

低カルシウム飼料とアルミニウムを同時あるいは単独に投与した場合の ラット脛骨の組織学的変化

合志 徳久¹, 東 博文², 岡田 敏榮³, 田巻 弘之¹, 星川 雅子⁴, 松田 貞幸²

Histological alterations caused by the oral administration of aluminium and/or low calcium diet on the proximal tibiae of rats

Norihisa GOSHI¹, Hirofumi HIGASHI², Hiroshige OKADA³, Hiroyuki TAMAKI¹
Masako HOSHIKAWA⁴, and Sadayuki MATUDA²

Abstract

Histological alterations in the cancellous bone of the proximal tibiae of rats, after 4 weeks of daily administration of aluminium (Al) and/or low calcium (Ca) diet, were investigated. Forty-one 7 week-old male Wistar rats were used and disposed of at 11 weeks. The animals were divided into 6-groups. They were CONTROL, CONT · Al, LOW Ca, LOW Ca · Al, LOW Ca · Al-CONTROL, LOW Ca · Al-CONT · Al as indicated in the tables 1-3. To the CONTROL group, the food CE-2 from Nihon-Clea and tap water was given *ad libitum*. To the CONT · Al group, 100mg/dl of AlCl₃ in the tap-water was administered with the normal diet. The diet Ca was reduced to 10% of the normal diet was given to the groups LOW Ca, and LOW Ca · Al, with distilled water or Al containing-distilled water respectively. The other two groups were the group transferred to the normal diet and tap water, and the group on the normal diet and Al containing-tap water, after two weeks of low Ca and Al treatment (LOW Ca · Al-CONTROL or LOW Ca · Al-CONT · Al). Primary spongiosa was divided into two layers for estimation of bone volume and osteoclast-number, i.e. a layer of 340 μ m of thickness immediately beneath the epiphyseal cartilage plate (proximal primary spongiosa) and subjacent 340 μ m of thickness (distal primary spongiosa). For estimation of bone volume of secondary spongiosa, the area 1mm apart from the epiphyseal cartilage plate was focussed upon.

The results obtained were as follows : ① The number of osteoclasts in the proximal primary spongiosa was slightly decreased by administration of Al to the animals on the normal diet, accompanied by a decrease in bone volume . ② In the LOW Ca group, the decrease of bone volume in the proximal primary spongiosa was accompanied by an increase in the number of osteoclasts. ③ Compared with the LOW Ca group, the bone volume of the proximal primary spongiosa on the LOW Ca · Al group was moderately retained, despite the increase of osteoclasts in this area. ④ In the distal part of the primary spongiosa, the bone volume of the CONTROL and LOW Ca groups was almost equal, whereas Al administration decrease bone volume on the CONTROL and LOW Ca specimens. ⑤ TUNEL-staining indicated that the cartilage cells of the epiphyseal plate and the osteoclasts in the metaphyseal cortical bone were significantly apoptotic by Al-treatment, whereas the osteoclasts in the metaphyseal cancellous bone were less affected.

1 : 鹿屋体育大学 スポーツ科学講座, 2 : 鹿屋体育大学 健康教育学講座
3 : 鹿屋体育大学 コーチ学講座, 4 : 国立スポーツ科学センター

These findings seem to indicate that Al is toxic to the bone metabolism when the normal diet is supplied, but that it apparently inhibits decrease of bone volume when Ca is not supplied sufficiently.

KEY WORDS: aluminium, apoptosis, bone volume, low calcium diet, tibia, TRAP,

緒 言

アルミニウムは、アルミ箔や鍋などとして我々の日常生活と密接に関係する金属である。亜鉛が味覚に必須なように、身体に必要な金属は多い⁽¹⁾が、アルミニウムの人体における生理的役割は明らかでない。アルミニウムは一時アルツハイマー病の原因物質とされたが、アルツハイマー病発症とは直接の関係がないことを示す知見が次第に蓄積されて来ている⁽²⁾。モルモットを使った実験で、脳ではアルミニウム含有量が測定限界以下であったのに対し、骨と腎では高濃度であったという報告⁽³⁾がある。これは、アルミニウムが腎から排泄される一方、骨に沈着することを示唆している。生体あるいは細胞を使った実験とは別に、塩化アルミニウムが骨の成分である水燐酸石灰の結晶の成長を妨げるといふ報告がある⁽⁴⁾。また、Severson et al.⁽⁵⁾は、塩化アルミニウムを4週齢ラットの腹腔に注射して2週間後に脱灰骨を皮下に移植して、移植片の石灰化を観察している。そして、対照の食塩水投与群では12日後に移植片を中心にした石灰化が始まるのに対し、実験群ではその兆候が見られないと報告した。植物の場合アルミニウムが根端の伸長に影響するという報告⁽⁶⁾も含めると、成長期のみならず絶えず造り替えられている骨の代謝回転に、アルミニウムが何らかの阻害因子となっていることが推測される。

カドミウムは骨に蓄積してイタイイタイ病を発症させ鉍毒として恐れられたが、電池に使われるなど日常生活上有用な金属である。近年の研究でこの金属が細胞の死（アポトーシス）を誘導する⁽⁷⁾という報告もあり、人体への影響の機序が明らかにされつつある。偏西風がもたらす酸性雨が土中の金属を溶かし飲料水中の微量金属の濃度を上昇させ、カドミウムの例にみるような生物への

影響が懸念される。加えて、大量消費の生活が環境を汚染するという状況のもとで、我々は身体運動によって健康を増進しようと考えている。風土的に軟水を飲用する国である日本ではカルシウム摂取量は不足がちであり、そのような状況の中で土中の微量金属の一つであるアルミニウムとカルシウム不足の骨に対する相乗作用の有無を検索した。

材料と方法

本研究のために、7週齢ウイスター系雄ラット41匹を用い、6群に分けて4週間飼育した。第1群には通常の飼料（日本配合飼料株式会社製、マウス・ラット・ハムスター用固形飼料、CE-2）と水道水を与え、第2群には通常の飼料と1dl当たり100mg（100mg/dl）の塩化アルミニウムを加えた水道水を与えた。第3群にはカルシウムを10%に減らした飼料と蒸留水を与え、第4群にはカルシウムを10%に減らした飼料と100mg/dlの塩化アルミニウムを加えた蒸留水を与えた。また、第5群は第4群と同じ条件で2週間飼育したあと通常の飼料と水道水にかえ、第6群は第4群と同じ条件で2週間飼育したあと通常の飼料と100mg/dlの塩化アルミニウムを含む水道水にかえた。

アルミニウム投与実験は、腹腔あるいは静脈へ注射する方法と経口的に飲食物として投与する方法に分けられる。前者はアルツハイマー病が腎臓疾患の人工透析患者に多発したことを背景にした投与方法と考える。筆者らは自然界からの取り込みを想定して経口投与を行った。経口投与もアルミニウムを飼料に混ぜる方法と飲料水に混ぜる方法が考えられるが、実験の簡便な飲料水への混入方法を採用した。投与量は腹腔内あるいは静脈注射の場合1mg単位で行われているが、Owen et al.⁽⁸⁾がケーキとジュースを与える実験群に445mg

/kgと100mg単位の投与を行っていることを参考に、100mg/dlに設定した。

飼育開始から4週間後、全ての動物をネンブタール麻酔・屠殺して腹大動脈より固定液を注入し灌流固定を行った。固定液は2%グルタルアルデヒド (TAAB製) と1%パラホルムアルデヒド (MERCK製) をリン酸緩衝液に溶かし、pH7.4に調整したものを用いた。約30分灌流したあと、脛骨を切り出してその近位部を正中断し、更に120分間浸漬固定を施した。その後、0.1M・EDTA (Nakalai Tesque 製エチレン・ジアミン・4 酢酸を0.1M カコジレート溶液に溶かし、pH7.4に調整) で5週間脱灰したあとアルコールで脱水しパラフィンに包埋した。

試料は滑走マイクロトーム (大和光機製) で10 μ mの厚さに切り、海綿骨の骨量測定のためのアザン染色、または破骨細胞を観察するための酒石酸抵抗性・酸性フォスファターゼ (TRAP) -メチルグリーン・ピロニン染色を施した。また、一部の試料にはTUNEL染色を施してアポトーシスを検索した。

骨端軟骨板に続く一次海綿骨は約1mmの厚みを持っているが、低カルシウム飼料投与の第3群ではその厚さが約半分減る。そこで低カルシウム飼料投与群の一次海綿骨の厚さに合わせ、軟骨板に続く340 μ mの厚さを近位、これに続く340 μ mを

遠位の一次海綿骨として骨量と破骨細胞数を計測した。骨量測定は、接眼レンズ10倍、対物レンズ10倍の組み合わせでアザン染色試料を撮影し、遠位と近位の一次海綿骨および成長軟骨板から1mm離れた二次海綿骨の幅500 μ m x 厚さ340 μ mの広がりの中で行った。Merz and Schenk⁽⁹⁾のヒストモルフometryを参考にしながら、この広がりの中に50 μ m間隔の格子を当て、1試料につき任意の2個所を計測した。破骨細胞数の計測は、VANOX-AH2 顕微鏡下で接眼レンズ10倍、対物レンズ20倍にセットして行った。ここに示される数値は、平均値の95%信頼区間を求め、各々の処置群間で比較検討された。

結 果

一次海綿骨を軟骨板に近い部分 (近位一次海綿骨) とこれより遠い部分 (遠位一次海綿骨) に分け (Figs. 1, 2); 単位面積当たりの骨量と破骨細胞数を計測した。

近位一次海綿骨 (Table 1) は通常飼料を投与した第1・第2群間ではアルミニウム投与により海綿骨骨量が若干減少する程度であり、有意差はない。低カルシウム飼料投与 (第3群) はこの部位の骨量を有意に減少させるが、アルミニウムを同時に投与すると (第4群) 減少が若干抑えられる。低カルシウム飼料とアルミニウムを同時に投

TABLE 1. Bone volume in the proximal area of primary spongiosa.

処 置	個体数	標本数	平均値	95% C L	標準偏差
CONTROL	7	57	45.6	43.1 , 48.1	9.4
CONT・Al	8	73	42.5	41.0 , 44.1	6.7
LOW Ca	10	80	26.8	23.5 , 30.1	14.8
LOW Ca・Al	11	89	34.9	33.4 , 36.5	7.5
LOW Ca・Al					
-CONTROL	2	15	22.5	19.8 , 25.1	4.8
LOW Ca・Al					
-CONT・Al	3	29	35.4	31.4 , 39.4	11.5

与した場合、飼育2週間後に通常飼料に変えて2週間経過した後も骨量は回復しないが(第5群)、通常飼料に変える際アルミニウム投与を続けると(第6群)回復が著しい。

遠位一次海綿骨の骨量(Table 2)は、通常飼料とともにアルミニウムを投与した第2群の場合対照の第1群より若干減少するが、第3群の値は第1群との間に差異は認められない。低カルシウム飼料とともにアルミニウムを与えると(第4群)この部位の骨量は有意に減少する。低カルシウム・アルミニウム飼育2週間ののち通常飼料に変えて2週間経過した動物群では、骨量はアルミニウム

の存非に拘わらず著しく増加する。

骨端軟骨板から1mm以上離れた二次海綿骨の骨量(Table 3)は、第2群の場合第1群より有意に減少する。この部位の骨量は低カルシウム飼料投与により著しく減少するが、低カルシウム飼料とともにアルミニウムを投与することにより減少が若干抑えられる。低カルシウム飼料・アルミニウム投与2週間ののち通常飼料に変えた場合は、アルミニウムの存在下でも骨量の回復は顕著である。

アルミニウム投与群の近位一次海綿骨に、骨に置換されずに残った石灰化軟骨が大量に見られ、

TABLE 2. Bone volume in the distal area of primary spongiosa.

処 置	個体数	標本数	平均値	95% C L	標準偏差
CONTROL	7	56	24.1	22.1 , 26.2	7.7
CONT・Al	8	73	21.4	19.6 , 23.2	7.6
LOW Ca	10	80	25.7	22.7 , 28.8	13.7
LOW Ca・Al	11	89	14.8	13.2 , 16.3	7.4
LOW Ca・Al					
-CONTROL	2	15	33.3	29.3 , 37.4	7.3
LOW Ca・Al					
-CONT・Al	3	30	27.5	22.8 , 32.1	12.5

TABLE 3. Bone volume in the secondary spongiosa.

処 置	個体数	標本数	平均値	95% C L	標準偏差
CONTROL	7	57	16.6	14.5 , 17.7	8.0
CONT・Al	8	68	13.1	11.0 , 15.2	8.6
LOW Ca	10	81	7.3	6.1 , 8.4	5.2
LOW Ca・Al	11	88	9.6	8.5 , 10.8	5.3
LOW Ca・Al					
-CONTROL	2	16	16.6	11.1 , 22.2	10.6
LOW Ca・Al					
-CONT・Al	3	25	12.9	10.6 , 15.2	5.6

低カルシウム飼料・アルミニウム投与の第4群においてその傾向が顕著である (Fig. 1)。石灰化軟骨はアザン染色では濃青色の骨基質にはさまれて淡青色に染まっている。また、第4群の近位一次海綿骨に石灰化軟骨が大量に残存するのに対応して、低カルシウム飼料を投与した場合アルミニウムの存否に拘わらず巨大な破骨細胞が増加する (Figs. 2 c, d)。近位一次海綿骨の破骨細胞の数は、通常の飼料を投与した場合 (第1・第2群) アルミニウム投与により若干の減少傾向を示すが、有意差はない (Table 4)。低カルシウム飼料投与により、破骨細胞は有意に増加し (第3群)、これに加えてアルミニウムを与えると (第4群) 更なる増加がみられる (Table 4)。遠位一次海綿骨 (Table 5) の破骨細胞の数は第1群と第3群で差異はないが、第2群と第4群は増加している。低

カルシウム・アルミニウム飼育2週間ののち通常の飼料に変えた場合は、アルミニウム投与 (第6群)・非投与 (第5群) に拘わらず、近位一次海綿骨は第1群の値に近づくが、遠位一次海綿骨においては破骨細胞の数はなお多いままである。

TUNEL法により脛骨近位部の破骨細胞のアポトーシスの状況を観察した。成長軟骨板は、未処置の対照群とアルミニウム投与群、低カルシウム群、低カルシウム・アルミニウム群の全ての処置群において肥大軟骨層の拡大が起こり、その部位の軟骨細胞の核にTUNEL陽性反応が見られた (Fig. 3)。骨幹端皮質骨の破骨細胞には対照群もしばしばアポトーシス像が見られ、この部位の細胞の代謝回転の速さを推測させる (Fig. 4)。しかし、海綿骨の部位では実験群でも破骨細胞のアポトーシス像に遭遇することは少ない (Fig. 5)。

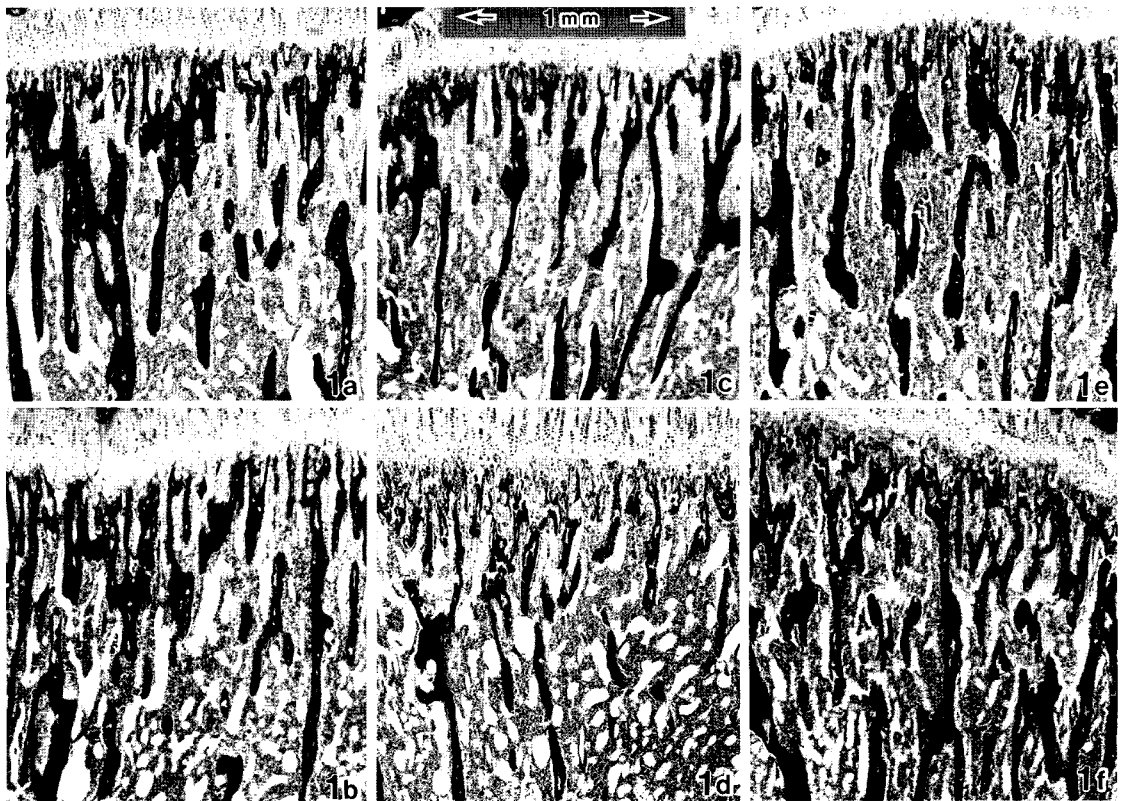


Fig. 1: Azan-stained metaphyseal cancellous bone of the proximal tibiae. a: control rat, b: aluminium administration to the control animal, c: low calcium diet, d: aluminium administration to animals with a low calcium diet, e: transferred to the normal diet and tap water after two weeks of low calcium diet with aluminium containing tap water, f: transferred to the normal diet with aluminium administration after two weeks of a low calcium diet with aluminium.

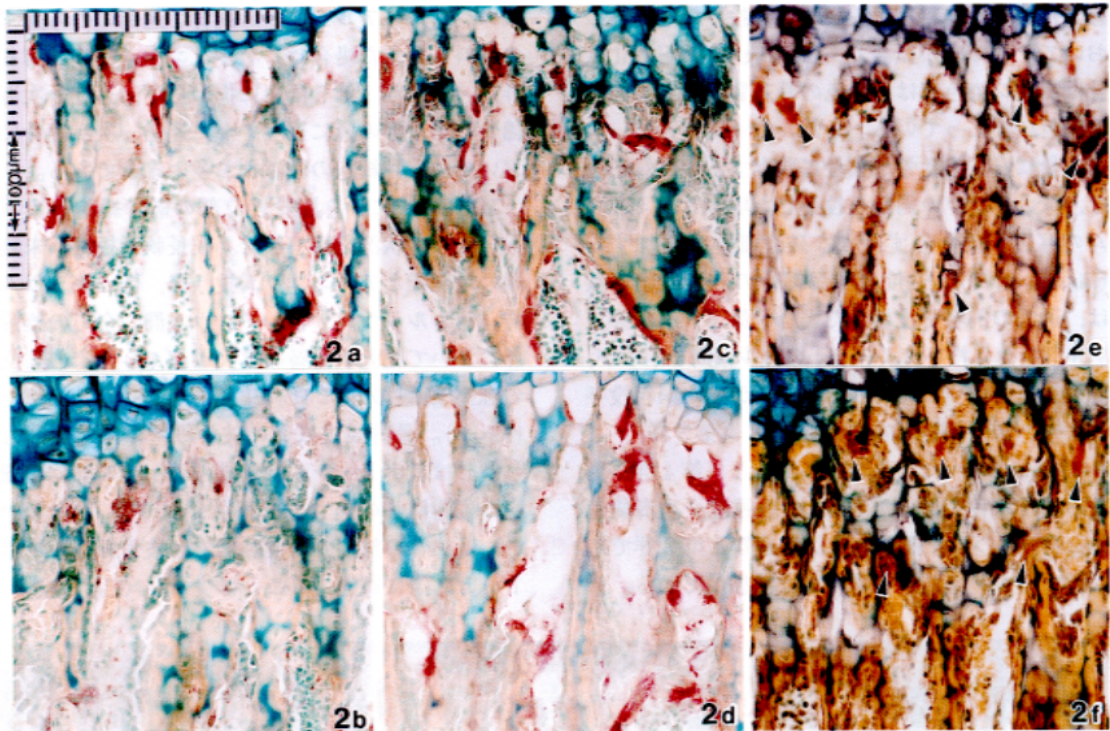


Fig. 2: Difference in the number of tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) positive osteoclasts in the metaphyseal cancellous bone of the proximal tibiae. Specimens were counter-stained with methylgreen-pyronine. The letters a-f in the figures are referable to the experimental groups indicated in Fig 1. Arrow heads were given to some TRAP-positive osteoclasts to distinguish their location.

TABLE 4. Number of osteoclasts within the restricted area of the proximal primary spongiosa.

処 置	個体数	標本数	平均値	95 % CL	標準偏差	最小・最大値
CONTROL	7	70	7.1	6.7 , 7.5	1.8	4 - 12
CONT・Al	8	84	6.7	6.2 , 7.2	2.4	2 - 15
LOW Ca	10	96	8.3	7.7 , 8.9	3.2	4 - 21
LOW Ca・Al	11	107	11.8	11.3 , 12.3	2.6	7 - 20
LOW Ca・Al -CONTROL	2	31	8.5	7.6 , 9.4	2.4	5 - 13
LOW Ca・Al -CONT・Al	3	43	6.2	5.2 , 7.2	3.1	1 - 13

考 察

アルミニウムが人体に有害であるという考え方は、この元素がアルツハイマー病患者の脳に蓄積

していたという知見に端を発する。健康な成人男性に対するアルミニウム投与実験¹⁰⁾によると、正中皮静脈から注入されたアルミニウムの同位元素 (²⁶Al, 84ng) は1日のうちにその59%が尿中

TABLE 5. Number of osteoclasts in the restricted area of distal primary spongiosa.

処 置	個体数	標本数	平均値	95 % CL	標準偏差	最小・最大値
CONTROL	7	70	1.8	1.4 , 2.2	1.6	0 - 8
CONT・Al	8	72	2.5	2.2 , 2.8	1.1	0 - 5
LOW Ca	10	108	1.9	1.7 , 2.1	1.3	0 - 6
LOW Ca・Al	11	119	2.8	2.5 , 3.1	1.7	1 - 12
LOW Ca・Al -CONTROL	2	32	5.7	4.6 , 6.8	3.0	2 - 12
LOW Ca・Al -CONT・Al	3	44	3.0	2.6 , 3.4	1.4	1 - 9

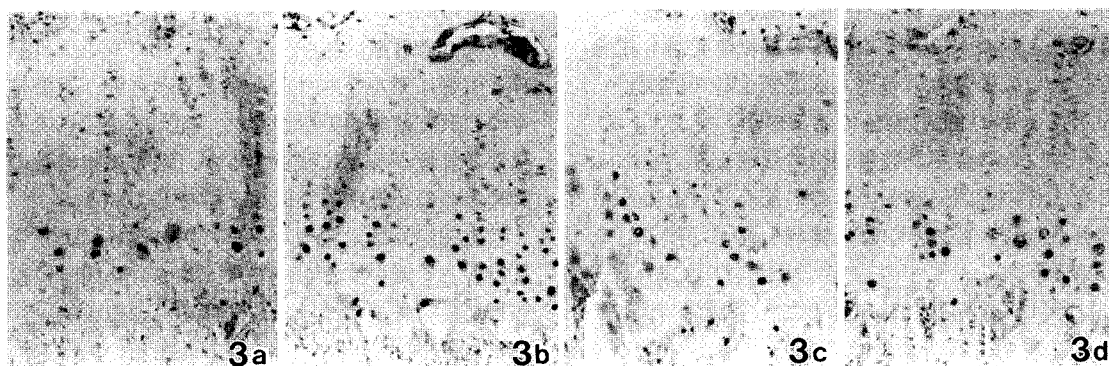


Fig. 3.: TUNEL-staining to visualize apoptosis in the epiphyseal cartilage plate. The order of figures a-d is referable to Fig. 1. Compared with the control, apoptosis of cartilage cells seems to be significant in b, c, and d.

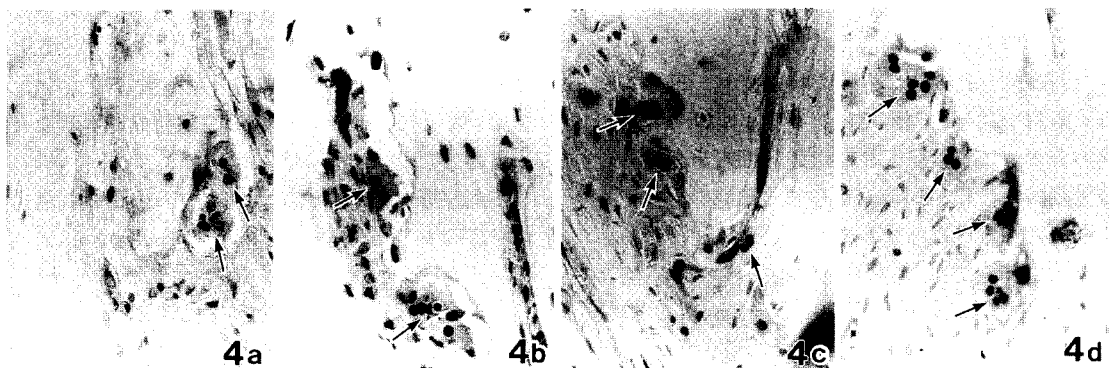


Fig. 4: TUNEL-staining to visualize apoptotic-osteoclasts at the metaphyseal cortex. Arrows indicate apoptotic osteoclasts.

に排泄されるが、5日経っても27%は体内に残存する。同報告はさらに、投与されて1日後の血液中の残存量は2%で、便中に出る量は5日で1.2%と極めて少なく、3年経っても4%は体内に残

るといふ。

成長軟骨板に接する近位一次海綿骨の骨量と破骨細胞数の変動を第1群(図3-7中のCONTROL)と第2群(図3-7中のCONT・Al)の

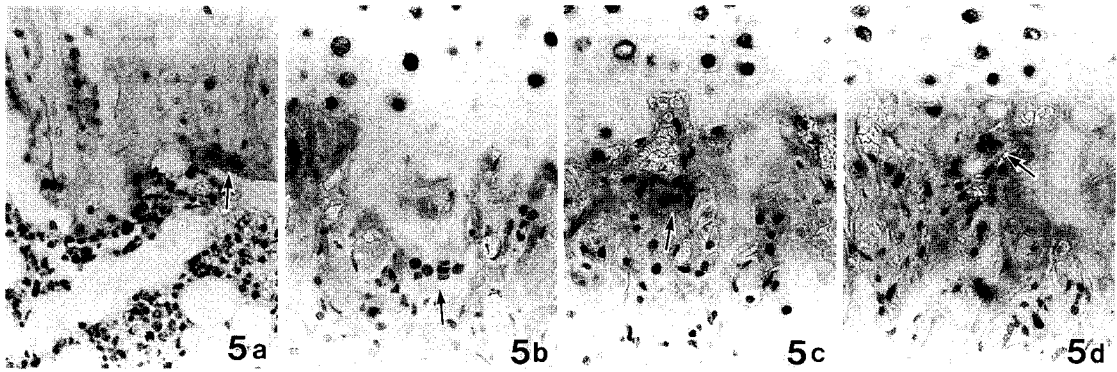


Fig. 5: TUNEL-staining for osteoclasts in the metaphyseal cancellous bone.

間で比較してみると、アルミニウム単独投与の場合は、有意差はないものの破骨細胞の数を減少させることがわかる。その際この部位の骨量も減少し、かつ成長軟骨板の肥大軟骨細胞層が拡張していることを TUNEL 染色の結果が示しており、アルミニウムの作用が破骨細胞の活性を抑えるのみでなく骨の代謝回転そのものに及んでいることが推測される。低カルシウム飼料を与えた第3および第4群(図3-7中のLOW CaおよびLOW Ca・Al)では破骨細胞数はやや増加し、これに伴って骨量は著しく減少する。合志ら⁽⁵⁾はラットに副甲状腺ホルモン(PTH)を注射した場合、破骨細胞がしばしば巨大化することを報告しているが、低カルシウム飼料を投与した場合も、破骨細胞は数の変動のみならず細胞自体が巨大化することもすでに報告した^(6, 7)。今回の実験でも、低カルシウム飼料を投与した群ではアルミニウムの存否に拘わらずしばしば巨大化した破骨細胞を認めた。破骨細胞の数の増加のみならず同細胞の巨大化も骨吸収亢進をもたらすものと思われる。

一次海綿骨と二次海綿骨の境界については、Yeh et al.⁽¹⁷⁾は成長軟骨板から1-4mmの範囲を二次海綿骨として digitizer で骨量を計測したと記載し、Kato et al.⁽⁸⁾は成長軟骨板から0.7mmを一次海綿骨、1.2mm以上を二次海綿骨として骨量を計測している。筆者らもほぼこれに準じて対照群で成長軟骨板から1mmまでを一次海綿骨としたが、この層の厚さは実験的処置により著しく変動する。一次海綿骨の遠位部の破骨細胞数は、正

常飼料投与群も低カルシウム飼料投与群もアルミニウムの同時投与により増加し、これに対応してこの部位の骨量は減少している。低カルシウム飼料と同時にアルミニウムを与えると近位一次海綿骨の石灰化軟骨の吸収が遅れ、加えて遠位一次海綿骨の骨量が有意に減少するが、破骨細胞の数の変動もこの組織学的な変化を示唆している。

二次海綿骨は、低カルシウム飼料投与により骨量が著しく減少するが、アルミニウムを同時に投与した場合骨量の減少は若干抑えられる。低カルシウム飼料投与群にアルミニウムを与えた場合、近位一次海綿骨に形成される骨の石灰化軟骨の量が他の実験群に比べて多いという所見は得られたが、この実験が骨芽細胞の動態に関する実験系を含んでいないので骨形成にこれ以上論及することはできない。二次海綿骨の破骨細胞数に関しては、骨梁が極めて疎で計測の枠の設定自体が困難なため省略した。

体内に取り込まれたアルミニウムの蓄積部位については幾つかの報告がある。Owen et al.⁽¹¹⁾はモルモットを用いて、飲食物から大腿骨、脳、および腎に取り込まれる銅、亜鉛、アルミニウムの量を測定した。その中のアルミニウムに関しては、脳に蓄積される量は測定限界以下であり、骨および腎では高い値を示し、クエン酸を同時に与えると骨への蓄積率が上昇したと報告している。前出のO'Mahony et al.⁽¹⁰⁾の研究結果もアルツハイマー病において、アルミニウムの過剰吸収や組織への蓄積があると言う仮説には否定的であり、

骨のアルミニウム量も対照群より痴呆群の方が低かったと報告している。Goodman et al.⁽⁴⁾はまた、雑種犬にアルミニウム1mg/kg/dayを3-5週間静脈注射し、骨に蓄積するアルミニウムの量を測定した結果、類骨と骨基質のアルミニウム蓄積が顕著であることを報告している。これに対しFlorence et al.⁽²⁾はWistarラットを使った実験で、クエン酸アルミニウムを飼料に混ぜて与えることにより6ヶ月で肝とともに脳に通常の25-30倍のアルミニウム蓄積を起こさせると報告している。

アルミニウムによる組織学あるいは細胞学的変化については、Goodman et al.⁽³⁾は、腎臓を一部残したラットを腎疾患の実験モデルとして塩化アルミニウムを週5回4週間腹腔内に注射し、アルミニウムが新しい骨の形成を阻害するが、腎臓摘出群にも対照群にもアルミニウム投与によるosteomalaciaは起こらなかったと報告している。一方Florence et al.は前出の報告⁽²⁾に、グリア細胞と神経細胞に細胞形質の著しい空胞化が起っていたと述べている。アルミニウムが変性を伴う脳障害を起こさせるというこの報告をもとに、破骨細胞のアポトーシスを検索した。本実験の結果からは、通常の飼料とともにアルミニウムを投与した動物で破骨細胞数に若干の減少を見たが、海綿骨の破骨細胞にアポトーシスが亢進したことを示す所見は得られなかった。但し、骨幹端皮質骨にはTUNEL陽性の破骨細胞がどの実験群にもしばしば見られた。この傾向はアルミニウム投与の第2および第4群では特に顕著であり、この点については引き続き検索を進めている。アルミニウムが骨化を阻害するという報告はほかにもあり^(1, 13)、植物の根端の成長を阻害する⁽¹⁵⁾などの報告があることも先に述べた通りであり、この元素が許容限度を超えて体内に取り込まれると物質代謝が阻害されていることがわかる。本研究も含め、多くの実験結果はアルミニウムが骨に蓄積され、骨の成長やリモデリングを阻害することを示している。

本実験では低カルシウム飼料投与によって起こる近位一次海綿骨の骨量の減少がアルミニウム同時投与により若干抑えられることが明らかになっ

た。また低カルシウム飼料・アルミニウム投与から正常飼料に戻した場合、アルミニウム投与を続けたほうが骨量の回復が著しいなどの所見が得られた。Florence et al.⁽²⁾の実験では鉄を含まない飼料にクエン酸アルミニウムを混ぜた場合の体内蓄積率が著しく高いという知見があり、Owen et al.⁽¹¹⁾はクエン酸を同時に与えると蓄積率が上昇するという。造血剤や制酸剤の内服や食物の調理法など、人の日常生活の中で起こっていることがアルミニウムの体内蓄積と深くかかわっていることを伺うことができる。

引用文献

- 1) Blumenthal, N.C. and Posner, A.S. : In vitro model of aluminium-induced osteomalacia. Inhibition of hydroxyapatite formation and growth. *Calcif Tissue Int*, 36, 439-441, 1984.
- 2) Florence, A.L., Gauthier, A., Posner, C., Van den Bosh de Aguilár, P., and Chrichton, R.R. : An experimental animal model of aluminium overload. *Neurodegeneration*, 3, 315-323, 1994.
- 3) Goodman, W.G., Gilligan, J., and Horst, R. : Short-term aluminium administration in the rat. Effect of bone formation and relationship to renal osteomalacia. *J Clin Invest Inc*, 73, 171-181, 1984.
- 4) Goodman, W.G., Henry, D.A., Horst, R., Nudelman, R.K., Alfrey, A.C., and Coburn, J.W. : Parenteral aluminium administration in the dog. II Induction of osteomalacia and effect on vitamin D metabolism. *Kidney International*, 25, 370-375, 1984.
- 5) 合志徳久, 小杉一夫, 早川敏之, 妹尾清一, 向井良太, 杉山正伸: ラット尾骨の破骨細胞におけるacid phosphatase および adenosine triphosphatase (ATPase) 活性の局在に対するホルモン (Parathyroid hormone: PTH, Calcitonin: CT) の作用. *慈医誌*, 95, 1-18, 1980.
- 6) 合志徳久, 花城三奈: 坐骨神経切断ラットあるいは低カルシウム飼料投与ラットにおける二次海綿骨骨量の減少. *鹿屋体育大学学術研究紀要*, 14, 45-51, 1995
- 7) Goshi, N. and Tamaki, H. : Influence of aluminium and/or low calcium feed on the rat tibiae. *Proceedings for the 54th annual meeting of anatomists in the Kyushu district*, 24-25, 1998.
- 8) Kato, S., Sato, K., Sato, T., Gen, M., and Miyakoshi, N. : Effects of vitamin K2 and calcitonin on bone resorption model induced by vitamin A in

- thyroparathyroidectomized rats. *J Bone Miner Metab*, 15, 193-205, 1997.
- 9) Merz, W.A. and Schenk, R.K. : Quantitative structural analysis of human cancellous bone. *Acta Anat*, 75, 54-66, 1970
- 10) O'Mahony, D., Denton, J., Templar, J., O'Hara, M., Day, J.P., Murphy, S., Walsh, J.B., and Coakley, D. : Bone aluminium content in Alzheimer's disease. *Dementia*, 6, 69-72, 1995.
- 11) Owen, L.M.W., Crews, H.M., Massey, R.C., and Bishop, N.J. : Determination of Copper, Zinc and Aluminium from dietary sources in the femur, brain and kidney of guinea pigs and a study of some elements in IN VIVO intestinal digesta by size-exclusion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst*, 120, 705-712, 1995.
- 12) 桜井 弘：金属は人体になぜ必要か…なければ困る銅, クロム, モリブデン。講談社ブルーバックス, 1996
- 13) Severson, A.R., Haut, C.F., Firling, C.E., and Huntley, T.E. : Influence of short-term aluminium exposure on demineralized bone matrix induced bone formation. *Arch Toxicol*, 66, 706-712, 1992.
- 14) Talbot, R.J., Newton, D., Priest, N.D., Austin, J.G., and Day, J. P. : Intersubject variability in the metabolism aluminium following intravenous injection as citrate. *Human Exp Toxicol*, 14, 595-599, 1995.
- 15) Wissemeyer, A.H. and Horst, W.J. : Effect of calcium supply on aluminium-induced callose formation, its distribution and persistence in roots of soybean (*Glycine max (L.) Merr.*) *J Plant Physiol*, 145, 470-476, 1995.
- 16) Yan, H., Carter, C.E., Singh, P.K., Jones, M.M., Johnson, J.E., and Dietrich, M.S.: Cadmium-induced apoptosis in the urogenital organs of male rat and its suppression by chelation. *J Toxicol Environmental Health*, 52, 149-168, 1997.
- 17) Yeh, J.K., Chen, M-M. and Aloia, J.F. : Skeletal alterations in hypophysectomized rats. 1. A histomorphometric study on tibial cancellous bone. *Anat Rec*, 241, 505-512, 1995.