

学 位 論 文 題 名

実験的歯周炎におけるインドメサシンの
骨吸収抑制効果の形態学的研究

学位論文内容の要旨

〔目的〕

非ステロイド性抗炎症薬であるインドメサシン (IM) はプロスタグランジン (PG) の合成を阻害し生体における様々な骨吸収を抑制することが知られている。歯周疾患における歯槽骨の吸収においてもPGが重要な役割を演じていると考えられており、IMにより歯槽骨の吸収が抑制されるという報告がみられるが、その詳細についてはまだ不明な点が多い。本研究はラットに実験的に歯周炎を惹起し、IMが骨吸収を抑制する過程、およびその機構を形態学的に明らかにする目的で行なった。

〔実験材料および方法〕

実験動物として体重約300gのWistar系雄ラット90匹を用い、無処置群10匹、IM非投与群、IM投与群各40匹に分けた。IM非投与群およびIM投与群には右上顎第一、第二臼歯間にゴムバンド（厚さ1.0mm）を挿入することにより歯周炎を惹起させた。IM投与群にはゴムバンド挿入6時間前から1%メチルセルローズに混濁したIMを5mg/kg b.w.の割合で12時間毎に腹腔内投与した。IM非投与群、IM投与群ともにゴムバンド挿入後1, 2, 3, 5, 7 日目に右上顎骨を試料として採取した。

1) 病理組織学的検索：試料を採取後、直ちに10%中性ホルマリンにて固定し、Plank-Rychlo法にて脱灰、通法に従いパラフィンに包埋し、近遠心的に厚さ約4 μ mの連続切片を作製し、HE染色、PAM染色、Azan-Mallory染色、TRAP染色等を施し、第一、第二臼歯間の歯周組織を中心に検索した。

2) 組織計量学的検索：1)のHE染色標本を用いて、歯槽骨量、破骨細胞数を経時的に測定した。連続切片の中から第一臼歯遠心根、第二臼歯近心根を含む標本を8枚毎に4枚選び、Leitz ASM analyzerを使用し、第一、第二臼歯間の中隔歯槽骨の面積を測定し、歯槽骨量の指標とした。また、同部の中隔歯槽骨面に接する破骨細胞の数を計測した。

3) 電顕的検索：ゴムバンド挿入後2～3日目に試料を採取し、通法に従い、未脱灰のままEpon812に包埋し超薄切片を作製し、酢酸ウラニウム・クエン酸二重染色を施し、破骨細胞を中心に観察した。

〔結果〕

1) 病理組織学的所見

IM非投与群：ゴムバンド挿入後1日目には、歯間乳頭上皮は欠如し、潰瘍の形成がみられた。歯間水平線維はほとんど消失したが、歯槽頂部には圧平された線維が認められた。おもに第一臼歯側の歯根膜腔は拡大し潰瘍部を中心に炎症性細胞浸潤がみられた。ゴムバンド挿入後2～3日目にかけて、潰瘍部を中心に歯根膜全体に好中球を主体とした著しい炎症性細胞浸潤がみられ、潰瘍部周囲の歯根膜線維は疎鬆化し、機能的配列は消失していた。中隔歯槽骨の第一臼歯側面には多数の大型の破骨細胞が出現し、活発な骨吸収が認められた。TRAP染色では、破骨細胞は酒石酸耐性酸性ホスファターゼの活性が高く、吸収窩にも活性が認められた。ゴムバンド挿入後3日目には歯槽骨の吸収は進み、歯槽骨量は著しく減少した。ゴムバンド挿入後5日目以降は、炎症性細胞浸潤は潰瘍部に限局する傾向がみられ、破骨細胞の数は減少した。歯槽骨の側面には骨の新生が認められ、歯根膜線維は機能的配列を回復する傾向が認められた。

IM投与群：ゴムバンド挿入後1日目には、IM非投与群と同様に歯根膜腔の拡大、潰瘍の形成、歯間水平線維の消失が認められた。歯根膜の炎症性細胞浸潤は潰瘍部に限局していた。ゴムバンド挿入後2～3日目ではIM非投与群に比べ歯根膜の炎症性細胞浸潤は抑制され、潰瘍部に限局する傾向がみられた。中隔歯槽骨側面の破骨細胞の数は少なく、破骨細胞自体も小型化する傾向がみられ、歯槽骨の吸収は著しく抑制された。TRAP染色では破骨細胞の酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性が低い傾向が認められた。ゴムバンド挿入後5日目以降は、炎症性細胞浸潤は潰瘍部に限局しながらも持続する傾向がみられた。

2) 組織計量学的所見

破骨細胞数：IM非投与群ではゴムバンド挿入後1～2日目にかけて破骨細胞数は著しく増加し、3日目以降急速に減少した。IM投与群でも破骨細胞数は増加する傾向がみられたが、IM非投与群に比べると著しく少なかった。

歯槽骨量：IM非投与群ではゴムバンド挿入後2～3日目にかけて歯槽骨量は減少し、5日目以降はやや増加する傾向がみられた。IM投与群では5日目まで歯槽骨量は減少したが、IM非投与群に比べ残存する歯槽骨量は多く、ゴムバンド挿入後3～7日目において両者の間に著しい差が認められた。

3) 電顕的所見

IM非投与群：比較的大型の破骨細胞が観察され、発達したruffled-borderが認められた。ruffled-borderの突起間には遊離した骨結晶様の微細構造がみられ、このような結晶様構造は胞体内の空胞中に移行する像を示していた。破骨細胞の骨に面した細胞質中には大小の空胞が認められ、内部にruffled-borderの突起間にみられた骨結晶様物質と不定型物質がみられた。

IM投与群：破骨細胞は小型化し、ruffled-borderと細胞小器官の発達は不良であった。ruffled-borderと骨基質の間には遊離した骨結晶様構造が密集した層がみられ、ruffled-borderの突起の間も微細針状の骨結晶様構造で満たされており、深部では骨結晶様構造の密な集塊がみられ、これに連続する細胞質内の空胞にも同様の集塊が認められた。

[考察]

1) 病理組織学的所見

IM非投与群にみられた歯根膜の炎症性細胞浸潤や歯槽骨の吸収等の変化は、ゴムバンドによる機械的刺激と細菌感染による炎症の結果と思われた。また、歯の移動による歯根膜線維の伸展、歯根膜に対するゴムバンドの圧迫力、咬合性外傷等が影響しているものと思われた。IM投与群では炎症性細胞浸潤と破骨細胞の出現は抑制され、破骨細胞も小型化する傾向がみられた。このような変化はIMのPG合成阻害に関連しているものと思われた。

2) 組織計量学的所見

IM非投与群では破骨細胞数はゴムバンド挿入後2日目に最も多くなり、それに伴い歯槽骨量は3日目に最少となった。5日目以降は歯槽骨量はやや増加し、骨の新生がみられた病理組織学的所見と一致した。IM投与群では破骨細胞の出現と歯槽骨の吸収は抑制されたが、破骨細胞数は3日目に最も多くなり歯槽骨量は5日目に最少となったことから、IM非投与群に比べ炎症が持続する傾向がうかがわれた。

3) 電顕的所見

IM非投与群における破骨細胞の微細構造は一般的な他の骨吸収においてみられる破骨細胞と同様の構造をなしていた。IM投与群においてみられた所見は、IMによるPGの合成阻害に基づくOAFなどのサイトカインの抑制による破骨細胞の分化、誘導の障害だけではなく、破骨細胞自体の微細構造的変化に基づく吸収機能の障害を意味するものと思われた。

[結語]

ラットの第一、第二臼歯間にゴムバンドを挿入することにより実験的に歯周炎を惹起した。また、IMを投与しその影響を病理組織学的、組織計量学的、電顕的に検索した結果、以下のことが明らかになった。

1. ゴムバンドの挿入により潰瘍部を中心に歯根膜の深部まで炎症性細胞浸潤がみられ、歯槽骨の著しい吸収が認められた。
2. このような変化はゴムバンドの機械的刺激と細菌感染による炎症の結果と思われた。
3. IMの投与により炎症性細胞浸潤と歯槽骨の吸収は著しく抑制され、IMは破骨細胞性骨吸収を抑制することが明らかになった。
4. このような変化は、破骨細胞の数の減少および破骨細胞自体の微細構造的変化に基づく吸収機能の障害によるものと思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 向 後 隆 男

副 査 教 授 脇 田 稔

副 査 教 授 加 藤 熙

学 位 論 文 題 名

実験的歯周炎におけるインドメサシンの 骨吸収抑制効果の形態学的研究

審査は向後、脇田および加藤審査員全員が出席のもとに、論文提出者に対し提出論文の内容とそれに関連する学科目について口頭試問によって行なわれた。以下に提出論文の要旨と審査の内容を述べる。

論文提出者は、歯周炎においてインドメサシン(IM)が骨吸収を抑制する過程、およびその機構を形態学的に明らかにする目的で、ラットの右上顎第一、第二臼歯間に厚さ約1mmのゴムバンドを挿入することにより歯周炎を惹起し、インドメサシンを投与した場合の歯槽骨の吸収抑制効果について検討している。

実験には体重約300gのWistar系雄ラットを用い、IM非投与群、IM投与群に分け、第一、第二臼歯間にゴムバンドを挿入することにより歯周炎を惹起させている。IM投与群にはゴムバンド挿入6時間前から1%メチルセルローズに混濁したIMを 5mg/kg b.w.の割合で12時間毎に腹腔内投与している。IM非投与群、IM投与群ともゴムバンド挿入後1,2,3,5,7 日目に右上顎骨を試料として採取し、第一、第二臼歯間部歯周組織を病理組織学的に検索し、また、同時に中隔歯槽骨量、破骨細胞数を組織計量学的に、破骨細胞の微細構造を電顕的に検索している。

以上の方法によって得られた結果ならびに結論は次の通りである。

病理組織学的所見：IM非投与群ではゴムバンド挿入後1日目には、歯間乳頭上皮は欠如し、潰瘍の形成がみられた。歯間水平線維はほとんど消失し、歯槽頂部には圧平された線維が認められた。おもに第一臼歯側の歯根膜腔に拡大がみられ、潰瘍部を中心に好中球を主体とした炎症性細胞浸潤が認められた。ゴムバンド挿入後2～3日目にかけては、歯根膜に炎症性細胞浸潤が著しく、潰瘍部周囲の歯根膜線維は疎鬆化し、機能的配列は消失していた。中隔歯槽骨の第一臼歯側面には多数の大型の破骨細胞が出現し、活発な骨吸収が認められ、歯槽骨量は著しく減少した。酒石酸耐性酸性ホスファターゼ(TRAP)染色では、破骨細胞は酒石酸耐性酸性ホスファターゼの活性が高く、吸収窩にも活性が認められた。ゴムバンド挿入後5日目以降は、炎症性細胞浸潤は潰瘍部に限局する傾向がみられ、破骨

細胞の数は減少した。中隔歯槽骨の第一臼歯側面には骨の新生が認められ、歯根膜線維は機能的配列を回復する傾向が認められた。

IM投与群では、ゴムバンド挿入後1日目には、IM非投与群と同様に、歯間乳頭上皮の欠如、潰瘍の形成、歯間水平線維の消失、歯根膜腔の拡大がみられたが、炎症性細胞浸潤は潰瘍部に限局する傾向がみられた。ゴムバンド挿入後2～3日目にかけては、IM非投与群に比べ歯根膜の炎症性細胞浸潤は抑制されていた。歯槽骨側面の破骨細胞の数は少なく、破骨細胞自体も小型化する傾向がみられ、歯槽骨の吸収は抑制されていた。TRAP染色では、破骨細胞の酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性が低い傾向が認められた。ゴムバンド挿入後5日目以降は、炎症性細胞浸潤は潰瘍部に限局しながらも持続する傾向がみられた。

組織計量学的所見：IM非投与群ではゴムバンド挿入後1～2日目にかけて破骨細胞数は著しく増加し、3日目以降急速に減少した。IM投与群でも破骨細胞数は増加する傾向がみられたが、IM非投与群に比べると著しく少なかった。歯槽骨量はIM非投与群ではゴムバンド挿入後2～3日目にかけて減少し、5日目以降はやや増加する傾向がみられた。IM投与群では5日目まで減少したが、IM非投与群に比べ残存する歯槽骨量は多く、ゴムバンド挿入後3～7日目において両者の間に有意差が認められた。

電顕的所見：IM非投与群では破骨細胞は比較的大型であり、その微細構造は一般的な骨吸収においてみられる破骨細胞の所見と同様であった。IM投与群では破骨細胞は小型化し、ruffled-borderと細胞小器官の発達は不良であった。ruffled-borderと骨基質の間には遊離した骨結晶様構造が密集した層がみられ、ruffled-borderの突起間も微細針状の骨結晶様構造で満たされており、突起間の深部には骨結晶様構造の密な集塊がみられ、これに連続する細胞質内の空胞にも同様の集塊が認められた。

これらの結果より以下のようにまとめている。1) ゴムバンドの挿入により潰瘍部を中心とした歯根膜深部におよぶ炎症性細胞浸潤と、歯槽骨の著しい吸収が認められた。これらはゴムバンドの機械的刺激と細菌感染による炎症の結果と思われた。2) IMの投与により炎症性細胞浸潤と歯槽骨の破骨細胞性骨吸収は著しく抑制された。このような変化は、破骨細胞の数の減少および破骨細胞自体の微細構造的変化に基づく吸収機能の障害によるものと思われた。

次いで本論文提出者に対して本論文の内容に関連のある質問が行なわれた。協田審査員からは、IM, PGの作用機序、電顕染色法等について、加藤審査員からは、炎症と機械的刺激による骨吸収の相違とその関連等について、向後審査員からは、IMの臨床応用等について質問がなされ、これらの質問にそれぞれ適切な解答が得られた。本研究は、ラットにおける実験的歯周炎においてインドメサシンが破骨細胞性骨吸収を抑制することを明らかにし、それが破骨細胞の数の減少ならびに破骨細胞自体の微細構造的変化に基づく吸収機能の障害によるものであることを示したことが評価された。また、本研究は歯周病学だけでなく矯正学等多岐の分野にわたっての研究、臨床に大きく寄与するものであることが認められた。さらに、本論文提出者は歯周炎における歯根膜中のchemical mediatorの定量等、今後の実験系も考えており将来の展望も評価された。よって学位申請者は博士(歯学)の学位授与にふさわしい者と認めた。