

〔原 著〕

塩化第一錫投与によるラット顎骨骨折治癒過程の変化
—放射線学的観察を中心に—

後藤 邦彦

東日本学園歯学部歯科放射線学講座

(指導 金子 昌幸教授)

Healing Process of Bone Fractures in Rats with
Adminisration of Inoraganic Tin Chloride

Kunihiko GOTO

Department of Dental Radiology
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY

(Director: Prof. Masayuki KANEKO)

Abstract

The healing processes of mandibular fractures in rats with intraperitoneal administration of inorganic tin chloride solution was examined by ^{99m}Tc scintigraphy, microradiography, X-ray radiography, and histological examinations.

Seventy-five Wistar rats, aged 8 weeks and weighing about 200 g at the start of the experiment, were used. The rats were separated into three groups: group I (32 rats), mandibular fractured, and administered inorganic tin chloride solution, group II (32 rats), mandibular fracture only: group III (3 rats), untreated. Rats in group I received an intraperitoneal injection of inorganic tin chloride solution every three days before sacrifice. The observations took place 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42, and 49 days after the start of the experiment.

The bone scitigrams obtained from the rat mandibles with fractures showed well defined uptake of ^{99m}Tc , corresponding to the fractured lesions. The X-ray radiograms and microradiograms clearly showed the healing process of the bone fractures in detail. The histological findings supported these results. The healing processes of bone fractures in group I, fractures with administration of inorganic tin chloride solution, was slower than that of rats in group II,

本論文の要旨の一部は第31回日本歯科放射線学会総会 (1990年10月, 徳島) において発表した。
受付: 平成5年3月31日

fractures only.

In conclusion, the healing process of bone fractures was disturbed by the administration of inorganic tin chloride solution and this was also confirmed by the radiological and the histological observation.

Key words : mandibular fractures, microradiography, inorganic tin chloride, ^{99m}Tc bone scintigraphy.

I. 緒 言

Subramanianら¹⁾がTc-99m標識リン酸化合物による骨シンチグラフィを報告して以来、約4半世紀が経過した。この間多くのTc-99m標識リン酸化合物が開発され、骨シンチグラフィは骨疾患の診断や経過観察に欠くことのできない検査法として定着した。しかし、歯学領域での骨シンチグラフィの利用は、ほとんどが臨床分野への利用に限られているのが現状である²⁾³⁾。骨疾患の診断の基礎をなす動物実験、特にラットなどの小動物に骨シンチグラフィを利用した報告はほとんどない。その理由として、小動物に利用が可能なガンマカメラやシンチレーションスキヤナの開発がなされていかなかったためである。近年になり、金子ら⁴⁾⁵⁾、高野ら⁷⁾は、人体用ピンホールコリメータに簡単な改良を加えることで、ラットなどの小動物の頭頸部における骨シンチグラフィが可能となり、骨疾患の診断や骨折治癒過程の観察に充分に応用が可能であると報告した。さらに、金子ら⁸⁾は、同じ装置を用いることにより、ラット顎骨の骨折治癒過程に骨シンチグラフィによる経時的観察が可能なることを実証した。しかし、骨の代謝異常の発現した状態と、発現しない状態での差異を識別できるか否かについての報告はなされていない。

塩化第一錫が比較的短期間で硬組織障害などの骨代謝異常を起こすという報告があるが^{11)~16)}、その錫の毒性に関して、宮澤¹⁰⁾、青木

ら¹⁴⁾、和田ら¹⁶⁾が報告しているように、一過性に嘔吐、下痢を起こす原因となりえる程度にしか認識されていない。しかし、錫は広く自然界に存在し、日常の食品などを介してヒトの体内に摂取される機会が多く、また、歯科領域でも合金として用いられており、今日、その毒性を検討する必要があると思われる。錫のヒト体内における位置は、成長に要求される必須微量元素として痕跡量程度しか存在していないものである¹⁷⁾¹⁸⁾。錫の代謝は、特異的に電子授受による酸化還元反応の触媒として作用しうる¹⁸⁾ということ以外は解明されていない。

そこで歯科領域に最も関連のある顎骨を実験部位として、骨疾患で最も発現しやすい骨折を実験方法として選び、ヒトの顎骨骨折の好発部位とほぼ同部位のラット下顎骨骨体部に骨折を作成し、短期間に骨代謝異常を起こさせる手段として塩化第一錫を用い、骨代謝異常を発現させた。骨折治癒過程における骨の改造現象を主として骨シンチグラフィの放射線学的手段を用い、経時的に観察し、小動物における骨シンチグラフィの有用性を検討することを目的とした。また、単純撮影によるX線検査、マイクロラジオグラフィによる放射線学的検査、組織学的検索も同時に行った。

II. 材料ならびに方法

1. 実験動物

実験動物としては、体重200g前後のWistar系7週齢雄性ラット（ホクドー社製）を使用し

た。ラットは、実験開始に先立ち一定条件下の室内で1週間の予備飼育を行ない、8週齢で実験を開始した。用いたラットの数は、塩化第一錫非投与群（以後非投与群と略する）36匹、塩化第一錫投与群（以後投与群と略する）36匹の早計72匹である。両群の中から各々3匹づつを分離し、X線検査と骨シンチグラフィによる経時的観察に供した。残りのラットは、両群ともに観察日に3匹づつを屠殺し、マイクロラジオグラフィと組織学的検索に供した。対照群として、無処置のラット3匹を使用し、これは体重測定のみとした (Fig. 1)。

2. 投与薬物ならびに投与方法

投与薬物は、青木ら¹⁴⁾、和田ら¹⁶⁾と同様に塩化第一錫を用い、水溶液の作成法および投与方法も、青木ら¹⁴⁾、和田ら¹⁶⁾の方法に準じて行なった。すなわち、純水4mlに対し、83.4mgの塩化第一錫〔特級試薬204-01562 {SnCl₂・2H₂O=225.63 96%・溶解度；55.4g/100g (ml)} 和光純薬工業社製〕を溶解し、総量5mlを一単位とした水溶液 [1.668% (W/V)・pH：1.97] を作成した。この水溶液を体重1kgあたり20mgの割合で、すなわち、1kgあたり1mlの割合で、

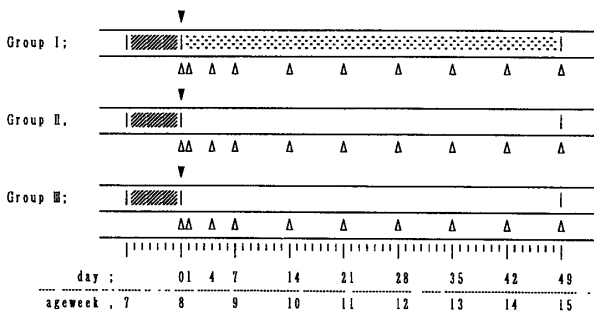


Fig. 1 Group I : admistration of inorganic tin Chloride.
 Group II : no admistration of Inorganic tin chloride. Group III : controls
 ▨ : Inorganic tin chloride Admistered.
 △ : X-ray radiography, weight of rats, bone scintigraphy, and sacrifice.
 ▼ : Fractures.
 ▤ : Period to experinemts for rats.

3日ごと計17回、実験期間49日にわたりラット腹腔内注射にて投与した。

3. 骨折の作成方法

骨折の作成方法としては、エーテル麻酔（エチルエーテル99.5%含有、ナカライテスク社製）下で、ラットの右側下顎骨骨体部に皮膚の外部より紺子にて、非観血的かつ可及的に同一条件の骨折を作成させる方法を行った (Fig. 2, 3)。その後、各観察日まで、オリエンタル固形飼料NMF（オリエンタル酵母社製）と水道水を常時与え、整復処置を施すことなしに自然治癒を期待した。なお、骨折治癒過程の観察は、両群とも、骨折直後、骨折後1日目、4日目、7日目、14日目、21日目、28日目、35日目、42日目、49日目の各時期に行った。

4. 放射線学的観察方法

1) X線検査

X線検査は、非投与群、投与群から各3匹づつのラットを使用し、同一個体を用いて観察日



Fig. 2 Fractures.

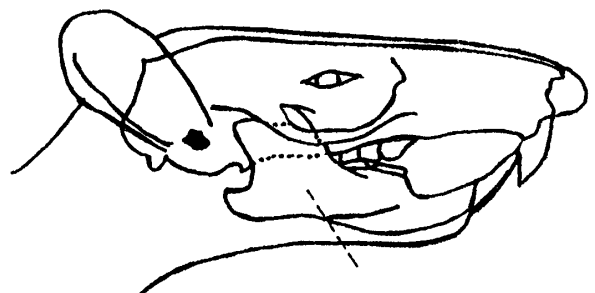


Fig. 3 Fracture.

に行った。撮影はネンプタール（ペントバルビタールナトリウム50mg，大日本製薬社製）による腹腔内麻酔下で，規格化されたX線写真を得るために，自己作成の頭部規格装置（Fig. 4）を使用しラット頭部を固定した。骨折後の各観察日にラット頭部を60°の角度に固定して下顎側斜位方向でエーテル麻酔下にて撮影した（Fig. 5）。撮影条件は，管電圧60kVp，管電流10mA，距離18cm，照射時間0.4秒とした。撮影に使用したX線フィルムは，咬合型サイズのUltraspeed Dental Film（Kodak社製）で，現像処理には，自動現像器P-10型（Siemens社製）を用い，同社の指定に従って行った。

2) 骨シンチグラフィ

骨シンチグラフィは，非投与群，投与群とも

に，X線検査を行ったラットと同一個体を用いて行うこととした。撮像は，ラット頭部規格装置（Fig. 4）を用いて頭部を固定し，ネンプタールによる腹腔内麻酔の後，LFOV型ガンマカメラ（米国Searle社製）と当教室で改良した小動物

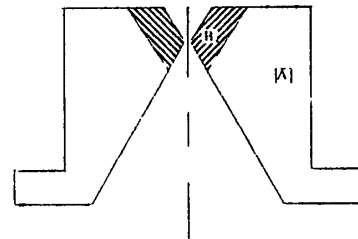


Fig. 6 Diagram of the improved pinhole collimator
A. human pinhole collimator with 8mm aperture
B. improved part of 1.5mm aperture made of lead
(by Takano and co-workers⁷)

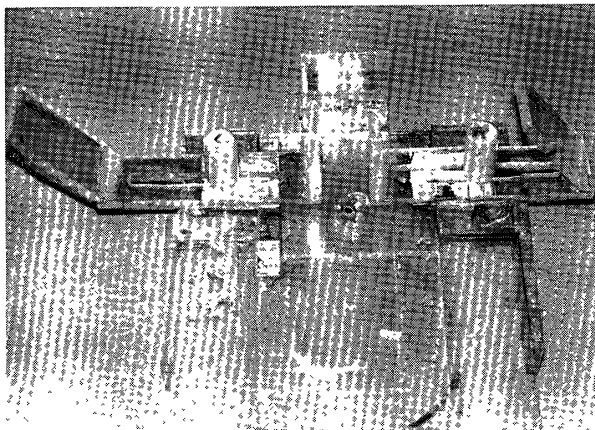


Fig. 4 Original cephalometric radiography apparatus.

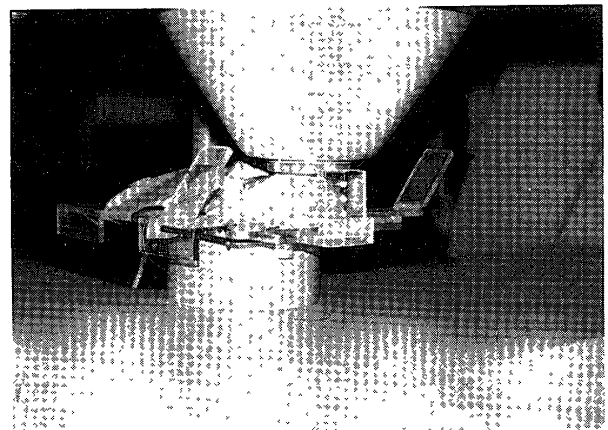


Fig. 7 Scintigraphy

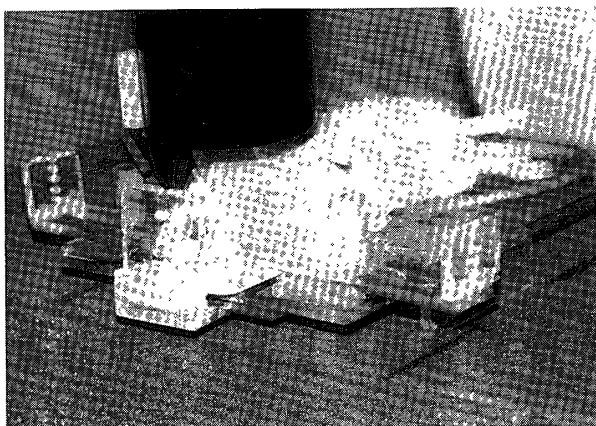


Fig. 5 X-ray radiography

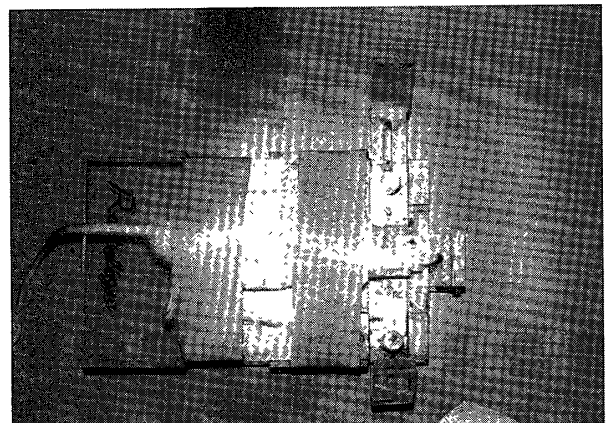


Fig. 8 Fixation of scintigraphy

用ピンホールコリメータ (Fig. 6) を用いて行った⁷⁾。撮像方向は、右側方向からとし、右側頭頸部の全体像を得ることとした (Fig. 7, 8)。用いた放射製医薬品は、Tc-99m標識メチレンジホスホン酸 (第一ラジオアイソトープ研究所製) であり、1匹あたり、370MBqをラットの腹腔内注射にて投与した。撮像時期は、投与後3時間目からとし、撮像条件は金子ら⁴⁾の方法に準じた。すなわち、露出400、撮像カウント50kcounts、距離0 cmの条件で行った。

3) Tc-99m集積量の測定

ラット頭蓋骨および骨折部のTc-99m集積量を経時的かつ定量的に測定し、骨へのTc-99mの集積に与える塩化第一錫投与の影響を検索することとした。測定は、黒化度の測定法を応用し (核医学用X線フィルムの特性曲線を標準曲線として利用)、骨シンチグラムを用いて、視野中のTc-99mによる画素の集積量を一定範囲に対して評価した。計測には、黒化度測定機 (Sakura Densitometer PDA 25) を用いた。評価に際して、フィルムのバックグラウンドが0.23、生理的な最大集積部 (歯牙根尖部、眼窩外の涙腺) が1.5の値を計測し基準とした。計測範囲は非投与群、投与群の各々のラット頭蓋骨の頭頂間骨と後頭骨の縫合相当部 (Fig. 9) と、骨折部 (Fig. 10) において各々15ヶ所ずつ測定し平均値を求めた。非投与群、投与群の各々の部位についてt検定法による検定を行った。

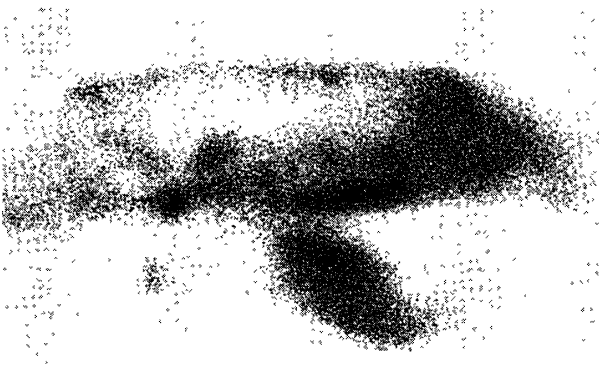


Fig. 9 Rat calvaria uptake.

4) マイクロラジオグラフィ

骨シンチグラフィは別個体のラット用いてマイクロラジオグラフィを行った。両群ともに、骨折後の各観察日ごとに、それぞれ3匹ずつを屠殺し、右側下顎骨を摘出した後に、通法に従ってエポキシ樹脂エポフィックスHQ (Struers社) に包埋した。マイクロラジオグラフィ用試料の作成は、得られたブロックを研磨標本作製装置Speedlap ML 1500DC (Maruto社製) を用いて、約100 μ mまで薄片化し、研磨標本作製した¹⁹⁾。マイクロラジオグラムの作成は超軟X線発生装置 (Softex CMR型ソフテックス社製) を用い、管電圧10kVp、管電流5mA、距離7.5cm、撮影時間15分で行った。フィルムは、High resolution film SO-343 (Kodak社製) を用いた。現像処理条件を一定にするため、液温21°Cで5分間現像後、中間水洗を約30秒行い、液温21°Cで10分間定着し、室温で20~30分水洗を行った。乾燥後ビオライト (応研商事社製) で封入し、検鏡に供した。

5. 組織学的検索

組織学検索は、マイクロラジオグラフィの撮影を終了した試料を用いて組織学的検索を行った。すなわち、マイクロラジオグラフィの終了後、その同一試料をさらに厚さ約50 μ mに研磨し、トルイジンブルー-O [C 152040] (関東化学社製) の1%水溶液にて染色を行い、ビオライト (応研商事社製) で封入し、検鏡に供した。

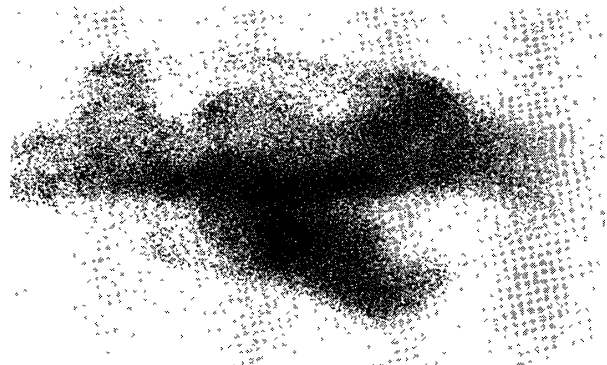


Fig. 10 Rat uptake in bone fractures.

Table. 1 Changes in rat weights.

Group I : administration of inorganic tin chloride, Group II : administration of Inorganic tin chloride, and fractures. Group III : fractures only. Group IV : controls.

\	\ day									
	0	1	4	7	14	21	28	35	42	49
Group\age	\ week									
	8	8 ¹ / ₇	8 ⁴ / ₇	9	10	11	12	13	14	15
I.	256± 3	266± 2	263± 5	273± 3	287± 5	341± 5	359± 5	341± 3	346± 5	412± 3
II.	253± 4	249± 5	246± 4	254± 4	315± 5	312± 4	352± 5	369± 5	341± 5	394± 5
III.	253± 5	251± 3	275± 6	295± 8	305± 6	361± 6	439± 6	481± 5	504± 8	523± 5
IV.	253± 9	270± 7	280± 4	318± 9	348± 9	401± 8	456± 12	492± 8	510± 10	533± 9

III. 実験結果

1. 体重変化所見

各測定日における体重の平均値はTable. 1に示すごとくである。非投与群では、無処理の正常ラットと骨折ラットの間大きな体重差は認められず、ほぼ同様な経時的増加を示した(Fig. 11)。投与群でも、非骨折ラットと骨折ラットの間、著しい体重差を認められず、ほぼ同様の経時的増加を示した。しかし、非骨折ならびに骨折ラットの両者ともに、非投与群と投与群の間には著しい差が認められた。骨折による影響は、投与群では骨折直後より7日間、非投与群でも骨折直後より4日間にわたって、一時的な体重の現象として見られた。しかし、時間の経過とともに体重は両群ともに増加する傾向にあった。

また、投与群ラットの少数例に下痢症状が認められた。

2. 放射線学的観察結果

対照群はFig. 12に示すとおりである。

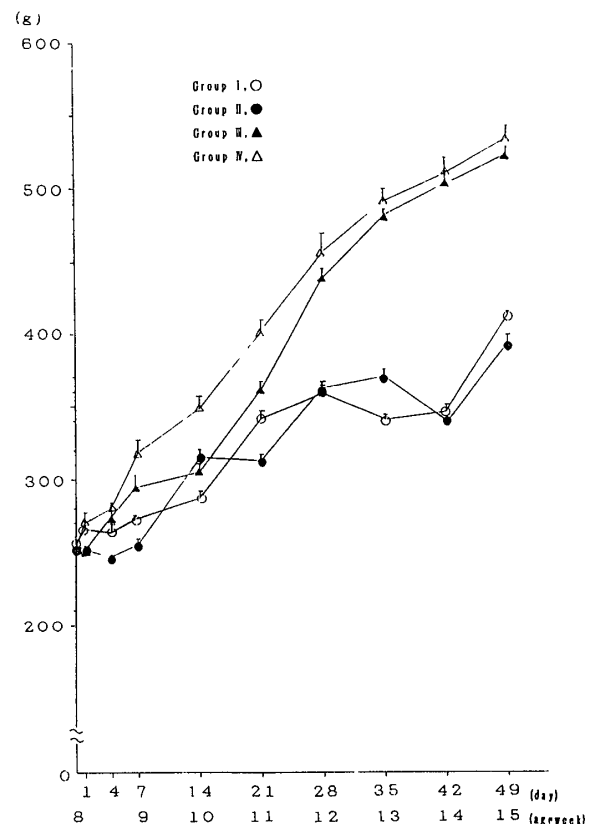


Fig. 11 Changes in rat weights.

Group I : inorganic tin chloride administered. Group II : inorganic tin chloride administered, and fractured. Group III : fracture only. Group IV : control.

1) X線写真所見

①骨折直後～骨折後7日目

骨折直後から1日目までは、両群ともに骨折線は、下顎骨下縁骨皮質と交差した明瞭なX線透過像として認められる。骨折端は不規則かつ鮮鋭であるが、4日目では、両群ともに、骨折線は未だに明瞭なX線透過像を呈し、骨折端も鮮鋭かつ不規則であった(Fig. 13)。7日目では両群ともに、骨折端はやや丸みを帯びているものの、骨折線は未だに明瞭なX線透過像として認められる。しかし、両群ともに、骨折後4日目に比較すれば、わずかであるが、X線不透過性の亢進を認める。

②骨折後14日目～21日目

14日目では、非投与群は、骨折端の鮮鋭性や不規則性は、骨折後7日目に比較して、さらに消退した所見を示す。骨折線内部においても、仮骨形成によるX線不透過性が亢進し、半透過性所見を呈する。投与群も、骨折後7日目に比べれば、骨折端の鮮鋭性や不規則性は弱く、さ

らに丸みを帯びた所見を示す。しかし、同時期の非投与群に比べれば、やや遅れぎみである。骨折線内部におけるX線不透過性も亢進し、半透過性を呈するが、同時期の非投与群に比較して、透過性が未だに強い所見を呈している(Fig. 13)。21日目では、非投与群では、骨折端がより平滑となり、骨折線内部は中等度のX線不透過性を呈する。下顎骨下縁骨皮質の一部は、X線所見のみでも、架橋されていることが明瞭に示されている。投与群の骨折端も、14日目に比べてより平滑となり、骨折線内部はX線不透過性を呈する。しかし、同時期の非投与に比べれば石灰化の程度は低い(Fig. 13)。

③骨折後28日目～35日目

28日目では、非投与群の骨折部は完全に架橋

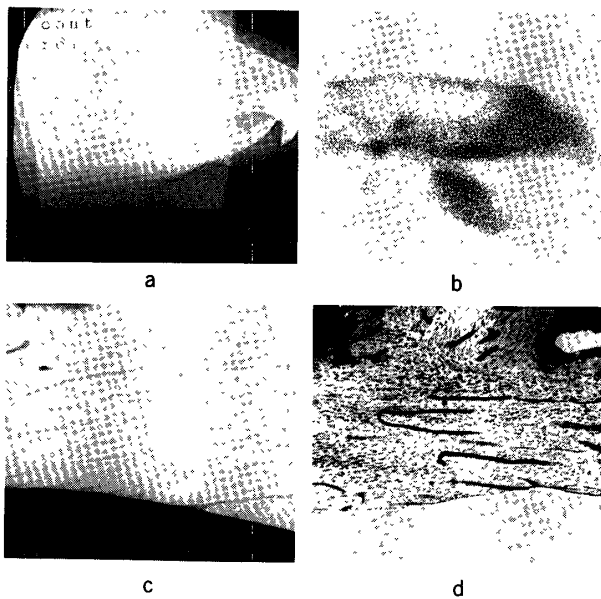


Fig. 12 Life sized X-ray radiogram (a) and bone scintigram (b), microradiogram obtained from the mandibles (c) and histological findings from the mandibles (d).

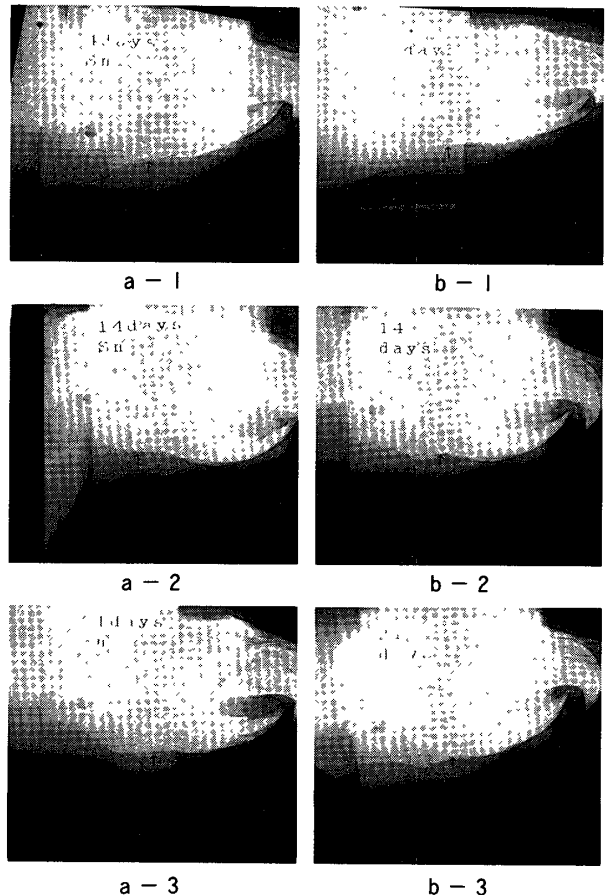


Fig. 13 Life sized X-ray radiograms obtained with (a) and without administration (b) of inorganic tin chloride (a-1, b-1: 4 days after injury, a-2, b-2: 14 days after injury, a-3, b-3: 21 days after injury.)

され、骨折線はほとんど認められない。投与群においても、骨折部は完全に架橋された所見を呈する。X線不透過性は著しく亢進し21日目まで認められた骨折線は、ほとんど認められない。35日目では、非投与群、投与群ともに、骨折部骨皮質は、わずかに弱いX線不透過性を示すが、骨折線内部は、健常骨とほぼ同様の所見を呈している (Fig. 14)。

④骨折後42日目～49日目

42日目では、非投与群、投与群の両群ともに骨折部はほぼ完全に石灰化し、連続した骨皮質部の不透過像として認められる。49日目では、非投与群では、骨皮質部は完全に連続し、無処置のラットと同様の所見を呈する。投与群でも、ほとんど無処置のラットと同様のX線不透過性を呈している (Fig. 14)。

2) 骨シンチグラム所見

①骨折直後～7日目

骨折直後から1日目までは、非投与群、投与群の両群ともに、血管の破綻によるプール像に

よる集積が骨折部と周囲軟組織に認められる。また、集積の程度は両群ともに同等である。4日目で、骨折部周囲軟組織への骨外集積は両群ともに認められなくなった。非投与群では、骨折部の骨皮質部に一致したTc-99mの取り込みが認められる。陽性像の境界は比較的明瞭だが、び慢性である。投与群では非投与群と同様に、骨折部に一致した下顎骨下縁骨皮質部へのTc-99mの取り込みが見られた。しかし、非投与群に比べれば陽性像は、より限局性であった (Fig. 15)。7日目の非投与群では、骨折部へのTc-99mの取り込みが4日目に比較して、さらに強い陽性像として認められる。投与群は、Tc-99mの取り込みが中等度に見られるものの、非投与群に

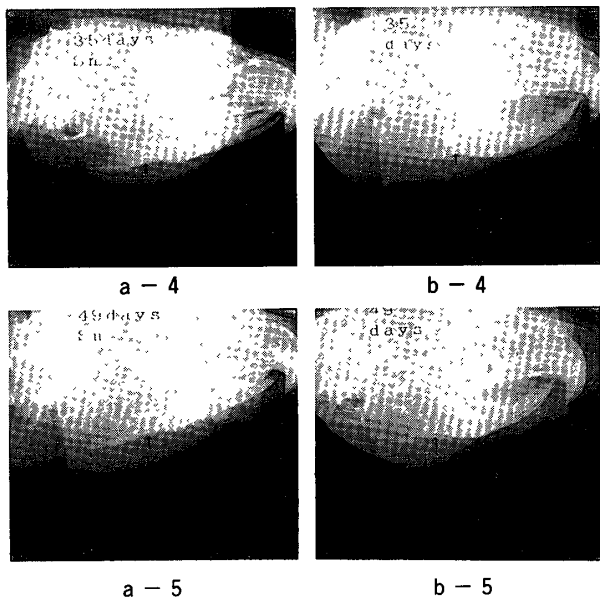


Fig. 14 Life sized X-ray radiographs obtained from administ (a) and non administ (b) of inorganic tin chloride (a-4, b-4: 35 days after injury. a-5, b-5: 49 days after injury.).

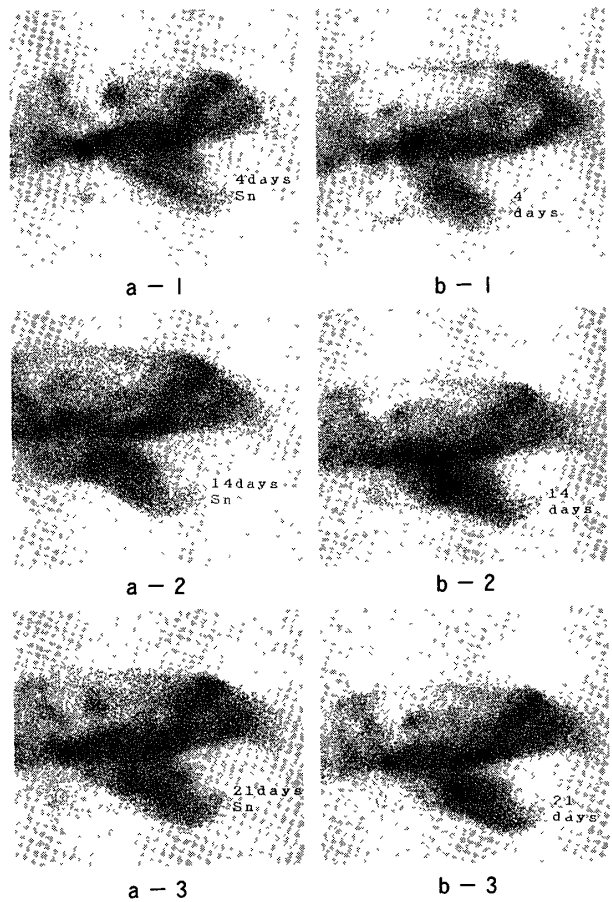


Fig. 15 Life sized bone scintigrams obtained form administration (a) and non administration (b) of inorganic tin chloride (a-1, b-1: 4 days after injury. a-2, b-2: 14 days after injury. a-3, b-3: 21 days after injury.).

比べれば、弱い集積を呈していた。

②骨折後14日目～21日目

14日目では、非投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みは、骨折後7日目に比較してさらに極めて強い陽性所見を呈している。投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みも、骨折後7日目に比較すれば強いが、非投与群に比較すると集積が弱く、限局性の弱い所見を呈している (Fig. 15)。21日目では、非投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みは、骨折後14日目に比較すれば弱く、かつ限局性である。投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みは、非投与群に比較すれば弱い。しかし、骨折後14日目の投与群に比較すれば取り込みが強く認められる (Fig. 15)。

③骨折後28日目～35日目

28日目では、非投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みは、骨折後21日目に比較してやや弱く、かつ限局性の所見として認められる。投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みは、骨折後21日目に比較してやや弱く、限局性の所見として認められるが、28日目の非投与群に比

べると取り込みが強い所見を呈する。35日目において、非投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みは、骨折後28日目に比較して、さらに弱くかつ限局性となり、骨折後4日目とほぼ同様

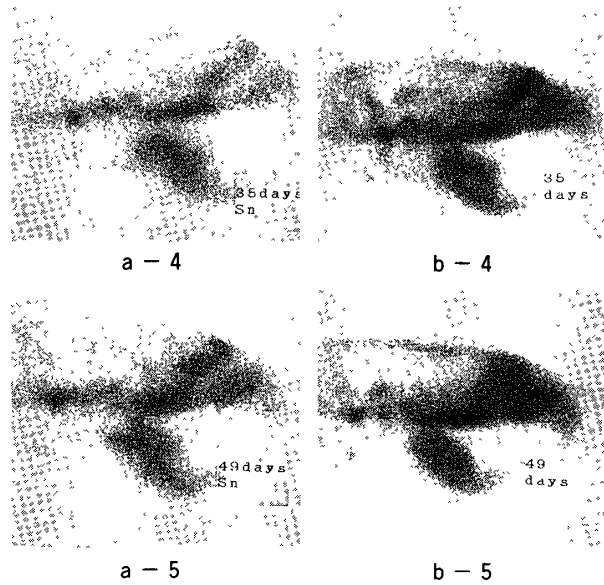


Fig. 16 Life sized bone scintigrams obtained from administration (a) and non administration (b) of inorganic tin chloride (a-4, b-4: 35 days after injury. a-5, b-5: 49 days after injury.).

Table. 2 Changes in rat calvaria uptake.

Group I : non administration of inorganic tin chloride, and fractures. Group II : administration of Inorganic tin chloride, and fractures. Group III : controls.

a: P<0.05, no administration of inorganic tin chloride. (t)

\ day	0	1	4	7	14	21	28	35	42	49
Group\age										
\ week	8	8 ¹ / ₇	8 ⁴ / ₇	9	10	11	12	13	14	15
I.	0.34±0.08	0.34±0.07	0.33±0.10	0.36±0.08	0.47±0.14	0.38±0.15	0.41±0.15	0.39±0.13	0.36±0.12	0.36±0.07
II.	0.32±0.08	0.35±0.09	0.31±0.11	0.30±0.05	0.38±0.10	0.35±0.10	0.37±0.11	0.29±0.05	0.31±0.05	0.30±0.05
III.	0.40±0.10									

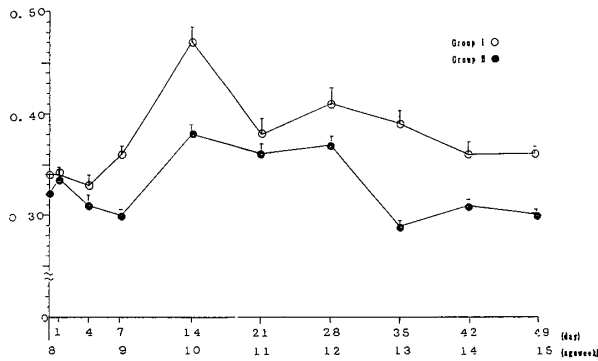


Fig. 17 Changes in rat calvaria uptake.
Group I : no administration of inorganic tin chloride, and fractures.
Group II : administration of Inorganic tin chloride, and fractures.

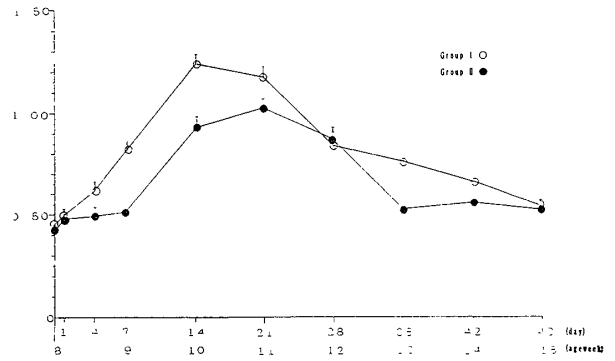


Fig. 18 Changes in bone fractures in rat uptake.
Group I : no administration of inorganic tin chloride, and fractures.
Group II : administration of Inorganic tin chloride, and fractures.

Table. 3 Changes in bone fractures in rat uptake.

Group I : no administration of inorganic tin chloride, and fractures. Group II : administration of Inorganic tin chloride, and fracture, Group III : control.

a : $P < 0.001$, no administration of inorganic tin chloride. (t)

b : $P < 0.01$, no administration of inorganic tin chloride. (t)

c : $P < 0.05$, no administration of inorganic tin chloride. (t)

\ day	0	1	4	7	14	21	28	35	42	49
Group\age										
\ week	8	8 ¹ / ₇	8 ⁴ / ₇	9	10	11	12	13	14	15
I.	0.45±0.07	0.49±0.06	0.64±0.88	0.83±0.10	1.27±0.09	1.17±0.10	0.84±0.13	0.76±0.08	0.66±0.09	0.54±0.09
II.	0.42±0.07	0.48±0.08	0.49±0.10	0.51±0.07	0.93±0.11	1.05±0.09	0.88±0.11	0.53±0.07	0.56±0.10	0.53±0.06
III.	0.50±0.10									

の所見として認められる。投与群のTc-99mの取り込みは、骨折後28日目に比較して著しく弱くなり、限局性の所見を呈している。また、同時期の非投与群にくらべても著しく低い集積であった。なおこの時期から塩化第一錫投与のラット頭蓋骨へのTc-99mの取り込みが弱くなってきた所見を呈しはじめた (Fig. 16)。

④骨折後42日目～49日目

42日目では、非投与群の骨折部におけるTc-

99mの取り込みは35日目に比較して極めて弱く、限局性となり、無処置のものと同程度の所見を呈している。投与群の骨折部におけるTc-99mの取り込みも、35日目に比べれば極めて弱くかつ限局性に見られたが、同時期の投与群と比較するとやや強く、集積の消失に時期的な遅延が見られた。49日目において、非投与群の骨折部へのTc-99mの取り込みは、無処置のものと同程度の所見を呈する。投与群の骨折部への取

り込みは、42日目と同様であり、同時期の非投与群よりも遅延した所見を呈した (Fig. 16)。

3) Tc-99m集積所見

①頭蓋骨

頭頂間骨と後頭骨縫合相当部の頭蓋骨におけるTc-99mの集積は、非投与群と投与群の間に、投与開始後4日目から明らかな集積の差が認められ、両群間の集積差は経時的に増大する傾向が見られた。集積量のピークは両群ともに14日目(10週齢)で、その後集積量の安定化がみられた。非投与群と投与群の比較において、14日目(10週齢)、35日目(13週齢)に統計学的に有意差が認められ、非投与群のTc-99mの集積が投与群に比べ強い傾向があった。とくに投与群の35日目(13週齢)では骨シンチグラム上で著しい全体的な取り込みの変化がみられたのと一致する所見である (Table. 2, Fig. 17)。

②骨折部

骨折部におけるTc-99mの集積は、非投与群では骨折後14日目に取り込みのピークが認められ、投与群では21日目にピークを認めた。Table. 3に示すように、4日目(8 $\frac{1}{2}$ 週齢)、7日目(9週齢)、14日目(10週齢)、35日目(13週齢)、42日目(14週齢)に統計学的に有意差が認められた。とくに35日目(13週齢)の頭蓋骨と同様に、骨折部も投与群ではTc-99mの取り込みの著しい減少が認められた (Table. 3, Fig. 18)。

4) マイクロラジオグラム所見

①骨折直後～7日目

骨折直後から1日目までは、非投与群、投与群ともに、骨折端は不規則かつ鮮鋭であり、新生仮骨の形成開始所見は認められなく、骨折線をはさむ周辺部は明瞭な骨構造を示し、とくに変化は認められない。4日目では、非投与群では、骨折端は未だに不規則かつ鮮鋭であるが、下縁骨皮質部に極めて軽度の骨の吸収開始を思わせる所見が認められた。投与群でも、非投与群と同様の所見を呈する (Fig. 19)。7日目

は、非投与群では、骨折線をはさむ下顎下縁骨皮質部に著しい骨の吸収窩が認められる。投与群においても、ほぼ同様な所見を呈する。

②骨折後14日目～21日目

14日目では、非投与群の骨折部は、7日目に比較して石灰化の亢進が認められる。しかし、新生仮骨に見られる骨小腔はより多数であり、骨梁の密度は、未だに低い所見を呈する。投与群も同様に、骨折部は網状の新生仮骨によってほぼ満たされ、7日目に比較すれば極めて太く、石灰化の亢進が認められる。しかし、新生仮骨に見られる骨小腔は未だに多数であり、骨梁の密度も、より低い所見が認められる (Fig. 19)。

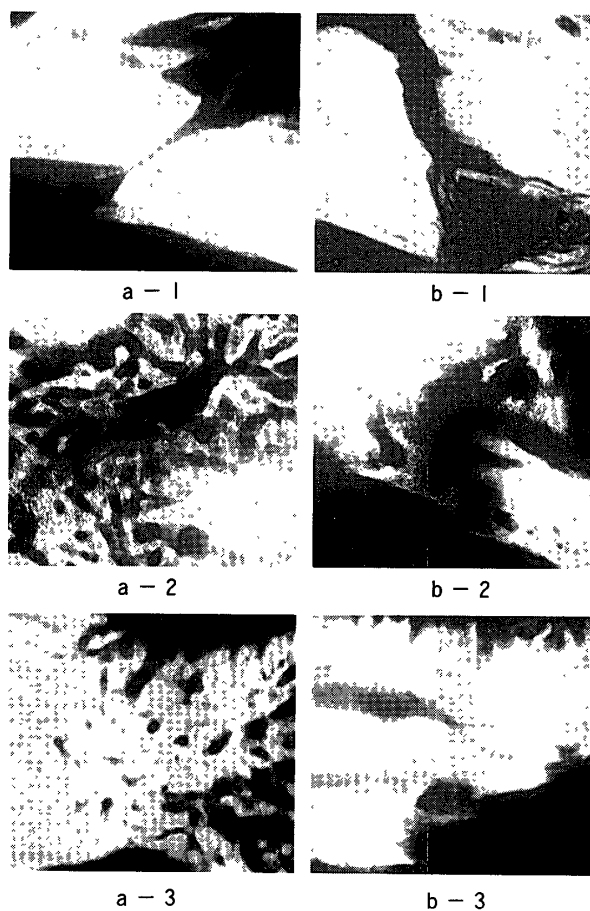


Fig. 19 Microradiogram obtained from the mandible from administration (a) and non administration (b) of inorganic tin chloride (a-1, b-1: 4 days after injury. a-2, b-2: 7 days after injury. a-3b-3: 14 days after injury.).

21日目において、非投与群では、骨折部はほぼ完全に新生仮骨によって満たされている。骨梁の1本1本は太くかつ緻密であるが、無処置の骨に比べれば未だに密度は低い。また、新生骨梁は骨皮質方向に放射状に走り、周辺骨の骨梁と交叉する所見を示す。投与群においても、骨折部は新生仮骨によってほぼ満たされているが、同時期の非投与群と比較すると、骨梁の密度は未だに低い (Fig. 19)。

③骨折後28日目～35日目

28日目では、非投与群の骨折部は緻密な新生仮骨によってほぼ満たされている。21日目に比較すれば、石灰化の程度も、無処置の骨により近い所見を示す。しかし、骨梁の密度は無処置の骨に比べて未だに鬆粗である。投与群においても、骨折部は新生仮骨の著しい増加が認められる。しかし、非投与群に比べれば新生仮骨の分布密度は低い。35日目において、非投与群の骨折部における新生仮骨は骨折部を完全に満たし、28日目に比較して、さらに緻密な所見を示

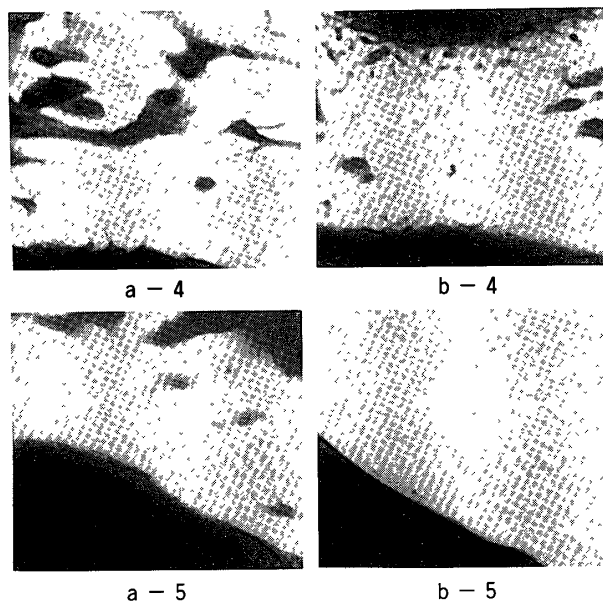


Fig. 20 Microradiogram obtained from the mandible from administration (a) and non administration (b) of inorganic tin chloride (a-4, b-4: 35 days after injury. a-5, b-5: 49 days after injury.).

す。各骨梁の石灰化の程度は無処置の骨とほぼ同等である。投与群の骨折部においても、新生仮骨が骨折部をほぼ完全に満たし、28日目に比較すれば、より太くかつ緻密な所見を示す。しかし、同時期の非投与群に比べれば、未だに粗造な所見を呈している (Fig. 20)。

④骨折後42日目～49日目

42日目では、非投与群の骨折部の新生骨梁は極めて高密度であり健常骨とほぼ同様の石灰化所見を呈する。しかし、新生仮骨の各骨梁では、未だに多数の骨小腔が認められる。投与群においても骨折部の新生骨梁は緻密に見られるが、同時期の非投与群と比較すると、未だに粗造か

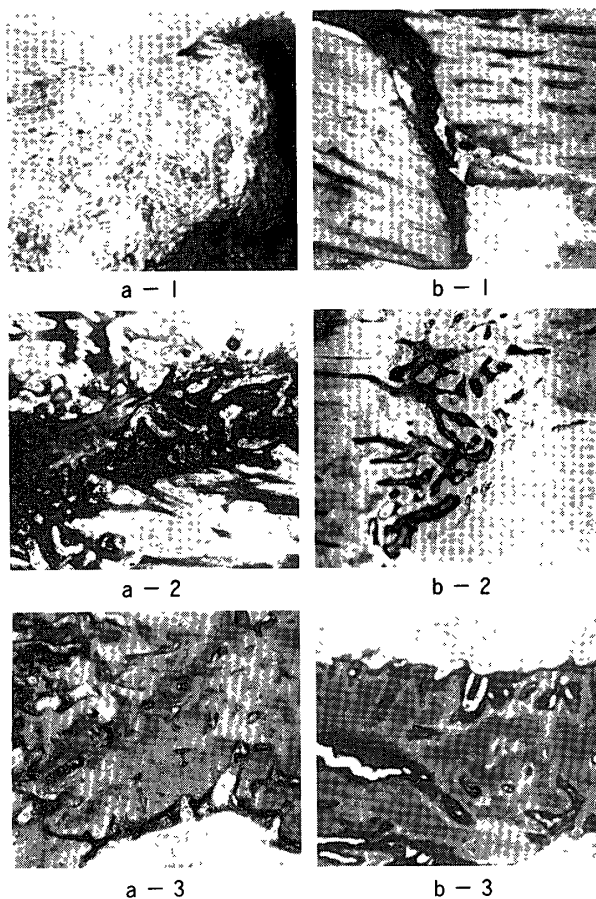


Fig. 21 Histological images obtained from the mandible with administration (a) and non administration (b) of inorganic tin chloride (a-1, b-1: 4 days after injury. a-2, b-2: 7 days after injury. a-3, b-3: 14 days after injury.).

つ低密度の所見を呈する。49日目において、非投与群においては、骨折部の新生仮骨が極めて高密度であり、無処置の骨と同様な規則的な層板状構造を呈していた。しかし、投与群においては骨折部の新生骨梁は層板状構造を呈さず、同時期の非投与群に比べれば、それらの分布密度も未だに低密度であった (Fig. 20)。

3. 組織学的所見

対照群はFig. 12に示すとおりである。

①骨折直後～7日目

骨折直後では、非投与群、投与群ともに、骨折端は鮮鋭かつ不規則であり、骨折端周囲には残遺軟組織の存在が認められたが、1日目においては、非投与群、投与群ともに骨折端の周囲に残遺軟組織と共に肉芽組織の増生が認められる。4日目では、両群ともに、周囲の骨皮質部ならびに骨折端周囲より網状の新生仮骨の発現が認められた。その網状の骨梁間は、細胞成分に富んだ肉芽組織により満たされている (Fig. 21)。7日目において、両群ともに骨折部には、

骨芽細胞による活発な骨梁の形成が認められ、その骨梁は網目状を呈している。

②骨折後14日目～21日目

14日目では、非投与群の骨折部では、網状の新生仮骨の形成を認める。新生仮骨の各骨梁に、多数の骨小腔が認められる。投与群では、骨折部に網状の新生仮骨の形成を認めるが、非投与群に比べ密度は鬆粗である (Fig. 21)。21日目では、非投与群の新生仮骨は骨芽細胞にふち取りされ、骨折部内方から骨皮質方向に向かって放射状に認められるが、骨梁の密度は未だに低い。新生仮骨に認められる骨小腔は、健常骨に比較して極めて多数かつ高密度である。投与群では新生仮骨の骨梁の密度は、非投与群に比較すると低いが骨梁には比較的密な骨芽細胞のふち取りが認められる (Fig. 21)。

③骨折後28日目～36日目

28日目では、非投与群の骨折部は新生仮骨で満たされ、完全に架橋されているが、密度はやや粗である。投与群の骨折部は新生仮骨で満たされ、完全に架橋されているが、非投与群に比較して、骨梁の密度は、より低い所見を呈し、密な骨芽細胞による新生仮骨のふち取りは見られない。35日目において、非投与群の骨折部の新生仮骨は、経時的により緻密となっているが、骨梁は骨折部周囲に比べ細い。投与群の骨折部も緻密となったが、非骨折部の骨梁に比べ、いまだに非投与群の骨梁の密度が粗な所見を呈している (Fig. 22)。

④骨折後42日目～49日目

42日目では、非投与群の骨折部は、未だに骨小腔が多数認められるが、骨梁の太さは、骨折周囲とほぼ同様の所見を示している。投与群の骨折部は、密な骨芽細胞のふち取りはなく、骨髓腔の拡大が認められる。非投与群と比較すると未だに骨梁は細く、密度は粗な所見を呈している。49日目において、非投与群においては、ほぼ正常な層板構造を示した。しかし、投与群

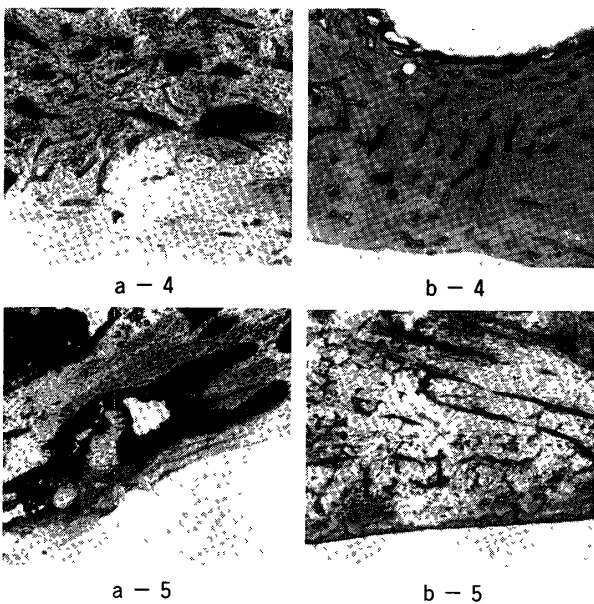


Fig. 22 Histological images obtained from the mandible with administration (a) and non administration (b) of inorganic tin chloride (a-4, b-4: 35 days after injury. a-5, b-5: 49 days after injury.).

においては、骨梁が細く、不規則な層板状構造を呈していた (Fig. 22)。

IV. 考 察

1. 体重変化の観察について (Table. 1, Fig. 12)

非投与群は骨折直後から4日目、投与群は骨折直後から7日目まで一時的な体重の減少が認められたものの、その後徐々に両群ともに、無処置のラットと骨折のみの群の様に体重の増加を示した。これらの所見は、骨折による飼料摂取能力の差が体重増加に影響しないことを示していると考えられる。しかし、非投与群と投与群との間には著しい体重増加の差が出現した。青木ら¹⁴⁾は、塩化第一錫を体重1kgあたり20mg投与したラットの尾椎骨の軟X線撮影による骨変化の発現推移についての観察で、1週間目で骨柱は粗で形成が非常に悪く、骨端軟骨は層の中に多くの空洞が認められ、また骨髓腔が広く、骨幹の骨梁形成が悪く配列はまばらである。3週目でさらに顕著となり、この骨変化は、骨が多孔性で、石灰沈着が悪く、緻密骨の萎縮など、少なくとも骨の成長が妨げられている所見であることを報告している。高松ら¹³⁾が、同様に体重1kgあたり20mgの塩化第一錫を3日毎にラット腹腔内投与し、体重増加を30日間観察した結果、体重増加が見られず、発育成長が阻害されるという報告より、本研究でも同様な塩化第一錫の影響が、下痢などの消化器症状に加えて骨の成長過程の影響による体重増加の差として現れたと考えられる。

2. 放射線学的観察について (Fig. 13, 14)

1) X線所見

X線検査による骨折治癒過程の観察は、簡便かつ同一個体の経時的観察が可能である。しかし、診断用X線装置は管電圧が60kVp以上であり、散乱線による画質の低下が避けられない。また、骨塩変動が30%以下では変化を画像とし

て描出できなものである。本研究でも投与群、非投与群ともに、骨折後21日目から骨折線の確認が困難となり、35日目以降では無処置のラットの下顎骨骨体部のX線像と同様な所見を呈し、骨折治癒過程の微細な観察には有効でなかったと考えられる。

2) 骨シンチグラム所見

骨折治癒過程に関する研究は古くから行われ、これまでも多数の報告があるが、それらの多くはX線学的観察や組織学的観察によるものである。また、骨折治癒過程の観察の目的に比較的多くの放射性同位元素が用いられていることも明らかであり、これらのほとんどは、放射能摂取量の測定やオートラジオグラフィによる観察であった^{21)~36)}。これらの共通した所見は、多少の時期的差異があるものの、骨折部における放射性核種の集積が骨折後4日目ごろから認められ、経時的に増加し、14日目から21日目まで最も強い取り込みが認められたことである。その後、新生仮骨の石灰化の亢進により、取り込みが徐々に小さくなることも、共通の所見として認められる。本研究で用いたTc-99mそのものは骨新和性核種ではないが、リン酸化合物に標識することによって、骨親和性核種と同様の代謝機構に乗ることから、³²Pや⁴⁵Caによる検索^{21)~36)}とほぼ同様の結果が得られ、骨折治癒過程の観察にTc-99m標識化合物が十分に役立つことが確認された。

Subramanian¹⁾が、Tc-99m標識ポリリン酸塩を骨スキャンへ応用することを発表して以来、多くのTc-99m標識リン酸化合物が検討されてきた。ポリリン酸はTc-99mと安定な化合物を作り、骨のハイドロオキシアパタイトと親和性をもつものであるが、P-O-P結合が酵素によって体内で切断されることや、血中タンパクと結合するために血中消失が遅く、軟組織に比較的高く集ることなどが欠点とされ、その後の研究は、これらの欠点の改良に集約された。Perez³⁷⁾は、

ピロリン酸ナトリウムを標識物として用いることを考案し、ポリリン酸塩より科学的に純粋な原料が得られるため、収率が一定かつ高いことを報告している。スキャニング像は、ともに良好なものが得られるが、ピロリン酸塩のほうが血中バツクランドが低い点ですぐれていたと述べている。その後、Subramanianら¹⁾はP-O-P結合に変わるP-C-P結合を有するものとして、hydroxy-ethylidene-disodium (EHDP) や disodium methylene diphosphonate (MDP) を開発し、他の17種類のTc-99m標識リン酸化合物と比較した結果MDPが最も優れていたと報告しており、今日、リン酸化合物の主流となっている。以上の理由から本研究でも標識リン酸化合物としてMDPを用いることとした。従来、ラットやマウスなどの小動物は、オートラジオグラフィによる体内分布の観察や摘出臓器の放射能摂取量の測定によって成され、骨シンチグラフィは比較的大型の犬や家兎を用いる実験のみに限られていた。ラットやマウスの頭頸部は極めて小さく、それらの解剖学的構造を明瞭に描出できる装置が開発されていなかったことが最大の原因と考えられる。しかし、金子ら⁴⁾が、人体用ピンホールコリメータに改良を加えることによって、ラットやマウスなどの小動物の頭頸部のシンチグラフィを可能とした⁵⁾⁶⁾⁷⁾。

そこで今回、同装置を用いてラット顎骨の骨シンチグラフィを行った。本研究で得られた骨シンチグラム所見として、骨折後4日目から、両群の骨折部の軽度の集積が見られた。この時期より組織学的に仮骨形成が出現することより骨改造現象が現われ始めたものと考えられる。投与群は、非投与群に比べると弱い集積を示していた。骨折後7日目では、非投与群は、4日目に比較して骨折部への取り込みがさらに強く認められ、骨折後14日目では、集積が最も強い所見を示した。この時期が、骨改造現象が最も著しい時期であることが推測された (Fig. 15)。

これは骨折部の仮骨形成のために多量のリン酸化合物が動員された証拠といえる。投与群では、これに対し、やや弱い集積を示した。この差は塩化第一錫が、骨代謝に影響を与え、仮骨形成の遅延をきたし、リン酸化合物の動員を妨げたためと考えられる。骨折後35日目では、非投与群のTc-99mの取り込みが、14日目に比較して極めて弱くなり、4日目とほぼ同等の所見を呈していた。この時期では、組織学的にも骨梁は時間の経過とともに太くなり、骨折治癒過程が順調な経過をたどり骨改良現象が安定化しつつあるものと考えられる。投与群においても非投与群と同様に、この時期では骨改造現象が安定化しつつあるものと考えられる。しかし非投与に比べると全体的にTc-99mの取り込みが低くなり始めており (Fig. 16)、骨折部では、さらに、低い集積を示す結果となった。投与群は14日目に比べて21日目の方が集積が強く、また経過を通じて最も強い集積があった。これは、組織学的に骨梁が非投与群と比較して細く、骨芽細胞の密なふち取りがないことと関係していることが推測される。骨折後49日目の骨シンチグラムでは、非投与群は対照群と同程度の所見を呈した。骨折部へのTc-99mMDPの取り込みが徐々に低くなることは、骨折部における生体からのリン酸が増加しCaとハイドロオキシアパタイトを形成しながら健常骨と同様の化学的組成に近づき、骨改造現象がさらに安定化していったためと考えられる。しかし、この時期の投与群では、Tc-99mの取り込みが非投与群より低い所見を呈していたにもかかわらず、骨折部へのTc-99mの弱い集積が残存した所見を呈していた。これは、Tc-99mの集積機序において塩化第一錫が骨改造現象に影響し骨折治癒過程の遅延を引き起こしている結果と考えられる。Tc-99mの集積機序は、骨のハイドロオキシアパタイトのCa²⁺、PO₄³⁻、OH⁻イオンが、結晶表面で体液と接し容易にイオン交換が可能であることから、

リン酸イオンが、ハイドロオキシアパタイトの形成に参与する³⁸⁾。よって病変の存在する局所の骨においてはミネラルのturnoverの亢進による集積が見られ、また、骨のハイドロオキシアパタイト結晶に化学的に吸収されるともいわれている³⁸⁾。このことは塩化第一錫が、ミネラルのturnoverの亢進を妨げているか、あるいは遅延させているためと考えられる。

3) Tc-99m集積所見 (Table. 2, 3) (Fig. 17, 18)

ラット頭蓋骨におけるTc-99mの集積は、非投与群では経時的に増大し、14日目で最大となり、21日目で集積がやや低下するものの、その後は49日目までほぼ一定であった。また、程度の差はあるが、投与群においても、Tc-99mの集積は14日目に最大となり、21日目でやや低下するものの、その後は49日目までほぼ一定であった。以上の所見は両群のラットともに、観察開始後14日目が生後10週に一致し、骨代謝の活発な時期であることを推測させる。しかし、非投与群と、投与群の間に集積量の差が見られることから、塩化第一錫の投与が発育成長に阻害的に作用していることが考えられる。このような塩化第一錫の影響は、当然、骨折の治癒過程にも阻害的に働くものと考えられる。事実、投与群では、骨折部におけるTc-99mの集積のピークが骨折後21日目にあり、非投与群の14日目の集積のピークに比べ、1週間の後れが認められた。これらの所見は、21日目の骨シンチグラム所見では周囲骨と比べると集積が強く、非投与群の骨折部に比べると明瞭であり、骨折治癒の遅延が起こっていることが推測され、マイクロラジオグラムならびに組織学的所見でも裏付けられた。

青木ら¹⁴⁾は、軟X線による観察で、塩化第一錫投与開始後7日目から骨変化の出現が見られた述べている。しかし、本研究では、投与開始後4日目から、非投与群に比べると集積量は軽度の差であった。このことから、下痢などの消化

器症状による骨代謝の影響も否定できない。青木ら¹⁴⁾の実験の塩化第一錫投与後に、比較的早期に尾椎骨の骨変化が出現するという報告や、高松ら¹³⁾の腎変化が認められるという報告から推測すると、塩化第一錫の骨代謝の影響による骨変化が考えられる。また、非投与群、投与群のラット頭蓋骨部、骨折部のTc-99mの集積量の比較では、時期により非投与群と投与群において統計学的に有意差が認められたことは、塩化第一錫の影響が考えられ、骨シンチグラフィの鋭敏性を再確認することができた。

4) マイクロラジオグラム所見

比較的新しく開発されたマイクロラジオグラフィと、従来からの観察法を組み合わせで行った骨折治癒過程の総合的観察がいくつか報告されている^{39)~45)}。Nilsson³⁹⁾は、マイクロラジオグラフィと⁹⁰Srを使用して骨折部の骨塩代謝を観察し、骨折部の骨塩沈着が骨膜性仮骨に始まり、⁹⁰Srの摂取量が骨塩沈着の最も低い部位で最大であったと報告している。Lacrox⁴⁴⁾は、⁴⁵Caを用いたオートラジオグラム上で、Radioisotope沈着が著明なハバース管系は、マイクロラジオグラムでは低石灰化を示すという、ほぼ同様な結果を報告している。また、千綿⁴¹⁾は、マイクロラジオグラム所見とテトラサイクリン、ラベリング法の両者の比較を行い、X線吸収性と蛍光の強弱を検討した。

顎骨の損傷に関しては、太田⁴²⁾が、顎骨の骨折治癒過程をマイクロラジオグラフィとオートラジオグラフィならびにマイクロラジオグラフィを組み合わせ用い、顎骨骨折部の血管修復と骨塩沈着の関係について検索した。その結果、血管修復が遅れている部分では骨塩の沈着が見られず、血管網の新生が認められる部分においてのみ、骨塩沈着の出現を観察し、骨折治癒過程においては毛細血管系の働きが重要であることを報告している。太田⁴²⁾も岩間⁴³⁾と同様の観察をラット下顎骨の骨折部で行った結果、

骨折後4日目から、外骨膜性に⁴⁵Caの集積が認められ始め、軽度の陽性像を示したものの、マイクロラジオグラム上では骨塩沈着は認められず、1週間目で、初めて骨塩沈着が認められ、2週間目では中間仮骨部に網状の新生仮骨を認めたと報告している。この時期での外骨膜部では新生仮骨が密であり、オートラジオグラム上では中間仮骨部に比べ、黒化度が低下していたと報告している。以上の報告から考えて、マイクロラジオグラフィでの観察は、骨組織の石灰化の進行過程や進行速度を知ることが可能であり、³²Pや⁴⁵Caなどによるオートラジオグラフィや骨シンチグラフィの欠点を十分に補える手法の一つと考えられる。

また、マイクロラジオグラフィによる初期の変化が十分に観察が可能であることから、同一個体での経時的観察が不可能という欠点を有しながらも、初期の段階の観察に極めて有用であるものと考えられる。本研究のマイクロラジオグラム所見でも、非投与ならびに投与の両群ともに、骨折後4日目で既に、骨皮質部の外骨膜性の新生仮骨の形成が見られた(Fig. 19)。その後、非投与群では、骨折後14日目には仮骨形成が最も強く認められたが、投与群では、非投与群に比し、骨の形成状態が遅延していることが確認された。非投与群は、35日目で網状構造は消失し周囲骨と直交する骨梁構造が見られ、それらの密度も増していた。骨折後49日目では、ほぼ対照群と変らない規則的な層板構造を示した(Fig. 20)。また、投与群でも7日目までは非投与群と大差はないが、14日目から新生仮骨の形成密度が非投与群と比較して低くなり、49日目には、粗造で不規則な層板構造を示していた(Fig. 19・20)。このことから投与群では、非投与群に比べ、骨の基質形成、石灰化の遅延などによる骨折治癒の遅延が示唆された。

以上のことにより、マイクロラジオグラフィでは、骨折直後から4日目までのX線写真や骨

シンチグラフィで確認できない骨の微細な外骨膜性の雲霞状の無構造の新生仮骨の観察が可能で、骨折治癒の経時的観察には極めて有効な手段と考えられる。

3. 組織学的所見(Fig. 21, 22)

組織学的観察は、中原⁴⁶⁾は、骨折後3日目から血腫が出現し、1週間後では線維組織や軟骨組織によって骨折部の架橋がすでになされ、2週間後ではさらに石灰化が亢進して骨折端が癒合したと報告している。4週間後には完全治癒し、骨梁間に骨髄の新生が認められる。また、庄内⁴⁷⁾も、健常骨の骨折では、中原⁴⁶⁾と同様の所見を報告している。しかし、これらは主として四肢の長管骨の骨折についての報告である。一方、顎骨の骨折を観察した岩間⁴³⁾は、ラットを用い、クラウンソーにより下顎骨下縁に約3mmの深さに骨創を作製した。その結果、4日目から骨折部の骨吸収が認められるとともに、両側の外側骨面からは、仮骨の形成が認められたと述べている。1週間目では、骨折端両側から骨折部中心に向かって仮骨を認め、それらによって癒合が始まり、2週間目では、完全に癒合が完成したと述べている。4週間目では、さらに石灰化の亢進を認め、新生骨はよりいっそう緻密になり、6週間目以後では健常骨と同様の石灰化を示すと述べた。本研究における骨折治癒過程観察所見は、岩間⁴³⁾のそれとほぼ類似の所見であった。骨シンチグラム上のTc-99mの取り込みやマイクロラジオグラム所見を裏付ける結果であった。投与群では、4週間目までは、石灰化の亢進が非投与群より低い粗な所見を呈し始めていた。本研究で行ったトルイジンブルー染色は、石灰化の亢進状態の確認やマイクロラジオグラム所見で確認しにくかった軟組織および骨小腔を描出するのには極めて有効であった。

4. 塩化第一錫について

塩化第一錫をラットに投与し、その毒性発現機構に関する山口ら¹¹⁾の研究は、塩化第一錫に

より血清カルシウム量が低下し、腎皮質にカルシウムが蓄積することを見いだした。高松ら¹³⁾は、山口ら¹¹⁾の方法にしたがって塩化第一錫をラットの腹腔内に3日間ごと体重1kgあたり30mgの割りたいで30~50日間投与し、肝および腎皮質ミトコンドリアの機能に関する生化学的検索を行った。その結果、腎皮質ミトコンドリアは、微細構造的に、近位尿細管では大きく、遠位尿細管では小さくなり、腎皮質ミトコンドリアのカルシウム含有量が著しく増加していたと述べている。また、呼吸調節能やその他の機能には、カルシウムが強く影響していることを報告した。腎臓はカルシウム代謝に関与するビタミンDの活性化の場であり、腎機能低下には、単に濾過機能の低下のみならず、何らかの機能変化を惹起する可能性があることを述べている。

ビタミンDの活性過の障害は、腸管からのカルシウムの吸収抑制、骨代謝異常を引き起こすことが知られている¹³⁾。青木ら¹⁴⁾は、食品衛生学上、広く食品に混在する錫(たとえば塩化第一錫)の毒性の研究を行い、錫の毒性発現の指標を生化学的手法で検索すると同時に、予想される骨の代謝異常を、軟X線による放射線学的観察および組織学的観察を行った。すなわち、塩化第一錫を体重1kg当たり20mgラット腹腔内注射により3日間ごとに投与すると、7日目から、骨が多孔性となり、緻密骨の萎縮が見られたという骨の成長抑制が報告されている。

塩化第一錫の骨代謝への影響であるが、経口的に体内に侵入したとしても胃腸障害の症状が強く、大部分は体外に排泄されて失い、吸収されても錫は微量で、その毒性を発現するに至らないと考えられてきた¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁶⁾。本研究では、高松ら¹³⁾、青木ら¹⁴⁾、和田ら¹⁶⁾の行ったラットの腹腔内投与とした。腹腔内投与の場合LD₅₀は、1kgあたり66mgとされているが⁴⁸⁾、実験ではあえて急性症状を起こさせるために、高松ら¹³⁾、青木

ら¹⁴⁾、和田ら¹⁶⁾と同様にLD₅₀の3分の1の量の体重1kgあたり20mgをラット腹腔内へ投与することで、ラットの骨折治癒過程における骨折治癒の遅延を惹起させた。この所見は、先に述べた骨シンチグラム所見、マイクロラジオグラム所見、組織学的所見などにより確認されている。骨折治癒の遅延の要因は、山口ら¹¹⁾¹²⁾、Yamamotoら¹⁵⁾が報告しているように、錫により血清カルシウム量が低下し、腎皮質にカルシウムが蓄積することを見いだしたことや、高松ら¹³⁾が塩化第一錫をラットに投与し、肝および腎皮質ミトコンドリアの機能に関する生化学的検索を行った結果、腎皮質ミトコンドリアの機能にカルシウムが強く影響しているということより、それに伴い腎機能低下が起き、単に濾過機能の低下のみならず、カルシウム代謝に関与するビタミンDの活性化の場に、なんらかの機能変化を惹起したことから、ビタミンDの活性化の障害が発現したためと考えられる。本研究でも、ラットが下痢の症状を呈していた点から、胃腸障害が出現していたことが確認されたが、山口ら¹¹⁾¹²⁾、高松ら¹³⁾、Yamamotoら¹⁵⁾の報告より腎臓の機能障害の出現が十分に推測できると思われる。山口ら¹¹⁾は、ビタミンD₃(25μg/100g)の正常ラットへの投与は、血清カルシウム量を有意に増加させたが、塩化第一錫を1kgあたり30mg腹腔内投与後にビタミンD₃を投与した場合には、塩化第一錫投与で低下していた血清カルシウム量は増加せず、ビタミンD₃の血清カルシウム上昇作用の発現が抑制されたことを報告している。これらの変化は比較的早期にあらわれる所見で¹¹⁾¹³⁾¹⁵⁾、塩化第一錫が骨折治癒を遅延させる要因は、骨折部に直接作用する局所的なものでなく、腎臓やカルシウム代謝機構などの障害による前進的なものであることが推測される。本研究は塩化第一錫の骨代謝への影響を形態的变化としてX線検査と骨シンチグラフィで経時的に観察するとともに、それらの所

見の裏付けをマイクロラジオグラフィと組織学的検索で行うことにとどまったが、今後、塩化第一錫の腎臓とカルシウム代謝機構への影響が重要な位置を占めており、これらの点を解明していく必要がある。

V. 結 論

塩化第一錫によるラット顎骨の骨折治癒過程の形態的变化を、X線検査と骨シンチグラフィで経時的に観察し、それらの所見の裏付けをマイクロラジオグラフィと組織学的検索を併せて行い、以下の結論を得た。

1. X線検査では、投与群、非投与群ともに、骨折後21日目から骨折線の確認が困難となり、以後の骨折治癒過程の微細な観察には有効でなかった。
2. マイクロラジオグラフィは、骨折後4日目よりX線写真、骨シンチグラム所見では確認できない骨の微細な外骨膜性の新生仮骨の発生を認めることができ、骨折治癒過程の経時的観察に有効な手段であった。
3. 組織学的検索では、マイクロラジオグラム所見と、ほぼ一致した所見を得た。とくに、トルイジンブルー染色は、石灰化の状態や骨小腔を描出するのに有効であった。
4. 骨シンチグラフィは、骨折後4日目という早期から、非投与群、投与群の集積を観察することができ、経時的な骨折治癒に伴う集積の差を観察することができた。よって、骨折治癒過程の経時的観察には有効なものである。また、Tc-99mの集積量の観察では、塩化第一錫投与による集積量の影響が認められ、時期により統計学的に、非投与群、投与群との間に有意差が確認された。
5. 骨折治癒過程に対する塩化第一錫の影響についての経時変化は、骨シンチグラフィ、マイクロラジオグラフィおよび組織学的検索の所見から、多少の時期的相違はあるが、ほ

ぼ並行的な関係にあることを示唆した。

以上の結果から、塩化第一錫が骨折治癒過程に阻害的に作用することが確認されたとともに、骨代謝異常を伴う骨折治癒過程の観察に、骨シンチグラフィが有用であることが確認された。また、これらの所見は、マイクロラジオグラム所見や組織学的所見と時期的に一致するものであった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始ご親切なるご指導とご校閲を賜りました本学歯科放射線学講座主任金子昌幸教授に謹んで感謝の意を表します。また、多くのご教示とご助言を頂きました、本学口腔病理学講座主任賀来亨教授、本学口腔外科学第一講座主任金澤正昭教授、本学歯科薬理学講座主任松本仁人教授に感謝いたします。今回の研究に関して、ご協力を頂きました本学歯科放射線科の技師各位の皆様、本学歯科放射線学講座の医局員各位の皆様、本学口腔病理学講座の医局員各位の皆様にご心よりお礼申し上げます。

引用文献

1. Subramanian, G. and McAfee, J. G.: A new complex of ^{99m}Tc for skeletal imaging. *Radiology* 98: 192-196, 1971.
2. 筧 弘毅, 金子昌幸: 歯科領域における核医学診療の現状. *東日本歯誌* 2: 123-136, 1983.
3. 古本啓一: 臨床におけるラジオアイソトープの応用. *歯界展望* 32: 1006-1014, 1968.
4. 金子昌幸, 高野英明, 細川洋一郎, 大西 隆, 金子和子: 人体用ガンマカメラを用いた小動物シンチグラフィ—ラット顎骨シンチグラフィの検討—. *Radioisotopes* 34: 493-496, 1985.
5. 金子昌幸, 小林光道, 高野英明, 内海 治, 金田英生, 菊地文利: ^{99m}Tc 標識リン酸化合物によるマウス頭頸部シンチグラフィに関する検討. *Radioisotopes* 35: 77-79, 1986.
6. 金子昌幸, 前田静一, 後藤邦彦, 佐野友昭, 郭 東英, 大西 隆, 金子和子: 骨傷治癒過程の実験的検討—軟X線所見とマイクロラジオグラム所見を中心に—. *東日本歯誌* 6: 31-37, 1987.
7. 高野英明, 郭 東英, 佐野友昭, 前田静一, 後藤

- 邦彦, 金子昌幸: 改良型ピンホールコリメータの性能試験と小動物応用。Radioisotopes 37: 456-459, 1988.
8. 金子和子, 前田静一, 郭東英, 小林光道, 金子昌幸: ラット顎骨骨折治癒過程に関する実験的観察。口科誌38: 66-81, 1989.
 9. 金子昌幸, 大西 隆, 金子和子, 後藤邦彦, 稲垣肇, 竹林義人, 神田秀治, 高野英明, 小林光道: 骨折治癒過程のX線検査とゼロラジオグラフィによる観察。東日本歯誌 8: 9-18, 1989.
 10. 宮澤壽一朗: 第16章 錫中毒学, 金属中毒学 土谷健三郎 監修 医歯薬出版 東京, 1983, 447-468頁.
 11. 山口正義, 佐藤秀司, 山本文夫: 無機錫中毒ラットにおけるビタミンD₃の血清カルシウム上昇作用の阻害について。日衛誌。30: 536-542, 1975.
 12. 山口正義, 山本文夫: 無機錫経口投与ラットにおける胃酸分泌の低下。日衛誌 3: 453-456, 1976.
 13. 高松久美子, 青木善也, 和田昭治, 林 秀茂, 木田勝康, 森山忠重: 無機スズの毒性に関する基礎的研究—スズ中毒ラットの腎ミトコンドリア—。奈医誌27: 511-520, 1976.
 14. 青木喜也, 和田昭治, 林 秀茂, 高松久美子, 森山忠重, 田北雅夫: 無機スズ投与による骨変化の発現。奈医誌 27: 521-526, 1976.
 15. Yamamoto, T., Yamaguchi, M. and Sato, H.: Accumulation of calcium in kidney and decrease of Ca in serum of rats treated with tin chloride. J. Toxicol. Environ. Health., 1: 749, 1976.
 16. 和田昭治, 林 秀茂, 森山忠重: 無機錫によるラットの硬組織障害。骨代謝11: 306-311, 1978.
 17. Smith, Hill, Lehman, Lefkowitz, Handler, White: 第21章 主な栄養素・生化学 第7版 [II]—哺乳類の生化学— 廣川書店 東京, 1987, 1057-1069頁.
 18. 和田 攻, 真鍋重夫, 北川泰久, 石川晋介, 長橋捷: 第5章 微量元素の欠乏症 微量元素と生体 木村修一, 左右田健次編 秀潤社 東京, 1989, 74-93頁.
 19. 須賀昭一: 硬組織のmicroradiography. 歯界展望 27: 495-515, 1966.
 20. Schwarz, K.: Recent dietary trace element research, exemplified by tin, fluorine, and silicon. Federation Proceedings 33: 1748-1757, 1974.
 21. Marshak, A. and Byron, R. L.: A method for studying healing of bone. J Bone & Joint Surg 27: 95-104, 1945.
 22. 茂田貫一, 中西 貫, 岡 伸光, 中田 実, 後藤和光, 沢井孝雄, 日比正也, 田中清隆: RIをTracerとした顎骨骨折治癒過程の実験的研究(第2報)。口科誌12: 178-182, 1963.
 23. Bohr, H. and Sore, A. H.: Study of fracture healing by means of radioactive tracers. J Bone & Joint Surg 32-A: 567-574, 1950.
 24. 岡本良平, 西村信一郎, 久保田修, 林 章夫, 喜井清之助, 三浦玄洋, 横田 巖, 山下圭司: ³²Pによる骨折治癒時のP代謝, 京府医大誌 66: 926-932, 1959.
 25. Wilkinson, G. W. and Leblond, C. P.: the deposition of radiophosphorus in fractured bones in rats. Surg Gynec Obstet 97: 143-150, 1953.
 26. 荒川七郎: 放射性同位元素³²Pによる骨折治癒機転の研究(第一報), 放射性同位元素³²Pによる骨折骨の燐代謝の研究, 日大医誌 13: 2198-2205, 1954.
 27. 荒川七郎: 放射性同位元素³²Pによる骨折治癒機転の研究(第二報), 放射性同位元素³²Pによる骨折血腫の燐代謝の研究, 日大医誌 13: 2206-2209, 1954.
 28. 原 治, 孝久孝治, 保田岩夫: ³²Pによる骨折部位の燐代謝の研究。最新医学6: 861-864, 1951.
 29. 堤 真温, 橋倉一裕, 伊藤邦彦: 放射性同位元素⁴⁵Caによる骨折および移植骨の研究(第一報), 日整会誌 25: 189-190, 1951.
 30. 橋倉一裕, 伊藤邦彦, 米田忠久, 石上英昭: 骨折治癒過程における核酸の代謝および無機燐カルシウムの消長。Radioisotopes3: 34-35, 1954.
 31. 伊藤邦彦: 放射性同位元素⁴⁵Caによる骨折の研究。日医大誌 19: 1145-1156, 1952.
 32. 伊藤邦彦: 骨折治癒過程における骨折局所ならびに骨格系にみられる⁴⁵Ca塩の移行と再分配の変化について, 日医大誌24: 43-55, 1957.
 33. 石上英昭: Isotopeを用いた骨折治癒過程における基質代謝の研究(第四報), ⁴⁵Ca-microradioautographyによる研究, 日整会誌 34: 959-965, 1960.
 34. 日比正也: ⁴⁵CaをTracerとした骨折治癒過程の実験的研究。岐阜大医紀要16: 330-379, 1969.
 35. 土屋弘吉: 放射性同位元素⁴⁵Caによる骨カルシウム代謝の研究(第一報), 日整会誌28: 40-45, 1955.
 36. 松井日出雄: ⁸⁷m-Srによる骨折治癒過程判定の基礎研究。歯学59: 386-401, 1971.
 37. Perez: 浦久保五郎より引用: III 放射性医薬品。核医学大系2 実業広報社 東京: 977, 95-99頁.

38. 伊丹康人：II 骨親和性核種とその放射性薬剤学。核医学大系9 実業広報社 東京：1977, 16-23頁。
39. Nilsson, U.: Biophysical investigation of the mineral phase in healing fracture. Acta Orthop Scand 37 (Suppl.): 1-80. 1959.
40. Rhinelander, F. W., Philips, R. S., Steel, W. M., and Beer, J. C.: microangiography in the bone healing II. Displaced close fractures. J Bone & Joint Surg 50-A: 643-662, 1968.
41. 千綿秀磨：骨折治癒過程の組織化学, MicroangiographyならびにTetracycline Labelingによる研究。歯学 57: 8-39, 1969.
42. 太田 舜：下顎骨骨傷治癒に関する放射線学的研究。金沢医理叢書 84: 37-61, 1970.
43. 岩間 升：骨傷治癒に関する放射線学的研究。金沢医理叢書 86: 61-94, 1970.
44. Lacroix, P.: ⁴⁵Ca Autoradiography in the study of bone tissue Rodahl, K.: Bone as a Tissue, McGraw Hill Book Co, New York, 1960, p. 262-279.
45. 須田信之：人の骨のMicroradiographyと組織化学による研究。歯学57: 636-662, 1970.
46. 中原 爽：放射線術前照射の骨折仮骨形成へ及ぼす影響についての実験的研究。金沢医理叢書 96: 31-47, 1974.
47. 庄内晃二：骨折部の仮骨形成過程に及ぼす放射線の影響について。歯学62: 1175-1197, 1975.
48. 遅塚金二編：錫。救急中毒マニュアル 医学書院, 東京, 1984.