ニフェジピンと歯肉増殖症の関連性に関する研究

—cotton pellet 肉芽腫に及ぼすニフェジピン投与の影響—

小林 雅 実

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

(指導：村井正大教授)

(平成3年1月25日受付)

Study of Gingival Hyperplasia Induced by Nifedipine

—Effect of Nifedipine Administration on Cotton Pellet Granulomas in Rat—

Masami KOBAYASHI

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry

1-8-13, Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan

(Chief : Prof. Seidai MURAI)

Several clinical studies have described gingival hyperplasia induced by nifedipine administration.

The purpose of this study was to investigate the effect of nifedipine on granulomas caused by cotton pellets implanted in the backs of 60 Wistar rats. Nifedipine was administered at a dose of 100 mg/kg daily starting 24 hours after cotton pellet implantation for the following periods : 1) 1 weeks (1 week group), 2) 2 weeks (2 week group) 3) 4 weeks (4 week group), in another group, preparatory administration was carried out for 4 weeks before implantation, and continued for 4 weeks after the treatment (preparatory group). A control group was assigned for each group, to which no drug was administered. At the end of the period, the rats were sacrificed, granulomas were removed and their wet weight and protein and hydroxyprolyne contents were determined. Histological features

were also observed.

Wet weight and protein contents were increased during the first week and maintained for 4 weeks in both the nifedipine-administered and control groups.

Hydroxyprolyne contents were increased gradually in each period, and were also significantly increased in all the nifedipine-administered groups, except at 1 week, compared with each control group. Hydroxyprolyne was significantly increased in the preparatory group compared with both the 4 week administered and control groups.

Histologically, apparent invasion of inflammatory cells and generation of collagen fibers within the granulomas were seen after each period. Especially thick collagen bundles were observed in the 4 week administered and preparatory groups.

Key words : Nifedipine, Rat, Cotton pellet granuloma

要旨：ニフェジピンの炎症組織におよぼす影響を検索した。60匹のウィスター系ラットの背部に滅菌綿球を挿入して cotton pellet 肉芽腫を形成し、24時間後よりニフェジピン投与(100 mg/kg)を開始し、投与期間別に次の

4群に区分した。1, 2, 4週間投与(1, 2, 4週群)および、4週間のニフェジピン前投与を行った後に綿球を挿入し、術後さらに4週間投与(前投与群)とし、各群についてコントロールは同匹数とした。実験期間終了後、屠殺、肉芽腫を摘出し、湿重量、タンパク質、ハイドロキシプロリンの定量ならびに組織学的検索を行ったところ、次の結果を得た。すなわち、肉芽腫の湿重量、タンパク質量は1週間目に増加し、その後経時的、または薬剤投与による変化はなかったが、ハイドロキシプロリン量は経時的にも、薬剤投与によっても増加する傾向があり、前投与により、さらに増加が認められた。また、組織学的所見では、著明な炎症性細胞浸潤と肉芽組織の増生がみられ、膠原線維は経時的に増加し、ニフェジピン投与によって束状の線維が増加する傾向が認められた。

索引用語: ニフェジピン, ラット, cotton pellet 肉芽腫

結 言

歯肉増殖症を引き起こす薬剤として、抗てんかん剤であるジフェニルヒダントイン¹⁻⁶⁾および免疫抑制剤であるサイクロスポリン A⁷⁻¹⁰⁾が広く知られている。

近年、カルシウム拮抗剤として心筋梗塞症、本態性高血圧症に用いられる dimethyl-1, 4-dihydro-2, 6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-3, 5-pyridine-dicarboxylate (ニフェジピン) についても、その副作用として歯肉増殖の認められる報告が散見されるようになった¹¹⁻¹⁹⁾。このニフェジピン服用患者の歯肉増殖症の発現については、Barak¹²⁾によればその 14.4%に、また、岩倉¹⁵⁾は、10.9%に歯肉増殖を認めたとそれぞれ報告している。また、小林¹⁶⁾は、ニフェジピンを含むカルシウム拮抗剤服用患者の 56.3%に歯肉増殖を認めている。しかし、このニフェジピンによる歯肉増殖は、その作用によって必ずしも全例に発症するものではなく、その発症には全身状態を含めた発症条件がありそうである。従来¹⁷⁾の報告からは、局所の歯肉に炎症があるとそれがトリガーとなって発症する可能性のある臨床報告^{11-14, 16)}と組織学的に検索すると歯肉増殖の付近には炎症性細胞浸潤の認められない報告^{17, 19)}とがあり、このニフェジピンによる歯肉増殖の発症機序、とくに歯肉の炎症との関連については統一した見解が得られていない。

そこで著者は、ニフェジピン投与によって発症する歯肉増殖の効果的な予防、治療法を確立する研究の一環として、まずニフェジピンの炎症組織におよぼす影響を検討することにした。炎症組織としては、従来、抗炎症剤などの薬効の検索のために用いる炎症性疾患モデルである cotton pellet 肉芽腫法²⁰⁾を用い、まず、ニフェジピン投与下の肉芽組織中のタンパク質量およびコラーゲンの特異的成分であるハイドロキシプロリン量の経時的な推移を定量し生化学的検討を行った。さ

らに、この肉芽組織についてコラーゲン線維を主体とした組織学的検討を行い、これらを併せてニフェジピンの投与が炎症組織におよぼす影響を検討した。

材料および方法

1. 材 料

1) 実験動物

実験動物には 10 週齢のウィスター系雄ラット(体重約 350 g) 60 匹を用いた。

実験期間中は飼育繁殖用固形飼料(日本クレア製 CE-2, 東京)と水道水を十分与えて飼育した。

2) ニフェジピン

ニフェジピンは市販品であるアグラート® 10 mg (バイエル薬品社製, 大阪)の液体内容物を胃ゾンデによって投与し、ニフェジピン量として 1 日あたり 100 mg/kg 投与を行った。

2. 方 法

1) cotton pellet 肉芽腫形成方法

ペントバルビタールナトリウム(ネンブタール®注射液 ダイナボット社製, 大阪) 1.5 mg/kg をラットの腹腔内に注射し、麻酔下で背部の毛をバリカンで刈り、手術野をアルコールで消毒後、替刃メス # 11 (フェザー社製, 岐阜) で背部のほぼ中央部で脊椎線に対し垂直方向に約 1.5 cm の切開を入れた。切開部より Goldman-Fox 剥離子 (Hu-Friedy 社製, 米国) を挿入し、長さ約 4 cm, 幅約 2 cm の大きさに、背部の脊椎線上を避けて皮下組織の剥離を行った。この剥離部に 35.0 ± 1 mg の大きさに調製した滅菌脱脂綿球を挿入後、ベアー針付縫合糸(協和時計工業社製, 千葉)で縫合を行い、外科用接着剤アロンアルファ A「三共」(東亜合成化学工業社製, 東京)で縫合部を固定した。

各実験期間終了後、ペントバルビタールナトリウム過剰麻酔により屠殺した。cotton pellet 肉芽腫を背部より剥離摘出し、個々に湿重量の測定を行い、タンパ

図1 実験プロトコル

ク質およびコラーゲンの定量と組織学的検索に供した。

2) 実験期間

ラットに対するニフェジピンの投与は綿球挿入24時間後より開始し、投与期間別に以下の4群に区分した(図1)。

- (1) 1週間(以下, 1週群と略す), 5匹
- (2) 2週間(以下, 2週群と略す), 5匹
- (3) 4週間(以下, 4週群と略す), 10匹
- (4) 長期投与の影響を検討する目的で, 術前投与として4週間ニフェジピンを投与し, 綿球挿入後継続して4週間投与(以下, 前投与群と略す) 10匹
- (5) コントロールとしてはニフェジピンを投与しないもの(以下, コントロール群と略す) 各実験群と同匹数, 合計30匹とした。

3) 測定方法

(1) 試料の作製方法

ラット背部より採取した cotton pellet 肉芽腫は, 生理食塩水で付着した組織残渣, 毛などを洗い流した後, 濾紙で肉芽腫表面の生理食塩水を除去し, ただちに電子天秤(Mettler社製 AE 163, スイス)で湿重量を測定した。その後, 肉芽腫をタンパク質, ハイドロキシプロリン量測定のために中央部で2分割し, 再度, 湿重量を測定し -20°C で凍結保存した。

(2) タンパク質の定量

凍結保存した cotton pellet 肉芽腫を替刃メス#15で細切後, 湿重量100 mg 対し0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液1.0 mlを加え, 氷冷中でガラスホモジナイザーを用いてホモジナイズし, 試料とした。

タンパク質の定量はコラーゲン Type I (牛アキレス腱 SIGMA 社製, 米国)を標準物質とし, Lowryの方法²¹⁾に準じて, 分光光度計(日立製作所製 100-20, 東京)を用い, 750 nmで測定した。

(3) ハイドロキシプロリンの定量

凍結保存した cotton pellet 肉芽腫を凍結乾燥機(EYELA 社製 Freeze dryer FD-5, 東京)で, 24時間乾燥させ, 電子天秤で乾燥重量測定後, 6 N 塩酸2 mlを加え, 封管し 110°C で24時間加水分解を行った。その後, ケミカルトラップを用いて, 塩酸を除去し, 乾燥重量10 mg に対し, 1 mlの蒸留水で溶解したものを試料とした。

ハイドロキシプロリン量はL-ハイドロキシプロリン(和光純薬社製, 大阪)を標準物質とし, Woessnerの方法²²⁾に準じて, 分光光度計を用い, 555 nmで測定した。

(4) 組織学的検索

組織学的検索を行うにあたり, cotton pellet 肉芽腫をラット背部より周囲組織を含めて一塊とし剥離摘出後, ただちに10% 中性緩衝ホルマリン液 pH 7.4(和光純薬社製, 大阪)で, 3日間固定し, 通法に従いパラフィン包埋後, 約8 μm の連続切片を作製し, 試料中央部から5枚おきに2枚づつ計20枚の切片を選び出した。切片は1枚おきにヘマトキシリン-エオジン染色(以下, H-E 染色と略す), アザン染色の変法²³⁾(以下, アザン染色と略す)を施した。

(5) 統計処理

湿重量, タンパク質およびハイドロキシプロリンの定量により得られたデータは Mann-Whitney の U 検定法により統計学的処理を行った。

成 績

1. 湿重量

各群の湿重量を図2に示した。

1週群では実験群が 266.6 ± 50.5 mg, コントロール群が 265.4 ± 24.8 mg, 2週群では, 実験群が 271.7 ± 24.8 mg, コントロール群は 279.2 ± 14.1 mg, および4週群では, 実験群が 224.7 ± 34.6 mg, コントロール群は 229.4 ± 30.0 mg であり, いずれも差は認められなかった。経時的には, 4週群でわずかに減少する傾向が認められたが, 統計学的有意差は認められなかった。

2. タンパク質量

各群のタンパク質量を図3に示した。

湿重量100 μg あたりのタンパク質量は, 1週群で実験群 84.8 ± 6.6 μg , コントロール群 87.6 ± 3.9 μg , 2週群では, 実験群が 85.5 ± 1.9 μg , コントロール群で 86.9 ± 6.4 μg , 4週群では, 実験群が 85.9 ± 8.3 μg ,

図 2 cotton pellet 肉芽腫の湿重量

図 3 cotton pellet 肉芽腫のタンパク質量

コントロール群で $82.2 \pm 6.7 \mu\text{g}$ であり、タンパク質量は各群間に統計学的有意差は認められなかった。

3. ハイドロキシプロリン量

各群のハイドロキシプロリン量の変化を図 4 に示した。

乾燥重量 100 μg あたりのハイドロキシプロリン量は、1 週群で実験群は $1.4 \pm 0.3 \mu\text{g}$ 、コントロール群では $0.9 \pm 0.4 \mu\text{g}$ 、であり、実験群はコントロール群に比較して大きい傾向を示したが、有意差は認められなかった。また、2 週群においても実験群は $1.7 \pm 0.4 \mu\text{g}$ 、コントロール群は $1.3 \pm 0.1 \mu\text{g}$ で 1 週群と同様に実験

図 4 cotton pellet 肉芽腫のハイドロキシプロリン量

群がコントロール群に比較して大きくなる傾向が認められ、危険率 5% 以下で有意差が認められた。4 週群では実験群が $3.4 \pm 0.4 \mu\text{g}$ 、コントロール群が $2.9 \pm 0.4 \mu\text{g}$ で 2 週群と同様に危険率 5% 以下で有意差が認められた。

また、経時的には、ハイドロキシプロリン量は、実験群、コントロール群ともに投与期間に比例して増加する傾向が認められた。

4. 前投与群と 4 週群、4 週コントロール群との湿重量、タンパク質量およびハイドロキシプロリン量の比較

湿重量、タンパク質量、ハイドロキシプロリン量の 前投与群と 4 週群、4 週コントロール群との比較を図 5 に示した。

前投与群では、湿重量 $229.8 \pm 34.9 \text{ mg}$ 、タンパク質量 $86.6 \pm 8.8 \mu\text{g}$ であり、4 週群および 4 週群のコントロール群と比較して差は認められなかったが、ハイドロキシプロリン量においては $3.8 \pm 0.4 \mu\text{g}$ で 4 週群のコントロール群の $2.9 \pm 0.4 \mu\text{g}$ との間に危険率 1% 以下で、また、4 週群の $3.4 \pm 0.4 \mu\text{g}$ との間に、危険率 5% 以下でそれぞれ有意差が認められた。

5. 組織学的所見

1) 1 週群

図 6, 7 はそれぞれコントロール群、実験群の H-E 染色の全体像である。1 週では実験群、コントロール群ともに綿球は結合組織による被包化がすでに始まって

図5 ニフェジピン前投与群の cotton pellet 肉芽腫の湿重量, タンパク質量およびハイドロキシプロリン量

×8
H-E 染色

図6 コントロール群 (1週)

×8
H-E 染色

図7 実験群 (1週)

おり,肉芽腫の外側において著しい炎症性細胞浸潤や,綿線維を貪食する多核巨細胞が多く観察された。この時期では増生した肉芽組織は,綿球中心部には達しておらず,同部では析出したフィブリンや小円形細胞を中心とする軽度の細胞浸潤を認めた。

また,図8,9は同様にコントロール群,実験群のアザン染色である。アザン染色においてはコントロール群に比較して実験群では綿球の外縁部に青染される太い膠原線維が多量に認められた。

2) 2週群

図10,11はそれぞれコントロール群,実験群の2週のアザン染色像である。

2週群では,この膠原線維の形成量の差はより明かとなり,コントロール群に比べ,実験群では青染される膠原線維が豊富に認められた。

3) 4週群

図12,13はそれぞれコントロール群,実験群の4週のH-E染色像である。弱拡大で肉芽組織は綿球の中

×20
アザン染色

図 8 コントロール群 (1週)

×20
アザン染色

図 11 実験群 (2週)

×20
アザン染色

図 9 実験群 (1週)

×8
H-E 染色

図 12 コントロール群 (4週)

×20
アザン染色

図 10 コントロール群 (2週)

×8
H-E 染色

図 13 実験群 (4週)

×20
アザン染色

図 14 コントロール群 (4 週)

×20
アザン染色

図 16 前投与群

×20
アザン染色

図 15 実験群 (4 週)

心部まで侵入していた。

図 14, 15 はそれぞれコントロール群, 実験群の 4 週のアザン染色像である。

4 週群においても, コントロール群と実験群で形成される膠原線維量の差が認められた。

4) 前投与群

図 16 は前投与群のアザン染色像である。

前投与群では 4 週群と同様に被包化および綿球中心部に達する肉芽組織の増生が見られ, 太い束状の膠原線維が肉芽組織内に多量に錯綜しているのが認められた。

考 察

カルシウム拮抗剤は狭心症, 心筋梗塞, 本態性高血圧症, 腎性高血圧症の治療剤として用いられている²⁴⁾。

このカルシウム拮抗剤のうち, ニフェジピンは, 「筋の興奮収縮関連物質であるカルシウムの血管平滑筋および心筋組織内への流入を抑制して, 冠血管を拡張するとともに, 全末梢血管抵抗を減少させ, 抗高血圧作用と心筋酸素需給バランスの改善作用」があり, 血管平滑筋に対する作用が強く, 末梢血管拡張作用が高いと言われている²¹⁾。副作用としては, GPT 上昇, 顔面潮紅, 胸部痛, 頭重, 下肢浮腫, 悪心などが認められ, また, 口腔領域では, 連用によりまれに歯肉肥厚があらわれることがあると記載されている²⁵⁾。

このニフェジピンと歯肉増殖の関連については, Ramon ら¹¹⁾によって初めて示唆されて以来, 歯周疾患研究者にとって関心のあるいくつかの臨床報告がなされている。

それらの中で, 歯肉の炎症と, この歯肉増殖との因果関係については報告者の所見が分かれている。すなわち, 実験対象の違いはあるものの組織学的所見として, 歯肉の炎症と歯肉増殖が同時に認められるとしたものは, Ramon ら¹¹⁾, Barak ら¹²⁾, Lucas ら¹³⁾, 永田 ら¹⁴⁾, Heijil ら¹⁸⁾であり, 他方, 歯肉増殖が認められたものの炎症性細胞浸潤がない所見を得ているものには, Waner ら¹⁷⁾, Nyska ら¹⁹⁾である。

ニフェジピンによる歯肉増殖と類似のものにジフェニルヒダントインによる歯肉増殖がある。このジフェニルヒダントインによる歯肉増殖は, 局所の歯肉の炎症が発症のトリガーになっていること, およびこの歯肉増殖の主体が膠原線維の増殖であることが判明している。

そこで著者は, このニフェジピンによる歯肉増殖の発症と歯肉の炎症との関連を明らかにする研究の一環

として、まず、cotton pellet 肉芽腫法を用いてニフェジピンを投与し、生じた肉芽腫の膠原線維について生化学的、組織学的に検索することを企画した。

ニフェジピンの投与方法として、市販品であるアダラート®のソフトカプセル内容液を胃ゾンデによって 100 mg/kg/日 を投与した。ニフェジピンの投与量は通常成人では 1 回 10 mg を 1 日 3 回、合計 30 mg とされており、今回の実験における投与量は通常のヒトに対する投与よりも多量である。これは、ラットによるニフェジピンの 24 週間の経口投与を行った慢性毒性試験の結果、100 mg/kg 以上で影響が認められ、50 mg/kg 以下では毒性は認められなかったと枝長ら²⁶⁾は報告している。著者が行った予備実験の結果では、150 mg/kg 以上の投与量の 8 週間投与で、実験期間終了前に死亡する動物が認められたことから、本実験では耐えうる最大量として、100 mg/kg を 1 日の投与量とした。

cotton pellet 肉芽腫法は Meier ら²⁷⁾がコーチゾンの肉芽組織形成阻害作用の研究に用いた方法で、現在、抗炎症剤の前臨床的スクリーニング試験として広く用いられている方法である。周囲組織との間の境界が比較的はっきりしているの、切り離して取り出しやすいため定量的な取り扱いに適しているといわれている²⁰⁾。

綿球による異物反応によって形成された肉芽組織は注意して取り扱えば 3~4 日後から取り出し可能であるが、周囲組織からはがし取ることができる程度の強靱な肉芽組織となるのには 7~10 日を要するといわれており²⁰⁾、著者が行った予備実験においても同様な結果であった。

cotton pellet 肉芽腫のコラーゲン量については、Swingle ら²⁸⁾は、3~6 日の増殖相の時期では、肉芽腫の乾燥重量の増加が認められ、コラーゲン量が増加すると報告し、また、Jackson²⁹⁾は、モルモットのカラゲニンによる肉芽腫を用いて、湿重量および各種フラクションのコラーゲン量を検索したところ、総コラーゲン量は 21 日目まで経時的に増加し、28 日目にはわずかに減少する傾向を報告している。これらのことから、4 週間とした本実験期間は、cotton pellet 肉芽腫のコラーゲン定量に適していると思われる。

湿重量の測定は、肉芽形成、すなわち炎症性増殖反応の総合的な指標になるといわれており²⁰⁾、タンパク質の定量は肉芽組織内のコラーゲン、エラスチン、線維芽細胞やムコ多糖類に結合しているタンパク質ある

いは血液由来の白血球、血漿成分等の変化の指標になるので、ここにとらえた変化は、以上の変化を推測するものと考えた。コラーゲン量の測定は、組織線維化の指標になるといわれている²⁰⁾。本実験では、ハイドロキシプロリン量の定量から、コラーゲン量の推移について検討を行った。

なお、タンパク質量、ハイドロキシプロリン量の定量に関しては、試料は綿球を含んだ肉芽腫の総体を用いたが、これは著者が行った組織学的な予備実験の結果、各実験期間においても、アザン染色で綿球の周囲のみならず綿球内部にも膠原線維の増生が認められたため、内部の膠原線維も含めた定量の必要性があると思われるためである。

肉芽腫の湿重量については、Swingle ら²⁸⁾は、綿球挿入 3 時間までの漏出相において、湿重量が著しく増加し、その後 6 日目までは、わずかに増加する傾向を報告している。また、投与薬剤は異なるが、同じく cotton pellet 肉芽腫法を用いて、Hiramatsu ら³⁰⁾はジフェニルヒダントインの影響を検討し、湿重量、コラーゲン量、酸性ムコ多糖体量 (以下 AMPS と略す) を検討したところ、湿重量は 3 日目まで最大になり、7 日目では、減少し、以後 21 日目までわずかに減少する傾向が認められたとしている。本実験の結果はこれらの報告^{28,29)}と一致すると思われる。

湿重量については各週の実験群、コントロール群間に有意差が認められなかったの、ニフェジピン投与は、湿重量には影響をおよぼさなかったものと考えられた。

cotton pellet 肉芽腫法を用いて、タンパク質量の変化を検討した報告は、著者が渉猟した範囲では認められなかったが、Swingle ら²⁸⁾は、綿球挿入後 3~72 時間の滲出相においては、生体染色によって肉芽腫周囲の毛細血管から、色素の漏洩が認められ、以後 6 日目まで、色素の透過量にほとんど変化は認められないことを報告している。また、鶴藤²⁰⁾は、綿球を挿入した直後から、局所の結合組織内で炎症の変化が進行し、初期には綿球内に滲出液がしみこみ、ついで白血球の侵入、マクロファージの進入、周囲結合組織での線維芽細胞の増殖、毛細血管の新生、コラーゲン線維の形成という順序で炎症反応が進行する。このような経過は連続的に、しかもいくつかの過程を重複しながら相前後して起こってくると述べていることから、タンパク質として検出される液性、あるいは細胞性成分は湿重量の変化と同じく経時的にもニフェジピン投与によ

でも今回の実験期間では影響が認められなかったと思われる。

ハイドロキシプロリン量については、本実験の結果では、1, 2, 4週群のいずれにおいても実験群がコントロール群を上回る値を示し、2, 4週群では、その間に有意差が認められ、経時的にも、増加する傾向が認められた。また、長期間のニフェジピンの投与がおおよそ影響についても検討するために、前投与を4週間行った群に関しても検索を行ったが、4週群の実験群、コントロール群に比較して値が大きくなる傾向を示した。これはニフェジピンの投与期間の長さが、コラーゲン量の増加に影響を与えていることが推測された。

Hiramatsu ら³⁰⁾はジフェニルヒダントインについて cotton pellet 肉芽腫法を用いて3, 7, 14, 21日目のコラーゲン量およびAMPSの検索を行っている。その結果、3, 7, 14日目には、ジフェニルヒダントインを150 mg/kg投与した群はコントロールと比較して統計学的に有意に大きい値を示したが、21日目にはコントロール、50, 150 mg/kg投与した群との間には差はなくなったと報告している。AMPSについては、すべての群において、3日目に最大となり、以後減少する傾向にあったが、14, 21日目にはコントロールに比較して150 mg/kg投与した群は統計学的に有意に大きい値であったと報告している。

これらの報告の結果と著者の成績は、投与薬剤、投与期間、観察期間が異なるが、歯肉増殖症を発現させる薬剤と炎症の関連については共通性のある結果と思われる。

組織学的検索の結果、著しい細胞浸潤の認められる肉芽組織中で、膠原線維量は経時的に増加し、また、ニフェジピン投与により、さらに増加し、束状の形態をとる傾向を示した。また、前投与を行った試料では、さらに束状の膠原線維が多く観察され、これは膠原線維の成熟が亢進している傾向が推測された。

ニフェジピン服用患者の歯肉増殖症の組織学的所見については、Ramon ら¹¹⁾、Barak ら¹²⁾、永田ら¹⁴⁾、小林ら¹⁵⁾は、線維芽細胞の増加および密な束状膠原線維の増生を報告しており、観察した組織は異なるが、今回の所見と共通性があると思われる。

本実験の結果、ニフェジピン投与によって cotton pellet 肉芽腫の組織にコラーゲンの構成成分であるハイドロキシプロリンの増加と膠原線維の増生が認められた。これは同じような症状を示すジフェニルヒダントイン投与の実験報告と考えあわせると、この膠原線

維の増生が歯肉増殖を発現せしめるものと考えられた。

結 論

cotton pellet 肉芽腫法を用いてニフェジピン投与下の肉芽組織の湿重量、タンパク質量、ハイドロキシプロリン量を経時的に定量し、併せて組織学的検索を行い、以下の結論を得た。

1. cotton pellet 肉芽腫の湿重量、タンパク質量は、経時的にも、ニフェジピン投与によっても変化は認められなかった。
2. cotton pellet 肉芽腫中のハイドロキシプロリン量は経時的に増加が認められ、ニフェジピン投与によって、さらに増加する傾向が認められた。
3. ニフェジピンの前投与は湿重量、タンパク質量に変化は認められなかったが、ハイドロキシプロリン量の増加が認められた。
4. 組織学的所見では、著明な炎症像と肉芽組織の増生が観察され、肉芽組織内の膠原線維は経時的に増加する傾向を示し、ニフェジピン投与を行った群では束状の膠原線維が増加する傾向が認められた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御指導、御校閲を賜った日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座村井正大教授に深く感謝致します。

さらに、終始御助言、御協力頂いた保存学教室歯周病学講座伊藤公一助教授、病理学教室小宮山一雄助教授ならびに薬理学教室、生化学教室、保存学教室歯周病学講座の各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Kimball, O.P. : The treatment of epilepsy with sodium diphenyl hydantoinate. J. Am. Med. Assoc., 112 : 1244-1245, 1939.
- 2) Donnenfeld, O.W., Stanley, H. R. and Bagdonoff, L. : A nine month clinical study of patients on diphenylhydantoin following gingivectomy. J. Periodontol., 45 : 547-557, 1974.
- 3) 石川 純：ジフェニルヒダントイン歯肉増殖症の研究(その1) テンカン患者におけるジフェニルヒダントイン歯肉増殖症の臨床的研究. 日歯保誌, 2 : 147-168, 1959.
- 4) 西村和晃, 高田耕平, 野口吉広, 山口十紀夫, 下村

- 弘明, 山岡 昭: Dilantin 性歯肉肥大症に関する研究, その4 Dilantin 性歯肉肥大発症における plaque の役割について. 歯科医学, 44: 482-490, 1981.
- 5) Livingston, S. and Livingston, H. L.: Diphenylhydantoin gingival hyperplasia. *Am. J. Dis. Child.*, 117: 265-270, 1969.
 - 6) Babcock, J.R.: Incidence of gingival hyperplasia associated with dilantin therapy in a hospital population. *J. Am. Dent. Assoc.*, 71: 1447-1450, 1965.
 - 7) Rateischak-Pluss, E., Hefti, A., Lortscher, R. and Thiel, G.: Initial observation that cyclosporin-A induces gingival enlargement in man. *J. Clin. Periodontol.*, 10: 237, 1983.
 - 8) Tyldesley, W.R. and Rotter, E.: Gingival hyperplasia induced by cyclosporin - A. *Br. Dent. J.*, 157: 305-309, 1984.
 - 9) Adams, D. and Davis, G.: Gingival hyperplasia associated with cyclosporin A. *Br. Dent. J.*, 157: 89-90, 1984.
 - 10) Rostock, M.H., Frym, H. R. and Turner, J. E.: Severe gingival overgrowth associated with cyclosporin therapy. *J. Periodontol.*, 57: 294-298, 1986.
 - 11) Ramon, Y., Behar, S., Kishon, Y. and Engerberg, I. S.: Gingival hyperplasia caused by nifedipine: A preliminary report. *Int. J. Cardiol.*, 5: 195-204, 1984.
 - 12) Barak, S., Engelberg, I.S., and Hiss, J.: Gingival hyperplasia caused by nifedipine. *Histopathologic findings. J. Periodontol.*, 58: 639-645, 1987.
 - 13) Lucas, R.M., Howell, L.P. and wall, B. A.: Nifedipine-induced gingival hyperplasia: A histochemical and ultrastructural study. *J. Periodontol.*, 56: 211-215, 1984.
 - 14) 永田俊彦, 石田 浩, 益田忠幸, 加川公也, 浜崎章弘, 幸田直彦, 江渕有三, 若野洋一, 本田和子, 秋山良文, 中條信義, 小守 昭: ニフェジピン服用患者の歯肉所見. 日歯周誌, 27: 224-233, 1985.
 - 15) 岩倉政城, 渋谷芳郎, 小原陽子, 島田義弘: ニフェジピン (血圧降下剤) 療法を受けている患者の歯肉増殖状況について. 口腔衛生誌, 37: 574-575, 1987.
 - 16) 小林雅美, 太田典子, 高橋健作, 小池偉紀夫, 伊藤公一, 村井正大: カルシウム拮抗剤服用患者の歯肉増殖症に関する調査研究. 日歯周誌, 33: 146-153, 1991.
 - 17) Waner, T., Nyska, A., Nyska, M., Pirak, M., Sela, M. and Galiano, A.: Gingival hyperplasia in dogs induced by oxodipine: A calcium channel blocking agent. *Toxicol. Pathol.*, 16: 327-332, 1988.
 - 18) Heijil, L. and Sundin, Y.: Nitrendipineinduced gingival overgrowth in dogs. *J. Perildontol.*, 60: 104-112, 1989.
 - 19) Nyska, A., Waner, T., Galiano, A. and Zlotogski, A.: Gingival hyperplasia in rats induced by oxodipine-A calcium channel bloker. *J. Periodont. Res.*, 25: 65-68, 1990.
 - 20) 鶴藤 丞: 肉芽腫と肉芽嚢, 山村雄一, 林秀男, 炎症学叢書 4 炎症動物実験法, 医学書院, 東京, 1975, 83-102.
 - 21) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A., L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275, 1951.
 - 22) Woessner, J.F.: The determination of hydroxyproline in tissue and protein sample containing small proportions of this imino acid. *Arch. Biochem. Biophys.*, 93: 440-447, 1961.
 - 23) 朝隈蓉子, 福島範子: 結合組織の染色・アザン染色, 染色法のすべて—月刊 Medical Technology 別冊—医歯薬出版, 東京, 1988, 20-29.
 - 24) 今井昭一編: Ca 拮抗薬とは, 今井昭一, カルシウム拮抗薬—その現状と未来—第1版, ライフ・サイエンス, 東京, 1984, 1-8.
 - 25) 財団法人日本医薬情報センター編: 医療薬日本医療薬品集, 1989年版, 薬業時報社, 東京, 1989, 145-146.
 - 26) 枝長正修, 浜田佑二: BAYa1040に関する研究. 急性, 亜急性及び慢性毒性実験. 基礎と臨床, 5: 1831-1851, 1971.
 - 27) Meier, R., Schuler, W. and Desaulles, P.: Zur frage des mechanismus der hemmung des bindegewebswachstumus durch cortisone. *Experientia (Basel)* 6: 469-471, 1950.
 - 28) Swingle K.F. and Shideman F.E.: Phases of inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain antiinflammatory agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 183: 226-235, 1972.
 - 29) Jackson, D.S.: Connective tissue growth stimulated by carrageenin 1. The formation and removal of collagen. *Biochem. J.*, 65: 227-284, 1957.
 - 30) Hiramatsu, M., Hatakeyama, K., Abe, I. and Minami, N.: The effect of diphenylhydantoin sodium on acid mucopolysaccharide and collagen contents of cotton pellet granulomas in rats. *J. Periodontal. Res.*, 14: 173-177, 1979.

連絡先:

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

〒101 千代田区神田駿河台1-8-13