The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	卵巣摘出ラットにおける歯の実験的移動
Author(s)	山城, 隆
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3100621
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

①

論文題名：　卵巣摘出ラットの歯の実験的移動
における

著者名：　山城　隆

原著

原稿総紙数：　53枚（本文，欧文抄録，文献，脚注，図表の説明）

図：　4 枚（図1, 3, 4, 5）

写真：　7 枚（図2, 6, 7, 8, 9, 10,11）

表：　6 枚

別刷数　5 0 部

連絡先

表題　卵巣摘出ラットにおける歯の実験的移動

所属　氏名　大阪大学歯学部歯科矯正学講座
山城　隆

緒言

近年，わが国では高齢化社会に伴い，骨粗鬆症に対する関心が高まっており，この様な疾患をもつ不正咬合患者の来院が増加してきている．骨粗鬆症は骨塩量の減少，および骨梁の微細構造の変化により骨が脆弱化し，骨折の危険性が増大することを特徴とした骨病態を示す症候群として定義されている[1]．閉経後骨粗鬆症（I型骨粗鬆症）は，エストロゲンの急激な喪失により骨の代謝回転が亢進し，急速な骨吸収を起こす高回転型骨粗鬆症を呈する．一方，老人性骨粗鬆症（II型骨粗鬆症）も存在する．これは腎での$1,25(OH)_2D_3$の産生低下や代謝回転腸管カルシウム吸収の低下など，その発症機序については不明な点が多いが[2]，低回転型骨粗鬆症を呈する．

骨の代謝は，既存の骨を破骨細胞により吸収し，形成がおこるまでの逆転期を経て，骨芽細

胞による類骨形成，それに続く石灰沈着により骨細胞を含む新しい骨をつくり，骨組織の維持をしている．骨形態計測では，これらの骨形成と骨吸収の組織学的所見を定量的に計測する[3~5]．この方法を応用することにより，従来の定性的な組織学的観察に比べ，骨の代謝の様態がより客観的に評価されるようになった．

一方，歯の移動に伴い，圧迫側では骨吸収が，牽引側では骨添加が亢進することが知られている．しかし，歯の移動に伴う骨改造機転の変化についての報告は少なく，卵巣摘出により歯槽骨の代謝回転が亢進した状態で，歯の移動速度がどの様な影響を受けるか，また，その際，骨の代謝回転はどの様な影響を受けるのかについての報告は見られない．

そこで本研究では，卵巣摘出ラットに歯の実験的移動を行い，歯の移動量の測定と組織学的に骨形態計測を行うことにより，代謝回転が亢進した歯槽骨において歯の移動がどの様な影響を受けるか，さらに，骨代謝の動態

がどの様に変化するかを検討した．また，加齢やエストロゲン置換による影響についても検討を加えた．

材料と方法

1．　歯の移動量の測定について

実験には，SD系ラット（体重150-160g，雌性，日本クレア，東京）115匹を用いた．各ラットは可及的に同一条件で飼育し，飼料（オリエンタル固形飼料M.F）および水（水道水）は自由摂取させた．

2．　実験群について

体重150-160gのラットに，Sham手術，あるいは，卵巣摘出（OVX）手術を行い（Sham群，OVX群），これらのラットを成長ラット（14日群）と成熟ラット（150日群）に分けた（図1）．

14日群では，OVXあるいはSham手術後14

日目から歯の移動を開始した群（以下，14日Sham+T.M.群，14日OVX+T.M.群と記す）を，150日群では手術後150日目から歯の移動を開始した群（以下，150日Sham+T.M.群，150日OVX+T.M.群と記す）を設けた．歯の移動期間は，14日群では18日間，150日群では24日間とした．対照として，Sham手術およびOVX後，歯の移動を行わなわず飼育したラットを用いた（以下，これらを14日Sham群，14日OVX群，150日Sham群，150日OVX群と記す）．また，エストロゲン置換による影響を見るために，14日群の卵巣摘出を行ったラットに，生理的濃度である10^{-9}Mの17β–Estradiol（E_2: Sigma, USA）を，歯の移動開始2日前より2日毎に，上顎第一臼歯口蓋粘膜下に局所投与した群（以下，14日OVX+E_2+T.M.群と記す）を設けた．E_2はあらかじめ，10^{-2}Mの濃度に純エタノール（和光純薬，大阪）で希釈し，生理的食塩水で10^{-9}Mに調製し，20 μlの溶液をマイクロシリンジ（

Hamilton Company Reno, USA）を用いて局所投与をした．なお，各群に用いたラット数は14日Sham群，14日OVX群，150日Sham群，150日OVX群では各10匹，また，14日Sham+T.M.群，14日OVX+T.M.群，14日OVX+E_2+T.M.群，150日Sham+T.M.群，150日OVX+T.M.群では各15匹とした．

3．　卵巣摘出（OVX）について

Urethane（500mg/kg,i.p.）とsodium pentobarbital（13mg/kg,i.p.）の混合麻酔後，両側の卵巣を摘出した．対照群はSham手術を行った．卵巣摘出の成否については，屠殺時に輸卵管の萎縮とその重量の減少を確認した．

4．　歯の移動方法について

実験に用いた歯の移動装置を図2に示す．実験前にあらかじめラットの上顎歯列の印象を採取し，作業模型を作成した．この移動装

置は，その模型上で.016インチのニッケル・チタン系ワイヤー（.016" BIOFLEX, Rocky Mountain, USA）を用いて作製したもので，両側上顎第一臼歯の口蓋側歯面に，それぞれ約10ｇの水平的な力が持続的に加わるよう調節した．装置を上顎切歯に固定するために，移動装置の上から上顎切歯に，この歯を囲む様に曲げた矯正用線（016"エルジロイラウンドワイヤー，Rocky Mountain, USA）を装着し，矯正用接着レジン（オルソマイトスーパーボンド，サンメディカル，京都）で接着，固定した．歯の移動開始後３日おきに，エーテル麻酔下で，上顎歯列の印象をシリコン印象材（Coltflax, Coltex, Coltene Inc. ,Switzerland）を用いて採取した．この印象に歯科用超硬石膏（New Fujirock，而至歯科工業）を注入し，得られた模型上で，左右上顎第一臼歯近心小窩間の距離を，デジタルキャリパス（digimatic caliper, 三豊，東京）を用いて計測し，実験初日の距離との差を歯の

移動距離とした．なお，統計検定にはANOVAを用いておこなった．

5．　硬組織ラベリングについて

石灰化速度を計るために，歯の移動期間中，カルセイン（片山化学工業，大阪）と，テトラサイクリン（Sigma, USA）の２種類の硬組織ラベリング剤を腹腔内投与した[6]．カルセインは0.05MのKOH水溶液に溶解し，この溶液を生理的食塩水を用いて，動物の体重１kgあたり８mgとなるように調製した．なお，組織標本を，蛍光顕微鏡で観察するとカルセインは緑色に観察される．テトラサイクリンは tetracycline hydrochlolideを生理的食塩水に溶解し，体重１kgあたり20mgとなるように調製した．なお，蛍光顕微鏡で観察するとテトラサイクリンは黄色に観察される．これらのラベリング剤の投与は図１に示すように，14日群では，歯の移動開始11日目にカルセインを投与し，16日目にテトラサイクリ

ンを投与した．卵巣摘出後150日群では，歯の移動開始16日目にカルセインを投与し，22日目にテトラサイクリンを投与した．なお歯の移動を行わないラットに対しても，同じスケジュールでラベリング剤の投与を行った．

6．　標本の作成

14日群では歯の移動開始より18日目に，150日群では24日目に，エーテル麻酔下で屠殺した．上顎骨を摘出した後，70%アルコールで固定した．脱灰薄切標本の作製のために，片側試料は５%トリクロロ酢酸で7日間脱灰後，上昇アルコール系列により脱水し，Kushidaら[7]の方法に従って，Quetol-523M（日新EM社，東京）で樹脂包埋し，頬舌方向に上顎第一臼歯頬側中央根と舌側近心根を含む厚さ３μmの連続切片とし，ヘマトキシリンーエオジン重染色を施し，これを検鏡した．また，非脱灰研磨標本の作成のために，片側試料は非脱灰のまま上昇アルコール系列

で脱水し，フタル酸ジ-n-ブチル，メチルメタクリレート（和光純薬，大阪）により樹脂包埋し，硬組織用カッティングマシーン　（EXAKT, Germany ）により上記と同じ部位を切り出した後，用手砥石研磨より20 μ mまで研磨し，これを蛍光顕微鏡で検鏡した．

7．　標本の観察と骨形態計測

歯の移動中の歯槽骨の動態を組織学的に客観的に検討するために，得られた脱灰薄切標本と非脱灰研磨標本を用いて骨形態計測を行った．Parfitおよび高橋らの方法 [6,7] を参考に以下のパラメータを選択した．

1）脱灰薄切標本から得られる第一次パラメータとして

全骨梁面（BS: Bone Surface）：視野中の骨梁表面の全周長

活性形成面（Ob.S: Osteoblast Surface）：胞体の大きな骨芽細胞のある骨梁面の長さ

活性吸収面（Oc.S: Osteoclast Surface）：

破骨細胞の認められる骨梁面の長さ

破骨細胞数（N.Oc: Osteoclast Number）：破骨細胞の数

脱灰薄切標本から得られる第二次パラメータとして

分画活性形成面（Ob.S/BS）（%）

分画活性吸収面（Oc.S/BS）（%）

平均破骨細胞数（N. Oc/BS）（個/mm）

なお，破骨細胞の判定には，井上[8]の示す基準をもとに，吸収窩のある骨面に接し，3核以上のエオジン好染性の細胞を破骨細胞とした．

2）非脱灰研磨標本から得られる第一次パラメータとして

二重標識幅（L.Th: Labeled Thickness）：テトラサイクリンとカルセインの二重標識幅（mm）

非脱灰研磨標本から得られる第二次パラメータとして

石灰化速度（MAR=L. Th / TC interval）

(μm/ day)

(MAR: Mineral Appositional Rate)

(TC interval : テトラサイクリンとカルセインの標識の間隔)

骨形態計測による評価は骨形成，骨吸収，代謝回転などについて行われるが，これには上記の第二次パラメータがそれぞれ評価の対象として用いられる．

骨形態計測を行う半自動画像解析システムは，光学顕微鏡（オリンパス光学BH-2型，東京），超高感度CCDカラービデオカメラ（フローベルHCC-1600A，東京）パーソナルコンピューター（NEC PC9800-EX，東京），骨形態計測システム（システムサプライ，長野）から構成されている．組織像が超高感度CCDカラービデオカメラにより光学顕微鏡から取り込まれ，パーソナルコンピューター上のモニターにそれが映し出される．このモニター上で，各パラメータの項目をトレースすると自動的に第一次パラメータが計算され

，同時に，第二次パラメータも算出される．

脱灰薄切標本は，図３に示す上顎臼歯頬側中央根と舌側近心根間の歯槽中隔上に生じる圧迫側Ａと牽引側Ｂの690μｍ×460μｍの範囲で組織学的観察をおこなった．また，この部位で，静的パラメータとして全骨梁面（BS），活性形成面（Ob.S），活性吸収面（Oc.S），破骨細胞数（N. Oc）の計測を行った．

非脱灰研磨標本は，UV落射型蛍光顕微鏡（オリンパス光学BH-2型，東京）で検鏡し，図３の牽引側Ｂの歯根膜に隣接した歯槽骨上でテトラサイクリンとカルセインの二重標識幅を観察した．また，この部位で，骨形態計測の動的パラメータとして，歯根膜に隣接した二重標識幅（L.Th）を約50μｍの間隔で約15回計測し，平均を求めた．

なお，統計検定には，ANOVAを用いた．

結果

1．　体重および卵管重量に対する卵巣摘出の影響について

14日群では，OVX群とSham群の体重に有意差は認められなかったが，150日群ではOVX群の体重が有意に重かった（図4）．14日群，150日群ともに，OVX群の卵管重量はSham群の卵管重量より有意に軽かった（表1）．

2．　歯の移動量について

1）成長ラットにおける卵巣摘出の影響

14日OVX+T.M.群のラットの歯の移動量は，移動開始18日目で平均1.86mmとなり，14日Sham+T.M.群の歯の移動量の平均1.23mmと比べると有意に増大した．この差は歯の移動開始12日目以降より認められた．歯の移動量の経時的変化は，OVX+T.M.群もSham+T.M.群も同様に，移動開始より3日の間急激な歯の移動がみられ，それ以降9日までの間

，歯の移動が遅延し，9日以降，再び歯は移動し，直線的な増加がみられるようになった（図５Ａ）．

卵巣摘出後，E_2を局所投与した14日OVX+E_2+T.M.群の歯の移動量は，歯の移動開始後18日目では平均1.22mmとなり，14日OVX+T.M.群の歯の移動量と比べると有意に減少し，ほぼ14日Sham+T.M.群と同じ量であった．14日OVX+E_2+T.M.群の歯の移動の経時的変化は14日OVX+T.M.群，14日Sham+T.M.群と同様で，移動開始より３日の間，急激な歯の移動がみられ，それ以降９日までの間，歯の移動が遅延し，９日以降，再び歯は移動し，直線的な増加がみられるようになった（図５Ａ）．

２）成熟ラットにおける卵巣摘出の影響

150日OVX+T.M.群の歯の移動量は移動開始24日目で平均1.25mmとなり，150日Sham+T.M.群の歯の移動量の平均0.92mmと比べる

と有意に増大した．この有意差は歯の移動開始15日目以降より認められた．歯の移動量の経時的変化は，150日OVX+T.M.群，150日Sham+T.M.群共に，移動開始より３日の間，急激な歯の移動がみられ，それ以降12日までの間，歯の移動が遅延し，12日以降，再び歯は移動し，直線的な増加がみられるようになった（図５Ｂ）．

３）週齢差の影響

Sham+T.M.群の歯の移動量を，歯の移動開始18日目で比較すると，14日Sham+T.M.群のラットの歯の移動量は平均1.23mmで，150日Sham+T.M.群の移動量の平均0.74mmと比べ有意に大きかった．150日Sham+T.M.群の歯の移動が遅延する期間は，14日Sham+T.M.群とくらべ３日長くなった（図５）．

３．　組織学的観察について

蛍光顕微鏡により非脱灰研磨標本を観察し

たところ，14日群，150日群ともに，歯の移動，あるいは，卵巣摘出により二重標識幅は増大し，卵巣摘出後に歯の移動を行うと二重標識幅はそれぞれ単独に行ったものに比べ相加的に増大した．E_2投与を行った14日OVX+E_2+T.M.群の二重標識幅は14日Sham+T.M.群の程度にまで減少した．150日群は，14日群にくらべ歯の移動の有無に関わらず二重標識幅は小さかった（図6，7）．

脱灰標本を自然光で観察したところ，歯の移動を行わない14日Sham群では，歯槽骨の表面は平滑で，骨芽細胞が部分的に配列していた．歯根膜腔の幅はほぼ一定であり，歯根膜繊維が確認された．卵巣摘出を行った14日OVX群では，歯槽骨表面にやや凹凸が生じ，骨芽細胞がやや増加した．また破骨細胞も確認されるようになった．しかし，歯根膜腔や歯根膜繊維には，14日Sham群との間に有意差は認められなかった（図8，9）．

歯の移動を行った14日Sham+T.M.群は，圧

迫側では歯槽骨の内部表面に破骨細胞が多数出現し，多数の深い吸収窩も見られ，骨梁は著しく複雑になった．また，骨芽細胞が多数配列し，活発に骨形成を行っていた．歯根膜腔の幅は歯の移動を行っていない群と比べると狭くなっていたが，歯根膜繊維が圧縮された様子はなかった．また硝子様変性体も認められなかった（図８）．牽引側では，骨芽細胞が多数配列し，新生骨の形成が活発に見られた．歯根膜腔の幅は拡がっており，歯根膜繊維は引き伸ばされ互いに平行に配列していた（図９）．

14日OVX+T.M.群では，14日Sham+T.M.群よりも，圧迫側，牽引側において，歯槽骨表面の骨吸収，骨形成は亢進していた．歯根膜腔，歯根膜繊維は特に有意差は認められなかった．また，硝子様変性体も認められなかった（図８，９）．

E_2の局所投与を行った14日OVX+E_2+T.M.群では，14日OVX+T.M.群に比べ，圧迫側で

は骨吸収の程度がやや減少した（図８）．牽引側では骨形成に変化は認められなかった．歯根膜腔や，歯根膜繊維に変化は認められなかった（図９）．

150日群のラットについても14日群のラットと同様に，卵巣摘出や歯の移動により，骨吸収，骨形成はより亢進した．歯根膜腔や歯根膜繊維についても成長ラットと同様の所見が見られた（図10,11）．しかし，14日群のラットと比べると，骨吸収，骨形成の程度は少なかった．

４．　骨形態計測について

１）成長ラットの歯槽骨における卵巣摘出と歯の移動の影響

骨形成の指標となる分画活性形成面（Ob.S/BS），石灰化速度（MAR: L.Th / TC interval），骨吸収の指標となる分画活性吸収面（Oc.S/BS），平均破骨細胞数（N.Oc/BS）について検討を行った．

歯の移動を行わない場合，14日OVX群は14日Sham群に比べ，圧迫側相当部でOc.S/BS，N.Oc/BSが有意に増加し，牽引側相当部でOb.S/BS，N.Oc/BSが有意に増加した．歯の移動を行った場合，14日OVX+T.M.群は14日Sham+T.M.群と比べ，圧迫側でOb.S/BS，Oc.S/BS，N.Oc/BSが有意に増加し，牽引側でOc.S/BS，N.Oc/BS，MARが有意に増加した．また，E_2を局所投与した14日OVX+E_2+T.M.群は，圧迫側でOc.S/BS，N.Oc/BSが有意に減少し，牽引側ではOc.S/BS，MARが有意に減少しSham群と同程度になった．なお，歯の移動を行った14日Sham+T.M.群の圧迫側と行わなかった14日Sham群圧迫側相当部で比べると，歯の移動により，Ob.S/BS，Oc.S/BSが有意に増加し，牽引側部ではOb.S/BS，MARが有意に増加した（表2，3）．

2）成熟ラット歯槽骨における卵巣摘出と

歯の移動の影響

歯の移動を行わない場合，150日OVX群は，150日Sham群に比べ，圧迫側相当部でOb.S/BSが有意に増加し，牽引側相当部でOc.S/BSが有意に増加した．歯の移動を行った場合，150日OVX+T.M.群は，150日Sham+T.M.群と比べ，圧迫側でOb.S/BSが有意に増加し，牽引側でOc.S/BS，N.Oc/BS，MARが有意に増加した．Sham群で歯の移動を行った150日Sham+T.M.群の圧迫側と，歯の移動を行わなかった150日Sham群の圧迫側相当部を比べると，歯の移動によりOb.S/BS，N.Oc/BSが有意に増加し，牽引側部ではOb.S/BS，MARが有意に増加した（表４，５）．

14日群と150日群ラットで比較したところ，14日Sham+T.M.群と14日OVX+T.M.群のOb.S/BS，Oc.S/BS，N.Oc/BS，MARは，150日Sham+T.M.群と150日OVX+T.M.群に比べ大きく，代謝回転が亢進していた（表２，３，４，５）．

考察

1．　実験方法について

1）歯の実験的移動方法について

従来から歯の移動の実験モデルとしてWaldoの方法[9]が用いられている．この方法は実験が簡便で，実験条件の均一化を計りやすい長所があるが，歯間にゴムを挿入して歯の移動を生じさせるため，挿入直後では過荷重となる．このため，硝子様変性体が多く出現し，歯の移動が遅延する期間期が長くなることが考えられる．また，ゴムが経時的に劣化するため，荷重が不安定になる欠点がある．そこで，本実験では，ニッケルチタン系ワイヤーを用いて両側上顎第一臼歯の口蓋側歯面に水平的な力を持続的に加え，同歯を傾斜移動させた．矯正用ニッケルチタン系ワイヤーは，従来より用いられたコバルトクロム合金やステンレス製の矯正ワイヤーに比較する

と，弾性係数が小さく弾性限界は高いため[10]，より持続的で安定した力を生むことが可能である．歯の実験的移動では，実験条件を均一にするために，できるだけ簡便で再現性のある装置をもちいることが望ましい．ニッケルチタン系ワイヤーにより作成された本装置は，永久変形や経時的な力の衰退がほとんど生じず，実験中，装置を再活性化する必要性が無かった．実験前後における装置の形状の永久変形はほとんど認められなかった．

初期荷重は過去の報告[11~13]をもとに10gとした．ヒトの至適荷重と比較すると，この荷重は相対的に大きいため，さらに小さな荷重を用いる方が適当と考えられたが，矯正用ワイヤーの物理的性状の限界と実験操作上の問題により，より小さな荷重を作用させることは困難であった．

歯が頬側移動する際，正中口蓋縫合部も同時に拡大する可能性があった．しかし，移動装置を保持するために上顎切歯を囲むように

曲げたワイヤーをこの歯に接着，固定することで，縫合部での拡大を防止した．実験後，第三臼歯の幅経にほとんど変化が認められず，また組織所見でも縫合部の拡大はほとんど認められなかった．

2）骨形態計測について

本実験において，卵巣摘出による影響をSham+T.M.群とOVX+T.M.群の歯槽骨の様態について検鏡し検討したところ，ともに骨吸収と骨形成が亢進しており，OVX+T.M.群のほうがより著しかったことが観察された．しかし，本実験のように実験群と対照群の示す組織像の様態が似ており，その程度を比較しなければならない場合や，また，各群内における個体差を考慮して組織像を比較しなければならない場合，骨形態計測は従来の定性的な観察に比べ，定量的に，より客観的に相違点をとらえることが可能であると考えられる．このことは，健常な組織との比較や，疾患

の進行度の把握，薬物などによる治療の効果判定にも非常に有効である[14]．

3）実験動物について

本実験に用いた150日群のラットは，屠殺時に生後約32週で，平均寿命，臓器の成熟度，体重の増加の停止などより人間では中年にあたると考えられる．Wronski [15] の骨形態計測による卵巣摘出後のラット大腿骨の代謝の経時的変化の報告によると，卵巣摘出後の骨の代謝回転の亢進と骨梁の減少は卵巣摘出後1，2カ月で著しくなり，その後急激に減少する．この報告を本実験の14日群と150日群のラットにあてはめると，14日群ラットの屠殺時は，代謝回転が最も著しく亢進している時期にあたり，一方，150日群ラットでは，代謝回転が減少した時期にあたる．大腿骨の骨形態計測により，150日群ラットは14日群ラットに比べ，骨吸収面が1/2，骨形成面が1/3，石灰化速度が2/3であった．このことより

，14日群と150日群のラットでは骨代謝回転の速度が有意に異なるといえる．代謝回転の遅い実験モデルとして，より老齢のラットを実験に用いることも考えられるが，老齢になるほど加齢に伴う内臓機能の低下により，卵巣機能停止以外の要因が顕著になる事が考えられるため，150日群のラットを本研究では成熟ラットとして用いた．

卵巣摘出により，体重が増加することは知られており[16]，本実験においても，150日群のラットでSham群に比べOVX群の体重は重かった．歯の移動開始後，体重の減少がみられたが，これは移動装置を歯に装着したため，摂食障害が一時的に生じたことによると考えられる．また，卵巣摘出により，卵管の萎縮と，卵管重量の有意減少が観察され，本実験のOVX群ラットにおいて卵巣摘出が確実に行われたと考えられる．

4）E_2局所投与について

E_2は，生理的濃度の10^{-9}Mで２日に一回，20μlの分量を上顎第一臼歯口蓋粘膜下に局所投与した．薬剤の局所投与により局所的な効果を検討する際には，その影響が全身的に生じていないことを確認しなくてはならない．本実験においてはE_2投与群と非投与群において，大腿骨の骨形態計測の値を検討したところ，有意差は認められなかったため局所投与の影響は全身的には及んでいないと考えられた（表６）．

２．　骨粗鬆症について

骨粗鬆症は骨量の減少とそれに続く骨折などを主症状とする症候群である[1)]．この疾患は加齢，内分泌異常，運動不足などにより，骨吸収と骨形成のアンカップリングが生じ，その結果，骨吸収が亢進すると考えられている．ラットでは，卵巣摘出は骨吸収，骨形成をともに亢進し骨の代謝回転を増加させ，大腿骨の骨量を減少させることが骨形態計測に

より明らかとなった[17,18]．Riggsら[2]は，骨量の減少は加齢自体よりも，閉経や卵巣摘出によりエストロゲンの欠乏が生じてからの時間に関連があると報告した．この様な病態に対して，エストロゲンの置換療法は，Albright[19]の報告以来，亢進した骨の代謝回転を減少させ，骨量の減少を防ぐ有効な手段の一つとして考えられる様になった[20]．

閉経後骨粗鬆症のモデルとして，卵巣摘出ラットがよく用いられいる．この卵巣摘出ラットを用いて，骨形態計測的手法により，骨粗鬆症の病態やエストロゲン置換などの治療法に関する報告がなされている[17,18,21,22]．本実験において，ラット大腿骨の骨形態計測をしたところ，卵巣摘出により骨形成，骨吸収が亢進し，これらを示すパラメータは，150日OVX群に比べ，14日OVX群の方が，高い値を示していた．しかし，150日OVX群では，14日OVX群に比べ，骨吸収の亢進が骨形成の亢進より相対的に著しく，骨量の減少が進行

していることが示唆された．

この様に，卵巣摘出により骨吸収が亢進する機序として，エストロゲンの低下により骨のPTH感受性が高まり骨吸収が増加すること[23]やまた，リンホカインであるIL-1,IL-6,IL-11などの産生と骨吸収との関連が報告されている[24~27]．

ところで，卵巣摘出による歯槽骨への影響は，大腿骨と同様であるの否かの報告はなされていない．本実験で，大腿骨と歯の移動を行わなかった歯槽骨の骨代謝の様態を骨形態計測で比較したところ，表2，3，4，5，6より，骨形成を示すパラメータには差があまりみとめられず，骨吸収を示すパラメータでは大腿骨の方が大きな値を示した．一般に，歯槽骨の代謝回転は他の部位より速いと想像されているが，本実験では従来想像されていた概念とは異なっていた．このような相違の原因として，まず，大腿骨の骨形態計測は海綿骨の部分で行ったのに対し，歯槽骨の骨

形態計測域は海綿骨の部分と歯根膜を取り囲む性状の異なる部分の骨を含む領域で比較を行ったこと，また，歯槽骨の骨梁の形状が大腿骨よりも複雑であるため，骨形態計測で比較すると分母の骨表面の周長がより大きな値をとり，パラメータの値がより小さく評価されることが考えられる．歯槽骨でも，大腿骨と同様に海綿骨に相当する部分のみを計測すれば，単純に比較を行えるが，ラットの歯槽骨では海綿骨の面積が非常に小さく，本実験ではこの特定が困難であったため，一括して計測した．

本実験では，エストロゲンの局所投与により，卵巣摘出，及び歯の実験的移動で亢進した歯槽骨の代謝回転が，Sham+T.M.群の程度に減少するのが認められた．これはエストロゲンが骨芽細胞に対してanabolicな作用とanticatabolicな作用を有していることによると考えられる．骨芽細胞上には，エストロゲンレセプターが存在し，エストロゲンは骨に

対して直接作用することが知られている[28,29]．In vitroでは骨芽細胞に対するanabolicな作用として，エストロゲンは，骨芽細胞様細胞であるUMR106細胞のALPaseを濃度依存的に上昇させ，生理的濃度である10^{-10}Mで最大となった[30]．この生理的濃度のエストロゲンは，新生児ラットの頭蓋冠より分離した骨芽細胞の増殖，collagen のmRNAの産生促進[31]，また，骨芽細胞の増殖を亢進させるIGF-1,2の分泌やmRNA産生も促進させた[32]．また，エストロゲンのanticatabolicな効果は，IL-1,6,11などのリンホカインの産生抑制以外にも，PTHによるadenylate cyclase活性の上昇を防ぎ[23]骨吸収を抑制したり，骨芽細胞のTGF-βの産生を高め，これにより，破骨細胞の活性を下げるはたらきもある[33]．

本実験においては，E_2投与により卵巣摘出で亢進した歯の移動速度はSham+T.M.群のレベルにまで減少し，組織学的にも，亢進した骨の代謝回転はエストロゲン局所投与により

減少した．骨吸収をしめすパラメータは，圧迫側，牽引側ともに減少した．しかし，骨形成をしめすパラメータは圧迫側では減少したが，牽引側ではほぼ同じレベルであった．これは，エストロゲンの作用が条件により異なるため，測定部位によって反応の相違が生じたと考えられる．In vivoでは，エストロゲンの全身投与を行うと卵巣摘出により亢進した骨の代謝回転が遅くなり，その結果，骨吸収も骨形成も減少する[21,22]．しかし，エストロゲンの直接作用を調べる為に，Takano-YamamotoとRodan[34]は卵巣摘出ラットの大腿骨に，浸透圧ポンプを用いてエストロゲンの局所投与を行ったところ，生理的濃度のエストロゲンは骨量をほとんど保持し，破骨細胞数と吸収表面を濃度依存的に抑制し，骨芽細胞数および類骨を濃度依存的に亢進させた．この様に，エストロゲンはその投与法によって骨形成を促進も抑制もする．しかし，卵巣摘出ラットに骨吸収を抑制する3-amino-1-

hydroxypropylidene-1-bisphosphonate（AHPrBP）を投与しした状態で，エストロゲンが投与されると骨形成は亢進した[35]．ことより，エストロゲン自体は骨形成を亢進させるが，一方，骨吸収の亢進も抑制するためカップリングにより骨形成が抑制されることもあり，生体の条件により反応が異なることが考えられる．

3．　歯の実験的移動について

Storey[36]は歯の移動を以下の3相，1）荷重により，歯が歯根膜を圧迫し，その粘弾性により，変位が生じる時期（初期移動期），2）歯根膜が圧迫され硝子様変性組織が生じ，マクロファージなどがこれを吸収するため歯の移動が遅延する時期（遅延移動期），3）硝子様変性組織が取り除かれて，荷重に対し，骨吸収と骨形成が調和を保ち，リモデリングを生じながら歯の移動が速やかに行われる時期（移動促進期）に分類した．ところで

，Kingら[37] が，歯の実験的移動を行った際の歯槽骨の動態について，骨形態計測的手法をもちいて骨吸収，骨形成の指標の経時的変化を調べたところ，遅延移動期において骨吸収の亢進が，移動促進期において骨形成の亢進が観察された．また，歯槽骨と血清の酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼは初期移動期に，アルカリフォスファターゼは移動促進期あたりから上昇した[38]．これらの結果は，Storey[36] が述べた歯の移動の経時的変化と一致している．

本研究において，初期移動期での歯の移動の動態については，成長および成熟ラットとも，初期移動期の長さは卵巣摘出やエストロゲン局所投与による差は認められず，また，その間の経時的な移動距離についても差は認められなかった．このことは，卵巣摘出により歯槽骨の代謝回転は亢進するが，歯根膜の粘弾性には影響がないことが考えられる．成長ラットと成熟ラットで比較すると初期移動

期の長さはほぼ同じであったが，その間の移動距離は成長ラットの方がやや大きく，加齢に伴い歯根膜の粘弾性が高くなることが示唆された．

遅延移動期での動態については，卵巣摘出により，吸収系の細胞が活性化されるため遅延移動期の長さが短くなることが予測されたが差は認められなかった．この原因としては，まず，歯の移動距離の計測を３日毎に行っていたため，検出精度が十分でなかったのか，卵巣摘出は硝子様変性体の出現や，硝子様変性体を吸収する細胞に対しては影響がなかったのか，逆に，卵巣摘出は硝子様変性体をより多く出現させるが，硝子様変性体を吸収する細胞も活性化した結果，遅延移動期間に差が認められなかったのか，など様々なことが考えられた．遅延移動期は加齢に伴いその期間は延長し，また，その間の移動距離は減少した．これは加齢に伴い破骨細胞の活性が低下すること[39]，若齢，成熟ラット双方に同

じ荷重を与えても，成熟ラットにはその荷重が相対的に大きな荷重となり，硝子様変性体がより多く生じたことなどが考えられる．

歯の移動の最終日は，成長ラットでは歯の移動開始18日目に，成熟ラットでは24日目とした．これは，この時期が歯槽骨が歯の移動中にリモデリングを起こす移動促進期であり，骨代謝の指標となる骨形態計測のパラメータや血清の酵素が移動促進期には安定した値を示すこと[37,38]，遅延移動期は加齢により延長すること，歯槽骨の解剖的な歯の移動限界であることなどを考慮して決定した．

骨代謝の変化が歯の移動に及ぼす影響について，副甲状腺機能亢進の動物では，骨の代謝回転の増加とそれに伴う骨密度の減少により歯の移動速度が速くなることが報告されている[40]．また，1,25(OH)$_2$D$_3$は歯の移動速度を亢進させ[41]，これに伴い，破骨細胞数の増加と骨添加の促進がみられた[12]．一方，加齢に伴い骨の代謝回転は低下し[15]，歯の移動速

度は遅延することが知られている[42]．この原因として加齢に伴う細胞の活性の低下[39]や，加齢に伴う骨の石灰化密度の亢進との関連を示唆する報告がみられる[43]．本実験において，歯の移動を行った成長ラットと成熟ラットの骨形態計測値を比較すると，骨吸収を示すパラメータに比べ，骨形成を示すパラメータは加齢により著しく減少した．そこで，歯の移動に伴い歯槽骨がリモデリングを生じている移動促進期において，歯の移動速度と，骨形成および骨吸収をしめす骨形態計測のパラメータとの関係について考察した．まず，14日OVX+T.M.群の屠殺時の歯の移動速度は図5のグラフより約0.11mm/日となる．これを14日Sham+T.M.群の移動速度約0.07mm/日や14日OVX+E_2+T.M.群の移動速度0.08mm/日と比較すると，約1.5倍となる．一方，14日OVX+T.M.群の骨吸収を示すパラメータは，表2，3より，14日Sham+T.M.群や14日OVX+E_2+T.M.群と比べ，約2倍弱であった．

また，150日Sham+T.M.群の移動速度が約0.04mm/日であるのにに対して，150日OVX+T.M.群の移動速度が約0.06mm/日で約1.5倍を示した．150日OVX+T.M.群の骨吸収を示すパラメータが，150日Sham+T.M.群にくらべて，約1.4倍から約1.8倍の値を示した．以上のことより，歯の移動速度と骨吸収の程度との関連が示唆された．

結論

歯の実験的移動に対する卵巣摘出の影響について，ラットを用いて，検討し，以下の結論を得た．

1）卵巣摘出ラットに歯の実験的移動を行い，歯の移動量について検討したところ，卵巣摘出により歯の移動が促進されることが示された．また，歯槽骨の代謝に及ぼす影響を骨形態計測で検討したところ，歯の実験的移動により亢進した歯槽骨の代謝は，卵巣摘出に

より相加的に亢進することが明らかとなった

.

2）卵巣摘出ラットの歯槽骨にエストロゲンの局所投与をし，歯の移動量について検討したところ，卵巣摘出により亢進した歯の移動が，卵巣摘出を行わず歯の実験的移動を行ったラットの程度まで，減少することが明らかとなった．また，歯槽骨の代謝に及ぼす影響を骨形態計測で検討したところ，卵巣摘出と歯の実験的移動により亢進した歯槽骨の代謝は，エストロゲンの局所投与で，同様に，卵巣摘出を行わず歯の実験的移動を行ったラットの程度まで減少することが明らかとなった

.

3）週齢の異なる卵巣摘出および卵巣摘出を行わなかったラットに歯の実験的移動を行い，歯の移動量について検討したところ，加齢に伴い，歯の移動が抑制された．また歯槽骨の代謝に及ぼす影響を骨形態計測で検討したところ，加齢に伴い歯槽骨の代謝回転が減少

することが示された．

謝辞

稿を終えるにあたり，終始ご懇篤なるご指導とご校閲を賜りました大阪大学歯学部矯正学講座作田　守教授に対して深謝の意を表すとともに，本研究の遂行に際し，ひとかたならぬご指導を賜りました大阪大学歯学部附属病院矯正科山本照子講師に心から感謝いたします．最後に，本研究に対してご協力下さった大阪大学歯学部歯科矯正学講座教室員諸兄に厚くお礼申し上げます．

Experimental Tooth Movement in Ovariectomized Rats.

Takashi YAMASHIRO

Department of Orthodontics

Osaka University Faculty of Dentistry

(Chief : Prof. Mamoru Sakuda)

Key words : tooth movement, ovariectomy, histomorphometry, 17β-Estradiol

The purpose of this study was to investigate the effect of ovariectomy, estrogen replacement and age on the rate of orthodontic tooth movement and on the remodeling of alveolar bone during experimental tooth movement in the rats. One hundred fifteen female Sprague Dawley rats were ovariectomized (OVX) or sham-operated, and the maxillary first molars were moved buccally 14 or 150 days later (14-day rats, 150-day rats). In 14-day rats receiving OVX, 17β-Estradiol(E_2) was injected locally into the first molars regions . Maxillary alveolar bone remodeling were assessed by histomorphometric analysis.

In 14 day-rats and 150-day rats, ovariectomy increased the rate of orthodontic tooth movement, However, the replacement of estrogen decreased this elevated rate of tooth movement to that of sham operated rats. The amount of tooth movement in 14-day-rats was significantly greater than that in 150-day-rats. During tooth movement, increases in osteoblast surface, osteoclast number, osteoclast surface and mineral appositional rate were observed in both groups of 14 day-OVX rats and 150 day-OVX rats . E_2 replacement decreased osteoclast number ,osteoclast surface and mineral appositional rate, which were elevated by ovariectomy, to the levels of sham operated rats. Alveolar bone remodeling in 150-day rats was faster than that in 14-day rats irrespective of OVX. These findings suggest that ovariectomy increases, on the contrary, the replacement of estrogen decreases the rate of orthodontic tooth movement and the turnover of alveolar bone during tooth movement, and that 14-day-rats with more rapid tooth movement showed higher turnover in alveolar bone, compared to that of 150-day-rats.

参考文献

1) Cosensus Development Conference (1993): Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis., Hong Kong.

2) Riggs, B. L. and Melton, L. J. I. (1986): Involutional osteoporosis. *New Engl. J. Med.*, 3 1 4, 1676-1686.

3) Frost, M. (1969): Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling. *Calcif. Tissue Res.*, 3, 211-237.

4) Parfitt, A. M. (1984): The cellular basis of bone remodeling: the quantum concept reexamined in light of recent advances in the cell biology of bone. *Calcif. Tissue Int.*,3 6,,37-45,

5) 高橋栄明 (1983)：骨の組織学的形態計測パラメーター；骨形態計測ハンドブック（高橋栄明編），１版，西村書店，新潟，71-79，昭和58年

6) 高橋　学，川口哲郎，中島早苗，浅野安生，龍口基雄 (1979)： 石灰化組織の多色ラベリングのためのラベリング剤と投与方法について.歯学，67，53-66，昭和54年.

7) Kushida, T., Nagato, Y., Kushida, H. (1981): New method of embedding with GMA, Quetol-523 and methyl methacrylate for light and electoron microscopic observation of semi-thin sections. *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, 5 8 (1), 55-68.

8) 井上旬二 (1983)：薬剤効果判定に用いられる組織学的骨形態計測のパラメーター；骨形態計測ハンドブック（高橋栄明編），１版，西村書店，新潟，71-79，昭和58年

9) Waldo, C. M. and Rothblatt, J. M. (1940): Histologic response to tooth movement in the laboratory rat. Procedure and preliminary observation. *J. Dent. Res.*, 3 3, 481-486.

10) Burstone, C. J., Qin, B. and Morton, J. Y. (1985): Chinese NiTi wire: a new orthodontic alloy. *Am. J. Orhtod. Dentofacial Orthop.*, 8 7, 445-452.

11) Reitan, K. and Kvam, E. (1971): Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. *Angle Orthod.*, 41, 1-14.

12) 川上正良(1990)： 歯の実験的移動に及ぼす活性型ビタミンD_3(1,25$(OH)_2D_3$) 局所投与の影響，阪大歯誌，3 5 (1) :128-146,平成2年.

13) 山内恵美(1983)： ラットの歯の移動における週齢差の影響について，日大口腔

科学誌，9,317-332,昭和58年.
14) 井上旬二(1983)：薬剤効果判定に用いられる組織学的骨形態計測のパラメーター；骨形態計測ハンドブック（高橋栄明編），1版，西村書店，新潟，71-79，昭和58年.
15) Wronski, T. J., Cintron, M. and Dann,L. M. (1988): Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue Int.*, 43, 179-183.
16) Wronski, T. J., Schenck,P. A., Cintron, M. and Walsh, C. C. (1987): Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue Int.*, 40, 155-159.
17) Wronski, T. J., Lowry, P. L. , Walsh, C. C. and Ignaszewski, L. A. (1985): Skeletal alterations in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue Int.*, **37**, 324-328.
18) Wronski, T. J., Walsh, C. C. and Ignaszewski, L. A. (1986): Histologic evidence for osteopenia and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Bone*,**7**, 119-123.
19) Albright, F., Smith, P. H. and Richardson, A. M. (1941): Postomenopausal osteoporosis: its clinical features. *J. Amer. Med. Ass.*, 116, 2465-2474.
20) Lufkin, E. G. and Ory, S. J. (1989): Estrogen replacement therapy for the prevention of osteoporosis. *A. F. P.*,40(3), 205-212.
21) Wronski, T. J., Cintron, M., Doherty, A. L. and Dann, L. M. (1988): Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 123, 681-686.
22) Turner, R. T., Vandersteenhoven, J. J. and Bell, N. H. (1987): The effects of ovariectomy and 17 beta-estradiol on cortical bone histomorphometry in growing rats. *J. Bone Miner. Res.*, 2, 115-122.
23) Ernst, M., Heath, J. K., and Rodan, G. A. (1989): Estradiol effects on proliferation, messenger ribonucleic acid for collagen and insulin-like growth factor-1 , and parathyroid hormone stimulated adenylate cyclase activity in osteoblastic cells from calvariae and long bones. *Endocrinology*, 125, 825-833.
24) Pacifici, R., Brown, C., Puscheck, E., Friedrich, E., Slatopolsky, E., Maggio, D., McCracken, R. and Avioli, L. V. (1991): Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 5134-5138.

25) Girasole, G., Jilka, R. L., Passeri, G., Boswell, S., Boder, G., Williams, D. C. and Manolagas, S. C. (1992): 17-β estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblast in vitro: Potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. *J. Clin. Invest.*, 8 9, 883-891.

26) Jilka, R. L., Hangoc, G., Girasole, G., Passeri, G., Williams. D. C., Abrams, J. S.,Boyce, B., Broxmeyer, H. and Manolagas, S.C. (1992): Increased osteoclast development after estrogen loss-mediation by interleukin-6. *Science*, 2 5 7, 88-91.

27) Girasole, G., Passeri, G. Knuston, S., Jilka, R. and Manolagas, S. C. (1993) A distinct and heirarchically central role of interleukin-11 among other cytokines in osteoclast development. *J. Bone Mineral. Res.*, 8 (Suppl 1), S117 (4A).

28) Eriksen, E. F., Colvard, D. S., Berg, N. J., Graham, M. L.,Mann, K. G.,Spelsberg, T. C. and Rigg. B. L. (1988): Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science*, 2 4 1, 84-86

29) Komm, B. S., Terpening, C. M., Benz, D. J., Graeme, K. A., Gallegos, A., Korc, M. , Greene, G. L., O'Malley, B. W. and Haussler, M. R. (1988): Estrogen binding, receptor mRNA, and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science*, 2 4 1, 81-84.

30) Gray, T. K., Flynn, T. C. , Gray, K. M. and Nabell, L. M. (1987): 17-β estradiol acts directly on the clonal osteoblast cell line UMR 106. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 8 4, 6267-6271.

31) Ernst, M., Schmid, C. H. , Froesch, E. R. (1988): Enhanced osteoblast proliferation and collagen gene expression by estradiol. *Proc. Natl. Acad. USA*, 8 5, 2307-2310.

32) Gray, T. K., Mohan, S. , Linkhard, T. A. and Baylink, D. (1989): Estradiol stimulate in vitro the secretion of insulin-like growth factors by the clonal osteoblastic cell line UMR 106. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1 5 8, 407-412.

33) Oursler, M. J., Cortese, C., Keeting, P., Anderson, M. A., Bonde, S. K.,Riggs, B. L. and Spelsberg, T. C. (1991): Modulation of transforming growth factor-beta production in normal human osteoblast-like cells by 17 beta-estradiol and parathyroid hormone. *Endocrinology*, 1 2 9, 3313-3320.

34) Takano-Yamamoto T., and Rodan G. A. (1990): Direct effects of 17 beta-

estradiol on trabecular bone in ovariectomized rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 8 7, 2172-2176.

35) Chow,J., Tobias, J. H., Colston, K. W. and Chambers T. J. (1992): Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only by suppression of bone resorption but also by stimulation of bone formation. *J. Clin. Invest.,* 8 9, 74-78.

36) Storey, E. (1973): The nature of tooth movement. *Am. J. Orthod.*, 6 3, 292-314.

37) King, G. J., Keeling, S. D. and Wronski, T. J. (1991): Histomorphometric study of alveolar bone turnover during orthodontic tooth movement. *Bone*, 1 2, 401-409.

38) Keeling, S. D., King, G. J., McCoy, E. A. and Valdez, M. (1993): Serum and alveolar bone phosphatase changes reflect bone turnover during orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 1 0 3, 320-326.

39)Storey, E.,(1955): Bone changes associated wiht tooth movement: a histological study of the effect of age and sex in the rabbit and guinea pig. *Aust J. Dent.*, 59, 220-224.

40) Midget, R. J.,Shaye, R. and Fruge, J. F. (1981): The effcet of altered bone metabolism on orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 8 0, 256-262.

41) Collins, M. K. and Sinclair, P. M. (1988): The local use of vitamin D to inceased the rate of orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 278-284.

42) Takano-Yamamoto, T., Kawakami, M.,Yamashiro, T. (1992) : Effect of age on the rate of tooth movement in combination with local use of 1,25(OH)$_2$D$_3$ and mechanical force in the rat. *J. Dent. Res.*, 71(8), 1487-1492.

43) Bridges, T., King, G. and Mohammed, A. (1988): The effect of age on tooth movement and mineral density in the alveolar tissues of the rat. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 93, 245-250.

表題脚注

大阪大学歯学部歯科矯正学講座（主任：作田　守教授）

本論文の要旨の一部は，第51回日本矯正歯科学会大会（平成4年10月，大宮），第52回日本矯正歯科学会大会（平成5年10月，鹿児島），第53回日本矯正歯科学会大会（平成6年10月，郡山），72nd General Session and Exhibition of the International Association for Dental Research (March, 1994, Seattle)において発表した。

図・表の説明

図１　歯の移動期間とラベリング注射のスケジュール

OVXあるいはSham手術後14日後より歯の移動を開始した群（14日群）では歯の移動開始11日目にカルセイン，16日目にテトラサイクリンを投与した。

OVXあるいはSham手術後150日後より歯の移動を開始した群（150日群）では歯の移動開始16日目にカルセイン，22日目にテトラサイクリンを投与した。

図２　歯の実験的移動方法および口腔内写真

矢印の方向に両側の上顎第一臼歯にそれぞれ10gの初期荷重を加えた。

図３　歯槽骨の観察，および骨形態計測部位

A: 上顎臼歯頬側中央根と舌側近心根間の歯槽中隔に生じる圧迫側

B: 上顎臼歯頬側中央根と舌側近心根間の歯槽中隔に生じる牽引側

矢印は約10gの荷重を示す。

骨形態計測は，690μm×460μmの計測域にて行った。

図4　歯の移動に伴う体重の経日的変化

A成長ラット（14日群）の体重の変化

—□—□—　14日Sham+T.M.群

-●--●-　14日OVX+T.M.群

··■····■··　14日OVX+E_2+T.M.群

B 成熟ラット（150日群）の体重の変化

—□—□—　150日Sham+T.M.群

-●--●-　150日OVX+T.M.群

図中の各群の値は平均値±標準偏差である。

*：群間に有意差があることを示す

(P<0.05)。

図５　上顎両側第一臼歯の移動距離の経日的変化

A成長ラット（14日群）の歯の移動

—□—□—　14日Sham+T.M.群

-●--●-　14日OVX+T.M.群

··■····■··　14日OVX+E_2+T.M.群

B 成熟ラット（150日群）の歯の移動

—□—□—　150日Sham+T.M.群

-●--●-　150日OVX+T.M.群

図中の各群の値は平均値±標準偏差である。

各群間の有意差は *: P<0.05，**: P<0.01，***: P<0.001で示す.

図６　成長ラットの牽引側における蛍光顕微鏡写真（拡大像）

A: 14日Sham群

B: 14日OVX群

C: 14日Sham+T.M.群

D: 14日OVX+T.M.群

E: 14日OVX+E_2+T.M.群

図中＊はカルセイン，★はテトラサイクリン

のラベリングを示す。

（　—は100μmを示す。）

図7　成熟ラットの牽引側における蛍光顕微

鏡写真（拡大像）

A: 150日Sham群

B: 150日OVX群

C: 150日Sham+T.M.群

D: 150日OVX+T.M.群

図中＊はカルセイン，★はテトラサイクリン

のラベリングを示す。

（　—は100μmを示す。）

図8　成長ラットの図3の圧迫側(A)における組織

所見（拡大像）

A: 14日Sham群

B: 14日OVX群

C: 14日Sham+T.M.群

D: 14日OVX+T.M.群

E: 14日OVX+E_2+T.M.群

図中，矢印は破骨細胞，▲は骨芽細胞をしめす

.

（H.E.染色，一は50μmを示す。）

図９　成長ラットの図3の牽引側(B)におけ

る組織所見（拡大像）

A: 14日Sham群

B: 14日OVX群

C: 14日Sham+T.M.群

D: 14日OVX+T.M.群

E: 14日OVX+E_2+T.M.群

図中，矢印は破骨細胞，▲は骨芽細胞をしめす

.

（H.E.染色，ーは50μmを示す。）

図１０　成熟ラットの図3の圧迫側(A)における組織所見（拡大像）

A: 150日Sham群

B: 150日OVX群

C: 150日Sham+T.M.群

D: 150日OVX+T.M.群

図中，矢印は破骨細胞，▲は骨芽細胞をしめす

.

（H.E.染色，ーは50μmを示す。）

図１１　成熟ラットの図3の牽引側(B)における組織所見（拡大像）

A: 150日Sham群

B: 150日OVX群

C: 150日Sham+T.M.群

D: 150日OVX+T.M.群

図中，矢印は破骨細胞，▲は骨芽細胞をしめす

.

（H.E.染色，―は50μmを示す。）

表1　卵管重量の比較

実験終了後，卵管を取り出し重量の比較を行った。

表中の値は平均±標準偏差をしめす。

群間の有意差は***： P<0.001で示す。

表2　成長ラットの圧迫側における骨形態計測

数値は平均±標準偏差，n数：各群により異なるが8～16である.

各群間の有意差は *: P<0.05，**: P<0.01，***: P<0.001で示す.

表３　成長ラットの牽引側における骨形態計測

数値は平均±標準偏差，ｎ数：各群により異なるが８～16である．

各群間の有意差は *: P<0.05，**: P<0.01，***: P<0.001で示す．

表４　成熟ラットの圧迫側における骨形態計測

数値は平均±標準偏差，ｎ数：各群により異なるが８～13である．

各群間の有意差は *: P<0.05，**: P<0.01，***: P<0.001で示す．

表5　成熟ラットの牽引側における骨形態計測

数値は平均±標準偏差，ｎ数：各群により異なるが８～13である．

各群間の有意差は *: P<0.05，**: P<0.01，***: P<0.001で示す．

表6　大腿骨の骨形態計測

数値は平均±標準偏差，n数：各群により異なるが2～4である．

各群間の有意差は *: P<0.05，**: P<0.01，***: P<0.001で示す．

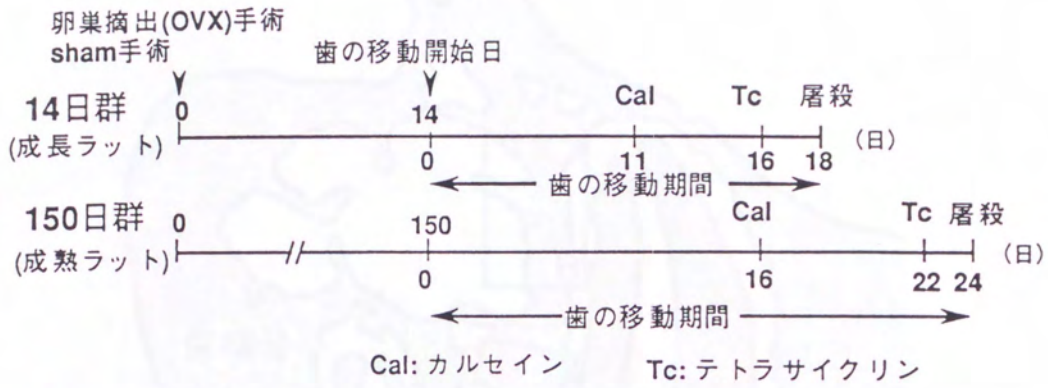

卵巣摘出(OVX)手術
sham手術
歯の移動開始日
14日群
(成長ラット)
0
14
Cal
Tc
屠殺
(日)
0
11
16
18
歯の移動期間
150日群
(成熟ラット)
0
150
Cal
Tc
屠殺
(日)
0
16
22
24
歯の移動期間
Cal: カルセイン
Tc: テトラサイクリン

図 1

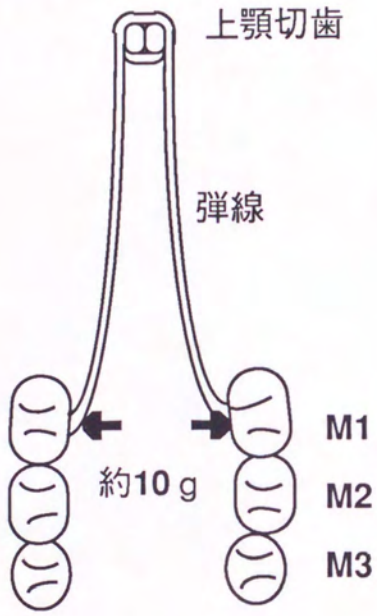


図 2

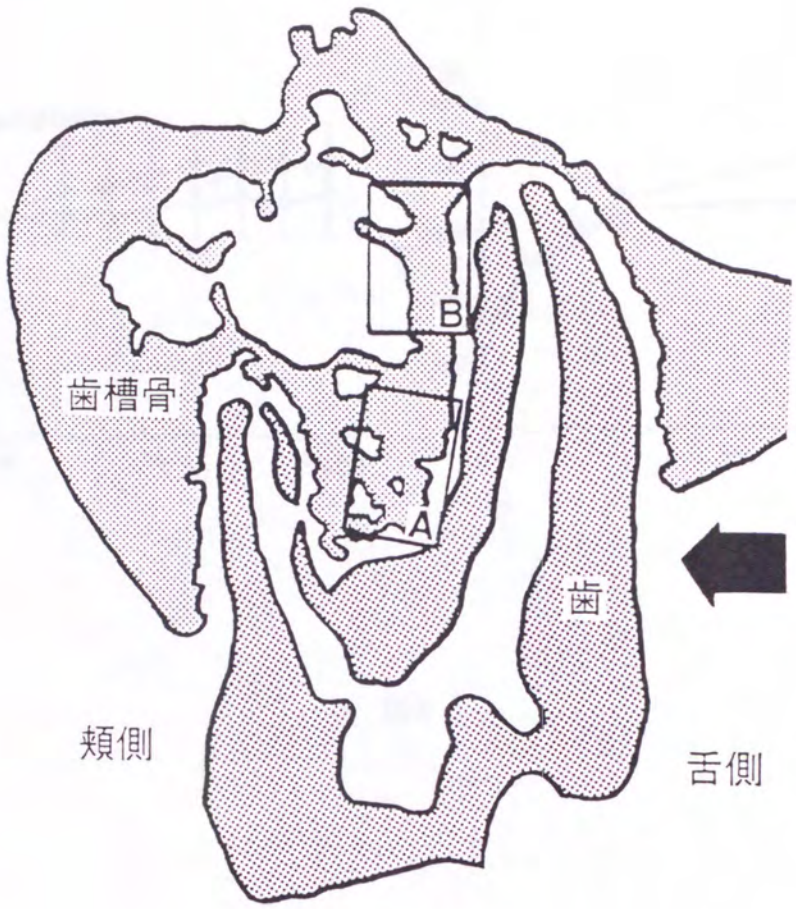


図3

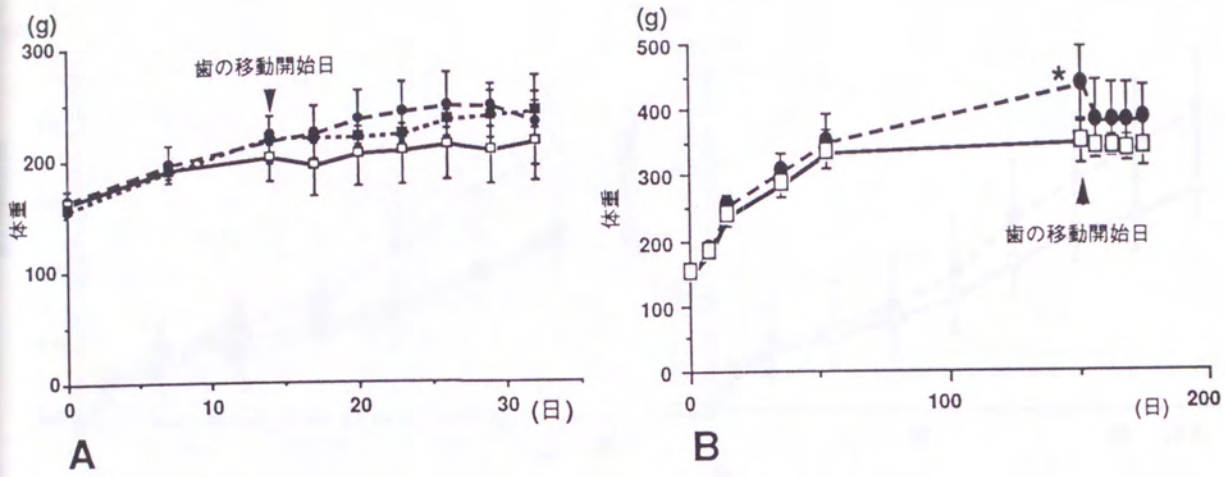

(g)
300
200
100
0
体重
歯の移動開始日
0
10
20
30
(日)
A
(g)
500
400
300
200
100
0
体重
*
歯の移動開始日
0
100
200
(日)
B

図4

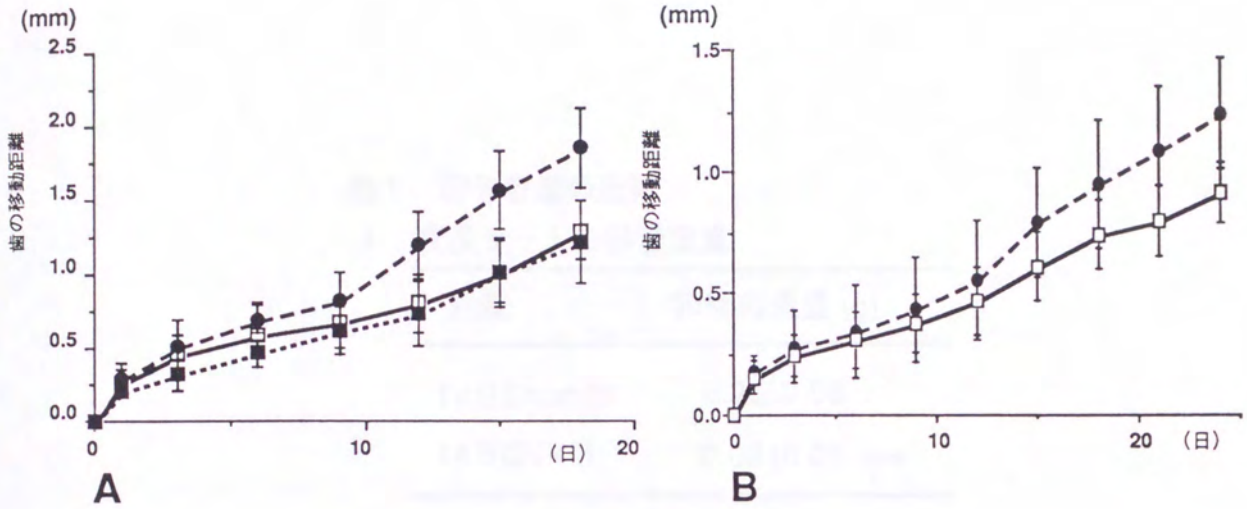

(mm)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
歯の移動距離
0
10
20
(日)
A
(mm)
1.5
1.0
0.5
0.0
歯の移動距離
0
10
20
(日)
B

図5

表1　卵管重量の比較

1　成長ラットの卵管重量

処置	卵管の重量 (g)
14日Sham群	0.25±0.06
14日OVX群	0.08±0.01 ***

2　成熟ラットの卵管重量

処置	卵管の重量 (g)
150日Sham群	1.11±0.21
150日OVX群	0.13±0.05 ***

表2　成長ラットの圧迫側における骨形態計測

処置	分画活性形成面 Ob.S / BS (%)	分画活性吸収面 Oc.S / BS (%)	平均破骨細胞数 N.Oc / BS (個/mm)
14日Sham 群	5.46±1.81	0.99±0.99	0.25±0.29
14日OVX 群	9.20±3.02	3.63±0.98	0.75±0.17
14日Sham+T.M. 群	14.61±4.49	3.00±1.25	0.56±0.26
14日OVX+T.M. 群	19.87±4.34	6.15±3.50	1.41±0.70
14日OVX+E_2+T.M.群	15.71±3.41	3.31±1.59	0.51±0.32

表3　成長ラットの牽引側における骨形態計測

処置	分画活性形成面 Ob.S / BS (%)	分画活性吸収面 Oc.S / BS (%)	平均破骨細胞数 N.Oc / BS(個/mm)	石灰化速度 MAR (μm/日)
14日Sham 群	4.45±2.29	2.73±1.44	0.30±0.26	1.30±1.45
14日OVX 群	11.34±5.93	3.31±1.02	0.68±0.19	4.52±1.14
14日Sham+T.M. 群	15.91±6.98	3.29±2.50	0.47±0.36	10.24±6.14
14日OVX+T.M. 群	18.34±8.92	6.01±2.96	0.95±0.53	18.15±3.31
14日OVX+E_2+T.M.群	19.34±6.66	3.72±1.50	0.64±0.32	11.59±4.02

表4　成熟ラットの圧迫側における骨形態計測

処置	分画活性形成面 Ob.S / BS (%)	分画活性吸収面 Oc.S / BS (%)	平均破骨細胞数 N.Oc / BS (個/mm)
150日Sham 群	1.27±1.19	1.45±0.80	0.17±0.19
150日OVX 群	6.56±2.44	2.05±0.87	0.34±0.28
150日Sham+T.M. 群	8.31±4.31	3.68±3.36	0.60±0.52
150日OVX+T.M. 群	12.60±6.57	5.34±3.93	0.82±0.49

表5　成熟ラットの牽引側における骨形態計測

処置	分画活性形成面 Ob.S / BS (%)	分画活性吸収面 Oc.S / BS (%)	平均破骨細胞数 N.Oc / BS(個/mm)	石灰化速度 MAR (μm/日)
150日Sham 群	1.70±1.29	1.06±0.97	0.13±0.18	0.43±0.26
150日OVX 群	2.66±2.31	3.06±2.57 *	0.20±0.44	1.40±0.39
150日Sham+T.M. 群	9.85±5.05 **	2.50±1.37	0.44±0.29	3.52±0.70 ** *
150日OVX+T.M. 群	13.44±7.92 *** ***	4.57±2.10 *** *	0.77±0.43 *** * *	5.88±2.77 *** * ***

表6　大腿骨の骨形態計測

処置	分画活性形成面 Ob.S / BS (%)	分画活性吸収面 Oc.S /BS (%)	平均破骨細胞数 N.Oc /BS (個/mm)
14日Sham 群	3.44±2.26	6.50±2.10	0.70±0.32
14日OVX 群	12.62±2.08	12.21±0.66	1.62±0.15
14日OVX+E2 群	11.62±2.05	12.19±1.66	1.46±0.14
150日Sham 群	1.82±0.33	1.65±0.39	0.12±0.06
150日OVX 群	5.77±1.98	7.55±1.03	0.77±0.04

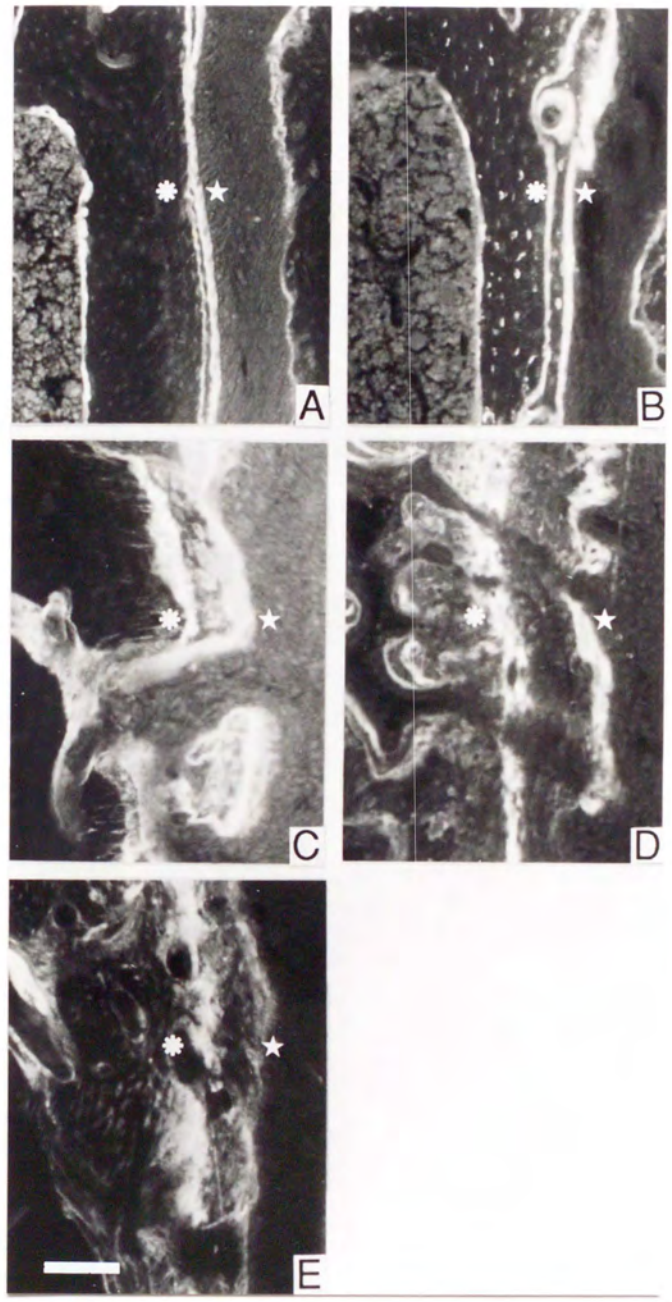


図 6

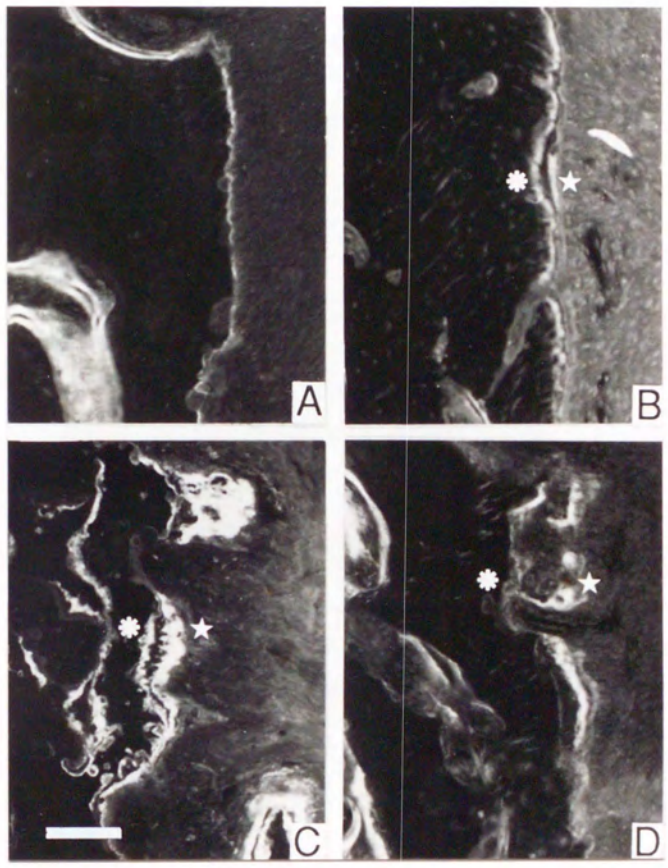


図 7

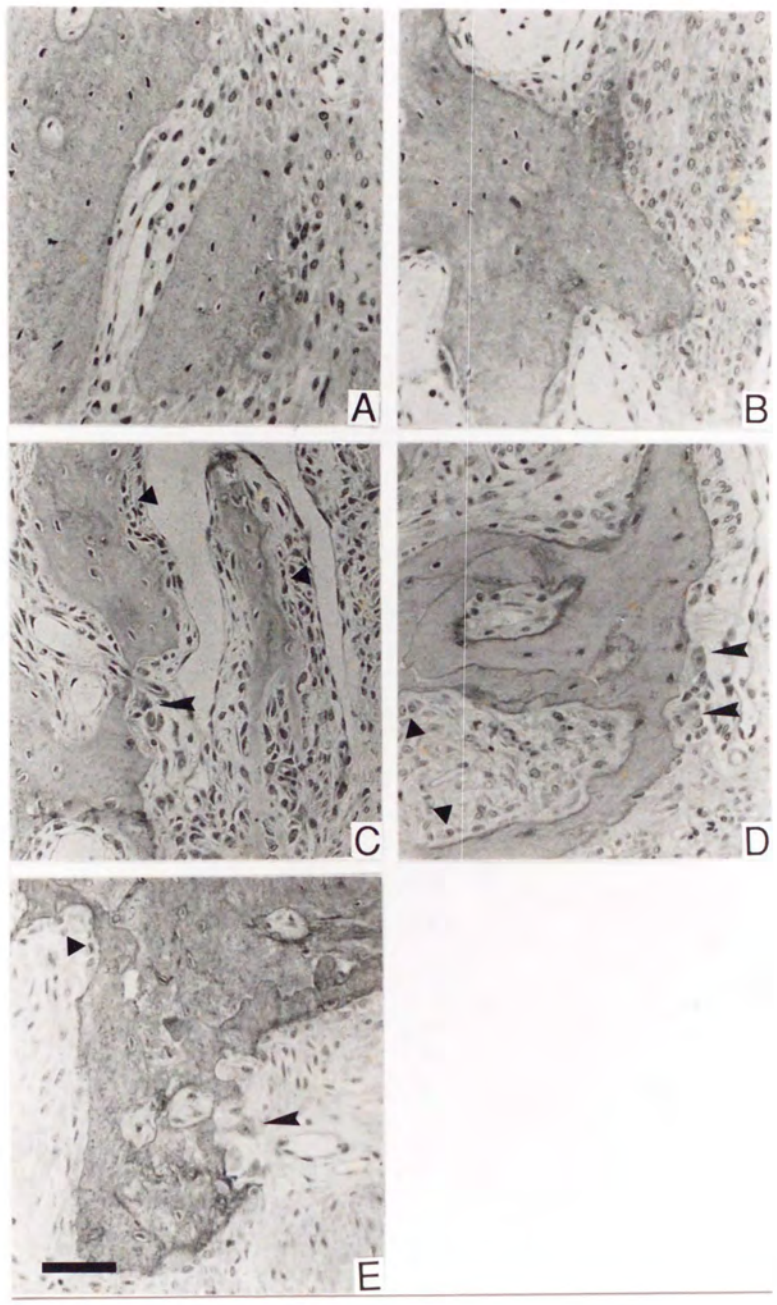


図 8

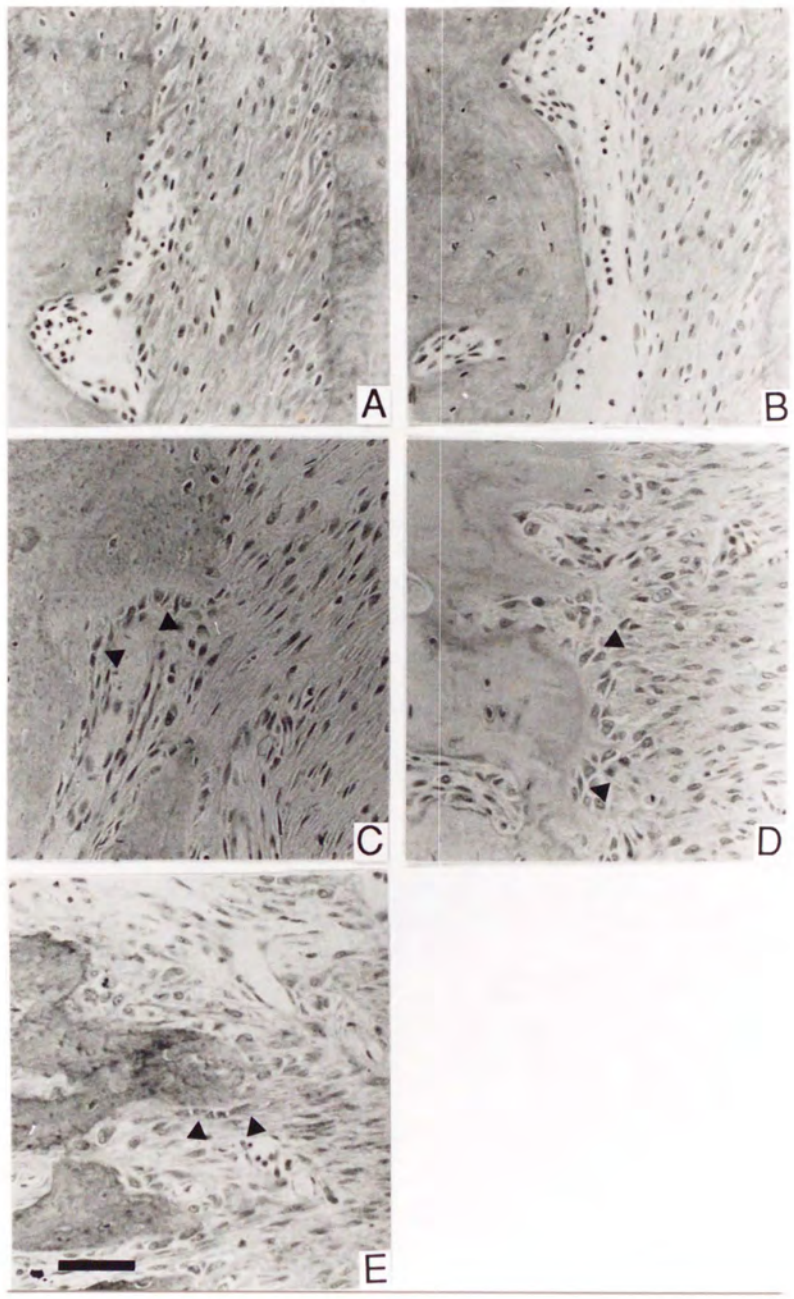


図 9

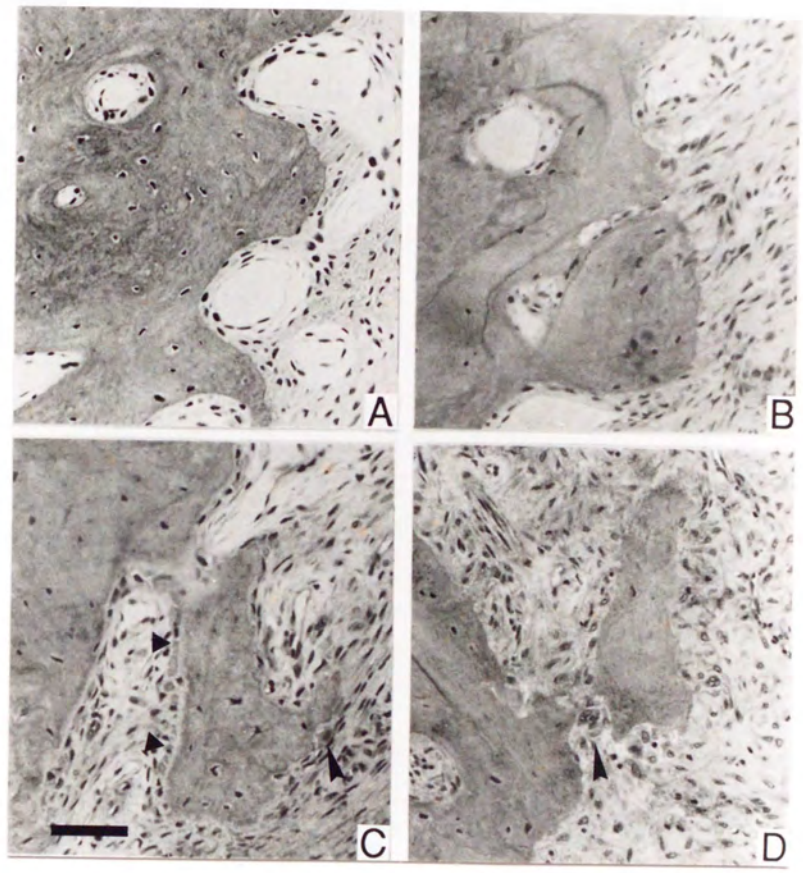


図１０

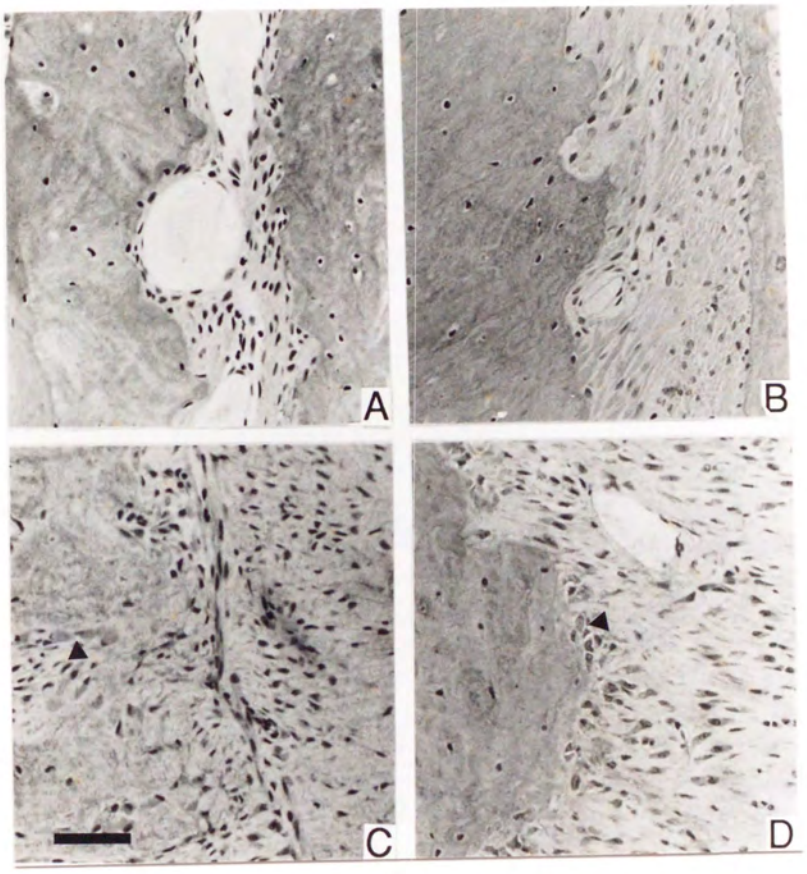
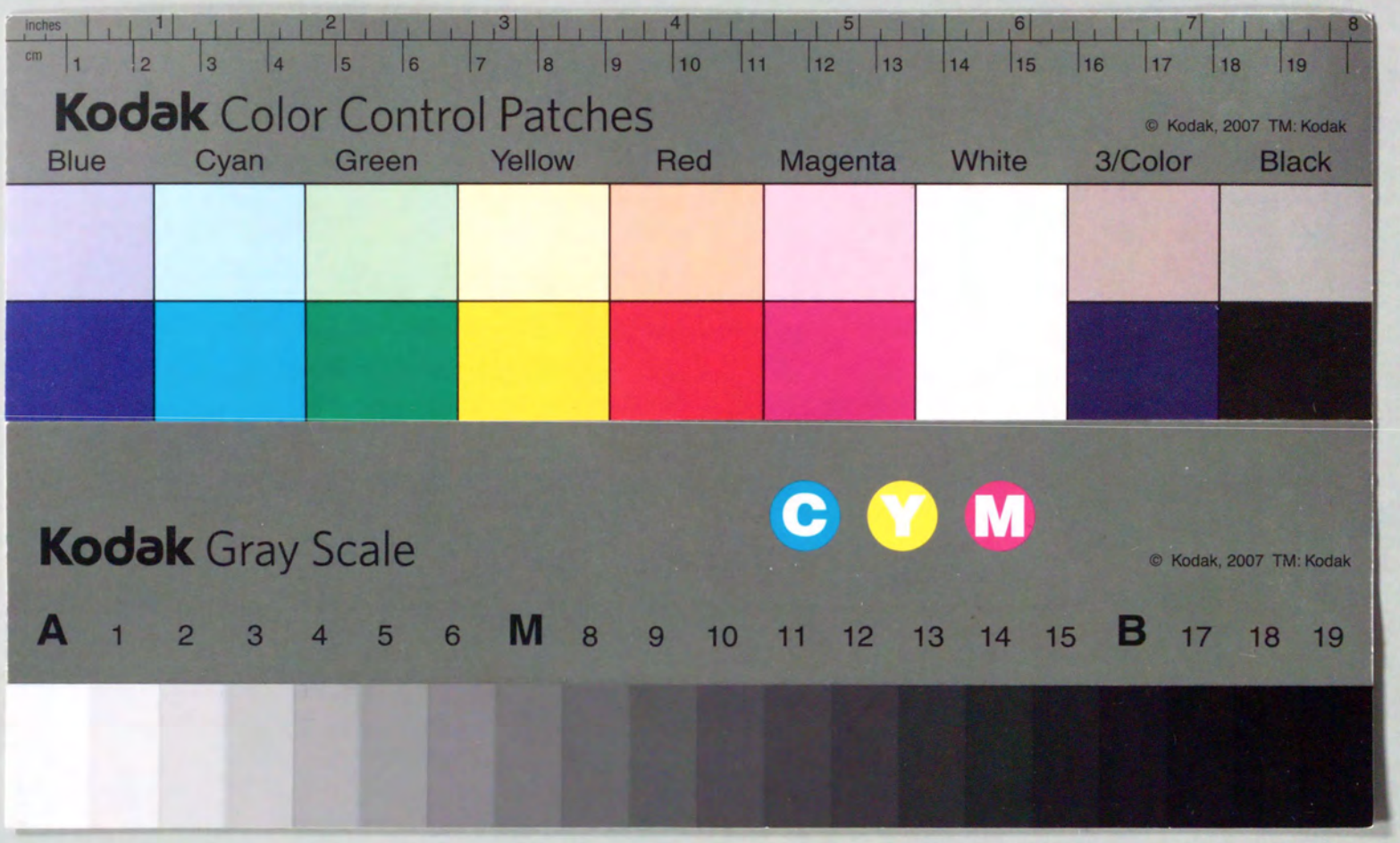


図１１


inches
cm
Kodak Color Control Patches
© Kodak, 2007 TM: Kodak
Blue
Cyan
Green
Yellow
Red
Magenta
White
3/Color
Black
Kodak Gray Scale
C
Y
M
© Kodak, 2007 TM: Kodak
A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19