ラットの外傷性咬合による歯槽骨の吸収におよぼす アスピリンの影響

藤田 雄 敏 武 居 道 則 佐 藤 恵 美 子
今 村 文 雄 加 藤 正 久 小 倉 延 重
前 田 初 彦 亀 山 洋 一 郎

愛知学院大学歯学部病理学講座

(主任：亀山洋一郎教授)

(平成5年5月12日受付)

Effect of Aspirin on Alveolar Bone Resorption Induced by Traumatic Occlusion in Rats

Katsutoshi FUJITA, Michinori TAKESUE, Emiko SATO,
Fumio IMAMURA, Masahisa KATO, Nobushige OGURA,
Hatsuhiko MAEDA and Yoichiro KAMEYAMA

Department of Pathology, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University

1-100, Kusumoto-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464, Japan

(Chief : Prof. Yoichiro KAMEYAMA)

Aspirin is known to be an anti-inflammatory drug, and is used clinically in various diseases. There has been little information on the effect of aspirin on alveolar bone resorption induced by traumatic occlusion in humans or animals. The purpose of the present study was to investigate histologically and histometrically the effect of aspirin on alveolar bone resorption produced by traumatic occlusion in rats.

The animals were divided into 4 groups (Groups A, B, C and D). In Group A, the animals received no treatment. In Group B, the animals were topically given aspirin three times a week. While in Group C the animals had traumatic occlusion by mounting 1-mm-thick resin on the occlusal surfaces of the right maxillary molars. In Group D, the

animals had both aspirin treatment and traumatic occlusion. All of the animals were killed at 8 weeks, and their mandibles were examined histologically and histometrically.

Histologically and histometrically, the animals in Group A exhibited normal alveolar bone. The animals in Group B were similar to those in Group A. However, the alveolar bone in the animals in Group C was significantly decreased compared to that in Group A. The alveolar bone in the animals in Group D was also significantly decreased compared to those in Groups A and B, but the decrease was significantly less than that in Group C. The results of the present study indicate that aspirin has an inhibitory effect on alveolar bone resorption induced by traumatic occlusion.

Key words : Rat, Traumatic occlusion, Alveolar bone resorption, Aspirin administration

要旨：本研究では、ラットの外傷性咬合による歯槽骨の吸収におよぼすアスピリンの影響を検索した。実験動物を4群に分け、A群は無処置とした。B群にはアスピリンを投与し、また、C群には外傷性咬合を与えた。D群ではC群の動物と同様の外傷性咬合に加えて、アスピリンを投与した。各群の動物は実験開始から8週後に屠殺して、歯周組織を組織学的および組織形態計測学的に検索した。組織学的には、A群では特に変化は認められ

なかった。B群ではA群とほぼ同じような所見がみられた。C群では象牙質やセメント質の吸収窩がセメント質によって修復されているのがみられた。歯根膜線維の配列は乱れていた。また、歯槽骨には減少が認められた。D群でも象牙質、セメント質、歯根膜線維にはC群とほぼ同様の所見がみられた。また、歯槽骨には減少が認められたが、C群よりもその程度は弱かった。組織形態計測学的には、A群やB群と比較して、C群やD群の歯槽骨の骨密度は有意 ($P < 0.01$) に減少していた。また、C群と比べて、D群の歯槽骨の骨密度の減少は有意 ($P < 0.01$) に少なかった。本実験の結果から、アスピリンは外傷性咬合による歯槽骨の吸収を抑制することが示唆された。

索引用語：ラット、外傷性咬合、歯槽骨吸収、アスピリン投与

緒 言

アスピリンは解熱、鎮痛、抗炎症作用を有し、種々の疾患の治療に用いられている¹⁾。また、アスピリンは、プロスタグランジンの生合成を阻害すること²⁾から骨吸収を抑制することが知られている。実験的な歯の移動における破骨細胞性骨吸収は、アスピリンの投与によって抑制される³⁾ことが報告され、また、アスピリンを常用しているヒトには歯周炎による骨吸収が少ないという報告もある^{4,5)}。しかし、アスピリンが外傷性咬合下にある歯周組織に対してどのような影響をおよぼすのかについての研究は、われわれの知る限りほとんどみられない。本研究では、咬合を挙上することによって実験的に外傷性咬合を引き起こした動物の歯周組織における歯槽骨の吸収に、アスピリンがどのような影響をおよぼすのかを組織学的および組織形態計測学的に検索した。

材料および方法

実験動物には、4週齢のウイスター系雄性ラット32匹を用い、それらを処理の違いによって以下の4群（各群8匹）に分けた。A群の動物では、無処置とした。B群の動物では、週3回、アスピリン（ヴェノピリン®、ミドリ十字製）を投与した。C群の動物では、外傷性咬合を起こすために上顎右側臼歯に高さ1mmのレジンによる咬合挙上板を装着した。D群の動物では、C群の動物と同様の外傷性咬合の処置に加えて、週3回、アスピリンを投与した。アスピリンの投与は1回につき体重（Kg）あたり200mgを胃ゾンデを用いて行った。

各群の動物は、実験開始から8週後に体重を測定して屠殺し、下顎右側臼歯部を摘出後、10%中性緩衝ホルマリンによる固定、EDTAによる脱灰後、通法

に従ってパラフィンに包埋して6 μ mの近遠心方向の連続組織切片を作製し、HE染色を施して光学顕微鏡で観察した。なお、本実験の動物の臼歯部の組織学的観察は特に第1臼歯の根分岐部歯周組織について行った。

実験動物の歯周組織、特に第1臼歯の歯槽骨の組織形態計測学的検索には、各動物あたり5枚の組織切片を投影機（Leitz社製、Micro Promo）で画像解析装置（武藤社製、デジグラム Model G）のタブレット上に投影し、歯槽骨の骨密度を計測した（図1）。骨密度は、（骨梁に重なった点の数） $\times$ （格子の点の総数） $\times 100$ の算式により求めた。

なお、各群の体重と歯槽骨の骨密度の統計処理にはt検定を用いた。

図1 歯の模式図

結 果

1. 体重変化 (図2)

A群の動物と比較して、B、C、D群の動物ではいずれも体重は少なく、特に外傷性咬合の処置を行ったC群の動物や外傷性咬合の処置とともにアスピリンの投与を行ったD群の動物では体重の減少が目立っていた。

2. 組織学的所見ならびに組織形態計測学的所見

組織学的には、A群の動物 (図3、4) では、象牙質やセメント質には特に変化は認められなかった。歯根膜には多くの線維芽細胞がみられ、歯根膜線維は規則正しく配列していた。また、歯槽骨には吸収はみら

図2 体重変化

図3 A群の歯周組織

象牙質やセメント質には特に変化は認められない。歯根膜には多くの線維芽細胞がみられ、歯根膜線維は規則正しく配列している。また、歯槽骨には吸収はみられない。HE ×20

図4 A群の歯周組織の強拡大像

D: 象牙質 PL: 歯根膜
C: セメント質 AB: 歯槽骨

図3の強拡大像。象牙質やセメント質には特に変化は認められない。歯根膜には多くの線維芽細胞がみられ、歯根膜線維は規則正しく配列している。HE ×50

図5 B群の歯周組織

A群の動物とほぼ同じような所見がみられる。HE ×20

図6 B群の歯周組織の強拡大像

D: 象牙質 PL: 歯根膜
C: セメント質 AB: 歯槽骨

A群の動物とほぼ同じような所見がみられる。HE ×50

図 7 C群の歯周組織

象牙質やセメント質の吸収窩がセメント質によって修復されているのがみられる。歯根膜では歯根膜線維の配列が乱れているが、炎症性細胞浸潤は少ない。また、歯槽骨ではA群やB群の動物と比べて、骨梁の減少が認められ、骨髓腔が拡大している。HE ×20

図 8 C群の歯周組織の強拡大像

D: 象牙質 PL: 歯根膜
C: セメント質 AB: 歯槽骨

図 7 の強拡大像

象牙質やセメント質の吸収窩がセメント質によって修復されているのがみられる。歯根膜では歯根膜線維の配列が乱れているが、炎症性細胞浸潤は少ない。HE ×50

れなかった。B群の動物(図5, 6)では、A群の動物とほぼおなじような所見がみられた。C群の動物(図7, 8)では、象牙質やセメント質の吸収窩がセメント質によって修復されているのがみられた。歯根膜では歯根膜線維の配列が乱れていたが、炎症性細胞浸潤は少なかった。また、歯槽骨ではA群やB群の動物と比べて、骨梁の減少が認められ、骨髓腔が拡大していた。D群の動物(図9, 10)では、象牙質、セメント質、歯根膜ではC群とほぼ同様な所見がみられた。また、歯槽骨でも骨梁の減少がみられたが、C群の動

図 9 D群の歯周組織

象牙質、セメント質、歯根膜ではC群とほぼ同様な所見がみられる。また、歯槽骨でも骨梁の減少がみられるが、C群の動物と比べてその程度は弱い。HE ×20

図 10 D群の歯周組織の強拡大像

D: 象牙質 PL: 歯根膜
C: セメント質 AB: 歯槽骨

図 9 の強拡大像。象牙質、セメント質、歯根膜ではC群とほぼ同様な所見がみられる。

HE ×50

物と比べてその程度を弱かった。

組織形態計測学的には、A, B, C, D群の動物の歯槽骨の骨密度(平均値±標準偏差)は、それぞれ 72.3 ± 3.3 , 70.2 ± 3.5 , 58.7 ± 2.8 , $62.4 \pm 2.4\%$ であった(図11)。A群の動物とB群の動物の間では、歯槽骨の骨密度には有意差はみられなかった。C群の動物では、A群やB群の動物と比べて、歯槽骨の骨密度には有意な減少がみられた($P < 0.01$)。また、D群の動物でも、A群やB群の動物と比べて、歯槽骨の骨密度には有意な減少がみられた($P < 0.01$)。しかし、D群の動物では、C群の動物と比較して、歯槽骨の骨密度の減少は有意に少なかった($P < 0.01$)。

図 11 歯槽骨の骨密度

考 察

実験動物のラット、イヌ、サルなどにおいて、実験的に外傷性咬合を引き起こした場合の歯周組織を組織学的に検索した研究は比較的多くみられ⁶⁻¹⁴⁾。それらの研究に用いられた実験動物では、外傷性咬合を起こした直後からある期間までは、歯周組織には歯根膜の壊死、セメント質や歯槽骨の吸収などが観察されていたが、その後の期間では、経時的にそれらの歯周組織の変化はほぼ正常な状態にまで修復されていたことが報告されている。本実験でも、外傷性咬合を起こしたC群の動物では、組織学的に歯周組織には修復、すなわち、セメント質、象牙質および歯槽骨の吸収窩における修復性の添加ならびに歯根膜線維の機能的な再配列などが観察された。しかし、C群の動物では、A群の動物と比較して、組織学的ならびに組織形態計測学的に歯槽骨は明らかに減少しており、正常な状態にまでは修復されていなかった。

非ステロイド系抗炎症剤は歯槽骨組織の吸収を抑制することが知られている^{15,16)}。Feldmanら^{4,5)}は、慢性の関節炎のためにアスピリンを服用していた患者では、歯周炎による歯槽骨の吸収が少なかったと報告している。また、LasfarguesとSaffar¹⁷⁾は、ハムス

ターの実験的歯周炎では、インドメタシンの投与によって歯槽骨の吸収の抑制や破骨細胞数の減少がみられたと報告している。Nymanら¹⁸⁾は、結紮線により惹起されたイヌの歯周炎では、インドメタシンの投与は急性炎症の発症を遅延させ、炎症の程度を軽減し、歯槽骨の吸収を減少させたと述べている。また、Williamsら¹⁹⁾は、ビーグル犬にインドメタシンとフラビオプロフェンを投与した結果、無投与のものと比較して、それらの動物では歯槽骨の吸収が抑制されていたと報告している。さらに、Chumbleyら²⁰⁾は、ネコに矯正装置をつけて歯牙の移動をするとともにアスピリン系非ステロイド性抗炎症剤を投与した結果、それらの動物では歯牙の移動量が減少したと報告している。また、Weeks-Dybvigら²¹⁾は、結紮糸を使用して歯槽骨を吸収させたサルにインドメタシンを投与した結果、対照群のサルの歯槽骨と比較して、それらのサルでは有意な歯槽骨の減少はみられなかったと述べている。本実験では、組織学的ならびに組織形態計測学的に、外傷性咬合のみを起こしたC群の動物と比較して、外傷性咬合を起こしたに加えてアスピリンの投与を行ったD群の動物では、歯槽骨の減少は明らかに少なかった。また、アスピリンを投与したが、外傷性咬合は起こさなかったB群の動物では、歯周組織はA群の動物とほぼ同様であった。したがって、本実験の結果から、動物の外傷性咬合による歯槽骨の吸収はアスピリンの投与によって抑制されることが推察された。

歯槽骨以外の骨組織に関する非ステロイド系抗炎症剤の影響については、西村ら²²⁾は、ラットの頭蓋骨に創傷を形成し、その治癒過程におよぼすアスピリンの影響を調べたところ、アスピリンは頭頂骨の創傷治癒や骨発育などを抑制したと報告している。さらに、Solheimら²³⁾は、アスピリンは発育中のラットの大腿骨の骨形成を抑制したと述べている。しかしながら、Yazdiら²⁴⁾は、非ステロイド系抗炎症剤はその投与時や投与量によっては、異所性に移植した脱灰骨での骨形成を促進したと報告している。

プロスタグランゼンは、生理的、病理的、物理的刺激によって種々の組織から放出されることが知られている²⁵⁾。Elattar²⁶⁾は、慢性歯周炎患者の歯肉組織の細胞分層によって、アラキドン酸からプロスタグランデンE₂やF₂が生合成されたことを報告している。Mendietaら²⁷⁾は、炎症を起こしたヒトの歯肉組織では、正常な歯肉組織と比較して、プロスタグランゼン

E_2 の生合成が有意に増加したと述べている。また、プロスタグランジンが骨組織におよぼす作用に関して、Klein と Raisz²⁾ は、プロスタグランジン E_1 と E_2 は、組織培養において胎生期のラットの長管骨の吸収を促進したと報告している。Rifkin ら²⁸⁾ は、器官培養における胎生期のラットの長管骨では、プロスタグランジン E_2 の刺激によってもとから存在していた破骨細胞の活性化や新生破骨細胞の増殖が認められたと述べている。Holtrop ら²⁹⁾ は、器官培養における胎生期のラットの骨に対するプロスタグランジン E_2 の効果について検索した結果、プロスタグランジン E_2 によって骨吸収が生じるのは、破骨細胞の増加を促進するためというよりは、むしろもとから存在していた破骨細胞の活性化を促進するため、すなわち、破骨細胞自体の面積やラッフルドボーダーとクリアーゾーンの面積が増加することによるためであろうと推察している。さらに、Goodson ら³⁰⁾ は、プロスタグランジン E_1 を骨の上の皮下組織に注射すると急激な骨吸収が認められたと報告している。上記の報告から、一般にプロスタグランジンは破骨細胞を活性化させ、骨吸収作用を促進すると思われる。

非ステロイド系抗炎症剤がプロスタグランジンにおよぼす影響について、Schelling ら³¹⁾ は、インドメタシンはプロスタグランジン E_2 によって惹起される骨吸収を抑制せず、また、破骨細胞の増加に対しても有意な抑制効果はなかったと述べている。しかしながら、Vane³²⁾ は、モルモットの肺のホモジネートで認められたプロスタグランジンの生合成は、アスピリンやインドメタシンによって抑制されたと報告している。また、Gomes ら³³⁾ は、サルの上顎肉を細胞分屑して培養した結果、培養液中で骨吸収を起こすプロスタグランジン E_1 と E_2 が産生されたが、インドメタシンをその培養液中に入れると、これらのプロスタグランジンの産生が抑制されたと述べている。

上記のプロスタグランジンの生合成およびその生合成におよぼす非ステロイド系抗炎症剤の影響に関する報告^{25,30,32,33)} から、本実験において、外傷性咬合を起こすとともにアスピリンを投与したD群の動物で観察された歯槽骨の吸収の減弱は、外傷性咬合による歯周組織の損傷から起こるプロスタグランジンの産生をアスピリンが抑制したことによるものではないかと推察された。また、外傷性咬合を起こしたが、アスピリンを投与しなかったC群の動物では、歯周組織における炎症性細胞の浸潤は一般に少なかった。今までの動物

実験による報告⁶⁻¹⁴⁾ でも、一般に外傷性咬合下の歯周組織では炎症細胞の浸潤は著明ではないといわれている。したがって、外傷性咬合のみを起こしたC群の動物と比較して、外傷性咬合を起こしてアスピリンの投与を行ったD群の動物において、歯槽骨の減少が少なかったということは、アスピリンの投与が浸潤した炎症性細胞の働きを抑制したことによるものではないと思われる。

結 論

本研究では、アスピリンが口腔領域の組織におよぼす影響、特に外傷性咬合下にある歯槽骨への影響を検索するために、咬合挙上を行って実験的に外傷性咬合を起こした動物の歯槽骨と、実験的な外傷性咬合を起こすとともにアスピリンの投与を行った動物の歯槽骨を、組織学的ならびに組織形態計測学的に検索した。その結果、後者の動物では歯槽骨の減少は明らかに少なかった。このことから、アスピリンの投与は外傷性咬合下における歯槽骨の吸収を抑制する可能性のあることが示唆された。

文 献

- 1) 高木敬次郎, 高久史麿, 海老名昭夫: 薬の正しい使い方. 病態生理と薬物治療. 広川書店, 東京, 1990, 46-47.
- 2) Klein, D.C. and Raisz, L.G.: Prostaglandins: Stimulation of bone resorption in tissue cultures. *Endocrinology*, 86: 1436-1440, 1970.
- 3) Yamasaki, K.: The role of cyclic AMP, calcium, and prostaglandins in the induction of osteoclastic bone resorption associated with experimental tooth movement. *J. Dent. Res.*, 62: 877-881, 1983.
- 4) Feldman, R.S., House, J.E., Chanuncey, H.H. and Goldhaber, P.: Inhibition of alveolar bone loss in humans by aspirin. *J. Dent. Res.*, 59 (Abstract Special Issue A: 115, 1980).
- 5) Feldman, R.S., Szeto, B., Chauncey, H.H. and Goldhaber, P.: Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the reduction of human alveolar bone loss. *J. Clin. Periodontol.*, 10: 131-136, 1983.
- 6) Itoiz, M.E., Carranza, F.A. and Cabrini, R.L.: Histologic and histometric study of experimental occlusal trauma in rats. *J. Periodontol.*, 34: 305-314, 1963.
- 7) Glickman, I. and Smulow, J.B.: Adaptive alterations in the periodontium of the Rhesus monkey

- in chronic trauma from occlusion. *J. Periodontol.*, 39 : 101-105, 1968.
- 8) Kameyama, Y. : Histopathologic and autoradiographic studies of the changes of the rat periodontium in experimental traumatic occlusion. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.*, 15 : 339-357, 1968.
 - 9) 本間 博, 池野直人, 石川 純 : 実験的咬合性外傷と歯周炎のサル歯周組織破壊に及ぼす影響について (I). *日歯周誌*, 19 : 220-230, 1977.
 - 10) 本間 博 : 実験的咬合性外傷のサル歯周組織に及ぼす影響に関する研究. *日歯周誌*, 19 : 289-302, 1977.
 - 11) 高木勇蔵 : 外傷性咬合による歯の支持組織の変化に関する実験的研究. *広大歯誌*, 10 : 70-88, 1978.
 - 12) 尾崎敬一郎 : 外傷性咬合に関する実験的研究. *九州歯会誌*, 36 : 157-175, 1982.
 - 13) 山田俊二 : 過剰な咬合圧による歯槽骨変化. *歯基礎誌*, 25 : 961-989, 1983.
 - 14) 比留間正俊, 鴨井久一, 本田 忍 : ラットにおける実験的咬合性外傷の治癒経過について. *日歯周誌*, 30 : 344-367, 1988.
 - 15) Heasman, P.A. : The role of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the management of periodontal disease. *J. Dent.*, 16 : 247-257, 1988.
 - 16) Page, R. : The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodont. Res.*, 26 : 230-242, 1991.
 - 17) Lasfargues, J.J. and Saffar, J.L. : Effect of indomethacin on bone destruction during experimental periodontal disease in the hamster. *J. Periodont. Res.*, 18 : 110-117, 1983.
 - 18) Nyman, S., Schroeder, H.E. and Lindhe, J. : Suppression of inflammation and bone resorption by indomethacin during experimental periodontitis in dogs. *J. Periodontol.*, 50 : 450-461, 1979.
 - 19) Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Wechter, W.J., Johnson, H.G., Kaplan, M.L. and Goldhaber, P. : Non-steroidal anti-inflammatory drugs treatment of periodontitis in beagles. *J. Periodont. Res.*, 19 : 633-637, 1984.
 - 20) Chumbley, A.B. and Tuncay, O.C. : The effect of indomethacin (an aspirin-like drug) on the rate of orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod.*, 89 : 312-314, 1986.
 - 21) Weaks-Dybvig, M., Sanavi, F., Zander, H. and Rifkin, B. : The effect of indomethacin on alveolar bone loss in experimental periodontitis. *J. Periodontal. Res.*, 17 : 90-100, 1982.
 - 22) 西村 亨, 梁 瑞峰, 川畑著洋, 新井敏昭, 水野祐尚, 坂田俊夫, 丸山七朗, 田島雅道, 佐藤精一 : Aspirin DL-lysine のラット骨創傷治癒および骨の発育に及ぼす影響. *明海歯学誌*, 17 : 376-384, 1988.
 - 23) Solheim, L.F., Rönning, H. and Langeland, N. : Effects of acetylsalicylic acid and naproxen on bone resorption and formation in rats. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 105 : 137-141, 1986.
 - 24) Yazdi, M., Cheung, D.T., Cobble, S., Nimni, M.E. and Schonfeld, S.E. : Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on demineralized bone-induced bone formation. *J. Periodont. Res.*, 27 : 28-33, 1992.
 - 25) Elattar, T.M.A. : Prostaglandins : Physiology, biochemistry, pharmacology and clinical applications. *J. Oral Pathol.*, 7 : 175-207, 1978.
 - 26) Elattar, T.M.A. and Lin, H.S. : Biosynthesis of prostaglandin E_2 and $F_{2\alpha}$ in gingiva of patients with chronic periodontitis. *J. Dent. Res.*, 60 : 748-750, 1981.
 - 27) Mendieta, C.F., Reeve, C.M. and Romero, J.C. : Biosynthesis of prostaglandins in gingiva of patients with chronic periodontitis. *J. Periodontol.*, 56 : 44-47, 1985.
 - 28) Rifkin, B.R., Baker, R.L. and Coleman, S.J. : Effects of prostaglandin E_2 on macrophages and osteoclasts in cultured fetal long bones. *Cell Tiss. Res.*, 207 : 341-346, 1980.
 - 29) Holtrop, M.E., Raisz, L.G. and King, G.J. : The response of osteoclasts to prostaglandin and osteoclast activating factor as measured by ultrastructural morphometry. In : Horton, J.E., Tarpley, T.M. and Davis, W.F., Eds., *Proceedings of mechanisms of localized bone loss. Special supplement to Calcif. Tissue Abstracts*, 13-20, 1978.
 - 30) Goodson, J.M., McClatchy, K. and Revell, C. : Prostaglandin-induced resorption of the adult rat calvarium. *J. Dent. Res.*, 53 : 670-677, 1974.
 - 31) Schelling, S.H., Wolfe, H.J. and Tashjian, A.H. : Role of the osteoclast in prostaglandin E_2 -stimulated bone resorption. *Lab. Invest.*, 42 : 290-295, 1980.
 - 32) Vane, J.R. : Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, 231 : 232-235, 1971.
 - 33) Gomes, B.C., Hausmann, E., Weinfeld, N. and De Luca, C. : Prostaglandins : Bone resorption stimulating factors released from monkey gingiva. *Calcif. Tiss. Res.*, 19 : 285-293, 1976.

連絡先 :

愛知学院大学歯学部病理学講座

〒464 名古屋市千種区楠元町 1-100