歯周疾患患者歯肉における遊走活性因子について

前田 勝正 砥上 順一 鬼村 晃太郎

上別府 敏之 青野 正男

九州大学歯学部歯科保存学第一教室

(主任：青野正男教授)

(昭和57年6月20日受付)

Chemotactic Activity in Gingival Tissues from Patients with Chronic Periodontal Disease

Katsumasa MAEDA, Junichi TOGAMI, Kotaro ONIMURA,
Toshiyuki KAMIBEPPU and Masao AONO

Department of Periodontics and Endodontics

Faculty of Dentistry, Kyushu University

(Director: Prof. Masao AONO)

The chemotactic factors in the inflamed gingival tissues from severe periodontal patients were identified by the biochemical analysis. Degree of contribution to chemotactic activity of each factor identified in each case was determined by removing one of chemotactic factors and by blocking receptor of cell surface.

The results were as follows:

1) High chemotactic activities to PMN's and macrophages were found in the gingival tissues from severe periodontal patients as compared with clinically healthy tissues.

2) Chemotactic factors were separated from gingival tissues with high chemotactic activities and were analyzed, and it was found that chemotactic activities were generated by IgG-derived factor and by collagen degradation products.

3) As a result of identifying chemotactic factor in each case, high chemotactic activities were found in the factors derived from immunoglobulin, bacteria and collagen degradation products, but it wasn't uniform.

4) As a result of identifying chemotactic factor in each case, high chemotactic activities were found in the factors derived from immunoglobulin, bacteria and collagen degradation products, but it wasn't uniform.

緒言

辺縁性歯周炎患者の付着上皮下結合組織には、多形核白血球、単球、リンパ球、形質細胞等の細胞浸潤が著明に認められるとされている¹⁾。また Page らの一連の研

究²⁾によるとこの細胞浸潤のパターンは、疾患の進展に伴い大きく変移してくることも明らかにされている。

炎症反応の局所に細胞が浸潤してくる細胞遊走 (Chemotaxis) には、この遊走が遊走因子の濃度勾配に沿っておこなわれる運動であるので³⁾、移動局所にはこれらの細胞を誘引する遊走因子の存在が必要である。遊走因子に関する研究は、Boyden らの方法⁴⁾の開発により活発に行なわれている^{5,6)}。炎症性反応を構成する種々の細胞に特異的に作用する遊走因子の報告が数多くなされており、炎症反応の重要な化学伝達物質と考えられてい

本論文の要旨は第69回日本歯科保存学会秋季学会(1978—東京)、第23回秋季日本歯周病学会総会(1980—東京)、第24回春季日本歯周病学会総会(1981—東京)、および第25回春季日本歯周病学会総会シンポジウムII歯周病原性細菌と歯周組織反応(1982—大阪)において発表した。

図1 検体の作製

Chemotactic chamber
(Blind well)

図2 遊走活性の測定法

る⁷⁾。

また関節腔滲出液⁸⁾、眼房水⁹⁾、皮膚疾患¹⁰⁾、実験アルサス反応の皮膚局所¹¹⁾、熱炎症部¹²⁾等の炎症局所における遊走因子の検索が行なわれている。

しかし口腔領域については、歯垢または口腔細菌より遊走因子を分離した報告^{13,14,15)}はなされているが、辺縁性歯周炎の炎症局所に存在する遊走因子の実態については、岡田ら¹⁶⁾、堀田ら¹⁷⁾の報告以外にはみられない。

本研究は、辺縁性歯周炎の局所に存在している遊走因子の分析、同定を行うとともに、個々の症例について、これらの因子が遊走活性の発現にどの程度寄与しているかを総合的に検討し、辺縁性歯周炎の実態を生化学的な一面から明らかにしようとしたものである。

実験材料および方法

1. 検体の作製

遊走因子の検定には、九州大学歯学部附属病院保存科に来院した重症歯周炎患者の外科的処置時に採取した歯肉組織を用いた。図1に示すように、得られた歯肉組織に湿重量比で20倍のHank's balanced salt solution (HBSS)を加え、ice bath中でホモジナイザー (Polytron PCU-2)を用いて粉碎し、4°Cで5000 r.p.m. 20分間遠沈した。得られた上清を0.45 μmのmillipore membraneにて濾過し、遊走因子検定の実験材料とした。

2. 遊走因子の測定

遊走因子の検定には、図2のようなBlind wellを用い、Shydermandら¹⁸⁾の方法に準じて行った。すなわち、種々のpore sizeを有するセルロースアセテート膜を上下2室からなるBlind well chamberの間に挿入し、上室に指示細胞浮遊液を、下室に検体を入れ、CO₂インキュベーター (フォルマ社3185型)にて37°C、90分間培養した後、膜を取り出し、固定、ヘマトキシリン染色し、膜の下面および膜中に遊走した細胞を400倍で検鏡した。10視野算定し、細胞数の平均値で遊走活性を表わした。

なお、単球にはpore size 5 μmのpolycarbonate membrane (Nuclepore Corporation)を使用し、膜の下面に遊走した細胞数を算定した。多形核白血球には、膜への付着能が弱いので、厚さ150 μm、pore size 5 μm及び3 μmのmillipore membrane (Millipore Corporation)を使用し、100 μm以上に遊走した細胞数を算定した。

3. 指示細胞の作製

遊走因子検定のための指示細胞は、ヒト末梢血由来の細胞及びモルモット腹腔浸出細胞を用いた。

i) ヒト末梢血由来の細胞 (図3): ヒト末梢血よりFicoll-hypac法にて分離した。すなわち、健康なヒトの静脈血20 mlを採血し、HBSSにて3倍希釈し、lymphoprep (Nygard社)上に重層し、18~20°Cで1,600 r.p.m. 40分間遠沈した。単球、リンパ球の中間層を採取

図 3 Indicator cell の作製

図 4 Indicator cell の作製

し、HBSS で2回洗浄後、非働化した fetal bovine serum (F.B.S) (Grand Island Biological Company) 20%を含む TC-199 にて $2 \sim 3 \times 10^6$ cells/ml に懸濁した。リンパ球層を除いた後、多形核白血球を採集し HBSS を加え、さらに plasma gel を加えて混和し、室温に60分以上放置し赤血球を沈澱させた。多形核白血球浮遊液を採集し、遠沈、洗浄し、F.B.S. 添加 TC-199 にて $2 \sim 3 \times 10^6$ cells/ml に懸濁した。なお混入している赤血球は、低張食塩水にて溶血した。

ii) モルモット腹腔浸出細胞 (図4): 滅菌し 37°C

に温めた 0.1% oyster glycogen (type II, Sigma 社) 生理食塩水溶液 20 ml を体重約 300 g のモルモットの腹腔内に注入し、3 時間後に腹水を回収し、多形核白血球を採集した。洗浄後、 4×10^6 cells/ml に懸濁した。腹腔内注入 3 日後に単球を採集し、 6×10^6 cells/ml に懸濁した。

4. 遊走因子の分離及び分析

i) 10 数人の重症歯周炎患者の歯肉組織に湿重量比 20 倍の Phosphate buffer saline (P.B.S.) を加え、ホモジナイズを行い、4°C 5,000 r.p.m. 20 分間の遠心上清を

図 5 遊走因子の抑制試験

Sephadex G-200 のカラムにて分画し、溶出した順に fraction 番号を付与して各 fraction における遊走活性を測定した。

ii) 同カラムにてそれぞれの分子量が 2,000,000 の blue dextran, 158,000 の aldolase, 67,000 の ovalbumin, 13,700 の ribonuclease A などを溶出して分子量の算定を行った。また、同カラムにて IgM, IgG 等の溶出を行った。

iii) 構成アミノ酸は、日立アミノ酸自動分析機 (835 型) にて常法に従い測定し、1,000 アミノ酸残基当りの個々のアミノ酸数であらわした。

5. 個々の遊走因子の活性発現率

重症歯周炎患者の歯肉抽出液中の個々の遊走因子の占める割合を検定するため抑制試験を行った。

i) 活性因子に対するヤギ抗体 (Cappel 社) を用いて活性物質を除去し、遊走活性を測定した (図 5)。すなわち、CNBr (Cyanogen Bromide) で活性化した Sephadex 4B (Pharmacia Fine Chemicals) にアルカリ条件下で個々の抗体を結合させ、余剰の抗体を洗い流して作製した Affinity chromatography に歯肉抽出液を流し、溶出した抽出液の遊走活性を測定した。

ii) 指示細胞と遊走活性物質であるコラーゲン分解物や F-Met-Ala (Formyl-Methionyl-Alanine) すなわち細菌由来の因子を 0°C で 30 分間培養し、指示細胞表

図 6 遊走因子の抑制試験

表 1 歯周疾患患者歯肉抽出液の遊走活性

	単 球	多形核白血球
P.B.S.	6.2±2.3	7.7±1.6
歯周疾患患者歯肉抽出液	21.7±1.2	37.2±4.3
健全口腔歯肉抽出液	7.1±3.1	7.9±3.1

面の receptor をコラーゲン分解物や F-Met-Ala 等で block した後、歯肉抽出液に対する遊走活性を測定した (図 6)。

実験結果

1. 遊走因子の量の変動

歯周疾患患者の歯肉抽出液と対照とした健康歯肉抽出液は、それぞれ Phosphate buffer saline (P.B.S) で抽出されたものである。患者歯肉抽出液中にはヒトの単球と多形核白血球を遊走させる因子が多量に存在することがわかった。これらの量的変動を示したのが表 1 である。

2. 遊走因子の分離

数人の重症歯周炎患者歯肉抽出液を Sephadex G-200 カラムにて分画したものが図 7 である。縦軸は 280 nm の optical density, 横軸は溶出量を示している。図 7 (a), (b) に示すように重症歯周炎患者歯肉抽出液を分画するとほぼ同じ溶出パターンを示している。

さらに各分画の遊走活性をヒトおよびモルモットの単

図 7 (a) 歯肉抽出液の Sephadex G-200 による溶出パターン

図 7 (b) 歯肉抽出液の Sephadex G-200 による溶出パターン

表 2 (a) 歯周疾患患者歯肉抽出液分離画分の遊走活性

	(indicator cell:ヒト)	
	単 球	多形核白血球
P.B.S.	5.5± 2.1	10.0± 1.6
Fr - 1	8.7± 2.1	12.0± 2.1
Fr - 2	101.3± 7.8	187.2±22.7
Fr - 3	53.7±21.7	26.0± 2.0
Fr - 4	7.2± 1.6	20.5± 2.2
Fr - 5	23.3± 6.0	84.3±12.7

球や多形核白血球を指示細胞として検定した結果は表 2 のようである。表 2 (a) はヒト由来の細胞を用いたものである。

単球に対する遊走活性は fraction 2, 3 および 5 に認められた。多形核白血球に対しては fraction 2, 5 に認め

表 2 (b) 歯周疾患患者歯肉抽出液分離画分の遊走活性

	(indicator cell:モルモット)	
	単 球	多形核白血球
P.B.S.	1.9±0.4	4.3±1.2
Fr - 1	13.9±0.9	17.3±2.4
Fr - 2'	4.9±0.7	11.9±3.8
Fr - 2	65.7±4.2	38.9±4.1
Fr - 3	25.0±2.3	5.9±2.4
Fr - 4	5.0±0.6	33.7±4.0
Fr - 5	90.4±3.9	77.1±6.5

られた。一方、モルモット由来の細胞を用いた場合は表 2 (b) のようである。単球に対する遊走活性は fraction 2, 3 および 5 に認められ、多形核白血球に対しては fraction 2, 5 に認められた。

図 8 (a) Size Marker の Sephadex G-200 による溶出パターン

図 8 (b) 血清タンパクの Sephadex G-200 による溶出パターン

すなわち、歯周疾患患者歯肉組織より分離した諸種の遊走因子は、ヒトおよびモルモットの白血球に対して同様に遊走活性を有していると考えられる。したがって以後の遊走活性の検定にはモルモット由来の細胞を用いた。

さらに遊走活性を有する画分がいくつある物質を含有しているかを検定するため、Sephadex G-200 のカラムにて分子量の算定や、IgM、IgG などの溶出を行った。その結果、図 8 (a) (b) のように遊走活性を示した fraction 2 画分は IgG の溶出画分とほぼ一致し、分子量約 150,000 であることが判明した。

また遊走活性が強く認められた Sephadex G-200 の高分子画分である fraction 2 について検討を加えたものが表 3 である。すなわち、この画分に抗 IgG 抗体を作用させ IgG を除去した場合、遊走活性の著しい低下が認められた。したがって fraction 2 の遊走活性は IgG 由来の因子にもとづくことが考えられる。

一方、Sephadex G-200 の低分子画分である fraction 5 について検討したものが表 4 である。fraction 5 を再分画するために Ultrafiltration にて濃縮を行った際、濃縮過程で多量の沈澱物が生じた。表 4 に fraction 5 やそ

表 3 遊走因子の抗体による抑制

	単球 (阻止率)	多形核白血球(阻止率)
P.B.S.	5.8±0.7 (%)	7.2± 0.7(%)
Fr - 2		
正常血清	57.7±3.7 (0)	140.8±10.4(0)
抗IgG	10.0±1.6 (82.7)	37.0± 5.3(72.7)
抗IgM	50.3±2.4 (12.8)	120.8± 6.9(14.2)
抗C ₃	55.2±2.7 (4.6)	130.8± 7.8(7.1)

の濃縮上清の遊走活性を示しているが、単球に対しては濃縮後に遊走活性の低下がみられた。

すなわち、単球に対して遊走活性を有する物質のみが濃縮時に沈澱となって除去されたためと推定される。

この沈澱物の構成アミノ酸を分析したのが表 5 である。アミノ酸としてグリシン、アラニンなどが多く認められ、ヒドロキシプロリンが認められることから、コラーゲンの構成成分を含んでいることが考えられる。

表 4 歯周疾患患者歯肉抽出液分離画分の遊走活性

	(indicator cell:モルモット)	
	単 球	多形核白血球
P.B.S.	11.7±0.5	3.0± 3.1
Fr - 5	48.2±3.3	220.2±13.0
Fr - 5濃縮上清	20.0±1.3	230.3±14.5
G -25 (Fr-1)	3.5±0.6	10.5± 2.3
G -25 (Fr-2)	35.7±2.0	261.2±13.3
G -25 (Fr-3)	32.2±2.4	210.5± 3.8

表 5 Sephadex G-200 低分子画分沈澱タンパク質の
アミノ酸組成

(残基数 / 1,000残基)	
ハイドロキシプロリン	18
アスパラギン酸	101
スレオニン	54
セリン	48
グルタミン酸	129
プロリン	45
グリシン	101
アラニン	120
システイン酸	4
バリン	72
イソロイシン	44
ロイシン	84
チロシン	15
フェニルアラニン	32
リジン	62
ヒスチジン	17
アルギニン	50
トリプトファン	4

3. 歯周疾患患者における各々の遊走因子の発現率

現在までに検討を行った重症歯周炎患者 14 名について種々の遊走活性物質の占める割合を示したのが図 9 (a), (b)である。

個々の症例間では遊走活性を発現する因子の割合は抗体由来の因子や細菌由来の因子に活性が大きく認められた。また単球についても同様に抗体由来の因子や細菌由来の因子に活性が多く認められた。

図 9 (a) 歯周疾患患者歯肉抽出液の遊走活性の阻止率 (%)

図 9 (b) 歯周疾患患者歯肉抽出液の遊走活性の阻止率 (%)

考 察

慢性辺縁性歯周炎では、接合上皮はポケット上皮に移行し、深い歯周ポケットを形成している。ポケット上皮は潰瘍を形成し、炎症性細胞の浸潤、毛細血管の拡張などがみられる。また、ポケット上皮下結合組織には、形質細胞が著明にみられ、リンパ球も散在してみられる。しかし、歯周疾患における炎症性細胞の浸潤のメカニズムはまだ十分に解明されていない。

Tempel¹³⁾, Lindhe¹⁴⁾, Hellden¹⁵⁾ らは、dental plaque が多形核白血球や単球を遊走させることを報告してい

る。また Tempel らは、*Actinomyces viscosus* の培養濾液中に白血球遊走因子をみだしている。しかし、辺縁性歯周炎の炎症局所での遊走因子の実態については、岡田ら¹⁶⁾の報告以外はほとんど検索されていない。

本研究では、ポケット上皮下結合組織中の白血球遊走因子（多核白血球および単球に対する）の実態を検討し、遊走因子の分析、同定を行ってみた。

その結果、歯周疾患患者の歯肉抽出液は、多形核白血球および単球に対し高い遊走活性を示し、ポケット上皮下結合組織には、多量の遊走因子の存在が証明された。歯肉抽出液を Sephadex G-200 gel filtration にて分画した結果、分子量約 150,000 の IgG 溶出画分に多形核白血球および単球に対し強い遊走活性がみられた。この画分は、抗 IgG 抗体によって遊走活性が吸収され（多形核白血球では 72.7%，単球では 82.7%），IgG と共通抗原性を示す遊走因子の存在が証明された。一方、抗 IgM 抗体では多形核白血球に 14.2%，単球に 12.8% の吸収があり、抗 C₃ 抗体では、多形核白血球に 7.1%，単球に 4.6% の吸収があった。すなわち、炎症歯肉結合組織の多形核白血球および単球の主たる遊走活性は、IgG 由来の因子によって発現されると考えられる。

Mackler ら¹⁹⁾、木田²⁰⁾は、慢性歯周炎における IgG, IgA, IgM の各免疫グロブリン保有細胞を検討し、主体は IgG で、次いで IgA, IgM は少量しか認められないし、確かに IgG は歯肉結合組織にびまん性に局在し、固有層においては血管周囲に島状にみられると報告している。

歯周炎ポケットの上皮下結合組織中には、種々の炎症性細胞の遊走因子となる前段階物質の免疫グロブリンが多量に存在するが、この免疫グロブリンは、浸潤細胞の 80% を占める形質細胞由来の特異的抗体が考えられるし、また一方、血清由来の免疫グロブリンも考えられる。

局所に侵襲が加わると、血管の透過性が亢進し、少し遅れて白血球の浸潤、集積が起こる。はじめ好中球、次いで単球、リンパ球が浸潤してくる。血管透過性が亢進すると血漿蛋白が滲出する。林ら^{21, 22)}は中性 SH プロテアーゼにより IgG から透過性のペプチドが遊離し、好中球に対する遊走因子 (leucoegresin) が生成すると報告している。また、好中球から遊離したエラスターゼ様セリンプロテアーゼにより、滲出している IgG からマクロファージ遊走因子 (monoegresin) を生成し、中性プロテアーゼにより C₅ からマクロファージ遊走因子を生成させ、さらに、IgG からリンパ球遊走因子も生成する

としている。各炎症性細胞の遊走因子が IgG に由来しており、辺縁性歯周炎の炎症局所に IgG が多量に存在しているという事実は極めて興味深い。

一方、Sephadex G-200 による低分子画分にも高い遊走活性がみられた。炎症局所では、ライソゾーム酵素、活性酸素等の作用により組織タンパクから低分子量ペプチドが生ずると思われるので、今後更に低分子画分における遊走因子の分離、精製を行い検索していきたい。なお、単球に対しては遊走活性がコラーゲン分解物より発現することが推定された。

個々の症例において、抑制試験により種々の遊走因子の占める割合を検討した結果、慢性辺縁性歯周炎の炎症局所には種々の遊走因子が存在することが判明した。

一般に、遊走因子は炎症細胞を炎症局所に遊走させるだけでなく、局所に遊走した細胞を活性化するといわれている。活性化をうける反応としては、cell aggregation, 細胞内 C-GMP の上昇, microtubule や microfilament の assembly による運動性の上昇²³⁾、ライソゾーム酵素の放出や superoxide anion 産生の増加^{24, 25)}などがある。これらの活性のうち、ライソゾーム酵素や superoxide anion は bacteria cell に対して殺菌的に作用するだけでなく、種々の生体構成成分に対して破壊的作用を及ぼすことが知られている²⁶⁾。一方、白血球に defect がある場合、歯周炎等の感染疾患が progressive に進行することが報告されている。このことは、白血球の遊走により感染から生体を防衛していることを物語っている²⁷⁾。しかし、慢性辺縁性歯周炎の場合のように、慢性的に多量に遊走因子が存在すれば、以上のような生体に障害を及ぼす作用も活性化されると考えられる。今後、歯周炎の炎症局所に多量に存在する遊走因子が、歯周病発症の機序とどのように関係しているかを明らかにすることが重要な課題となると考えられる。

結 論

重症辺縁性歯周炎患者の炎症性歯肉組織に存在する遊走因子を生化学的に分析し、同定した。また個々の症例において同定した因子が遊走活性の発現に寄与する割合を、遊走因子を除去する方法や細胞表面の receptor を block する方法により検討し以下の知見を得た。

1) 重症辺縁性歯周炎患者の歯肉組織には正常人と比べて、多形核白血球、単球に対する遊走活性因子が多量に存在した。

2) 遊走活性の強く認められる歯肉組織から活性因子

を分離し、化学的分析を行ったところ遊走活性が IgG 由来の因子やコラーゲン分解物により発現されていることが判明した。

3) 個々の症例において、遊走因子の活性発現における割合を検討したところ、抗体由来の因子や細菌由来の因子やコラーゲン分解物に強い活性が認められたが画一的な結果ではなかった。

以上のように辺縁性歯周炎局所には、外来性の細菌由来の遊走因子のほかにも生体由来の遊走因子が多量に存在しており、歯周疾患の病態と深くかかわりあっていると考えられる。

本研究の一部は、青野正男教授 (548313)、前田勝正講師 (57759) に対する文部省科学研究費の補助によった。

文 献

- 1) Schluger, S., Yuodelis, R.A. and Page, R.C. (ed.): *Periodontal Disease; Basic phenomena, clinical management and occlusal and restorative interrelationships*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1977, 167-195.
- 2) Page, R.C. and Schroeder, H.E.: Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.*, 33: 235-249, 1976.
- 3) Zigmond, S.H.: Mechanisms of sensing chemical gradients by polymorphonuclear leukocytes. *Nature*, 249: 450, 1974.
- 4) Boyden, S.: The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. *J. Exp. Med.*, 115: 453-466, 1962.
- 5) Yoshinaga, M., Yoshida, K., Tashiro, A. and Hayashi, H.: The natural mediator for PMN emigration in inflammation. I. Purification and characterization of leucoegresin from Arthus skin site. *Immunology*, 21: 281-298, 1971.
- 6) Ward, P.A. and Newman, L.J.: A neutrophil chemotactic factor from human C₅. *J. Immunol.*, 102: 93-99, 1969.
- 7) 林 秀男: 炎症における natural mediator の研究とその方向, 山村雄一, 林 秀男, 炎症学叢書 2, 炎症の chemical mediator, 医学書院, 東京, 1976, 1-9.
- 8) Ward, P.A. and Zvaifler, N.J.: Complement-derived leukotactic factors in inflammatory synovial fluids of humans. *J. Clin. Invest.*, 50: 606-616, 1971.
- 9) Sher, N.A., Foon, K.A., Fishman, M.L. and Brown, T.M.: Demonstration of macrophage chemotactic factors in the aqueous humor during experimental immunogenic uveitis in rabbits. *Infect. Immun.*, 13: 1110-1116, 1976.
- 10) Diaz-Perez, J.L. and Jordon, R.E.: The complement system in blister fluid, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 5: 360-370, 1976.
- 11) Ward, P.A. and Hill, J.H.: Biologic role of complement products. Complement-derived leukotactic activity extractable from lesions of immunologic vasculitis. *J. Immunol.*, 108: 1137-1145, 1972.
- 12) Maeda, S., Yoshinaga, M. and Hayashi, H.: The natural mediator for PMN emigration in inflammation. VII. Characterization of a chemotactic factor (leucoegresin) for polymorphonuclear leucocytes from thermal skin site. *Virchows Arch. B. Cell Path.*, 19: 37-49, 1975.
- 13) Tempel, T.R., Snyderman, R., Jorden, H.V. and Mergenhagen, S.E.: Factors from saliva and oral bacteria chemotactic for polymorphonuclear leukocytes; Their possible role in gingival inflammation. *J. Periodont.*, 41: 71-79, 1970.
- 14) Lindhe, J. and Hellden, L.: Neutrophil chemotactic activity elaborated by human dental plaque. *J. Period. Res.*, 7: 297-303, 1972.
- 15) Helldén, L.: Monocyte chemotactic activity in human dental plaque. *J. Period. Res.*, 12: 30-36, 1977.
- 16) Okada, H. and Silverman, M.S.: Chemotactic activity in periodontal disease. I: The role of complement on monocyte chemotaxis. *J. Period. Res.*, 14: 20-25, 1979. II: The generation of complement-derived chemotactic factors. *J. Period. Res.*, 14: 147-152, 1979.
- 17) 堀田裕児, 日高雄一, 岡田 宏, 青野正男: 歯周病患者における chemotactic factor について. I

- 歯周ポケットの深さと chemotactic activity. 日本歯周病学会会誌, 19: 18-23, 1977.
- 18) Snyderman, R., Altman, L.C., Hausman, M.S. and Mergenhausen, S.E.: Human mononuclear leukocyte chemotaxis; A quantitative assay for humoral and cellular chemotactic factors. *J. Immunol.*, 108: 857-860, 1972.
 - 19) Mackler, B.F., Frostad, K.B., Robertson, P.B. and Levy, B.M.: Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. *J. Period. Res.*, 12: 37-45, 1977.
 - 20) 木田友信: 歯周炎患者における免疫担当細胞の検索, T リンパ球, B リンパ球, Fc レセプター保有細胞について, 日本歯周病学会会誌, 24: 84-105, 1982.
 - 21) 林 秀男, 西浦征志: 炎症性多核球遊走因子. 山村雄一, 林 秀男. 炎症学叢書 2, 炎症の chemical mediator, 医学書院, 東京, 1976, 120-132.
 - 22) 林 秀男: 炎症反応の動態と合理性, 水野伝一, 武谷健二, 石田名香雄, 生体防御の機構. 東京大学出版会, 東京, 1980, 95-113.
 - 23) 山本俊輔, 本田三男: 走化性の発動機構, 水上茂樹, 柿沼カツ子, 白血球と食作用, 講談社, 東京, 1979, 39-46.
 - 24) Simchowitz, L., Methhta, J. and Spilberg, I.: Chemotactic factor-induced generation of superoxide radicals by human neutrophils. *Arthritis Rheum.*, 22 (7): 755-763, 1979.
 - 25) Bokoch, G.M. and Reed, P.W.: Inhibition of the neutrophil oxidative response to a chemotactic peptide by inhibitors of arachidonic acid oxygenation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 90 (2): 481-487, 1979.
 - 26) 大柳善彦: スーパーオキシドと医学, 初版, 共立出版, 東京, 1981, 119-114.
 - 27) Lavine, W.S., Maderazo, E.G., Stolman, J., Ward, P.A., Cogen, R.B., Greenblatt, I. and Robertson P.B.: Impaired neutrophil chemotaxis in patients with juvenile and rapidly progressing periodontitis. *J. Periodontal Res.*, 14: 10-19, 1979.