歯周病関連細菌由来 LPS と IL-1 が培養線維芽細胞の コラーゲン産生におよぼす影響について

久保 浩 二 上 稻 葉 隆 神 田 千恵子
岡 本 博 之 瀬 戸 康 博 長 野 恭 子
末 田 武

鹿児島大学歯学部歯科保存学講座 (2)

(主任：末田 武教授)

(平成4年8月3日受付)

Effects of Lipopolysaccharide from Periodontopathic Bacteria and Interleukin-1 on Collagen Synthesis in Cultured Human Fibroblasts

Kohji KUBO, Takashi KAMIINABA, Chieko KANDA,
Hiroyuki OKAMOTO, Yasuhiro SETO, Kyoko NAGANO
and Takeshi SUEDA

Department of Periodontology, Kagoshima University School of Dentistry

8-35-1, Sakuragaoka, Kagoshima 890, Japan

(Head : Prof. Takeshi SUEDA)

We studied the effects of lipopolysaccharide (LPS) from *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* and *Prevotella (Bacteroides) intermedia*, and interleukin-1 (IL-1) on production of collagen in cultured human fibroblasts. Fibroblasts were obtained from healthy gingiva, inflamed gingiva and healthy periodontal ligament. After the cells had reached confluence, they were incubated with LPS (final concentration : 10 $\mu\text{g/ml}$) or IL-1 (final concentration : 0.5, 5 $\mu\text{g/ml}$) or LPS (10 $\mu\text{g/ml}$) + IL-1 (0.5,

5 $\mu\text{g/ml}$) for up to 48 hours. Collagen levels in culture media were measured using Procollagen type IC-Peptid EIA Kit. Collagen levels were increased by stimulation with LPS or IL-1. Collagen levels were greatly increased by stimulation with LPS+IL-1 as compared to those of stimulated by LPS or IL-1 alone. From these findings, it is suggested that LPS and/or IL-1 may promote collagen synthesis of fibroblasts in periodontal tissue *in vivo*.

Key words : LPS, Interleukin-1, Collagen, Fibroblasts

要旨 : *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* 381, *Prevotella (Bacteroides) intermedia* ATCC 25611, 歯周炎患者の口腔内より採取, 培養した *Porphyromonas gingivalis* wild type の lipopolysaccharide (LPS) とインターロイキン-1 (IL-1) がヒト培養線維芽細胞のコラーゲン代謝にどのような影響をおよぼすのかを知るために本研究を行なった。線維芽細胞を健康歯肉および炎症歯肉, 健康歯根膜から分離, 培養した後, LPS あるいは IL-1, LPS と IL-1 と共に 48 時間培養し, 培養上清中のコラーゲン量をプロコラーゲンタイプ I 測定キットにて測定した。培養線維芽細胞は LPS あるいは IL-1 の刺激にてコラーゲンを多く産生することがわかった。またその効果は LPS あるいは IL-1 単独刺激より LPS と IL-1 との同時刺激の方が, より増加することがわかった。

索引用語 : LPS, インターロイキン-1, コラーゲン, 線維芽細胞

緒 言

プラークは歯周疾患の重要な病因で、その中の細菌のさまざまな因子が、直接的あるいは間接的に組織傷害をもたらしている¹⁾。歯肉縁下プラークから検出される細菌は、大部分がグラム陰性菌である。そのグラム陰性菌の外膜に存在している lipopolysaccharide (LPS) はリポ多糖体で、歯周炎に罹患している上皮組織中または歯肉組織中に検出されている²⁾。LPS の生物学的活性は多様で、線維芽細胞あるいは多形核白血球などからサイトカインであるインターロイキン-1 (IL-1) 産生を誘導する³⁾。

IL-1 は骨吸収作用、T 細胞活性化作用、コラーゲン産生促進作用などの作用を有し、歯周炎発症に関与している。また、IL-1 は健康歯周組織中に比べ、炎症歯周組織中からより多く検出されている⁴⁾。

コラーゲンは、歯周組織のフィブロネクチン、ラミニン等とともに細胞骨格を形成している蛋白で、おもに線維芽細胞にて産生される⁵⁾。炎症歯肉においてはコラーゲンが減少していることが報告されている⁶⁾。

このように歯周炎に罹患した歯周組織内では、さまざまな刺激が、線維芽細胞あるいは多形核白血球、内皮細胞などの宿主細胞に及んでいると考えられる。これらのすべての刺激に対する宿主細胞の反応を見ることは不可能である。また、刺激は単独では働いておらず、いくつもの刺激が複雑に組み合わせられて働いていると考えられる。これまで我々は、歯周組織由来線維芽細胞の細胞骨格と歯周病関連細菌産生物との関係を検討し、LPS あるいは IL-1 刺激による歯周組織由来線維芽細胞のフィブロネクチン代謝変化、LPS 刺激によるコラーゲン代謝変化について報告してきた⁷⁻¹⁰⁾。そこで今回我々は、歯周炎に罹患した部位と健康部位から得られた線維芽細胞を対象とし、刺激因子として LPS とサイトカインである IL-1 α , β を用い、線維芽細胞のコラーゲン産生におよぼす影響を調べることを目的として本研究を行なった。

材料と方法

1. 線維芽細胞の採取および培養方法

臨床的に健康な歯周組織を有している 2 人の成人 (20 代) (以下それぞれ A, B とする) の辺縁歯肉と咬合機能を営んでいる第 3 大臼歯の歯根膜組織からヒ

ト歯肉由来および歯根膜由来線維芽細胞を、歯周炎に罹患している 1 人の成人 (20 代) の辺縁歯肉からヒト炎症歯肉由来線維芽細胞を分離、培養した。すなわち組織片を 1,000 U/ml ペニシリン G カリウム (和光純薬, 東京), 1,250 μ g/ml ストレプトマイシン硫酸塩 (和光純薬), 50 μ g/ml アンホテリシン B (半井, 京都) を含んだ Dulbecco's Modified Eagle Medium (ニッスイ, 東京) (以後 DMEM とする) にて数回洗浄し、直径 36 mm 細胞培養クラスターディッシュ (Costar, Virginia, USA) 上で約 1 mm³ の大きさに細断した。得られた細片をディッシュの底面に圧接し、10% ウシ胎仔血清 (FBS) (Flow Laboratories, North Ryde, Australia), 100 U/ml ペニシリン G カリウム, 125 μ g/ml ストレプトマイシン硫酸塩, 57 μ g/ml アスコルビン酸ナトリウム (半井), 600 μ g/ml L-グルタミン酸 (半井) を含んだ DMEM にて 5% CO₂, 37°C の条件下で confluent になるまで培養した。その後、0.25% トリプシン (阪大微生物病研究会, 大阪) 5 分間の処理にて細胞を剥し、9.4 cm² プラスティックディッシュ (Corning, 東京) 上で培養し、7 ないし 8 代目の細胞を以下に示す実験に使用した。

2. 使用菌種および LPS 調製

Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis 381 と *Prevotella (Bacteroides) intermedia* ATCC 25611, さらに歯周炎患者より分離した *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* wild type を使用菌株とした。これらの細菌を GAM ブイヨン (ニッスイ) に接種した後、嫌気培養装置 (Forma, Ohio, USA) にて 80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂ の条件下で 37°C で培養した。培養 48 時間後に、これらの菌を 12,000 × g で 20 分間遠心し沈澱物を注射用蒸留水 (以後蒸留水とする) で遠心洗浄し沈澱物を凍結乾燥した。

Westphal ら¹¹⁾の方法に準じ、この乾燥菌体から LPS の抽出を行った。すなわち乾燥菌体 10 g に対し予め 68°C に加温しておいた蒸留水 170 ml と 90% フェノール 170 ml を加え 20 分間攪拌処理した。それを 4°C に冷却し、7,000 × g で 20 分間遠心処理し、フェノール画分と水画分とに分離されたものから水層を分取した。残りのフェノール層に蒸留水を加え同様の操作を行い、予め採取した水層と合わせ、水層に含まれるフェノールを除去するために 4°C で水に対し透析した。透析後凍結乾燥し、この粗標品が 3% になる

ように蒸留水に懸濁し 100,000×g で 3 時間遠心した。沈澱物を蒸留水に懸濁し、さらに 100,000×g で 3 時間遠心を行った。上記のようにして得られた沈澱物を 1g に対し 150 ml の蒸留水に懸濁し、2% セタブロン (半井) を 15 ml の割合で加え室温で 15 分間攪拌した後 1,700×g, 20 分間の遠心にて核酸を除去した。上清を凍結乾燥し、この標品が 0.5% の割合になるように 0.5 M NaCl に懸濁した後、総量に対して 10 倍量のエタノールを加えて 2 時間 4°C の氷室中に放置した。4,500×g, 4°C, 20 分間の遠心処理にて得られた沈澱物を蒸留水に再懸濁し、これを蒸留水に対し 2 日間透析を行った。透析後凍結乾燥を行い、これを精製 LPS 標品として実験に供した。

3. LPS および IL-1 の刺激

9.4 cm² プラスティックディッシュ上の 5 種類の細胞を 0.25% トリプシン 5 分間の処理にて剥し、各細胞懸濁液 2.5 ml を直径 22.6 mm 細胞培養クラスターディッシュ (Costar) に播種し、DMEM (含 10% FBS) を用い confluent になるまで培養した後、培養液を無血清の DMEM 培地に交換し 24 時間培養した。その後、各 LPS (10 µg/ml), recombinant IL-1 α を 0.5 µg/ml, 5 µg/ml 含むもの、recombinant IL-1 β を 0.5 µg/ml, 5 µg/ml 含むもの、各 LPS (10 µg/ml) + IL-1 α (0.5 µg/ml), 各 LPS (10 µg/ml) + IL-1 α (5 µg/ml), 各 LPS (10 µg/ml) + IL-1 β (0.5 µg/ml), 各 LPS (10 µg/ml) + IL-1 β (5 µg/ml) の 19 種類の刺激物をそれぞれ含む無血清の DMEM 0.5 ml にてさらに培養を行った。培養 48 時間目に培養上清を採取し、コラーゲンの測定まで -20°C で保存した。一方、培養上清採取後の細胞を PBS (-) にて数回洗浄した後、細胞タンパク量を BCA protein assay kit (フナコシ, 東京) にて測定した。

4. コラーゲンの測定

コラーゲンの測定は、プロコラーゲン I 型 C 末端ペプチドに反応する Procollagen Type I C-peptide 測定キット (宝酒造, 京都) にて測定した。

固相抗体液 200 µl を各ウェルに加え 4°C にて一晚反応した後、PBS にて 3 回洗浄し、ブロッキング液を 200 µl 加え、37°C にて 2 時間放置した。その後ウェルを 3 回洗浄し、採取した培養上清を 1/10 に希釈した溶液 20 µl と酵素標識抗体液 100 µl を各ウェルに加え、室温にて 2 時間反応させた。各ウェルを 4 回洗浄後、基質液 100 µl を加え 15 分間室温で反応さ

せ、反応停止液を 100 µl 加え、マイクロプレートリーダー: A4 (トーソー, 東京) を用い測定波長 492 nm で吸光度を測定し、被検材料のコラーゲン量を求め、細胞タンパク量にて補正し、コラーゲン産生量を ng/µg protein にて表した。

5. 統計処理

測定はすべて 3 通り行ない、平均と標準誤差を求めた。

統計処理は、無刺激のコラーゲン産生量 (以下 basal level とする) と各刺激による産生量との間の有意差を Mann-Whitney 検定にて求め、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

1. 健康歯肉由来線維芽細胞 (A, B) について (図 1~3)

A では各種刺激によりコラーゲン産生が basal level に比べ著しく促進されたが ($p < 0.05$), B では *P. gingivalis* の LPS, IL-1 α (0.5 µg/ml), IL-1 β (0.5 µg/ml), *P. intermedia* の LPS + IL-1 α (0.5 µg/ml) 刺激により促進された ($p < 0.05$)。また刺激別に見てみると、A では各種 LPS 単独刺激より IL-1 単独刺激の方が若干ではあるが産生を促進した。IL-1 単独刺激あるいは LPS 単独刺激より IL-1 と各種 LPS との同時刺激により高いコラーゲン産生量を示した。B では LPS 単独刺激、IL-1 単独刺激あるいは LPS と IL-1 の同時刺激によるコラーゲン産生量に違いは見られなかった。

2. 健康歯根膜由来線維芽細胞 (A, B) について (図 4~6)

両方 (A, B) とともに、各種刺激によりコラーゲンの産生が basal level に比べ促進された ($p < 0.05$)。刺激別に見てみると、A では、*P. intermedia* あるいは *P. gingivalis* wild type の LPS 単独刺激より、これらの LPS に IL-1 を加えた同時刺激の方がよりコラーゲン産生が促進された。B では LPS 単独刺激、IL-1 単独刺激あるいは LPS と IL-1 の同時刺激によるコラーゲン産生量に違いは見られなかった。

3. 炎症歯肉由来線維芽細胞について (図 7~9)

すべての刺激により、コラーゲン産生が basal level に比べ促進した ($p < 0.05$)。刺激別に見てみると、*P. gingivalis* あるいは *P. intermedia* の LPS 単独刺激より、これらの LPS に IL-1 を加えた同時刺激のコ

図 1 *P. gingivalis* 381 の LPS, IL-1 刺激による健康歯肉由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図 2 *P. intermedia* ATCC 25611 の LPS, IL-1 刺激による健康歯肉由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図3 *P. gingivalis* wild type の LPS, IL-1 刺激による健康歯肉由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図4 *P. gingivalis* 381 の LPS, IL-1 刺激による健康歯根膜由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図5 *P. intermedia* ATCC 25611 の LPS, IL-1 刺激による健康歯根膜由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図6 *P. gingivalis* wild type の LPS, IL-1 刺激による健康歯根膜由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図7 *P. gingivalis* 381 の LPS, IL-1 刺激による炎症歯肉由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図8 *P. intermedia* ATCC 25611 の LPS, IL-1 刺激による炎症歯肉由来線維芽細胞のコラーゲン産生量
(mean±SEM) *: $p < 0.05$

図9 *P. gingivalis* wild type の LPS, IL-1 刺激による炎症歯肉由来線維芽細胞のコラーゲン産生量 (mean±SEM) *: $p < 0.05$

ラーゲン産生量の方が若干ではあるが多くの産生量を示した。一方, *P. gingivalis* wild type の LPS 単独刺激によるコラーゲン産生量は, IL-1 単独刺激より多くの産生量を示した。

4. 各線維芽細胞の basal level の比較

使用した線維芽細胞の basal level (図1~9) は, 健康歯肉由来線維芽細胞 A: 2.16 ± 0.03 (ng/μg protein), B: 14.30 ± 0.95 (ng/μg protein), 健康歯根膜由来線維芽細胞 A: 17.99 ± 0.27 (ng/μg protein), B: 14.19 ± 0.34 (ng/μg protein), 炎症歯肉由来線維芽細胞 8.20 ± 0.11 (ng/μg protein) で, 歯根膜由来線維芽細胞が最も多くのコラーゲン産生を示した。

考 察

歯周炎発症には, プラークが関与している¹²⁾。このプラーク中には主に嫌気性細菌が生育している。この細菌が歯肉溝, あるいは上皮組織より侵入し結合組織, 歯根膜組織, 骨組織のさまざまな細胞に影響をおよぼし歯周炎を起こしている¹³⁾。歯周ポケットから検出される嫌気性細菌はおもにグラム陰性菌である。グラム陰性菌は, 細胞外膜に糖, 脂肪酸から成るリポ多糖である LPS を備えている。LPS はさまざま生物活

性を有し, 歯周炎発症に関与している¹⁴⁾。

我々は, これまでに線維芽細胞の細胞骨格と LPS との関係について検討してきた⁷⁻¹⁰⁾が, 生体内では LPS だけでなく他の factor が複雑に関与していると思われる。これらの現象を1つ1つ解明するために, 今回 LPS とサイトカインである IL-1 α , β を用い本実験を行った。

線維芽細胞が産する IL-1 と LPS との関係については高田ら¹⁵⁾の報告がある。今回使用した LPS による線維芽細胞からの IL-1 産生は見られなかった¹⁰⁾。このことにより我々は, IL-1 の影響を直接的に検討することができた。

コラーゲンは, 歯周組織の主に線維芽細胞により産生される。線維芽細胞はコラーゲンを合成する以外にコラーゲンを分解するコラゲナーゼを合成することが報告されている^{16,17)}。線維芽細胞に LPS を作用させ, コラーゲンの変化を検討した報告は数多く出されている。それによると, LPS 刺激によりコラーゲン産生が抑制されたとする報告¹⁸⁾や, 促進されたとする報告¹⁹⁾があり, 未だに未解決のままである。今回, 我々はコラーゲンタイプ I を測定できる Procollagen Type I C-peptid 測定キットを用いてコラーゲン産生量を測定した。健康歯肉由来線維芽細胞, 健康歯根

膜由来線維芽細胞および炎症歯肉由来線維芽細胞において LPS あるいは IL-1 α , β 刺激によって, 無刺激の basal level よりコラーゲン産生量が促進された。最も多くのコラーゲン産生量を示したのは, 歯根膜由来線維芽細胞であった。これは歯根膜由来線維芽細胞の代謝活性が, 歯肉由来線維芽細胞より高いことを示唆している²⁰⁾。

健康歯肉由来線維芽細胞および健康歯根膜由来線維芽細胞の各種刺激によるコラーゲン産生促進の割合は, A 由来線維芽細胞では LPS 単独刺激あるいは IL-1 単独刺激より IL-1 に LPS を加えた同時刺激により増加した。B 由来線維芽細胞では, LPS 単独刺激, IL-1 単独刺激と LPS と IL-1 との同時刺激ともに同程度の増加がみられた。これは, LPS および IL-1 により線維芽細胞が活性化され, その結果コラーゲン産生が促進したと思われる。A 由来線維芽細胞での変化は LPS と IL-1 との作用が相乗的に働いたものと想像できる。このように同じ線維芽細胞でもコラーゲン産生に対する活性が違うのは, 人による個体差があるものと思われる。

炎症歯肉由来線維芽細胞でのコラーゲン産生促進の割合は, 健康歯肉由来線維芽細胞より低く, 刺激に対する細胞の活性が低いことが示唆された。

LPS と IL-1 によりコラーゲン産生が促進した結果を組織破壊のメカニズムにあてはめて考察すると, 組織破壊が発生するためには, 線維芽細胞の細胞骨格の減形成が起こらなければならない。細胞骨格の減形成を促す因子は, LPS あるいは IL-1 ではなく, 多形核白血球, 細菌, 単球の産するプロテアーゼおよびコラゲナーゼなどの酵素によるものと思われる²¹⁾。また, 線維芽細胞の細胞骨格は, 酵素による減形成と LPS あるいは IL-1 による細胞骨格の形成が同時に起こっており, 減形成が増した時に組織破壊が起こるものと思われる。

今後, 線維芽細胞の細胞骨格の変化について, 多形核白血球, 細菌あるいは単球の産する酵素による影響について検討を行う必要があると思われる。

結 論

2 人の成人より得られた健康歯肉由来線維芽細胞, 健康歯根膜由来線維芽細胞と 1 人の成人から得られた炎症歯肉由来線維芽細胞を培養し, これらの細胞に LPS, IL-1 (α , β), LPS+IL-1 (α , β) の直接刺

激を加え, コラーゲン産生への影響に関して検討を加えた。その結果以下のことが判明した。

1. 健康歯肉由来線維芽細胞, 健康歯根膜由来線維芽細胞および炎症歯肉由来線維芽細胞において, 各刺激によりコラーゲン産生が促進された。
2. 由来の違う健康歯肉由来線維芽細胞では, 刺激に対する細胞の反応が違っていた。
3. 炎症歯肉由来線維芽細胞は, 刺激に対する反応性が健康歯肉由来線維芽細胞より低かった。
4. LPS 単独あるいは IL-1 単独刺激より, LPS と IL-1 との同時刺激の方が, 細胞に影響を与えた。
5. 歯肉由来線維芽細胞より歯根膜由来線維芽細胞の方がコラーゲン産生量が多かった。

本研究の一部は, 平成 2 年度科学研究費補助金 (一般研究 B) (課題番号 02454441) の補助をうけて行なわれたことを付記する。

文 献

- 1) Lindhe, J. and Axelson, P.: The effect of controlled oral hygiene and topical fluoride application on caries and gingivitis in Swedish schoolchildren. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 1: 9-16, 1973.
- 2) Shapiro, L., Ladario, F.M., Courant, P.R. and Stalard, R.E.: Endotoxin dertermination in gingival inflammation. *J. Periodontol.*, 43: 591-596, 1972.
- 3) 高田春比古: LPS と合成リピド A. *歯科ジャーナル*, 31: 947-953, 1990.
- 4) 鎌形有祐, 宮坂信之, 井上裕子, 橋本純子, 飯田正人: ヒト歯周炎組織から産生されるサイトカインの検討—特にインターロイキン (IL-1 α , β) と腫瘍壊死因子 (TNF α) について—. *日歯周誌*, 31: 843-848, 1989.
- 5) 久保浩二, 末田 武: 歯根膜由来線維芽細胞の付着および増殖機構について. *歯科ジャーナル*, 36, 195-204, 1992.
- 6) Schroeder, H.E., Munzel-Pedrazzoli, S. and Page, P.C.: Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Archs. Oral. Biol.*, 18: 899-923, 1973.
- 7) 田方義弘: 歯周病原菌由来毒素によるヒト培養歯肉線維芽細胞のコラーゲン代謝に対する影響について. *日歯周誌*, 31: 755-772, 1989.
- 8) 久保浩二: 歯周病原菌由来毒素のヒト培養線維芽細胞のフィブロネクチン代謝に対する影響について. *日歯周誌*, 33: 492-507, 1991.
- 9) 久保浩二, 田方義弘, 黒木清志, 壱岐晃一, 平岡孝志, 末田 武: LPS および LPS 刺激単球培養上清によるヒト培養線維芽細胞のコラーゲン合成の抑制

について. 日歯周誌, 34 : 470-478, 1992.

- 10) 久保浩二, 瀬戸口尚志, 松山孝司, 小野智則, 谷口拓郎, 和泉雄一, 末田 武 : 歯周病関連菌由来 LPS と IL-1 が培養線維芽細胞のフィブロネクチン産生に及ぼす影響について. 日歯周誌, 34 : 654-664, 1992.
- 11) Westphal, O. and Jann, K. : Bacterial lipopolysaccharides extraction with phenol-water and further application of the procedure. Methods Carbohydr. Chem., 5 : 83-91, 1965.
- 12) Greenstein, G. and Polson, A. : Microscopic monitoring of pathogens associated with periodontal diseases, a review. J. Periodontol., 56 : 740-747, 1985.
- 13) Tanner, A.C.R., Socransky, S.S. and Goodson, J. M. : Microbiota of periodontal pockets losing crestal alveolar bone. J. Periodont. Res., 19 : 279-291, 1984.
- 14) Schench, K., Helgeland, K. and Tollefsen, T. : Antibodies against lipopolysaccharide from *Bacteroides gingivalis* before and after periodontal treatment. Scand. J. Dent. Res., 95 : 112-118, 1987.
- 15) Takada, H., Mihara, J., Morisaki, I. and Hamada, S. : Induction of interleukin-1 and -6 in human gingival fibroblasts cultures stimulated with *Bacteroides lipopolysaccharide*. Infect. Immun., 59 : 259-301, 1991.
- 16) Yanagimura, M., Hara, K. and Nohara, H. : Collagenase activities in healthy and inflamed gingiva of dogs. J. Periodont. Res., 18 : 1-10, 1983.
- 17) Yajima, T. and Rose, G.G. : Phagocytosis of collagen by human gingival fibroblasts in vitro. J. Dent. Res., 56 : 1271-1277, 1977.
- 18) Singer, R.E. and Dutton, W.G., : A comparison of effects of endotoxin upon fibroblasts proliferation and macromolecular syntheses. J. Dent. Res., 58 : 1634-1639, 1979.
- 19) Aleo, J.J. : Stimulation of macromolecular synthesis by endotoxintreated 3T6 fibroblasts. Experientia., 36 : 546-547, 1980.
- 20) 下野正基, 山村武夫, 井上 孝 : 歯根膜の構造と機能. 日本歯科医師会雑誌, 39 : 808-818, 1986.
- 21) Page, R.C. : The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. J. Periodont. Res., 26 : 230-242, 1991.

連絡先 :

鹿児島大学歯学部歯科保存学講座 (2)

〒 890 鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1