

基于口-肠轴菌群变化的宏基因组学及其技术在口腔疾病研究中的意义

张涵 刘雅芳 杨军英

中山大学附属第一医院口腔科, 广州 510080

通信作者: 杨军英, Email: yangjuny@mail.sysu.edu.cn

【摘要】 宏基因组学利用基因组学的研究策略与技术, 对环境样品中所含全部微生物的遗传组成及其菌落功能进行研究, 能有效突破传统微生物培养技术的局限性, 为微生物群落整体研究提供新的思路和方法。口腔和肠道是人体聚集大量微生物群落的重要部位, 正常情况下菌群可维持各自的局部稳态; 而口腔和肠道菌群的失衡不仅能导致局部组织病变, 还能通过口-肠轴对全身其他系统产生致病作用。近年来, 宏基因组学已逐渐被广泛运用于对口-肠轴相关口腔疾病的研究中, 通过检测口腔与肠道菌群的组成与功能变化, 分析其对口腔疾病可能产生的影响, 有望为口-肠轴相关口腔疾病的发病机制提供新视角。本文就宏基因组学及其技术在口-肠轴相关口腔疾病研究的应用现状作一综述。

【关键词】 宏基因组学; 口-肠轴; 微生物区系; 口腔疾病

基金项目: 广东省自然科学基金(2020A1515010307)

引用著录格式: 张涵, 刘雅芳, 杨军英. 基于口-肠轴菌群变化的宏基因组学及其技术在口腔疾病研究中的意义[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2022, 16(3):194-198.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2022.03.011

Application of metagenomics in the study of oral diseases based on the flora changes of oral-gut axis

Zhang Han, Liu Yafang, Yang Junying

Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: Yang Junying, Email: yangjuny@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Using genomics techniques and strategies, metagenomics can be used to study the genetic composition and colony function of all microbiotas contained in environmental samples, which effectively break through the limitations of conventional microbiology culture and might provide new ideas or methods for the overall study of microbial communities in the body. The oral cavity and intestinal tract are important parts of the human body where a large number of microbial communities inhabit. Under normal condition, the microbial communities maintain local homeostasis in a healthy situation. However, the dysbacteriosis from oral-gut axis can not only lead to local tissue

lesions in oral and intestine tract, but also might contribute to the pathological progress in other systems through the oral-gut axis. In recent years, metagenomics has been widely used to detect the composition and functional changes of microbial flora related to the oral-intestinal axis and analyze the possible role of dysbacteriosis in oral diseases. Hopefully, it can provide a new perspective for the study of pathogenesis of oral related diseases. This article reviewed the application of metagenomics in oral diseases related to the oral-gut axis.

【Key words】 Metagenomics; Oral-gut axis; Microbiota; Oral diseases

Fund program: Natural Science Foundation of Guangdong Province(2020A1515010307)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2022.03.011

在自然界中, 微生物广泛参与碳、氮、氧、硫等重要元素的循环与转化。人体作为一个特殊的生态环境, 其表面和内部都栖息着数量巨大、种类繁多的微生物, 与人类共生共息。它们不仅定植在皮肤、角质层、皮脂腺、毛囊等体表部位, 亦存在于口腔、肠道和生殖道等可能与外界相通的内部区域, 在人类健康的维持和疾病的发生、发展中起重要作用^[1]。近年来, 宏基因组学及其技术在人体微生物研究中越来越受关注。

一、宏基因组学的概念及其基本研究技术

1. 概念: 宏基因组(metagenome)最早由 Handelsman 等^[2]于1998年提出, 为特定环境中全部微小生物遗传物质的总和, 包括由于条件限制而难以用传统方法进行研究的微生物基因。宏基因组学(metagenomics)又叫微生物环境基因组学、元基因组学, 是指以直接从特定环境样品中提取总微生物的遗传物质(即宏基因组)为研究对象, 利用基因组学的研究策略与技术, 对环境样品中所含的全部微生物的遗传组成及其菌落功能进行研究, 从而探索微生物多样性, 开发新的生理活性物质(或获得新基因)的新理念和新方法。一方面包括对宏基因组进行克隆, 通过构建宏基因组文库和筛选等手段获得新的生理活性物质; 另一方面也包括根据核糖体DNA(rDNA)数据库设计引物, 通过系统学分析获得该环境中微生物的遗传多样性和分子生态学信息^[3]。美国国立卫生研究院于2006年正式启动人类宏基因组计划。此后人类宏基因组学不断发展, 宏基因组学与人类医学研究间的联系日趋紧密^[4-5]。

2. 基本研究方法与技术:(1)宏基因组文库的构建:主要包括处理环境样品并提取总DNA、连接载体、在宿主细胞中建立克隆;(2)宏基因组文库的筛选:主要是根据研究目的筛选克隆,通常可分为功能筛选(即基于功能的宏基因组学)和序列筛选(即基于序列的宏基因组学)。在基于序列的宏基因组学研究中,常通过检测原核生物的16S核糖体RNA(16S rRNA)及真核生物的内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)序列研究微生物多样性^[6]。而早期的鸟枪法测序技术直至最新的第三代测序技术的发展,都为研究宏基因组全长提供了坚实的技术支持^[7]。

二、宏基因组学助力于口腔相关疾病研究

1. 宏基因组学应用于口腔微生物研究:传统的人体微生物研究往往基于人们对微生物生长条件及规律的已有认识,依赖于人工培养技术,需要将目标微生物分离、纯化、培养后,再对其形态结构、遗传特性、生理功能等方面进一步探索。既往借助这种传统的微生物培养技术分析发现了口腔中白色念珠菌、变形链球菌、牙龈卟啉单胞菌等微生物在口腔中的潜在致病作用^[8-9]。然而,这种传统技术操作效率低、技术敏感性强,难以还原适合微生物生长的原生环境条件,无法保留原生环境中不同微生物间的生态关系,极大限制了口腔局部与全身健康关系的研究^[10]。

宏基因组学秉持整体性理念,遵循反向生物学原则,综合利用基因组学和生物信息统计分析技术,直接对该微生物群体的生物及功能多样性等进行分析和研究,探究人体内共生菌群与健康维持、疾病发生发展、药理毒理等相关性及互作关系。有研究显示,在健康人的口腔内存在有链球菌、奈瑟氏菌、梭状菌、卟啉单胞菌等菌属,且不同个体间的菌群组成具有相似性,提示这些“口腔核心微生物组”的存在可能在维持口腔微环境稳态、保持口腔功能稳定等方面发挥着重要作用^[11-12]。另有研究者对收集到的牙周炎患者的口腔微生物群样品进行鸟枪法宏基因组测序,发现了25种尚未被报道为口腔菌群成员的菌属^[13];在此基础上进一步提取、分离出16S序列后,又确定了9种尚未在人类口腔中报道过的新微生物类群,极大丰富和拓展了人们对口腔菌群的认识。随着宏基因组学越来越广泛地应用,新的研究成果不断丰富着人类口腔微生物组数据库(human oral microbiome database, HOMB)。

2. 口-肠轴的概念:经历了数百万年的进化过程,微生物已与人类形成了共生关系,对人类的健康与疾病状态有着不容忽视的作用。Sender等^[14]回顾整理了过往研究中的实验数据后指出,在人体中,微生物细胞与人类细胞的数量之比高达约1:1,它们广泛存在于人体的消化道、皮肤、口腔、鼻腔等内外表面,其中约80%分布在肠道,并建立起与肠道环境相适应的菌群;而口腔兼具与外界相通的环境和由黏膜、唾液等构建起的生理屏障,聚集着超过700种不同的微生物物种,是仅次于胃肠道的第二大微生物群栖息地。口腔作为消化道的起始,与肠道相通,两者间的微生物传播可能对两处微生态系统产生相互影响。随着宏基因组学理念与技术的加入,越来越多的证据支持口腔-肠道微生物群轴(oral-

gut microbiome axis)的存在,或口-肠轴(mouth-gut axis或oral-gut axis),即在健康状态下,口腔与肠道的有益菌和致病菌保持动态平衡,维持着口腔与肠道总的稳态;而两者菌群的改变或失衡可能通过调节宿主代谢和免疫活动,影响局部甚至全身其他系统疾病的进展^[15-16]。口-肠轴概念的提出为口腔疾病与全身健康的关系提供了新的研究视角^[12]。

3. 口腔疾病通过口-肠轴影响全身其他系统疾病的发生、发展:消化道和呼吸道在生理结构上与口腔直接相通,为口腔疾病直接影响消化系统和呼吸系统疾病的发生发展提供了天然途径。新近研究显示,在罹患牙周炎的口腔环境中,口腔微生物及其刺激产生的致病性辅助T细胞(Th17)随吞咽动作进入肠道,使得口腔菌群异位定植于肠道,引起肠道菌群失调并进一步激活Th17细胞,最终加重肠道炎症^[16-17];Zhang等^[18]和Li等^[19]通过分析胃癌、结直肠癌和肝癌患者的口腔及肠道菌群结构,发现患者口腔菌属构成与健康人存在显著差异,且胃癌和结直肠癌肿瘤表面菌种与口腔菌群关系密切,提示口腔菌群失调可能参与肝癌的进展及消化道肿瘤的形成与分化。此外,定植于口腔中的微生物群还被认为是肺部微生物群的主要来源,与肺炎、哮喘、慢性阻塞性肺病、囊性纤维化肺病及肺癌等呼吸系统疾病的发生发展密切相关^[20]。而在当前新型冠状病毒肺炎(COVID-19)流行时期,已有研究表明唾液中含有感染性病毒载量,且口腔细菌(尤其是牙周病致病菌)可作为呼吸道上皮的前沿刺激物增加其对外源性病原体的易感性,提示口腔菌群在研究呼吸道疾病的传播、预防与早期诊断等方面具有重要意义^[21]。

口腔疾病还可通过引起的口-肠菌群失调及其代谢产物入血,导致内分泌、心血管、神经等多系统疾病。糖尿病是一种以高血糖为特征的慢性代谢性疾病,研究显示由口腔牙周炎等疾病导致的机体亚临床感染状态是其发生、发展的重要危险因素之一^[22]。张欣等^[23]研究发现,牙周病的主要致病菌——牙龈卟啉单胞菌在口腔内的丰度与血糖水平呈显著正相关;此外,动物实验结果表明,牙周炎可促进小鼠葡萄糖不耐受、空腹胰岛素水平的升高及胰岛β细胞的衰竭,且分离于糖尿病患者肠道的阴沟肠杆菌可使健康小鼠出现肥胖和胰岛素抵抗^[22],提示口-肠菌群失调可直接参与糖尿病病理进程。口腔疾病所致的菌群异常变化及其代谢产物,与高血压、心肌梗死、动脉粥样硬化等心血管系统疾病亦密切相关^[24-28],多项研究显示,口腔内多种致病菌(如齿垢密螺旋体、伴放线杆菌、牙龈卟啉单胞菌、福赛坦氏菌等)在动脉粥样硬化斑块以及主动脉瓣、二尖瓣和主动脉瘤等心血管组织标本中均可检出,其致病机制可能与诱导氧化应激、炎症反应以及异位入侵、定植和免疫逃逸等有关^[22]。此外,口腔菌群及其代谢产物亦参与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病、多发性硬化症等多种神经退行性疾病的发病进程。有报道,在AD患者大脑样本中检测到牙龈卟啉单胞菌及其毒力产物——牙菌素的存在,且利用PacBio单分子测序技术对比分析了AD患者唾液中的菌群基因组后发现,其菌群丰度和多样性较健康人明显降低,提示口腔菌群变化可能参与AD的进展^[29]。进

一步的研究显示,口-肠菌群失调参与神经退行性疾病可能涉及以下机制:(1)口腔疾病促进机体炎症反应,并进一步通过脑-肠轴影响大脑功能;(2)口腔致病菌将代谢产物释放入血,产物穿过血脑屏障后引起神经系统病变;(3)致病菌代谢产物通过三叉神经与大脑建立联系,进而产生致病作用^[30]。此外,宏基因组学对口腔疾病与其他系统疾病关系研究目前亦有报道,如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、肾肿瘤、膀胱肿瘤^[31-32],限于篇幅,在此不一一赘述。

4. 口-肠菌群失调参与口腔疾病进展:多种疾病或病理状态可通过引起口-肠菌群失调参与口腔疾病进展及预后。研究发现,与口-肠菌群失调相关的口腔疾病主要包括牙周病、龋病、口腔黏膜病、口腔癌等^[33]。

(1)牙周病:牙周病是一种发生于牙周支持组织的慢性炎症性疾病,是最常见的口腔疾病之一,影响着中国近90%的成年人。牙周炎的发展很大程度上与口-肠轴生态失调引起的下游炎症信号级联因子的激活有关^[34]。Kitamoto等^[16]研究发现,炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者的口腔内可检测到肠道来源的活化的Th17细胞及肠道部位特异性菌群。糖尿病是另一与牙周炎密切相关的系统性疾病,多项研究显示,血糖控制不良可促进牙周炎的发展,且糖尿病持续时间与牙周炎的严重程度呈正相关,这可能与糖尿病减少口-肠菌群丰富度、改变龈下和唾液内菌群成分,以及高糖状态下炎症反应和骨吸收活跃有关^[22]。此外,Sato等^[35]和Stanisic等^[36]利用宏基因组及16S rRNA测序结果,结合形态学、遗传学方法,深入研究了高脂饮食借助口-肠轴在牙周炎的发生、发展中扮演的重要角色。借助小鼠模型,研究者提出高脂饮食可影响肠道内菌群构成,使*Allobaculum*、*Lactococcus*、*Akkermansia*、*Turicibacter*、*Enterococcus*等菌属富集,增强肠道菌群分解嘌呤、产生尿酸的能力,从而增加血清中尿酸水平;同时,菌群功能的改变可导致短链脂肪酸生成减少、脂多糖生成增加,进而激活Toll样受体4(Toll-like receptors 4, TLR4),上调大量的促炎因子和基质金属酶的表达,最终导致口腔内牙槽骨吸收增加、牙周炎情况恶化。体内研究亦进一步证实,肥胖小鼠的肠道菌群失衡可导致血清中尿酸升高,进而促进牙槽骨的破坏;而长期补充 ω -3脂肪酸或予枯草芽孢杆菌处理后,不仅可改善实验性牙周炎小鼠的肠道菌群结构与功能,还可有效减轻牙周组织的破坏。这些研究提示,口-肠菌群失调对牙周组织的破坏及牙周病的进展起重要作用^[35]。

(2)牙体牙髓疾病:龋病是牙体硬组织在以细菌为主的多种因素影响下发生慢性进行性破坏的疾病。张丽敏等^[37]对IBD患者进行了龋病患病情况的调查,发现IBD患者的龋失补指数是健康人的2.71倍,患龋风险是健康人的3.45倍,并认为这可能与IBD引起口腔内微生物群的变化有关。研究发现,影响龋病发生、发展的主要致病菌包括厚壁菌门和放线菌门等^[38]。Simon-Soro等^[39]进一步将关注点集中于这两种菌门分类下的罗斯氏菌属和韦荣氏球菌属,发现在口腔局部使用药物通佐溴胺进行抗龋治疗时,不仅可改变牙齿局部微环境的菌群成分、达到抑龋目的,而且可通过口-肠轴影响肠道微生物群的组

成。另有研究对龋病患者牙齿窝沟处提取的细菌基因组进行了宏基因组测序及功能性分析,发现与消化吸收碳水化合物相关的基因在龋病组的基因组序列中相对丰度水平更高,而与氮代谢相关的基因则在无龋对照组中富集^[40],提示龋活跃患者窝沟表面的微生物群落更能为致龋菌的生长提供能量、创造适宜的环境,促进龋的发生与进展;鉴于氮代谢的终产物可使局部微环境的pH值升高、不利于龋病的发生,故一定程度上解释了氮代谢相关基因对牙体组织的保护作用。

当致病菌经由开放的根管系统或牙周围组织侵犯牙髓组织时,便可引起感染性的牙髓炎甚至根尖周炎。有研究表明,根尖周炎能引起与代谢综合征相关的指标改变,并可导致肠道瘦素血症及菌群生态失调^[41]。Haraga等^[42]用具核梭杆菌感染大鼠磨牙牙髓诱导根尖周炎后,取材大鼠的上颌骨、肠道、心脏、肝脏和肾脏,并利用二代测序技术进行宏基因组分析,发现具核梭杆菌诱导的根尖周炎可改变大鼠的肠道及其周围器官(如心脏、肝和肾脏)的菌群构成、破坏微生物稳态,降低肠黏膜上皮的抗炎作用,进而促进肠炎的发生;而肠道组织的感染通过血液循环可能进一步促进根尖周炎的进展。

(3)口腔黏膜病:包括口腔黏膜炎(口炎)、口腔扁平苔藓和天疱疮等在内的口腔黏膜病亦与口-肠轴的菌群组成和功能失调相关^[37]。口腔黏膜炎以口腔溃疡为典型病损,是化疗、放疗和造血干细胞移植等癌症治疗手段中最常见的口腔并发症之一。研究表明,癌症治疗可促进口炎的发生,这可能与引起肠道菌群改变,导致引起肠道功能障碍及系统性免疫反应有关;而口炎的发生可影响唾液生理功能、破坏黏膜免疫,进一步增加龋病、牙周病等其他多种口腔疾病的患病风险^[43-44]。研究还观察到,给予口炎模型小鼠抗生素、益生菌等调节肠道菌群后,口腔溃疡可得到有效缓解。此外,口腔扁平苔藓、大疱类口腔黏膜病患者均可检测到其口腔及肠道中微生物多样性降低,厚壁菌门、牙龈卟啉单胞菌、齿垢密螺旋体等条件致病菌活跃,提示口-肠菌群失衡可能通过引起自身免疫失调、口腔黏膜屏障功能受损等与口腔黏膜病的发生、发展具有密切联系^[45-46]。

(4)口腔癌:口腔癌是最常见的癌症之一,其中超过90%是鳞状细胞癌。多项研究表明,在生理状态下的微生物群动态平衡可辅助调节全身免疫细胞的生长阶段与方向,促进机体免疫细胞激活,进而抑制肿瘤细胞增殖、抑制包括口腔鳞状细胞癌(以下简称口腔鳞癌)在内肿瘤的发生、发展。但在EB病毒、人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染等病理状态下,口-肠轴微生物多样性显著减少,弯曲杆菌、维氏菌、普雷沃菌等致病菌属丰度增加,而乳酸菌、链球菌等共生菌属丰度减少,由此引起的机体微生物代谢改变参与口腔鳞癌的发生与进展^[47]。Zhang等^[48]和Zhao等^[49]进一步对口腔鳞癌组织16S rRNA序列的不同区段进行了分析,发现癌组织中螺旋菌门、梭状菌门、拟杆菌门丰度显著增加,而厚壁菌门、放线菌门明显减少,并认为梭状菌属可能在肿瘤的发展中起着重要作用。Zhang等^[48]对菌群的系统发育调查发现,在口腔鳞癌组织中,微生物组基因在参与调

节p53信号通路和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的生物合成方面表现较高丰度,而对照组的微生物组基因则在参与调节上皮细胞侵袭性相关成分及细菌毒素的合成方面丰度更高,提示失衡的口腔菌群对口腔癌的发生、发展产生重要影响。

综上,宏基因组学技术的不断发展,为人类研究口-肠轴相关疾病的菌群特征、功能及口腔和肠道菌群间的相互作用提供了强大的技术支持。将宏基因组学的理念与技术应用于口腔相关菌群的研究,一方面有助于更深入地了解口腔菌群组成及功能的复杂性与多样性,进一步明确微生物在口腔健康维持和疾病发生、发展中可能发挥的作用,拓展了口腔菌群的研究深度;另一方面,亦为研究口腔菌群对全身其他系统疾病的作用及影响增添了重要技术手段,极大延展了人体微生物群的研究广度,有利于为口腔乃至全身系统疾病的预防、诊断、治疗提供新思路。

三、不足与展望

宏基因组学在实际应用方面仍存在不足,主要表现在:

(1)基因组分析技术的精确度不断增强,对研究人员操作的准确性也提出了更高的要求;(2)现有技术对微生物组中表达水平较低的基因的敏感性有限,在发掘表达量较少的重要微生物群基因及尚未为人所知的新基因方面仍有局限性,截至2022年eHOMD记载,口腔中只有58%的菌种有正式命名,而仍有26%的细菌尚未能得到分离鉴定,尚有许多口腔微生物组信息有待人们利用宏基因组学理念与技术继续发掘;(3)目前在关于口-肠轴相关口腔疾病的研究中,宏基因组学及其技术应用的深度及广度尚不足够,大规模的前瞻性研究鲜有报道,肠道菌群失调通过口-肠轴影响口腔疾病发生发展的机制尚不明晰,相关研究多局限在牙周炎与肠道菌群失调的相互作用中,但对肠道菌群失调如何影响其他口腔疾病研究甚少;(4)口腔-肠道微生物群轴的研究大多是关于菌群方面的研究,而对于病毒宏基因组学研究较少,仍有许多未知有待人们充分利用宏基因组学技术进行探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 徐欣,何金枝,周学东. 口腔微生物群落在口腔与全身疾病预警中的作用[J]. 华西口腔医学杂志, 2015, 33(6): 555-560. DOI: 10.7518/hxkq.2015.06.001.
- [2] Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products [J]. Chem Biol, 1998, 5(10): R245-R249. DOI: 10.1016/s1074-5521(98)90108-9.
- [3] Chen G, Bai R, Zhang Y, et al. Application of metagenomics to biological wastewater treatment [J]. Sci Total Environ, 2022, 807(Pt 1): 150737. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.150737.
- [4] Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome [J]. Arch Microbiol, 2018, 200(4): 525-540. DOI: 10.1007/s00203-018-1505-3.
- [5] 楚雍烈,杨娥. 宏基因组学及其技术的研究进展[J]. 西安交通大学学报(医学报), 2008, 29(6): 601-608.
- [6] Li X, Lau SKP, Woo PCY. Molecular characterisation of emerging pathogens of unexplained infectious disease syndromes [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(9): 839-848. DOI: 10.1080/14737159.2019.1651200.
- [7] Mohammadi MM, Bavi O. DNA sequencing: An overview of solid-state and biological nanopore-based methods [J]. Biophys Rev, 2021, 14(1): 99-110. DOI: 10.1007/s12551-021-00857-y.
- [8] 房凌旭,李龙,卢中一,等. 口腔未培养微生物分离培养策略的研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(4): 891-902. DOI: 10.13343/j.cnki.wsb.20200613.
- [9] 马旭. 某地区儿童口腔白色念珠菌分布特点及其与龋病的相关性研究 [J]. 基层医学论坛, 2021, 25(1): 147-148. DOI: 10.19435/j.1672-1721.2021.01.078.
- [10] 李俊霞,刘晨光. 提高微生物可培养性的方法的研究概况和进展[J]. 微生物前沿, 2016, 5(1): 1-8. DOI: 10.12677/AMB.2016.51001.
- [11] Zaura E, Keijser BJ, Huse SM, et al. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities [J]. BMC Microbiol, 2009, 9: 259. DOI: 10.1186/1471-2180-9-259.
- [12] Park SY, Hwang BO, Lim M, et al. Oral-gut microbiome axis in gastrointestinal disease and cancer [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(9): 2124. DOI: 10.3390/cancers13092124.
- [13] Wang J, Qi J, Zhao H, et al. Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease [J]. Sci Rep, 2013, 3: 1843. DOI: 10.1038/srep01843.
- [14] Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans [J]. Cell, 2016, 164(3): 337-340. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.013.
- [15] Stanisic D, Jovanovic M, George A K, et al. Gut microbiota and the periodontal disease: Role of hyperhomocysteinemia [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2021, 99(1): 9-17. DOI: 10.1139/cjpp-2020-0215.
- [16] Kitamoto S, Nagao-Kitamoto H, Jiao Y, et al. The intermucosal connection between the mouth and gut in commensal pathobiont-driven colitis [J]. Cell, 2020, 182(2): 447-462.e14. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.048.
- [17] 李昆曼,代静,任静,等. CD4阳性T淋巴细胞亚群与牙周炎的关系[J/OL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2017, 11(3): 178-183. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2017.03.009.
- [18] Zhang C, Hu A, Li J, et al. Combined non-invasive prediction and new biomarkers of oral and fecal microbiota in patients with gastric and colorectal cancer [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 830684. DOI: 10.3389/fcimb.2022.830684.
- [19] Li D, Xi W, Zhang Z, et al. Oral microbial community analysis of the patients in the progression of liver cancer [J]. Microb Pathog, 2020, 149: 104479. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104479.
- [20] Dong J, Li W, Wang Q, et al. Relationships between oral microecosystem and respiratory diseases [J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 718222. DOI: 10.3389/fmolb.2021.718222.
- [21] Imai K, Tanaka H. SARS-CoV-2 infection and significance of oral health management in the era of "the new normal with COVID-19" [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(12): 6527. DOI: 10.3390/ijms22126527.

- [22] Piri FQ, Monajemzadeh S, Singh N, et al. Association between metabolic syndrome and periodontitis: The role of lipids, inflammatory cytokines, altered host response, and the microbiome [J]. *Periodontol* 2000, 2021, 87(1): 50-75. DOI: 10.1111/prd.12379.
- [23] 张欣,王佩,马良坤,等. 妊娠期糖尿病患者口腔菌群和肠道菌群特征分析[J]. *实用口腔医学杂志*, 2022, 37(5): 654-659. DOI: 10.3969/j.issn.1001-3733.2021.05.014.
- [24] Zhou J, Chen S, Ren J, et al. Association of enhanced circulating trimethylamine N-oxide with vascular endothelial dysfunction in periodontitis patients [J]. *J Periodontol*, 2021, 93(5): 770-779. DOI: 10.1002/JPER.21-0159.
- [25] 冯磊,杨军英,任静,等. 冠心病患者牙周炎严重程度对血清超敏C反应蛋白和TNF- α 及冠脉狭窄程度的影响[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2012, 33(6): 797-802. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2012.0146.
- [26] Zhou QB, Xia WH, Ren J, et al. Effect of intensive periodontal therapy on blood pressure and endothelial microparticles in patients with prehypertension and periodontitis: A randomized controlled trial [J]. *J Periodontol*, 2017, 88(8): 711-722. DOI: 10.1902/jop.2017.160447.
- [27] 李昆蔓,陶军,张丽敏,等. P.g-LPS诱导人脐静脉内皮细胞损伤及对NF- κ B/iNOS/NO信号通路的影响[J]. *临床口腔医学杂志*, 2019, 35(2): 79-82. DOI: 10.3969/j.issn.1003-1634.2019.02.005.
- [28] 周倩冰,张丽敏,李昆蔓,等. 牙周强化治疗降低正常高值血压合并重度牙周炎患者的血压水平[J]. *中华高血压杂志*, 2019, 27(1): 30-34. DOI: 10.16439/j.cnki.1673-7245.2019.01.013.
- [29] Li X, Kiprowska M, Kansara T, et al. Neuroinflammation: A distal consequence of periodontitis [J]. *J Dent Res*, 2022: 220345221102084. DOI: 10.1177/00220345221102084.
- [30] Jungbauer G, Stahli A, Zhu X, et al. Periodontal microorganisms and Alzheimer disease: A causative relationship? [J]. *Periodontol* 2000, 2022, 89(1): 59-82. DOI: 10.1111/prd.12429.
- [31] Yuan S, Fang C, Leng WD, et al. Oral microbiota in the oral-genitourinary axis: Identifying periodontitis as a potential risk of genitourinary cancers [J]. *Mil Med Res*, 2021, 8(1): 54. DOI: 10.1186/s40779-021-00344-1.
- [32] 徐翰南,蔡征真,王云,等. 肠道菌群对肠道神经-内分泌-免疫系统的影响及其病理生理意义[J]. *生理学报*, 2020, 72(3): 347-360. DOI: 10.13294/j.aps.2020.0033.
- [33] Gao L, Xu T, Huang G, et al. Oral microbiomes: More and more importance in oral cavity and whole body [J]. *Protein Cell*, 2018, 9(5): 488-500. DOI: 10.1007/s13238-018-0548-1.
- [34] 邹慧琼,刘雅芳,张涵,等. 牙周炎与消化系统疾病的相关性研究进展[J]. *中华口腔医学研究杂志(电子版)*, 2021, 15(5): 261-266. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2021.05.001.
- [35] Sato K, Yamazaki K, Kato T, et al. Obesity-related gut microbiota aggravates alveolar bone destruction in experimental periodontitis through elevation of uric acid [J]. *mBio*, 2021, 12(3): e0077121. DOI: 10.1128/mBio.00771-21.
- [36] Stanicic D, Jeremic N, Majumder S, et al. High fat diet dysbiotic mechanism of decreased gingival blood flow [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 625780. DOI: 10.3389/fphys.2021.625780.
- [37] 张丽敏,周家敏,张涵,等. 口腔黏膜病和口腔症状与炎症性肠病的相关性研究[J]. *口腔医学研究*, 2020, 36(4): 387-392. DOI: 10.13701/j.cnki.kqxyj.2020.04.019.
- [38] Rizzardi KF, Indiani C, Mattos-Graner RO, et al. Firmicutes levels in the mouth reflect the gut condition with respect to obesity and early childhood caries [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 593734. DOI: 10.3389/fcimb.2021.593734.
- [39] Simon-Soro A, Kim D, Li Y, et al. Impact of the repurposed drug thonzonium bromide on host oral-gut microbiomes [J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2021, 7(1): 7. DOI: 10.1038/s41522-020-00181-5.
- [40] Pang L, Wang Y, Ye Y, et al. Metagenomic analysis of dental plaque on pit and fissure sites with and without caries among adolescents [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 740981. DOI: 10.3389/fcimb.2021.740981.
- [41] Tavares CO, Rost FL, Silva RBM, et al. Cross talk between apical periodontitis and metabolic disorders: Experimental evidence on the role of intestinal adipokines and akkermansia muciniphila [J]. *J Endod*, 2019, 45(2): 174-180. DOI: 10.1016/j.joen.2018.10.013.
- [42] Haraga H, Sato T, Watanabe K, et al. Effect of the progression of fusobacterium nucleatum-induced apical periodontitis on the gut microbiota [J]. *J Endod*, 2022: S0099-2399(22)00338-7. DOI: 10.1016/j.joen.2022.04.014.
- [43] Al-Qadami G, van Seville Y, Bowen J, et al. Oral-gut microbiome axis in the pathogenesis of cancer treatment-induced oral mucositis [J]. *Front Oral Health*, 2022, 3: 881949. DOI: 10.3389/froh.2022.881949.
- [44] Al-Qadami G, Verma G, van Seville Y, et al. Antibiotic-induced gut microbiota depletion accelerates the recovery of radiation-induced oral mucositis in rats [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2022, 113(4): 845-858. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.03.036.
- [45] Scaglione GL, Fania L, de Paolis E, et al. Evaluation of cutaneous, oral and intestinal microbiota in patients affected by pemphigus and bullous pemphigoid: A pilot study [J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 112: 104331. DOI: 10.1016/j.yexmp.2019.104331.
- [46] Karimova M, Moyes D, Ide M, et al. The human microbiome in immunobullous disorders and lichen planus [J]. *Clin Exp Dermatol*, 2022, 47(3): 522-528. DOI: 10.1111/ced.14987.
- [47] Sami A, Elimairi I, Stanton C, et al. The role of the microbiome in oral squamous cell carcinoma with insight into the microbiome-treatment axis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 8061. DOI: 10.3390/ijms21218061.
- [48] Zhang Z, Yang J, Feng Q, et al. Compositional and functional analysis of the microbiome in tissue and saliva of oral squamous cell carcinoma [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1439. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01439.
- [49] Zhao H, Chu M, Huang Z, et al. Variations in oral microbiota associated with oral cancer [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11773. DOI: 10.1038/s41598-017-11779-9.

(收稿日期:2022-05-08)

(本文编辑:王嫚)