

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.16.040

牙龈卟啉单胞菌 fimA 基因型的研究进展*

邓舒婷 综述, 张 纲[△] 审校

(第三军医大学新桥医院口腔科, 重庆 400037)

[关键词] 牙龈卟啉单胞菌; fimA 基因型; 研究; 进展

[中图分类号] R378.99

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)16-2285-03

牙周炎为致病微生物感染导致的慢性牙周疾病, 致病微生物能够损伤牙齿支持组织^[1]。牙周炎和多种全身系统性疾病存在着较为密切的关系, 已成为肺部感染、心血管疾病以及糖尿病等多种疾病的发病危险因素^[2]。在导致牙周炎的菌类中, 牙龈卟啉单胞菌(*P. Gingivalis*) 是重要的类别, 基因遗传的多态性为其致病性差异的主要因素。*P. Gingivalis* 的毒力因子主要为菌毛, 是其侵入、损伤牙周组织的重要结构^[3]。资料显示, *P. Gingivalis* 菌毛亚基菌毛素主要的编码基因为 fimA 基因, 该基因对 *P. Gingivalis* 的致病能力具有决定性作用^[4]。研究证明, 不同 fimA 基因型, 其致病能力也存在着较大差异^[5-8]。研究 fimA 基因型 *P. Gingivalis* 的致病特点, 对于预防、治疗慢性牙周炎, 避免患者牙齿丢失, 具有重要的现实意义。

1 *P. Gingivalis* fimA 基因型

Fujiwara 等^[6]把 *P. Gingivalis* fimA 基因分为 fimA I 型、II 型、III 型、IV 型(下称 I、II、III、IV 型)。Nakagawa 等^[7]发现 fimA V 型 *P. Gingivalis*(下称 V 型)及 fimA Ib 亚型(下称 I b 亚型), 且推测 I b 亚型可能是 I 型的克隆变形。

2 不同 fimA 基因型 *P. Gingivalis* 的结构特征

1984 年, Yoshimura 等^[9]研究发现 *P. Gingivalis* 细胞壁存在三层高密度结构, 细胞膜存在两层每层 3 nm 的高密度暗区, 细胞间具有菌毛(纤毛状结构)。Umamoto 等^[10]通过电镜发现灭活菌毛编码基因菌体表面主要菌毛结构多且短而细, 并且既也不黏附宿主细胞, 也不表达亚基蛋白。但次要菌毛则多而长, 且菌毛编码基因灭活后菌体表面也不表达次要菌毛, 提示菌体表面结构决定于菌毛编码基因之间的差异, 进而导致 fimA 基因型不同的 *P. Gingivalis* 致病能力各不相同。Kristofersen 等^[11]观察表明 I 型菌体表面存在放射性菌毛, 且存在荚膜(约为 36 nm)。II 型菌体表面菌毛较为致密, 荚膜约为 18 nm。IV 型表面菌毛不明显, 荚膜约为 10 nm。Kuboniwa 等^[12]研究发现 I 型 *P. Gingivalis* 的生物膜形成分散状单层基底小菌落; Ib 型菌株的生物膜形成的菌落则相对较小, 且呈分散状斑片状; II 型菌株的生物膜相对较厚, 菌落广泛成群, 高且大小不一。III 型菌株的生物膜致密而厚, 形成的菌落高大且成群; IV 型菌株的生物膜呈通道状均匀丛集, 内含的微生物菌群大而高; 与 III 型、IV 型菌株形成的生物膜相比较, V 型菌株的生物膜尽管密度相对较低, 但其菌落形状高而厚。除此之外, 各种 fimA 型内的微生物含量也各自不同。由于 II 型、III 型、IV 型菌株生物膜的拓展比 I 型、I b 型范围较大, 其中所含的微生物量也就更多, V 型菌株生物膜则使得微生物的体积更大。

3 *P. Gingivalis* fimA 不同基因型在人群中的分布3.1 *P. Gingivalis* fimA 不同基因型在不同地区人群中的分

布 赵蕾等^[13]研究发现, 牙周健康者主要检出 fimA I 型, 慢性牙周炎患者检出类型依次为 fimA II 型、fimA IV 型、fimA Ib 型, fimA 型分布和不同人群的基因背景间的差异关系密切。赵蕾等证明, fimA II 型、IV 型 *P. Gingivalis* 和慢性牙周炎关系密切。Amono 等^[14]日本牙周炎患者 *P. Gingivalis* 阳性标本中 66.1% 的为 II 型, 其次为 IV 型。日本健康人 *P. Gingivalis* 阳性标本中 76.1% 的为 I 型, 其次为 V 型。Beikler 等^[15]研究高加索人牙周炎致病菌, 结果表明, 其牙周炎患者中主要存在 I、II、IV 型 *P. Gingivalis*, 但与牙周炎的严重程度无直接的关系。研究发现, 与其他 *P. Gingivalis* 菌株相比较, II 型基因不但比其他基因型分布更普遍, 且其致病能力也最强^[16]。Moon 等^[17]证明, 在韩国, II 型 *P. Gingivalis* 不但在牙周疾病患者中具有较高的检出率, 在正常人也具有较高的检出率。陈晓涛等^[18]研究新疆地区维吾尔族人牙周炎龈下菌斑, 其中龈下菌斑 *P. Gingivalis* 检出率为 76.9%, II 型、IV 型在感染 *P. Gingivalis* 患者中检出率依次为 37.5%、22.5%。王东麟等^[19]研究认为, 新疆维吾尔族兼具东方蒙古人种与白色人种的基因特征, 故其 fimA 型主要存在 II 型、IV 型两种形式。

3.2 *P. Gingivalis* fimA 不同基因型在不同年龄人群中的分布 李炜等^[20]发现不同年龄段, 不同年龄人群 fimA 型检出率也不尽相同。Hayashi 等^[21]分析日本 2~15 岁儿童牙周疾病患者, 发现在牙龈炎患儿中, II 型、IV 型 *P. Gingivalis* 检出率最高, 在牙周炎患儿中, I b 亚型、IV 型检出率最高, 分析小儿龈下菌斑发现, I~IV 型检出率依次为 26.67%、6.67%、13.33%、20.00%, 并且 IV 型只存在与较大年龄患病儿童之中, 其分布情况与较大年龄患病儿童与其发病情况存在一定的相关性。

4 *P. Gingivalis* fimA 不同基因型致病机制

4.1 *P. Gingivalis* 的致病机制 在菌毛、牙龈素等毒力因子的作用下, *P. Gingivalis* 可引发牙龈上皮细胞发生形态功能的变化, 或以细胞旁路连接细胞与水解细胞、细胞外基质, 并破坏细胞以及细胞外基质, 导致牙龈上皮屏障损伤^[22]。Dogan 等^[23]研究发现, *P. Gingivalis* 能够侵入牙龈内的 HGFs(成纤维细胞), 导致细胞发生空泡样变及线粒体断裂, 引发成纤维细胞死亡。Fournier-Larente 等^[24]研究证明, *P. Gingivalis* 能够破坏上皮细胞层, 进入皮下纤维细胞层。此外, *P. Gingivalis* 菌毛、LPS、蛋白酶及代谢产物均可导致牙齿支持组织丢失。近几年来, 研究者们逐渐认识到破坏牙周组织的主要因素为致病微生物及其产物导致的宿主过度免疫反应。

病理条件下菌毛、牙龈素等毒力因子可打破基质金属蛋白酶(MMPs)的动态平衡, 破坏结缔组织。在 *P. Gingivalis*、外膜

* 基金项目: 军队“十二五”面上课题(CWS12J096)。 作者简介: 邓舒婷(1988-), 硕士, 医师, 主要从事口腔颌面外科研究。 △ 通信作者, E-mail: xqykqk@163.com。

蛋白、牙龈素、LPS 等作用下, MMPs 活化水平升高, MMPs 表达增强^[25]。在毒力因子作用下, *P. Gingivalis* 可过度表达 HGFs 并促进 MMPs 活化, 破坏合成纤维细胞与胞外基质降解间的平衡, 破坏牙周结缔组织。HGFs 能够通过特异性受体和 *P. Gingivalis* 之间的作用, 参与到局部免疫反应之中。 *P. Gingivalis* 及其毒力因子能够和 HGFs 表面的 Toll 样受体以及 MyD-88 等作用, 激活细胞内 HGFs 信号传导通道, 调节 MCP-1、IL-6 等炎性介质的表达, 导致牙周疾病^[26]。

4.2 *P. Gingivalis* fimA 不同基因型致病机制 在各种 *fimA* 基因型中, II 型具有极强的毒力, 正是因为这种极强的毒力, 才使得 II 型的致病性非常强。 Gao 等^[27] 证明, 与 I 型相比较, II 型促使巨噬细胞生成 IL-6、TNF- α 等炎性因子的能力更强。王惠宁^[28] 发现, II 型、IV 型可促进生成 MMP-8、MMP-9, 并最终使 MMP-8、MMP-9 水平显著高于 III 型。 MMP-8、MMP-9 可分解牙周组织内的明胶、弹性蛋白酶、I、II、IV 型胶原, MMP-8 以及 MMP-9 水平的提高能够显著提高牙周组织的破坏水平。 Mantri 等^[29] 学者研究发现, *P. Gingivalis* 作用于上皮细胞, 能够降解焦点黏附激酶、黏附信号分子、Catenins 等, 使上皮细胞之间分离, 并且不同类型的菌株其破坏能力也各不相同。苗棣等^[30] 研究结果表明, *P. Gingivalis* 能够分解上皮细胞之间的连接成分, 解除上皮细胞完整性, 并且 II 型 *P. Gingivalis* 分解上皮细胞之间连接蛋白的水平显著高于其他 *fimA* 型。

研究发现, II 型 *P. Gingivalis* 毒力及致病性较强的原因为: (1) II 型黏附、侵入人上皮细胞的能力强, 重组 II 型微球体黏附具有较强的黏附 HEP-2 细胞(人上皮细胞系细胞)的能力^[31]; (2) II 型促进胞间黏附物质分解、去磷酸化胞间 FAK 的作用强^[32]; (3) II 型对表达细胞因子的刺激作用强^[33]; (4) II 型延缓组织创口愈合的能力强^[33]; (5) II 型可促进较强的炎症反应^[34]。

P. Gingivalis *fimA* 基因分为 *fimA* I 型、II 型、III 型、IV 型、V 型及 *fimA* I b 亚型; 不同 *fimA* 基因型 *P. Gingivalis* 的结构特征不同, 其致病能力也各不相同, 其中 II 型毒力最强; *P. Gingivalis* *fimA* 不同基因型在不同地区人群中的分布不同, *fimA* II 型、IV 型 *P. Gingivalis* 和慢性牙周炎关系密切; 菌毛、牙龈素等毒力因子是 *Gingivalis* *fimA* 的重要致病因素。

参考文献

- [1] 张大风, 黄盛斌. 盐酸米诺环素软膏联合替硝唑治疗慢性牙周炎的临床疗效及安全性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(8): 590-591.
- [2] 马超. 米诺环素辅助治疗慢性牙周炎临床疗效及安全性评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(14): 1405-1406.
- [3] 杨炳涛, 徐菁玲, 和璐, 等. 伴糖尿病牙周炎患者牙龈卟啉单胞菌 *FimA* 基因型的检测[J]. 中华口腔医学杂志, 2016, 51(1): 20-24.
- [4] Feng X, Zhang L, Xu L, et al. Detection of 8 periodontal microorganisms and distribution of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* genotypes in chinese patients with aggressive periodontitis[J]. *Periodonto*, 2014, 85(1): 150-159.
- [5] Enersen MK, Nakano A, Amano Olguin D. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae[J]. *Mol Oral Microbiol*, 2013, 5(28): 204-218.
- [6] Fujiwara T, Nakagawa I, Morishima S, et al. Inconsistency between the fimbriin gene and the antigenicity of lipopolysaccharides in selected strains of *Porphyromonas gingivalis*[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1994, 124(3): 333-341.
- [7] Nakagawa I, Amano A, Kimura RK, et al. Distribution and molecular characterization of *Porphyromonas gingivalis* carrying a new type of *fimA* gene[J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(5): 1909-1914.
- [8] Nakagawa I, Amano A, Ohara-Nemoto Y, et al. Identification of a new variant of *fimA* gene of *Porphyromonas gingivalis* and its distribution in adults and disabled populations with periodontitis[J]. *J Periodont Res*, 2002, 37(6): 425-432.
- [9] Yoshimura F, Takahashi K, Nodasaka Y, et al. Purification and characterization of a novel type of fimbriae from the oral anaerobe *Bacteroides gingivalis*[J]. *J Bacteriol*, 1984, 160(3): 949-957.
- [10] Umemoto T, Hamada N. Characterization of biologically active cell surface components of a periodontal pathogen: The roles of major and minor fimbriae of *Porphyromonas gingivalis*[J]. *J Periodontol*, 2003, 74(1): 119-122.
- [11] Kristoffersen AK, Solli SJ, Nguyen TD, et al. Association of the *rgpB* gingipain genotype to the major fimbriae (*fimA*) genotype in clinical isolates of the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*[J]. *J Oral Microbiol*, 2015, 18(7): 29124.
- [12] Kuboniwa M, Amano A, Inaba H, et al. Homotypic biofilm structure of *Porphyromonas gingivalis* is affected by *fimA* type variations[J]. *Oral Microbiol Immunol*, 2009, 24(3): 260-263.
- [13] 赵蕾, 吴亚菲, 杨禾, 等. 成人牙周健康状况与 *fimA* 基因型牙龈卟啉单胞菌的相关性[J]. 华西口腔医学杂志, 2007, 25(3): 237-241.
- [14] Amano A, Kuboniwa M, Nakagawa I, et al. Prevalence of specific genotypes of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* and periodontal health status[J]. *J Dent Res*, 2000, 79(9): 1664-1668.
- [15] Beikler T, Peters U, Prajaneh S, et al. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* genotypes in Caucasians[J]. *Eur J Oral Sci*, 2003, 111(5): 390-394.
- [16] Moreno S, Jaramillo A, Parra B, et al. *Porphyromonas gingivalis* *FimA* genotype distribution among Colombians[J]. *Colomb Med*, 2015, 46(3): 122-127.
- [17] Moon JH, Herr Y, Lee HW, et al. Genotype analysis of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* in Korean adults using new primers[J]. *J Med Microbiol*, 2013, 62(9): 1290-1294.
- [18] 陈晓涛, 钟良军, 阿斯娅·牙生, 等. 维吾尔族慢性牙周炎中牙龈卟啉单胞菌菌毛 *fimA* 毒力基因型的分布[J]. 实用口腔医学杂志, 2015, 23(6): 771-773.
- [19] 王东麟, 吴龙. 新疆墨玉地区维吾尔族成人中、重度慢性牙周炎与雌激素受体基因多态性的相关性研究[J]. 医学研究生学报, 2015, 28(3): 280-285.
- [20] 李祎. 牙龈卟啉单胞菌 *fimA* 基因型研究进展[J]. 口腔医学, 2014, 25(S1): 56-58.
- [21] Hayashi F, Okada M, Oda Y, et al. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* genotypes in Japanese children[J]. *J Oral Sci*, 2012, 54(1): 77-83.

- [22] 李彦君,潘亚萍,陈旭,等.不同 fimA 基因型牙龈卟啉单胞菌在青春牙龈炎患者中的分布[J].口腔医学研究,2012,28(6):556-559.
- [23] Dogan S, Gunzer F, Guenay H, et al. Infection of primary human gingival fibroblasts by Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia[J]. Clin Oral Invest, 2013, 4(1): 35-41.
- [24] Fournier-Larente J, Morin MP, Grenier D. Green tea catechins potentiate the effect of antibiotics and modulate adherence and gene expression in Porphyromonas gingivalis[J]. Arch Oral Biol, 2016, 4(65): 35-43.
- [25] 伍妍.白介素-17 对牙周膜细胞基质金属蛋白酶表达和迁移能力的作用研究[D].武汉:武汉大学,2014.
- [26] Nagano K, Hasegawa Y, Yoshida Y, et al. A Major Fimbriin Variant of Mfa Fimbriae in Porphyromonas gingivalis[J]. J Dent Res, 2015, 94(8): 1143-1148.
- [27] Gao L, Xu Y, Meng S, et al. Identification of the putative specific pathogenic genes of Porphyromonas gingivalis with type II fimbriae[J]. DNA Cell Biol, 2012, 31(6): 1027-1037.
- [28] 王惠宁.牙龈卟啉单胞菌脂多糖诱导 T 淋巴细胞活化、凋亡的体外研究[J].现代口腔医学杂志,2014,22(2): 111-114.
- [29] Mantri CK, Chen CH, Dong X, et al. Fimbriae-mediated outer membrane vesicle production and invasion of Porphyromonas gingivalis[J]. Microbiologyopen, 2015, 4(1): 53-65.
- [30] 苗棣,高雳,赵蕾,等.不同 fim A 型牙龈卟啉单胞菌降解上皮细胞间连接蛋白能力的初步研究[J].实用口腔医学杂志,2011,27(6):769-772.
- [31] Moreno S, Jaramillo A, Parra B, et al. Porphyromonas gingivalis Fim-A genotype distribution among Colombians[J]. Colomb Med, 2015, 46(3): 122-127.
- [32] 任讯,彭敏.妊娠期牙龈炎中牙龈卟啉单胞菌的表达水平[J].西部医学,2016,28(3):396-398.
- [33] 廖雁婷,和璐,孟焕新.北京石景山社区 2 型糖尿病患者唾液中牙周致病菌的检测[J].中华口腔医学杂志,2013, 48(3): 144-149.
- [34] 唐路,曹日丹,曾红燕.牙龈卟啉单胞菌菌毛 fimA 基因型在牙周牙髓联合病变中的分布[J].北京口腔医学,2015, 23(6): 321-324.
- (收稿日期:2017-01-12 修回日期:2017-03-16)
- 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.16.041

KLK10 作为消化系统肿瘤预后因子的研究进展*

李 林¹综述,杜剑平¹综述,李晓松¹综述,谭 潇^{1,2}审校,郑 军^{1△}审校

(1. 三峡大学肝胆胰外科研究所/三峡大学第一临床医学院普外科,湖北宜昌 443002;

2. 三峡大学医学院/肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室,湖北宜昌 443002)

[关键词] 人组织激肽释放酶 10;消化系统;肿瘤预后因子

[中图分类号] R735

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)16-2287-04

人组织激肽释放酶 10(KLK10)又称 NES1(normal epithelial cell specific-1)属于人类组织激肽释放酶家族 15 个成员中的一员,在 1996 年由 Liu 等^[1]利用差异杂交法从变异乳腺细胞株 76R-30 中分离出来。与组织激肽释放酶家族其他成员一样,KLK10 的分泌也是经历了从前体到活性形式的转变,其不同之处表现为 KLK10 为单链肽形式;其次,在其 N 末端比其他 KLKs 多 3 个氨基酸,从而呈现出 KLK10 具有独特的结构^[2]。经研究发现,KLK10 可在许多上皮组织中表达,如:扁桃体、食管、唾液腺、性腺等,并普遍存在于细胞质与细胞间质中,在各类体液中如:乳汁、精液、羊水、脑脊液等均可检测到^[3-4]。该基因参与了正常上皮细胞的生长及生理调控^[5],但具体作用机制目前还不清楚。尽管 KLK10 在正常生理功能的调节方面仍存在许多未知,但随着人们对 KLKs 基因家族研究的不断深入,发现 KLK10 在多种肿瘤组织中存在异常表达的情况。早期研究发现 KLK10 在乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌、急性淋巴细胞白血病等肿瘤细胞中存在表达下调,这为多种肿瘤的预后评估提供了非常有价值的信息。参与 KLK10 异常表达的调控机制可能有:(1)激素调节、视黄醇、类维生素 A 途

径^[6];(2)RAS/MEK/ERK 及 PI3K/AKT 信号通路途径^[7];(3)CpG 岛超甲基化途径等^[8]。

近年来研究表明,KLK10 被发现并推测可能将在消化系统中发挥肿瘤标志物的重要作用,因此对目前仍处于姑息治疗水平的消化系统恶性肿瘤具有十分重要的临床意义。KLK10 在肿瘤预后方面的应用已成为国内外研究的热点,本文旨在对其在消化系统肿瘤疾病的研究进展进行综述,以期对消化系统肿瘤的预后判断及个性化治疗方案的选择提供一定的理论支持。

1 胃 癌

我国是胃癌高发地区,处于消化道恶性肿瘤的首位,且新发胃癌患者呈年轻化趋势^[9]。尽管各种手术治疗方案和联合化疗方案在不断发展和完善,但目前胃癌的预后仍然极差^[10],因此探寻有助于胃癌预后评估的理想指标具有重要的临床意义。随着人们对 KLK10 基因表达与胃癌关系研究的不断深入,发现 KLK10 参与了胃癌发生发展的多个过程。有研究表明在检测 KLK10 基因于胃癌组织中的表达量时发现,KLK10 基因的表达量下降或缺失与胃部肿瘤的发生具有相关性,黄玮

* 基金项目:三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室开放课题基金(2015KZL04);三峡大学人才科研启动基金(KJ2014B070)。

作者简介:李林(1990—),在读硕士,主要从事肝胆胰外科肿瘤的基础与临床研究。△ 通信作者,E-mail:zhengjunpi@163.com。