Alloxan 糖尿病ラットにおける 血清および歯槽骨のクエン酸量

平 出 満 雄 小 倉 延 重 本 多 誠
水 野 由 紀 夫 安 藤 康 伊 藤 一

愛知学院大学歯学部歯周治療学教室

(主任：中 静 正教授)

(昭和53年12月20日受付)

Citric Acid Contents in the Serum and Alveolar Bone of Alloxan Diabetic Rats

Michio HIRADE, Nobushige OGURA, Makoto HONDA,
Yukio MIZUNO, Kou ANDO and Hitoshi ITO

Department of Periodontology, School of Dentistry,
Aichigakuin University

(Director: Prof. Tadashi NAKASHIZUKA)

Contents of citric acid, calcium and phosphorus were studied in the serum and bones (maxillary alveolar, mandibular alveolar and femoral bones) of alloxan diabetic rats at 5, 10 and 15 weeks after injection of alloxan. Citric acid was measured by the method of Hori et al, calcium by atomic absorption spectroscopy, and phosphorus by the method of Lowry et al.

The following results were obtained:

1. The citric acid contents in the serum were significantly higher in the alloxan diabetic than the control rats ($P<0.05$), but the calcium and phosphorus contents were not statistically significant between the alloxan diabetic and the control rats.
2. The citric acid contents in the alloxan diabetic rats were significantly higher at 5 weeks in the maxillary and mandibular alveolar bones and at 5 and 15 weeks in the femoral bones, as compared with those of the control rats ($P<0.05$).
3. The calcium and phosphorus contents in the maxillary alveolar, mandibular alveolar and femoral bones did not differ from those of the alloxan diabetic and the control rats.
4. Throughout the experimental period, there was no histological difference in the maxillary and mandibular alveolar bone between the alloxan diabetic and the control rats.

I. 結 言

クエン酸は、糖の中間代謝産物であって、骨に多量に存在し、それが蓄積することによって、骨塩が循環系に

本論文の要旨は昭和53年11月愛知学院大学歯学会例会において報告した

溶解しやすくなる^{1,2)}。また、クエン酸は、骨においてハイドロキシ・アパタイトの溶解に影響を与え、Caとキレート結合し、また酸産生をするといわれている。^{3, 4, 5)} さらに骨細胞におけるクエン酸の産生は、血清のカルシウムレベルを一定に維持するためであるともいわれている。^{6, 7)}

さきに、研究者の一人、平出⁷⁾は歯周病患者の手術時

に採取した歯槽骨のクエン酸量と Ca 量を測定したところ、健康者のそれに比べてクエン酸量は僅かながら増加し、逆に Ca 量は著しく減少していたことを報告した。

さて、Alloxan 糖尿病動物では骨多孔症をきたすといわれている^{8,9,10)}。Tsukamoto ら¹¹⁾は、Alloxan 糖尿病動物について2週間にわたり血液および歯槽骨のクエン酸量の変動を報告している。

そこで、私どもは、Alloxan 糖尿病ラットにおける血清および歯槽骨のクエン酸量について追試する目的で、Alloxan 投与後 5, 10および15週の血清、歯槽骨および大腿骨のクエン酸量、合せて Ca 量および P 量を測定したので報告する。

II. 実験の材料と測定方法

実験に供した Wister 系雄ラットは Alloxan 糖尿病群と対照群とに大別した。さらに Alloxan 糖尿病群は Alloxan 投与後、5, 10および15週の3群(各5匹)に、また、対照群は Alloxan 投与前、投与後 5, 10および15週の4群(各5匹)に細別した。

Alloxan 糖尿病群と対照群は、実験に先立って尿糖値を測定して糖尿病の有無を確認した後、エーテル麻酔下で先ず頸静脈より採血、つぎに屠殺して、上顎骨、下顎骨および大腿骨を採取した。

血糖値は Hagedorn-Jensen 法によって測定した。各実験群の血糖値の測定範囲、平均値および標準偏差は、表1と図1の中に示す通りである。

右側の上下顎臼歯部歯槽骨と大腿骨は採取後、直ちにエチルアルコールに8時間浸漬、つぎにエーテルに4時間浸漬して脱脂、乾燥した。乾燥骨は骨粉砕器で20 mesh に粉砕した後、粉砕骨 10 mg 当り 5 ml の 2N-HCl を加えて Polytron にてホモジナイズし、24時間放置した上清液を骨のクエン酸量、Ca 量および P 量の測定試料とした。

血清と骨のクエン酸量は Hori ら¹²⁾の方法によって測定した。

血清と骨の Ca 量は塩化ストロンチウムを加えて原子吸光フレイム分光光度計で測定した。

血清と骨の P 量は Lowry ら¹³⁾の方法によって測定した。

左側の上下顎骨は10%中性ホルマリン液にて固定、10%蟻酸液にて脱灰、パラフィン包埋、切片としてヘマトキシリン、エオジン染色して鏡検した。

III. 実験成績

1. 血清のクエン酸量、Ca 量および P 量について

Alloxan 投与前、投与後 5, 10および15週における対

表 1 Means of Citric Acid, Calcium and Phosphorus Contents in Serum

Weeks	Groups	Blood Sugar(mg/dl)		Citric Acid(mg/dl)		Calcium(mg/dl)		Phosphorus(mg/dl)	
		Range	Mean $\pm$ S.D.	Range	Mean $\pm$ S.D.	Range	Mean $\pm$ S.D.	Range	Mean $\pm$ S.D.
0	Control (5)	105-132	117.80 $\pm$ 9.96	3.7-4.4	4.00 $\pm$ 0.27	8.1- 8.8	8.48 $\pm$ 0.27	6.9-7.6	7.22 $\pm$ 0.23
	Alloxan (5)	106-138	121.60 $\pm$ 10.24	3.9-4.4	4.08 $\pm$ 0.23	8.2- 9.5	8.62 $\pm$ 0.49	7.0-7.6	7.24 $\pm$ 0.21
5	Control (5)	408-575	490.40 $\pm$ 51.80	3.8-5.0	4.34 $\pm$ 0.44	7.9-10.3	8.64 $\pm$ 0.86	8.4-9.5	8.88 $\pm$ 0.40
	Alloxan (5)	109-140	125.80 $\pm$ 10.75	4.6-5.2	4.90 $\pm$ 0.21	8.1- 9.5	8.62 $\pm$ 0.50	6.7-7.1	6.90 $\pm$ 0.17
10	Control (5)	516-547	527.20 $\pm$ 11.44	7.7-8.7	8.24 $\pm$ 0.37*	8.8-10.0	9.26 $\pm$ 0.49	8.1-9.9	9.08 $\pm$ 0.62
	Alloxan (5)	113-130	121.20 $\pm$ 5.81	4.3-5.3	4.78 $\pm$ 0.33	9.2- 9.8	9.44 $\pm$ 0.21	6.1-9.7	8.66 $\pm$ 1.30
15	Control (5)	293-511	406.00 $\pm$ 77.30	5.5-8.2	6.78 $\pm$ 0.91*	8.7- 9.7	9.22 $\pm$ 0.36	6.9-7.4	7.20 $\pm$ 0.19
	Alloxan (5)								

*The difference between control and alloxan were significant, $P < 0.05$.

図 1 Histograms of Citric Acid, Calcium and Phosphorus Contents in Serum

表 2 Means of Citric Acid, Calcium and Phosphorus Contents in Maxillary Alveolar Bones

Weeks	Groups	Citric Acid(mg/g)		Calcium(mg/100mg)		Phosphorus(mg/100mg)	
		Range	Mean±S.D.	Range	Mean±S.D.	Range	Mean±S.D.
0	Control (5)	7.1－ 7.8	7.42±0.25	21.4－23.1	22.52±0.62	10.9－11.3	11.10±0.17
5	Control (5)	7.1－ 7.9	7.48±0.33	21.4－23.1	22.50±0.59	10.8－11.3	11.08±0.19
	Alloxan (5)	7.5－10.6	9.36±1.02*	22.4－26.6	24.08±1.57	11.3－11.9	11.86±0.52
10	Control (5)	6.3－ 7.3	6.82±0.38	22.4－23.1	22.74±0.27	10.2－11.8	10.94±0.53
	Alloxan (5)	5.6－ 8.8	7.60±1.13	17.5－23.1	20.78±2.05	8.5－12.6	11.16±1.39
15	Control (5)	4.5－ 5.8	5.36±0.44	21.1－22.6	21.98±0.54	10.9－11.4	11.14±0.21
	Alloxan (5)	5.0－ 8.1	6.76±1.11	19.8－21.5	20.32±0.60	11.0－11.8	11.26±0.30

*The difference between control and alloxan were significant, P<0.05.

照群と Alloxan 糖尿病群の血清のクエン酸量, Ca 量および P 量の測定範囲, 平均値および標準偏差は表 1 に示す通りである。図 1 の棒グラフはそれらの平均値と 95% 信頼限界を示したものである。

血清のクエン酸量は Alloxan 糖尿病群が対照群に比べて各週とも増加した。とくに 10 と 15 週では統計的有意差 (危険率 5 %) が認められた。血清の Ca 量と P 量は Alloxan 糖尿病群が対照群に比べて 5 と 10 週ではやや増

加の傾向を示したが, 15 週では減少の傾向を示した。

2. 上顎歯槽骨のクエン酸量, Ca 量および P 量について

Alloxan 投与前, 投与後 5, および 15 週における対照群と Alloxan 糖尿病群の上顎歯槽骨のクエン酸量, Ca 量および P 量の測定範囲, 平均値および標準偏差は表 2 に示す通りである。図 2, 3 および 4 の棒グラフはそれらの平均値と 95% 信頼限界を示したものである。

图 2 Histograms of Citric Acid Contents in Maxillary Alveolar, Mandibular Alveolar and Femoral Bones

图 3 Histograms of Calcium Contents in Maxillary Alveolar, Mandibular Alveolar and Femoral Bones

図 4 Histograms of Phosphorus Contents in Maxillary Alveolar, Mandibular Alveolar and Femoral Bones

表 3 Means of Citric Acid, Calcium and Phosphorus Contents in Mandibular Alveolar Bones

Weeks	Groups	Citric Acid(mg/g)		Calcium(mg/100mg)		Phosphorus(mg/100mg)	
		Range	Mean ± S.D.	Range	Mean ± S.D.	Range	Mean ± S.D.
0	Control (5)	6.8—7.3	7.02±0.19	20.5—24.1	22.42±1.19	10.1—11.8	10.88±0.62
5	Control (5)	6.4—7.3	6.98±0.30	21.6—24.1	22.68±0.88	10.3—11.8	11.12±0.53
	Alloxan (5)	7.0—9.4	8.38±0.81*	21.0—23.8	22.32±1.18	10.5—11.9	11.14±0.53
10	Control (5)	6.3—6.8	6.66±0.21	21.0—23.1	22.50±0.78	10.9—12.0	11.32±0.37
	Alloxan (5)	6.3—8.0	7.46±0.65	22.5—23.1	22.68±0.25	11.1—14.1	12.38±1.13
15	Control (5)	4.6—5.1	4.88±0.19	19.8—22.7	21.60±1.08	10.5—11.4	10.88±0.30
	Alloxan (5)	4.9—7.8	6.26±1.05	19.8—21.5	20.54±0.59	10.7—11.9	11.40±0.46

*The difference between control and alloxan were significant, P<0.05.

上顎歯槽骨のクエン酸量は Alloxan 糖尿病群が対照群に比べて各週とも増加し、とくに 5 週では統計的な有意差（危険率 5 %）が認められた。Ca 量は 5 週ではやや増加したが、10 と 15 週では減少した。P 量は各週ともやや増加した。

3. 下顎歯槽骨のクエン酸量, Ca 量および P 量について

Alloxan 投与前, 投与後 5, 10 および 15 週における対照群と Alloxan 糖尿病群の下顎歯槽骨のクエン酸量, Ca 量および P 量の測定範囲, 平均値および標準偏

表 4 Means of Citric Acid, Calcium and Phosphorus Contents in Femoral Bones

Weeks	Groups	Citric Acid(mg/g)		Calcium(mg/100mg)		Phosphorus(mg/100mg)	
		Range	Mean $\pm$ S.D.	Range	Mean $\pm$ S.D.	Range	Mean $\pm$ S.D.
0	Control (5)	5.6-6.9	6.10 $\pm$ 0.45	19.6-22.3	20.88 $\pm$ 1.10	10.0-10.9	10.56 $\pm$ 0.31
5	Control (5)	5.3-6.9	6.14 $\pm$ 0.63	19.6-22.3	21.08 $\pm$ 1.15	10.0-10.9	10.52 $\pm$ 0.34
	Alloxan (5)	6.8-9.8	8.00 $\pm$ 1.08*	17.2-23.1	21.52 $\pm$ 2.17	8.8-11.6	10.90 $\pm$ 1.06
10	Control (5)	5.8-6.9	6.44 $\pm$ 0.40	23.1-25.0	23.92 $\pm$ 0.65	10.9-11.8	11.30 $\pm$ 0.30
	Alloxan (5)	5.6-7.3	6.52 $\pm$ 0.69	19.8-23.6	21.42 $\pm$ 1.59	10.1-12.9	11.74 $\pm$ 1.02
15	Control (5)	3.3-4.3	3.94 $\pm$ 0.34	18.8-22.0	21.26 $\pm$ 1.23	10.3-11.6	10.80 $\pm$ 0.64
	Alloxan (5)	4.4-5.3	4.92 $\pm$ 0.31*	19.8-21.8	21.80 $\pm$ 0.77	11.6-11.9	11.76 $\pm$ 0.14

*The difference between control and alloxan were significant, $P < 0.05$.

差は表3に示す通りである。図2, 3および4の棒グラフはそれらの平均値と95%信頼限界を示したものである。

下顎歯槽骨のクエン酸量は Alloxan 糖尿病群が対照群に比べて各週とも増加し、とくに5週では上顎歯槽骨と同様に統計的な有意差(危険率5%)が認められた。Ca量とP量は各週群ともやや増加した。

4. 大腿骨のクエン酸量, Ca量およびP量について

Alloxan 投与前, 投与後5, 10および15週における対照群と Alloxan 糖尿病群の大腿骨のクエン酸量, Ca量およびP量の測定範囲, 平均値および標準偏差は表4に示す通りである。図2, 3および4の棒グラフはそれらの平均値と95%信頼限界を示したものである。

大腿骨のクエン酸量は Alloxan 糖尿病群が対照群に比べて各週とも増加し、とくに5週では上下顎の歯槽骨と同様に統計的な有意差(危険率5%)が認められた。Ca量は5週では殆んど変らなかったが10週と15週ではやや減少した。P量は各週群ともやや増加した。

5. 歯周組織の病理組織学的所見について

対照群と Alloxan 糖尿病群の上顎第1と第2臼歯間の歯周組織における病理組織学的所見は写真に示す通りである。

Alloxan 糖尿病群において、始め予期していたような歯周組織における破骨細胞による骨吸収、歯根膜線維の乱れ、細小血管の拡大などの変化は殆んどみられなかつ

た。

IV. 考 察

クエン酸は血液や組織に含まれており¹⁴⁾, その量的変動が糖質や脂質の代謝調節に影響を及ぼすといわれている^{15,16)}。通常, 血液のクエン酸量は生成分解排泄によって均衡が保たれて変動は極めて少ないといわれている⁶⁾。

クエン酸とCaとの関係について, クエン酸がカルシウム塩, とくに磷酸カルシウムと親和性が強いこと¹⁷⁻¹⁹⁾, またクエン酸がカルシウムイオンと強いキレート結合をすること²⁰⁻²²⁾がよく知られている。

さて, クエン酸と歯周病との関係について, 常光²³⁾が歯周病の糖代謝に関する研究において, 歯周病患者の血液のクエン酸量が増加していることを認めて以来, 多くの報告がある。また, 歯周病の主要徴候の一つである歯槽骨の吸収とクエン酸量との関係について, 常光²³⁾, Tsunemitsu²⁴⁾, Kilgore ら²⁵⁾, Shapiro ら²⁶⁾, Cutress ら, ²⁷⁾ Simon ら, ²⁸⁾ 中静ら^{29,30)}などの報告がある。

しかし, 歯周病の歯槽骨のクエン酸量については, 平出⁷⁾の報告があるに過ぎない。平出によれば, 歯槽骨のクエン酸量は歯周病群の方が健康群に比べてやや上昇する傾向を示すが, 歯槽骨のCa量は有意に低下し, P量は, やや低下する傾向を示したと報告している。

写真 1 Maxillary Periodontal Tissues Between First and Second Molars. The Control Rats of 5 Weeks. (Hematoxylin-Eosin, $\times 120$)

写真 2 Maxillary Periodontal Tissues Between First and Second Molars. The Diabetic Rats of 5 Weeks. (Hematoxylin-Eosin, $\times 120$)

写真 3 Maxillary Periodontal Tissues Between First and Second Molars. The Control Rats of 10 Weeks. (Hematoxylin-Eosin, $\times 63$)

写真 4 Maxillary Periodontal Tissues Between First and Second Molars. The Diabetic Rats of 10 Weeks. (Hematoxylin-Eosin, $\times 63$)

写真 5 Maxillary Periodontal Tissues Between First and Second Molars. The Control Rats of 15 Weeks. (Hematoxylin-Eosin, $\times 160$)

写真 6 Maxillary Periodontal Tissues Between First and Second Molars. The Diabetic Rats of 15 Weeks. (Hematoxylin-Eosin, $\times 160$)

前述した Tsukamoto ら¹¹⁾によれば, Alloxan 糖尿病ラットにおける血清のクエン酸量は, 血糖値の増加とともに有意に増加し, Alloxan 投与 2 日目に最高を示したが, 歯槽骨のクエン酸量は変化しなかったと報告している。

なお, 私どもが実験に供した Alloxan 糖尿病ラットは, ブドウ糖負荷試験を行わなかったが, 空腹時の血糖値は表に示すように対照に比べて著しく高かった。しかし, Glickman⁹⁾, その他多くの研究者が報告しているような歯槽骨の骨多孔症, 歯根膜線維の乱れや消失, 細小血管の拡張, その他の変化が殆んど認められなかった。しかしながら, 血清のクエン酸量は各週とも Alloxan 糖尿病群の方が対照群に比べて明らかに増加する傾向を示し, Tsukamoto ら¹¹⁾の報告とほぼ一致していた。血清の Ca 量と P 量は 5 と 10 週ではやや増加し, 15 週ではやや減少する傾向を示したに過ぎなかった。

上下顎歯槽骨および大腿骨のクエン酸量は各週とも Alloxan 糖尿病群の方が対照群に比べて明らかに増加する傾向を示し, 平出⁷⁾の報告に近い結果を得たが, Tsukamoto ら¹¹⁾の報告と一致しなかった。Tsukamoto ら¹¹⁾は Alloxan 投与後 2 週間という短期間であったためではなかったかと考える。骨の Ca 量は全体的にみて Alloxan 糖尿病群の方が対照群に比べてやや減少する傾向を示したに過ぎず, 平出⁷⁾の報告のように有意な減少を示さなかった。これは病理組織学的所見において, 従来報告されているような骨多孔症のような病変がおきなかったためと考える。もし, 井上⁹⁾, Komori¹⁰⁾, 山田³¹⁾などのように Alloxan 糖尿病ラットに歯周病発症の局所因子を加えて歯周組織に著明な病変がおきていたならば, 骨の Ca 量は有意な減少を示したものと考える。骨の P 量はやや増加する傾向を示し, 平出⁷⁾の報告のようにやや低下する傾向を示さなかった。一般に Ca 量と P 量の均衡がくずれると石灰化障害をおこすといわれているが, 今回の実験では Ca 量, P 量ともバラツキが多く, その点を明らかにすることができなかった。

以上を総括すると, Alloxan 糖尿病ラットにおいて, 血清, 歯槽骨および大腿骨のクエン酸量は明らかに増加する傾向を示したが, Ca 量と P 量についてはバラツキが多く明らかにすることが出来なかった。今後, 実験の方法や期間を検討し, さらに追試してみたいと考えている。

V. 結 論

Alloxan 投与後 5, 10 および 15 週の糖尿病ラットにお

ける血清, 上下顎歯槽骨および大腿骨のクエン酸量, Ca 量および P 量を測定して対照群と比較検討して, つぎの結果を得た。

1. 血清のクエン酸量は, Alloxan 糖尿病群が対照群よりも各週とも有意に増加する傾向を示したが, Ca 量と P 量は有意な増減傾向を示さなかった。
2. 上下顎歯槽骨および大腿骨のクエン酸は, Alloxan 糖尿病群が対照群よりも各週とも明らかに増加する傾向を示したが, Ca 量と P 量は明らかな増減傾向を示さなかった。
3. 病理組織学的所見では各週の Alloxan 糖尿病群において, 従来いわれているような変化はみられなかった。

終りに臨んで, 終始ご指導とご校閲を頂いた恩師中静正教授に深謝致します。またご指導を頂いた病理学教室亀山洋一郎助教授に感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Dickens, F. : The citric acid content of animal tissues, with reference in bone and tumour, *Biochem. J.*, 35 : 1011-1023, 1941.
- 2) Dixon, T.F. and Perkins, H.R. : Citric acid and bone metabolism, *Biochem. J.*, 52 : 260-265, 1952.
- 3) Dixon, T.F. and Perkins, H.R. : Citric acid and bone ; in *The Biochemistry and Physiology of Bone* (Bourne, G.H., editor), Academic Press Inc., New York, pp. 309-323, 1956.
- 4) Hartles, R.L. : Citrate in mineralized tissues ; in *Advances in Oral Biology* (Staple, P.H., editor), Vol. 1, Academic Press Inc., New York, pp. 225-253, 1964.
- 5) 荒谷真平 : 骨の生化学, 医歯薬出版, 東京, 1960.
- 6) Harrison, H.E. : Factors influencing calcium absorption, *Fed. Proc.*, 18 : 1085-1092, 1959.
- 7) 平出満雄 : 歯周病とクエン酸の関係に関する研究(Ⅲ)日歯周誌, 20 : 114-220, 1978.
- 8) Glickman, I. : The relation of experimental diabetes to periodontal disease, *Am. J. Orth. and Oral Surg.*, 43 : 703-722, 1947.

- 9) 井上靖彦：実験的糖尿犬の歯周組織に及ぼす局所障害の影響について 京都大学口腔外科紀要，2：151-183，1960.
- 10) Komori, A. : Histological studies of the influence of occlusal function on the periodontal tissues of alloxan diabetic rats, Bull. Tokyo Med. Dent. Univ., 11 : 207-235, 1964.
- 11) Tsukamoto, Y., Nakamura, R., Negishi, T., Honjo, K., Tsunemitsu, A. and Matsumura, T. : Citrate metabolism of alveolar bone in alloxan diabetic rats, J. Periodont., 38 : 238-241, 1967.
- 12) Hori, M., Kometani, T., Ueno, H. and Morimoto, H. : A new fluorometric analysis of citric acid, Biochem. Med., 11 : 49-59, 1974.
- 13) Lowry, O.H. and Lopez, J.A. : The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters, J. Biol. Chem., 162 : 421-428, 1946.
- 14) Dixit, P.K. and DeVilliers, Jr.D.C. : Citrate metabolism in diabetes, II Tissue citrate content, citrate synthase and oxidation in alloxan diabetic rat, Metabolism, 16 : 285-293.
- 15) Parmeggiani, A. and Bowman, R.H. : Regulation of phosphofructokinase activity by citrate in normal and diabetic muscle, Biochem. Biophys. Res. Commun., 12 : 268-273, 1963.
- 16) Fange, M. and Lowenstein, J.M. : Citrate and the conversion of carbohydrate into fat, The regulation of fatty acid synthesis by rat liver extracts, Biochem. J., 105 : 803-811, 1967.
- 17) Kuyper, A.C. : The quantitative precipitation of citric acid, J. Biol. Chem., 123 : 405-407, 1938.
- 18) Kuyper, A.C. : The chemistry of bone formation, I. Composition of precipitates formed from salt solutions, J. Biol. Chem., 159 : 411-416, 1945.
- 19) Armstrong, W.D. and Singer, L. : In vitro uptake and exchange of bone citrate, Chiba Foundation Symposium on Bone Structure and Metabolism, p. 103, Churchill Ltd., 1956.
- 20) Freeman, S. : Citrate metabolism with special reference to calcium and bone, in Bone as a Tissue, McGraw-Hill Co., New York, 314-328, 1960.
- 21) 入江通暢：歯胚石灰部の Ca, P およびクエン酸含量について 口病誌，26：1940-1958，1959.
- 22) 原 重信：硬組織の無機質とクエン酸との親和性に関する研究，口病誌，37：47-55，1970.
- 23) 常光 旭：歯槽膿漏症の糖代謝に関する研究，阪大歯誌，4：225-252，1959.
- 24) Tsunemitsu, A. : Blood citrate in severe early destructive periodontal disease, J. Dent. Res., 42 : 783-785, 1963.
- 25) Kilgore, W.G., Mann, Jr. and Wallace, V. : A clinical study of the plasma citrate level as related to diabetes mellitus and alveolar bone loss, J. Periodont. Res., 3 : 30-35, 1967.
- 26) Shapiro, S., Gedalia, I., Hofman, A. and Miller, M. : Periodontal disease and blood citrate levels in patients with trisomy 21, J. Dent. Res., 48 : 1231-1233, 1969.
- 27) Cutress, T.W. and Suckling, G.W. : Periodontal disease and serum citric acid levels in trisomy-21 (mongolism), Archs oral Biol., 14 : 1129-1131, 1969.
- 28) Simon, E., Gedalia, I., Shapiro, S. and Margolin, V. : Citrate content of blood and saliva in relation to periodontal disease in man, Archs oral Biol., 13 : 1243-1247, 1968.
- 29) 中静正, 伊藤振本, 渡辺亮, 高田勇夫, 水野克巳, 横地洋：歯周疾患患者の血中クエン酸値と歯槽骨吸収との関係について，日歯周誌，15：67-72，1973.
- 30) 中静正, 伊藤振本, 渡辺亮, 水野克巳：辺縁性歯周炎における臨床症状と血中クエン酸量との相関関係，愛知学院大歯誌，11：77-81，1974.
- 31) 山田弘文, 渡辺久郎, 水谷公一, 水野孝則, 中静正：実験的 Alloxan 糖尿病における血管透過性について，(2)日歯周誌，18：122-123，1976.