

口-肠轴：昼夜节律紊乱影响牙周炎的潜在机制

李澍 张晔

暨南大学口腔医学院，广东省广州市，510000；

摘要：人体内有数万亿个微生物定植，尤其是口腔和肠道是人体微生物定植最丰富的区域。口腔、肠道微生物已被证实可以转移并相互影响，口腔-肠道微生物轴的稳态影响着口腔、肠道乃至全身健康。哺乳动物、微生物、病原体等大多数生物都受环境昼夜节律的调节，因此人体的昼夜节律紊乱会改变口腔及肠道菌群稳态进而破坏此轴的稳定性，导致口腔和肠道中的有害菌增殖，而这些有害菌与牙周炎的发生密切相关。

关键词：昼夜节律紊乱；微生物群；口腔-肠道轴；牙周炎；免疫系统

DOI:10.69979/3029-2808.24.7.033

前言

牙周炎是临床常见的口腔疾病之一，牙周局部炎症破坏牙周上皮组织，牙周致病菌进入牙周组织内，破坏骨质使其吸收。它是一种牙龈和牙周支持组织的炎症性疾病，牙菌斑是其始动因子，其发生发展与口腔内微生物的失调密切相关。

人体是由细胞和微生物组成的生物体，人体内有数万亿个微生物定植，这些微生物组成了庞大的微生物群落，人体健康与微生物群落息息相关。人体口腔每天与外界接触是呼吸道及消化道的起始部分，暴露于不同食物和环境中，存在着约 700 种微生物，影响了消化道及胃肠道的菌群稳定^[1]。一些口腔微生物种群已从病理肠黏膜或粪便中分离出来并被鉴定为肠道疾病的生物标志物。近年来，许多实验和测序研究结果均揭示了口腔和肠道菌群之间具有生物学同源性，表明口-肠轴得到原来越来越多的关注。目前已有研究表明牙周炎的发生发展受到口腔-肠道轴的影响。

昼夜节律是指生物体在约 24 小时周期内的生理和行为变化。这种节律受内源性生物钟的调控，并受到外界环境因素（如光照、温度等）的影响。有研究表明，昼夜节律紊乱会增加患肥胖、糖尿病、心血管疾病、癌症和其他炎症性疾病的患病风险^[2]。近几十年来有大量的研究表明昼夜节律变化影响牙周炎的发生发展。

本综述我们从微生物的角度探究昼夜节律紊乱对牙周炎的影响，重点探究口腔-肠道微生物轴在这一环节中的作用。

1 口腔-肠道微生物轴

口腔是一个复杂的环境，它包含黏膜、牙龈等软组织，牙齿硬组织，以及唾液、龈沟液等液体，这些不同区域的微生物共超过 770 种^[1]，这些微生物具有空间特异性。在健康人群口腔中，大多数区域以链球菌属为主，其次是颊黏膜中的嗜血杆菌（假单胞菌属）、龈上牙菌

斑中的放线菌属和紧邻龈下牙菌斑中的普雷沃氏菌、卟啉单胞菌属（拟杆菌属）和梭杆菌属（梭杆菌属）等。

肠道由小肠、大肠和直肠三部分组成。肠道是微生物定植最丰富及密集的人体器官之一。有研究表明肠道中定植着 1000 多种的微生物^[3]。这些微生物，统称为肠道微生物群。这些肠道微生物群主要由厚壁菌门和变形菌门的部分耐氧菌以及拟杆菌门、芽孢杆菌门和放线菌门的厌氧菌组成。

口腔作为呼吸系统与消化系统的起点与外界连接。每天会有唾液和食物经过口腔进入肠道，这为口腔致病菌进入肠道提供理论可行性。然而这两者之间存在防御机制——口腔-肠道屏障，包括物理、化学、免疫和生物屏障，这些屏障可以防止微生物侵袭肠道。同时口腔与肠道间不同的 pH 值、氧气浓度、营养吸收率以及免疫反应，也影响着口腔微生物在肠道中的定植。大多数口腔致病菌会被胃酸、胆汁酸、原生微生物群的定植抗性和肠道免疫系统灭活。但仍有诸多文章研究表明可以在粪便中检测出部分口腔菌群及其代谢产物。口腔微生物一般通过两种途径进入肠道：肠内途径及血源途径。细菌在唾液中经胃、十二指肠最后到达肠道及消化道附属器官（肝脏、胰腺等），虽然肠道具有屏障，但当机体出现一些情况比如胃酸 PH 过高，使用抗生素时，口腔内微生物会向肠道转移。有研究表明，有多种口腔微生物（包括核心梭菌属、链球菌、韦荣球菌、放线菌和嗜血杆菌等）在健康和疾病状态下均出现在人类胃肠道中，且具有个体差异^[4]。

当机体健康时，口腔微生物一般不会进入血液，当机体患有牙周炎和根尖周炎，拔牙或牙周手术诱发的短暂性生理性菌血症时，口腔致病菌会进入牙周组织通过血液循环到达全身。牙龈卟啉单胞菌、具核梭杆菌，可以寄生在树突状细胞或巨噬细胞上，破坏口腔外组织^[5]。口腔致病菌及其病原体可以通过这种方式进入肠道及远处器官（心脏），有文章表明口腔微生物与炎症性

肠病、结直肠癌等相关。

Schmidt、Hayward 分析了来自三大洲的数百人的唾液及粪便样本中的所有微生物的遗传物质,结果表明在健康人群中,至少有三分之一的口腔微生物细胞会通过消化道进入其肠道,同时确定了肠道中发现的菌株是源自口腔[6]。这些研究结果都表明无论在健康人群中还是在病理环境中口腔微生物均具有一定的进入肠道的能力。鉴于口腔和肠道微生物群的丰富性以及它们与宿主和彼此之间建立的复杂相互作用,口腔-肠道轴已成为人类健康和疾病的核心参与者。

2 口腔-肠道微生物轴稳态失调对牙周炎的影响

口腔中常见疾病有龋齿、根尖周炎、牙龈炎、牙周炎、口腔黏膜病变、口腔癌等。牙结石和牙菌斑局部刺激引起的牙龈非特异性炎症,可以通过清除牙菌斑及牙石来清除炎症,但当炎症长时间存在时,细菌及炎症会进一步对破坏牙周支持组织,进而引起牙槽骨破坏吸收,转变为牙周炎。牙周炎是临床常见的口腔疾病之一,是成年人失牙最主要的原因。口腔菌群由多种微生物组成相互作用调节代谢,维持动态平衡。因此口腔固有微生物群组成和功能紊乱可能会导致口腔微生物群落与宿主之间的平衡被打破,从而影响个体的口腔甚至全身健康。牙周炎微生物模型表明微生物菌群失调是导致牙周组织破坏从而进一步发展成牙周炎的原因,而不是有限数量的牙周致病菌种^[7]。菌斑生物膜是牙周炎的始动因子。这些混合生物膜中的细菌并不是随机的,其中主要的致病菌为链球菌、牙龈卟啉单胞菌、放线菌、中间普氏菌、齿垢螺螺旋体、具核梭杆菌、福塞坦氏菌、大肠杆菌等。这些细菌之间的识别也不是随机的,每种细菌都有一组共同聚集的细菌,并产生功能相似的黏附素,这些来自于不同菌属的黏附素可以识别其他细菌细胞上的相同受体^[8]。多层次的结构,粗糙的表面,较强的黏附力以及不同种属细菌之间的相互作用使得菌斑生物膜很难被物理清除也对抗生素的渗透造成了阻碍;而生物膜中细菌产生的多糖、蛋白质和DNA等基质物质,形成了一种“保护罩”,帮助细菌抵御外部应激,例如抗生素和免疫细胞的攻击,同时细菌在生物膜的密实结构种比其在悬浮状态下具有更高的抗药性。以上这些原因使得去除菌斑生物膜变得更加困难。

前文中我们详细描述了口腔菌群可以通过多种途径进入肠道内,吞咽大量因牙周炎而失调的口腔菌群,可能导致肠道细菌失衡,导致细菌代谢产物改变、肠道屏障功能受损和免疫失调。口服牙龈卟啉单胞菌和牙周炎患者唾液都可以改变大鼠肠道菌群组成。一些研究发现炎症性肠病(IBD)患者肠道中有大量口腔细菌富集,

这表明口腔-肠轴参与了IBD的发病机制,可能是通过促进全身炎症、免疫失调、黏膜屏障破坏和微生物失调等途径。有研究表明,克雷伯氏菌和变形杆菌在牙周炎患者口腔内增殖,并可以迁移到肠道内定植,激活巨噬细胞炎症性囊泡,从而加剧小鼠肠道炎症^[9]。口腔-肠道微生物稳态失调不光影响着肠道健康,也不同程度的影响着口腔健康。

越来越多的研究表明肠道菌群生态变化可以产生有害代谢物引发全身性炎症反应,从而影响宿主的免疫系统。牙周炎可以通过致病微生物和免疫反应介导全身慢性炎症从而影响宿主健康,这种影响是相互的,全身状态也影响着牙周炎的发生发展。肠道菌群稳态失衡诱导的全身炎症状态和免疫反应可以在一定程度上影响牙周炎。有报道称,肠道菌群失调会加重实验性牙周炎的牙槽骨吸收,Th17细胞是口-肠轴致病菌的反应性细胞,其可以通过诱导免疫反应加剧牙周炎的炎症程度,肠道菌群的改变会影响这些细胞进一步调节牙周炎的发生发展^[10]。氧化三甲胺氧化物(TMAO)是一种肠道细菌代谢毒性产物,与人体免疫疾病有关。有研究表明在动物实验中,外源性TMAO导致肠道菌群稳态失衡通过肠-口腔轴调控NF- κ B信号通路,诱导肠道炎症的同时促进牙周炎的发生发展^[11]。

口腔-肠道微生物失调可能通过多种途径影响牙周炎的发生和发展,包括诱导全身性炎症、改变免疫反应、影响代谢产物的生成等等。因此,深入研究微生物失调在牙周炎中的作用,有助于更好地理解这一疾病的机制,并为预防和治疗提供新的思路。

3 昼夜节律

昼夜节律,也被称为生物钟或循环节律,是生物体内的自然时间节律系统。此节律系统控制着多种生理和行为活动,是维持机体各项生理功能正常的重要因素。昼夜节律是最特殊的生物钟形式,以24小时为一周期来调节和同步生理过程,往往受到光照、进食时间、食物类型、运动、温度等外部环境的昼夜循环的影响。昼夜节律时钟主要通过下丘脑视交叉上核(SCN)中的神经元来协调,接收环境信号并协调位于周围组织中的时钟的振荡活动。哺乳动物昼夜节律时钟的核心是CLOCK和BMAL1(C/B)转录因子,它们的异二聚体通过与这些基因启动子内的E-box元素结合,驱动阻遏基因(包括PER1、PER2、CRY1和CRY2基因)的节律性表达,从而正向或负向的调节昼夜节律^[12]。人体大多数外周组织器官中也具有与昼夜调节相关的自主生物钟。下丘脑视交叉上核通过神经冲动和激素调节外周组织(外周时钟)中的昼夜节律来共同协调细胞、组织、器官和生物体的免疫反应、体温、血压、能量分配、新陈代谢、营养吸

收、胰岛素水平和激素分泌等生理功能。当昼夜节律受到轮班工作^[13]、时差和深夜进食等外部环境的影响时其节律可能会被扰乱从而导致昼夜节律紊乱。此外,不止细胞和组织中有生物钟,微生物包括细菌、酵母菌和某些原生生物,都被证实展现出类似于哺乳动物的昼夜节律行为,有研究表明昼夜节律与微生物群的影响是双向的^[14]。

人类学家最早于 1986 年在蓝藻中发现并报道细菌的昼夜节律,如今它已成为研究昼夜节律的模式生物^[15]。微生物的昼夜节律机制包括:1. 通过周期蛋白(如 cheR 和 cheA)的表达水平周期性变化,调控细胞的生长、分裂和其他生理过程。2. 通过正反馈和负反馈机制维持其周期性。3. 部分微生物能够感知外部环境中的光周期变化。微生物广泛存在于人体器官中,越来越多的研究表明,这些微生物也普遍受昼夜节律的影响,这种影响可能是双向的。

4 昼夜节律紊乱对口腔及肠道菌群的影响

口腔昼夜节律作为宿主相关的昼夜信号,除了影响口腔唾液腺和上皮的稳态外,还影响着唾液微生物群。口腔微生物的昼夜节律行为在口腔健康中扮演着至关重要的角色。这种节律性变化影响着口腔微生物群的组成和功能,进而影响到口腔健康、消化系统健康以及全身健康。有研究表明人口腔和肠道菌群均存在昼夜节律。有研究学者对 6 名健康成人连续三天以 4 小时为间隔采集的样本的 16S V1-V2 序列进行分析,发现大多数唾液微生物例如两个门(厚壁菌门和拟杆菌门)、三个属(链球菌、普雷沃氏菌和孪生菌)表现出昼夜振荡,但当对其进行体外培养时,昼夜节律振荡完全消失,这表明唾液微生物群的昼夜节律振荡不是一个自主过程,而是一种与某些宿主信号和/或与之相关的口腔环境变化相关的反应。为进一步排除饮食不规律等干扰因素,Chellappa 等人对 6 名 18-35 岁的健康年轻人进行了 14 天的实验室昼夜节律方案打乱其睡眠时间诱导昼夜节律失调,然后采集唾液样本对其中的微生物群落以及代谢产物进行分析,研究结果显示这些口腔微生物群落结构表现出内源性昼夜节律,并且昼夜节律失调会显著改变微生物群落格局,使得五个优势门中的四个和十四个优势属中的八个表现出显著的昼夜节律失调现象,同时还显著影响口腔微生物群的宏基因组功能内容,如与代谢控制和免疫相关的特定功能途径发生了变化^[16]。谢等研究发现,牙龈卟啉单胞菌可通过激活 TLR-NF- κ B 信号轴,下调 BML1 表达导致节律紊乱,并募集 DNA 甲基转移酶 1,促使 BMAL1 甲基化后降解,激活 NF- κ B 信号通路形成正反馈回路,增加氧化应激,从而加重粥样动脉硬化,而牙龈卟啉单胞菌是牙周炎的主要致病

菌之一。

迄今为止,已知的哺乳动物宿主与微生物的昼夜节律时钟之间相互影响的最佳例子是肠道菌群。有研究表明,肠道微生物在特定水平上表现出昼夜节律性。有动物研究结果显示,小鼠在 8h 时差下肠道菌群部分类群数量减少:克里斯滕森菌科、多尔菌科、厌氧支原体科、厌氧支原体、乳杆菌、乳球菌、 α -变形菌门、变形菌门、瘤胃球菌等。同时等丰富少部分类群如副普雷沃菌属、梭杆菌属和梭杆菌目等^[17]。Per1 和 Per2 基因是哺乳动物生物节律分子振荡系统的重要组成部分。Bmal1 是 Per1 和 Per2 的昼夜节律基因拮抗剂,有研究表明 Per1^{1/2} 缺陷小鼠和 Bmal1 基因敲除小鼠的肠道微生物丧失其昼夜节律^[18]。

5 昼夜节律紊乱对牙周炎的影响

有研究表明,昼夜节律紊乱(CRD)会增加患肥胖、糖尿病、心血管疾病、癌症和其他炎症性疾病的风险^[2]。更重要的是,近几十年来大量的流行病学研究表明牙周炎与 CRD 相关。有动物研究提示 CRD 可能下调 BMAL1 的基因表达,加剧牙周组织氧化应激和细胞凋亡,从而加重牙周炎^[19]。有小鼠实验表明,昼夜节律紊乱可以通过增加巨噬细胞的浸润并活化巨噬细胞增强 Kdm6a 的表达来加剧牙周炎^[20]。褪黑激素是一种可以调控生物钟周期的内源性激素,已被证实具有调节昼夜节律、抗菌、抗炎、抗氧化、保护骨骼等能力。由 14 篇研究构成的横向研究表明,慢性牙周炎患者唾液中的褪黑素水平较健康者明显减少^[21]。并且已有研究结果显示,褪黑素对牙龈起保护作用,局部辅助使用褪黑素药物可以显著改善非手术治疗后的牙周状况,全身应用褪黑素可以有效减轻 2 型糖尿病患者的牙周炎程度^[22]。

6 小结

以上研究表明了,昼夜节律紊乱可以通过多种机制影响机体免疫细胞的活性,例如生物钟基因的失调、免疫细胞分化的不平衡、炎症因子的异常分泌、抗原呈递功能的降低以及激素水平的变化。近年来已经有越来越多的学者将目光集中到这一领域,然而具体的机制仍需进一步研究,本篇综述从口腔-肠道微生物轴的角度切入,总结了近几年来昼夜节律紊乱与牙周炎的关系的相关文献除此以外前文中有详细描述昼夜节律改变会影响口腔内的微生物稳态,尤其是影响牙周炎相关致病菌群稳态时也会对牙周炎产生进一步影响。

参考文献

[1]Xian, Peng, et al. "The oral microbiome bank of China." International journal of oral science 10.2 (2018): 16.

- [2]Morris, Christopher J., Jessica N. Yang, and Frank AJL Scheer. "The impact of the circadian timing system on cardiovascular and metabolic function." *Progress in brain research* 199 (2012): 337-358.
- [3]Gilbert, Jack A., et al. "Current understanding of the human microbiome." *Nature medicine* 24.4 (2018): 392-400.
- [4]Schmidt, Thomas SB, et al. "Extensive transmission of microbes along the gastrointestinal tract." *elife* 8 (2019): e42693.
- [5]Xue, Ying, et al. "Indoleamine 2, 3-dioxygenase expression regulates the survival and proliferation of *Fusobacterium nucleatum* in THP-1-derived macrophages." *Cell death & disease* 9.3 (2018): 355.
- [6]Schmidt TSB, Hayward MR, Coelho LP, Li SS, Costea PI (2018) European Nucleotide Archive ID PRJEB28422. The Salivary Microbiome in Health and Disease.
- [7]Hajishengallis, George, and Richard J. Lamont. "Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology." *Molecular oral microbiology* 27.6 (2012): 409-419.
- [8]Socransky, Sigmund S., and Anne D. Haffajee. "Dental biofilms: difficult therapeutic targets." *Periodontology* 2000 28.1 (2002): 12-55.
- [9]Kitamoto, Sho, et al. "The intermucosal connection between the mouth and gut in commensal pathobiont-driven colitis." *Cell* 182.2 (2020): 447-462.
- [10]Nagao, Jun-ichi, et al. "Pathobiont-responsive Th17 cells in gut-mouth axis provoke inflammatory oral disease and are modulated by intestinal microbiome." *Cell Reports* 40.10 (2022).
- [11]Wang, Qiqi, et al. "Gut microbiota-dependent trimethylamine n-oxide pathway contributes to the bidirectional relationship between intestinal inflammation and periodontitis." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 12 (2023): 1125463.
- [12]Brown, Gregory M. "Light, melatonin and the sleep-wake cycle." *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 19.5 (1994): 345.
- [13]Reid, Kathryn J., and Sabra M. Abbott. "Jet lag and shift work disorder." *Sleep medicine clinics* 10.4 (2015): 523-535.
- [14]Brooks, John F., and Lora V. Hooper. "Interactions among microbes, the immune system, and the circadian clock." *Seminars in Immunopathology*. Vol. 42. No. 6. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2020.
- [15]Grobbelaar, N., et al. "Dinitrogen-fixing endogenous rhythm in *Synechococcus* RF-1." *FEMS Microbiology Letters* 37.2 (1986): 173-177.
- [16]Chellappa, Sarah L., et al. "Proof-of-principle demonstration of endogenous circadian system and circadian misalignment effects on human oral microbiota." *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 36.1 (2022): e22043.
- [17]Thaiss, Christoph A., et al. "Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis." *Cell* 159.3 (2014): 514-529.
- [18]Liang, Xue, Frederic D. Bushman, and Garrett A. FitzGerald. "Rhythmicity of the intestinal microbiota is regulated by gender and the host circadian clock." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112.33 (2015): 10479-10484.
- [19]Liu, Xiaomeng, et al. "Circadian rhythm disorders aggravate periodontitis by modulating BMAL1." *International journal of molecular sciences* 24.1 (2022): 374.
- [20]Ma, Xueying, et al. "Circadian rhythm disruption exacerbates the progression of macrophage dysfunction and alveolar bone loss in periodontitis." *International Immunopharmacology* 116 (2023): 109796.
- [21]Balaji, Thodur Madapusi, et al. "Melatonin levels in periodontitis vs. the healthy state: A systematic review and meta-analysis." *Oral Diseases* 28.2 (2022): 284-306.
- [22]Anton DM, Martu MA, Maris M, Maftai GA, Sufaru IG, Tatarciuc D, Luchian I, Ioanid N, Martu S. Study on the Effects of Melatonin on Glycemic Control and Periodontal Parameters in Patients with Type II Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. *Medicina (Kaunas)*. 2021 Feb 5; 57(2):140. doi: 10.3390/medicina57020140.