

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2017.11.002

· 专栏论著 ·

牙龈卟啉单胞菌脂多糖对高脂血症兔腹腔巨噬细胞炎症相关因子基因表达的影响

游晓庆¹, 骆凯¹, 李艳芬¹, 吴春芳¹, 闫福华²

1. 福建医科大学附属口腔医院,福建省高校口腔医学重点实验室,福建省口腔生物材料工程技术研究中心,福建福州(350002); 2. 南京大学医学院附属口腔医院,江苏南京(210008)



【通信作者简介】 闫福华,男,1963年12月出生。现任南京大学医学院附属口腔医院副院长、教授、主任医师、博士生导师。江苏省“双创计划”引进人才,江苏省“特聘医学专家”,享受国务院政府特殊津贴。中华口腔医学会监事、中华口腔医学会牙周病学专业委员会候任主任委员、教育部高等学校口腔医学专业教学指导委员会委员、江苏省口腔医学会副会长。主要研究领域为:重度牙周炎的规范化治疗、牙周病与全身系统性疾病的关系、牙周病的种植修复治疗等。主持完成国家及省部级科研项目8项,其中国家自然科学基金项目3项;主持在研国家及省部级科研项目5项,其中国家自然科学基金项目3项。在国内外学术刊物发表论文100余篇,其中SCI源刊物46篇。主译(审)、参编(译)学术专著16部。获省级科学技术进步奖二等奖1项、中华口腔医学会科技奖二等奖1项。已培养毕业博士19人、硕士39人;现正指导在读博士研究生6人、硕士研究生6人。

【摘要】 目的 比较牙龈卟啉单胞菌脂多糖(*Porphyromonas gingivalis* on lipopolysaccharide, *Pg*-LPS)对健康和高脂血症兔腹腔巨噬细胞炎症相关因子基因表达的影响。方法 将健康新西兰兔12只随机分为2组,分别给予普通饲养(健康兔)和高脂饲料饲养,6周后建立高脂血症模型(高脂兔)。采用腹腔灌洗法分别获得健康和高脂兔巨噬细胞,将健康和高脂兔巨噬细胞均随机分为对照组、*Pg*-LPS组(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)及阳性对照组大肠杆菌-脂多糖(*Escherichia, E.coli*-LPS)组(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$),24 h后采用实时PCR法分别检测各组巨噬细胞中C-反应蛋白(C-reaction protein, CRP)、白介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素6(interleukin-6, IL-6)、白介素8(interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) mRNA的表达水平。结果 高脂兔对照组巨噬细胞的CRP、IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 水平高于健康兔对照组巨噬细胞;相较于对照组,高脂兔和健康兔*Pg*-LPS组巨噬细胞的CRP、IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 表达均升高,且高脂兔*Pg*-LPS组巨噬细胞以上因子的表达水平高于健康兔*Pg*-LPS巨噬细胞($P < 0.05$)。结论 *Pg*-LPS可增强高脂血症兔巨噬细胞炎症相关因子mRNA的表达。

【关键词】 牙龈卟啉单胞菌; 脂多糖; 高脂血症; 腹腔巨噬细胞; 炎症因子; 牙周炎

【中图分类号】 R781.4 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2017)11-0687-06

【引用著录格式】 游晓庆, 骆凯, 李艳芬, 等. 牙龈卟啉单胞菌脂多糖对高脂血症兔腹腔巨噬细胞炎症相关因子基因表达的影响[J]. 口腔疾病防治, 2017, 25(11): 687-692.

Effect of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on gene expression of inflammatory cytokines in peritoneal macrophages of hyperlipidemic rabbits YOU Xiaqing¹, LUO Kai¹, LI Yanfen¹, WU Chunfang¹, YAN

【收稿日期】 2017-02-15; **【修回日期】** 2017-04-23

【基金项目】 国家自然科学基金(81371152, 30973326); 福建省自然科学基金项目(2013J01306)

【作者简介】 游晓庆, 住院医师, 硕士, Email: fjyqx@163.com

【通信作者】 闫福华, 主任医师, 博士, Email: fhyan2005@126.com

Fuhua². 1. The affiliated Stomatological Hospital, Fujian Medical University, Key laboratory of Stomatology, Fujian Province University, Fujian Biological Materials Engineering and Technology Center of Stomatology, Fuzhou 350002, China; 2. Nanjing Stomatological Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China

Corresponding author: YAN Fuhua, Email: fhyan2005@126.com, Tel: 0086-25-83620253

【Abstract】 Objective To compare the inflammatory reaction of peritoneal macrophage after *Pg*-LPS stimulated in healthy rabbit and hyperlipidemia rabbit. **Methods** 12 New Zealand rabbits were randomly divided into 2 groups with 6 rabbits in each group, and normal diet and high-fat diet were fed to them respectively. The hyperlipidemia model was set up after 6 weeks. The peritoneal macrophage in normal and hyperlipidemia group were isolated and cultured, and then the cells in both groups were respectively divided into 3 groups: control, 1 $\mu\text{g/mL}$ *Pg*-LPS, and 1 $\mu\text{g/mL}$ *E.coli*-LPS. After 24 h treatment, the expressions of C-reaction protein (CRP), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by realtime PCR. **Results** The levels of CRP, IL-1 β , IL-6, IL-8, and TNF- α were higher in hyperlipidemia control group than normal control group. The expressions of inflammatory substances were increased after stimulated by *Pg*-LPS, and statistically higher in hyperlipidemia rabbit group than normal group ($P < 0.05$). **Conclusion** *Pg*-LPS can enhance the mRNA expressions of inflammation related factors in peritoneal macrophage in hyperlipidemia rabbit.

【Key words】 *Porphyromonas gingivalis*; Lipopolysaccharide; Hyperlipidemia; Peritoneal macrophage; Inflammation factor; Periodontitis

高脂血症是危害人类健康的一种代谢性疾病,其与心血管疾病的的关系备受关注。过多的脂质沉积于血管内皮,可激活全身的单核/巨噬细胞系统,促进其吞噬脂质形成泡沫细胞,加快动脉粥样硬化的发生发展^[1]。腹腔巨噬细胞是腹腔内主要的免疫细胞,多种因素刺激可诱导其激活并释放炎性介质。有研究表明,牙周炎患者体内高水平的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)可增强巨噬细胞的聚集,通过低密度脂蛋白形成泡沫细胞^[2-3],引起脂质代谢的异常,提示牙周炎、高脂血症两者间可能存在一定的联系。高脂血症是心血管疾病的危险因素之一,而高脂血症伴发牙周病是否会加大心血管疾病的风险尚未明确,在该方面的实验研究还鲜有涉及。有报道指出,牙周炎可以影响患者的血脂水平^[4-5],可能是通过相关炎性细胞因子起作用。本实验拟通过检测牙龈卟啉单胞菌脂多糖(*Porphyromonas gingivalis* on lipopolysaccharide, *Pg*-LPS)对健康和血脂血症新西兰兔巨噬细胞炎症相关因子表达的影响,探讨牙周病与高脂血症之间的联系,为进一步研究牙周病与全身性疾病,尤其是与心血管疾病的相互关系提供新思路。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器

1640 培养液(Gibco, 美国);胎牛血清(Hy-

clone, 北京);磷酸盐缓冲液(迈新生物,福州);*E.coli*-LPS(Sigma, 美国);*Pg*-LPS(Invitrogen, 美国);Superscript III(Invitrogen, 美国);QPCR仪(Bio-Rad, 美国);倒置荧光相差显微镜(Olympus, 日本)。

1.2 实验动物

健康清洁级新西兰兔12只,雌雄不限,体质量2.0~2.5 kg,购自中科院上海研究所动物中心(许可证号:SCXK(沪)2007-0007),饲养于中国人民解放军南京军区福州总医院比较医学科,在70%湿度、20℃环境中分笼喂养。

1.3 高脂血症新西兰兔模型的建立

参照实验^[6]方法将健康清洁级新西兰兔适应性喂养1周后,随机分为2组。6只予以基础饲料喂养(健康组,简称为健康兔),6只予以高脂饲料^[4]喂饲(高脂组,简称为高脂兔),配方为:基础饲料+1%胆固醇+5%猪油+15%鲜蛋黄,每只每日喂养量控制在150~200 g,连续喂养6周。满6周后抽取耳缘静脉血,检测总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C),以证实是否成功建立高脂血症新西兰兔模型。

1.4 巨噬细胞的分离、培养

巨噬细胞的分离、培养参照吴春芳等^[7]的方

法。健康及高脂新西兰兔按每千克体质量 30 ~ 40 mg 戊巴比妥钠进行耳缘静脉推注麻醉, 无菌状态下灌入 4 °C 预冷的腹腔灌洗液 125 mL, 按摩腹部 10 min, 回收灌洗液, 并重复灌洗 1 次, 将两次回收的灌洗液 4 °C 离心, 细胞沉淀用 RPMI 1640 进行洗涤, 1 500 r/min × 10 min 离心 2 次, 以巨噬细胞特异性抗体 Macrophagemarker (MAC387) 行免疫细胞化学鉴定。所得细胞以含 20% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 RMPI 1640 贴壁 2 ~ 4 h, 洗去未贴壁细胞, 以含 10% FBS 的 RMPI 1640 继续培养, 台盼兰染色检测细胞存活率, 存活率 > 95% 方可使用。

1.5 实验分组和细胞处理

将分离培养所得的各组细胞, 健康兔 (6 只)、高脂兔 (6 只) 巨噬细胞消化离心计数后, 分别以 1×10^6 个/孔/mL 接种于 6 孔板, 贴壁 24 h 后, 吸弃上清, 每孔加入 1 mL 1% FBS 的 RMPI 1640 培养 2 h 使其同步化, 实验组分别用 1 μ g/mL^[8] *E.coli*-LPS (*E.coli*-LPS 组)、1 μ g/mL^[8] *Pg*-LPS (*Pg*-LPS 组) 刺激, 对照组不加任何刺激, 3 组细胞继续培养 24 h 后, 用 0.5 mL 的 Trizol 裂解细胞提取其 RNA, 严格按照试剂盒说明书操作。

1.6 PCR 法检测细胞因子基因表达

Realtime PCR 法检测不同处理方式后各组细胞细胞因子 C-反应蛋白 (C-reaction protein, CRP)、白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素 6 (interleukin-6, IL-6)、白介素 8 (interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 基因表达的情况。

PCR 引物: 兔各引物 (CRP、IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α) 以及 ACTB 均由 Invitrogen 公司合成, 以管家基因 Beta-actin (基因名为 ACTB) 作为内参。

CRP 引物序列: 上游引物 5'-TCCTATGCCAC-CAGGAGACA-3'; 下游引物 5'-CCAGCTTGCA-CAGAGGTGAG-3'; 产物大小 143 bp。IL-1 β 引物序

列: 上游引物 5'-GTCGTTGTGGCTCTGGAGAA-3'; 下游引物 5'-TGCCAGACAACACCAAGGAT-3'; 产物大小 213 bp。IL-6 引物序列: 上游引物 5'-TTCCG-GATGTATCTCGAGCA-3'; 下游引物 5'-GTGGATC-GTGGTCGTCTTCA-3', 产物大小 218 bp。IL-8 引物序列: 上游引物 5'-GCTTCGATGCCAGTGCATAA-3'; 下游引物 5'-CAGGCAGAGTTCTCTTCCATCA-3', 产物大小 141 bp。TNF- α 引物序列: 上游引物 5'-CTCTGCCTCAGCCTCTTCTCTT-3'; 下游引物 5'-CT-GGTTGTCCGTGAGCTTCAT-3', 产物大小 284 bp。rabbit-ACTB 引物序列: 上游引物 5'-TGGACTTC-GAGCAGGAGATG-3'; 下游引物 5'-GGATGTCCAC-GTCGCACTT-3'; 产物大小 206 bp。

各样品的目的基因和管家基因分别进行 Real-time PCR 反应。每个样品的基因的表达量使用管家基因 ACTB (不同样品间表达量基本恒定) 进行校正, 根据绘制的梯度稀释 DNA 标准曲线, 各样品目的基因和管家基因的浓度结果直接由机器生成。基因的表达量 $F = 2^{-\Delta\Delta ct}$, $\Delta\Delta ct = (\text{待测样品的目的基因的 } ct \text{ 的平均值} - \text{待测样本的看家基因的 } ct \text{ 的平均值}) - (\text{对照样品的目的基因的 } ct \text{ 的平均值} - \text{对照样本的看家基因的 } ct \text{ 的平均值})$, F 值越大表达量越高。

1.7 统计学方法

使用 SPSS 16.0 统计软件进行数据处理。对同一动物模型各组细胞的细胞因子 (CRP、IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α) 的基因表达量采用单因素方差分析; 对健康兔和高脂兔间采用独立样本 t 检验分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 检验水平 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 动物模型的建立

如表 1 所示, 2 组动物血脂水平差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 参考人类高脂血症的诊断标准^[9], 表明该方法已成功建立兔高脂血症动物模型。

表 1 2 组新西兰兔的血脂水平

Table 1 Lipid levels in normal and hyperlipidemia group mmol/L, $\bar{x} \pm s$

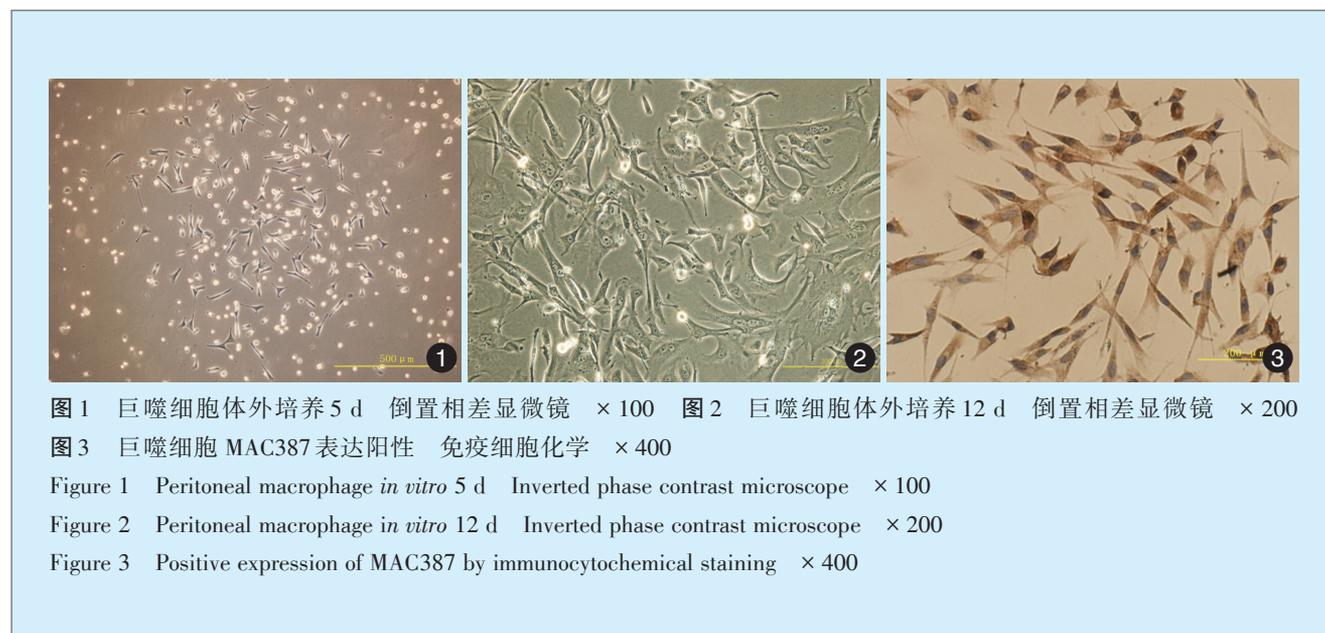
组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
高脂组 ($n = 6$)	28.536 7 \pm 3.708 02	3.758 3 \pm 1.341 27	7.598 3 \pm 2.125 46	37.320 0 \pm 2.013 50
健康组 ($n = 6$)	1.418 3 \pm 0.457 23	0.696 7 \pm 0.246 31	0.721 7 \pm 0.305 97	0.521 7 \pm 0.223 91
t 值	17.780	5.499	7.844	44.492
P 值	< 0.001	0.002	< 0.001	< 0.001

注 TG: 总胆固醇; TC: 甘油三酯; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇。

2.2 巨噬细胞形态观察及鉴定

倒置相差显微镜下贴壁细胞呈圆形、棱形、三角

形和星形等不规则形态(图1、图2)。免疫细胞化学染色显示巨噬细胞中MAC387呈阳性表达(图3)。



2.3 Realtime PCR 检测结果

高脂兔对照组中巨噬细胞的CRP、IL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α表达量均显著高于健康兔(P < 0.05)。受Pg-LPS作用后,高脂兔巨噬细胞的CRP、IL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α表达量均显著提高(P < 0.05),也

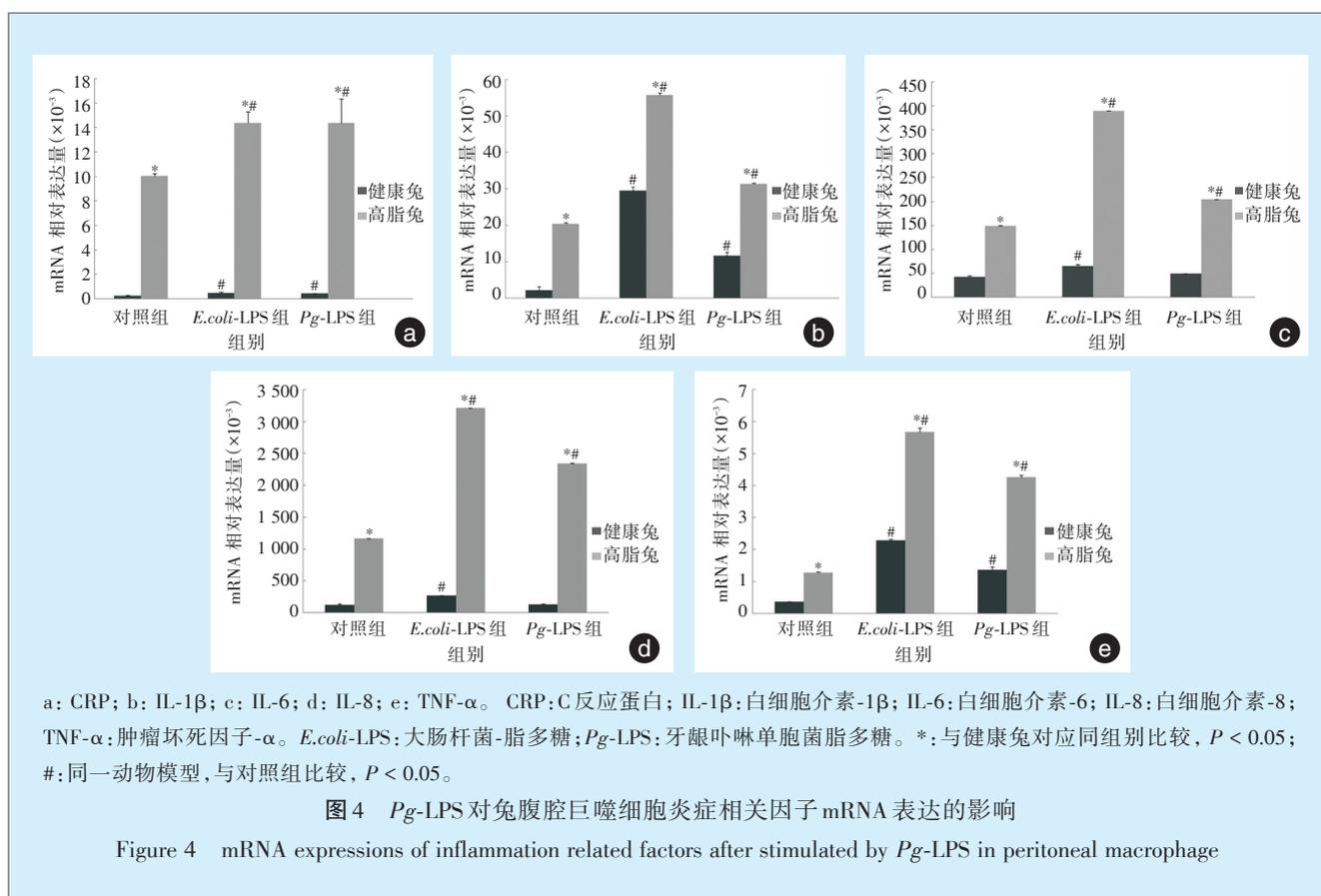
高于Pg-LPS作用后健康兔巨噬细胞的表达(P < 0.05)。该结果与经典的阳性对照组E.coli-LPS组的结果相似。健康兔在Pg-LPS刺激下,CRP、IL-1β、TNF-α表达量显著上升(P < 0.05),但IL-6、IL-8的上升不明显(P > 0.05)(表2)(图4a~图4e)。

表2 Pg-LPS对兔巨噬细胞炎症相关因子mRNA表达的影响

Table 2 mRNA expressions of inflammation related factors after stimulated by Pg-LPS in peritoneal macrophage

组别		CRP	IL-1β	IL-6	IL-8	TNF-α
健康兔	对照组	0.000 28 ± 0.000 17	0.002 18 ± 0.000 15	0.043 39 ± 0.001 45	0.125 76 ± 0.008 90	0.000 36 ± 0.000 01
	E.coli-LPS组	0.000 50 ± 0.000 07 ¹⁾	0.029 48 ± 0.001 26 ¹⁾	0.065 23 ± 0.004 00 ¹⁾	0.267 03 ± 0.001 86 ¹⁾	0.002 28 ± 0.000 14 ²⁾
	Pg-LPS组	0.000 44 ± 0.000 02 ¹⁾	0.011 65 ± 0.001 41 ¹⁾	0.049 35 ± 0.000 77	0.135 03 ± 0.003 78	0.001 36 ± 0.000 11 ²⁾
F值		3.403	480.607	61.353	579.64	260.9811
P值		0.103	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
高脂兔	对照组	0.010 04 ± 0.000 20	0.020 42 ± 0.000 40	0.149 67 ± 0.000 24	1.169 58 ± 0.000 39	0.001 27 ± 0.000 03 ¹⁾
	E.coli-LPS组	0.014 37 ± 0.000 91 ¹⁾	0.055 68 ± 0.000 70 ¹⁾	0.388 47 ± 0.000 31 ¹⁾	3.209 93 ± 0.005 07 ¹⁾	0.005 68 ± 0.000 03 ¹⁾²⁾
	Pg-LPS组	0.014 37 ± 0.001 98 ¹⁾	0.031 40 ± 0.000 20 ¹⁾	0.204 48 ± 0.000 19 ¹⁾	2.343 63 ± 0.003 16 ¹⁾	0.004 26 ± 0.000 16 ¹⁾²⁾
F值		11.746	4 246.405	741 953.87	263 313.65	29.387 2
P值		0.008	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.008

注 1)与高脂兔(或健康兔)对应同组别比较, P < 0.05; 2)同一动物模型, vs. 对照组, P < 0.05; E.coli-LPS: 大肠杆菌-脂多糖; Pg-LPS: 牙龈卟啉单胞菌脂多糖; CRP: C反应蛋白; IL-1β: 白细胞介素-1β; IL-6: 白细胞介素-6; IL-8: 白细胞介素-8; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α。高脂兔对照组(t = 64.4)、E.coli-LPS组(t = 26.3)、Pg-LPS组(t = 12.1)CRP基因表达水平高于健康兔对应同组别, 差异具有统计学意义(P < 0.001); 高脂兔对照组(t = 73.9)、E.coli-LPS组(t = 31.5)、Pg-LPS组(t = 24.0)IL-1β基因表达水平高于健康兔对应同组别, 差异具有统计学意义(P < 0.001); 高脂兔对照组(t = 125.2)、E.coli-LPS组(t = 139.5)、Pg-LPS组(t = 338.7)IL-6基因表达水平高于健康兔对应同组别, 差异具有统计学意义(P < 0.001); 高脂兔对照组(t = 202.9)、E.coli-LPS组(t = 943.8)、Pg-LPS组(t = 776.4)IL-8基因表达水平高于健康兔对应同组别, 差异具有统计学意义(P < 0.001); 高脂兔对照组(t = 49.8)、E.coli-LPS组(t = 41.1)、Pg-LPS组(t = 6.1)TNF-α基因表达水平高于健康兔对应同组别比较, 差异具有统计学意义(P < 0.001)。



3 讨论

3.1 牙周炎与高脂血症的相关性

牙周病和高脂血症是目前临床上危害人类健康的常见病、多发病,在人群中广泛分布。感染和炎症导致的免疫功能紊乱是两者共同的关键性因素。牙周病是由包括 *Pg*^[10]在内的多种细菌感染引起的慢性炎症性疾病,LPS是 *Pg* 细胞外膜的主要成分,其抗原性和毒性能激活宿主先天免疫系统而产生致炎因子^[11]。越来越多的流行病学证据提示,单核/巨噬细胞在牙周炎症以及与牙周病相关的系统性疾病中发挥了重要作用^[8, 11-12]。巨噬细胞属免疫活性细胞,具有多种功能,主要通过吞噬致病原并激活其他免疫细胞来参与机体的特异性防御和非特异性防御,对维持宿主-微生物之间的平衡有重要作用,是先天免疫系统中主要的细胞分支。已有研究证实,LPS是单核/巨噬细胞强有力的激活因子,其产生的多种生物活性物质在动脉粥样硬化的发生、发展过程中起着重要的作用,如CRP、IL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α等^[8]。IL-1β、IL-6和TNF-α是机体在应答感染时产生的重要炎性介质,调节免疫反应过程。CRP既可以调节单核细胞聚集作用,也可以刺激组织因子的生成,启动凝血过

程,参与动脉粥样硬化的发生和进展。IL-8是一种趋化因子,它是分泌性蛋白质家族成员之一,其主要功能是在免疫反应过程中趋化和激活白细胞。Nie等^[13]报道高脂血症可上调兔IL-8等细胞因子的表达水平。

高脂血症是以血液中脂质水平显著升高为特征的慢性疾病。许多研究显示,高脂血症可致血液中CRP等炎症相关因子的水平升高,并与包括动脉粥样硬化在内的多种全身性疾病密切相关^[14]。越来越多的研究表明牙周炎与高脂血症间存在一定的相关性^[15-20]。牙周致病菌及其代谢产物的血液传播,诱发机体产生一系列炎症因子,从而调节机体血脂水平的变化。学者们调查研究发现^[15-16],牙周炎患者的血脂水平高于健康人群,经过牙周治疗后,血脂水平可出现不同程度的下降。LPS诱发的菌血症可使游离脂肪酸的水平升高,影响脂质的代谢^[17-18]。高脂血症患者由于局部的微循环障碍和炎症因子的释放增加,白细胞过度激活,促进活性氧释放,加速了牙周炎的进展^[19-20]。

3.2 高脂血症新西兰兔和健康新西兰兔炎症因子mRNA表达的比较

本研究发现,高脂血症新西兰兔炎症因子基

因的表达量高于健康新西兰兔。提示血脂水平可能影响机体局部和外周循环中单核/巨噬细胞的数量和功能,高血脂可使其活性增强。推测相关的原因可能是:在肥胖或高脂血症状态下,为了清除局部组织和血液中沉积的过多脂质,全身单核/巨噬细胞被激活,并大量增生^[16],随后单核/巨噬细胞功能受损,处于高反应性,使之对LPS的敏感性增强,炎症因子的表达也增加。已有报道,极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)的代谢产物脂肪酸可促进单核细胞形成脂质小滴,诱导TNF- α 、IL-1 β 、IL-8的释放^[21]。有证据表明,肥胖者的机体处于微炎症状态,巨噬细胞在其炎症反应增强的过程中发挥重要作用,从而使炎症因子的表达增加^[22]。部分学者研究指出,持续的高脂饮食将对小鼠的免疫功能造成影响,巨噬细胞对LPS的敏感性增强^[23]。

本研究对照组中炎症相关因子的表达,高脂兔高于健康兔,提示高脂血症新西兰兔正处于一种炎症反应状态,炎症因子的表达可能与血脂水平存在一定的相关性。加入Pg-LPS刺激后,健康兔和高脂兔TNF- α 、CRP、IL-1 β 、IL-6、IL-8的表达均呈上升的趋势,但高脂兔仍然高于健康兔,并与阳性对照组*E.coli*-LPS组的结果相似。该结果表明牙周炎症和高脂血症具有协同作用。然而牙周炎与高脂血症之间的相互影响关系,以及两者同时存在时对动脉粥样硬化等心血管疾病的影响还有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Siasos G, Tousoulis D, Oikonomou E, et al. Inflammatory markers in hyperlipidemia: from experimental models to clinical practice [J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(37): 4132-4146.
- [2] Lakio L, Lehto M, Tuomainen AM, et al. Pro-atherogenic properties of lipopolysaccharide from the periodontal pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*[J]. *J Endotoxin Res*, 2006, 12(1): 57-64.
- [3] Fentoglu O, Koroğlu BK, Hiçyılmaz H, et al. Pro-inflammatory cytokine levels in association between periodontal disease and hyperlipidaemia[J]. *J Clin Periodontol*, 2011, 38(1): 8-16.
- [4] Zhang L, Zhang WH, Zhang L, et al. Prevalence of overweight/obesity and its associations with hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome: a survey in the suburban area of Beijing, 2007[J]. *Obes Facts*, 2011, 4(4): 284-289.
- [5] 释栋, 孟焕新, 徐莉, 等. 牙周炎患者的血脂、血糖水平分析[J]. *中华口腔医学杂志*, 2006, 41(7): 401-402.
- [6] 游晓庆. 牙周致病菌Pg-LPS对组织特异性单核/巨噬细胞炎症因子表达影响的实验研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2011.
- [7] 吴春芳, 游晓庆, 许雯静, 等. 兔不同部位单核/巨噬细胞的分离, 培养和鉴定[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(5): 576-578.
- [8] Zhang DY, Chen LL, Li SL, et al. Lipopolysaccharide (LPS) of *porphyromonas gingivalis* induces IL-1 beta, TNF-alpha and IL-6 production by THP-1 cells in a way different from that of escherichia coli LPS[J]. *Innate Immun*, 2008, 14(2): 99-107.
- [9] 葛均波, 徐永健. 内科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [10] 孟田甜, 李新. 牙龈卟啉单胞菌与病毒的交互作用[J]. *华西口腔医学杂志*, 2016, 34(4): 425-428.
- [11] Pussinen PJ, Vilkkuna-Rautiainen T, Alftan G, et al. Severe periodontitis enhances macrophage activation via increased serum lipopolysaccharide[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(11): 2174-2180.
- [12] Paquette DW, Brodala N, Nichols TC. Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection[J]. *Periodontol* 2000, 2007, 44: 113-126.
- [13] Nie Y, Chen H, Cheng M, et al. Interleukin-8 protein and gene expression in atherosclerotic lesions of hyperlipemia rabbits[J]. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 2005, 22(2): 258-264.
- [14] Gokalp D, Tuzcu A, Bahceci M, et al. Levels of proinflammatory cytokines and hs-CRP in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia[J]. *Acta Cardiol*, 2009, 64(5): 603-609.
- [15] Kallio KA, Buhlin K, Jauhiainen M, et al. Lipopolysaccharide associates with pro-atherogenic lipoproteins in periodontitis patients [J]. *Innate Immun*, 2008, 14(4): 247-253.
- [16] Griffiths R, Barbour S. Lipoproteins and lipoprotein metabolism in periodontal disease[J]. *Clin Lipidol*, 2010, 5(3): 397-411.
- [17] Fentoglu O, Oez G, Tasdelen P, et al. Periodontal status in subjects with hyperlipidemia[J]. *J Periodontol*, 2009, 80(2): 267-273.
- [18] Oram JF, Wolfbauer G, Vaughan AM, et al. Phospholipid transfer protein interacts with and stabilizes ATP-binding cassette transporter A1 and enhances cholesterol efflux from cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(52): 52379-52385.
- [19] Scardina GA, Pisano T, Cacioppo A, et al. Periodontal alteration of the microcirculation and hypercholesterolemia: a possible correlation?[J]. *South Med J*, 2011, 104(2): 116-120.
- [20] Clarke MC, Talib S, Figg NL, et al. Vascular smooth muscle cell apoptosis induces interleukin-1-directed inflammation effects of hyperlipidemia-mediated inhibition of phagocytosis[J]. *Circ Res*, 2010, 106(2): U83-363.
- [21] Den Hartigh LJ, Connolly-Rohrbach JE, Fore S, et al. Fatty acids from very low-density lipoprotein lipolysis products induce lipid droplet accumulation in human monocytes[J]. *Journal of Immunology*, 2010, 184(7): 3927-3936.
- [22] Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses[J]. *FASEB J*, 1998, 12(1): 57-65.
- [23] Kim MS, Han SN. High fat diet-induced obesity leads to proinflammatory response associated with higher expression of NOD2 protein[J]. *FASEB Journal*, 2011, 25(3): 219-223.

(编辑 张琳, 徐琛蓉)