

口腔内の先天性免疫機構

— 抗菌性ペプチド研究の現在・未来 —

松尾 美樹, 小松澤 均

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 健康科学専攻
発生発達成育学講座 口腔微生物学分野

Innate Immune Systems in Oral Cavity

— Current and Future research on Antimicrobial Peptides —

Miki Matsuo, Hitoshi Komatsuzawa

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

Abstract

Antimicrobial peptides play an important role in the human innate immune defense system. In the oral cavity, a number of antimicrobial peptides, including defensins and LL37, are produced from various tissues such as salivary glands, gingival epithelium, tongue and buccal mucosa. These peptides are believed to function as a host defense system by controlling the activities of commensal bacteria and thus preventing the colonization and growth of pathogenic bacteria in oral cavity. Two major oral diseases, dental caries and periodontitis are known as infectious diseases. Therefore, it is of great interest to elucidate the mechanism underlying the onset and progression of these diseases by investigating the interaction between cariogenic, or periodontopathogenic bacteria and antimicrobial peptides. Since these peptides have a broad antimicrobial spectrum, they are implicated as possible therapeutic agents. Therefore, in this review, we first focus on the interaction of oral bacteria, especially cariogenic and periodontopathogenic bacteria, with human gingival keratinocytes regarding to the antibacterial peptides, and then we discuss their potential diagnostic and clinical therapeutic uses.

Key words: Antimicrobial peptides, dental caries, periodontitis, oral bacteria.

はじめに

口腔内にはおよそ数百もの多種多様な細菌種が息している。これらの細菌は総称して口腔細菌と呼ばれ、口腔内で定常化しいわゆる常在細菌叢を形成している。しかし、これらの口腔細菌は口腔内に均一に存在するのではなく、口腔内の複雑な構造を反映してそれぞれ特有の分布を示す。口腔内は頬粘膜、舌、歯肉などの粘膜上皮で被われているが、他の器官に比べて大きな特徴は硬組織からなる歯の存在である。口腔内の二大疾患であるう蝕と歯周病はともに歯が原因となり起こる疾患であり、いずれも細菌感染症である。一部の口腔細菌は歯に固着し大きな細菌塊、いわゆる歯垢を形成する。この歯垢がう蝕、歯周病を引き起こす原因となる。歯周病である歯肉炎や歯周炎は、歯垢中の細菌あるいは細菌由来成分と宿主との相互作用の結果引き起こされる。特に歯と歯肉の隣接部は歯肉溝と呼ばれ、その一部は非角化細胞が存在し歯垢中の細菌に対して応答することで種々の免疫（炎症）反応を引き起こす。免疫機構には自然免疫と獲得免疫が知られているが、特に細菌感染初期段階では歯肉溝などに侵襲した細菌に対して、まず自然免疫機構が働き抵抗性を示すと考えられている。

近年のめざましい研究用機器や技術の開発・進歩に伴い、細菌学や免疫学など様々な分野の研究は飛躍的

に進んでいる。主要な口腔細菌の多くは全ゲノム配列の解析がなされ、これまで未同定な病原因子を含め多くの情報を私たちに提供している。また、細菌感染機序の解明においても細菌と宿主との分子レベルでの応答が解明されつつある。このような現状において、口腔内領域の細菌感染症研究も遺伝子/分子レベルでの解析が数多くなされてきている。特に、歯周病の発症の機序の解明は細菌側、宿主側から精力的な研究がなされている。本章では口腔内の自然免疫機構について紹介し、その中で特に近年着目されている抗菌性ペプチドについて口腔内細菌との相互作用の観点から取り上げ、う蝕・歯周病との関連性について概説する。

1. 歯周病原菌とう蝕病原菌

表1に、主な歯周病原菌とう蝕病原菌を示す。近年の遺伝子解析や細菌の系統解析の結果、口腔細菌の学名がここ10年間で一部改名されている。例えば、*Bacteroides gingivalis* は *Porphyromonas gingivalis* に、*Actinobacillus actinomycetemcomitans* は *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* に、*Bacteroides forsythus* は *Tannerella forsythensis* に改名されていることを付け加えておく。口腔レンサ球菌などのグラム陽性菌は、う蝕に関連しており、その中でも *Streptococcus mutans* や *Streptococcus sobrinus* はう蝕病原菌である^{1,2)}。う蝕病

表1. う蝕病原菌と歯周病原菌

菌名	グラム染色	形態	嫌気性	その他
う蝕病原菌				
<i>Streptococcus mutans</i>	陽性	球菌	通性嫌気性	う蝕(歯面, 象牙質, 根面, 裂溝)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	陽性	球菌	通性嫌気性	う蝕(歯面, 象牙質, 根面, 裂溝)
<i>Streptococcus sanguinis (sanguis)</i>	陽性	球菌	通性嫌気性	う蝕(象牙質, 根面, 裂溝)
<i>Streptococcus salivarius</i>	陽性	球菌	通性嫌気性	う蝕(象牙質, 根面, 裂溝)
<i>Streptococcus mitis</i>	陽性	球菌	通性嫌気性	う蝕(象牙質, 根面, 裂溝)
<i>Actinomyces spp.</i>	陽性	桿菌	通性嫌気性	う蝕(象牙質, 根面)
<i>Lactobacillus spp.</i>	陽性	桿菌	通性嫌気性	う蝕(象牙質, 根面, 裂溝)
歯周病原菌				
<i>Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis</i>	陰性	桿菌	偏性嫌気性	慢性, 急性歯周炎
<i>Prevotella intermedia (Bacteroides intermedium)</i>	陰性	桿菌	偏性嫌気性	慢性, 急性歯周炎
<i>Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans</i>	陰性	桿菌	通性嫌気性	慢性, 急性歯周炎
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	陰性	桿菌	偏性嫌気性	慢性歯周炎
<i>Tannerella forsythensis (Bacteroides forsythus)</i>	陰性	桿菌	偏性嫌気性	慢性, 急性歯周炎
<i>Treponema denticola</i>	陰性	スピロヘータ	偏性嫌気性	慢性歯周炎
<i>Eikenella corrodens</i>	陰性	桿菌	偏性嫌気性	慢性, 急性歯周炎

() 内は旧名称

原菌の病原性としては、歯面への特異的付着、非水溶性グルカンによるデンタルプラーク形成、酸産生などが挙げられる¹⁻³⁾。口腔内では、*S. mutans* と *S. sobrinus* の2菌種のみがこれら3つの病原性をすべて保有している。

歯周病は、1) 慢性成人性歯周炎、2) 侵襲性歯周炎、3) 全身疾患を伴う歯周炎、4) 壊死性歯周病と4つに分類される。表1に示した歯周病原菌は、歯周組織に障害を与えることによって免疫システムが活性化され炎症が惹起されることが知られている。歯周病の主な病原菌である *P. gingivalis* は、強力なプロテアーゼである Rgp や Kgp を産生する。これらのプロテアーゼは、1) 付着因子である線毛(FimA)、2) 赤血球凝集、3) 膿瘍形成にも関与している⁴⁾。さらに、*P. gingivalis* の Rgp や Kgp, FimA 以外の病原性としては、リポ多糖 (LPS) や硫化水素、莢膜などが挙げられる⁵⁾。また、慢性歯周炎や若年性(侵襲性)歯周炎において高頻度に分離される *A. actinomycetemcomitans* はヒト白血球を破壊するロイコトキシンや細胞致死性毒素(CDT)、コラゲナーゼ、外膜タンパク (Omp100)、血清特異的抗原を産生する^{6,7)}。その他にも多くの歯周病原菌の病原性因子も報告されているが、歯周病との

関連性については、未だ詳細は明らかではない。

2. 口腔内の自然免疫機構

口腔内における免疫機構には自然免疫と獲得免疫が知られているが、特に細菌感染初期段階では歯肉溝などに侵襲した細菌に対して、まず自然免疫機構が働き抵抗性を示すと考えられている。

自然免疫機構には皮膚・粘膜等の物理的防御、咳・くしゃみなどの生理的防御の他に細胞・タンパクレベルでの防御機構がある。細菌が組織に侵襲した際には種々の細胞が産生するタンパク(ペプチド)因子や食細胞などが相互に関与し分子レベルでの防御機構により細菌を排除する。口腔内においても同様の自然免疫機構が存在するが、特に歯と歯肉の隣接部である歯肉溝は一部非角化性の上皮細胞も存在し種々の自然免疫機構が働く。図1に歯肉溝に侵入した際に働く自然免疫に関する因子を示す。血清由来の補体成分、唾液由来のリゾチーム・ラクトフェリン、食細胞、好中球や上皮細胞が産生する抗菌性ペプチドなどは抵抗性因子として侵襲した細菌に対して働きかける。これらの因子はそれぞれ単独に働くのではなく複数の因子が同時に細菌に対して攻撃し排除しようと試みる。これらの

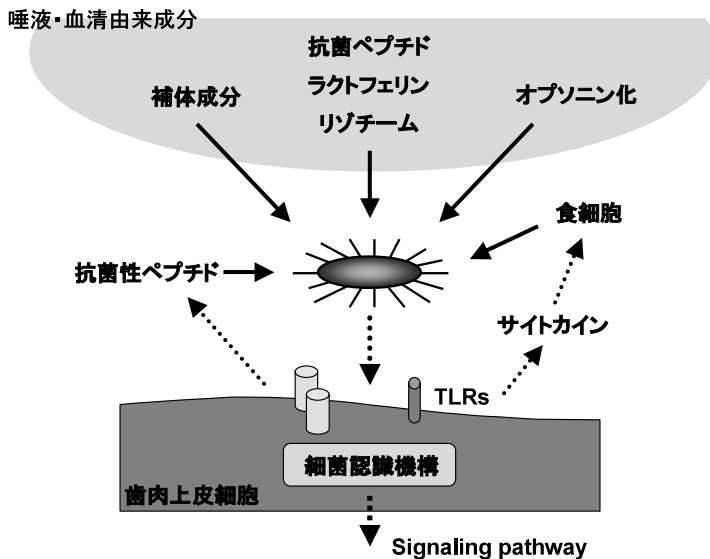


図1 口腔内における自然免疫機構

細菌が口腔内の歯肉溝(歯周ポケット)に侵襲した際に働くと考えられる生体の自然免疫機構について示す。上皮細胞、血清、唾液由来成分などの種々の因子が細菌に作用することで侵襲した細菌を排除しようと試みる。歯肉上皮細胞は Toll like receptor (TLR) などの細菌認識機構を介してサイトカインや抗菌ペプチドを誘導的に産生する。

因子の産生において、細胞の細菌認識機構は重要な役割を果たしており、細菌の侵襲時に細菌を認識することで細胞内シグナリング経路の活性化が起こり、その結果抵抗性因子が誘導的に産生される。この細菌認識機構には TLR を中心にペプチドグリカン認識タンパク (PGRP) や細胞内認識機構である NOD 等があり、精力的に研究されている^{8,9)}。

A. 口腔内の抗菌性ペプチド

ヒトが産生する種々の先天性免疫に関与する因子の中で、近年抗菌性ペプチドが注目されている。好中球が産生する α -ディフェンシンの同定に続き、近年、上皮細胞が産生するディフェンシンやその他の抗菌性ペプチドが同定されている¹⁰⁾。これらの抗菌性ペプチドはクローン病、アトピー性皮膚炎などの種々の疾患における細菌感染症との関連性や抗 HIV 効果についても報告されており^{11,12)}、微生物感染の防御機構として重要な役割を果たしていると考えられている。

抗菌性ペプチドは体腔表面、皮膚、免疫担当細胞や臓器等の様々な部位に存在している。表 2 に口腔領域における主要な抗菌性ペプチドを示す。ディフェンシンには 2 つの種類があり、好中球が主として産生する α -ディフェンシンと上皮系の細胞が産生する β -ディフェンシンがある。ディフェンシンファミリーの特徴は 6 つのシステインがジスルフィド結合 (S-S 結合) により高次構造を形成している点である。現在、 α -ディフェンシンで 6 つ、 β -ディフェンシンで 4 つ、その存在が確認されている。ディフェンシンの多くはグラム陰性菌に対しては強い抗菌力を発揮するがグラム陽性菌には効力が低い。しかし、 β -ディフェンシン-3

(hBD3) はグラム陽性菌に対しても強い抗菌力を発揮する。CAP18/LL37 は本来 18 kDa のタンパクとして好中球や上皮細胞等種々の部位で発現し、その後内因性のプロテアーゼにより分解され、C 末端側 37 アミノ酸残基 (LL37) が抗菌性ペプチドとして働く。LL37 はグラム陽性・陰性菌に抗菌力を発揮する。Calprotectin は 2 つのポリペプチド (MPR 8, MPR 14) からなるヘテロダイマーであり、カルシウムおよび亜鉛結合タンパクである。好中球、マクロファージ、粘膜上皮、歯肉上皮で発現が確認されており、炎症部位での発現向上が認められる。Histatin は唾液中に存在するヒスチジンを多く含むペプチドで、抗真菌作用を有する。唾液中では Histatin 1, 3, 5 が確認されており、Histatin 5 が最も強い抗真菌作用を示す。

細菌の侵襲の際にこれらの抗菌性ペプチドの一部が誘導的に産生すること、またある種のサイトカインや増殖因子などにより産生性が向上することが知られている¹³⁾。これらのペプチドは抗菌力があるのみではなく、種々の生物学的作用を持つことが知られている¹⁴⁾。内毒素であるリポ多糖 (LPS) やグラム陽性菌の持つリポタイコ酸 (LTA) への結合による中和活性や T 細胞活性化などのケモカイン様の働きも報告されている¹⁵⁾。

B. 抗菌メカニズム

ディフェンシンや LL37 などの抗菌性ペプチドは陽性に帯電したペプチドであり、これらの抗菌性ペプチドの抗菌メカニズムは、これまで多くの研究がなされてきている¹⁶⁻¹⁸⁾。これらの抗菌性ペプチドは、負に荷電している細菌の細胞膜表層と結合し、細胞表面に

表 2 ヒト口腔領域における抗菌性ペプチド

	存在場所	産生細胞	特 徴
ディフェンシン			
α -ディフェンシン			
HNP1 - 4	唾液, 歯肉溝浸出液	好中球	6 つのシステインによる 3 つの S-S 結合
β -ディフェンシン			
hBD1 - 3	唾液, 歯肉・頬粘膜	上皮細胞, 唾液腺	6 つのシステインによる 3 つの S-S 結合
cathelicidin			
CAP18/LL37	唾液, 歯肉溝浸出液 歯肉・頬粘膜	上皮細胞, 唾液腺好中球	直鎖状ペプチド
calprotectin	唾液, 歯肉溝浸出液	上皮細胞, 好中球 マクロファージ	ヘテロダイマー (MPR 8, MPR 14)
ヒスタチン	唾液	唾液腺	ヒスチジン高含有

付着した後に、膜脂質と結合する。さらに抗菌性ペプチドが細胞膜に凝集することによって、ポア (孔) または間隙の形成が生じ、内容物が漏出することで菌は死滅する。図 2 に、抗菌性ペプチド作用時の *A. actinomycetemcomitans* Y4 株の電子顕微鏡像を示す。抗菌性ペプチド (hBD 1, hBD 2, hBD 3 または LL 37) に曝露された *A. actinomycetemcomitans* の形態変化はほぼ類似しており、細胞壁が部分的に破壊された像が認められる。小胞のような小さな構造物が菌体の細胞

壁の表面に認められ、細胞質内の成分が細胞外へ流出していることがわかる。

3. 口腔細菌と歯肉上皮細胞の相互作用

A. 口腔内細菌の抗菌性ペプチド感受性

生体中の抗菌性ペプチドの濃度は、1~10 $\mu\text{g/ml}$ であり、この範囲の濃度で抗菌力を発揮することがいくつかの細菌種で報告されている^[9,12]。口腔内細菌については、これまでに *S. mutans* の抗菌性ペプチド感受

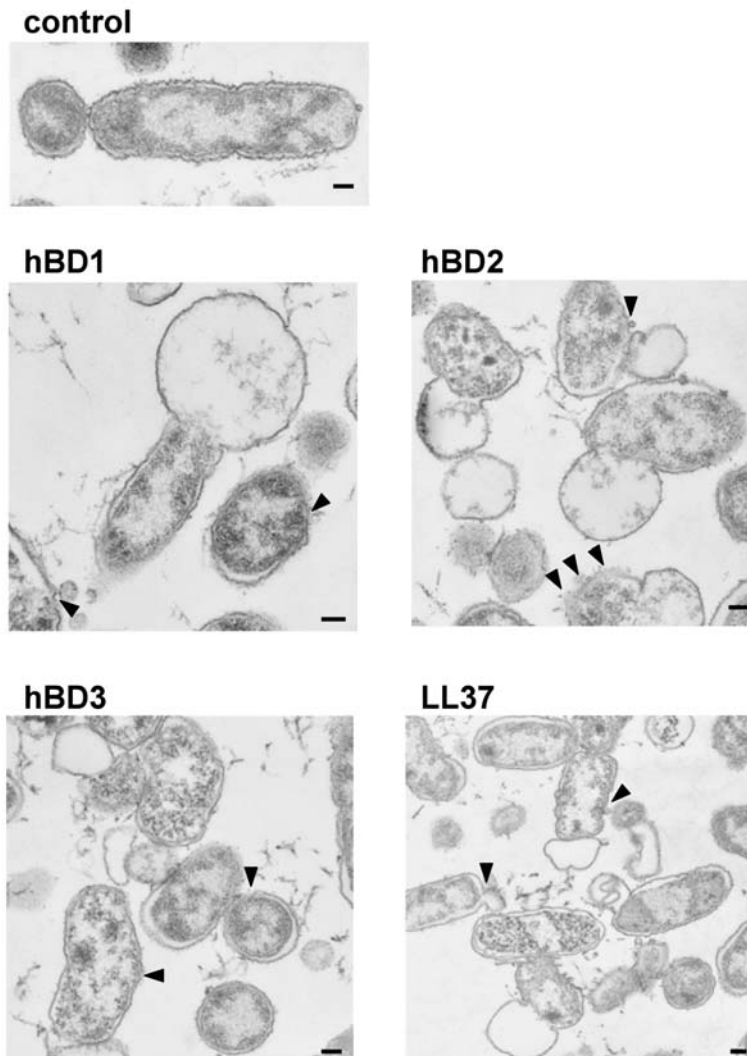


図 2 抗菌性ペプチド作用時の *A. actinomycetemcomitans* Y4 株の電子顕微鏡像
A. actinomycetemcomitans Y4 株に 200 $\mu\text{g/ml}$ の抗菌性ペプチド (hBD 1, hBD 2, hBD 3, LL37) を各々作用させた。矢印で示した部分に典型的な膜穿孔像が認められた。
(Ouhara et al., 2005^[23]より)

性についての報告はいくつかあるが^{21,22)}, 菌種間, 菌株間で比較した検証は少ない。そこで私達は, う蝕や歯周病関連菌について, 抗菌性ペプチドである hBD 3 と LL 37 に対する感受性を菌種間, 菌株間で網羅的に検証した²³⁾。う蝕関連菌としては, *S. mutans*, *S. sobrinus* を含めた 5 菌種について, 歯周病関連菌としては *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* を含む 4 菌種について各々数株の臨床分離株を用いて感受性試験を行った。その結果 *S. mutans* は口腔レンサ球菌の中で比較的抗菌性ペプチドに対する感受性は高く, 歯周病関連菌のうち, *P. gingivalis* や *Prevotella intermedia* は抗菌性ペプチドに対する感受性は低く *Fusobacterium nucleatum* は感受性が高いことが明らかになった。菌種間での感受性に傾向は認められるものの, 菌株間での感受性は様々であることも明らかになった。

B. 口腔細菌と歯肉上皮細胞の相互作用

上皮細胞の産生するいくつかの抗菌性ペプチドは細菌の侵襲に対して誘導的に産生することが知られている^{13,14)}。口腔内でも歯周病原菌などの口腔細菌の侵襲

に対して生体は抗菌性ペプチドの産生誘導を行うことがいくつかの報告で明らかになっている^{23,25)}。図 3 にはヒト正常歯肉由来ケラチノサイトに歯周病原菌である *A. actinomycetemcomitans* 臨床分離株を作用させたときの β -ディフェンシンと LL37 の発現についての結果を示す²⁶⁾。検討した抗菌性ペプチドの中で特に hBD 2 の産生誘導が顕著に認められた。また, 抗菌性ペプチドの産生誘導量は菌株により異なっていた。したがって, 歯周病原菌などの細菌が歯肉溝に侵入し非角化上皮細胞に接触することで抗菌性ペプチド産生を誘導することが考えられる。抗菌性ペプチドの産生誘導を引き起こす細菌側の因子についてはほとんど明らかではない。最近, 私達は *A. actinomycetemcomitans* の外膜タンパクの一つである Omp100 が hBD 2 の産生誘導因子であることを明らかにした²⁶⁾。図 4 に Omp 100 を介した hBD 2 発現誘導の経路を示す。Omp 100 は細胞外基質であるフィブロネクチンに結合することでその裏打ちタンパクとして存在するインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ を活性化し, 最終的に MAP kinase を活性化し hBD 2 の産生誘導が起こる。

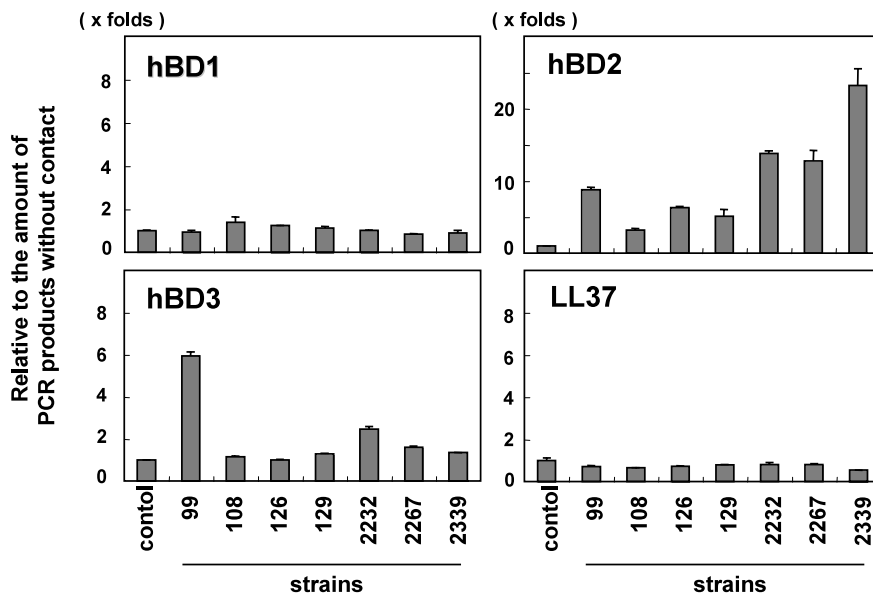


図 3 *A. actinomycetemcomitans* 菌体作用時におけるヒト歯肉上皮細胞の抗菌性ペプチド産生性。加熱処理した *A. actinomycetemcomitans* 臨床分離株の菌体をヒト正常歯肉上皮細胞に作用させ 12 時間後に RNA を抽出した。その後, 定量性 PCR 法により hBD1, hBD2, hBD3, LL37 発現について検討した。図の縦軸は菌非接触時の各々の発現量に対する割合を示し, 横軸は菌名を示す (control は菌非接触時)。(Ouhara et al., 2006²⁶⁾より)

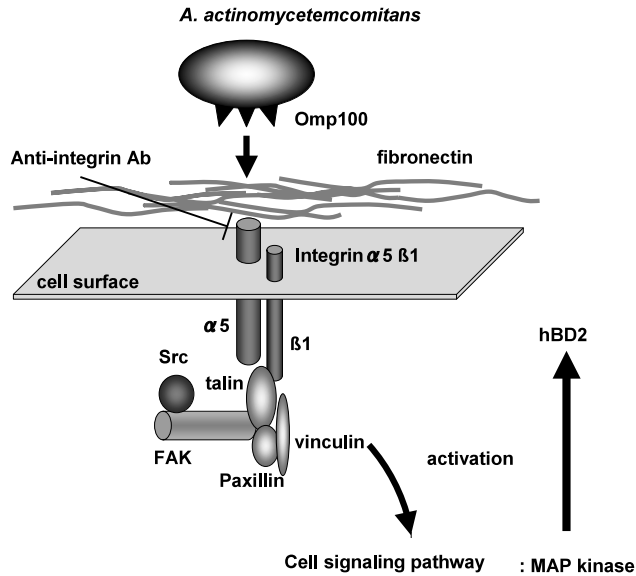


図4 *A. actinomycetemcomitans* の外膜タンパクである Omp100 を介した hBD2 発現誘導経路
A. actinomycetemcomitans の Omp100 がフィブロネクチンに結合することで、フィブロネクチンの裏打ちタンパクであるインテグリンを活性化する。その後、種々の細胞内因子を活性化させ最終的に MAP kinase を活性化し hBD2 の産生誘導が起こる。

4. 歯科治療への応用の可能性

抗菌性ペプチドの特性として、広範囲の殺菌作用を持つことが挙げられる。そのため、抗菌性ペプチドを治療薬に応用する目的で、多くの *in vitro* および *in vivo* の実験が展開され、細菌だけでなく、ウイルス、真菌感染に対する防御効果について検証されている²⁷⁻³⁰⁾。口腔領域に関しては、*in vitro* でのう蝕や歯周病の病原菌に対する感受性について検証が行われてきた。これらの研究により、口腔内疾患に関連する細菌に対して、抗菌性ペプチドの有効性が明らかにされている³¹⁻³⁴⁾。

A. 口腔感染症診断における抗菌性ペプチドの応用

う蝕との関連性：α-ディフェンシンである HNP 1, 2, 3 の唾液中での濃度がう蝕有罹患者に比べて非有罹患患者の方が高いことが報告されている³¹⁾。しかし、上皮系の産生するβ-ディフェンシンや LL37 の発現量との関連性は認められなかった。また、抗菌性ペプチドの唾液中での濃度は個体差があることも明らかになった。う蝕リスクが高い患者において HNP の発現量が低いのか、あるいはう蝕有罹患者の口腔内での HNP の発現量が低下するかは、現時点では不明である。しかし、う蝕有罹患者と非有罹患者との間に抗菌性ペプ

チドの産生性の点で関連性が認められたことは非常に興味深く、さらに研究が進むことでう蝕と抗菌性ペプチドの関連性について明らかにされるものと考えられる。

歯周病との関連性：歯周炎を発症している歯肉上皮細胞での抗菌性ペプチドの発現性についての報告はいくつかあるが、歯周病の病態の複雑さもあり一致した結果は認められていない^{33,34)}。しかし、傾向としては hBD2 や LL37 の産生性の向上が見られる。私達は、歯周病患者における歯周ポケットと抗菌性ペプチド産生量との相関性について検証した³³⁾。歯周炎患者の歯肉溝は病的に深くなり歯周ポケットと呼ばれ、歯周ポケットの深さは歯周病原菌の侵襲度にも反映することが考えられる。図5に示す結果から、歯周病原菌の侵襲度と抗菌性ペプチドの発現性に相関が認められた。また、歯周病原菌は炎症性サイトカインの産生誘導にも関与しており、炎症性サイトカインにより抗菌性ペプチドの産生が誘導されることも報告されている。これらの結果から、唾液または歯肉溝浸出液中の抗菌性ペプチドがう蝕や歯周病のリスク診断や病態進行度の判定に有効であることが考えられる。

Jurevic ら³⁵⁾は、タイプ1糖尿病患者と健常者における口腔カンジダ定着率と hBD1 をコードしている DEFB1 遺伝子多形性について、single nucleotide polymorphism

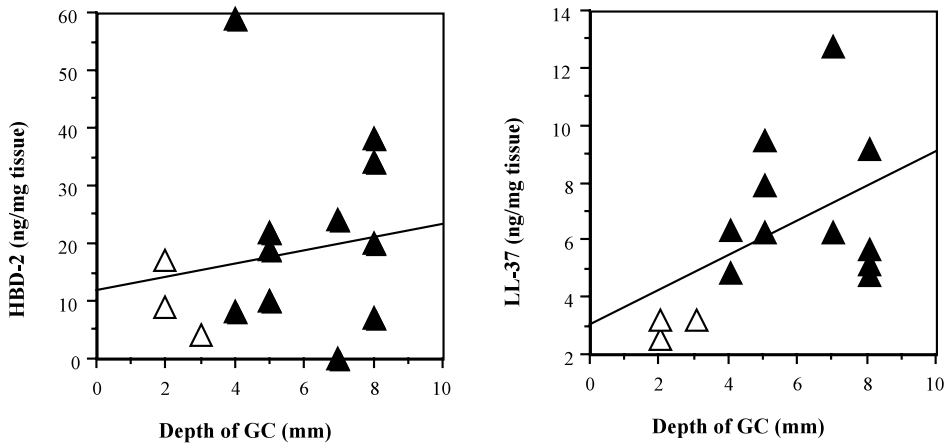


図5 抗菌性ペプチド産生量と歯周ポケットの深さとの関連性
歯周病患者の歯肉組織抽出画分を用いてELISA法によりhBD2およびLL37の定量化を行い、歯周ポケットの深さとの関連性について検討した結果を示す。(Hosokawa I et al., 2006³³⁾より)

(SNP)解析を用いて検証している。その結果、カンジダ定着率とDEFB1遺伝子の特定の部位の変異に強い相関関係があることを明らかにした。このような研究が進むことで、抗菌性ペプチドの遺伝情報をベースとした個人の感染症に対するリスク診断への応用が可能になると考える。

B. 予防・治療薬としての抗菌性ペプチド応用

抗菌性ペプチドは生体由来成分であることから副作用が起こりにくいことが考えられるため、近年抗菌、抗真菌、抗ウイルス薬への応用という点でも注目を集めている。例えば、cathelicidinの類似体(一般名、Iseganan)は口腔内潰瘍性粘膜炎の治療薬として有効であることが明らかになっており、ヒスタチン(抗真菌性ペプチド)は、カンジダによる日和見感染の治療薬としても注目を集めている³⁶⁾。また、ディフェンシンはウイルス感染(HIVやインフルエンザウイルス、アデノウイルスなど)に対する治療薬として検討されている^{11,37)}。前述の通り、私達はう蝕や歯周病関連菌について、抗菌性ペプチドであるhBD3とLL37に対する感受性を網羅的に検証した²³⁾。その結果、抗菌性ペプチドに対する感受性は菌種間、菌株間で変化するものの、比較的高濃度(5~10 μ g/ml)ではほぼすべての菌に対する抗菌効果が認められた。

近年、う蝕・歯周病原菌が全身性疾患であるアテローム性動脈硬化症と心筋梗塞を含む心内膜炎や肺炎の発症に関与していることが示唆されている³⁸⁻⁴¹⁾。このこ

とから、全身疾患の予防に口腔ケアは非常に重要であると考えられる。抗菌性ペプチドを用いて口腔内のう蝕や歯周病原菌をコントロールすることは、全身疾患の予防へとつながると考えられる。

おわりに

宿主は細菌の侵襲に対して種々の自然免疫機構を駆使し抵抗性を示す。また、これらの自然免疫機構の一部は後天性免疫機構の活性化にも寄与しており、最終的には免疫機構全体の賦活化を行い侵襲した細菌に対抗する。近年、自然免疫に関与する細菌側、宿主側の因子について多くの情報もたらされているが、今後の研究によりさらに詳細に明らかになると考える。本総説では、先天性免疫機構の一つである抗菌性ペプチドに焦点を絞り、主として口腔内細菌と抗菌性ペプチドとの相互作用について述べている。近い将来、抗菌性ペプチドの歯周病発症への関連性の解明や歯周病やう蝕の予防・治療薬への応用についてさらに本研究領域は広がっていくことが予想される。抗菌性ペプチドに対する感受性が菌種間、菌株間で多様性があることが認められたため、う蝕病原菌、歯周病原菌の抗菌性ペプチド感受性と口腔内定着率との相関性についての検討も今後の注目のべき点である。また、近年抗菌性ペプチドのような先天性免疫因子に抵抗性を示す細菌の出現も報告されており、細菌側の抵抗性因子の解明も細菌-宿主間の相互作用を理解する上で必要になってくると考える。

本稿では、口腔感染症の診断おけるマーカーとして抗菌性ペプチドが応用できる可能性を示唆している。しかし、唾液や歯肉溝浸出液中の抗菌性ペプチド濃度と口腔疾患との関連についての系統的な臨床研究は行われてはいない。私達は現在、唾液中の抗菌性ペプチドの定量法を確立することで、抗菌性ペプチドと口腔疾患の関連性についての解明を目指している。今後さらに研究がなされることで、宿主の自然免疫系 - 病原性細菌間の相互作用における知見を得るのみならず、新規の予防・治療薬開発や口腔感染症の診断にも応用可能になると考えられる。

参考文献

- 1) Hamada, S., Slade, H. D.: Biology, Immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol. Rev., 44, 331-384, 1980
- 2) Kuramitsu, H. K.: Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. Crit. Rev. Oral Biol. Med., 4, 159-176, 1993
- 3) Yamashita, Y., Bowen, W. H., Burne, R. A., Kuramitsu, H. K.: Role of *Streptococcus mutans* *gtf* genes in caries induction in the specific-pathogen-free rat model. Infect Immun., 61, 3811-3817, 1993
- 4) Potempa, J., Pavloff, N., Travis, J.: *Porphyromonas gingivalis*: a proteinase/gene accounting adult. Trends Microbiol., 3, 430-433, 1995
- 5) Wang, P. L., Ohura, K.: *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide signaling in gingival fibroblasts-CD14 and Toll-like receptors. Crit. Rev. Oral Biol. Med., 13, 132-142, 2002
- 6) Asakawa, R., Komatsuzawa, H., Kawai, T., Yamada, S., Goncalves, R. B., Izumi, S., Fujiwara, T., Nakano, Y., Suzuki, N., Uchida, Y., Ouhara, K., Shiba, H., Taubman, M. A., Kurihara, H., Sugai, M.: Outer membrane protein 100, a versatile virulence factor of *Actinobacillus actinomycescomitans*. Mol. Microbiol., 50, 1125-1139, 2003
- 7) Sugai, M., Kawamoto, T., Peres, S. Y., Ueno, Y., Komatsuzawa, H., Fujiwara, T., Kurihara, H., Suginaka, H., Oswald, E.: The cell cycle-specific growth-inhibitory factor produced by *Actinobacillus actinomycescomitans* is a cytolethal distending toxin. Infect. Immun., 66, 5008-5019, 1998
- 8) Takeda, K., Akira, S.: Toll-like receptors in innate immunity. Int. Immunol., 17, 1-14, 2005
- 9) Dziarski, R., Gupta, D.: Mammalian PGRPs: novel antibacterial proteins. Cell Microbiol., 8, 1059-69, 2006
- 10) Selsted, M. E., Ouellette, A. J.: Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. Nat. Immunol., 6, 551-557, 2005
- 11) Zhang, L., Yu, W., He, T., Yu, J., Caffrey, R. E., Dalmaso, E. A., Fu, S., Pham, T., Mei, J., Ho, J. J., Zhang, W., Lopez, P., Ho, D. D.: Contribution of human alpha-defensin 1, 2, and 3 to the anti-HIV-1 activity of CD8 antiviral factor. Science, 298, 995-1000, 2002
- 12) Wehkamp, J., Fellermann, K., Stange, E. F.: Human defensins in Crohn's disease. Chem. Immunol. Allergy, 86, 42-54, 2005
- 13) Diamond, G., Kaiser, V., Rhodes, J., Russell, J. P., Bevins, C. L.: Transcriptional regulation of β -defensin gene expression in tracheal epithelial cells. Infect. Immun., 68, 113-119, 2000
- 14) Yang, D., Biragyn, A., Kwak, L. W., Oppenheim, J. J.: Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. Trends Immunol., 23, 291-296, 2002
- 15) Larrick, J. W., Hirata, M., Balint, R. F., Lee, J., Zhong, J., Wright, S. C.: Human CAP18: a novel antimicrobial lipopolysaccharide-binding protein. Infect. Immun., 63, 1291-1297, 1995
- 16) Zasloff, M.: Antimicrobial peptides of multicellular organisms. Nature, 415, 389-395, 2002
- 17) Brogden, K. A.: Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol., 3, 238-250, 2005
- 18) Sahl, H. G., Pag, U., Bonness, S., Wagner, S., Antcheva, N., Tossi, A.: Mammalian defensins: structures and mechanism of antibiotic activity. J. Leuk. Biol., 77, 466-475, 2005
- 19) Peschel, A., Jack, R. W., Otto, M., Collins, L. V., Staubitz, P., Nicholson, G., Kalbacher, H., Nieuwenhuizen, W. F., Jung, G., Tarkowski, A., van Kessel, K. P. M., Strijp, J. A. G.: *Staphylococcus aureus* resistance to human defensins and evasion of neutrophil killing via the novel virulence factor *mprF* is based on modification of membrane lipids with L-lysine. J. Exp. Med., 193, 1067-1076, 2001
- 20) Midorikawa, K., Ouhara, K., Komatsuzawa, H., Kawai, T., Yamada, S., Fujiwara, T., Yamazaki, K., Sayama, K., Taubman, M. A., Kurihara, H.,

- Hashimoto, K., Sugai, M.: *Staphylococcus aureus* susceptibility to innate antimicrobial peptides, β -defensins and CAP18, expressed by human keratinocytes. *Infect. Immun.*, 71, 3730-3739, 2003
- 21) Maisetta, G., Batoni, G., Esin, S., Raco, G., Bottai, D., Favilli, F., Florio, W., Campa, M.: Susceptibility of *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus actinomycescomitans* to bactericidal activity of human β -defensin 3 in biological fluids. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49, 1245-1248, 2005
- 22) Mineshiba, F., Takashiba, S., Mineshiba, J., Matsuura, K., Koikeguchi, S., Murayama, Y.: Antibacterial activity of synthetic human β -defensin-2 against periodontal bacteria. *J. Int. Acad. Periodontol.*, 5, 35-40, 2003
- 23) Ouhara, K., Komatsuzawa, H., Yamada, S., Shiba, H., Fujiwara, T., Ohara, M., Sayama, K., Hashimoto, K., Kurihara, H., Sugai, M.: Susceptibilities of periodontogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, beta-defensins and LL37, produced by human epithelial cells. *J. Antimicrob. Chemother.*, 55, 888-896, 2005
- 24) Liu, A. Y., Destoumieux, D., Wong, A. V., Park, C. H., Valore, E. V., Liu, L., Ganz, T.: Human β -defensin-2 production in keratinocytes is regulated by interleukin-1, bacteria, and the state of differentiation. *J. Invest. Dermatol.*, 118, 275-281, 2002
- 25) Krisanaprakornkit, S., Kimball, J. R., Dale, B. A.: Regulation of human β -defensin-2 in gingival epithelial cells: the involvement of mitogen-activated protein kinase pathways, but not the NF- κ B transcription factor family. *J. Immunol.*, 168, 316-324, 2002
- 26) Ouhara, K., Komatsuzawa, H., Shiba, H., Uchida, Y., Kawai, T., Sayama, K., Hashimoto, K., Taubman, M. A., Kurihara, H., Sugai, M.: *Actinobacillus actinomycescomitans* outer membrane protein 100 triggers innate immunity and production of beta-defensin and the 18-kilodalton cationic antimicrobial protein through the fibronectin-integrin pathway in human gingival epithelial cells. *Infect. Immun.*, 74, 5211-20, 2006
- 27) Cole, A. M., Waring, A. J.: The role of defensins in lung biology and therapy. *Am. J. Respir. Med.*, 4, 2002
- 28) Fu, L. M.: The potential of human neutrophil peptides in tuberculosis therapy. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.*, 7, 1027-1032, 2003
- 29) Klotman, M. E., Chang, T. L.: Defensins in innate antiviral immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 6, 447-456, 2006
- 30) Lupetti, A., Danesi, R., van't Wout, J. W., van Dissel, J. T., Senesi, S., Nibbering, P. H.: Antimicrobial peptides: therapeutic potential for the treatment of Candida infections. *Expert. Opin. Investig. Drugs*, 11, 309-318, 2002
- 31) Dale, B. A., Tao, R., Kimball, J. R., Jurevic, R. J.: Oral antimicrobial peptides and biological control of caries. *BMC Oral Health*, 6, Suppl 1: S13, 2006
- 32) Tao, R., Jurevic, R. J., Coulton, K. K., Tsutsui, M. T., Roberts, M. C., Kimball, J. R., Wells, N., Berndt, J., Dale, B. A.: Salivary antimicrobial peptide expression and dental caries experience in children. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49, 3883-3888, 2005
- 33) Hosokawa, I., Hosokawa, Y., Komatsuzawa, H., Goncalves, R. B., Karimbux, N., Napimoga, M. H., Seki, M., Ouhara, K., Sugai, M., Taubman, M. A., Kawai, T.: Innate immune peptide LL-37 displays distinct expression pattern from beta-defensins in inflamed gingival tissue. *Clin. Exp. Immunol.*, 146, 218-225, 2006
- 34) Bissell, J., Joly, S., Johnson, G. K., Organ, C. C., Dawson, D., McCray Jr., P. B., Guthmiller, J. M.: Expression of β -defensins in gingival health and in periodontal disease. *J. Oral Pathol. Med.*, 33, 278-285, 2004
- 35) Jurevic, R. J., Bai, M., Chadwick, R. B., White, T. C., Dale, B. A.: Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human beta-defensin 1: high-throughput SNP assays and association with Candida carriage in type I diabetics and nondiabetic controls. *J. Clin. Microbiol.*, 41, 90-96, 2003
- 36) Tsai, H., Bobek, L. A.: Human salivary histatins: promising anti-fungal therapeutic agents. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 9, 480-497, 1998
- 37) Cole, A. M., Lehrer, R. I.: Minidefensins: antimicrobial peptides with activity against HIV-1. *Curr. Pharm. Des.*, 9, 1463-1473, 2003
- 38) Li, X., Kolltveit, K. M., Tronstad, L., Olsen, I.: Systemic diseases caused by oral infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 13, 547-558, 2000
- 39) Limeback, H.: The relationship between oral health

- and systemic infections among elderly residents of chronic care facilities. *Gerodontology*, 7, 131-137, 1988
- 40) Loesche, W. J., Lopatin, D. E.: Interactions between periodontal disease, medical diseases and immunity in the older individuals. *Periodontol.* 2000, 16, 80-105, 1998
- 41) Page, R. C.: The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann. Periodontol.*, 3, 108-120, 1998