

微小RNA介导的牙周炎与动脉粥样硬化 相关机制的研究进展

周婕妤 刘琳 吴亚菲 赵蕾

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心
四川大学华西口腔医院牙周病科 成都 610041

[摘要] 牙周炎是一种主要由菌斑生物膜所引起的牙周支持组织慢性炎症破坏性疾病，与宿主的免疫反应相关。牙周致病菌可通过一过性菌血症进入血液循环系统，引发血管炎症反应，增加心血管疾病患病风险。微小RNA（microRNA）作为近年来小分子RNA的研究热点，可在表观遗传学水平调控基因表达，参与炎症调节。本文综述了牙周致病菌通过microRNA调控免疫炎症反应的机制，从而介导动脉粥样硬化的发生、发展，为牙周炎与动脉粥样硬化疾病关联的分子机制研究提供新的思路。此外，通过探索动脉粥样硬化与牙周炎相关特异性microRNA的表达模式，可为未来诊断或治疗心血管疾病提供新的参考。

[关键词] 牙周致病菌；牙周炎；动脉粥样硬化；心血管疾病；微小RNA

[中图分类号] R 781.4⁺² **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2020004



开放科学（资源服务）
标识码（OSID）

Research progress on microRNA-mediated mechanisms between periodontitis and atherosclerosis Zhou Jieyu, Liu Lin, Wu Yafei, Zhao Lei. (State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Periodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

This study was supported by National Natural and Science Foundation of China (81771077, 81970944) and Fund of Science and Technology Department of Sichuan Province (2018SZ01161).

[Abstract] Periodontitis is a chronic inflammatory disease characterised by destruction of periodontal supporting tissue, which is mainly due to plaque biofilm and host immune response. Periodontal pathogen can invade the blood circulation system by transient bacteraemia and trigger the vascular inflammation, which can definitely increase the risk of cardiovascular disease. MicroRNA, a small molecule RNA discussed in this paper, can regulate gene expression in epigenetics and participate in the regulation of inflammation. This review focuses on the mechanism of how periodontal pathogens regulate immune inflammatory response by microRNA to mediate the generation and development of atherosclerosis, which can provide new ideas for the research on the linkages on molecular mechanism between periodontitis and atherosclerosis. Moreover, exploring the specific microRNA expression patterns related to atherosclerosis and periodontitis can serve as a theoretical basis for the diagnosis and treatment of cardiovascular diseases in the future.

[Key words] periodontal pathogen; periodontitis; atherosclerosis; cardiovascular disease; microRNA

动脉粥样硬化性血管疾病（atherosclerotic vascular disease）是严重影响人类健康的疾病之一，可导致脑卒中、冠心病及外周动脉疾病等心

[收稿日期] 2019-05-08；**[修回日期]** 2019-09-12

[基金项目] 国家自然科学基金（81771077, 81970944）；四川省科学技术厅基金（2018SZ01161）

[作者简介] 周婕妤，博士，Email: 453499723@qq.com

[通信作者] 赵蕾，副教授，博士，Email: jollyzldoc@163.com

脑血管疾病，是最常见的死亡原因。现研究普遍认为动脉粥样硬化性血管疾病是一种慢性血管炎症性疾病，免疫炎症反应在动脉粥样硬化的发生、发展到斑块破裂的各个阶段均发挥重要作用。

牙周炎是发生在牙齿支持组织的慢性炎症破坏性疾病。大量研究已证实慢性牙周炎是心血管疾病的独立危险因素。其主要潜在致病机制包括

全身炎症负荷增加和细菌造成的动脉直接损伤。牙周微生物可通过血液循环系统直接侵入血管内皮细胞层，或通过免疫细胞成为细胞内寄生菌间接侵入血管壁，促发机体免疫应答，引起多种炎症介质水平升高，促进动脉粥样硬化斑块形成和发展，心脑血管疾病风险增加^[1]。

微小RNA（microRNA）是由内源性基因编码的长度约为22 nt的非编码单链短RNA分子，可结合靶基因3'-非编码区域，进而降解靶基因mRNA或抑制靶基因mRNA的翻译，在表观遗传学水平调控基因表达^[2]。它广泛存在于各种类型细胞中，参与细胞增殖、分化、凋亡等生物学过程；进而调控多种类型疾病（如心血管疾病、糖尿病、癌症、类风湿性关节炎等）的发生、发展。大量研究^[3-10]显示，在病原体感染宿主细胞的过程中，可通过诱导microRNA水平变化调控宿主细胞对病原体反应的能力。炎症反应过程诱导多种microRNA产生，反过来这些microRNA又能通过调节Toll样受体（Toll-like receptor, TLR）信号成分和免疫调节相关基因防止过度的促炎反应。有学者在牙周致病菌引起的机体免疫应答过程中发现多种microRNA水平改变，而这些microRNA与动脉粥样硬化疾病的发生、发展密切相关。因此，本文就牙周致病菌通过microRNA调控动脉粥样硬化发生、发展相关研究进展进行综述，以期为牙周炎与动脉粥样硬化疾病关联的分子机制研究提供新的思路。

1 牙周炎患者局部和全身microRNA表达特征

1.1 牙周炎组织中的microRNA表达特征

microRNA在维持牙周稳态及影响牙周炎的发生、发展中起关键作用^[11]。大量临床研究发现，健康者和慢性牙周炎患者牙龈组织中microRNA表达谱存在差异，但由于种族人群及实验方法的不同，各研究之间关于microRNA的表达谱变化检测结果并非完全一致。Lee等^[12]将慢性牙周炎牙龈组织与健康牙龈相比，采用芯片法检测发现6个microRNA（let-7a、let-7c、miR-130a、miR-301a、miR-520d和miR-548a）上调最明显，可能与慢性牙周炎的发病机制密切相关。Xie等^[13]在临床研究中发现，炎症牙龈组织中10个microRNA（has-miR-126、has-miR-20a、has-miR-142-3p、has-miR-19a、has-miR-7f、has-miR-17、has-miR-

146a、has-miR-146b、has-miR-203和has-miR-223）上调，has-miR-155和has-miR-205下调，靶向相关信号通路分析发现这12个microRNA与炎症过程相关，包括炎症信号转导、白细胞黏附、血管增生、细胞增殖和凋亡、骨吸收等。Stoecklin-Wasmer等^[14]的类似研究也观察到，牙周炎组织中has-miR-223明显高表达，参与多种类型的癌症、炎症和自身免疫性疾病（如白血病、类风湿性关节炎和心血管疾病等）。随后Ogata等^[15]比较了日本牙科患者中炎症牙龈组织和非炎症牙龈中microRNA的表达，发现hsa-miR-150、has-miR-223和hsa-miR-200b上调最明显，而hsa-miR-379、hsa-miR-199a-5p和hsa-miR-214下调最明显，通过信号通路分析软件interactive pathway analysis (IPA) 分析发现，3个上调明显的microRNA与炎症性疾病、组织损伤、功能异常、泌尿系统疾病和癌症相关。Venugopal等^[16]通过类似芯片法分析发现，牙周炎组织中let-7a和miR-21上调，而miR-100和miR-125b下调；通过生物信息学预测分析显示4种microRNA共同靶向核因子（nuclear factor, NF）-κB通路，可调节牙周炎的发生。最近一项临床研究^[17]比较了慢性和侵袭性牙周炎患者牙龈组织中microRNA表达谱，结果却无明显差异，但两种牙周炎组织比起健康组织都有特异性microRNA高表达，表达最高的microRNA包括hsa-miR-1274b、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-24-3p、hsa-miR-19b-3p、hsa-miR-720、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-17-3p和hsa-miR-21-3p，其中hsa-let-7b-5p、has-mir-17-3p、has-miR-21-3p和hsa-mir-19b-3p的水平升高与先前的其他研究结果相类似，具有调节细胞分化、影响骨代谢、调节炎症等生物学功能。以上研究均揭示了牙周炎过程可诱导多种microRNA水平变化，可通过靶向相关信号途径调控机体免疫反应，进而影响牙周炎的发生、发展。

此外，特定microRNA的表达水平还与患者牙周炎的临床严重程度相关，牙龈组织中miR-146a的表达水平与牙周探测深度和附着丧失呈正相关^[18]；当牙周炎患者接受治疗后，龈沟液中miR-146a、miR-155水平下降^[19]。

1.2 牙周炎患者全身循环系统中microRNA的表达特征

牙周炎还可引起血清中microRNA水平变化，Yoneda等^[20]通过临床病例对照研究比较了健康者和慢性牙周炎患者血清中microRNA水平，发现牙

周炎组血清hsa-miR-664a-3p、hsa-miR-501-5p和hsa-miR-21-3p高于对照组，hsa-mir-664a-3p、hsa-mir-501-5p和hsa-mir-21-3p的靶基因与糖尿病、心血管疾病和癌症发生的途径密切相关；同一课题组的动物研究^[21]发现，结扎建立实验性大鼠牙周炎模型2周及4周时，血清中miR-207、miR-495、miR-376b-3p特异性升高，通过生物信息分析其靶基因及丝裂原活化蛋白激酶（mitogen activated protein kinases, MAPK）信号通路和Wnt信号通路的情况，通过受试者工作特征曲线来评估microRNA鉴别诊断牙周炎的能力，发现它们可作为牙周炎的血清生物标志物。上述结果提示了牙周炎状态可引起全身microRNA表达水平变化，这可能是桥接慢性牙周炎与全身系统性疾病的分子机制之一。

1.3 牙周炎与动脉粥样硬化相关的microRNA表达特征

在1项临床病例对照研究^[22]中，患者被分为无慢性牙周炎的急性冠脉综合征组、有慢性牙周炎的急性冠脉综合征组、仅慢性牙周炎组和健康组，评估循环系统中miR-146a和促炎细胞因子的水平，结果显示前3组的循环系统中miR-146a水平均升高，相关性分析发现有慢性牙周炎的急性冠脉综合征组循环miR-146a水平与年龄、性别、吸烟、血脂异常、高血压、糖尿病、体重指数等具有强相关性，且与血清中促炎因子肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）-α、白细胞介素（interleukin, IL）-1β和IL-6水平呈正相关。因此可认为miR-146a是调节牙周炎患者免疫炎症反应的关键分子，其水平升高可能增加急性冠脉综合征风险^[22]。这与Guo等^[23]的发现一致，急性冠脉综合征患者外周血单核细胞中miR-146a的表达增加，体外实验过表达miR-146a可显著上调Th1细胞的功能及诱导动脉粥样硬化中关键的促炎细胞因子和关键转录因子TNF-α、单核细胞趋化蛋白-1、NF-κB p65蛋白的表达，猜测miR-146a可能是Th1细胞分化中的重要调节因子，与斑块不稳定相关，易诱发急性冠脉综合征。

Nahid等^[24]通过动物研究分析比较了多种混合牙周病原体（牙龈卟啉单胞菌FDC 381、牙密螺旋体ATCC 35404、福赛斯坦纳菌ATCC 43037）牙周感染载脂蛋白E基因缺陷（*ApoE*^{-/-}）小鼠与阴性感染组牙周及脾脏组织中microRNA表达谱变化，发现牙周致病菌感染可特异性增强*ApoE*^{-/-}小鼠牙周

组织和脾脏中miR-146a持续高表达，其中牙周组织中miR-146a升高尤为明显，而mir-132和mir-155水平则无明显变化；此外，牙周组织中并未发现TNF-α表达水平明显变化，可能与牙周组织中高水平miR-146a相关，miR-146a的靶基因即编码白细胞介素-1受体相关激酶（interleukin-1 receptor-related kinase, IRAK）的基因IRAK-1和编码肿瘤坏死因子受体相关因子（tumor necrosis factor receptor-related factor, TRAF）6的基因TRAF6的表达水平在牙周及脾脏中亦无明显变化，猜测可能与miR-146a的转录后抑制作用相关。在另一牙龈卟啉单胞菌感染*ApoE*^{-/-}小鼠模型中，发现心脏组织中miR-146b和miR-155相对表达升高^[25]。除牙龈卟啉单胞菌外，伴放线放线杆菌菌血症也可加重*ApoE*^{-/-}小鼠高脂血症及炎症反应，从而加速动脉粥样硬化。Jia等^[26]的动物研究证明，伴放线放线杆菌可呈时间依赖性促进*ApoE*^{-/-}小鼠中Th17细胞及其相关因子升高，并且诱导动脉中调节Th17细胞的miR-146b表达升高，提示伴放线放线杆菌可能通过增强miR-146b的表达来调节Th17细胞的分化，从而导致动脉粥样硬化加重。

2 microRNA在牙周致病菌与动脉粥样硬化相关机制中的作用

牙周致病菌可在血管内皮细胞和宿主免疫细胞中引发强烈的促炎反应，从而促进动脉粥样硬化进程^[27]。动脉粥样硬化的病理改变主要涉及内皮功能紊乱、巨噬细胞聚集、平滑肌细胞迁移与增殖、泡沫细胞形成。microRNA可通过调控动脉粥样硬化相关细胞功能从而介导动脉粥样硬化发生、发展的整个疾病过程。先前研究^[28]表明，特定的microRNA（如miR-155、miR-21、miR-146a/b和miR-132等）受牙周致病菌诱导，可作为调节先天免疫反应的重要组成部分，与血管炎症反应和动脉粥样硬化疾病进展相关。

2.1 miR-146a/b

miR-146a/b是先天免疫和适应性免疫反应中细胞分化和功能的重要调节剂，受促炎因子诱导产生。IRAK-1和TRAF6是TLR信号通路的关键成分，参与转录因子的激活，miR-146a/b可通过抑制这两种结合蛋白，以NF-κB依赖性方式抑制巨噬细胞的炎症反应，且与细菌免疫耐受相关^[3,29]。前面的研究表明牙周感染可导致局部和全身miR-

146a/b上调，其水平可反映机体内炎症状态。

体外研究可阐释miR-146a/b调控牙周致病菌引发的免疫炎症机制。Nahid等^[24]在体外实验中验证了miR-146a的表达模式和作用机制，采取热灭菌和活的牙周病原体（牙龈卟啉单胞菌FDC 381、牙密螺旋体ATCC 35404、福赛斯坦纳菌ATCC 43037）分别及混合刺激人THP-1细胞，表现出与上述动物研究中类似的microRNA表达模式，单独刺激和混合菌刺激均能诱导THP-1细胞中miR-146a水平显著变化，呈时间依赖性升高，且活菌诱导程度更加强烈；然而同样地，miR-132水平在牙龈卟啉单胞菌、福赛斯坦纳菌及其混合感染8~12 h时表达升高，而后逐渐下降，牙密螺旋体的单独感染并不引起miR-132表达变化，miR-155水平均无明显变化，由此看出，miR-146a是牙周致病菌感染中起主要调控作用的microRNA；对其调控机制进一步分析，感染过程中miR-146a升高靶向降低了IRAK-1和TRAF6表达水平，且与TNF-α表达水平呈负相关。

Li等^[30]用大剂量牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激巨噬细胞后发现，细胞内miR-146a-5p水平显著升高，并且诱导免疫耐受；过表达miR-146a-5p后，IRAK-1表达下调，并且抑制了脂多糖引起的胆固醇逆转运蛋白ABCA1和ABCG1的失调，由于IRAK-1在小鼠巨噬细胞中参与了维甲酸受体介导的ABCA1通路，表明牙周致病菌可通过miR-146a介导的IRAK-1下调，提供炎症和胆固醇代谢之间的桥梁。Molteni等^[31-32]探究了牙龈卟啉单胞菌脂多糖与TLR4相互作用过程中涉及的microRNA途径，牙龈卟啉单胞菌脂多糖可诱导人THP-1细胞促炎性细胞因子释放及miR-146a高表达，并能负性调控TLR4途径。抑制TLR4激活虽能有效抑制促炎因子产生，但对miR-146a水平没有影响，说明TLR4抑制剂可通过维持miR-146a的表达，调节牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导的促炎反应。

然而，并非在所有情况下牙龈卟啉单胞菌脂多糖都可通过miR-146a发挥炎症调控作用。另一项体外研究^[33]发现，牙龈卟啉单胞菌脂多糖虽然强烈诱导THP-1源巨噬细胞的miR-146a表达，然而抑制或过度表达miR-146a对细胞因子产生的影响很小；此外，miR-146a的潜在靶分子IRAK-1和TRAF6的表达也不受影响。这可能与巨噬细胞转染效率过低以及感染指数不同相关，猜测牙龈卟啉单胞菌脂多糖通过激活TLR诱导miR-146a表达

可能有利于细菌在巨噬细胞内存活，从而介导低度持续的炎症。因此，miR-146a在牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激的巨噬细胞中的作用尚无定论，值得进一步探究。

以上研究表明，miR-146a/b在牙周致病菌诱导的动脉粥样硬化过程中可能起重要的抑炎作用，并能调节动脉粥样硬化相关的胆固醇代谢，其失调可能导致动脉粥样硬化疾病的进一步进展。

2.2 miR-21

miR-21在多种心血管疾病中表达增加，临床研究^[34]表明动脉粥样硬化患者血清中miR-21水平可作为动脉粥样硬化疾病的新型标志物之一。它可表达于多种心血管相关细胞（包括心肌细胞、心肌成纤维细胞、血管平滑肌细胞、人脐静脉内皮细胞以及巨噬细胞），在动脉粥样硬化的发生、发展中具有保护作用。

研究^[35]发现，小鼠动脉粥样硬化病损处巨噬细胞中miR-21含量增加；敲除miR-21可引起巨噬细胞凋亡，并抑制巨噬细胞清除凋亡细胞作用，促进ABCG1降解，泡沫细胞增加，引发血管炎症和斑块坏死，加速动脉粥样硬化。巨噬细胞/单核细胞中，miR-21上调通常与病毒、细菌和其他分子模式的刺激有关，并在先天免疫过程中发挥重要作用。炎症反应中，miR-21是NF-κB的直接靶标，脂多糖引起的NF-κB的激活可诱导miR-21的表达^[36-38]，而miR-21水平升高反过来显著抑制NF-κB激活^[39]，负性调控炎症反应，因此miR-21是巨噬细胞中重要的抑炎调节因子。巨噬细胞吞噬凋亡细胞过程也能诱导miR-21产生，miR-21可通过靶向抑制抑癌基因PTEN的表达，抑制促炎性NF-κB-TNF-α途径从而发挥抑炎效应，miR-21还可通过抑制程序性细胞死亡因子PDCD4基因，激活cJun-AP-1途径，增强抑炎因子IL-10表达^[39]。miR-21在平滑肌细胞中也可作为抗凋亡因子。研究^[40-41]表明，miR-21可以通过抑制靶基因PTEN的表达，激活细胞生存相关信号通路PI3K/Akt通路，升高抑凋亡基因Bcl-2的表达，从而促进细胞增殖和生存。

除了抑炎抑凋亡作用，某些情况下miR-21表现为促凋亡作用。在结核分枝杆菌感染的树突状细胞中，miR-21可通过靶向抑制抑凋亡蛋白Bcl-2促进树突状细胞凋亡^[42]。在卡介苗感染的巨噬细胞中，miR-21对TLR4/MyD88信号转导途径具有

负调节作用，过表达miR-21导致细胞存活率下降，细胞凋亡增加，炎症因子水平升高^[43]。

由此可见，牙周致病菌诱导的miR-21水平改变，可能通过miR-21调控细胞炎症与凋亡的机制，影响动脉粥样硬化的发展。有研究^[44]表明，巨噬细胞在经牙龈卟啉单胞菌脂多糖刺激后，miR-21表达上调，过表达miR-21抑制靶基因*PDCD4*表达，从而抑制巨噬细胞产生促炎性细胞因子；抑制miR-21，可通过激活NF-κB提高促炎性细胞因子的产生。说明miR-21在牙龈卟啉单胞菌脂多糖引起的巨噬细胞炎症反应中具有重要的保护作用。此外，有研究^[45]指出，牙龈卟啉单胞菌的唾液酸酶缺乏株与正常菌株相比，可通过下调巨噬细胞补体受体CR3识别病原分子，诱导细胞内GAS5（一种长链非编码RNA）水平升高，靶向抑制miR-21水平，从而解除miR-21的抑炎作用，促使细胞分泌细胞因子IL-12，并且上调巨噬细胞吞噬清除能力。由此可见，牙周致病菌可通过上调巨噬细胞中miR-21水平防止过度炎症反应，但同一牙周致病菌不同菌种的蛋白质活性差异可引起细胞内miR-21水平差异，导致功能变化，从而介导疾病的不同转归。

2.3 其他microRNA

其他microRNA分子也参与了牙周致病菌感染与动脉粥样硬化相关的免疫调控过程。microRNA表达谱分析表明，牙龈卟啉单胞菌ATCC 33277感染可引起小鼠巨噬细胞中miR-7674-5p、miR-6975-5p、miR-3473b、miR-3473e和miR-155-5p水平明显上调，以及miR-8109、miR-2137和miR-211-3p下调。通过抑制和过表达实验^[46]发现，miR-155p和miR-2137可调节细胞因子分泌，miR-155-5p上调显著抑制TNF-α的分泌，miR-2137水平下降则促进抑炎因子IL-10的分泌。牙龈卟啉单胞菌ATCC 33277还可诱导THP-1源性巨噬细胞高表达miR-128，通过抑制p38-MAPK途径介导内毒素耐受，抑制过度炎症反应，从而减少组织损伤^[47]。在另一项研究^[48]中，牙龈卟啉单胞菌FDC 381刺激THP-1源性巨噬细胞，通过TLR介导和激活NF-κB，诱导miR-132的高表达；继而通过靶向抑制TNF-α的靶基因*NFE2L2*和*NFAT5*，从而强烈抑制促炎因子TNF-α的作用。

除活菌刺激外，不同牙周致病菌脂多糖结构差异也能导致巨噬细胞microRNA表达谱差异。人巨噬细胞分别受伴放线放线杆菌、牙龈卟啉单胞

菌脂多糖刺激后，其microRNA表达谱呈现不同，这可能与伴放线放线杆菌脂多糖只特异性激活TLR4信号转导，而牙龈卟啉单胞菌脂多糖可同时结合并诱导TLR2、TLR4及TLR7信号转导相关。通过筛选共同目标microRNA，发现miR-29b、miR-32、miR-891和let-7表达水平随脂多糖刺激浓度、类型和时间变化，其中miR-29b和let-7f可分别靶向调节炎症和免疫相关的2个关键基因IL6Rα和SOCS4并调节细胞内蛋白质水平。IL6Rα在IL-6信号转导中起决定性作用，可增强IL-6信号转导；SOCS蛋白家族主要通过酪氨酸激酶的去磷酸化调节细胞因子转导，二者在维持免疫应答中起关键作用^[49]。在另一项研究中，伴放线放线杆菌、牙龈卟啉单胞菌脂多糖以及香烟提取物修饰后的牙龈卟啉单胞菌脂多糖分别刺激人原代巨噬细胞，发现脂多糖结构不同具有改变细胞因子产生和microRNA表达的能力，并影响巨噬细胞活化方式，miR-24在脂多糖刺激下被显著诱导，其中牙龈卟啉单胞菌CSE刺激后上调最明显，它是巨噬细胞经典激活的负调节因子，可在巨噬细胞极化状态下促进替代途径激活，具有抗炎作用^[50]。

除巨噬细胞外，不同来源的平滑肌细胞对牙周致病菌的刺激反应也不同，用灭活的轻链球菌、血球链球菌、格氏链球菌、伴放线放线杆菌和牙龈卟啉单胞菌分别刺激健康者和动脉粥样硬化斑块来源的平滑肌细胞并观察炎症反应，发现不同来源的平滑肌细胞中microRNA表达水平有差异，其中链球菌和牙龈卟啉单胞菌刺激正常和动脉粥样硬化平滑肌细胞，有4个microRNA（miR-181b-5p、miR-186-5p、miR-28-5p和miR-155-5p）的表达存在显著差异；其中3个microRNA的表达（miR-155-5p、miR-50-5p和miR-9-5p）与IL-6水平具相关性；生物信息分析显示，这些microRNA的靶基因主要与细胞凋亡、增殖、黏附、迁移等相关，介导动脉粥样硬化的发展^[51]。

由此可见，多种牙周致病菌及其脂多糖刺激动脉粥样硬化相关细胞均可引起microRNA表达变化，将在表观遗传学水平上参与免疫炎症和细胞生物功能调控，进而影响动脉粥样硬化的发生、发展。但由于microRNA的表达具有高度时间及细胞特异性，不同菌种、同一菌种的不同菌株和存在结构差异的细菌脂多糖，以及受刺激的细胞种类及来源不同，都能引起细胞内microRNA表达水平差异，而细胞内不同microRNA特异性高表达将

介导对牙周致病菌不同的免疫调控反应。此外，由于microRNA表达的组织和疾病特异性，通过靶向输送或抑制microRNA表达参与疾病调控正成为极具前景的治疗方法。通过临床前研究^[52]发现，在动脉粥样硬化模型小鼠体内试验microRNA疗法，抑制某些特定miRNA（例如miR-148a、miR-122、miR-33、miR-155等）或过表达某些miRNA（例如miR-30c、miR-126-5p等），可改善动脉粥样硬化相关危险因素和炎症状态，减轻病损程度，这反映了microRNA在治疗动脉粥样硬化相关疾病中的潜力。上述研究结果提示，掌握与牙周病原体相关的microRNA表达模式将有利于发掘牙周致病菌与动脉粥样硬化之间真正的机制关联，为动脉粥样硬化疾病的预防及治疗提供新的思路。

3 总结

牙周致病菌如何加速动脉粥样硬化依然是当今的研究热点，现大部分机制研究着眼于内皮功能障碍、全身炎症、氧化应激、泡沫细胞形成、脂质积累、血管重塑和动脉粥样硬化等病理生化分析，而从表观遗传学水平上研究牙周致病菌如何通过microRNA影响心血管系统的具体调控机制目前尚处于探索阶段。例如牙周致病菌是直接侵入心血管系统引发microRNA水平变化进而调控相关基因表达，还是通过局部感染引发血液中microRNA水平升高间接作用于心血管系统？其中microRNA复杂而精细的调控网络有更加深入挖掘的价值。从另一角度上看，由于血清中microRNA水平的稳定性，将牙周病原体相关的microRNA表达模式与其他炎症性疾病引起的microRNA表达谱变化加以区分，有助于使这些非编码RNA成为具有诊断价值的生物标志物，并有望作为新的治疗靶点针对动脉粥样硬化相关疾病进行个性化治疗。

4 参考文献

- [1] Gibson FC 3rd, Yumoto H, Takahashi Y, et al. Innate immune signaling and *Porphyromonas gingivalis*-accelerated atherosclerosis[J]. J Dent Res, 2006, 85(2): 106-121.
- [2] Fabian MR, Sonnenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs[J]. Annu Rev Biochem, 2010, 79: 351-379.
- [3] Nahid MA, Pauley KM, Satoh M, et al. miR-146a is critical for endotoxin-induced tolerance: implication in innate immunity[J]. J Biol Chem, 2009, 284(50): 34590-34599.
- [4] Alam MM, O'Neill LA. MicroRNAs and the resolution phase of inflammation in macrophages[J]. Eur J Immunol, 2011, 41(9): 2482-2485.
- [5] Caescu CI, Guo X, Tesfa L, et al. Colony stimulating factor-1 receptor signaling networks inhibit mouse macrophage inflammatory responses by induction of microRNA-21[J]. Blood, 2015, 125(8): e1-e13.
- [6] Cheng Y, Du L, Jiao H, et al. Mmu-miR-27a-5p-dependent upregulation of MCPIP1 inhibits the inflammatory response in LPS-induced RAW264.7 macrophage cells[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 607692.
- [7] Lai L, Song Y, Liu Y, et al. MicroRNA-92a negatively regulates Toll-like receptor (TLR)-triggered inflammatory response in macrophages by targeting MKK4 kinase[J]. J Biol Chem, 2013, 288(11): 7956-7967.
- [8] Sun Y, Qin Z, Li Q, et al. MicroRNA-124 negatively regulates LPS-induced TNF- α production in mouse macrophages by decreasing protein stability[J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(7): 889-897.
- [9] Fan G, Jiang X, Wu X, et al. Anti-inflammatory activity of tanshinone IIA in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via miRNAs and TLR4-NF- κ B pathway[J]. Inflammation, 2016, 39(1): 375-384.
- [10] Huang L, Ma Q, Li Y, et al. Inhibition of microRNA-210 suppresses pro-inflammatory response and reduces acute brain injury of ischemic stroke in mice [J]. Exp Neurol, 2018, 300: 41-50.
- [11] Luan X, Zhou X, Trombetta-eSilva J, et al. MicroRNAs and periodontal homeostasis[J]. J Dent Res, 2017, 96(5): 491-500.
- [12] Lee YH, Na HS, Jeong SY, et al. Comparison of inflammatory microRNA expression in healthy and periodontitis tissues[J]. Biocell, 2011, 35(2): 43-49.
- [13] Xie YF, Shu R, Jiang SY, et al. Comparison of microRNA profiles of human periodontal diseased and healthy gingival tissues[J]. Int J Oral Sci, 2011, 3(3): 125-134.

- [14] Stoecklin-Wasmer C, Guarneri P, Celenti R, et al. MicroRNAs and their target genes in gingival tissues [J]. *J Dent Res*, 2012, 91(10): 934-940.
- [15] Ogata Y, Matsui S, Kato A, et al. MicroRNA expression in inflamed and noninflamed gingival tissues from Japanese patients[J]. *J Oral Sci*, 2014, 56(4): 253-260.
- [16] Venugopal P, Koshy T, Lavu V, et al. Differential expression of microRNAs let-7a, miR-125b, miR-100, and miR-21 and interaction with NF- κ B pathway genes in periodontitis pathogenesis[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(8): 5877-5884.
- [17] Amaral SA, Pereira TSF, Brito JAR, et al. Comparison of miRNA expression profiles in individuals with chronic or aggressive periodontitis[J]. *Oral Dis*, 2019, 25(2): 561-568.
- [18] Motedayen H, Ghotloo S, Saffari M, et al. Evaluation of microRNA-146a and its targets in gingival tissues of patients with chronic periodontitis[J]. *J Periodontol*, 2015, 86(12): 1380-1385.
- [19] Radović N, Nikolić Jakoba N, Petrović N, et al. MicroRNA-146a and microRNA-155 as novel crevicular fluid biomarkers for periodontitis in nondiabetic and type 2 diabetic patients[J]. *J Clin Periodontol*, 2018, 45(6): 663-671.
- [20] Yoneda T, Tomofuji T, Ekuni D, et al. Serum microRNAs and chronic periodontitis: a case-control study [J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 101: 57-63.
- [21] Tomofuji T, Yoneda T, Machida T, et al. MicroRNAs as serum biomarkers for periodontitis[J]. *J Clin Periodontol*, 2016, 43(5): 418-425.
- [22] Bagavad Gita J, George AV, Pavithra N, et al. Dysregulation of miR-146a by periodontal pathogens: a risk for acute coronary syndrome[J]. *J Periodontol*, 2019, 90(7): 756-765.
- [23] Guo M, Mao X, Ji Q, et al. miR-146a in PBMCs modulates Th1 function in patients with acute coronary syndrome[J]. *Immunol Cell Biol*, 2010, 88(5): 555-564.
- [24] Nahid MA, Rivera M, Lucas A, et al. Polymicrobial infection with periodontal pathogens specifically enhances microRNA miR-146a in ApoE $^{-/-}$ mice during experimental periodontal disease[J]. *Infect Immun*, 2011, 79(4): 1597-1605.
- [25] Xuan Y, Gao Y, Huang H, et al. Tanshinone IIA attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice infected with *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Inflammation*, 2017, 40(5): 1631-1642.
- [26] Jia R, Hashizume-Takizawa T, Du Y, et al. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* induces Th17 cells in atherosclerotic lesions[J]. *Pathog Dis*, 2015, 73(3). doi: 10.1093/femspd/ftu027.
- [27] Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(1): 30-44.
- [28] Urbich C, Kuehbacher A, Dimmeler S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation, and angiogenesis[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 79(4): 581-588.
- [29] Renzi TA, Rubino M, Gornati L, et al. MiR-146b mediates endotoxin tolerance in human phagocytes [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 145305.
- [30] Li X, Ji Z, Li S, et al. miR-146a-5p antagonized AGEs- and P.g-LPS-induced ABCA1 and ABCG1 dysregulation in macrophages via IRAK-1 downregulation[J]. *Inflammation*, 2015, 38(5): 1761-1768.
- [31] Molteni M, Bosi A, Saturni V, et al. MiR-146a induction by cyanobacterial lipopolysaccharide antagonist (CyP) mediates endotoxin cross-tolerance[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 11367.
- [32] Molteni M, Bosi A, Rossetti C. The effect of cyanobacterial LPS antagonist (CyP) on cytokines and micro-RNA expression induced by *Porphyromonas gingivalis* LPS[J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(7). doi: 10.3390/toxins10070290.
- [33] Honda T, Takahashi N, Miyauchi S, et al. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide induces miR-146a without altering the production of inflammatory cytokines[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 420(4): 918-925.
- [34] Tsai PC, Liao YC, Wang YS, et al. Serum microRNA-21 and microRNA-221 as potential biomarkers for cerebrovascular disease[J]. *J Vasc Res*, 2013, 50(4): 346-354.
- [35] Canfrán-Duque A, Rotllan N, Zhang X, et al. Macrophage deficiency of miR-21 promotes apoptosis, plaque necrosis, and vascular inflammation during atherogenesis[J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(9):

- 1244-1262.
- [36] Ruan Q, Wang P, Wang T, et al. MicroRNA-21 regulates T-cell apoptosis by directly targeting the tumor suppressor gene Tipe2[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1095.
- [37] Niu J, Shi Y, Tan G, et al. DNA damage induces NF- κ B-dependent microRNA-21 up-regulation and promotes breast cancer cell invasion[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(26): 21783-21795.
- [38] Shin VY, Jin H, Ng EK, et al. NF- κ B targets miR-16 and miR-21 in gastric cancer: involvement of prostaglandin E receptors[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(2): 240-245.
- [39] Das A, Ganesh K, Khanna S, et al. Engulfment of apoptotic cells by macrophages: a role of microRNA-21 in the resolution of wound inflammation[J]. *J Immunol*, 2014, 192(3): 1120-1129.
- [40] Ji R, Cheng Y, Yue J, et al. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of microRNA in vascular neointimal lesion formation[J]. *Circ Res*, 2007, 100(11): 1579-1588.
- [41] Perdigero E, Sousa-Victor P, Ruiz-Bonilla V, et al. p38/MKP-1-regulated AKT coordinates macrophage transitions and resolution of inflammation during tissue repair[J]. *J Cell Biol*, 2011, 195(2): 307-322.
- [42] Wu Z, Lu H, Sheng J, et al. Inductive microRNA-21 impairs anti-mycobacterial responses by targeting IL-12 and Bcl-2[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(16): 2459-2467.
- [43] Xue X, Qiu Y, Yang HL. Immunoregulatory role of microRNA-21 in macrophages in response to *Bacillus calmette-guerin* infection involves modulation of the TLR4/MyD88 signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(1): 91-102.
- [44] Zhou W, Su L, Duan X, et al. MicroRNA-21 down-regulates inflammation and inhibits periodontitis[J]. *Mol Immunol*, 2018, 101: 608-614.
- [45] Yang X, Pan Y, Xu X, et al. Sialidase deficiency in *Porphyromonas gingivalis* increases IL-12 secretion in stimulated macrophages through regulation of CR3, lncRNA GAS5 and miR-21[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, 8: 100.
- [46] Huck O, Al-Hashemi J, Poidevin L, et al. Identification and characterization of microRNA differentially expressed in macrophages exposed to *Porphyromonas gingivalis* infection[J]. *Infect Immun*, 2017, 85(3). doi: 10.1128/IAI.00771-16.
- [47] Na HS, Park MH, Song YR, et al. Elevated microRNA-128 in periodontitis mitigates tumor necrosis factor- α response via p38 signaling pathway in macrophages[J]. *J Periodontol*, 2016, 87(9): e173-e182.
- [48] Park MH, Park E, Kim HJ, et al. *Porphyromonas gingivalis*-induced miR-132 regulates TNF α expression in THP-1 derived macrophages[J]. *SpringerPlus*, 2016, 5: 761.
- [49] Naqvi AR, Fordham JB, Khan A, et al. MicroRNAs responsive to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* LPS modulate expression of genes regulating innate immunity in human macrophages[J]. *Innate Immun*, 2014, 20(5): 540-551.
- [50] Fordham JB, Naqvi AR, Nares S. miR-24 regulates macrophage polarization and plasticity[J]. *J Clin Cell Immunol*, 2015, 6(5). pii: 362.
- [51] Pessi T, Viiri LE, Raitoharju E, et al. Interleukin-6 and microRNA profiles induced by oral bacteria in human atheroma derived and healthy smooth muscle cells[J]. *Springerplus*, 2015, 4: 206.
- [52] Laffont B, Rayner KJ. MicroRNAs in the pathobiology and therapy of atherosclerosis[J]. *Can J Cardiol*, 2017, 33(3): 313-324.

(本文编辑 胡兴戎)