

Title	談合する暗殺軍団 デンタルバイオフィルムとのバトル
Author(s)	奥田, 克爾
Journal	日本歯科医師会雑誌, 64(1): 19-27
URL	http://hdl.handle.net/10130/2846
Right	



談合する暗殺軍団 デンタルバイオフィームとのバトル

奥田 克爾



おくだ かつじ
 ●東京歯科大学名誉教授 ●1968年東京歯科大学卒業。68年東京歯科大学微生物学講座助手、講師、助教授を経て89年教授、78年スウェーデン政府留学生としてカロリンスカ大学留学、79年米国 NIH Fogarty Fellow としてニューヨーク州立大学バッファロー校歯周病学研究センターに留学、93年厚生省長寿科学研究所主任研究員、08年東京歯科大学名誉教授、帝京平成大学薬学部教授、日本歯科医学会会長賞受賞 ●1943年生まれ、富山県出身 ●主研究テーマ：口腔内バイオフィームとその全身疾患病原性 ●野口英世記念会理事、野口英世アフリカ賞選考委員、日本歯周病学会など4学会の名誉会員 ●趣味：読書、油絵、釣り、旅行

●日歯ホームページメンバーズルーム内「オンデマンド配信サービス」および「Eシステム（会員用研修教材）」に掲載する本論文の写真・図表（の一部）はカラー扱いとなりますのでご参照ください。

要 約

先進国での口腔疾患の治療には、医療費として4番目に費用が必要であることを WHO が発表している。その背景に、モンスターともいわれるデンタルバイオフィームとのバトルにマンパワーが求められることがある。日和見感染を起こす細菌は、会話しながらバイオフィーム集団となることが運命づけられている。複数菌種で構成されるデンタルプラークなどバイオフィームは、細菌性ホルモンや細菌性フェロモンである QS シグナルでコミュニケーションをとりながら多細胞生物のような複雑な生態系を築いている。本稿では、キラ軍団としてのデンタルバイオフィームについて解説する。

キーワード

デンタルバイオフィーム／QS シグナル／
暗殺軍団／バトル

1. はじめに

細菌の存在など知られていなかった紀元前、医学の父ヒポクラテスは、口腔内に慢性感染症があると全身の健康を害すること、口腔の疾患を除去すると健康回復に繋がることを述べていた^{1,2)}。近年、歯科疾患が命を奪う疾患であることが歯科医師だけでなく医師たちによっても次々に発表され、細菌による口腔慢性感染症を排除する歯科医師の役割を際立たせている。そのため、世界の歯科大学では、オーラルフィジシャンとしての教育を主軸に置くようになってきた。

私たちの身体は、60兆に達する細胞から構成されているが、棲み着いている細菌は1,000種類以上で、菌数は100兆にも達する。口腔内に棲みつく細菌は、コミュニケーションを取って分裂のスピードを変えながらバイオフィーム (biofilm) 集団となり、病原性すら自ら調節する能力を発揮してそれぞれの口腔内各部位で縄張りを築いている (図1, 図2)。一旦足場を

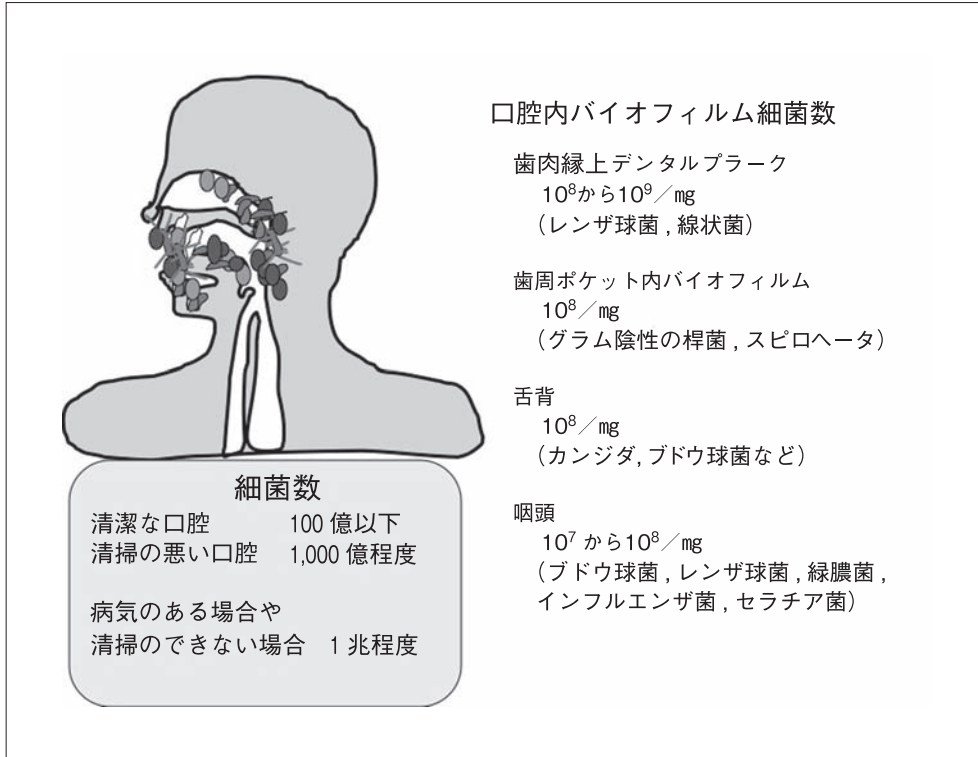


図1 口腔内バイオフィームの細菌数

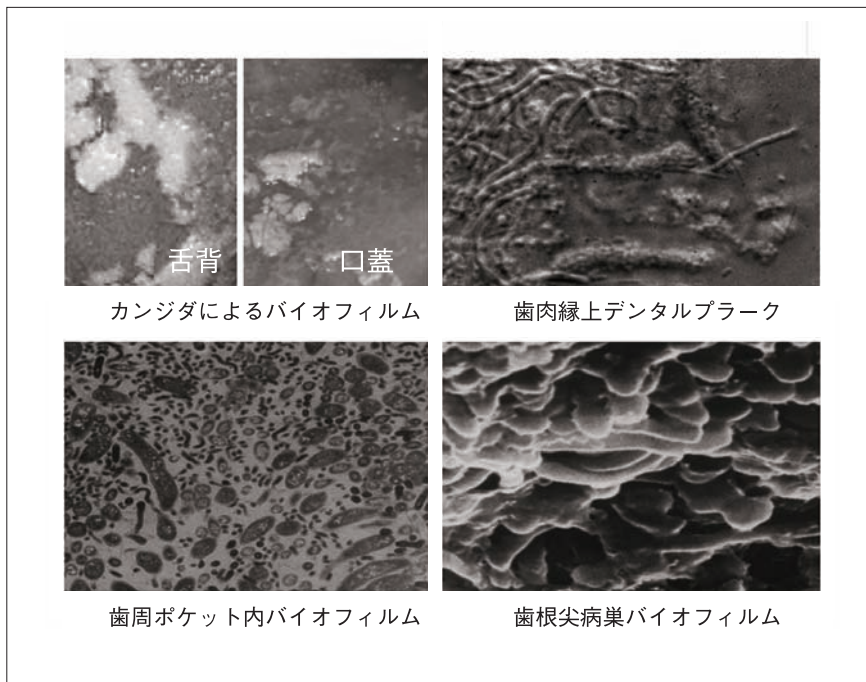


図2 口腔内各部位のバイオフィーム

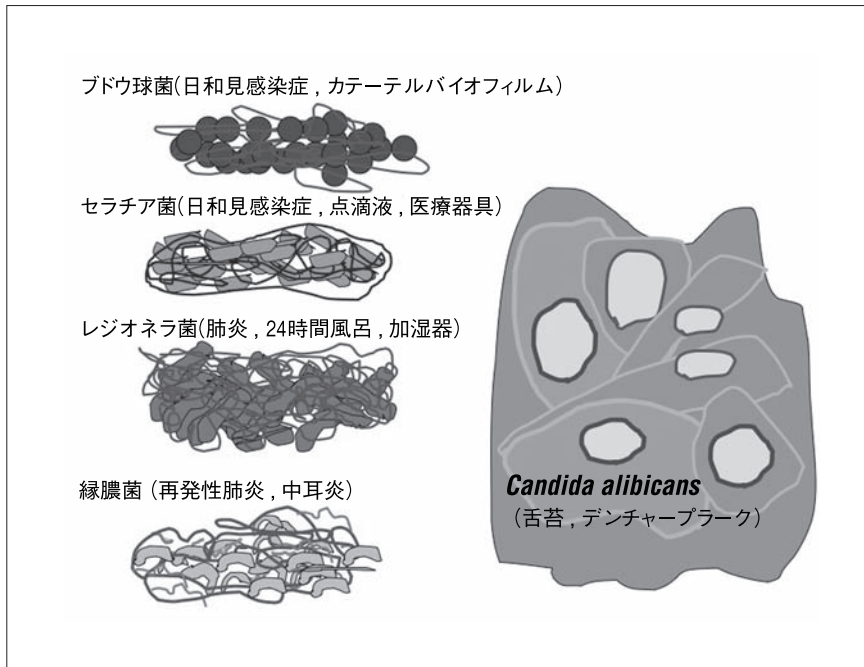


図3 代表的日和見感染症病原体とそのバイオフィーム。細胞外に糊状のぬるぬるしたEPSを合成して難治性で持続性の感染症を引き起こす。

作って集団になって棲みつくと、その感染症は頻繁に再発し、抗生物質や生体の免疫学的防御機構に抵抗するため、難治性となってしまう。

多くの日和見感染症病原細菌は、除去の困難なバイオフィーム集団となるため、バイオフィーム感染症という新しい病態概念が確立した(図3)。デンタルプラークは、暗殺者にもなる恐怖のバイオフィーム細菌集団である。したがって、**デンタルプラークを「菌垢」という実態の表さない用語は、使いたくない。**

(示すために?)

2. 細菌と人間のバトルの変遷

忠臣蔵の時代、「微生物学の父」と呼ばれるルーベンフックは、自分で作った歪みのない精巧なレンズを金属製のホルダーにはめ込んだ顕微鏡でデンタルプラークを観察し、細菌の存在を明らかにした。ヒトをホモ・サピエンスと命名したリンネは、細菌を体系的に分類しようとしたが、あまりにも小さく種類も雑多であることから、単純にギリシャ語でカオス(chaos, 混沌)と分類した。そして、パスツールは、病原体で

ある細菌は、最大の殺戮者であることを示し、人類がバトルすべき最大の敵であるとした。

そのような背景の中で、消毒の必要性を体系づけたのはイギリスの外科医のリスターである。余談ながら、リスターが開発したのが120年の歴史をもつ抗菌性洗口剤のリステリンであることを述べておく。

その時代の潮流で、口腔内細菌をすべて悪玉とする視点が見られ、齶蝕に原発した根管内や根尖病巣に感染する細菌は命を奪う病原体であることが、歯科医師であるプライスやハーバード大学医学部などの教授陣によって主張された^{1,2)}。

その後、細菌学に大きなパラダイムシフトが起きた。その路線変更で、腸管、口腔、皮膚に様々な常在菌が発見され、ヒトとの共生関係を持つことが分かってきた。腸管内の乳酸桿菌などはバトルすべき敵でなく、プロバイオティック(probiotic)といえる味方であると提唱された。

ここで、細菌と私たちの細胞との間にも密接な情報交換、いわゆるクロストーク(crosstalk)がなされていることを紹介する。自然免疫で主役を果たしてい

るマクロファージの病原体をキャッチする Toll 様受容体 (Toll-like receptor, TLR) は、細菌とのクロストークの主演となっている。ビフィズス菌や乳酸桿菌は、腸管内の TLR を介して感染免疫防御メカニズムを高めることが示唆されている¹⁾。

ところが、私たちの身体に棲み着いているグラム陰性菌は、菌体表層にリポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) からなる内毒素(endotoxin)をもっている。LPS はマクロファージなどの TLR に結びついた場合、TNF- α などの炎症性サイトカインの産生をもたらしてしまう。マクロファージが脂肪細胞と共同して TNF- α 産生をもたらす結果、細胞のインスリン抵抗性が増加し、膵臓 β 細胞の疲弊がもたらされ糖尿病の引き金になってしまう¹⁻³⁾。

菌周病原菌でありながら動脈硬化への関与も示されている *Porphyromonas gingivalis* と、宿主細胞とのクロストークについて注目すべき情報がある。*P. gingivalis* は、補体タンパク質と共同してマクロファージの防御機能を抑制することが明らかにされた⁴⁾。このような新知見からも、菌周病原性菌などのデンタルバイオフィームは、バトルすべき相手であるといえる。

3. バトルで築く バイオフィームリゾート

地球上に最初の生命体が誕生したのは約40億年前で、単細胞の細菌である。細菌の遺伝子 DNA もタンパク質合成メカニズムも、ヒトと基本的な違いはない。細胞質内に遺伝子を折り畳んでいる細菌は、多くの形質を発現するために核膜を持たないまま細胞壁という鎧をまとってきた。それに対して、細菌の誕生から20~30億年後になって出現し、遺伝子を核膜で包み込んだ真核生物は、内蔵したミトコンドリアなどがエネルギー生成や呼吸の仕事を担ってくれるため、細胞壁の堅い鎧を脱ぎ捨てることができた。そのため、真核生物の外側は細胞膜となり、自由に形が変えられさまざまな機能を持つようになった。

真核細胞は、侵入してくる細菌をまず飲み込んでからゆっくり分解するというバトル手段などを持って巨

大化し、細菌に比べ長さが10~100倍、体積は数千倍となった。その後、細胞の集合体が一つの個体として生きようになり、消化機能や運動機能に特化した器官を発達させた多細胞生物が出現した。

一方、単細胞の細菌は、一つ一つがばらばらに生きてきたわけではなく、他の細菌と共同生活をしてきた。その基本がバイオフィームである。身体にレーダー網として張り巡らされているマクロファージ (M ϕ) は、細菌の数千倍の大きさである。身体にへばりつく常在菌は、マクロファージとのバトルに屈しないために、細胞壁の外側にぬるぬるした糊状の菌体外多糖体 (extracellular polymeric substances, EPS) を合成した。お互いに結びついてバイオフィーム集団となって、マクロファージなどの感染防御細胞とのバトルに屈することなく生存し続けた (図4)。

バイオフィーム形成基質である EPS は、抗原性がなく非自己と認識されないし、補体などの防御機構にも抵抗する。共同生活をするバイオフィームという生態のリゾートで生き抜くことが宿命づけられているのが日和見感染症病原性細菌である¹⁾。図5には、バイオフィーム形成プロセスを、デンタルプラーク形成を例にして示した。

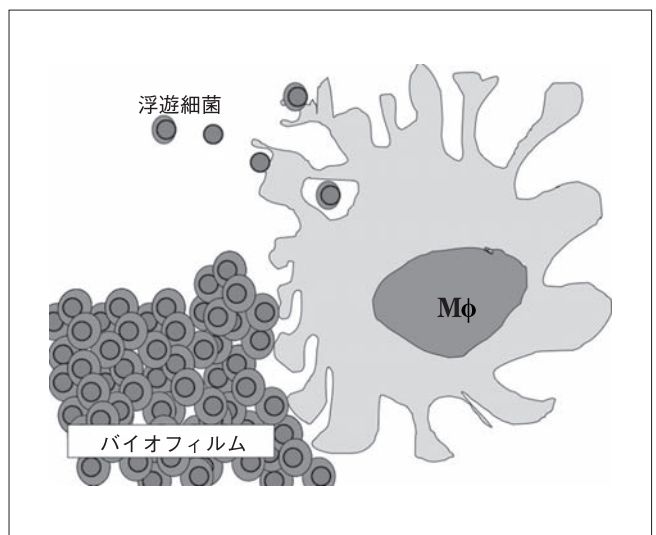


図4 常在性の細菌は浮遊した状態ではマクロファージなどに食食されてしまうが、バイオフィーム集団となって宿主細胞群とのバトルに抵抗して住み着く。

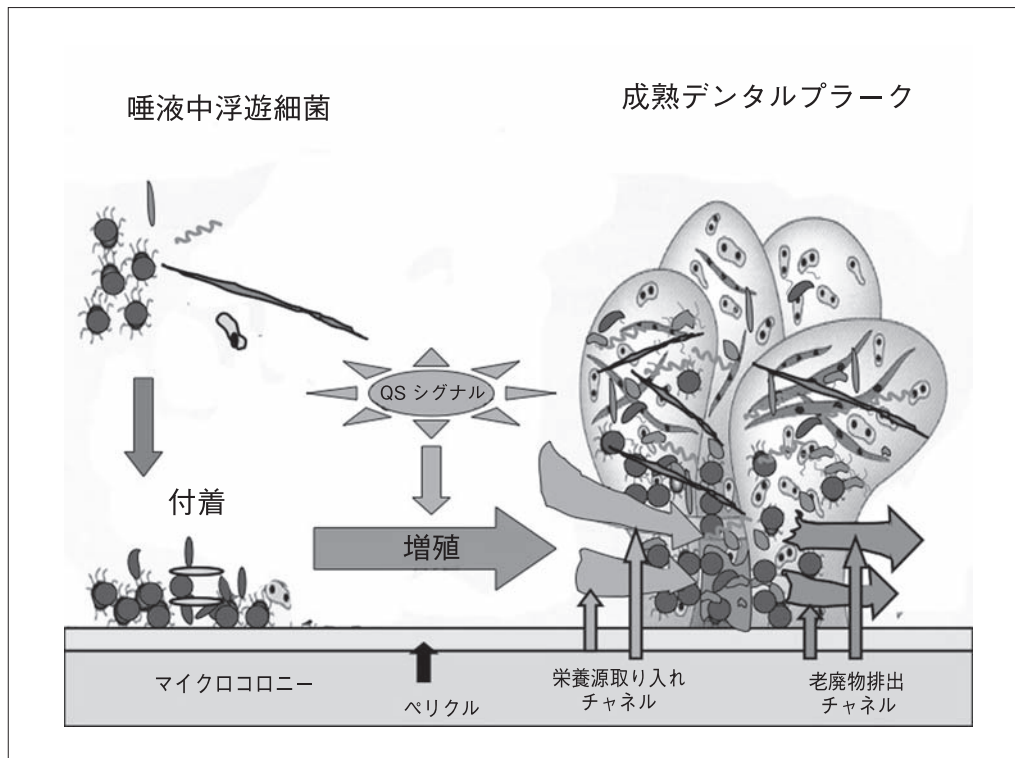


図5 デンタルプラーク形成プロセス。浮遊細菌は宿主細胞表面にその付着機序で定着してマイクロコロニーを作り、QS シグナルでコミュニケーションをとりながらバイオフィーム集団となる。成熟バイオフィームは、栄養源を取り入れ、老廃物を排出するチャンネルを作り、簡単に排除ができない個体のような生態系を築いてしまう。

4. 細菌の談合は QS シグナルでなされる

日和見感染症起因性病原体は、コミュニケーションを取りながら分裂スピードを高めてバイオフィーム集団となっている。細菌は、言葉となるシグナルとそれをキャッチするレセプターを持っている。細菌のこのコミュニケーション手段は、QS シグナル (Quorum-sensing signal) といわれる。Quorum とは定足数で、会議の成立などに必要な出席人数のことである。

細菌の言語にあたるシグナル物質は、細胞壁を通過して情報を菌体内遺伝子に伝えなければならないため低分子である。QS シグナル分子によって新しく形質発現が誘導されることから自己誘導 (autoinducer, AI) と呼ばれ、遺伝子発現を制御して形質の発現を調節する。AI は、♂菌と♀菌の接合いわゆるセック

スするために作用することもあり、細菌性フェロモンと言われるし、他の菌に働きかけることから細菌性ホルモンとも呼ばれる。

棲みついていて虎視眈々と免疫防御機能が低下するときに狙っている日和見感染症病原体である緑膿菌やセラチア菌などは、AI-1 として働くアシルホモセリン・ラクトン (acylhomoserine lactone, AHL) を産生する (図6)。アシル基の炭素数が少ない AI-1 分子は、濃度勾配によって細胞内に入り込んで特異的受容体と複合体を形成し、ターゲット遺伝子の転写を制御する。アシル基の炭素数が多い分子は、菌体表面の受容体に結びついてからその QS シグナルを細胞内の標的遺伝子に伝達する。

一方、海水に存在する発光性細菌 *Vibrio harveyi* から、AI-1 分子と構造が全く異なるフラノシル・ボレート・ジエステル (furanosyl borate diester) からなる AI-2 因子が発見された⁵⁾。QS シグナル分子 AI-2

は、グラム陰性菌の外膜と細胞質膜の空隙にあるペリプラスムのレセプターに結びつき、連鎖的にLux遺伝子を活性化して、病原性遺伝子やルシフェラーゼ (luciferase) 遺伝子の発現が誘導される (図7)⁶⁾。

Luxは、明けの明星 (Lucifer) である金星に由来する。脇道にそれるが、筆者が国費留学生として招待されたスウェーデンでは、12月のノーベル週間とクリスマス間に光 (lux) を求める聖ルチアの祭典がある。

大腸菌、緑膿菌、セラチア菌、ピロリ菌、菌周病原性細菌など多くのグラム陰性菌は、AI-2のQSシグナル分子で制御される。AI-2は、同種だけでなく異種の細菌とのコミュニケーション手段として使われている。

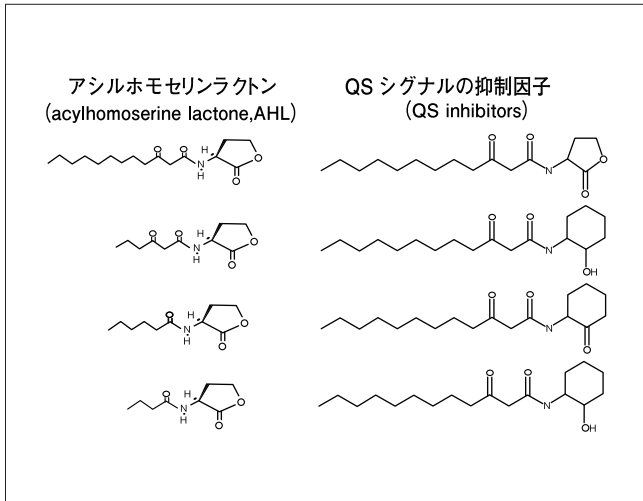


図6 QSシグナル分子のアシルホモセリン・ラクトン (AHL) とそのアンタゴニストとして作用するQSシグナル抑制因子。

5. QSシグナル阻害による細菌駆逐戦略

近年、QSシグナルの拮抗薬 (antagonist) としてQSシグナルの攪乱をもたらすQS inhibitor (QSI) が新しいバイオフィーム感染症の治療薬として脚光を浴びている。自然界に存在するものや合成された化学的バイオフィーム形成阻害薬は、細菌に対して直接的抗菌性を持たないが、QSシグナルを邪魔する結果、その病原性を減らすものである。分子構造は、QSシ

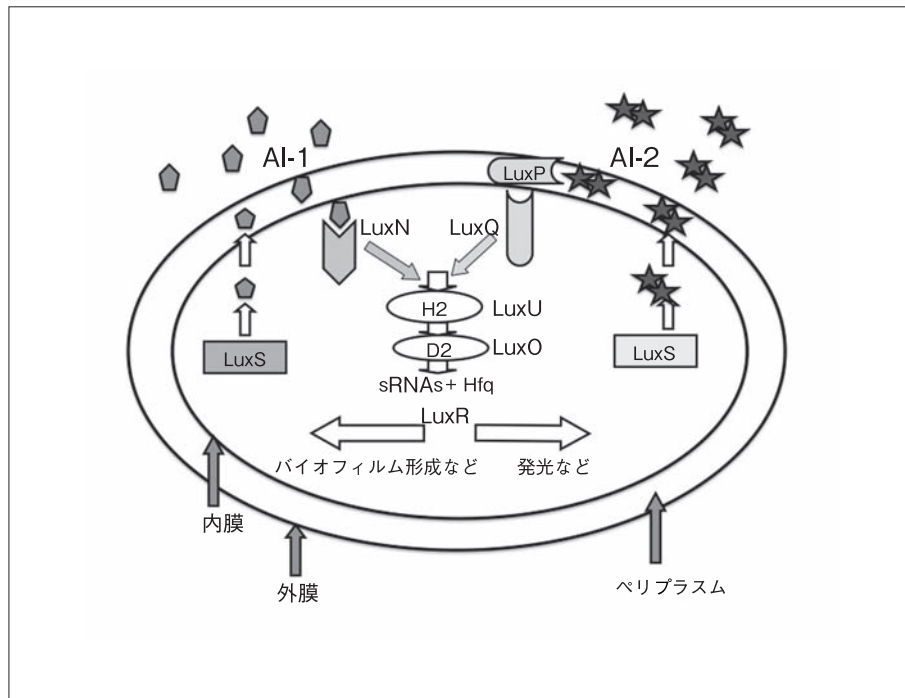


図7 QSシグナルの伝達と形質発現。AI分子は、AIレセプターに受け取られる。AI遺伝子転写は、H2とD2分子を介してLuxRを制御し、バイオフィーム形成や発光が促進される (文献6を参照した)。

グナルに類似するものなどである。化学的構造が AHL に類似する代表的 QSI の拮抗薬を図7に示した。これらの QSI は、バイオフィーム形成細菌の AHL が誘導するプロモーターを減少させてしまうことによって、種々の病原性に関わる因子の発現を抑える。

マクロライド系抗生物質は、細菌リボゾームの50S サブユニットに結合し、タンパク質合成を阻害する。その分子の一部であるラクトン環によって、14員環、15員環、16員環のマクロライド系に分類される。14員環のエリスロマイシン、クラリスロマイシン、ロキシスロマイシンおよび15員環のアジスロマイシンは、その化学構造が緑膿菌などの QS シグナルに類似しており、発育阻止濃度 (MIC) の100分の1程度の低濃度でバイオフィーム形成を阻害する¹⁾。

我が国では50歳前後での発症が多い難治性の気道感染症である嚢胞性繊維症 (cystic fibrosis, CF) は、緑膿菌がアルジネートを EPS として作るバイオフィームが原因である。そのような患者に対しては、大きなバイオフィームにさせないようにする目的で、少量の上述マクロライド系抗生物質が生涯にわたって投与

されている。

6. デンタルプラーク形成での QS シグナル

デンタルプラークの形成は、唾液由来の糖タンパク質からなるペリクルにレンサ球菌などが付着することにより開始される。初期定着菌は、付着状態のまま増殖する。次いで、初期定着菌と結合する各種の細菌が定着を始める。偏性嫌気性菌の *Fusobacterium nucleatum* が定着すると、自らが強い付着能力がなくても *F. nucleatum* などと共凝集して定着するため、数百種類の細菌で構成されるようになる。成熟デンタルバイオフィーム形成プロセスで、AIの活性化によって様々な遺伝子の転写活性が増大したり、抑えられたりしながら、血管系やホルモン系を具備した無脊椎動物のようにさえ見える生態系を築く¹⁾。

Streptococcus mutans の齲蝕原性は、図8に示したスクロースからムタンともいわれる水不溶性グルカンのEPS合成である。Yoshidaら⁸⁾は、*S. mutans*の

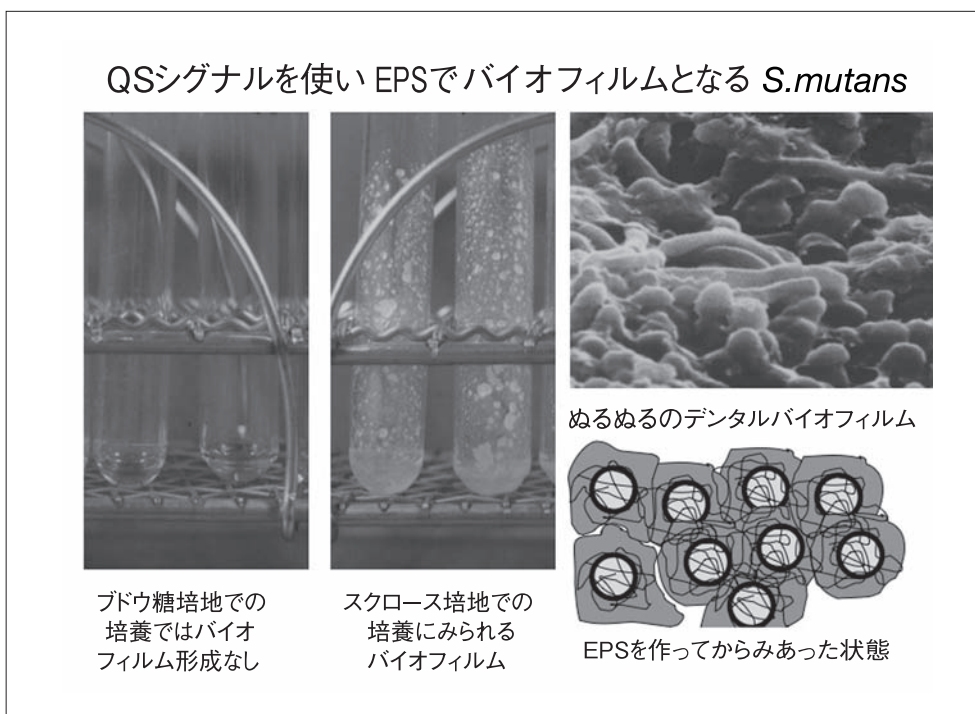


図8 *S. mutans* の齲蝕原性は菌体外に合成されるEPSである。*S. mutans* はスクロースからEPSを作って試験管壁に付着してバイオフィームとなる。

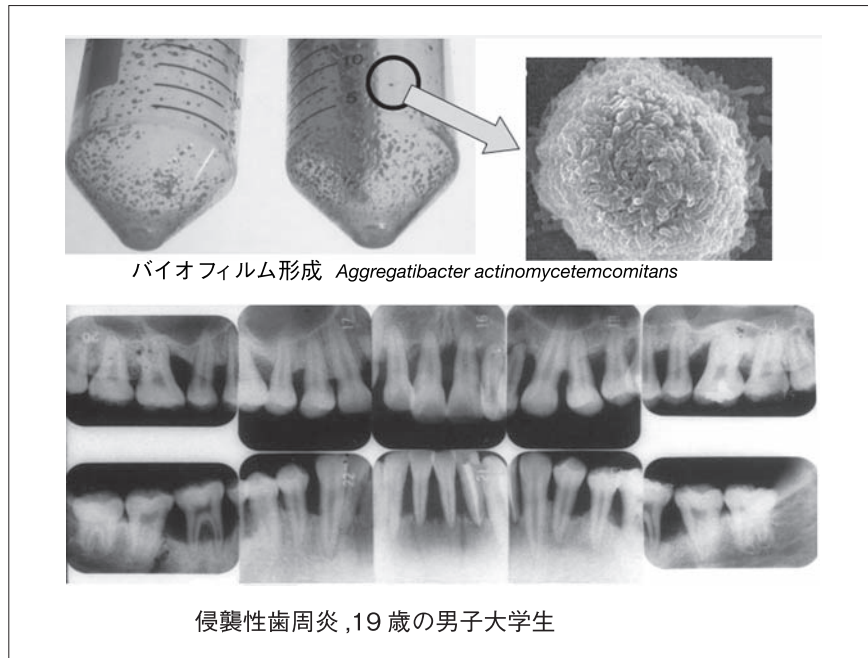


図9 侵襲性歯周炎の主たる病原菌 *A. actinomycetemcomitans* のバイオフィームと局所から本菌が検出された広汎型侵襲性歯周炎患者の X 線写真。

AI-2を産生する *luxS* 遺伝子を欠落させたところ、バイオフィーム形成能が低下することを明らかにすると共に、*luxS* 欠損菌株は他の口腔内レンサ球菌などの産生する LuxS によってバイオフィーム形成が復活することから、デンタルプラーク細菌が菌種を超えて会話していることを明らかにした。

歯周病原性細菌群も、お互いに AI-2 で複雑な菌種からなるバイオフィームを築いている。*F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia* は、QS シグナルとして AI-2 を発現する⁹⁾。図9に示した侵襲性歯周炎の代表的病原菌 *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* のバイオフィーム形成には、AI-2 のレセプターであるリボース結合タンパク質 (RbsB) が重要な役割を担っている¹⁰⁾。

7. バイオフィーム形成阻害戦略

齲蝕・歯周病は、宿主防御機構がバイオフィーム細菌軍団とのバトルに勝利できない結果による日和見感染症である。

近年、QS シグナルを邪魔することによってバイオフィーム形成を阻害して、齲蝕・歯周病を制御しようとする戦略に期待が注がれている。*S. mutans* のバイオフィーム形成 QS シグナルのアナログの合成ペプチドは、バイオフィーム形成、酸産生、耐酸性を抑えることが報告されている¹¹⁾。また、Asahi ら¹²⁾ は、QS シグナル分子 HSL アナログには、*P. gingivalis* のバイオフィームの形成阻害に作用するものがあることを明らかにした。バイオフィーム形成抑制に働く QS シグナルアナログは、日常に使用する戦略によってバイオフィーム感染症予防に繋ぐことができると考えている。

8. おわりに

リンネが分類学的に細菌をカオスとしたが、口腔内バイオフィーム細菌の善玉・悪玉についても依然としてカオスである。一時期、口腔内レンサ球菌は体内に入り込んでしまうと、ジキルがハイドになってしまうとさえ考えていた。デンタルバイオフィーム全体とし

てはバトルすべきキラー軍団であることを、サポートする知見が示された。

デンタルバイオフィームはバトルすべき相手であることを支持する知見として、British Medical Journalに掲載されたロンドン大学疫学・公衆衛生学研究グループの注目すべきレポートがある¹³⁾。その報告は、8,830人を対象とし555人の心臓血管疾患患者を含む中で170人が死亡した約8年の追跡調査をしたところ、歯ブラシ習慣がないか著しく少ないためデンタルブラーク量が多く口腔衛生状態の悪いグループでは、心臓血管疾患の起こるリスクは1.7倍高く、炎症や組織破壊の指標であるC反応性タンパク（CRP）ならびに血栓形成因子などになるフィブリノーゲンの値が上昇するというものである。

デンタルバイオフィームの持つ生理学的役割については、いままでに膨大な所見が示されている。しかしながら、病原性をいかに縮小させるかが歯科医療・口腔ケアの主軸にあることに疑いはない。SRPなどの歯周治療や抜歯前のバイオフィームに対する抗菌剤としては、ある程度浸透力があり殺菌的に働く非イオン性のポビドンヨード液、リステリン、イソプロピルメチルフェノール（IPMP）含有のものなどが推奨される。一方、バイオフィーム表面に付着して長時間作用性のあるイオン性のグルコン酸クロルヘキシジンや塩化セチルピリジニウム（CPC）は、メンテナンスなどに使われる¹⁾。

現状では、それらを組み込んだSRP、PMTCのプロフェッショナルな手技や電動ブラシの使用を含む日常的なセルフケアによるデンタルバイオフィーム駆逐戦略が現実的である。

WHOは、多くの先進国における口腔疾患の治療には4番目に医療費用が高むとしている²⁾。その理由の一つは、デンタルバイオフィームとのバトルには、マンパワーを凌駕する手段がないことである^{1,3)}。口腔内バイオフィームが全身の健康を蝕むという研究と、世界に類をみないスピードで高齢化した国民の健康に歯科界が貢献しているエビデンスをさらに蓄積しなければならぬし、バイオフィームとのバトルに勝利でき

る新たなパラダイム構築のための基盤研究も必要である。

<謝辞>

本稿にクリティカルなコメントと新情報を戴いた東京歯科大学の名誉教授高添一郎先生、教授の石原和幸先生と加藤哲男先生、講師の齋藤淳先生、ならびに九州歯科大学吉田明弘先生に謝意を表す。また、バイオフィームの生態などを参考にさせてもらった光文社新書の夏井睦著『傷はぜったいに消毒するな』を贈ってくれた同級生でNPO法人恒志会理事長の土居元良先生の温かい友情に感謝する。

参考文献

- 1) 奥田克爾：デンタルバイオフィーム－恐怖のキラー軍団とのバトル－。医歯薬出版、東京、2010。
- 2) 奥田克爾編集：オーラルヘルスと全身の健康。プロクター・アンド・ギャンブル・ジャパン、2007。
- 3) 奥田克爾：口に潜む恐怖のバイキン集団。一世出版、東京、2010。
- 4) Wang, M. et al.: Microbial hijacking of complement-Tool-like receptor crosstalk. *Sci. Signal.*, 16 : 109, 2010.
- 5) Zhang, L.H. et al.: Quorum sensing and signal interference: diverse implications. *Mol. Microbiol.*, 53 : 1563~1571, 2004.
- 6) Matthew, B. et al.: Regulation of LuxPQ receptor activity by the quorum-sensing signal autoinducer-2. *Molecular Cell*, 18 : 507~516, 2005.
- 7) Rasmussen, T. B. and Givskov, M.: Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology*, 152 : 895~904, 2006.
- 8) Yoshida, A. et al.: LuxS-based signaling affects *Streptococcus mutans* biofilm formation. *App. Environ. Microbiol.*, 71 : 2372~2380, 2005.
- 9) Frias, J. et al.: Periodontopathogens produce quorum sensing signal molecules. *Infect. Immun.*, 69 : 3431~3434, 2001.
- 10) Shao, H. et al.: Autoinducer 2 is required for growth of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*. *Infect. Immun.*, 75 : 4211~4218, 2007.
- 11) LoVetri, K. and Madhyastha, S.: Antimicrobial and biofilm activity of quorum sensing peptides and peptide analogues against oral biofilm bacteria. *Methods Mol. Biol.*, 618 : 383~392, 2010.
- 12) Asahi, Y. et al.: Effects of N-acylhomoserine lactone analogues on *Porphyromonas gingivalis* biofilm formation. *J. Periodont. Res.*, 45 : 255~261, 2010.
- 13) de Oliveira, C., Watt, R. and Hamer, M.: Toothbrushing, inflammation, and risk of cardiovascular disease: results from Scottish Health Survey. *BMJ*, 340 : 2451~2467, 2010.