

女子陸上競技選手における骨粗鬆症と  
ホルモン異常の関連性についての研究  
— 若年ラットの骨密度に対する卵巣摘出と  
強制走行負荷の影響 —

日本大学 福島 一 雅  
(共同研究者) 同 布袋屋 浩  
同 齊 藤 明 義  
同 佐 藤 勤 也  
同 村 井 一 郎

**Osteoporosis and Dysendocriniasis in Female Athletes**  
— The Effects of Running Loading and Ovariectomy  
on Bone Mineral Density in the Rat —

by

Kazumasa Fukushima, Koh Hoteya,  
Akiyoshi Saito, Kinya Sato

*Nihon Univ. Department of Orthopaedic Surgery*

Ichiro Murai

*Nihon Univ. Department of Biochemistry*

**ABSTRACT**

Based on recent evidences, female athletes with ammenorrhoe accompany low bone mineral density (BMD) at a high incident rate. In this study, we investigated the effects of running loading (R) and/or ovariectomy (OVEX) on BMD in the rat. SD rats (5 W old) were divided into four groups and subjected to ;

1) sham operation alone (SHAM-N ; no-running), 2) SHAM followed by running loading (SHAM-R), 3) OVEX without running (OVEX-N), and 4) OVEX with running loading (OVEX-R). Running loading was performed with a motor-driven treadmill at speed of 18 m/min for 1 h everyday for 3 months. At the end of the experiment, rats were sacrificed, and the BMD in the femur and the spine were measured by DEXA. In SHAM groups, running loading significantly increased BMD of either the femur or the spine. This trend was similar in both cortical and cancellous sites of the femur. In contrast, OVEX resulted in a significant decrease in BMD of the spine. However, there was no effects on BMD in the femur. Moreover, running loading in OVEX rat decreased BMD of the femur, in either cortical or cancellous sites.

The present data suggests that : 1) running loading (18 m/min for 1 h) is effective to increase BMD in either the femur or the spine under normal hormonal state, and 2) low circulating estrogen state may induce a decrease in BMD of the spine and reverse the effects of running exercise on BMD of the femur. Since female athletes with amenorrhoe usually have low BMD in the lower extremities, it is suggested that over-exercise under low estrogen appears to cause decreases in BMD and further induce the fatigue fracture.

## 要 旨

女子陸上長距離選手における無月経と骨密度低下の原因解明のため、生殖機能発現期の若年ラットに卵巣摘出術 (OVEX) を行い、実験的無月経ラットを作製して強制走行負荷 (R: running) を行い、骨密度の変化について無走行 (N: no-running) および偽手術 (SHAM) 群と比較検討した。

その結果 1) DEXA による大腿骨骨密度の分析によれば OVEX-R, N の両群は SHAM-N 群に対して有意な低値となり、さらに OVEX-R 群は OVEX-N 群よりさらに減少するのが認め

られた。一方、SHAM ラットにおいては R 群は N 群より有意な上昇を示した。

2) 大腿骨骨密度は、殊に皮質骨部で低値を示し、海綿骨部では著明な変化はみられなかった。

3) 第三腰椎骨密度は OVEX-R, N の両群がともに SHAM-N 群より有意に低値であったが、OVEX ラットでは R 群と N 群には差が認められなかった。

以上の結果から、OVEX-R 群は大腿骨および第三腰椎骨密度の変化において、無月経をとともなう女子陸上競技選手の状態に極めて近似したものと推察される。

## はじめに

近年、スポーツ医学の進歩により一般的骨粗鬆症とは別に、女子運動選手、とくに陸上長距離選手における月経異常の発症とこれに付随する骨密度の減少との関連性が指摘されている<sup>1-4)</sup>。さらに骨密度の減少は疲労骨折のリスクファクターとなりうること、あるいは将来的に骨粗鬆症を発症させる可能性をも含んでいることなどが社会的問題となりつつある。しかし、無月経の誘因についても1) ホルモンの分泌異常2) 精神的ストレスあるいは3) 体脂肪量の減少などの諸説が存在し、まだ一定の見解に至っていないのが現状である。

また、閉経後の骨粗鬆症が、脊椎椎体骨を主体にその稀薄化がおこるのに対して、女子運動選手における疲労骨折は脛骨に発生するのが一般的であり、このことは運動選手におこるこれらの異常が、複雑な機構の下に存在していることを示唆している。そこでその病態を把握し、それに対する適切な治療法を確立するためには、女子選手における実態調査、たとえば月経周期、ホルモン動態、あるいは骨密度などの定期的検診を行うことはもとより、基礎的検討のための動物モデルの確立が重要と考える。

そこでわれわれは若年ラットに対する卵巣摘出と運動負荷による骨密度の変化について検討した<sup>5)</sup>。しかし、従来行われている骨粗鬆症の動物モデル作成は、走行負荷を与えることなく、卵巣摘出とともに低カルシウム食の投与に依存されており、これらの実験系は女子運動選手のモデルとしてはやや適切ではないと思われる。また一般的には、ラットへの走行運動負荷はヒト同様に、骨密度を増加させることが知られている。

そこで、われわれの実験では、若年ラットに卵巣摘出(OVEX)とともに強制走行負荷(R: running)を行い、これらが大腿骨および椎体の骨密度に及ぼす影響について検討することを主な目的

表1 走行速度および時間

第1日	4 m/min	10min
第2日	7 m/min	20min
第3日	11m/min	30min
第4日	14m/min	40min
第5日	18m/min	50min
第6日	18m/min	60min

とした。また、大腿骨に関しては、部位的な検討を行うためにこれを皮質骨部と海綿骨部に区別したうえで、その骨密度をそれぞれ比較した。

## 1. 実験材料ならびに方法

## 1.1 実験動物およびプロトコール

生後5週齢、平均体重123gのSprague-Dawley系メスラット(以下S-D系ラット)28匹を1週間の予備飼育をした後、ネンブタール麻酔下にて卵巣摘出術、あるいはSham手術を施行し、生後6週齢より強制走行訓練を坂本の方法<sup>6)</sup>と同様に行った。すなわち表1に示すように、段階的に走行速度および時間を増加させ、最終的に各ラットの走行能力を検者が判断して以下の4群、つまりSham手術後の無走行(N:no-running)群(以下SHAM-N群)、卵巣摘出後の無走行群(以下OVEX-N群)、卵巣摘出後2週目(生後7週齢)より18m/minの走行速度で1日1時間の強制走行を行った群(以下OVEX-R群)、およびSham手術後2週目よりOVEX-R群と同様の強制走行を行った群(以下SHAM-R群)に分けた。

なお、走行負荷は12週間の継続実験とし、ラット強制走行装置はシナノ製作所製TREAD-MILLモデルSN-460を使用した。それぞれのラットは各群ごとにケージにて飼育し、標準固形飼料(オリエンタル酵母工業社製)と飲料水とともに自由摂取とした。また飼育環境は一定の室温(24±2度)で、照明は12時間の明暗サイクルを保持した。

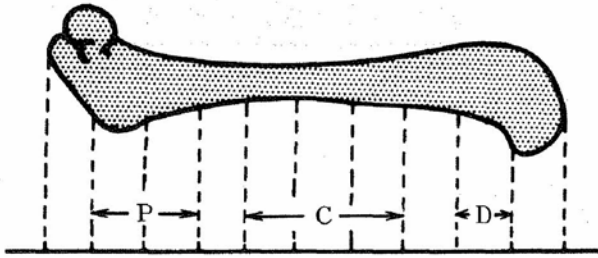


図1 DEXAによる大腿骨骨密度の測定  
 大腿骨を10等分し P:近位海綿骨部分(大腿骨転子部) C:皮質骨部分(大腿骨骨幹部) D:遠位海綿骨部分(大腿骨顆部)に區別して骨密度を分析した(実験方法参照)

## 1.2 Dual Energy X-ray Absorptiometry による大腿骨および腰椎椎体の骨密度の測定

12週目の実験終了時にラットを断頭し、大腿骨を摘出したうえ、骨密度をアロカ社製DCS-600二重X線骨塩量測定装置を用いてDual Energy X-ray Absorptiometry(以下DEXA)により測定した。なお測定値はPC-9801を介してロータス1, 2, 3上に読み込み、データ解析を行った。そしてDEXAによる評価は図1に示すように、大腿骨を長軸方向に10等分し各部位の測定を行ったが、最も近位と遠位の部分は関節部分となり、軟骨成分が多く含まれるために削除した。さらに大腿骨では転子部を近位海綿骨部分(P)、顆部を遠位海綿骨部分(D)とし、骨幹部(C)を皮質骨部とした。また、非荷重骨の変化を検討するため第三腰椎椎体を摘出し、前述の方法により骨密度を測定した。なおこの値は海綿骨として評価した。

以上の測定から得られた結果は、すべて平均値±標準誤差(SEM)で表示した。また、各群間の比較はt検定による統計処理を行い、危険率5%以下をもって有意差ありとした。

## 2. 結果

### 2.1 摘出大腿骨の骨密度

18週齢のラットの摘出大腿骨骨密度の平均値

はSHAM-N, SHAM-R, OVEX-N, OVEX-R群で、それぞれ $143.77 \pm 2.43$ ,  $159.43 \pm 3.29$ ,  $138.80 \pm 2.06$ ,  $129.05 \pm 2.46$  mg/cm<sup>2</sup>であり、SHAM-N群に比較してOVEX-R群は有意に低値(P<0.01)を示していた。またSHAM群とOVEX群に分けて評価すると、前者ではR群は高値(P<0.01)を示すのに対し、後者ではN群に対してR群が低値(P<0.01)を示した(図2)。

また大腿骨を10等分し、皮質骨部分と海綿骨部分に分けて評価した場合、皮質骨部分の平均値はそれぞれSHAM-N群:  $126.30 \pm 1.59$ , SHAM-R群  $131.85 \pm 2.25$ , OVEX-N群:  $124.58 \pm 1.17$ , OVEX-R群:  $115.44 \pm 1.84$  mg/cm<sup>2</sup>であり、すべての群において皮質骨部分は大腿骨全体の骨密度より低値を示した。また皮質骨部分でも大腿骨骨密度と同様、SHAM-N群に比べてOVEX-R群は有意に低値(P<0.01)であった。またSHAM群とOVEX群に分けると、前者ではR群は高値(P<0.01)を示すのに対し、後者ではN群に対してR群が低値(P<0.01)を

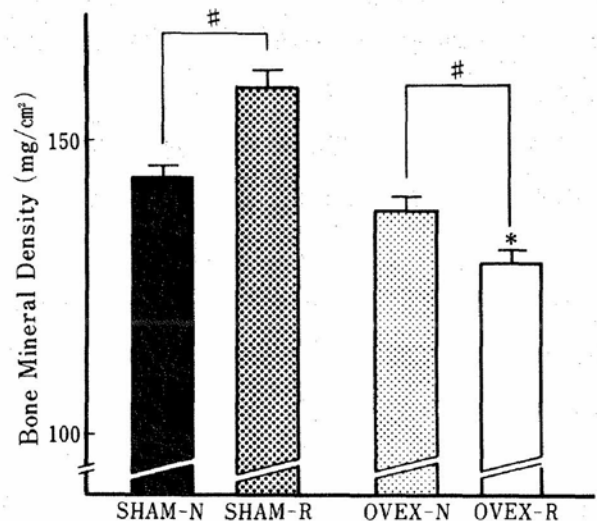


図2 卵巣摘出および強制走行の大腿骨の骨密度(全体)に対する影響

\* a significant difference VS SHAM-N (P<0.01)  
 # a significant difference between R and N groups (P<0.01)

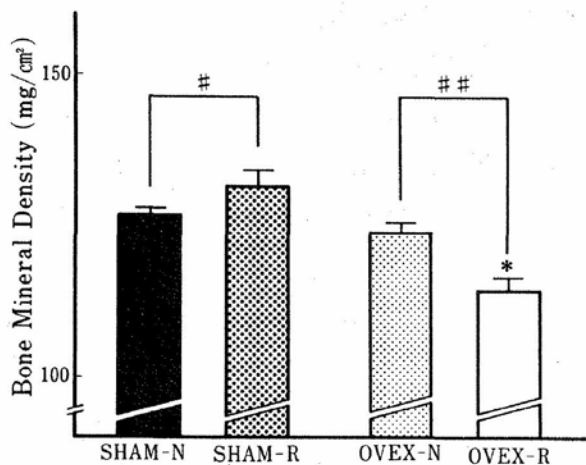


図3 卵巣摘出および強制走行の大腿骨皮質骨部分の骨密度に対する影響  
 \* a significant difference VS SHAM-N (P < 0.01)  
 # a significant difference between R and N groups (P < 0.05)  
 ## a significant difference between R and N groups (P < 0.01)

示した (図3)。

一方、海綿骨部分の骨密度の平均は、それぞれ SHAM-N 群：168.50 ± 2.44, SHAM-R 群：193.28 ± 3.29, OVEX-N 群：156.91 ± 2.77,

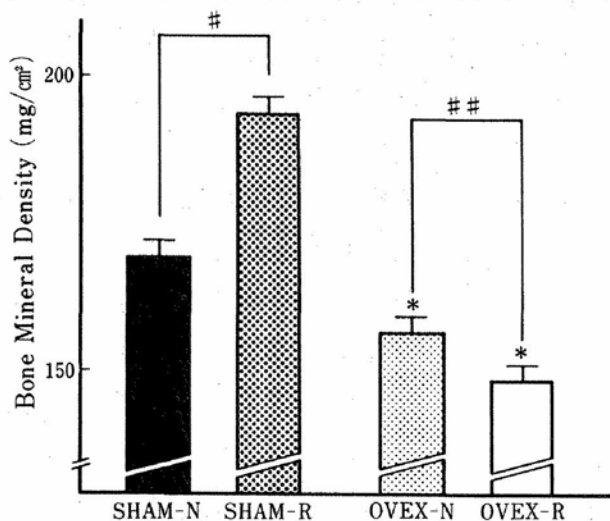


図4 卵巣摘出および強制走行の大腿骨海綿骨部分の骨密度に対する影響  
 \* a significant difference VS SHAM-N (P < 0.01)  
 # a significant difference between R and N groups (P < 0.01)  
 ## a significant difference between R and N groups (P < 0.05)

OVEX-R 群：148.77 ± 2.68 mg/cm<sup>2</sup>であり、この部分はいずれの群においても大腿骨全体の中では骨密度の高い部分であった。そして SHAM-N 群に比較して OVEX-N, R 群は有意に低値 (P < 0.01) であった。また SHAM 群と OVEX 群に分けると、前者では R 群は高値 (P < 0.01) を示したのに対し、後者では N 群に対して R 群が低値 (P < 0.01) を示した (図4)。

## 2.2 第三腰椎椎体の骨密度

18 週齢のラットの摘出第三腰椎椎体の骨密度の平均は、それぞれ SHAM-N 群：145.33 ± 3.80, SHAM-R 群：159.67 ± 3.72, OVEX-N 群：126.36 ± 2.16, OVEX-R 群：126.75 ± 3.33 mg/cm<sup>2</sup> であり、SHAM-N 群に比較して OVEX-N, R 群は有意な低値 (P < 0.01) を示した。SHAM 群と OVEX 群に分けると、前者では N 群に対して R 群が高値 (P < 0.01) を示したが、後者では有意差はみられなかった (図5)。

## 3. 考 察

周知のごとく、成長過程を終えた骨はストレス

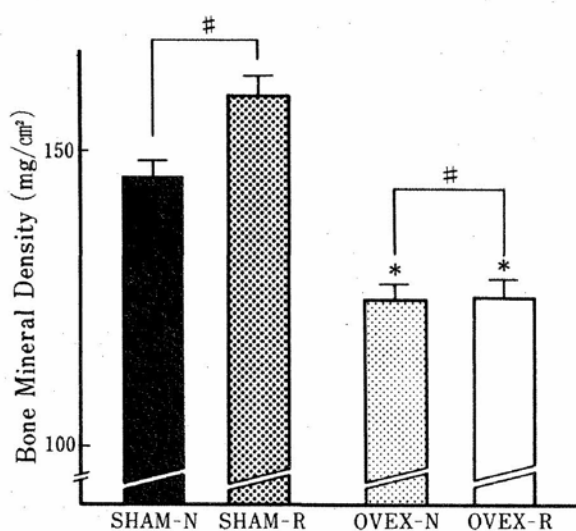


図5 卵巣摘出および強制走行の第三腰椎椎体の骨密度に対する影響  
 \* a significant difference VS SHAM-N (P < 0.01)  
 # a significant difference between R and N groups (P < 0.05)

あるいはその他の factor によって常に小さなダメージを受けており、この修復のための骨代謝、すなわちリモデリングが行われている。これは骨吸収と形成という相反する二つの過程から成立するが、骨粗鬆症はこのアンバランスによって引き起こされることが知られている<sup>7,8)</sup>。一般的に、女性の骨粗鬆症は主に閉経後に発症し、加齢による骨代謝の変化に起因するものであり、女性ホルモン、ことに estrogen の分泌不全がその第一の原因と考えられている。このため estrogen の骨リモデリングに対する作用が多くの研究対象となり、その結果をもとにした治療が行われているのが現状と思われる。

その一方で、近年のスポーツ医学の発展にともない女子運動選手、とくに陸上長距離選手におけるスポーツ障害としての月経異常、いわゆる運動性無月経と骨密度の低下が指摘されている。女子陸上競技選手に対する著者らの調査<sup>9,10)</sup>によれば、3ヵ月以上の無月経の既往が認められた選手は全体の約65%であった。そして、疲労骨折の既往については、正常月経周期を有するランナーの6.9%に対して、無月経をとまなう選手では22.0%と有意に高値を示し、さらに骨密度についても明らかに低下傾向が認められた。したがって、これまで運動は骨密度を増加させると考えられていたが、われわれの調査結果を合わせて考察すると、骨代謝に対する運動負荷の影響は骨密度増加と減少の相反する局面を有するのではないかと予想された。

骨代謝に及ぼす運動負荷の影響については以前より様々な報告がなされている<sup>11~14)</sup>が、その多くは閉経後あるいは加齢による骨粗鬆症に対する運動の効果、あるいは前述実験動物を用いた研究である。そのひとつとして、1892年 Wolff は<sup>15)</sup>、骨組織に対するメカニカルストレスは骨のリモデリングの過程における機能的要求に応じて、骨組織を強化する方向に作用すると報告し、Wolff's

law として広く受け入れられてきた。しかし、これに対して1975年 Booth ら<sup>16)</sup>は、成長期の動物の骨に対する軽度の運動負荷は骨成長に促進的に作用し、逆に過剰な運動はそれを抑制するという運動強度の違いによる骨成長への異なる影響について報告した。このことは女子陸上競技選手における骨密度の低下の原因解明にあたって、興味深いものであると考えられる。

そこでわれわれは、生殖機能が発現され始める生後4週齢のメスラットの卵巢を摘出し(無月経ラットのモデル)、強制的運動負荷の骨密度への影響を検討した。まず第1に、運動の負荷量についてはラットの自由運動を考慮する必要があると考えた。すなわち麻見ら<sup>17)</sup>の報告によれば、32週齢 Wistar 系ラットを用いた実験において、OVEX 後の1日平均自由走行距離は約1,000 m であり、一方、SHAM 群では約4,000 m であるとしている。また繁田ら<sup>18)</sup>は、6週齢 S-D 系 OVEX ラットでは約1,000 m であると述べている。このことは十分な運動負荷効果を得るためには単位時間あたりの自由運動量を上回る必要があることを示唆しており、さらに走行速度も運動効果の違いとなり、その結果として骨成長に関与すると勝田ら<sup>19)</sup>は報告している。

以上の文献的考察から今回の実験では、OVEX ラットの1日平均自由運動量を約1,000 m と仮定した。そして、これを OVEX 後に単位時間内で強制負荷した群 (OVEX-R 群) の骨密度の変化について OVEX 後の無走行群 (OVEX-N 群)、偽手術後の強制走行負荷群 (SHAM-R 群)、および無走行群 (SHAM-N 群) と比較検討した。その結果は前述の如く、大腿骨骨密度においてはそれぞれ無走行群と走行負荷群、あるいは OVEX 群と SHAM 群との間に有意差は認められ、第三腰椎骨密度についても OVEX 群と SHAM 群との間に有意差がみられ、いずれの部位においても骨密度は、SHAM-R, SHAM-N, OVEX-N,

OVEX-R の順に大であった。

ラットの骨密度変化を検討した従来の報告によれば、OVEX のみでは骨密度の低下を誘発しにくいとされ<sup>6)</sup>、その理由として以下のことが考えられる。まず、骨に対する estrogen の作用として、1) 骨成長の促進 2) 骨形成の促進 3) 骨吸収の抑制などが挙げられるが、これは estrogen が正常あるいは過剰に投与されたときの結果であり、低 estrogen 状態で必ずしもこの逆が生じるとは限らない。さらに女性の骨密度は 30 歳代で最大となり、その後は加齢とともに徐々に下降し、閉経とともに急激な低下がおこることが知られている。しかしこれに対してラットでは、生涯を通して骨成長が行われており、OVEX を行って低 estrogen 状態を作成したとしても、ヒトの閉経期と同様の状態となりえないため、これらのことがラットへの OVEX のみで骨密度の減少を生じ難い一因と推察される。

われわれの実験で、OVEX-R 群と OVEX-N 群の比較では、走行負荷のかかりやすい大腿骨において骨密度が有意に減少したが、一方、四足動物では、比較的加重負荷の少ない第三腰椎椎体における有意差は認められなかった。また、SHAM-R 群と SHAM-N 群では走行負荷がかかった方が骨密度は増加する結果となった。この点については、骨は生理的範囲内の物理的ストレス下においては骨吸収と骨形成の平衡が保たれ、その形態と密度は一定となるが、過剰な負荷あるいは骨の抵抗力の低下によって、そのバランスが失われ、病的状態が生じるといわれている。したがって、SHAM 群における本実験の走行負荷は、生理的範囲内の運動であったことが裏付けられ（先述したように 1 日の自由運動が 4,000 m と考えられるため）、骨密度の増加がみられたものと考えられた。

しかし、OVEX 群における今回の負荷は、椎体に対しては走行によるストレスが骨の平衡状態を

保持する範囲内であり、一方、大腿骨に対するそれは、生理的に正常範囲を越えた負担がかかっていたために走行負荷により骨密度の低下が生じたものと理解される。

さらに大腿骨を海綿骨と皮質骨部にそれぞれ分けて検討を行ったところ、各群とも海綿骨より皮質骨の方が低値を示した。この結果について、1) 骨の微細構造 2) リモデリング 3) メカニカルストレス、および 4) 筋肉との関係からそれぞれ考察すると以下の如くである。第一に、皮質骨は部位により厚さが異なり、骨組織もランダムに配列しているため、長軸方向に対し変形やひずみを生じ難く高い剛性を示す。これに対して、海綿骨は網目構造を呈し、その内部に液性成分を含んでいる複雑な構成体であり、その骨梁は明瞭な配合性を持ち、合理的な負荷支持機構となり衝撃力の緩和に役立っている。このため、過剰な負荷が骨組織にかかるより直接的負荷を受けやすい皮質骨部に変化があらわれたものと考えられる。

一方、リモデリングについては、部位的相違があることが知られている。たとえば、ハバース管内および骨梁骨内膜面では骨吸収と形成は平衡状態にあり、リモデリングによって骨密度の変化はなく、このため海綿骨量は一定に保たれている。これに反して皮質骨骨内膜面では、骨吸収が形成を上回り、このため骨髓腔の増大が生じ、さらに、骨膜面ではこの逆の現象がおこるため、その横径が拡大するのが正常といわれている。今回の実験における OVEX-R 群では、皮質骨骨内膜面での骨形成作用が低 estrogen によって抑制され、さらに過剰負荷の結果、骨吸収が相対的に優位となることによって皮質骨部での骨密度の減少が著明におこったものと予想される。また SHAM-R 群では、リモデリングが活性化され骨密度の増加がみられたものと考えられる。

またメカニカルストレスの点から、Roux<sup>20)</sup> は軟骨に被われた骨面は強度な圧迫力に受容できる

が、内外骨膜に被われた骨面は圧力に対して弱いと報告し、さらに正常な骨に対する過度な力学的負荷、あるいは生理的範囲内の負荷であるが、これが脆弱な骨に対して加えられたときには骨の抵抗力と作用力との平衡関係が失われ、骨に変化が生じるとされている。このことから、内外骨膜に被われた皮質骨の脆弱化は強度の運動負荷がかけられた結果と考えられる。これに加えて Henschen ら<sup>20)</sup>は、骨も金属と同様に過剰な負担により変質(疲労現象)がおこると述べており、これが剛性の高い皮質骨部(骨幹部)におこりやすいこともうなずける。

ヒトの骨粗鬆症では、傍脊柱筋の筋肉量と脊椎骨密度が相関するといわれていることから、骨と筋肉との関連性も否定できず、この点について考察した。たとえば、四肢長管骨においては、周囲の筋肉の収縮により骨内圧が上昇し、この持続的上昇は骨萎縮の原因となるとされている。しかし骨内圧は、骨端部(本実験における海綿骨部)では筋弛緩とともに低下することから、同部の静脈血の流出が障害されるような病的状態がなければ、反復収縮によっても内圧の集積はおこらない。

一方、骨幹部では長軸方向に圧迫力を加えたとしても緩徐な力では骨内圧の変化はおこらないが、衝撃的な圧迫力が加わると周囲の筋肉が収縮して、骨からの血液の流出を瞬間的に停止させ、骨髓内に血液を充満させることによってその内圧を上昇させることが知られている。このことから、OVEX-R 群では強度な負荷が持続的にかけられたため、骨内圧の上昇がおこり、皮質骨部の骨密度が低下したものと推察される。しかし同様の負荷でも、SHAM-R 群ではその負荷が生理的範囲内であったため骨密度は減少しなかったであろう。

以上の実験結果から、1) 卵巣摘出により大腿骨ならびに第三腰椎骨密度の低下が認められた。

2) 1時間の強制走行負荷は低 estrogen 状態で

は過剰な負荷と考えられた。3) とくに皮質骨部の骨密度が低値であることから、大腿骨における骨密度に関するかぎり、女子陸上競技選手の状態と類似している。なお、現在は運動能力による選別とともに、走行速度、時間、距離および食物成分と管理などに対するより綿密な条件設定を行い、さらに女子陸上競技選手に近似したラットモデルを作成することを検討中である。

#### 4. 結 語

生殖機能発現期の若年ラットの卵巣を摘出し、実験的無月経ラットを作製して強制走行負荷を行い、無走行および偽手術群との骨密度の変化について検討した。その結果、

1) DEXA による大腿骨骨密度は、OVEX 群は SHAM 群に対して有意に低値であり、OVEX-R 群は OVEX-N 群に対しても低値を示した。しかし、SHAM-R 群は SHAM-N 群に対して有意に高値を示した。

2) さらに、大腿骨骨密度はとくに皮質骨部で低値を示していた。

3) また、第三腰椎骨密度は OVEX 群が SHAM 群より有意に低値であったが、OVEX-R 群と OVEX-N 群には差がみられなかった。

#### 文 献

- 1) Janine, T. B., Janette, T., Frances, G. G., et al.; Diet, hormonal, and metabolic factors affecting bone mineral density in adolescent amenorrheic and eumenorrheic female runners, *J. Sports. Med. Phys. Fitness*, **32**, 51-58 (1992)
- 2) Fisher, E. C., M. E. Nelson, W. R. Frontera, et al.; Bone mineral content and levels of gonadatropins and estrogens in amenorrheic running women, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **62**, 1232-1236 (1986)
- 3) 福林 徹, 目崎 登, 下條仁士ほか; 女子運動選手における月経異常と骨塩濃度の関連, *臨床スポーツ医学*, **8**, 815-819 (1990)
- 4) 菊地はるひ, 宮永 豊, 下條仁士ほか; 女子ス



- ポーツ選手の骨塩量について一月経状態および疲労骨折との関連, 日本体育協会スポーツ医科学研究報告, **9**, 729-734 (1990)
- 5) 福島一雅; 卵巣摘出若年ラットの骨密度に対する強制走行負荷の影響, 日大医誌, **53**, 952-959 (1994)
  - 6) 坂本裕一郎; 実験的骨粗鬆症における運動負荷の影響, 日整会誌, **61**, 703-716 (1987)
  - 7) 藤田拓男編; オステオポロシス診断と治療, 第1版, ライフサイエンス出版 (1993)
  - 8) 後藤澄雄, 百武衆一; スポーツと骨, *Pharma Medica*, **10**, 19-26 (1992)
  - 9) 福島一雅, 斉藤明義, 佐藤賢治ほか; 女子陸上競技選手における月経異常と骨量の検討, 日整会誌, **67**, 3), 785 (1993)
  - 10) 福島一雅, 斉藤明義, 佐藤勤也; 女子陸上競技選手の月経異常と骨量の検討, 日本スポーツ産業学会誌, **2**, 147-150 (1993)
  - 11) James, K. Y., Chung, C. L., John, F. A.; Additive effect of treadmill exercise and  $17\beta$ -estradiol replacement on prevention of tibial bone loss in adult ovariectomized rat., *J. Bone Mineral Research*, **8**, 677-683 (1993)
  - 12) Merle, M., Bernard, G., Michelle, P. W., et al.; Total body bone density in amenorrheic runners, *Obstet. Gynecol.*, **79**, 973-978 (1992)
  - 13) Merete, L. H., Jens, H., Claus, C.; Running induced menstrual disturbances but bone mass is unaffected, except in amenorrheic women, *Am. J. Med.*, **95**, 53-60 (1993)
  - 14) Susan, K. G., Karen, E. T., Karen, M. G., et al.; The calciotropic hormone response to changes in serum calcium during exercise in female long distance runners, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **76**, 867-872 (1993)
  - 15) Woo, S. L. Y., Kuei, S. C., Amiel, D., et al.; The effect of prolonged physical training on the properties of long bone; A study of Wolff's law, *J. Bone Joint Surg.*, **63**-A, 780-787 (1981)
  - 16) Booth, F. W., Gould, E. W.; Effects of training and disuse on connective tissue, *Exercise Sports Sci. Rev.*, **3**, 88-112 (1975)
  - 17) 麻見直美, 森川尚美, 星名 綾ほか; 卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に対する自由運動の効果, 日本栄養・食糧会誌, **45**, 423-427 (1992)
  - 18) 繁田信恵, 山田あずさ, 和田真理子ほか; 卵巣摘出ラットの骨代謝に対する自由運動の効果, 家政誌, **37**, 337-340 (1986)
  - 19) 勝田 茂, 七五三木聡, 池田 賢ほか; 運動強度の違いがラットの骨成長に及ぼす影響, 体育学研究, **36**, 39-51 (1991)
  - 20) 天児民和編; 神中整形外科科学総論, 第21版, 南山堂 (1989)