原	著
---	---

マウスのう蝕に対するカルボキシペプチダーゼ A 阻害物質投与の影響

原 田 昭 博 志 村 則 夫

東京医科歯科大学歯学部予防歯科学教室（主任：岡田昭五郎教授）

（1987年12月17日 受付）

Effects of Some Carboxypeptidase A Inhibitors on Dental Caries in Mice

Akihiro Harada and Norio Shimura

Department of Preventive Dentistry and Public Health, Faculty of Dentistry,
Tokyo Medical and Dental University (Chief : Prof. Shogoro Okada)

The purpose of this experiment was to compare the cariostatic effect of seven inhibitors of carboxypeptidase A, a decomposing enzyme of β -endorphin. The seven agents were D-phenylalanine, hydrocinnamic acid, indole-3-acetic acid, p-fluoro-D-phenylalanine, N-trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine, phenylacetic acid and L-cysteine.

We used 21-day-old male Balb/cAJcl mice. They were fed on cariogenic diet, Diet # 2000, according to the original prescription except that the sucrose concentration was decreased to 30%. We administered 250mg/kg of each agent to the mice intra-peritoneally, 5 times every other day from the 22nd day after birth. Saline was administered to the control group.

The dental caries decreased significantly in the four groups which were administered D-phenylalanine, hydrocinnamic acid, p-fluoro-D-phenylalanine and N-trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine as compared with the control group. The average weight gain of the mice of 21 days old to 31 days old was significantly less in the groups administered hydrocinnamic acid, indole-3-acetic acid, p-fluoro-D-phenylalanine, N-trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine or phenylacetic acid as compared with the control group. This was considered to be due to the agents injuring the health of the mice. Therefore, we concluded that D-phenylalanine was the safest agent among the four agents which significantly decreased dental caries.

I. 緒 言

ラットの合谷とよばれる経穴(ツボ)に鍼刺激を加えると、*S. mutans* に対する抗体価が上昇すること、歯面に付着する総連鎖球菌数や *S. mutans* 数が減少し、う蝕の誘発が抑制されること¹⁾、さらにこのう蝕抑制効果は Morphine 拮抗物質の一つである Lorfan®（レパロルファン 酒石酸塩）

を投与することで減少することが報告されている²⁾。われわれは Morphine 様物質の一つである β -Endorphin を分解する Carboxypeptidase A の酵素活性を阻害する D-Phenylalanine³⁾ を投与するとう蝕が抑制されるのではないかと考え、生後 21～31 日齢の 10 日間、マウスに D-Phenylalanine を投与した。その結果、 β -Endorphin を介して体液性・細胞性免疫能が有意に賦活され、

歯面に付着する細菌数が有意に減少し、う蝕が有意に抑制されることが見いだされた⁴⁾。

Carboxypeptidase A の酵素活性を阻害する物質には D-Phenylalanine 以外にも数多く存在することが知られている^{5~8)}。そこで本研究では、マウスを用い、Carboxypeptidase A の酵素活性を阻害する物質の中で代表的なものを選んで、それらのう蝕抑制効果および生体への影響を調べ、比較、検討したので報告する。

II. 実験材料および方法

この実験の実験群、投与物質、投与時期を図1に示す。

1. 実験動物および飼育方法

動物は、日本クレア社の近交系 Balb/cAJcl マウス（雄）を使用した。このマウスは遺伝的に十分管理されていて、多くの免疫応答に対する研究にも用いられており、かつ、*S. mutans* を接種せずに内因感染の形でう蝕が誘発されることが報告されているので⁹⁾、免疫とう蝕との関係を検討する上で最適であると考え、このマウスを使用した。

マウスは生後21日齢のものを購入し、ただちに実験に供した。飼育はすべて本学動物舎（温度23 ± 2℃，湿度60%，7～20時点灯，20～7時消灯）で行い、飲料水は水道水を与え、飼料・飲料

図1 実験計画

水ともに自由に摂取できるようにして飼育した。

マウスは各実験群ごとに、ステンレスケージに11匹ずつ入れて飼育した。飼育期間は、実験開始後45日間とした。

実験期間中は、マウスの発育状態を知るために、3日おきに体重測定を行った。

2. 飼料

動物にう蝕を発生させる実験に使用する飼料 Diet # 2000¹⁰⁾ のショ糖含有量は56%ときわめて高い。このように、ショ糖が多いと、動物の成長が悪く、肝機能、血糖値、免疫能などの全身の生理機能に障害を及ぼすことが知られている^{11~14)}。全身的な影響が比較的少なく、かつ、動物でう蝕誘発実験が行えるショ糖含有量は20~40%の範囲であることが報告されているので^{14,15)}、本実験では、う蝕誘発性飼料の Diet # 2000 (船橋農場製) のショ糖の一部を α -でんぶんで置換し¹⁵⁾、ショ糖含有量を30%に調整したものを与えた。

3. 投与物質ならびにその投与方法

1) D-Phenylalanine

SIGMA 社製の試薬を使用した。以下、D-PA と略す。

2) Hydrocinnamic acid

和光純薬の試薬を使用した。以下、HCA と略す。

3) Indole-3-acetic acid

和光純薬の試薬を使用した。以下、IAA と略す。

4) Phenylacetic acid

和光純薬の試薬を使用した。以下、PAA と略す。

5) p-Fluoro-D-phenylalanine

p-Fluoro-DL-phenylalanine (SIGMA 社製) より以下に示す方法で作製したものを使用した¹⁶⁾。以下、pF-D-PA と略す。

6) N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine

p-Fluoro-DL-phenylalanine (SIGMA 社製) より以下に示す方法で作製したものを使用した¹⁶⁾。以下、Tfa-pF-D-PA と略す。

p-Fluoro-D-phenylalanine および N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine は、Vine らの方法¹⁶⁾ によって次の手順によって作製した。すなわち、p-Fluoro-DL-phenylalanine を Tri-fluoroacetic acid に溶かして12℃に冷却し、Tri-fluoroacetic anhydride を加え、10分以上かき回し、10℃で1時間反応させ、真空蒸留法により溶媒を取り除き、Benzene-hexane を用いて再結晶を行うと、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-DL-phenylalanine が得られる。これを水溶液にし、2 N 水酸化リチウム水溶液で pH 7 に正確にあわせ、Carboxypeptidase A を滴下し、37℃で4時間攪拌した後に、2 N 水酸化リチウム水溶液で pH 7 に合わせ、70℃で30分間温め、酵素を変質させてろ過により酵素を取り除く。12N 塩酸水溶液を加えて酸性化し、クロロホルムを用いて抽出を行い、さらに Benzene-hexane を用いて再結晶を行うと、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine ができる。また、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine を 2 N 水酸化リチウム水溶液で加水分解し、pH 3.7 に合わせると白色結晶が析出し、これを50%エタノールで再結晶を行うと、p-Fluoro-D-phenylalanine ができる。

7) L-Cysteine

和光純薬の試薬を使用した。以下、L-Cys と略す。

それぞれの試薬の化学構造を図2に示す。

以上の試薬は、いずれも生理食塩水に溶解し、生後22日齢より1日おきに5回(生後22, 24, 26, 28, 30日齢)、マウスの起床時間に当たる20時から30分以内に腹腔内注射を行った。それぞれの投与量は、先人の鎮痛増強作用に対する効果の報告^{8,17)}を目安として、体重1kgあたり250mg投与した。

対照群は、生理食塩水 0.5 ml 投与群と全く処置を行わない群とを設定した。

4. う蝕の評価方法

このマウスにおけるう蝕は上顎の歯より下顎の歯に多く、下顎第1臼歯>下顎第2臼歯>上顎第

図2 投与物質の化学構造

1臼歯>上顎第2臼歯>上・下顎第3臼歯の順である。また、上・下顎第3臼歯の萌出時期は生後32~34日齢とされている¹⁸⁾。

本実験では飼育期間が45日間と短いので、この期間で比較的進行したう蝕がみられる下顎の第1臼歯の3裂溝、第2臼歯の2裂溝を対象として評価し、上顎の臼歯と試料投与時に萌出していない第3臼歯は評価から除外した。

予定の期間飼育後、動物を殺し、下顎を剔出し、10%中性ホルマリンに1週間固定した。標本を水洗後、軟組織を可及的に除去し、0.5%塩基性フクシン溶液で4時間染色、水洗、乾燥後、Bronwillの薄切切片作成機を用い¹⁹⁾、近遠心的方向に二分割した。標本を実体顕微鏡下で落下光線のもとで観察し、裂溝部にエナメル象牙境を越えて進行したう蝕が認められる場合に、その裂溝にう蝕ありと判定した。各動物のう蝕発生裂溝数から、4本の下顎臼歯における1匹平均う蝕発生裂溝数を求め、各実験群間の比較を行った。実験群間の差の有意性はt検定によって判定した。

5. 血清の生化学検査

飼育終了時に、マウスをクロロホルム麻醉下で開腹して腋窩動脈から可及的に採血し、血清を分離後、凍結保存して、後日、血清の生化学検査を行った。

検査項目は、GOT値、GPT値、アルカリ性ホスファターゼ値、血糖値、アルブミン含量、グロブリン含量、総タンパク含量、A/G比である。これらはいずれも和光純薬のキットを用いて測定した。すなわち、GOT値、GPT値の測定にはS. TA-Test Wako (Reitman-Frankel法による)、アルカリ性ホスファターゼ値の測定にはAlkaline Phospha K-Test Wako (Kind-King法による)、血糖値の測定にはGlucose-Test Wako (オートルイジン・ハウ酸法による)、アルブミン含量、グロブリン含量、総タンパク含量の測定にはA/G B-Test Wako (BCG法による)を用いた。

1匹のマウスから採取できる血清は0.5 ml前後なので、それぞれのキットにおける吸光度の測定にはスタルナー石英マイクロセル(平均サンブ

ル容量 0.7 ml) を用い、使用する血清や試薬の量を採取した血清の量に応じて通法よりも減らして測定を行った。血清および試薬の量は、GOT 値、GPT 値の測定では通法の 1/10、アルカリ性ホスファターゼ値の測定では通法の 1/2、血糖値の測定では通法の 1/5、アルブミン含量、グロブリン含量、総タンパク含量の測定では通法の 1/5 とした。吸光度の測定には、日立 139 形分光光度計を使用した。予備実験による検討の結果では、このマイクロセルを用いた場合と標準の試薬量で標準のセルを用いた場合とでは、それぞれの測定値に有意な差異は認められなかった。

Ⅲ. 実験結果

1. 動物の発育状態

実験群別の動物数および発育状態は表 1 に示すとおりである。

生後21～31日齢の間における体重の増加量を対

照群 (第 8 群) と比較すると、Hydrocinnamic acid 投与群 (第 2 群), N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine 投与群 (第 5 群), Phenylacetic acid 投与群 (第 6 群) はいずれも 0.1% 以下の危険率で、また、Indole-3-acetic acid 投与群 (第 3 群), p-Fluoro-D-phenylalanine 投与群 (第 4 群) はいずれも 5% 以下の危険率で有意に少なかった。全く処置を施さない群 (第 9 群) と比較すると、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine 投与群 (第 5 群), Phenylacetic acid 投与群 (第 6 群) はいずれも 0.1% 以下の危険率で、Hydrocinnamic acid 投与群 (第 2 群) は 1% 以下の危険率で、また、Indole-3-acetic acid 投与群 (第 3 群), p-Fluoro-D-phenylalanine 投与群 (第 4 群) はいずれも 5% 以下の危険率で有意に少なかった。第 8 群と第 9 群とを比較すると、体重の増加量において 5% 以下の危険率で有意な差異は認められな

表 1 動物の発育状態

実験群	実験動物数	実験開始時の体重 (g) (生後21日齢)	実験終了時の体重 (g) (生後66日齢)	生後21～31日齢の体重増加量 (g)	生後21～66日齢の体重増加量 (g)
1	11	10.57±1.17	28.83±0.94	5.20±0.67	18.25±0.99
2	11	10.16±1.15	28.18±1.10	3.73±0.92	18.02±1.04
3	11	10.47±0.42	28.50±0.60	4.36±0.54	18.03±0.75
4	11	10.17±1.30	28.74±0.88	4.22±0.72	18.56±0.86
5	11	10.35±1.37	28.43±1.84	2.67±1.21	18.08±1.14
6	11	10.19±1.27	27.95±1.74	2.82±1.19	17.76±1.34
7	11	10.26±1.50	28.53±1.24	4.95±0.51	18.26±0.63
8	11	10.45±1.64	28.90±1.07	5.10±0.73	18.45±1.23
9	11	10.47±1.40	28.62±1.46	5.03±0.64	18.15±1.02

平均値±標準偏差

各実験群間の t 検定の結果 (生後21～31日齢の体重増加量)

実験群	1	2	3	4	5	6	7	8
9	n. s.	**	*	*	***	***	n. s.	n. s.
8	n. s.	***	*	*	***	***	n. s.	

n. s. : 5% 以下の危険率で有意差なし

* : 5% 以下の危険率で有意差あり

** : 1% 以下の危険率で有意差あり

*** : 0.1% 以下の危険率で有意差あり

かった。

しかし、全飼育期間（生後21～66日齢の間）における体重の増加量は、各実験群（第1～9群）の間に5%以下の危険率で有意な差異は認められなかった。

2. う蝕の罹患状態

各実験群間の t 検定の結果

実験群	1	2	3	4	5	6	7	8
9	*	*	*	**	***	n.s.	n.s.	n.s.
8	*	*	n.s.	**	***	n.s.	n.s.	

n.s.: 5%以下の危険率で有意差なし
 *: 5%以下の危険率で有意差あり
 **: 1%以下の危険率で有意差あり
 ***: 0.1%以下の危険率で有意差あり

図3 マウスの1匹平均う蝕発生裂溝数

各実験群の1匹平均う蝕発生裂溝数は図3に示すとおりである。対照群（第8群）と比較して、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine 投与群（第5群）は0.1%以下の危険率で、p-Fluoro-D-phenylalanine 投与群（第4群）は1%以下の危険率で、D-Phenylalanine 投与群（第1群）、Hydrocinnamic acid 投与群（第2群）は5%以下の危険率で有意に1匹平均う蝕発生裂溝数が少なかった。また、Indole-3-acetic acid 投与群（第3群）、Phenylacetic acid 投与群（第6群）、L-Cysteine 投与群（第7群）、および全く処置を施さない群（第9群）は、対照群（第8群）との間に5%以下の危険率で有意な差異は認められなかった。

全く処置を施さない群（第9群）と比較すると、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine 投与群（第5群）は0.1%以下の危険率で、p-Fluoro-D-phenylalanine 投与群（第4群）は1%以下の危険率で、D-Phenylalanine 投与群（第1群）、Hydrocinnamic acid 投与群（第2群）、Indole-3-acetic acid 投与群（第3群）は5%以下の危険率で有意に1匹平均う蝕発生裂溝数が少なかった。Phenylacetic acid 投与群（第6群）とL-Cysteine 投与群（第7群）は、第9群との間に5%以下の危険率で有意な差異は認められなかった。

3. 血清の生化学検査

表2 血清の生化学的性状

実験群	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	アルカリ性ホ スファターゼ (IU/l)	血糖 (mg/ml)	アルブミン含 量 (g/dl)	グロブリン含 量 (g/dl)	総タンパク含 量 (g/dl)	A/G比
1	62.2±12.2	12.3±4.8	127.6±15.8	122.5±16.2	2.44±0.29	2.30±0.19	4.74±0.39	1.06±0.13
2	59.0±11.7	11.8±4.4	130.3±19.8	122.3±21.1	2.27±0.68	2.23±0.25	4.50±0.84	1.01±0.28
3	61.3±14.0	11.3±3.2	127.2±17.2	121.1±15.9	2.37±0.52	2.27±0.23	4.64±0.67	1.05±0.18
4	59.8±14.1	12.3±3.7	133.9±17.2	117.7±20.5	2.30±0.27	2.25±0.23	4.55±0.23	1.04±0.20
5	62.2±12.9	11.8±4.5	136.9±19.5	123.6±20.8	2.32±0.25	2.21±0.30	4.53±0.14	1.08±0.25
6	59.7±11.4	11.7±4.0	134.1±18.8	117.4±16.5	2.45±0.28	2.26±0.23	4.71±0.21	1.10±0.21
7	60.7±10.5	11.6±5.3	130.6±14.6	116.3±16.5	2.33±0.23	2.22±0.33	4.55±0.32	1.08±0.22
8	59.0±11.8	11.5±4.5	132.9±18.4	115.0±17.3	2.46±0.19	2.17±0.25	4.64±0.36	1.14±0.13
9	60.8±11.5	12.1±4.6	130.9±18.0	120.8±15.7	2.46±0.31	2.15±0.25	4.61±0.48	1.15±0.14

平均値±標準偏差 検体数：各群とも11検体

実験結果は表 2 に示すとおりである。GOT 値、GPT 値、アルカリ性ホスファターゼ値、血糖値、アルブミン含量、グロブリン含量、総タンパク含量、A/G 比ともに、各実験群間において 5% 以下の危険率で有意な差異は認められなかった。

IV. 考 察

Carboxypeptidase A は活性中心に 1 個の亜鉛をもつ分子量 3 万 4400 のプロテアーゼであり、ペプチドの C 末端からプロリン以外の中酸性アミノ酸を順次遊離する作用をもち、体内の β -Endorphin を分解、不活化する酵素の一つであることが知られている^{5,6)}。その調製法により、Type I (Cox)²⁰⁾、Type II (Allan)²¹⁾、Type III (Anson)²²⁾ などに分類されている⁵⁾。

Carboxypeptidase A の酵素活性に対して阻害作用を示す物質には、競合的阻害剤である D-および L-系の芳香族アミノ酸、芳香族および複素環式カルボン酸、Carboxypeptidase A 中の亜鉛とのキレート剤、メルカプトタンなどが知られており^{5~7)}、*in vitro* におけるそれぞれの Carboxypeptidase A に対する阻害作用が詳しく報告されている^{5,7)}。しかし、これらの中には毒性が強く、う蝕予防の目的に応用できないものもある。また、Phenylacetic acid は、わが国では覚醒剤原料に指定されていて、入手やその使用が困難なものもある。

本研究では、7 種の有効と考えられる薬物についての結果を示したが、これらのほかに Thioglycollic acid、o-Phenanthroline、2-Mercaptoethanol についても同様に実験群を設定して投与した。しかし、これらを投与した群ではいずれもすべての動物が投与中に死亡した。

今回の研究で得られたそれぞれの投与物質のう蝕抑制効果は、 $pF-D-PA \geq Tfa-pF-D-PA > D-PA \geq HCA > IAA \geq PAA > L-Cys$ の順であるが、対照群 (第 8 群) と比較して 1 匹平均う蝕発生裂溝数が有意に少ないのは、p-Fluoro-D-phenylalanine 投与群、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine 投与群、D-Phenylalanine 投与

群、Hydrocinnamic acid 投与群であった。

一方、N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine 投与群、Hydrocinnamic acid 投与群では、生後 21 日齢から 10 日間における体重増加量がかなり少なく、投与期間に生体への為害作用が強く現れていると考えられた。また、p-Fluoro-D-phenylalanine 投与群でもこの期間の体重増加量が少なかった。

生後 21 日齢からの 10 日間は、動物の成長時期であることを考えると、できる限り生体への影響の少ない物質の投与でう蝕が抑制されることが望ましい。このことから、今回の研究で投与した物質のうちでは、生体への為害作用がほとんど認められないと考えられる D-Phenylalanine が最も安全で有効なう蝕抑制物質であろうと考えられた。

Giusti ら⁸⁾によると、今回投与した物質の鎮痛増強作用は、 $pF-D-PA \simeq Tfa-pF-D-PA > HCA > IAA \geq D-PA$ の順であると述べられている。また、Perlmann ら⁵⁾、飛田⁷⁾によると、*in vitro* における Carboxypeptidase A の酵素活性を阻害する作用は、 $L-Cys > HCA > IAA \geq PAA > D-PA$ の順とされている。

Giusti ら⁸⁾、田中¹⁷⁾は、Carboxypeptidase A の酵素活性を阻害する作用の大きさと鎮痛増強作用とは必ずしも一致しないと述べているが、今回のわれわれの実験結果では、鎮痛増強作用の大きさとう蝕抑制効果の大きさとの間には、かなり似かよった傾向があるように考えられる。このことは、その作用の発現に共通した因子が関与しているのかもしれない。

以上のことを考えると、Carboxypeptidase A の酵素作用を阻害する物質によるう蝕発生の抑制効果の大きさは、鎮痛増強作用の大きさに近い傾向が認められるが、その抑制機序については単に酵素活性を抑制するのみではないように考えられるので、今後の検討が必要と思われる。

V. 結 論

生後 21 日齢の Balb/cAJcl マウス (雄) を用い、生後 22 日齢から隔日 5 回、 β -Endorphin の

分解酵素である Carboxypeptidase A の酵素活性を阻害する作用のある 7 種の物質を腹腔内投与してそのう蝕抑制効果を比較した。その結果、対照群と比較して、D-Phenylalanine 投与群, Hydrocinnamic acid 投与群, p-Fluoro-D-phenylalanine 投与群, N-Trifluoroacetyl-p-fluoro-D-phenylalanine 投与群でう蝕が有意に抑制された。

これらのうちには、生後 21~31 日齢の投与期間中に体重の増加量が少ないものがある、う蝕を有意に抑制する物質としては D-Phenylalanine が生体への為害作用が最も少なく、安全性が高いと考えられた。

う蝕抑制効果の大きさは Carboxypeptidase A の酵素活性を阻害する作用の大きさよりも鎮痛増強作用の大きさに類似しており、その作用の発現に共通した因子の関与が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始ご懇切なご指導とご校閲を賜りました岡田昭五郎教授に謹んで感謝の意を捧げます。また、本研究の実験に際して、ご指導、ご協力をいただきました鶴見大学歯学部細菌学教室、加藤綾子助教授、前田伸子講師に、厚くお礼を申し上げます。さらに、本研究に際し、ご援助、ご協力をいただきました予防歯科学教室の諸先生方に心からお礼を申し上げます。

文 献

- 1) Shimura, N., Nakamura, C., Hirayama, Y., Tsurumoto, A. and Okada, S.: Prevention of dental caries by acupuncture. Bull. Tokyo Med. Dent. Univ. 27: 137-139, 1980.
- 2) 平山康雄, 志村則夫, 中村千賀子, 鶴本明久, 岡田昭五郎: 針の齶蝕抑制効果について 第 2 報. 口腔衛生会誌 31: 387, 1981.
- 3) Ehrenpreis, S., Balagot, R. C., Comaty, J. E. and Myles, S. B.: Naloxone reversible analgesia in mice produced by D-phenylalanine and hydrocinnamic acid, inhibitors of carboxypeptidase A. Adv. in Pain Res. and Ther. 3: 479-488, 1979.
- 4) 原田昭博: マウスのう蝕に対する D-フェニルアラニン投与の影響. 口腔衛生会誌 38: 84-109, 1988.
- 5) Perlmann, G. E. and Lorand, L.: Methods in enzymology volume XIX. Proteolytic enzymes. New York, 1970, Academic Press, 460-503.
- 6) 馬場茂明, 和田 博, 北村元仕, 奥田 潤: 臨床酵素ハンドブック. 東京, 1982, 講談社サイエンティフィック, 214-216.
- 7) 飛田 亨: カルボキシペプチダーゼ法による蛋白質およびペプチドの C 末端構造分析. 蛋白質核酸 酵素 8(5): 83-102, 1963.
- 8) Giusti, P., Carrara, M., Cima, L. and Borin, G.: Antinociceptive effect of some carboxypeptidase A inhibitors in comparison with D-phenylalanine. Eur. J. Pharmacol. 116: 287-292, 1985.
- 9) 加藤綾子, 前田伸子, 藤田 浩, 田中 倫, 原田昭博: マウスの実験う蝕について. 歯基礎誌 27: Sup. 148, 1985.
- 10) Keyes, P. H. and Jordan, H. V.: Periodontal lesions in the syrian hamster—III. Findings related to an infectious and transmissible component. Arch. Oral Biol. 9: 377-400, 1964.
- 11) 大西正男, 中村千賀子, 平山康雄, 久保木芳徳, 金子愛子, 岡田昭五郎: ラットの実験齶蝕時の血清像について. 口腔衛生会誌 30: Sup. 238, 1980.
- 12) 奈良美夫, 柴田治雄, 森岡俊夫: 齶蝕誘発性蔗糖飼料のハムスター血糖値に及ぼす影響. 歯基礎誌 20: 443-448, 1978.
- 13) Dalderup, L. M. and Visser, W.: Influence of extra sucrose in the daily food on the life-span of wistar albino rats. Nature 222: 1050-1052, 1969.
- 14) 大西正男, 尾崎文子, 野崎真弓: 鼠う蝕に対する砂糖の影響. 口腔衛生会誌 24: Sup. 38-39, 1974.
- 15) 尾崎文子, 中村千賀子: 食餌中の砂糖濃度のラット血中抗体価及びう蝕に対する影響. 口腔衛生会誌 35: 178-179, 1985.
- 16) Vine, W. H., Brueckner, D. A., Needleman, P. and Marshall, G. R.: Synthesis, biological activity, and ^{19}F nuclear magnetic resonance spectra of angiotensin II analogs containing fluorine. Biochem. 12: 1630-1637, 1973.
- 17) 田中正明: D-フェニルアラニンの鎮痛作用に関する研究. 昭和医学誌 42: 433-440, 1982.
- 18) Navia, J. M. (河村洋二郎 訳): 歯科学研究のための動物実験法. 東京, 1979, 学建書院, 157.
- 19) 武井啓一: ラットの早期出齶歯牙の齶蝕感受性に関する研究. 口腔衛生会誌 32: 524-540, 1983.

- 20) Cox, D. J., Bovard, F. C., Bargetzi, J. P., Walsh, K. A. and Neurath, H. : Procedures for the isolation of crystalline bovine pancreatic carboxypeptidase A. II. Isolation of carboxypeptidase A_α from procarboxypeptidase A. Biochem. 3 : 44-47, 1964.
- 21) Allan, B. J., Keller, P. J. and Neurath, H. : Procedures for the isolation of crystalline bovine pancreatic carboxypeptidase A. I. Isolation from acetone powders of pancreas glands. Biochem. 3 : 40-43, 1964.
- 22) Anson, M. L. : Carboxypeptidase I. The preparation of crystalline carboxypeptidase. J. Gen. Physiol. 20 : 663-669, 1937.