

歯周病における歯肉上皮細胞のはたらき

和泉 雄一

鹿児島大学歯学部歯科保存学講座 2

The role of gingival epithelial cells in periodontal disease progression

Yuichi Izumi

Department of Periodontology, Kagoshima University Dental School
8-35-1, Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

Key words: gingival epithelial cells, periodontal disease, cytokine, immune response, GTR

Abstract

Gingival epithelium provides the mechanical and biological protective integument of the periodontium. Inflammatory periodontal diseases are characterized by a pathological deepening of the gingival sulcus concomitant with an apical migration of the epithelial attachment and destruction of underlying connective tissue and alveolar bone. These changes result in the formation of a periodontal pocket, lined by pocket epithelium. Histological findings show that the initial inflammatory infiltrate is dominated polymorphonuclear leukocytes (PMNs) and T-cells situated immediately beneath the sulcular and junctional epithelia and, at a later stage, pocket epithelium. As the disease progresses, the number of PMNs and T-cells close to the epithelial cells increases. Although much is known concerning immunological mechanisms involved in periodontal disease, the contribution of the gingival epithelial cells to the disease process has not yet been extensively studied.

The purpose of the present discussion is to highlight the potential contribution of the gingival epithelial cells to the pathogenesis of periodontal disease. Emphasis will be placed on the complementing a recent review on adhesive events between cells of immune system and gingival epithelial cells. The gingival epithelial cells have the capacity to secrete various pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 and IL-8, responsible for the influx of PMNs and T-cells, as well as autocrine and paracrine growth and activating factors. Furthermore, activated gingival epithelial cells also have the capacity to act as antigen presenting cells and may thus initiate an immune response by presenting antigens to T-cells.

The understanding of the role of the gingival epithelial cells in the pathogenesis of periodontal disease may allow to biological intervention to be part of an early therapeutic approach aimed at preventing disease progression.

I. はじめに

歯周組織の最外層には、歯肉上皮層が存在し、物理的な防御壁としての役割を果たしている。歯肉上皮は、遊離歯肉と付着歯肉からなる口腔上皮、歯肉溝を形成する歯肉溝上皮、エナメル質表面とヘミデスマゾーム結合によって接合している接合上皮で構成されている。組織学的な特徴として、口腔上皮は重層扁平上皮からなり、最外層は角質層で被われている。歯肉溝上皮は口腔上皮と同様重層扁平上皮からなるが、表面は角化や錯角化していない非角化層である。接合上皮は、有棘層と基底細胞層の二層からなり、上皮突起はほとんど認められない(図1)。接合上皮は、細胞間隙が拡大して物質を透過させやすく、細胞間に好中球が常に存在し、細胞自身に貪食能があることなど、外界からの物理的刺激を遮断する口腔上皮と異なった非常にユニークな特徴を持っている(図2)。

歯肉上皮は、常に外界と接し、様々な刺激を受けている組織でありながら、静的な組織として捉えられ、生物学的な活性については、あまり報告がなかった。最近、歯周病関連細菌の刺激によって歯肉上皮細胞から Interleukin (IL) -1^{1,2)}, IL-8³⁻⁸⁾, tumor necrosis factor (TNF) - α ^{9,10)}などのサイトカインが産生されることが報告された。また、歯周組織に炎症が存在する場合、歯肉上皮細胞膜上に免疫応答に関係する MHC (major histocompatibility complex) class II 抗



図1：歯肉組織

健康な歯周組織における歯肉上皮と歯肉固有層
(脱灰標本、ヘマトキシリン・エオジン染色)



図2：接合上皮

細胞間隙が粗であり、好中球の浸潤が認められる。
(透過電顕像)

原¹¹⁻¹³⁾や、炎症系細胞の誘導に関与する intercellular adhesion molecule (ICAM) -1^{5,6,8,12)}などの接着分子の発現が認められた。これらのことから、歯肉上皮細胞は外界からの刺激によって積極的に生体応答を示す活性があることが予測され、最近にわかに注目されるようになった。

本総説では、私共の教室で得られた結果を中心として、歯周病の発症と進行における歯肉上皮細胞の生物学的活性について考察したい。

II. 角化細胞の生物学的活性

表皮を構成する主要な細胞である角化細胞は、外界からの様々な刺激に対して、生体を守る第一線の防御壁である。長い間、物理的刺激に対してのみ力を発揮する細胞として考えられていた。しかし、最近15年の皮膚科的疾患の病態メカニズムを解明する研究成果から、角化細胞の免疫応答への関与が次第に明らかとなってきた^{14,15)}。角化細胞の免疫応答における役割は、今日、大別して次の二つの側面から明らかになりつつある。すなわち、角化細胞による各種サイトカインの産生¹⁶⁾と、これらのサイトカインや活性化T細胞由来のサイトカインによってその細胞表面に MHC class II 抗原などが誘導された活性化角化細胞の免疫応答における役割¹⁷⁾という二つの側面からである。

これまでに明らかとなった角化細胞の産生する主なサイトカインを表1に示す。

表1 ヒト角化細胞が産生する主なサイトカイン

Interleukins	IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-6, IL-7, IL-10, IL-11, IL-12
Tumor necrosis factors	TNF- α
Chemokines	IL-8, MGSA/Gro, γ IP-10, MCP-1/MCAF
Colony stimulating factors	GM-CSF, G-CSF, M-CSF
Growth factors	TGF- α , TGF- β , bFGE, PDGF, PD-ECGF, VEGF/VPF, NGF
Interferons	IFN- α , IFN- β

IL-: Interleukin-, IL-1ra: Interleukin-1 receptor antagonist, TNF-: Tumor necrosis factor-, MGSA: Melanoma growth-stimulatory activity, IP-10: Interferon-gamma-induced protein-10, MCP-1/MCAF: Monocyte chemotactic protein-1/monocyte chemotactic and activating factor, GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor, M-CSF: Macrophage colony-stimulating factor, TGF-: Transforming growth factor-, bFGE: basic Fibroblast growth factor, PDGF: Platelet-derived growth factor, PD-ECGF: Platelet-derived endothelial cell growth factor, VEGF/VPF: Vascular endothelial growth factor/Vascular permeability factor, NGF: Nerve growth factor, IFN-: Interferon- (文献16から改変)

Ⅲ. 歯周病の発症と進行における歯肉上皮細胞の役割

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。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。健康な歯周組織においても、歯肉溝への白血球の遊出は認められるが、歯肉の炎症の進展に伴って、その数は大幅に増加する¹⁸⁾。臨床的に健康な接合上皮細胞間隙にも少数ではあるが常に好中球が存在するという現象は、他の歯肉上皮との組織学的構造の違いだけでなく、接合上皮細胞自体が好中球を誘導する生理活性物質を分泌していることが考えられる。Tonettiら^{3,5,6)}は、健康な接合上皮において、多形核白血球の存在およびIL-8 mRNAの発現がみられるが、健康な歯肉結合組織、歯肉角化上皮中にはほとんど認められず、歯周病が進行するにつれて増加することを明らかにした。私共も接合上皮細胞の培養系を確立し¹⁹⁾、その培養系を使用して、四元⁴⁾は、炎症性サイトカインであるIL-1 α やTNF- α の刺激に対してのIL-8産生の変化を検討した。その結果、培養接合上皮細胞は培養歯肉角化細胞に比べて、無刺激の状態ではIL-8を多く産生し、刺激濃度が高い場合にIL-8産生は増加することを観察した(図3)。Crawford¹²⁾は、健康ならびに炎症歯肉組織中のICAM-1, LFA-3, HLA-DRの発現について検索したところ、特に、ICAM-1は健康歯肉の接合上皮と炎症歯肉のポケット上皮に認められ、口腔上皮側の歯肉角化細胞には認められなかったと報告している。IL-8は、好中球走化性ならびに活性化作用があるchemokineである。ICAM-1は免疫グロブリンスーパーファミリーに属す

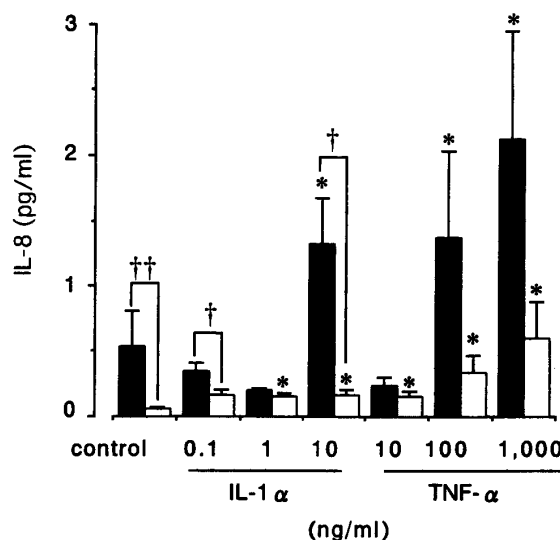


図3: IL-1 α 、TNF- α 刺激(4時間)における健康ヒト歯肉接合上皮細胞(■)および角化上皮細胞(□)のIL-8産生(平均±標準誤差)

*: p<0.05, n=7(各々の細胞のcontrolとの比較)

†: P<0.05

††: P<0.01(Mann-whitney's U test)(文献4から改変)

る細胞表面糖タンパクであり、白血球細胞膜上に発現するLFA-1やMac-1に結合し、白血球の誘導に関与する。従って、これらの分子が接合上皮細胞上に発現することは、接合上皮細胞が血管内から歯肉結合組織内に遊出した白血球を歯肉溝へ積極的に誘導していることが推測される^{5,6)}。

歯周病関連細菌として最も注目されている *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) と *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の感染に対する歯肉上皮細胞

のIL-8とICAM-1の発現を検索した興味深い報告がある^{7,8)}。Aaの感染に対して、歯肉上皮細胞上のIL-8とICAM-1の発現は有意に増強するが、*P. gingivalis*に対しては、逆にその発現が減少してしまう。さらに、Aaの感染に対して歯肉上皮細胞のIL-8産生は6時間後にピークを示し、14時間後にはコントロールと同じレベルに戻ってしまう。ICAM-1は4時間後から発現増強が始まり、14時間後にピークを迎える。一方、*P. gingivalis*に対しては両者の産生はほとんど変動を示さない。これらの結果は、Aaは感染初期から積極的に白血球の誘導を促し、生体応答を活性化すると考えられる。Aa自身は白血球からの攻撃を回避するために、毒性因子としてleukotoxinを持っている。それに対して、Madianosら²⁰⁾の報告にも見られるように、*P. gingivalis*は、白血球の誘導をdown-regulateすることにより生体防御反応の攻撃から逃れ、生体組織内での生息を可能にする。このように細菌による組織障害のメカニズムの違いは、病態の進行を把握し、歯周治療を進めるうえで重要である。

一方、生体防御細胞として働くはずの好中球は、自ら放出するタンパク分解酵素によって、周囲の細胞に障害を与えることが知られている²¹⁾。接合上皮細胞間隙に遊出した好中球は、プラーク細菌と相互作用を示すときに細胞内のライソゾームに蓄積されているタンパク分解酵素を周囲に放出し、細胞障害性を示す。すなわち、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(NE)などのタンパク分解酵素により、上皮細胞接着に参与するタンパクが分解されることによって、上皮細胞の剝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²²⁾。健康な歯肉の接合上皮間隙に少数ではあるが好中球が存在しているにもかかわらず、組織学的には接合上皮の破壊が認められない。この理由として、接合上皮細胞が貪食能を有し、放出されたタンパク分解酵素を消化しているのではないかと報告²³⁾もあるが、接合上皮細胞自体がタンパク分解酵素阻害物質を産生し、防御反応を示しているとも考えられる。主なタンパク分解酵素の阻害物質として、 α 1-protease inhibitor (α 1-PI)や α 2-macroglobin (α 2-M)が挙げられる。 α 1-PIは急性期タンパクとして炎症初期に豊富に検出され、 α 2-Mは分子量が大きいため主に血管内に存在する²⁴⁾。近年、肺気腫や嚢胞性線維腫などの好中球数やNE量の増加が特徴的な慢性炎症性肺疾患において、気道上皮細胞表面や鼻分泌物における抗NEイン

ヒビターとして、secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)が注目され、NEの組織障害に対する防御作用が有力視されている。この局所産生性インヒビターは、acid stableであり、11.7kDaと低分子で、NEと等電点が近く、 α 1-PIが到達できない部位にも滲出可能である。粘膜表層細胞より産生され、主にNEやcathepsin G, trypsinの酵素活性を阻害する²⁵⁻²⁷⁾。私共は、ヒト培養接合上皮細胞や歯肉角化細胞からもSLPIが産生され、接合上皮細胞は炎症性サイトカインの刺激に対して速やかに反応して、SLPIの産生を増強することを明らかにした^{4,28)} (図4)。培養歯肉上皮細胞からのSLPI産生は、*P. gingivalis*のように強いタンパク分解酵素をvirulence factorとする歯周病関連細菌の刺激を受けてdown-regulateしてしまう(図5)。このように炎症性サイトカインや歯周病関連細菌の刺激により速やかに産生が変動するSLPIが歯周病の病態を客観的に把握できるマーカーとして使用可能か否かについて、現在検討している^{29,30)}。

さらに、歯肉上皮細胞の産生する注目すべき生理活性物質として、IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)が挙げられる。IL-1raは、IL-1 α 、IL-1 β 作用の特異的抑制因子として注目されている。IL-1raは、IL-1 α 、IL-1 β と部分的にアミノ酸配列の相同性があり、共通のレセプターに結合することから、IL-1 familyに含まれている³¹⁻³³⁾。IL-1raは、IL-1 receptorへのIL-1 α 、IL-1 β の結合を競合的に阻害し、IL-1活性の発現を抑

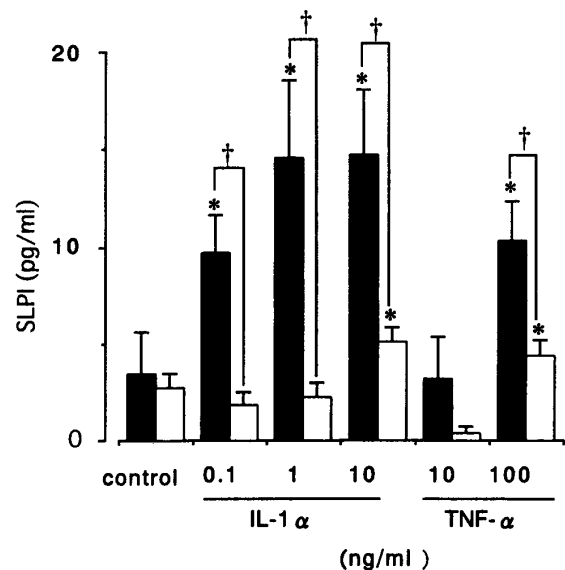


図4：IL-1 α 、TNF- α 刺激（4時間）における健康ヒト歯肉接合上皮細胞（■）および角化上皮細胞（□）のSLPI産生（平均±標準誤差）

*：p<0.05, n=7 (各々の細胞のcontrolとの比較)

†：P<0.05 (Mann-whitney's U test) (文献4から改変)

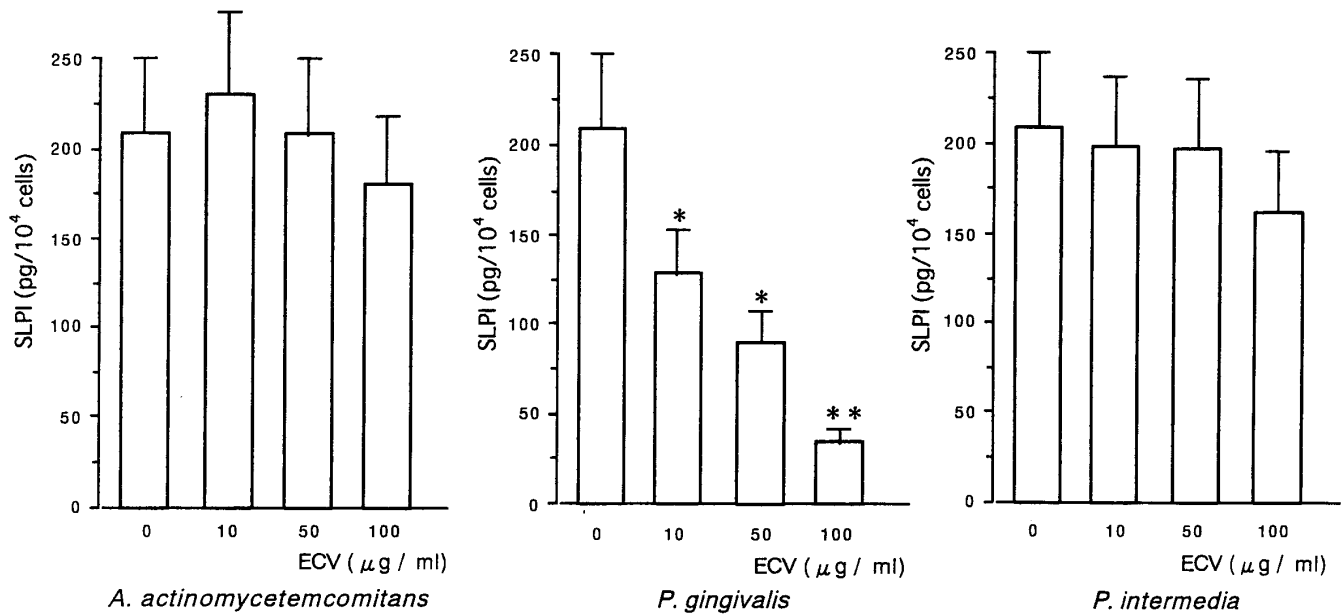


図5 : *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* の Extracellular vesicle (ECV) 刺激下における歯肉上皮細胞培養上清中の SLPI 量 (文献28から改変)

表2 Scaling/root planing による歯肉溝滲出液中の IL-1 α 、IL-1 β および IL-1ra の変化

	Sc/RP 直前	Sc/RP 終了後		
		2 週目	4 週目	12 週目
IL-1 α (pg/site)	203.7 \pm 109.9	94.7 \pm 43.9**	101.2 \pm 74.4***	84.8 \pm 42.9**
IL-1 β (pg/site)	72.1 \pm 39.1	34.0 \pm 18.6**	23.9 \pm 19.2**	32.0 \pm 30.5**
IL-1ra (ng/site)	36.6 \pm 20.1	37.8 \pm 15.5	32.4 \pm 16.4	30.8 \pm 12.1
IL-1ra/IL-1 α	214 \pm 120	421 \pm 117**	434 \pm 261***	414 \pm 150**
IL-1ra/IL-1 β	712 \pm 492	1347 \pm 734*	1999 \pm 1350**	1843 \pm 1392**
IL-1ra/IL-1 α +IL-1 β	163 \pm 97	313 \pm 102**	331 \pm 177***	319 \pm 132**

16部位、平均 \pm 標準偏差、Sc/RP : Scaling/root planing

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$ (Wilcoxon signed-ranks test)

(文献38から改変)

制すると考えられている^{34,35)}。全身的な感染症や炎症性疾患に対して、IL-1ra は抗炎症作用があることが明らかにされている^{36,37)}。楊ら^{2,38)}は、このIL-1ra の抗炎症作用に注目し、歯周組織における存在や作用について検討した。その結果、歯肉上皮細胞は、N 末端にシグナルシーケンスをもたない細胞内型 IL-1ra を産生し(図6, 7), 歯肉溝滲出液(GCF)中に高濃度で存在していることを明らかにした(表2)。IL-1ra は、サイトカインやホルモンの中で存在が明らかにされた唯一の antagonist である。IL-1活性を生理的に抑える薬剤として、生理活性物質であるため副作用の心配がなく、炎症性疾患の治療への応用が注目されている。

歯肉上皮細胞には、MHC である human leukocyte antigen (HLA) class II や ICAM-1 ならびに LFA-3 の発現が観察され、発現部位や炎症程度によりその発現パターンが変わっていると報告されている¹²⁾。これらの分子は、T 細胞に抗原情報を提供する抗原提示細胞に特異的に発現している。従って、歯肉上皮細胞も炎症性メディエーターの刺激により、基底膜付近に誘導された T 細胞に様々な抗原情報を提供していることが考えられる。しかし、Bal ら³⁹⁾によれば、HLA-DR の発現している角化細胞は、T 細胞の増殖を誘導せず、anergy や tolerance の状態になっていると報告している。Smolle ら⁴⁰⁾は、HLA-DR 陽性角化細胞は、suppressor/cytotoxic cell の上皮内への進入に関与し

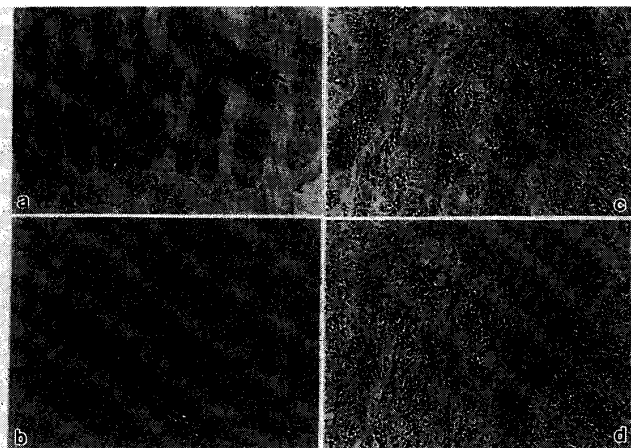


図6：歯肉上皮層におけるIL-1raの免疫組織化学的局在
 a：臨床的健康歯肉
 b：臨床的健康歯肉（コントロール）
 c：歯周炎罹患歯肉
 d：歯周炎罹患歯肉（コントロール）
 （文献2から引用）

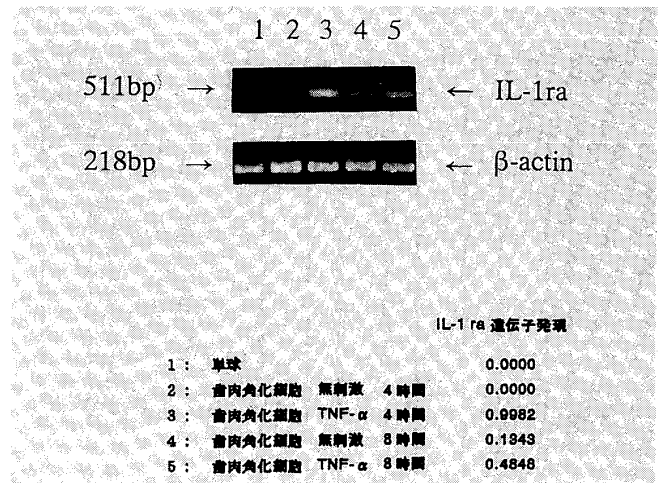


図7：培養歯肉角化細胞における細胞内型IL-1ra mRNAの発現（文献2から引用）

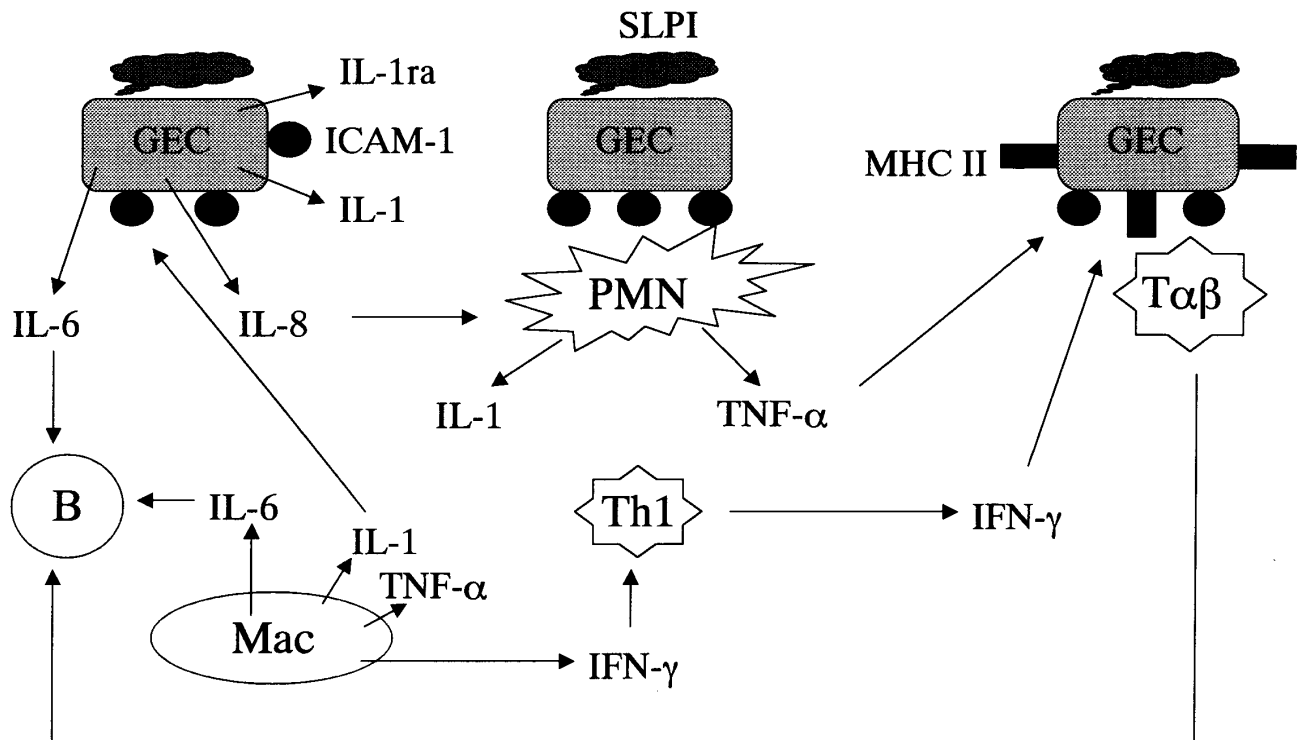


図8：歯肉上皮細胞と免疫担当細胞との相互作用の仮説

B: B cells, GEC: Gingival epithelial cells, ICAM-1: Intercellular adhesion molecule-1, IFN-: Interferon-, IL-: Interleukin-, Mac: Macrophage, MHC II: Major histocompatibility complex class II, PMN: Polymorphonuclear leukocyte, SLPI: Secretory leukocyte protease inhibitor, T: T cells, TNF-: Tumor necrosis factor-

ていると報告している。これらのことから、角化細胞の免疫応答への関与の可能性は推測できるが、いまだ不明な点が多い。従来、このような免疫応答に関与す

る上皮系の細胞として、Langerhans cellが注目されていた⁴¹⁻⁴³。最近、皮膚角化細胞膜上に、B7-1 (CD80)やB7-2 (CD86)の発現が示された^{44,45}。これ

らは、T細胞のCD28 receptorと相互作用を示し、co-stimulatory signalをT細胞に伝達する。このシグナルは、T細胞receptor (TCR)を介する抗原特異的なシグナルとともに、抗原に特異的なT細胞の増殖、サイトカインの産生、各種機能細胞への分化を誘導するために重要なシグナルである⁴⁶⁾。私共は、現在、予備実験の段階ではあるが、IFN- γ の刺激により歯肉上皮細胞上にCD80、CD86の発現が誘導されることを確認した。この結果をもとに、より詳細にCD80、

CD86の発現、さらにB7-3分子の発現について検討している。この点が明らかになれば、歯肉上皮細胞の免疫応答への関与のメカニズムがより一層明らかになるものと期待している。これらの概略を図8に示した。

次に、私共は、歯肉上皮細胞におけるthrombomodulin (TM)の存在に注目した。TMは、血管内皮細胞表面に存在するthrombin receptorで、thrombinの活性を抑制することによって、血管内血液凝固の調節に関与する重要な糖タンパクである⁴⁷⁻⁵⁰⁾。最近、血管

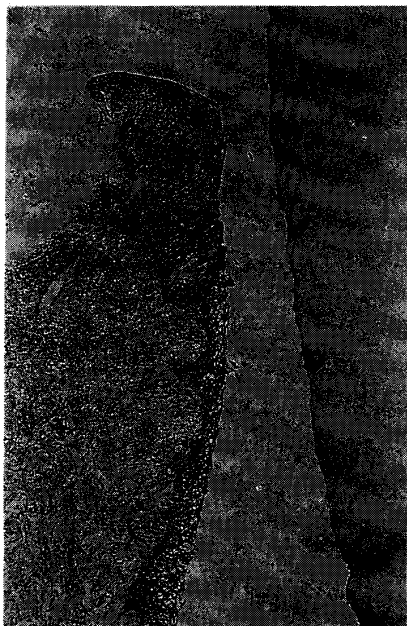


図9：ヒト歯肉接合上皮におけるThrombomodulinの免疫組織化学的局在



図10：ヒト歯肉上皮層におけるThrombomodulinの免疫組織化学的局在

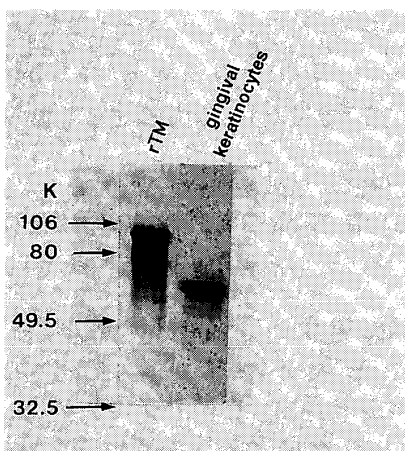


図11：培養ヒト歯肉上皮細胞におけるThrombomodulinのWestern blot分析

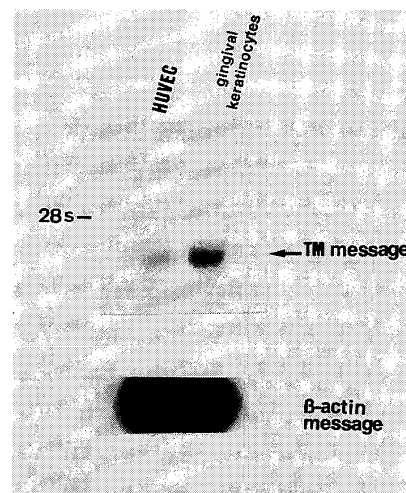
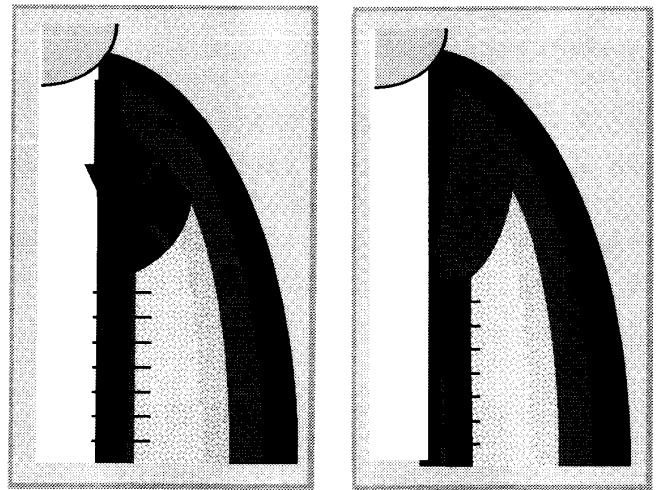


図12：培養ヒト歯肉上皮細胞におけるThrombomodulinのNorthern blot分析

内皮細胞以外の様々な細胞に TM の存在が確認され、その機能が注目されている。上皮細胞では、皮膚角化細胞表面^{51,52)}や口腔粘膜表面^{53,54)}に発現していることが報告されている。通常、血液に触れない上皮細胞上に TM が発現している生理学的な理由について、不明な点が多いが、現在までのところ、上皮細胞の分化の調節に何らかの関係があるのではないかと考えられている。Matsuyama ら⁵⁵⁾は、歯肉組織中の TM について検索し、歯肉上皮ならびに上皮下の血管内皮細胞に TM の発現が認められたことを明らかにした(図 9, 10, 11, 12)。炎症歯肉では、健康歯肉に比べて、TM の発現が減少した。GCF 中の TM の存在を検索したところ、歯周ポケット内の炎症が強い場合には、GCF 中の TM 量が有意に増加することを見いだした。GCF 中の TM の増加は、炎症による細胞障害によって細胞外へ遊離したものと考えられる。TM の歯肉上皮細胞上の発現は、歯周組織中での thrombin の調節に関与しているものと考えられる。歯周病局所において、炎症や血液凝固部位に thrombin が形成される。thrombin は線維芽細胞やマクロファージ、血管内皮細胞に作用して、肉芽組織の形成を促進する。さらに、thrombin は炎症反応への関与として、血管内皮細胞やマクロファージ、線維芽細胞、上皮細胞から IL-1, IL-6, prostaglandin E₂ (PGE₂) の産生を誘導する。誘導されたそれらの物質は歯槽骨の吸収活性があり、歯周病における骨吸収のメカニズムに何らかの関与を示しているものと考えられる⁵⁵⁻⁶¹⁾。このように TM の働きを理解することは、歯周病の発症と進行における新しいメカニズムを検索することが可能となり、新しい歯周病の診療アプローチへの応用が期待される。

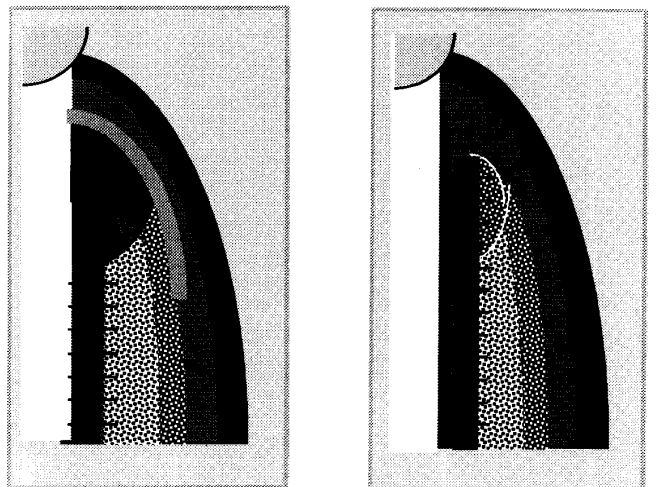
IV. 歯周治療での歯肉上皮細胞の重要性

歯周治療として、古くは歯肉の腫脹や歯の動揺に対して対症療法が行われていたが、プラークの病原性が認識されてからは初期治療を重視し、プラークやプラーク付着増加因子としての歯周ポケット除去を中心とした原因除去療法が主体となった。最近では、原因除去に加え、歯周組織の再生を考慮した再生療法が大きく取り上げられている。再生療法として、barrier membrane を用いた歯周組織再生誘導 (GTR) 法が注目されている。この原理は Melcer の仮説⁶²⁾に基づき、その後、精力的な研究が行われた結果、1982年 Nyman ら⁶³⁾によってヒトにおける GTR 症例が報告された。すなわち、歯周外科処置後の治療過程では、最も



(左図) Flap operation 後 root planing した歯根面に向かう細胞 (歯肉上皮細胞、歯肉結合組織細胞、骨芽細胞、歯根膜細胞)
(右図) 長い接合上皮による上皮性付着の形成

図13: Flap operation 後の創傷治癒模式図



(左図) Barrier membrane を使用して、歯肉上皮の歯尖側増殖を阻止し、歯根膜細胞を歯根面に誘導する。
(右図) 誘導された歯根膜細胞と新生セメント質ならびに歯肉結合組織による線維性付着の形成

図14: GTR 法による創傷治癒模式図

増殖能の高い組織によって欠損が補填される。歯周組織の中で上皮細胞は最も高い増殖能を持ち、歯肉溝上皮が非常に速い速度で接合上皮に分化するため非生理的な長い接合上皮による治療形態となる。barrier membrane を使用して、この歯根面に沿っての歯肉上皮の down-growth を阻止することにより、結合組織性付着を担う歯根膜細胞を歯根面に誘導することができる(図13, 14, 15)。このように再生療法において

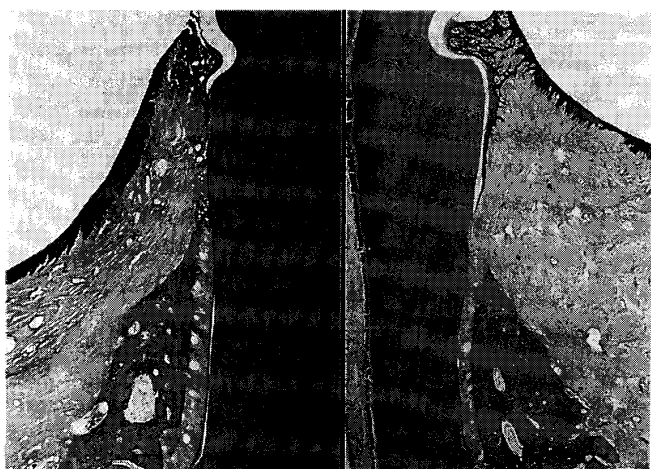


図15：GTR法（左側）ならびに Flap operation（右側）後の歯肉上皮細胞の根尖側増殖の比較（脱灰標本、ヘマトキシリン・エオジン染色）

も歯肉上皮細胞を効果的にコントロールすることが重要である。

現在、この過度の上皮化を分子レベルで阻止し、歯周外科処置後の治癒形態を生理的な形態に導く試みが行われている。上皮の進展は、上皮細胞と細胞外基質との接触によって開始され、integrin と呼ばれる細胞接着分子が関与している。integrin は、細胞外基質の様々な分子と結合する細胞表面レセプターである。基底上皮細胞と基底層との結合、創傷治癒、細胞間接着、細胞の分化増殖に重要な働きを示している。最近、integrin に対する抗体を使用して、歯周外科処置後の上皮の進行増殖を抑える試みが報告された。ヒト歯肉上皮組織では、 $\alpha 6\beta 1$ integrin subunits が発現していることが Hormia ら⁶⁴⁾によって示され、Hergott ら⁶⁵⁾は、 $\beta 1$ integrin のモノクローナル抗体を用いて細胞の移動を初めて阻止したことから、Gräber ら⁶⁶⁾は、 $\alpha 6\beta 1$ integrin subunits モノクローナル抗体を用いて、上皮の進展を阻止した。このことは、上皮の進展に必要な上皮と細胞外基質との相互作用を阻止したことを意味する。integrin は上皮の進展に重要な働きを示し、integrin に対するモノクローナル抗体を使用することによって、歯周外科処置後の上皮の深行増殖を分子レベルで阻止する可能性が示された。

さらに、上皮は β -defensin と呼ばれる抗菌ペプチドを産生することが報告されている^{67,68)}。常に細菌による侵襲を受けている上皮細胞は、抗菌物質を産生することによって自らを防御していると考えられる。このような物質の産生を何らかの形で人為的に調節することが出来れば、歯周病の治療や予防に応用するこ

とが可能であると思われる。

V. おわりに

今回、私共がこれまでに進めてきた研究を中心に歯周病における歯肉上皮細胞の役割や関与について考察してきた。歯周病はプラーク細菌の感染によって引き起こされる炎症反応の結果であることを考慮すると炎症系細胞や免疫系細胞の働きを中心に考えることが重要であるが、プラーク細菌とそれらの細胞の間には歯肉上皮層が存在し、生体をしっかりと防御している。従って、歯肉上皮細胞のはたらきを理解することは、同時に、歯周病の発症と進行についての理解を深め、さらには歯周病の治療、予防へ応用することが可能となる。今後、歯肉上皮細胞の産生する生理活性物質の更なる検索を進め、歯肉上皮細胞を含めた細胞間ネットワークの解明を目指すことが重要である。これらの知識が、歯周病の診査・診断、歯周治療、さらには歯周病の予防への応用に結びつくと考えている。

謝辞

本稿をまとめるにあたり、行われた研究の一部は、文部省科学研究費 (No. 06304041, No. 08672201, No. 10671971) の補助を受けた。

文 献

- 1) Johnson, G. K. & Organ, C. C.: Prostaglandin E2 and interleukin-1 concentrations in nicotine-exposed oral keratinocyte cultures. *J. Periodont. Res.*, 32, 447-454, 1997
- 2) 楊 秋波：ヒト歯肉角化細胞における Interleukin-1 α および Interleukin-1 receptor antagonist の発現について. *日歯周誌*, 41, 87-98, 1999
- 3) Tonetti, M. S., Imboden, M. A., Gerber, L., Lang, N. P., Laissue, J. & Mueller, C.: Localized expression on mRNA for phagocyte-specific chemotactic cytokines in human periodontal infections. *Infect. Immun.*, 62, 4005-4014, 1994
- 4) 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
- 5) Tonetti, M. S.: Molecular factor associated with compartmentalization of gingival immune responses and transepithelial neutrophil migration. *J. Periodont. Res.*, 32, 104-109, 1997

- 6) Tonetti, M. S., Imboden, M. A. & Lang, N. P.: Neutrophil migration into the gingival sulcus is associated with transepithelial gradients of interleukin-8 and ICAM-1. *J. Periodontol.*, 69, 1139-1147, 1998
- 7) Huang, G. T., Haake, S. K. & Park, N. H.: Gingival epithelial cells increase interleukin-8 secretion in response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* challenge. *J. Periodontol.*, 69, 1105-1110, 1998
- 8) Huang, G. T., Haake, S. K., Kim, J. W. & Park, N. H.: Differential expression of interleukin-8 and intercellular adhesion molecule-1 by human gingival epithelial cells in response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* or *Porphyromonas gingivalis* infection. *Oral Microbiol. Immunol.*, 13, 301-309, 1998
- 9) Yamamoto, T., Osaki, T., Yoneda, K. & Ueta, E.: Cytokine production by keratinocytes and mononuclear infiltrates in oral lichen planus. *J. Oral Pathol. Med.*, 23, 309-315, 1994
- 10) Nakao, K., Yoneda, K. & Osaki, T.: Enhanced cytokine production and collagen synthesis of gingival fibroblasts from patients with denture fibromatosis. *J. Dent. Res.*, 74, 1072-1078, 1995
- 11) Savage, N. W., Walsh, L. J. & Seymour, G. J.: Expression of class I and class II major histocompatibility complex antigens on oral mucosal epithelium. *J. Oral Pathol.*, 16, 153-157, 1987
- 12) Crawford, J. M.: Distribution of ICAM-1, LFA-3 and HLA-DR in healthy and diseased gingival tissues. *J. Periodont. Res.*, 27, 291-298, 1992
- 13) Nunes, I. P., Johannessen, A. C., Matre, R. & Kristoffersen, T.: Epithelial expression of HLA class II antigens and Fc γ receptors in patients with adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 21, 526-532, 1994
- 14) Kupper, T. S.: Immune and inflammatory processes in cutaneous tissues: mechanisms and speculations. *J. Clin. Invest.*, 86, 1783-1789, 1990
- 15) Bos, J. D. & Kapsenberg, M. L.: The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunol. Today*, 14, 75-78, 1993
- 16) Feliciani, C., Gupta, A. K. & Sauder, D. N.: Keratinocytes and cytokine/growth factors. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 7, 300-318, 1996
- 17) Suchett-Kaye, G., Morrier J. J. & Barsotti, O.: Interactions between non-immune host cells and the immune system during periodontal disease: role of the gingival keratinocyte. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 9, 292-305, 1998
- 18) Page, R. C. & Schroeder, H. E.: Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.*, 34, 235-249, 1976
- 19) Matsuyama, T., Izumi, Y. & Sueda, T.: Culture and characterization of human junctional epithelial cells. *J. Periodontol.*, 68, 229-239, 1997
- 20) Madianos, P. N., Papapanou, P. N. & Sandros, J.: *Porphyromonas gingivalis* infection of oral epithelium inhibits neutrophil transepithelial migration. *Infect. Immun.*, 65, 3983-3990, 1997
- 21) 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
- 22) Sugiyama, E., Baehni, P. & Cimasoni, G.: An *in vitro* study of polymorphonuclear leucocyte-mediated injury to human gingival keratinocytes by periodontopathic bacterial extracts. *Archs. Oral Biol.*, 37, 1007-1012, 1992
- 23) Ayasaka, N. & Tanaka, T.: A cytochemical study of horseradish peroxidase uptake in rat junctional epithelium. *J. Dent. Res.*, 68, 1503-1507, 1989
- 24) Sandholm, L.: Proteases and their inhibitors in chronic inflammatory periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 13, 19-26, 1986
- 25) Thompson, R. C. & Ohlsson, K.: Isolation, properties, and complete amino acid sequence of human secretory leukocyte protease inhibitor, a potent inhibitor of leukocyte elastase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 83, 6692-6696, 1986
- 26) Abe, T., Kobayashi, N., Yoshimura, K., Trapnell, B. C., Kim, H., Hubbard, R. C., Brewer, M. T., Thompson, R. C. & Crystal, R. G.: Expression of the secretory leukoprotease inhibitor gene in epithelial cells. *J. Clin. Invest.*, 87, 2207-2215, 1991
- 27) Lee, C. H., Igarashi, Y., Hohman, R. J., Kaulbach, H., White, M. V. & Kaliner, M. A.: Distribution of secretory leukoprotease inhibitor in the human nasal airway. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 147, 710-716, 1993

- 28) 和泉雄一, 南 睦美, 四元幸治, 中村千恵子, 松山孝司, 西原達次, 末田 武: 歯肉上皮細胞が分泌する生体防御因子としての SLPI について. 口腔保健と全身的な健康, 小林修平, 48-52, 財団法人口腔保健協会, 東京, 1997
- 29) 和泉雄一, 南 睦美, 四元幸治, 楊 秋波, 末田武: 歯周病罹患部位における secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) の動態. 炎症, 16, 327-334, 1996
- 30) 南 睦美: 成人性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中の secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) と α -1 protease inhibitor (α -1PI) の検出. 日歯周誌, 41, 28-35, 1999
- 31) Arend, W. P., Joslin, F. G., Thompson, R. C. & Hannum, C. H.: An IL-1 inhibitor from human monocytes. Production and characterization of biologic properties. *J. Immunol.*, 143, 1851-1858, 1989
- 32) Eisenberg, S. P., Evans, R. J., Arend, W. P., Verderber, E., Brewer, M. T., Hannum, C. H. & Thompson, R. C.: Primary structure and functional expression from complementary DNA of human interleukin-1 receptor antagonist. *Nature (Lond.)*, 343, 341-346, 1990
- 33) Haskill, S., Martin, G., Van Le, L., Morris, J., Peace, A., Bigler, C. F., Jaffe, G. J., Hammerberg, C., Sporn, S. A., Fong, S., Arend, W. P. & Ralph, P.: cDNA cloning of an intercellular form of the human interleukin 1 receptor antagonist associated with epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 3681-3685, 1991
- 34) Dripps, D. J., Brandhuber, B. J., Thompson, R. C. & Eisenberg, S. P.: Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J. Biol. Chem.*, 226, 10331-10336, 1991
- 35) Granowitz, E. V., Clark, B. D., Mancilla, J. & Dinarello, C. A.: Interleukin-1 receptor antagonist competitively inhibits the binding of interleukin-1 to the type II interleukin-1 receptor. *J. Biol. Chem.*, 266, 14147-14150, 1991
- 36) Ferretti, M., Casini-Raggi, V., Pizarro, T. T., Eisenberg, S. P., Nast, C. C. & Cominelli, F.: Neutralization of endogenous IL-1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis. *J. Clin. Invest.*, 94, 449-453, 1994
- 37) Shanley, T. P., Peters, J. L., Jones, M. L., Chensue, S. W., Kunkel, S. L. & Ward, P. A.: Regulatory effects of endogenous interleukin-1 receptor antagonist protein in immunoglobulin G immune complex-induced lung injury. *J. Clin. Invest.*, 97, 963-970, 1996
- 38) 楊 秋波, 和泉雄一, 南 睦美, 末田 武: 成人性歯周炎患者における歯肉溝滲出液中の interleukin-1 α , interleukin-1 β および interleukin-1 receptor antagonist 量の変動. 日歯周誌, 39, 375-381, 1997
- 39) Bal, V., McIndoe, A., Denton, G., Hudson, D., Lombardi, G., Lamb, J. & Lechler, R.: Antigen presentation by keratinocytes induces tolerance in human T cells. *Eur. J. Immunol.*, 20, 1893-1897, 1990
- 40) Smolle, J., Soyer, H. P., Juettner, F. M., Torne, R., Stettner, H. & Kerl, H.: HLA-DR positive keratinocytes are associated with suppressor lymphocyte epidermotrophism. A biomathematical study. *Am. J. Dermatopathol.*, 10, 128-132, 1988
- 41) Walsh, L. J., Seymour, G. J., & Powell R. N.: The regulation of Langerhans cell T6, DR and DQ antigen expression: an hypothesis. *J. Oral Pathol.*, 17, 43-46, 1988
- 42) Ishii, T., Walsh, L. J., Seymour, G. J. & Powell, R. N.: Modulation of Langerhans cell surface antigen expression by recombinant cytokines. *J. Oral Pathol. Med.*, 19, 355-359, 1990
- 43) Lombardi, T., Hauser, C. & Budtz-Jørgensen, E.: Langerhans cells: structure, function and role in oral pathological conditions. *J. Oral Pathol. Med.*, 22, 193-202, 1993
- 44) Williams, I. R., Ort, R. J. & Kupper, T. S.: Keratinocyte expression of B7-1 in transgenic mice amplifies the primary immune response to cutaneous antigens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 12780-12784, 1994
- 45) Gaspari, A. A., Burns, R., Nasir, A., Ramirez, D., Barth, R. K. & Haidaris, C. J.: CD 86 (B7-2), but not CD 80 (B7-1), expression in the epidermis of transgenic mice enhances the immunogenicity of primary cutaneous *Candida albicans* infections. *Infect. Immun.*, 66, 4440-4449, 1998

- 46) June, C. H., Bluestone, J. A., Nadier, L. M. & Thompson, C. B.: The B7 and CD 28 receptor families. *Immunol. Today*, 15, 321-331, 1994
- 47) Esmon, C. T. & Owen, W. G.: Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 2249-2252, 1981
- 48) Esmon, C. T.: The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J. Biol. Hem.* 264, 4743-4746, 1989
- 49) Esmon, N. L., Owen, W. G. & Esmon, C. T.: Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *J. Biol. Chem.* 257, 859-864, 1982
- 50) Salem, H. H., Maruyama, I., Ishii, H. & Majerus, P. W.: Isolation and characterization of thrombomodulin from human placenta. *J. Biol. Chem.* 259, 12246-12251, 1984
- 51) Jackson, D. E., Mitchell, C. A., Bird, P., Salem, H. H. & Hayman, J. A.: Immunohistochemical localization of thrombomodulin in normal human skin and skin tumours. *J. Pathol.* 175, 421-32, 1995
- 52) Senet, P., Peyri, N., Berard, M., Dubertret, L. & Boffa, M. C.: Thrombomodulin, a functional surface protein on human keratinocytes, is regulated by retinoic acid. *Arch Dermatol. Res.* 289, 151-157, 1997
- 53) Lager, D. J., Callaghan, E. J., Worth, S. F., Raife, T. J. & Lentz, S. R.: Cellular localization of thrombomodulin in human epithelium and squamous malignancies. *Am. J. Pathol.* 146, 933-943, 1995
- 54) Tabata, M., Yonezawa, S., Sugihara, K., Yamashita, S. & Maruyama, I.: The use of thrombomodulin to study epithelial cells differentiation in neoplastic and non-neoplastic oral lesions. *J. Oral Pathol. Med.* 24, 443-449, 1995
- 55) Matsuyama, T., Izumi, Y., Shibata, K., Yotsumoto, Y., Obama, H., Uemura, M., Maruyama, I & Sueda, T.: Expression and activity of thrombomodulin in human gingival epithelium: in vivo and in vitro studies. *J. Periodont. Res.* in press
- 56) Bar-Shavit, R., Wilner, G. D.: Mediation of cellular events by thrombin. *Int. Rev. Exp. Pathol.* 29, 213-41, 1986
- 57) Stern, D. M., Bank, I., Nawroth, P. P., Cassimeris, J., Kisiel, W., Fenton, J. W. 2d, Dinarello, C., Chess, L. & Jeffe, E. A.: Self-regulation of procoagulant events on the endothelial cell surface. *J. Exp. Med.* 162, 1223-1235 1985
- 58) Sower, L. E., Froelich, C. J., Carney, D. H., Fenton, J. W. 2d, & Klimpel, G. R.: Thrombin induces IL-6 production in fibroblasts and epithelial cells. *J. Immunol.* 155, 895-901, 1995
- 59) Stiernberg, J., Redin, W. R., Warner, W. S. & Carney, D. H.: The role of thrombin and thrombin receptor activating peptide (TRAP-508) in initiation of tissue repair. *Thromb. Haemostasis.* 70, 158-162, 1993
- 60) Lerner, U. H., Sahlberg, K. & Ljunggren, Ö.: Thrombin and bradykinin enhance prostaglandin production in human peripheral blood monocytes. *J. Oral Pathol. Med.* 18, 246-50, 1989
- 61) Lerner, U. H.: Regulation of bone metabolism by the kallikrein-kinin system, the coagulation cascade, and the acute-phase reactants. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 78, 481-493, 1994
- 62) Melcher, A. H.: On the repair potential of periodontal tissues. *J. Periodontol.*, 47, 256-260, 1976
- 63) Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. & Rylander, H.: New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 9, 290-296, 1982
- 64) Hormia, M., Yläne, J. & Virtanen, I.: Expression of integrins in human gingiva. *J. Dent. Res.*, 69, 1817-1823, 1990
- 65) Hergott, G. J., Nagai, H. & Kalnins, V. I.: Inhibition of retinal pigment epithelial cell migration and proliferation with monoclonal antibodies against β 1 integrin subunit during wound healing in organ culture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 34, 2761-2768, 1993
- 66) Gräber, H. G., Wilharm, J. & Conrads, G.: Monoclonal antibodies against integrin subunits α 6 and β 1 inhibit migration of gingival epithelium in organ culture. *J. Periodontol.*, 70, 388-393, 1999
- 67) Krisanaprakornkit, S., Weinberg, A., Perez, C. N. & Dale, B. A.: Expression of the peptide antibiotic human β -defensin 1 in cultured gingival epithelial cells and gingival tissue. *Infect. Immun.*, 66,

4222-4228, 1998

- 68) Weinberg, A., Krisanaprakornkit, S. & Dale, B. A.:
Epithelial antimicrobial peptides: Review and sig-
nificance for oral applications. Crit. Rev. Oral
Biol. Med., 9, 399-414, 1998