

歯周炎患者における歯肉上皮細胞の生物学的役割

松山 孝司

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療学専攻
顎顔面機能再建学講座 歯周病学分野

Biological roles of gingival epithelial cells in periodontitis patient

Takashi Matsuyama

Department of Periodontology, Field of Oral and Maxillofacial Rehabilitation,
Advanced Therapeutic Course,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences,
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

Abstract

Gingival epithelium is a stratified squamous epithelium that functions as the barrier between the outside environment and the host. In the oral cavity, epithelial tissues are constantly exposed to a variety of bacteria, but most individuals maintain healthy homeostasis. Epithelial cells contribute to the innate host response, and antimicrobial peptide expression in all human epithelia, including oral epithelia. Gingival epithelium consists of oral epithelium and gingival sulcus epithelium, and junctional epithelium.

Periodontitis is a chronic disease characterized by a deepening periodontal pocket, destruction of connective tissue and alveolar bone. The number of PMN and T cells increases face to epithelium with the progression of disease. Gingival epithelial cells produce inflammatory cytokines, such as interleukin (IL)-1, IL-8 and others and play a role to cause the initiation and progression of inflammation. Furthermore, gingival epithelium appears to play a role in the adaptive immune response by stimulating antigen-specific CD 4(+) T cells.

Gingival epithelial down growth into periodontal defects is obstacle for periodontal regeneration therapy. Clinical application of enamel matrix protein or guided tissue regeneration method with barrier membrane has been known to inhibit the gingival epithelial down growth and induce periodontal regeneration in intrabony defects with periodontitis.

Thus, the knowledge of the biological roles of gingival epithelial cells may open the way for development of new therapeutic agents for periodontal diseases or peri-implantitis.

Key words: periodontal disease, epithelial cells, molecular biology, immune response, regeneration therapy

はじめに

上皮細胞は、一般的に細菌の侵入に対して最前線に位置し、物理的なバリアーとして機能している。上皮細胞は、細菌の付着（侵入）にตอบสนองして抗菌ペプチド産生などの自然免疫機能を有する¹⁾一方で、インターロイキン(IL)-1, IL-8, TNF- α などの炎症性サイトカインを産生し、炎症の惹起に積極的な役割を果たしている²⁾。歯周炎は歯周病原性細菌と宿主細胞によって組織の破壊が引き起こされる感染症である。歯肉上皮細胞は、歯周病原性細菌と最初に接する細胞であることから、歯周炎の発症や進行に深く関わっていると考えられる。しかし、歯周病原性細菌やサイトカインに対する歯肉上皮細胞の応答については、歯肉上皮細胞の培養法が確立されるまで静的組織として捉えられ、ほとんど知られていなかった。歯肉上皮細胞の培養法が確立されるとIL-1³⁾, IL-8⁴⁾, TNF- α ⁵⁻⁶⁾などの炎症性サイトカインを産生することが証明され、表皮ケラチノサイトと同様の動的組織であることが明らかになってきた。

歯肉上皮は、口腔上皮、歯肉溝上皮および接合上皮の3つのコンポーネントから成り立っている(図1)。

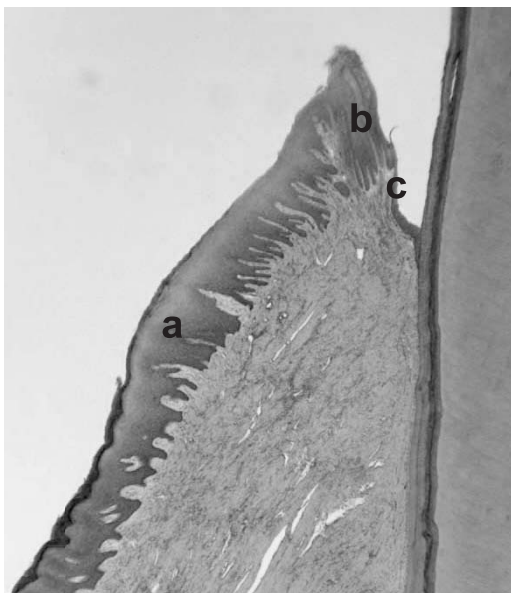


図1：正常な歯周組織（脱灰標本，ヘマトキシリン・エオジン染色）

炎症性細胞浸潤がまったくみられない。歯肉上皮の側方増殖，下方増殖が認められない。
a; 口腔上皮, b; 歯肉溝上皮, c; 接合上皮

接合上皮は、組織学的に口腔上皮とは異なり、有棘層と基底細胞層の2層からなる非角化性組織で、エナメル質と隣接する結合組織との間に薄い帯を形成しており、その細胞間には好中球が常に存在するユニークな特徴を持っている(図2A)。歯周炎患者では、この接合上皮の付着機構が破壊されている。そして接合上皮直下の線維性付着機構の破綻、より深部の骨破壊への進行は、口腔上皮の侵入を許すことになり、深い歯周ポケットが形成される。歯周病原性細菌は、嫌気性細菌が主体であるため、深化した歯周ポケットは、歯周病原性細菌に対して、嫌気的環境を与えてしまうことになる。歯周病原性細菌は、深化したポケットで繁殖し、さまざまな細菌成分に対する過度の免疫機構を誘導し、生体にさまざまな炎症反応を引き起こすことになる。

歯周炎は、慢性的に持続する局所の感染症である。最近では、歯周炎局所から血液を介して全身のさまざまな臓器へと歯周病原性細菌や炎症性メディエーターが運ばれ、心脈管系疾患、肝膿瘍、脳膿瘍、誤嚥性肺炎、糖尿病、低体重児・早産など全身に悪影響を及ぼしていることが報告されており、歯周医学 periodontal medicine が重要視されている⁷⁻⁸⁾。このように歯周病予防により全身の健康増進を図ることへの関心が高まっているなかで、歯周炎発症に関わる歯肉上皮細胞の生物学的応答性を把握することは、歯周病予防、歯周治療の向上を図っていくうえで重要であると思われる。

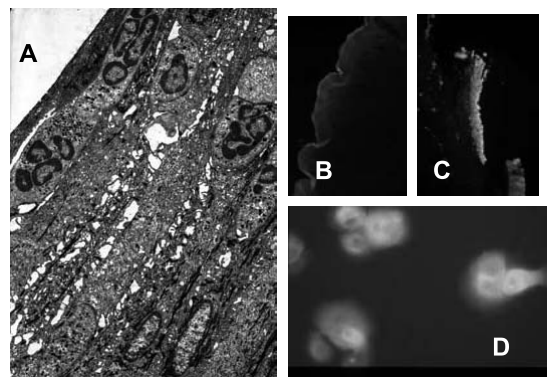


図2：正常な接合上皮

A; 接合上皮の超微形態像。細胞間隙内が広く、間隙内に好中球の浸潤が認められる。B; 健康歯肉組織の口腔上皮におけるDBA染色は陰性である。C; 接合上皮に限局してDBA染色は陽性である。D; 培養接合上皮細胞のDBA染色は、陽性所見を示した。

本総説では、これまでの知見を踏まえた歯周炎における歯肉上皮細胞の関わりについて述べてみたい。

I. 接合上皮細胞表現型

接合上皮細胞の生物学的特徴を知るうえで、その特異的表現型を明らかにして接合上皮細胞の培養法を確立することは有用な手段である⁹⁻¹⁰。そこで、筆者は、ヒト接合上皮細胞の培養法を確立した¹⁰。接合上皮細胞の表現型は、歯肉上皮細胞と異なる特異的な表現型を有することが報告されている¹¹⁻¹⁵。すなわち、歯肉組織での接合上皮は主に keratin 5, 6, 13, 14, 16, 17, 19 を発現するのに対して、口腔上皮は主に keratin 1, 2, 5, 6, 10, 13, 14, 16 を発現している。筆者は、上皮細胞膜糖鎖の違いにより接合上皮細胞は、他の上皮細胞にはみられない α -N-acetyl-D-galactosamine と特異的に反応する Dolichos biflorus agglutinin (DBA) で結合することを示した (図2B, 2C)。このように keratin 19 と DBA は、口腔上皮と接合上皮を識別する有用なマーカーであることが考えられるが、培養下では、口腔上皮細胞も keratin 19 をわずかに発現することから接合上皮細胞の安定した有効なマーカーは、DBA であると思われた¹¹。

接合上皮のもう一つの特徴として、エナメル質と接着している内側基板には、ラミニン-5 が大量に発現し、型コラーゲンなどの不足を補って、付着上皮の歯への強固な付着に寄与していることが示唆されている¹⁵。さらに、integrin- α 3 β 1 の発現は、接合上皮細胞の移動と早いターンオーバーに寄与し integrin- α 6 β 4 とともにヘミデスモゾームの形成に関与していることが報告されている¹⁶⁻¹⁷。

II. 接合上皮細胞および歯肉上皮細胞による生体防御能

健康歯肉組織において、接合上皮の広い細胞間隙には常に好中球が組織学的に観察されるのに対して健康な歯肉上皮では、まったく観察されない。実験的に歯肉溝にプラークを堆積させると歯肉の炎症に伴い、接合上皮内の好中球の数は増加してくる¹⁸。これらの現象は、プラークに引き寄せられて誘導するとは考えにくい。なぜなら、プラークの存在しない環境下でも好中球は存在しているのであるから、接合上皮細胞自体が好中球を誘導する生理活性物質を産生していることが予想される。実際に DBA 陽性の培養接合上皮細胞から無刺激で IL-8 (好中球走化性因子) や secretory

leukocyte protease inhibitor (SLPI ; 分泌性白血球プロテアーゼ阻害剤) が産生することが明らかにされた⁶。また、Tonetti ら^{4, 19}は、健康な接合上皮において、多形核白血球の存在と IL-8 mRNA の発現を見出している。さらに四元ら⁶は、炎症性サイトカインである IL-1 や TNF- α の刺激に対しての IL-8 産生を調べた。その結果、培養接合上皮細胞は、培養口腔上皮細胞に比べて IL-1 と TNF- α の高濃度刺激で、IL-8 産生が増加することを示した。そして、これらの産生物質は、炎症性サイトカインである IL-1 α , TNF- α 刺激により濃度依存的に増加する。従って、接合上皮細胞が、結合組織内に浸潤した白血球を歯肉溝内へ積極的に誘導し生体防御に関与していることが考えられる。

また、歯肉の防御因子として、抗菌性ペプチドである defensin の存在が明らかにされている。歯肉上皮のうち、口腔上皮には内因性の β -defensin が、また、接合上皮には外来性の α -defensin が検出されている。これらの抗菌性ペプチドは上皮表層において防御機構の一助を担っていると考えられている²⁰。このような抗菌性ペプチドを用いて歯周病を含めた口腔感染症の治療・予防が期待されている。

III. 歯周病とトロンボモジュリン (thrombomodulin)

感染/炎症/外傷と凝固は密接に関与している²¹。活性化型血液凝固第 X 因子 (Xa) と thrombin tissue factor (TF)-VIIa 複合体は、向炎症作用を有する²²⁻²³。また、トロンピンは線維芽細胞、単球などから monocyte chemotactic protein (MCP-1) や IL-6 の産生を誘導し²⁴、血管内皮細胞から IL-6, IL-8 の産生を誘導することが報告されている²⁵。

血管内皮細胞は、血液が血管中を円滑に流れるように凝固系を制御し抗凝固的に作用している²⁶⁻²⁷。その作用の一つに血管内皮細胞膜に存在する糖タンパク thrombomodulin (TM) がトロンピンを凝固酵素から抗凝固酵素へ変換し、protein C を活性化する機構がある (図 3)。この TM は、表皮を含め口腔上皮と接合上皮にも存在することが知られている²⁸。また、血液中や尿中にも soluble form (sTM) として存在することが明らかになっており、全身性の血管障害を合併することが知られている膠原病や糖尿病で、血中 sTM が高値を示す。現在では、TM は抗血栓作用以外に抗炎症²⁹⁻³⁰などの多機能を有していることが報告されている。一方、トロンピンは、向炎症作用³¹と凝固作用³²があり、また、トロンピン受容体である protease-activated receptors (PAR)-1 と結合し、そのシグナル

は、NF-κB を活性化し、向炎症作用を有する³³⁾。

歯周病と TM との関連性について幾つか報告されている。筆者は、以下の点を明らかにした。

- 1) 歯周病患者の歯肉溝滲出液中 TM 濃度は、炎症を有した部位で有意に高い。
- 2) 炎症巣の口腔上皮細胞表面の TM 発現は減弱して

おり、細胞表面からの TM が分解している(図4)²⁶⁾。

- 3) 歯肉上皮細胞を好中球エラストラーゼで処理すると培養上清中の TM 濃度が急速に高くなり、その中和抗体で TM 遊離は抑制される。

以上のことから TM は歯周病患者における歯肉上皮細胞膜障害のマーカーになりうることを示唆した³⁴⁾。

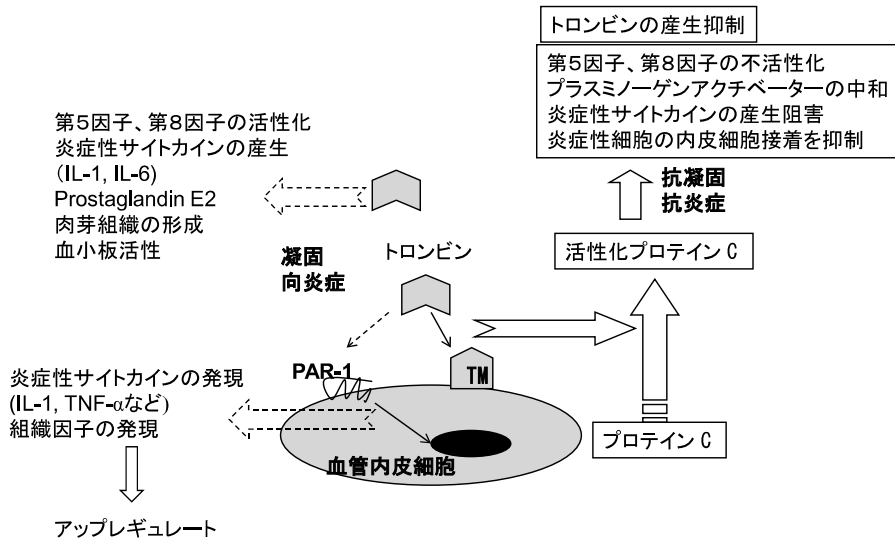


図3：トロンボモジュリン (TM) の役割
PAR-; Protease Activated Receptors-

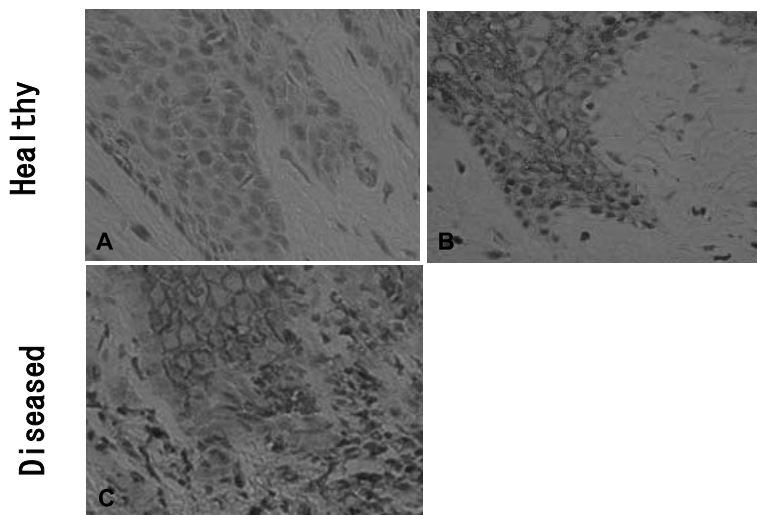


図4：健康歯肉 (Healthy) と炎症歯肉 (Diseased) の TM 染色
A ; メチルグリーン染色, B ; TM 染色, C ; TM 染色

また、筆者らは、歯周病原性細菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* のタンパク分解酵素であるジンジパインは血管内皮細胞の TM を分解あるいは不活化することを明らかにした³⁵⁾。以上のことから、TM は、微小血管内皮細胞と歯肉上皮細胞の発現低下を通して、歯周炎病態の発症と進行に関与していると考えられる。さらに、歯周治療時の1回で行う全顎的な歯肉縁下デブリドメント施行は、4回に分けたデブリドメントより一時的に血中 IL-6 の血中濃度を増加させ、sTM 濃度が一時的に有意に減少することが示されており、血中 sTM は、歯周治療時の一時的な外傷、炎症メディエーターのわずかな増加にも影響を受けることが示唆されている³⁶⁾。

IV. 歯周病と MHC 分子

自分がないものを非自己、すなわち侵入者であることを認識して排除する免疫は、免疫担当細胞がお互いをうまく認識する連携プレーが基本になり正常に働いていることによる。この連携プレーに不可欠なものが、主要組織遺伝子複合体 (major histocompatibility complex, MHC) によってコードされた MHC 抗原である。MHC 分子は、すべての有核細胞に存在するクラス II 抗原と、マクロファージなど抗原提示細胞などに存在するクラス III 抗原の2種類がある。MHC クラス II 抗原は、主としてマクロファージや樹状細胞など抗原提示細胞に発現している。マクロファージなどは、外来性タンパクをペプチドに分解し、MHC 分子を介してヘルパー T 細胞に抗原提示する。T 細胞レセプター (T cell receptor, TCR) は、抗原提示細胞 MHC 分子先端の溝に提示されたペプチドを認識し、細胞内に活性化シグナルを送る。マクロファージや樹状細胞は、CD28 に結合し補助シグナルを送るための B7 (CD80/CD86) を発現している。T 細胞活性化には、シグナル 1 (TCR からのシグナル) とシグナル 2 (CD28 からのシグナル) である補助シグナルが不可欠である。シグナル 2 を欠いたシグナル 1 のみの刺激が入ると T 細胞は、機能停止状態になり (アナジー化される)、二つのシグナルが入るとクローン増殖しサイトカインの産生が誘導される。また、活性化した T 細胞と B 細胞は、破骨細胞分化因子である receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) を発現し、破骨細胞の分化を促進し、歯周病の歯槽骨吸収に寄与する³⁷⁾。歯周炎に罹患した歯肉組織には、多くの T リンパ球の浸潤が認められ (図 5)、他に B リンパ球と抗体産生をする形質細胞の浸潤も認められる。標的細胞での MHC 分

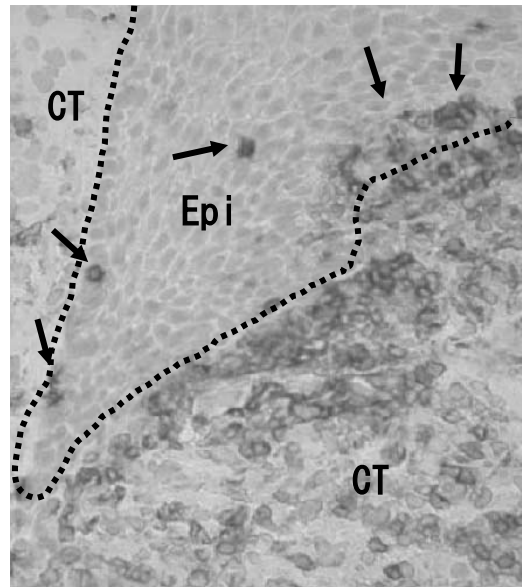


図 5 : T 細胞 (矢印) の歯肉上皮内への浸潤
CT ; 結合組織 Epi ; 歯肉上皮

子発現の異常 (異所性発現) は、自己免疫疾患において自己抗原に対する免疫応答を増強させるように、十分その病因となりうる。たとえば、自己免疫性甲状腺疾患の甲状腺細胞や関節リウマチの滑膜組織に異所性発現が認められている³⁸⁻³⁹⁾。歯周疾患においても MHC 分子 (HLA-DR) がダウン症患者の炎症歯肉上皮で強発現していることが報告されている⁴⁰⁾。同様に、慢性歯周炎患者における歯肉上皮での同分子の発現が認められている⁴¹⁻⁴²⁾。近年では、非抗原提示細胞である歯肉線維芽細胞の MHC 分子刺激は、IL-8 や monocyte-chemotactic protein-1 (MCP-1) の産生促進のみならず、血管内皮細胞を増殖し血管新生に寄与していることが示唆されている⁴³⁻⁴⁴⁾。したがって、歯周病患者によってさまざまな病態を示す理由の一つに、個人の免疫応答性を司る MHC 分子の発現程度の差によることが考えられる。

V. 歯肉上皮細胞による抗原提示

筆者は、成人性歯周炎患者の歯肉上皮に MHC class II, CD80 発現が免疫組織化学的に検出され CD86 は検出されないことを示したうえで、ラット歯肉上皮細胞の interferon (IFN)- γ 誘導性 MHC class II 発現の機能解析を *Aggregatibacter. Actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) の outer membrane protein

(OMP) 29-特異的 T 細胞クローンを用いて報告した (図 6)⁴⁵⁾。すなわち、IFN- γ 処理した歯肉上皮細胞に死菌 (*A. actinomycetemcomitans*) を添加して 3 日間インキュベートしたのち、さらに歯肉上皮細胞を T 細胞クローンと共培養すると、T 細胞クローンは、スーパー抗原を介在することなく増殖活性を示す興味深い結果を得た。また、この T 細胞増殖は、歯肉上皮細胞からの MHC class あるいは CD80 シグナルを介したものであった。歯周炎患者の病巣部で歯肉上皮細胞が細菌抗原に対して獲得免疫応答を引き起こす可能性を示唆した。

一方、マウスの好中球は MHC class と CD80/CD86 の両分子を発現しており、ovalbumine 323-339 特異的 T 細胞との共培養下で、T 細胞に対して MHC class 拘束性の抗原提示と増殖を誘導し、向炎症作

用に寄与していることを示唆している⁴⁶⁾。

このような非抗原提示細胞による T 細胞の活性化は、過剰な免疫応答を局所で誘発することになり歯周病態をさらなる悪化へ導く可能性が考えられる。

VI. 再生療法における歯肉上皮細胞の制御

通常のフラップ手術により得られる治癒は、組織学的には本来の形態とは異なり、根面への長い接合上皮性付着を示し、ほとんど歯槽骨の再生は望めない (図 7 A)。歯周組織欠損部では、歯周外科後の露出根面周囲に沿って、増殖する細胞がどのタイプの細胞 (上皮, 結合組織, 骨, 歯根膜) であるかによって、治癒形態が決定すると考えられている⁴⁷⁾。Nyman⁴⁸⁻⁴⁹⁾ や Karring⁵⁰⁾ らは一連の動物実験を行った結果、骨が根面に早く到達増殖すると骨癒着、結合組織が早く到達す

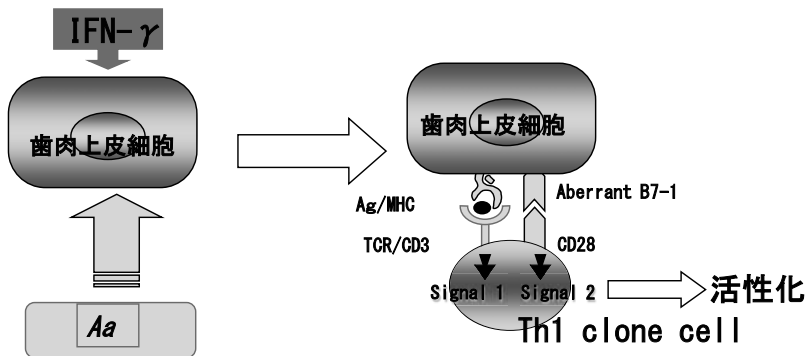


図 6 : 歯肉上皮細胞と T 細胞の相互作用

IFN- γ : Interferon- γ , Aa: *A. actinomycetemcomitans* MHC: Major histocompatibility complex, Ag: Antigen, TCR: T cell receptor

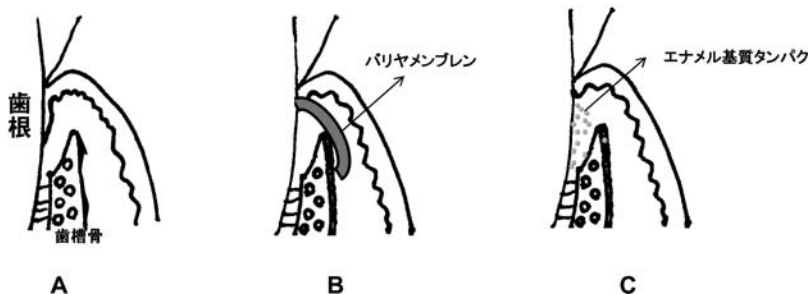


図 7 : フラップ手術と再生療法における歯肉上皮の下方増殖

A: フラップ手術後の上皮下方増殖 B: GTR 法処置後の上皮下方増殖抑制
C: エナメル基質タンパク使用後の上皮下方増殖抑制

ると歯根吸収を招き、上皮が早く到達すると長い接合上皮付着を起こすことを証明した。一般には、上皮の増殖する速度が早いので、歯周外科後の治癒形態は、長い接合上皮形態をとることが多いのは理にかなった現象なのである。以上の生物学的根拠に基づいて、新付着を得るためのさまざまな歯周組織再生療法が開発された。現在では、バリアメンブレンを用いて外側の歯肉上皮および結合組織を物理的に遮断した歯周組織再生誘導 (GTR; guided tissue regeneration) 法 (図 7 B)

やブタのエナメル基質タンパク質製剤注入により歯肉上皮の欠損部下方増殖、侵入を化学的に抑制し、歯周組織を積極的に再生させる手法 (パイオリジェネレーション法) が行われている (図 7 C)。しかし、これら手法による歯周組織再生の適応症には限界があり、治療成績は、歯槽骨欠損の程度や内在性細胞数に影響を受けている。また、異種タンパク質製剤使用による感染のリスクを否定できない。以上の点から歯周組織活性を有する細胞増殖因子や細胞を用いた次世代型再生療法の開発が期待されている。一方、歯科インプラント治療の偶発症となるインプラント周囲炎においても、慢性持続性感染とそれに引き続き起こる著しい歯槽骨喪失を改善させるための新たな再生療法の確立が期待される (図 8)。



図 8 : インプラント周囲炎による著しい歯槽骨欠損 (矢印)

おわりに

歯周病は、プラーク細菌の感染によって惹き起こされる炎症反応の結果であるが、歯肉上皮はその最前線で、さまざまな分子を発現あるいは液性因子を分泌して生体を防御している (図 9)。最近では、歯肉上皮細胞との好中球接着には、歯肉上皮細胞による aquaporin 3 (水チャネル分子) 発現と ICAM-1 発現が必要とされるデータが示されている (図10)⁵¹⁾。従って、歯肉上皮細胞のさまざまな分子レベルの働きを理解することは、歯周病の発症と進行についてのメカニ

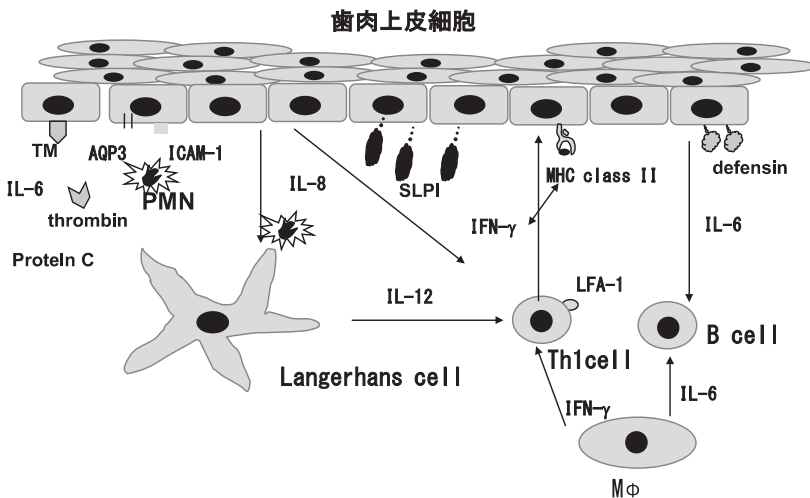


図 9 : 歯肉上皮細胞と免疫担当細胞との相互作用

PMN; Polymorphonuclear leukocyte, SLPI; Secretory leukocyte protease inhibitor, Mφ; Macrophage, AQP; Aquaporin, TM; Thrombomodulin, RANKL; Receptor activator of NF-κB ligand, ICAM-; Intercellular adhesion molecule-

ズムを深めるだけでなく、歯肉上皮細胞の下方増殖を制御するうえでも重要となる。

今後、歯肉上皮細胞の分子レベルでの研究を遂行していく中で、歯肉上皮細胞を中心とした細胞間ネットワークを解明し、歯周病の早期診断・効果的な歯周組織再生、さらには歯周病への予防に役立てたいと考えている。

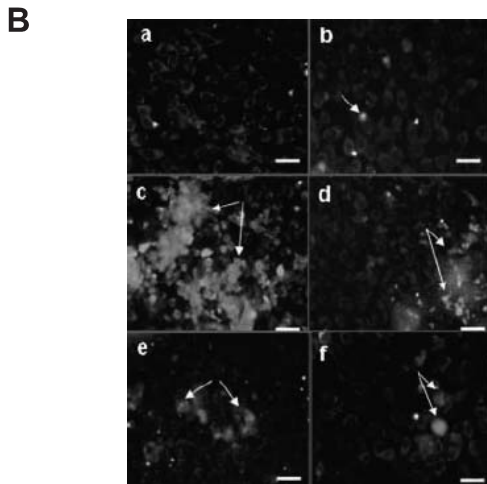
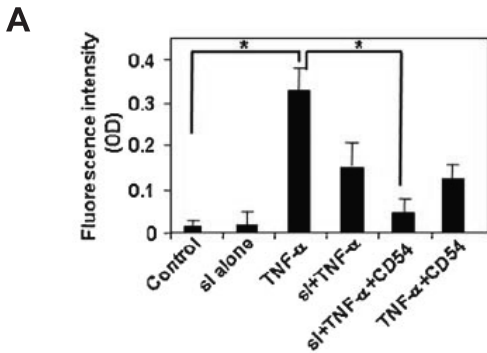


図10 : Ca9-22細胞と好中球の接着に AQP3と CD54分子が関与

A; TNF- α 存在下, AQP3siRNA または CD54 抗体 (CD54) 前処理した Ca9-22 細胞と蛍光標識した好中球との共培養30分後の付着蛍光強度の測定。
(* $P < 0.0001$)

B; TNF- α 存在下, AQP3siRNA または CD54 抗体前処理した Ca9-22 細胞と蛍光標識した好中球との共培養30分後の付着蛍光物観察像

a; Ca9-22 alone, b; CTRN, c; TNF- α , d; TNF- α + si, e; TNF- α + si + CD54, f; TNF- α + CD54

AQP; Aquaporin, TNF; Transforming growth factor, si; small interfering, CTRN; TNF receptor I and II antibody for neutralizing

謝 辞

本稿をまとめるにあたり、行われた研究の一部は、文部科学省科学研究費 (No. 06771733, No. 08877288, No. 13672193) の補助を受けた。

文 献

- 1) Kaiser, V. and Diamond, G. Expression of mammalian defensin genes. *J Leukoc Biol* 68, 779-784, 2000
- 2) Mahalingam, S. and Karupiah, G. Chemokines and chemokine receptors in infectious diseases. *Immunol Cell Biol* 77, 469-475, 1999
- 3) Johnson, G.K. and Organ, C.C. Prostaglandin E2 and interleukin-1 concentrations in nicotine-exposed oral keratinocyte cultures. *J Periodontal Res* 32, 447-454, 1997
- 4) Tonetti, M.S., Imboden, M.A., Gerber, L., Lang, N.P., Laissue, J. and Mueller, C. Localized expression of mRNA for phagocyte-specific chemotactic cytokines in human periodontal infections. *Infect Immun* 62, 4005-4014, 1994
- 5) Yamamoto, T., Osaki, T., Yoneda, K. and Ueta, E. Cytokine production by keratinocytes and mononuclear infiltrates in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 23, 309-315, 1994
- 6) 四元幸治. ヒト培養接合上皮細胞における Interleukin-8 及び Secretory Leukocyte Protease Inhibitor の産生能について. *日歯周誌* 39, 23-30, 1997
- 7) Paquette, D.W., Madianos, P., Offenbacher, S., Beck, J.D. and Williams, R.C. The concept of "risk" and the emerging discipline of periodontal medicine. *J Contemp Dent Pract* 1, 1-8, 1999
- 8) Williams, R.C. and Offenbacher, S. Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontol* 2000 23, 9-12, 2000
- 9) Altman, L.C., Nelson, C.L., Povolny, B., Fleckman, P., Dale, B.A., Maier, R.V., Soderland, C. and Baker, C. Culture and characterization of rat junctional epithelium. *J Periodontal Res* 23, 91-99, 1988
- 10) 松山孝司. ヒト培養接合上皮細胞の免疫細胞化学的及び超微形態学的研究. *日歯周誌* 38, 20-31, 1996
- 11) Salonen, J.I., Kautsky, M.B. and Dale, B.A. Changes in cell phenotype during regeneration of junctional epithelium of human gingiva in vitro. *J Periodontal*

- Res 24, 370-377, 1989
- 12) Bampton, J.L., Shirlaw, P.J., Topley, S., Weller, P. and Wilton, J.M. Human junctional epithelium: demonstration of a new marker, its growth in vitro and characterization by lectin reactivity and keratin expression. *J Invest Dermatol* 96, 708-717, 1991
 - 13) Mackenzie, I.C. and Gao, Z. Patterns of cytokeratin expression in the epithelia of inflamed human gingiva and periodontal pockets. *J Periodontal Res* 28, 49-59, 1993
 - 14) Matsuyama, T., Izumi, Y. and Sueda, T. Culture and characterization of human junctional epithelial cells. *J Periodontol* 68, 229-239, 1997
 - 15) Hormia, M., Sahlberg, C., Thesleff, I. and Airenne, T. The epithelium-tooth interface--a basal lamina rich in laminin-5 and lacking other known laminin isoforms. *J Dent Res* 77, 1479-1485, 1998
 - 16) Goldfinger, L.E., Hopkinson, S.B., deHart, G.W., Collawn, S., Couchman, J.R. and Jones, J.C. The alpha3 laminin subunit, alpha6beta4 and alpha3beta1 integrin coordinately regulate wound healing in cultured epithelial cells and in the skin. *J Cell Sci* 112 (Pt 16), 2615-2629, 1999
 - 17) Shimono, M., Ishikawa, T., Enokiya, Y., Muramatsu, T., Matsuzaka, K., Inoue, T., Abiko, Y., Yamaza, T., Kido, M.A., Tanaka, T. and Hashimoto, S. Biological characteristics of the junctional epithelium. *J Electron Microsc (Tokyo)* 52, 627-639, 2003
 - 18) Page, R.C. and Schroeder, H.E. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 34, 235-249, 1976
 - 19) Tonetti, M.S. Molecular factors associated with compartmentalization of gingival immune responses and transepithelial neutrophil migration. *J Periodontal Res* 32, 104-109, 1997
 - 20) Dale, B.A., Kimball, J.R., Krisanaprakornkit, S., Roberts, F., Robinovitch, M., O'Neal, R., Valore, E.V., Ganz, T., Anderson, G.M. and Weinberg, A. Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *J Periodontal Res* 36, 285-294, 2001
 - 21) Esmon, C.T. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 131, 417-430, 2005
 - 22) Altieri, D.C. Molecular cloning of effector cell protease receptor-1, a novel cell surface receptor for the protease factor Xa. *J Biol Chem* 269, 3139-3142, 1994
 - 23) Camerer, E., Huang, W. and Coughlin, S.R. Tissue factor- and factor X-dependent activation of protease-activated receptor 2 by factor VIIa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 5255-5260, 2000
 - 24) Johnson, K., Choi, Y., DeGroot, E., Samuels, I., Creasey, A. and Aarden, L. Potential mechanisms for a proinflammatory vascular cytokine response to coagulation activation. *J Immunol* 160, 5130-5135, 1998
 - 25) Johnson, K., Aarden, L., Choi, Y., De Groot, E. and Creasey, A. The proinflammatory cytokine response to coagulation and endotoxin in whole blood. *Blood* 87, 5051-5060, 1996
 - 26) Maruyama, I. The regulation of blood coagulation by the endothelium. *Nippon Ketsueki Gakkai Zasshi* 49, 1610-1617, 1986
 - 27) Esmon, C.T. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 264, 4743-4746, 1989
 - 28) Matsuyama, T., Izumi, Y., Shibata, K., Yotsumoto, Y., Obama, H., Uemura, M., Maruyama, I. and Sueda, T. Expression and activity of thrombomodulin in human gingival epithelium: in vivo and in vitro studies. *J Periodontal Res* 35, 146-157, 2000
 - 29) Van de Wouwer, M. and Conway, E.M. Novel functions of thrombomodulin in inflammation. *Crit Care Med* 32, S254-261, 2004
 - 30) Abeyama, K., Stern, D.M., Ito, Y., Kawahara, K., Yoshimoto, Y., Tanaka, M., Uchimura, T., Ida, N., Yamazaki, Y., Yamada, S., Yamamoto, Y., Yamamoto, H., Iino, S., Taniguchi, N. and Maruyama, I. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism. *J Clin Invest* 115, 1267-1274, 2005
 - 31) Sower, L.E., Froelich, C.J., Carney, D.H., Fenton, J.W., 2nd and Klimpel, G.R. Thrombin induces IL-6 production in fibroblasts and epithelial cells. Evidence for the involvement of the seven-transmembrane domain (STD) receptor for alpha-thrombin. *J Immunol* 155, 895-901, 1995
 - 32) Stern, D.M., Bank, I., Nawroth, P.P., Cassimeris, J., Kisiel, W., Fenton, J.W., 2nd, Dinarello, C., Chess, L. and Jaffe, E.A. Self-regulation of procoagulant events on the endothelial cell surface. *J Exp Med* 162, 1223

- 1235, 1985
- 33) Maruyama, Y., Maruyama, I. and Soejima, Y. Thrombin receptor agonist peptide decreases thrombomodulin activity in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 199, 1262-1269, 1994
 - 34) Matsuyama, T., Tokuda, M. and Izumi, Y. Significance of thrombomodulin release from gingival epithelial cells in periodontitis patients. *J Periodontal Res* 43, 379-385, 2008
 - 35) Inomata, M., Ishihara, Y., Matsuyama, T., Imamura, T., Maruyama, I., Noguchi, T. and Matsushita, K. Degradation of vascular endothelial thrombomodulin by arginine- and lysine-specific cysteine proteases from *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol* 80, 1511-1517, 2009
 - 36) Ushida, Y., Koshy, G., Kawashima, Y., Kiji, M., Umeda, M., Nitta, H., Nagasawa, T., Ishikawa, I. and Izumi, Y. Changes in serum interleukin-6, C-reactive protein and thrombomodulin levels under periodontal ultrasonic debridement. *J Clin Periodontol* 35, 969-975, 2008
 - 37) Kawai, T., Matsuyama, T., Hosokawa, Y., Makihira, S., Seki, M., Karimbux, N.Y., Goncalves, R.B., Valverde, P., Dibart, S., Li, Y.P., Miranda, L.A., Ernst, C.W., Izumi, Y. and Taubman, M.A. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol* 169, 987-998, 2006
 - 38) Hamilton, F., Black, M., Farquharson, M.A., Stewart, C. and Foulis, A.K. Spatial correlation between thyroid epithelial cells expressing class II MHC molecules and interferon-gamma-containing lymphocytes in human thyroid autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 83, 64-68, 1991
 - 39) Navarrete Santos, A., Kehlen, A., Schutte, W., Langner, J. and Riemann, D. Regulation by transforming growth factor-beta1 of class II mRNA and protein expression in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Int Immunol* 10, 601-607, 1998
 - 40) Sohoel, D.C., Johannessen, A.C., Kristoffersen, T. and Nilsen, R. Expression of HLA class II antigens in marginal periodontitis of patients with Down's syndrome. *Eur J Oral Sci* 103, 207-213, 1995
 - 41) Crawford, J.M. Distribution of ICAM-1, LFA-3 and HLA-DR in healthy and diseased gingival tissues. *J Periodontal Res* 27, 291-298, 1992
 - 42) Nunes, I.P., Johannessen, A.C., Matre, R. and Kristoffersen, T. Epithelial expression of HLA class II antigens and Fc gamma receptors in patients with adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 21, 526-532, 1994
 - 43) Shimabukuro, Y., Murakami, S. and Okada, H. Antigen-presenting-cell function of interferon gamma-treated human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 31, 217-228, 1996
 - 44) Okada, Y., Meguro, M., Ohyama, H., Yoshizawa, S., Takeuchi-Hatanaka, K., Kato, N., Matsushita, S., Takashiba, S. and Nishimura, F. Human leukocyte histocompatibility antigen class II-induced cytokines from human gingival fibroblasts promote proliferation of human umbilical vein endothelial cells: potential association with enhanced angiogenesis in chronic periodontal inflammation. *J Periodontal Res* 44, 103-109, 2009
 - 45) Matsuyama, T., Kawai, T., Izumi, Y. and Taubman, M.A. Expression of major histocompatibility complex class II and CD80 by gingival epithelial cells induces activation of CD4+ T cells in response to bacterial challenge. *Infect Immun* 73, 1044-1051, 2005
 - 46) Culshaw, S., Millington, O.R., Brewer, J.M. and McInnes, I.B. Murine neutrophils present Class II restricted antigen. *Immunol Lett* 118, 49-54, 2008
 - 47) Melcher, A.H. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 47, 256-260, 1976
 - 48) Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J. and Planten, S. Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *J Clin Periodontol* 7, 394-401, 1980
 - 49) Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. and Rylander, H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 9, 290-296, 1982
 - 50) Karring, T., Nyman, S. and Lindhe, J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol* 7, 96-105, 1980
 - 51) Tancharoen, S., Matsuyama, T., Abeyama, K., Matsushita, K., Kawahara, K., Sangalungkarn, V., Tokuda, M., Hashiguchi, T., Maruyama, I. and Izumi,

Y. The role of water channel aquaporin 3 in the mechanism of TNF-alpha-mediated proinflammatory events: Implication in periodontal inflammation. *J Cell Physiol* 217, 338-349, 2008