

三崎 広樹, その他

—原 著—

歯周一矯正治療時の歯肉溝滲出液IL-1 α , β 、 オステオカルシンの変動について

三 崎 広 樹	武 内 義 晴	安 部 恒
吉 江 弘 正	小 林 元 夫*	森 田 修 一*
篠 倉 均*	花 田 晃 治*	原 耕 二

新潟大学歯学部歯科保存学第2教室
(主任 原 耕二教授)

*新潟大学歯学部歯科矯正学教室
(主任 花田晃治教授)

(1993年7月27日受付)

IL-1 α , β and osteocalcin levels in gingival crevicular fluid from
periodontitis patients during orthodontic therapy

Hiroki MISAKI, Yoshiharu TAKEUCHI, Hisashi ABE, Hiromasa YOSHIE, Motoo KOBAYASHI*,
Shuichi MORITA*, Hitoshi SASAKURA*, Kooji HANADA*, Kohji HARA

*Department of Periodontology, Niigata University School of Dentistry
(Chief: Prof. Kohji HARA)*

**Department of Orthodontics, Niigata University School of Dentistry
(Chief: Prof. Kooji HANADA)*

キーワード：歯肉溝滲出液、矯正治療、インターリュウキン1- α 、
インターリュウキン1- β 、オステオカルシン

Abstract

Orthodontic treatment of periodontitis patients requires objective criteria for treatment planning and the orthodontic force to be applied.

We hence measured IL-1 α , IL-1 β and osteocalcin levels in gingival crevicular fluid (GCF) of patients with periodontitis and patients in maintenance phase. IL-1 α in GCF of periodontitis patients was strikingly higher than in GCF of maintenance patients, whereas IL-1 β levels only slightly differed between the two groups. IL-1 α and β levels in GCF of young orthodontic patients increased at 2 days after setting of orthodontic appliance, then recovered the pre-orthodontic levels at 2 weeks. No change in osteocalcin level was observed.

These imply that the orthodontic force changed the metabolism of periodontal tissues including alveolar bone for only a short time span, which shows that the orthodontic force was adequate. In middle-aged periodontitis patients, IL-1 α , IL-1 β and osteocalcin levels did not change. Therefore, orthodontic force did not affect the periodontal tissue metabolism, demonstrating the adequacy of the orthodontic therapy.

要 旨

中高年者の歯周疾患の治療においては、歯列不正が問題となり、矯正治療の可否、治療方針の客観的指標が必要とされている。本研究では、歯周炎罹患者の矯正治療における客観的な指標を確立することを目的として、歯周炎罹患者とメンテナンス患者、そして若年と中高年の矯正患者の歯肉溝滲出液(GCF)中における、骨の代謝に関与するインターリュウキン $1-\alpha$ (IL- 1α)、インターリュウキン $1-\beta$ (IL- 1β)、オステオカルシン量を測定し、矯正力による歯周組織局所における変動を検索した。

その結果歯周炎患者ではGCF中IL- 1α 量はメンテナンス患者に比べ著しく増加したがIL- 1β 、オステオカルシン量には大きな変化は見られなかった。

若年の矯正患者において矯正力付加2日後にIL- 1α 、IL- 1β の増加傾向が見られ、その後、矯正力付加前のレベルへ減少した。オステオカルシンには大きな変動傾向はみられなかった。中高年者においては3指標ともに大きな変動は認められなかった。

以上のことから、若年者では矯正力により歯槽骨の代謝及び歯周組織の炎症は一過性に变化するのみで、与えている矯正力は妥当なものであることが示された。また中高年者では、現在行っている歯周管理と矯正治療のもとでは歯周組織への大きな影響は認められず治療法が妥当なものであることが示された。

緒 言

歯周炎においては、細菌性プラークの蓄積が大きな病因であり、歯列不正を有する場合、プラークの蓄積が促される結果、歯周炎の発症、進行、治療方針、治療予後に増悪因子として影響することが考えられる。

また歯列不正により治療困難な咬合性外傷を引き起こし増悪因子となることも多い。

このような症例は特に中高年者に多くみられ、しかも歯周炎に罹患した結果、支持組織が

減弱していることから、過度の矯正力による歯槽骨吸収が起こり、予後を更に危うくするなど危険性をはらんでいる。

近年歯周炎を伴う中高年者においても十分な歯周管理のもとで矯正治療を行うことが可能となってきた^{1,2,3,4})。また、矯正治療を行うことで、歯周炎の改善が得られている^{1,4})。しかしその決定に際しては未解決の点が多く、術者の勘に頼るところが多い。そこで、より厳密な矯正治療の方針と、矯正治療中の骨代謝の変化をモニターする指標が必要となる。

歯周疾患においてGCFは歯肉局所の病態を把握できる最適な材料として、GCF量、特異抗体、サイトカイン、細胞成分等についての各種の研究や臨床応用がすすめられている。

なかでもGCF中のサイトカインとして注目されるのはIL-1である。IL-1は、マクロファージ等が産生し、破骨細胞と骨芽細胞に作用して、骨吸収を引き起こすと言われている。また炎症局所における免疫応答に大きく関与している^{5,6})。

一方、骨代謝に関与する蛋白として、オステオカルシンがある。オステオカルシンは、分子量約5900の非コラーゲン性蛋白である。正常状態では、骨組織でのみ見いだされ、骨芽細胞により合成されて、血液中に放出されることが知られている。骨の代謝回転が高まっている場合には血清中のオステオカルシン量が増加する⁷)。

そこで本研究の目的は、矯正治療の可否についてGCF中の骨代謝に関与する成分を調べることにより、高齢者の歯周炎罹患者における矯正治療の客観的指標を確立することとした。実験1として、治療開始前のactiveな状態の歯周炎罹患者と、メンテナンス患者のGCF中のIL- 1α 、 β 、オステオカルシンの比較を、実験2として若年者、中高年者における矯正治療時のGCF中のIL- 1α 、 β 、オステオカルシンの経時的変動を検索した。

材料および方法

1. 被検者および被検部位

実験 1

定期的にメンテナンス(3ないし6ヶ月毎)をおこなっていて、歯周炎の再発の認められていないメンテナンス患者14名(56.6±7.0歳)、治療開始前の歯周炎患者13名(46.9±10.7歳)を被検者とし、被検部位は上下顎前歯部の2歯から6歯を用いた。被検部位の臨床指標(Gingival Index⁸⁾, probing pocket depth, Loss of attachment, 骨吸収度⁹⁾)についてはtable 1に示す。

実験 2

矯正治療中の若年者6名(20.2±7.7歳)、中高年者5名(47.5±7.8歳)を被検者とし、被検部位は上下顎前歯部の2歯から6歯を用いた。

臨床指標についてはtable 2に示す。

	Maintenance patients	Periodontitis patients
Subject	14	13
Age	56.6±7.0	46.9±10.7
Gingival Index	0.23±0.39	1.63±0.77
Probing Depth(mm)	2.03±0.36	4.81±0.92
Loss of attachment(mm)	2.80±0.68	5.08±1.66
Bone loss(%)	21.0±14.9	46.4±19.5

Table 1 Clinical assessment (Experiment 1)

	Young adult	Middle age
Subject	6	5
Age	20.2±7.7	47.5±7.8
Gingival Index	0.17±0.29	0.00±0.00
Probing depth(mm)	1.73±0.47	2.05±0.16
Loss of attachment(mm)	2.57±0.87	4.27±1.16
Bone loss(%)	4.7±5.2	32.9±9.8

Table 2 Clinical assessment (Experiment 2)

2. 実験スケジュール

実験 1

臨床的診査、末梢血の採取、GCFの採取を各

被検者1回、メンテナンス患者では定期的リコール来院時に、歯周炎罹患患者では歯周初期治療前に行った。

実験 2

歯周初期治療及び歯周外科治療が終了し、その後の矯正治療期間中で、矯正力付加前に、臨床的診査、末梢血の採取、及びGCFの採取を行なった。その後矯正力を付加して、2日、7日、14日後にGCFの採取のみを行った。

3. GCFの採取方法

GCFの採取前に、まず被検部位の緑上プラークをエキスカバーにて除去後、ロールワッテにて簡易防湿を施し小綿球にて歯面を清掃、エアーにて乾燥後、試料の採取に入った。

被検歯の唇側近心及び遠心隣接面歯周ポケットにペリオトロン用濾紙ペリオペーパーを軽度の抵抗が得られるまで挿入し、30秒間放置したのち、そのペリオペーパーを除去した。その後、新たにペリオペーパーを歯周ポケットに挿入し、GCFがペリオペーパーの面積の半分以上浸みこんだところで取り出し、ペリオトロン6000で測定した。この操作を繰り返し、20~30枚のペリオペーパーを使用し、実験1では20分、実験2では滲出液量が極めて少ない為1時間採取した。出血などが認められた場合のサンプルは除外した。ペリオペーパーはその後、500 µl のPBS中に浸漬し、破碎したのち除去した。このような手順により得たGCF抽出液を遠心(2000rpm, 10分)し、上清を試料とした。試料は測定までの間、-80℃にて保存した。

GCF量については、予め、既知量の血清をペリオペーパーに吸湿させ測定したペリオトロン値から、滲出液ペリオトロン値を換算、GCF量とした。この量から1歯単位時間あたりのGCF量を µl /tooth/20min. (実験1)、 µl /tooth/hour (実験2) で表した。

4. 血清の採取方法

被検者の前腕部肘正中静脈より真空採血管を用いて10ml採血し、室温にて2時間放置後、2000rpm、10分遠心して血清を分離した。血清はその後測定に供するまで-80℃にて保存した。

5. IL-1 α の測定法 (ELISA法)

ヒトIL-1 α ELISA Kit (大塚製薬、東京) を用いた。その測定法の概要は、まず抗ヒトIL-1 α モノクローナル抗体固相化プレートに予想される濃度(8~20倍)にまで希釈液にて希釈したGCF遠心上清を100 μ l添加し室温で一晩静置、洗浄後さらに抗ヒトIL-1 α ウサギ血清100 μ lを添加し室温で2時間静置、洗浄そしてperoxidase標識抗ウサギIgG山羊抗体100 μ lを加え2時間室温で静置、洗浄、そして0.015% H₂O₂にO-phenylenediamineを加えた基質を100 μ l加え、10~20分間室温で静置し、反応停止液(1N H₂SO₄) 100 μ l添加後492nmの吸光度で測定した。検量線によって得られたサンプルの濃度(pg/ml)から換算してGCF中のIL-1 α 量を算出した。200 μ lの測定サンプルで7.8~250pg/mlが測定可能範囲であった。

6. IL-1 β の測定法 (ELISA法)

IL-1 β ELISA kit (MEDGENIX, Brussels) を用いた。

その測定方法の概要は、まず抗ヒトIL-1 β モノクローナル抗体固相化プレートに希釈液にて2倍希釈したGCF遠心上清100 μ lとperoxidase標識抗IL-1 β モノクローナル抗体50 μ lを添加し室温で2時間震盪後洗浄し、H₂O₂とtetramethylbenzidineからなる基質を200 μ l添加そして室温で15分間震盪した後、反応停止液

(H₂SO₄) 50 μ l添加後450nmでの吸光度で測定した。検量線によって得られたサンプルの濃度(pg/ml)から換算してGCF中のIL-1 β 量を算出した。200 μ lの測定サンプルで33~1400pg/mlが測定可能範囲であった。

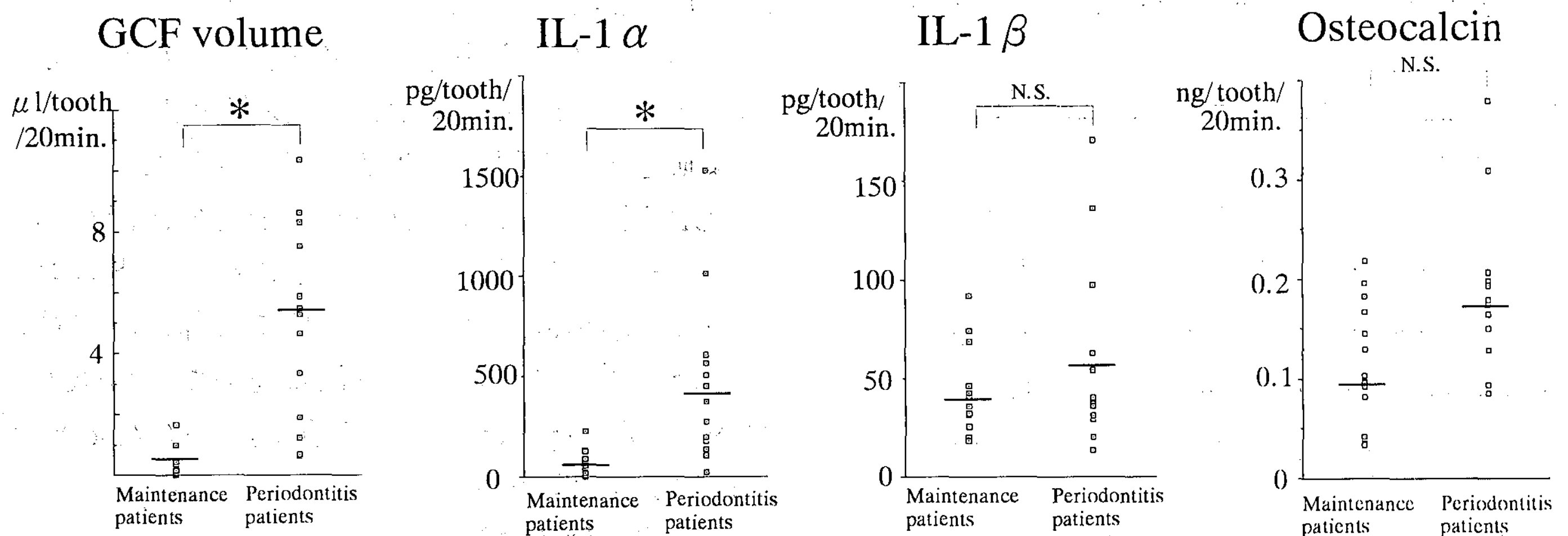
7. オステオカルシンの測定法 (RIA法)

オステオカルシンキット (CIS, Gif-sur-Yvette, France) を用いて、Priceらの方法^{10,11}により測定した。

その測定方法の概要は、GCF遠心上清50 μ l、抗オステオカルシンウサギ血清溶液100 μ l、¹²⁵Iオステオカルシン溶液200 μ lを加え5 $^{\circ}$ Cで24時間反応させ、サンプル中のオステオカルシンと¹²⁵Iオステオカルシンを抗オステオカルシンウサギ血清に対し競合させた。ここに抗ウサギガンマグロブリン羊血清溶液1mlを加え5 $^{\circ}$ Cで15分反応させたのち3000rpm15分間遠心分離し沈渣の放射能の活性を測定し、(検体もしくは標準液のカウント数) / (ゼロ濃度標準液カウント数) を算出し、標準液より作成した標準曲線から検体のオステオカルシン濃度を算出した。50 μ lの測定サンプルで0.25~60ng/mlが測定可能範囲であった。

8. 統計処理

実験1ではMann-Whitneyの検定、実験2ではWilcoxonの検定を用いた。危険率5%未満



* :significant at p<0.001
N.S. :not significant at p>0.05

Figure 1

GCF volume, IL-1 α , IL-1 β and osteocalcin in GCF of periodontitis and maintenance patients (Experiment 1)

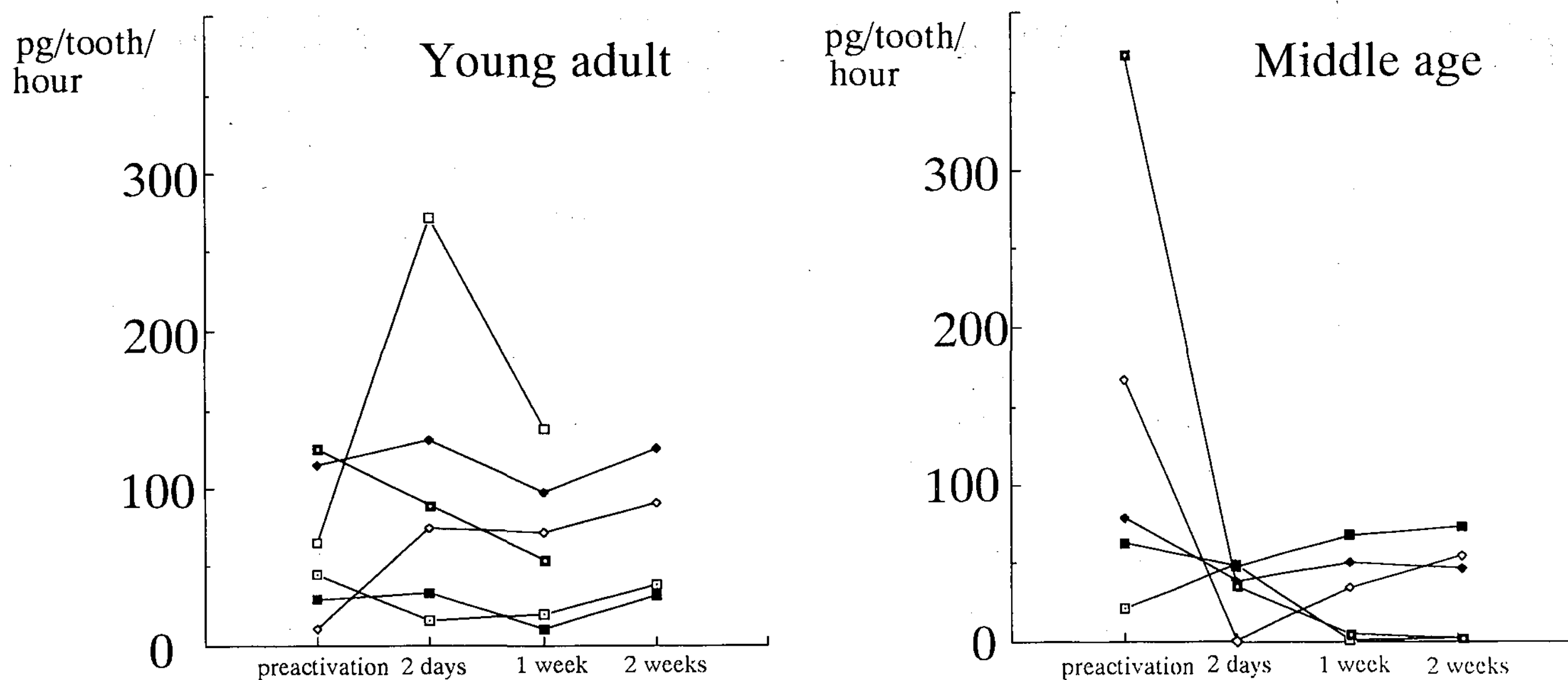


Figure 2

IL-1 α in GCF of patients undergoing orthodontic treatment (Experiment 2)

をもって有意差とした。

結 果

実験 1

メンテナンス患者と歯周炎患者での1歯20分間あたりに換算したGCF量および、GCF中IL-1 α 量、IL-1 β 量、オステオカルシン量をFig. 1に示す。

GCF量はメンテナンス患者で $0.36 \pm 0.43 \mu\text{l} / \text{tooth} / 20\text{min}$. (平均 \pm S.D.以下同様) 歯周炎患者で $4.90 \pm 3.22 \mu\text{l} / \text{tooth} / 20\text{min}$. であり、歯周炎患者で有意に多かった ($P < 0.001$)。

IL-1 α はメンテナンス患者で $61.8 \pm 61.6\text{pg} / \text{tooth} / 20\text{min}$., 歯周炎患者で $460.6 \pm 416.9\text{pg} / \text{tooth} / 20\text{min}$. と歯周炎患者で有意に高かった ($p < 0.001$)。一方IL-1 β はメンテナンス患者で平均 $42.3 \pm 20.9\text{pg} / \text{tooth} / 20\text{min}$., 歯周炎患者で $58.8 \pm 47.6\text{pg} / \text{tooth} / 20\text{min}$., オステオカルシンはメンテナンス患者では $0.117 \pm 0.057\text{ng} / \text{tooth} / 20\text{min}$., 歯周炎患者では $0.181 \pm 0.085\text{ng} / \text{tooth} / 20\text{min}$. とともに有意な差は見られなかった ($p > 0.05$)。

血清中のオステオカルシンはメンテナンス患者で平均 $10.5 \pm 3.7\text{ng} / \text{ml}$ 、歯周炎患者で $7.7 \pm 3.2\text{ng} / \text{ml}$ であり有意な差は見られなかった。

実験 2

矯正患者での1歯1時間あたりに換算したGCF中IL-1 α 量の経時変化をFig. 2に示す。若年者の術後2日で6例中3例に矯正付加前からの増加、2例に減少がみられ、すなわち1例を除いて矯正力付加2日後ではIL-1 α の動きが活発になることが確認された。その後、矯正力付加前のレベルまで回復することが確認された。中高年者では5例中4例が矯正力付加2日後に減少し、その後は、増減は見られなかった。

矯正患者での1歯1時間あたりのGCF中IL-1 β 量の経時的変化をFig. 3に示す。

若年者の6例中4例で矯正力付加2日後に増加が見られ1例を除いて付加前のレベルまで回復した。中高年者ではいずれの時期においてもIL-1 β の動きに変動は認められなかった。

矯正患者での1歯1時間あたりのGCF中オステオカルシン量の経時的変化をFig. 4に示す。ここでは若年者、中高年者ともに経時的変動はIL-1 α 、 β に比べ小さく、一定の傾向は認められなかった。

考 察

歯周疾患においてGCFは歯肉局所の病態を把握できる最適な材料として、その液量、特異抗

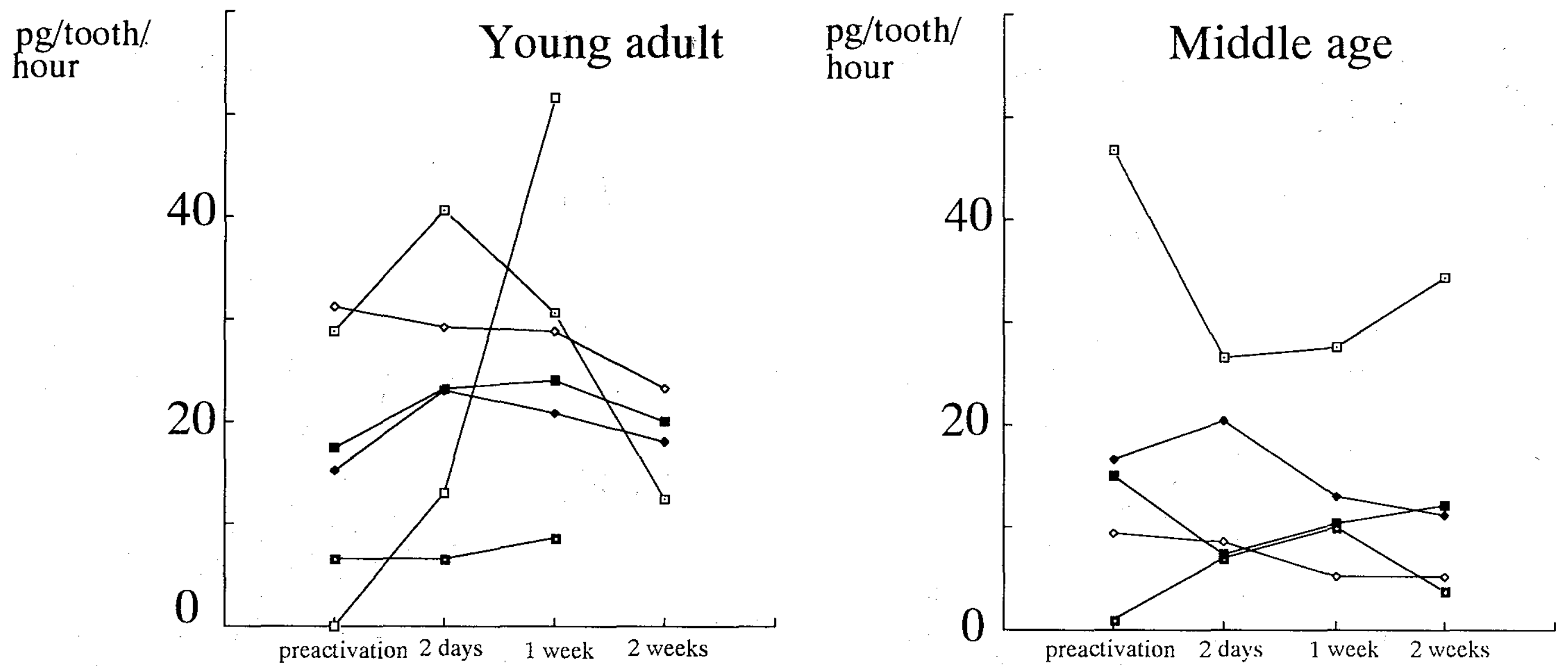


Figure 3

IL-1 β in GCF of patients undergoing orthodontic treatment (Experiment 2)

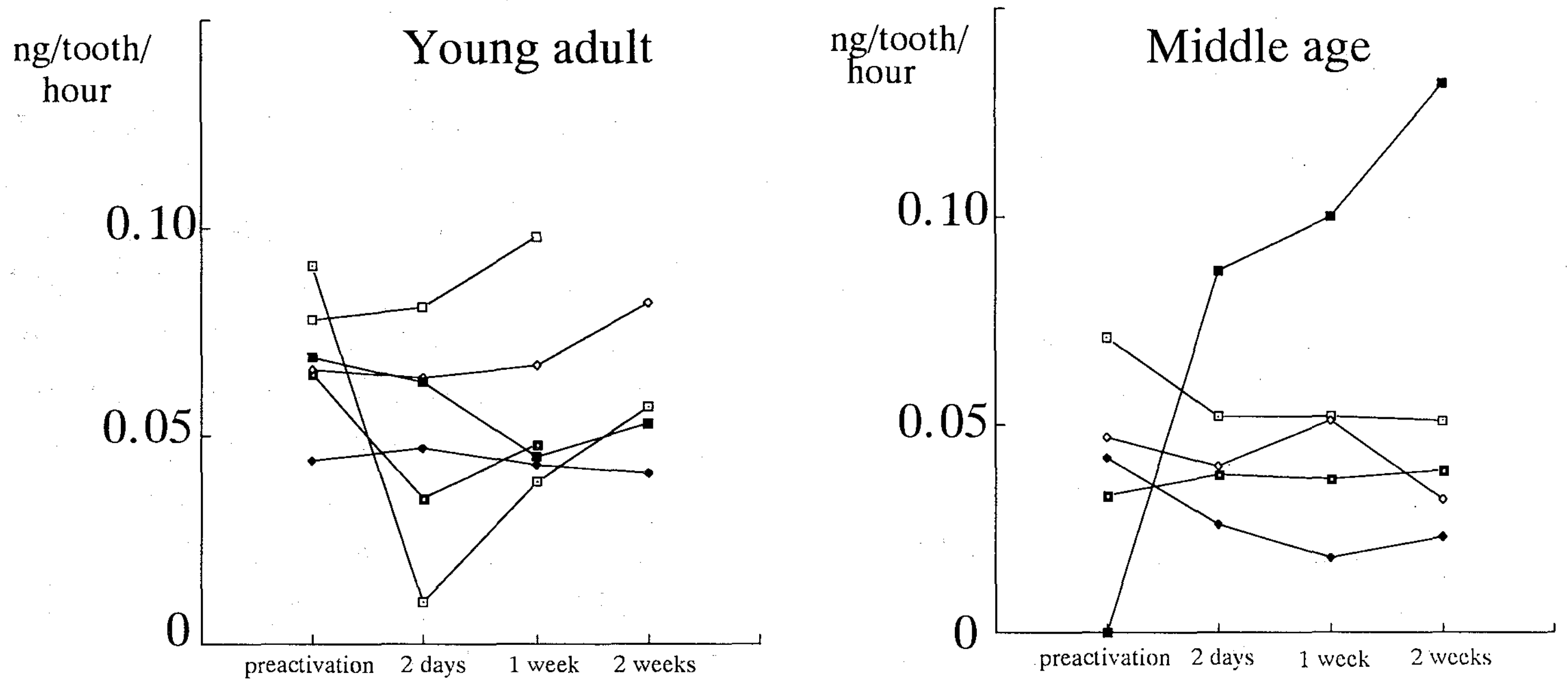


Figure 4

Osteocalcin in GCF of patients undergoing orthodontic treatment (Experiment 2)

体、サイトカイン、細胞成分等について各種の研究や臨床応用がすすめられている。

なかでもGCF中のサイトカインとして注目されるのはIL-1である。IL-1は、マクロファージ等が産生し、破骨細胞と骨芽細胞に作用して、骨吸収を引き起こすと言われている。また炎症局所における免疫応答に大きく関与している。

歯周炎患者の歯肉からIL-1 β が抽出され¹²⁾、IL-1 α 、IL-1 β のメッセンジャーRNAが歯肉中で発見されていること^{13,14)}、またGCF中に

IL-1 α 、IL-1 β が存在することが報告されている。しかもGCF中のIL-1は、炎症部位において活性が高く、その液量や、歯周ポケットの深さと相関があるとの報告もある^{13,15,16,17)}。

このようにIL-1は、歯周炎に深く関与しており、細菌性プラークによって、歯肉局所で炎症が生じ、IL-1が産生され、その結果GCF中に、IL-1が増加してくることが考えられる。

一方矯正力によりネコ歯根膜中のIL-1 α 、 β ^{18,19)}が増加するという報告があり、従って矯正

力により骨吸収が起こっている部位からも、IL-1が増加してくることは十分に考えられる。

IL-1には、構造的に異なるIL-1 α とIL-1 β が存在する。これらは同じレセプターを共有しているため、ほぼ同じ生物活性を示すと言われている²⁰⁾が、その由来や機能の違いについては未だあきらかではない。歯肉中ではどちらのメッセンジャーRNAも発現しているのに対して、GCF中ではIL-1 α が優位であり、IL-1 β は少ないという報告がある^{13,15,21)}。本研究でもIL-1 α はIL-1 β の3倍程度の濃度であることを認めた。このことはIL-1 β は酸化に対し不安定であるが、 α は安定であること²²⁾、IL-1 α の前駆体は活性を持つが、 β は持たない²³⁾等各種の要因が影響しているものと思われる。

一方、骨代謝に関与する蛋白として、オステオカルシンがある。オステオカルシンは、分子量約5900の非コラーゲン性蛋白である。正常状態では、骨組織でのみ見いだされ、1-25-dihydro vitamin Dの影響下で骨芽細胞により合成されて、血液中に放出されることが知られている。現在、骨ならびに象牙質以外での発現は報告されておらず、きわめて骨特異性が高い。骨の代謝が高まっている場合には血清中のオステオカルシン量が増加することから、骨芽細胞の機能を示すマーカーとされている⁷⁾。Priceら^{10,11)}によりオステオカルシンのRIAによる測定法が開発されて以来、種々の代謝性骨疾患血清中のオステオカルシン値が測定され、閉経後骨粗しょう症、骨異栄養症、甲状腺機能亢進症^{24,25)}、副甲状腺機能亢進症^{25,26)}、成長障害、慢性関節リウマチ、ミエローマ、ページェット病²⁴⁾等の骨疾患の診断及びフォローアップに役立ち、骨のターンオーバーの特異的な指標として臨床的に応用されている。

矯正力による、歯の移動に伴った歯槽骨の吸収、添加の際にも、局所的に増加していることが考えられる。

成人健常者血清中のオステオカルシンは3.7~6.2ng/mlなどと報告され^{24~28)}、また小児では4倍前後や、高齢者では1.4倍前後の高値を示

すとされている^{24,28)}。原発性副甲状腺機能亢進症では14.8 \pm 3.5ng/ml²⁵⁾と高値を示す。

本研究の結果で血清中オステオカルシンがやや高値を示したのは、被検者の年齢の高いことと、本研究で用いた測定法での正常値の範囲の大きいことなどが考えられる。

歯周炎罹患者のGCFで血清中の約10倍の濃度のオステオカルシンが得られている。このことは歯周組織での骨改造機転が活発でありそのことがGCF中のオステオカルシンに反映しているものと思われる。

実験1では歯周炎患者のIL-1 α はメンテナンス患者のものに比べ有意に高かった。

このことは歯周ポケットでの炎症産物としての性格の強いIL-1、ことに歯周炎患者GCF中に多い^{13,15,21)}といわれるIL-1 α がデータに反映したものと考えられる。

実験2では若年者の術後2日でIL-1 α 、IL-1 β は活発な量的動きを示したが、一方オステオカルシンにはそのような傾向が見られなかった。このことは、術後2日目に矯正力の付加によって特に歯肉での代謝活性が活発になり、IL-1が増加した。しかし歯槽骨代謝に関与するオステオカルシンは、矯正力によって歯の移動が起こる際、歯槽骨の吸収添加に伴って、局所的に増加することが考えられるが、今回はポケット内に滲出する量が少なく、変動を認識するまでには至らなかったものと考えられる。

また中高年者ではさらに変動が小さかった。この若年者と中高年者間の差異については若年者では生体の反応が活発であること、加えられている矯正力が中高年者にくらべ比較的大きいことが考えられる。

以上のことから、本研究は若年者では矯正力を加えた場合、歯周組織の代謝活性は一過性に変動するが元に回復することから付加矯正力は適正であること、さらに中高年者では、現在行なっている矯正力付加の限りでは歯周組織への影響は認められず若年者同様に治療法は妥当なものと考えられる。

結 論

結論として

1. 歯周炎患者のGCF中IL-1 α 値はメンテナンス患者に比べ有意に高かったがIL-1 β 、オステオカルシン値には両群間で有意差は認められなかった。
2. 若年者の矯正治療患者においては矯正力付加2日後にIL-1 α 、IL-1 β 量は大きく変動するが、その後は、矯正力付加前のレベルまで回復した。オステオカルシン量には実験期間を通じて変動は認められなかった。また中高年者においては矯正力を付加した場合3マーカーともに有意な変動は見られなかった。

謝 辞

本研究の一部は、平成2～4年度厚生省科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）により行われたことを付記します。また、オステオカルシンの測定に際し、ご協力願いました本学歯学部口腔生化学教室、教室員一同に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) 柳村光寛, 原 耕二, 篠倉 均, 花田晃治 : 成人矯正治療患者に対する歯周一矯正治療の効果. 日本歯周病学会会誌, 29: 568-578, 1987.
- 2) 篠倉 均, 花田晃治, 柳村光寛, 原 耕二 : 矯正治療時の歯周組織の変化—矯正・歯周治療を行った成人の4症例—. 日本矯正歯科学会雑誌, 46: 397-413, 1987.
- 3) 柳村光寛, 篠倉 均 : 歯科矯正と歯周治療の関連について—若年者, 成人の矯正(歯周治療による長期管理の効果)—. 歯科ジャーナル, 27: 435-449, 1988.
- 4) 新保裕子, 篠倉 均, 森田修一, 花田晃治 : 高度に進行した歯周疾患患者に対する歯周・矯正治療が歯周組織に及ぼす影響. 日本矯正歯科学会雑誌, 51: 318-327, 1992.
- 5) Dinarello, C. A. : An Update on Human Interleukin-1: From Molecular Biology to Clinical relevance. Journal of Clinical Immunology, 5: 287-297, 1985.
- 6) Dinarello, C. A. : Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. The New England Journal of medicine, 22: 1413-1418, 1984.
- 7) 濱本洋子 : 骨組織の生化学. 日本臨床, 48: 2729-2735, 1990.
- 8) Løe, H., Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta. Odont. Scand., 21: 533-551, 1963.
- 9) Schei, O., Waerhaug, J., Lovdal, A., et al. : Alveolar bone loss as related to oral hygiene and age. J. Periodontol., 30: 7-16, 1959.
- 10) Price, P. A., Nishimoto, S. K. : Radioimmunoassay for the vitamin K-dependent protein of bone and its discovery in plasma. Proc. Natl. Acad. Sci., 77: 2234-2238, 1980.
- 11) Price, P. A., Parthemore, J. G., Deftos, L. J. : New biochemical marker for bone metabolism: Measurement by radio-immunoassay of bone Gla protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. J. Clin. Invest., 66: 878-883, 1980.
- 12) 鎌形有裕, 宮坂信之, 井上裕子, 橋本純子, 飯田正人 : ヒト歯周炎歯肉組織から産生されるサイトカインの検討. 日本歯周病学会会誌, 31: 843-848, 1989.
- 13) 松木 裕, 山本 格, 原 耕二 : 歯周炎罹患歯肉組織中のインターリュウキン1(IL-1) mRNA発現マクロファージの局在と歯肉溝滲出液中IL-1活性. 新潟歯学会雑誌, 21: 107-118, 1991.
- 14) Matsuki, Y., Yamamoto, T., Hara K. : Interleukin-1 mRNA-expressing macrophages in human chronically inflamed gingival tissues. Am. J. Pathol., 138: 1299-1305, 1991.

- 15) Kabashima, H., Maeda, K., Iwamoto, K., et al.: Partial characterization of an interleukin-1-like factor in human gingival crevicular fluid from patients with chronic inflammatory periodontal disease. *Infect. Immun.*, 58: 2621-2627, 1990.
- 16) Charon, J. A., Luger, T. A., Mergenhagen, S. E., Oppenheim, J. J.: Increased thymocyte activating factor in human gingival fluid during gingival inflammation. *Infect. Immun.*, 38: 1190-1195, 1982.
- 17) 飯山正夫: 辺縁性歯周炎に対するインターロイキン1の関与. *日本歯周病学会会誌*, 28: 963-979, 1986.
- 18) Davidovitch, Z., Nicolay, O., Ngan, P. W. Shanfeld, J.: Neurotransmitters, cytokines and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics. *Dent. Clin. North. Am.*, 32: 411-435, 1988.
- 19) Saito, M., Saito, S., Ngan, P. W. et al.: Interleukin 1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress in vivo and in vitro. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 99: 226-240, 1991.
- 20) Dower, S. K., Urdal, D. L.: The interleukin-1 receptor. *Immunology Today*, 8: 45-51, 1987.
- 21) Masada, M. P., Persson, R., Kenney, J. S., et al.: Measurement of interleukin-1 α and -1 β in gingival crevicular fluid: Implication for pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodont. Res.*, 25: 156-163, 1990.
- 22) Dinarello, C. A.: Interleukin-1 and its biological related cytokines. *Advances in Immunology*, 44: 153-205, 1989.
- 23) Dower, S. K., Urdal, D. L.: The interleukin-1 receptor. *Immunology Today*, 8: 46-51, 1987.
- 24) 石原静盛, 本田 稔, 金尾啓右 他, ラジオイムノアッセイによる血中オステオカルシンの定量. *医学と薬学*, 16: 1107-1112, 1986.
- 25) 米田正弘, 川久保明利, 黒川昌栄 他: Radioimmunoassayによるオステオカルシン測定キット (CIS) の基礎的ならびに臨床的検討. *ホルモンと臨床*, 34: 1059-1063, 1986.
- 26) 水梨一利, 弓田 滋, 三浦 良 他: オステオカルシン測定キットの基礎的および臨床的検討. *ホルモンと臨床*, 35: 949-954, 1987.
- 27) 山本逸雄, 高坂唯子, 笠井隆一 他: 血中オステオカルシンの測定. *ホルモンと臨床*, 35: 931-935, 1987.
- 28) 高坂唯子, 山本逸雄, 北村暢康 他: Radioimmunoassay (オステオカルシン・I-125キット) による血中オステオカルシンの測定. *核医学*, 24: 891-897, 1987.