

総説

—日本歯周病学会学術賞受賞—

歯周疾患の病態形成における T 細胞機能の解析

山崎 和久

新潟大学大学院医歯学総合研究科
摂食環境制御学講座歯周診断・再建学分野

The Role of T cells in the Pathogenesis of Periodontal Diseases

Kazuhisa Yamazaki

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

1. 緒言

慢性炎症性歯周疾患の病態は免疫組織学的に大きく二つに分類できる。一つは T 細胞病変でこれは臨床的には歯肉炎という病態と一致している。もう一つは B 細胞・形質細胞病変で、これは歯周炎罹患組織で見られる組織像である¹⁾。乳歯列期の大多数の幼児は歯肉炎に罹患しているが、歯の支持組織の破壊は全くと言っていいほど認められない。このことは3週間にわたってプラークコントロールを中断することで成立する成人における実験的歯肉炎においても同様である。

他方、歯周炎では結合組織付着の破壊、歯槽骨吸収が生じ、最終的に歯の喪失に至ることもある。浸潤細胞の主体がリンパ系の細胞であること、臨床的病態の違いにより優性なリンパ球集団が異なることから、リンパ球機能と疾患活動性や疾患感受性の関係を明らかにするための多くの研究が行われてきた。T 細胞は免疫応答の制御の中心的細胞であり、歯肉炎組織では浸潤細胞の大部分を占め、歯周炎組織でも B 細胞・形質細胞とともに多数認められることから、我々は T 細胞に注目して歯周疾患の病態との関連を調べてきた。歯周組織破壊にリンパ球応答がどのように関わっているかということをはっきりとすることは、病態の解明のみならず、免疫療法も視野にいたれた新たな治療法の開発にも結びつく可能性がある。

2. T 細胞の表現型とサイトカインプロフィール

1986 年に Mosmann と Coffman によってマウス T 細胞クローンがそれらのサイトカイン産生パターンに

よって Th1 と Th2 に分類できることが示された。これにより細胞性免疫応答と体液性免疫応答という反応様式が Th1/Th2 というパラダイムで語られるようになったばかりでなく、感染による病態が、誘導される T 細胞集団によって影響を受けることがはっきりと示されるようになった²⁾。

歯肉炎から歯周炎への転換においても Th1/Th2 パラダイムを巡って過去 10 年以上にわたってディスカッションされてきたが、歯肉炎組織中の T 細胞のサイトカインプロフィールについて詳細な解析をした研究は少ない。我々は歯肉炎組織の凍結切片をもちいて免疫組織学的にサイトカイン産生細胞を検索した。その結果、Th1 が産生する IL-2, IFN- γ , Th2 が産生する IL-4, IL-6 いずれも CD3 陽性細胞あたりの産生細胞の比率は歯周炎組織に較べて有意に低いことを明らかにした³⁾。歯肉炎組織は代表的な Th1 応答である皮膚の遅延型過敏反応と極めて類似した組織像を呈すが、実際のサイトカインプロフィールは異なっていた。歯肉炎組織の T 細胞の表現型は CD45 のアイソフォーム, IL-2 R 陽性率, HLA-DR 陽性率のいずれにおいても歯周炎組織に浸潤している T 細胞のそれらと大きな違いはない⁴⁻⁶⁾。このことは, Costimulatory molecules の発現とシグナリングの違いを反映したものかもしれないし、あるいは歯肉炎組織においてはサイトカイン産生が抑制されている可能性があることを示唆している。実際、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* を抗原として歯肉炎患者、歯周炎患者の末梢血から樹立した T 細胞株のサイトカイン産生のパターン、サイトカイン陽性細胞の比率のいずれも有意な差がないことが報告されている^{7,8)}。

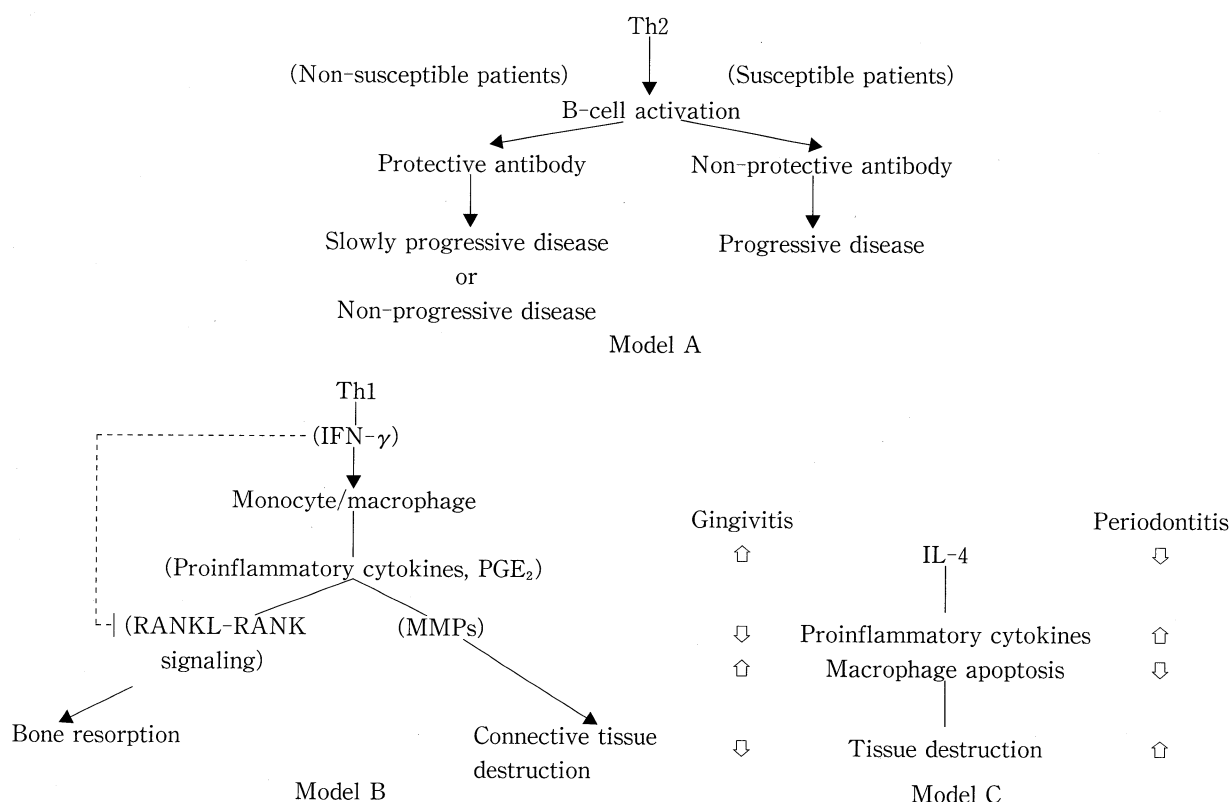


図1 サイトカインプロファイルと歯周組織破壊機構の関連

一方歯周炎組織の解析では一致した所見は得られていない。様々な実験方法が用いられているばかりでなく、解析対象分子も mRNA であったりタンパクであったりしていることが影響しているかもしれない。mRNA 発現が必ずしもタンパクの産生と一致しないこともある。mRNA レベルで IFN- γ 陽性 T 細胞が優勢であるという報告⁹⁻¹¹⁾もある一方で、タンパクレベルにおいて IL-4, IL-6 産生 Th2 が優勢であるとする報告もある^{3,12,13)}。mRNA でも IL-6 の発現が上昇しているとするいくつかの論文もある^{9,14-16)}。それぞれの詳細なデータについては優れた総説が出されている¹⁷⁻¹⁹⁾のでここでは言及しないが、これまでの報告から明らかなことはマウスモデルとは異なり、ヒトにおいては Th1, Th2 いずれのサイトカインも歯周炎組織中で検出されているということである。これらの研究結果から歯周組織破壊における Th1/Th2 細胞の役割についていくつかの仮説が提示されている(図1: 文献 19 より引用改変)。Th2 が優性であるとするモデル A では B 細胞の活性化による抗体産生が増強されるが、感受性の高い患者では防御的に作用しない抗体が主体であることから病変の進行を阻止することができないと考える。一方、感染防御に有効な抗

体が産生される場合には病変の進行は停止するか非常に緩徐になると考えられる。Th1 が優勢であることに基づく仮説モデル B では Th1 が産生する IFN- γ がマクロファージを活性化し、その結果産生される炎症性サイトカインや PGE₂ 結合組織破壊と歯槽骨の吸収を誘導するという経路が考えられる。ところが、高度な組織破壊を示す歯周炎組織に浸潤しているマクロファージの数は歯肉炎組織のそれと比較して有意な増加もなく、また活性化の程度も弱いことが示されている²⁰⁾。さらに IFN- γ は RANKL-RANK シグナリング経路を阻害することで破骨細胞の活性化を抑制することから歯槽骨吸収に対しては防御的に作用している可能性もある²¹⁾。モデル C における key molecule は抗炎症性サイトカイン IL-4 である。IL-4 は IL-4 レセプターを発現する活性化マクロファージに作用するとアポトーシスを誘導することで炎症性サイトカイン、PGE₂ の産生を抑制する機能を持っている。歯周炎組織では IL-4 産生が低レベルであるためマクロファージの活性化が持続し、組織破壊に至ると考えられる²²⁾。一方で IL-4 の活性と極めて類似した作用を示す IL-13 のレベルは歯周炎組織で上昇しており IL-4 の作用を代替している可能性がある^{9,23)}。また、

このモデルは免疫組織学的検索による歯周炎組織での IL-4 産生細胞の増加を示したデータとも一致しない。

このようにそれぞれの仮説は相反するデータが存在するため十分な説得力を持たない。サンプリング時の疾病活動度、細菌叢の特異性、あるいは他の免疫学的パラメーターについての解析が不足しているためである可能性も否定できない。事実、最近我々は歯周組織破壊に関連すると考えられるサイトカイン IL-17 の発現が炎症歯周組織で亢進していることを報告した²⁴⁾。歯周炎が B 細胞・形質細胞病変であることに異論はないことから、T 細胞の B 細胞病変における役割と疾病活動度と関連した免疫細胞の動態をさらに解析する必要がある。

3. 自己反応性 T 細胞と制御機構

ある種の自己免疫疾患や特異細菌感染症においては特定の受容体分子を発現する T 細胞が関与することが報告されている。歯周疾患の病態における T 細胞の関与は明らかであるが、T 細胞の抗原特異性と機能については未だ不明の点が多い。これを明らかにする目的で歯肉局所に浸潤する T 細胞の受容体分子 β 鎖 V 領域遺伝子の発現について解析した。その結果、いくつかの V β 遺伝子では末梢血と比較して発現が上昇していることが明らかになり、特異的な反応が起こっている可能性が示唆された^{25,26)}。このことをさらに確認するため、DNA の一次構造多型解析 (Single-strand Conformation Polymorphism; SSCP) を応用した。この方法は数百ベースの塩基配列中の一塩基の変異を検出してポリアクリルアミドゲル電気泳動により易動度の違いとして検出する方法である²⁷⁾。健常者の末梢血中には特定の T 細胞クローンの集積はまれであるため、SSCP ゲル上ではスメアとして現れる。一方、T 細胞クローンの集積がある場合には明瞭なバンドとして検出でき、異なるクローンが集積している場合には複数のバンドが出現する。歯周炎組織中には多くの T 細胞クローンが集積していることが明らかになった^{28,29)}が SSCP 解析におけるバンドの数、すなわち T 細胞クローンの数は関節リウマチや多発性硬化症などの自己免疫疾患の病変部に浸潤する T 細胞のそれと同程度と考えられた。このことは歯周ポケット内に棲息していると考えられる細菌の種類、それらの細菌が持つ病原因子として作用すると考えられる分子の多様性を考慮すると意外なほど少なく、細菌相互、細菌-宿主間で共通性の高い抗原、あるいは自己抗原が関与している可能性を強く示唆するものであった。

我々はこれらの条件に当てはまる分子として熱ショックタンパク 60 (Heat shock protein 60; HSP 60) に注目した。HSP 60 は種を超えて相同性が高いと同時に免疫原性が高いという性質を持つ。細菌性 HSP 60 に対する応答により自己 HSP 60 に対する免疫応答を誘導して慢性炎症を誘発すると推測される。大腸菌の HSP 60 である GroEL と相同の分子が歯周病原細菌にも存在しており³⁰⁻³²⁾、歯周炎患者では細菌性 HSP 60 に対する血清抗体のみならず内因性の HSP 60 であるヒト HSP 60 に対する血清抗体価も上昇していることが報告されている³³⁾。さらに血清中に検出される *P. gingivalis* GroEL に対する抗体と内因性 HSP 60 に対する抗体は交叉反応性があることも示されている。これらのことは歯周炎患者において細菌性のみならず内因性の HSP 60 が抗原として作用していることを示すが、事実歯周炎組織中では HSP 60 の発現が亢進していることも明らかになっている³⁴⁾。

歯周炎における自己抗原に対する T 細胞応答についてはあまりよくわかっていない。Wassenaar らは歯周炎患者の歯肉から T 細胞クローンを樹立して解析した³⁵⁾。その結果タイプ I コラーゲンに特異的なクローンの 80% は高レベルの IL-4、低レベルの IFN- γ を産生する Th2 であったが、細菌抗原に特異的なクローンは IL-4 と IFN- γ をほぼ同程度に産生する Th0 タイプであった。我々は歯周炎と対照健常者から末梢血単核細胞を分離してヒト HSP 60, *P. gingivalis* GroEL 刺激後の増殖反応、サイトカインプロファイル、クローナリティの変化を検索した。増殖反応においては歯周炎患者由来単核細胞は HSP 60 に対して強い増殖応答を示したが、*P. gingivalis* GroEL に対しては弱い応答しか示さなかった。一方対照群ではいずれの抗原に対してもバックグラウンドに較べて有意な反応は示さなかった。歯周炎患者群における増殖反応は抗 MHC class II 抗体で抑制されたことから抗原特異的応答であることが示唆された。我々は SSCP 解析を利用して歯周炎患者と対照健常者から末梢血を採取して HSP 60, *P. gingivalis* GroEL で刺激したとき、さらに歯周炎患者については炎症歯肉組織由来 T 細胞の SSCP ゲルのパターンを比較した。その結果、歯周炎患者末梢血には対照と比較して HSP 60 特異的 T 細胞の比率が有意に高いことが明らかになった。さらに T 細胞受容体 β 鎖遺伝子の塩基配列解析より末梢血における HSP 60 特異的 T 細胞と同一の受容体を有する T 細胞が炎症歯肉中にも存在し、*P. gingivalis* GroEL 応答性の T 細胞の受容体とも同じであることが示された。IL-4 と IFN- γ mRNA を RT-PCR で検索した結果では HSP 60 刺

激により IFN- γ 発現の上昇が認められたが IL-4 の発現に変化は見られなかった。一方 *P. gingivalis* GroEL 刺激ではサイトカインプロファイルの偏りは示されず、対照群ではいずれのサイトカインも有意な発現は見られなかった。以上より歯周病原細菌の感染により Th1 サイトカインプロファイルを持つ自己 HSP 60 反応性 T 細胞の活性化が誘導されることが示唆された³⁶⁾。タイプ I コラーゲンに対する T 細胞は Th2 プロファイルなので異なる自己抗原は異なるサイトカインプロファイルを持つ T 細胞の活性化を誘導することが明らかになった。その後、歯肉炎と診断された歯肉組織中の T 細胞クローナリティを解析したが、歯周炎組織と大きな違いは見いだせなかった。このことは歯肉炎組織でも抗原特異的な T 細胞応答が生じていることを示すと同時に抗原特異性は歯周炎のそれとはことなり、HSP 60 特異的な T 細胞の比率はきわめて低いと考えられた³⁷⁾。

4. 制御性 T 細胞

感染に対する免疫応答は Th1, Th2 という T 細胞亜集団により調節されているが、免疫抑制的活性を有する別の T 細胞集団が重要な働きをしていることが明らかになってきている。上に述べたように細菌感染により歯周炎局所で細胞性・体液性の自己免疫応答が誘導されることは明らかであり、恒常性を保つために生体にとって不利益をもたらすこれらの反応を抑制することが必要である。これまで歯周炎における制御性 T 細胞についてはあまり明らかでなかった。

初期の研究によれば歯周炎局所から分離した T 細胞が *in vitro* における刺激に反応しないことは初期の研究においても示されていた^{38,39)}。これらのデータは局所における免疫制御機構のバランスが崩れていることを示唆する。この理由として CD8⁺T 細胞の比率の上昇が歯肉由来 T 細胞の増殖反応の低下をもたらしていると考えられる研究者もいた。しかし現在では免疫応答の制御に重要な働きをしている免疫抑制機能を持った CD4⁺T 細胞の存在が明らかになっている。これらの細胞は CD4⁺CD25⁺ の表現型を持つ T 細胞集団のなかに多く含まれる⁴⁰⁾。

CD25 分子は活性化 T 細胞のマーカーと考えられていたことから、以前はその発現が歯周炎組織中の T 細胞の活性化ステージの検索に用いられていた。Seymour et al. (1988) は 3 週間のヒトの実験的歯肉炎において IL-2 レセプター α 鎖 (CD25) を発現する細胞は 10% 以下であったことを報告している⁴¹⁾。Takeuchi et al. (1991) は歯周炎患者歯肉および末梢血

より分離した CD4⁺T 細胞の CD25 発現の割合はそれぞれ $18.4 \pm 4.4\%$, $13.7 \pm 7.3\%$ で歯肉中の T 細胞で有意に高かったと報告した⁵⁾。CD4⁺CD25⁺ 制御性 T 細胞は T 細胞レセプターを介した刺激では増殖も IL-2 の産生もしないが CD4⁺CD25⁻ と共培養したときにそれらの増殖反応を強力に抑制する⁴⁰⁾。

CD4⁺CD25⁺ T 細胞の抑制機能はこれらの細胞に恒常的に発現する CTLA-4 分子のシグナルを介することが示唆されている⁴¹⁻⁴³⁾。CTLA-4 をブロックすることで CD4⁺CD25⁺T 細胞の機能が抑制されたという報告がある一方で CTLA-4 を抑制は影響しなかったとする報告もあり、より詳細な解析が待たれる。われわれは末梢血 T 細胞を *P. gingivalis* 由来外膜抗原で刺激したときの CTLA-4 の発現を歯周炎患者と健常者と比較した。その結果、歯周炎患者においては CTLA-4, CD25 いずれも発現の上昇が見られたが健常者では有意な上昇は認められなかった⁴⁴⁾。一方固相化 CD3 抗体で刺激した場合には CTLA-4, CD25 いずれも外膜抗原刺激よりも発現は低く、CD4⁺T 細胞に占める CTLA-4 の割合はそれぞれ 34.4%, 9.6% であった。さらに *P. gingivalis* 外膜抗原で一次刺激を行った細胞は抗原特異的な二次刺激に対する応答性を失っていることも明らかになった。これらのことは一次刺激で増加した制御性 T 細胞が二次刺激における応答を抑制したと考えられる。CD4⁺CD25⁺T 細胞における CTLA-4 の発現は検索されていないが、歯周病原細菌に対する応答の過程で活性化された自己反応性 T 細胞を制御するために CD4⁺CD25⁺ 制御性 T 細胞が何らかの役割を演じている可能性を示す。

我々は免疫染色により歯周炎組織中の T 細胞における CTLA-4 の発現を検索し、平均 50% の陽性率を認めたが、検体間でのバリエーションが大きいことを報告した⁴⁵⁾。一方、Gemmell et al. (2001) は同様の方法で T 細胞の CTLA-4 の発現を調べ、病態にかかわらず CTLA-4 の発現が低いことから歯周疾患における T 細胞は CTLA-4 による負の制御を受けている可能性は低いと結論づけている⁴⁶⁾。これらの見解の相違の理由は明らかではないが、解析対象の病態(重症度)や強い浸潤部位に限定して解析したかどうか等の違いが考えられる。

5. Natural killer T cells

CD4⁺CD25⁺ 制御性 T 細胞以外の免疫調節機能を持つと考えられるユニークな T 細胞集団についての解析も進んでいる。NK 細胞のマーカーと invariant な TCR を発現するこの細胞集団は NKT 細胞と名付け

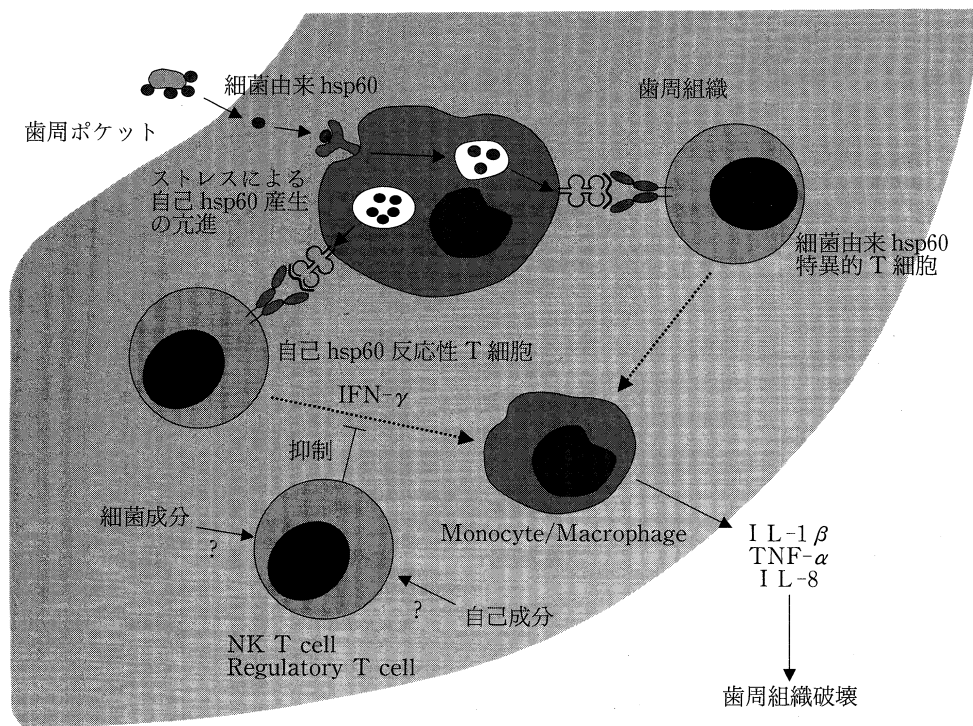


図 2 自己反応性 T 細胞の歯周組織破壊への関与と制御性 T 細胞による防御機構 (仮説)

られた⁴⁷⁾。ヒトでは invariant $V\alpha 24 J\alpha Q$ 、マウスでは $V\alpha 14 J\alpha 281$ NK 1.1⁺ T 細胞を指す。これらの NKT 細胞は *in vivo* で重要な働きをしている。NKT 細胞の欠損は NOD マウスのみならずヒトにおいても 1 型糖尿病に対する感受性を高めるばかりでなく、マウス、ヒトの様々な自己免疫疾患に関連することから自己免疫応答の制御に働いていることが明らかになってきた。歯周炎においても自己反応性の T 細胞が関与していることから我々はヒトの NKT 細胞と考えられる invariant $V\alpha 24 J\alpha Q$ TCR を持つ T 細胞の $V\alpha 24$ T 細胞に対する比率を SSCP 解析により歯周炎病変と歯肉炎病変で比較した⁴⁸⁾。末梢血における比率はいずれの患者群でも低く健常者との違いはみとめられなかったが、炎症歯肉組織ではその比率は末梢血と比較して優位に高く、歯肉炎組織では歯周炎よりもわずかに低いものの大きな違いは認められなかった。免疫組織染色では $V\alpha 24$ 細胞が NKT 細胞の抗原提示細胞と考えられる CD1 d⁺ 細胞と接触している像も見られた。NKT 細胞が活性化されると細胞傷害活性を生じ、同時に IL-4, IFN- γ , IL-10, TGF- β など CD4⁺CD25⁺ 制御性 T 細胞と同様のサイトカインを産生する。今後詳細な解析が必要であるが、歯周病原細菌の感染の過程で生じた自己免疫応答を制御するため

に歯肉局所に動員されている可能性が示唆された (図 2)。

6. 終わりに

歯周炎の臨床的な兆候の少なくとも一部あるいは臨床的な歯周疾患の分類では規定できないかもしれないある種の歯周炎では自己反応性 T 細胞の活性化による自己免疫応答と末梢においてそれらを抑制するための調節機能が十分に働いていないことによることが明らかになった。細菌およびその産物を歯周ポケットから除去することの歯周治療における位置づけとその重要性は今後も変わることはないが、病態の免疫学的解明が進むことで Biological process-based therapy と呼ぶべき新たな付加的治療法の開発が進むものと期待される。

謝 辞

本総説で引用した我々のデータは多くの研究者との共同研究の結果得られたものであり、共同研究者各位に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Seymour GJ, Powell RN, Davies WIR : Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease : an hypothesis. J Clin Periodontol, 6 : 267-277, 1979.
- 2) Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL : Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J Immunol, 136 : 2348-2357, 1986.
- 3) Yamazaki K, Nakajima T, Hara K : Immunohistological analysis of T cell functional subsets in chronic inflammatory periodontal disease. Clin Exp Immunol, 99 : 384-391, 1995.
- 4) Seymour GJ, Gemmell E, Walsh LJ, Powell RN : Immunohistological analysis of experimental gingivitis in humans. Clin Exp Immunol, 71 : 132-137, 1988.
- 5) Takeuchi Y, Yoshie H, Hara K : Expression of interleukin-2 receptor and HLA-DR on lymphocyte subsets of gingival crevicular fluid in patients with periodontitis. J Periodont Res, 26 : 502-510, 1991.
- 6) Yamazaki K, Nakajima T, Aoyagi T, Hara K : Immunohistological analysis of memory T lymphocytes and activated B lymphocytes in tissues with periodontal disease. J Periodont Res, 28 : 324-334 1993.
- 7) Gemmell E, Grieco DA, Cullinan MP, Westerman, Seymour GJ : The proportion of interleukin-4, interferon-gamma and interleukin-10-positive cells in *Porphyromonas gingivalis*-specific T-cell lines established from *P. gingivalis*-positive subjects. Oral Microbiol Immunol, 14 : 267-274, 1999.
- 8) Gemmell E, Carter CL, Grieco DA, Sugarman PB, Seymour GJ : *P. gingivalis*-specific T-cell lines produce Th1 and Th2 cytokines. J Dent Res, 81 : 303-307, 2002.
- 9) Fujihashi K, amamoto M, Hiroi T, Bamberg TV, McGhee JR, Kiyono H : Selected Th1 and Th2 cytokine mRNA expression by CD4⁺T cells isolated from inflamed gingival tissues. Clin Exp Immunol, 103 : 422-428, 1996.
- 10) Okada H, Murakami S, Kitamura M, Nozaki T, Kusumoto Y, Hirano H, Shimauchi H, Shimabukuro Y, Saho T : Diagnostic strategies of periodontitis based on the molecular mechanisms of periodontal tissue destruction. Oral Diseases, 2 : 87-95, 1996.
- 11) Takeichi O, Haber J, Kawai T, Smith DJ, Moro I, Taubman MA : Cytokine profiles of T-lymphocytes from gingival tissues with pathological pocketing. J Dent Res 79 : 1548-1555, 2000.
- 12) Manhart SS, Reinhardt RA, Payne JB, Seymour GJ, Gemmell E, Dyer JK, Petro TM : Gingival cell IL-2 and IL-4 in early-onset periodontitis. J Periodontol, 65 : 807-813, 1994.
- 13) Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Polak B, Seymour GJ, Hara K : IL-4 and IL-6 producing cells in human periodontal disease tissue. J Oral Pathol Med 23 : 347-353, 1994.
- 14) Bickel M, Axtelius B, Solioz C, Attstrom R : Cytokine gene expression in chronic periodontitis. J Clin Periodontol, 28 : 840-847, 2001.
- 15) Fujihashi K, Beagley KW, Kono Y, Aicher WK, Yamamoto M, DiFabio S, Xu-Amano J, McGhee JR, Kiyono H : Gingival mononuclear cells from chronic inflammatory periodontal tissues produce interleukin (IL) -5 and IL-6 but not IL-2 and IL-4. Am J Pathol 142 : 1239-1250, 1993.
- 16) Lundqvist C, Baranov V, Teglund S, Hammarstrom S, Hammarstrom M-L : Cytokine profile and ultrastructure of intraepithelial $\gamma\delta$ T cells in chronically inflamed human gingiva suggest a cytotoxic effector function. J Immunol, 153 : 2302-2312, 1994.
- 17) Mathur A, Michalowicz BS : Cell-mediated immune system regulation in periodontal diseases. Crit Rev Oral Biol Med, 8 : 76-89, 1997.
- 18) Taubman MA, Kawai T : Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. Crit Rev Oral Biol Med, 12 : 125-135, 2001.
- 19) Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ : Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. Crit Rev Oral Biol Med, 13 : 17-34, 2002.
- 20) Chapple CC, Srivastava M, Hunter N : Failure of macrophage activation in destructive periodontal disease. J Pathol, 186 : 281-286, 1998.
- 21) Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, Takaoka A, Yokochi T, Oda H, Tanaka K, Nakamura K, Taniguchi T : T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN- γ . Nature, 408 : 600-605, 2000.
- 22) Yamamoto M, Kawabata K, Fujihashi K, McGhee JR, Van Dyke TE, Bamberg TV, Hiroi T, Kiyono H : Absence of exogenous interleukin-4-induced apoptosis of gingival macrophages may contribute to chronic inflammation in periodontal dis-

- eases. Am J Pathol, 148 : 331-339, 1996.
- 23) Yamazaki K, Nakajima T, Kubota Y, Gemmell E, Seymour GJ, Hara K : Cytokine messenger RNA expression in chronic inflammatory periodontal disease. Oral Microbiol Immunol, 12 : 281-287, 1997.
- 24) Oda T, Yoshie H, Yamazaki K : *Porphyromonas gingivalis* antigen preferentially stimulates T cells to express IL-17 but not receptor activator of NF- κ B ligand in vitro. Oral Microbiol Immunol, 18 : 30-36, 2003.
- 25) Nakajima T, Yamazaki K, Hara K : Biased T cell receptor V gene usage in tissues with periodontal disease. J Periodont Res, 31 : 2-10, 1996.
- 26) Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Kjeldsen M, Seymour GJ, Hara K : Biased expression of T cell receptor V β genes in periodontitis patients. Clin Exp Immunol, 106 : 329-335, 1996.
- 27) Yamamoto K, Sakoda H, Nakajima T, Kato T, Okubo M, Dohi M, Mizushima Y, Ito K, Nishioka K : Accumulation of multiple T cell clonotypes in the synovial lesions of patients with rheumatoid arthritis revealed by a novel clonality analysis. Int Immunol, 4 : 1219-23, 1992.
- 28) Ohsawa Y, Yamazaki K, Nakajima T, Hara K : Clonal accumulation of T cells bearing V β 6 T-cell receptor in chronic inflammatory periodontal disease. Oral Microbiol Immunol, 15 : 211-217, 2000.
- 29) Yamazaki K, Nakajima T, Ohsawa Y, Tabeta K, Yoshie H, Sakurai K, Seymour GJ : Selective expansion of T cells in gingival lesions of patients with chronic inflammatory periodontal disease. Clin Exp Immunol, 120 : 154-161, 2000.
- 30) Hotokezaka H, Hayashida H, Ohara N, Nomaguchi H, Kobayashi K, Yamada T : Cloning and sequencing of the groESL homologue from *Porphyromonas gingivalis*. Biochim Biophys Acta, 1219 : 175-178, 1994.
- 31) Maeda H, Miyamoto M, Hongyo H, Nagai A, Kurihara H, Murayama Y : Heat shock protein 60 (GroEL) from *Porphyromonas gingivalis* : Molecular cloning and sequence analysis of its gene and purification of the recombinant protein. FEMS Microbiol Lett, 119 : 129-136 1994.
- 32) Nakano Y, Inai Y, Yamashita Y, Nagaoka S, Kasuzaki-Nagira T, Nishihara T, Okahashi N, Koga T : Molecular and immunological characterization of a 64-kDa protein of Actinobacillus actinomycetemcomitans. Oral Microbiol Immunol, 10 : 151-159, 1995.
- 33) Tabeta K, Yamazaki K, Hotokezaka H, Yoshie H, Hara K : Elevated humoral immune response to heat shock protein 60 (hsp 60) family in periodontitis patients. Clin Exp Immunol, 120 : 285-293, 2000.
- 34) Ueki K, Tabeta K, Yoshie H, Yamazaki K : Self-heat shock protein 60 induces tumor necrosis factor- α in monocyte-derived macrophage : Possible role in chronic inflammatory periodontal disease. Clin Exp Immunol, 127 : 72-77, 2002.
- 35) Wassenaar A, Reinhardus C, Thepen T, Abraham-Inpijn L, Kievits F : Cloning, characterization, and antigen specificity of T-lymphocyte subsets extracted from gingival tissue of chronic adult periodontitis patients. Infect Immun, 63 : 2147-2153, 1995.
- 36) Yamazaki K, Ohsawa Y, Tabeta K, Itoh H, Ueki K, Oda T, Yoshie H, Seymour GJ : Accumulation of human heat shock protein 60-reactive T cells in the gingival tissues of periodontitis patients. Infect Immun, 70 : 2492-2501, 2002.
- 37) Itoh H, Ohsawa Y, Yoshie H, Yamazaki K : Oligoclonal accumulations of T-cell clones in gingivitis and periodontitis lesions. Oral Microbiol Immunol, 17 : 324-329, 2002.
- 38) Seymour GJ, Cole KL, Powell LW : Analysis of lymphocyte populations extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. II. Blastogenic response. J Periodont Res, 20 : 571-579, 1985.
- 39) Ivanyi L : Stimulation of gingival lymphocytes by antigens from oral bacteria. In : Lehner T. and Cimasoni G, eds, The Borderland between Caries and Periodontal Disease II, Academic Press, London, 1980, 125-134.
- 40) Thornton AE, Shevach EM : CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production. J Exp Med, 188 : 287-296, 1998.
- 41) Read S, Malmstrom V, Powrie F : Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25⁺CD4⁺ regulatory cells that control intestinal inflammation. J Exp Med, 192 : 295-302, 2000.
- 42) Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, Ashourian N, Singh B, Sharpe A, Bluestone JA : B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. Immunity, 12 : 431-440, 2000.
- 43) Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, Uede T, Shimizu J, Sakaguchi N, Mak TW, Sakaguchi S : Immunologic self-tolerance maintained by

- CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. J Exp Med, 192 : 303-309, 2000.
- 44) Aoyagi T, Yamazaki K, Kabasawa-Katoh Y, Nakajima T, Yamashita N, Yoshie H, Hara K : Elevated CTLA-4 expression on CD4 T cells from periodontitis patients stimulated with *Porphyromonas gingivalis* outer membrane antigen. Clin Exp Immunol, 119 : 280-286, 2000.
- 45) Orita K, Yamazaki K, Aoyagi T, Hara K : Differential expression of costimulatory molecules in chronic inflammatory periodontal disease tissue. Clin Exp Immunol. 115 : 153-160.
- 46) Gemmell E, McHugh GB, Grieco DA, Seymour GJ : Costimulatory molecules in human periodontal disease tissues. J Periodont Res, 36 : 92-100, 2001.
- 47) Godfrey DI, Kinder SJ, Silveria P, Baxter A : Flow cytometric study of T cell development in NOD mice reveals a deficiency in $\alpha\beta$ TCR⁺CD4⁻CD8⁻ thymocytes. J Autoimmun, 10 : 279-285, 1997.
- 48) Yamazaki K, Ohsawa Y, Yoshie H : Elevated proportion of natural killer T cells in periodontitis lesions : a common feature of chronic inflammatory diseases. Am J Pathol, 158 : 1391-1398, 2001.
- 46) Gemmell E, McHugh GB, Grieco DA, Seymour

連絡先 :

新潟大学大学院医歯学総合研究科摂食環境制御学講座歯周診断・再建学分野
〒 951-8514 新潟市学校町通り 2-5274