

## · 论 著 ·

**【编者按】** 牙周炎是一种以菌斑微生物感染为始动因素的慢性炎性疾病,大量流行病学和动物实验证实,牙周炎与心血管疾病有关,但牙周炎与心血管疾病的相关作用机制较为复杂,目前尚缺乏统一认识。张国明所在课题组通过 Chelex-100 法及聚合酶链反应提取动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中福赛斯坦纳菌 (Tf) DNA,初步探讨了牙周炎与动脉粥样硬化间的关系,提示动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中 Tf 有关。敬请关注!

## 动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中牙周致病菌的关系研究

张国明<sup>1</sup>, 何丽芸<sup>2</sup>, 阿扎玛提·阿扎提<sup>1</sup>, 马松峰<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的 分析动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中牙周致病菌的关系。方法 选取 2014 年 8 月—2015 年 10 月于新疆医科大学第一附属医院心脏外科行冠状动脉旁路移植术的冠心病并牙周炎患者 86 例,收集其动脉粥样硬化斑块及龈下菌斑。采用 Chelex-100 法及聚合酶链反应 (PCR) 提取动脉粥样硬化斑块及龈下菌斑中福赛斯坦纳菌 (Tf) DNA,计算动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf DNA 拷贝数,动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中 Tf 占比的相关性分析采用 Pearson 相关性分析。结果 动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 阳性检出率分别为 60.71%、80.21%。动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf DNA 测序结果符合 Genbank 数据库相应细菌标准序列,同源性达 99%。动脉粥样硬化斑块中 Tf DNA 拷贝数为  $(2.24 \times 10^2 \pm 1.52 \times 10^2)$  拷贝/ $\mu\text{l}$ , Tf 占比为  $(0.28 \pm 0.13)\%$ ; 龈下菌斑中 Tf DNA 拷贝数为  $(2.06 \times 10^3 \pm 1.18 \times 10^4)$  拷贝/ $\mu\text{l}$ , Tf 占比为  $(0.35 \pm 0.22)\%$ ; 动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 占比比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Pearson 相关性分析结果显示,动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中 Tf 占比呈正相关 ( $r = 0.498, P < 0.05$ )。结论 动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 阳性检出率均较高,动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 具有同源性,且动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中 Tf 相关。

**【关键词】** 冠状动脉疾病; 斑块, 动脉粥样硬化; 慢性牙周炎; 牙周菌斑; 福赛斯坦纳菌

**【中图分类号】** R 541.4 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2017.07.004

张国明, 何丽芸, 阿扎玛提·阿扎提, 等. 动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中牙周致病菌的关系研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25 (7): 13-17. [[www.syxnf.net](http://www.syxnf.net)]

ZHANG G M, HE L Y, AZHAMATI · Azhati, et al. Correlation of periodontal pathogen between atherosclerotic plaque and subgingival plaque [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2017, 25 (7): 13-17.

**Correlation of Periodontal Pathogen between Atherosclerotic Plaque and Subgingival Plaque** ZHANG Guo-ming<sup>1</sup>, HE Li-yun<sup>2</sup>, AZHAMATI · Azhati<sup>1</sup>, MA Song-feng<sup>1</sup>

1. The First Department of Pediatric Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

2. Central Operating Room, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Corresponding author: MA Song-feng, E-mail: [quellasweet@163.com](mailto:quellasweet@163.com)

**【Abstract】** **Objective** To analyze the correlation of periodontal pathogen between atherosclerotic plaque and subgingival plaque. **Methods** From August 2014 to October 2015, a total of 86 coronary heart disease patients complicated with periodontitis were selected in the Department of Cardiac Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, all of them received coronary artery bypass grafting, atherosclerotic plaque and subgingival plaque were collected. Chelex-100 method and PCR were used to extract DNA of *Tannerella forsythensis* (Tf) in atherosclerotic plaque and subgingival plaque, copies of Tf DNA was calculated in atherosclerotic plaque and subgingival plaque, respectively, and Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation of Tf ratio between atherosclerotic plaque and subgingival plaque. **Results** Positive detection rate of Tf was 60.71% and 80.21% in atherosclerotic plaque and subgingival plaque, respectively. Sequencing analysis results showed that, Tf DNA sequence in atherosclerotic plaque and subgingival plaque was accord with the standard sequence in Genbank, the homologous rate was 99%. Copies of Tf DNA was  $(2.24 \times 10^2 \pm 1.52 \times 10^2)$  copies/ $\mu\text{l}$  [accounting for  $(0.28$

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (2016D01C336)

1. 830054 新疆乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院儿外一病区

2. 830054 新疆乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院中心手术室

通信作者: 马松峰, E-mail: [quellasweet@163.com](mailto:quellasweet@163.com)

$\pm 0.13\%$ )] in atherosclerotic plaque, copies of Tf DNA was  $(2.06 \times 10^3 \pm 1.18 \times 10^4)$  copies/ $\mu\text{l}$  [ accounting for  $(0.35 \pm 0.22)\%$  ]; the difference of Tf ratio was statistically significantly different between atherosclerotic plaque and subgingival plaque ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis results showed that, Tf ratio in atherosclerotic plaque was positively correlated with that in subgingival plaque ( $r = 0.498, P < 0.05$ ). **Conclusion** Positive detection rate of Tf is relatively high in atherosclerotic plaque and subgingival plaque, respectively, Tf in atherosclerotic plaque and in subgingival plaque homologous and correlative.

**【 Key words 】** Coronary disease; Plaque, atherosclerotic; Chronic periodontitis; Dental plaque; *Tannerella forsythensis*

近年来,随着社会经济的快速发展,人口老龄化进程加剧,人们生活水平和生活方式发生改变,冠心病发病率呈逐年上升趋势。研究表明,动脉粥样硬化(AS)是导致冠心病的主要危险因素<sup>[1]</sup>。AS是一种长期且复杂的血管病变,是以血管内皮功能障碍、血管内膜过度纤维化、平滑肌细胞增殖及脂质斑块形成为主的慢性炎症反应,也是由于遗传因素、血管内皮功能损伤及相关炎症反应等共同作用的结果<sup>[2]</sup>。研究表明,炎症反应参与了AS的发生、发展及斑块形成和破裂的整个过程<sup>[3]</sup>;炎症疾病或慢性感染可能与AS的发生、发展有关<sup>[4]</sup>。也有研究表明,牙周炎与AS有共同的危险因素,如遗传、吸烟、年龄、糖尿病及精神压力等<sup>[5-6]</sup>。本研究对动脉粥样硬化斑块及龈下菌斑中的牙周致病菌进行检测,旨在探讨动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中牙周致病菌的关系,现报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 选取2014年8月—2015年10月于新疆医科大学第一附属医院心脏外科行冠状动脉旁路移植术的冠心病并牙周炎患者86例,其中男66例,女20例;年龄42~76岁,平均年龄 $(58.5 \pm 17.7)$ 岁。排除标准:(1)伴有其他全身系统性疾病者;(2)近3个月内使用肾上腺皮质激素、抗生素、性激素及避孕药者。本研究经新疆医科大学第一附属医院医学伦理委员会审核批准,患者及其家属均签署知情同意书。

**1.2 诊断标准** (1)冠心病诊断标准:经冠状动脉造影检查显示 $\geq 1$ 支冠状动脉直径狭窄率 $\geq 50\%$ 。(2)牙周炎诊断标准:参照文献[7]中的牙周炎诊断标准进行判定,冠状动脉旁路移植术前1周内由牙周专科医生测量全口牙周袋深度(PD)和临床附着丧失(CAL)。

## 1.3 试剂与仪器

**1.3.1 主要试剂** 5% Chelex-100 由美国 Sigma 公司提供;蛋白酶 K 和 2 × Power Tap PCR MasterMix 由上海生工生物工程股份有限公司提供;琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒由北京百泰克生物技术有限公司提供;高纯质粒小量制备试剂盒(离心柱型),新型 pUM-T 快速克隆试剂盒和 DH5 $\alpha$  感受态细胞由大连宝生物工程有限公司提供;福赛斯坦纳菌(Tf)标准菌株由新疆医科大学重点实验室提供;Tf 的 16SrRNA 特异性引物序列按照引物设计原则由北京六合华大基因科技有限公司合成(上游

引物序列为 5'-GTCGGACTAATACCTCATAAAACA-3',下游引物序列为 5'-TCGCCCATTGACCAATATT-3',扩增的目的片段长度为 222 bp),上、下游引物序列均与基因库相比较以确保其特异性,内参基因引物为总细菌的通用引物,根据细菌 16SrDNA 的特异性保守序列设计,引物由北京六合华大基因科技有限公司合成。

**1.3.2 主要仪器** Gel Doc2000 型凝胶成像仪和实时荧光定量 PCR 仪由美国 Bio-Rad 公司提供;-80 °C 超低温冰箱由美国 Thermo 公司提供;低温高速台式离心机由美国 Thermo 公司提供;DYY-7C 型核酸电泳仪由北京六一仪器厂提供;TU-1901 型紫外分光光度计由北京普析通用仪器有限公司提供;GAP-9080 隔水式恒温培养箱由上海一恒科学仪器有限公司提供。

## 1.4 方法

**1.4.1 标本采集** (1)医师在冠状动脉旁路移植术中通过冠状动脉内膜切除术收集动脉粥样硬化斑块,动脉粥样硬化斑块取出后迅速放入无菌试管中,置于-80 °C 超低温冰箱冻存。(2)龈下菌斑标本:冠状动脉旁路移植术前1周,由牙周专科医师进行牙周检查,选取患者4个 PD $\geq 5$  mm 位点,用无菌龈上刮治器去除取样牙齿的龈上菌斑,棉卷隔湿干燥后,用另一无菌龈下刮治器插入龈沟底采集龈下菌斑,置入无菌 EP 管中,于-80 °C 超低温冰箱保存。

**1.4.2 DNA 提取** 将标本取出后于室温下解冻,取龈下菌斑和经充分剪碎研磨的动脉粥样硬化斑块 100 mg,置入无菌 EP 管中,分别加入 5% Chelex-100 150  $\mu\text{l}$  和蛋白酶 K 4  $\mu\text{l}$ ,用旋涡混合器混匀 10 min,于 100 °C 水浴箱中水浴 10 min,冰上放置 1 min,室温下以 12 500 r/min 离心 10 min,取上清液,置于-20 °C 冰箱保存。

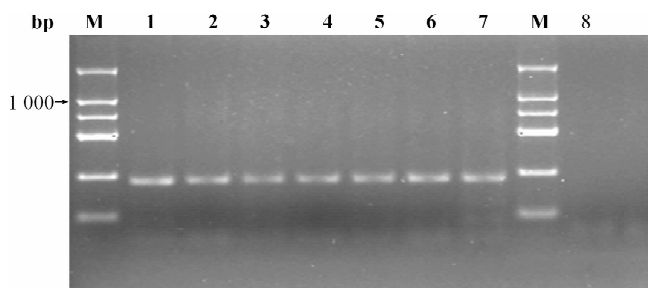
**1.4.3 聚合酶链反应(PCR)方法** (1)PCR 反应体系:总反应体系 40  $\mu\text{l}$ , 2 × Power Tap PCR MasterMix 20  $\mu\text{l}$ , DNA 模板 8  $\mu\text{l}$ , 上下游引物各 1.0  $\mu\text{l}$  (10 pmol/ $\mu\text{l}$ ), 无菌去离子水补足总体积至 40  $\mu\text{l}$ 。(2)PCR 反应条件:95 °C 预变性 3 min 后进入主循环,其中 95 °C 预变性 30 s、退火 30 s、72 °C 延伸 40 s (经 34 个循环),末次 72 °C 延伸 5 min 终止反应。(3)PCR 反应产物电泳:取 PCR 扩增产物 3  $\mu\text{l}$ ,加 2  $\mu\text{l}$  载样缓冲液点样于 2% 琼脂糖凝胶中,以 Tf 标准菌株为阳性对照,以加入无菌去离子水为模板的反应体系为空白对照;电压 100

V, 电泳 30 min, 在 Gel Doc2000 型凝胶成像仪下观察扩增情况。将动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中测到的牙周致病菌基因的 PCR 产物送往北京六合华大基因科技有限公司进行测序, 测序结果应用 Blast 软件与 Genbank 数据库中的标准序列进行比对分析, 确定序列来源。(4) 实时荧光定量 PCR: 采用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒纯化 PCR 产物, 后置于 -20 °C 冰箱保存待测; 利用新型 pUM-T 快速克隆试剂盒使 pUM-T 与目的 DNA 片段连接, 进行蓝白斑筛选, 选择在 IPTG/X-gal 平板上生长的白色菌落并将其挑至含培养基的试管中, 置入 37 °C 摇床震荡培养, 200 r/min 震荡培养过夜, 提取质粒, 构建质粒标准品。(5) 标准曲线建立: 将构建好的 Tf 重组质粒和内参标准品质粒分别进行 10 倍梯度稀释, 共稀释 5 个浓度梯度; 以不出现非特异性扩增产物, 扩增效率为 90% ~ 105%; 每份标本上机时需并行 5 份: Tf 和内参基因梯度稀释的标准品及动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中的 Tf, 内参基因分别扩增, 均做复管。(6) 根据拷贝数公式计算动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf DNA 拷贝数,  $Tf\ DNA\ 拷贝数 = (mol\ 数 / \mu l) \times 6.02 \times 10^{23} = [质量 (g) / 分子量] / \mu l \times 6.02 \times 10^{23} = [质量 (ng) \times 10^{-9} / 分子量] / \mu l \times 6.02 \times 10^{23} = 浓度 (ng / \mu l) \times 6.02 \times 10^{14} / 分子量$ 。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理, 计数资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 采用 *t* 检验; 相关性分析采用 Pearson 相关性分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

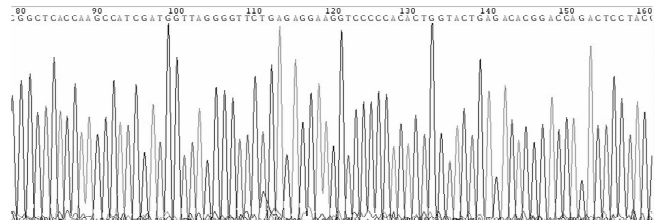
2.1 动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 的检出情况 动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 阳性检出率分别为 60.71%、80.21%。动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf PCR 扩增产物电泳结果见图 1; 动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf DNA 测序结果符合 Genbank 数据库相应细菌标准序列, 同源率达 99% (见图 2)。



注: M 为 DNA Marker; 1 为阳性对照, 福赛斯坦菌 (Tf) 标准菌株; 2、3、4 为动脉粥样硬化斑块中扩增的 Tf; 5、6、7 为龈下菌斑中扩增的 Tf; 8 为空白对照, 无菌去离子水

图 1 Tf PCR 扩增产物电泳图

Figure 1 Electrophoretogram of PCR amplified product of Tf



注: Tf: CACCCCGCTCGCATGTGGCTATTGTTAAGTTTATTGGTTGCGGATGGGCAT GCGTA CCATTAGGTAGTTGTTGAGGTAACGGCTACCAAGCCATCGATGGTTAGGGTTCTGAGAGGAAGTCCCCCACTGTTACTGAGACACGGACCAGACTCTACGGGAGGCAGCACTGAGGAATATTGTTCAATGGCGCA

图 2 Tf PCR 扩增产物基因测序结果

Figure 2 Gene sequencing results of PCR amplified product of Tf

2.2 实时荧光定量 PCR 结果 内参基因溶解曲线无杂峰, 产物单一 (见图 3A); 内参基因标准曲线扩增效率为 100.2%, 决定系数  $r^2 = 0.999$  (见图 3B); 目的基因 Tf 溶解曲线见图 3C; 目的基因标准曲线扩增效率为 113.6%, 决定系数  $r^2 = 0.999$  (见图 3D)。内参基因和目的基因标准曲线线性关系及扩增效率较好, 标准曲线构建成功。

2.3 Tf DNA 拷贝数和 Tf 占比 动脉粥样硬化斑块中 Tf DNA 拷贝数为  $(2.24 \times 10^2 \pm 1.52 \times 10^2)$  拷贝/ $\mu l$ , 龈下菌斑中 Tf DNA 拷贝数为  $(2.06 \times 10^3 \pm 1.18 \times 10^4)$  拷贝/ $\mu l$ ; 动脉粥样硬化斑块中 Tf 占比为  $(0.28 \pm 0.13)\%$ , 龈下菌斑中 Tf 占比为  $(0.35 \pm 0.22)\%$ , 动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 占比比较, 差异有统计学意义 ( $t = 3.717, P < 0.05$ )。Pearson 相关性分析结果显示, 动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中 Tf 占比呈正相关 ( $r = 0.498, P < 0.05$ , 见图 4)。

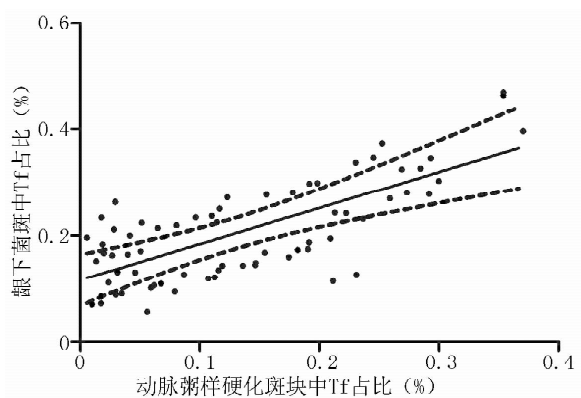
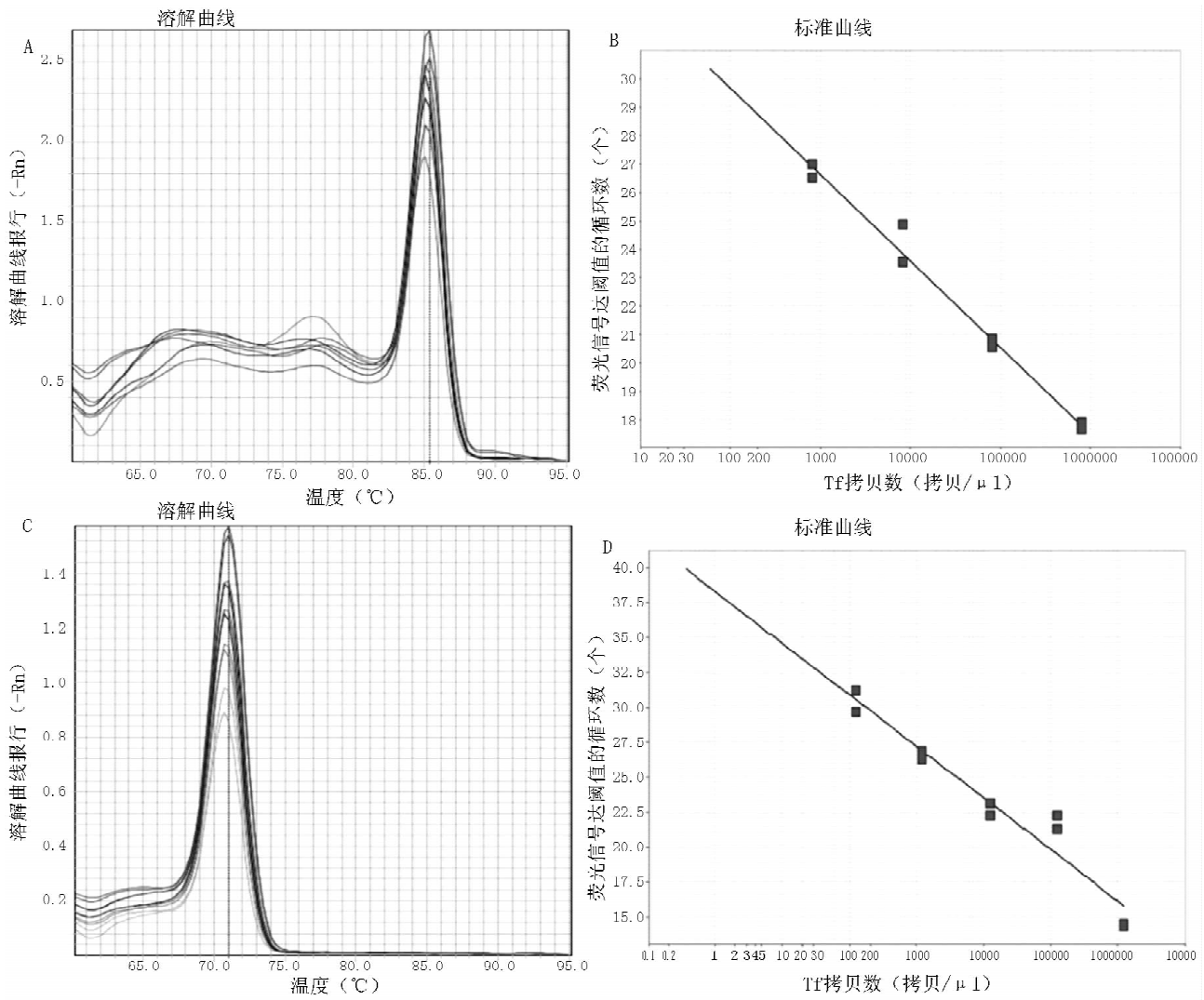


图 4 动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中 Tf 关系的散点图

Figure 4 Scatter diagram for correlation of Tf between atherosclerotic plaque and subgingival plaque



注: A 为内参基因溶解曲线, B 为内参基因标准曲线, C 为目的基因溶解曲线, D 为目的基因标准曲线

图3 Tf 实时荧光定量 PCR 扩增曲线

Figure 3 Real-time fluorescence quantification PCR amplification curve for Tf

### 3 讨论

冠心病是临床常见的心血管疾病,其主要病理改变为进行性 AS 及血栓形成,严重危及人们的生命健康及生活质量。近年研究表明,局部或系统慢性炎症可能导致机体产生一系列细胞因子及免疫反应,包括炎性细胞浸润、炎性因子过度表达等,同时炎性因子可参与细胞调节、血管重塑并在 AS 发生发展过程中发挥着重要作用,会增加心血管疾病的发生风险<sup>[1-8]</sup>。

牙周炎是常见的感染性疾病之一,也是导致成年人牙齿丧失的主要原因,是口腔健康的“头号杀手”。牙周病原菌微生物可刺激单核巨噬细胞产生炎性递质,促进血小板聚集,破坏血管上皮细胞完整性;同时还可促使炎性细胞浸润、胆固醇及胆固醇脂质沉积,导致单核巨噬细胞聚集、吞噬脂类形成泡沫细胞、纤维蛋白沉积,进而形成斑块。研究表明,牙周炎可能是冠心病的

潜在危险因素<sup>[9]</sup>;牙周致病菌及其代谢产物脂多糖会激活单核/巨噬细胞系统而释放多种炎性因子,导致 AS 的发生风险增加 25%<sup>[10-11]</sup>。

目前,随着现代医学的发展,AS 的发生机制研究已深入到分子生物学领域,通过检测发现动脉粥样硬化斑块中存在多种常见口腔微生物 DNA,包括牙龈卟啉单胞菌、Tf、中间普氏菌、伴放线杆菌等<sup>[12-13]</sup>。CHIU<sup>[14]</sup>研究发现,动脉粥样硬化斑块中测出的牙龈卟啉单胞菌、Tf、中间普氏菌等常存在于斑块不稳定部位,并伴有溃疡及血栓形成,其周围邻近血管壁细胞常富含凋亡小体,提示牙周的常见致病菌可能参与动脉粥样硬化斑块的发生发展。TUOMAINEN 等<sup>[15]</sup>研究表明,牙周致病菌可通过引发炎症反应、脂蛋白代谢紊乱、血管基质重塑而促进 AS 的发生发展。国内研究表明,冠心病合并重度牙周炎患者动脉粥样硬化斑块及龈下菌斑

中的牙周致病菌检出率高于冠心病合并轻度牙周炎患者,提示牙周致病菌与 AS 间存在相关性<sup>[16-17]</sup>。动物实验研究表明,牙周炎兔的动脉血管壁上存在较多脂质沉积,且沉积程度与牙周炎的严重程度呈正相关<sup>[18]</sup>。Tf 是目前公认的牙周炎三大主要致病菌之一,检出率较高<sup>[19-21]</sup>。

本研究结果显示,动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中均检出 Tf 的 DNA,阳性检出率分别为 60.71%、80.21%;动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 的 DNA 测序与 Tf 标准序列同源性达 99%;动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 占总菌的比值间存在差异;动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中的 Tf 呈正相关,提示动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中均存在 Tf,动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中的 Tf 有相关性。

综上所述,动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 阳性检出率均较高,动脉粥样硬化斑块和龈下菌斑中 Tf 具有同源性,且动脉粥样硬化斑块与龈下菌斑中 Tf 相关。

作者贡献:张国明、马松峰进行试验设计与实施、资料收集整理、撰写论文、成文并对文章负责;何丽芸、阿扎玛提·阿扎提进行试验实施、评估、资料收集;马松峰进行质量控制及审校。

本文无利益冲突。

#### 参考文献

- [1] RAFIEIAN - KOPAEI M, SETORKI M, DOUDI M, et al. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes [J]. *Int J Prev Med*, 2014, 5 (8): 927-946.
- [2] TUTTOLOMONDO A, DI RAIMONDO D, PECORARO R, et al. Atherosclerosis as an inflammatory disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18 (28): 4266-4288.
- [3] PAQUETTE D W, BRODALA N, NICHOLS T C. Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection [J]. *Periodontol*, 2007, 44: 113-126. DOI: 10. 1111/j. 1600-0757. 2006. 00196. x.
- [4] BRIGGS J E, MCKEOWN P P, CRAWFORD V L, et al. Angiographically confirmed coronary heart disease and periodontal disease in middle-aged males [J]. *J Periodontol*, 2006, 77 (1): 95-102. DOI: 10. 1902/jop. 2006. 77. 1. 95.
- [5] LOWE G D. Local inflammation, endothelial dysfunction and fibrinolysis in coronary heart disease [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2006, 110 (3): 327-328. DOI: 10. 1042/CS20060002.
- [6] PASTORI D, CARNEVALE R, PIGNATELLI P. Is there a clinical role for oxidative stress biomarkers in atherosclerotic diseases? [J]. *Intern Emerg Med*, 2014, 9 (2): 123-131. DOI: 10. 1007/s11739-013-0999-6.
- [7] ARMITAGE G C, WU Y F, WANG H Y, et al. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage [J]. *Periodontol*, 2000, 71 (2): 164-171. DOI: 10. 1902/jop. 2000. 71. 2. 164.
- [8] SALISBURY D, BRONAS U. Inflammation and immune system contribution to the etiology of atherosclerosis: mechanisms and methods of assessment [J]. *Nurs Res*, 2014, 63 (5): 375-385. DOI: 10. 1097/NNR. 0000000000000053.
- [9] 张源明, 钟良军, 何秉贤, 等. 冠心病和慢性牙周炎相关性研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2006, 27 (3): 256-259. DOI: 10. 3760/j. issn: 0254-6450. 2006. 03. 018.
- [10] OUYANG X Y. Association between periodontal disease and coronary heart disease [J]. *Beijing Da Xue Xue Bao*, 2008, 40 (1): 112-115.
- [11] LIBBY P, RIDKER P M, HANSSON G K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis [J]. *Nature*, 2011, 473 (7347): 317-325. DOI: 10. 1038/nature10146.
- [12] FIEHN N E, LARSEN T, CHRISTIANSEN N, et al. Identification of periodontal pathogens in atherosclerotic vessels [J]. *J Periodontol*, 2005, 76 (5): 731-736. DOI: 10. 1902/jop. 2005. 76. 5. 731.
- [13] AIMETTI M, ROMANO F, NESSI F. Microbiologic analysis of periodontal pockets and carotid atheromatous plaques in advanced chronic periodontitis patients [J]. *J Periodontol*, 2007, 78 (9): 1718-1723. DOI: 10. 1902/jop. 2007. 060473.
- [14] CHIU B. Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques [J]. *Am Heart J*, 1999, 138 (5 Pt 2): S534-536.
- [15] TUOMAINEN A M, JAUHAINEN M, KOVANEN P T, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans induces MMP-9 expression and proatherogenic lipoprotein profile in apoE-deficient mice [J]. *Microb Pathog*, 2008, 44 (2): 111-117. DOI: 10. 1016/j. micpath. 2007. 08. 011.
- [16] 刘冬宇, 丁芳, 曹莹, 等. 颈动脉粥样硬化斑块中牙周可疑致病菌的检测 [J]. *心脑血管病杂志*, 2013, 32 (2): 186-189. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-5062. 2013. 02. 023.
- [17] 张彦红, 李欣, 刘凤丽, 等. 牙周炎患者高血压和颈动脉粥样硬化发病情况及其关系研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2016, 24 (9): 12-15. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-5971. 2016. 09. 003.
- [18] 王洲, 张明珠, 喻卓, 等. 牙周炎对动脉粥样硬化影响的动物实验研究 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2012, 30 (3): 308-313. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-1182. 2012. 03. 021.
- [19] VAN WINKELHOFF A J, LOOS B G, VAN DER REIJDEN W A, et al. Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction [J]. *J Clin Periodontol*, 2002, 29 (11): 1023-1028.
- [20] OTT S J, EL MOKHTARI N E, MUSFELDT M, et al. Detection of diverse bacterial signatures in atherosclerotic lesions of patients with coronary heart disease [J]. *Circulation*, 2006, 113 (7): 929-937. DOI: 10. 1161/CIRCULATIONAHA. 105. 579979.
- [21] SPAHR A, KLEIN E, KHUSEYINOVA N, et al. Periodontal infections and coronary heart disease: role of periodontal bacteria and importance of total pathogen burden in the Coronary Event and Periodontal Disease (CORODONT) study [J]. *Arch Intern Med*, 2006, 166 (5): 554-559. DOI: 10. 1001/archinte. 166. 5. 554.

(收稿日期: 2017-03-27; 修回日期: 2017-07-09)

(本文编辑: 李洁晨)