

牙龈卟啉单胞菌在消化系统肿瘤中的作用及机制研究

兰子君¹, 原翔¹, 张灏², 王立东³, 刘雅莉⁴, 詹启敏⁵, 高社干¹

摘要: 越来越多的证据表明牙周疾病是导致消化系统肿瘤的一个重要危险因素,而牙龈卟啉单胞菌(Pg)是引起牙周疾病及慢性牙周炎的关键病原体。大量研究表明,牙龈卟啉单胞菌除在口腔中具有局部作用外,还可能引发其他器官肿瘤,该细菌可能与胃和结肠的癌前病变、食管鳞状细胞癌、头颈部肿瘤和胰腺癌存在密切关系。本文重点总结了牙龈卟啉单胞菌和消化系统肿瘤之间的关系及相互作用机制的最新研究进展。

关键词: 牙龈卟啉单胞菌; 消化系统肿瘤; 口腔鳞状细胞癌; 食管鳞状细胞癌; 致病机制

中图分类号: R-735.1

文献标志码: A

The Role and Mechanism of *Porphyromonas gingivalis* in Digestive System Tumors

LAN Zi-jun¹, YUAN Xiang¹, ZHANG Hao², WANG Li-dong³, LIU Ya-li⁴, ZHANG Qi-min⁵, GAO She-gan¹

(1.Henan Key Laboratory of Cancer Epigenetics, Cancer Hospital, The First Affiliated Hospital, College of Clinical Medicine, Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China; 2.Institute of Precision Cancer Medicine and Pathology, Jinan University Medical College, Guangzhou 510632, China; 3.Henan Key Laboratory of Esophageal Cancer, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, State Key Laboratory of Esophageal Cancer Prevention & Treatment, Zhengzhou 450052, China; 4.Institute of Medical Information, Zhengzhou 450046 China; 5.State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute and Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: There is increasing evidence that periodontal disease is an important risk factor for digestive system tumors. *Porphyromonas gingivalis* a key pathogen causing periodontal disease and chronic periodontitis. Abundant studies have shown that *Porphyromonas gingivalis* has systemic carcinogenic effects in addition to its local role in the oral cavity: possibly the precancerous gastric and colon lesions, esophageal squamous cell carcinoma, head and neck tumors and pancreatic cancer are all involved in. This review highlights the latest research progress on the relationship and interaction mechanism between *Porphyromonas gingivalis* and digestive system tumors.

Key words: *Porphyromonas gingivalis*; digestive system tumors; oral squamous cell carcinoma; esophageal squamous cell carcinoma; pathogenic mechanism

基金项目: 国家自然科学基金(81972571)

收稿日期: 2019-11-22

作者单位: 1.河南科技大学, 医学院, 临床医学院, 第一附属医院, 肿瘤医院; 河南省肿瘤表观遗传重点实验室, 河南洛阳 471003
2.暨南大学医学院, 肿瘤精准医学与病理研究所, 广东广州 510632
3.郑州大学第一附属医院河南省食管癌重点开放实验室, 省部共建食管癌防治国家重点实验室, 河南郑州 450052
4.河南省医学情报研究所, 河南郑州 450046
5.中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院肿瘤研究所, 分子肿瘤学国家重点实验室, 北京 100021

作者简介: 兰子君(1989—), 女, 河南洛阳人, 从事肿瘤分子生物学基

人类菌群在正常的生理活动和致癌作用中起着重要的作用。正常口腔中存在 700 多种细菌, 其中包括至少 11 种分枝杆菌和 70 属, 其中红色复合物(red complex)是牙周疾病的重要致病菌, 红色复合物包括牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, Pg)、齿垢密螺旋体(*Treponema denticola*, Td)和福赛斯坦纳菌(*Tannerella forsythia*, Tf), 都是革兰氏阴性厌氧细菌, 它们可以表达毒力因子来干扰机体免疫系统, 侵袭和破坏牙周组织^[1]。

基础研究工作 China Academic Journal Electronic Publishing House. <http://www.cnki.net>
Pg 是一种重要的致病细菌, 是成人牙周炎的关键

通信作者: 高社干, 男, 博士, 教授, 主任医师 E-mail: gsg112258@163.com

键病原体^[2]。该细菌还与许多口腔外感染相关的疾病有关,例如,心血管疾病、糖尿病、早产、肺部疾病和类风湿性关节炎。在Pg中,最重要的毒力因子是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、菌毛、牙龈素和外膜囊泡,其主要的致病机制包括:产生致病菌群,引起免疫防御功能异常,尤其是可侵袭口腔上皮和内皮细胞,诱导促炎细胞因子的产生,干扰正常的生理代谢,抑制细胞凋亡,这也是其作为肿瘤潜在危险因素的主要原因。

近年来,越来越多的证据表明Pg与口腔癌、胃肠道癌和胰腺癌密切相关^[3]。几项流行病学调查和临床研究发现,牙周疾病或牙齿脱落与肿瘤进展之间存在正相关,例如口腔癌、胃癌、胰腺癌,甚至胃癌癌前病变。Ahn等^[4]在美国疾病预防与控制中心第三次全国健康和营养检查调查(NHANES III)研究中发现,消化道肿瘤的死亡率与牙周炎和血清Pg的IgG有关,与牙周其他疾病无关。这些研究表明,Pg在原发性消化道肿瘤的发生中发挥重要作用。本文旨在系统地拓宽对Pg与原发性消化系统肿瘤之间关系的最新认识。

1 Pg与消化系统恶性肿瘤的关系

1.1 Pg与口腔鳞状细胞癌

口腔癌是世界第六大常见癌症,也是发展中国家最常见的癌症之一,口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)占口腔癌的90%以上,具有高发病率和复发率及预后差的特点。OSCC的主要致病因素包括饮食习惯、不良生活习惯(例如吸烟、酗酒、咀嚼槟榔等),致癌病毒感染和遗传因素,然而,仍有15%的OSCC患者其致病原因无法以上述因素解释^[5]。

一项Meta分析表明,牙周炎患者发生口腔癌的风险比正常人高2.66倍,牙周炎是口腔癌的独立风险指标^[6]。另一项研究表明,在牙龈鳞状细胞癌组织中,Pg的感染率明显高于正常牙龈组织($P < 0.05$),牙龈鳞状细胞癌肿瘤组织石蜡包埋样本中同样富含Pg,这表明Pg与牙龈鳞状细胞癌之间存在潜在关联,而正常口腔细菌戈登链球菌(*Streptococcus gordonii*, Sg)结果与之相反^[7],这项研究没有提供有关合并症因素的信息,宿主细胞感染Pg与细胞癌变的先后顺序尚待明确。

1.2 Pg与食管鳞状细胞癌

食管癌是全球第八大最常见的癌症,也是全球癌症死亡的第六大常见原因。Gao SG等^[8]采用免疫组织化学法在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中检测到高丰度的

Pg,即ESCC中的61%及癌旁组织中的12%,而在正常食管黏膜中未检出,赖氨酸特异性牙龈蛋白酶和Pg的16S rDNA也检测出相似的分布情况,在此之前,尚无确证的证据证明ESCC中存在特定的微生物感染。

ESCC的常规血清标志物,如SCCA、CEA、CY-FRA21-1和CA19-9对食管鳞癌的早期发现和诊断没有足够的敏感性和特异性^[9]。在后续的研究中,Gao SG等^[9]发现ESCC中血清抗Pg的IgA和IgG的水平明显高于食管炎和健康对照者,而IgA对于早期ESCC的诊断比IgG更具价值(54.54% VS 20.45%)。此外,血清抗Pg的IgA或IgG抗体的水平升高与ESCC患者的预后较差有关,尤其是在0~II期或淋巴结转移阴性的患者中,高IgA和IgG水平的患者预后最差。因此,将IgA和IgG结合使用可提高诊断并改善预后。以上研究结果表明,Pg可能参与了ESCC的发病,几种Pg血清生物标志物的组合使用比任何单一生物标志物的诊断更加灵敏特异。因此,Pg血清生物标志物可能对ESCC早期诊断具有重大意义,并可能改善诊断和预后。

Peters BA等^[10]在一项前瞻性研究中发现,漱口液样本的16S rRNA基因测序所检测的口腔微生物组可能反映食管癌的预期风险。高丰度的Pg倾向于发生ESCC的风险较高,而Tf与食管腺癌(adenocarcinoma of esophagus, EAC)的风险较高相关,其他细菌如奈瑟氏球菌和肺炎链球菌与较低的风险相关。Gao SG等^[8]同时还发现Pg还与ESCC淋巴结转移和生存期相关。

Yuan X等^[11]的研究表明,Pg在食管癌和癌前病变标本中广泛定植,在癌旁组织中则丰度相对较低,而在贲门癌或胃癌中的含量很低或没有,这种差异可能归因于Pg对pH酸性环境的低耐受性。

1.3 Pg与头颈部鳞状细胞癌

头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)是全球第六大最常见的肿瘤,生存率为50%~60%。Utispan K等^[12]发现,Pg脂多糖活化的巨噬细胞条件培养基促进了源自I、III和IV期HNSCC的原代和转移性细胞系的侵袭,而HNSCC细胞系HN4细胞的增殖被抑制。其致癌性侵袭可能是通过EGFR信号通路诱导巨噬细胞产生一氧化氮而介导,但深入的机制还需要进一步研究。

1.4 Pg与胃及结肠癌前病变

在接受胃镜检查并进行活检的患者中,约有1/10的不典型增生将在20a内发展为胃癌^[13]。在牙周疾病高水平的人群中,尽管不能确定口腔病原体

的 DNA 水平与胃癌前病变的存在之间存在相关性,但在牙菌斑中检测到的牙周病原体与胃癌前病变的风险增加相关,且不受混杂因素的影响^[14]。Sun J 等^[15]发现口腔中牙周病原体的负担和口腔中细菌的多样性是造成胃癌前病变的重要因素,然而,该研究未能采集用于直接微生物分析的胃组织样本。

1.5 Pg 与胰腺癌

2018 年,全球约有 45.9 万胰腺癌新发病例,这使其成为发达国家中发病率和死亡率第九位的最常见肿瘤。据文献报道,胰腺癌患者唾液微生物群与慢性胰腺炎之间存在显著差异^[16],牙周病和 Pg 对胰腺癌的发展可能及其重要^[17]。牙周病原体可能单独或与其他胰腺癌危险因素(例如吸烟、肥胖和 ABO 基因变异)共同作用,导致胰腺癌的发生^[17]。

最近的一项前瞻性巢式病例对照研究表明,Pg 和聚合放线杆菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, Aa) 阳性与胰腺癌的风险增加有关^[18]。该研究基于 361 名胰腺癌患者和 371 名配对对照组的口腔漱口水样本,对参与者进行了将近 10 a 的监测,以评估口腔微生物群与胰腺癌风险之间的关系,结果表明,无论潜在的混杂因素如何,口腔微生物群都可能在胰腺癌的病因学中起作用,与阴性人群相比,Pg 阳性人群罹患癌症的风险增加了 59%,而 Aa 阳性人群则增加 50% 的风险。该研究表明,口腔微生物(Pg 和 Aa) 生态失调早于癌症的发生。同样地,在欧洲的一项包含 404 个胰腺癌病例和 410 个对照的巢式病例对照研究发现,Pg 菌株 ATCC 53978 的高 IgG 抗体水平($>200 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) 与牙周膜的破坏密切相关,去除已知危险因素干扰后,统计显示 Pg 的 IgG 抗体水平升高使胰腺癌的风险增加超过 2 倍^[19]。根据上述研究,Pg 有可能感染到胰腺并促进胰腺癌发生。

1.6 Pg 在动物模型中影响致癌作用

在针对牙周炎相关的口腔肿瘤发生的小鼠模型中,Binder GA 等^[20]证明了在口服致癌物 4-硝基喹啉-1-氧化物(4NQO) 的作用下,Pg 和具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*, Fn) 引起的慢性感染可促进 OSCC 细胞的转化,并激活 IL-6-STAT3 信号转导通路,从而诱导效应子驱动 OSCC 细胞的增殖和侵袭性。该研究结果指出,Pg 可通过激活 JAK2-GSK3 β 信号通路促进上皮细胞产生 IL-6,Pg 和 Fn 通过激活 Toll 样受体(toll-like receptor, TLR) 引起上皮细胞产生 IL-6,与口腔上皮细胞的直接相互作用来刺激肿瘤发生。此外,口腔病原体还刺激了 OSCC 的增殖和肿瘤发生过程中关键分子的表达,如细胞

周期蛋白 D1、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinases, MMP-9) 和乙酰肝素酶。

Geng F 等^[21]建立了另一种体外模型,将人类永生化口腔上皮细胞以低感染复数暴露于 Pg,持续 5~23 周。结果表明,持续暴露于 Pg 会引起细胞形态变化,延长 S 期,提高增殖能力,并促进细胞迁移和侵袭。进一步研究发现,肿瘤相关基因如 NNMT、FLII、GAS6、lncRNA CCAT1、PDCD1LG2 和 CD274 是长时间暴露于 Pg 后细胞肿瘤样转化的关键调节因子。因此,Pg 的慢性感染可能是口腔癌的潜在危险因素。

2 Pg 在消化系统肿瘤中的作用机制

2.1 Pg 诱导肿瘤细胞逃避宿主免疫反应

有关 Pg 诱导肿瘤细胞免疫逃逸的研究目前较少,主要集中在影响免疫共调节受体和免疫检查点分子表达方面。

B7-H1(PD-L1) 受体在大多数人类癌症细胞中表达,引起活化 T 细胞的无反应性和凋亡。B7-H1 受体在癌细胞或转化细胞上调,干扰肿瘤浸润淋巴细胞上的 PD1 受体,从而阻断 PD1 受体对肿瘤上皮细胞的细胞毒活性,使肿瘤细胞克服宿主免疫反应。Groeger S 等^[22]研究发现,在分别感染了两个 Pg 菌株(W83 和 ATCC 33277) 后,OSCC 细胞 SCC-25 和 BHY 以及人原代牙龈上皮细胞的 B7-H1 和 B7-DC 受体均上调。但该实验结果的生理重要性和特异性尚待进一步验证。该团队在体外培养实验中发现,Pg 的膜结构导致口腔鳞状细胞癌和牙龈上皮细胞中免疫调节受体 PD-L1 的上调,提示 B7-H1 表达可能有助于逃避免疫反应,这可能是导致 Pg 长期感染的重要因素^[23]。

另外,Yuan X 等^[24]最新的研究结果表明,Pg 定植于食管癌细胞后,可诱导其高表达免疫检查点分子 B7-H4 及组蛋白去甲基化酶 KDM5B。两分子通过协同抑制效应 CD8⁺ T 细胞活化及降低肿瘤局部趋化因子浓度,阻碍免疫细胞向肿瘤组织高效、定向传递,从而使 Pg 感染的食管癌微环境变成一个“冷”环境,降低感染及肿瘤特异性的 CD8⁺ T 细胞免疫应答。

2.2 Pg 诱导上皮间充质转化

Pg 可通过促进上皮间充质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT) 从而驱动肿瘤发展。

Ha NH 等^[25]的体外实验表明,长期感染 Pg 导致 OSCC 细胞的形态延长,EMT 特异性上皮标记物的表达降低,而肿瘤干细胞标志物 CD44 和 CD133 的表达有所增加。该研究揭示 Pg 对 OSCC EMT 特

性以及迁移和侵袭特性的影响。

Lee J 等^[26]研究发现, Pg 感染促使人原代上皮细胞中 EMT 的重要调节剂磷酸化-GSK3 β 显著增加 ($P < 0.01$), 与此同时, Slug、Snail 和 ZEB1 等 EMT 相关的转录因子的蛋白质和 mRNA 表达显著增加 ($P < 0.01$)。在 Pg 感染的 120 h 内, 口腔上皮细胞中波形蛋白、间充质中间丝蛋白的表达显著增强, 而黏附分子 E-cadherin 表达显著下降 ($P < 0.05$), 膜定位以及 β -catenin 减少, 而长期感染期间, MMP-2、-7 和 -9 明显增加。Pg 感染还促进了宿主细胞的迁移。由此可知, Pg 持续感染诱导人原代口腔上皮细胞获得了与 EMT 一致的分子和细胞起始变化。尽管原代上皮细胞中 Pg 的持续存活水平与上述表型变化密切相关, 但是, 又有其他研究关注于细菌分泌的效应物, 如核苷二磷酸激酶 (nucleoside diphosphate kinase, NDK) 或结构毒力因子 (如菌毛和脂多糖) 是否可以独立地促进 EMT。已有研究证明这些特性有助于细菌免疫逃逸以及在上皮细胞中长期定植^[23, 27-28]。

Abdulkareem AA 等^[29]的研究表明, Pg 感染可能通过上调细胞因子来诱导上皮细胞间质转化, Pg 促使 OSCC 细胞转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta1, TGF- $\beta 1$) 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 等细胞因子显著上调, 这些细胞因子参与了 EMT 的诱导和转录因子锌指蛋白 SNAI1 的激活, 引起 EMT 的间充质标志物上调、上皮标志物的下调, 从而导致体外培养的上皮细胞层特性改变。因此, Pg 感染促使 OSCC 在分子水平上发生上皮特性与 EMT 特性的改变。

Sztukowska MN 等^[30]发现, 在永生化的牙龈上皮细胞 (TIGK 细胞) 中, Pg 感染诱导了控制 EMT 的 ZEB1 转录因子表达与核定位, 缺少 FimA 纤维蛋白的 Pg 菌株诱导 ZEB1 表达的能力下降, Pg 在具有 Fn 或 Sg 的双物种群落中同样会引起 ZEB1 表达的增加。ZEB1 表达增加与 ZEB1 启动子活性增强有关, ZEB1 的水平与包括 MMP-9 和波形蛋白在内的间充质标志物的迁移增加, 以及上皮细胞向基质的迁移增强有关, 用 siRNA 敲低 ZEB1 抑制了 Pg 引起的间充质标志物的增加和上皮细胞的迁移。体外实验中, 感染 Pg 的小鼠口腔牙龈组织中的 ZEB1 水平升高。

综上所述, FimA 驱动的 ZEB1 表达可能部分解释了 Pg 对 OSCC 的促进作用。上述体外和体内研究表明, Pg 可能与其他口腔细菌协同促成间充质表型, 从而驱动肿瘤的发展。

2.3 Pg 促进肿瘤侵袭和转移

MMP9 与肿瘤细胞的侵袭和转移有关, 舌鳞癌细胞系 SAS 细胞可持续分泌 MMP-9 酶原。Inaba H 等^[31]研究发现, Pg 激活 ERK1/2-Ets1、p38/HSP27 和 PAR2/NF- κ B 途径以促进 SAS 细胞 MMP-9 酶原表达, 而 Pg 的牙龈蛋白酶随之激活了 MMP-9 酶原, 从而增强了 OSCC 的细胞系的细胞侵袭和迁移能力。这些发现提出了 OSCC 进展和转移可能与牙周炎相关的新机制。

Ha NH 等^[32]研究发现, Pg 对 MMP 的上调作用, 依赖于白介素 8 (IL-8)。Pg 感染可促使 OSC-20 和 SAS 等 OSCC 细胞 MMP 上调, 侵袭能力增强, 却不能引起 SCC-25 细胞 MMP 水平及的侵袭能力改变。进一步研究发现, OSC-20 和 SAS 细胞中, Pg 感染后 IL-8 分泌显著增强, 但在 SCC-25 细胞中却没有增强。当 IL-8 直接作用于 SCC-25 细胞时, 细胞的 MMP 水平和侵袭能力显著提高。相反, 感染 Pg 的 OSC-20 和 SAS 细胞中 IL-8 的下调会降低其侵袭能力和 MMP 水平。因此, Pg 通过依赖 IL-8 的 MMP 上调来增加 OSCC 细胞的侵袭性。抑制剂如苹果多酚 (apple polyphenols, AP)、蛇麻草多酚 (hop polyphenols, HBP) 和 HBP 的高分子组分 (HMW-HBP) 可以阻止 OSCC 的 MMP-9 活化和扩散, 这些抑制剂可能是预防此类肿瘤侵袭的候选细胞抑制剂^[33]。

2.4 Pg 加速细胞周期并抑制宿主细胞凋亡

细菌调节宿主细胞的细胞周期, 使其自身能够在宿主细胞内存活并表达其毒力因子。细胞周期蛋白 (cyclin)、p53 和磷脂酰肌醇-4, 5-双磷酸 3-激酶 (PI3K) 等蛋白在真核细胞周期中具有多级控制功能, Kubonwa M 等^[34]的研究表明, Pg 诱导了这些蛋白质的表达水平和磷酸化状态的改变, 被感染的人原代牙龈上皮细胞的增殖速率增加, S 期进程加快。Pan C 等^[35]也证明了 Pg 通过促进 G1/S 转化来影响人牙龈上皮细胞的周期, 这暗示着细胞周期蛋白 D 和细胞周期蛋白 E 的上调。因此, 尽管细胞癌变是一个漫长的多阶段和多因素过程, 但不应忽视促进细胞增殖的细菌对癌变的影响。

热休克蛋白 27 (heat shock protein 27, HSP27) 可以通过抑制 caspase 蛋白的激活来抑制细胞凋亡。Inaba H 等^[31]的研究同时发现, Pg 感染后, 口腔癌细胞中 HSP27 的表达增加, 并且 HSP27 在感染细胞中对 MMP-9 具有活化作用。HSP27 在许多类型癌细胞中过表达, 并导致不良预后, 或成为癌症治疗中新的治疗靶点^[36-37]。最近, Lee J 等^[38]的一项研究首次发现了细菌效应子 Pg-NDK 对 HSP27 的磷酸化作

赋予了人口腔原代上皮细胞抗凋亡表型, HSP27 可能是促进口腔黏膜中 Pg 清除的重要靶标。此外, NDK-HSP27 相互作用可能为近期与 Pg 相关的癌症的靶向治疗策略提供理论依据。

在短期原代培养的牙龈上皮细胞中, Pg 通过上调抗凋亡分子 Bcl-2 和下调促凋亡 Bad 蛋白来抑制细胞凋亡^[39]。Yilmaz 等^[40]报道, Pg 通过激活 pPI3K/Akt 信号通路来阻断细胞凋亡并促进原代牙龈上皮细胞的存活。后来, Mao S 等^[41]提出, Pg 可通过操纵控制线粒体细胞死亡途径的 PI3K/Akt 和 JAK/Stat 通路来阻断牙龈上皮细胞的凋亡。此外, Yao L 等^[42]也证明 Pg 可通过 Akt 使促凋亡的 Bad 蛋白失活, 抑制细胞凋亡。Akt 是 Pg 刺激的抗凋亡途径的主要组成部分, 还可以通过连接 P2X7 受体抑制 ATP 诱导的牙龈上皮细胞凋亡^[43]。Pg 中的 miR-NA-203 可抑制 SOC6, 后者在调节线粒体动力学和随之而来的细胞凋亡事件中具有重要作用^[44], miR-203 对细胞周期的调节可能会影响某些癌的病理表达^[45]。因此, 线粒体依赖性细胞凋亡的抑制可能是 Pg 在牙周组织中生存的重要策略, 也是其致病性的关键特征。

2.5 Pg 诱导肿瘤细胞周期停滞并促进自噬

尽管已发表的多项研究均涉及 Pg 对口腔上皮细胞的作用, 但对其在癌细胞的作用却知之甚少。当口腔癌细胞被 Pg 菌株 FDC 381 感染时, 细胞周期 G1 期被阻滞, 细胞的增殖受到抑制, 细胞凋亡没有受到影响, 但是增加了巨自噬^[46]。研究表明, 口腔癌细胞巨自噬的增强, 是其应对 Pg 入侵, 限制细菌毒性的一种适应机制, 自噬反应的增加通过活性氧 (ROS) 的形成来激活, 可能抑制细胞增殖。此外, Pg 还可通过加速细胞周期或调节细胞凋亡来促进细胞增殖^[46]。在这些分子事件中报道的差异可能是由于使用了正常上皮细胞与肿瘤细胞这样不同宿主模型系统进行研究, 这可能揭示有关肿瘤发生的关键信息。与此观点一致, 有报道证明 Pg 感染原代口腔上皮细胞后可调节和抑制线粒体与生物膜衍生的 ROS, 以确保自身在细胞内成功生长和存活^[47-48]。此外有研究表明, Pg 还可能通过选择性自噬, 输送至富含内质网的自噬体中, 以便在人原代上皮细胞中复制并持续存活^[49]。

2.6 Pg 促进肿瘤远处转移和化疗耐药

Pg 可能通过 Notch 通路介导 OSCC 对紫杉醇的耐药。前述 Ha NH 等^[25]的研究发现, 当 OSCC 细胞反复暴露于 Pg 5 周后, 对化疗药紫杉醇产生了抗药性。另一组研究表明, Pg 的持续感染促进口腔癌向

肺的远处转移以及对抗癌药物抵抗, 由 Pg 感染的 OSCC 细胞组成的肿瘤异种移植物通过 Notch1 胞内结构域 (NICD) 激活表现出对化疗药紫杉醇的更高耐受, 这表明 Pg 可能在 OSCC 的化疗耐药进展中起作用^[50]。因此, 靶向 Notch 信号通路可用于克服肿瘤治疗耐药性, 推荐与常规化疗方法联用^[50-51]。

2.7 Pg 促进肿瘤细胞增殖

防御素是人体中一类重要的抗菌多肽, Hoppe 等^[52]表明口腔病原体如 Pg 和 Aa 通过影响人防御素的基因表达来改变口腔肿瘤细胞的增殖特性。用 Pg 和人 α -防御素孵育口腔肿瘤细胞会导致细胞增殖加速, 而 Aa 则导致细胞死亡增加。因此, 这些牙周病原体对口腔肿瘤细胞的增殖具有相反作用, 但是两者对增殖速率产生的作用都是通过改变致癌相关的 α -防御素基因的表达水平实现的。由于人防御素通过 EGFR 信号转导通路影响细胞增殖, 抗菌多肽可以作为肿瘤发生和感染之间的分子链接。

Zhou Y 等^[53]报道, 通过牙龈蛋白酶依赖的蛋白水解过程对 β -catenin 信号的非经典激活可能是 Pg 促进肿瘤发生的潜在机制, 因为牙龈蛋白酶对 β -catenin 的非经典激活和 β -catenin 破坏复合物的解离可能会诱导增殖表型。这可能是 Pg 通过蛋白水解加工破坏口腔组织动态平衡的新机制。

2.8 Pg 将乙醇转化为乙醛

乙醛是酒精的初级代谢产物, 是人类与酒精饮料的摄入有关的一类致癌物^[54]。与口腔卫生良好的个体相比, 口腔卫生较差的受试者唾液体外实验中由乙醇产生的乙醛升高 2 倍^[55-56]。Pg 将乙醇转化为乙醛可能导致 DNA 损伤、突变和上皮细胞过度增殖, 这可能部分解释了为什么酗酒和某些癌症相关^[54]。

2.9 Pg 表观遗传修饰对炎症的作用

慢性牙周炎是人类最常见的炎症疾病之一, 炎症的刺激和持久性受到复杂的机制调节, 其中表观遗传途径受到特别关注。表观遗传修饰包括 DNA 和相关蛋白质的化学变化, 可能导致染色质重塑和基因转录的激活或失活^[57], 此类变化可导致癌症、自身免疫和包括牙周炎的炎症性疾病。在牙周炎中已检测到 DNA 甲基化和组蛋白修饰这两个主要的表观遗传学调控, 并且其基因表达也会受到 DNA 甲基化的影响^[58], 多项研究在牙龈组织中发现了异常的 DNA 甲基化^[59-60]。最近的研究表明, Pg 脂多糖显著调节与表观遗传机制有关的基因^[57]。

2.10 Pg 产生肽酰精氨酸脱亚氨酶在癌症发病机理中的潜在作用

Pg是目前已知的唯一产生肽酰精氨酸脱亚氨酶(peptidyl arginine deiminase, PAD)的病原体,该酶可将蛋白质和多肽中的精氨酸残基转化为瓜氨酸,从而修饰细菌和宿主蛋白质^[61-62]。蛋白质瓜氨酸化通过改变蛋白质的原始空间结构和功能来调节宿主的炎症信号网络^[63]。宿主可通过编码5种钙依赖性PAD家族基因而具有瓜氨酸化的固有功能,宿主PAD与各种人类和动物肿瘤相关^[64-65]。Kholia S等^[65]报道,在肿瘤相关微囊泡刺激前列腺癌细胞(PC3)的过程中,PAD2和PAD4的表达水平以及细胞骨架肌动蛋白水平升高,使用泛PAD抑制剂Cl-am抑制PAD酶活性显著降低了微囊泡的释放并降低了细胞骨架肌动蛋白水平。PAD家族,尤其是在多种浸润性肿瘤中过表达的PAD4,在肿瘤的进展中似乎起着重要的作用,而PAD抑制剂可抑制肿瘤进展和炎症症状^[65-67]。

口腔感染及炎症与癌症之间的直接关系逐渐被人们接受、认可,牙周炎和消化系统肿瘤的相关性成为这种关系的最有说服力的证据,即使在考虑了诸如吸烟、体质量指数和社会经济地位等混杂因素之后,这种关系仍然存在,而其中潜在的分子机制尚未完全阐明。最近,牙周炎相关致癌作用的小鼠模型显示,长期慢性细菌感染通过经由Toll样受体与癌及癌前口腔上皮细胞直接相互作用而促进OSCC。口腔微生物可能直接刺激OSCC增殖并诱导肿瘤产生相关关键分子,例如NF- κ B、IL-6-STAT3、cyclin D1、MMP-9以及细菌牙龈蛋白酶。Pg有可能与已知危险因素结合促进肿瘤发展,在存在诸如酒精和烟草滥用等危险因素的情况下,常见的口腔微生物种群可能在口腔癌的发病机理中具有协同作用。尽管可以明确这些公认的致癌因素在肿瘤发生、发展中起到重要作用,但它们不能作为独立因素解释每年发生的大量癌症病例。

本文讨论了牙周炎的关键病原体Pg发挥致癌作用的几种可能的机制。Pg可能不是多种细菌共同感染的口腔微生物群中的唯一致癌物,并非每个人都携带可能诱发肿瘤且可能与预后不良有关的Pg。实际上,针对Pg的血清抗体可用于改善癌症的诊断和预后。胰腺癌和胃癌可能与Pg有关,这一事实表明口腔细菌分泌的效应分子,炎性细胞和介质随唾液和血液传播到远处,并诱发全身性致癌作用。Pg血清IgG水平升高与消化系统肿瘤有关的发现也支持了这一点。令人信服的是,在Pg与消化系统肿瘤之间可能存在直接关系,其中致癌作用的原因可能是口腔微生物继发感染其主要部位口腔之外、在

解剖学上连续的部位。需要开展更多、更广泛、更可控的队列研究和分子流行病学及实验研究,来揭示其中的分子机制。

参考文献:

- [1] Bodet C, Chandad F, Grenier D. Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis [J]. *Pathol Biol (Paris)* 2007 55(3-4): 154-162.
- [2] Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA. *Porphyromonas gingivalis* as a potential community activist for disease [J]. *Dent Res* 2012 91(9): 816-820.
- [3] Atanasova KR, Yilmaz Ö. Looking in the *Porphyromonas gingivalis* cabinet of curiosities: the microbium, the host and cancer association [J]. *Mol Oral Microbiol* 2014 29(2): 55-66.
- [4] Ahn J, Segers S, Hayes RB. Periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis* serum antibody levels and orodigestive cancer mortality [J]. *Carcinogenesis* 2012 33(5): 1055-1058.
- [5] Perera M, Al-Hebshi NN, Speicher DJ, et al. Emerging role of bacteria in oral carcinogenesis: a review with special reference to perio-pathogenic bacteria [J]. *J Oral Microbiol* 2016, 8: 32762.
- [6] Sayehmiri F, Sayehmiri K, Asadollahi K, et al. The prevalence rate of *Porphyromonas gingivalis* and its association with cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015 28(2): 160-167.
- [7] Katz J, Onate MD, Pauley KM, et al. Presence of *Porphyromonas gingivalis* in gingival squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oral Sci* 2011 3(4): 209-215.
- [8] Gao S, Li S, Ma Z, et al. Presence of *Porphyromonas gingivalis* in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer [J]. *Infect Agent Cancer* 2016, 11: 3.
- [9] Gao SG, Yang JQ, Ma ZK, et al. Preoperative serum immunoglobulin G and A antibodies to *Porphyromonas gingivalis* are potential serum biomarkers for the diagnosis and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *BMC Cancer* 2018, 18(1): 17.
- [10] Peters BA, Wu J, Pei Z, et al. Oral microbiome composition reflects prospective risk for esophageal cancers [J]. *Cancer Res* 2017 77(23): 6777-6787.
- [11] Yuan X, Liu Y, Kong J, et al. Different frequencies of *Porphyromonas gingivalis* infection in cancers of the upper digestive tract [J]. *Cancer Lett* 2017 404: 1-7.
- [12] Utispan K, Pugdee K, Koontongkaew S. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-induced macrophages modulate proliferation and invasion of head and neck cancer cell lines [J]. *Biomed Pharmacother*. 2018, 101: 988-995.
- [13] Song H, Ekhedden IG, Zheng Z, et al. Incidence of gastric cancer among patients with gastric precancerous lesions: observational

- cohort study in a low risk Western population [J]. *BMJ* 2015 , 351: h3867.
- [14] Salazar CR ,Sun J ,Li Y ,et al.Association between selected oral pathogens and gastric precancerous lesions [J]. *PLoS One* , 2013 8(1) : e51604.
- [15] Sun J ,Zhou M ,Salazar CR ,et al.Chronic periodontal disease periodontal pathogen colonization and increased risk of precancerous gastric lesions [J]. *J Periodontol* 2017 88(11) : 1124–1134.
- [16] Farrell JJ ,Zhang L ,Zhou H ,et al.Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer [J]. *Gut* 2012 61(4) : 582–588.
- [17] Michaud DS.Role of bacterial infections in pancreatic cancer [J]. *Carcinogenesis* 2013 34(10) : 2193–2197.
- [18] Fan X ,Aleksyenko AV ,Wu J ,et al.Human oral microbiome and prospective risk for pancreatic cancer: a population-based nested case-control study [J]. *Gut* 2018 67(1) : 120–127.
- [19] Michaud DS ,Lizard J ,Wilhelm-Benartzi CS ,et al.Plasma antibodies to oral bacteria and risk of pancreatic cancer in a large European prospective cohort study [J]. *Gut* ,2013 ,62(12) : 1764–1770.
- [20] Binder GA ,Fischman S ,Revach B ,et al.Periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* promote tumor progression in an oral-specific chemical carcinogenesis model [J]. *Oncotarget* 2015 6(26) : 22613–22623.
- [21] Geng F ,Liu J ,Guo Y ,et al.Persistent exposure to *Porphyromonas gingivalis* promotes proliferative and invasion capabilities , and tumorigenic properties of human immortalized oral epithelial cells [J]. *Front Cell Infect Microbiol* 2017 7: 57.
- [22] Groeger S ,Domann E ,Gonzales JR ,et al.B7-H1 and B7-DC receptors of oral squamous carcinoma cells are upregulated by *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Immunobiology* 2011 216(12) : 1302–1310.
- [23] Groeger S ,Jarzina F ,Mamat U ,et al.Induction of B7-H1 receptor by bacterial cells fractions of *Porphyromonas gingivalis* on human oral epithelial cells: B7-H1 induction by *Porphyromonas gingivalis* fractions [J]. *Immunobiology* ,2017 ,222 (2) : 137–147.
- [24] Yuan X ,Liu Y ,Li G ,et al.Blockade of immune-checkpoint B7-H4 and lysine demethylase 5B in esophageal squamous cell carcinoma confers protective immunity against *P.gingivalis* infection [J]. *Cancer Immunol Res* 2019 7(9) : 1440–1456.
- [25] Ha NH ,Woo BH ,Kim DJ ,et al.Prolonged and repetitive exposure to *Porphyromonas gingivalis* increases aggressiveness of oral cancer cells by promoting acquisition of cancer stem cell properties [J]. *Tumour Biol* 2015 36(12) : 9947–9960.
- [26] Lee J ,Roberts JS ,Atanasova KR ,et al.Human primary epithelial cells acquire an epithelial-mesenchymal-transition phenotype during long-term infection by the oral opportunistic pathogen , *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Front Cell Infect Microbiol* , 2017 7: 493.
- [27] Yilmaz Ö.The chronicles of *Porphyromonas gingivalis*: the microbium ,the human oral epithelium and their interplay [J]. *Microbiology* 2008 ,154(Pt10) : 2897–2903.
- [28] Atanasova K ,Lee J ,Roberts J ,et al.Nucleoside-diphosphate-kinase of *P.gingivalis* is secreted from epithelial cells in the absence of a leader sequence through a pannexin-1 interactome [J]. *Sci Rep* 2016 6: 37643.
- [29] Abdulkareem AA ,Shelton RM ,Landini G ,et al.Periodontal pathogens promote epithelial-mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells in vitro [J]. *Cell Adh Migr*. 2018 ,12 (2) : 127–137.
- [30] Sztukowska MN ,Ojo A ,Ahmed S ,et al.*Porphyromonas gingivalis* initiates a mesenchymal-like transition through ZEB1 in gingival epithelial cells [J]. *Cell Microbiol* 2016 ,18(6) : 844–858.
- [31] Inaba H ,Sugita H ,Kuboniwa M ,et al.*Porphyromonas gingivalis* promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of proMMP9 and its activation [J]. *Cell Microbiol* , 2014 ,16(1) : 131–145.
- [32] Ha NH ,Park DG ,Woo BH ,et al.*Porphyromonas gingivalis* increases the invasiveness of oral cancer cells by upregulating IL-8 and MMPs [J]. *Cytokine* 2016 86: 64–72.
- [33] Inaba H ,Tagashira M ,Kanda T ,et al.Apple- and hop-polyphenols inhibit *Porphyromonas gingivalis*-mediated precursor of matrix metalloproteinase-9 activation and invasion of oral squamous cell carcinoma cells [J]. *J Periodontol* 2016 87(9) : 1103–1111.
- [34] Kuboniwa M ,Hasegawa Y ,Mao S ,et al.*P.gingivalis* accelerates gingival epithelial cell progression through the cell cycle [J]. *Microbes Infect* 2008 ,10(2) : 122–128.
- [35] Pan C ,Xu X ,Tan L ,et al.The effects of *Porphyromonas gingivalis* on the cell cycle progression of human gingival epithelial cells [J]. *Oral Dis* 2014 20(1) : 100–108.
- [36] Vidyasagar A ,Wilson NA ,Djamali A.Heat shock protein 27 (HSP27) : biomarker of disease and therapeutic target [J]. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012 5(1) : 7.
- [37] Katsogiannou M ,Andrieu C ,Rocchi P.Heat shock protein 27 phosphorylation state is associated with cancer progression [J]. *Front Genet* 2014 5: 346.
- [38] Lee J ,Roberts JS ,Atanasova KR ,et al.A novel kinase function of a nucleoside-diphosphate-kinase homologue in *Porphyromonas gingivalis* is critical in subversion of host cell apoptosis by targeting heat-shock protein 27 [J]. *Cell Microbiol* 2018 20(5) : e12825.
- [39] Nakhjiri SF ,Park Y ,Yilmaz Ö ,et al.Inhibition of epithelial cell apoptosis by *Porphyromonas gingivalis* [J]. *FEMS Microbiol Lett* 2001 200(2) : 145–149.
- [40] Yilmaz Ö ,Jungas T ,Verbeke P ,et al.Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway contributes to survival of primary epithelial cells infected with the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Infect Immun* 2004 72(7) : 3743–3751.
- [41] Mao S ,Park Y ,Hasegawa Y ,et al.Intrinsic apoptotic pathways of gingival epithelial cells modulated by *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Cell Microbiol* 2007 9(8) : 1997–2007.

- [42] Yao L ,Jermanus C ,Barbetta B ,et al.*Porphyromonas gingivalis* infection sequesters pro-apoptotic Bad through Akt in primary gingival epithelial cells [J]. *Mol Oral Microbiol* ,2010 ,25(2) : 89-101.
- [43] Yilmaz Ö ,Yao L ,Maeda K ,et al.ATP scavenging by the intracellular pathogen *Porphyromonas gingivalis* inhibits P2X7-mediated host-cell apoptosis [J]. *Cell Microbiol* ,2008 ,10(4) : 863-875.
- [44] Lin H-Y ,Lai R-H ,Lin S-T ,et al.Suppressor of cytokine signaling 6 (SOCS6) promotes mitochondrial fission via regulating DRP1 translocation [J]. *Cell Death Differ* ,2013 ,20: 139-153.
- [45] Moffatt CE ,Lamont RJ.*Porphyromonas gingivalis* induction of microRNA-203 expression controls suppressor of cytokine signaling 3 in gingival epithelial cells [J]. *Infect Immun* ,2011 ,79(7) : 2632-2637.
- [46] Cho TJ ,Wee SW ,Woo VH ,et al.*Porphyromonas gingivalis*-induced autophagy suppresses cell proliferation through G1 arrest in oral cancer cells [J]. *Arch Oral Biol* ,2014 ,59(4) : 370-378.
- [47] Choi CH ,Spooner R ,DeGuzman J ,et al.*Porphyromonas gingivalis* nucleoside-diphosphate-kinase inhibits ATP-induced reactive-oxygen-species via P2X7 receptor/NADPH-oxidase signaling and contributes to persistence [J]. *Cell Microbiol* ,2013 ,15(6) : 961-976.
- [48] Roberts JS ,Atanasova KR ,Lee J ,et al.Opportunistic pathogen *Porphyromonas gingivalis* modulates danger signal ATP-mediated antibacterial NOX2 pathways in primary epithelial cells [J]. *Front Cell Infect Microbiol* ,2017 ,7: 291.
- [49] Lee K ,Roberts JS ,Choi CH ,et al.*Porphyromonas gingivalis* traffics into endoplasmic reticulum-rich-autophagosomes for successful survival in human gingival epithelial cells [J]. *Virology* ,2018 ,9(1) : 845-859.
- [50] Woo BH ,Kim DJ ,Choi JI ,et al.Oral cancer cells sustainedly infected with *Porphyromonas gingivalis* exhibit resistance to Taxol and have higher metastatic potential [J]. *Oncotarget* ,2017 ,8(29) : 46981-46992.
- [51] Wang Z ,Li Y ,Ahmad A ,et al.Targeting Notch signaling pathway to overcome drug resistance for cancer therapy [J]. *Biochim Biophys Acta* ,2010 ,1806(2) : 258-267.
- [52] Hoppe T ,Kraus D ,Novak N ,et al.Oral pathogens change proliferation properties of oral tumor cells by affecting gene expression of human defensins [J]. *Tumour Biol* ,2016 ,37(10) : 13789-13798.
- [53] Zhou Y ,Sztukowska M ,Wang Q ,et al.Noncanonical activation of β -catenin by *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Infect Immun* ,2015 ,83(8) : 3195-3203.
- [54] Nieminen MT ,Salaspuro M.Local acetaldehyde-an essential role in alcohol-related upper gastrointestinal tract carcinogenesis [J]. *Cancers (Basel)* ,2018 ,10(1) : ell.
- [55] Homann N ,Tillonen J ,Meurman JH ,et al.Increased salivary acetaldehyde levels in heavy drinkers and smokers: a microbiological approach to oral cavity cancer [J]. *Carcinogenesis* ,2000 ,21(4) : 663-668.
- [56] Homann N ,Tillonen J ,Rintamäki H ,et al.Poor dental status increases acetaldehyde production from ethanol in saliva: a possible link to increased oral cancer risk among heavy drinkers [J]. *Oral Oncol* ,2001 ,37(2) : 153-158.
- [57] Diomedea F ,Thangavelu SR ,Merciaro I ,et al.*Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide stimulation in human periodontal ligament stem cells: role of epigenetic modifications to the inflammation [J]. *Eur J Histochem* ,2017 ,61(3) : 2826.
- [58] Martins MD ,Jiao Y ,Larsson L ,et al.Epigenetic modifications of histones in periodontal disease [J]. *J Dent Res* ,2016 ,95(2) : 215-222.
- [59] de Camargo Pereira G ,Guimaraes GN ,Planello AC ,et al.*Porphyromonas gingivalis* LPS stimulation downregulates DNMT1 , DNMT3a and JMD3 gene expression levels in human HaCAT keratinocytes [J]. *Clin Oral Investig* ,2013 ,17(4) : 1279-85.
- [60] Gomez RS ,Dutra WO ,Moreira PR.Epigenetics and periodontal disease: future perspectives [J]. *Inflamm Res* ,2009 ,58(10) : 625-629.
- [61] Rodríguez SB ,Stütt BL ,Ash DE.Expression of peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* in *Escherichia coli*: enzyme purification and characterization [J]. *Arch Biochem Biophys* ,2009 ,488(1) : 14-22.
- [62] Pyrc K ,Milewska A ,Kantyka T ,et al.Inactivation of epidermal growth factor by *Porphyromonas gingivalis* as a potential mechanism for periodontal tissue damage [J]. *Infect Immun* ,2013 ,81(1) : 55-64.
- [63] Potempa J ,Mydel P ,Koziel J.The case for periodontitis in the pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol* ,2017 ,13(10) : 606-620.
- [64] Mohanan S ,Cherrington BD ,Horibata S ,et al.Potential role of peptidylarginine deiminase enzymes and protein citrullination in cancer pathogenesis [J]. *Biochem Res Int* ,2012 ,2012: 895343.
- [65] Kholia S ,Jorfi S ,Thompson PR ,et al.A novel role for peptidylarginine deiminases in microvesicle release reveals therapeutic potential of PAD inhibition in sensitizing prostate cancer cells to chemotherapy [J]. *J Extracell Vesicles* ,2015 ,4: 26192.
- [66] Wang L ,Song G ,Zhang X ,et al.PAD12-mediated citrullination promotes prostate cancer progression [J]. *Cancer Res* ,2017 ,77(21) : 5755-5768.
- [67] Chang X ,Han J ,Pang L ,et al.Increased PADI4 expression in blood and tissues of patients with malignant tumors [J]. *BMC Cancer* ,2009 ,9: 40.