

歯周病原細菌ジペプチジルペプチダーゼによる2型糖尿病の増悪メカニズム

鈴木茉那美*¹, 下山 佑*², 根本優子*^{2,3},
佐々木大輔*¹, 根本孝幸*^{2,3}, 八重柏隆*¹

*¹ 岩手医科大学歯学部歯科保存学講座歯周療法学分野

*² 岩手医科大学微生物学講座分子微生物学分野

*³ 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻小児歯科学分野

要旨：2型糖尿病は我が国において増加している生活習慣病である。一方で高齢化と8020運動の推進による高齢者での残存歯増加に伴って歯周病の患者数も増加の一途を辿っている。歯周炎は2型糖尿病の合併症とされており、近年両者の相互関係について明らかにされつつあるが、その分子メカニズムについては未だ明確ではない。インクレチン [GLP-1 (glucagon-like peptide-1) および GIP (gastric inhibitory polypeptide/glucose dependent insulinotropic polypeptide)] はインスリン分泌を促して食後血糖値を低下させる生理活性ペプチドである。共にジペプチジルペプチダーゼ (DPP) 4により速やかに限定分解を受けて不活化されるため、その血中半減期は短く、血糖調節の要となっている。最近、ヒトの慢性歯周炎の主要原因細菌である *Porphyromonas gingivalis* が保有する DPP4 と DPP7 はヒト DPP4 同様にインクレチンを切断・不活化することが判明した。本ミニレビューでは糖非発酵性細菌の *P. gingivalis* がアミノ酸を獲得するために必要なこれらの DPPs に着目し、細菌 DPPs が病原因子として2型糖尿病の病態形成に関わる機序について総括する。

キーワード：歯周病原細菌, DPP4, DPP7, 2型糖尿病, インクレチン

1. はじめに

歯周炎は歯周病原細菌が初発因子の慢性炎症であり¹⁾、世界人口の約20~50%が罹患し、歯を喪失する2大疾患の1つとされる^{2,3)}。超高齢化社会では歯周病の重症化に起因する歯の動揺や損失により高齢者の口腔機能低下症が誘発されている⁴⁾。これに伴い高齢者の摂食・嚥下障害が惹起されるため、歯周病の予防と治療は有病者のQOLや生存率を高める上で喫緊の課題である。

さらに歯周病は口腔機能の低下だけではなく、全身疾患の発症・進行に密接に関係していることが報告されている⁵⁾。歯周病が関与する全身疾患として、糖尿病⁶⁻¹⁰⁾、メタボリックシンドローム^{11,12)}、冠動脈硬化

症¹³⁾、早産・低体重児出産^{14,15)}、誤嚥性肺炎^{16,17)}、関節リウマチ^{18,19)}、慢性腎臓病²⁰⁾、非アルコール性脂肪性肝炎²¹⁾やアルツハイマー型認知症²²⁾など種々の疾患が挙げられている。特に糖尿病は歯周病と相互的な関連性が明白であり、歯周病が2型糖尿病の進行に影響することが示唆されることから²³⁾、2型糖尿病の合併症としての歯周病ではなく、歯周病と2型糖尿病の相互作用を介した病態形成の分子メカニズムの解明が、歯周病だけでなく2型糖尿病に対する新たな予防・治療の基盤となる可能性がある。

歯周病原細菌をはじめとする口腔細菌はヒト成人口腔内に約800種生息しているものの²⁴⁾、重度慢性歯周炎患者では *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* の存在頻度が高いことが示され、red complex species と呼ばれている²⁵⁾。これら3菌種のうち、*P. gingivalis* や *T. forsythia* は糖非発酵性細菌で、栄養源として外来タンパク質由来のアミノ酸を炭素源とエネルギー源とするというユニークな生物学的特性を有している^{26,27)}。*P. gingivalis* では強力なエンドペプチダーゼであるジンジパインによって菌体外タンパク質はまずオリゴペプチドに分解さ

連絡先：鈴木茉那美

〒020-8505 岩手県盛岡市中央通1-3-27

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座歯周療法学分野

doi : 10.2329/periodo.65.1

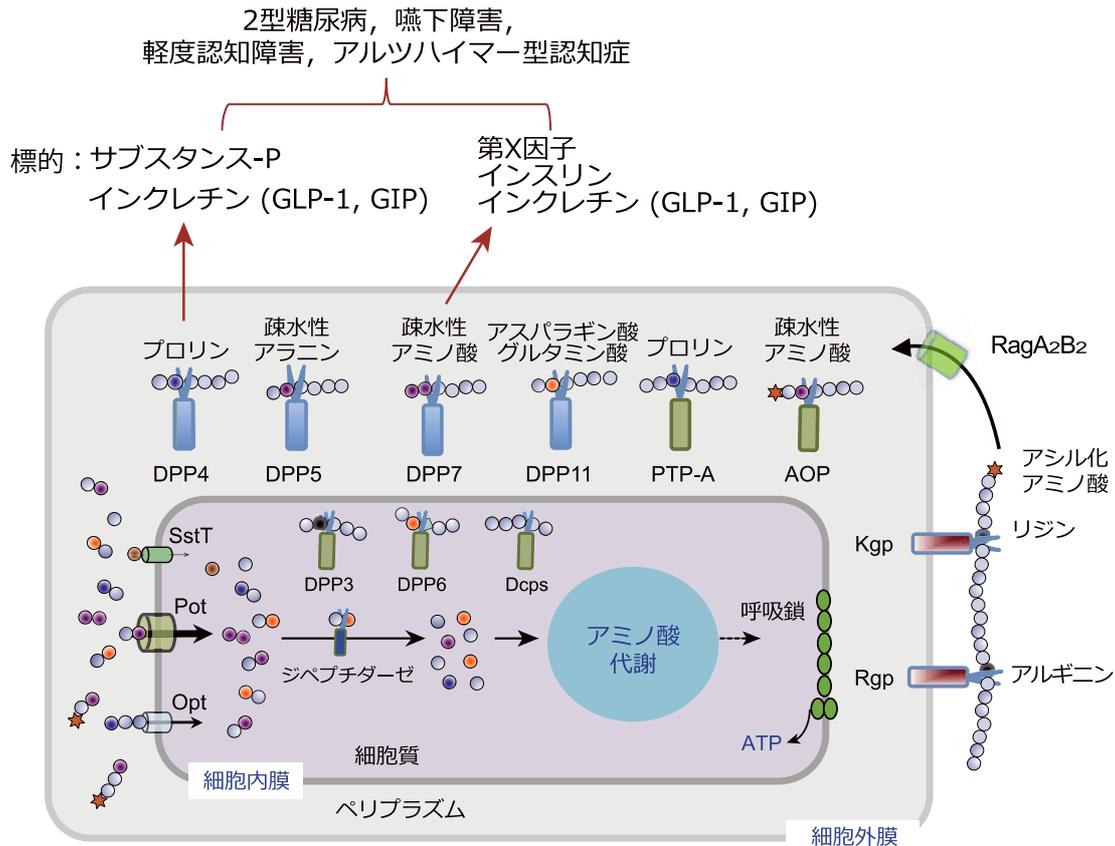


図1 *P. gingivalis* DPPsのジペプチド産生と生理活性ペプチドの分解

エキソペプチダーゼはペリプラズムに局在する。Rgp: Arg-gingipains, Kgp: Lys-gingipain, AOP: acylpeptidyl-oligopeptidase, PTP-A: prolyl tripeptidyl-peptidase A, SstT: serine/threonine transporter, POT: proton-dependent oligopeptide transporter, OPT: oligopeptide transporter, Dcps: peptidyl-dipeptidase (文献29より改変)

れ、その後、ペリプラズムに局在する複数のエキソペプチダーゼにより主にジペプチドに転換される。ジペプチドはオリゴペプチド輸送体である proton-dependent oligopeptide transporter (POT) により細菌細胞内に輸送される²⁸⁾。これらのエンドペプチダーゼやエキソペプチダーゼ群は *P. gingivalis* の生存に必須であるばかりでなく、病原因子として機能することも明らかとなってきている²⁹⁾。

本ミニレビューでは、*P. gingivalis* および嫌気性の歯肉縁下ブラク細菌が発現するジペプチジルペプチダーゼ (dipeptidyl-peptidase, DPP) に着目し、*P. gingivalis* と歯周病原細菌が関与する新たな糖尿病の病態増悪機序の可能性について総括する。

2. 歯周病と2型糖尿病

糖尿病と歯周病との関連については、「糖尿病の第6の合併症」として歯周病があげられるほど密接であることは周知の事実である³⁰⁾。これまでの研究により、

2型糖尿病と歯周病の関連については2017年アメリカ歯周病学会・ヨーロッパ歯周病連盟によるワークショップで策定された歯周病の新分類のグレードにおいて、糖尿病のコントロール状態が歯周炎の進行と将来的なリスクを推定するモニタリングの一要因となっていること³¹⁾、また歯周治療後の再発予後を評価するサポートバリエーションセラピー (SPT) のリスクアセスメントのうち、糖尿病が認められる場合は高リスクと評価されることが示されており³²⁾、これまで以上に、糖尿病が歯周病の重大なリスクファクターであることが明白となった。一方で、歯周病と糖尿病の関連については Grossi らの報告³³⁾において、歯周炎かつ2型糖尿病の患者を対象に、糖尿病治療は行わず歯周治療のみで、その HbA1c 値が改善すること、また宗長ら³⁴⁾ が日本人の2型糖尿病患者を対象に局所抗菌薬療法を併用した歯周治療を行ったところ、歯周治療前の状態で高感度 CRP が軽度上昇した患者の HbA1c 値が有意に改善することを報告している。これらの事実から、近年両者の相互の関係性が強く推測されてい

表 1 *P. gingivalis* ペリプラズム DPPs と分解ペプチド

ペプチダーゼ	基質カテゴリー	基質名称	文献	
PgDPP4	合成ペプチド	Gly-Pro-MCA	Banbulaら ⁵²⁾	
	消化管ペプチド	GLP-1	Ohara-Nemotoら ^{47, 48)}	
		GIP		
		グルカゴン		
	神経ペプチド	サブスタンス-P	Ohara-Nemotoら ⁴⁸⁾	
		サイトカイン		
IL-1β				
		IL-2	Banbulaら ⁵²⁾	
PgDPP5	合成ペプチド	Lys-Ala-MCA	Ohara-Nemotoら ⁴³⁾	
		Gly-Phe-MCA		
PgDPP7	合成ペプチド	Phe-Met-MCA	Nemotoら ⁵³⁾	
	消化管ペプチド	GLP-1	Ohara-Nemotoら ⁴⁸⁾	
		GIP		
		インスリン		
		グルカゴン		
			オキシントモジュリン	
		ケモカイン	CXCL6	
PgDPP11	合成ペプチド	Leu-Asp-MCA	Ohara-Nemotoら ⁴²⁾	
		Leu-Glu-MCA		

文献 48 より改変 MCA : 4-methylcoumaryl-7-amide

る。

3. 2 型糖尿病治療薬としての DPP4 阻害薬

2 型糖尿病の治療薬として、低血糖副作用を有しない DPP4 阻害薬³⁵⁾ が本邦では第一選択薬として用いられている。DPP4 阻害薬は生理活性物質であるインクレチンの DPP4 による不活化を阻害し、インクレチンによるインスリン分泌促進を継続させることを目的とした薬剤である。インクレチンとして glucagon-like peptide-1 (GLP-1) および gastric inhibitory polypeptide / glucose dependent insulintropic polypeptide (GIP) があり、糖尿病患者では活性型インクレチンの血中濃度低下とインスリン分泌の低下が報告されている³⁶⁻³⁸⁾。インクレチンは、食物が消化管に到達するとブドウ糖や脂質等の刺激により十二指腸細胞や小腸下部から分泌される生理活性ペプチドで、膵 β 細胞からのインスリン分泌を促進し血糖値低下をもたらす³⁹⁾。一方、これらペプチドの血中半減期は 2~5 分と短く、血中や細胞表面に存在する DPP4 によって分解・不活化され、DPP4 は過度に血糖値を低下させないフィードバック因子として働く。DPP4 はペプチドの N 末端から 2 番目のプロリン (Pro) あるいはアラニン (Ala) を認識し、GLP-1 および GIP の Ala² とグルタミン酸 (Glu³) 間のペプチド結合を切断する⁴⁰⁾。糖尿病患

者では生体内で DPP4 活性が上昇しているとの報告はあるものの、その詳細は明らかではない⁴¹⁾。このため本薬剤は糖尿病の治療薬としてではなく対症療法の段階にあるものといえる。

4. 歯周病原細菌の DPP

P. gingivalis はプロテアーゼであるジンジパインと複数のエキソペプチダーゼを産生する (図 1, 表 1)⁴²⁻⁴⁶⁾。本菌はアミノ酸単体よりもジペプチドを優先的に利用すると報告されていたが、ジペプチド産生酵素の全容は明らかでなかった。それまで既知であった DPP4 と DPP7 に加えて、我々はアスパラギン酸 (Asp) と Glu の酸性アミノ酸特異的な DPP11 を新たに見だし⁴²⁾、さらに真菌でのみ報告のあった疎水性アミノ酸特異的な DPP5 を発見した⁴³⁾。4 種類の DPP 酵素活性の検討から *P. gingivalis*, *T. forsythia* および *Prevotella intermedia* を含む嫌気性菌 DPP4 はヒト DPP4 と同じ基質特異性を有しており、GLP-1 と GIP を分解不活化することを明らかにした⁴⁷⁾。さらに、最新の研究から DPP7 はこれまでに知られていた疎水性アミノ酸に加えてより広い基質特異性を有しており、Ala もターゲットにできることが明らかになった。この広い基質特異性により DPP7 は DPP4 よりも高効率に GLP-1 および GIP の Ala²-Glu³ 間を加水分解し

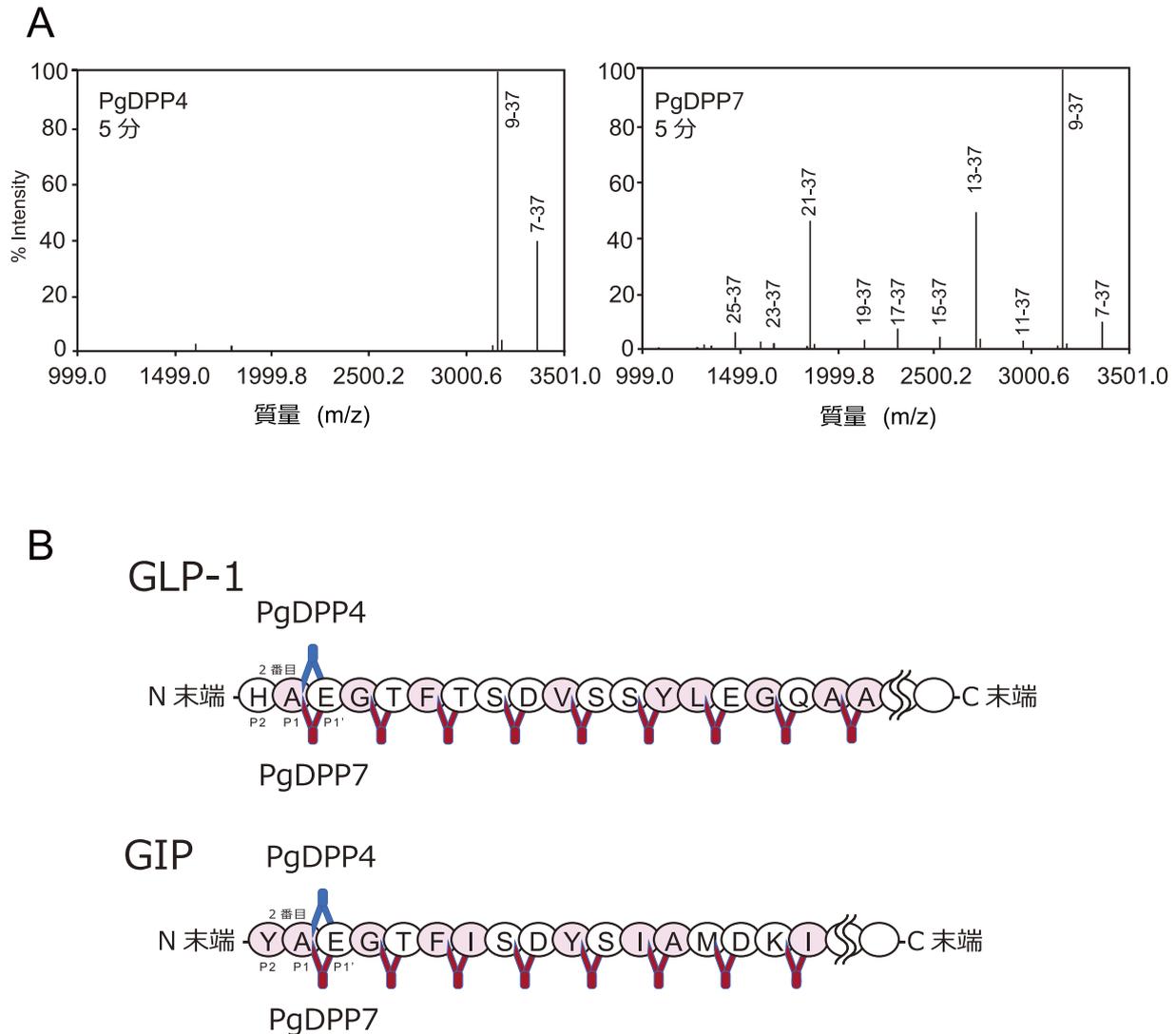


図2 PgDPP4とPgDPP7によるインクレチンの切断

(A) GLP-1分解のMALDI-TOF MS解析 (B) インクレチン切断部位 疎水性アミノ酸を赤で示す。DPP4ではAla²-Glu³間だけが切断されるが、DPP7ではさらにジペプチド単位で切断が続く。(文献48より改変)

て不活化し、さらにジペプチド単位でのペプチド分解が進むことが明らかになった(図2)⁴⁸⁾。一方、口腔細菌叢データベース eHOMDと *P. gingivalis* DPPsのKEGG オルソログデータベースのクロス検索の結果、772分類群の中で43菌種がDPP4を、さらにその中の33菌種がDPP7を共に発現していることが示された。33菌種は嫌気性の *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella* 属菌と通性嫌気性菌である *Capnocytophaga* 属菌である。これらの口腔嫌気性細菌は歯肉縁下プラーク細菌叢を構成し、咀嚼などの日常動作によって歯周病患部からの血行移行が推測される⁴⁹⁾。

P. gingivalis のDPP4とDPP7の特性の差異について注目すると、DPP4は前述の通りヒトオルソログがあり、*P. gingivalis* DPP4と約32%のアミノ酸配列相

同性を有している⁵⁰⁾。一方、DPP7はヒトには存在せず、原核生物のみが発現する。N末端より2番目(P1位置)のアミノ酸特異性を考慮すると、P1位置のAlaをターゲットとしうるDPP4やDPP5がインクレチン分解に適しており、一方DPP7にはインクレチン分解能がないものと当初は考えられた。しかしMALDI-TOF MS解析でインクレチン切断能を比較したところ、GLP-1に対してDPP7はDPP4の約22倍、GIPに対しては約500倍分解能が高いことが示された⁴⁸⁾。同じ条件下でDPP5による分解はみられなかった。その後の詳細な検討から、P1位置のアミノ酸だけではなく、N末端から3番目(P1'位置)のアミノ酸Glu³の存在がこれらのDPPの活性に影響を与えていることが判明した。すなわちGlu³を持つペプチドに対しての活性はDPP7>>DPP4>DPP5であるため、DPP7

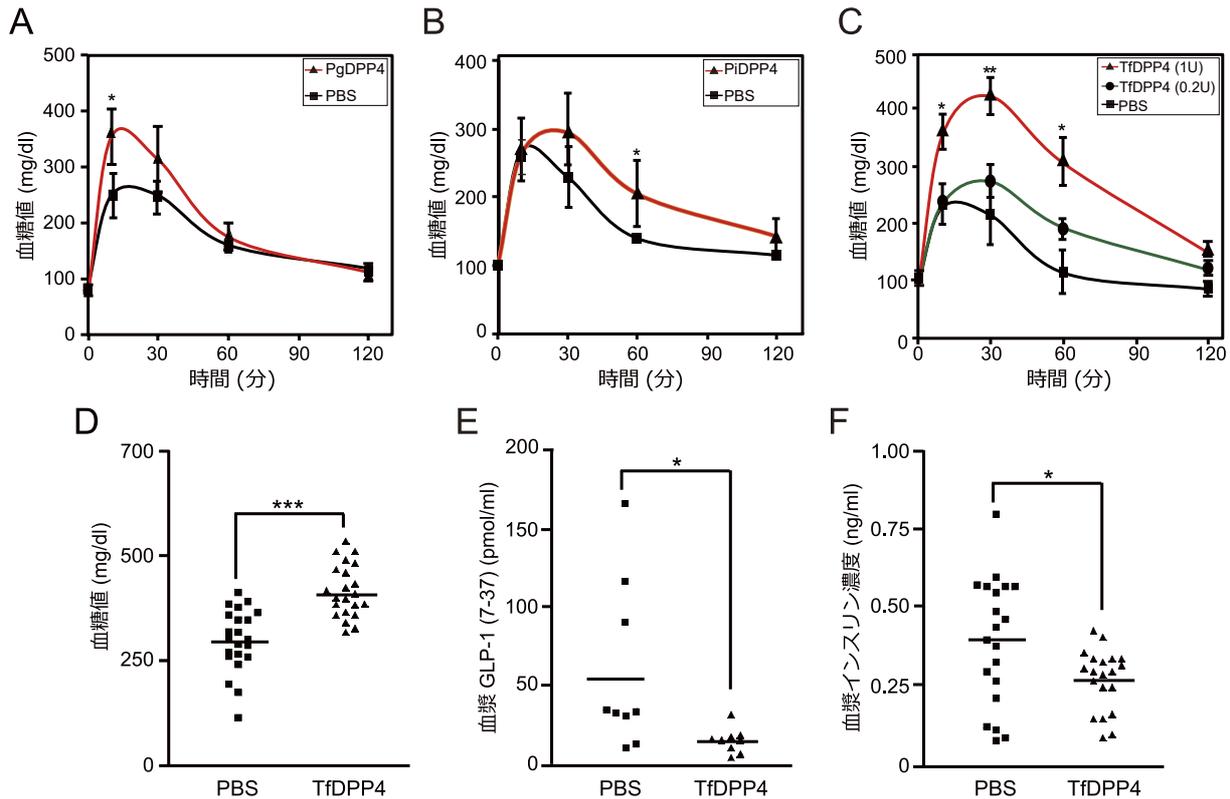


図3 歯周病原細菌 DPP4 投与による血糖値、血漿 GLP-1 およびインスリン濃度変化

(A) *P. gingivalis*, (B) *Prev. intermedia* (C-F) *T. forsythia* DPP4 または PBS をマウス尾静脈から投与後、グルコース溶液を経口投与した。D-F は 15 分後の測定値 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (vs PBS, Student の t -検定) (文献 47 より改変)

が最も強力にインクレチンを切断するのである（根本ら、未発表）。さらに DPP7 は GLP-1 よりも GIP を効率的に分解するが⁴⁸、その理由は、DPP7 が N 末端アミノ酸 (P2 位置) の疎水性アミノ酸を好むために N 末端にヒスチジン (His1) を持つ GLP-1 よりもチロシン (Tyr1) である GIP の方が切断されやすいためであった⁵¹。このように、従来 P1 アミノ酸の特異性でのみ語られることが多かった DPP であるが、さらに P1 位置周囲のアミノ酸配列も考慮する必要があることがわかってきた。本報では詳述しないが、我々は *P. gingivalis* の DPP4 および DPP7 が複数のヒト生理活性ペプチドを基質とすることから、歯周病原細菌 DPP 群がこれら分子の分解を介してホメオスタシスに介入し、種々の疾患の発症・進行に関与する可能性があると考えている⁴⁸。

5. *P. gingivalis* DPP4 および DPP7 による血糖値調節機能の修飾

P. gingivalis DPP4 および DPP7 による血糖調節系の修飾の可能性を 10-13 週齢のマウスを用いて検討した結果を示す (図 3)。*P. gingivalis* DPP4 および DPP

7 組換え分子をそれぞれマウス尾静脈から投与し、グルコース溶液経口投与後の血糖値変化を測定した。その結果、DPP4 および DPP7 のいずれの投与群でも有意な血糖値の上昇と高血糖持続時間の延長を認めただ一方、血中活性型 GLP-1 とインスリン濃度は有意に減少した^{47, 48}。

T. forsythia, *Prev. intermedia* 由来の DPP4 でも同様に濃度依存的に血糖値の上昇が認められた。これらの結果は、歯周病原細菌 DPP4 と DPP7 がインクレチンを不活化して、直接的に血糖値調節系を修飾し、糖尿病の増悪をもたらす病原因子であることを強く示唆しており、2 型糖尿病の病態形成に歯周病が関与するという仮説を補強する根拠となりえる。また、DPP4 阻害薬は歯周病原細菌の DPP4 活性も阻害するが、DPP7 活性には影響しないことから、将来的には DPP7 阻害薬を用いた歯周治療や糖尿病患者への適用が期待できる。

6. まとめ

本ミニレビューでは、歯周病原細菌が自身の生存・増殖に必要な栄養摂取を担うエキソペプチダーゼであ

る DPP4 と DPP7 が宿主のインクレチンを切断・分解し、インスリン分泌誘導が抑制されることで、高血糖状態が継続し、その結果的に2型糖尿病を増悪化するという可能性を提唱した。我々が報告してきた知見は、糖尿病患者に対する歯周治療の重要度が従来よりも増す可能性を示唆している。さらに、*P. gingivalis* を含めた歯肉縁下プラーク細菌 DPPs はヒトの生理活性ペプチドの切断・不活化を介した他の全身疾患とも関与する可能性がある。歯周病の早期発見と治療の介入によって歯を喪失せずに口腔機能を保全することで QOL を高め健康寿命を伸ばすと同時に、全身疾患である糖尿病などの生活習慣病の軽減や悪性化予防にも貢献が可能である。

今回の論文に関連して、開示すべき利益相反状態はありません。

文 献

- 1) Page RC, Kornman KS: The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000, 14: 9-11, 1997.
- 2) Nazir MA: Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim)*, 11: 72-80, 2017.
- 3) Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Laverty D, Dietrich T: Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis — a comprehensive review. *J Clin Periodontol*, 44(Suppl 18): S94-S105, 2017.
- 4) Minakuchi S, Tsuga K, Ikebe K, Ueda T, Tamura F, Nagao K, Furuya J, Matsuo K, Yamamoto K, Kanezawa M, Watanabe Y, Hirano H, Kikutani T, Sakurai K: Oral hypofunction in the older population: Position paper of the Japanese Society of Gerodontology in 2016. *Gerodontology*, 35: 317-324, 2018.
- 5) Offenbacher S, Salvi GE, Beck JD, Williams RC: The design and implementation of trials of host modulation agents. *Ann Periodontol*, 2: 199-212, 1997.
- 6) Nelson RG, Shlossman M, Budding LM, Pettitt DJ, Saad MF, Genco RJ, Knowler WC: Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians. *Diabetes Care*, 13: 836-840, 1990.
- 7) Kaur G, Holtfreter B, Rathmann W, Schwahn C, Walaschofski H, Schipf S, Nauck M, Kocher T: Association between type 1 and type 2 diabetes with periodontal disease and tooth loss. *J Clin Periodontol*, 36: 765-774, 2009.
- 8) Choi YH, McKeown RE, Mayer-Davis EJ, Liese AD, Song KB, Merchant AT: Association between periodontitis and impaired fasting glucose and diabetes. *Diabetes Care*, 34: 381-386, 2011.
- 9) Khader YS, Dauod AS, El-Qaderi SS, Alkafajei A, Batayha WQ: Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. *J Diabetes Complications*, 20: 59-68, 2006.
- 10) Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, Taylor R: Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*, 55: 21-31, 2012.
- 11) Saito T, Shimazaki Y, Sakamoto M: Obesity and periodontitis. *N Engl J Med*, 339: 482-483, 1998.
- 12) Suvan J, D'Aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N: Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes Rev*, 12: e381-e404, 2011.
- 13) Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362: 801-809, 1993.
- 14) Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, McKaig R, Beck J: Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol*, 67: 1103-1113, 1996.
- 15) Manrique-Corredor EJ, Orozco-Beltran D, Lopez-Pineda A, Quesada JA, Gil-Guillen VF, Carratala-Munuera C: Maternal periodontitis and preterm birth: Systematic review and meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol*, 47: 243-251, 2019.
- 16) Yoneyama T, Yoshida M, Matsui T, Sasaki H, Oral Care Working Group: Oral care and pneumonia. *Lancet*, 354: 515, 1999.
- 17) Yoneyama T, Yoshida M, Ohru T, Mukaiyama H, Okamoto H, Hoshiba K, Ihara S, Yanagisawa S, Ariumi S, Morita T, Mizuno Y, Ohsawa T, Akagawa Y, Hashimoto K, Sasaki H; Oral Care Working Group: Oral care reduces pneumonia in older patients in nursing homes. *J Am Geriatr Soc*, 50: 430-433, 2002.
- 18) Kaur S, White S, Bartold PM: Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Dent Res*, 92: 399-408, 2013.
- 19) Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ: Periodontitis in RA—the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol*, 6: 727-730, 2010.
- 20) Kapellas K, Singh A, Bertotti M, Nascimento GG, Jamieson LM; Perio-CKD collaboration: Periodontal and chronic kidney disease association: A systematic review and meta-analysis. *Nephrology (Carlton)*, 24: 202-212, 2019.
- 21) Yoneda M, Naka S, Nakano K, Wada K, Endo H, Mawatari H, Imajo K, Nomura R, Hokamura K, Ono M, Murata S, Tohnai I, Sumida Y, Shima T, Kuboniwa M, Umemura K, Kamisaki Y, Amano A, Okanoue T,

- Ooshima T, Nakajima A: Involvement of a periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis* on the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*, 12: 16, doi: 10.1186/1471-230X-12-16, 2016.
- 22) Teixeira FB, Saito MT, Matheus FC, Prediger RD, Yamada ES, Maia CSF, Lima RR: Periodontitis and Alzheimer's Disease: A Possible Comorbidity between Oral Chronic Inflammatory Condition and Neuroinflammation. *Front Aging Neurosci*, 9: 327, doi: 10.3389/fnagi.2017.00327, 2017.
- 23) Teeuw WJ, Gerdes VEA, Loos BG: Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, 33: 421-427, 2010.
- 24) Chen T, Yu WH, Izard J, Baranova OV, Lakshmanan A, Dewhirst FE: The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database (Oxford)*, 2010: baq013, doi: 10.1093/database/baq013, 2010.
- 25) Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr RL: Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 25: 134-144, 1998.
- 26) Takahashi N, Sato T: Dipeptide utilization by the periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* and *Fusobacterium nucleatum*. *Oral Microbiol Immunol*, 17: 50-54, 2002.
- 27) Braham PH, Moncla BJ: Rapid presumptive identification and further characterization of *Bacteroides forsythus*. *J Clin Microbiol*, 30: 649-654, 1992.
- 28) Ohara-Nemoto Y, Sarwar MT, Shimoyama Y, Kobayakawa T, Nemoto TK: Preferential dipeptide incorporation of *Porphyromonas gingivalis* mediated by proton-dependent oligopeptide transporter (Pot). *FEMS Microbiol Lett*, 367: fnaa204, doi: 10.1093/femsle/fnaa204, 2020.
- 29) Nemoto TK, Ohara-Nemoto Y: Dipeptidyl-peptidases: Key enzymes producing entry forms of extracellular proteins in asaccharolytic periodontopathic bacterium *Porphyromonas gingivalis*. *Mol Oral Microbiol*, 36: 145-156, 2021.
- 30) Løe H: Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 16: 329-334, 1993.
- 31) Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS: Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*, 89: S159-S172, 2018.
- 32) Lang NP, Tonetti MS: Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent*, 1: 7-16, 2003.
- 33) Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, Genco RJ: Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycosylated hemoglobin. *J Periodontol*, 68: 713-719, 1997.
- 34) Munenaga Y; Hiroshima Study Group; Yamashina T, Tanaka J, Nishimura F: Improvement of glycosylated hemoglobin in Japanese subjects with type 2 diabetes by resolution of periodontal inflammation using adjunct topical antibiotics: results from the Hiroshima Study. *Diabetes Res Clin Pract*, 100: 53-60, 2013.
- 35) Ahrén B, Schweizer A, Dejager S, Dunning BE, Nilsson PM, Persson M, Foley JE: Vildagliptin enhances islet responsiveness to both hyper- and hypoglycemia in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 94: 1236-1243, 2009.
- 36) Nauck M, Stöckmann F, Ebert R, Creutzfeldt W: Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, 29: 46-52, 1986.
- 37) Vilsbøll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ: Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 50: 609-613, 2001.
- 38) Meier JJ, Hücking K, Holst JJ, Deacon CF, Schmiguel WH, Nauck MA: Reduced insulinotropic effect of gastric inhibitory polypeptide in first-degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 50: 2497-2504, 2001.
- 39) Drucker DJ, Nauck MA: The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*, 368: 1696-1705, 2006.
- 40) Drucker DJ: Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 26: 2929-2940, 2003.
- 41) Sarkar J, Titli Nargis T, Tantia O, Ghosh S, Chakrabarti P: Increased Plasma Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP 4) Activity Is an Obesity-Independent Parameter for Glycemic Deregulation in Type 2 Diabetes Patients. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10: 505, doi: 10.3389/fendo.2019.00505, 2019.
- 42) Ohara-Nemoto Y, Shimoyama Y, Kimura S, Kon A, Haraga H, Ono T, Nemoto TK: Asp- and Glu-specific novel dipeptidyl peptidase 11 of *Porphyromonas gingivalis* ensures utilization of proteinaceous energy sources. *J Biol Chem*, 286: 38115-38127, 2011.
- 43) Ohara-Nemoto Y, Rouf SMA, Naito M, Yanase A, Tetsoo F, Ono T, Kobayakawa T, Shimoyama Y, Kimura S, Nakayama K, Saiki K, Konishi K, Nemoto TK: Identification and characterization of prokaryotic

- dipeptidyl-peptidase 5 from *Porphyromonas gingivalis*. J Biol Chem, 289: 5436-5448, 2014.
- 44) Rouf SMA, Ohara-Nemoto Y, Hoshino T, Fujiwara T, Ono T, Nemoto TK: Discrimination based on Gly and Arg/Ser at position 673 between dipeptidyl-peptidase (DPP) 7 and DPP11, widely distributed DPPs in pathogenic and environmental gram-negative bacteria. Biochimie, 95: 824-832, 2013.
- 45) Nemoto TK, Ohara-Nemoto Y: Exopeptidases and gingipains in *Porphyromonas gingivalis* as prerequisites for its amino acid metabolism. Jpn Dent Sci Rev, 52: 22-29, 2016.
- 46) Kiyama M, Hayakawa M, Shiroza T, Nakamura S, Takeuchi A, Masamoto Y, Abiko Y: Sequence analysis of the *Porphyromonas gingivalis* dipeptidyl peptidase IV gene. Biochim Biophys Acta, 1396: 39-46, 1998.
- 47) Ohara-Nemoto Y, Nakasato M, Shimoyama Y, Baba TT, Kobayakawa T, Ono T, Yaegashi T, Kimura S, Nemoto TK: Degradation of incretins and modulation of blood glucose levels by periodontopathic bacterial dipeptidyl peptidase 4. Infect Immun, 85: e00277-17, doi: 10.1128/IAI.00277-17, 2017.
- 48) Ohara-Nemoto Y, Shimoyama Y, Ono T, Sarwar MT, Nakasato M, Sasaki M, Nemoto TK: Expanded substrate specificity supported by P1' and P2' residues enables bacterial dipeptidyl-peptidase 7 to degrade bioactive peptides. J Biol Chem, 298: 101585, doi: 10.1016/j.jbc.2022.101585, 2022.
- 49) Ohara-Nemoto Y, Shimoyama Y, Nakasato M, Nishimata H, Ishikawa T, Sasaki M, Kimura S, Nemoto TK: Distribution of dipeptidyl peptidase (DPP) 4, DPP5, DPP7 and DPP11 in human oral microbiota-potent biomarkers indicating presence of periodontopathic bacteria. FEMS Microbiol Lett, 365: doi: 10.1093/femsle/fny221, 2018.
- 50) 中里茉那美, 下山 佑, 根本優子, 佐々木大輔, 根本孝幸, 佐々木実, 八重柏隆: 2型糖尿病のリスクファクターとしての歯周病原細菌 DPP4. 岩医大歯誌, 43: 48-60, 2018.
- 51) Rouf SMA, Ohara-Nemoto Y, Ono T, Shimoyama Y, Kimura S, Nemoto TK: Phenylalanine664 of dipeptidyl peptidase (DPP) 7 and phenylalanine671 of DPP11 mediate preference for P2-position hydrophobic residues of a substrate. FEBS Open Bio, 3: 177-181, 2013.
- 52) Banbula A, Bugno M, Goldstein J, Yen J, Nelson D, Travis J, Potempa J: Emerging family of proline-specific peptidases of *Porphyromonas gingivalis*: purification and characterization of serine dipeptidyl peptidase, a structural and functional homologue of mammalian prolyl dipeptidyl peptidase IV. Infect Immun, 68: 1176-1182, 2000.
- 53) Nemoto TK, Ono T, Ohara-Nemoto Y: Establishment of potent and specific synthetic substrate for dipeptidyl-peptidase 7. Anal Biochem, 548: 78-81, 2018.

Exacerbation mechanism of type 2 diabetes mellitus by periodontopathic bacterial dipeptidyl-peptidases (DPPs)

Manami Nakasato-Suzuki*¹, Yu Shimoyama*², Yuko Ohara-Nemoto*^{2,3},
Daisuke Sasaki*¹, Takayuki K. Nemoto*^{2,3} and Takashi Yaegashi*¹

*¹Division of Periodontology, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry,
Iwate Medical University

*²Division of Molecular Microbiology, Department of Microbiology, Iwate Medical University

*³Department of Pediatric Dentistry, Medical and Dental Sciences, Graduate School of Biomedical
Sciences, Nagasaki University

Corresponding author: Manami Nakasato-Suzuki

Division of Periodontology, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Iwate Medical University

1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

E-mail: mnaka@iwate-med.ac.jp