

ヒトの体内のCaは、その99%以上が骨に存

在し、体内総Caの1%弱が血液および軟組織に存在する。骨のCaは骨格の形態をととのえ、強さを補強する役割を果たし、骨以外では生体内のすべての細胞において、Caはその生活活動の要としての機能を果たしている<sup>33)</sup>。骨の形態および機能の決定は、生体レベルでのCaの代謝出納とCa代謝調節ホルモンの作用および骨の局所因子などによって調節され、結果としてCaの代謝出納が骨Ca量の増減として反映される<sup>33)</sup>。

Ca代謝調節ホルモンとしては、副甲状腺ホルモン、カルチトニン、活性型ビタミンDなどがあり、骨からのCaの代謝出納を行っているが、骨には今のところestrogenのレセプターが存在しないので、estrogenの骨への作用は間接的なものと考えられている<sup>34)</sup>。すなわち、estrogenがCa代謝調節ホルモんに何らかの影響を及ぼし、その結果が二次的にestrogenの骨作用として表わされる可能性が考えられている<sup>34)</sup>。

卵巣摘出にともなうestrogenの欠乏が血清Ca濃度に及ぼす影響については多くの実験的研究<sup>6~8, 12, 14~19, 21)</sup>がなされているが、多くの場合には卵巣摘出による血清Ca濃度の変化は認められていない。しかし、卵巣摘出により血清Ca濃度が低下したとの報告<sup>17, 19, 21)</sup>もあり、その原因として伊沢ら<sup>17)</sup>は腸管からのCa吸収能の低下を挙げている。

本研究で測定した血清Caは総Ca量であり、イオン化Ca量は測定していないので、Fig.8に示した術後8週目における血清Ca濃度の低下は蛋白結合Caによるものか、イオン化Caの低下によるものかは明らかにできなかった。しかしながら、Fig.11に示したように脛骨近位端部の骨梁数の減少が術後8週目より認められたことを、血清Ca濃度の検査結果(Fig.8)と併せて考えてみると、卵巣摘出による腸管からのCa吸収能の低下<sup>14)</sup>など、全身におけるCa代謝出納機能に異常が生じ、一時的に血清Ca濃度が低下したものの、血清Ca濃度の恒常性を維持するために、骨からのCaの動員が起り、

結果として脛骨近位端部の骨梁骨は吸収され、血清 Ca 濃度が上昇したとも推察される。

卵巣摘出が血清無機 P 濃度に及ぼす影響については、現在までのところ一致した見解はない<sup>6, 8, 12, 14, 16~18)</sup>。本研究では卵巣摘出が血清無機 P 濃度に及ぼす著明な影響は認められなかったが、Otagawa ら<sup>10)</sup>の報告した加齢にともなう血清無機 P 濃度の変化と同様に、実験群、対照群ともに血清無機 P 濃度は経時的に減少しており、加齢にともなう影響が認められた。

### 3) 卵巣摘出後における脛骨の骨動態について

全身骨の退行性変化にともなう骨量減少の代謝回転状態には 5 つの可能性が考えられている<sup>35)</sup>。すなわち、1) 吸収率、形成率ともに正常より増加し、とくに前者が強く増加する場合、2) 吸収率が増加、形成率が正常、3) 吸収率が増加、形成率が減少、4) 吸収率が正常、形成率が減少の場合、5) 吸収率、形成率ともに正常より減少し、とくに後者が強く減少する場合である。

卵巣摘出による骨量減少を骨の代謝回転からみると、Orimo ら<sup>21)</sup>は estrogen の欠乏にともなう骨の副甲状腺ホルモンに対する感受性の増加、すなわち、骨吸収の亢進を挙げている。しかし、Lindgren ら<sup>15)</sup>は卵巣と甲状腺・副甲状腺を同時に摘出した場合にも骨量の減少が認められたことから、副甲状腺ホルモンの関与の可能性を否定している。また、卵巣摘出の骨形成に及ぼす影響に関して、Cruess ら<sup>19)</sup>は骨形成の亢進、伊沢ら<sup>17)</sup>および一坂ら<sup>10)</sup>は骨形成の低下を報告している。さら、Fukuda ら<sup>7)</sup>は低 Ca 食飼育卵巣摘出ラットにおいて、骨形成率が不変であったことから、骨吸収の亢進が骨量減少の主因をなしているものと考えている。

本研究では、脛腓結合部付近の骨幹部骨内膜面における石灰化速度は経時的に減少したものの、卵巣摘出による著明な影響は認められなかった。しかし、脛骨近位端部では術後 8 週目以降骨梁数の減少がみられ、術後 24 週目では骨梁数は著明に減少し、骨梁間のほとんどは脂肪髄で占められていた。このような術後 24 週目における所見は、伊沢ら<sup>17)</sup>の報告とほぼ同様であった

が、彼らの報告にみられる骨端軟骨板での著明な細胞配列の乱れや細胞の萎縮は観察されなかった。したがって、本研究における脛骨近位端部の骨量減少の原因としては、骨端軟骨板における骨形成阻害も考えられるが、骨幹部骨内膜面における石灰化速度は卵巣摘出により抑制されなかったことから、骨吸収の亢進が骨量減少の主体をなすものと考えられる。

### 4) 卵巣摘出後における無歯部顎骨の骨動態について

全身的な代謝異常時の有歯顎歯槽骨の骨変化に関する実験的研究には、アロキサン糖尿病<sup>36)</sup>、低 Ca 食投与<sup>36, 37)</sup>、DHT 投与<sup>38)</sup>、卵巣摘出<sup>39~43)</sup>などがあり、低 Ca 食投与では歯槽骨に骨多孔性の変化が認められている。しかしながら、卵巣摘出が有歯顎歯槽骨に及ぼす影響に関しては、これまでの研究結果は必ずしも一致していない。すなわち、Agnew ら<sup>39)</sup>、大鶴<sup>40)</sup>、吉野<sup>41)</sup>は有歯顎歯槽骨に卵巣摘出による影響はみられなかったと報告しているが、Piroshaw ら<sup>42)</sup>は若年齢のマウスにおいて卵巣摘出により歯槽骨に osteoporotic changes がみられたとしている。また、河見<sup>43)</sup>は卵巣摘出により歯槽骨の Ca 含量が減少したと報告している。

抜歯創の治癒過程に関する研究は従来より多数報告されており、抜歯後の顎骨の骨動態に関してはテトラサイクリンによる骨標識法<sup>44, 45)</sup>、<sup>45</sup>Ca オートラジオグラフィ<sup>46, 47)</sup>などにより研究がなされている。しかしながら、著者の渉猟し得た範囲では卵巣摘出が抜歯後の骨変化に及ぼす影響や老化モデルにおける抜歯後の骨変化に関する基礎的研究は少ない。朝比奈<sup>48)</sup>は去勢雄成犬の抜歯後の修復過程を検索し、局所の修復機転が阻害されたと報告している。また、Darvish ら<sup>49)</sup>は抜歯後の修復過程に及ぼす加齢の影響を検索し、老齢動物において修復過程の遅延がみられたと報告している。

本研究において、初期には卵巣摘出が抜歯後の修復過程に及ぼす著しい影響は認められなかった。これは卵巣摘出と抜歯とを同一時期に行ったため、術後 2 週目までの早期においては卵巣

摘出の影響が発現しなかったとも考えられる。このことは、脛骨近位端部の骨変化や血清Ca濃度に関して、術後4週目まで卵巣摘出の著明な影響がみられなかったことから推察される。

術後4週目以降、無歯部顎骨の骨動態に関する組織所見を定量的に把握するために、骨形態計測学的検索も併せて行ったので、以下両所見を併せて考察する。

実験群において、無歯部顎骨頂部の石灰化速度は術後4週目より24週目まで減少傾向を示し、また頂部直上の骨膜様組織中の細胞成分は術後12週目以降減少していた。さらに、その直下の類骨層にも経時的に菲薄化と部分的欠如の傾向が認められた。すなわち、骨基質形成、石灰化速度ともに経時的に減退しており、頂部における骨形成の減退が経時的に認められた。しかし、この変化は対照群でも同様であり、無歯部顎骨頂部の骨形成に及ぼす卵巣摘出の著明な影響は認められなかった。

術後4週目において、実験群では対照群に比較して顎骨内部に1重標識線をもつやや拡大した管腔数が多く、2重標識線をもつ狭小な管腔は少ない傾向を示した。また、内部の2重標識管腔数は術後8週目以降著明に減少したものの、両群の間に差は認められなかった。したがって、実験群における顎骨内部の骨形成は経時的に減退していたが、対照群に比較して術後4週では骨形成がやや抑制された像を呈していた。しかし、この所見のみからは、術後4週目における骨形成の抑制を明確にすることができなかった。

無歯部顎骨中に占める骨髄腔を含めたすべての管腔の総面積の割合を示す骨多孔率は、対照群に比較して実験群で術後12週目以降上昇し、組織学的には無歯部顎骨の緻密さが卵巣摘出により低下してみられた。さらに、無歯部顎骨中に占める骨髄腔の割合を示す骨髄腔率を別に計測したところ、対照群に比較して実験群で術後12週目以降上昇傾向を示し、術後24週目においては対照群の約2倍の値を示していた。また、骨髄腔の底部側には類骨層とともに2重標識線がみられ、頂部側と近遠心側には骨髄腔辺縁に

沿った1重標識線が認められた場合が多かったことから、骨髄腔の底部側が形成側になり、骨髄腔の頂部側と近遠心側が吸収側となって骨髄腔の拡大が進行したものと考えられた。しかしながら、対照群に比較して実験群での骨髄腔辺縁に沿った破骨細胞数の増加は認められなかったことから、骨髄腔の拡大が骨融解<sup>50)</sup>により進行したものと推察された。

以上のことより、卵巣摘出が無歯部顎骨に及ぼす影響は主に骨髄腔の拡大であり、このことは骨形成の抑制よりも骨吸収の亢進が主因となっているものと推察された。

卵巣摘出が無歯部顎骨と脛骨に及ぼす影響について比較すると、両骨の骨変化とその出現時期が異なっていた。すなわち、脛骨近位端部における骨梁の減少を主体とした骨量の減少は術後8週目よりみられたが、無歯部顎骨における骨髄腔の拡大を主体とした骨量の減少は術後12週目より認められた。したがって、卵巣摘出による骨量の減少は脛骨近位端部において無歯部顎骨より早期に発現したものである。また、無歯部顎骨と脛骨における骨量の減少の程度を比較すると、無歯部顎骨に比べて脛骨近位端部においてより高度であると思われた。このような両骨における骨量減少の程度の相異から、卵巣摘出にともなうestrogenの欠乏によって生じるCa代謝調節ホルモンに起因する骨代謝異常<sup>30)</sup>では、無歯部顎骨と脛骨近位端部の骨変化の程度が異なると考えられた。一方、石井<sup>37)</sup>は低Ca食投与により惹起した骨代謝異常において、ラットの脛骨のみならず顎骨においても著明な骨量減少を認めており、全身のCa量が著しく減少した場合には、顎骨にも著明な影響を及ぼすものと考えられる。

## 結 論

無歯顎々骨の退行性変化を解明する一助として、実験モデルを用いて卵巣機能の低下が脛骨の成長と抜歯創の修復過程に及ぼす影響を比較検討した。

1. 実験群では術後1週目より10週目頃にか

て体重が著明に増加した。

2. 実験群の血清 Ca 濃度は術後 8 週目において対照群と比較して有意に減少したが、その後は対照群との間に著明な差は認められなかった。

実験群の血清無機 P 濃度は経時的に減少したが、対照群との間に有意な差はみられなかった。

3. 実験群の脛骨近位端部には、骨梁数の減少が術後 8 週目以降顕著に認められた。また、実験群の脛骨骨幹部骨内膜面における石灰化速度は経時的に減退したが、対照群との間に著明な差はみられなかった。
4. 実験群の無歯部顎骨には、術後 12 週目以降骨髓腔の拡大が認められた。しかし、実験群の無歯部顎骨頂部における骨形成には対照群との間に差はみられず、経時的に減退するのみであった。

以上の結果より、卵巢機能の低下は脛骨および無歯顎々骨では、骨量の減少を引き起こす可能性のあることが示唆された。

謝辞：稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師岩手医科大学歯学部歯科補綴学第一講座田中久敏教授に深甚なる謝意を表わすとともに、本研究に対して数多くの御援助、御助言をいただいた岩手医科大学歯学部口腔病理学講座鈴木鍾美教授ならびに武田泰典講師、歯科薬理学講座吉田熙講師に衷心より謝意を捧げます。さらに種々の御協力をいただきました岩手医科大学歯学部歯科補綴学第一講座の教職員各位、ならびに大学院生に心から感謝いたします。

本論文の要旨の一部は昭和 61 年度第 75 回日本補綴歯科学会学術大会において発表した。

**Abstract** : An experimental study in ovariectomized rats was made to elucidate the effects of ovarian insufficiency on the bone metabolism in the tibia and the residual alveolar bone.

8-week-old Wistar rats were used in this study. The tibia and residual alveolar bone were examined histologically and histomorphometrically on the 2nd, 4th, 7th, 14th, 56th, 84th and the 168 day after the operation.

The body weight of ovariectomized rats increased remarkably compared with the control rats. The serum calcium level 8 weeks after the ovariectomy decreased temporarily but with no detectable changes in phosphorus levels as compared with the controls. Characterized histological changes showed disappearance of the trabecular bone in the tibial metaphysis upon 8 weeks in the ovariectomized rats. The rate of mineral deposition in the tibial endosteal surface showed no significant differences between both groups.

On the other hand, the marrow cavity of the residual alveolar bone expanded only in the ovariectomized rats, twelve weeks after the operation. Ovariectomy does not alteration in the reparative process of alveolar bone after the tooth extraction, nor the rate of mineral deposition in the residual ridge surfaces.

These findings obtained in this study suggest that the ovarian function plays an important role in sustaining the bone mass of the residual alveolar bone as well as the tibia.

## 文 献

- 1) 青池勇雄, 水江晋一, 太田仁史, 塩野正喜: 骨の年令的变化, 医学のあゆみ, 62: 392-397, 1967.
- 2) 藤田拓男: 老人性骨粗鬆症の成因, 整形外科 MOOK, 34: 122-133. 1984.
- 3) Albright F., Smith, P.H. and Richardson, A.M. : Postmenopausal osteoporosis-Its clinical features-, *J. Am. Med. Assoc.* 116: 2465-2474, 1941.
- 4) 藤田拓男: 骨粗鬆症, 藤田拓男著: カルシウム代謝とその異常, 第 1 版, 裕文社, 東京, 217-234, 1979.
- 5) Gürkan, L., Ekeland, A., Gautvik, K.M.,

- Langeland, N., Rønningen, H. and Sohlheim, L.F. : Bone changes after castration in rats. A model of osteoporosis, *Acta. Orthop. Scand.* 57 : 67—70, 1986.
- 6) Yamazaki, I., Shino, A. and Tsukuda, R. : Effect of ipriflavone on osteoporosis induced by ovariectomy in rats, *J. Bone Miner. Metab. (Jpn)* 3 : 205—210, 1986.
- 7) Fukuda, K., Sohen, S. and Tanaka, S. : Effect of sex steroid-thyroid hormone mixture on an experimental model of osteoporosis, *J. Bone Miner. Metab. (Jpn)* 3 : 226—230, 1986.
- 8) 一坂 章, 山室隆夫, 奥村秀雄, 笠井隆一, 林泰一, 松下 睦, 高橋 寛 : ラット実験的骨粗鬆症における骨動態, 日整会誌, 60 : 511—521, 1986.
- 9) 一坂 章, 山室隆夫, 奥村秀雄, 笠井隆一, 林泰一, 松下 睦 : 実験的骨粗鬆症における骨形成動態の検索(第2報), 中部整災誌, 26 : 1434—1436, 1983.
- 10) 奥村秀雄, 笠井隆一, 一坂 章, 山室隆夫 : 脊髄性麻痺による実験的骨粗鬆症, 中部整災誌, 25 : 1237—1239, 1982.
- 11) Beall, P.T., Misra, L.K., Young, R.L., Spjut, H.J., Evans, H.J. and LeBlanc, A. : Clomiphene protects against osteoporosis in the mature ovariectomized rat, *Calcif. Tissue Int.* 36 : 123—125, 1984.
- 12) 江澤郁子, 川野邊由美子, 松本俊夫, 尾形悦郎 : 卵巣摘出・低カルシウム食ラットの骨代謝に対する $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与の効果, 日骨代謝会誌, 2 : 107—113, 1984.
- 13) 松井清明, 七川欽次 : 卵巣老齡ラットの皮質骨に及ぼす $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の影響, 日骨代謝会誌, 1 : 203—208, 1983.
- 14) Otawara, Y., Hosoya, N. and Moriuchi, S. : Effect of aging and castration on the changes in the levels of  $\gamma$ -carboxyglutamic acid-containing protein in bone and serum of female rat, *J. Nutri. Sci. Vitaminol.* 29 : 249—260, 1983.
- 15) Lindgren, U. and DeLuca, H.F. : Role of parathyroid hormone and  $1,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  in the development of osteopenia in oophorectomized rats, *Calcif. Tissue Int.* 34 : 510—514, 1982.
- 16) 江澤郁子, 川野邊由美子, 宮坂順子, 尾形悦郎 : 去勢雌ラット大腿骨に対するエルカトニン投与の効果, 骨代謝, 15 : 23—28, 1981.
- 17) 伊沢義弘, 大沼規男, 日野修一郎, 相良 潔, 吉光寺まゆ美, 蒔田徳太郎, 橋本喜信, 折茂 肇 : 卵巣摘出ラットにおける骨代謝異常に関する研究, 骨代謝, 14 : 271—279, 1981.
- 18) Lindgren, J.U. and Lindholm, T.S. : Effect of  $1$ -alpha-hydroxyvitamin  $\text{D}_3$  on osteoporosis in rats induced by oophorectomy, *Calcif. Tissue Int.* 27 : 161—164, 1979.
- 19) Cruess, R.L. and Hong, K.C. : The effect of long-term estrogen administration on bone metabolism in the female rat, *Endocrinology.* 104 : 1183—1193, 1979.
- 20) Barzel, U.S. : Studies in osteoporosis. The long-term effect of oophorectomy and of ammonium chloride ingestion on the bone of mature rats, *Endocrinology.* 96 : 1304—1306, 1975.
- 21) Orimo, H., Fujita, T. and Yoshikawa, M. : Increased sensitivity of bone to parathyroid hormone in ovariectomized rats, *Endocrinology.* 90 : 760—763, 1972.
- 22) Aitken, J.M., Armstrong, E. and Anderson, J.B. : Osteoporosis after oophorectomy in the mature female rat and the effect of oestrogen and/or progestogen replacement therapy in its prevention, *J. Endocrinol.* 55 : 79—87, 1972.
- 23) Saville, P.D. : Changes in skeletal mass and fragility with castration in the rat ; A model of osteoporosis, *J. Am. Geriat. Soc.* 17 : 155—166, 1969.
- 24) 末森多賀生 : 無歯顎の病理組織学的研究, 山口医学, 28 : 171—187, 1979.
- 25) Nedeleman, C.I. and Bernick, S. : The significance of age changes in human alveolar mucosa and bone, *J. Prosthet. Dent.* 39 : 495—501, 1978.
- 26) 遠藤 実, 熊谷啓二, 田中久敏, 武田泰典 : 硬組織成長線鉛描記法と類骨組織染色法の同時応用に関する検討, 岩医大歯誌, 10 : 78—84, 1985.
- 27) 高橋栄明 : 骨の組織学的形態計測パラメーター, 高橋栄明編集 : 骨形態計測ハンドブック, 西村書店, 新潟, 71—79, 1983.
- 28) Pietrokovski, J. and Massler, M. : Ridge remodeling after tooth extraction in rats, *J. dent. Res.* 46 : 222—231, 1967.
- 29) 今野俊幸, 高橋栄明 : 非脱灰骨標本の作製法, 高橋栄明編集 : 骨形態計測ハンドブック, 西村書店, 新潟, 28—33, 1983.
- 30) 高橋栄明, 今野俊幸, 上野欣一, 堀 正幸 : テトラサイクリン2回骨標識法によるBMUの分類と骨形成率の計測における意義, 若松英吉, 本間哲夫編集 : 骨形態計測・3, 西村書店, 新潟, 1—11, 1984.
- 31) 笠井隆一, 一坂 章, 奥村秀雄, 山室隆夫 : 骨形態計測に対するミニコンピューターの応用, 高橋栄明編集 : 骨形態計測ハンドブック, 西村書店, 新潟, 197—206, 1983.
- 32) 今野俊幸, 高橋栄明 : 骨の組織学的形態計測法(II)—画像解析装置による計測(image analysis)一, 高橋栄明編集 : 骨形態計測ハンドブック, 西村書店, 新潟, 87—89, 1983.

- 33) 尾形悦郎 : カルシウム, リン代謝の調節機構, 代謝, 13 : 831-849, 1976.
- 34) 折茂 肇 : 老人性骨粗鬆症とホルモン, 整形外科MOOK, 34 : 101-120, 1984.
- 35) 高橋栄明 : 老人性骨粗鬆症と骨折, 整形外科MOOK, 34 : 170-180, 1984.
- 36) 山崎一順 : アロキサン糖尿病, 低カルシウム飼育ラットにおける歯槽骨変化に関する研究, 歯学, 64 : 1178-1193, 1977.
- 37) 石井貴三男 : 成長期顎骨における実験的骨粗鬆症に関する研究—とくに歯槽骨について—, 九州歯会誌, 40 : 530-554, 1986.
- 38) 渡辺幸男 : 実験的老化様ラットの歯周組織に対するフッ素およびカルシウムの効果, 日歯周誌, 27 : 527-540, 1985.
- 39) Agnew, R.G., Weisengreen, H.H. and Coleman, R.D. : Experimental oophorectomy, possible influences upon alveolar bone, *J. dent. Res.* 32 : 693, 1953.
- 40) 大鶴 栄 : 2, 3 の内分泌的機能が歯牙, 歯周組織に及ぼす影響に関する実験的研究, 第2編, Estrogenの歯周組織に及ぼす影響に関する病理組織学的研究, 阪大歯誌, 4 : 1181-1196, 1959.
- 41) 吉野信哉 : ハムスターの歯周組織に対する卵巣摘出, 軟らかい食餌および咬合機能喪失の影響について, 口病誌, 40 : 242-263, 1973.
- 42) Piroshaw, N.A. and Glickman, I. : The effect of ovariectomy upon the tissues of the periodontium and skeletal bones. I. The effects of ovariectomy upon the alveolar bone, periodontal membrane and tibia, *O.S., O.M.&O.P.* 10 : 133-147, 1957.
- 43) 河見忠雄 : 歯周組織の老化に対する結合型 Estrogenの阻止効果, 日歯保誌, 24 : 155-169, 1981.
- 44) 大野康亮 : 抜歯窩骨性治癒過程の Microradiogram ならびにラベリング法による研究, 歯学, 60 : 839-868, 1973.
- 45) 千葉博茂 : 歯牙抜去につづく歯槽骨変化のラベリング法とマイクロラジオグラフィによる研究, 歯基礎誌, 18 : 1-52, 1976.
- 46) 斉藤俊夫 : 抜歯窩治癒過程に及ぼす活性型ビタミン D<sub>3</sub> ならびにタンパク同化ステロイドの影響—Microradiogram, <sup>45</sup>Ca autoradiogram による観察—, 歯学, 69 : 864-897, 1982.
- 47) 仲宗根康雄 : 糖尿病ラットの抜歯創治癒過程に関する研究—根尖病巣の有無による影響—, 歯学, 67 : 247-280, 1979.
- 48) 朝比奈辰郎 : 抜歯創治癒に及ぼす全身的要因に関する実験的研究, 第一編 ステロイドホルモン(去勢・男性ホルモン・副腎皮質ホルモン)の影響について, 京大口科紀要, 10 : 1-18, 1970.
- 49) Darvish, M., Shklar, G. and Shiere, F. : The effect of age on extraction wound healing in syrian hamster, *J. Dent. Child.* 39 : 384-389, 1972.
- 50) Urago, A. : Histological classification of resorbed bone, *Acta. Pathol. Jpn.* 32 : 759-770, 1982.