原 著

歯周疾患における歯肉組織中の kininase 活性について

大 森 恒

愛知学院大学歯学部保存学教室歯周病学講座

(指導 中 静 正教授)

A Study on Gingival Kininase Activity in Periodontal Disease.

Hisashi OHMORI

Department of Periodontology, School of Dentistry,

Aichi-Gakuin University

(Director : Prof. Tadashi NAKASHIZUKA)

Kininase activity of gingival tissue in normal subjects and in patients with periodontal disease has been measured quantitatively in order to clarify the relationship between various periodontal condition and the behaviour of the kininase activity.

The kininase activity in either the homogenate or the acetone powder of gingival tissue was assayed by biological method of K. Takeya using guinea pig ileum.

The following results were obtained ;

1) Kininase activity in gingival acetone powder individuals was less variable than the activity in the homogenate from fresh gingival tissues. However, both activities showed remarkable individual variation.

2) Kininase activities either in the homogenate or the acetone powder of gingival tissues from 70 individuals were very high.

3) Kininase activity of the gingival tissue in patients with periodontal disease was lower than that of normal tissue of the disease.

From these results, it is speculated that the kininase activity of gingival tissue is closely related to the various periodontal condition, and it is also suggested from pharmacological actions of kinin and kininase that the kininase activity of gingival tissue may play an important role in the etiology and the progression of periodontal disease.

本論文の要旨は、第14回日本歯周病学会総会（昭和46年9月）、第11回愛知学院大学歯学会総会（昭和48年7月）において報告した。

I ま え が き

1926年, Freg¹⁾によって kallikrein, 1937年, Werle²⁾によって kallidin, また1949年, Rochae Silva³⁾によって bradykinin が発見された。これらの主要な薬理学的作用は、血管拡張作用⁴⁾、血管の透過性亢進作用^{4, 5)}、白血球遊走作用⁶⁾、平滑筋収縮作用^{4, 7)}、疼痛をおこす作用⁷⁾などである。このような性質をもつ降圧 peptide は1966年, Webster⁸⁾によって kinin と総称されている。またこのような作用は炎症症状を満足させるので炎症の“chemical mediator”^{8, 9)}と考えられている。

一方, kallikrein を分解する酵素は、1937年, Werle²⁾によって、また kallidin と bradykinin を分解する酵素は1962年, Erdös¹⁰⁾によって発見された。これらの酵素は一般に kininase と総称されている。kininase は広く体内に分布している。すなわち、赤血球^{10, 11)}、白血球¹²⁾、リンパ液¹³⁾、尿¹⁴⁾、炎症性浸出物¹⁵⁾を始め、腎¹⁶⁾、肝¹⁷⁾、肺^{18, 19)}、膵²⁰⁾、脾²¹⁾、口腔内上皮¹⁷⁾などの各組織細胞に存在している。その他細菌²²⁾や植物^{23, 24)}にも存在している。また kininase 活性は、種属や組織によって差異がみられる。

kinin の形成と分解は全身のいろいろの組織で常に行なわれている。しかし kinin が炎症のchemical mediator と考えれば、炎症の局所では、kinin の形成が kininase によって分解されるよりも速度が早いか、または何らかの障害によって kininase 活性が抑制されていると思われる。血漿の kininase 活性は、弱酸性となると著しく抑制される²⁵⁾ことから、炎症の局所は弱酸性のために kininase 活性は抑制される。

さて、以上のように炎症と極めて密接な関係にある kinin または kininase と歯周疾患との関係については、竹谷ら²⁶⁾の歯周疾患患者の唾液と病態との関係、Kauko²⁷⁾の歯肉組織中の aminopeptidase B の存在、Rodin²⁸⁾の歯周疾患患者の歯肉組織中の bradykinin の存在などの報告があるに過ぎない。しかも歯周疾患における歯肉組織中の kininase についての報告は全くみられない。

一方、歯周疾患、特に単純性慢性歯肉炎や慢性辺縁性歯周炎の病因については数多くの局所的因子や全身的因

子が挙げられているが、発症の基盤となるような共通の因子やその経過に及ぼす影響については現在のところ全く詳らかでない。この点について歯周を取りまく環境（唾液、滲出液など）や組織の kinin の形成と分解が歯周疾患の発症や進展に関して共通の因子となっているのではないかと考え、著者は、歯周疾患患者の歯肉組織中の kininase 活性値を測定し、さらに歯周疾患の重篤度との関係について比較検討した。

II 実験の試料とその方法

1 実験試料

愛知学院大学歯学部附属病院歯周療法科の外来患者で内科的疾患がなく、かつ歯周手術（歯肉切除、歯肉剥離掻爬）を必要と診断した年齢18～38歳の男女98名から被検体の歯肉片を採取した。対照として補綴物作製のため歯肉成形手術を必要、かつ臨床所見では歯肉に炎症症状のみみられなかった年齢20～45歳の男女13名から歯肉片を採取した。

2 歯周疾患の分類

歯周疾患患者の臨床的な徴候と症状およびX線写真の所見を総合的に判定して、次のように分類した。

i) 健常群

臨床所見では歯肉に炎症症状がみられず、歯槽骨の吸収も認められなかったもの。

ii) 単純性歯肉炎群

臨床所見では歯肉に炎症症状が明らかにみられたが、歯槽骨の吸収が認められなかったもの。

iii) 軽症または中等度の辺縁性歯周炎群

臨床所見では歯肉の炎症と歯周ポケットが明らかにみられ、かつ歯槽骨の吸収が軽度または歯根の長さの1/2以内認められたもの。

iv) 重症の辺縁性歯周炎群

臨床所見では歯肉の炎症と歯周ポケットが明らかにみられ、かつ歯槽骨の吸収が著しく歯根の長さの1/2以上認められたもの。

3 試料の処理と調整

i) 歯肉組織の抽出液（以下抽出液と略す）

歯肉片は切除後、直ちに生理食塩水にて軽く洗滌、吸拭、秤量した後、それらの組織中にkininogenase (kallikrein) が存在しているために切除後の kinin の生成を抑制する目的で Trasylol (500 K.I.U.) を加えたTyrode 氏液 1 ml に対して歯肉片 2 mg の割合に加え、polytron にて 4,500 r.p.m., 20sec., 0°C で粉碎し、その homogenate

を 2,500 g, 20 min., 0°C で冷却遠心処理してその上清液を -20°C で保存した。測定に際して解凍したものを kininase 活性の被検液として用いた。

ii) 歯肉組織の粉末 (以下粉末と略す)

歯肉片は切除後、直ちに生理食塩水にて軽く洗滌、吸拭、秤量した後、acetone (-20°C)を加えて polytron にて 4,500 r.p.m., 20 sec., 0°C で粉碎し、その homogenate を 2,500 g, 20 min., 0°C で冷却遠心処理し、その沈澱物について同様の操作を 3 回繰り返した。ついでその沈澱物に ethyl ether を加えて 2,500 g, 20 min., 0°C にて冷却遠心処理し、同様の操作を 2 回繰り返した後、真空乾燥して粉末として -20°C で保存した。測定に際して粉末 100mg に Tyrode 氏液 50ml を加えたものを kininase 活性測定用の被検液として用いた。

4 測定法

kininase 活性値の測定法にはいろいろあるが、著者は、マウスの小腸、ラットの小腸と子宮、モルモットの小腸と子宮などを用いて予備実験を行なった。その結果、竹谷ら²⁹⁾のモルモットの回腸を用いる生物検定法が bradykinin に感受性が高く、性差もなく、摘出前の処理も不要などの利点があるので、竹谷らの方法に準じて測定した。

以下、摘出腸管の栄養液、腸管の摘出と処理、被検液の調整、測定の方法などについて述べる。

i) 摘出腸管の栄養液

摘出腸管の栄養液として、摘出腸管の自動能を減少～消失させ、かつ kinin による収縮を特異として収縮後に早く元の状態に戻すために、atropine sulfate と diphehydramin-HCl の各終濃度 $5 \times 10^{-7} \text{g/ml}$ (pH 7.3) の溶液を Tyrode 氏液に加えたものを用いた。なお Tyrode 氏液の組成は、水 1 l 中に NaCl 8.0, KCl 0.2, NaHCO₃ 1.0, CaCl₂ 0.2, Glucose 1.0, MgCl₂ 0.1, NaH₂PO₄ 0.1 g を濃度として含む。

ii) 腸管の摘出と調整

モルモットをウレタン麻酔 (1 g/kg 皮下注射) して後頭部をハンマーにて叩き、直ちに頸動脈を切断して放血、致死後、回腸を摘出、酸素飽和 Tyrode 氏液中に一時保存した。

Tyrode 氏液中の腸管を 1~2 cm の長さに切断、両端を細い糸で結紮したものを Fig. 1 のように、一端を酸素吸入管に他端を Staingauge 型の F-D transducer (日本光電製) のフックにかけて懸垂した。腸管にかかる静止時張力は、100~200mg 程度とした。kinin によって腸管の収縮をきたす張力を F-D transducer で電気量に変

換した後、交流増幅し (日本光電製 MP 3A), ついで直流成分を D-C 増幅器で取り出して記録計の紙上に記録した。浴槽の容量は 10ml とし、酸素を絶えず吹入し、同時に攪拌した。なお浴槽の温度は 30°C に保った。

Fig. 1

iii) 被検液の調整

被検液は、10ml 試験管に 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9ml ずつ入れ、各試験管とも 9 ml になるように Tyrode 氏液を加え、それぞれに 10^{-5}g/ml 合成 bradykinin 1ml ずつを加えた後、 $30 \pm 0.5^\circ \text{C}$ の恒温槽内で 10 min., incubation して kininase 活性値を測定した。

iv) 測定法

添加した合成 bradykinin は被検液中の kininase によって不活性化される。その際、被検液中の kininase によって不活性化されないで残っている合成 bradykinin について測定した。すなわち、残存 bradykinin によって腸管の収縮をきたす収縮張力の極大を測定して、実験毎に作製した検量線から被検液中の kininase 活性値を算出した。なお検量線は一定量の合成 bradykinin によって腸管の収縮をきたす収縮張力の極大を尺度として作製した。要するに添加した合成 bradykinin の半減期に要する被検液量中の蛋白量を kininase 活性値として活性値を求めた。

5 蛋白量の測定

抽出液および粉末の kininase 活性値は、蛋白量で算出し、蛋白量の測定には、Lowry ら³⁰⁾の方法により求めた。なお検量線の作製には牛血清 albumin を蛋白質の代表として用いた。

III 実験成績

1 抽出液の kininase 活性値

健常者および歯周疾患患者の抽出液中の kininase 活

性値および平均値は、Table 1 に示す。これは添加した合成 bradykinin の半減期に要した被検液中の蛋白量で示してある。すなわち、kininase 活性値の平均値は歯肉炎群がもっとも高く、健常群、軽症または中等度辺縁性歯周炎群、重症辺縁性歯周炎群の順に低下していた。いい換えれば、抽出液中の kininase 活性値は歯周疾患の進展増悪にともなって低下する傾向を示した。健常および歯周疾患の進行度における抽出液中の kininase 活性

Table 1
Relation between the grade of periodontal disease and the kininase activity of fresh gingiva.

Case No.	Normal	sim. Gingivitis	Periodontitis	
			mild, moderate	severe
1	0.93	0.78	0.42	1.57
2	0.55	0.42	0.91	2.02
3	0.78	1.23	1.94	0.50
4	0.82	0.72	0.29	2.16
5	1.11	0.76	1.04	1.62
6		0.42	1.58	1.15
7		0.35	1.26	0.98
8		0.58	0.86	1.78
9		1.49	1.48	1.78
10		0.96	0.55	0.94
mean ± S.D.	0.838 ± 0.184	0.771 ± 0.350	1.033 ± 0.508	1.442 ± 0.502

The kininase activities are expressed by a amount of gingiva (mg protein) to produce 50% inactivation of added bradykinin.

Fig. 2
The relation between kininase activity in gingiva and the grade of periodontal disease.

値の分散分布は Fig. 2 に示す。また、それらの平均値およびその信頼限界（信頼度95%）の比較は Fig. 3 に示す。

Fig. 3
Comparison of mean activity in gingival kininase with confidence limits of the mean.

つぎに、健常群、各歯周疾患群における検定を分散分析³¹⁾で行なった結果、各群間に5%の有意差が認められた。さらにいずれの群間に差があるかについてt-検定³²⁾を行なった結果は Table 2 に示す通りである。有意水準5%で健常群と重症辺縁性歯周炎群との間に有意差が、また有意水準1%で歯肉炎群と重症辺縁性歯周炎群との間に有意差が認められた。

Table 2
Statistical analysis on the difference in kininase activity of gingiva using t-test.

N.	0.067	0.195	0.604 *
	G.	0.262	0.671 **
		P.m.m.	0.409
			P.s.

* P < 0.05

** P < 0.01

以上から、抽出液中の kininase 活性値は明らかに歯周疾患の進展増悪にともなって低下することが判明し

た。

2 粉末の kininase 活性値

健常者および歯周疾患患者の粉末中の kininase 活性値および平均値は、Table 3 に示す。これは添加した合成 bradykinin の半減期に要した被検液中の蛋白量で示す。健常および歯周疾患の各病型における kininase 活性値の分散分布は Fig. 4 に示す。また、それらの平均値

Table 3
Relation between the grade of periodontal disease and the kininase activity of dry gingiva.

Case No.	Normal	sim. Gingivitis	Periodontitis	
			mild, moderate	severe
1	2.49	1.51	3.25	5.29
2	1.62	1.80	3.07	6.38
3	2.09	2.49	3.48	1.68
4	2.55	1.62	2.90	3.83
5	1.16	1.39	1.80	6.67
6		0.99	1.39	5.28
7		2.03	2.15	4.93
8		0.70	3.54	4.52
9		1.45	3.36	5.51
10		2.55	1.57	4.93
mean ± S.D.	1.984 ± 0.528	1.653 ± 0.563	2.651 ± 0.795	4.907 ± 1.322

The kininase activities are expressed by a amount of gingiva (mg protein) to produce 50 % inactivation of added bradykinin.

Fig. 5
Comparison of mean activity in gingival kininase with confidence limits of the mean.

および信頼限界の比較は Fig. 5 に示す。

すなわち、kininase 活性値の平均値は、歯肉炎群がもっとも高く、健常群、軽症または中等度辺縁性歯周炎群、重症辺縁性歯周炎群の順に低下し、抽出液の場合と全く同様な傾向を示した。

Fig. 4
The relation between kininase activity in gingiva and the grade of periodontal disease.

つぎに、健常群、各歯周疾患群における検定を分散分析で行なった結果、各群間に 1 % の有意差を認めた。さらに、各群間の比較は t-検定で行い、Table 4 に示す通りである。有意水準 5 % で歯肉炎群と軽症または中等度辺縁性歯周炎群との間に有意差が、また有意水準 1 % で健常群と重症辺縁性歯周炎群、歯肉炎群と重症辺縁性歯周炎群、軽症または中等度辺縁性歯周炎群と重症辺縁性歯周炎群との間にそれぞれ有意差が認められた。

Table 4
Statistical analysis on the difference in kininase activity of gingiva using t-test.

N.	0.331	0.667	2.923 **
	G.	0.998 *	3.253 **
	P.m.m.		2.251 **
			P.s.

* P < 0.05
** P < 0.01

以上から、抽出液と同様に粉末中の kininase 活性値は明らかに歯周疾患の進展増悪にともなって低下することが判明した。さらに、kininase 活性値の測定に際して抽出液から測定するよりも粉末に処理してから測定した方が歯周疾患の進展増悪により明らかな相関関係を示すことも判明した。

IV 考 察

kinin と総称される peptide は、生体内における炎症過程の重要な chemical mediator と考えられ、炎症時に必ず発現しており、その作用を現わしている³³⁾。しかし実際にそれを局所で証明することは容易ではない。これは恐らくこの kinin が生体内で血液や局所の kininase と呼ばれる kinin の分解酵素の作用をうけて速かに破壊または不活性化されるためであると思われる。この kininase は、前述のように体内に広く分布している。たとえば、kininase の存在がそれだけが kinin の発炎症作用を弱めるものでないとしても、局所的に生成された kinin の蓄積を防ぐことになり、そのために異常な充血、炎症性反応、ショックなどを防ぐという重要な生理的意義があるものと考えられている。

歯肉組織は、臨床的に健康であっても病理組織学的には殆んど炎症性変化をおこしており、また歯肉上皮は殆んど錯角化をおこしている。さらに健康な歯肉溝内には常に kallikrein の基質となる血清成分の滲出液が流出しており^{34, 35)}、炎症をおこしてくると一層増加してくる。以上のことから考えて、臨床的に健康な歯肉であっても当然 kinin の形成と分解がある程度行なわれ、両者の均衡を保っているものと推定される。歯周疾患をおこした場合には、歯肉組織の炎症性変化は強くなり、リンパ球や形質細胞、炎症性細胞の浸潤、好中球の浸潤、血管の拡張、表層の上皮細胞の剝離がみられ、また歯周ポケット内には歯石、細菌、膿汁、血液などがみられる。従って、当然 kinin の形成と分解がなお一層活発に行なわれるものと推定される。

さて、歯周疾患と kininase との関係についての研究は極めて少なく、Amundsen ら^{36, 37)}、Sallay ら³⁸⁾、Kroeger ら³⁹⁾、Tonzetich ら⁴⁰⁾、Dreizen ら⁴¹⁾、竹谷ら^{26, 29)}、Rodin ら²⁵⁾の報告があるに過ぎない。Amundsen ら^{36, 37)}は、人の各唾液腺の唾液中には kininase 活性は存在していないが、混合唾液中には存在している。これは口腔粘膜より剝離した上皮性細胞からのものであって、その活性の程度はそれらの細胞の分解の程度によって決

まると報告している。Sallay ら³⁸⁾は、唾液中の kallikrein は若い人よりも年老いた人の方が4～5倍も高く、歯周疾患の場合に同年齢の健康な人よりも5～6倍高く、歯周疾患の進展と比例して増加すると報告している。Kroeger ら³⁹⁾は、歯周ポケットの洗滌液から plasma kinin が検出されたが、唾液からは kinin の活性はみられなかったと報告している。Tonzetich ら⁴⁰⁾は、唾液中の bradykininase の活性は健康者よりも歯周疾患患者の方が急速に増加する。これは破壊細胞数の増加のためであると報告している。また Dreizen ら⁴¹⁾は、歯周疾患のある患者の唾液の方が歯周疾患のない者の唾液よりも多数、かつ破壊された上皮細胞と白血球を含んでいると報告している。以上の先人の報告を考え合わせると、歯周疾患の進展増悪にともなって出血、排膿、組織破壊などが進み、そのために唾液中の kininase 活性が増進することが考えられる。

竹谷ら²⁹⁾は、健康青年男子の血清の kininase 活性値が $28.6 \pm 1.47 \mu\text{g/hr./ml}$ に対して歯周疾患患者のそれが $38.6 \pm 22.9 \mu\text{g/hr./ml}$ であって、歯周疾患患者の方が血清の kininase 活性値が高かったと報告している。同じく竹谷ら²⁹⁾は、健康青年男子の混合唾液の kallikrein 活性値が 786.6 ± 254.8 (mean $\pm$ S.D.) に対して歯周疾患患者のそれがいずれも高く、特に炎症を主症状とする初期および末期の歯周炎において著しく高かったと報告している。なお、この活性の増大は、患者の年齢や性とは関係なく、唾液の蛋白量とほぼ比例するので、活性の上昇の原因は唾液の濃縮により kinin の形成がおり易い条件下になるためではないかと報告している。

Rodin ら²⁵⁾は、X線写真所見による歯槽骨の消失と bradykinin 活性とは有意に相関を示すが、PH index とは相関を示さなかったと報告している。

さて、今回測定に際して添加した合成 bradykinin の半減期に要する被検液中の蛋白量は、抽出液において、健常群では平均 $0.838 \pm 0.184 \text{mg protein}$ 、歯肉炎群では平均 $0.771 \pm 0.350 \text{mg protein}$ 、軽症または中等度の辺縁性歯周炎群では平均 $1.033 \pm 0.508 \text{mg protein}$ 、重症の辺縁性歯周炎群では平均 $1.442 \pm 0.502 \text{mg protein}$ であった。また粉末において、健常群では平均 $1.984 \pm 0.528 \text{mg protein}$ 、歯肉炎群では平均 $1.653 \pm 0.563 \text{mg protein}$ 、軽症または中等度の辺縁性歯周炎群では平均 $2.651 \pm 0.795 \text{mg protein}$ 、重症の辺縁性歯周炎群では平均 $4.907 \pm 1.322 \text{mg protein}$ であった。

いい換えれば、抽出液中の kininase 活性値は、歯肉炎群が高く、ついで健常群、軽症または中等度の辺縁性

歯周炎群、重症の辺縁性歯周炎群の順に低下していた。また粉末中の kininase 活性値も全く同様の傾向を示した。要するに、歯肉組織において歯周疾患の進展増悪にともなって kininase 活性は明らかに低下し、kinin の蓄積がおこることが容易に推定される。

しかしながら、抽出液よりも粉末から測定した方が、歯周疾患の進展増悪と kininase 活性との関係はより明らかな相関を示していた。また、被検体は何れも個体差が著しく、従って変動範囲も大きかった。個体差や変動差が大きいのは、歯肉組織が口腔という他の部位にみられない特異な環境条件下にあるためか、歯周疾患の病因が極めて多種多様であるためか、徴候や症状が複雑であって臨床分類も正確に行ない得ないためか、非常に難しい問題のため詳らかにすることが出来ない。なお、被検者の年齢や性別については、少数例のため解析しなかった。

炎症時には病巣局所の pH は 6.5 付近にまで下るといわれている。一方、血漿の kininase 活性は弱酸性の pH 6～5 で著明に抑制されるが、kinin の生成系には影響しないといわれている²⁵⁾。すなわち、炎症局所には kinin が蓄積され易くなる。また kininase 活性は種族差が著しく、人の血清は犬の1/10、モルモットの1/20以下であることから、人は kinin の蓄積がおこり易い条件下にあるということが考えられる。歯肉組織のように常に外因的刺激をうけている局所では、前述したように臨床的に健康であっても病理組織学的には必ず炎症症状がみられる。また咀嚼咬合によって歯肉組織に咬合性外傷をおこす機会が潜在している。このことは Edery¹²⁾ が傷害によって局所のリンパ液中に kininogenase が増加するとの報告から、咬合性外傷の場合にも kinin 生成が増進するのではないかと考えられる。さらに、何らかの全身の因子によって歯肉組織中の血清成分と唾液に変化を来すために kinin の形成と分解の均衡が破壊されることが考えられる。今回の実験において、健常群に比べて歯周炎群の方が kininase 活性が高かったことは、健常群の歯肉の試料が補綴処置に際して切除を必要とし、臨床的所見で健康と判定したものであるために病理組織学的には単純性歯肉炎あるいはそれ以上の所見を呈していたものがあつたかも分からない疑いがある。従って、今後病理組織学的所見と合せて検討する必要があると考えている。

最後に kinin の歯周疾患（炎症性）の発症との関係については、歯周疾患の原因として挙げられているいろいろの因子によって歯肉組織中の kinin の生成と分解の均

衡が破られるためであり、また歯周疾患の重篤度との関係については症状の進展増悪にともなって歯肉組織中に常に kinin が持続的に蓄積しているのに反して kininase 活性を抑制する因子が症状の進展増悪にともなって増大するために低下するものと考えられる。

従って、歯周疾患の発症や症状の進展に関して、kinin の生成と分解は共通の基盤となる因子と考えられても差支えないのではないかと思う。

V 結 論

kinin または kininase が歯周疾患の発症や進展の共通の基盤となる因子ではないかと考えて、健常者および歯周疾患患者の歯肉組織中の kininase 活性を歯肉組織の抽出液と acetone 処理粉末について測定し、各症状別の動向について検討した。kininase 活性の測定はモルモットの回腸を用いる生物検定法によって行なった。そして、次のような結果を得た。

1. 歯肉組織の抽出液は、歯肉片 2 mg を、Trasylol を加えた Tyrode 氏液 1 ml の割合に入れ、4,500 r.p.m./20sec. (0°C) polytron で homogenate, 2,500 g/20 min. (0°C) 遠心、その上清液を被検液とした。また粉末は、歯肉片を acetone (-20°C) に入れ、4,500 r.p.m./20 sec. (0°C) polytron で homogenate, 2,500 g/20 min. (0°C) 遠心、その沈澱物に ethyl ether を加えて 2500 g/20 min. (0°C) 遠心処理して粉末とし、粉末 100mg : Tyrode 氏液 50ml の割合のものを被検液とした。

2. 生物検定法には、モルモットの回腸を用いるのが bradykinin の感受性が高く、性差もなく、摘出前の処理も不要である結果を得た。また、腸管栄養液として終濃度 5×10^{-7} g/ml (pH 7.3) の atropine sulfate と diph-enhydramin-HCl を Tyrode 氏液に加えたものを用いて、摘出腸管の自動能の減少～消失と kinin による収縮を早く復元することができた。

3. 歯肉組織中の kininase 活性は、抽出液よりも粉末の測定値の方が変動が少なかった。

4. 全被検者（98名）の歯肉組織中に kininase 活性の存在が認められた。しかしかなりの個体差のあることが認められた。

5. 歯肉組織中の kininase 活性は症状の進展増悪にともなって低下することが認められた。これは推計学的にも危険率 1～5% で有意差が認められた。

以上のことから、歯肉組織中の kininase 活性は歯周疾患の症状の進展と極めて密接な関係があるものと考え

る。さらに kinin または kininase の薬理的作用から考えて歯周疾患の発症に重要な役割りを演じているのではないかと推察される。

欄筆にあたり、ご指導、ご校閲を頂いた中静 正教授ご助言、ご指導を頂いた薬理学教室松本昌世教授、竹谷和視助教授、生化学教室永津俊治教授に深甚なる謝意を表するとともに、研究遂行に当ってご協力を頂いた第3保存学教室員各位に謝意を表します。

文 献

- 1) Frey, E. K. : Zusammenhänge zwischen Herzarbeit und Nierentätigkeit. Arch. Klin. Chir., 142 ; 663-669, 1926.
- 2) Werle, E., Götze, W. und Keppler, E. : Über die Wirkung des Kallikreins auf den isolierten Darm und über eine neue darmkontrahierende Substanz. Biochem. Z., 289 ; 213-233, 1937.
- 3) Rocha e Silva, M., Beraldo, W. T. and Rosenfeld, G. : Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasmaglobulin by snake venoms and by trypsin. Am. J. Physiol., 156 ; 261-273, 1949.
- 4) Konzett, H. and Stürmer, E. : Biological activity of synthetic polypeptides with bradykinin-like properties. Brit. J. Pharmacol., 15 ; 544-551, 1960.
- 5) Bhoola, K. D., Calle, J. D. and Schachter, M. : The effect of bradykinin, serum kallikrein and other endogenous substances on capillary permeability in the guinea-pig. J. Physiol., 152 ; 75-86, 1960.
- 6) Lewis, G. P. : Bradykinin. Nature, 192 ; 596-599, 1961.
- 7) Elliott, D. F., Horton, E. W. and Lewis, G. P. : Action of pure bradykinin. J. Physiol., 153 ; 473-480, 1960.
- 8) Lewis, G. P. : Pharmacological actions of bradykinin and its role in physiological and pathological reactions. Ann. N. Y. Acad. Sci., 104 ; 236-249, 1963.
- 9) Zachariae, H., Malmquist, J., Oates, J. A. and Pettinger, W. : Studies on the mechanism of kinin formation in inflammation. J. Physiol., 190 ; 81-90, 1967.
- 10) Erdős, E. G. and Sloane, E. M. : An enzyme in human blood plasma that inactivated bradykinin and kallidin. Biochem. Pharmacol., 11 ; 585-592, 1962.
- 11) Erdős, E. G., Sloane, E. M. and Wohler, I. M. : Carboxypeptidase in blood and other fluids. Biochem. Pharmacol., 13 ; 893-905, 1964.
- 12) Melmon, K. L. and Cline, M. J. : Interaction of plasma kinin and granulocytes. Nature, 213 ; 90-92, 1967.
- 13) Jacobsen, S. : Observation on the content of kininogen, kallikrein and kininase in lymph from hind limbs of dogs and rabbits. Brit. J. Pharmacol. Chemother., 27 ; 213-221, 1966.
- 14) Horton, E. W. : Human urinary kinin excretion. Brit. J. Pharmacol., 14 ; 125-132, 1959.
- 15) Jasani, M. K., Katori, M. and Lewis, G. P. : Origin of kinin enzymes and intracellular enzymes in the synovial fluid of rheumatoid patients. J. Physiol., 190 ; 26-28, 1967.
- 16) Carvalho, I. F. and Diniz, C. R. : Kininforming enzyme (kininogen) in rat kidney. Ann. N. Y. Acad. Sci., 116 ; 912-917, 1965.
- 17) Amundsen, E. and Nustad, K. : Kinin-forming and destroying activities of cell homogenates. J. Physiol., 179 ; 479-488, 1965.
- 18) Ferreira, S. H. and Vane, J. R. : The disappearance of bradykinin and edoisin in the circulation and vascular beds of the cat. Brit. J. Pharmacol., 30 ; 417-424, 1967.
- 19) 竹谷和視, 今村多恵, 加藤三枝子, 河合 誠, 松本昌世 : 唾液の血圧降下作用に関する酵素学的解析一殊に kininase 活性との関係. 一愛院大歯誌, 6(2) ; 230-240, 1968.
- 20) Erdős, E. G., McMennamin, M. A. and Wohler, J. R. : Presence of carboxypeptidase B in crude kallikrein (padtin) preparation. Life Sci., 1 ; 765-775, 1962.
- 21) Greenbaum, L. M. and Yamafuji, K. : The in vitro inactivation and formation of plasma kinins by spleen cathepsins. Brit. J. Pharmacol., 27 ; 230-238, 1966.
- 22) Rugstad, H. E. : Degradation of plasma kinins by an enzyme from pseudomonas aeruginosa. Brit. J. Pharmacol., 31 ; 401-406, 1967.

- 23) Enomoto, T., Mineshita, S., Oh-ishi, S. and Shigei, T. : Kininase activity of stem bromelain. *Jap. J. Pharmacol.*, 17 ; 331-337, 1967.
- 24) Murachi, T. and Miyake, T. : Action of stem bromelain on bovine bradykininogen II and bradykinin. *Physiol. Chem. & Physics*, 2 ; 97-104, 1970.
- 25) Edery, H. and Lewis, G. P. : Inhibition of plasma kininase activity at slightly acid pH. *Brit. J. Pharmacol.*, 19 ; 299-305, 1962.
- 26) 竹谷和視 : 口腔内における Plasma kinins の形成とその歯周病における病因的意義. 歯界展望, 35 ; 1152-1156, 1970.
- 27) Kauko, K. M. and Keijo, U. P. : Demonstration of aminopeptidase B in human periodontal tissues. *Acta Chem. Scand.*, 24 ; 1103-1104, 1970.
- 28) Rodin, H. A., Kaslick, R. S., Chasens, A. I. and Bundy, R. : The relationship of gingival bradykinin activity to chronic gingivitis and periodontitis. *J. Periodont.*, 43 ; 476-480, 1972.
- 29) 竹谷和視, 今村多恵, 加藤三枝子 : Glutathione および Trasylol を使った唾液-血清反応における Kinin 形成および分解酵素活性の生物学的分離定量法. 愛院大歯誌, 5 (3) ; 187-202, 1967.
- 30) Lowry, O. H., Rowebrrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 ; 265-275, 1951.
- 31) 石川 馨, 米山高範 : 分散分析法入門. 日科技連出版社 (東京), 38, 1967.
- 32) 石川 馨, 藤森利義, 久米 均 : 実験計画法(上). 東京化学同人 (東京), 42, 1968.
- 33) Schultz-Hautdt, S. D. and Sölna, J. : Dynamics of the inflammatory reaction. *J. Periodont. Res.*, 1 ; 205-211, 1966.
- 34) Brill, N. : Passage of tissue fluid into human gingival pocket. *Acta Odont. Scand.*, 17 ; 11-21, 1959.
- 35) Brill, N. and Brönnestam, R. : Immuno-electrophoretic study of tissue fluid from gingival pockets. *Acta Odont. Scand.*, 18 ; 95-100, 1960.
- 36) Amundsen, E. and Nustad, K. : Kinin-forming and destroying activities of saliva. *Brit. J. Pharmacol.*, 23 ; 440-444, 1964.
- 37) Amundsen, E. and Nustad, K. : Kinin activity of human saliva. *Nature*, 201 ; 1226-1227, 1964.
- 38) Sallay, C. and Nador, C. : Changes in the kallikrein content of saliva under physiological circumstances and periodontoclasia. *J. Dent. Res.*, 29 ; 232-236, 1950.
- 39) Kroeger, D. and Krivoy, W. : The preservation of bradykinin by phenothiazines in vitro. *Brit. J. Pharmacol.*, 22 ; 329-341, 1964.
- 40) Tonzetich, J., Eigen, E., Volpe, A. R. and Welss, S. : Relationship of salivary kininase activity to periodontal status in human. *J. Periodont. Res.*, 4 ; 118-126, 1969.
- 41) Dreizen, S., Gilley, E. T. and Spies, J. D. : A comparison of the prevailing cell types in saliva of persons with and without periodontal disease. *Oral Surg.*, 9 ; 278-283, 1956.
- 42) Edery, H. and Lewis, G. P. : Kinin-forming activity and histamine in lymph after tissue injury. *J. Physiol.*, 169 ; 568-583, 1963.