歯肉溝滲出液における免疫担当細胞の特性

吉 江 弘 正*

Characteristics of immuno-competent cells in gingival crevicular fluid in periodontitis patients

Periodontitis is infectious disease by periodontopathic bacteria and characterized by gingival connective tissue loss, periodontal pocket formation and alveolar bone resorption. Unbalance of local immune responses may cause onset and progression of periodontitis. Gingival crevicular fluid(GCF) from the pocket of periodontitis patients contains immuno-competent cells, namely, polymorphonuclear leukocytes, lymphocytes, and macrophages.

Cell surface expression of Fc γ receptor II, III in GCF-polymorphonuclear leukocytes decreased in contrast to increase of complement receptor 3 as compared with those of autologous peripheral blood-polymorphonuclear leukocytes. Transcript levels of Fc γ receptor III and complement receptor 1, 3 significantly decreased. These phenomena may induce impaired phagocytosis of GCF-polymorphonuclear leukocytes and progression of periodontitis.

Regarding for GCF-lymphocytes, decreased T cell/B cell ratio and activated helper T cells and B cells were observed as compared with autologous peripheral blood-lymphocytes. ICAM-1 positive pocket epithelium and LFA-1 expression of GCF-lymphocytes may be related to cell exudation from connective tissue to gingival crevice.

HIV gag protein p24 positive macrophages in GCF increased dramatically in AIDS patients with periodontitis. PCR and RT-PCR of GCF-leukocytes yielded positive signals of p 24, demonstrating viral integration and production. These findings could be considered as a within-mouth source of viral reservoir.

These characteristics of immuno-competent cells in GCF may reflect local immune responses of inflammatory gingival tissues.

Rec. 11/28/1996, Acc. 12/19/1996, pp 345~352

*Hiromasa Yoshie**

key words : gingival crevicular fluid, immuno-competent cells, periodontitis, AIDS

歯周炎は、歯肉組織における炎症性細胞浸潤、歯肉結合組織の消失と歯周ポケットの形成、歯槽骨の吸収を特徴とした感染症であり、歯周ポケットに定着する歯周病原性細菌と生体防御機能異常の結果発症するといわれる^{1,2)}。歯周炎罹患患者の歯周ポケットから滲出する歯肉溝滲出液(gingival crevicular fluid, GCF)には、多形核白血球、

リンパ球、マクロファージが存在し^{1~5)}、末梢血とは組成比が異なるばかりでなく、歯周組織における炎症・免疫応答を反映した性状を示すことが明らかになってきた^{1~13)}。

そこで筆者は、歯周炎罹患患者より採取したGCF-多形核白血球のFc γ レセプターを介した貪食能、Fc γ レセプターと補体レセプターの膜表面発現ならびにmRNAレベルを同一患者の末梢血と比較検索した。また、歯周組織ならびにGCFのリンパ球サブセットについて、歯肉局所での活性化を検索し、さらに歯肉組織に存在する接着分子であるLFA-1陽性リンパ球と歯周ポケット上

* Department of Periodontology, Niigata University School of Dentistry 新潟大学歯学部歯科保存学第二講座

Offprint requests to : Department of Periodontology, Niigata University School of Dentistry, 2-5274 Gakko-Cho, Niigata 951, Japan

表 1 GCF-多形核白血球のFcγレセプター介在性貪食能

	末梢血-多形核白血球	GCF-多形核白血球
貪食率	56.0±9.9	13.1±11.4*
貪食度	1.35±0.34	0.26±0.31*

GCF-多形核白血球は、末梢血にくらべてFcγレセプター介在性貪食能が低下している。

GCF：歯肉溝滲出液。

貪食率：1個以上のビーズを貪食した多形核白血球の割合、貪食度：多形核白血球1個あたりの貪食したビーズ数

n＝歯周炎患者16名、数値は平均±標準偏差、末梢血の値と比較して有意差あり。

*：p<0.001。

表 2 GCF-多形核白血球のFcγレセプターIII, II, 補体レセプター3の膜表面発現

	末梢血-多形核白血球	GCF-多形核白血球
FcγレセプターIII	64.9±20.7	29.6±14.2**
FcγレセプターII	36.8±4.8	14.5±3.7**
補体レセプター3	102.6±48.2	551.7±140.9*

GCF-多形核白血球は、末梢血にくらべてFcγレセプターIII, IIの低下と補体レセプター3の増加が認められる。

GCF：歯肉溝滲出液。n＝歯周炎患者37名、数値は蛍光強度(平均±標準偏差)。

末梢血の値と比較して有意差あり。

*：p<0.01, **：p<0.001。

表 3 GCF-多形核白血球におけるFcγレセプターIII, IIと補体レセプター1, 3のmRNA発現

	末梢血-多形核白血球	GCF-多形核白血球
FcγレセプターIII	107.1±25.6	65.5±10.9*
FcγレセプターII	14.8±8.1	10.7±5.9
補体レセプター1	65.3±43.3	32.8±22.9**
補体レセプター3	30.1±18.8	9.1±5.3**

GCF-多形核白血球は、末梢血にくらべてFcγレセプターIIIと補体レセプター1, 3のmRNA発現が減少している。

GCF：歯肉溝滲出液。n＝歯肉炎患者16名、数値はβ-actinに対する相対比(平均±標準偏差)。

末梢血の値と比較して有意差あり。

*：p<0.05, **：p<0.005。

表 4 GCF-リンパ球のサブセット比、サブセットの活性化率

	末梢血-リンパ球	GCF-リンパ球
T細胞/B細胞	5.5±1.8	2.0±0.9*
Th細胞/Ts細胞	1.9±0.8	1.4±0.7
IL-2レセプター+Th細胞	13.7±7.3	34.0±18.0*
IL-2レセプター+Ts細胞	2.2±2.2	3.3±2.4
IL-2レセプター+B細胞	6.3±4.4	23.9±10.0*
HLA-DR+Th細胞	8.7±4.1	44.7±19.0*
HLA-DR+Ts細胞	27.1±14.1	65.3±18.4*

GCF-リンパ球は、末梢血にくらべてT細胞/B細胞比の減少とTh細胞、B細胞の活性化が認められる。

GCF：歯肉溝滲出液。

n＝歯周炎患者15名、数値は比率ならびに活性化率(平均±標準偏差)。

末梢血の値と比較して有意差あり。

*：p<0.01。

皮のICAM-1発現との関係、歯周ポケット滲出の動向を免疫組織学的ならびにフローサイトメーター法により検索した。さらに、AIDS患者のGCFについては、マクロファージのHIV組込みならびにHIVの産生について解析した。

材料と方法

(1) 被験者の選択、試料の調整

① 新潟大学歯学部附属病院第二保存科に来院した全身疾患を有さない成人性歯周炎患者52名(平均年齢48歳)について、歯周診査後にcrevicular washing methodでGCFを採取し⁶⁾、同時に採取した末梢血を対照として実験に供した。

② パスツール研究所附属病院に入院しているCDC stage IV(1986)AIDS患者で歯周炎罹患者15名(平均年齢35歳)を対象としてGCF-マクロ

ファージの解析を行った¹¹⁾。リン酸緩衝液あるいはHank's緩衝液中に回収したGCFは、赤血球を溶血後にFicoll-paqueあるいはFicoll-hypaqueを用いた比重遠心法でリンパ球と多形核白血球を分離した。

なお、GCF-マクロファージの解析については、赤血球を溶血後の全白血球を使用した。同時に採取した末梢血は赤血球を溶血後、同様に比重遠心法で細胞を分離した。分離した多形核白血球、リンパ球、マクロファージの生細胞率は、ethidium bromideとacridine orangeまたはtrypan blue dye exclusion法で確認し、末梢血細胞については

表 5 GCF-リンパ球における LFA-1 陽性活性化 Th 細胞数と LFA-1 蛍光強度

	末梢血-リンパ球	GCF-リンパ球
CD11a+CD25+CD4 ⁺ 細胞数/ CD4 ⁺ 10000 細胞	946±172	1916±281*
CD11a+CD25+CD4 ⁺ 細胞の CD11a 蛍光強度	374±15	466±14**

GCF-リンパ球は、末梢血にくらべて LFA-1 陽性活性化 Th 細胞が多くかつ LFA-1 発現が増加している。

GCF：歯肉溝滲出液、CD11a+CD25+CD4⁺細胞：LFA-1 陽性 IL-2 レセプター陽性 Th 細胞。
n=歯周炎患者 16 名。数値は細胞数と蛍光強度（平均±標準偏差）。

末梢血の値と比較して有意差あり。

*：p<0.01, **：p<0.001。

図 1 歯肉組織の ICAM-1(CD54)と LFA-1 (CD11a)の 2 重染色

歯周ポケット上皮は ICAM-1 陽性(▲)であり、歯肉結合組織中に浸潤しているリンパ球は LFA-1 陽性(△)である(50 倍)。実線は、ポケット上皮と歯肉結合組織の境界を示す。

97%以上、GCF 細胞では 87%以上が生細胞であった。

(2) GCF-フローサイトメトリー解析⁶⁻¹³⁾

① Fcγ レセプターを介した多形核白血球の貪食能測定は、牛血清アルブミンを蛍光ビーズ(径 2 μm, Polyscience)に付着後、抗牛血清アルブミンウサギ IgG を結合させた。このビーズ 2×10⁶ に多形核白血球 2×10⁵ を添加後、45 分間インキュベートし、その後 FACSscan(Becton-Dickinson)を使用して貪食率ならびに貪食度を測定した¹³⁾。

② 多形核白血球とリンパ球の膜表面発現については、各種モノクローナル抗体を用いて直接法あるいは間接法で解析した。使用したモノクローナル抗体は、多形核白血球については Fcγ レセプター III (CD16, Medarex), Fcγ レセプター II (CD32, Caltag), 補体レセプター 1 (CD35, Immunotech), 補体レセプター 3 (CD11b, Mo-1, Coulter) を、リンパ球については Becton-Dickinson の T (CD3, Leu4), B (CD19, Leu12), Th (CD4, Leu3a), Ts (CD8, Leu2a), 活性化マーカーとして IL-2 レセプター (CD25, Tac antigen), HLA-DR 抗原を、また接着分子として leukocyte function-associated antigen-1 (LFA-1, CD11a, Becton-Dickinson)を使用した。

③ マクロファージについては CD68 (KP-1, DAKO), HIV gag 蛋白 p24 抗原 (KC57, Coulter) に対する抗体を使用した。蛍光色素としては FITC, PE, SR613 を使用し、単染色、2 重染色、3 重染色を行い FACSscan で陽性率と蛍光強度を解析した。また、HIV p24 抗原に対する抗体の使用に際しては 0.1% サポニン処理を行い細胞質内の染色を施した¹¹⁾。

(3) 歯肉組織の免疫組織化学的解析¹⁰⁾

GCF 採取直後に、歯肉組織を採取し OCT compound に包埋後、6 μm の cryosection を作成した。Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) 染色は anti-CD54 モノクローナル抗体 (Becton-Dickinson), biotinylated goat anti-mouse IgG, avidin-biotin peroxidase complex による ABC 法で行った。その後、LFA-1, IL-2 レセプター、CD4 の染色は、anti-CD11a, anti-CD25, anti-CD4 モノクローナル抗体 (DAKO), rabbit anti-mouse Ig, alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase complex を使用した APAAP 法で行った。その後、対比染色として Lillie's hematoxylin で染色を施した。

(4) GCF-多形核白血球の各種レセプター mRNA 解析および GCF-マクロファージの HIV gag 塩基配列の検出^{13,14)}

① 多形核白血球の各種レセプター mRNA については、GCF および末梢血の多形核白血球から

図2 GCF中のLFA-1陽性活性化Th細胞数と歯肉組織中のLFA-1陽性細胞数、活性化T細胞数との相関
GCFのLFA-1陽性活性化Th細胞数と歯肉組織中のLFA-1陽性細胞数やIL-2レセプター陽性細胞数との間に有意の相関が認められた。
GCF：歯肉溝滲出液、CD11a⁺CD25⁺CD4⁺細胞：LFA-1陽性活性化Th細胞。
n=歯周炎患者7名の歯肉組織(ポケット上皮中央部と直下結合組織)。有意の相関あり。*：P<0.05。

表6 AIDS患者のGCFにおけるHIV感染マクロファージの割合

	末梢血	GCF
マクロファージの割合(CD68 ⁺)	2.28±4.34	12.44±7.30
p24 ⁺ マクロファージの割合(CD68 ⁺ KC57 ⁺)	1.06±0.88	11.71±7.34*

GCFでは、末梢血にくらべてp24陽性感染マクロファージが増加している。

GCF：歯肉溝滲出液、KC57：HIV *gag* 蛋白p24抗原。

n=歯周炎罹患AIDS患者15名。数値は全白血球に対する割合(平均±標準偏差)。

末梢血の値と比較して有意差あり。

*：P<0.001。

acetate-guanidine-phenol-chloroform (AGPC) 法で全RNAを抽出し、random primerにてcDNAに合成した後、FcγレセプターIII、II、補体レセプター1、3に特異的primer¹³⁾を使用して、12-36サイクルの範囲でPCRを行い、産物をアガロースゲル上で電気泳動後、ethidium bromide染色した。内部コントロールとしてβ-actinを使用して、同一患者のGCFと末梢血については1-2 μg全RNAからスタートして同一条件、同時にRT-PCRを行い、染色されたバンドの濃度をNIH-imageに取り込み、β-actinに対する各レセプターの濃度からChellyの計算式に従い、mRNAレベルを半定量的に算定した^{13,14)}。

② GCF-マクロファージのgenomic DNAならびにcellular RNAにおけるHIV *gag* 塩基配列の存在の有無については、GCF細胞よりNaI/chloroform法でDNAを、AGPC法でRNAを抽出した。RNAについてはrandom primerにてcDNAに合成した。そして、HIV *gag* に特異的な3種類のprimer(SK38 upper primer {5'ATA ATC CAC CTA TCC CAG TAG GAG AAA T3'}, SK38 lower primer {GM2: 5' TGG CTC TGG TCT GCT CTG AA3'}, SK39 {5' TTT GGT CCT TGT CTT ATG TCC AGA ATG C3'})を使用して、2回PCR(35cycle, 25cycle)を行うsemi-nested PCR法を行い感度ならびに特異性を高めた。その後、産物を同様に電気泳動し、染色後バンドの有無を陽性、陰性コントロールと比較して評価した。

(5) 統計処理

GCFと末梢血における値の解析はWilcoxon signed-rank testで、相関についてはKendall's rank-correlationで統計処理を行い、p<0.05をもって統計学的有意性とした。

結 果

(1) GCF-多形核白血球の特性

① GCF-多形核白血球のFcγレセプター介

図 3 AIDS 患者の GCF における HIV 感染マクロファージの割合
 歯周炎罹患 AIDS 患者の典型例. GCF では、末梢血にくらべて p24 陽性感染マクロファージが増加している.
 GCF: 歯肉溝滲出液. 縦軸: HIV *gag* 蛋白 p24 抗原. 横軸: マクロファージ(CD68).

在性食能については、表 1 に示すように歯周炎患者の食食率は、末梢血では $56.0 \pm 9.9\%$ 、GCF では $13.1 \pm 11.4\%$ 、食食度は末梢血では 1.35 ± 0.34 であるのに対して、GCF では 0.26 ± 0.31 であり、いずれにおいても GCF において有意の減少が認められた。

② $\text{Fc}\gamma$ レセプター III, II, 補体レセプター 3 の膜表面発現は、蛍光強度で解析したもので表 2 に示す。末梢血では、 $\text{Fc}\gamma$ レセプター III は 64.9 ± 20.7 、 $\text{Fc}\gamma$ レセプター II では 36.8 ± 4.8 、補体レセプター 3 は 102.6 ± 48.2 であるのに対して、GCF では 29.6 ± 14.2 、 14.5 ± 3.7 、 551.7 ± 140.9 であった。GCF-多形核白血球は末梢血にくらべて、 $\text{Fc}\gamma$ レセプターでは有意の低下であるのに対して、補体レセプター 3 では逆に有意の増加を示した。

③ $\text{Fc}\gamma$ レセプター III, II, 補体レセプター 1, 3 の mRNA 発現を β -actin に対する相対比でまとめたものが表 3 である。GCF は、末梢血にくらべて $\text{Fc}\gamma$ レセプター II を除きいずれも有意の減少が認められた。

(2) GCF-リンパ球の動向

① リンパ球サブセット比ならびにリンパ球サブセットの活性化率を表 4 に示す。GCF では末梢血にくらべて、T 細胞/B 細胞比の有意の減少と Th 細胞、B 細胞の IL-2 レセプター陽性率ならび

に Th 細胞、Ts 細胞の HLA-DR 陽性率の増加が認められた。さらに、LFA-1 陽性活性化 Th 細胞の three color flowcytometry 解析で、陽性リンパ球数は、末梢血に比較して GCF において有意の増加を示した。また、LFA-1 陽性活性化 Th 細胞における LFA-1 蛍光強度は、末梢血にくらべて GCF で有意に増加していた(表 5)。

② 歯肉組織リンパ球サブセットの動向。採取した歯肉組織を ICAM-1 と LFA-1 の 2 重染色を施した所見(図 1)において、全例でポケット上皮細胞ならびに内皮細胞は ICAM-1 陽性であり、LFA-1 陽性細胞も多数結合組織中に認められた。さらに、GCF の LFA-1 陽性活性化 Th 細胞と同一部位における歯肉組織中の LFA-1 陽性細胞数や IL-2 レセプター陽性細胞数との間に統計学的に有意の相関が認められた(図 2)。

(3) GCF-マクロファージの特性

① 歯周炎を有する AIDS 患者の GCF 中のマクロファージは、末梢血で全白血球の $2.28 \pm 4.34\%$ を占めるのにくらべ、GCF では $12.44 \pm 7.30\%$ と増加していた(表 6)。そして、HIV *gag* 蛋白 p24 抗原を有する感染マクロファージは、末梢血で $1.06 \pm 0.88\%$ に対して GCF では $11.71 \pm 7.34\%$ と有意に増加していた(表 6, 図 3)。

② AIDS 患者の GCF-白血球からの DNA ならびに RNA 中に、HIV *gag* 蛋白に特異的なバン

図 4 AIDS患者のGCF-白血球からのHIV *gag* 蛋白特異的DNA, RNAの検出
 歯周炎罹患患者 AIDS 患者 3 名(1, 2, 3)の GCF-白血球からの DNA, RNA
 に, HIV *gag* 蛋白特異的バンド (bp115) が検出された. RT-PCR と semi-nested
 PCR を行い, 産物を電気泳動後, 染色した.

上段: genomic DNA, 下段: cellular RNA.

C: positive control. PB: 末梢血. GCF: 歯肉溝滲出液. βA: β-actin. EP1:
 611bp *gag* endproduct (1 回目の PCR 産物). M: 100 bp ladder molecular
 weight marker.

ドが検出された(図 4)。

考 察

GCF-多形核白血球は, 末梢血に比較して Fcγ レセプター II, III の膜表面発現が低下し, 補体レセプター 3 の膜表面発現は増加が認められた. さらに, mRNA の発現は GCF の Fcγ レセプター III, 補体レセプター 1, 3 において減少が認められた. Fcγ レセプター II, III の発現低下と Fcγ レセプター III mRNA の発現減少が, GCF-多形核白血球の Fc 介在性貪食能の低下を生じさせ, このことが歯周局所における防衛機能の障害を導くことが考えられる. 補体レセプターが膜表面では増

加しているにもかかわらず, mRNA の発現が低下した関係については, すでに細胞内にプールされた補体レセプター分子が膜表面に移動したためと考えられる¹⁵⁾. mRNA の発現を減少させる原因因子としては, 歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* 培養上清成分に Fcγ レセプター II, III の膜表面発現を減少させる成分が含まれており¹²⁾, 歯周ポケット内に存在する歯周病原性細菌成分ならびに GCF 中に検出されるサイトカインが考えられる¹⁶⁾.

リンパ球については, 末梢血にくらべて GCF 中で活性化 B 細胞が増加していた. 歯周炎病変は, 歯肉組織中に B 細胞と抗体産生する形質細胞が多

数浸潤しており¹⁾、このB細胞病変を反映してGCF中にB細胞が増加したと考えられる。また、活性化マーカーであるIL-2レセプターや、HLA-DRを発現しているTh細胞とB細胞が多く存在していた。IL-2レセプターの発現は比較的初期の活性を示し、HLA-DRの発現は後期の活性を示すものといわれている^{10,17)}。これらのリンパ球は、歯周ポケット内の細菌成分により活性化されることが推測される。さらに、炎症に伴い歯周ポケット上皮はICAM-1陽性となり、組織内に浸潤しているLFA-1陽性細胞や活性化Th細胞と、GCF中LFA-1陽性活性化Th細胞との間に、細胞数において正相関が認められた。健康歯肉の歯肉溝上皮では、ICAM-1の発現がみられないこと¹⁰⁾から、LFA-1陽性リンパ球が歯周ポケットへ遊走する際、歯周ポケット上皮のICAM-1と、リンパ球表面のLFA-1とが接着の役割をしていることが示唆された。

CDC stage IVのAIDS患者は、HIV感染の末期状態であり、末梢血中のTh細胞が $<200/\mu\text{l}$ であることから、全身ならびに口腔内局所における免疫応答も著しく低下していると考えられる。GCFにおいて、リンパ球および多形核白血球の機能の著しい低下と、代わりにマクロファージの多数の滲出がみられた¹¹⁾。このマクロファージは、HIV *gag* 蛋白p24に陽性であり、semi-nested PCRにより、HIVのDNAへの組込みならびにHIVの産生を示す、ウイルスのreservoirになりうることを示唆された。顎下腺の唾液成分中には、HIVの感染を不活化するインヒビターが存在するため¹⁸⁾、一般的には口腔を介したHIVの伝播の可能性は低いと考えられるが、歯周炎に罹患したHIV患者においては、GCF-マクロファージを介した感染も完全には否定できない。このマクロファージの感染力については今後検索する必要がある。

本論文においてご助言ならびにご協力願いました、新潟大学歯学部歯科保存学第二講座 原 耕二教授ならびに教室員の宮崎 朗、田井秀明、杉田典子、鈴木 卓、松木 裕、武内義晴、小林哲夫、諸氏に感謝申し上げます。また、AIDS患者の研究

につきましては、パリ、パスツール研究所、Epidemiology of Oncogenic Virus Unit、パスツール病院との共同研究であり、Guy de THÉ教授、B. Dupont 附属病院長、D. Jeannel, P. Tortevoye, S. Fournier, 各研究員に感謝の意を表します。

本研究の遂行にあたり、文部省科学研究費助成金(基盤研究A, B, C, 奨励研究, 国際学術研究), エイズ予防財団, 田中産業株式会社(新潟県上越市)に多大な助成をしていただきましたことを付記し、感謝申し上げます。

文 献

- 1) 前田勝正, 吉江弘正, 大石正道: 口腔免疫学アトラス. 医歯薬出版, 1991, p 46-62.
- 2) 吉江弘正: CEJと歯肉溝滲出液. CEJの科学と臨床. 日本歯科評論, 1995, p 59-72.
- 3) 吉江弘正: 歯肉溝滲出液と免疫応答. 歯界展望 79: 295-302, 1992.
- 4) 吉江弘正, 原 耕二: 歯肉溝滲出液. 歯科ジャーナル 31: 57-64, 1990.
- 5) Roitt IM, Lehner T: Immunology of Oral Diseases. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1980, p 294-304.
- 6) 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.
- 7) Sugawara M, Yamashita K, Yoshie H, Hara K: Detection of, and anti-collagen antibody produced by, CD5-positive B cells in inflamed gingival tissues. J. Periodont. Res. 27: 489-498, 1992.
- 8) Sugita N, Suzuki T, Yoshie H, Adachi M, Hara K: Differential expression of CR3, FcεR II and FcγR III on polymorphonuclear leukocytes in gingival crevicular fluid. J. Periodont. Res. 28: 363-372, 1993.
- 9) Suzuki T, Sugita N, Yoshie H, Hara K: Presence of activated eosinophils, high IgE and sCD23 titers in gingival crevicular fluid of patients with adult periodontitis. J. Periodont. Res. 30: 159-166, 1995.
- 10) Takeuchi Y, Sakurai K, Ike I, Yoshie H, Kawasaki K, Hara K: ICAM-1-expressing pocket epithelium, LFA-1-expressing T cells in gingival tissue and gingival crevicular fluid as features characterizing inflammatory cell invasion and exudation in adult periodontitis. J. Periodont. Res. 30: 426-435, 1995.
- 11) Suzuki T, Yoshie H, Jeannel D, Tortevoye P, Fournier S, Dupont B, de Thé G, Hara K: Detection of intracellular p24-positive macrophages in gingival crevicular fluid from periodontal lesions of stage IV AIDS patients. AIDS 10: 804-805, 1996.
- 12) Tai H, Kobayashi T, Hara K: Changes in comple-

- ment and immunoglobulin G receptor expression on neutrophils associated with *Porphyromonas gingivalis*-induced inhibition of phagocytosis. Infect. Immun. 61 : 3533-3535, 1993.
- 13) Miyazaki A, Kobayashi T, Suzuki T, Yoshie H, Hara K : Loss of Fc γ receptor and impaired phagocytosis of polymorphonuclear leukocytes in gingival crevicular fluid. J. Periodont. Res. 1997. (in press)
- 14) Chelly J, Kaplan J-C, Maire P, Gautron S, Kahn A : Transcription of the dystrophin gene in human muscle and non-muscle tissues. Nature 333 : 858-860, 1988.
- 15) Berger M, O'Shea J, Cross A, Folks T, Chused T, Brown E, Frank M : Human neutrophils increase expression of C3bi as well as C3b receptors upon activation. J. Clin. Invest. 74 : 1566-1571, 1984
- 16) Alexander M, Damoulis P : The role of cytokines in the pathogenesis of periodontal disease. Current Opinion in Periodontology 39-53, 1994.
- 17) Smith K : Interleukin-2 : Inception, Impact, and Implications. Science 240 : 1169-1176, 1988.
- 18) Fox C, Wolff A, Yeh C-K, Atkinson C, Baum J : Saliva inhibits HIV-1 infectivity. JADA 116 : 635-637, 1988.