

歯周疾患の発症と進行における白血球の役割

和 泉 雄 一

鹿児島大学歯学部 歯科保存学講座 2

Role of the leukocytes in periodontal health and disease.

Yuichi Izumi

Department of Periodontology, Kagoshima University Dental School,
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890, Japan

Abstract :

Leukocytes are involved in the cellular and humoral defense of the organism against foreign material. The protective function of the leukocytes is demonstrated by the fact that the patients with leukocyte disorders present unusually rapid and severe periodontal disease. In addition, the patients with early onset or rapidly progressing forms of periodontal disease often exhibit relatively subtle leukocyte defects.

Granulocytes, comprised in the leukocytes, have two distinct cytoplasmic lysosomal granules that contain specific enzyme activities capable of degrading bacterial cell walls as well as host tissues. A variety of proteases released from granulocytes may play a destructive role in periodontal tissue components. Much has examined the potential of measuring levels of various substances found in gingival crevicular fluid (GCF) as indicators of periodontal disease progression. The levels of elastase and cathepsin G discharged from lysosome of granulocyte are elevated in the GCF of the patients with gingivitis and periodontitis. The activity of these enzymes is modulated by specific inhibitors either locally or circulating in plasma. Our investigation that examined the possible relationship between periodontal clinical parameters and GCF elastase, cathepsin G and their inhibitor complex levels may be developed to clarify the periodontal disease activity.

HLA system, regulating the immune response, have been found to be associated with various diseases, especially autoimmune diseases. Several studies have demonstrated the linkage between HLA system and early onset and rapidly progressing forms of periodontal disease. HLA system may be associated with low or non-responsiveness to plaque bacterial antigens which could result in disease progression.

Key words :

Periodontal disease; Leukocytes; Chemotaxis; Lysosomal enzymes; Human Leukocyte Antigen.

I. はじめに

現在、歯周疾患の大部分は、歯面に付着するプラーク中に含まれる細菌の感染とそれに対する生体側の反応によって、発症し、進行すると考えられている。

歯肉溝にプラークが堆積すると2～4日以内に接合上皮直下の結合組織に急性の滲出性炎がみられるようになる¹⁾。それに伴い、歯肉溝へ遊出してくる白血球の数は増加する²⁾。健康な歯周組織においても、歯肉溝への白血球の遊出はみられるが、歯肉の炎症の進展に伴って、その数は大幅に増加する³⁾。歯肉溝中に遊出してくる白血球の構成は、95～97%が多形核白血球であり、2～3%が単球、1～2%がリンパ球という割合である⁴⁾。

II. 歯肉溝中の白血球

歯肉溝中に遊出してきた多形核白血球はプラーク細菌を貪食することによって、生体防御の最前線で活発に働いている⁵⁾。すなわち、白血球は歯面に付着したプラークと歯肉溝上皮あるいは歯周ポケット上皮との間に Leukocyte wall と呼ばれる壁をつくり、さらに、上皮内では Antibody-Complement-Neutrophil Axis と呼ばれる生体防御機構を形成し、プラーク細菌の歯肉内への侵入を防いでいる。その Axis を突破した細菌は結合組織中で Monocyte-Cytokine-Lymphocyte Axis にトラップされ生体中への侵入を妨げられている⁶⁾。

しかし、一方では多形核白血球は細胞内の顆粒中にライソゾーム酵素を持ち、歯肉溝や歯周ポケット中のプラーク細菌に対して食作用を示す時や異物と接触し

た時などに、顆粒中のライソゾーム酵素を細胞外へ放出することが観察されている⁷⁻⁹⁾。ライソゾーム酵素の中には蛋白分解酵素が含まれており、放出された周囲の歯周組織は障害を受けると考えられている。

また、白血球は活性酸素を産生することによって殺菌作用を示すが、反面、歯周組織に障害を与える場合もある¹⁰⁾。

このように歯肉溝中の白血球は生体防御と組織破壊という相反する二面性を持っており、歯周疾患の発症と進行における役割について注目されている。

III. 白血球機能

白血球は多形核白血球と単球、リンパ球に分けられ、多形核白血球は更に好中球、好酸球、好塩基球に分けられる¹¹⁾。この中で最も数の多い好中球に注目すると、その機能は運動と代謝に関するものに大別される。前者としては付着能、走化能、貪食能などが挙げられ、後者としては糖・脂質代謝、核酸・タンパク質代謝、電解質輸送、活性酸素産生などが挙げられる。いずれも生体防御の最前線を担う基本的な機能である。

IV. 好中球機能と歯周疾患

多形核白血球の一種である好中球の持つさまざまな機能が失われたり、減少すると、歯周組織への細菌の侵入を許すことになり、重篤な歯周疾患に罹患することが報告されている¹²⁻¹⁵⁾。

筆者らは周期性好中球減少症の患者の歯周治療を経験した。初診時11歳であったが、すでに歯槽骨の吸

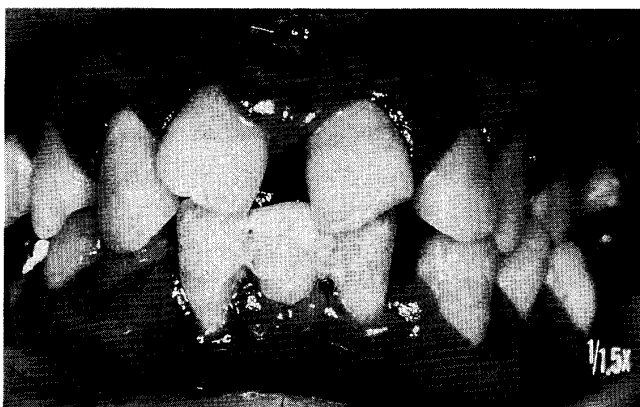


Fig. 1 : Clinical status and dental radiographs at the period of a fall in the number of circulating neutrophil leukocytes. (11-year-old male patient with cyclic neutropenia)

収は著しく、前歯部、第一大臼歯部では根尖部付近まで歯槽骨が吸収していた。この患者の場合、3週間毎に好中球数の顕著な減少を示し、減少時には著しい歯肉の発赤、腫脹が観察された(Fig.1)。現在21歳であるが、歯周疾患の進行を止めることができず、上顎ではほとんどの歯を喪失している(Fig.2)。

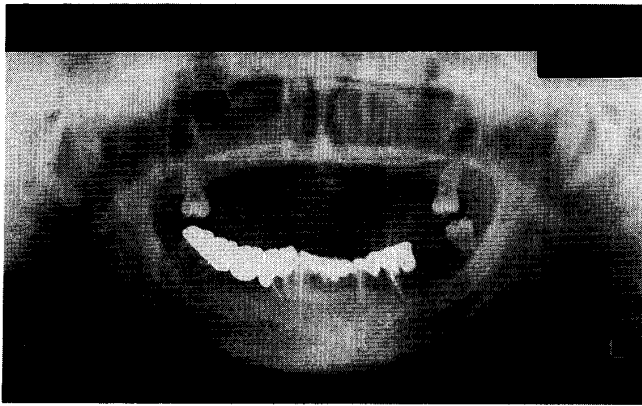


Fig. 2 : Orthopantomographic view of the same patient as Fig. 1 at 21 years of age.

そのほかに好中球機能異常を持つ疾患で、著しい歯槽骨吸収がみられる疾患には慢性肉芽腫症¹³⁾、Chediak-Higashi症候群¹⁴⁾や白血球粘着異常症¹⁵⁾などがある。

ダウン症候群患者は、若年時に歯周疾患の罹患率が高く、しかも重症な症状を呈することが知られている¹⁶⁾。その原因のひとつとして好中球^{17) 18)}、単球機能¹⁹⁾の異常が示唆されている。

筆者らは、歯周疾患と白血球機能との関係を明らかにするひとつの方法²⁰⁾として、ダウン症候群患者を対象に歯周組織破壊と好中球機能、特に走化能との関連性を検索した²¹⁾。その結果、ダウン症候群患者では一般健常人と比べて好中球の走化能が低下している

ことが確認でき、また、走化能の低下している患者では歯周疾患の進行が認められた(Fig. 3,4,5)。

Cianciolaら²²⁾は若年性歯周炎患者の末梢白血球の走化能が健常者や他の病型の歯周疾患患者に比べて低下していることを最初に報告した。その後、歯周疾患と好中球機能との関連は精力的に研究²³⁻³⁰⁾された結果、特に、若年性歯周炎患者の約75%に好中球走化能の低下がみられる事が示され³¹⁾、この低下は歯周治療後も回復しないことが示された³²⁾³³⁾。しかし、若年性歯周炎患者の好中球走化能には異常がないという報告³⁴⁻³⁶⁾もあり、好中球機能の一面だけでは歯周病の病態を説明するには不十分であろう。

V. 多形核白血球中のライソゾーム酵素

プラーク中の細菌と多形核白血球の相互作用について、多くの研究があるが、その際、多形核白血球から、ライソゾーム酵素が放出されていることが確認されている⁷⁻⁹⁾³⁷⁾。ライソゾーム酵素は細胞内では、取り込まれた異物の消化に関与するが、細胞外へ放出された場合、周囲の組織に障害を与え、炎症の発症と進行に重要な役割を果たすことが知られている。歯肉溝中に遊出してきた白血球はライソゾーム酵素という観点から、歯周組織破壊に関与している可能性がある。

そのような観点から、筆者ら³⁸⁾³⁹⁾は多形核白血球由来のライソゾーム酵素が *in vitro* および *in vivo* において、歯周組織にどのような影響を与えているかについて検索した。その結果、ライソゾーム酵素に含まれる中性蛋白分解酵素を歯肉に作用させることによって、歯肉上皮の破壊や結合組織中の線維の変性などが観察された(Fig.6,7)。

萩原⁴⁰⁾はウサギ下顎切歯唇側歯肉溝に、ヒト白血球から抽出した顆粒抽出液を作用させたところ、歯肉溝表面に潰瘍の形成がみられ、上皮直下に白血球を中

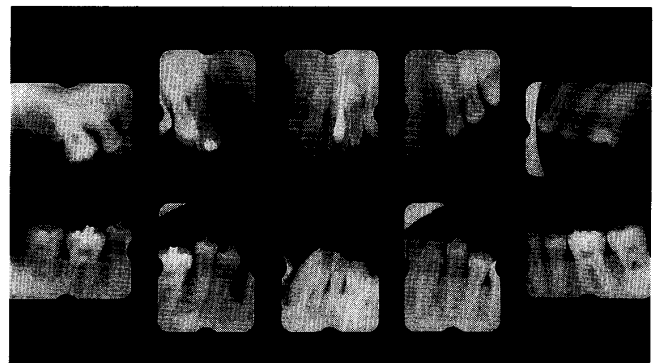
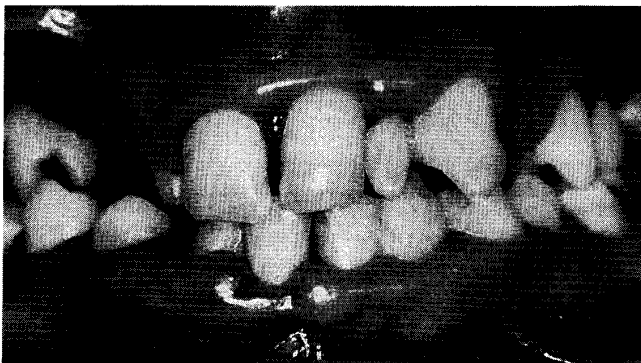


Fig. 3 : Clinical status and dental radiographs of a 16-year-old male patient with Down's syndrome and periodontitis.

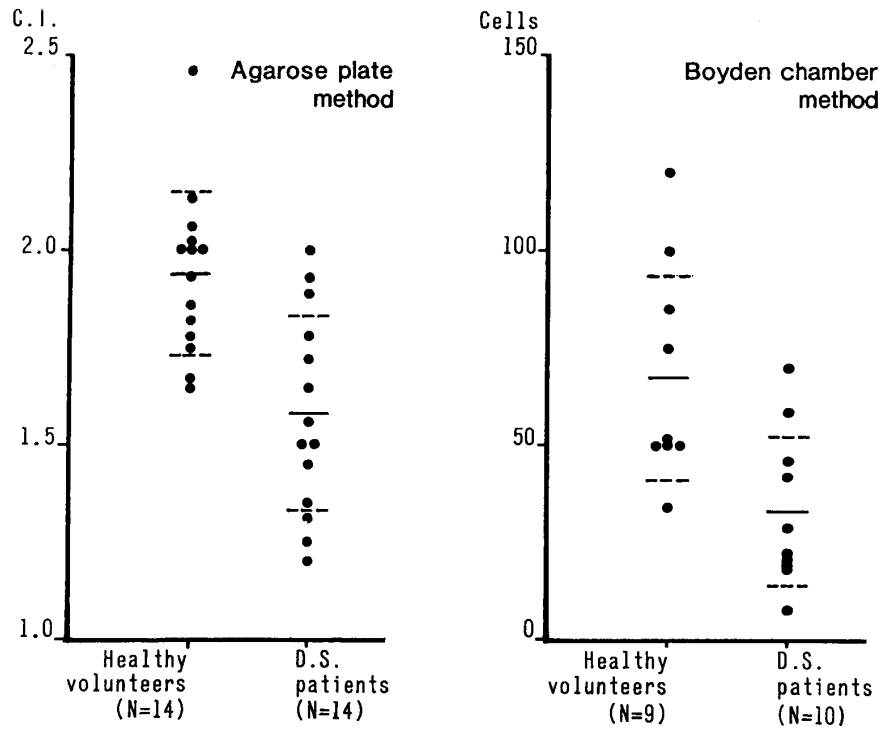


Fig. 4 : Neutrophil chemotaxis of Down's syndrome patients and healthy subjects by the agarose plate method and the Boyden chamber method. Solid and dotted lines indicate the mean and SD respectively. Down's syndrome patients showed significantly lower chemotaxis than healthy subjects. (Mann-Whitney test, $P < 0.01$) (Quoted from Izumi, Y. et al²¹⁾)

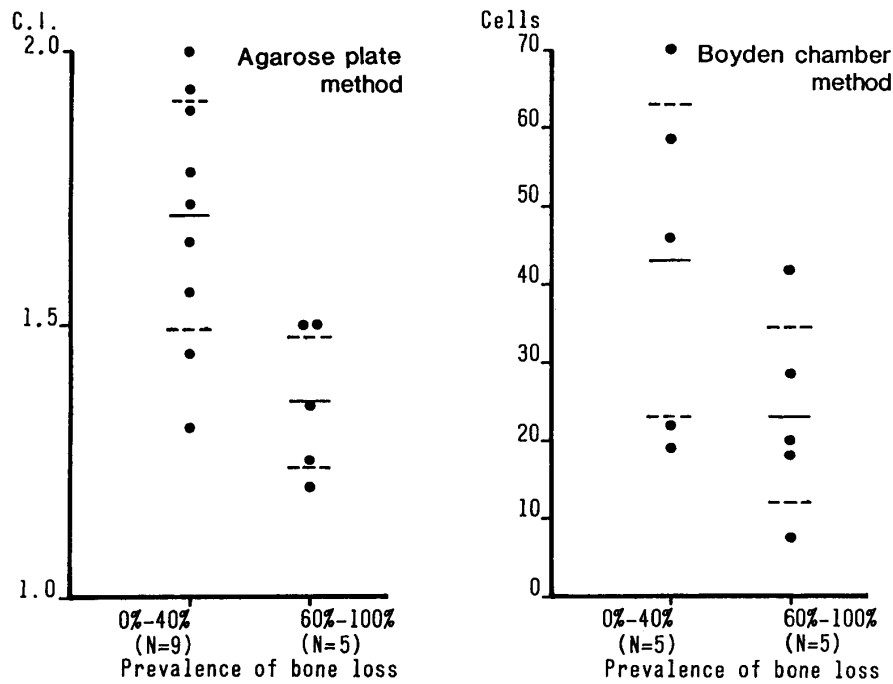


Fig. 5 : Relation between prevalence of bone loss and neutrophil chemotaxis in Down's syndrome patients. Significantly depressed chemotaxis was found in the severe bone loss group of DS patients by both methods. (Mann-Whitney test, $P < 0.01$)



Fig. 6 : Histological features of the human gingival sections incubated with either the granule extract from PMNs (left) or a saline solution (right) for 3 hours. It was showed that the granule extract destroyed the epithelial structure and degenerated the connective tissues of the gingiva. (Quoted from Izumi, Y.³⁹⁾)

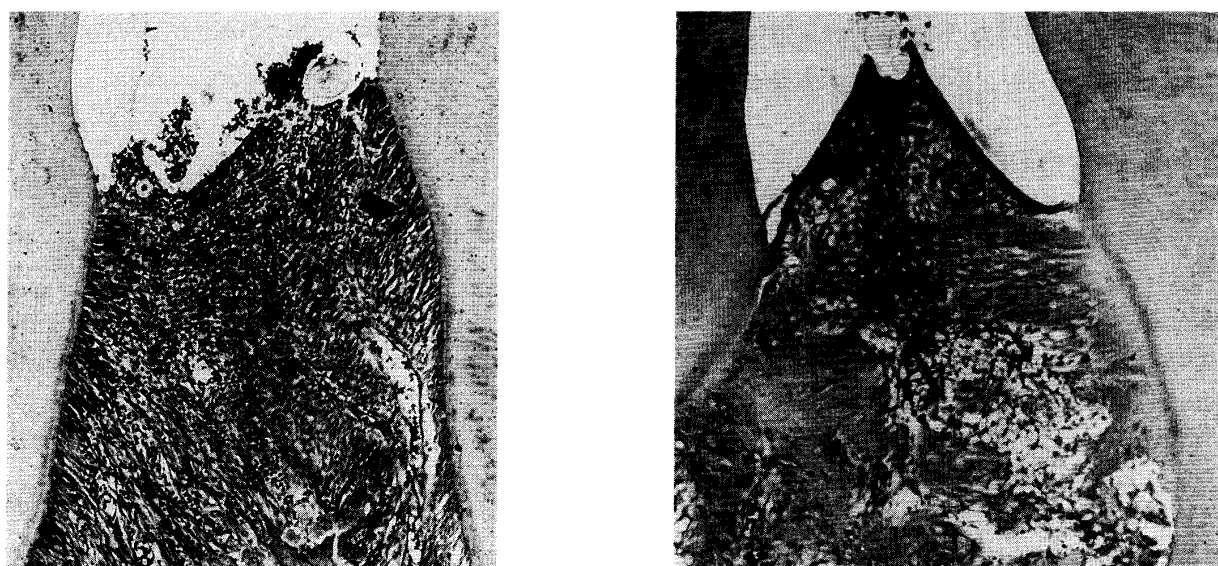


Fig. 7 : Histological features of the periodontal tissues in Wistar rats injected either the granule extract from PMNs (left) or a saline solution (right) for 5 days once a day. The experimental areas in rats showed the destruction of epithelial structure, the fibrinoid-like degeneration and the inflammatory cells infiltration. (Quoted from Izumi, Y.³⁹⁾)

心とする炎症性細胞浸潤が観察されたと報告している。さらに、Cergneuxら⁴¹⁾はヒト歯肉のbiopsyと多形核白血球ライソゾーム酵素由来のエラスターゼをincubationしたところ、歯肉上皮を中心に崩壊像がみられ、その他の部位の組織変性も観察されたと報告している。

歯肉溝中の多形核白血球のライソゾーム酵素放出は歯肉溝に堆積するプラーク中の細菌の種類によって異なることが示されている⁹⁾⁴²⁾。すなわち、*Actinomyces*

*viscosus*では病原性のある菌種と非病原性の菌種でライソゾーム酵素放出能に差があり、*B.melaninogenicus* 381 (*P.gingivalis*)は白血球から多量のライソゾーム酵素を放出させる。竹蓋³⁷⁾は*B.gingivalis* 381, *B.intermedius* 20-3, *B.melaninogenicus* ATCC15930をウサギ多形核白血球に作用させたところ、*B.gingivalis*が有意に多くのライソゾーム酵素を多形核白血球から放出させ、テトラサイクリンを加えることにより多形核白血球からのライソゾーム酵素の放出が抑制されたと報

告している。

さらに、杉山⁴³⁾は歯周疾患関連細菌と多形核白血球と一緒に培養し、口腔角化細胞に対する影響を *in vitro* において検索した。その結果、*A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *C. sputigena* と多形核白血球と一緒に培養すると、ヒト歯肉角化細胞の細胞死を伴わない細胞剥離を起こすことが観察され、この作用は、蛋白分解酵素の阻害物質で抑制されるが、catalase や SOD という活性酸素の消去剤では抑制されなかったと報告している。

これらの事から、歯周病関連細菌により多形核白血球のライソゾーム酵素放出が促され、ライソゾーム酵素に含まれるエラスターゼなどの蛋白分解酵素により上皮細胞接着に関与する蛋白質が分解されることによって、上皮細胞の剥離が起こり、細胞層の透過性の亢進につながるものと考えられる。また、LPS と FMLP によって活性化された多形核白血球はヒト歯根膜由来線維芽細胞に対しても障害作用を持つことが示されている⁴⁴⁾。

若年性歯周炎の病因に深く関与していると考えられている *A. actinomycetemcomitans*⁴⁵⁾ は、白血球に対して毒性を持つ leukotoxin を持っており、白血球溶解作用⁴⁶⁻⁴⁹⁾ を示すことによって、生体内で障害作用を發揮すると考えられている。しかし、McArthur⁵⁰⁾ は、白血球非溶解性 *A. actinomycetemcomitans* の存在を考慮して、*A. actinomycetemcomitans* の生体組織に対する病的役割は、主に、接触した多形核白血球から放出されたライソゾーム酵素による組織障害にあることを示唆している。

さらに、最近、多形核白血球由来のライソゾーム酵素が細菌の歯面への付着に影響を与えているという報告がある⁵¹⁾⁵²⁾。

白血球由来のライソゾーム酵素のひとつであるカテプシンGの働きは食作用を行った後の細菌の溶解に関係しているが、リンパ球のDNAやRNA合成を促進するという報告⁵³⁾があり、リンパ球を中心とした免疫反応にも関与している可能性が示唆されている。

VI. 歯肉溝滲出液中のライソゾーム酵素

多形核白血球の顆粒外へ放出されたライソゾーム酵素の一部は最終的に歯肉溝あるいは歯周ポケット中に存在する滲出液中に含まれる。従って、歯周組織の破壊がみられた部位は健康な部位と比べて、滲出液中の蛋白分解酵素活性が高い⁵⁴⁾。現在、歯周疾患との関連において最も興味もたれている蛋白分解酵素は、

システインプロテアーゼであるカテプシンB、H、L⁵⁵⁻⁵⁹⁾、アスパルチックプロテアーゼであるカテプシンD⁶⁰⁾⁶¹⁾、セリンプロテアーゼであるカテプシンG⁶²⁾やエラスターゼ⁵⁶⁾⁵⁹⁾⁶²⁻⁶⁶⁾、メタロプロテアーゼであるコラゲナーゼ⁶⁶⁻⁶⁸⁾などである。

蛋白分解酵素は生体中に放出されると血清由来のインヒビターと結合することにより不活性化される。例えばエラスターゼやカテプシンGは血清由来の $\alpha 1$ -アンチトリプシン、 $\alpha 1$ -アンチキモトリプシン、 $\alpha 2$ -マクログロブリンなどと結合して複合体を形成し、すぐに不活性化される⁶⁹⁾。そこで、歯肉溝あるいは歯肉組織中で起きている炎症反応を正確に把握するために、歯肉溝滲出液中に含まれる多形核白血球由来のエラスターゼとカテプシンGおよびそのインヒビター

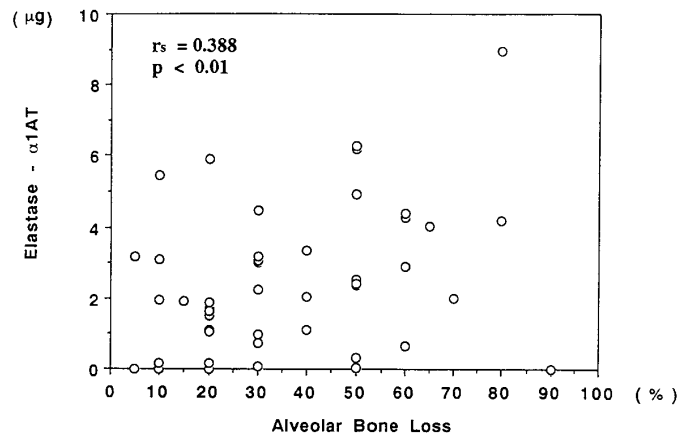


Fig. 8 : Correlation between alveolar bone loss and elastase- $\alpha 1$ antitrypsin.
(Quoted from Izumi, Y. et al.⁷⁰⁾)

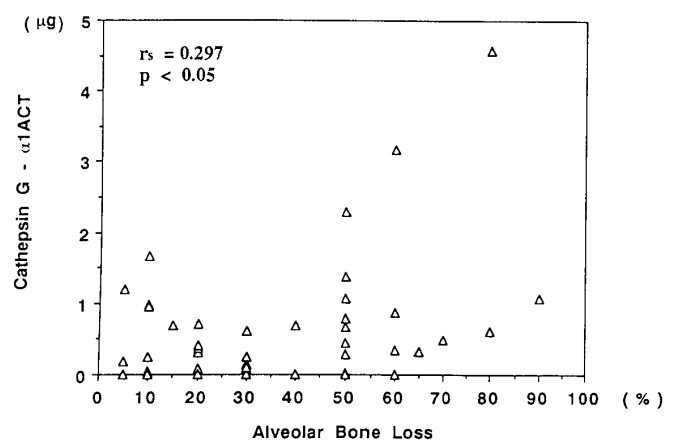


Fig. 9 : Correlation between alveolar bone loss and cathepsin G- $\alpha 1$ antichymotrypsin.
(Quoted from Izumi, Y. et al.⁷⁰⁾)

複合体のバランスを調べ、その動態を検索した⁷⁰⁾⁷¹⁾。歯肉溝滲出液中に含まれるエラスターゼやカテプシンG、インヒビター複合体はきわめて微量なので、まず、サンドイッチELISA法を導入し、測定系を確立した。この測定系を用いて、成人性歯周炎患者の歯周ポケット滲出液中のエラスターゼ、エラスターゼ・ α 1-アンチトリプシン複合体、カテプシンG、カテプシンG・ α 1-アンチキモトリプシン複合体の量を測定し、臨床的診査項目と比較検討した。その結果、歯周ポケットと酵素およびインヒビター複合体との間には一定した関係はみられなかったが、インヒビター複合体と歯槽骨の吸収程度との間には興味ある結果が得られた(Fig. 8,9)。

歯周疾患の活動度を捉える上で、蛋白分解酵素とそれに対するインヒビターの変動あるいはバランスを捉えることの重要性が示唆されている⁷²⁾⁷³⁾。Zafiroopoulosら⁶³⁾は歯肉溝滲出液中のエラスターゼとインヒビター複合体を測定し、臨床的指数と歯肉縁下細菌叢との関係について検討した結果、インヒビター複合体量は *Bacteroides* 属と強い相関があることを示している。さらに考察のなかで、歯周組織の破壊が少ない場合には複合体量の測定が有効であり、今後インヒビターとの関係を含めた経時的な観察が必要であると述べている。また、最近実験的歯肉炎におけるエラスターゼとインヒビター複合体との関係を検討した報告⁷⁴⁾によると、歯肉の炎症の進展とともにエラスターゼ量及びインヒビター複合体の量は増加してくるが、歯肉溝滲出液中のエラスターゼはフリーの状態では存在せず、 α 1-アンチトリプシンや α 2-マクログロブリンなど、インヒビターと結合した状態で存在していることが示された。

プラーク細菌あるいは細菌の virulence factor によって歯肉に炎症が惹起されると、炎症自体が引金となったり、細菌が直接、宿主の補体系や、多形核白血球、マクロファージ、リンパ球などの細胞系を刺激し、炎症が進行してゆくと考えられる。その過程の中で、宿主中に放出される蛋白分解酵素はほとんどが多形核白血球のライソゾーム酵素由来であり、侵入した細菌の分解や生体にとって有害あるいは不用な蛋白を分解する働きがある。しかし、その反面、生体に対して障害作用を示すことがある。酵素量は血清由来のインヒビターによって調節されているが、なんらかの理由で、その調節の破綻を来した時に炎症が増悪するのではないかと考えられる。

歯周疾患の進行は従来考えられていたように経時的、

直線的に歯周組織が破壊されるのではなく、突然のバーストと静止期を繰り返すことによって進行すると考えられている⁷⁵⁾。この活動期をいかに捉えるかが、現在ひとつの課題となっている⁷⁶⁾。臨床的に得られるデータは過去に起こった破壊の状態を確かめているに過ぎない。疾患活動度を調べる材料として、唾液、血液、プラーク、滲出液を用いることが重要視されているが、滲出液は直接炎症の場を通過してきた成分が含まれているため、プラークの組成とともに最も注目すべき材料である。従って、滲出液中の酵素と複合体のバランスを知ることは歯肉溝中あるいは歯肉組織中で起きている、あるいはこれから起ころうとしている炎症反応を捉えるひとつの指標となり、これが現在注目されている疾患活動度を明らかにするひとつの鍵になるのではないかと考えられる。

VII. HLAと歯周疾患

Human Leukocyte Antigen (HLA)はヒト細胞表層の Major Histocompatibility Complex (MHC)として知られ、第六染色体の短腕にコードされている。MHCにコードされる抗原(遺伝子産物)は構造と機能の違いから、クラスI抗原、クラスII抗原、クラスIII抗原に分類される。クラスI抗原は全ての有核細胞上に表現されており、細胞障害性T細胞の抗原認識の際、拘束分子として機能している。クラスII抗原はB細胞やマクロファージなど限られた細胞上に表現され、ヘルパーT細胞の抗原認識の際、拘束分子として機能している。クラスIII抗原は血清中に存在し、補体の活性化に一部関与している。このように、MHCは免疫応答と密接な関係を持っている。

若年性歯周炎や急速進行性歯周炎は家族性に発症しやすく⁷⁷⁾、常染色体劣性遺伝形式⁷⁸⁾をとることが報告されている。さらに、HLAとの相関に関する報告もいくつか見られる⁷⁹⁾⁸⁰⁾。これらのことから、若年性歯周炎や急速進行性歯周炎の病因のひとつとして、遺伝的要因が考えられている。若年性歯周炎や急速進行性歯周炎の関連菌として *A. actinomycetemcomitans* が注目されているが、この菌の生体への侵入に対し、生体は抗体産生や細胞障害性T細胞の誘導などの免疫応答を示す。この免疫応答は遺伝的に調節されており、この応答性の違いが、両疾患の家族性の発症に関与していると考えられる。

HLAと歯周疾患との関係を調べた研究は Terasakiら⁸¹⁾の報告に始まり、今までにいくつか報告されている⁷⁹⁾⁸⁰⁾⁸²⁻⁸⁹⁾(Tab. 1)。筆者らは、若年性歯周炎や

Table 1 : HLA frequencies in periodontal diseases. (Quoted from Izumi, Y. et al.⁹⁰⁾)

Authors	Diagnosis	Age	HLA
Terasaki et al. (1975)	JP/Periodontitis	13-30	A2 decreased
Kaslick et al. (1975)	JP/Periodontitis	13-30	A2 decreased
Reinholdt et al. (1977)	JP	11-29	A9, A28, Bw15 increased
Kaslick et al. (1980)	JP/Periodontitis	13-30	A2, decreased
Cullinan et al. (1980)	JP	≤ 25	No statistical difference
Saxén et al. (1984)	JP	≤ 20	No linkage with HLA
Goteiner et al. (1984)	Periodontitis	29-68	A28, B5 decreased
Cogen et al. (1986)	JP	13-22	A33, DR2 increased
Klouda et al. (1986)	RPP	23-39	A9 increased
Katz et al. (1987)	RPP	21-35	DR4 increased
Amer et al. (1988)	RPP	25-40	A9 increased, A10 decreased

急速進行性歯周炎など早期発症型歯周炎患者のHLAについて検索した。その結果、クラスII抗原であるHLA-DQw1の出現頻度が高く、*Bacteroides gingivalis*に対する血清抗体価の高い患者8名中7名に、HLA-DR4, DQw1が認められた⁹⁰⁾。

今までに報告された研究の結果は様々であり一致した結果は得られていない。その原因として、人種の違い、歯周病の診断基準の違い、症例数の違い、対照の違いなどが考えられるが、最大の原因として、ヒトの場合の遺伝的バックグラウンドの多様性のためであると考えられる。

そこで、高柴⁹¹⁾は歯周病の病態を知るためにはHLAフェノタイプとの相関のみにこだわらず、蛋白および遺伝子の両面から機能分子を解明しなければならないと考え、早期発症型歯周炎患者のHLA遺伝子のRestriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)解析を行い、一部の患者に特徴的なHLA-DQβ鎖遺伝子の変位を検出した。そして、遺伝子変異を歯周病の病態マーカーとして利用し得ることを示唆している。

今後このような分子生物学的手法を用いて、歯周病の発症と進行に関わる生体の様々な機能分子の変異を解析する必要があると考えている。

VIII. おわりに

以上、筆者が関係した研究を中心に、歯周疾患の発症と進行における白血球の役割を検討した。この他に、白血球の活性酸素産生や細胞膜上でのアラキドン酸代謝の結果、産生されるプロスタグランジンの歯周組織に及ぼす影響について考えなければならない。そこで、筆者らは、現在、白血球の活性酸素産生やそれに関係する白血球細胞膜流動性について研究を進めている。

歯周組織において、防御と破壊の二面性を持つ白血球については、今後さらに、情報を集積する必要がある。

最後に、白血球の機能を中心に調べたひとつの臨床例を示す。

症例

患者：女性 1965年9月24日生

初診日：1986年6月25日 20歳9ヶ月

主 訴：歯肉の腫脹

既往歴：特記事項無し

現病歴：17-18歳の頃から歯肉の腫脹、出血、排膿を繰り返していた。痛みの伴う時には近医にて、切開、排膿および抗生剤、鎮痛剤の投与を受けた。次第に悪化するよう思われたので、当科を受診した(Fig. 10)。

診査：口腔内診査、血液検査、生化学的検査、細胞性免疫検査、歯周病関連細菌に対する血清抗体価検査⁹²⁾(Fig. 11)、白血球機能検査²¹⁾(走化能、殺菌能、好中球15リポキシゲナーゼ活性)(Tab. 2)、HLAタイピング(Tab.3)、細菌検査。

血液検査、生化学的検査、細胞性免疫検査からは特に異常値はみられなかった。細菌検査では下顎両側第一大臼歯の歯周ポケット内から特に、*A. actinomycetemcomitans*が検出され、上顎中切歯の歯周ポケット内からBlack Pigmented *Bacteroides*, *P. gingivalis*が分離された。

診 断：限局型若年性歯周炎 (LJP)

治療経過：ブラッシング指導中に、ミノマイシン経口投与(7日間)を行い、塩化ベンザルコニウムの含嗽を指示した。その後、前歯部と大白歯部を中心に咬合調整をし、全顎的にスケーリング、ルートプレーニングを行った。下顎両側第一大臼歯の感染根管治療の後、再度、咬合調整とスケーリング、ルートプレーニングを行った。メンテナンス中に十分なプラークコントロールを行うことによって、良好な予後を維持している(Fig. 12)。

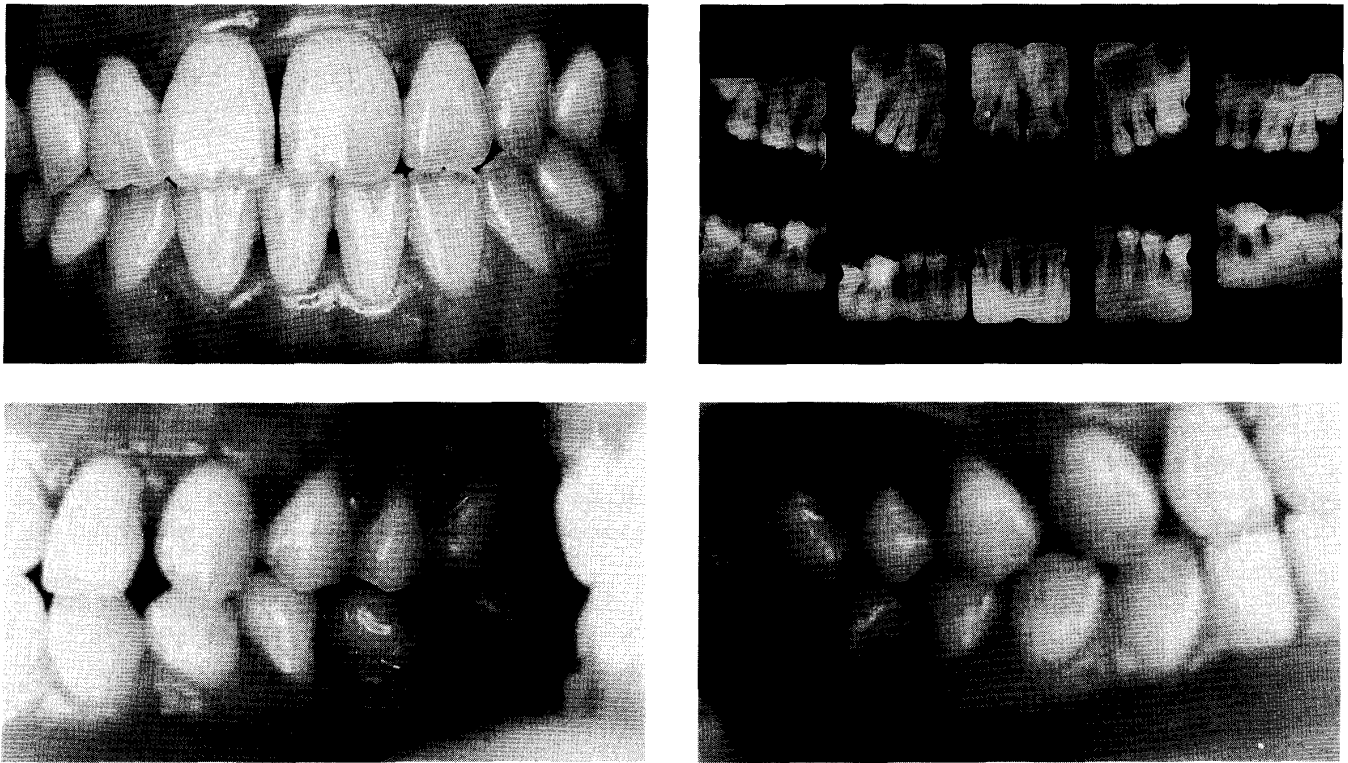


Fig. 10 : Clinical status and dental radiographs prior to periodontal therapy of a 20-year-old female patient with juvenile periodontitis.

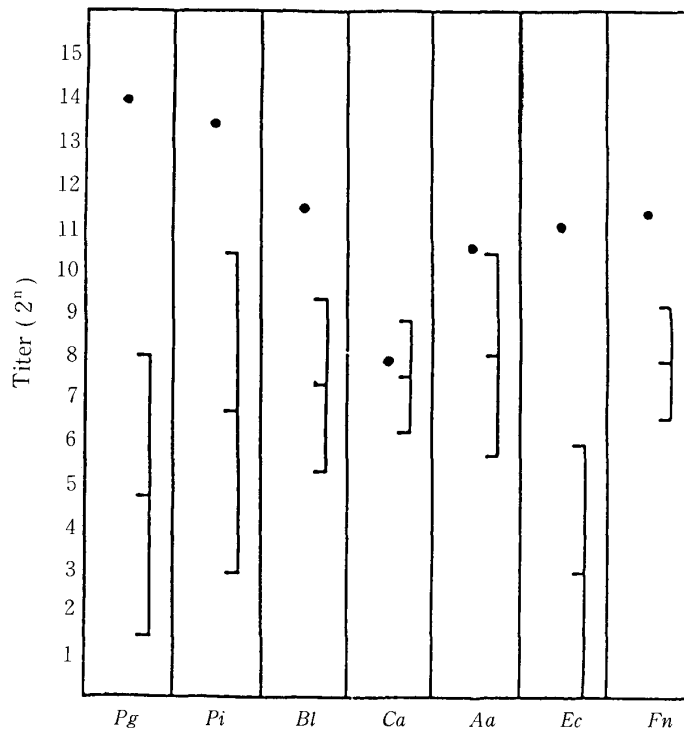


Fig. 11 : ELISA for IgG antibody to ultrasonicated periodontal pathogens in a 20-year-old-female patient with juvenile periodontitis.
Solid lines indicate the mean \pm 2 S.D. determined from healthy subjects.

Table 2 : Leukocyte function analysis in a 20-year-old female patient with juvenile periodontitis.

	JP patient	Healthy subjects
Chemotaxis		
Agarose plate method(C. I.)		
PMN	1.50	1.94 ± 0.21
MN	-	1.75 ± 0.55
Boyden method(cells/field)		
PMN	75.4	104.0 ± 13.0
MN	35.8	40.5 ± 11.8
Bactericidal activity(% survival)		
PMN	9.51	7.85 ± 3.16
15-lipoxygenase activity (15-HETE ng/mg protein)		
PMN	0.174	0.410 ± 0.138

Table 3 : HLA phenotypic observations in a 20-year-old female patient with juvenile periodontitis and her parents.

	age	diag.	HLA phenotype				
			A	B	C	DR	DQ
Patient	20	JP	2	-	w7	2	w1
			9(w24)	5(w52)	w1	4	w3
Father	54	AP	9(w24)	5(w52)	w1	4	w3
			-	-	-	9	w1
Mother	43	AP	2	-	w7	2	w1
			9(w24)	40(w60)	w3	9	-

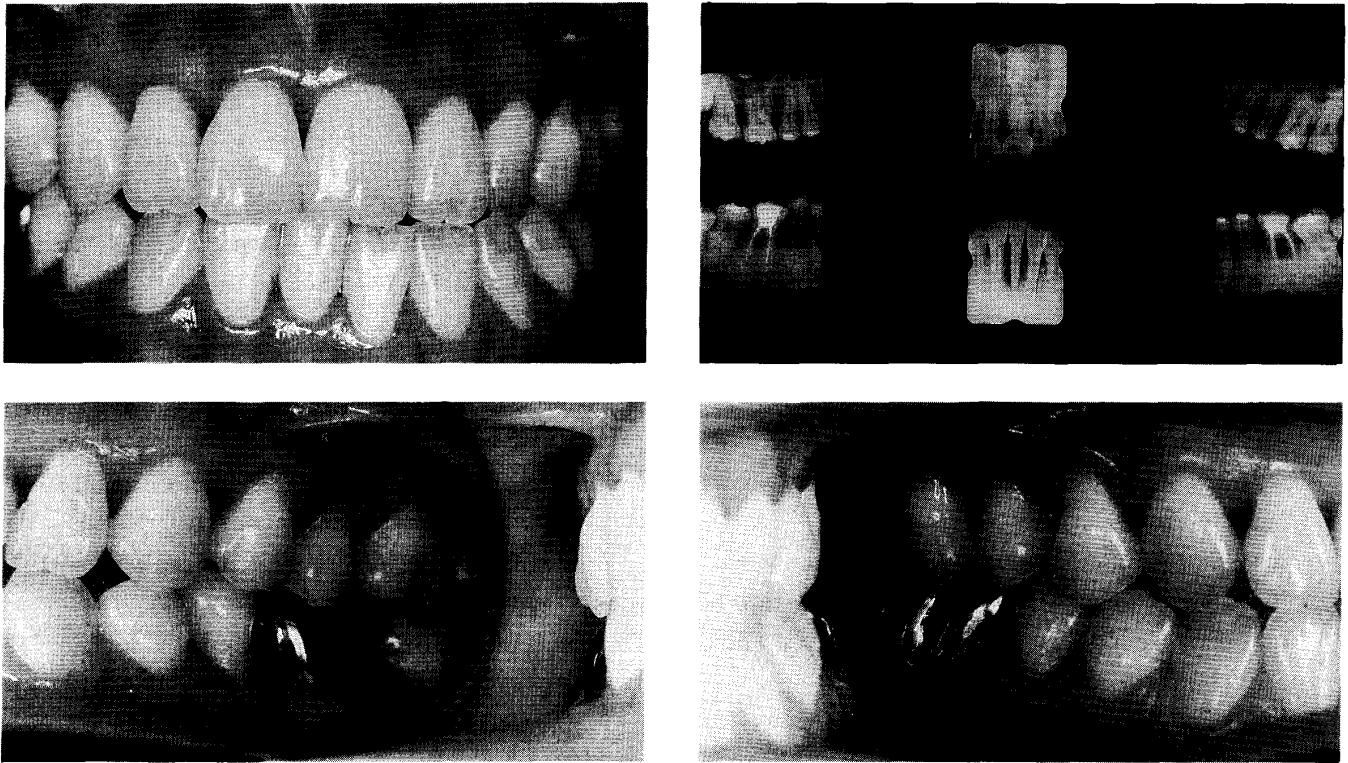


Fig. 12 : Clinical status 12 months and dental radiographs 6 months after treatment of the same patient as Fig.10.

謝 辞

本稿をまとめるにあたり、御指導、御校閲を頂いた鹿児島大学歯学部歯科保存学講座 末田 武教授に深謝致します。さらに、周期性好中球減少症患者の資料を提供して下さった木村歯科医院院長木村喜保博士に感謝致します。

文 献

- 1) Page, R.C. & Schroeder, H.E. : Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.*, 33, 235-249, 1976
- 2) Schroeder, H.E. : Transmigration and infiltration of leukocytes in human junctional epithelium. *Helv. Odont. Acta.*, 17, 6-18, 1973
- 3) Attström, R. & Egelberg, J. : Presence of leukocytes within the gingival crevices during developing gingivitis in dog. *J. Periodont. Res.*, 6, 110-114, 1971
- 4) Attström, R. : Presence of leukocytes in crevices of healthy and chronically inflamed gingivae. *J. Periodont. Res.*, 5, 42-47, 1970
- 5) Attström, R. : The roles of gingival epithelium and phagocytosing leukocytes in gingival defence. *J. Clin. Periodontol.*, 2, 25-32, 1975
- 6) Miyasaki, K.T. : The neutrophil : Mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J. Periodontol.*, 62, 761-774, 1991
- 7) Baehni, P., Listgarten, M.A., Taichman, N.S. & McArthur, W.P. : Electron microscopic study of the interaction of oral microorganisms with polymorphonuclear leukocytes. *Arch. Oral Biol.*, 22, 685-692, 1977
- 8) Baehni, P., Tsai, C.C., Taichman, N.S. & McArthur, W.P. : Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. V. Electron microscopic and biochemical study on the mechanisms of release of lysosomal constituents from human polymorphonuclear leukocytes exposed to dental plaque. *J. Periodont. Res.*, 13, 333-348, 1978
- 9) Tsai, C.C., Hammond, B.F., Baehni, P., McArthur, W.P. & Taichman, N.S. : Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. VI. Exocytosis of PMN lysosomes in response to Gram-negative plaque bacteria. *J. Periodont. Res.*, 13, 504-512, 1978

- 10) Babior, B.M. : Oxidants from phagocytes : agents of defence and destruction. *Blood*, 64, 959-966, 1984
- 11) 水上茂樹 : 白血球の分類 ; 白血球と食作用、第1版、水上茂樹、柿沼カツ子編、3-5、講談社、東京、1979
- 12) Kalkwarf, K.L. & Mcley, L.L. : Neutropenias and neutrophil dysfunction in children : Relationship to periodontal diseases. *J. Western. Soc. Periodont./Periodont. Abs.*, 32, 5-19, 1984
- 13) Clark, R.A. & Klebanoff, S.J. : Chronic granulomatous disease. Studies of family with impaired neutrophil chemotactic, metabolic and bactericidal function. *Am. J. Med.*, 65, 941-948, 1978
- 14) Hamilton, Jr.R.E. & Giansanti, J.S. : The Chediak-Higashi syndrome, Report of a case and review of the literature. *Oral Surg., Oral Med. & Oral Pathol.*, 37, 754-761, 1974
- 15) Anderson, D.C., Schmalstieg, F.C., Finegold, M.J., Hughes, B.J., Rothlein, R., Miller, L.J., Kohl, S., Tosi, M.F., Jacob, R.L., Waldrop, T.C., Goldman, A.S., Shearer, W.T. & Springer, T.A. : The severe and moderate phenotypes of heritable Mac-1, LFA-1 deficiency : Their quantitative definition and relation to leukocyte dysfunction and clinical features. *J. Infect. Dis.*, 152, 668-689, 1985
- 16) Reuland-Bosma, W. & van Dijk, L.J. : Periodontal disease in Down's syndrome : A review. *J. Clin. Periodontol.*, 13, 64-73, 1986
- 17) Khan, A.J., Evans, H.E., Glass, L., Shin, Y.H. & Almonte, D. : Defective neutrophil chemotaxis in patients with Down's syndrome. *J. Pediatr.*, 87, 87-89, 1975
- 18) Barkin, R.M., Weston, W.L., Humbert, J.R. & Maire, F. : Phagocytic functions in Down's syndrome - (2). Chemotaxis. *J. Ment. Defic. Res.*, 24, 243-249, 1980
- 19) Barroeta, O., Nungaray, L., Lopez-Osuma, Armandares, S., Salamanca, F. & Kretschmer, R.R. : Defective monocyte chemotaxis in children with Down's syndrome. *Pediatr. Res.*, 17, 292-295, 1983
- 20) Shaw, L. & Saxby, M.S. : Periodontal destruction in Down's syndrome and in juvenile periodontitis. *J. Periodontol.*, 57, 709-715, 1986
- 21) Izumi, Y., Sugiyama, S., Shinozuka, O., Yamasaki, T., Ohyama, T. & Ishikawa, I. : Defective neutrophil chemotaxis in Down's syndrome patients and its relationship to periodontal destruction. *J. Periodontol.*, 60, 238-242, 1989
- 22) Cianciola, L.J., Genco, R.J., Patters, M.R., McKenna, J. & van Oss, C.J. : Defective polymorphonuclear leukocyte function in a human periodontal disease. *Nature*, 265, 445-447, 1977
- 23) Clark, R.A., Page, R.C. & Wilde, G. : Defective neutrophil chemotaxis in juvenile periodontitis. *Infect. Immun.*, 18, 694-700, 1977
- 24) Lavine, W.S., Maderazo, E.G., Stolman, J., Ward, P.A., Cogen, R.B., Greenblatt, I. & Robertson, P.B. : Impaired neutrophil chemotaxis in patients with juvenile and rapidly progressing periodontitis. *J. Periodont. Res.*, 14, 10-19, 1979
- 25) Van Dyke, T.E., Horoszewicz, H.U., Cianciola, L.J. & Genco, R.J. : Neutrophil chemotaxis dysfunction in human periodontitis. *Infect. Immun.*, 27, 124-132, 1980
- 26) Van Dyke, T.E., Horoszewicz, H.U. & Genco, R.J. : The polymorphonuclear leukocyte (PMNL) locomotor defect in juvenile periodontitis. Study of random migration, chemokinesis and chemotaxis. *J. Periodontol.*, 53, 682-687, 1982
- 27) Suzuki, J.B., Collison, B.C., Falkler, W.A. & Nauman, R.K. : Immunologic profile of juvenile periodontitis. II. Neutrophil chemotaxis, phagocytosis and spore germination. *J. Periodontol.*, 55, 461-467, 1984
- 28) Ellegaard, B., Borregaard, N. & Ellegaard, J. : Neutrophil chemotaxis and phagocytosis in juvenile periodontitis. *J. Periodont. Res.*, 19, 261-268, 1984
- 29) Altman, L.C., Page, R.C., Vandesteen, G.E., Dixon, L.I. & Bradford, C. : Abnormalities of leukocyte chemotaxis in patients with various forms of periodontitis. *J. Periodont. Res.*, 20, 553-563, 1985
- 30) Van Dyke, T.E., Zinney, W., Winkel, K., Taufiq, A., Offenbacher, S. & Arnold, R.R. : Neutrophil function in localized juvenile periodontitis. Phagocytosis, superoxide production and specific granule release. *J. Periodontol.*, 57, 703-708, 1986
- 31) Van Dyke, T.E., Levine, M.J. & Genco, R.J. : Neutrophil function and oral disease. *J. Oral Pathol.*,

- 14, 95-120, 1985
- 32) Suzuki, J.B., Risom, L., Forkler, Jr.W.A., Collison, C. & Bowers, G. : Effect of periodontal therapy on spontaneous lymphocyte response and neutrophil chemotaxis in localized and generalized juvenile periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.*, 12, 124-134, 1985
- 33) 瀬戸口尚志 : 初期治療に伴う歯周病患者の末梢血及び歯肉溝多形核白血球機能の変化について. *日歯周誌*, 30, 466-480, 1988
- 34) Larjava, H., Saxén, L., Kosunen, T. & Gahmberg, C.G. : Chemotaxis and surface glycoproteins of neutrophil granules from patients with juvenile periodontitis. *Arch. Oral Biol.*, 29, 935-939, 1984
- 35) Kinane, D.F., Cullen, C.F., Johnston, F.A. & Evans, C.W. : Neutrophil chemotactic behaviour in patients with early-onset forms of periodontitis. I. Leading front analysis in Boyden chambers. *J. Clin. Periodontol.*, 16, 242-246, 1989
- 36) Kinane, D.F., Cullen, C.F., Johnston, F.A. & Evans, C.W. : Neutrophil chemotactic behaviour in patients with early-onset forms of periodontitis. II. Assessment using the under agarose technique. *J. Clin. Periodontol.*, 16, 247-251, 1989
- 37) 竹蓋 弥 : 3種の *Bacteroides* 菌によるウサギ多形核白血球からのライソゾーム酵素放出に関する研究. *日歯周誌*, 27, 126-141, 1985
- 38) Ishikawa, I., Hagiwara, S., Izumi, Y., Watanabe, H. & Kinoshita, S. : Effect of lysosomal enzymes isolated from polymorphonuclear leukocytes on periodontal tissues. *J. Periodont. Res.*, 17, 503-505, 1982
- 39) 和泉雄一 : ヒト白血球より抽出したライソゾーム酵素が歯周組織に及ぼす影響について. - *in vitro* ならびに *in vivo* における実験的研究 - *日歯周誌*, 25, 144-159, 1983
- 40) 萩原さつき : ヒト白血球からのライソゾーム酵素が歯周組織に与える影響について (ウサギにおける実験的研究). *日歯周誌*, 21, 392-409, 1979
- 41) Cergneux, M., Andersen, E. & Cimasoni, G. : In vitro breakdown of gingival tissue by elastase from human polymorphonuclear leukocytes. An electron microscopic study. *J. Periodont. Res.*, 17, 169-182, 1982
- 42) Taichman, N.S., Hammond, B.F., Tsai, C.-C. Baehni, P.C. & McArthur, W.P. : Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms VII. In vitro polymorphonuclear responses to viable bacteria and to subcellular components of avirulent and virulent strains of *Actinomyces viscosus*. *Infect. Immun.*, 21, 594-604, 1978
- 43) Sugiyama, E., Baehni, P. & Cimasoni, G. : An in vitro study of polymorphonuclear leucocytes-mediated injury to human gingival keratinocytes by periodontopathic bacterial extracts. *Archs. Oral Biol.*, 37, 1007-1012, 1992
- 44) Deguchi, S., Hori, T., Creamer, H. & Gabler, W. : Neutrophil-mediated damage to human periodontal ligament-derived fibroblasts : Role of lipopolysaccharide. *J. Periodont. Res.*, 25, 293-299, 1990
- 45) Zambon, J.J. : *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 12, 1-20, 1985
- 46) Baehni, P., Tsai, C.C., McArthur, W.P., Hammond, B.F. & Taichman, N.S. : Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. VIII. Detection of leukotoxic activity of a plaque-derived gram-negative microorganism. *Infect. Immun.*, 24, 233-243, 1979
- 47) Tsai, C.C., McArthur, W.P., Baehni, P.C., Hammond, B.F. & Taichman, N.S. : Extraction and partial characterization of a leukotoxin from a plaque-derived gram-negative microorganism. *Infect. Immun.*, 25, 427-439, 1979
- 48) Taichman, N.S., Dean, R.T. & Sanderson, C.J. : Biochemical and morphological characterization of the killing of human monocytes by a leukotoxin derived from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect. Immun.*, 28, 258-268, 1980
- 49) Tsai, C.C., Shenker, B.J., DiRienzo, J.M., Malamud, D. & Taichman, N.S. : Extraction and isolation of a leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* with polymyxin B. *Infect. Immun.*, 43, 700-705, 1984
- 50) McArthur, W.P., Tsai, C.C., Baehni, P., Shenker, B.J. & Taichman, N.S. : Noncytolytic effects of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* on leukocyte function. In ; Host-parasite interactions in periodontal disease, Genco, R.J. and Mergenhagen, S.E., Ed., 179-192, American Society for Micro-

- biology, Washington, D.C., 1982
- 51) Cimasoni, G., Song, M. & McBride, B.C. : Effect of crevicular fluid and lysosomal enzymes on the adherence of Streptococci and Bacteroides to hydroxyapatite. *Infect. Immun.*, 55, 1484-1489, 1987
 - 52) Cimasoni, G. & McBride, B.C. : Adherence of *Treponema denticola* to modified hydroxyapatite. *J. Dent. Res.*, 66, 1727-1729, 1987
 - 53) 長谷聖美、青木洋祐：カテプシンGのリンパ球活性化作用。炎症、11, 441-445, 1991
 - 54) Cimasoni, G. : Crevicular fluid updated, 2nd ed, 74-102, Karger, Basel, 1983
 - 55) Eisenhauer, D.A., Hutchinson, R., Javed, T. & McDonald, J.K. : Identification of a cathepsin B-like protease in the crevicular fluid of gingivitis patients. *J. Dent. Res.*, 62, 917-921, 1983
 - 56) Cox, S.W. & Eley, B.M. : Detection of cathepsin B and L-, elastase-, tryptase-, trypsin-, and dipeptidyl peptidase IV-like activities in crevicular fluid from gingivitis and periodontitis patients with peptidyl derivatives of 7-amino-4-trifluoromethyl coumarin. *J. Periodont. Res.*, 24, 353-361, 1989
 - 57) Kunimatu, K., Yamamoto, K., Ichimaru, E., Kato, Y. & Kato, I. : Cathepsin B, H and L activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients and experimental gingivitis subjects. *J. Periodont. Res.*, 25, 69-73, 1990
 - 58) Eley, B.M. & Cox, S.W. : Cathepsin B- and L-like activities at local gingival sites of human chronic periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.*, 18, 499-504, 1991
 - 59) Eley, B.M. & Cox, S.W. : Cathepsin B/L-, elastase-, tryptase-, trypsin- and dipeptidyl peptidase IV-like activities in gingival crevicular fluid : Correlation with clinical parameters in untreated chronic periodontitis patients. *J. Periodont. Res.*, 27, 62-69, 1992
 - 60) Ishikawa, I., Cimasoni, G. & Ahmad-Zadeh, C. : Possible role of lysosomal enzymes in the pathogenesis of periodontitis ; A study on cathepsin D in human gingival fluid. *Archs. Oral Biol.*, 17, 111-117, 1972
 - 61) Tzamouranis, A., Matthys, J., Ishikawa, I. & Cimasoni, G. : Increase of extracellular cathepsin D activity in gingival washings during experimental gingivitis in man. *Archs. Oral Biol.*, 22, 375-378, 1977
 - 62) Cimasoni, G. & Giannopoulou, C. : Can crevicular fluid component analysis assist in diagnosis and monitoring periodontal breakdown., In ;Periodontology Today, Guggenheim, B. ed. 260-270, Karger, Basel, 1988
 - 63) Zafiropoulos, G.-G.K., Flores-de-Jacoby, L., Todt, G., Kolb, K., Havemann, K. & Takakis, D.N. : Gingival crevicular fluid elastase-inhibitor complex : correlation with clinical indices and subgingival flora. *J. Periodont. Res.*, 26, 24-32, 1991
 - 64) Huynh, C., Roch-Arveiller, M., Meyer, J. & Giroud, J.P. : Gingival crevicular fluid of patients with gingivitis or periodontal disease : evaluation of elastase - α 1 proteinase inhibitor complex. *J. Clin. Periodontol.*, 19, 187-192, 1992
 - 65) Palcanis, K.G., Larjava, I.K., Wells, B.R., Suggs, K.A., Landis, J.R., Chadwick, D.E. & Jeffcoat, M.K. : Elastase as an indicator of periodontal disease progression. *J. Periodontol.*, 63, 237-242, 1992
 - 66) Kowashi, Y., Jaccard, F. & Cimasoni, G. : Increase of free collagenase and neutral protease activities in the gingival crevice during experimental gingivitis in man. *Archs. Oral Biol.*, 24, 645-650, 1979
 - 67) Golub, L.M., Siegel, K., Ramamurthy, N.S. & Mandel, I.D. : Some characteristics of collagenase activity in gingival crevicular fluid and its relationship to gingival diseases in humans. *J. Dent. Res.*, 55, 1049-1057, 1976
 - 68) Villela, B., Cogan, R.B., Bartolucci, A.A. & Birkedal-Hansen, H. : Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and gingivitis, and from healthy control subjects. *J. Periodont. Res.*, 22, 381-389, 1987
 - 69) Ohlsson, K. : Interaction of granulocyte neutral proteases with alpha 1-antitrypsin, alpha 2-macroglobulin and alpha 1-antichymotrypsin., In; Neutral proteases of human polymorphonuclear leukocytes, Havemann, K. and Janoff, A. ed., 167-178, Urban & Schwarzenberg, Baltimore-Munich, 1978
 - 70) Izumi, Y., Hayashi, J., Ohno, H. & Ishikawa, I. :

- Sandwich ELISA for measurement of elastase, cathepsin G and their inhibitor-complex levels in gingival crevicular fluid (GCF). *J. Periodontol.*, 62, 802, 1991
- 71) 和泉雄一：サンドイッチELISA法による歯肉溝滲出液中の酵素測定法とその臨床的意義。歯界展望、79, 315-322, 1992
- 72) Cimasoni, G. & Kowashi, Y. : Proteinases of the gingival crevice and their inhibitors., In : *Borderland between caries and periodontal disease Vol.2*, Lehner, T. & Cimasoni, G. ed., 31-49, Academic Press, London, 1983
- 73) Sandholm, L. : Proteases and their inhibitors in chronic inflammatory periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 13, 19-26, 1986
- 74) Giannopoulou, C., Andersen, E., Demeurisse, C. & Cimasoni, G. : Neutrophil elastase and its inhibitors in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J. Dent. Res.*, 71, 359-363, 1992
- 75) Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Goodson, J.M. & Lindhe, J. : New concepts of destructive periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 11, 21-32, 1984
- 76) Fine, D.H. & Mandel, I.D. : Indicators of periodontal disease activity ; an evaluation. *J. Clin. Periodontol.*, 13, 533-546, 1986
- 77) Vandestein, G.E., Williams, B.L., Ebersole, J.L., Altman, L.C. & Page, R.C. : Clinical, microbiological and immunological studies of a family with a high prevalence of early-onset periodontitis. *J. Periodontol.*, 55, 159-169, 1984
- 78) Boughman, J.A., Beaty, T.H., Yang, P., Goodman, S.B., Wooten, R.K. & Suzuki, J.B. : Problems of genetic model testing in early onset periodontitis. *J. Periodontol.*, 59, 332-337, 1988
- 79) Reinholdt, J., Bay, I. & Svejgaard, A. : Association between HLA-antigens and periodontal disease. *J. Dent. Res.*, 56, 1261-1263, 1977
- 80) Cogen, R.B., Roseman, J.M., Al-Joburi, W.C., Action, R.T., Barger, B.O., Go, R.C.P. & Rasmussen, R.A. : Host factors in juvenile periodontitis. *J. Dent. Res.*, 65, 394-399, 1986
- 81) Terasaki, P.I., Kaslick, R.S., West, T.L. & Chasens, A.I. : Low HL-A2 frequency and periodontitis. *Tissue Antigens*, 5, 286-288, 1975
- 82) Kaslick, R.S., West, T.L., Chasen, A.I., Terasaki, P.I., Lazzara, R. & Weinberg, S. : Association between HL-A2 antigen and various periodontal diseases in young adults. *J. Dent. Res.*, 54, 424, 1975
- 83) Kaslick, R.S., West, T.L. & Chasens, A.I. : Association between ABO blood groups, HL-A antigens and periodontal diseases in young adults. *J. Periodontol.*, 51, 339-342, 1980
- 84) Cullinan, M.P., Sachs, J., Wolf, E. & Seymour, G.J. : The distribution of HLA-A and -B antigens in patients and their families with periodontosis. *J. Periodont. Res.*, 15, 177-184, 1980
- 85) Saxén, L. & Koskimies, S. : Juvenile periodontitis - no linkage with HLA-antigens. *J. Periodont. Res.*, 19, 441-444, 1984
- 86) Goteiner, D. & Goldman, M.J. : Human lymphocyte antigen haplotype and resistance to periodontitis. *J. Periodontol.*, 55, 155-158, 1984
- 87) Klouda, P.T., Porter, S.R., Scully, C., Corbin, S.A., Bradley, B.A., Smith, R. & Davies, R.M. : Association between HLA-A9 and rapidly progressive periodontitis. *Tissue Antigens*, 28, 146-149, 1986
- 88) Katz, J., Goultschin, J., Benoliel, R. & Brautbar, C. : Human leukocyte antigen (HLA) DR4, Positive association with rapidly progressing periodontitis. *J. Periodontol.*, 58, 607-610, 1987
- 89) Amer, A., Singh, G., Darke, C. & Dolby, A.E. : Association between HLA antigens and periodontal disease. *Tissue Antigens*, 31, 53-58, 1988
- 90) Izumi, Y., Nitta, H., Ishikawa, I. & Baehni, P. : Association between HLA system and periodontal diseases. *J. Parodontol.*, 9, 145-152, 1990
- 91) 高柴正悟：ヒト白血球抗原 (HLA) 遺伝子の制限断片長多型 (RFLP) 解析による歯周病病態の分子生物学的研究。日歯周誌、32, 386-401, 1990
- 92) Ishikawa, I., Watanabe, H., Horibe, M. & Izumi, Y. : Diversity of IgG antibody responses in the patients with various types of periodontitis. *Adv. Dent. Res.*, 2, 334-338, 1988