



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

치의학석사 학위논문

세균막 형성에 있어서  
*Fusobacterium nucleatum*과  
*Tannerella forsythia*의 상호작용

Synergy in biofilm formation between  
*Fusobacterium nucleatum* and *Tannerella*  
*forsythia*

2013년 2월

서울대학교 치의학대학원  
치 의 학 과  
정 광 수

세균막 형성에 있어서  
*Fusobacterium nucleatum*과  
*Tannerella forsythia*의 상호작용

지도교수 최 봉 규

이 논문을 치의학석사 학위논문으로 제출함

2012년 11월

서울대학교 치의학대학원

치의학과

정 광 수

정광수의 석사 학위논문을 인준함

2012년 12월

위 원 장	<u>김 각 균</u> (인)
부 위 원 장	<u>최 봉 규</u> (인)
위 원	<u>최 영 님</u> (인)

## 학위논문 원문제공 서비스에 대한 동의서

본인의 학위논문에 대하여 서울대학교가 아래와 같이 학위논문 저작물을 제공하는 것에 동의합니다.

### 1. 동의사항

- ①본인의 논문을 보존이나 인터넷 등을 통한 온라인 서비스 목적으로 복제할 경우 저작물의 내용을 변경하지 않는 범위 내에서의 복제를 허용합니다.
- ②본인의 논문을 디지털화하여 인터넷 등 정보통신망을 통한 논문의 일부 또는 전부의 복제·배포 및 전송 시 무료로 제공하는 것에 동의합니다.

### 2. 개인(저작자)의 의무

본 논문의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락하는 등 동의 내용을 변경하고자 할 때는 소속대학(원)에 공개의 유보 또는 해지를 즉시 통보하겠습니다.

### 3. 서울대학교의 의무

- ①서울대학교는 본 논문을 외부에 제공할 경우 저작권 보호장치(DRM)를 사용하여야 합니다.
- ②서울대학교는 본 논문에 대한 공개의 유보나 해지 신청 시 즉시 처리해야 합니다.

논문제목 : 세균막 형성에 있어서 *Fusobacterium nucleatum*과 *Tannerella forsythia*의 상호작용

학위구분 : 석사  · 박사

학 과 : 치의학과

학 번 : 2009 - 22721

연 락 처 :

저 작 자 : 정 광 수 (인)

제 출 일 : 2013년 1월 23일

서울대학교총장 귀하

국문초록

세균막 형성에 있어서  
*Fusobacterium nucleatum*과  
*Tannerella forsythia*의 상호작용

정광수

서울대학교 치의학대학원

치 의 학 과

연구목적: 세균들은 신호 물질을 가지고 서로 소통한다. 이 체계를 퀴럼 센싱이라 하고 여기에 이용되는 신호 물질들을 autoinducer 라고 한다. 이 autoinducer에는 두 가지가 있는데, autoinducer 1 (AI-1)은 동종간의 인식에 이용되고 autoinducer 2 (AI-2)는 이종간의 인식에 이용된다.

*Fusobacterium nucleatum*은 치면 세균막 형성에 있어서 초기 집락군과 후기 집락군 사이에서 다리 역할을 하는 중요한 세균이다. *F. nucleatum*이 내는 다양한 물질들은 치주 병인균의 세균막 형성에 중요한 역할을 할 것이다. 따라서 치주병인균의 하나인 *Tannerella forsythia*의 세균막 형성에 *F. nucleatum*이 어떠한 영향을 주는지 알아보려고 하였다. AI-2를 억제하는 퀴럼센싱 억제제를 이용하여 세균막 형성의 조절 가능성을 알아봄으로써 최종적으로 치주병원균을 제어할 수 있는 인자를 찾아보고자 하였다.

연구재료 및 방법: *F. nucleatum*와 *T. forsythia*의 공동 응집은 둘의 세균막을 ①crystal violet 염색법, ②공초점 현미경을 사용함으로써 시각적 분석법으로 확인하였다. 세균막 형성에 있어 가용성 인자는 배양 상청액과 다공성 막을 통해 분리된 공생 배양액을 사용함으로써 확인하였다.

결과: *F. nucleatum*와 *T. forsythia*는 독립적인 배양에서보다 공동 배양의 경우에 세균막이 더 잘 형성되었으며, 이는 AI-2 퀴럼센싱 억제제에 의해 유의성 있게 감소하였다.

**주요어 :** 퀴럼센싱, Autoinducer, 세균막

**학번 :** 2009-22721

# 목 차

## 1. 서론

## 2. 실험 재료 및 방법

### 2.1. 세균 배양

### 2.2. 퀴럼센싱 억제제 (QS inhibitors)

### 2.3. 세균막 형성 평가 (Biofilm formation assay)

### 2.4. 통계처리

## 3. 실험결과

### 3.1. 염색법에 의한 세균막 형성 평가

### 3.2. 세균의 생존력에 대한 AI-2 억제제의 영향

## 4. 고찰

## 참고문헌

## Abstract

# 1. 서론

치주질환은 만성, 염증성 질환으로 주로 그람 음성세균으로 이루어진 치은연하 치태에 의해 유발된다. 치주가 건강한 사람에게도 다양한 세균이 구강 상주균으로 존재하지만, 숙주와의 관계에서 생태적 균형이 깨지고 교란상태가 되면 특정 세균군은 잠재되어 있던 병원성을 드러내어 숙주를 공격하게 된다.<sup>1)</sup> *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*는 잠재적 치주 병원균으로 특히 치은 상피에 직접적으로 연관되어 치주 조직을 분해한다. 이 세균들은 'red complex'라고 불리우는 후기 정착균으로, 초기 정착균과 후기 정착균을 이어주는 공동응집 매개체인 *Fusobacterium nucleatum*과 함께 치면 세균막 형성에 있어 중요한 역할을 한다.<sup>2)</sup>

쿼럼 센싱(quorum sensing)은 여러 미생물 군에 의해서 분비된 작은 신호성 분자로 이루어진 시스템으로 세포 간 신호 체계를 매개하는 역할을 담당하고 있다.<sup>3,4)</sup> 여기에 이용되는 신호물질을 autoinducer라고 하며, 크게 그람음성 세균이 분비하는 autoinducer-1 (AI-1), 그람양성 세균이 분비하는 oligopeptide, 그람음성 세균과 양성세균이 모두 분비하는 autoinducer-2 (AI-2)로 분류된다. 이중 특히 AI-2는 이중간의 인식에 이용되므로 복합 세균으로 이루어진 구강 세균막에서 중요한 역할을 할 것으로 여겨진다. 쿼럼센싱 억제제(quorum sensing inhibitors)의 활동은 세균막의 형성을 억제하고 세균막 내의 세균병독성을 감소시키기 때문에, 이들은 구강 내 세균막 형성을 억제하고 세균 감염을 조절하는데 유용하게 쓰일 수 있다.<sup>5,6)</sup> 이상적인 쿼럼센싱 억제제(QSIs)는 미생물이나 숙주에 유해한 작용없이, 쿼럼센싱 조절 유전자의 발현만을 현저히 줄일 수 있어야 한다. 홍조류(*Delisea pulchra*)에서 추출된 bromated furanones이 최초의 자연 생성된 쿼럼 센싱 억제제이며, 이후 합성되는 억제제들의 전구체 역할을 하게 되었다.<sup>9)</sup>

AI-2는 보편적인 쿼럼센싱 물질로, 다양한 종의 세균 집단에서 이중 세균 간 신호를 매개하고 있다.<sup>10,11)</sup> AI-2 는 효소 LuxS의 작용에 의한

S-adenosylhomocysteine의 대사 산물인 4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione의 자발적인 고리화로 형성되며<sup>6,12)</sup> 구강 내 세균에 의해 생성되는 첫 번째 퀴럼센싱 물질이다.<sup>13)</sup> Kolenbrander등에 의해 제시된 가설에 따르면<sup>14)</sup>, 치주 병원균이 높은 농도의 AI-2를 주고받는 데에 반해 구강 상주균은 AI-2 신호를 피코몰 농도로 주고받는다. 높은 농도의 AI-2는 공생세균의 성장을 저해하여, 치은연하 치태의 형성과 성숙에 기여하여 결국 치주염에 이르도록 한다.

*F. nucleatum*이 치은 연하 치태의 형성과 성숙에 중요한 역할을 수행하기 때문에, 본 연구에서는 이 세균에 의해 생성되는 AI-2가 치면 세균막의 형성과 치주병원균의 응집에 기여할 것이며, 따라서 AI-2를 저해하는 퀴럼센싱 억제제(QSIs)는 세균막의 형성을 억제하게 될 것이라는 가정을 하였다. 이 가정을 테스트하기 위해서 세균막 형성과 응집에 있어 *F. nucleatum*과 *T. forsythia*사이의 중간 상호작용을 평가하였고, 동시에 2개의 퀴럼센싱 억제제, (5z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanone (furanone compound)과 D-ribose를 적용하여 그 효과를 평가했다.

## 2. 실험 재료 및 방법

### 2.1. 세균 배양

*F. nucleatum*(ATCC 25586) 은 peptic medium (6 g of peptic digest of animal tissue, 6 g of desiccated beef extract, 5 g of sodium chloride, 14.5 g of pancreatic digest of casein, and 2.5 g of sodium phosphate)에서 배양하였고, 두 배지는 hemin (10 mg/ml)과 vitamin K (0.2 mg/ml)을 보조제로 첨가하였다.

*T. forsythia*(ATCC 43037)는 구강 나선균 (NOS) 배양액 (ATCC medium 1494) 배지에 배양하였으며 hemin (10 mg/ml), vitamin K (0.2 mg/ml)와 N-acetylmuramic acid (0.01 mg/ml)를 보조제로 첨가하였다. 이 세균들은 5% H<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>인 혐기성 조건 37°C에서 2-4일간 배양했다.

### 2.2. 퀴럼 센싱 억제제 (QS inhibitors)

D-ribose와 (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanone (furanone compound)를 AI-2 억제제로 사용하였다. D-ribose는 Tokyo Chemical Industry Co. (Tokyo, Japan)에서 구입했다. Furanone compound 는 Manny et al<sup>21)</sup>의 방법을 따라 합성하였다. 이 합성물은 <sup>1</sup>H 와 <sup>13</sup>C NMR 분광법으로 정제하였다.

### 2.3. 세균막 형성 평가 (Biofilm formation assay)

*T. forsythia*의 세균 부유액 1ml을 유리 슬립이 포함된 24-well plate에 접종했고, transwell (pore size: 0.4 μm) 위쪽에는 *F. nucleatum*이 포함된 세균 부유액 500 μl을 접종하였다. 이들을 AI-2 억제제(Furanone, D-Ribose)가 첨가된 것과 첨가되지 않은 것으로 구분하여 혐기성 조건

에서 72시간 배양하였다.

*F. nucleatum*은  $1 \times 10^7/\text{ml}$ , *T. forsythia*는  $4 \times 10^7/\text{ml}$ 로 접종하였다. 단일 종과 혼합종 모두에서, 커버슬립에 생성된 세균막은 10% crystal violet 으로 10분간 염색했으며 PBS로 세 번 씻어내었다. 다시 1ml의 acetone-alcohol (20:80, vol/vol) 용액으로 탈염색했다. 이 탈염된 용액의 흡광도는 microplate reader (a Wallac Victor3 microtiter, PerkinElmer Life Sciences, Waltham, MA) 를 이용하여 595nm에서 측정하였다.

또 다른 실험으로 세균막이 형성된 슬립들을 Live/Dead-BacLight bacterial viability kit (Invitrogen, Grand Island, NY)를 이용하여 염색하였으며, 공초점 레이저 현미경(Olympus FV300, Japan)을 이용하여 1,000 배의 배율로 관찰하였다. 공초점 이미지는 각 커버 글래스에서 무작위로 세 부위의 형광을 측정하였으며, 세균막의 두께는 글래스 표면으로부터 z축을 설정, 세균막의 시작부터 끝까지의 두께를 측정하였다. 세균막의 형광은 공초점 현미경에서 지원하는 FluoView 소프트웨어를 이용, z축을 가로지르는 형광도를 누적하여 넓이로 나누어 계산하였다.

## 2.4. 통계처리

실험군과 대조군간 평균 비교를 위해 paired t-test를 이용하였으며, 유의수준은 5%로 하였다. 통계분석에는 MS Excel 2010 (Microsoft Inc., Redmond, WA, USA)을 사용하였다.

### 3. 실험결과

#### 3.1. 염색법에 의한 세균막 형성 평가

독립배양과 공생배양에서 세균막의 형성 능력을 비교하기 위해 *F. nucleatum*과 *T. forsythia*를 transwell을 이용하여 물리적 접촉없이 독립적으로 배양했다. 총 실험군은 6그룹으로

- 1) *T. forsythia* 단독배양
- 2) transwell 위에 *F. nucleatum*, 아래쪽에 *T. forsythia*
- 3) transwell 위에 *F. nucleatum*, 아래쪽에 *T. forsythia* + Furanone
- 4) transwell 위에 *F. nucleatum*, 아래쪽에 *T. forsythia* + D-ribose
- 5) transwell 위에 *T. forsythia* 아래쪽에 *F. nucleatum*
- 6) *F. nucleatum* 단독배양

이었다. 우선 crystal violet 염색을 통한 여러 번의 실험을 통해서 2), 5)의 공생 배양된 세균막의 형성이 모두 유의성 있게 독립 배양된 세균막에서보다 증가된 것을 확인했다. 그 후 AI-2 억제제인 furanone과 D-ribose가 AI-2 QSIs로 치주병원균의 세균막 형성을 억제 할 수 있는지 테스트해 보았고, 역시 유의성 있게 세균막의 형성이 저해된 것을 볼 수가 있었다. (Fig. 1)

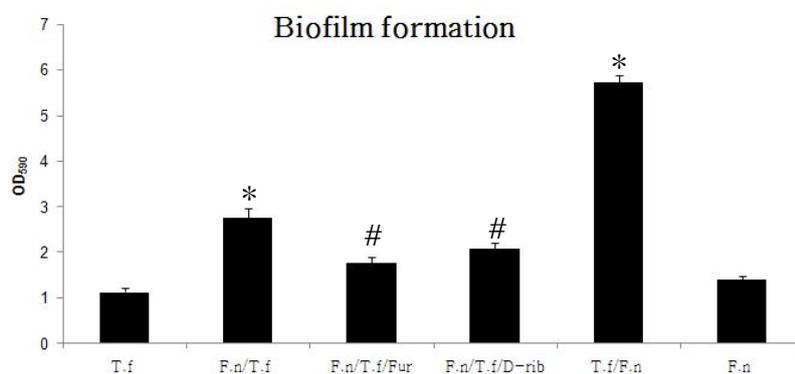


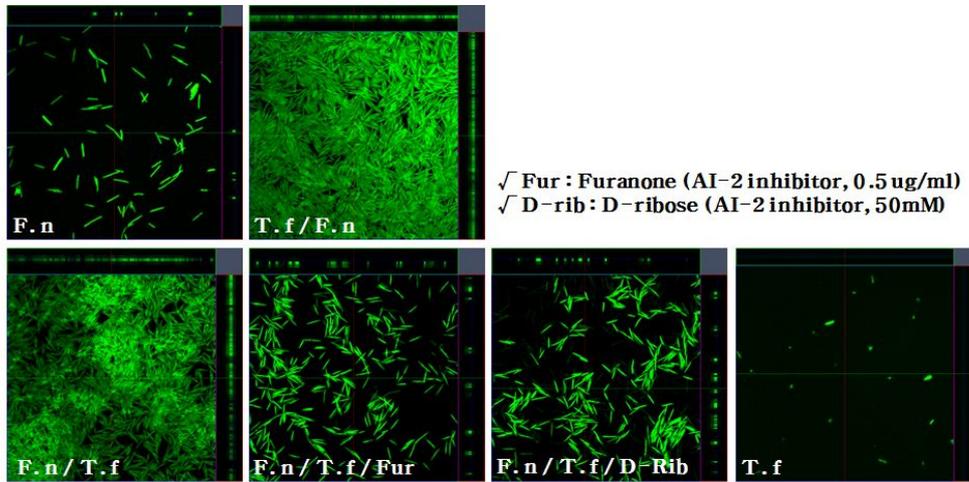
Fig. 1. *F. nucleatum*(F.n)과 *T. forsythia*(T.f)의 세균막을 crystal violet으로 염색한 후 탈염하여 흡광도를 측정함.

### 3.2. 세균의 생존력에 대한 AI-2 억제제의 영향

앞선 실험에서 얻은 crystal violet 염색의 실험값이 실질적으로 AI-2 억제제에 의한 효과인 것인지 세균이 죽어서 치면 세균막이 감소한 것인지 알아보기 위해 live/dead 세포 염색을 통해서 확인하였다. 공초점 현미경을 통해서 z-축 이미지 분석을 하였고, Fig. 2 를 통해 각각 세균막의 ortho graph, 3-D 이미지로 세균막의 양적 변화를 시각적으로 볼 수 있었다. 또한 공초점 현미경을 통해서 양적 분석을 할 수 있었으며, Table 1에서와 같이 biomass로 나타내었다.

Fluorescence-based Live/Dead assays는 세균막의 시각적 분석을 공초점 현미경을 통하여 가능하게 해 주었다. *F. nucleatum* AI-2 의 존재에서는 대부분 녹색 형광성 (Syto9, live cell)을 나타내었으며 아주 소수만 적색 (propidium iodide, dead cell)을 보였다.

(a)



(b)

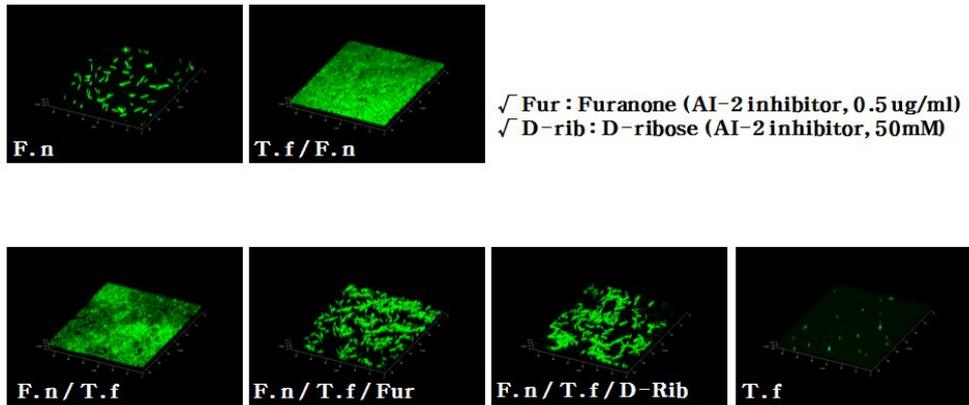


Fig. 2. *F. nucleatum*과 *T. forsythia*의 세균막을 SYTO 9(녹색)과 propidium iodide(적색)로 염색한 후 공초점 현미경으로 관찰. (a) ortho graph (b) 3-D image

Table 1. *F. nucleatum*과 *T. forsythia*의 세균막 두께의 형광도를 면적으로 나눈 값

	<b>FITC (LIVE)</b>	<b>PI (DEAD)</b>
<b>T. f</b>	0.128758 ± 0.00540084	2.44E-05 ± 2.1272E-05
<b>T. f / F. n</b>	0.753826 ± 0.30910554*	0.000275 ± 0.00029589
<b>T. F / F. n / Fur</b>	0.137258 ± 0.05788494#	0.000328 ± 0.00030759
<b>T. F / F. n / D-rib</b>	0.14328 ± 0.03717412#	0.000422 ± 0.00023486
<b>F. n / T. f</b>	0.489983 ± 0.11946683*	0.000194 ± 0.00010301
<b>F. n</b>	0.047155 ± 0.01377213	0.000769 ± 0.00060601

\*: *T. forsythia* 단독군에 대해 유의함

#: *T. forsythia* / *F. nucleatum*에 대해 유의함

## 4. 고찰

치주 질환은 치주 병원균이 포함된 세균막에 의해 유발된다. 세균막은 구강 내 공생 세균이 치아 표면에 부착된 후 그 표면위에 *F. nucleatum*이 부착되고, 최종적으로 치주 병원균이 부착되면서 형성이 된다. 그렇기 때문에 이 병원균을 억제하기 위한 많은 시도들이 있어왔다. 하지만 구강 내에 상주하는 공생 세균에 유해한 영향을 배제하고, 치주 병원균만을 선택적으로 제거하는 것에는 많은 어려움이 따른다. 이번 연구에서 우리는 *F. nucleatum*과 *T. forsythia*가 단독 배양 시보다 공생 배양 시에 세균막의 형성이 더 잘 일어난다는 것을 확인할 수 있었고, 또한 *F. nucleatum*과 *T. forsythia*사이의 세균막의 형성과 응집은 퀴럼센싱 억제제인 furanone과 D-ribose에 의해 유의성있게 저해된다는 것 역시 볼 수 있었다.

AI-2 퀴럼센싱 시스템은 그램 양성균과 음성 세균 사이에 널리 쓰이고 있으며 퀴럼센싱 신호전달 체계에서 가장 보존적인 것으로 알려져 있다.<sup>17)</sup> AI-2는 특정 종에서 생성이 되었더라도 또 다른 종에서 인식이 가능하며<sup>14)</sup>, 이종 간의 신호전달에 있어서 아주 중요한 역할을 담당하고 있다. AI-2는 구강 내 퀴럼센싱 물질들 중에 아주 큰 비중을 차지하고 있으며, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, 그리고 *Prevotella intermedia*와 구강 연쇄상구균인 *Streptococcus gordonii*와 *Streptococcus mutans* 등의 치주 병원균에서 생산이 이루어지는 것이 밝혀졌다.<sup>8,13,18-20)</sup>

세균의 응집은 구강 내 세균에 있어서 다양한 종이 정착하기 위한 필수적인 단계이다. 누적된 치주병원균 *F. nucleatum*의 AI-2 농도의 증가는 세균의 부착에 관련된 물질의 발현을 더욱 증가시킨다. 요약하자면, *F. nucleatum* AI-2는 *F. nucleatum*과 후기 정착균의 응집과 세균막의 성장에 중요한 역할을 한다. *F. nucleatum* AI-2에 의한 세균막 형성, 응집은 furanone 합성물과 D-ribose와 같은 퀴럼센싱 억제제에 의해, 숙주 세포에는 위해작용이나 염증작용 없이 억제될 수 있다. 본 실험을 통하여 치주 병원균의 AI-2가 세균막 형성 억제를 위한 적절한 표적 물질이

될 수 있음을 확인하였다. 그러나 이번 실험의 한계는 *F. nucleatum*에 대해서만 하였다는 것이고, 따라서 다른 세균종에 대하여서도 더 밝혀져야 할 것이다.

## 참고문헌

1. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Jr. Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 1998;25(2):133-44.
2. Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. Nat Rev Microbiol 2010;8(7):471-80.
3. Taga ME, Bassler BL. Chemical communication among bacteria. Proc Natl Acad Sci USA 100 Suppl 2003;100(2):14549-54.
4. Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP. Quorum sensing in bacteria: LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. J Bacteriol 1994;176(2):269-75.
5. Pan J, Ren D. Quorum sensing inhibitors: a patent overview. Expert Opin Ther Pat 2009;19(11):1581-1601.
6. Xavier KB, Bassler BL. LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. Curr Opin Microbiol 2003;6(2):191-7.
7. Hentzer M, Wu H, Andersen JB, Riedel K, Rasmussen TB, Bagge N, et al. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. EMBO J 2003;22(15):3803-15.
8. McNab R, Ford SK, El-Sabaeny A, Barbieri B, Cook GS, Lamont RJ. LuxS-based signaling in *Streptococcus gordonii*: autoinducer 2 controls carbohydrate metabolism and biofilm formation with *Porphyromonas gingivalis*. J Bacteriol 2003;185(1):274-84.
9. Givskov M, de Nys R, Manefield M, Gram L, Maximilien R, Eberl L, et al. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signaling. J Bacteriol 1996;178(22):6618-22.
10. Rickard AH, Jr Palmer RJ, Blehert DS, Campagna SR, Semmelhack MF, Eglund PG, et al. Autoinducer 2: a concentration-dependent signal for mutualistic bacterial biofilm growth. Mol Microbiol 2006;60(6):1446-56.

11. Schauder S, Shokat K, Surette MG, Bassler BL. The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Mol Microbiol* 2001;41(2):463-76.
12. Keller L, Surette M. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. *Nat Rev Microbiol* 2006;4(4):249-58.
13. Frial J, Olle E, Alsina M. Periodontal pathogens produce quorum sensing signal molecules. *Infect Immun* 2001;69(5):3431-4.
14. Kolenbrander PE, Jr Palmer RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol 2000* 2006;42(1):47-79.
15. Shao H, Lamont RJ, Demuth DR. Autoinducer 2 is required for biofilm growth of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetem comitans*. *Infect Immun*. 2007;75(9):4211-8.
16. Smith RS, Iglewski BH. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *J Clin Invest* 2003;112(10):1460-5.
17. Hardie KR, Heurlier K. Establishing bacterial communities by 'word of mouth': LuxS and autoinducer 2 in biofilm development. *Nat Rev Microbiol* 2008;6(8):635-43.
18. Shao H, Demuth DR. Quorum sensing regulation of biofilm growth and gene expression by oral bacteria and periodontal pathogens. *Periodontol 2000* 2010;52(1):53-67.
19. Blehert DS, Palmer RJ, Jr Xavier JB, Almeida JS, Kolenbrander PE. Autoinducer 2 production by *Streptococcus gordonii* DL1 and the biofilm phenotype of a luxS mutant are influenced by nutritional conditions. *J Bacteriol* 2003;185(16):4851-60.
20. Merritt J, Qi F, Goodman SD, Anderson MH, Shi W. Mutation of luxS affects biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 2003;71(4):1972-9.
21. Novak EA, Shao H, Daep Ca, Demuth DR. Autoinducer-2 and

- QseC control biofilm formation and in vivo virulence of *Agregatibacter actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 2010;78(7):2919–26.
22. Fong KP, Chung WO, Lamont RJ, Demuth DR. Intra and interspecies regulation of gene expression by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* LuxS. *Infect Immun* 2001;69(12):7625–34.
  23. Ahmed NA, Petersec FC, and Scheie AA. AI-2/LuxS is involved in increased biofilm formation by *Streptococcus intermedius* in the presence of antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(10):4258–63.
  24. Yoshida A, Ansai T, Takehara , Kuramitsu HK. LuxS-based signaling affects *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(5):72–2380.
  25. James D, Shao H, Lamont RJ, Demuth DR. The *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ribose binding protein RbsB interacts with cognate and heterologous autoinducer 2 signals. *Infect Immun* 2006;74(7):4021–9.

## **Abstract**

# **Synergy in biofilm formation between *Fusobacterium nucleatum* and *Tannerella forsythia***

**Chung, Kwang Soo**

**Department of Dentistry**

**School of Dentistry**

**Seoul National University**

Periodontitis is initiated by bacteria in subgingival biofilms, which are composed mostly of Gram-negative anaerobes. Bacteria communicate each other with the signal molecules. This system is called quorum sensing (QS) and the signal molecules used here are autoinducers. There are two different types of autoinducers: autoinducer 1 (AI-1) is used for homologous recognition, and autoinducer 2 (AI-2) is used for interspecific recognition. *F. nucleatum* is the major coaggregation bridge organism that links early colonizing commensals and late pathogenic colonizers in dental biofilm via the accretion of periodontopathogens. We hypothesized that AI-2 of *F. nucleatum*

contributes to this interspecies interaction, and interruption of this signaling could result in the inhibition of biofilm formation of periodontopathogens. To test this hypothesis, we evaluated the effect of *F. nucleatum* on biofilm formation of *T. forsythia* which is a representative bacterium among late colonizers. Then, we tested the effect of two AI-2 QS inhibitors (QSIs), (5z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanon (furanone compound) and D-ribose, on *T. forsythia* biofilm formation in coculture with *F. nucleatum*. *F. nucleatum* remarkably induced biofilm growth of *T. forsythia*, which was inhibited by the QSIs. Our results demonstrate that *F. nucleatum* AI-2 plays an important role in interspecies interactions between periodontopathogens and may be a target for the inhibition of pathogenic dental biofilm formation.

***Keywords* : quorum sensing, autoinducer, biofilm**

***Student Number* : 2009-22721**