

歯周病原細菌 *Treponema medium* 由来複合糖質の化学構造と免疫生物学的作用

朝 井 康 行 小 川 知 彦

Distribution of Oral Treponemes in Subgingival Plaque Samples from Patients with Periodontal Diseases and Immunobiological Properties of Treponemal Glycoconjugate

ASAI YASUYUKI and OGAWA TOMOHIKO

らせん状細菌である口腔トレポネーマは、歯周病患者の歯肉縁下プラークより高頻度に分離されるが、その病態形成における役割についてはほとんど明らかにされていない。本稿において、これら口腔トレポネーマの菌体表層成分の構造と機能についてその一端を明らかにした。すなわち、歯周病患者における歯肉縁下プラーク中の口腔スピロヘータ *Treponema denticola*, *Treponema vincentii* および *Treponema medium* の分布について、各菌特異的な16S rRNAプライマーを用いたPCR法により検討した。その結果、これら口腔トレポネーマの検出率は、*T. denticola*, 68.0%; *T. vincentii*, 36.0%; *T. medium*, 48.0%であり、健康者と比較して歯周病患者では検出率が高くなる傾向がみられた。なかでも、*T. denticola* および *T. medium* は、歯周ポケットが深くなるとともに検出率も上昇した。ついでこれら口腔トレポネーマのなかで、*T. medium* ATCC 700293⁺菌体より複合糖質画分 (Tm-Gp) を抽出・精製し、その化学構造と免疫生物学的作用について検討した。Tm-Gpは複合糖質 (Tm-GC) と多糖部分 (Tm-PS) から構成され、Tm-GCはTm-PSにホスファチジルグリセロールが結合したものであった。また、Tm-PSは4糖2アミノ酸を繰り返し構造とする多糖で、その化学構造は $[\rightarrow 4)\beta\text{-D-Glc pNAc } 3\text{NAcA}(1\rightarrow 4)\beta\text{-D-Man pNAc } 3\text{NAOrn}(1\rightarrow 3)\beta\text{-D-Glc pNAc}(1\rightarrow 3)\alpha\text{-D-Fuc p } 4\text{NAsp}(1\rightarrow)]$ であり、グラム陰性細菌由来のリポ多糖 (LPS) やグラム陽性菌由来のリポタイコ酸とは異なる構造であった。Tm-Gpは、LPS様の内毒素活性はみられなかったが、LPSによるヒト単球細胞株 Mono Mac 6 の活性化を濃度依存的に抑制した。また、Tm-Gpは、LPSやその活性中心であるリビドAによるマウス Toll 様受容体 (TLR) 4/MD-2 強制発現マウス B 細胞株 Ba/F 3 の NF- κ B 活性を抑制したが、Taxol による同活性の抑制はみられなかった。さらにTm-Gpの抑制作用は細胞培養系における血清無添加の条件下ではみられず、血清中に存在するCD14やLPS結合タンパク (LBP) の添加により示された。また、Tm-Gpは、固相化CD14あるいはLBPへのLPS結合を阻害した。これら抑制作用は、*T. medium* 複合糖質中のホスファチジルグリセロールによって担われていることを明らかにした。以上の結果から、歯周病の病態が悪化するとともに増加する口腔トレポネーマ、なかでも *T. medium* 由来複合糖質は、宿主の自然免疫応答における抑制因子として作用し、歯周病患者の病巣局所における慢性化に関与することが考えられる。

キーワード：口腔トレポネーマ, *Treponema medium*, 複合糖質, 内毒素性リポ多糖, 歯周病

Spirochetes are well-known as causative agents of various chronic infectious diseases. In the present study, we developed a highly sensitive and specific method for detecting and quantifying the cultivable oral treponemes, such as Treponema denticola, Treponema vincentii and Treponema medium in subgingival plaque samples from patients with periodontal diseases, using PCR assays with specific primers for each 16S rRNA sequence. The frequencies of occurrence for the three oral treponemes in the subgingival plaque samples were 68.0%, 36.0%, and 48.0%, respectively. In addition, the numbers of T. medium and T.

denticola cells detected in the plaque samples were greater in samples taken from deep periodontal pockets. These findings suggest that various oral treponemes are associated with the formation of periodontal disease stages. Next, we separated a glycoconjugate preparation from *T. medium* ATCC 700293^T (Tm-Gp), and then determined its chemical structure and immunobiological activities. Tm-Gp was found to consist of a glycoconjugate (Tm-GC) and a polysaccharide (Tm-PS), and Tm-GC was the structure that Tm-PS combined with a phosphatidylglycerol (PG). The chemical structure of Tm-PS was shown to be a tetrasaccharide backbone with two amino acids: $[\rightarrow 4) \beta\text{-D-Glc pNAc3NAcA} (1 \rightarrow 4) \beta\text{-D-Man pNAc3NAOrn} (1 \rightarrow 3) \beta\text{-D-Glc pNAc} (1 \rightarrow 3) \alpha\text{-D-Fuc p4NAsp} (1 \rightarrow]$, where GlcNAc3NAcA is 2, 3-diacetamido-2, 3-dideoxyglucuronic acid, ManNAc3NAOrn is N^d (2-acetamido-3-amino-2, 3-dideoxymannuronyl) ornithine, and Fuc4NAsp is 4-(α -aspartyl) amino-4, 6-dideoxygalactose. Tm-Gp diminished the activation of the human monocytic cell line Mono Mac 6 induced by lipopolysaccharide (LPS), but not that induced by TNF- α . NF- κ B activation in Ba/F3 cells expressing mouse Toll-like receptor (TLR) 4 and MD-2, stimulated with LPS and its active center lipid A, but not with Taxol, was definitely inhibited by Tm-Gp, and was dependent on CD14/LPS-binding protein (LBP). Tm-Gp blocked the binding of LPS to immobilized CD14 and LBP, and also inhibited nitric oxide production in a mouse macrophage cell line, J774-A1, stimulated with various bacterial components in the presence of FBS. Further-more, the inhibitory effects seemed to be attributable to the lipophilic part (PG) of the glycoconjugate from Tm-GC. These results indicate that *T. medium*, which contains a glycoconjugate possessing an inhibitory effect toward TLR-mediated cell activation, may act as a modulator of innate immune responses.

Key words : Oral treponemes, *Treponema medium*, Glycoconjugate, Periodontal disease, Endotoxigenic lipopolysaccharide

はじめに

スピロヘータは運動性に富むグラム陰性のらせん状細菌であり、慢性炎症性疾患である梅毒やライム病の原因菌である *Treponema pallidum* や *Borrelia burgdorferi* が知られている。これら細菌は、らせん状の細胞体、それを取り巻く軸鞭毛および外膜などにより構成されている。口腔にはスピロヘータ科の中でトレポネーマ属が、歯周病患者の歯肉縁下プラーク中に多くみられる。これまでに8菌種の口腔トレポネーマが報告されている¹⁾。しかしながら、これら口腔スピロヘータの歯周病患者における分布やその病態形成における役割についてはほとんど明らかにされていない。本稿において、朝日大学歯学部で分離・培養に成功した *Treponema medium* をはじめとする口腔トレポネーマに関して、最近の我々の知見を中心に紹介したい。

1. 歯周病患者における口腔トレポネーマの分布²⁾

口腔トレポネーマは歯周炎や急性壊死性潰瘍性歯肉炎患者のプラークより高頻度に分離され、有力な歯周病原細菌として注目されている¹⁾。また、エイズ患者において、口腔トレポネーマが増加することが報告されている³⁾。しかしながら、人工培養の困難である口腔トレポネーマの歯周病局所における動態については未だ不明な点が多い。我々は、これまでに歯周病と口腔トレポネーマの相互作用について多くの知見を得ている。

口腔トレポネーマの歯周病局所における存否や多寡について、これら細菌に対して特異的な16S rRNAプライマーを作出し、歯周病患者の歯肉縁下プラーク中の検出を試みた。すなわち、朝日大学歯学部附属病院を訪れた初診患者の歯肉縁下プラークをペーパーポイントを用いて採取し、DNAを抽出後、設計プライマーを用いてPCR反応を行い、電気泳動により特異的バンドを検出した。また、臨床病態のパラメーターとして、歯周ポケットの深さを併せて測定した。その結果、*Treponema denticola* は68%、*Treponema vincentii* は34%、*Treponema medium* は48%の被験者歯肉縁下プラーク中からそれぞれ検出された(表1)。これら歯周病患者における口腔トレポネーマの検出率は、健常者のそれに比較して有意に高かった。さらに歯周ポケットの深さを3mm以下、4~5mm、6mm以上に分け、それぞれのポケット深さにおける口腔トレポネーマの検出率について調べた。その結果、4mm以上のポケットのプラーク中の *T. denticola* および *T. medium* の検出率は、3mm以下のそれらに比べて有意に増加していた。他方、*T. vincentii* は、4~5mmの歯周ポケットのプラークにおいて検出率は増加したが、6mm以上のポケット中のプラークでは低下する傾向がみられた。また、男女間における検出率については、これら菌種間において性差はみられなかった。さらに年齢別では19歳以下では検出されなかったが、年齢の増加とともに検出率が増加する傾向がみられた。ついでTaq-Manプロロー

表1 歯肉縁下プラークにおける口腔トレポネーマの分布

パラメータ	(数)	口腔トレポネーマの検出率 (%)		
		<i>T. denticola</i>	<i>T. vincentii</i>	<i>T. medium</i>
	総数 (50)	68.0	34.0	48.0
臨床診断	健常者 (13)	15.4	7.7	7.7
	歯周病患者 (37)	86.4 ^a	43.2 ^a	62.2 ^a
ポケット深さ [mm]				
	≤ 3 (13)	15.4	7.7	7.7
	4~5 (20)	90.0 ^b	65.0 ^b	60.0 ^b
	≥ 6 (17)	82.4 ^b	17.6	64.7 ^b
性別				
	男 (28)	71.4	42.9	50.0
	女 (22)	63.6	22.7	45.5
年齢 [歳]				
	≤ 19 (6)	0.0	0.0	0.0
	20~39 (9)	66.7 ^c	44.4	33.3
	40~59 (20)	85.7 ^c	42.9	61.9 ^c
	≥ 60 (15)	71.4 ^c	28.6	57.1 ^c

^a 健常者と比較して5%の有意差で検出率の増加がみられた。

^b 3 mm以下の歯周ポケットに比べ5%の有意差で検出率の増加がみられた。

^c 19歳以下と比較して5%の有意差で検出率の増加がみられた。

ブを用いたリアルタイムPCR法を用いて、歯肉縁下プラーク中の口腔トレポネーマの菌数について検討した(表2)。その結果、*T. denticola*は、歯周ポケットが深くなるにつれて菌数が増加するとの所見を得ている。また、*T. medium*は、*T. denticola*と同様に7~8 mmにおよぶ深い歯周ポケットにおいて高い検出率がみられた。他方、*T. vincentii*は、主として4~5 mmの中等度の深さの歯周ポケットにおいて検出率が高かった。

これらの所見から、*T. medium*を含む口腔トレポネーマは歯周病の進行とともに検出率が増加することが明らかとなり、これら細菌が歯周病を惹起しうることが推測される。

2. *T. medium* 菌体表層由来の病原因子⁴⁾

スピロヘータ由来の菌体表層成分やその産生物が、宿主細胞を活性化し炎症反応を惹起することが知られている。近年、口腔トレポネーマである*T. denticola*や*Treponema maltophilum*の菌体表層より複合糖質が抽出され^{5,6)}、その免疫生物活性について報告されている^{6,7)}。これら口腔トレポネーマ由来複合糖質の化学構造は、グラム陰性菌細胞壁に保有される内毒素性リポ多糖(LPS)とは異なり、グラム陽性菌のリボタイコ酸(LTA)に類似していると考えられる^{5,6)}。しかしながら、その化学構造の詳細については未だ不明であり、

免疫生物学的作用の活性中心についても明らかにされていない。

我々は、*T. medium*から複合糖質を抽出・精製し、その化学構造について解析した。すなわち、TYGVS培地を用いて嫌気的条件下で*T. medium* ATCC 700293^T株を培養し、その凍結乾燥菌体を温水-フェノールにより水溶性画分を抽出した。その抽出画分をカラムクロマトグラフィーにより精製したTm-Gpは、SDS-PAGEで30~40kDa付近にラダー構造がみられ、LPS様の繰り返し構造を示す複合糖質を含んでいることが示唆された(図1)。一般的に温水-フェノール抽出物中には、莢膜などの多糖成分を含んでいることから、さらに疎水クロマトグラフィーを用いて分離し、素通り画分(OS-P)と吸着画分をそれぞれ得た。吸着画分はSDS-PAGEでTm-Gpと同様のラダー構造がみられることから、この画分を*T. medium*複合糖質(Tm-GC)とした。他方、OS-Pは、ゲル濾過により精製し多糖画分(Tm-PS)を得た。Tm-PSはSDS-PAGEで可視化されないことから、複合糖質を含まないと考えられる。これら成分の構造解析の結果、Tm-Gpは、[→4)β-D-GlcpNAc 3NAcA(1→4)β-D-ManpNAc 3NAOrn(1→3)β-D-GlcpNAc(1→3)α-D-Fucp 4NAsp(1→)]の繰り返し多糖構造であるTm-PSとTm-PSに脂質であるホスファチジルグリセロールが結合

表2 歯肉緑下プラーク中の口腔トレポネーマ数

歯周ポケット 深さ (mm)	年齢(歳)	性別	プラーク DNA (pg) あたりの細菌数 (個) ^{a,b}			臨床診断 ^c
			<i>T. denticola</i>	<i>T. vincentii</i>	<i>T. medium</i>	
≤3	15	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	16	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	16	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	18	男	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	19	男	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	19	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	23	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	28	男	76 (+)	2 (-)	0 (-)	H
	36	男	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	37	男	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	48	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
	52	女	25 (+)	0 (-)	3 (+)	H
	72	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	H
4	34	男	99 (+)	25 (+)	0 (-)	PD
	49	女	239 (+)	0 (-)	0 (-)	PD
	57	女	753 (+)	0 (-)	0 (-)	PD
	57	男	1,246 (+)	8 (+)	46 (+)	PD
	60	男	207 (+)	296 (+)	1 (+)	PD
	63	男	391 (+)	98 (+)	203 (+)	PD
5	20	女	422 (+)	0 (-)	62 (+)	PD
	27	女	52 (+)	88 (+)	7,301 (+)	PD
	38	女	903 (+)	0 (-)	4 (+)	PD
	41	女	2,514 (+)	46 (+)	97 (+)	PD
	52	女	157 (+)	0 (-)	0 (-)	PD
	56	女	12 (+)	3 (+)	2 (+)	PD
	56	女	103 (+)	9 (+)	29 (+)	PD
	58	男	0 (-)	447 (+)	0 (-)	PD
	58	男	221 (+)	1 (+)	368 (+)	PD
	59	男	383 (+)	9 (+)	49 (+)	PD
	63	女	192 (+)	30 (+)	76 (+)	PD
	67	男	12 (+)	1 (+)	0 (-)	PD
	73	男	12 (+)	0 (-)	0 (-)	PD
	77	男	0 (-)	0 (-)	0 (-)	PD
6	49	男	9 (+)	0 (-)	0 (-)	PD
	72	男	0 (-)	0 (-)	1 (+)	PD
7	23	女	8 (+)	2 (+)	0 (-)	PD
	42	男	72 (+)	47 (+)	24 (+)	PD
	54	男	0 (-)	0 (-)	0 (-)	PD
	54	女	6 (+)	0 (-)	69 (+)	PD
	57	男	10 (+)	0 (-)	0 (-)	PD
	59	男	727 (+)	6 (+)	85 (+)	PD
	62	女	0 (-)	0 (-)	0 (-)	PD
	65	男	15,185 (+)	0 (-)	104 (+)	PD
	73	女	784 (+)	0 (-)	65 (+)	PD
	76	男	3,117 (+)	0 (-)	9 (+)	PD
8	81	男	3 (+)	0 (-)	0 (-)	PD
	51	女	2,146 (+)	1 (+)	31 (+)	PD
	54	男	6 (+)	0 (-)	11 (+)	PD
	59	男	2,169 (+)	0 (-)	4 (+)	PD
	72	男	24 (+)	0 (-)	11 (+)	PD

^a0: 検出されない。

^bPCRによるバンドの検出。(+) : あり, (-) : なし。

^cH: 健常者, PD: 歯周病患者。

したTm-GCから成ることが明らかとなった(図2)。以上の所見から、*T. medium* 由来複合糖質は、これまでに報告されているLPSやLTAとは異なる化学構造であった。

3. *T. medium* 複合糖質の生物活性⁸⁾

トレポネーマ属菌由来の複合糖質は、種々の生物活性を発揮することが報告されている^{6,7,9)}。そこで、Tm-

Gpの免疫生物学的作用について、ヒトおよびマウス由来細胞を用いて検討した。その結果、Tm-Gpは、C3H/HeNマウス由来脾細胞に対するマイトジェン活性ならびにマウスマクロファージ細胞株J774-A1からの一酸化窒素(NO)産生を示さなかった。また、ヒト末梢血単核球細胞からの炎症性サイトカインIL-1βおよびIL-8の産生もみられなかった。これらの結果から、これまでに報告されているトレポネーマ由来

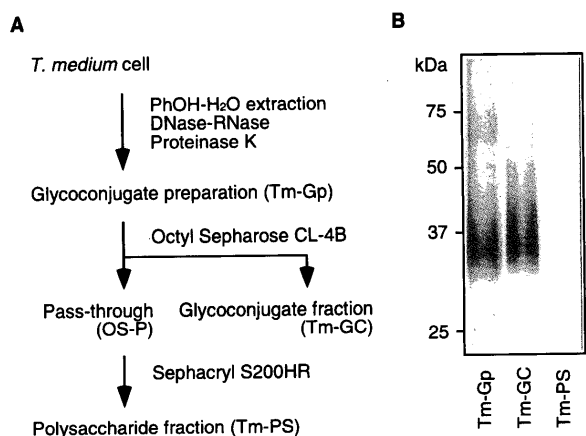


図1 *T. medium* 複合糖質画分の分離・精製法(A) および同複合糖質画分のSDS-PAGEパターン(B)

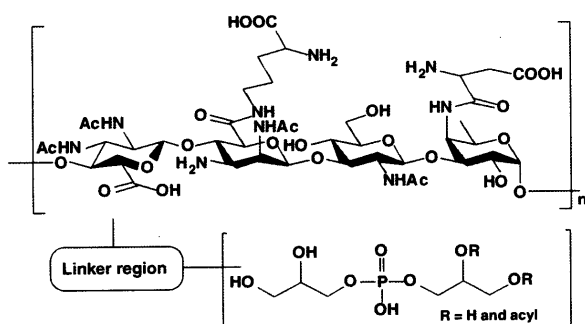


図2 *T. medium* 複合糖質の推定化学構造

の複合糖質とは異なり, Tm-Gpは供試した細胞を活性化しなかった. ついでTm-Gpの内毒素性LPSに対するアンタゴニストとしての作用について検討した. その結果, Tm-Gpは, LPSによるヒト単球細胞株Mono Mac 6細胞からのIL-8産生誘導やIL-1 β , IL-6およびシクロオキシゲナーゼ2 (cox2) mRNAの各発現を明確に抑制した(図3). 他方, Tm-Gpは, TNF- α による細胞活性を抑制しなかった.

近年, 自然免疫受容体であるToll様受容体(TLR)が発見され, TLRは種々の病原因子関連分子パターン(PAMPs)の認識に関与することが報告されている¹⁰⁾. なかでも, LPSは血清中に存在するCD14やLPS結合タンパク質(LBP)を介して, TLR4およびその会合分子MD-2との複合体により認識され, 転写因子NF- κ Bを活性化しサイトカイン産生を誘導することが知られている¹¹⁾. そこで*T. medium* 複合糖質とTLRの相互作用を明らかにするために, NF- κ Bレポーター遺伝子を導入したマウスPro B細胞株Ba/F3 (Ba/ κ B)にマウスTLR4/MD-2を強制発現させたBa/mTLR4/mMD-

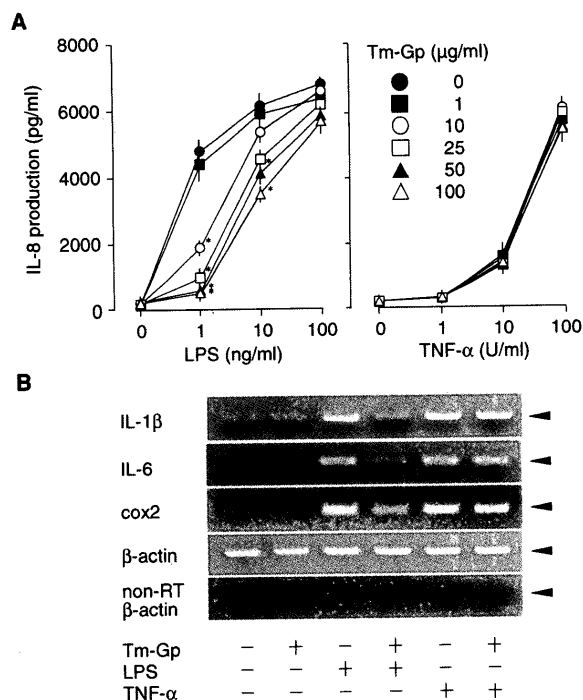


図3 LPSによるMono Mac 6細胞活性化に対するTm-Gpの抑制作用

(A) Mono Mac 6細胞は所定量のテスト標品とともに5%FBS存在下で24時間培養後, その上清中のIL-8産生量をELISA法にて測定した. *: LPS単独添加群に対する有意差($p < 0.01$). (B) Mono Mac 6細胞は所定量のテスト標品とともに5%FBS存在下で4時間培養し, 得られた全RNAを用いてRT-PCR法により遺伝子発現を検討した.

2のNF- κ B活性化についてルシフェラーゼアッセイを用いて検討した⁸⁾. その結果, Tm-Gpは, TLR4リガンドであるLPSおよびその活性中心であるリポD Aの大腸菌型合成標品(化合物506)によるNF- κ B活性化を明確に抑制した. しかしながら, 同TLR4リガンドであるTaxolによるNF- κ B活性化の抑制はみられなかった(図4). これらの結果から, Tm-Gpは, TLR4と結合するまでの経路を阻止していることが示唆される. そこで内毒素活性の*in vitro*アッセイとして, リムス活性を指標にしてLPSへのTm-Gpの結合性について検討したところ, Tm-Gpの添加による同活性への作用はみられず, LPSに対する直接的結合による阻止作用ではないと考えられる. さらに, Tm-GpによるLPS刺激細胞活性に対する抑制作用を明らかにするために, Tm-Gpと血清タンパク質の相互作用について検討した. その結果, 血清無添加の条件下では同抑制作用はみられず, CD14やLBPを添加することにより明確なTm-GpによるLPS細胞活性が抑制された(図5A, B). 血清タンパクであるCD14およびLBPは, LPSと結合し

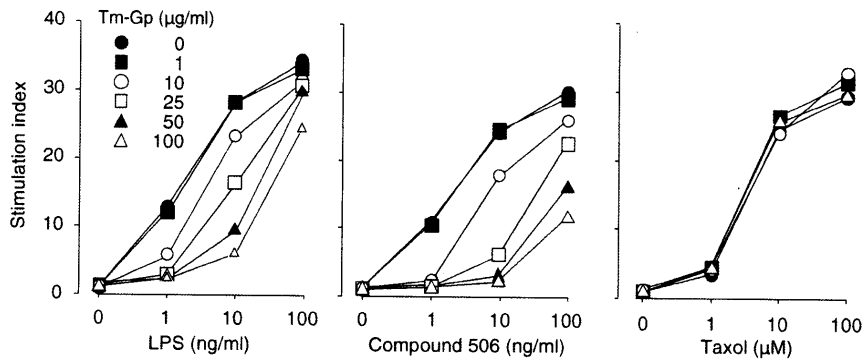


図4 種々のTLR 4 /MD-2 リガンドに対するTm-Gpの抑制作用
Ba/mTLR 4 /mMD-2 は、所定量のテスト標品とともに5% FBS存在下で4時間培養し、NF- κ B活性化をルシフェラーゼアッセイにより測定した。

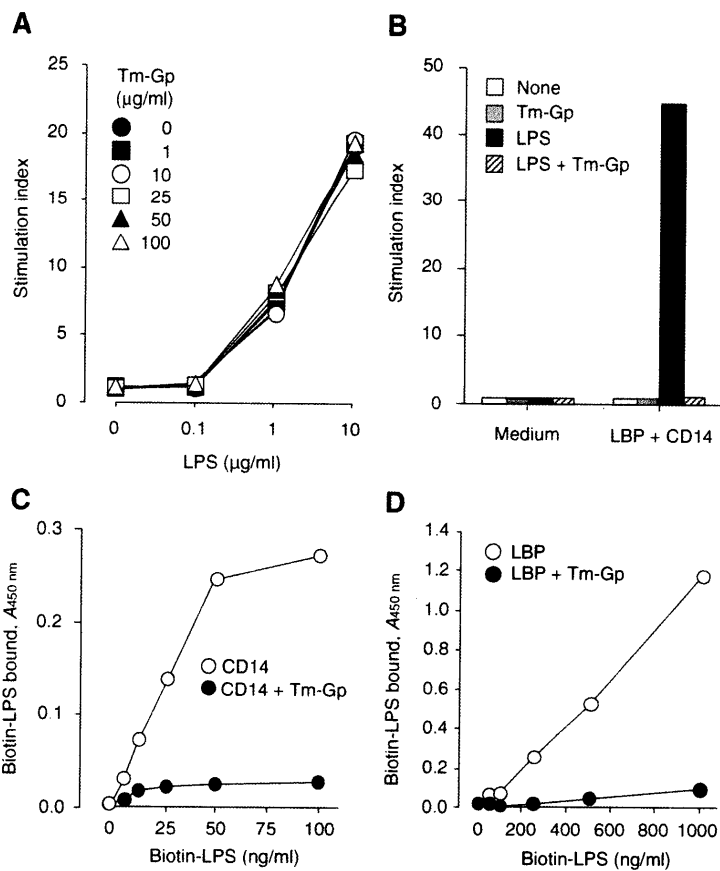


図5 Tm-Gpの抑制作用に対するCD14/LBPの影響

(A) Ba/mTLR 4 /mMD-2 は、所定量のテスト標品とともに血清無添加の条件下で4時間培養し、NF- κ B活性化をルシフェラーゼアッセイにより測定した。(B) Ba/mTLR 4 /mMD-2 は、CD14(500ng/ml)およびLBP(50ng/ml)添加あるいは無添加の条件下で、LPS(10ng/ml)および/あるいはTm-Gp(50 μ g/ml)と4時間培養し、NF- κ B活性化をルシフェラーゼアッセイにより測定した。ビオチン化LPSは、Tm-Gp(50 μ g/ml)添加あるいは無添加の条件下で固相化したCD14(C)あるいはLBP(D)と培養し、結合したビオチン化LPSをELISA法により検出した。

てミセル状態のLPSをモノマー化することにより、TLR 4の認識を高めることでLPSの細胞活性化能を増強すると考えられている¹²⁾。そこでLPSとCD14/LBPの結合におけるTm-Gpの役割について結合アッセイにより検討した⁸⁾。その結果、Tm-Gpは、CD14/LBPへのLPS結合を明確に阻止した(図5 C, D)。これらの結果は、Tm-Gpは、CD14/LBPに結合することにより、結果的にLPSの細胞活性化を抑制していると考えられる。

4. Tm-Gp分子中のCD14/LBP結合部位の検討^{8,13)}

血清タンパクであるCD14/LBPへのTm-Gp分子中の結合部位を明らかにするために、複合糖質画分Tm-GCおよび多糖画分Tm-PSをそれぞれ用いて、Ba/

mTLR 4/mMD-2細胞によるルシフェラーゼアッセイにより検討した⁸⁾。その結果、Tm-GCは抑制作用を示したが、Tm-PSには同作用はみられず、*T. medium*由来複合糖質の脂質部分が関与していることが考えられる。トレポネーマの菌体膜脂質として、ホスファチジルグリセロール類縁体が報告されている¹⁴⁾。そこでLPS細胞活性化における*T. medium*由来膜脂質の細胞活性化の抑制作用について検討した。すなわち、Bligh-Dyer法で得られた脂質をシリカゲルクロマトグラフィーにより分離し、得られた種々の脂質画分を用いて同抑制作用について検討した(図6 A)。その結果、ホスファチジルグリセロール画分(phosphatidylglycerol)に全脂質画分(whole lipids)と同様の明確な抑制作用がみられた(図6 B)。化学構造の解析の結果から、

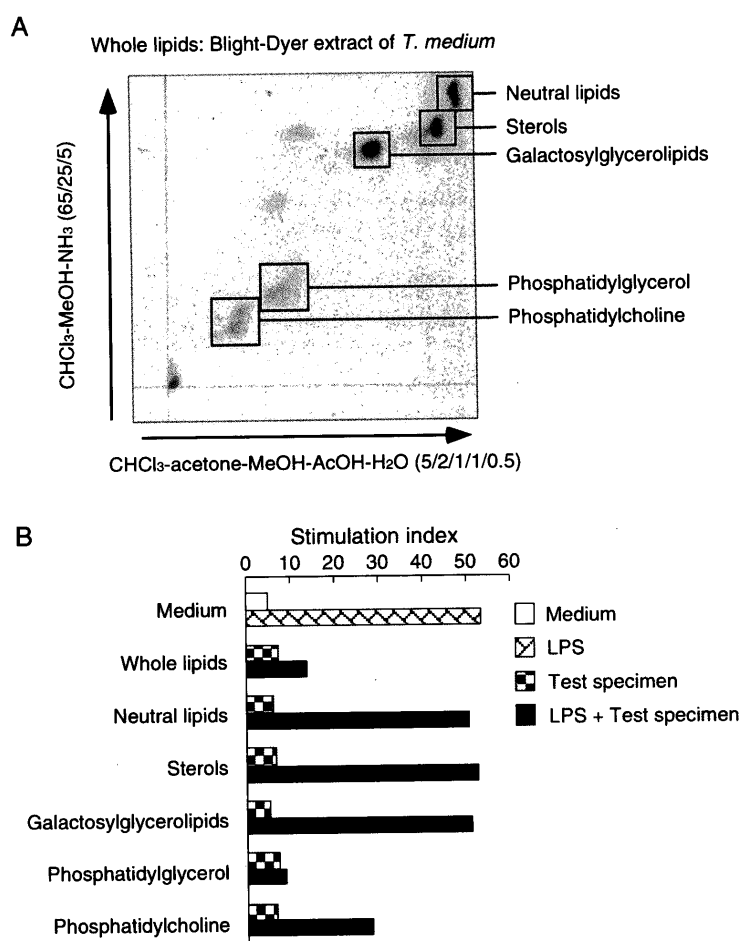


図6 *T. medium*由来膜脂質成分とそのCD14/LBPへのLPS結合に対する阻止作用

(A) *T. medium*膜脂質画分のシリカゲルクロマトグラフィーの展開図；(B) Ba/mTLR 4/mMD-2は、LPSおよび各テスト標品(100 μ g/ml)とともに5%FBS存在下で4時間培養し、NF- κ B活性化をルシフェラーゼアッセイにより測定した。

ホスファチジルグリセロール画分は、1位がビニルエーテルのプラズマローゲン型である。これらの構造は、Tm-GCの脂質部分の構造と一致していることから、*T. medium* 複合糖質中のホスファチジルグリセロールが、LPSによる細胞活性化を抑制する分子であることが推測される。

おわりに

本稿において、口腔トレポネーマ、なかでも *T. medium* の菌体表層由来の複合糖質の化学構造とその生物学的作用について、最近の我々の知見を中心に紹介した。これまでに歯周病原細菌として *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *T. denticola*, *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*) などの菌種が報告され、これら細菌は歯周病の進行とともに歯肉縁下プラークから多数検出され、種々の病原因子を保有することが知られている¹⁵⁾。歯周病原細菌の病原因子は歯周組織を破壊するばかりでなく、*T. medium* 由来複合糖質のように宿主の細胞応答性を抑制することにより、歯周病の慢性化に関与していることが考えられる。

文 献

- 1) Chan, E. C. and McLaughlin, R. : Taxonomy and virulence of oral spirochetes. *Oral Microbiol. Immunol.*, **15** : 1~9, 2000.
- 2) Asai, Y., Jinno, T., Igarashi, H., Ohyama, Y. and Ogawa, T. : Detection and quantification of oral treponemes in subgingival plaque by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **40** : 3334~3340, 2002.
- 3) Rams, T. E., Andriolo, M. Jr., Feik, D., Abel, S. N., McGivern, T. M. and Slots, J. : Microbiological study of HIV-related periodontitis. *J. Periodontol.*, **62** : 74~81, 1991.
- 4) Hashimoto, M., Asai, Y., Jinno, T., Adachi, S., Kusumoto, S. and Ogawa, T. : Structural elucidation of polysaccharide part of glycoconjugate from *Treponema medium* ATCC 700293. *Eur. J. Biochem.*, **270** : 2671~2679, 2003.
- 5) Schultz, C. P., Wolf, V., Lange, R., Mertens, E., Wecke, J., Naumann, D. and Zähringer, U. : Evidence for a new type of outer membrane lipid in oral spirochete *Treponema denticola*. Functioning permeation barrier without lipopolysaccharides. *J. Biol. Chem.*, **273** : 15661~15666, 1998.
- 6) Schröder, N. W., Opitz, B., Lamping, N., Michelsen, K. S., Zähringer, U., Göbel, U. B. and Schumann, R. R. : Involvement of lipopolysaccharide binding protein, CD14, and Toll-like receptors in the initiation of innate immune responses by *Treponema* glycolipids. *J. Immunol.*, **165** : 2683~2693, 2000.
- 7) Schröder, N. W., Pfeil, D., Opitz, B., Michelsen, K. S., Amberger, J., Zähringer, U., Göbel, U. B. and Schumann, R. R. : Activation of mitogen-activated protein kinases p42/44, p38, and stress-activated protein kinases in myelo-monocytic cells by *Treponema* lipoteichoic acid. *J. Biol. Chem.*, **276** : 9713~9719, 2001.
- 8) Asai, Y., Hashimoto, M. and Ogawa, T. : Treponemal glycoconjugate inhibits Toll-like receptor ligand-induced cell activation by blocking LPS-binding protein and CD14 functions. *Eur. J. Immunol.*, **33** : 3196~3204, 2003.
- 9) Opitz, B., Schröder, N. W., Spreitzer, L., Michelsen, K. S., Kirschning, C. J., Hallatschek, W., Zähringer, U., Hartung, T., Göbel, U. B. and Schumann, R. R. : Toll-like receptor-2 mediates *Treponema* glycolipid and lipoteichoic acid-induced NF- κ B translocation. *J. Biol. Chem.*, **276** : 22041~22047, 2001.
- 10) Janssens, S. and Beyaert, R. : Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin. Microbiol. Rev.*, **16** : 637~646, 2003.
- 11) Aderem, A. and Ulevitch, R. J. : Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, **406** : 782~787, 2000.
- 12) Schumann, R. R. and Latz, E. : Lipopolysaccharide-binding protein. *Chem. Immunol.*, **74** : 42~60, 2000.
- 13) Hashimoto, M., Asai, Y. and Ogawa, T. : Treponemal phospholipids inhibit innate immune responses induced by pathogen-associated molecular patterns. *J. Biol. Chem.*, **278** : 44205~44213, 2003.
- 14) Matthews, H. M., Yang, T. K. and Jenkin, H. M. : *Treponema innocens* lipids and further description of an unusual galactolipid of *Treponema hyodysenteriae*. *J. Bacteriol.*, **143** : 1151~1155, 1980.
- 15) Tanner, A. and Stillman, N. : Oral and dental infections with anaerobic bacteria: clinical features, predominant pathogens, and treatment. *Clin. Infect. Dis.*, **16** : S304~S309, 1993.