ハイブリッド修復材に対する *Porphyromonas gingivalis* の 付着に関する検討

渡辺和志*¹ 東 高史*¹ 西田栄昭*¹ 星原英吉*¹
大塚秀春*¹ 辰巳順一*¹ 申 基喆*¹ 下島孝裕*²
菊地寛高*³ 花澤重正*³ 山賀谷一郎*⁴
中 嵐 裕*⁴ 宮田 隆*¹

*¹明海大学歯学部歯周病学講座

*²歯科臨床研究所・クリニカルリサーチセンター

*³口腔微生物学講座

*⁴歯科材料学講座

(1999年7月10日受理)

Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* to Hybrid Restorative Materials

Kazuyuki Watanabe*¹, Takashi Azuma*¹, Hideaki Nishida*¹, Eiyoshi Hoshihara*¹,
Hideharu Ohtsuka*¹, Junichi Tatsumi*¹, Kitetsu Shin*¹, Takahiro Shimojima*²,
Iirotaka Kikuchi*³, Shigemasa Hanazawa*³, Taniichirou Yamaga*⁴,
Hiroshi Nakajima*⁴ and Takashi Miyata*¹

*¹Departments of Periodontology, *²Post Doctoral Institute of Clinical Dentistry・Clinical Research Center,

*³Oral Microbiology and *⁴Dental Materials Science, Meikai University School of Dentistry

Accepted for publication 10 July 1999

Some highly filler-filled resin composite materials have been developed as new hybrid restorative and prosthetic materials: These materials have good physical and mechanical properties and color revivability and have been used clinically. However, the periodontopathology of bacterial adhesion to the surface of these materials is still unknown. The purpose of the present study was to evaluate the difference in adhesion of *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) to these hybrid materials in GAM medium. Three different types of hybrid materials (Estenia®, Artglass® and Conquest™) were examined and a self-cured acrylic resin (RTPR) and a 20 sm gold alloy cast the controls. *P. gingivalis* was used in the bacterial adhesive examination and the human-monocyte cell line THP-1 was used for the cytotoxic test. Each material surface was polished according to clinically established procedures. Then the surface roughness value (Ra) for each material was measured. The results of the roughness tests showed that the 20 k gold alloy and all the hybrid materials had much smoother surfaces than the RTPR material. Adhered *P. gingivalis* increased with the increase in the roughness of the material's surface. Cell cytotoxicity was not observed. Do you mean "was not observed in any..." Then say "None of the experimental or control materials showed cell cytotoxic" the experimental or control materials. These results suggest that hybrid materials could have less bacterial adhesion in GAM medium. The hybrid materials tested may be acceptable materials for clinical dentistry, and can maintain healthy periodontal tissue. J. Jpn. Soc. Periodontol., 41: 295~301, 1999.

Key words: *Porphyromonas gingivalis*, hybrid restorative materials, bacterial adhesion, surface roughness, THP-1 cells

要旨: 近年, 優れた物性と色調再現性をその主たる特徴とするハイブリッド修復材料が開発され臨床応用されてきているが, 歯周病原性細菌の易付着性という見地からの評価は十分なされていない。そこで, 3種類のハイブリッド修復材料 (エステニア®, アートグラス®, コンクエスト™), および従来から修復材として用いられている常温重合レジン (即時重合レジン), 20 K 金合金について, それぞれの表面粗さおよび *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) 付着量, さらにヒト・モノサイト細胞株 THP-1 (THP-1) を用いた細胞傷害性の有無について検討を行った。その結果, 3種類のハイブリッド修復材の表面粗さは 20 K 金合金に次いで滑沢であり, 常温重合レジンが最も粗かった。細菌付着量は, 20 K 金合金, ハイブリッド歯冠修復材料の順に増大し, 表面粗さと *P. gingivalis* の付着量とは相関することが示唆された。また, 細胞傷害性は, どの材料にも認められなかった。これらのことからハイブリッド修復材料は歯周病学的にも臨床での応用が期待される材料であることが示唆された。

索引用語: *Porphyromonas gingivalis*, ハイブリッド修復材料, 細菌付着, 表面粗さ, ヒト・モノサイト細胞株 THP-1

緒 言

従来よりプラーク形成に際しては, まず *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) に代表される球菌がペリクル等を介し歯面や修復材表面に付着し, その後プラークの成熟とともに *P. gingivalis* 等の嫌気性菌が増加するとされている。しかし, Winkelhoff ら¹⁾は *P. gingivalis* に代表される嫌気性歯周病原性細菌が口腔粘膜や唾液中など, 口腔内に広く散在することを報告している。さらに Mattö ら²⁾は PCR 法を用いて同様のことを報告している。これらのことから, 嫌気性歯周病原性細菌が修復材料に直接付着, 定着し歯周病を誘発する危険性が考えられる。一方, 患者の審美的要求度が高くなるにつれ, 歯冠修復材料のマージンを歯肉縁下に設定する傾向も見られ, 一層歯冠修復材に対する歯周病原性細菌の易付着性について検討する必要性が重要となってきた。このような背景を鑑み我々は, 予備実験として後述する条件下での即時重合レジンにおける *P. gingivalis* の付着について検討を行っ

たところ, 同菌が短時間で即時重合レジンに直接付着することを確認した。このことは修復材に対する *P. gingivalis* の易付着性が, 歯周疾患の発症に影響を与える可能性を推察させる。そこで我々は, 優れた物性と色調再現性により広く臨床応用されてきているハイブリッド修復材に対する, 歯周病原性細菌の付着についてほとんど評価されていないことから, 本修復材に対する歯周病原性細菌の付着について検討を加えた。ハイブリッド修復材料は, フィラーを可及的緻密に分散配合された材料であり, 大きなフィラーでも従来型と比較し微細化され, フィラー含有率は 85 wt% を超えるものが多い^{3~8)}。すでに数種類の同系のハイブリッド修復材が開発されており, それらの組成は各材料によって若干異なる。今回は, 現在市販されている代表的な 3 種類のハイブリッド修復材料と, コントロールとして従来から修復材として使用されている 20 K 金合金および即時重合レジンに対する歯周病原性細菌 *P. gingivalis* の付着と各修復材の表面粗さとの関係, さらに各修復材の組織傷害性の有無から, これら修復材を評価し, 臨床応用の適否を検討した。

表 1 各種ハイブリッド修復材の組成

商品名	組織モノマー	フィラー	フィラー粒径	キャタリスト	フィラ含有量
エステニア ¹⁾	UTMA	Li ₂ O ₃ - Al ₂ O ₃ - SiO ₂	0.02~2.0 μm	光官能材 および 熱官能材	91.3 wt%
アートグラス ²⁾	UDMA	ディオロジカル アクティブリシカ (花びら状) SiO ₂	—	光官能材	70.0 wt%
コンクエスト ³⁾	PCDMA	バリウムボムシリケート	0.007~2.0 μm	光官能材 および 熱官能材	68 wt%

メーカー, 販売元

1) (株) クラレ, (株) モリタ 2) クルツァー, (株) パナヘラウスデンタル 3) Jeneric/Pentron, (株) 日本歯研工業

材料および方法

1. 菌 液

P. gingivalis 381 株をヘミンとメナジオンを添加した GAM ブイヨン (日水製薬) を用い、24 時間嫌気培養したもの標準菌液とした。標準菌液の菌量は 1×10^{10} CFU/ml であり、この時の吸光度 (OD 405 nm) は 1.1 であった。

2. 検 体

1) 検体の調整

実験には 3 種のハイブリッド修復材 (エステニア® (Estenia): クラレ, コンクエスト™ (Conquest): Jeneric/Pentron, アートグラス® (Artglass): クルツァー), および即時重合レジン (クイックレジン: 松風), 市販 20 K 金合金 (K 20: 徳力) の鋳造体を用いた。各検体は、 $10.0 \times 20.0 \times 1.0$ mm の板状に調製し、各メーカーの指定した方法で研磨を行なった。

2) 表面粗さの測定

表面粗さ形状測定器 (サーフコム 470 A, 東京精密, 東京) を用い、各検体とも任意の 6 点において測定し、その平均値を表面粗さ値とし、t 検定にて統計学的検定を行った。

3. *P. gingivalis* 付着実験

標準菌液 4 ml 中に各検体を浸漬し、嫌気培養装置中で静置培養を行った。培養時間は、即時重合レジンにおける実験の結果、浸漬培養 3 時間において有意な付着量の増加が認められた。つまり修復材に対する *P. gingivalis* の付着は培養開始 3 時間までに急速に進行し、12 時間でほぼ終了し、以後 24 時間までは新たな付着がおこらないことが確認された。このことより以後の付着実験の培養時間を 3 時間とした。付着量の検出は培養終了後、検体を菌液より取り出し PBS

図 1 菌液標準曲線

(一) 溶液 (日水製薬) にてリンスし非付着菌体を除去、その後検体を 1.5 ml の ELISA coating buffer (Na_2CO_3 1.5 g, NaHCO_3 2.93 g, NaN_3 0.2 g/1,000 ml) 中に移し、30 秒間ボルテックスミキサーを用いて浸漬し、付着した *P. gingivalis* を回収した。同液は超音波破碎装置 (Ultrasonic Disruptor UR-200 P, Tomy Seiko Co., LTD, 東京) にて 15 秒間超音波処理後、ELISA の試料とした。調整した試料 $100 \mu\text{l}$ を ELISA プレートに 4°C でコーティングし、18 時間吸着後 3% グラチン TBS 溶液 (NaCl 8.0 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ 2.9 g, KCl 0.2 g, NaN_3 0.2 g, Gelatin 30.0 g/1,000 ml) 各 $100 \mu\text{l}$ にてブロッキングを行い、その後一次抗体として *P. gingivalis* 381 に対するモノクローナル抗体を室温にて各 $100 \mu\text{l}$ を 60 分間反応させた。二次抗体として 500 倍希釈したアルカリフォスファターゼ結合性ヤギ抗マウス IgG 抗体 (Cappel, West Chester, PA), $100 \mu\text{l}$ を 60 分間反応させた後に、500 倍希釈の基質溶液 (SIGMA, St Louis, MO) を各 $100 \mu\text{l}$ 加え、その発色を 405 nm における吸光度にて測定し、t 検定を用いて統計学的検定を行った。今回 *P. gingivalis* に対する特異的抗体として用いた抗 *P. gingivalis* 抗体は、細胞融合法により樹立したモノクローン由来の抗体である。調整は本菌に対する抗体産生細胞を 10% 牛胎児血清を添加した RPMI 1640 培地 (日水製薬) にて培養し full growth としたときに、その培養上清を 4°C , 1,200 rpm で 10 分間遠心を行い回収し、実験に供した⁹⁾。

図 2 即時重合レジンにおける *P. gingivalis* の付着動態

4. 細胞傷害性の有無

ヒト・モノサイト細胞株 THP-1 (THP-1) を用い、検体浸漬培養液 (RPMI 1640 培地に各検体を 37°C にて 7 日間浸漬) により 3 日間培養した。その後トリパン・ブルーにて染色、血球計算器を用いた細胞カウント法にて同細胞の細胞生存率を測定、*t* 検定にて統計学的検討を行った。

結 果

1. 表面粗さ

3 種類のハイブリッド歯冠修復材料の表面粗さ値 (Ra) はそれぞれ、エステニア $0.18 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 、アートグラス $0.22 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 、コンクエスト $0.28 \pm 0.18 \mu\text{m}$ の表面粗さ値を示し、有意な差は認められなかつ

図 3 各種修復材の表面粗さ

た。

一方、即時重合レジン $1.24 \pm 0.5 \mu\text{m}$ と最も粗雑で、20 K 金合金は $0.07 \pm 0.02 \mu\text{m}$ であった (20 K 金合金)。最も滑沢であった 20 K 金合金をコントロールとして 3 種類のハイブリッド修復材料と即時重合レジンの表面粗さを比較したところ統計学的有意に粗雑な表面粗さを示した。

2. *P. gingivalis* の付着量

それぞれの修復材料表面に対する付着量を ELISA 法にて検討した結果、3 種類のハイブリッド歯冠修復材料は、OD 405 nm においてほぼ同等の値 ($0.28 \pm 0.11 \sim 0.48 \pm 0.11$) を示し、20 K 金合金、ハイブリッド歯冠修復材料の順に増大し、即時重合レジンが最も高い値 (0.69 ± 0.07) を示した。また、最も *P. gingivalis* の付着量が少なかった 20 K 金合金をコントロールとして、それぞれの修復材料の付着量を比較

図 4 各種修復材に対する *P. gingivalis* の付着量

図 5 各種修復材の表面粗さと *P. gingivalis* の付着量

図 6 各種修復材浸漬培養液によるヒト・モノサイト細胞株 THP-1 の細胞傷害性

したところ、即時重合レジンおよびコンクエストにおいて統計学的有意に多い付着量を示した。

また、各修復材に対する *P. gingivalis* の付着量と表面粗さについて検討した結果、相関係数 0.95 であり相関関係にあると考えられる。

3. 細胞傷害性の有無

検体浸漬培養液を用いた THP-1 の 3 日間培養後の生存率から、各検体共に有意な細胞傷害性は認められなかった。

考 察

歯周病発症の最初のステップは、*P. gingivalis* に代表される歯周病原性細菌が粘膜上皮や歯面に付着することから始まるとされている。その後同菌が定着、増殖することにより、歯周ポケット内細菌叢の中で優勢となって、病原性を発揮するものと考えられる^{10,11)}。歯周病原性細菌に関しては、歯周病の病状と同菌の消長等について数多くの報告がされており^{12,13)}、そのなかで特に偏性嫌気性のグラム陰性桿菌である *P. gingivalis* は以前、口腔から分離される糖非分解の *Bacteroides* 属の 1 つとされていたが、研究が進むにつれ属名もいくつか変遷し、研究の困難な嫌気性菌として、注目されている^{10,13-15)}。本菌は歯周疾患の進行度とその検出頻度が強く相関すること¹⁶⁾が報告されている。また、血球に親和性があり、血液寒天培地でヘミンからヘマチンを蓄積し黒色集落を形成する^{17,18)}ことや付着因子として、ユニークな線毛やプロテアーゼ活性を持った血球凝集素を持っている¹⁹⁻²¹⁾ことが知られている。さらに、Winkelhoff ら¹⁾や Mattö ーら²⁾により本菌はプラーク中のみならず唾液中など、口腔内において散在するということが報告されている。このことは、本菌が嫌気度の高い歯周ポケット底部のみならず、広く口腔に存在することを意味するものである。*P. gingivalis* の病原性機構は、本菌の代謝産物に

よる直接的な組織障害作用と、本菌の菌体構成成分による歯周組織細胞への刺激の結果産生される炎症性サイトカインによる間接的な組織障害作用とが考えられている²²⁻²⁶⁾。

一方、従来より歯周疾患発症の原因であるプラーク形成、すなわち細菌の付着に関しては、ペリクルを介してまず *S. mutans* 等が初期付着をし、その後 *P. gingivalis* 等がプラークの成熟と共に増加すると報告されている^{10,13,27,28)}。しかし、即時重合レジンを用いた静置嫌気培養において、その付着量は浸漬培養 3 時間において有意な増加が認められた。つまり、*P. gingivalis* の初期付着は 3 時間まで急速に進行し、12 時間でほぼ終了し、以後 24 時間までは新たな付着がほとんど起こらないことが確認された。このことは、プラーク形成のかなり早い段階において、歯面や修復材表面に *P. gingivalis* の付着が起こる可能性を推察させる。さらに、同菌が口腔内に散在することから、嫌気性歯周病原性細菌である *P. gingivalis* が嫌気度の高い歯周ポケット底部のみならず、歯頸部付近においても存在し、同菌の線毛に代表される付着因子により修復材に直接付着、定着し歯周病を誘発する危険性が考えられる。さらに、種々の修復材に対する *P. gingivalis* の易付着性の違いが歯周疾患の発症に影響を与える可能性を示唆させる。

表面性状と細菌付着に関しては、*Streptococcus oralis* (*S. oralis*) においてコンポジットレジンに対する同菌の付着量は表面性状と無関係であり、レジン中のフィラーとの付着しやすさが大きな影響を与えるとの報告がある²⁹⁾。しかし、今回の結果において *P. gingivalis* の付着量については、図 5 に示すように表面粗さが増すにつれ、その付着量も増加する傾向が認められ、両者が相関することが確認された (相関係数 0.95)。*P. gingivalis* が付着因子として *S. oralis* には無い、特有の線毛を有する菌であることから、この線毛が表面粗さと同菌の付着量との関連に対して何らか

の影響を与えている可能性が示唆される。

今回評価を行ったハイブリッド修復材は、その種類により表面粗さおよび *P. gingivalis* の付着量ともに多少の差を認めたが、即時重合レジンと比較し、その表面粗さは滑沢であり、*P. gingivalis* の付着量も少ないことが明らかとなった。したがって一般にプロビジョナルレストレーションとして多用される即時重合レジンに比べ、ハイブリッド修復材は歯周疾患の再発や二次疾患の予防のうえで優れていることが示唆される。

しかし、今回の評価は GAM 培地中によるものであり、口腔環境を正確に再現したものではない。実際の口腔環境では、GAM 培地中には存在しない食物摂取に伴う温度変化、種々の接着因子や糖蛋白を多く含んだ唾液の影響など多くの因子が関与する。近年、*P. gingivalis* の付着に関して唾液中の fibronectin や statherin が重要な役割を担う^{30,31)}ことも報告されており、この点についても今後の検討課題であると考えられる。さらに、口腔内においては多くの菌種が互いに影響し合い凝集したり、バイオフィルムを形成することも報告されている^{32,33)}。その他、*P. gingivalis* の付着に関する報告は現在までに様々な条件において多数存在する^{24,34~37)}。したがって、今回の結果のみでハイブリッド修復材料の臨床応用に関して適否を判定することは難しい。今後我々は、本菌特有の線毛が歯冠修復材料に対する付着にどのように関与しているのか、また唾液成分がその付着におよぼす影響など、より臨床に即した状態での検討を行う必要があると考える。

本論文の要旨は、第 41 回秋期日本歯周病学会学術大会 (1998 年 10 月 18 日) において発表した。

文 献

- 1) Winkelhoff, A.J. Van., Velden, U. Van der., Clement, M. and Graaff, J. De. : Intra-oral distribution of blackpigmented *Bacteroides* species in periodontitis patients. Oral. Microbiol. Immunol., 3 : 83-85, 1988.
- 2) Mättö, J., Saarela, M., Alaluusua, S., Oja, V., Jousimies-somer, H. and Asikainen, S. : Detection of *Porphyromonas gingivalis* from saliva by PCR by using a simple sample-processing method. J. Clin. Microbiology., 36 : 157-160, 1998.
- 3) 山中まき, 佐藤 亨, 太宰三男, 柳川明宏, 大塚直美, 相原一之, 田中 徹, 三穂乙暁, 斎藤文明, 腰原 好, 河田英司 : 歯冠用硬質レジンの基礎的性質についての検討. 接着歯学, 14 : 206-207, 1996.
- 4) 加藤稔明 : ハイブリッド型歯冠修復材料. Quintessence Dental IMPLANTOLOGY, 4 : 671-675, 1997.
- 5) 新谷明喜, 岡田智雄, 五味治徳, 砂田徳保 : 臼歯部応用を可能とした各種ハイブリッドセラミックスの概要. the Quintessence, 16 : 691-701, 1997.
- 6) 新谷明喜, 五味治徳, 砂田徳保, 横塚繁雄 : 各種ハイブリッド型歯冠修復材料の物性と特徴. 歯科技工, 16 : 698-701, 1997.
- 7) 新谷明喜, 五味治徳, 砂田徳保, 横塚繁雄 : 各種ハイブリッド型歯冠修復材料の技工術式とその評価. 歯科技工, 16 : 702-705, 1997.
- 8) 横塚繁雄, 高橋英登 : ハイブリッドセラミックス「エステニア」の臨床. 補綴臨床, 30 : 139-154, 1997.
- 9) Hanazawa, S., Saitoh, K., Ohmori, Y., Nishihara, H., Fujiwara, S. and Kitano, S. : Production of monoclonal antibodies that recognize specific and cross-reactive antigens of *Bacteroidesgingivalis*. Infect. Immun., 46 : 285-287, 1984.
- 10) Socransky, S.S. and Haffajee, A.D. : The bacterial etiology of destructive periodontal disease. J. Periodontol., 63 : 322-331, 1992.
- 11) Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Dzink, J.L. and Hillman, J.D. : Association between microbial species in subgingival plaque samples. Oral. Microbiol. Immunol., 3 : 1-7, 1988.
- 12) 浜田茂幸 : 口腔内の嫌気性グラム陰性桿菌. 化学療法領域, 6 : 91-104, 1990.
- 13) Mayrand, D. and Holt, S.C. : Biology of asaccharolytic black-pigmented *Bacteroides* species, Microbiol. Review., 52 : 134-152, 1988.
- 14) Chu, L., Bramanti, T.E., Ebersole, J.L. and Holt, S.C. : Hemolytic activity in the periodontopathogen *Porphyromonas gingivalis*, Infect. Immun., 59 : 1932-1940, 1991.
- 15) Sinden, P.R. and D.M. Walker. : Inflammatory cells extracted from chronically inflamed gingiva. J. Periodont. Res., 14 : 467-474, 1979.
- 16) Hanazawa, S., Tanaka, S., Kin, M., Amano, S., Nakada, K., Masuda, T. and Kitano, S. : Application of monoclonal antibodies to the detection of black-pigmented bacteroides spp. in subgingival plaques by immunoslot blot assay. J. Clin. Microbiol., 28 : 2248-2252, 1990.
- 17) Genco, R. and Slots, J. : Host responses periodontal diseases. J. Dent. Res., 63 : 441-451, 1984.
- 18) Ohmori, Y., Hanazawa, S., Amano, S., Miyoshi, T., Hirose, K. and Kitano, S. : Spontaneous production of thymocyte-activating factor by human gingival fibroblasts and its autoregulatory effect on their proliferation. Infect. Immun., 55 : 947-

- 954, 1987.
- 19) Hanazawa, S., Ohmori, Y., Amano, S., Miyoshi, T., Kumegawa, M. and Kitano, S. : Spontaneous production of interleukin-1-like cytokine from a mouse osteoblastic cell line (MC 3 T 3-E 1). Biochem. Biophys. Res. Commun., 131 : 774-779, 1985.
- 20) Lee, J. -Y., Sojar, H.T., Bedi, G.S. and Genco, R. J. : *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* fimbriin. Infect. Immun., 59 : 383-389, 1991.
- 21) Hanazawa, S., Amano, S., Ohmori, Y., Nakada, K., Miyoshi, T., Hirose, K. and Kitano, S. : Biological characterization of interleukin-1-like cytokine produced by cultured bone cells from newborn mouse calvaria. Calcified. Tissue. Int., 41 : 31-37, 1987.
- 22) 浜田茂幸 : 歯周病は感染症か ? 日本歯科評論, 568 : 67-75, 1990.
- 23) Van Steenberg, T.J.M., Winkelhoff, A.J. van. and Graaff, J. De : Black-pigmented oral anaerobic rods, Periodontal Disease. クインテッセンス出版, 東京, 1991, 41-52.
- 24) Mandel, I.D. : 浜田茂幸 (監訳) : 歯周病の科学, 医歯薬出版, 1991, 346-350.
- 25) Hamada, S., Holt, S.C. and McGhee, J.R. : Pathogens & host immune responses. Periodontal disease, クインテッセンス出版, 東京, 1991, 2-12.
- 26) Tanner, A. : Microbial succession in the development of periodontal disease. Periodontal Disease, クインテッセンス出版, 東京, 1991, 13-25.
- 27) Schwarz, S., Ellen, R.P. and Grove, D.A. : *Bacteroides gingivalis*-*Actinomyces viscosus* cohesive interaction as measured by a quantitative binding assay, Infect. Immun., 55 : 2391-2397, 1987.
- 28) Stinson, M.W., Safulko, K. and Levine, M.J. : Adherence of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* to *Streptococcus sanguis* in vitro. Infect. Immun., 59 : 102-108, 1991.
- 29) Yamamoto, K., Ohashi, S., Taki, E. and Hirata, K. : Adherence of oral streptococci to composite resin of varying surface. J. Dent. Mater., 15 : 201-204, 1996.
- 30) Murakami, Y., Hanazawa, S., Tanaka, S., Iwahashi, H., Kitano, S. and Fujisawa, S. : Fibronectin in saliva inhibits *Porphyromonas gingivalis* fimbria-induced expression of inflammatory cytokine gene in mouse macrophages. FEMS. Immunol. Med. Microbiol., 22 : 257-262, 1998.
- 31) Amano, A., Sharma, A., Lee, J-Y., Sojar, H.T., Raj, P.A. and Genco, R.J. : Structural domains of *Porphyromonas gingivalis* recombinant fimbriin that mediate binding to salivary proline-rich protein and statherin. Infect. Immun., 64 : 1631-1637, 1996.
- 32) Darveau, R.P., Tanner, A. and Page, R.C. : The microbial challenge in periodontitis. Periodontology 2000, 14 : 216-248, 1997.
- 33) 野村由一郎, 藤中恵子, 近藤 妙, 尾崎和美, 松尾敬志, 恵比寿繁之 : ヒト歯肉縁下プラークの研究, プラーク細菌の定着・増殖における細菌バイオフィルムの関与について. 日歯周誌, 37 : 329-336, 1995.
- 34) Gibbons, R.J. : Bacterial adhesion to oral tissues. J Dent Res., 68 : 750-760, 1989.
- 35) Gibbons, R.J. and Hay, D.I. : Absorbed salivary prolin-rich proteins as bacterial receptors on apatitic surfaces, Switalski, L., Hook, M. and Beachey, E. ed., Molecular mechanisms of microbial adhesion, Springer-Verlag, New York, 1989, 143-169.
- 36) McBride, B.C., Joe, A. and Singh, U. : Cloning of *Bacteroids gingivalis* surface antigens involved in adherence. Archs. oral. Biol., 35 : 59-68, 1990.
- 37) Gibbons, R.J., Hay, D.I., Childs, W.C.I. and Davis, G. : Role of cryptic receptors (cryptitopes) in bacterial adhesion to oral surfaces. Archs. oral. Biol., 35 : 107-114, 1990.

連絡先 :

明海大学歯学部歯周病学講座

〒 350-0283 埼玉県坂戸市けやき台 1-1