

Streptococcus mutans と唾液タンパク質の反応に及ぼす ラクトフェリンの作用

於保 孝彦

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 発生発達成育学講座 口腔保健推進学分野

Effect of lactoferrin on the interaction between *Streptococcus mutans* and salivary proteins

Takahiko Oho

Department of Preventive Dentistry, Division of Developmental Medicine,
Course of Health Research, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences,
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

Abstract

Streptococcus mutans has been implicated as the prime cause of dental caries, one of the most common diseases in humans. In the oral cavity, there are two types of bacterial interaction with salivary components; saliva-induced bacterial aggregation in solution phase, and bacterial adherence to salivary components adsorbed on the tooth surface. As for *S. mutans* cells, a 190-kDa surface protein antigen of the organism (PAc) is responsible for these interactions. We have recently shown that bovine milk lactoferrin inhibits both the saliva-induced *S. mutans* aggregation and the adherence of the organism to a salivary film by binding strongly to salivary agglutinin. Using deletion analysis, we also demonstrated that amino acid residues 473 to 538 of lactoferrin (Lf411) are implicated in these activities. Several studies have demonstrated that salivary agglutinin is a member of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) superfamily, and the *S. mutans*-binding peptide domain on salivary agglutinin was revealed to be SRCRP2 peptide. We have recently shown that both the rPac of *S. mutans* and bovine lactoferrin bind to peptide domain SRCRP2 of salivary agglutinin, and that lactoferrin inhibits the interaction between rPac and SRCRP2. The lactoferrin residues from 480 to 492 are important for this inhibition, and the peptide corresponding to this region could be used as an inhibitor of *S. mutans* adherence to a salivary film.

Key words: dental caries, *Streptococcus mutans*, salivary agglutinin, lactoferrin

I. はじめに

齲蝕は世界的に最も蔓延している感染症である¹⁾。その原因菌の発見は1924年、イギリスの Clarke がヒトの齲蝕病巣からレンサ球菌を分離し *Streptococcus mutans* という学名を提唱したことに始まる。その後、約30年間 *S. mutans* についての研究はほとんどなされなかったが、1954年、米国の Orland ら²⁾の報告を契機に再び研究は盛んになり、1968年以降、齲蝕原性レンサ球菌は *S. mutans* と呼ばれるようになった。現在、齲蝕原因菌は7つの菌種に分類され、一括してミュータンスレンサ球菌と呼ばれている³⁾。ヒトの齲蝕細菌は血清型 *c, e, f* から成る *S. mutans* と血清型 *d, g* の *S. sobrinus* である。このうち血清型 *c* の *S. mutans* が圧倒的に広く分布している⁴⁾。

S. mutans は口腔内で様々な唾液タンパク質と相互作用をしながら存在している。我々はヒトの主な齲蝕細菌である *S. mutans* と native な状態で反応する唾液タンパク質を分離精製し、菌体のもつ唾液タンパク質との反応成分である線毛様の菌体表層タンパク質 PAc (protein antigen serotype c) との反応を調べた⁵⁾。その後、この両者の反応を阻害できれば齲蝕の予防ができるという仮説に基づいて、牛乳中に PAc に対する抗体を誘導し、受動免疫による齲蝕予防の研究を進めてきた⁶⁾。この研究過程で抗 PAc 抗体を含有しない対照牛乳にも *S. mutans* と唾液タンパク質の相互作用を阻害する物質が存在することを発見し、その成分の精製を行ったところラクトフェリンであることが認められた⁷⁾。

ラクトフェリンはこれまで様々な生理活性をもつタンパク質として知られている⁸⁾。齲蝕予防剤としての開発を目指して、*S. mutans* と唾液タンパク質の反応に及ぼすラクトフェリンの作用を調べた研究について

紹介したい。

II. *S. mutans* と唾液タンパク質の反応

A. 序

口腔内細菌と唾液タンパク質との相互作用により、2つの現象が生じることが知られている⁹⁾ (図1)。すなわち液相において唾液タンパク質が菌体に結合することによって生じる菌体凝集と固相表面に吸着した唾液タンパク質への菌体付着である。後者の例としてはエナメル質表面に形成された獲得被膜への菌体の付着がよく知られている。同じ唾液タンパク質でも固相表面での菌体付着には関わるが、液相での菌体凝集には関与しないものが存在する^{10, 11)}。これについては、タンパク質が固相表面に吸着した場合、液相での状態に比べて立体構造に変化を生じ、菌体のリガンドに対する結合部位が提示されるためというモデルが提唱されている¹²⁾。

S. mutans 菌体が歯面に定着するには、スクロース非依存性の初期付着とスクロース依存性の蓄積と呼ばれる2つの過程を経るといわれている¹³⁾ (図2)。菌体の定着に関わる病原因子の研究も進んでおり、初期付着には前述した PAc が主として関与する^{14, 15)}。菌体は PAc を介してエナメル質表面の唾液タンパク質と相互作用を生じて付着をするが、その機能領域は N 末端側に存在するアラニンの豊富な領域 (A-repeat) であることが分かっている¹⁶⁾。また、蓄積にはグルコシルトランスフェラーゼ (GTF) が関与し、スクロースから非水溶性グルカンを合成し、口腔内の他の菌を取り込みながら歯面にプラークを形成していく。この GTF についてもスクロース結合領域とグルカン結合領域の2つの機能領域が知られている¹⁷⁾。

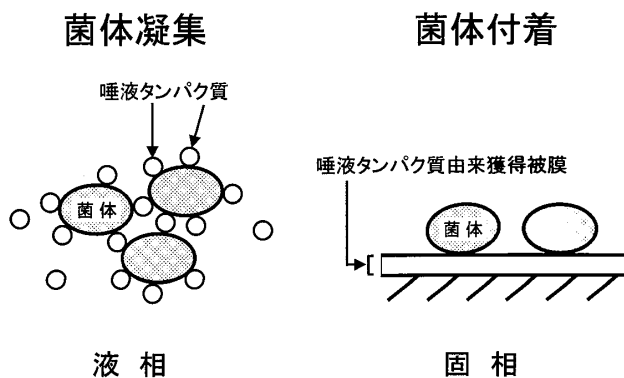


図1 菌体と唾液の相互作用

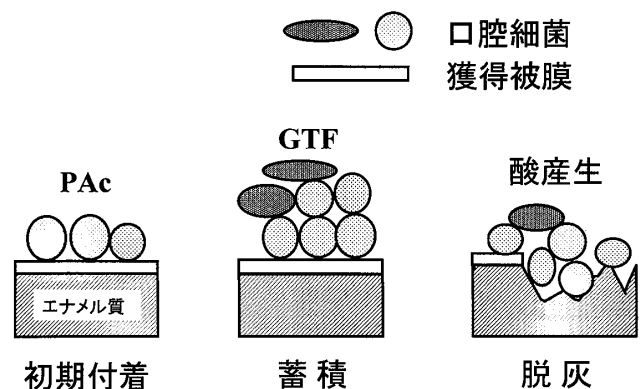


図2 齲蝕発症の過程

B. *S. mutans* と唾液凝集素

S. mutans 菌体の歯面への初期付着に注目し、唾液タンパク質との相互作用について研究を行った。これまで *S. mutans* 菌体と反応するタンパク質としては、分泌型 IgA¹⁸⁾、ヒスチジン高含有タンパク質¹⁹⁾、リゾチーム²⁰⁾、高分子糖タンパク質²¹⁾、プロリン高含有タンパク質²²⁾、 α -アミラーゼ²³⁾など多くのものが報告されている。また、PACと反応する唾液タンパク質についても研究がなされてきたが^{24, 25)}、唾液タンパク質を変性させた状態で調べたものが多い²⁶⁾。そこで我々は native な状態で affinity adsorption²⁷⁾ という手法を用いて *S. mutans* の PAC と反応するタンパク質（唾液凝集素）を分離精製した⁵⁾。この唾液凝集素は、native PAGE にて 600kDa 以上の分子量を示す高分子糖タンパク質であり、分泌型 IgA と複合体を形成していた。PAC と唾液凝集素の反応について表面プラスモンバイオセンサーを用いて調べたところ、両者の反応は Ca イオン依存性であり、唾液凝集素に含まれる糖の1つである α -2, 6 結合型シアル酸が結合に関与していることが明らかとなった。しかしながら SDS を用い還元条件下で分泌型 IgA との分離を行うと、PAC への結合活性は全く失われた。このようなタンパク構造を変性させる処理で PAC への結合が見られなくなることから唾液凝集素中のタンパク質部分が主たる結合活性を担っていることが示唆されていた。その後、唾液凝集素のタンパク質部分は DMBT1 (deleted in malignant brain tumors 1) や肺胞タンパク質 gp-340 と同じ遺伝子でコードされ、scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) superfamily に属するものであることが明らかとなった²⁸⁻³⁰⁾。唾液凝集素のタンパク質部分は 2,413 個のアミノ酸から成り、14個の SRCR domain と11個の SID (SRCR-interspersed domain) およびその他の領域から成ることが報告された³¹⁾。そこでオランダ ACTA の Bikker ら³²⁾は、相同性の高い13個の SRCR domain に存在する共通のアミノ酸配列をもとに各々 10~26個のアミノ酸から成るペプチドを合成し、*S. mutans* 菌体との反応を調べた。その結果、16個のアミノ酸から成る SRCRP2 が菌体と結合する領域であることが認められた。現在は唾液凝集素については、このタンパクコア部分についての研究が主として行われている。

III. *S. mutans*, 唾液タンパク質, ラクトフェリンの相互作用

A. ラクトフェリンの特徴

ラクトフェリンは分子量約80kDaの塩基性タンパク質であり、ウシでは689個、ヒトでは691個のアミノ酸から成る³³⁾。乳以外に唾液、涙、鼻汁など様々な体液中に存在し、また好中球の中にも見いだされている。高い鉄イオン結合能をもつため、発見された当初は「赤色タンパク質」と呼ばれていた。この鉄イオン結合能はラクトフェリンが示す様々な役割のために重要なファクターと考えられている^{34, 35)}。これまでラクトフェリンの立体構造はニュージーランド Massey 大学の Moore らによって明らかにされている³⁶⁾。2枚の柄のない銀杏の葉に丸く厚みをもたせて、少しずつ並べたような形態をとっており、各葉の部分をローブと呼ぶことから N-ローブ、C-ローブがポリペプチド鎖で連結された構造を有している。ちなみに各ローブは2つのドメインから構成され、それらが鉄イオン結合部位を形成するため、ラクトフェリン分子1個に2個の鉄イオンが結合できることになる。*S. mutans* に対しても、成育に必要な鉄イオンをラクトフェリンが奪うことによる静菌作用が報告されている³⁷⁾。さらに最近では殺菌作用をもつラクトフェリン由来ペプチドの研究も進められている³⁸⁻⁴⁰⁾。

B. ラクトフェリンによる菌体凝集の阻害

ラクトフェリンの細菌への作用に対して、我々は唾液タンパク質への作用を発見した。唾液凝集素の作用によって生じる *S. mutans* 菌体の凝集を、牛乳中のラクトフェリンが阻害することを明らかにした⁷⁾。表面

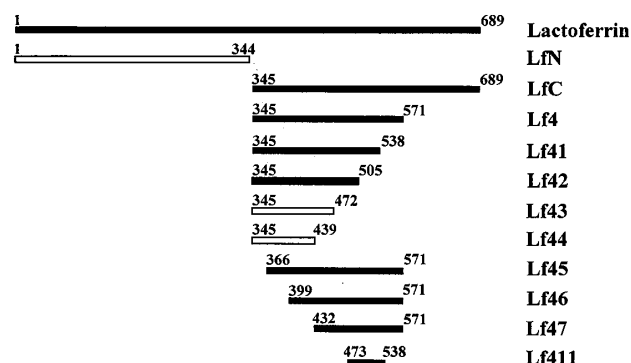


図3 唾液による *S. mutans* の菌体凝集を抑制するラクトフェリン断片タンパク質

数字はアミノ酸残基番号を示す。Solid bar, 抑制効果あり；Open bar, 抑制効果なし。

プラスモンバイオセンサーを用いて、センサーチップ上にリガンドとして固定化されたPacおよび唾液凝集素に対するラクトフェリンの結合能を調べたところ、唾液凝集素の方に約3倍強く結合することが認められた。すなわち *S. mutans* 菌体と唾液凝集素の反応に対して、ラクトフェリンは唾液凝集素側に強く結合して両者の反応を阻害することが考えられた。そこで次のステップとしてウシラクトフェリンのcDNAを北海道大学の島崎敬一教授から供与していただき、ラクトフェリンの断片タンパク質を作製してその機能領域を追究することとした。ラクトフェリンの唾液凝集素への結合領域を *S. mutans* 菌体の唾液による凝集を指標として調べたところ、まずこの領域はC-ローブに存在することが分かった。さらに断片の大きさを絞っていきアミノ酸残基番号473-538の領域に唾液凝集素との結合活性があることを見つけ、この断片タンパク質をLf411と名付けた⁷⁾(図3)。

C. ラクトフェリンによる菌体付着の阻害

さて、*S. mutans* 菌体と唾液タンパク質との反応について菌体凝集を指標として調べたが、実際の口腔内で菌体が凝集するということは、その後の菌塊の嚥下へとつながり、齲蝕予防のためには有利な現象といえる。また、前述したように固相表面に吸着した唾液タンパク質は立体構造の変化を生じ、ラクトフェリンとの反応が生じない可能性も考えられた。そこで次にエナメル質表面に形成された唾液タンパク質から成る獲得被膜への *S. mutans* 菌体の付着に及ぼすラクトフェリンの作用を調べることにした⁴¹⁾。この獲得被膜中に

は唾液凝集素も含まれることがこれまでに確認されている^{22, 42)}。口腔内エナメル質のモデルとして唾液被覆ハイドロキシアパタイト粒子を用い、蛍光物質で標識した *S. mutans* 菌体と反応させ、菌体の付着に及ぼすラクトフェリンの阻害作用を調べた。その結果、図3に示した *S. mutans* 菌体の唾液タンパク質による凝集を阻害する断片タンパク質のうち4つ (LfC, Lf4, Lf41, Lf42) は、菌体の付着も抑制した。しかし、他の断片タンパク質 (Lf45, Lf46, Lf47, Lf411) は抑制を示さず、反応系に還元剤を添加すると有意に抑制を示すようになった。すなわち後者の断片タンパク質では、唾液タンパク質との結合領域が内部に隠されてしまうような立体構造の変化を生じるが、還元剤でジスルフィド結合を切ると、その領域が表面に提示される可能性が推測された。そこで最も小さな断片タンパク質であるLf411を対象に、その中に含まれる6つのシステイン残基をセリン残基に置換するポイントミューテーションを行った。作製された6つのLf411のミュータントを用いて *S. mutans* 菌体の付着抑制実験を行ったところ、アミノ酸残基番号481のシステインを置換したもの(Lf411-C481S)と同番号532のシステインを置換したもの(Lf411-C532S)が、強い抑制を示した。この結果から断片タンパク質Lf411の内部では、アミノ酸残基番号481と532の2つのシステイン残基がジスルフィド結合を形成して、唾液タンパク質との結合領域を隠している可能性が考えられた。この実験で作製したLf411のミュータントLf411-C481SとLf411-C532Sは、齲蝕抑制タンパク質として利用できる可能性がある。

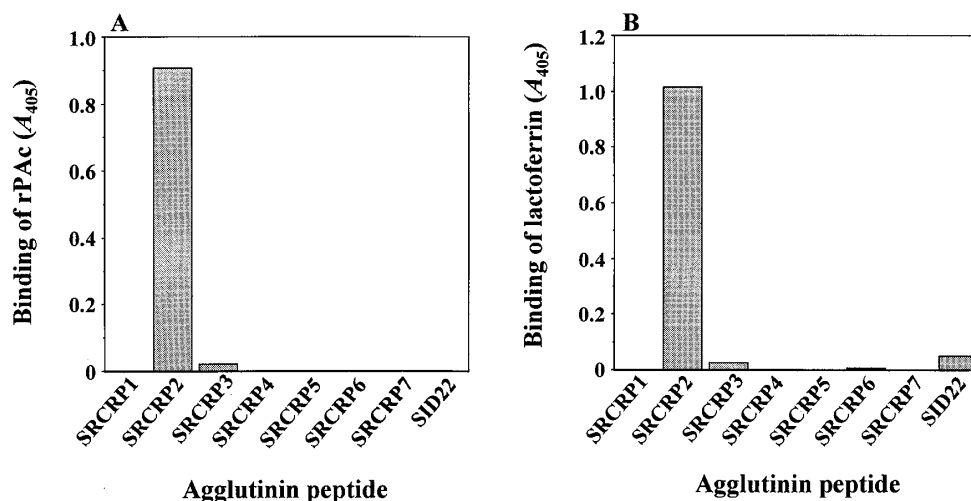


図4 rPac(A)とラクトフェリン(B)の唾液凝集素由来ペプチドへの結合

(Oho et al. 2004⁴³⁾から)

次のステップとしてラクトフェリンと唾液凝集素との反応をペプチドレベルで探ることとした⁴³⁾。前述したように唾液凝集素の遺伝子はクローニングされ、アミノ酸配列も明らかとなっていることから、Bikkerらから SRCR および SID ペプチドを供与してもらい、まず PAc との反応を調べた。用いたペプチドを表 1 に示した。その結果、図 4 A に示すように PAc は SRCRP 2 とのみ強い結合を示した。この結果は、

表 1 唾液凝集素由来ペプチドおよび Lf411由来ペプチド

ペプチド	アミノ酸配列	アミノ酸数
唾液凝集素由来		
SRCRP1	GSESSLALRLVNGGDR	17
SRCRP2	QGRVEVLYRGSWGTV	16
SRCRP3	DDSWDTNDANVVCRLG	18
SRCRP4	GWAMSAPGNARFGQSGPIVLDVRC	26
SRCRP5	SGHESYLWSC	10
SRCRP6	PHNGWLSHNC	10
SRCRP7	GHHEDAGVICSA	12
SID22	AQSWSTPRPDTLPTITLPASTV	22
Lf411由来		
Lf(480-492)	SCAFDEFFSQSCA	13
Lf(490-502)	SCAPGADPKSRLC	13
Lf(499-511)	SRLCALCAGDDQ	13
Lf(519-532)	SKEKYYGYTGAFRC	14

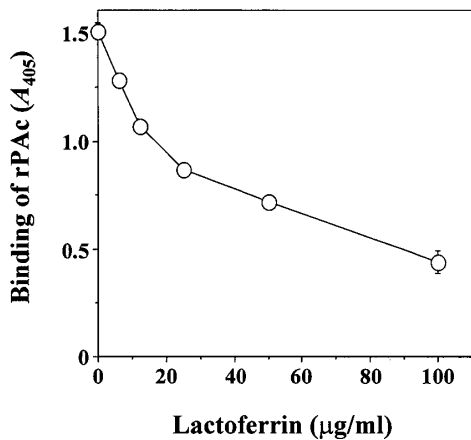


図 5 rPac の唾液凝集素由来ペプチド SRCRP2 への結合に及ぼすラクトフェリンの抑制効果

3 回の平均値±標準偏差を示す。

(Oho et al. 2004⁴³⁾ から

Bikker ら³²⁾が *S. mutans* 菌体と反応するペプチドは SRCRP 2 であるとした報告と一致するものであり、唾液凝集素との反応における PAc の役割を確証づけるものである。次にラクトフェリンと SRCR ペプチドとの反応を調べたところ同様に SRCRP 2 とのみ強い結合を示した (図 4 B)。そこで PAc と SRCRP 2 の反応に及ぼすラクトフェリンの作用を調べたところ、ラクトフェリンおよび断片タンパク質 Lf411は、いずれも PAc の SRCRP 2 への結合を濃度依存性に抑制した (図 5)。さらに Lf411 のアミノ酸配列をもとに 13 または 14 アミノ酸から成るペプチドを合成し (表 1)、同様に実験を行ったところ、アミノ酸残基番号 480-492 から成るペプチドが両者の反応を 84.2% 抑制することが認められた (図 6)。このペプチドを用いると、*S. mutans* 菌体の唾液被覆プレートへの付着が抑制できることを、Bikker の共同研究者である Groenink (ACTA) が確認している (未発表データ)。従って、この 13 個のアミノ酸から成るペプチドは、齲蝕予防ペプチドとして利用できる可能性が高い。

IV. おわりに

齲蝕細菌と唾液タンパク質との相互作用に及ぼすラクトフェリンの作用について研究を行ってきた。これまでラクトフェリンについては、菌に対する直接的な作用についての研究が主体であったが、これに加えて唾液タンパク質に作用して菌体の付着を抑制する作用

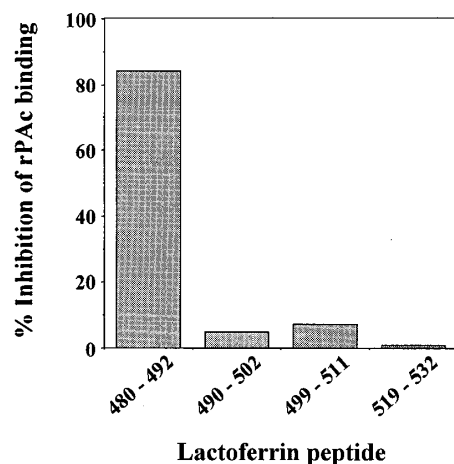


図 6 rPac の唾液凝集素由来ペプチド SRCRP2 への結合に及ぼす Lf411 由来ペプチドの抑制効果

%抑制率は以下の式で求めた：

%抑制率 = $100 \times [(a-b)/a]$, a はペプチドを含まない場合の A_{405} , b はペプチドを含む場合の A_{405}

(Oho et al. 2004⁴³⁾ から

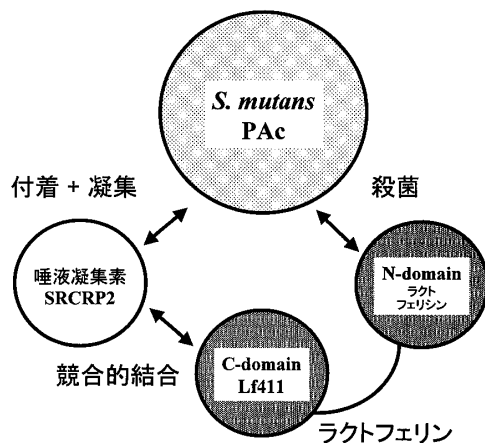


図7 *S. mutans*, 唾液凝集素, ラクトフェリンの相互作用

を持つことが認められた。図7に *S. mutans*, 唾液凝集素, ラクトフェリンの関係をまとめてみた。それぞれの反応の機能領域もペプチドレベルまで解明されており, これらを混合または融合したペプチドを用いた新しい齲蝕予防法の開発が期待される。近年, 天然物由来の機能成分を応用した医薬品や特定保健用食品などの開発が盛んであるが, ラクトフェリンは元来生体に含まれる成分であるため安全性の面でも問題はないと考えられる。今後, 齲蝕のみならず様々な口腔疾患に対するラクトフェリンの効果を調べていきたい。

文 献

- 1) Koga, T., Oho, T., Shimazaki, Y., and Nakano, Y.: Immunization against dental caries. *Vaccine*, 20, 2027-2044, 2002.
- 2) Orland, F. J., Blayney, J. R., Harrison, R. W., Reyniers, J. A., Trexler, P. C., Wagner, M., Gordon, H. A., and Luckey, T. D.: Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms. *J Dent Res*, 33, 147-174, 1954.
- 3) Loesche, W. J.: Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev*, 50, 353-380, 1986.
- 4) Hamada, S., Masuda, N., and Kotani, S.: Isolation and serotyping of *Streptococcus mutans* from teeth and feces of children *J Clin Microbiol*, 11, 314-318, 1980.
- 5) Oho, T., Yu, H., Yamashita, Y., and Koga, T.: Binding of salivary glycoprotein-secretory immunoglobulin A complex to the surface protein antigen of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun*, 66, 115-121, 1998.
- 6) Oho, T., Shimazaki, Y., Mitoma, M., Yoshimura, M., Yamashita, Y., Okano, K., Nakano, Y., Kawagoe, H., Fukuyama, M., Fujihara, N., and Koga, T.: Bovine milk antibodies against cell surface protein antigen PAc-glucosyltransferase fusion protein suppress cell adhesion and alter glucan synthesis of *Streptococcus mutans*. *J Nutr*, 129, 1836-1841, 1999.
- 7) Mitoma, M., Oho, T., Shimazaki, Y., and Koga, T.: Inhibitory effect of bovine milk lactoferrin on the interaction between a streptococcal surface protein antigen and human salivary agglutinin. *J Biol Chem*, 276, 18060-18065, 2001.
- 8) Brock, J. H.: Lactoferrin structure-function relationships. In: *Lactoferrin: interactions and biological functions*, T. W. Hutchens and Lönnerdal, Eds., 3-23, Humana Press Inc., Totowa, N. J., 1997.
- 9) Rosan, B., Appelbaum, B., Golub, E., Malamud, D., and Mandel, I. D.: Enhanced saliva-mediated bacterial aggregation and decreased bacterial adhesion in caries-resistant versus caries-susceptible individuals. *Infect Immun*, 38, 1056-1059, 1982.
- 10) Gibbons, R. J., and Hay, D. I.: Human salivary acidic proline-rich proteins and statherin promote the attachment of *Actinomyces viscosus* LY 7 to apatitic surfaces. *Infect Immun*, 56, 439-445, 1988.
- 11) Raj, P. A., Johnsson, M., Levine, M. J., and Nancollas, G. H.: Salivary statherin. Dependence on sequence, charge, hydrogen bonding potency, and helical conformation for adsorption to hydroxyapatite and inhibition of mineralization. *J Biol Chem*, 267, 5968-5976, 1992.
- 12) Gibbons, R. J.: Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. *J Dent Res*, 68, 750-760, 1989.
- 13) Yu, H., Nakano, Y., Yamashita, Y., Oho, T., and Koga, T.: Effects of antibodies against cell surface protein antigen PAc-glucosyltransferase fusion proteins on glucan synthesis and cell adhesion of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun*, 65, 2292-2298, 1997.
- 14) Bowen, W. H., Schilling, K., Giertsen, E., Pearson, S., Lee, S. F., Bleiweis, A., and Beeman, D.: Role of a cell surface-associated protein in adherence and dental caries. *Infect Immun*, 59, 4606-4609, 1991.

- 15) Koga, T., Okahashi, N., Takahashi, I., Kanamoto, T., Asakawa, H., and Iwaki, M.: Surface hydrophobicity, adherence, and aggregation of cell surface protein antigen mutants of *Streptococcus mutans* serotype c. *Infect Immun*, 58, 289–296, 1990.
- 16) Nakai, M., Okahashi, N., Ohta, H., and Koga, T.: Saliva-binding region of *Streptococcus mutans* surface protein antigen. *Infect Immun*, 61, 4344–4349, 1993.
- 17) Kuramitsu, H. K., Smorawinska, M., Nakano, Y. J., Shimamura, A., and Lis, M.: Analysis of glucan synthesis by *Streptococcus mutans*. *Dev Biol Stand*, 85, 303–307, 1995.
- 18) Cole, M. F., Bryan, S., Evans, M. K., Pearce, C. L., Sheridan, M. J., Sura, P. A., Wientzen, R. L., and Bowden, G. H.: Humoral immunity to commensal oral bacteria in human infants: salivary secretory immunoglobulin A antibodies reactive with *Streptococcus mitis* biovar 1, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, and *Enterococcus faecalis* during the first two years of life. *Infect Immun*, 67, 1878–1886, 1999.
- 19) Payne, J. B., Iacono, V. J., Crawford, I. T., Lepre, B. M., Bernzweig, E., and Grossbard, B. L.: Selective effects of histidine-rich polypeptides on the aggregation and viability of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. *Oral Microbiol Immunol*, 6, 169–176, 1991.
- 20) Senpuku, H., Kato, H., Todoroki, M., Hanada, N., and Nisizawa, T.: Interaction of lysozyme with a surface protein antigen of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett*, 139, 195–201, 1996.
- 21) Carlen, A., and Olsson, J.: Monoclonal antibodies against a high-molecular-weight agglutinin block adherence to experimental pellicles on hydroxyapatite and aggregation of *Streptococcus mutans*. *J Dent Res*, 74, 1040–1047, 1995.
- 22) Stenudd, C., Nordlund, A., Ryberg, M., Johansson, I., Kallestal, C., and Stromberg, N.: The association of bacterial adhesion with dental caries. *J Dent Res*, 80, 2005–2010, 2001.
- 23) Ray, C. A., Gfell, L. E., Buller, T. L., and Gregory, R. L.: Interactions of *Streptococcus mutans* fimbria-associated surface proteins with salivary components. *Clin Diagn Lab Immunol*, 6, 400–404, 1999.
- 24) Munro, G. H., Evans, P., Todryk, S., Buckett, P., Kelly, C. G., and Lehner, T.: A protein fragment of streptococcal cell surface antigen I/II which prevents adhesion of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun*, 61, 4590–4598, 1993.
- 25) Moisset, A., Schatz, N., Lepoivre, Y., Amadio, S., Wachsmann, D., Scholler, M., and Klein, J. P.: Conservation of salivary glycoprotein-interacting and human immunoglobulin G-cross-reactive domains of antigen I/II in oral streptococci. *Infect Immun*, 62, 184–193, 1994.
- 26) Russell, M. W., and Mansson-Rahemtulla, B.: Interaction between surface protein antigens of *Streptococcus mutans* and human salivary components. *Oral Microbiol Immunol*, 4, 106–111, 1989.
- 27) Rundegren, J., and Arnold, R. R.: Differentiation and interaction of secretory immunoglobulin A and a calcium-dependent parotid agglutinin for several bacterial strains. *Infect Immun*, 55, 288–292, 1987.
- 28) Holmskov, U., Lawson, P., Teisner, B., Tornoe, I., Willis, A. C., Morgan, C., Koch, C., and Reid, K. B.: Isolation and characterization of a new member of the scavenger receptor superfamily, glycoprotein-340 (gp-340), as a lung surfactant protein-D binding molecule. *J Biol Chem*, 272, 13743–13749, 1997.
- 29) Ligtenberg, T. J., Bikker, F. J., Groenink, J., Tornoe, I., Leth-Larsen, R., Veerman, E. C., Nieuw Amerongen, A. V., and Holmskov, U.: Human salivary agglutinin binds to lung surfactant protein-D and is identical with scavenger receptor protein gp-340. *Biochem J*, 359, 243–248, 2001.
- 30) Mollenhauer, J., Wiemann, S., Scheurlen, W., Korn, B., Hayashi, Y., Wilgenbus, K. K., von Deimling, A., and Poustka, A.: DMBT1, a new member of the SRCR superfamily, on chromosome 10 q 25.3–26.1 is deleted in malignant brain tumours. *Nat Genet*, 17, 32–39, 1997.
- 31) Hohenester, E., Sasaki, T., and Timpl, R.: Crystal structure of a scavenger receptor cysteine-rich domain sheds light on an ancient superfamily. *Nat Struct Biol*, 6, 228–232, 1999.
- 32) Bikker, F. J., Ligtenberg, A. J., Nazmi, K., Veerman, E. C., van't Hof, W., Bolscher, J. G., Poustka, A., Nieuw Amerongen, A. V., and Mollenhauer, J.: Identification of the bacteria-binding peptide domain on salivary agglutinin (gp-340/DMBT1), a member of

- the scavenger receptor cysteine-rich superfamily. *J Biol Chem*, 277, 32109–32115, 2002.
- 33) Goodman, R. E., and Schanbacher, F. L.: Bovine lactoferrin mRNA: sequence, analysis, and expression in the mammary gland. *Biochem Biophys Res Commun*, 180, 75–84, 1991.
- 34) Baker, E. N., Anderson, B. F., Baker, H. M., MacGillivray, R. T., Moore, S. A., Peterson, N. A., Shewry, S. C., and Tweedie, J. W.: Three-dimensional structure of lactoferrin. Implications for function, including comparisons with transferrin. *Adv Exp Med Biol*, 443, 1–14, 1998.
- 35) Sanchez, L., Calvo, M., and Brock, J. H.: Biological role of lactoferrin. *Arch Dis Child*, 67, 657–661, 1998.
- 36) Moore, S. A., Anderson, B. F., Groom, C. R., Haridas, M., and Baker, E. N.: Three-dimensional structure of diferric bovine lactoferrin at 2.8 Å resolution. *J Mol Biol*, 274, 222–236, 1997.
- 37) Lassiter, M. O., Newsome, A. L., Sams, L. D., and Arnold, R. R.: Characterization of lactoferrin interaction with *Streptococcus mutans*. *J Dent Res*, 66, 480–485, 1987.
- 38) Yamauchi, K., Tomita, M., Giehl, T. J., and Ellison III, R. T.: Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment. *Infect Immun*, 61, 719–728, 1993.
- 39) Groenink, J., Walgreen-Weterings, E., van 't Hof, W., Veerman, E. C., and Nieuw Amerongen, A. V.: Cationic amphipathic peptides, derived from bovine and human lactoferrins, with antimicrobial activity against oral pathogens. *FEMS Microbiol Lett*, 179, 217–222, 1999.
- 40) van der Kraan, M. I., Groenink, J., Nazmi, K., Veerman, E. C., Bolscher, J. G., and Nieuw Amerongen, A. V.: Lactoferrampin: a novel antimicrobial peptide in the N1-domain of bovine lactoferrin. *Peptides*, 25, 177–183, 2004.
- 41) Oho, T., Mitoma, M., and Koga, T.: Functional domain of bovine milk lactoferrin which inhibits the adherence of *Streptococcus mutans* cells to a salivary film. *Infect Immun*, 70, 5279–5282, 2002.
- 42) Carlen, A., Bratt, P., Stenudd, C., Olsson, J., and Stromberg, N.: Agglutinin and acidic proline-rich protein receptor patterns may modulate bacterial adherence and colonization on tooth surfaces. *J Dent Res*, 77, 81–90, 1998.
- 43) Oho, T., Bikker, F. J., Nieuw Amerongen, A. V., and Groenink, J.: A peptide domain of bovine milk lactoferrin inhibits the interaction between streptococcal surface protein antigen and a salivary agglutinin peptide domain. *Infect Immun*, 72, 6181–6184, 2004.