辺縁性歯周炎の免疫病理学的研究

第4報：その(1) 蛍光抗体法によるヒト
炎症歯肉のendotoxin の局在性について

金 久 純 也 堀 泰 典 竹 内 宏

岐阜歯科大学口腔病理学講座* (主任：寺崎太郎教授)

谷 明 佐 川 寛 典

大阪歯科大学細菌学教室** (主任：佐川寛典教授)

[受付：昭和56年4月25日]

Immunopathological studies of marginal periodontitis
IV-(1) Immunofluorescent localization of endotoxin
in human inflamed gingival tissue

Junya Kanehisa, Yasunori Hori and Hiroshi Takeuchi

Department of Oral Pathology, Gifu College of Dentistry,

Takano 1851, Hozumi-cho, Motosu-gun, Gifu 501-02

(Chief: Prof. Taro Terazaki)

Akira Tani and Hirosuke Sagawa

Department of Microbiology, Osaka Dental college Osaka

(Chief: Prof. Hirosuke Sagawa)

[Accepted for publication April 25, 1981]

Key words: marginal periodontitis/endotoxin/FITC-labeled anti-endotoxin serum/tissue damage

Abstract: This study was made to clarify the localization of *Fusobacterium* endotoxin in the human gingival tissue with periodontal disease by utilizing FITC-labeled anti-endotoxin sera; the antisera were produced in rabbits by immunization of purified *Fusobacterium* endotoxin.

Specific fluorescences showing invasion of the endotoxin were demonstrated both in the gingival epithelium and subepithelial connective tissue with diffuse pattern and granular or fibrillar pattern. The former is suggestive of soluble endotoxin and the latter shows endotoxin contained within the bacterial cell wall. In the cases in which the specific fluorescences were observed in the epithelial tissue intracellularly and/or extracellularly, the histopathological findings by routine staining mostly revealed severe regressive changes possibly due to the cytotoxic effect of endotoxin.

On the other hand, in the subepithelial connective tissue, positive fluorescences were most commonly observed extracellularly except in a few cases which showed intracellular fluorescences suggesting that PMNs and macrophages engulfed the endotoxin. In these cases, the dense infiltration of chronic inflammatory cells was associated or the extensive necrotic changes were brought about.

From the above-mentioned results, the actual location of endotoxin in the human inflamed gingiva and its close relation to tissue damage were proved.

* 岐阜県本巣郡穂積町高野 (〒 501-02)

** 大阪市東区京橋 1-47 (〒 540)

緒 言

歯周疾患の発症, 増悪因子として近年 endotoxin の多様な生物活性が注目されている¹⁻²¹⁾。それは, 1) endotoxin が歯肉溝上皮に対して通過性を示し, 動物の歯肉に炎症反応を惹起せしめること, 2) 上皮結合組織で immunogen として作用すること, 3) in vitro で培養骨に osteoclastic bone resorption を招来せしめることの3点に基づいている。

しかし, これらはいずれも動物実験や in vitro の実験結果であって, ヒトの歯周組織を場として扱えられたものではない。従って, 動物実験における先人達の知見をヒト歯周疾患に適用するに際して, まず最初に解明すべきことは, この様な endotoxin の侵襲の有無, 分布状況などを検討することであり, この点を明らかにすることは endotoxin と歯周疾患の関連性の重要な手懸となり得る。

そこで今回, 著者らは, *Fusobacterium nucleatum* より抽出した endotoxin を抗原とする蛍光抗体法によって, ヒト歯周疾患患者の切除歯肉内の endotoxin の検出を試みたところ, その侵襲を認め得たので, 若干の免疫病理学的検討を加えて以下に報告する。

実験材料及び方法

1. 蛍光抗体液の調製

1. endotoxin (lipopolysaccharides, LPS) の調製

供試菌 *Fusobacterium nucleatum* strains ATTC 10953 and 25586 を EX-I medium (Table I) により嫌氣的培養後, 凍結乾燥材料とした。次に, 凍結乾燥菌体から crude LPS を分離した後 (Table II), さらに Table III の如く, LPS を精製した。

なお, 本標品の組成及び生物活性の詳細に関しては文献 22) を参照されたい。

2. FITC 標識抗 endotoxin 家兎血清 (FES と略する) の調製

① 家兎への免疫方法

精製した endotoxin を 100 µg/ml の溶液とした

Table I EX-I medium

Brain heart infusion	20 g
Biosate	10 g
Yeast extract	10 g
Casitone	7 g
L-cysteine	20mg
L-asparagine	20mg
L-tryptophan	20mg
Sucrose	5 g

Dissolved in 1000 ml of aqua dest. and adjusted to pH 7.2

ものを, 等量の Freund's incomplete adjuvant を加えて乳化し, 約 3 kg の家兎の後肢に 1 週間毎に計 4 回, 2 ml ずつ筋注した。最終注射より 3 週間後から, 100 µg/ml の溶液 1 ml を週 1 度計 4 回耳静脈より静注し, さらに 3 ヶ月後 500 µg/ml の溶液 1 ml を 1 週間毎に計 3 回静注し, booster injection とした。さらに最終注射から 1 週間後に耳静脈より 2 cc 採血し, 血清分離後, Ouchterony 法にて endotoxin に対する特異抗体の産生を確認し (Fig. 1), 頸動脈より全採血した。

② 抗血清の精製・FITC の標識

分離した血清から $1/3$ 飽和硫酸安門塩析法により, γ -グロブリン分画のみを採取し, これに FITC (BBL) を conjugate し, cellulose colum chromatography にて非特異因子を除去した。

2. 被検材料

被検歯肉は, 岐阜歯科大学付属病院歯周病科にて, 辺縁性歯周炎という診断のもとに, 切除あるいは, 搔爬された 65 例である。

なお, 採取した歯肉は, 速かに冷エタノールで 2 日間固定後, 無水エタノール I, II, III で脱水し, 次にキシロール I, II, III で透徹, パラフィン包埋したものを, 2 ~ 4 µ 前後の連続切片とした。

3. 観察方法

蛍光抗体法は直接法を実施した。すなわち, パラフィン切片は脱パラフィンした後, PH 7.2 の cold staining buffer に 20 分間浸漬し, 余剰の buffer を除いてから FES を切片上に滴下した。そして 37°C の moist chamber 内で overnight 染色した。染色終了後, staining buffer で 1 時間に

Table II Isolation of crude LPS

Freeze-dried bacterial cells
Add 10 vol. of aqua dest.
Cell suspension
Add an equal vol. of Phenol
Heat and stir 65°C, 15 min.
Centrifugation 3000 g, 4°C, 10 min.
Water phase Phenol phase Sediment
Extract with aqua dest (twice)
Centrifugation 3000 g, 4°C, 10 min.
Water phase Phenol phase Sediment
Dialyze against aqua dest.
Dry freeze

Table III Purification of crude LPS

Crude LPS
Dissolve with aqua dest. (1%)
Centrifugation 80000 g, 6 h.
Sediment
Dissolve with aqua dest.
Centrifugation 10500 g, 2 h.
Sediment
Dissolve with aqua dest.
Add 2% Cetabrom
Centrifugation
Supernatant
Dry freeze
Dissolve with 0.5 N NaCl
Add 10 vol. of Ethanol 4°C, 2 h.
Centrifugation
Sediment
Dissolve with aqua dest.
Dialyze against aqua dest.
Dry freeze

亘って洗い, buffer を吸い取り10% glycerine buffer で封入し, Nikon 透過型蛍光顕微鏡にて観察した。一方, 同症例の連続切片はすべて Hematoxylin-Eosin 染色を施した他に, 必要に応じてグラム染色 (Hucker-Conn 法) を併用し, 免疫組織学的観察の補助とした。

実験結果

検索した65例の中で FES によって明らかに蛍光陽性所見を呈したものは43例であった。これら切片上の特異蛍光は, その形状によって, 1) diffuse pattern と, 2) granular or fibrillar pattern の2型に大別し得た。前者は無構造で瀰漫性的特異蛍光であり, 可溶性 endotoxin の浸透範囲, あるいは, その局在を示すものであるのに対し, 後者は, 比較的蛍光の強い, 粒状あるいは線状の物質が集合して認められるもので菌体に一致してみられ, 細菌の細胞壁を構成する LPS (endotoxin) と FES が結合した結果とみなし得る。

これら endotoxin の歯肉組織における分布状況は table IVに示す如くであり, これを概説すると以下の如くである。

1. 上皮組織

被験例65例中, 特異蛍光を示したのは43例で, さらに上皮組織内に認められたのは37例であった。この中で intracellularly にのみ認められたものは12例, intercellularly のみは21例, 両者にみられたものは4例であった。intracellularly に認められる蛍光はすべて diffuse pattern であり, 細菌体ないしその断片の存在を示すような所見は認められなかった。すなわち, Fig. 2 A, B に示すように, 上皮細胞の核を除いた胞体の大部分が一様に染め出されており, 隣接する intercellular space にみられるような granular or fibrillar な特異蛍光とは異っている。一方, intercellularly に認められたものは, 21例でその中の16例には両 pattern の蛍光が認められた。また, intra-, intercellular の両方に陽性所見を示したのは4例であったが, その中の3例は intercellular space に granular or fibrillar pattern の特異蛍光所見を認めた。このような Gram 陰性菌の侵襲像は, Gram 染色においても明らかに把えることができ

Fig. 1 Precipitin reaction of rabbit serum to *F. nucleatum* endotoxin. Left well contains endotoxin sol. 500mg/ml; right well, anti-endotoxin rabbit serum.

Table IV Correlation of fluorescent patterns with its distribution

	Epithelial layer 37 (only epith. 21 epith.+subepith. 16)			Subepithelial connective tissue 22 (only subepith. 6 epith.+subepith. 16)		
	intracellularly	intracellularly	both	macrophage	microphage	intercellular
diffuse	12	21	4	3	1	20
granular or fibrillar	0	16	3	0	0	14

Fig. 2 A, B. Immunofluorescent staining with FES shows granular or fibrillar pattern (↔) and diffuse pattern (←). orig. mag. A, ×400, B, ×1000
C. Gram (-) bacteria in the epithelial tissue. (Hucker-Conn staining) orig. mag. ×1000

た (Fig. 2 C)。

この他に、一部の症例では基底膜に沿って、上皮側に比較的強い帯状の特異蛍光が観察できた (Fig. 3)。

さて、各症例の連続切片標本に H・E 染色を施し観察した結果、上皮組織内に特異蛍光を示した症例の殆んどが上皮に退行性変化を示していた。その主たる変化は、上皮細胞の空胞変性、萎縮、

Fig. 3 Specific fluorescence stained with FES can be seen in the basal cell layer. orig. mag. $\times 400$

細胞間橋の離断や消失で、これらの変化は上皮層に plaque が直接沈着している例で高度となる傾向があり、症例によってはさらに破壊が進んで erosion を起し、ここに直接 bacterial plaque が沈着したとみなし得る像が認められた (Fig. 4)。

2. 上皮下結合組織

上皮下結合組織で特異蛍光が認められたのは22例であり、すべて上皮直下に局在し、深部に至るものはなかった。この中の20例は、蛍光物質は細胞間基質中に存在しており、3例は macrophage に局在し、1例は PMN の胞体内に認められた。これらの胞体内に認められた特異蛍光は diffuse pattern であり、蛍光は極めて微弱であった。また、granular or fibrillar pattern, すなわち上皮下結合組織内への細菌の直接侵入を示す所見は14例に観察できた (Fig. 5)。これら endotoxin 侵襲部位には、lymphoid cell, plasma cell, macro-

Fig. 4 Severe degenerative changes of oral sulcular epithelium. orig. mag. $\times 400$

phage が密に浸潤、増殖しており、詳細に観察すると、上皮直下では small lymphocyte が主体を成し、その中に大, 中の lymphoblast が混在している場合が多く (Fig. 6), 成熟した plasma cell はそれより離れた毛細血管周囲に集塊を成している場合が多かった。

また、組織内に massive な granular or fibrillar pattern がみられる例では、その近傍の組織は、殆んど生体応答を示すことなしに、necrotic な像を呈していた。時に、殆んど細胞浸潤を伴わず上皮下結合組織の collagen bundle が破壊されて loose となった例も認め、かかる症例では、上皮は極めて degenerative であるか、あるいは、菲薄となった上皮の表層に plaque が massive に付着していた (Fig. 7)。

考 察

endotoxin がヒトの歯周疾患の成立に重要な役

Fig. 5 Granular or fibrillar pattern of fluorescence with FES can be demonstrated in the subepithelial connective tissue. orig. mag. $\times 400$

Fig. 6 Infiltration of small lymphocytes, lymphoblasts and macrophages beneath the epithelium. orig. mag. $\times 400$

割を演じているという点は諸学者の認めるところであり、多くの研究成果が報告されてきている。しかし、endotoxin がヒト歯肉に侵襲するという事実は、今までの所まだ確認されるに至っていない。今回、蛍光抗体法によって被検ヒト歯肉 65 例中 43 例に、これを認めることができた。この際に、細菌侵襲の防御壁となるべき歯肉溝上皮は種々の程度に変性、萎縮し、時には erosion を呈

するものもあった。このような上皮変化によって歯肉溝内の細菌やその産生物は容易に組織内に到達し得るものであるが、この上皮変化は細菌などによって直接傷害されたものか、あるいは、炎症反応によって二次的に傷害されたものかは不明である。Rizzo, A. A. (1968)¹⁴⁾ は Schwartzman 反応を応用して、New Zealand white rabbit の歯肉溝上皮 (OSE) の endotoxin の通過性を検索

Fig. 7 A (Immunofluorescent staining with FES)
B (Hucker-Conn staining)

Bacterial plaque attached to thinned epithelium is composed mainly of gram (-) bacteria. Subepithelial connective tissue becomes loose and inflammatory cell infiltration can not be seen. orig. mag. $\times 200$

した結果, intact な上皮の場合は endotoxin が上皮を通過することはなかったが, 上皮を歯科用ダイヤモンドバーで傷つけた後に OSE に endotoxin を作用させると, 上皮下結合組織に endotoxin が侵入し, Schwartzman 反応陽性を示したとの報告を行い, これに対して, Schwartz ら¹³⁾はビーグル犬の臨床的にも顕微鏡的にも健全な OSE に, ^3H で標識した *E. coli* endotoxin を作用させ, autoradiography を用いて, intact な OSE の endotoxin 通過性を確認している。さらに, Ranny ら⁵⁾は, *Leptotrichia buccalis* の endotoxin を, 同様に犬を用いて, その歯面に塗布し, 後に静注した carbon black が, endotoxin の作用範囲では血管内から漏出していることを観察し, やはり intact な OSE の通過性を示した。今回, 著者らの行った実験においては, 上皮組織内に FES の特異蛍光がみられたのは65例中37例であり, その一部を除く殆んど症例で, 上述した如く, H・E 染色によって多少なりとも degenerative な変化を認めた。この事実は, endotoxin がもともと intact であった上皮組織を連続的あるいは間欠的に通過する際に, cytotoxic に作用した結果と解釈すべきなのか, あるいは, 機械的刺

激ないし endotoxin 以外の細菌由来の諸因子によってすでに傷害された上皮が, endotoxin の通過を許したと考えるべきかは, 今回の実験だけでは即断できないが, endotoxin の細胞内代謝障害作用を考えると²³⁾, 竹内¹⁵⁾の推測している様に, 上皮細胞自体の酵素活性障害, 糖代謝障害に引き続く, 細胞の変性, 細胞間隙の拡大は, むしろ必然的な現象であり, 上述した前者の解釈を採択すべきではなかろうか。この様な可能性は, Neider ら⁸⁾の in vitro での endotoxin の細胞剥離作用によってある程度裏付けることができる。

また, 上皮細胞間に granular or fibrillar pattern の特異蛍光が認められたのは既述した通りであるが, この所見は, すでに竹内ら¹⁶⁾が観察している様に, 変性, 壊死に陥った上皮組織には容易に細菌が侵入することを示唆するものである。

さらに, 興味ある所見として, 上皮基底膜に沿って, 上皮側に, 比較的強い帯状の特異蛍光が認められたが, これは Schwartz ら¹³⁾が in vivo で, また Alfano ら¹¹⁾が in vitro での実験結果に基づいて結論づけているように, 基底膜が endotoxin の浸潤に対する barrier をなし, 上皮層から浸透してきた endotoxin がこの barrier 付近

にうっ帯するという考え方と軌を一にする現象であると考えられる。

endotoxin は、また、上皮下結合組織をも侵襲し得る。今回、全症例中22例にこれを認め、その中の14例は granular or fibrillar pattern であった。この中には、上皮の壊死、破壊に起因するものと、ブラッシング、スクレーリングなどの機械的因子によって圧入されたと見なし得るものがあった。いずれの場合も、細菌の量が多量であると、その周囲は生体応答に先立って、出血と壊死が認められた。この様な上皮下結合組織内の分布で特記すべきことは、diffuse pattern を示す症例や endotoxin の貪食を示す単核細胞や PMN の特異蛍光は非常に少なく、その蛍光も相対的ではあるが微弱であったことである。Shapiro⁹⁾ は、Limulus テストを用いて、歯周病患者から得た歯肉組織をホモジネートし、その上清中の endotoxin 量を定量し、炎症が重篤となると endotoxin 量も増加することを示しているが、いずれにしても、各炎症の程度に相当する endotoxin 量は極めて微量であることを示している。この点からも、今回上皮下結合組織で検出し得た endotoxin は微量であったが、それなりに十分に組織変化を有していると考えられる。

元来、endotoxin は組織細胞の糖代謝を阻害する物質であるが、これ以外に多様な生物活性を有している。抗体の存在下においては、補体の classical pathway を活性化し、抗体を介さなくても、endotoxin の多糖体部分は、properdin system を経由して alternate pathway を、また lipid A 部分は classical pathway を活性化できる^{24, 25)}。また、immunogen として働き抗体産生を促すほか、B細胞を非特異的に刺激したり (polyclonal B cell activator)、B細胞にある種のリンホカイン産生を促す^{6, 25, 26)}。これらが歯周疾患の増悪因子となることは、諸家によって推測されている。

さらに、Hausman^{20, 21)} は、in vitro における endotoxin の骨吸収作用について詳細に報告

し、その作用は parathyroid hormon に類似していることを説いている。

以上の如く、近年 endotoxin と歯周疾患との関係について種々検討されつつあるが、今回免疫病理学的にヒト炎症歯肉中に endotoxin を検出し得たことは、これらの可能性を一歩進め得るものになると考えられる。

結 論

Fusobacterium nucleatum から抽出した endotoxin を抗原として、FITC 標識抗 endotoxin 家兎血清を調製し、歯周疾患患者の切除歯肉における endotoxin の局在性を免疫組織学的に検索した。その結果、以下の如く結論し得た。

1. FES の特異蛍光は、その形状から、diffuse pattern と granular or fibrillar pattern とに類別でき、前者は可溶性 endotoxin の浸透部位に対する蛍光であり、後者は細菌の細胞壁を構成している endotoxin に対するものであった。

2. 上記の様な蛍光が上皮組織で認められた場合、同部の上皮は著明な退行性変化を示している場合が多く、多分に endotoxin の細胞傷害作用に起因するものと推測し得た。

3) 基底膜より上方の比較的強い特異蛍光は、基底膜の barrier 作用による可溶性 endotoxin のうっ帯の結果出現したものであると推測し得た。

4) 上皮下結合組織では、上皮直下においてのみ、強い特異蛍光が認められた。また、macrophage や PMN の様な貪食系の細胞胞体内には蛍光陽性所見は少なく、かつ微弱であった。これは、一に endotoxin 量が極微であるということを示すものであるが、それにもかかわらず、その多様な生物活性を反映して、膠原線維破壊、炎症性変化、壊死などの変化を発現させ得ると考えられた。

謝辞：稿を終えるに際し、適切な御指導と御助言を賜わり、御校閲下さった当教室主任教授寺崎太郎先生に深甚なる謝意を申し上げます。

抄録：Endotoxin のヒトの歯周疾患の病巣への侵襲状況を検討するために、*Fusobacterium nucleatum* から抽出した endotoxin を抗原とした FITC 標識抗 endotoxin 家兎血清を用いて免疫組織学的に検索した。その結果、被検材料中の特異蛍光は主として上皮と上皮下結合組織の両部に diffuse pattern と granular

or fibrillar pattern の2つに大別できる状態で局在し, 少数例において貪食細胞にも認められた。上皮組織に局在している例では上皮は種々程度の退行性変化を示す傾向にあった。一方, 上皮下結合組織中では細胞に貪食された4例を除いて他は基質中に認められた。この際には, 同部に密な細胞浸潤が伴っている場合と, 壊死組織が取り囲んでいる場合があった。これらの事実から, endotoxin が歯周組織に与える組織傷害性の一端を伺うことができた。

文 献

- 1) ALFANO, M. C., DORUMOND, J. F. and MILLER, S. A.: Localization of rate-limiting barrier to penetration of endotoxin through nonkeratinized oral mucosa in vitro. *J. Dent. Res.*, 54: 1143-1148, 1975.
- 2) DALY, C. G., SEYMOUR, G. J. and KIESER, J. B.: Bacterial endotoxin: a role in chronic inflammatory periodontal disease? *J. Oral. Pathol.* 9: 1-15, 1980.
- 3) 梅本俊夫, 佐川寛典: 歯周病の成立機序と内毒素の生物活性. 歯界展望, 50: 425-435, 1977.
- 4) 佐川寛典: 歯周疾患と内毒素. 歯科ジャーナル, 12: 553-558, 1980.
- 5) RANNY, R. R. and MONTGOMERY, E. H.: Vascular leakage resulting from topical application of endotoxin to the gingiva of the beagle dog. *Archs. Oral. Biol.* 18: 963-970, 1973.
- 6) JOHNSON, D. A., CHEN, C. H., DOMBROWSKI, J. C. and NOWOTNY, A.: Role of bacterial products in periodontitis. I. Endotoxin content and immunogenicity of human plaque. *J. Periodontal. Res.*, 11: 349-359, 1976.
- 7) SEYMOUR, G. J., POWELL, R. N. and DAVIES, W. I. R.: The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease. *J. Oral. Pathol.* 8: 249-265, 1979.
- 8) NEIDERS, M. E. and WEISS, L.: The effects of endotoxin on cell detachment in vitro. *Archs. Oral. Biol.*, 18: 499-504, 1973.
- 9) SHAPIRO, L., LODATO, F. M. Jr., COURANT, P. R. and STALLARD, R. E.: Endotoxin determinations in gingival inflammation. *J. Periodontal.* 43: 591-596, 1972.
- 10) SIMON, B. I., GOLDMAN, H. M., RUBEN, M. P. and BAKER, E.: The role of endotoxin in periodontal disease. II. Correlation of the quantity of endotoxin in human gingival exudate with the clinical degree of inflammation. *J. Periodontal.* 41: 81-86, 1970.
- 11) SIMON, B. I., GOLDMAN, H. M., RUBEN, M. P. and BAKER, E.: The role of endotoxin in periodontal disease. III. Correlation of the amount of endotoxin in human gingival exudate with histologic degree of inflammation. *J. Periodontal.* 42: 210-216, 1971.
- 12) SOCRANSKY, S. S.: Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J. Dent. Res.* 49: 203-221, 1970.
- 13) SCHWARTZ, J., STINSON, F. L. and PARKER, R. B.: The passage of tritiated bacterial endotoxin across intact gingival crevicular epithelium. *J. Periodontal.* 43: 270-276, 1972.
- 14) RIZZO, A. A.: Absorption of bacterial endotoxin into rabbit gingival pocket tissue. *Periodontics.* 6: 65-70, 1968.
- 15) 竹内 宏: 辺縁性歯周炎と免疫反応. 歯科学誌, 4: 303-318, 1976.
- 16) 竹内 宏, 谷 明: 歯頸性歯周組織疾患患者の歯肉組織における *Fusobacterium* の局在性. 歯基礎誌, 13: 393-401, 1971.
- 17) 渡辺 久: 歯周疾患患者血清中の抗 LPS (endotoxin) 抗体について. 日歯周誌, 22: 541-554, 1980.
- 18) SYNDERMAN, R.: Role of endotoxin and complement in periodontal tissue destruction. *J. Dent. Res.* 51: 356-361, 1972.
- 19) 内田武志, 岡本 莫: 歯周病における細菌内毒素の役割. 広大歯誌, 9: 1-11, 1977.
- 20) HAUSMANN, E., RAISZ, L. G. and MILLER, W. A.: Endotoxin; Stimulation of bone resorption in tissue culture. *Science.* 168: 862-864, 1970.
- 21) HAUSMANN, E., LUDERITZ, O., KNOX, K. and WEINFELD, N.: Structural requirements for bone resorption by endotoxin and lipoteichoic acid. *J. Dent. Res.* 54: B94-B99, 1975.
- 22) TANI, A. and SAGAWA, H.: Isolation and characterization of lipopolysaccharide from *Fusobacterium nucleatum*. *J. Dent. Res.* 58: Special issue C 1293, 1979.
- 23) 玉熊正悦, 望月英隆: エンドトキシンの実験的研究. 循環と代謝の面から. 最新医学, 35: 469-473, 1980.
- 24) 中野昌康: リポ多糖に対する細胞応答と免疫学的反応. 最新医学, 35: 466-468, 1980.
- 25) 行山 康: LPS と補体. 臨床免疫, 9: 362-368, 1977.
- 26) 臼井美津子, 松橋 直: LPS に対する抗体産生. 臨床免疫, 9: 369-376, 1977.