

歯肉炎自然発症ラットの歯肉炎発症における フリーラジカルの関与に関する研究

岡山大学医学部附属分子細胞医学研究施設神経情報学部門 (指導: 森 昭胤教授)

佐 藤 和 良

(平成 5 年 2 月 12 日受稿)

Key words: 歯肉炎自然発症ラット, フリーラジカル, 活性酸素,
過酸化脂質, スーパーオキシドジスムターゼ活性

緒 言

Osaka Dental University (ODU) plaque-susceptible (Sus) rat (以下 ODU Sus ラットと略記) は 1972 年, 森ら¹⁾により Wistar-Kyoto 系ラットから純系化され, 開発されたラットで, 何ら人為的な処置あるいは方法を講ずることなく, ただ市販の粉末飼料と水のみを投与して飼育することにより歯垢が沈着し, その局所の歯肉部位に歯肉炎が発症し, 歯周炎へと進展する, 典型的な歯周炎の実験モデル動物である。また, 選択的交配を重ね現在 45 代以上を経過しており, 遺伝的にも近交系として確立され, 疾患モデル動物 (ODUS/Odu) として国際的に登録されている²⁾。

歯垢は歯肉炎発症の最も重要な局所的原因因子と考えられており, ODU Sus ラットの下顎前歯部歯頸部に形成される歯垢について, 無機成分, 蛋白, アミノ酸, アミノ糖, 糖, 細菌, プラジキニン不活性化作用, pH, 病原体, 起炎性, 抗原性および抗体産生系, 並びに白血球遊走に及ぼす影響などが詳細に検討されている^{3~6)}。

さらに, ODU Sus ラットを用いた *in vitro* におけるマクロファージの遊走能及び殺菌能と歯肉の炎症との関係については, マクロファージの遊走能及びスーパーオキシド (O_2^-) 産生能の低下による感染防御能の低下が, 歯周疾患の進行に関係のあることが報告されている⁷⁾。この知見は, 歯周疾患の進行に活性酸素種が関与していることを示唆している。

本実験において著者は, 歯周疾患の発症機構を明確化するため, ラットの歯肉組織中のフリーラジカル, スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性並びに過酸化脂質の加齢に伴う変化を測定し, ODU Sus ラットの歯肉炎発症への関与様式を検討した。

実験方法

1. 実験試薬

5, 5-ジメチル-1-ピロリン-N-オキシド (DMPO) は第一化学薬品株式会社より, ヒポキサンチンはシグマ株式会社より購入した。キサンチンオキシダーゼはベーリンガーマンハイム株式会社より購入した。その他の試薬及び溶媒は高純度のものを使用した。

2. 実験動物

ODU Sus ラットは, 大阪歯科大学薬理学講座より恵与された。対照には, 雄性的 Wistar-Kyoto 系ラットを清水実験材料株式会社 (京都) より購入して使用した。飼料は粉末飼料 (オリエンタル酵母社製 MF) を 1 ヶ月齢より与え, 水は自由に摂取させた。動物は, 室温 25℃, 湿度 55%, 7 時から 19 時を明期とする 12 時間明暗サイクルの環境下で飼育した。実験には粉末飼料投与後 1, 2, 3, 4, 5, 7 及び 8 ヶ月の ODU Sus ラット及び Wistar-Kyoto 系ラットを使用した。

3. フリーラジカルの測定

ラットを断頭後, 直ちに下顎前歯部及び臼歯部歯肉組織を摘出し, 分析開始まで液体チッ素

中に保存した。次いで組織を秤量後、組織に20倍量の生理食塩液を加えてホモジェナイズした。ホモジェネート0.2mlに DMPO を20 μ l 加え、10秒攪拌後、試料を偏平セルに移し、電子スピン共鳴 (ESR) 装置 (日本電子, JES-FE1XG) を用いて試料中のヒドロキシルラジカル及びカーボンセンターラジカルを DMPO のスピニアダクトとして測定した。スピン数は、内部標準の酸化マンガンのシグナルの高さと、ヒドロキシルラジカル DMPO 添加1分後及びカーボンセンターラジカル DMPO 添加3分後のシグナルの高さととの相対比を求め、既知濃度 (6.811 $\times 10^3$ spins/ml) の2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジン-N-オキシル (TEMPOL) のシグナルの高さととの比から算出した。

ESR 装置の測定条件は、magnetic field を335.8 $\pm$ 5 mT, modulation を0.2mT, amplitude を4 $\times$ 1,000, response を0.1s 及び sweep time を0.5min/360mmにした。

4. SOD 活性の測定

SOD 活性の測定は平松ら^{8,9)}の方法に従って行った。すなわち、試験管に2mM 溶液のヒポキサンチンを50 μ l, 11.0mM ジエチレントリアミンペンタ酢酸を35 μ l, ホモジェネートを50 μ l, DMPO を15 μ l 及びヒポキサンチンオキシダーゼ (0.326unit) を50 μ l 加えたのち、Vortex ミキサーで攪拌後、反応液を偏平水溶液セル(160 μ l 容量, JEOL 製)に移し、ヒポキサンチンオキシダーゼを添加して30秒後より ESR 装置を用いて O₂⁻を DMPO のスピニアダクトとして分析した。検量線は SOD を0.8~100unit/ml用いて作成し、内部標準物質には酸化マンガンを使用した。またスピン数の計算は、既知スピン数の TEMPOL の信号強度との比により行った。ESR 装置の測定条件は、magnetic field を335.8 $\pm$ 5 mT, modulation を0.8mT, amplitude を4 $\times$ 100, response を0.1s 及び sweep time を2 min/360 mmにした。

5. 過酸化脂質の測定

過酸化脂質の測定は、Ohkawa ら¹⁰⁾の方法に従って行った。すなわち、0.1mlのホモジェネートに8.1%ドデシル硫酸ナトリウム溶液を0.2ml,

20%酢酸緩衝液(pH3.5)を1.5ml, 0.8%チオバルビツール酸溶液を1.5ml加え、さらに生理食塩液0.7mlを加えて全量を4mlとし、攪拌後100 $^{\circ}$ Cで1時間加熱した。冷却後、蒸留水を1ml及びブタノール・ピリジン混液(15:1)を5ml加え5分攪拌後、0 $^{\circ}$ Cで3,000回転にて10分間遠心分離を行った。次いで分離された有機層について、分光蛍光光度計を用い、励気波長515nm, 蛍光波長555nmの条件でチオバルビツール酸反応物質 (TBARS) の蛍光測定を行った。

6. 有意差検定

有意差検定は、正常ラット群の経月的変化については ANOVA を用い、また正常ラット群と ODU Sus ラット群との相当月齢における比較には、それぞれの測定値を Student's t-test を用いて行った。

実験結果

1. 正常ラットについての実験

1) フリーラジカル値

前歯部及び臼歯部歯肉組織中より、粉末飼料投与後1, 2, 3, 4, 5, 7及び8ヵ月のいずれにおいてもヒドロキシルラジカルおよびカーボンセンターラジカルが検出された (Fig. 1)。

ヒドロキシルラジカルは1ヵ月から3ヵ月まで増加 ($P < 0.05$) するが、5ヵ月より減少 ($P < 0.05$) して7及び8ヵ月においては再び低値 ($P < 0.05$) を示した (Fig. 2)。

カーボンセンターラジカルは加齢に伴い、最初2, 3ヵ月においては減少 ($P < 0.05$) した。その際、2ヵ月においては前歯部歯肉組織は臼歯部歯肉組織におけるより有意に低下 ($P < 0.05$)

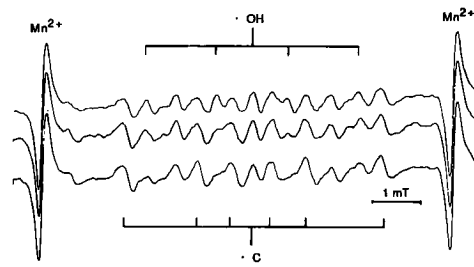


Fig. 1 ESR spectra of DMPO-OH and DMPO-C in gingival tissue

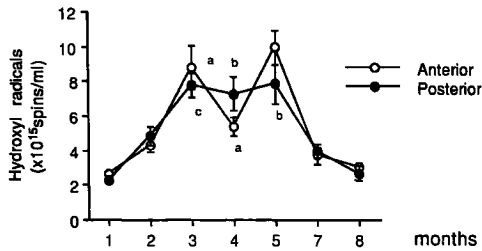


Fig. 2 Changes of hydroxyl radicals in gingival tissues with age. Each value represents the mean $\pm$ SEM of 6 to 14 rats. * $p < 0.05$, * $p < 0.01$, * $p < 0.001$ vs 1 month. 経月的相互間の検定は本文中に示す。

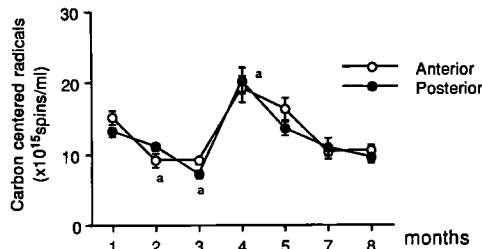


Fig. 3 Changes of carbon centered radicals in gingival tissues with age. Each value represents the mean $\pm$ SEM of 6 to 14 rats. * $p < 0.05$ vs 1 month. 経月的相互間の検定は本文中に示す。

していた。4ヵ月には逆に増加 ($P < 0.001$) し、7及び8ヵ月においては再び低値 ($P < 0.001$) を示した (Fig. 3)。

2) SOD 活性値

SOD 活性値は、前歯部及び臼歯部歯肉組織のいずれにおいても、2ヵ月に一過性に低下 ($P < 0.05$) した後、3ヵ月においては回復 ($P < 0.05$) し、5ヵ月で一過性の低下 ($P < 0.05$) を示した後、再び上昇 ($P < 0.05$) し、8ヵ月では1ヵ月の値に回復 ($P < 0.05$) した (Fig. 4)。

3) TBARS 値

1ヵ月における前歯部歯肉組織中の TBARS 値は、臼歯部歯肉組織より高値 ($P < 0.05$) を示した。4及び5ヵ月においては前歯部歯肉組織中の TBARS 値は、臼歯部歯肉組織より低値 ($P <$

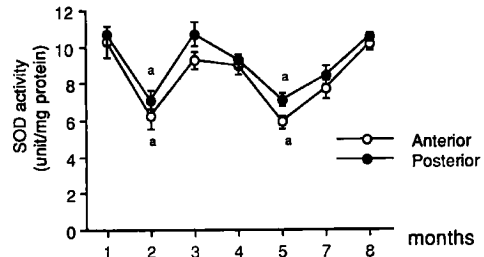


Fig. 4 Changes of superoxide dismutase (SOD) activity in gingival tissues with age. Each value represents the mean $\pm$ SEM of 3 to 14 rats. * $p < 0.05$ vs 1 month. 経月的相互間の検定は本文中に示す。

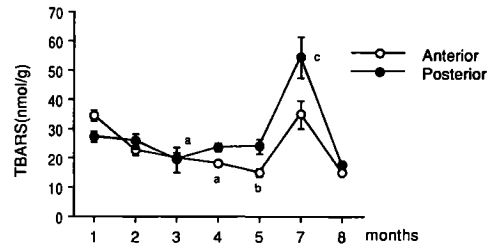


Fig. 5 Changes of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in gingival tissues with age. Each value represents the mean $\pm$ SEM of 6 to 14 rats. * $p < 0.05$, * $p < 0.01$, * $p < 0.001$ vs 1 month. 経月的相互間の検定は本文中に示す。

0.05) を示した。経月的にみると、臼歯部歯肉組織においては1ヵ月より5ヵ月まではほぼ一定値を保った後、7ヵ月で一過性に高値 ($P < 0.001$) を示し、次いで8ヵ月においては初期の値まで回復 ($P < 0.05$) した。他方前歯部歯肉組織においては、4及び5ヵ月でやや低下の傾向 ($P < 0.05$) がみられたが、7ヵ月では、臼歯部歯肉組織と同様に一過性の高値 ($P < 0.01$) を示し、8ヵ月においては初期の値に回復した (Fig. 5)。

2. ODU Sus ラットについての実験

1) フリーラジカル値

ODU Sus ラットのヒドロキシルラジカル値を対照群と比較すると、2ヵ月と5ヵ月とにおいて有意に低値 ($P < 0.05$) であり、4及び7ヵ月の前歯部歯肉組織、7及び8ヵ月の臼歯部歯肉

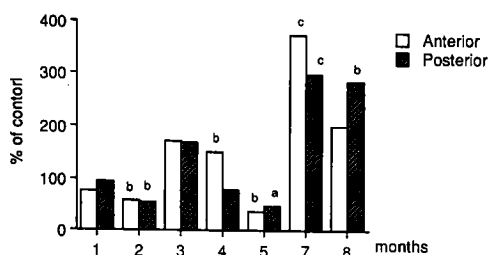


Fig. 6 The changes of hydroxyl radicals in ODU Sus rats (n=8~13). Each value represents % of control. ^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001 vs control.

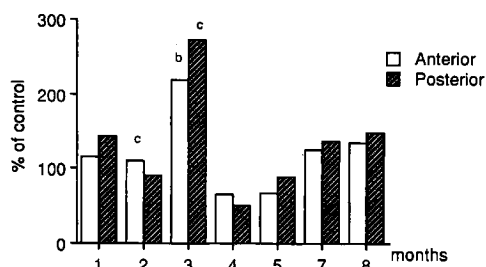


Fig. 7 The changes of carbon centered radicals in ODU Sus rats (n=6~13). Each value represents % of control. ^bp<0.01, ^cp<0.001 vs control.

組織において有意に高値 ($P<0.01$) を示した (Fig. 6).

ODU Sus ラットのカーボンセンターラジカル値は、対照群と比較して、2ヵ月における前歯部歯肉組織、3ヵ月における前歯部及び臼歯部歯肉組織において有意の高値 ($P<0.01$) を示した (Fig. 7).

2) SOD 活性値

ODU Sus ラットの前歯部歯肉組織における SOD 活性は、2、4 及び 5 ヶ月においては軽度ではあるが対照群に比し亢進 ($P<0.05$) していたが、8 ヶ月においては有意に低下 ($P<0.05$) していた。他方、臼歯部歯肉組織における SOD 活性は対照群に比し 1 及び 2 ヶ月においては低値 ($P<0.05$) を示し、次いで 3 及び 4 ヶ月においては高値 ($P<0.05$) を示した後、7 及び 8 ヶ月に至ると対照群と比し低値 ($P<0.05$) を示した

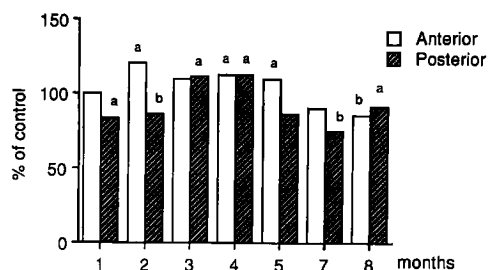


Fig. 8 The changes of superoxide dismutase (SOD) activity in ODU Sus rats (n=8~13). Each value represents % of control. ^ap<0.05, ^bp<0.01 vs control.

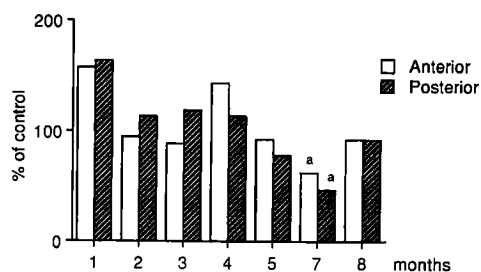


Fig. 9 The changes of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in ODU Sus rats (n=8~13). Each value represents % of control. ^ap<0.05 vs control.

(Fig. 8).

3) TBARS 値

ODU Sus ラットの歯肉組織における TBARS 値は、前歯部及び臼歯部歯肉組織のいずれにおいても対照群と比し、7 ヶ月においてのみ一過性の減少 ($P<0.05$) が認められた (Fig. 9).

考 察

ODU Sus ラットを 5 週齢で、体重 80 g に達した時期に離乳し、以後粉末飼料により飼育すると粉末飼料投与の翌日より下顎前歯部歯頸部に歯垢が形成され、その後経月的に歯垢形成量は増加し、歯肉炎を発症する。歯垢が形成された下顎前歯部歯頸部の歯肉には、粉末飼料投与 1~2 ヶ月後に肉眼的に発赤が認められるが、その時期の病理組織学的所見としては上皮付着の肥厚を伴い、増殖した上皮突起がみられ、上皮

付着部に軽度の円形細胞浸潤が現れている。3ヵ月を経過すると歯肉の炎症性変化は著しくなり、白血球及び円形細胞など多数の細胞浸潤がみられる。その時期においては歯槽骨は正常状態であるが、歯周ポケットの形成が始まる。次いで、6ヵ月後には炎症が慢性化し極めて多数の炎症性細胞の浸潤が歯肉固有層にまでみられ、上皮細胞は破壊され、一部潰瘍が形成されており、歯槽骨には破骨細胞がみられ、骨の一部に吸収像が認められる。そして粉末飼料投与9ヵ月後には細胞浸潤はさらに深部に波及し、毛細血管は著明に拡張していること、及び12ヵ月後には毛細血管の拡張が多く見られ、炎症の度合が大きくなり、歯槽骨の強い吸収像が認められるようになることが明らかにされている¹¹⁾。一方、同腹のODUラットでも歯垢形成がみられず、歯肉炎を惹起さないラット、すなわちODU plaque resistant (Res) ratにおいては、同じ粉末飼料で12ヵ月間飼育しても下顎前歯歯頸部歯肉に炎症は認められず、組織所見は正常である。ODU Sus ラットにおいては、上述のごとく、実験的に歯垢が形成され、その結果歯肉の炎症を誘発し、さらに歯周炎にまで病変が進展していくが、この経過はヒトにおける本症の局所的原因として、歯垢形成により歯肉の炎症が惹起され、これが歯周炎にまで増悪していく様相と極めて類似している。このような歯垢形成より炎症惹起に至る病態の成因については現在まだ十分には解明されていないが、本実験においては、この機構を病態生化学の立場から解明するために、ODU Sus ラットの前歯及び臼歯部歯肉組織中のフリーラジカル、SOD 活性及び過酸化脂質を、粉末飼料投与後1, 2, 3, 4, 5, 7及び8ヵ月において測定した結果、それぞれにこれらの経月的変動が認められた。

本実験におけるフリーラジカル、SOD 活性及び過酸化脂質の経月的な変化をみると、ODU Sus ラットのみならず、対照ラットにおいても種々の変動が認められた。すなわち、ヒドロキシルラジカルの3及び5ヵ月にかけての一過性の増加、過酸化反応の結果を反映すると考えられるカーボンセンターラジカルの4ヵ月における増加、あるいは脂質過酸化の指標と考えられる

TBARSの7ヵ月における著明な増加などは、ラットの発育に伴う歯肉組織の種々の過酸化状態として捉えることができる。また、SOD 活性の変化は発育のそれぞれの時期における O_2^- の発生に対応する処理機構の変化を示すものであるが、発育経過中 SOD を含めてフリーラジカル処理能力が十分でない時期には、一過性に過酸化物質、すなわちカーボンセンターラジカルやTBARSの蓄積として捉えられるものであろう。

さて、ODU Sus ラットのフリーラジカル、SOD 活性及び過酸化脂質の経月的な変化をみると、まず炎症性変化が亢進し、歯周ポケットの形成が始まる3ヵ月に一致して、前歯及び臼歯部歯肉組織中にカーボンセンターラジカルの著明な増加及びSOD 活性の増加が認められた。また、前歯部歯肉組織にはそれらの変化が2ヵ月よりみられた。なお、それらの時期にヒドロキシルラジカルの有意な増加が認められるのは、それらの初期においてはフリーラジカルに対する処理機能が優位であり、2ヵ月においてはむしろ、ヒドロキシルラジカルの減少となっている。しかし、さらに炎症が慢性化し、潰瘍の形成が認められる7及び8ヵ月においては、劇的なヒドロキシルラジカルの増加及びSOD 活性の低下が認められた。

大浦ら⁷⁾は、ODU Sus ラットのオプソニン化ザイモザン刺激によるマクロファージの O_2^- 産生能は、歯肉炎の進展に従って低下することを認め、マクロファージの O_2^- 産生能の低下による感染防御能の低下がODU Sus ラットの歯周疾患の進行に関与していることを示唆している。今回、著者の見いだした歯垢形成のみられる歯肉組織中のヒドロキシルラジカルの初期の変動はそのような機序と関連しているのかもしれない。

ODU Sus ラットの歯垢にはリンパ球を介して白血球遊走因子を産生する作用があることが報告されている¹²⁾。従って、白血球やマクロファージが歯垢形成部位に集積し、それから過剰の O_2^- が産生されることが想定されるが、基質が異常に増大することにより、それを処理するためSOD誘導が亢進し、その生成物である過酸化水素(H_2O_2)が過剰に生成することになるが、通常生成

物の蓄積は酵素作用を抑制することになるので、カタラーゼによって H_2O_2 が十分に処理されないためとすれば臼歯部歯肉組織の 1 及び 2 ヶ月などに見られる SOD 活性の低下はこのような状況を示しているのかもしれない。また、過剰の O_2^- により SOD 活性中心の遷移金属の酸化還元状態が一部破綻をきたしたことも推定される。また、SOD により十分に消去されなかった O_2^- はさらに金属と反応してヒドロキシルラジカルを生じる場合があるが、7 及び 8 ヶ月の ODU Sus ラットの歯肉組織においてはヒドロキシルラジカルの著明な発生の増加が観察されている。

TBARS の変動は変差値が大きく 7 ヶ月における生成の減少以外には有意差が認められなかった。この時期は対照群においては著明に増加する時期であるが、ODU Sus ラットの歯肉組織の脂質過酸化反応の指標としての TBARS 値が対照群に比し低下していることは、この時期においては ODU Sus ラットの過酸化防御作用が何らかの原因により、一過性に対照群よりも亢進したものと推定される。

以上のごとく、ODU Sus ラット歯肉組織のフリーラジカル、 O_2^- 消去酵素である SOD の活性、及びフリーラジカルによる脂質過酸化反応の指標としての TBARS 値を測定し、対照群における実験成績と比較検討した結果、ODU Sus ラットの歯周疾患発症並びに進行にフリーラジカルがなんらかの形で大きく関与していることが示唆された。

結 論

正常 (Wistar-Kyoto 系) ラットの前歯及び臼歯部歯肉組織中のフリーラジカル、SOD 活性及び TBARS 値を粉末飼料投与後 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 ヶ月において測定し、その変化を詳細に検討し、ついで ODU Sus ラットについて同様な実験により得られた成績と比較検討し、次のことを明らかにした。

1. 正常ラット歯肉組織中のヒドロキシルラジカル値は、粉末飼料投与後 3～5 ヶ月において増加したが、7 及び 8 ヶ月には初期の値に回復した。カーボンセンターラジカル値は最初 2, 3 ヶ月においては減少したが 4 ヶ月においては

逆増加し、7 及び 8 ヶ月においては再び低値を示した。

2. 正常ラット歯肉組織中の SOD 活性値は 2 ヶ月に一過性に低下した後、3 ヶ月においては回復し、5 ヶ月で一過性の低下を示した後再び上昇し、8 ヶ月では 1 ヶ月の値に回復した。

3. 正常ラット歯肉組織中の TBARS 値は 7 ヶ月においてのみ一過性の有意な増加が認められた。

4. ODU Sus ラットのヒドロキシルラジカル値を対照群と比較すると、2 ヶ月と 5 ヶ月において有意に低値であり、4 及び 7 ヶ月の前歯部歯肉組織、7 及び 8 ヶ月の臼歯部歯肉組織において有意に高値を示した。

ODU Sus ラットのカーボンセンターラジカル値は、対照群と比較して、2 ヶ月における前歯部歯肉組織、3 ヶ月における前歯部及び臼歯部歯肉組織において有意の高値が認められた。

5. ODU Sus ラットの前歯部歯肉組織における SOD 活性は 2, 4 及び 5 ヶ月においては対照群に比し有意に亢進していたが、8 ヶ月においては有意に低下していた。他方、臼歯部歯肉組織における SOD 活性値は対照群に比し 1 及び 2 ヶ月においては有意に低値を示し、次いで 3 及び 4 ヶ月においては高値を示した後、7 及び 8 ヶ月に至ると対照群と比し有意に低値を示した。

6. ODU Sus ラットの歯肉組織における TBARS 値は、前歯部及び臼歯部歯肉組織のいずれにおいても対照群と比し、7 ヶ月においてのみ一過性の有意な減少が認められた。

以上の実験成績より、ODU Sus ラットの歯垢形成による歯周炎の惹起及び進行には活性酸素種が何らかの形で大きく関与していることが示唆された。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りました森 昭胤教授ならびに直接御指導、御協力をいただきました平松 緑講師に感謝の意を捧げます。また、ODU Sus ラットについて御教示いただき、快く提供して下さいました大阪歯科大学森 政和名誉教授、大浦 清教授及び篠原光子助教授に謝意を表します。さらに実験に際し快く御協力下さい

ました枝松 礼嬢にお礼申し上げます。

文 献

- 1) Ito N, Azuma R and Mori A : Experimental gingivitis. Development of a new strain of plaque susceptible rat. J Dent Res (1975) **54**, 425.
- 2) Shinohara M, Ohura K, Ogata K and Mori M : A new strain with naturally occurring gingivitis. "ODUS/Odu". Rat News Letter (1991) **24**, 4—6.
- 3) Ito N, Shinohara M, Azuma Y and Mori M : Experimental gingivitis in ODU plaque-susceptible rat. I. Change of plaque formation and body weight. J Periodontol (1977) **48**, 201—208.
- 4) Azuma Y, Ito N, Shinohara M and Mori M : Experimental gingivitis in ODU plaque-susceptible rat. II. Biochemical nature of the rat plaque. J Periodontol (1978) **49**, 60—83.
- 5) Azuma Y, Shinohara M, Ito N and Mori M : Experimental gingivitis in ODU plaque-susceptible rat. III. Toxic activity of the rat dental plaque. J Periodontol (1979) **50**, 416—418.
- 6) Azuma Y, Shinohara M, Ito N and Mori M : Experimental gingivitis in ODU plaque-susceptible rat. V. The presence of bradykinin in the gingival tissue and the bradykinin inactivating factor in rat dental plaque. J Periodontol (1980) **51**, 348—354.
- 7) 大浦 清, 篠原光子, 尾形圭五, 森 政和 : 歯周疾患と活性酸素. 内科と歯科 (1989) **17**, 27—30.
- 8) Hiramatsu M and Kohno M : Determination of superoxide dismutase activity by electron spin resonance spectrometer with spin trap method. JEOL News (1987) **23A**, 7—9.
- 9) Hiramatsu M, Kohno M, Edamatsu R, Mitsuta K and Mori A : Increased superoxide dismutase activity in human cerebrospinal fluid and rat brain determined by electron spin resonance spectrometry using the spin trap method. J Neurochem (1992) **58**, 1160—1164.
- 10) Okawa H, Ohishi N and Yagi K : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem (1979) **95**, 351—358.
- 11) Ohura K, Ito N and Mori M : Experimental gingivitis in ODU plaque-susceptible rat. VI. Histopathological studies. J Periodontol (1981) **52**, 758—760.
- 12) 塚本芳雄, 福田訓子, 森川 裕, 森本平蔵, 森 政和, 梅本俊夫 : 歯周疾患と白血球遊走. 炎症 (1984) **4**, 635—637.

**Free radicals, superoxide dismutase activity and lipid peroxides
in gingiva of ODU plaque-susceptible rats**

Kazuyoshi SATOH

Department of Neuroscience, Institute of Molecular and Cellular Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. A. Mori)

Free radicals, superoxide dismutase activity and lipid peroxides in the gingiva of Dental University (ODU) plaque-susceptible (Sus) rats were estimated at the ages of 1, 2, 3, 4, 5, 7 and 8 months, and were compared with those of control Wistar-kyoto rats.

Low levels of hydroxyl radicals were noted in the anterior and posterior gingiva of ODU Sus rats at 2 and 5 months, but significantly increased in the anterior gingiva at 4 and 7 months and in the anterior and posterior gingiva at 7 and 8 months, compared to those of control rats.

Levels of carbon centered radicals were significantly higher in the anterior gingiva at 2 months and in both the anterior and posterior gingiva at 3 months.

Superoxide dismutase activities were accelerated significantly at 2, 4 and 5 months, and then were reduced at 8 months in the anterior gingiva. Otherwise, they were at low levels in the posterior gingiva at 1 and 2 months, were accelerated at 3 and 4 months, and reduced again at 7 and 8 months.

Thiobarbituric acid reactive substances decreased transitorily at 7 months in both the anterior and posterior.

These experimental results suggest that free radicals may be related to the pathogenesis and development of gingivitis in plaque susceptible ODU Sus rats.