

TINJAUAN PUSTAKA

PERAN KALSIMUM INTRASELULER PADA RESPON SELULER TERHADAP INTERMEDILYSIN BAKTERI KOMENSAL ORAL STREPTOCOCCUS INTERMEDIUS

Heni Susilowati

Bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Latar Belakang. Bakteri komensal oral *Streptococcus intermedius* mampu memproduksi *intermedilysin* (ILY), toksin yang berpotensi menyebabkan terbentuknya pori pada membran, yang termasuk dalam golongan *cholesterol-dependent cytolysin*. Toksin ini dikenal sebagai sitolisin yang unik karena sifatnya yang spesifik hanya menimbulkan respon pada sel-sel manusia. Tujuan dari studi literatur ini adalah untuk memahami mekanisme sel-sel tubuh manusia dalam merespon paparan ILY.

Ringkasan Pembahasan. Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan keterlibatan *S. intermedius* dalam infeksi purulen oral maupun nonoral karena kemampuannya memproduksi ILY. *Intermedilysin* diketahui menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme sel dan kematian sel pada beberapa sel tubuh manusia seperti hepatosit, sel polimorfonuklear, *bile duct cell*, dan eritrosit. Spesifisitas ILY pada sel-sel tubuh manusia ditentukan oleh ikatan yang eksklusif hanya dengan reseptor membran *human CD59*. Pada beberapa kasus, ILY menimbulkan respon seluler melalui perubahan konsentrasi kalsium intraseluler ($[Ca^{2+}]_i$). Peningkatan konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ mengakibatkan degranulasi sitoplasma pada sel PMN serta aktivasi kalsineurin yang diikuti dengan aktivasi faktor transkripsi NFAT1 pada sel HuCCT1 dan NF- κ B pada sel HepG2.

Kesimpulan. Studi literatur ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ berperan penting dalam mekanisme respon seluler sel-sel tubuh manusia terhadap ILY yang diproduksi oleh *S. intermedius*. *Maj Ked Gi*; Juni 2011; 18(1): 128-132

Kata kunci: Respon seluler, *intermedilysin*, Ca^{2+} intraseluler

ABSTRACT

Background. Oral commensal bacterium *Streptococcus intermedius* could produce *intermedilysin* (ILY), a pore forming cytolysin belongs to the *cholesterol-dependent cytolysin* family. This toxin has been known as a unique cytolysin as determined by its human cell specificity. The aim of this literature review was to identify the mechanism of human cell responses to ILY exposure.

Discussion. Recent studies notified the critical role of *S. intermedius* in oral and nonoral purulent infections by its ability to produce ILY. *Intermedilysin* has been known to be able to cause imbalance metabolism and cell death in some cells such as hepatocytes, polymorphonuclear cells, *bile duct cells*, and erythrocytes. The specificity of ILY on human cells is determined by its binding to ILY receptor *human CD59*. In some cases, ILY changed cellular responses by modification of intracellular calcium ($[Ca^{2+}]_i$) level. The increased $[Ca^{2+}]_i$ levels lead to cytoplasmic degranulation and activation of calcineurin followed by activation of transcription factors NFAT1 on HuCCT1 cells and NF- κ B on HepG2 cells.

Conclusion. From this literature review, it is concluded that the increase in $[Ca^{2+}]_i$ plays an important role in the human cell responses to ILY produced by *S. intermedius*. *Maj Ked Gi*; Juni 2011; 18(1): 128-132

Key words: One visit endodontic, Restoration of teeth, Maxilla insicor.

PENDAHULUAN

Streptococcus intermedius adalah bakteri gram positif yang merupakan anggota dari golongan *Streptococcus anginosus* (*Streptococcus anginosus* group) yang terdiri dari *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus intermedius*, dan *Streptococcus constellatus*.^{1,2} *Streptococcus intermedius* merupakan komensal oral, saluran gastrointestinal, dan saluran urin, namun demikian pada beberapa kasus bakteri ini terbukti merupakan penyebab tunggal kasus abses pada liver dan otak, serta ditemukan sebagai isolat tunggal pada periodontitis.^{2,3} Beberapa peneliti berhasil mengidentifikasi faktor-faktor virulensi *S. inter-*

medius, diantaranya antigen I/II yang berfungsi dalam pembentukan biofilm, hialuronidase untuk membantu perlekatan bakteri ke jaringan lain, *histone-like DNA binding protein* (Hlp) yang berperan dalam viabilitas dan pertumbuhan normal bakteri, dan *intermedilysin* (ILY) yang berfungsi dalam mekanisme invasi bakteri pada sel pejamu.^{4,5,6,7} Diantara faktor-faktor virulensi *S. intermedius*, ILY merupakan salah satu komponen sekresi yang sangat potensial untuk menimbulkan kematian pada sel-sel manusia.^{7,8}

Intermedilysin merupakan *pore forming cytolysin*, yaitu toksin yang dihasilkan oleh bakteri yang mampu menginduksi terbentuknya pori pada dinding sel pejamu.⁹ *Intermedilysin* termasuk dalam kelom-

pok *cholesterol-dependent cytolysins* (CDCs), yang mempunyai karakteristik spesifik untuk menimbulkan respon hanya pada sel-sel manusia.¹⁰ Peran ILY dalam mekanisme invasi *S. intermedius* mulai mendapat perhatian para peneliti setelah berhasilnya identifikasi dan purifikasi ILY pada tahun 1996.⁸ Signifikansi peran ILY dalam patogenesis penyakit-sistemik yang disebabkan oleh infeksi *S. intermedius* terungkap dari laporan-laporan kasus yang membuktikan bahwa bakteri tersebut merupakan isolat tunggal dari fokus abses, termasuk abses periodontal.^{3,8,11,12} Studi literatur ini menguraikan sifat-sifat ILY serta mekanismenya dalam menginduksi respon sel-sel hospes.

TINJAUAN PUSTAKA

***Streptococcus intermedius*.** *Streptococcus intermedius* sering ditemukan sebagai isolat tunggal dari abses pada jaringan periodontal, otak, limpa, dan liver.^{3,8,11} Spesies tersebut termasuk dalam golongan bakteri-bakteri anaerob.¹³ Identifikasi spesies untuk *S. intermedius* menggunakan tes biokimiawi menunjukkan positif α -glukosidase, β -galaktosidase, β -D-fukosidase, β -N-asetilgalaktosaminidase, β -N-asetilglukosaminidase, dan sialidase dengan *4-methylumbelliferil-linked fluorogenic substrate* setelah 3 jam inkubasi pada suhu 37°C. Spesies ini juga memproduksi hialuronidase.¹⁴ Kultur *S. intermedius* pada agar darah menunjukkan bahwa spesies tersebut mampu menyebabkan hemolisis pada darah manusia, namun tidak pada agar darah primata yang lain seperti domba, kuda, dan kerbau.^{8,14}

Intermedilysin. Struktur molekul dan karakteristik ILY telah teridentifikasi. Intermedilysin yang merupakan bagian dari kelompok CDCs hanya mampu berikatan dengan sel-sel hospes melalui ikatannya dengan kolesterol pada permukaan membran sel.^{9,15} Intermedilysin juga dimasukkan dalam kelompok *pore-forming toxin*, yaitu toksin yang mampu menyebabkan terbentuknya pori pada membran sel sebagai awal dari mekanismenya dalam menimbulkan kerusakan atau kematian sel hospes.⁹

Menurut studi mengenai struktur molekulnya, ILY berupa molekul kristal yang terdiri atas empat domain yaitu: domain 1 (D1), domain 2 (D2), domain 3 (D3), dan domain 4 (D4). Keempat domain tersebut berikatan satu sama lain sehingga membentuk satu molekul tiga dimensi ILY yang menyerupai bumerang.⁹ Domain 4 merupakan bagian yang mempunyai struktur khusus yang berfungsi untuk berikatan dengan kolesterol permukaan membran sel. Domain D3 yang dihubungkan dengan D4 melalui D1 dan D2 mampu merubah dimensi molekul toksin dengan cara memanjang sebagai alat untuk penetrasi ILY pada permukaan membran sel, dilanjutkan dengan tahap oligomerisasi untuk pembentukan *pre-pore*, berakhir dengan terbentuknya pori membrane sel.^{10,15}

Sitotoksin yang diproduksi oleh sebagian strain dari *S. intermedius* ini mempunyai karakteristik khusus yaitu hanya berikatan dengan sel-sel tubuh manusia yang mengekspresikan *human glycosyl-phosphatidylinositol-linked membrane protein* CD59 (hCD59) sebagai reseptor spesifik ILY. Hasil penelitian Hu dkk. menyatakan bahwa disamping hanya menimbulkan respon pada sel-sel manusia, ILY dapat berikatan dan menginduksi respon pada sel-sel menicid (*mice*) yang telah mengalami transformasi artifisial CD59. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa sejauh ini belum ditemukan reseptor selain hCD59 yang mampu berikatan dengan molekul ILY.¹⁶ Sel-sel yang telah terbukti memberikan respon terhadap stimulasi ILY adalah lekosit polimorfonuklear (PMN), eritrosit, *hepatoma cell line* (HepG2), dan *bile duct epithelial cell line* (HuCCCT1).^{8,17,18,19}

Respon seluler terhadap ILY. Sel-sel PMN merupakan bagian utama dari sel-sel yang berperan dalam *innate immune system*. Paparan 40 ng/ μ l ILY pada sel-sel PMN menyebabkan terjadinya kerusakan morfologi dan struktur sel. Jumlah sel-sel PMN utuh berkurang dalam waktu satu jam setelah terpapar ILY pada konsentrasi tersebut. Intermedilysin berbeda dengan sitotoksin-sitotoksin lain seperti aerolysin, α -toxin, dan streptolysin-O dalam hal pengaruhnya terhadap kemotaksis sel. Intermedilysin sama sekali tidak mempengaruhi kemotaksis sel PMN.¹⁷ Sel-sel PMN yang terpapar oleh ILY mengalami pertambahan besar dalam ukuran sel apabila dibandingkan sel-sel yang hanya diinkubasikan dengan bufer atau *heat inactivated-ILY*. Selain itu, peningkatan metabolisme sel terjadi pada sel-sel PMN setelah paparan dengan ILY.¹⁷

Perubahan seluler lain yang ditimbulkan oleh paparan ILY adalah peningkatan ekspresi *cluster of differentiation* CD11b pada sel-sel PMN.¹⁷ *Cluster of differentiation* CD11 adalah salah satu jenis reseptor permukaan sel yang berperan pada berbagai proses seluler yang terlibat dalam respon imun protektif terhadap organisme patogen. Reseptor ini meningkatkan aktivitas fagositosis dengan cara berikatan dengan kompleks komplemen-immunoglobulin pada permukaan membran sel bakteri.²⁰ Intermedilysin mampu menginduksi produksi CD11 secara cepat pada permukaan membran sel serta mengakibatkan *metabolic burst*. Molekul CD11 merupakan konstituen membran granula spesifik, granula gelatin, dan vesikel-vesikel sekretori pada sel-sel PMN. Mobilisasi vesikel sekretori menyebabkan aktivasi PMN, masuk dalam sistem sirkulasi dan menjadikannya lebih responsif.¹⁷

Perubahan morfologi dan ukuran sel juga dapat diamati pada sel-sel hepatoma (HepG2) setelah terpapar dengan ILY pada konsentrasi 40 ng/ml. Respon sel karena stimulasi ILY pada HepG2 sangat cepat karena hanya dalam waktu 20 menit ukuran sel mengecil dan menjadi bulat. Efek ILY pada feno-

mena tersebut kemungkinan mengarah pada mekanisme apoptosis dengan adanya peningkatan ekspresi FasR, meskipun perannya pada kematian sel belum diketahui dengan jelas.²¹

Sel HepG2 mengalami peningkatan ekspresi *nuclear factor of κ B* (NF- κ B) setelah terpapar ILY.²¹ Faktor transkripsi NF- κ B merupakan salah satu molekul yang berperan penting pada mekanisme inflamasi.²² Aktivasi NF- κ B merupakan fenomena yang sering terjadi pada sel-sel yang terpapar toksin bakteri, sebagai contoh adalah streptolisin dan pneumolisin O.^{23,24} Peningkatan aktivitas NF- κ B pada sel-sel yang terpapar toksin tersebut diikuti dengan peningkatan produksi sitokin-sitokin proinflamasi.²⁴ Namun demikian, implikasi aktivasi NF- κ B pada sel HepG2 yang disebabkan ILY belum dapat dijelaskan, hal ini masih memerlukan studi lebih lanjut.¹⁹

Sebagian besar toksin bakteri mampu melakukan manipulasi fenomena-fenomena seluler melalui mekanisme peningkatan konsentrasi kalsium intraseluler ($[Ca^{2+}]_i$).²⁵⁻²⁶ *Intermedilysin* yang merupakan bagian dari toksin bakteri menyebabkan perubahan metabolisme kalsium pada sel-sel PMN. Peningkatan konsentrasi (Ca^{2+})_i diketahui menyebabkan eksositosis granula-granula (storage granules), namun mekanisme molekuler fenomena tersebut belum diketahui. Influx kalsium yang disebabkan oleh ILY kemungkinan merupakan faktor utama terjadinya degranulasi sitoplasma.¹⁷

Perubahan konsentrasi (Ca^{2+})_i juga terjadi pada sel-sel duktus kelenjar biliaris, *human cholangiocellular cells*, HuCCT1. *Intermedilysin* menyebabkan translokasi ion-ion kalsium dari sitoplasma ke dalam nukleus HuCCT1 disertai dengan peningkatan $[Ca^{2+}]_i$. Adanya perubahan keseimbangan Ca^{2+} pada sel HuCCT1 mengakibatkan aktivasi faktor transkripsi *nuclear factor of activated T cell* NFAT1.²⁹ Molekul NFAT1 merupakan salah satu faktor transkripsi yang bertanggung-jawab pada aktivasi respon inflamasi dan sistem imun.²² Aktivasi NFAT1 pada stimulasi ILY diikuti peningkatan ekspresi *early growth factor* EGR-1 pada sel-sel HuCCT1.²⁹

PEMBAHASAN

Beberapa studi mengenai pengaruh ILY pada sel-sel PMN, HepG2, dan HuCCT1 menunjukkan bahwa secara langsung maupun tak langsung Ca^{2+} sangat berperan penting dalam respon seluler sel-sel hospes.^{17, 19} Fenomena umum yang terjadi pada sel-sel yang terpapar dengan toksin bakteri adalah perubahan keseimbangan Ca^{2+} intraseluler.^{25, 26} Ion Ca^{2+} diketahui berperan dalam hampir semua mekanisme seluler meliputi pertumbuhan dan perkembangan, inflamasi, respons imun, hingga kematian sel.³⁰ Stimulasi sel oleh sitotoksin akan meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} intraseluler, hal ini juga terjadi pada sel-sel yang terpapar *pneumolysin*. *Pneumolysin*

yang juga merupakan *pore-forming toxin* merupakan sitolisin yang dihasilkan oleh *Streptococcus pneumoniae*, bakteri penyebab meningitis. Toksin ini dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ pada sel-sel neuron yang diikuti dengan naiknya produksi *reactive oxygen species* (ROS).²⁵ Selain *pneumolysin*, *listeriolysin O* (LLO) yang dihasilkan oleh *Listeria monocytogenes* juga mampu meningkatkan konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ pada sel-sel epitel intestinum (*Caco-2 cell*). *Listeriolisin O* mampu meningkatkan konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ melalui pembentukan pori pada membran sel. Adanya pori-pori pada membran sel menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel, hal ini memungkinkan terjadinya naik turunnya konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ (osilasi). Peningkatan konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ pada sel *Caco-2* terbukti bukan berasal dari pelepasan Ca^{2+} dari simpanan intraseluler, tetapi disebabkan masuknya Ca^{2+} ekstraseluler ke dalam sitoplasma.²⁶ *Intermedilysin* diketahui sangat potensial untuk menyebabkan terbentuknya pori pada membran sel. Terjadi fenomena perpindahan ion-ion Ca^{2+} dari sitoplasma ke dalam nukleus sel-sel HuCCT1 yang disebabkan oleh ILY meskipun mekanismenya belum dapat diketahui secara pasti.¹⁹

Respon yang terjadi pada setiap sel setelah adanya perubahan keseimbangan Ca^{2+} tergantung pada profil peningkatan dan penurunan ion tersebut dalam sitoplasma. Peningkatan jumlah ion Ca^{2+} dalam sitoplasma secara singkat diikuti penurunan yang tajam berpotensi menyebabkan aktivasi NF- κ B. Sementara itu respon berupa osilasi Ca^{2+} akan menyebabkan aktivasi NFAT.²² *Intermedilysin* mampu menimbulkan respon yang berbeda pada jenis sel yang tidak sama. Pada sel HepG2, ILY meningkatkan aktivitas NF- κ B.¹⁹ Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya peningkatan influx Ca^{2+} dalam sitoplasma yang tidak disertai dengan osilasi. Sel HuCCT1 mengalami aktivasi NFAT1, mengindikasikan adanya osilasi ion Ca^{2+} .¹⁹ Osilasi Ca^{2+} selain yang ditimbulkan oleh ILY, dapat diamati pada sel HEK293 yang distimulasi dengan LLO. *Listeriolisin* memungkinkan *L. monocytogenes* untuk mengubah keseimbangan ion Ca^{2+} intraseluler tanpa berkontak langsung dengan sel hospes.²⁷ Hal ini kemungkinan juga terjadi pada ILY. *Intermedilysin* dihasilkan *S. intermedius* sebagai faktor yang berperan penting untuk invasi bakteri pada sel hospes.¹⁸ Pada uji *in vitro* menggunakan ILY yang diekstraksi dari *S. intermedius* dibuktikan adanya kemampuan toksin sendiri untuk melakukan modifikasi Ca^{2+} intraseluler. Fakta tersebut membuka kemungkinan bahwa *S. intermedius* dapat menginduksi respon seluler tanpa harus berkontak dengan hospes.^{10, 19}

Peran penting Ca^{2+} dalam mekanisme respon sel terhadap ILY berhubungan erat dengan fungsi Ca^{2+} sebagai mesenger sekunder pada hampir seluruh respon seluler.²⁹ Ion Ca^{2+} diperlukan dalam aktivasi kalsineurin, yaitu enzim yang mempunyai peran penting dalam aktivasi NFAT dan NF- κ B. Kalsineu-

rin akan berikatan dengan Ca^{2+} dan kalmmodulin, selanjutnya berfungsi dalam pelepasan gugus-gugus fosfat (defosforilasi) pada kompleks NFAT.³⁰ Setelah proses defosforilasi, NFAT akan mengalami perpindahan dari sitosol ke dalam nukleus dalam bentuk kompleks NFAT-kalsineurin. Di dalam nukleus selanjutnya NFAT akan bersama-sama dengan protein AP1 berikatan dengan *DNA-binding site* gen-gen yang aktivitasnya berada dalam kontrol NFAT.²²

Molekul NF- κ B bersifat responsif terhadap stimulasi ILY.¹⁹ Salah satu kemungkinan yang melatarbelakangi mekanisme tersebut adalah aktivasi kalsineurin oleh Ca^{2+} . Pada sel normal, NF- κ B berada dalam sitoplasma membentuk kompleks dengan molekul *inhibitor of κ B* (IkB). Kalsineurin aktif akan menginduksi degradasi IkB, selanjutnya terjadi proses aktivasi yaitu fosforilasi dan perpindahan molekul NF- κ B ke dalam nukleus untuk berikatan dengan *DNA-binding site*.²²

Baik NFAT1 maupun NF- κ B merupakan faktor transkripsi yang aktivitasnya tergantung pada kalsium bertanggung-jawab dalam mekanisme respon inflamasi, respon imun, bahkan kematian sel.^{22, 29} Respon seluler sel-sel tubuh manusia yang terpapar dengan komensal oral *S. intermedius* yang mampu memproduksi ILY sangat bervariasi, tergantung pada jenis sel serta aspek fisik dan kinetik paparan.¹⁹ Inflamasi merupakan respon inisial pada infeksi bakteri termasuk *S. intermedius*. Dimungkinkan bahwa bakteri yang banyak ditemukan pada kasus abses periodontal ini dapat menimbulkan perubahan-perubahan pada sel hospes melalui aktivasi NFAT1 atau NF- κ B. Kesimpulan yang dapat diambil adalah bahwa ion Ca^{2+} memegang peran utama dalam inisiasi respon seluler pada sel-sel yang terpapar ILY. Implikasi klinis dari fenomena ini adalah pentingnya mengendalikan bakteri komensal oral karena potensinya yang signifikan dalam menimbulkan respon seluler sel-sel tubuh.

KESIMPULAN

Dari studi literatur ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi $[Ca^{2+}]_i$ berperan penting dalam mekanisme respon seluler sel-sel tubuh manusia terhadap ILY yang diproduksi oleh *S. intermedius*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kawamura Y, Hou XG, Sultana F, Miura H, & Ezaki T: Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. *Int J Syst Bacteriol* 1995;45(2):406-8.
2. Whiley RA & Beighton D: Emended descriptions and recognition of *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, and *Streptococcus anginosus* as distinct species. *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41(1):1-5.
3. Wagner KW, Schön R, Schumacher M, Schmelzeisen R, & Schulze D: Case report: brain and liver abscesses caused by oral infection with *Streptococcus intermedius*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102(4):e21-3.
4. Pecharki D, Petersen FC, Assev S, & Scheie AA: Involvement of antigen I/II surface proteins in *Streptococcus mutans* and *Streptococcus intermedius* biofilm formation. *Oral Microbiol Immunol*. 2005;20(6):366-71.
5. Pecharki D, Petersen FC, & Scheie AA: Role of hyaluronidase in *Streptococcus intermedius* biofilm. *Microbiology* 2008;154(Pt 3):932-8.
6. Liu D, Yumoto H, Murakami K, Hirota K, Ono T, Nagamune H, Kayama S, Matsuo T, & Miyake Y: The essentiality and involvement of *Streptococcus intermedius* histone-like DNA-binding protein in bacterial viability and normal growth. *Mol Microbiol* 2008;68(5):1268-82.
7. Sukeno A, Nagamune H, Whiley RA, Jafar SI, Aduse-Opoku J, Ohkura K, Maeda T, Hirota K, Miyake Y, & Kourai H: Intermedilysin is essential for the invasion of hepatoma HepG2 cells by *Streptococcus intermedius*. *Microbiol Immunol* 2005;49(7):681-94.
8. Nagamune H, Ohnishi C, Katsuura A, Fushitani K, Whiley RA, Tsuji A, & Matsuda Y: Intermedilysin, a novel cytotoxin specific for human cells secreted by *Streptococcus intermedius* UNS46 isolated from a human liver abscess. *Infect Immun*. 1996;64(8):3093-100.
9. Polekhina G, Giddings KS, Tweten RK, & Parker MW: Insights into the action of the superfamily of cholesterol-dependent cytolysins from studies of intermedilysin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(3):600-5.
10. Nagamune H, Ohkura K, Sukeno A, Cowan G, Mitchell TJ, Ito W, Ohnishi O, Hattori K, Yamato M, Hirota K, Miyake Y, Maeda T, & Kourai H: The human-specific action of intermedilysin, a homolog of streptolysin O, is dictated by domain 4 of the protein. *Microbiol Immunol* 2004; 48(9):677-92.
11. Maliyil J, Caire W, Nair R, & Bridges D: Splenic abscess and multiple brain abscesses caused by *Streptococcus intermedius* in a young healthy man. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2011; 24(3):195-9.
12. Lee CG, Kang SH, Kim YJ, Shin HJ, Choi HS, Lee JH, & Lee MH: Brain abscess in Korean children: A 15-year single center study. *Korean J Pediatr* 2010;53(5):648-52.
13. Antony SJ & Stratton CW: *Streptococcus intermedius* group. In: Mandell GL, Bennett JE & Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000: 2183-89.
14. Whiley RA, Fraser H, Hardie JM, & Beighton D: Phenotypic differentiation of *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* strains within the "Streptococcus milleri group". *J Clin Microbiol*. 1990; 28(7):1497-501.
15. Giddings KS, Zhao J, Sims PJ, & Tweten RK: Human CD59 is a receptor for the cholesterol-dependent cytolysin intermedilysin. *Nat Struct Mol Biol* 2004;11(12):1173-8.
16. Hu W, Ferris SP, Tweten RK, Wu G, Radaeva S, Gao B, Bronson RT, Halperin JA & Qin X: Rapid conditional targeted ablation of cells expressing human CD59 in transgenic mice by intermedilysin. *Nat Med*. 2008 Jan;14(1):98-103.
17. Macey MG, Whiley RA, Miller L, & Nagamune H: Effect on polymorphonuclear cell function of a human-specific cytotoxin, intermedilysin, expressed by *Streptococcus intermedius*. *Infect Immun* 2001; 69(10):6102-9.

18. Sukeno A, Nagamune H, Whiley RA, Jafar SI, Aduse-Opoku J, Ohkura K, Maeda T, Hirota K, Miyake Y, & Kourai H: Intermedilysin is essential for the invasion of hepatoma HepG2 cells by *Streptococcus intermedius*. *Microbiol Immunol*. 2005;49(7):681-94.
19. Susilowati H, Okamura H, Hirota K, Shono M, Yoshida K, Murakami K, Tabata A, Nagamune H, Haneji T, & Miyake Y: Intermedilysin induces EGR-1 expression through calcineurin/NFAT pathway in human cholangiocellular carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Jan 7;404(1):57-61.
20. Williams, MA & Solomkin JS: Integrin-mediated signaling in human neutrophils. *J. Leukoc. Biol* 1999;65:725-736.
21. Susilowati H, Okamura H, Hirota K, Yoshida K, Tabata A, Nagamune H, Haneji T, & Miyake Y: Nuclear translocation of NF- κ B induced by *Streptococcus intermedius* intermedilysin. *10th Congress and International Conference of Indonesian Society for Microbiology. Recent Advances of Microbiology in Health, Bio-Industry, Agriculture and Environment*. Surabaya, 2009.
22. Dolmetsch RE, Lewis RS, Goodnow CC, & Healy JI: Differential activation of transcription factors induced by Ca²⁺ response amplitude and duration. *Nature* 1997; 24;386(6627):855-8.
23. Walev I, Hombach M, Bobkiewicz W, Fenske D, Bhakdi S, & Husmann M: Resealing of large transmembrane pores produced by streptolysin O in nucleated cells is accompanied by NF-kappaB activation and downstream events. *FASEB J*. 2002 Feb;16(2):237-9.
24. Tuomanen EI: Pathogenesis of pneumococcal inflammation: otitis media. *Vaccine*. 2000; 8;19 Suppl 1:S38-40.
25. Braun JS, Hoffmann O, Schickhaus M, Freyer D, Daggand E, Bermpohl D, Mitchell TJ, Bechmann I, & Weber JR: Pneumolysin causes neuronal cell death through mitochondrial damage. *Infect Immun* 2007; 75(9):4245-54.
26. Tsuchiya K, Kawamura I, Takahashi A, Nomura T, Kohda C, & Mitsuyama M: Listeriolysin O-induced membrane permeation mediates persistent interleukin-6 production in Caco-2 cells during *Listeria monocytogenes* infection in vitro. *Infect Immun* 2005; 73(7):3869-77.
27. Repp H, Pamukçi Z, Koschinski A, Domann E, Darji A, Birringer J, Brockmeier D, Chakraborty T, & Dreyer F: Listeriolysin of *Listeria monocytogenes* forms Ca²⁺-permeable pores leading to intracellular Ca²⁺ oscillations. *Cell Microbiol* 2002; 4(8):483-91.
28. Gekara NO, Westphal K, Ma B, Rohde M, Groebe L, & Weiss S. The multiple mechanisms of Ca²⁺ signaling by listeriolysin O, the cholesterol-dependent cytolysin of *Listeria monocytogenes*. *Cell Microbiol*. 2007 Aug;9(8):2008-21.
29. Berridge MJ: Inositol trisphosphate and calcium signaling. *Nature* 1993; 361(6410):315-25.
30. Hogan PG, Chen L, Nardone J, & Rao A: Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. *Genes Dev* 17, 2205-2232 (2003).

00

