

多形核白血球の殺菌機構

—とくに辺縁性歯周炎患者末梢血および歯肉溝浸出多形
核白血球の活性酸素産生について—

鎮 守 信 弘 前 田 勝 正 岩 本 恭 行
赤 峰 昭 文 原 宜 興 大 賀 信 之
谷 川 圭 介 畠 山 民 子 青 野 正 男

九州大学歯学部歯科保存学第1教室

(主任：青野正男教授)

(昭和62年3月20日受付)

Bactericidal Effect of Human Polymorphonuclear Leukocytes

—Superoxide Anion Production of Human Polymorphonuclear Leukocytes
from Peripheral Blood, or Gingival Crevicular Fluid—

Nobuhiro CHINJU, Katsumasa MAEDA, Yasuyuki IWAMOTO,
Akifumi AKAMINE, Yoshitaka HARA, Nobuyuki OHGA,
Keisuke TANIGAWA, Tamiko HATAKEYAMA and Masao AONO

Department of Periodontics and Endodontics, Faculty of Dentistry, Kyushu University
(Chief: Prof. Masao AONO)

The aim of this study was to evaluate the bactericidal effect of polymorphonuclear leukocytes (PMN). For this purpose, we investigated the superoxide anion (O_2^-) production of PMN obtained from peripheral blood, or gingival crevicular fluid. Furthermore, we examined the myeloperoxidase (MPO) activity of PMN.

The results obtained were as follows.

1. There were the superoxide anion (O_2^-) release of PMN obtained from peripheral blood, or gingival crevicular fluid, when these cells were stimulated by anaerobic bacteria.

2. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, or *Bacteroides gingivalis*, *Capnocytophaga* could strongly sti-

mulate PMN to release a large amount of O_2^- .

3. Both live cells and dead cells of *Bacteroides gingivalis* could stimulate PMN to release a large amount of O_2^- , but there was a decline of O_2^- release, when these cells were heated at over 80°C.

4. In some patient, MPO activity of PMN obtained from inflamed gingival crevicular fluid was lower than that of PMN obtained from peripheral blood. These results indicated that a large amount of O_2^- release was occurred at the gingival area of the patients with periodontal disease. However, in some patient, there was the reduction of MPO activity which was important enzyme to produce the powerful bactericidal oxygen radicals.

Key words : Periodontal disease, Superoxide, Polymorphonuclear leukocyte, Periodontopathic bacteria, Myeloperoxidase

要旨 : 辺縁性歯周炎発症における多形核白血球 (PMN) の役割を調べるために、末梢血及び歯肉溝浸出 PMN の歯周病原性細菌に対する活性酸素 (とくにスーパーオキシド: O_2^-) の産生やミエロペルオキシダーゼ (MPO) の測定を行い以下の所見を得た。

1. 健康ヒト末梢血、歯周炎患者末梢血及び歯肉溝滲出液中の PMN は、いずれも各種嫌気性菌に対して O_2^- 産生を示した。
2. 各種嫌気性菌の比較では、*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* 及び *Capnocytophaga* に対して O_2^- 産生が強く認められた。
3. *Bacteroides gingivalis* 菌体に対する PMN からの O_2^- 産生は、本菌が生菌の場合でも死菌の場合でも同程度に認められたが、80°C 以上の熱処理を加えると O_2^- 産生の低下が観察された。
4. PMN の MPO 活性については、歯肉溝浸出液由来の PMN の方が末梢血よりも低下している症例が見られた。

索引用語 : 辺縁性歯周炎, スーパーオキシド, 多形核白血球, 歯周病原性細菌, ミエロペルオキシダーゼ

緒 言

白血球による殺菌作用は、細菌感染により発症する疾患を考える際に非常に重要なことと考えられる。近年白血球の殺菌作用については詳細な研究が行われているが、この殺菌機構はミエロペルオキシダーゼ (MPO) や活性酸素などの酸素依存性のものと、リゾチームやラクトフェリンなどの酸素非依存性のものとに分類できる。この酸素依存性殺菌系の中の活性酸素は殺菌過程で重要な役割を果たすばかりでなく、炎症部位における組織損傷因子としても考えられている¹⁻⁴⁾。

1969年 McCord ら⁵⁾によって、スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) が発見されて以来、活性酸素の1つであるスーパーオキシド (O_2^-) に関する研究が数多く行われ、種々の生物活性や病的状態への関与が報告されてきたが、口腔領域特に辺縁性歯周炎の炎症局所における O_2^- の役割についてはあまり報告が見られない。

そこで本研究は、細菌感染により発症すると考えられている辺縁性歯周炎の炎症局所に遊走してきた多形核白血球 (PMN) の O_2^- 活性や MPO 活性について検討を行い、歯肉溝における PMN の役割を歯周病原性細菌と関連させて明らかにしようとしたものである。

材料と方法

1. 細胞調精

末梢血 PMN はヘパリン加静脈血を sodium metrizoate-Ficoll 溶液 (Lymphoprep®) に重層し比重遠心法

によって分離した PMN 画分から、プラズマゲル沈殿法や低張食塩水によって赤血球を除き、得られた PMN を 2×10^6 cells/ml になるように Krebs-Ringer-phosphate buffer (KRP-buffer) に懸濁させて用いた。

歯肉溝浸出 PMN は図1、図2に示すように、Gilson

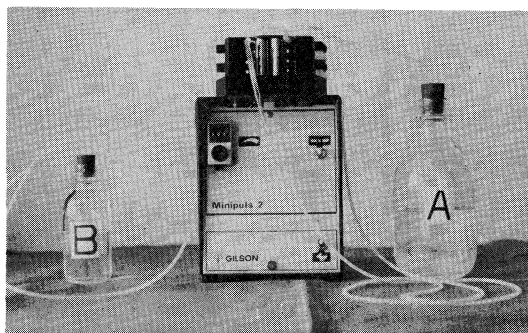


図1 KRP-buffer の入った資料ビン A と浸出液回収用の資料ビン B, 中央は buffer 還流用の Minipuls ポンプ

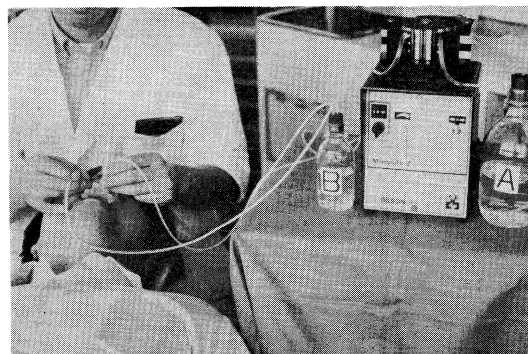


図2 KRP-buffer による歯肉溝の洗浄と浸出液の回収

社の minipuls ポンプを使用し流出量を 2.5 ml/min に調節し、資料ビン A の KRP-buffer 約 50 ml を還流させて歯肉溝を洗浄し反対側よりバキュームを用いて資料ビン B に滲出液を回収し、KRP-buffer で 3 回洗浄後、得られた細胞を 2×10^6 cells/ml になるように KRP-buffer に懸濁させた。ギムザ染色, trypan blue 染色でこの浸出細胞の 95% 以上が viable な PMN であることを確認し、歯肉溝浸出 PMN として実験に用いた。

2. O_2^- の測定法

活性酸素の 1 つである O_2^- の測定は、チトクローム C 還元法⁶⁾を用いた。即ち PMN 250 μ l と、酸化型チトクローム C (100 μ M, Sigma 社) 及びグルコース (5 mM, 和光純薬) を含む KRP-buffer 2.25 ml を混合した 37°C の反応系に、各 stimulant 200 μ l を加え生じた還元型チトクローム C を 2 波長分光光度計 (日立 557) により測定した (図 3)。なおこの作用が活性酸素の中の O_2^- によるものであることは、 O_2^- を不均化する酵素スーパーオキシドディスムターゼ (SOD, 0.12 mg/ml, Sigma 社) 添加により反応が消失することで確認した。

Stimulant としては、代謝誘導物質であるミリスチン酸 (5 mM, Sigma 社), 走化性因子である FMLP (10^{-5} M, Sigma 社), 嫌気性菌は、

Bacteroides gingivalis 381 株

B. intermedius 20-3 株

B. melaninogenicus ATCC 25845 株

Capnocytophaga 25 株

Actinobacillus actinomycetemcomitans ATCC 29523 株

Actinomyces viscosus ATCC 19246 株

Streptococcus mutans 6715 株

Streptococcus sanguis ATCC 10557 株

を用いた。各種細菌は液体培地で 2~4 日間培養したものを $10,000 \times g$ 20 分間の遠心により集菌し KRP-buffer で 3 回洗浄後、KRP-buffer に懸濁させ島津分光光度計 UV-120 により吸光度を測定し生菌として実験に使用した。また菌体の熱処理による O_2^- 産生作用の影響を調べるため各細菌を、60°C 10 分, 80°C 10 分, 120°C 10 分 (オートクレーブ処理) の加熱処理を行い stimulant として使用した。

3. MPO 活性の測定法

酸素依存性殺菌系に重要な役割を果たす MPO 活性の測定は、グアヤコールの酸化反応⁷⁾により行った。PMN 20 μ l, グアヤコール (40 mM) 1 ml, リン酸緩衝液 (pH. 7.0) 1 ml, 2% セタプロン 20 μ l を混合した 37°C の反応系に、0.3% H_2O_2 50 μ l を加え生じた酸化型グアヤコ

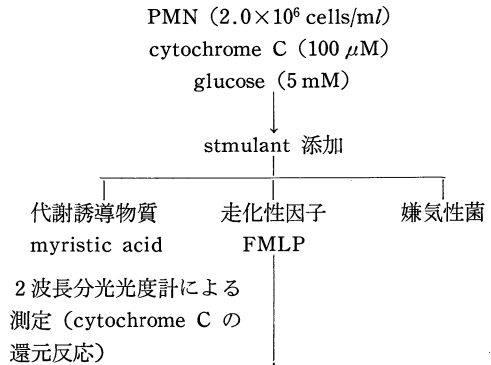


図 3 O_2^- 測定方法

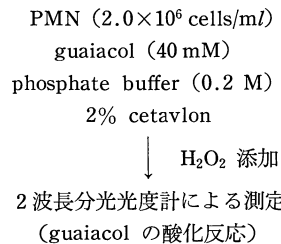


図 4 MPO の測定方法

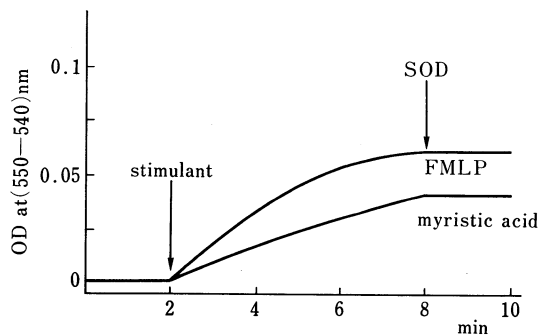


図 5 患者末梢血 PMN の FMLP, myristic acid に対する O_2^- 生成系

ール即ちテトラグアヤコールを 2 波長分光光度計 (日立 557) により測定し (図 4), MPO 活性とした。

結 果

図 5, 図 6 は患者末梢血及び歯肉溝浸出 PMN の O_2^- 産生を、実際に還元型チトクローム C の生成反応として表わしたものである。いずれの場合も stimulant 添加後にチトクローム C の還元が起き、SOD 添加とともにその

反応が消失していることがわかる。図7, 図8は現在までに検定を行っている24の検体(健康ヒト10名, 歯周炎患者14名)を, 健康ヒト末梢血, 患者末梢血, 患者歯肉溝浸出液 PMN に分け, 各種 stimulant に対する O_2^- 産生量をまとめたものである。*Capnocytophaga* を stimulant とした場合, 患者末梢血 PMN が他の2者に比較してやや低い O_2^- 産生量を示したが, その他の stimulant では3者間に有意差は認められず, 患者の歯肉溝に

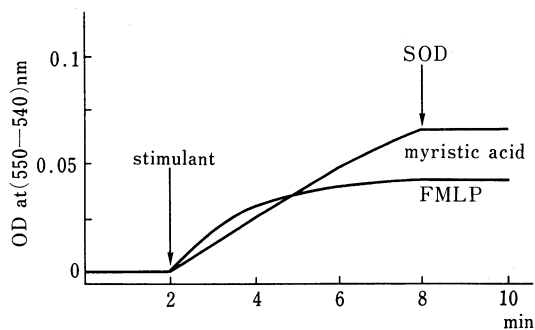


図6 患者歯肉溝浸出 PMN の FMLP, myristic acid に対する O_2^- 生成系

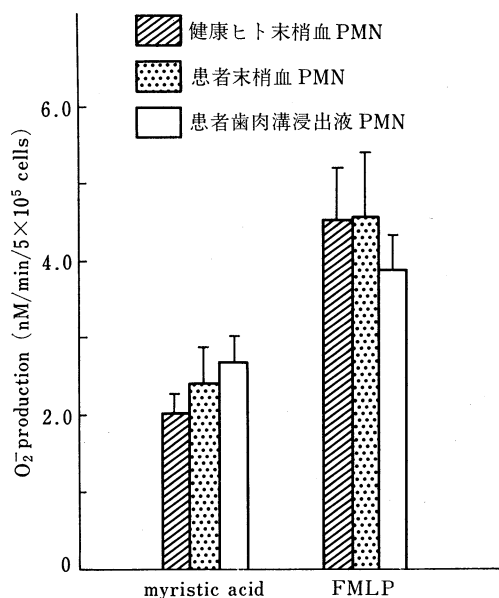


図7 健康ヒト末梢血, 患者末梢血, 患者歯肉溝浸出 PMN の myristic acid, FMLP に対する O_2^- 産生量の比較

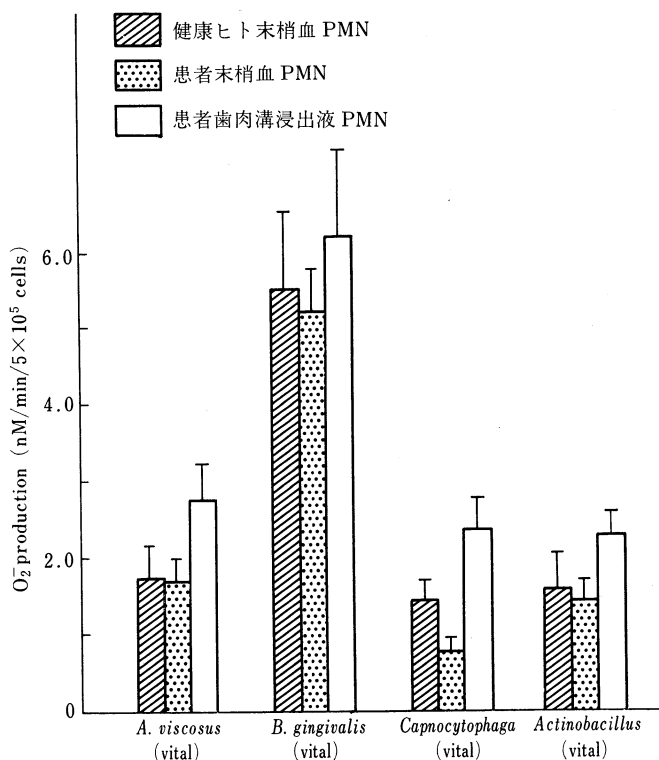


図8 健康ヒト末梢血, 患者末梢血, 患者歯肉溝浸出 PMN の各種嫌気性菌に対する O_2^- 産生量の比較

遊走してきた PMN にも末梢血 PMN と同様に強い O_2^- 産生能が存在することが示唆された。

図 9 は, *B. gingivalis* 生菌の吸光度 (560 nm) の変化に対する健康ヒト末梢血の O_2^- 産生量を表わしたものである。菌数の増加とともに, O_2^- 産生量もふえていることがわかる。

図 10 は, 各種嫌気性菌の濃度を O.D. 5 (560 nm) で統一したものに対する健康ヒト末梢血 PMN の O_2^- 産生量を比較したものである。各細菌間では *Actinobacillus* が最も高く, その他 *B. gingivalis* や *Capnocytophaga* にも強い O_2^- 産生作用が見られた。

図 11 は, 健康ヒト末梢血に, *B. gingivalis* 未処置の生菌, 60°C, 80°C, 120°C (オートクレーブ) で 10 分間

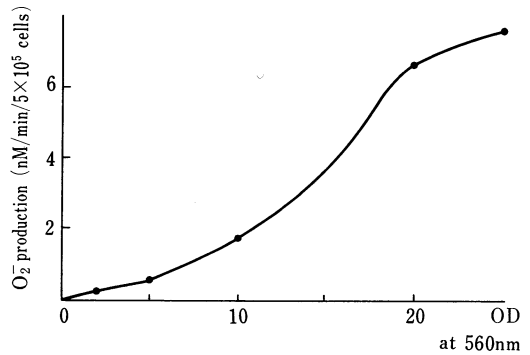


図 9 *B. gingivalis* 生菌の各吸光度における健康ヒト末梢血 PMN の O_2^- 産生量の変化

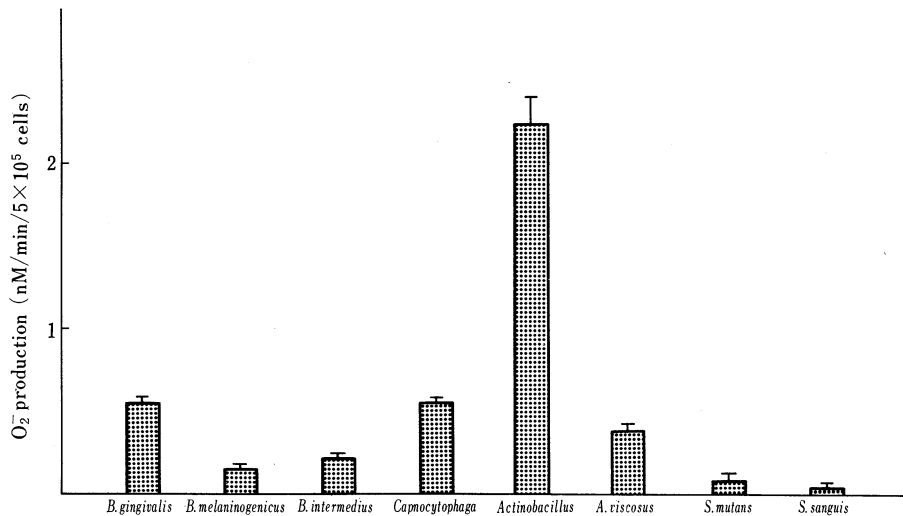


図 10 健康ヒト末梢血 PMN の各種嫌気性菌 (O.D. 5) に対する O_2^- 産生量の比較

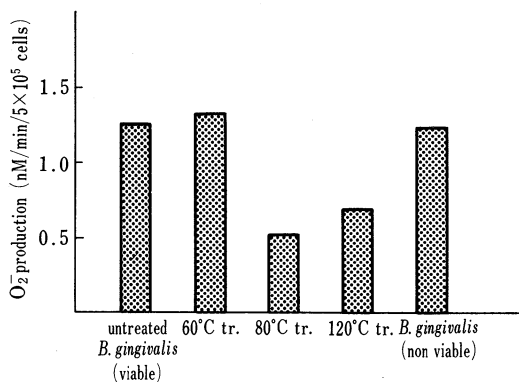


図 11 *B. gingivalis* の各種処理による O_2^- 産生能の変動

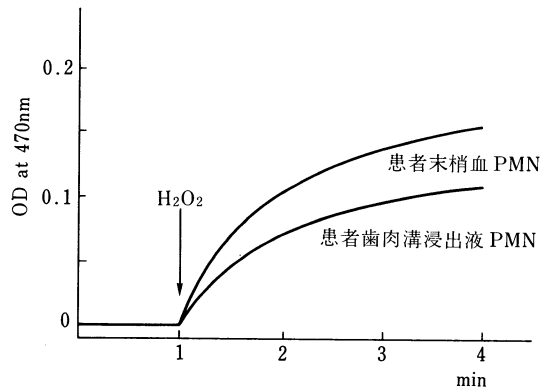


図 12 患者末梢血 PMN と患者歯肉溝浸出 PMN の MPO 活性 MPO 活性の測定は H_2O_2 刺激によるテトラグアヤコールの生成により行った

処理したもの、4°C で好気的に1週間保存し non-viableであることを確認したものを stimulant として加えた時の O_2^- 産生量を比較したものである。生菌でも 4°C で保存した死菌でも同程度の O_2^- 産生が見られたが、80°C 以上の熱処理では O_2^- 産生の低下が認められた。他の嫌気性菌でも、120°C 10分間のオートクレープ処理で、*A. viscosus* 36.2%, *Capnocytophaga* 30.3%, *Actinobacillus* 31.3% の O_2^- 産生量の低下が見られた。また、ホルマリンやエタノールで処理したものでも O_2^- 産生が見られたが、やや活性の低下が認められた。

図 12 は、重症辺縁性歯周炎患者の末梢血 PMN と歯肉溝浸出 PMN の MPO 活性を比較したものである。添加された H_2O_2 を MPO が分解しその結果生じるテトラグアキールの生成反応が示されている。末梢血、歯肉溝 PMN とともに MPO 活性が認められたが、歯肉溝 PMN の方が低下していた。現在5名の患者について MPO の測定を行っているが、その内4名にこのような傾向が認められた(図表略)。

考 察

PMN は健康な歯肉溝あるいは辺縁性歯周炎におけるポケット浸出液中で多数を占める細胞であり⁸⁻¹¹⁾、生体防御の第一線として働いている。このことは、PMN の機能に障害のあるヒトや動物、たとえば周期性白血球減少症¹²⁾、Chediak-Higashi syndrome¹³⁾、Lazy Leukocyte Syndrome¹⁴⁾、糖尿病¹⁵⁾などで重症の歯周炎が見られる事実から示唆される。また最近注目されるようになった若年性歯周炎患者の多くに好中球の chemotaxis 低下が認められる¹⁶⁻¹⁸⁾ ことから、PMN の生体防御的役割が推測される。

しかしながら同時に炎症局所において PMN は、組織損傷の重要な因子としても作用していると考えられている。即ち辺縁性歯周炎においては、歯肉溝浸出 PMN がライソゾーム酵素¹⁹⁻²¹⁾や活性酸素²²⁾を放出することにより歯周組織を破壊していると考えられる。このように、炎症局所における PMN は生体防御作用と組織に対する為害作用という2面性を保有している²³⁾。

今回我々は、歯肉溝における PMN の役割を明確にするために、殺菌系および組織損傷因子の中で特に重要と考えられている活性酸素の中の O_2^- 、及び H_2O_2 を基質にして強力な殺菌系 (MPO-hydrogen peroxide-halide system) を形成する MPO についての検討を行った。

まず歯肉溝浸出 PMN の採取方法であるが Oppen-

heim²⁴⁾ や skapski ら⁹⁾ の歯肉溝洗浄法を改良して行った。今回用いた方法では操作時間が多少かかるものの (30分~60分)、実験に使用可能な大量の資料を得ることができる。またポケット内壁を余り傷つけない、特定の部位からの採取も可能などの利点がある。

この採取された歯肉溝浸出 PMN について検討を行ったところ、辺縁性歯周炎の炎症局所に遊走してきた PMN にも末梢血 PMN と同様に強い O_2^- 産生能があることが明らかとなった。これは健康なヒトの歯肉溝浸出 PMN の O_2^- 産生を調べた Charon²⁵⁾ らの報告と一致し歯肉溝における PMN の O_2^- による強い殺菌作用が推測された。また stimulant の種類では走化性因子である FMLP 若年性歯周炎の原因菌として注目されている *A. actinomycetemcomitans* や *Capnocytophaga*^{26,27)} そして辺縁性歯周炎の炎症局所から高頻度に分類される *B. gingivalis*²⁷⁻²⁹⁾ に対して濃度依存的に高い O_2^- 産生作用が見られた。このことから、これらの細菌が高率にそして特異的に認められる歯周ポケット内では、PMN による O_2^- 産生が絶えず引き起こされその結果生じる種々の活性酸素 (1O_2 , H_2O_2 , $OH\cdot$) が O_2^- と同様に、殺菌作用だけでなく直接の組織損傷、プロスタグランディンや過酸化脂質の形成、赤血球や PMN、リンパ球障害等、生体損傷因子として働いていることも推測される³⁰⁾。また歯周組織においても、基質の proteoglycan や hyaluronic acid を破壊し²²⁾、歯周炎を増悪させていると考えられる。

酸素依存性殺菌系の中の MPO については末梢血 PMN に比べてその程度がやや低かったものの、歯肉溝浸出 PMN にも活性が認められ、 O_2^- から誘導される H_2O_2 がこの MPO の助けによりハロゲン化合物と化合したり、活性酸素の中で最も殺菌作用の強い 1O_2 (一重項酸素) を発生させたりして、歯肉溝における殺菌作用や歯周組織への障害作用を引き起こしているものと推測される。*B. gingivalis* や *Capnocytophaga* は SOD を保有しており^{31,32)}、PMN 由来の O_2^- を不均一化することによって酸素依存性の殺菌系に抵抗することも考えられるため、これらの菌に対する実際の O_2^- の殺菌作用については今後の検討が必要と思われる。

これら歯周病原性細菌の PMN に対する O_2^- 産生作用物質については、その中でも特に重要と考えられる *B. gingivalis* について検討を加えた。その結果、*B. gingivalis* の O_2^- 産生作用は、80°C 以上の熱処理で低下すること、またその他の菌についても 120°C のオートクレープ処理で 30~40% 低下することから、易熱性の物

質の関与が推測された。この O_2^- 産生に關与する細菌物質については現在検討中である。

結 論

辺縁性歯周炎患者の末梢血や歯肉溝の多形核白血球 (PMN) の活性酸素 (とくにスーパーオキシド: O_2^-) の産生や活性酸素産生系に關与するミエロペルオキシダーゼ (MPO) の測定を行い以下の所見を得た。

1. 歯周炎患者末梢血及び歯肉溝浸出 PMN は健康ヒト末梢血 PMN と同様に強い O_2^- 産生がみられた。各種嫌気性菌に対する反応を測定したところ、特に *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* 及び *Capnocytophaga* に対して高い O_2^- 産生が認められた。

2. *B. gingivalis* 菌体に対する PMN の O_2^- 産生は、本菌を 80°C 以上加熱すると低下することが観察された。

3. PMN の MPO 活性については、歯肉溝浸出液由来の PMN の方が末梢血よりも低下している症例がみられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、貴重な細菌を分与下さいました東京歯科大微生物学教室助教授奥田克爾先生に感謝の意を表します。また本稿をまとめるにあたり御尽力頂きました松本さえ技官に感謝いたします。

尚、本研究は昭和 57 年度文部省科学研究(B), 歯周疾患の臨床症状発現に關する生物学的研究 (課題番号 57480354) の助成により行われたことを付記する。

文 献

- 1) Freeman, B.A. and Crapo, J.D.: Biology of Disease. Free radical and tissue injury. Lab. Invest., 47: 412-426, 1982.
- 2) Weiss, S.J. and Lobuglio, A.F.: Biology of Disease. Phagocyte-Generated Oxygen Metabolites and Cellular Injury. Lab. Invest., 47: 5-18, 1982.
- 3) Greenwald, R.A.: Effect of oxygen-derived free radicals on connective tissue macromolecules. In Developments in Biochemistry, Vol. 11B, edited by Bannister, W.H. and Bannister, J.V.,

North Holland, Elsevier, 1980, 161-171.

- 4) Greenwald, R.A. and Moy, W.W.: Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. Arthritis Rheum, 23: 455-463, 1980.
- 5) McCord, J.M. and Fridovich, I.: Superoxide Dismutase. An enzymic function for erythrocytein (hemocupein). J. Biol. Chem., 244: 6049-6055, 1969.
- 6) 松本 正: スーパーオキシド O_2^- の測定, 水上茂樹, 柿沼カツ子, 白血球と食作用. 講談社, 東京, 1979, 217-220.
- 7) 兼田瑞穂: 酵素活性の測定法, 臨床研炎症編, 白血球実験操作法, 1979, 63-65.
- 8) Attström, R.: Presence of leukocytes in crevices of healthy and clinically inflamed gingivae. J. Periodont. Res., 5: 42-47, 1970.
- 9) Skapski, H. and Lehner, T.: A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man. J. Periodont. Res., 11: 19-24, 1976.
- 10) Wilton, J.M.A., Renggli, H.H. and Lehner, T.: The isolation and identification of mononuclear cells from the gingival crevice in man. J. Periodont. Res., 2: 262-268, 1976.
- 11) 石川 烈, 荻原さつき, 木下四郎: 歯周疾患と多形核白血球. 歯界展望, 57: 65-76, 1976.
- 12) Cohen, D.W. and Morris, A.L.: A periodontal manifestation of cyclic neutropenia. J. Periodont., 32: 159-168, 1961.
- 13) Hamilton, R.E. and Giansanti, J.S.: Chediak-Higashi syndrome. report of a case and review of the literature. Oral Surg., 37: 754-761, 1974.
- 14) Miller, M.E., Oski, F.A. and Harris, M.B.: Lazy leukocyte syndrome, a new disorder of neutrophil function. Lancet, 1: 665-669, 1971.
- 15) Hill, H.R., Sauk, H.S., Detloff, J.L. and Quie, P.G.: Impaired leukotactic responsiveness in patients with juvenile diabetes mellitus. Clin. Immunol. Immunopathol., 2: 395-403, 1974.
- 16) Cianciola, L.J., Genco, R.J., Patters, M.R., McKenna, J. and Van Oss, C.J.: Defective polymorphonuclear leukocyte function in a human periodontal disease. Nature, 265: 445-447, 1977.

- 17) Clark, R.A., Page, R.C. and Wilde, G. : Defective neutrophil chemotaxis in juvenile periodontitis. *Infect. Immun.*, 18 : 694-700, 1977.
- 18) Van Dyke, T.E., Hososzewicz, H.U., Cianciola, L.J. and Genco, R.J. : Neutrophil chemotaxis dysfunction in human periodontitis. *Infect. Immun.*, 27 : 124-132, 1980.
- 19) Taichman, N.S. and McArthur, W.P. : Interaction of inflammatory cells and oral bacteria : release of lysosomal hydrolases from rabbit polymorphonuclear leukocytes exposed to Gram positive plaque bacteria. *Arch. Oral Biol.*, 21 : 257-263, 1976.
- 20) Taichman, N.S., Tsai, C.C., Baehni, P.C., Stollr, N. and McArthur, W.P. : Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. IV. In vitro release of lysosomal constituents from polymorphonuclear leukocytes exposed to supragingival and subgingival bacteria plaque. *Infect. Immun.*, 16 : 1013-1023, 1977.
- 21) Tsai, C. -C., Hammond, B.F., Baehni, P., McArthur, W.P. and Taichman, N.S. : Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. VI. Exocytosis of PMN lysosomes in response to Gram-negative plaque bacteria. *J. Periodontal Res.*, 13 : 504-512, 1978.
- 22) Bartold, P.M., Wiebkin, O.W. and Thonard, J. C. : The effect of oxygen-derived free radicals on gingival proteoglycans and hyaluronic acid. *J. Periodontal Res.*, 19 : 390-400, 1984.
- 23) Miller, D.R., Lamster, I.B. and Chasens, A.I. : Role of the polymorphonuclear leukocyte in periodontal health and disease. *J. Clinical Periodontol.*, 11 : 1-15, 1984.
- 24) Oppenheim, F.G. : Preliminary observations on the presence and origin of serum albumin in human saliva. *Helv. Odont. Acta.*, 14 : 10-17, 1970.
- 25) Charon, J.A., Metzger, Z., Hoffeld, J.T., Oliver, C., Gallin, J.I. and Mergenhagen, S. E. : An *in vitro* study of neutrophils obtained from the normal gingival sulcus. *J. Periodont. Res.*, 17 : 614-625, 1982.
- 26) Newman, M.G., Socransky, S.S., Savitt, E.D., Propas, D.A. and Crawford, A. : A studies of microbiology of periodontosis. *J. Periodontol.*, 47 : 373-379, 1976.
- 27) Tanner, A.C.R., Hoffer, C., Bratthal, G.T., Visconti, R.A. and Socransky, S.S. : A study of the bacteria associated with advancing periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 6 : 278-307, 1979.
- 28) Slots, J. : The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand. J. Dent. Res.*, 85 : 114-121, 1977.
- 29) Slots, J. : Importance of Black-pigmented Bacteroides in Human Periodontal Disease, In Host-parasite Interaction in Periodontal Diseases, Genco, R.J. and Mergenhagen, S.E., Ed. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1982, 27-45.
- 30) 丹羽鞆負, 横山三男 : 活性化した好中球の auto-oxidative damage について. *最新医学*, 37 : 346-355, 1982.
- 31) Slots, J. and Genco, R.J. : Microbial Pathogenicity. Blackpigmented Bacteroides species, Capnocytophaga species, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in Human Periodontal Disease: Virulence Factors in Colonization, Survival, and Tissue Destruction. *J. Dent. Res.*, 63 : 412-421, 1984.
- 32) 遠藤英昭, 堀内 博 : Bacteroides gingivalis にみられた Superoxide Dismutase 活性. *日歯周誌*, 27 : 816-823, 1985.