

淺論牙周病病原菌、內毒素及宿主免疫反應

■ 張肇益 / 1.北醫牙醫學士 (27 屆)
2.臺北醫學大學助理教授
3.東京齒科大學博士
4.齡雅牙科負責醫師

牙周病

牙周病與齲齒並列為牙科的兩大疾患，牙周病可大略分為牙齦炎(gingivitis)與牙周炎(periodontitis)兩種。牙齦炎為炎症反應侷限在牙齦緣之疾患；牙周炎則是發生在牙齒周圍支持組織處的廣泛型炎性病變，經常同時併有牙周囊袋、牙周附著喪失、膿腫、齒槽骨吸收及牙齒動搖等症候。(表1)

近年，隨著關於牙周病微生物學和免疫學等種種研究方法的改良與進步，不僅僅對於(1)牙周病病原性細菌的檢出及特性的標定、(2)由病原菌所生成的致病內毒素、以及(3)其所引發的牙周組織免疫反應等之各單項內容更為了解；對於三者之間的種種機轉也有了更深一層的認識。

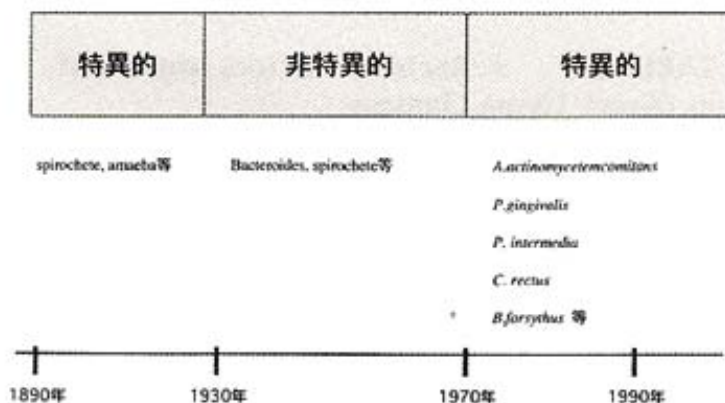
TABLE 1 ✦ Classification of Periodontal Diseases

- I. Gingival Disease
 - A. Gingivitis
 - 1. Nonspecific gingivitis
 - 2. Acute necrotizing ulcerative gingivitis (ANUG)
 - B. Manifestations of systemic diseases and hormonal disturbances—e.g., desquamative gingivitis, primary herpetic gingivostomatitis, "pregnancy gingivitis" and other hormonally mediated changes, diabetes and other metabolic diseases
 - C. Drug-associated gingival inflammation—e.g., dilantin hyperplasia
- II. Mucogingival conditions—e.g., gingival recession and aberrant frena and/or muscle attachment
- III. Periodontitis
 - A. Adult Periodontitis
 - 1. Slight
 - 2. Moderate
 - 3. Advanced
 - 4. Refractory and rapidly progressive
 - B. Juvenile Periodontitis (JP)
 - 1. Prepubertal
 - 2. Generalized juvenile periodontitis (GJP)
 - 3. Localized juvenile periodontitis (LJP)
 - C. Periodontal abscess
- IV. Pathology Associated With Occlusion
- V. Other Conditions—Miscellaneous (e.g., infection, trauma)

Adapted from Current Procedural Terminology for Periodontics, ed. 5., Am. Acad. Periodontol. 1986.

Specific 或 Non-specific Pathogens

在過去這一百年間，牙周病的病原菌從初期被推測為某些如螺旋體或阿米巴原蟲等特異型(specific)的病菌；在中期則因由於從各式各樣不同的牙周病病症中所取得之檢體，皆能夠培養出多樣性的病菌，而非原先所想像的某些特異型的病原菌，因此牙周病的病原菌一度被認為是非特異型(non-specific)病菌。然而，隨著試料採集法、厭氧性細菌的培養法以及像是分離同定法等技術的精進，漸漸地、許多研究發現某些牙周病與某些特定之細菌之存在是相關連的，因此現今的主流再度轉變為偏向於特異型的牙周病病原菌的認定（圖1）。



▲ 圖1

就筆者個人的觀點而言，「牙周病」僅僅只是對於發生於牙齒周圍支持組織之疾病的統稱，其分類尚不夠明確，而無法明確分類的主要原因在於牙周病患者個體口腔環境之變異度太大，造成牙周病患部之菌叢的複雜性及難以標定性。牙周病其實可被視為一群群的疾病或感染，而各群

牙周病是由屬於各自群體的特異型病原菌所引發。近年，對於牙周病病原菌的檢測方法已從單純的直接觀察及培養法，進步到使用螢光抗體法、酵素活性測定法、ELISA、DNA probe、及 Immunoblotting 等方法，其目的無非是為了更精準地檢測病原菌而施予最適當的治療方法。

雖說目前的主流觀點是認為牙周病之發病，須以存在有特異型的病原菌來引發；然而，若單純以傳統的 Koch 病原體概念，來推斷自牙周囊袋中檢測出之特定細菌即為該類牙周病之病原菌，如此之想法似乎尚欠週延。事實上，在選出牙周病特定病原菌的同時，尚需考量到以下四點條件：

1. 目前尚未被檢測出來的病菌也可能才是造成牙周病發病的真正原因。
2. 被檢測出來的細菌也可能不見得是真正具有致病力之病原菌。
3. 病菌有時會因為周遭環境的影響而無法發揮其致病力，譬如宿主口腔裏若存有某種益生菌則會壓制其病原性，如此病原菌將形同潛伏狀態。
4. 宿主對於病菌的感受度可能有所差異。

也因此對於選出牙周病特定病原菌的條件，更需參考以下六項要點：

1. 該種細菌必須能夠大量於發病時存在，而於健康時則僅有少數或甚至沒有。
2. 該種細菌所引發之抗體價在血清、唾液或牙齦溝液中必須要高。

3. 清除或抑制該種細菌將能迅速去除或舒緩病症。
4. 病巢部的組織，若使用該種細菌之抗體來操作螢光抗體染色法，則病巢部之組織應該能被染色標記。
5. 該種細菌必須能夠產生致病毒素或致病因子。
6. 該種細菌之接種必須能夠讓實驗室的無菌動物也引發相同的病程及症狀。

基於以上的理論基礎，目前較為明確的牙周病病原菌請參見表2。其中表列的牙周病病原菌如 *P. gingivalis*、*P. intermedius*、*B. forsythus*、*A. actinomycetemcomitans*、*Capnocytophaga* 等幾乎大都屬於是格蘭式陰性之厭氧菌，恰與齲齒之病原菌 *Streptococcus mutans* 屬格蘭式陽性菌形成對比。（表2）

TABLE 2 ✦ Principal Bacteria Associated with Periodontal Disease

Adult periodontitis	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>B. forsythus</i> , <i>Campylobacter rectus</i>
Refractory periodontitis	<i>Bacteroides forsythus</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>P. intermedia</i>
Localized juvenile periodontitis (LJP)	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Capnocytophaga</i>
Periodontitis in juvenile diabetics	<i>Capnocytophaga</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i>
Pregnancy gingivitis	<i>P. intermedia</i>
ANUG	<i>P. intermedia</i> , intermediate-sized-spirochetes

病原菌之致病力

牙周病病原菌欲引發病症，必須附著於牙菌斑或是牙齦溝內直接影響牙周組織，

唾液及牙齦溝液中之抗體或是投與的抗菌物質會影響此類病原菌的附著力及致病力。然而能夠成功宿生之病原菌就會侵入牙周組織內造成破壞。對於病原菌的此類侵入性感染動作，宿主首先會由體內的巨噬細胞以吞食作用及殺菌作用等反應消滅病原菌，若此道防線失守，則組織內的破壞將會加劇。病原菌造成感染的方式通常可分為直接效應與間接效應兩種。直接效應包括侵入 (invasion) 組織（表3）、釋放外毒素、產生內毒素及種種組織破壞性分解酵素（如 collagenase、hyaluronidase、phospholipase、phosphatases 等）等等作用；間接效應則主要為引發不良的宿主免疫反應（表4）。

TABLE 3 ✦ Bacterial Factors Important in Direct Tissue Damage

Enzymes
Collagenase
Hyaluronidase
Phospholipase
Phosphatases
Endotoxin
Cell inhibitors
Ammonia

TABLE 4 ✦ Bacterial Factors Important in Evasion of Host Defenses

Inhibition of PMN
Leukotoxin
Chemotaxis inhibitors
Decreased phagocytosis and intracellular killing
Resistance to C-mediated killing
Lymphocyte alterations
Endotoxicity
IgA, IgG proteases
Fibrinolysin
Superoxide dismutase
Catalase

牙周病病原菌的菌體表層之線毛及纖毛等，對於附著於宿主組織表層上具有重要的功能。莢模、LPS、Peptidoglycan 等菌體胞壁組成成分，大都具有各式各樣的生物學活性，與細菌入侵及破壞組織有關。

牙周病病原菌能產生各種破壞性酵素，例如 IqA 和 IqG 分解酵素等，可用來分解宿主唾液、牙齦溝液或組織液內之免疫球蛋白，如此將使得細菌的附著性向上提升，侵入組織內也就更容易成功。另外如 Collagenase 等組織分解酵素則能直接破壞結締組織，造成傷害。

Lipopolysaccharide (LPS) - 內毒素 (endotoxin)

口腔裏的環境存在有許多格蘭式陰性菌，因此牙菌斑、唾液及牙齦溝內可被推想可能含有LPS，事實上許多報告證實曾於口腔內檢測出LPS 活性反應。

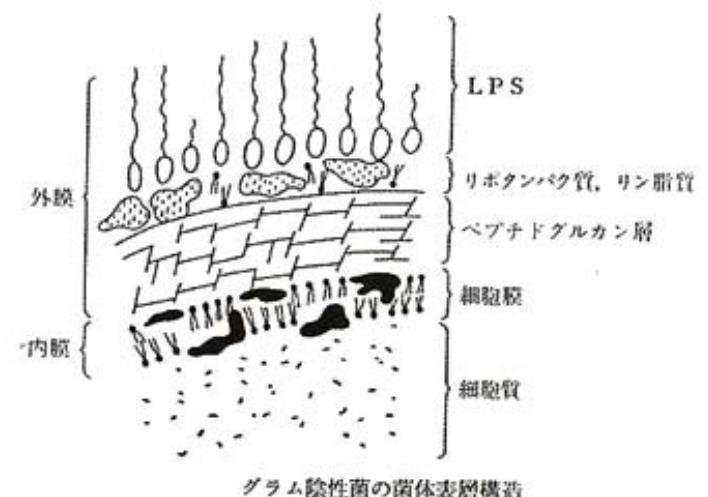
例如在人類牙齦緣上及牙齦緣下之牙菌斑中，以 Limulus 檢定法證實其中含有LPS 活性物質。而此LPS 活性在強固附著於齒面上的牙菌斑中，要比在鬆軟附著於齒面上的牙菌斑中要來的強。

亦有研究曾經指出牙周組織的炎症程度與唾液中、牙肉組織裏、牙齦溝液中及牙菌斑內之LPS 活性，具有相關性之報告；特別是像 ANUG 患者之檢體，具有最強之LPS 活性。

高分子的毒性物質一般稱為毒素 (toxin)，細菌所產生的毒素可分為外毒素 (exotoxin) 及內毒素兩大類。外毒素是細菌分泌出菌體外之毒素，通常為蛋白質組成；內毒素則為必須於菌體產生溶菌現象時方能游離出之毒素稱之。

在受到感染的牙周囊袋中，會發現存在有大量的格蘭式陰性菌，這類細菌在細胞壁內含有特殊的、具毒性的LPS，而LPS因為為菌體之細胞壁構成結構之一，只能在細菌發生溶菌時方能被釋放出來，而非像外毒素於平時即可被分泌出菌體外，所以LPS 是屬於一種內毒素。

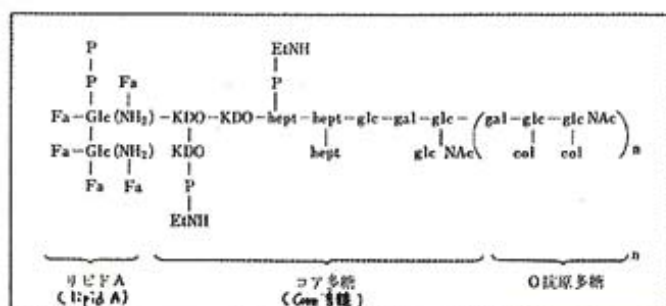
格蘭式陰性菌的菌體表層可分為內膜 (inner membrae)、外膜 (outer membrace) 及 Peptidoglycan 層。內膜即是菌體的細胞膜，Peptidoglycan 層介於內膜與外膜之間，最外層之外膜則含有 lipoprotein、磷脂質、LPS 等成份，某些種類之細菌在外膜之外，另有由多糖體組成之莢膜存在 (圖2)。



▲ 圖 2

內毒素是於 1892 年，首先由 Pfeiffer 於 *Vibrio cholerae* 在其對數增殖期之後期培養液中所發現的。內毒素的生物學活性，包括能引起發燒及其他種種不良的組織免疫反應。內毒素的主要組成包括有 LPS 及蛋白質等成分；因為其生物學上的活性主要皆是由 LPS 所擔當，也因此內毒素亦常會被以 LPS 所代稱。

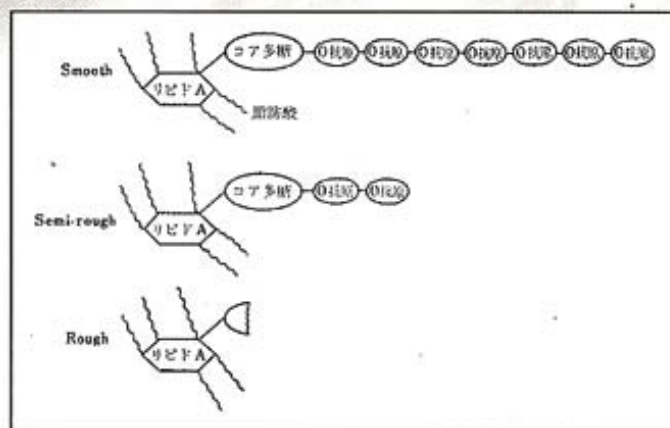
LPS 的化學構造主要包括三部分，分別為 O 抗原多糖 (O-antigen polysaccharide)、核多糖 (Core polysaccharide) 及 lipid A；LPS 的化學構造式請參考圖 3。



E. coli O111:B4 株の LPS の化學構造

▲ 圖 3

O 抗原多糖排列數目的多寡可用來區分不同的菌株及菌種，其排列之單位數目及結合樣式等變化會產生特異性質的免疫反應。LPS 因此可分為平滑(Smooth)型、半粗糙(Semi-rough)型及粗糙(Rough)型等三種。平滑型具有 8-10 個 O- 抗原多糖單元的結合，半粗糙型為 1-2 個單元結合，粗糙型則完全沒有任何 O- 抗原多糖單位結合(圖 4)。不同菌株因具有不同型態之 LPS 而會形成各自不同的菌落形態。另外需注意的是，LPS 於生物學上的活性，主



LPS の分類

▲ 圖 4

要是由 lipid A 來呈現。

內毒素是毒性甚強之物質，它可直接對組織產生傷害，亦會引發不良的免疫反應。內毒素可引起的效應包括：(1) 造成 leukopenia、(2) 活化 XII 凝血因子，影響凝血機制，甚至於血管內造成栓塞、(3) 活化變異經路的補體反應、(4) 引發局部的 Shwartzman phenomenon、(5) 對纖維母細胞等產生細胞性毒害、(6) 引發骨吸收、(7) 活化巨噬細胞以製造 IL-1、TNF- α 、PGE₂ 及種種水解酶等。

裂解掉膠原蛋白的效應大多來自於組織內的膠原蛋白酶，但也有部分可能來自於病菌自身的分泌。例如 *P. gingivalis* 及 *A. actinomycetemcomitans* 都有製造膠原蛋白酶的能力，並且能分解 fibrinogen。其他的可由病菌自行產生之組織破壞酵素尚包括 gelatinase、aminopeptidase、phospholipase A、alkaline phosphatase、acid phosphatase、hemolysin、keratinase、arylsulfatase、neuraminidase、DNase 及 RNase 等等。其中 Phospholipase A、alkaline 及 acid phosphatases 的作用尚能造成骨吸收。

LPS 與骨吸收

曾有研究以因牙周病引起齒槽骨吸收而拔除之牙齒做實驗，結果發現鄰接齒槽骨吸收部分的牙根表面上之白堊質內具有 LPS 活性；而未鄰接齒槽骨吸收部分的牙根表面上之白堊質內則檢測不出 LPS 活性，由此可推想 LPS 與齒槽骨之吸收具有相當程度之關連性存在。

牙周病在病理學上的主要變化特徵是齒槽骨的吸收，而許多研究報告已證實像 *B. gingivalis*、*E. corrodens*、*C. ochracea*、*A. actinomycetemcomitans* 等菌的 LPS 都具有很強的骨吸收活性；然而由 LPS 所引發的真正骨吸收機轉至今尚未完全明瞭。正常骨之代謝是由吸收與形成之交替作用來達到所謂動的平衡，因此若一方過多或不足，則會變成骨之病態。產生骨吸收之原因，不外乎是因為骨吸收過多或是骨形成過少，亦或是以上兩者皆有，所形成之骨代謝不平衡所造成的。LPS 可能直接對破骨細胞或造骨細胞直接造成影響，而造成骨吸收；另外 LPS 亦可能藉由刺激某些特定細胞，分泌骨吸收介質，例如破骨細胞活化性因子 (OAF)、類 IL-1 因子、Prostaglandin 等因子而間接地引發骨吸收。

LPS 對巨噬細胞的活化性

B. gingivalis、*A. actinomycetemcomitans* 等菌之 LPS 已被證實具有活化巨噬細胞之功能，巨噬細胞一旦被活化，在外形上會變大，會伸出偽足，細胞質內之顆粒球會

增加，亦會增加分泌。巨噬細胞一旦被活化，其附著力及吞食異物的能力將會增強許多。

被活化的巨噬細胞有時亦會分泌如 proteinase、elastase、collagenase 等種種組織分解酵素，來分解自身的結締組織，而對牙周組織造成破壞。

此外被活化的巨噬細胞亦會產生如過氫氧基 ($\cdot OH$)、過氧化氫 (H_2O_2) 及超氧化物 (O_2^-) 等過氧化物或離子基。此等過氧化物雖然具有強力的殺菌作用，但亦同時可能對自身組織造成傷害。

宿主免疫反應

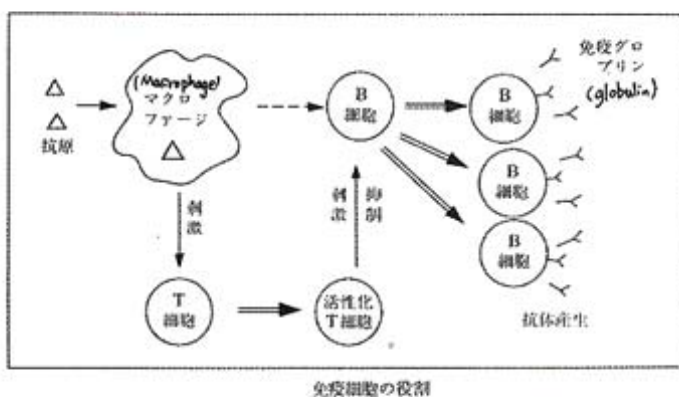
細菌因子之間接效應可引發宿主產生如 leukotoxin 等介質，來抑制白血球 (PMN) 之功能。其他如 *P. gingivalis* 及 *Prevotella intermedia* 則會破壞免疫球蛋白及引發補體反應。類似此類由病菌破壞宿主之免疫功能，並藉此誘發宿主造成不良的免疫反應，通常會形成較為嚴重的牙周病病症 (請參見表 5)。

TABLE 5 + Significant Immune Findings in Periodontal Diseases

DISEASE	FINDING
ANUG	PMN chemotactic defect Elevated antibody titers to <i>Prevotella intermedia</i> and intermediate-sized spirochetes
Pregnancy gingivitis	No significant findings reported
Adult periodontitis	Elevated antibody titers to <i>P. gingivalis</i> and other periodontopathogens Occurrence of immune complexes in tissues Immediate hypersensitivity to gingival bacteria Cell-mediated immunity to gingival bacteria
Juvenile periodontitis	
LIP	PMN chemotactic defect and depressed phagocytosis
CRP	Elevated antibody levels to <i>A. actinomycetemcomitans</i> PMN chemotactic defect and depressed phagocytosis
Prepubertal	Elevated antibody levels to <i>Porphyromonas gingivalis</i>
Rapid periodontitis	PMN and monocyte chemotactic defects Suppressed or enhanced PMN or monocyte chemotaxis
Refractory periodontitis	Elevated antibody levels to several gram-negative bacteria
Desquamative gingivitis	Reduced PMN chemotaxis
	Diagnostic or characteristic immunopathology in two thirds of cases
	Autoimmune etiology in cases resulting from pemphigus and pemphigoid

引發免疫反應的細胞主要為淋巴球及巨噬細胞。淋巴球以其發生起源及機能上之不同，可區分為B-細胞與T-細胞。B-細胞主要來自於骨髓、脾臟以及淋巴節，會朝抗體產生細胞的方向分化。T-細胞為來自於骨髓之淋巴球，在移至胸腺內完成分化後，進入淋巴系統內，負責調節B-細胞產生抗體之機制、活化巨噬細胞以及辨識出異質細胞並加以破壞及排除。

巨噬細胞為常駐於淋巴系統內之吞食性細胞，當巨噬細胞處理出抗原時，便會刺激並活化B-細胞和T-細胞產生免疫反應來製造抗體(圖5)。LPS具有賦活免疫細胞，並誘發免疫反應的能力。



▲ 圖 5

容許病原菌入侵之淋巴球或巨噬細胞，有時亦會產生 lymphokines、monokines 及 collagenase 等介質或分解酵素，對宿主自身組織造成破壞。然而，幸運的是宿主組織仍會針對此等自身攻擊的情況，做出種種的防禦反應。

免疫系統在牙周病病程中所扮演的角色經常是一體兩面的，一方面是保護組織免受傷害；另一方面亦可能被病菌利用，反過來傷害自身組織。牙周病所引發的免疫反應單元及其功能請參見表6。而這些免疫功能會影響到 1. 病菌的群聚作用、2. 病菌的入侵作用、3. 組織破壞、4. 組織癒合及纖維化等項目之部份，亦請參見表7。

TABLE 6 ◆ Components of Immune System Affecting Periodontal Disease

SYSTEM	FUNCTION
Secretory immune system	Decreases bacterial colonization on surfaces exposed to saliva
Neutrophil, antibody, complement	Bacteriocidal
Lymphocyte, macrophage, lymphokine	Tissue destruction
Immunoregulatory	Controls immune responses to bacteria

Adapted from Genco and Slots: J. Dent. Res. 63:441, 1984.

TABLE 7 ◆ Influence of Host Responses on Periodontal Disease

ASPECT OF DISEASE	HOST FACTORS
Bacterial colonization	Subgingivally, antibody-C' in crevicular fluid inhibits adherence and coaggregation of bacteria and potentially reduces their numbers by lysis
Bacterial invasion	Antibody-C' mediated lysis reduces bacterial counts; neutrophils as a consequence of chemotaxis, phagocytosis, and lysis reduces bacterial counts
Tissue destruction	Antibody-mediated hypersensitivity; cell-mediated immune responses; activation of tissue factors such as collagenase
Healing and fibrosis	Lymphocytes and macrophage-produced chemotactic factors for fibroblasts; fibroblast-activating factors

Risk Factor

對於牙周病的治療理念，雖然目前已在以 Plaque Control 為主體的防菌治療上，加上宿主免疫反應及環境影響因子等種種影響的考量。但若單純以細菌學的觀點來看，「牙周病」特別像牙周炎是一種感染性疾病的事實是不變的，如果無法有效地控制住口腔內的牙周病關連性病菌，對於牙周病的預防及治療通常是非常困難的。

為了有效地預防並控制住牙周病的病情，設定精準的病情監控指標亦即所謂的危險因子(risk factors)，來儘快了解病因及推測其可能會發生的病程，對於牙周病的治療，特別是一些難治型或是特殊類型的牙周病，不單單是能夠加快診斷的速度，對於牙周病的療效是會有很大的助益的。

References

1. Genco R.J.: Host responses in periodontal diseases: Current concepts. J. Periodontol. 63: 338, 1992.
2. Grossi S.G., Zambon J.J., Ho A.W. et al.: Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol. 65: 260~267, 1994.
3. Grossi S.G., Genco R.J., Machtei E.E., et al.: Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. J Periodontol. 66: 23~29, 1995
4. Listgarten M.A., Slots J., Nowotny A.H., et al: Incidence of periodontitis recurrence

- in treated patients with and without cultivable *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis*: A prospective study. J Periodontol. 62: 377~386, 1991.
5. Morrison D.C. And Ulevitch R.J.: The effects of bacterial endotoxins on host medication systems - A review. Am. J. Pathol. 93: 527-617, 1978.
6. Muller H-P, Heinecke A., Lange D.E.: Postoperative bleeding tendency as a risk factor in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. J Periodont Res. 28: 437~443, 1993.
7. Newman M.G., Socransky S.S., Savitt E. D., Propas D.A., and Crawford A.: Studies of the microbiology of periodontitis. J. Periodontitis. J. Periodontol. 47:373, 1976.
8. Nisengard R.J.: The role of immunology in periodontal disease. J. Periodontol. 48: 505, 1997.
9. Page, R.: The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. J. Periodont. Res. 26: 230, 1991.
10. Pfeiffer R.: Untersuchungen uber das Cholera gift. Zeitschrift Hygiene Infektionskrankheiten. 11: 393-412, 1892.
11. Socransky S. and Haggajee A.: The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. J Periodontol, 63: 322~331, 1992.
12. Wolff L., Dahlen G., Aepli D.: Bacteria as risk markers for periodontitis. J Periodontol. 65: 498~510, 1994.