บทความปริทัศน์
Review Article

ลิวโคท็อกซินของแอคทิโนบาซิลลัส แอคทิโนมัยซีเทมโคมิแทนส์: ทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับความสำคัญและการถ่ายทอดเชื้อ

Leukotoxin of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: Review of Its Significance and Transmission

สาครรัตน์ คงขุนเทียน[1] สุทธิชัย กฤษณะประกรกิจ[2] ธีรวิช โชติพานิช[1] รัตนา อัมไพรวรรณ[1]
[1]ภาควิชาปริทันตวิทยา, [2]ภาควิชาทันตวิทยา-พยาธิวิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Sakornrat Khongkhunthian[1], Suttichai Krisanaprakornkit[2], Teerawich Chotipanich[1], Ratana Umpriwan[1]
[1]Department of Periodontology, [2]Department of Odontology & Oral Pathology, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University

ชม.ทันตสาร 2547; 25(1-2) : 29-41
CM Dent J 2004; 25(1-2) : 29-41

บทคัดย่อ

แอคทิโนบาซิลลัส แอคทิโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ถูกระบุว่าเป็นจุลชีพที่มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคปริทันต์อักเสบรุกรานเนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สร้างลิวโคท็อกซินซึ่งสามารถยับยั้งกลไกการป้องกันเชื้อโรคและกดภูมิคุ้มกันร่างกายของมนุษย์โดยการทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล แมคโครฟาจ และทีลิมโฟซัยท์ สายพันธุ์ของเชื้อนี้ที่ได้จากทางคลินิกถูกจำแนกตามปริมาณการผลิตลิวโคท็อกซินซึ่งประเมินด้วยวิธีการทางอณูชีววิทยาโดยพบว่าสายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงจะมีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบสในบริเวณโปรโมเตอร์ของลิวโคท็อกซินยีน มีหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อนี้สามารถถ่ายทอดจากตำแหน่งหนึ่งไปสู่อีกตำแหน่งหนึ่งได้ในช่องปากเดียวกัน ทั้งยังสามารถถ่ายทอดข้ามบุคคลภายในครอบครัวเดียวกันได้โดยถ่ายทอดผ่านทางน้ำลาย ผู้ทบทวนวรรณกรรมได้ทำการศึกษานำร่องเกี่ยวกับการถ่ายทอดเชื้อดังกล่าวในครอบครัวคนสัญชาติไทยจำนวนสองครอบครัวโดยนำตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกจากผู้ป่วย 2 รายที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุกรานและจากสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วยมาตรวจหาเชื้อแอคทิโนบาซิลลัส แอคทิโนมัยซีเทมโคมิแทนส์สายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงโดยใช้วิธีปฏิกิริยาพอลีเมอเรสเชน

Abstract

Actinobacillus actinomycetemcomitans (*Aa*) has been implicated as the major periodontal pathogen of aggressive periodontitis due to its ability to produce leukotoxin that plays a role in the inhibition of human defense mechanisms and immune responses by its cytolytic activities on human neutrophils, macrophages, and T-lymphocytes. Various *Aa* strains from different clinical isolates are classified based on the levels of leukotoxin production. One of the underlying molecular mechanisms that result in the high levels of leukotoxin production is based on a 530-base pair (bp) deletion in the promoter region of the leukotoxin gene. Several studies have shown that the transmission of *Aa* from one site to another within the same mouth as well as interindividual transmission in the same family is possibly via saliva. We have conducted a pilot study to investigate its transmission in two Thai families. Subgingival plaque samples were collected from two aggressive periodontitis patients as well as their familial members, and the presence of highly leukotoxic strain of *Aa* in

ผลการศึกษาตรวจไม่พบการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบส ซึ่งหมายถึงไม่พบเชื้อสายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงในทุกตัวอย่าง แสดงถึงแนวโน้มที่จะไม่พบเชื้อดังกล่าวในคนไทย อย่างไรก็ตามเนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่น้อยควรมีการศึกษาในจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนต่อไป อนึ่งผู้เขียนได้เสนอถึงหัวข้อที่น่าทำการศึกษาต่อไปเกี่ยวกับเชื้อนี้ไว้ในบทความด้วย

คำไขรหัส: แอคทิโนบาซิลลัส แอคทิโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ลิวโคท็อกซิน การถ่ายทอดในครอบครัว

these samples was determined by polymerase chain reaction. Our study showed the absence of the highly leukotoxic strain of *Aa* within these two families, since the 530 bp deletion was not detected in all tested samples. However, because of a small sample size, the result could show only the trend of the absence of leukotoxic strain of *Aa* in Thai population. A large sample size is required for the further conclusion. Other interesting aspects of *Aa* have been proposed in this review as well.

Keywords: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, leukotoxin, familial transmission

บทนำ

แอคทิโนบาซิลลัส แอคทิโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* หรือ *Aa*) เป็นแบคทีเรียที่สำคัญในการก่อโรคปริทันต์อักเสบชนิดต่างๆ ในมนุษย์ อาทิ โรคปริทันต์อักเสบก่อนวัยเริ่มเจริญพันธุ์ (prepubertal periodontitis)[1] โรคปริทันต์อักเสบในผู้เยาว์ (juvenile periodontitis)[2,3] โรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่ (adult periodontitis)[4,5] โรคปริทันต์อักเสบภาวะดื้อ (refractory periodontitis)[6] และโรคปริทันต์อักเสบลุกลามรวดเร็ว (rapidly progressive periodontitis)[7] ซึ่งโรคที่กล่าวมานี้เป็นชื่อโรคที่จำแนกตาม American Academy of Periodontology (AAP) ในปี พ.ศ. 2532[8] อย่างไรก็ตามในปี พ.ศ. 2542 มีการจำแนกโรคปริทันต์อักเสบใหม่ โดยโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่เปลี่ยนชื่อเป็นโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง (chronic periodontitis) โดยพบมากในผู้ใหญ่ ส่วนโรคปริทันต์อักเสบในผู้เยาว์ เปลี่ยนชื่อเป็นโรคปริทันต์ อักเสบรุกราน (aggressive periodontitis)[9]

โรคปริทันต์อักเสบรุกรานเป็นโรคปริทันต์อักเสบที่มีรูปแบบของการทำลายกระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone) ที่รวดเร็วและรุนแรงกว่าการทำลายของกระดูกเบ้าฟันในโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังอย่างเด่นชัด โดยมักเกิดกับฟันแท้โดยเฉพาะฟันกรามแท้ซี่ที่หนึ่งและฟันตัดบนหรือล่างและอาจพบเกิดกับฟันซี่อื่นๆ ด้วย ลักษณะที่สำคัญอย่างหนึ่งของโรคปริทันต์อักเสบรุกรานคือมีความจำเพาะของจุลชีพก่อโรคโดยเฉพาะเชื้อแอคทิโนบาซิลลัส แอคทิโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ นอกจากนั้นยังพบเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส (*Porphyromonas gingivalis* หรือ *Pg*) เชื้อแทนเนอเรลลา ฟอร์ซัยเธนสิส (*Tannerella forsythensis* หรือ *Tf*) หรือชื่อเดิมคือ แบคทีรอยดีส์ ฟอร์ซัยธัส (*Bacteroides forsythus*) เชื้อพรีโวเทลลา อินเทอร์มีเดีย (*Prevotella intermedia* หรือ *Pi*) และเชื้อเทรพโพเนมา เดนติโคลา (*Treponema denticola* หรือ *Td*)[7,10,11]

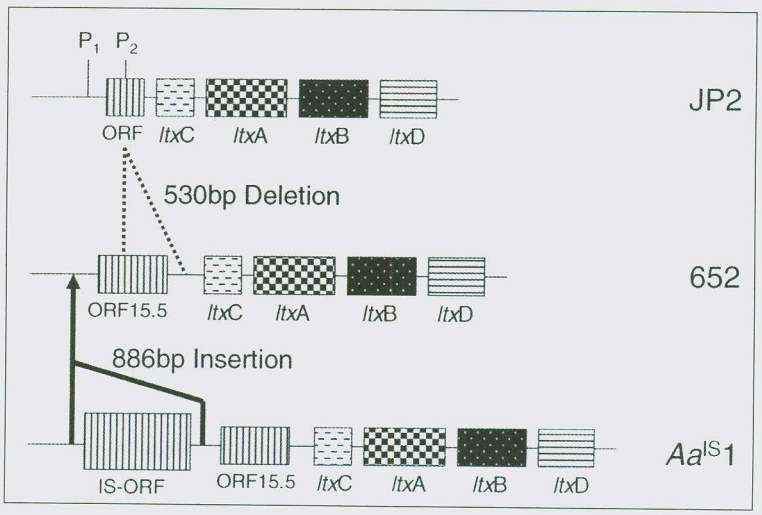
เชื้อ *Aa* เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ (gram-negative) รูปร่างกลมรี สามารถปรับตัวได้กับออกซิเจน (facultative anaerobe)[12,13] และสร้างปัจจัยความรุนแรง (virulence factors) ต่ออวัยวะปริทันต์ได้หลายชนิด[14-16] เช่น ชีวพิษภายในตัว (endotoxin) เอ็นไซม์สลายคอลลาเจน (collagenase) สารยับยั้งขบวนการคีโมแทคซิส (chemotactic inhibitor) ไซโตท็อกซิกแฟคเตอร์ (cytotoxic factor) ตลอดไปจนถึงลิวโคท็อกซิน (leukotoxin) ซึ่งเป็นปัจจัยความรุนแรงที่สำคัญ

ลิวโคท็อกซิน

ลิวโคท็อกซินถูกระบุว่าเป็นปัจจัยความรุนแรงที่เป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยก่อให้เกิดการทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล (neutrophil) แมคโครฟาจ (macrophage) และทีลิมโฟซัยท์ (T-lymphocyte)[17] โมเลกุลของลิวโคท็อกซินมีลักษณะพิเศษคือมีการเรียงตัวซ้ำของกรดอะมิโน ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนกลัยซีนเป็นจำนวนมากเรียงซ้ำๆ กันซึ่งไว้ใช้จับกับแคลเซียมไอออน (glycine-rich Ca^{2+}-binding tandem repeats) ลิวโคท็อกซินที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมักคงอยู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียมากกว่าจะถูกหลั่งออกมานอกเซลล์[18] อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าลิวโคท็อกซินที่มีน้ำหนัก 115,000 ดาลตัน (Dalton)[19] สามารถถูกหลั่งออกมาอยู่ที่ผิวนอกของเซลล์แบคทีเรียได้[20]

อันตรายของลิวโคท็อกซินเกิดจากการที่ท็อกซินนี้มีโดเมนที่ทอดข้ามเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane-spanning domain) โดยส่วนปลายด้านคาร์บอกซิล (COOH-terminal) ของโมเลกุลลิวโคท็อกซินสามารถเข้าไปถึงในชั้นฟอสโฟไลปิด (phospholipids layer) ของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดขาวและทำให้เกิดรู (pore) ซึ่งทำให้มีการไหลเข้า (influx) ของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) รวมถึงการไหลออก (efflux) ของโปแทสเซียมไอออน (K^{+}) รวมทั้งสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น อะดีโนซีนไตรฟอสเฟท (adenosine triphosphate หรือ ATP)[21] ส่งผลให้เซลล์เม็ดเลือดขาวมีการบวมน้ำและแตกออกในที่สุด ขณะเดียวกันเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ถูกทำลายจะปลดปล่อยสารจากไลโซโซเมิลแกรนูล (lysosomal granule) ออกมาสู่ภายนอกเซลล์ซึ่งก่ออันตรายต่อเนื้อเยื่อมากขึ้นด้วย

ลิวโคท็อกซินของเชื้อ *Aa* ถูกสร้างขึ้นโดยกลุ่มยีน (gene) ที่เรียกว่าโอเพอรอน (operon) ซึ่งในปัจจุบันมีการจำแนกองค์ประกอบในโอเพอรอนออกเป็น 4 กลุ่มย่อย เรียงตามลำดับก่อนหลังคือ *ltx*C, *ltx*A, *ltx*B และ *ltx*D[22] (ดังรูปที่ 1) การทำงานของโอเพอรอนจะถูกควบคุมโดยส่วนที่เรียกว่าโปรโมเตอร์ (promoter) 2 ชุด ซึ่งอยู่ในลำดับก่อนหน้าโอเพอรอน ซึ่งในส่วนของโปรโมเตอร์ชุดที่ 2 จะมีส่วนที่ทำหน้าที่ถอดรหัสสร้างโปรตีน (open reading frame หรือ ORF) ตามปกติเชื้อ *Aa* ที่มีความเป็นพิษต่ำ (minimally toxic strain) หรือมีการแสดงออกของลิวโคท็อกซินเอ็มอาร์เอ็นเอ (*ltx* mRNA) ในระดับต่ำ ซึ่งได้แก่เชื้อ *Aa* สายพันธุ์ 652 จะมีลำดับนิว



รูปที่ 1 *แสดงบริเวณโปรโมเตอร์และโอเพอรอน ltx ของเชื้อ Aa ทั้งสามสายพันธุ์ได้แก่ JP 2 652 และ $Aa^{IS}1$ (ดัดแปลงจาก Brogan et al.[23] and He et al.[36])*

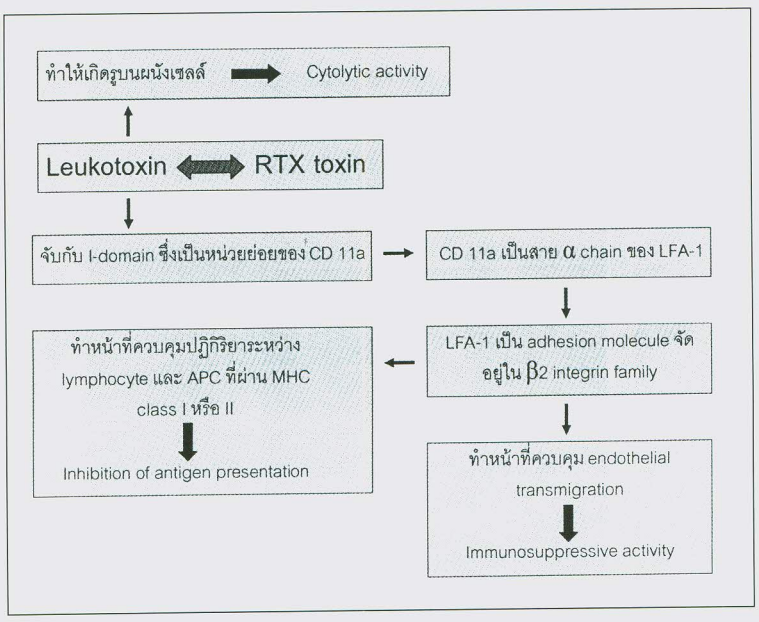
P_1 และ P_2 แสดงถึงตำแหน่งของบริเวณโปรโมเตอร์ชุดที่ 1 และ 2 โดยโปรโมเตอร์ชุดที่ 2 อยู่ในส่วนโออาร์เอฟหรือส่วนที่ถอดรหัสสร้างโปรตีน (ORF) ของโปรโมเตอร์ชุดที่ 1

Figure 1: *A diagram shows the promoter region and the ltx operon of three different strains of Aa, including JP2, 652, and $Aa^{IS}1$ (modified from Brogan et al.[23] and He et al.[36])*

คลีโอไทด์ 1,025 คู่เบส ขณะที่เชื้อ *Aa* สายพันธุ์ JP2 ที่มีความเป็นพิษสูง (highly toxic strain) จะมีการขาดหายไปของ 530 คู่เบส (530 bp deletion) การศึกษาของ Brogan และคณะ[23] ยังพบด้วยว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ (neucleotide sequence) ของลิวโคท็อกซินโปรโมเตอร์ของเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ JP2 ณ ตำแหน่งที่ -10 และ -35 จะมีส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เฉพาะเจาะจงซึ่งทรานสแอคติงโปรตีน (trans-acting protein) สามารถจับได้ ผู้เขียนตั้งข้อสังเกตว่าการจับกับทรานสแอคติงโปรตีนดังกล่าวอาจมีผลโดยตรงต่อการสร้างลิวโคท็อกซินเพิ่มมากขึ้นของเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ JP2 ด้วย

นอกเหนือไปจากบทบาทที่เป็นปัจจัยความรุนแรงที่กล่าวมา ลิวโคท็อกซินยังมีความสามารถในการย่อยสลายเซลล์ (cytolytic activity) เนื่องจากลิวโคท็อกซินเป็นท็อกซินชนิดหนึ่งในตระกูลอาร์ทีเอกซ์ท็อกซิน (RTX toxin หรือ repeats in the structural toxin) ที่โมเลกุลมีลักษณะพิเศษคือมีการเรียงตัวของกรดอะมิโนกลัยซีนซ้ำๆ กันเป็นจำนวนมากและสามารถจับกับแคลเซียมไอออนได้ อาร์ทีเอกซ์ท็อกซินสามารถจับกับไอ-โดเมน (I-domain) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของซีดี11เอ (CD 11a) ซึ่งเป็นสายอัลฟา (alpha chain) ของแอลเอฟเอ-วันได้ (leukocyte function-associated antigen one หรือ LFA-1) โดยแอลเอฟเอ-วันเป็นโมเลกุลที่ช่วยในการยึดติด (adhesion molecule) พบได้ในเม็ดเลือดขาวทั้งชนิดลิมฟอยด์และไมอีลอยด์ (lymphoid and myeloid leukocytes) และจัดอยู่ในครอบครัวของเบต้า 2 อินเทกริน (β2 integrin family)[24]

แอลเอฟเอ-วันมีหน้าที่ในการควบคุมการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวผ่านเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial transmigration) และปฏิกิริยาระหว่างลิมโฟไซท์และเซลล์ที่นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cells) ผ่าน Major Histocompatibility Complex (MHC) class I หรือ II ดังนั้น อาร์ทีเอกซ์ลิวโคท็อกซินจึงมิได้เพียงแต่เป็นอันตรายต่อเซลล์เท่านั้นแต่ยังสามารถขัดขวางการนำเสนอแอนติเจน (antigen presentation) แต่ยังมีบทบาทในการกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive activities)[25] คือขัดขวางการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวในการออกมาภายนอกเส้นเลือดในระยะที่เนื้อเยื่อเกิดการติดเชื้อและมีการอักเสบดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปัจจัยความรุนแรงที่เชื้อนี้สร้างขึ้นมานั้นนอกจากจะมีความสามารถในการทำลายอวัยวะปริทันต์แล้วยังสามารถเข้าไปขัดขวางและยับยั้งกลไกการป้องกันของร่างกายได้อีกด้วยดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 *แสดงบทบาทของลิวโคท็อกซินต่อระบบภูมิคุ้มกัน*

Figure 2 *A diagram shows the role of leukotoxin on immune system*

การจำแนกสายพันธุ์

มีการใช้เทคนิคต่างๆ ทางอณูชีววิทยา[26] ศึกษาถึงความหลากหลายในสายพันธุ์ของเชื้อ *Aa* อาทิ วิธีเรสตริกชันแฟรกเมนท์เลงท์โพลีมอร์ฟิสซึมอนาไลซิสหรืออาร์เอฟแอลพี (restriction fragment-length polymorphism analysis หรือ RFLP) ที่จำแนกเชื้อตามจีโนไทพ์ (genotype) วิธีการทางชีวเคมีที่จำแนกเชื้อตามไบโอไทพ์ (biotype) และวิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยา (immunology) ที่จำแนกเชื้อตามซีโรไทพ์ (serotype) Di Rienzo และคณะ[27,28] ใช้วิธีอาร์เอฟแอลพีตรวจสอบลักษณะจีโนไทพ์ของเชื้อ *Aa* ที่ได้จากคนไข้โรคปริทันต์อักเสบในผู้เยาว์แบบเฉพาะที่ (localized juvenile periodontitis) และสมาชิกในครอบครัวเปรียบเทียบกับเชื้อ *Aa* ที่ได้จากอาสาสมัครที่มีสุขภาพอวัยวะปริทันต์ดีซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาชี้ว่ามีจีโนไทพ์ที่เด่นเพียงชนิดเดียวในผู้ป่วยดังกล่าวคืออาร์เอฟแอลพีกลุ่มที่ 2 (RFLP group II) ในขณะที่จีโนไทพ์อีก 2 ชนิด คืออาร์เอฟแอลพีกลุ่มที่ 13 และ 14 (RFLP group XIII และ XIV) จะพบได้เฉพาะในอาสาสมัครที่มีอวัยวะปริทันต์สมบูรณ์แข็งแรงดีเท่านั้น ด้วยวิธีการนี้ทำให้พบว่าเชื้อ *Aa* ที่มีจีโนไทพ์อาร์เอฟแอลพีกลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อที่มีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบสในบริเวณโปรโมเตอร์ของลิวโคท็อกซินยีน ซึ่งทำให้มีการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของลิวโคท็อกซิน นอกจากนั้นยังมีการศึกษาที่สนับสนุนว่าจีโนไทพ์ที่มีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบสในตำแหน่งที่ควบคุมการแสดงออกของลิวโคท็อกซินดังกล่าวมีบทบาทในการก่อโรคที่รุนแรงขึ้นโดยสามารถตรวจพบได้ในผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุกราน โดยคนที่ตรวจพบเจอเชื้อ *Aa* ที่มีจีโนไทพ์ชนิดดังกล่าวขณะที่ยังมีอายุน้อยจะมีความเสี่ยงสูงที่อวัยวะปริทันต์จะถูกทำลายได้ในอนาคต[29]

สำหรับวิธีการทางชีวเคมีสามารถจำแนกเชื้อ *Aa* ออกเป็น 10 ไบโอไทพ์[30] ขณะที่วิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยาสามารถจำแนกเชื้อ *Aa* ออกได้เป็น 5 ซีโรไทพ์ คือ ซีโรไทพ์ เอ ถึง อี (serotype a-e)[31] โดยการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงหรือมีความเป็นพิษสูงคือซีโรไทพ์ บี นอกจากนั้น Haubek และคณะ[32] ยังรายงานว่าเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงที่มีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบสหรือซีโรไทพ์บีมีความเป็นพิษสูงกว่าซีโรไทพ์อื่นๆ ประมาณ 10 ถึง 20 เท่า

ความหลากหลายทางสายพันธุ์ของเชื้อ *Aa* ในกลุ่มประชากรที่อยู่ในพื้นที่หรือมีเชื้อชาติที่แตกต่างกันเป็นอีกประเด็นหนึ่งที่ได้รับความสนใจ เช่น การศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกา[32] ตรวจพบเชื้อ *Aa* ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ที่เป็นพิษสูงหรือซีโรไทพ์ บี ในขณะที่การศึกษาในประชากรฟินแลนด์[33,34] กลับตรวจพบซีโรไทพ์ บี ได้น้อยกว่า สำหรับการศึกษาในประชากรเอเชีย เช่น การศึกษาในประชากรเกาหลี[35] รายงานการตรวจพบเชื้อ *Aa* ทั้งซีโรไทพ์ เอ บี และ ซี จากผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบในผู้เยาว์ได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แตกต่างจากการศึกษาในประชากรญี่ปุ่นที่มีรายงานว่าตรวจไม่พบเชื้อ *Aa* ที่มีความเป็นพิษสูงที่มีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบส แต่กลับพบเชื้อ *Aa* ที่มี 1,911 คู่เบส คือมีการเพิ่มขึ้น (insertion) ของหน่วยพันธุกรรมอีก 886 คู่เบส โดยเชื้อที่มีการเพิ่มจำนวนคู่เบส 886 คู่เบสนี้มีการแสดงออกของลิวโคท็อกซินเพิ่มขึ้นเช่นกัน[36] (แสดงในรูปที่ 1) รวมทั้งการศึกษาในกลุ่มประชากร ยุโรปตอนเหนือที่ไม่พบเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ที่เป็นพิษสูงหรือซีโรไทพ์ บี ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุกราน[37] ดังนั้นความเกี่ยวข้องระหว่างเชื้อชาติของประชากรและสายพันธุ์ของเชื้อ *Aa* ที่มีความเป็นพิษสูงน่าจะมีความสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบรุกราน

นอกจากการพบเชื้อ *Aa* ต่างสายพันธุ์ในกลุ่มประชากรที่แตกต่างกันแล้ว ยังมีการศึกษาต่อไปด้วยว่าในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบคนหนึ่งๆ จะพบเชื้อ *Aa* เพียงสายพันธุ์เดียวหรือหลายสายพันธุ์ ซึ่งข้อมูลจากการศึกษาในกลุ่มประชากรในยุโรป[38-41] และในสหรัฐอเมริกา[42] ชี้ว่าผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร้อยละ 67 ถึง 80 มีเชื้อ *Aa* ที่ก่อโรคเพียงสายพันธุ์เดียว ผลการศึกษานี้จะแตกต่างจากการศึกษาในซีกโลกตะวันออกหรือในกลุ่มผู้อพยพชาวเอเชียซึ่งระบุว่าผู้ป่วยคนหนึ่งที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบสามารถตรวจพบเชื้อ *Aa* ได้มากกว่า 1 ซีโรไทพ์[35] อีกทั้งมีรายงานการพบจีโนไทพ์ที่แตกต่างกันในคนคนเดียวกันด้วย[26,34] มีรายงานถึงความแตกต่างในลักษณะนี้ในประชากรที่เป็นเด็กชาวเอเชียซึ่งพบเชื้อ *Aa* ได้มากกว่า

หนึ่งสายพันธุ์[43] ซึ่งต่างจากผลการศึกษาในประเทศทางตะวันตก[44] มีความพยายามที่จะอธิบายถึงปรากฏการณ์ที่พบดังกล่าวว่าอาจมีสาเหตุเนื่องมาจากขนาดของครอบครัว วิถีชีวิตความเป็นอยู่และวัฒนธรรมการรับประทานอาหารที่แตกต่างกัน กล่าวคือประเทศทางแถบเอเชียจะมีลักษณะของครอบครัวขยายโดยมีสมาชิกในครอบครัวจำนวนมากอยู่ร่วมกันซึ่งจะส่งผลให้มีการติดต่อส่งผ่านเชื้อทางกายภาพได้มากกว่าครอบครัวในประเทศสหรัฐอเมริกาหรือแถบสแกนดิเนเวีย

การถ่ายทอดของเชื้อภายในครอบครัว

รูปแบบของการถ่ายทอดเชื้อภายในครอบครัวอาจจำแนกออกได้เป็น 2 ลักษณะคือ การถ่ายทอดเชื้อภายในคนเดียวกัน (intraindividual transmission) และการถ่ายทอดเชื้อข้ามบุคคล (interindividual transmission) โดยการถ่ายทอดภายในช่องปากของคนคนเดียวกันเป็นลักษณะของการถ่ายทอดของเชื้อจากตำแหน่งหนึ่งไปสู่อีกตำแหน่งหนึ่ง โดย Christersson และคณะ[45] รายงานว่าโอกาสที่เชื้อ *Aa* จะสามารถติดไปกับเครื่องมือตรวจปริทันต์ (periodontal probe) จากตำแหน่งหนึ่งไปสู่อีกตำแหน่งหนึ่งนั้นมีสูงถึง 13 ใน 14 ครั้ง และหากนำเครื่องมือดังกล่าวไปตรวจวัดในบริเวณซี่ฟันที่มีอวัยวะปริทันต์สมบูรณ์แข็งแรงดี พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อนี้ในร่องเหงือกปกติได้มากกว่าร้อยละ 90 อย่างไรก็ตามแบคทีเรียที่ถูกถ่ายทอดมาอยู่ในร่องเหงือกที่ปกตินี้จะลดจำนวนลงไปภายในระยะเวลา 2 ถึง 3 สัปดาห์ ทั้งนี้เนื่องมาจากในบริเวณดังกล่าวมีเชื้อประจำถิ่นอาศัยอยู่ก่อนและสภาพนิเวศวิทยาของบริเวณนั้นๆ ไม่เหมาะสมสำหรับเชื้อใหม่ที่ปนเปื้อนเข้าไป นอกจากเครื่องมือทางทันตกรรมจะเป็นตัวส่งผ่านเชื้อได้แล้วยังมีการศึกษาที่รายงานว่าแปรงสีฟันที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Aa* สามารถที่จะถ่ายทอดเชื้อไปยังตำแหน่งอื่นๆ ในช่องปากได้เช่นกัน[46,47]

สำหรับการถ่ายทอดข้ามบุคคลยังอาจจำแนกรูปแบบการถ่ายทอดออกได้เป็นอีก 2 ลักษณะ คือ การถ่ายทอดในแนวดิ่ง (vertical transmission) และการถ่ายทอดในแนวราบ (horizontal transmission) โดยการถ่ายทอดในแนวดิ่งได้แก่การถ่ายทอดจากบิดามารดาไปสู่บุตร โดยในกรณีที่เริ่มต้นศึกษาที่บุตร (proband) และพบว่าบุตรมีเชื้อ *Aa* แล้ว จะมีโอกาสสูงที่ตรวจพบว่าบิดาหรือมารดาคนใดคนหนึ่งมีเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ดังกล่าวปรากฏอยู่ หรือหากเริ่มต้นศึกษาที่บิดาหรือมารดาก็สามารถตรวจพบเชื้อสายพันธุ์เดียวกันนั้นในบุตรได้เช่นกันหากแต่พบได้ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน[48,49] ในกรณีของการถ่ายทอดเชื้อในแนวราบจะเป็นการถ่ายทอดเชื้อในระหว่างพี่น้องหรือระหว่างสามีภรรยา โดยมีรายงานการศึกษาพบว่ามีเชื้อ *Aa* อย่างน้อย 1 จีโนไทพ์ที่เหมือนกัน ซึ่งพบได้จาก 8 ใน 9 ครอบครัวที่ทำการศึกษา[28] ขณะที่อีกการศึกษาหนึ่งพบเพียง 4 ใน 7 ครอบครัว[50] สำหรับการถ่ายทอดเชื้อระหว่างสามีและภรรยา มีรายงานถึงอัตราการถ่ายทอดเชื้อระหว่างร้อยละ 14 ถึง ร้อยละ 60[28,48,49,51] นอกจากนี้ยังมีรายงานการถ่ายทอดเชื้อ *Aa* ระหว่างคนกับสัตว์ด้วย[52]

มีการสันนิษฐานว่าอาจมีการการถ่ายทอดเชื้อ *Aa* ผ่านทางน้ำลาย เนื่องจากสามารถตรวจพบเชื้อ *Aa* ได้ในน้ำลาย[41,53] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Aa* สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในน้ำลายโดยมีน้ำลายจะเป็นตัวส่งผ่านเชื้อนี้ไปสู่บุคคลอื่น นอกจากนั้นยังมีผู้เสนอว่าพฤติกรรมการใช้แปรงสีฟันร่วมกันอาจก่อให้เกิดการถ่ายทอดของเชื้อ *Aa* ข้ามบุคคลได้เช่นเดียวกัน[54]

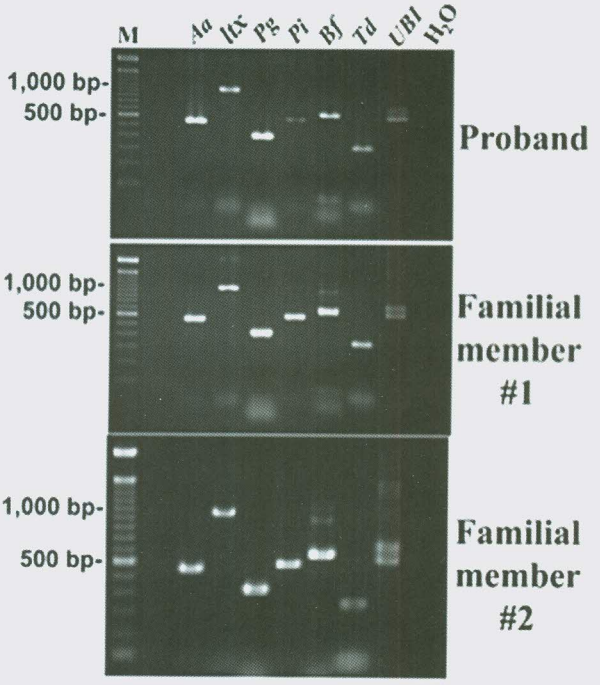
การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อแอคทิโนบาซิลลัสแอคทิโนมัยซีเทมโคมิแทนส์สายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงภายในครอบครัวคนไทย (การศึกษานำร่อง)

จากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการถ่ายทอดเชื้อ *Aa* ภายในครอบครัว ทางกลุ่มผู้ทบทวนวรรณกรรมได้ทำการศึกษานำร่องโดยนำตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุกรานและสมาชิกในครอบครัวมาศึกษา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *Aa* ภายในครอบครัวโดยเฉพาะสายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูง (ที่มีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบส) พร้อมกันนั้นได้ศึกษาเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบอื่นๆ อีกสี่สายพันธุ์ร่วมไปด้วย ซึ่งได้แก่ เชื้อ *Pg* เชื้อ *Tf* เชื้อ *Pi*และเชื้อ *Td* โดยเริ่มการศึกษาจากอาสาสมัครที่ได้รับการวินิจฉัยว่า

เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุกรานจำนวนสองรายที่มารับการรักษาในภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จากนั้นจึงศึกษาเชื้อดังกล่าวจากสมาชิกภายในครอบครัวของอาสาสมัครทั้งสองราย ทั้งนี้อาสาสมัครและสมาชิกในครอบครัวจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับวิธีการศึกษาโดยละเอียดโดยลงชื่อในใบยินยอมหากยินดีเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการศึกษานี้ ในกรณีอาสาสมัครที่ได้รับการรักษาทางปริทันต์หรือใช้ยาปฏิชีวนะมาในช่วง 3 เดือนก่อนหน้าการเก็บตัวอย่างจะไม่ได้รับการคัดเลือกให้เข้าร่วมในการศึกษา

ในขั้นตอนวิธีการศึกษาผู้วิจัยจะใช้กระดาษซับปลายแหลมขนาดเล็กที่ปราศจากเชื้อสอดลงในร่องลึกปริทันต์ที่ตรวจพบไว้แล้วว่ามีความลึกมากกว่า 5 มิลลิเมตรและมีเลือดออกหลังการตรวจปริทันต์ (bleeding on probing) เก็บตัวอย่างคราบจุลินทรีย์จากแต่ละส่วน (quadrant) ของช่องปาก ส่วนละ 1 ตำแหน่ง รวมเป็นรายละ 4 ตำแหน่งซึ่งจะถูกซึ่งรวมไว้ในหลอดทดลอง 1 หลอดต่อผู้ป่วย 1 ราย ส่วนสมาชิกในครอบครัวที่มีหรือไม่มีอาการของโรคปริทันต์จะเก็บตัวอย่างคราบจุลินทรีย์จากร่องเหงือกของฟันตัดแท้บนและล่าง ฟันกรามแท้ซี่ที่ 1 และฟันซี่อื่นๆ รวมทั้งหมด 29 ตำแหน่ง (เพื่อให้ได้ตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ที่มีความครอบคลุมทั่วทั้งปาก) รวมไว้ในหลอดทดลองเดียวกันของแต่ละคน นอกจากนั้นยังได้เก็บตัวอย่างน้ำลายจากผู้ป่วยอาสาสมัครคนที่สองโดยให้อาสาสมัครบ้วนน้ำลายลงในหลอดทดลองให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปสกัดสารพันธุกรรมของจุลชีพที่ทำการศึกษาโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (DNA extraction kit) และเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาพอลีเมอเรสเชนหรือพีซีอาร์ (polymerase chain reaction; PCR) ด้วยไพรเมอร์ (primer) ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อยีนที่สร้างไรโบโซเมิลอาร์เอ็นเอ (ribosomal RNA) ของเชื้อแต่ละชนิดโดยมีลำดับของเบสดังในรายงานก่อนหน้านี้[55] ทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเครื่องเทอร์โมซัยเคลอร์ (Thermocycler) และอ่านผลโดยใช้เครื่องอ่านแถบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) บนวุ้นภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet)

ผลการศึกษานำร่องในครั้งนี้พบว่าในครอบครัวของผู้ป่วยอาสาสมัครรายแรกนั้นตรวจพบจุลชีพก่อโรคปริทันต์อักเสบทั้ง 5 ชนิดได้ทั้งในผู้ป่วยอาสาสมัครเพศหญิง (อายุ 34 ปี) และในพี่สาวของผู้ป่วยอาสาสมัคร (familial member #1 อายุ 41 ปี) และ มารดาของผู้ป่วยอาสาสมัคร (familial member #2 อายุ 67 ปี) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ พีซีอาร์ ที่ปรากฏบน *ltx* lane (รูปที่ 3) มิได้อยู่ในตำแหน่งที่มีขนาด 495 คู่เบส (ซึ่งเป็นขนาดของผลิตภัณฑ์ที่เหลืออยู่เมื่อมีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบส) แต่เป็นแถบของผลิตภัณฑ์ที่มีขนาด 1,025 คู่เบสซึ่งแสดงถึงเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษต่ำ

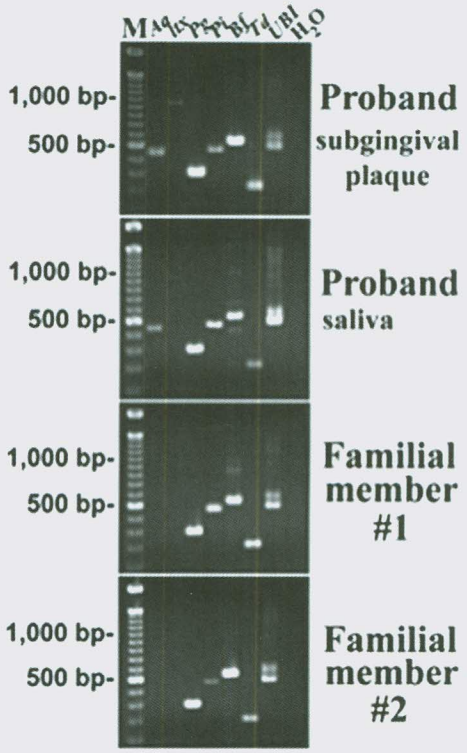


รูปที่ 3 *การจำแนกจุลชีพด้วยวิธีพีซีอาร์ในครอบครัวที่ 1*

Figure 3 *Microbial identification by PCR in the first family*

M: DNA marker, Aa: Actinobacillus actinomycetemcomitans, ltx: ltx gene of Aa, Pg: Porphyromonas gingivalis, Pi: Prevotella intermedia, Bf: Tannerella forsythensis, Td: Treponema denticola, UBI: Ubiquitous primers (positive control), H_2O: no DNA sample (negative control)

สำหรับการศึกษาในครอบครัวของผู้ป่วยอาสาสมัครรายที่สอง สามารถตรวจพบจุลชีพก่อโรคปริทันต์อักเสบได้ทั้งห้าชนิดเช่นกันแต่พบเฉพาะในผู้ป่วยอาสาสมัครเพศหญิง (อายุ 31 ปี) เท่านั้นทั้งจากตัวอย่างที่เป็นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกและจากน้ำลาย (รูปที่ 4) ขณะที่สมาชิกอีก 2 คนในครอบครัวซึ่งประกอบด้วยลูกสาวของผู้ป่วยอาสาสมัคร (familial member #1 อายุ 8 ปี) และสามีของผู้ป่วยอาสาสมัคร (familial member #2 อายุ 36 ปี) กลับตรวจไม่พบเชื้อ *Aa* แต่ตรวจพบเฉพาะเชื้ออีกสี่สายพันธุ์ที่เหลือเท่านั้น (ดูใน *Aa* และ *ltx* lane ในรูปที่ 4) จากการศึกษานี้แสดงว่าสามารถตรวจพบจุลชีพก่อโรคปริทันต์อักเสบได้ในน้ำลายเช่นเดียวกันกับตัวอย่างที่เป็นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก นอกจากนั้นยังพบว่าไม่ปรากฏแถบของผลิตภัณฑ์ที่มีขนาด 495 คู่เบสบน *ltx* lane ทั้งในผู้ป่วยอาสาสมัครทั้งสองรายตลอดจนในสมาชิกของทั้งสองครอบ ครัว แต่เนื่องจากตัวอย่างในการศึกษามีจำนวนน้อยจึงไม่สามารถนำมาสรุปผลได้เพียงแต่แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ตรวจไม่พบเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชาวไทย ซึ่งสอดคล้องไปกับการศึกษาอื่นๆ ที่พบเชื้อสายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงได้เฉพาะบางเชื้อชาติเท่านั้น[36, 37]



รูปที่ 4 *การจำแนกจุลชีพด้วยวิธีพีซีอาร์ในครอบครัวที่ 2*

Figure 4 *Microbial identification by PCR in the second family*

M: DNA marker, Aa: Actinobacillus actinomycetemcomitans, ltx: ltx gene of Aa, Pg: Porphyromonas gingivalis, Pi: Prevotella intermedia, Bf: Bacteroides forsythus, Td: Treponema denticola, UBI: Ubiquitous primers (positive control), H2O: no DNA sample (negative control)

บทสรุปและหัวข้อวิจัยที่น่าสนใจ

เชื้อ *Aa* เป็นแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบรุกรานโดยสามารถสร้างปัจจัยความรุนแรงที่เป็นอันตรายต่ออวัยวะปริทันต์ได้หลายชนิด ที่สำคัญได้แก่ลิวโคท็อกซินที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล แมคโครฟาจและทีลิมโฟซัยท์ ทำให้เซลล์เกิดมีรูรั่วไหล ส่งผลให้เซลล์บวมน้ำและแตก นอกจากนั้นลิวโคท็อกซินยังสามารถ ยับยั้งกลไกการป้องกันของร่างกายโดยขัดขวางการนำเสนอแอนติเจนและมีบทบาทในการกดภูมิคุ้มกันได้อีกด้วย

มีการศึกษาถึงความหลากหลายในสายพันธุ์ของเชื้อ *Aa* เช่น เมื่อใช้วิธีอาร์เอฟแอลพีพบว่าจีโนไทพ์อาร์-เอฟแอลพีกลุ่มที่สองสัมพันธ์กับคนไข้โรคปริทันต์อักเสบในผู้เยาว์แบบเฉพาะที่ หรือเมื่อจำแนกด้วยวิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยาพบว่าซีโรไทพ์ บี เป็นสายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูง โดยเชื้อที่มีความเป็นพิษสูงมีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบสในบริเวณโปรโมเตอร์ของลิวโคท็อกซินยีนทำให้มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นของลิวโค-ท็อกซิน นอกจากนั้นยังพบว่ามีความหลากหลายทางสายพันธุ์ของเชื้อ *Aa* ในประชากรที่อยู่ในพื้นที่หรือมีเชื้อชาติแตกต่างกัน โดยพบเชื้อ *Aa* ซีโรไทพ์ บี ได้มากในประชากรชาวอเมริกันแต่ตรวจพบได้น้อยกว่าในชาวฟินแลนด์ ส่วนในชาวเกาหลีตรวจพบทั้งซีโรไทพ์ เอ บี และ ซี ในปริมาณที่ใกล้เคียงกันจากผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบในผู้เยาว์ ขณะที่ในชาวญี่ปุ่นมีรายงานว่าตรวจไม่

พบเชื้อ *Aa* ที่มีความเป็นพิษสูงที่มีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบส แต่กลับพบเชื้อที่มีการเพิ่มขึ้นของหน่วยพันธุกรรม 886 คู่เบส นอกจากนี้การศึกษาในกลุ่มประชากรยุโรปตอนเหนือก็ไม่พบเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ที่เป็นพิษสูงหรือซีโรไทพ์ บี ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุกราน ดังนั้นความเกี่ยวข้องระหว่างเชื้อชาติของประชากรและสายพันธุ์ของเชื้อ *Aa* ที่มีความเป็นพิษสูงน่าจะมีความสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบรุกราน ในส่วนที่เกี่ยวกับการถ่ายทอดเชื้อ *Aa* มีรายงานถึงการถ่ายทอดจากตำแหน่งหนึ่งไปสู่อีกตำแหน่งหนึ่งในช่องปากของคนคนเดียวกันผ่านทางเครื่องมือทางทันตกรรมหรือแปรงสีฟันที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Aa* รวมทั้งมีการถ่ายทอดข้ามบุคคลทั้งในแนวดิ่งและแนวราบ โดยมีการศึกษาพบว่ามีการถ่ายทอดเชื้อผ่านทางน้ำลาย โดยสามารถตรวจพบเชื้อดังกล่าวได้จากน้ำลาย

จากความสนใจเกี่ยวกับการถ่ายทอดเชื้อ *Aa* ที่มีความเป็นพิษสูงในครอบครัว กลุ่มผู้เขียนได้ทดลองนำตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุกรานและสมาชิกในครอบครัวมาศึกษาแต่เนื่องจากการศึกษานำร่องนี้มีจำนวนตัวอย่างน้อย จึงเพียงแค่สามารถแสดงให้เห็นแนวโน้มที่ไม่พบเชื้อ *Aa* สายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษสูงที่มีการขาดหายไปของหน่วยพันธุกรรม 530 คู่เบสในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชาวไทยเท่านั้น ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจน จึงควรมีการศึกษาต่อไปโดยเพิ่มจำนวนผู้ป่วยและสมาชิกในครอบครัวให้มากขึ้นรวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ในเชิงปริมาณของเชื้อด้วย

อนึ่งเมื่อไม่นานมานี้ยังมีการศึกษาถึงท็อกซินอีกชนิดหนึ่งของเชื้อ *Aa* คือ ไซโตลีธัลดิสเทนดิงท็อกซินหรือซีดีที (cytolethal distending toxin; CDT) ซึ่งมีบทบาทในการกดภูมิคุ้มกันโดยไปยับยั้งวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) ในระบบภูมิคุ้มกัน[56] แต่อย่างไรก็ดีความสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของซีดีทีและสภาวะของอวัยวะปริทันต์ยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างชัดเจนจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการสนับสนุนทุนในการศึกษาวิจัยนำร่อง ศูนย์วิจัยทางทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ และศูนย์เครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการเอื้อเฟื้อสถานที่และครุภัณฑ์ในการศึกษา รวมทั้งอาสาสมัครทั้งสองรายรวมทั้งสมาชิกในครอบครัวที่กรุณาสละเวลามาในการเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

1. Tinahoff N, Tanzer JM, Kornman KS, Madenzo EF. Treatment of the periodontal component of Papillon-Lefevre syndrome. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 6-10.
2. Zambon JJ, Christersson LA, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J Periodontol* 1983; 54: 707-711.
3. Slots J, Genco RJ. Microbial pathogenicity black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga species* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. *J Dent Res* 1984; 63: 412-421.
4. Slots J. Bacterial specificity in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 912-917.
5. Christersson LA, Fransson CL, Dunford RG, Zambon JJ. Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J Periodontol* 1992; 63: 418-425.
6. Preus HR. Treatment of rapidly destructive periodontitis in Papillon Lefevre syndrome. Laboratory and clinical observation. *J Clin Periodontol* 1998; 15: 639-643.

7. Kamma JJ, Nakan M, Manti FA. Microbiota of rapidly progressive periodontitis lesion in association with clinical parameters. *J Periodontol* 1994; 65: 1073-1078.
8. American Academy of Periodontology: Concensus report. Discussion section I, *Proceeding of the World Workshop in Clinical Periodontics*. Chicago, 1989, American Academy of Periodontology, pp I-23–I-32
9. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4: 1-6.
10. Slots J. Subgingival microflora in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1979; 6: 351-382.
11. Slots J, Cohen C. The oral microbiota and human periodontal disease. *In*: Tannock GW, ed. *Medical importance of the normal microflora.* London: Kluwer Academic Publishers, 1999: 101-127.
12. Kilian M, Fredriksen W. Ecology of Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus. *In*: Kilian M, Fredriksen M, Biberstein EL, eds. *Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus.* London: Academic Press; 1981: 11-38.
13. Slots J, Reynolds HS, Genco RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross sectional microbiological investigation. *Infect Immun* 1980; 29: 1013-1020.
14. Fives-Taylor P, Meyer D, Mintz K. Virulence factors of the periodontopathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans. J Periodontol* 1996; 67: 291-297.
15. Tsai C, McArthur WP, Bachni PC, Evian C, Genco RJ. Serum neutralizing activity against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1981; 8: 338-348.
16. Zambon JJ, Deluca C, Sots J. Genco RJ. Studies of leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* using promyelocytic HL-60 cell line. *Infect Immun* 1983; 40: 205-212.
17. Taichman NS, McArthur WP, Tsai C-C, et al. Leukocidal mechanisms of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *In*: Genco RJ, Mergenhagen, SE eds. *Host-parasite interactions in periodontal diseases.* Washington, DC: American Society for Microbiology; 1982: 261-269.
18. Tsai C-C, McArthur WP, Baehni PC, Hammond BF, Taichman NS. Extraction and partial characterization of a leukotoxin from plaque-derived gram-negative microorganisms. *Infect Immun* 1979; 25: 427-439.
19. Tsai C-C, Shenker BJ, Di Rienzo JM, Malamud D, Taichman NS. Extraction and isolation of a leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* with polymyxin B. *Infect Immun* 1984; 43: 700-705.
20. Ohta H, Hara H, Fukui K, Kurihara H, Murayama Y, Kato K. Association of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin with nucleic acids on the bacterial cell surface. *Infect Immun* 1993; 61: 4878-4884.
21. Menestrina G, Moser C, Pellet S, Welch R. Pore-formation by *Escherichia coli* hemolysin (Hly A) and other membranes of the RTX toxins family. *Toxicology* 1994; 87: 249-267.
22. Lally ET, Kieba IR. Molecular biology of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin. *In*: Genco R, Hamada S, Lehner T, McGhee J, Mergenhagen S, eds. *Molecular pathogenesis of periodontal disease.* Washington, DC: ASM Press; 1994: 69-82.
23. Brogan JM, Lally ET, Poulsen K, Kilian M, Demuth DR. Regulation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin expression: Analysis of the promoter regions of leukotoxic and minimally leukotoxic strains. *Infect Immun* 1994; 62: 501-508.

24. Lally ET, Kieba IR, Sato A, et al. RTX toxins recognize a β2 integrin on the surface of human target cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 30463-30469.
25. Shenker BJ, McArthur WP, Tsai C-C. Immune suppression induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. I. Effects on human peripheral blood lymphocyte responses to mitogens and antigens. *J Immunol* 1982; 128: 148-154.
26. Poulson K, Theilade E, Lally ET, Denuth DR, Kilian M. Population structure of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* : a framework for studies of disease-associated properties. *Microbiol* 1994; 140: 2049-2060.
27. Di Rienzo JM, Cornell S, Kazoroski L, Slots J. Probe-specific DNA fingerprint and applied to the epidemiology of localized juvenile periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 49-56.
28. Di Rienzo JM, Slots J, Sixou M, Sol MA, Harmon R, McKay TL. Specific genetic variants of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* correlated with disease and health in a regional population of families with localized juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1994; 62: 3058-3065.
29. Bueno L, Mayert M, Di Rienzo J. Relationship between conversion of localized juvenile periodontitis-susceptible children from health to disease and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin promoter structure. *J Periodontol* 1998; 69: 998-1007.
30. Slots J, Reynolds HS, Genco RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infect Immun* 1980; 29: 1013-1020.
31. Saarela M, Asikainen S, Alaluusua S, Pyhala L, Lai CH, Jousimies-Somer H. Frequency and stability of mono- or poly-infection by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a, b, c, d or e. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 277-279.
32. Haubek D, Di Rienzo JM, Tinoco MB, et al. Racial tropism of a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated with juvenile peirodontitis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3037-3072.
33. Asikanen S, Chen C, Saarela M, Saxen L, Slots J. Clonal specificity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in destructive periodontal disease. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 227-229.
34. Asikainen S, Chen C, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* genotypes in relation to serotypes and periodontal status. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10: 65-68.
35. Chung H-J, Chung C-P, Son S-H, Nisengard RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes and leukotoxicity in Korean localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1989; 60: 506-511.
36. He T, Nishihara T, Demuth DR, Ishikawa I. A novel insertion sequence increases the expression of leukotoxicity in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* clinical isolates. *J Periodontol* 1999; 70: 1261-1268.
37. Haubek D, Poulsen K, Asikainen S, Kilian M. Evidence for absence in northern Europe of especially virulent clonal types of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 395-401.
38. Saarela MS, Asikainen S, Jousimies-Somer H, Asikainen T, Von Troil-Linden B, Alaluusua S. Hybridization patterns of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a-e detected with an r-RNA gene probe. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 111-115.
39. Saarela M, Matto J, Asikainen S, et al. Clonal diversity of *Actinobacillus actinomycetem-*

comitans, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* nigrescens in two families. *Anaerobe* 1996; 2: 19-27.

40. Saarela M, Von Troil-Linden B, Torkks H, et al. Transmission of oral bacterial species between spouses. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 349-354.
41. Timmerman M, Van der Weijden G, Armand S, et al. Untreated periodontal disease in Indonesian adolescents. Clinical and microbiological baseline data. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 215-224.
42. Di Rienzo JM, McKay TL. Identification and characterization of genetic cluster groups of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from the human oral cavity. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 75-81.
43. Holtta P, Alaluusua S, Saarela M, Asikainen S. Isolation frequency and serotype distribution of mutans streptococci and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and clinical peiro-dontal status in Finnish and Vietnamese children. *Scand J Dent Res* 1994; 102: 113-119.
44. Dogan B, Saarela MH, Jousimies-Somer H, Alaluusua S, Asikainen S. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype e – biotypes, genetic diversity and distribution in relation to periodontal status. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14: 98-103.
45. Christersson LA, Slots J, Zambon JJ, Genco RJ. Transmission and colonization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1985; 56: 127-131.
46. Glass RT, Lare MM. Toothbrush contamination : a potential risk? *Quint Int* 1986; 17: 39-42.
47. Glass RT, Jensen HG. More on the contaminated toothbrush : the viral story. *Quint Int* 1988; 19: 713-716.
48. Asikainen S, Chen C, Slots J. Likelihood of transmitting *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in families with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1996; 11: 387-394.
49. Preus HR, Zambon JJ, Dunford RG, Genco RJ. The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with established adult periodontitis. *J Periodontol* 1994; 65: 2-7.
50. Tinoco E, Sivakumar M, Preus H. The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with localized juvenile peirodontitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 99-105.
51. Petit MD, van Steenbergen TJ, de Graaff J, Van der Velden U. Transmission of *Actino-bacillus actinomycetemcomitans* in families of adult periodontitis patients. *J Periodont Res* 1993; 28: 335-345.
52. Preus HR, Olsen L. Possible transmittance of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from a dog to a child with rapidly destructive periodontitis. *J Periodont Res* 1988; 23: 68-71.
53. Asikainen S, Alaluusau S, Saxen L. Recovery of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from teeth, tongue, and saliva. *J Periodontol* 1991; 62: 203-206.
54. Muller HP, Lange DE, Muller RF. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* contamination of toothbrushes from patients harboring the organism. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 388-390.
55. Krisanaprakornkit S, Khongkhunthian S, Chotipanich T, Umpriwan R. The pilot study of association between the quantities of five periodontopathic pathogens and the levels of periodontal pocket depth. *J Dent Assoc Thai* 2003; 53: 391-405.

56. Claesson R, Johansson A, Belibasakis G, Hanstrom L, Kalfas S. Human neutrophil MMP 8 released and activated by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin. *J Periodont Res* 2002; 37: 353-359.

ขอสำเนาบทความ:

อ.ทพญ.สาครรัตน์ คงขุนเทียน ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50202 โทรศัพท์: 053 944467 โทรสาร: 053 222844

Reprint requests:

Dr. Sakornrat Khongkhunthian, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University, Muang District, Chiang Mai 50202 Phone: 053 944467 Fax: 053 222844