原 著

歯周病における Nitoroblue tetrazolium 還元試験について

楠 公 仁

日本大学歯学部歯周病学教室

(指導：楠 正夫 教授)

日本大学歯学部病理学教室

(指導：梅村慎一郎 教授)

(昭和51年12月20日受付)

The Reduction Test by Nitroblue Tetrazolium in the Periodontal Diseases

by

Kimihito KUSUNOKI,

Department of Operative Dentistry, Nihon University

Graduate School of Dentistry

(Director : Prof. Masao KUSUNOKI)

(Director : Prof. Shinichirou UMEMURA)

The present study was carried out to examine the function of neutrocytes that play a major role in an inflammatory reaction of the periodontal disease, considered as a systemic condition.

The nitro blue tetrazolium reduction test (to be referred to as NBT hereafter) is widely used in clinical examination for the purpose of establishing the congenital anomaly of neutrocytes in connection with their phagocytosis. Additionally, its value is recognized as a means of screening test for infectious diseases.

In recent years, moreover, the importance of this method has come to be confirmed not only for the neutrophil function alone, but also for providing a useful suggestion for plasma factors. For the purpose of the study, the author made use of a capillary method which can be readily applied in clinical conditions. At the same time, a series of tests including the phagocytosis function test with *bokryu* (a good Indian ink), and peroxidase reaction test (a variation of the method devised by Kaplow) using Po-K staining kit in an effort to examine the neutrophil function in a comprehensive way. Further, the same NBT reduction test was conducted, in which the plasma was added to the blood to ascertain the behavior pf plasma factors.

The total number of 110 periodontal patients and, by way of controls, 20 normal subjects was selectively used for the study. The findings were that the value of periodontal patients was nearly the half of that of the normal subjects, registering lower values in the great majority of cases. The cases of gingival abscesses and gingival herperplasia such as Dilantin gingival hyperplasia, in which the degree of advanced inflammation was observed, were all found to register much higher values than those of the normal subjects. There was seen no definite fluctuation in the value of NBT reduction test during the treatment process of these

periodontal patients. Upon the completion of treatment, however, all the values returned to approximate those of the normal subjects.

The findings of phagocytosis function test with *bokuryo* and peroxidase reaction test were that the value of the cases of marginal periodontitis was more or less the same as that of normal subjects. From this, it was inferred that, in the cases of marginal periodontitis, the lowered NBT reduction rate was not due to any abnormal function of neutrocytes, but it was to be attributed to the plasma factors when the neutrocytes reacted.

Therefore, the blood of normal subjects was mixed with plasma of periodontal patients and the normal plasma with that of periodontal blood in the equal ratio of 1: 1, NBT reduction tests being subsequently conducted with these mixtures.

As a result, it was found that in 9 cases out of 15 the periodontal patients received the effect of normal plasma and, inversely, in 3 cases out of 15 the normal subjects received the effect of periodontal plasma.

From the above study, the author arrived at the following conclusions :

- 1) As compared with normal controls, the periodontal patients gave a lower rate in NBT reduction test. Particularly in the cases of marginal periodontitis, the value was nearly half of that of the normal subjects.
- 2) For the cases of marginal periodontitis, it was inferred, as a result of NBT reduction test to which the plasma was added, that plasma factors which ordinarily promote a vital defense mechanism were deficient.
- 3) The importance of these plasma factors is emphasized in connection with the treatment of periodontal diseases in the future.

第 1 章 緒 言

全身状態との関連のもとで歯周疾患を理解しようとする目的から病態を客観的に観察する一つ的手段として臨床血液学の分野においても多くの業績があり、当教室からも岡田¹⁾、勝本²⁾、北條³⁾、後藤⁴⁾らの報告がある。歯周疾患における白血球の形態および生化学的変化の検索については、高野、浦郷⁵⁾⁶⁾、藤岡、桜井⁷⁾、谷本⁸⁾らの報告があるものの機能的な面からの検索はほとんど見当たらない。

好中球の機能をみる Nitroblue tetrazolium 還元試験（以下 NBT 還元試験と略す）は 1967 年 Baehner, Nathan⁹⁾らが慢性肉芽腫症の患者の好中球には NBT 色素の還元能力が欠けていることを報告し、以来 1968 年 Park¹⁰⁾らにより好中球の貪食能、殺菌能を検討する一つの検査法として開発され近年に至り、本検査法は生体防御機構に関与する血漿因子の変動をも示唆できるものとされ¹¹⁾¹²⁾、今日臨床検査法として広く一般に用いられるようになっている。以上のことから著者は歯周病患者に NBT 還元試験を行ない、本疾患における好中球の機能がどのように変動しているものか、また血漿因子にどの程度の影響が与えられているもののかについて検討し、興味ある所見を得たのでここに報告する。

第 2 章 材料および方法

1. 検査対象

歯周病患者は日本大学歯科病院歯周病科において昭和 50 年 9 月から昭和 51 年 11 月までの間に問診、視診、既往歴、一般臨床検査等により歯周病のほか他科疾患を有しないと判定された、16～56 歳の男性 54 名、12～72 歳の女性 56 名、計 110 名で、辺縁性歯周炎とその他の群に大別した。さらに辺縁性歯周炎については罹患程度により PMA 指数に準じて P₁ 群、P₂ 群および P₃ 群に分類した。

対照群は、臨床的に口腔内および他科領域における疾患を有しない健常者、男性 13 名、女性 7 名、計 20 名（日本大学歯科病院に勤務する教員と日本大学歯学部学生）である。（表 1）

表 1 検 査 対 象

	健常者		罹患者	
	男	女	男	女
N B T 還元試験	13	7	54	56
墨 粒 貪 食 能 試 験	4	2	3	3
白血球ペルオキシダーゼ反応	4	2	3	3
血清添加 N B T 還元試験	5	0	11	5

2. 試料の採取法

被験者の耳朶よりヘパリン処理したヘマトクリット測定用毛細管（以下毛細管と略す）に採血したものを NBT 還元試験、および血清添加 NBT 還元試験に、スライドガラスに塗抹したものを好中球ペルオキシダーゼ反応用の試料とした。さらに被験者の左肘正中皮静脈から約 6 ml 採血し、そのうちの 1 ml を墨粒食能検査に、残り 5 ml を血清の採取に用いた。初診時に採取した試料について NBT 還元試験、墨粒食能検査、好中球ペルオキシダーゼ反応および血清による検査を行ない、治療の完了時、または治療途中の試料では NBT 還元試験のみ行った。なお NBT 還元試験は全て毛細管法¹³⁾¹⁴⁾によった。採血はその日の朝食をぬき午前 10～11 時の間に行った。

3. 検査方法

i) NBT 還元試験

ランセットで被験者の耳朶を穿刺し、1本の毛細管の $\frac{1}{5}$ まで血液を吸い上げ、同量の NBT 試験液(NBT 色素—Sigma 社—を生理食塩水に 0.2% 濃度に溶解し、それに同量の 0.15 M リン酸緩衝液—pH=7.2、を加えたもの)を加え、約 1 分～1 分 30 秒間、約 60 回手指により転倒混和する。つづいてあらかじめ 37°C に温めておいた湿潤状態の蓋つきシャーレ内に 37°C 15 分間毛細管を静置し、その後室温に 15 分間放置する。そして最後に毛細管を手指により数回転倒混和してスライドガラスに塗抹し、ライト・ギムザ染色を行ない、水洗乾燥後検鏡する。

ii) 血清添加による NBT 還元試験

被験者の耳朶より毛細管に 1 本は $\frac{1}{5}$ 量の、2 本は $\frac{1}{7}$ 量の血液をそれぞれ吸い上げ、血液と血清の割合が前者では 1 : 1、後者では 1 : 2、1 : 3 になる様に血清を混和し、最後に各々に血液量と同量の NBT 試験液を加え、i) の方法で還元試験を行なう。血液と血清との混和の組合せは図 1 のごとく 4 つとする。

図 1 血清添加 NBT 還元試験における組合せ方法

iii) 墨粒食能検査

血液 1 ml に墨粒液 1 滴とヘパリン製剤 1 滴とを加え、37°C 2 時間静置後塗抹しライト・ギムザ染色を行ない検

鏡する。なお墨粒液は良質の墨を生理食塩水でといたものを、ヘパリン製剤はアンチクロット (Clinton Laboratories) を用いた。

iv) 好中球ペルオキシダーゼ反応 (Kaplow 変法)

血液をスライドガラス上に 1 滴おとして塗抹したものを、PO-K 染色キット (武藤化学薬品 K.K) を用いて行った¹⁵⁾。

被験者の全てに NBT 還元試験を行ない、表 1 の如くそのうちの一部について墨粒食能検査、好中球ペルオキシダーゼ反応、血清添加 NBT 還元試験を施行した。

4. 各種検査法の判定

i) NBT 還元試験

100 個の好中球のうち blue-black の formazan を形成しているものを陽性とし、その数を NBT 還元率 (以下還元率と略す) とする。

ii) 血清添加による NBT 還元試験

NBT 還元試験の判定に準ずる。

iii) 墨粒食能検査

100 個の好中球を数えて、原形質内に食食された墨粒の量により、遠藤らの方法に準じ¹⁶⁾ 0 型～5 型に分類し、また墨粒を食食している好中球数と食食していない好中球との比を % で表わして Rate とし、各型にその数をかけ合わせ Score として表わす。

iv) 好中球ペルオキシダーゼ反応

好中球は原形質が黄褐色に染色されるものを陽性とし、その染色濃度により、後藤の方法に準じ¹⁵⁾ 0 型～3 型に分類し墨粒検査と同様な方法により Rate, Score を求めた。

第 3 章 成 績

1. NBT 還元試験

対照群として男性 13 名、女性 7 名、計 20 名、歯周病患者群として男性 54 名、女性 56 名、計 110 名の初診時の検査成績は表 2 のごとくである。

図 2—1、—2 のごとく辺縁性歯周炎患者の P₁、P₂、P₃ 各群間の男性および女性とも有意の差はみられず各群ともほぼ同様な値を示している。対照群の男性、女性の合計の平均値と、辺縁性歯周炎患者群のそれらの合計の平均値では対照群 25.6%，辺縁性歯周炎患者群 12.7% で、両性とも辺縁性歯周炎患者群の大半は対照群の約半分の値を示している。

図 3 のごとく、歯肉増殖の高度の者、ダイランチン性歯肉肥大症で歯肉増殖の高度のもの、および歯肉膿瘍の

表 2 健康者 20 名および歯周病患者 110 名の NBT 還元率の範囲と平均値 (%)

	被 験 者 数			N B T 還元率の範囲			N B T 還元率平均値± S. D.		
	男性	女性	計	男 性	女 性	計	男 性	女 性	計
対 照 群	13	7	20	20-30	22-29	20-30	25.7 ± 3.0	25.3 ± 2.1	25.6 ± 2.6
P ₁	10	12	22	3-17	5-24	3-24	11.2 ± 4.8	12.6 ± 5.3	12.0 ± 5.0
P ₂	21	26	47	5-24	3-31	3-31	11.3 ± 4.8	11.8 ± 6.8	11.6 ± 5.9
P ₃	16	17	33	7-32	3-33	3-33	15.5 ± 7.5	13.6 ± 8.1	14.5 ± 7.7
急性壊死性潰瘍性歯肉炎	1	0	1	*	*	*	14.0	*	14.0
増 殖 性 歯 肉 炎	3	0	3	31-35	*	31-35	33.7 ± 2.3	*	33.7 ± 2.3
Dilantin 性歯肉肥大症	2	1	3	37-41	*	16-41	39.0 ± 2.8	16.0	31.3 ± 13.4
歯 肉 膿 瘍	1	0	1	*	*	*	37.0	*	37.0

女 性

図 2-1 辺縁性歯周炎患者の NBT 還元率

図 2-2 辺縁性歯周炎患者の NBT 還元率

みられたものでは辺縁性歯周炎患者群に比べて対照群より高い値を示し、さらに急性壊死性潰瘍性歯肉炎患者、ダイランチン性歯肉肥大症患者のうち歯肉増殖の軽度のものは対照群より低い値を示している。

図 4-1, -2 のごとく歯周病患者 (男性 6 名, 女性 5 名, 計 11 名) の治療中で、まだ完治していない段階で

は、対照群の範囲に復帰するものはほとんどみられない。

図 5-1, -2 のごとく歯周病患者 (男性 9 名, 女性 7 名, 計 16 名) の臨床的に完治した段階では、すべて対照群の範囲に復帰している。

図 3 歯周病患者における NBT 還元率

図 4-1 歯周病患者の初診時および治療中における NBT 還元率

図 4-2 歯周病患者の初診時および治療中における NBT 還元率

図 5-1 歯周病患者の初診時および治癒後における NBT 還元率

図 5—2 歯周病患者の初診時および治癒後における NBT 還元率

2. 血清添加による NBT 還元試験

血清添加による血液希釈の影響を対照群および辺縁性歯周炎患者群各々の、血液と血清の割合が1：1，1：2，1：3，になるような条件で検討したところ，表3のごとく血清による希釈の影響が両性とも各組合せのグループの範囲内ではほとんどみられないことがわかった。

表 3 血清量による NBT 還元試験への影響

組合 せ 法	血液：血清	健常者血液 + 健常者血清 %	健常者血液 + 罹患者血清 %	罹患者血液 + 罹患者血清 %	罹患者血液 + 健常者血清 %
1)	1：1	22	16	10	16
	1：2	20	14	9	12
	1：3	13	10	9	14
2)	1：1	22	22	9	14
	1：2	20	15	8	12
	1：3	13	11	8	12
3)	1：1	22	10	9	10
	1：2	20	11	7	8
	1：3	13	9	7	9

使用した血液の NBT 還元率
健常者 22 %
1), 2) の罹患者 9 %
3) の罹患者 11 %

しかし血液と血清の割合が1：1で健常者の血液に患者の血清を，また患者の血液に健常者の血清をそれぞれ組合せたグループの還元率は血清を添加しない還元率と比較して相異がみられ，NBT 還元試験に影響する罹患者の血漿因子の存在が示唆された。

図6は血清添加による NBT 還元試験に用いる対照群の血清が，NBT 還元試験に影響を及ぼさず，還元率はすべて対照群の範囲内であることを示している。

図7—1，—2，—3は辺縁性歯周炎患者のP₁，P₂，P₃群における血液と血清の割合が1：1の各々の成績である。罹患者の血液に健常者の血清を添加した場合は15例(P₁～P₃)中9例は対照群の範囲にもどり，逆に健常者の血液に罹患者の血清を添加した場合，15例(P₁～P₃)中3例が対照群の範囲を越えた。

図8のごとく急性壊死性潰瘍性歯肉炎1例，ダイランチン性歯肉肥大症1例は血液と血清の割合が1：1の検索では，健常者の血清を添加すると対照群の範囲に復帰するが，罹患者の血清を健常者の血液に添加しても健常者の値はほとんど変化をみなかった。

3. 墨粒貪食能検査

図9のごとく健常者，辺縁性歯周炎患者それぞれ6名の成績は，罹患者と健常者との間に有意差がない。

4. 好中球ペルオキシダーゼ反応

図10のごとく健常者，辺縁性歯周炎患者それぞれ6名の成績は，罹患者と健常者との間に有意差がない。

図 6 健常者間における血清添加 NBT 還元試験成績

図 7-1 健常者と辺縁性歯周炎患者間における血清添加 NBT 還元試験成績

図 7-2 健常者と辺縁性歯周炎患者における血清添加 NBT 還元試験成績

図 7-3 健常者と辺縁性歯周炎患者間における血清添加 NBT 還元試験成績

図 8 健常者と血清添加 NBT 還元試験成績

第 4 章 考 察

NBT 還元試験は好中球機能の貪食能と殺菌能とを検査する方法である¹⁷⁾が、そのメカニズムはいまだ明らかではない。しかし慢性肉芽腫症における好中球に貪食能はみられるが、殺菌能を欠くことは Hexose monophosphate shunt (以下 HMS と略す) 由来の H_2O_2 合成が不十分であり、NBT 還元能力がないことによるとされていることから¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾、NBT 還元試験は HMS 系の酵素レベルでの反応により formazan を形成するものと考えられている²¹⁾²²⁾。

好中球が殺菌消化する場合、HMS 系の急激な活性化が起こり²³⁾、NBT 色素の還元がみられる。一方、G-6-PD、6-PGD などの HMS 系酵素あるいは、NADP、NADPH などの補酵素の障害がみられると、HMS 系由来の H_2O_2 合成がみられず、myeloperoxidase と Cl^- 、 I^- 、 Ba^{2+} のハロゲンイオンとの作用が阻害され、殺菌能

図 9 墨粒貪食能試験成績

図 10 好中球ペルオキシダーゼ反応試験成績

が欠け NBT 還元能力の低下を来す結果となることによる²¹⁾。この様に NBT 還元試験は本来先天的好中球機能を検討する検査法であるが、好中球の生体防御機構に重要な役割をはたしている食食作用に関与する血漿因子、すなわち opsonin²⁴⁾、補体²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾、免疫複合体²⁸⁾などの動向も推察出来る検査法であるとされている。

検査法は複雑な装置、器具を必要とせず、耳朶からの微量の採血のみで施行でき、患者の負担も少なく日常簡便に行なえる利点があり、临床上、細菌感染症とウイルス感染症との鑑別診断²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾、種々の疾患における経過観察³²⁾³³⁾、免疫不全症候群の診断検査法³⁴⁾などに今日施行されている。

辺縁性歯周炎患者 102 名中 88.2 % は対照群より低値を示し、またダイランチン性歯肉肥大症、歯肉膿瘍、および高度の歯肉増殖のみられたものはダイランチン性歯肉肥大症の 1 例を除いて、すべて対照群より高い値を示した。ダイランチン性歯肉肥大症の場合、浦郷、末森³⁵⁾らはダイランチンは下垂体-副腎皮質系の機能低下を主とする内分泌障害も惹起させるものと思われると述べており、また還元率が甲状腺機能低下症で高値を示すということから¹¹⁾、ダイランチン性歯肉肥大症の還元率が高値を示したものと考えられるが、この点さらに詳しい検討が必要と思われた。

還元率が高い場合は局所の細菌感染³⁶⁾、蓄膿症などの化膿性病変³²⁾、その他糖尿病、顆粒球減少症、鉄欠乏性貧血¹¹⁾などにもみられ、歯肉膿瘍の還元率の高値を示すことは Park らも報告しており¹⁰⁾、歯肉の炎症が高度の場合、好中球の防御反応が促進され、このため還元率が高値を示したと思われた。

還元率が低値を示すのは、先天性好中球機能不全、ウイルス感染症、その他の疾患では SLE などの自己免疫疾患、Hurler 症候群¹¹⁾などであり、免疫学的には生体防御機能が異常の場合にも認められている。歯周疾患で還元率が低値を示したのは、臨床的に PMA 指数で分類したもののとの相関がみられなかった辺縁性歯周炎のほとんど、急性壊死性潰瘍性歯肉炎とであった。歯周病の治療中または治療完了時における還元率の変動は必ずしも一定していないが、治癒した段階では対照群の値に全例が復帰した。歯周病における還元率の変動が全身性の影響、ことに血漿因子によるものか、好中球そのものの機能不全によるものかを検索の目的で、次の様な検査を行った。

まず好中球自身の機能を試験する墨粒食能検査、好中球ペルオキシターゼ反応を行なった。

その結果、歯周疾患患者の好中球自身には機能的な異常が認められず正常の機能を有することがわかり、還元率の低下はその他の影響であろうことがうかがわれた。

そこで、血清による検索を行なった。この検索で辺縁性歯周炎患者の血漿中に還元率に影響を与える因子が含まれるか否かを検討した。血液に血清を添加した場合、血清の希釈の程度による影響をみるため、血液と血清の割合を 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 で調整し NBT 還元試験を行なった。また対照群の血清中には NBT 還元試験に影響を及ぼす因子が存在するか否かを確めるために健康者同志の血清を加え試験を行なった。その結果は表 3, 図 6 であり、血液と血清の割合が 1 : 1 の検索では血清による希釈の影響は全くみられなかった。そこで辺縁性歯周炎患者と健康者の各々の血液と血清の割合を 1 : 1 で混和し NBT 還元試験を行なった。辺縁性歯周炎患者 (P₁~P₃) 計 15 名のうち罹患者の値が健康者の値に復帰したものは 9 例であった。また健康者の血液に罹患者血清を添加した場合には 15 例中 12 例が健康者の値に変化を与えなかった。このことから辺縁性歯周炎患者の血漿中には健康者の生体防御機構を抑制するより、生体防御機構を正常に促進させる因子が欠乏していることが推測され還元率の変動からみて、ごくわずかな因子で補うことが出来るものと考えられた。近年における辺縁性歯周炎の免疫学的検索で、生体防御反応に関与する血漿因子の異常が推察されており³⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾、辺縁性歯周炎において還元率低下がみられたことは好中球そのものの機能の低下にその理由を求めるよりも生体防御機構に関与する血漿因子の影響が考えられる。

この血漿因子が辺縁性歯周炎に罹患しやすい者、病状の長期化をたどる者、さらに再発しやすく、膿瘍形成を生じやすい者などに不足していることも考えられ、歯周疾患の治療上この血漿因子について今後詳細なる研究が必要と思われる。

第 5 章 結 論

全身状態との関連のもとに歯周病患者を観察する目的で日常臨床的に簡便に行なえる NBT 還元試験を用い検討した結果次の成績を得た。

1. 歯周病罹患者の還元率は対照群に比し低値を示し、特に辺縁性歯周炎では対照群の約半分の値を示した。
2. 辺縁性歯周炎患者には、血清添加による NBT 還元試験の結果、生体防御機構を正常に促進させる血漿因

子が欠乏していることが推測された。

3. 歯周病の治療上この血漿因子について、今後の検討の必要性を強調した。

稿を終るに臨み、終始御指導と御校閲を賜った楠正夫教授に深厚なる感謝の意を表します。また本研究に種々の御教示を賜った梅村慎一郎教授、ならびに帝京大学医学部付属病院第1内科松田重三博士、駿河台日大病院中央検査科血液室主任後藤清技術員に深謝の意を表するとともに、歯周病教室ならびに臨床検査室各位の御協力に感謝いたします。なお、本論文の要旨は第19回秋季日本歯周病学会において発表した。

文 献

- 岡田匡生：病周病の影響としての血液所見；日大歯学，44：236-262，1970。
- 勝本正昭：歯周病の治療の前後における血清蛋白質画分の変動に関する研究；日歯周誌，15：143-151，1973。
- 北條雅樹：慢性辺縁性歯周炎患者の血清β-リポ蛋白値の変動について；日歯周誌，17：181-188，1975。
- 後藤 実：Three-electrode system 血液ガス分析装置の歯科臨床への試験的応用；日歯周誌，18：207-214，1976。
- 高野義臣，梶谷貴大，浦郷篤史：所謂歯槽膿漏症の研究(第1報)，血液所見；日病会誌，43：633，1954。
- 高野義臣，浦郷篤史：所謂歯槽膿漏症の研究(2)，本症患者の血液所見；九州歯会誌，9：86-91，1956。
- 藤岡幸雄，桜井靖郎：歯槽膿漏症に於ける血球(好酸球)の動態観察について；日口腔会誌，8：643，1959。
- 谷本英次：歯槽膿漏症患者に於ける白血球及び血液像，特に核型移動について；歯月報，33：208-209，1959。
- Baehner, R.I. and Nathan, D.G.: Leukocyte oxidase: Defective activity in chronic granulomatous disease; Science, 155: 835-836, 1967.
- Park, B.H., Fikrig, S.M. and Smithwick, E. M.: Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils; Lancet, 2: 532-534, 1968.
- 松田重三：NBT還元試験の臨床病理学的研究；臨床血液，16：41-55，1975。
- Nydegger, U.E., Anner, R.M., Gerebtzoff, A., Lambert, P.H. and Miescher, P.A.: Polymorphonuclear leukocyte stimulation by immune complexes, Assessment by nitroblue tetrazolium dye reduction; Eur. J. Immunol, 3: 465-470, 1973.
- 松田重三，河合忠好：中球のNBT還元試験；モダンメディア，20：225-232，1974。
- 松田重三，河合忠：NBT還元試験；臨床検査，18：1277-1284，1974。
- 後藤 清：ペルオキシダーゼ染色；検査と技術，4：667-670，1976。
- 遠藤徳雄，木村秀夫，松田信，秋月健，田中鉄五郎，鈴木孝雄：好中球のアルカリフォスファターゼ活性，墨粒貪食能，nitro BT還元能について；臨床血液，15：495-500，1974。
- 河野均也：免疫不全症候群における免疫血清検査法；(河合忠編：免疫血清検査，臨床検査技術全書4，第1版，医学書院，東京)，424-429，1973。
- 水上茂樹，津田サチ子：喰細胞の生化学的機能と代謝；(林秀男，山村雄一監修：炎症反応，炎症学叢書I，第1版，医学書院，東京)，194-195，1976。
- Balfour, Jr., H.H. and Shehan, J. J.: Chronic granulomatous disease of childhood in a 23-year-oldman; J. Amer. med. Ass., 217: 960-961, 1971.
- Johnston, Jr., R.B.: Screening test for the diagnosis of chronic granulomatous disease; J. pediatrics, 43: 122-123, 1969.
- 中島弘二：NBTテスト；臨床検査，18：1250-1251，1974。
- McCall, C.E., DeChatelet, L.R., Butler, R. and Brown, D.: The biologic basis for the elevated histochemical nitroblue tetrazolium reaction; J. Clinical Investigation, 54: 1227-1234, 1974.
- 水上茂樹，柿沼カツ子：白血球の代謝；(吉川春寿，中尾喜久編：血液の生化学，第5版，朝倉書店，東京)，393，1974。
- 緒方富雄：理論血清学；第5版，東京大学出版会，東京，258-259，1975。

- 25) 西岡久寿弥：補体の化学；代謝， 8：162-168, 1971.
- 26) 嶋田孝吉：補体と炎症性疾患；代謝， 8：169-176, 1971.
- 27) 田村 昇：補体；医学のあゆみ， 90：503-506, 1974.
- 28) 板倉克明：免疫反応による組織障害；（菊地浩吉編：医科免疫学，第1版，南江堂，東京），289-294, 1976.
- 29) Feigin, R.D., Shackelford, P. G., Choi, S. C., Flake, K. K., Franklin Jr, F. A. and Eissenberg, C. S. : Nitroblue tetrazolium dye test as an aid in the differential diagnosis of febrile disorders ; J. Pediatrics, 78 : 230-237, 1971.
- 30) Humbert, J. R., Marks, M.I., Hathaway, W.E. and Thoren, C.H. : The histochemical nitroblue tetrazolium reaction test in the differential diagnosis of acute infections ; J. Pediatrics, 48 : 259-267, 1971.
- 31) Bittner, S. J., Kieff, E., Windhorst, D. and Meier, P. : The use of the Unstimulated nitroblue tetrazolium test as a routine screening test for bacterial infection in an adult population : Amer. J. Clin. Pathol 60 : 843-853, 1973.
- 32) Park, B.H. : The use and limitations of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid ; J. Pediatrics, 78 : 376-378, 1971.
- 33) Segal, A.W., Trustey, S.F. and Levi, A. J. : Re-evaluation of Nitroblue tetrazolium test ; Lancet, 20 : 879-883, 1973.
- 34) 松本脩三, 谷内昭：免疫学の診断への応用；（菊地浩吉編：医科免疫学，第1版，南江堂，東京），363-369, 1976.
- 35) 浦郷篤史, 末森多賀生：歯周病の病理学的研究—Dilantin 歯肉炎を認めた1倍検例；日歯周誌，15：104-105 '1973.
- 36) Freeman, R. and King, B. : Nitroblue-tetrazolium test and neutropenia ; Lancet, 4 : 533-534, 1972.
- 37) 谷明, 森章一, 佐川寛典：歯周疾患患者血清の免疫学的研究—Ⅱ臨床の程度及び分類から見た免疫グロブリン量と補体量；日歯周誌，15：142-144, 1973.
- 38) 西田健, 竹内宏, 河野修治, 掛樋明, 岡邦恭, 筒井正弘：歯周組織内における抗原抗体反応の免疫病理学的研究—(1) とくに細菌抗原, 抗体蛋白および補体成分の動態について；日歯周誌，17：138-140, 1975.
- 39) 佐藤敏彦, 齊藤泰一, 畠山赳夫, 吉島一郎, 管野博之：歯周病の免疫学的研究—第4報 a₂ -グロブリン領域の変動について；日歯周誌，13：55, 1971.