

牙龈卟啉单胞菌与阿尔茨海默病相关性致病机制

任欢^{1,2,3}, 乔新^{1,2,3}, 王峥^{*1,2,3}, 杨德琴^{*1,2,3}

1 重庆医科大学附属口腔医院牙体牙髓科, 重庆 401147

2 口腔疾病研究重庆市重点实验室, 重庆 401147

3 重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室, 重庆 401147

任欢, 乔新, 王峥, 杨德琴. 牙龈卟啉单胞菌与阿尔茨海默病相关性致病机制[J]. 微生物学通报, 2024, 51(11): 4359-4369.

REN Huan, QIAO Xin, WANG Zheng, YANG Deqin. Association of *Porphyromonas gingivalis* with Alzheimer's disease[J]. Microbiology China, 2024, 51(11): 4359-4369.

摘要: 牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)作为牙周炎的关键致病细菌之一, 与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的发生发展密切相关。*P. gingivalis*通过分泌多种毒力因子, 如脂多糖、牙龈蛋白酶及外膜囊泡, 促进了AD的发展。这些毒力因子能够引发机体的炎症反应、 β -淀粉样蛋白的沉积、Tau蛋白磷酸化、神经毒性作用及血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的损害, 在AD的发病机制中有重要作用。因此本文综述了*P. gingivalis*与AD之间的潜在致病机制, 以便为AD的预防和治疗提供新的靶点。

关键词: 牙龈卟啉单胞菌; 阿尔茨海默病; 脂多糖; 牙龈蛋白酶; 外膜囊泡; 血脑屏障

资助项目: 首批重庆医科大学重大科技创新项目(2023[157]); 重庆市自然科学基金创新发展联合基金 A 类项目(CSTB2022NSCQ-LZX0039); 重庆医科大学青年创新科研团队(W0060)

This work was supported by the First Batch Scientific and Technological Innovation Key Project of Chongqing Medical University (2023[157]), the Class A Project of Chongqing Natural Science Foundation Innovation and Development Joint Fund (CSTB2022NSCQ-LZX0039), and Future Medical Youth Innovation Program of Chongqing Medical College (W0060).

*Corresponding authors. E-mail: YANG Deqin, yangdeqin@hospital.cqmu.edu.cn; WANG Zheng, wangzheng@hospital.cqmu.edu.cn

Received: 2024-02-28; Accepted: 2024-03-31; Published online: 2024-04-30

Association of *Porphyromonas gingivalis* with Alzheimer's disease

REN Huan^{1,2,3}, QIAO Xin^{1,2,3}, WANG Zheng^{*1,2,3}, YANG Deqin^{*1,2,3}

1 Department of Endodontics, Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401147, China

2 Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases, Chongqing 401147, China

3 Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing 401147, China

Abstract: As one of the key pathogenic bacteria of periodontitis, *Porphyromonas gingivalis* is closely associated with the occurrence and development of Alzheimer's disease (AD). *P. gingivalis* promotes the development of AD by secreting various virulence factors, such as lipopolysaccharides (LPS), gingipains, and outer membrane vesicles (OMVs). These virulence factors are capable of inducing systemic inflammation, β -amyloid ($A\beta$) deposition, Tau protein phosphorylation, neurotoxicity, and damage to the blood-brain barrier (BBB), playing a role in the pathogenesis of AD. This review summarizes the association between *P. gingivalis* and AD, aiming to provide a new target for the prevention and treatment of AD.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*; Alzheimer's disease; lipopolysaccharides; gingipains; outer membrane vesicles; blood-brain barrier

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种进行性、不可逆转的神经系统退行性疾病,其病理特征是脑组织 β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, $A\beta$)的沉积,进而引发老年斑的形成、微管相关蛋白 Tau 过度磷酸化,导致神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)的产生以及大量神经元丧失。临床主要表现为记忆及认知功能障碍^[1]。据预测,到 2050 年我国 AD 患者数量将达到约 2 800 万,经济负担将达到 9.12 亿美元^[2]。AD 病因及致病机制复杂且不明确,给患者家庭和社会带来严重的心理及经济负担,因此,研究 AD 的病因机制及防治措施具有重要的实际意义。

牙周炎是 AD、糖尿病、心脏病等全身系统性疾病的危险因素^[3-4]。牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)是慢性牙周炎病变区最主要的优势菌^[5],具有一系列逃避宿主防

御机制和破坏宿主组织的能力,可通过附着于宿主组织细胞、抵抗宿主先天性免疫系统、分泌大量的毒力因子而引起牙周支持组织的慢性炎症^[5]。研究发现,在 AD 老年患者的脑组织中检测到 *P. gingivalis* 的毒力因子,而未患 AD 的老年群体中并未发现这种毒力因子^[6-7],而 *P. gingivalis* 在 AD 患者中的抗体含量均高于对照组^[8],*P. gingivalis* 及其产生的毒力因子可引起 AD 相关的病理表现^[9],证实牙周病原菌 *P. gingivalis* 在 AD 的发生发展中发挥着重要作用,其具体作用机制尚未明确,本综述探讨了 *P. gingivalis* 引发 AD 的可能机制,以期 AD 的预防和治疗提供新的策略和靶点。

1 *Porphyromonas gingivalis* 与 AD 的相关性

P. gingivalis 是一种革兰氏阴性细菌,作为

牙周病的关键病原体, *P. gingivalis* 表达多种毒力因子, 包括脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)、牙龈蛋白酶家族蛋白(精氨酸特异性牙龈蛋白酶和赖氨酸特异性牙龈蛋白酶)及外膜囊泡(outer membrane vesicles, OMVs)等, 这些毒力因子通过破坏牙周组织促进牙周病的进展^[5,10]。

Guo 等^[11]对 AD 患者唾液和龈沟液进行口腔微生物组成分析, 发现其唾液菌群和牙周菌群的优势菌群分别为口腔链球菌和 *P. gingivalis*。在认知障碍患者中, 有 35% 的患者龈沟液内检测到了致病性的牙周细菌, 其中 *P. gingivalis* 与患者较低的简易精神状态评分密切相关^[12]。Cirstea 等^[13]发现 *P. gingivalis* 在 AD 患者中的检出率是健康对照组的 5 倍。Stein 等^[8]前瞻性研究了血浆中牙周病原菌抗体含量与 AD 发病之间的关系, 发现在 AD 发病前 10 年及发病时, AD 组患者血浆中的牙周病原菌抗体含量均显著高于正常对照组。流行病学调查显示, AD 患者血清中 *P. gingivalis* 抗体水平相较于同龄正常人群更高, 并且这种抗体水平的增高程度与记忆受损程度呈正相关^[14]。在认知测试中, 个体言语记忆和减法测试表现受损受试者的 *P. gingivalis* IgG 平均水平较高^[15]。Chen 等^[16]回顾性队列研究了上万例中国台湾人群样本, 结果显示, 患有慢性牙周炎超过 10 年的人群患 AD 的风险是无牙周炎人群的 1.7 倍。在 AD 患者的大脑中可检测到 *P. gingivalis* 毒力因子牙龈蛋白酶, 并且外源性添加牙龈蛋白酶的小分子抑制剂可以减轻 *P. gingivalis* 感染大脑中的神经退行性变^[17]。Poole 等^[7]发现 AD 组老年人脑组织中存在 *P. gingivalis* 产生的 LPS, 而正常老年人群未检测到。同时, 在 AD 患者的脑脊液中也发现了 *P. gingivalis* DNA。动物实验发现, *P. gingivalis* 自身及其产生的 LPS、牙龈蛋白酶均可导致鼠产生大脑神经炎症等 AD 样病理改

变^[9,18-25]。在小鼠模型中, *P. gingivalis* 感染可以通过大脑中 *P. gingivalis* LPS 的增加而加剧 AD 的特征^[17,22,26]。以上研究结果表明 *P. gingivalis* 与 AD 的发生发展存在着密切的相关性。

2 *Porphyromonas gingivalis* 在 AD 中的作用机制

关于 *P. gingivalis* 如何促进 AD 发生发展, 部分学者认为 *P. gingivalis* 通过三叉神经或者入血后穿过血脑屏障(blood brain barrier, BBB)直接进入大脑^[27]。另一种理论为 *P. gingivalis* 的毒力因子会导致宿主细胞释放大量的炎性因子, 这些炎性因子进入大脑后会激活脑内的固有免疫系统, 进而释放大量的促炎因子和趋化因子, 加剧氧化应激反应, 从而引发神经元凋亡, 并促进 A β 沉积和/或 Tau 蛋白的磷酸化。同时, A β 低聚物、NFTs 和坏死的神经元等有害物质会进一步激活炎症细胞, 引发炎症的级联反应^[28]。这些理论尚未得到证实, 但为我们深入了解 AD 发病机制提供了重要线索。

2.1 LPS 与 AD 相关的致病机制

P. gingivalis 产生与神经炎症相关的 LPS。神经炎症是 AD 的重要病理表现, 可由各种病理损伤引起, 包括感染、创伤、缺血和毒素。这一过程的特点是产生促炎细胞因子, 包括白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-18 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等, 以及中枢神经系统先天免疫细胞产生的活性氧^[29]。IL-1 β 通过增加前列腺素 E2 的产生诱导突触缺失, 从而导致突触前谷氨酸释放和突触后 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体激活^[30], 当核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路受到抑制时, TNF 通过激活 TNFR 1 和募集 caspase-8 导致神经元死亡^[31]。

(1) *P. gingivalis* LPS 刺激先天免疫细胞表达的模式识别受体以激活免疫反应。*P. gingivalis* LPS 诱导的牙周炎通过激活 toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4)/NF- κ B 信号通路, 促进了神经炎症的发生, 引发大鼠学习和记忆障碍^[32]。首先, TLR4 识别 LPS 并结合 LPS, 从而激活小胶质细胞和其他炎症过程^[33]。其次, *P. gingivalis* LPS 通过 NF- κ B 途径诱导小胶质细胞产生 IL-1 β , 释放的 IL-1 β 作用于神经元 IL-1 受体, 促进神经元内淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 和 Tau 蛋白磷酸化的表达和加工^[34]。组织蛋白酶 B 响应 NF- κ B 信号传导, 进一步促进 NF- κ B 通路的慢性激活和小胶质细胞介导的神经炎症^[34]。此外, *P. gingivalis* LPS 会在血脑脊液屏障的软脑膜处诱导小胶质细胞介导的神经炎症, 从而增加促炎细胞因子的产生^[5]。因此, *P. gingivalis* LPS 能够诱导大脑小胶质细胞的经典和选择性激活, 导致细胞因子和趋化因子的释放, 增加 AD 相关的病理改变^[35]。

(2) *P. gingivalis* LPS 引发 Tau 蛋白磷酸化。参与 Tau 蛋白磷酸化的酶包括许多激酶, 如 Gsk3 β 、PKA、PKB 和各种磷酸酶。研究表明, *P. gingivalis* LPS 能够诱导小胶质细胞中糖原合成酶 β (glycogen synthase kinase-3 β , Gsk3 β) 的激活, 这可能增加作用于神经元的 TNF- α 的表达和分泌, 进而触发 AKT-Gsk-3 β 介导的 Tau 蛋白过度磷酸化^[20]。同时, Bahar 等报道 *P. gingivalis* LPS 感染可能增加 AKT1 基因的 mRNA 丰度, AKT1 的上调激活 Gsk3 β , 导致 Tau 蛋白过度磷酸化, 从而影响认知功能^[9]。

(3) *P. gingivalis* LPS 介导 A β 的形成。A β 由 APP 水解产生, 具有很强的神经毒性, A β 沉积是 AD 重要病理表现之一。*P. gingivalis* LPS 的慢性刺激能够增加淀粉样前体蛋白 APP 的表

达, 诱导炎性单核/巨噬细胞外周 A β 积聚^[36]。*P. gingivalis* 在牙周炎中产生的 LPS 还可以上调血清 A β 肽的水平^[37]。此外, LPS 诱导 Gsk3 β 激活, Gsk3 β 在 APP 淀粉样蛋白合成过程中也发挥重要作用, 能够介导 A β 的形成。

综上所述, LPS 可以引起和促进 *P. gingivalis* 相关的神经炎症改变, 并导致 Tau 蛋白及 A β 的升高, 可能成为潜在的治疗靶点。

2.2 牙龈蛋白酶与 AD 相关的致病机制

牙龈蛋白酶是由 *P. gingivalis* 分泌的一种半胱氨酸蛋白酶, 包括精氨酸特异性牙龈蛋白酶 A/B 和赖氨酸特异性蛋白酶^[38]。牙龈蛋白酶与大脑中过度磷酸化的 Tau 蛋白及 AD 严重程度相关, 它通常与 A β 、NFTs 和铁沉积出现共同定位^[3]。

Tau 蛋白是含量最高的微管相关蛋白, 微管系统是神经细胞的骨架成分, 可参与多种细胞功能。高度磷酸化的 Tau 蛋白是 NFTs 的主要成分。病理情况下, Tau 蛋白溶解性会发生改变, 形成丝状结构, 某些氨基酸位点发生磷酸化和泛素化, 并且与微管蛋白结合力下降, 从而失去稳定微管蛋白的作用, 最终形成 NFTs。

研究发现 Tau 蛋白是牙龈蛋白酶蛋白作用的靶点^[17]。在体外实验中, *P. gingivalis* 感染导致神经元中 Tau 蛋白的剧烈降解, 增加异常过度磷酸化的 Tau 蛋白含量, 而正常 Tau 蛋白水平降低, 这可能是牙龈蛋白酶对 Tau 蛋白作用的结果^[39]。动物实验提示, AD 小鼠大脑中 Tau 蛋白的损伤改变可能是由 *P. gingivalis* 的跨神经传播以及牙龈蛋白酶蛋白分解作用引起的^[17]。关于牙龈蛋白酶引起 AD 相关病理变化的机制, 目前认为主要有以下几种: (1) 牙龈蛋白酶能够切割蛋白酶原-3, 从而激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (cysteiny l aspartate specific proteinase,

Caspase)-3, 后者与 Tau 蛋白磷酸化有关^[40-41]。(2) 牙龈蛋白酶以 Tau 蛋白为目标并将其分解截短, 阻止 Tau 蛋白发挥其作为微管稳定蛋白的作用, 使其自行组装, 形成 NFTs^[42]。(3) 牙龈蛋白酶还可以切割补体成分 C1C5, 防止 C3b 在 *P. gingivalis* 表面沉积, 并捕获 C4b 结合蛋白, 抑制补体激活, 从而躲避宿主细胞杀伤作用, 导致局部感染。此外, 牙龈蛋白酶和有缺陷的补体成分可能无法有效清除细胞碎片, 导致 A β 和 NFTs 的积累, 加重 AD 相关病理变化^[42]。

除作用于 Tau 蛋白, 牙龈蛋白酶对大脑小胶质细胞的功能也至关重要, 其通过激活蛋白酶激活受体(protease activated receptor, PAR)-2, 促进小胶质细胞迁移和炎症因子的产生^[34]。该过程触发了磷酸肌醇 3-激酶(hosphatidylinositide 3-kinase, PI-3K)/Akt 和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路, 从而增强了小胶质细胞迁移和炎症反应。因此, 牙龈蛋白酶有助于小胶质细胞向大脑的感染区域移动, 并引发神经炎症。

综上所述, 牙龈蛋白酶能够影响 Tau 蛋白和 A β 的病理变化, 以及激活 PAR-2 受体触发相关信号通路引发神经炎症, 是介导 AD 发展的关键因子。使用牙龈蛋白酶抑制剂能够进入小鼠脑部, 有效阻断牙龈蛋白酶对 Tau 蛋白的作用及牙龈蛋白酶引起的神经变性, 进而有助于恢复受损的神经元^[17]。因此, 牙龈蛋白酶有望成为防治 *P. gingivalis* 相关 AD 的关键靶点之一。

2.3 OMVs 与 AD 相关的致病机制

OMVs 是革兰氏阴性细菌产生的一种直径在 50–250 nm 左右的脂质双分子层小囊泡, 它们携带多种细菌毒力因子, 有重要的生物学功能。*P. gingivalis* 产生的 OMVs 表面存在高密度的蛋白毒力因子^[43], 这些毒力因子包括 LPS、

外膜脂质及蛋白、DNA、RNA 和部分内膜内容物^[44]。OMVs 富含蛋白水解的牙龈蛋白酶, 含量是其菌体本身的 3–5 倍, OMVs 还含有高浓度的 LPS 和菌毛^[43]。内化的 OMVs 与细胞降解和诱导先天免疫反应有关^[45], 其强度大于细菌本身引发的免疫反应。当 OMVs 被内化时, 细菌 DNA 和 RNA 被完整地转运到宿主细胞中, 影响宿主细胞基因的表达和调控。由于目前并未在大脑组织中检测到 *P. gingivalis* 菌体, 而 *P. gingivalis* 产生的 OMVs 与菌体本身相比具有体积小、数量大、能携带和保护毒力因子的特点, 到达远处组织和器官后释放毒力因子引起病变, 并且 OMVs 具有易于穿过 BBB 的优势, 被称为细菌的“长距离武器”和“微小子弹”, 提示我们 OMVs 在 *P. gingivalis* 感染相关的 AD 中起着不容忽视的致病作用^[25-26,46]。

首先, OMVs 能穿过 BBB 进入大脑。在小鼠腹腔反复注射 *P. gingivalis* OMVs 12 周后, OMVs 可在大脑中被检测到^[60]。其他病原体中也有类似的现象, 肠道微生物群的 OMVs 在小鼠尾静脉注射 12 h 后即可易位至脑组织中, 伴放线放线杆菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) 的 OMVs 在小鼠心脏注射 24 h 后可在脑组织中观察到, 人肠道变形杆菌(*Proteus*)的 OMVs 灌胃后, 3 d 后出现在小鼠脑组织中^[27,47-48]。其次, OMVs 可以引起 AD 相关症状。小鼠尾静脉注射 AD 患者肠道菌群 OMVs 可导致记忆损害, 人类产碱菌 OMVs 则会在体内诱发记忆缺陷、全身性炎症和神经炎症, 并通过血液穿透大脑和迷走神经^[27,48]。因此, OMVs 是以 *P. gingivalis* 为代表的多种病菌介导 AD 发生发展的重要毒力因子。

BBB 在中枢神经系统和血液之间形成有效屏障, 以维持大脑微环境的稳态。随着年龄的增长, BBB 的完整性降低^[49], 并且 BBB 的功能障碍与 Tau 蛋白病理性积累存在相关性^[50]。研

究表明, *P. gingivalis* 产生的 OMVs 可能通过破坏和穿透 BBB 导致 AD^[26]。具体表现为 OMVs 中的牙龈蛋白酶降解紧密连接蛋白、整合素和细胞外基质蛋白, 引起细胞间连接的破坏和血管通透性的增加, 进而介导 OMVs 通过 BBB^[51-52]。其中紧密连接蛋白由细胞质蛋白(zonula occludens, Zo)、跨膜蛋白(occludin 和 claudins)和细胞骨架蛋白组成, 在维持 BBB 的完整性和通透性方面发挥着重要作用^[49]。同时牙龈蛋白酶会降解 B1-整合素, 内皮细胞中缺乏 B1-整合素可导致小鼠的 BBB 发育不成熟和明显的脑出血^[20]。Farrugia 等^[53-54]还发现 *P. gingivalis* OMVs 可能通过牙龈蛋白酶降解内皮黏附蛋白 PECAM-1 (位于 BBB 黏附连接处), 增加体外血管通透性。Gong 等^[26]研究显示, *P. gingivalis* OMVs 显著下调 Occludin 及 Zo-1 基因表达水平, 同时降低了 Occludin 蛋白的表达, 表明 *P. gingivalis* OMVs 会损伤小鼠 BBB, 有助于血液中的 OMVs 及其他毒性物质进入大脑。因此, *P. gingivalis* OMVs 及其携带的毒力因子可能通过破坏细胞间连接, 增加血管的通透性, 从而降低 BBB 的通透性, 介导 AD 发生。除了增加 BBB 通透性外, *P. gingivalis* OMVs 也可通过液泡内吞作用被宿主细胞吸收, 降解宿主细胞功能蛋白, 从而导致细胞损伤^[55-56]。

关于 OMVs 诱发 AD 的致病机制, 有研究表明, *P. gingivalis* OMVs 可在体外激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nod-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎性小体, 并诱导细胞产生 IL-1 β ^[57]。抑制或敲除 NLRP3 炎性小体, 可以减少 A β 的沉积及 Tau 蛋白磷酸化^[58]。不同生长阶段的 *P. gingivalis* OMVs 均可激活牙周膜干细胞中的 NLRP3 炎性小体, 在宿主细胞中引发多种免疫和炎症反应, 是牙周组织破坏的关键因素^[59]。

Gong 等^[26]报道 *P. gingivalis* OMVs 灌胃导致中年小鼠产生 AD 病理样改变, 表现为记忆损害、海马区 Tau 蛋白磷酸化增高、小胶质细胞和星形胶质细胞活化、海马区紧密连接相关蛋白表达降低, 这些病理变化可能与 NLRP3 炎性小体激活有关。体内研究使用 *P. gingivalis* OMVs 处理 14 月龄 C57BL/6 小鼠, 发现其海马组织 NLRP3 炎性小体途径相关蛋白(NLRP3、Caspase-1、ASC)表达水平较对照组显著升高; 体外结果显示, *P. gingivalis* OMVs 激活星形胶质细胞和小胶质细胞, 并升高 IL-1 β 、NLRP3 炎性小体相关蛋白的表达^[26]。Yoshida 等^[60]报道了 *P. gingivalis* OMVs 腹腔注射小鼠 12 周后, 可导致海马区 Tau 蛋白磷酸化增高和小胶质细胞活化, 由于在小鼠脑室中检测到牙龈蛋白酶, 因此这种 AD 样病理变化可能与 *P. gingivalis* OMVs 携带的牙龈蛋白酶有关。Ma 等^[61]发现牙龈涂布 *P. gingivalis* OMVs 比灌胃更能引发神经炎症及记忆损害, 其中三叉神经是 *P. gingivalis* OMVs 入脑的重要途径。*P. gingivalis* OMVs 还可能通过破坏组织并影响补体相关基因, 同时转导促炎信号级联的发生, 产生炎症介质, 导致 AD 相关的病理改变和认知能力下降^[3]。

综上所述, *P. gingivalis* OMVs 可通过破坏或穿透 BBB 以及可能经三叉神经途径引发 AD, *P. gingivalis* OMVs 激活 NLRP3 炎性小体被认为是引发 AD 的重要机制之一。然而, 目前 OMVs 与 AD 的相关研究仅提供了一些初步见解, 还需要我们去深入研究。

3 总结和展望

P. gingivalis 及其毒力因子在 AD 的发病机制中起着重要作用(图 1), 目前研究表明其发病机制主要包括: (1) *P. gingivalis* LPS 诱导的牙周炎通过激活 TLR4/NF- κ B 信号通路, 促进了神

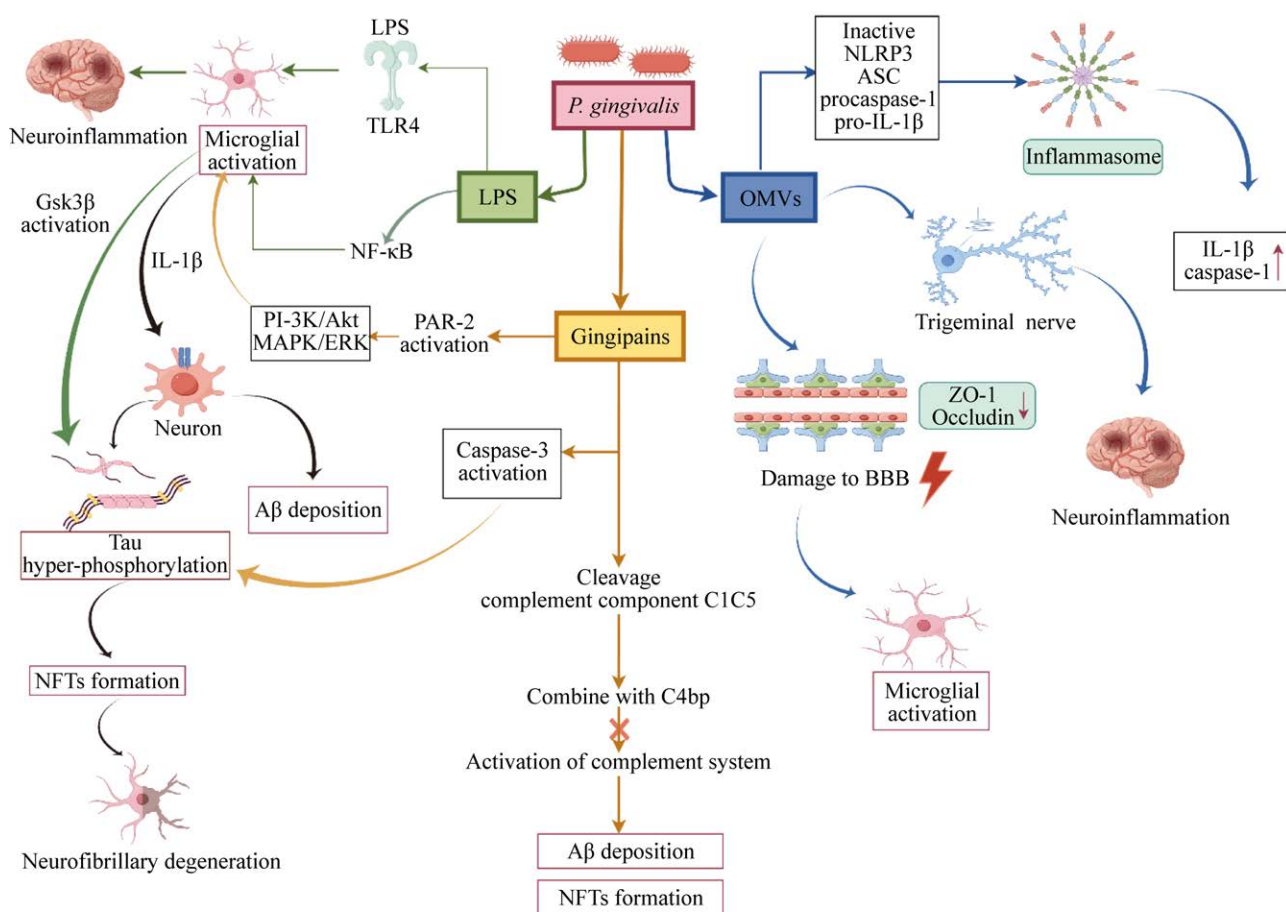


图1 *Porphyromonas gingivalis* 在 AD 病理过程中的作用机制 *P. gingivalis* 及其分泌的 LPS、牙龈蛋白酶及 OMVs 通过不同机制引起神经炎症、A β 沉积、Tau 蛋白磷酸化及 NFTs 的形成

Figure 1 Mechanism of *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease. *P. gingivalis* produces the neurotoxic secretions: LPS, gingipains, and OMVs, which cause neuroinflammation, A β deposition, Tau phosphorylation, and NFTs formation through various mechanisms.

经炎症的发生。其慢性刺激会导致中年小鼠大脑中 A β 积聚，提高促炎因子水平。(2) *P. gingivalis* LPS 通过诱导神经炎症介导 IL-1 β 的产生而增加野生型小鼠模型中 Tau 蛋白的磷酸化，最终形成 NFTs。(3) 牙龈蛋白酶激活 PI-3K/Akt 和 MAPK/ERK 通路引起神经炎症，并且影响 Tau 蛋白和 A β 的病理变化并增加 BBB 通透性。(4) *P. gingivalis* OMVs 可能通过三叉神经或者破坏和穿透 BBB 从而导致 AD。(5) *P. gingivalis* OMVs 可在体外激活 NLRP3 炎性小体并诱导巨

噬细胞和单核细胞产生 IL-1 β 。然而，*P. gingivalis* 及其毒力因子与 AD 之间的相互作用复杂，具体机制尚未完全了解。

尽管 *P. gingivalis* 与 AD 的发生发展密切相关，但目前尚不清楚细菌最初是以何种形式侵入大脑，以及细菌在多大程度上导致和加剧了 AD 的病理改变。*P. gingivalis* 作为牙周炎的主要致病因素，早期口腔卫生的改善有助于改善牙齿健康，并可能减缓 AD 的发展。*P. gingivalis* 与 AD 发病的相关机制研究及后续以此为基础的临床

靶点治疗值得继续探索, 以期为 AD 的有效防治提供依据和基础。

REFERENCES

- [1] JUNGBAUER G, STÄHLI A, ZHU XL, AUBER ALBERI L, SCULEAN A, EICK S. Periodontal microorganisms and Alzheimer disease: a causative relationship?[J]. *Periodontology* 2000, 2022, 89(1): 59-82.
- [2] JIA JP, WEI CB, CHEN SQ, LI FY, TANG Y, QIN W, ZHAO LN, JIN HM, XU H, WANG F, ZHOU AH, ZUO XM, WU LY, HAN Y, HAN Y, HUANG LY, WANG Q, LI D, CHU CB, SHI L, et al. The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2018, 14(4): 483-491.
- [3] SADRAMELI M, BATHINI P, ALBERI L. Linking mechanisms of periodontitis to Alzheimer's disease[J]. *Current Opinion in Neurology*, 2020, 33(2): 230-238.
- [4] MERCHANT AT, ZHAO LG, BAWA EM, YI FL, VIDANAPATHIRANA NP, LOHMAN M, ZHANG JJ. Association between clusters of antibodies against periodontal microorganisms and Alzheimer disease mortality: evidence from a nationally representative survey in the USA[J]. *Journal of Periodontology*, 2024, 95(1): 84-90.
- [5] OLSEN I. Possible effects of *Porphyromonas gingivalis* on the blood-brain barrier in Alzheimer's disease[J]. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2021, 19(11): 1367-1371.
- [6] MEI F, XIE MR, HUANG XF, LONG YL, LU XF, WANG XL, CHEN LL. *Porphyromonas gingivalis* and its systemic impact: current status[J]. *Pathogens*, 2020, 9(11): 944.
- [7] POOLE S, SINGHRAO SK, KESAVALU L, CURTIS MA, CREAN S. Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term postmortem Alzheimer's disease brain tissue[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2013, 36(4): 665-677.
- [8] STEIN PS, STEFFEN MJ, SMITH C, JICHA G, EBERSOLE JL, ABNER E, DAWSON 3rd D. Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2012, 8(3): 196-203.
- [9] BAHAR B, KANAGASINGAM S, TAMB UWALA MM, ALJABALI AAA, DILLON SA, DOAEI S, WELBURY R, CHUKKAPALLI SS, SINGHRAO SK. *Porphyromonas gingivalis* (W83) infection induces Alzheimer's disease-like pathophysiology in obese and diabetic mice[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2021, 82(3): 1259-1275.
- [10] GABARRINI G, GRASSO S, van WINKELHOFF AJ, van DIJL JM. Gingimaps: protein localization in the oral pathogen *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2020, 84(1): e00032-19.
- [11] GUO HY, LI B, YAO HT, LIU DF, CHEN RR, ZHOU SH, JI YT, ZENG L, DU MQ. Profiling the oral microbiomes in patients with Alzheimer's disease[J]. *Oral Diseases*, 2023, 29(3): 1341-1355.
- [12] LEBLHUBER F, HUEMER J, STEINER K, GOSTNER JM, FUCHS D. Knock-on effect of periodontitis to the pathogenesis of Alzheimer's disease?[J]. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 2020, 132(17): 493-498.
- [13] CIRSTEA MS, KLIGER D, MacLELLAN AD, YU AC, LANGLOIS J, FAN MN, BORROOMAND S, KHARAZYAN F, HSIUNG RGY, MacVICAR BA, CHERTKOW H, WHITEHEAD V, FINLAY BB, APPEL-CRESSWELL S. The oral and fecal microbiota in a Canadian cohort of Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2022, 87(1): 247-258.
- [14] TAKEUCHI K, FURUTA M, TAKESHITA T, SHIBATA Y, SHIMAZAKI Y, AKIFUSA S, NINOMIYA T, KIYOHARA Y, YAMASHITA Y. Serum antibody to *Porphyromonas gingivalis* and periodontitis progression: the hisayama study[J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2015, 42(8): 719-725.
- [15] NOBLE JM, BORRELL LN, PAPAPANOU PN, ELKIND MSV, SCARMEAS N, WRIGHT CB. Periodontitis is associated with cognitive impairment among older adults: analysis of NHANES-III[J]. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 2009, 80(11): 1206-1211.
- [16] CHEN CK, WU YT, CHANG YC. Association between chronic periodontitis and the risk of Alzheimer's disease: a retrospective, population-based, matched-cohort study[J]. *Alzheimer's Research & Therapy*, 2017, 9(1): 56.
- [17] DOMINY SS, LYNCH C, ERMINI F, BENEDYK M, MARCZYK A, KONRADI A, NGUYEN M, HADITSCH U, RAHA D, GRIFFIN C, HOLSINGER LJ, ARASTU-KAPUR S, KABA S, LEE A, RYDER MI, POTEPA B, MYDEL P, HELLVARD A, ADAMOWICZ K, HASTURK H, et al. *Porphyromonas*

- gingivalis* in Alzheimer's disease brains: evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors[J]. *Science Advances*, 2019, 5(1): eaau3333.
- [18] HAYASHI K, HASEGAWA Y, TAKEMOTO Y, CAO C, TAKEYA H, KOMOHARA Y, MUKASA A, KIMMITSUYAMA S. Continuous intracerebroventricular injection of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide induces systemic organ dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Experimental Gerontology*, 2019, 120: 1-5.
- [19] GU YB, WU Z, ZENG F, JIANG MZ, TEELING JL, NI JJ, TAKAHASHI I. Systemic exposure to lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* induces bone loss-correlated Alzheimer's disease-like pathologies in middle-aged mice[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2020, 78(1): 61-74.
- [20] JIANG MZ, ZHANG XW, YAN X, MIZUTANI S, KASHIWAZAKI H, NI JJ, WU Z. GSK3 β is involved in promoting Alzheimer's disease pathologies following chronic systemic exposure to *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in amyloid precursor protein NL-F/NL-F knock-in mice[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2021, 98: 1-12.
- [21] QIAN XS, ZHANG S, DUAN L, YANG FC, ZHANG K, YAN FH, GE S. Periodontitis deteriorates cognitive function and impairs neurons and *Glia* in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2021, 79(4): 1785-1800.
- [22] DING Y, REN JY, YU HQ, YU WX, ZHOU YM. *Porphyromonas gingivalis*, a periodontitis causing bacterium, induces memory impairment and age-dependent neuroinflammation in mice[J]. *Immunity & Ageing: I&A*, 2018, 15: 6.
- [23] FU YW, XU X, ZHANG Y, YUE P, FAN YX, LIU MX, CHEN JJ, LIU AH, ZHANG XF, BAO FK. Oral *Porphyromonas gingivalis* infections increase the risk of Alzheimer's disease: a review[J]. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 2023, 21: 7-16.
- [24] LEE HJ, HOE HS. Inhibition of CDK4/6 regulates AD pathology, neuroinflammation and cognitive function through DYRK1A/STAT3 signaling[J]. *Pharmacological Research*, 2023, 190: 106725.
- [25] ZHANG ZY, LIU DJ, LIU S, ZHANG SW, PAN YP. The role of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles in periodontal disease and related systemic diseases[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 10: 585917.
- [26] GONG T, CHEN Q, MAO HC, ZHANG Y, REN H, XU MM, CHEN H, YANG DQ. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* trigger NLRP3 inflammasome and induce neuroinflammation, tau phosphorylation, and memory dysfunction in mice[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, 12: 925435.
- [27] WEI SC, PENG WJ, MAI YR, LI KL, WEI W, HU L, ZHU SP, ZHOU HH, JIE WX, WEI ZS, KANG CY, LI RK, LIU Z, ZHAO B, CAI ZY. Outer membrane vesicles enhance tau phosphorylation and contribute to cognitive impairment[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(5): 4843-4855.
- [28] OWOYELE PV, MALEKZADEH S. *Porphyromonas gingivalis*, neuroinflammation and Alzheimer's disease[J]. *Nigerian Journal of Physiological Sciences: Official Publication of the Physiological Society of Nigeria*, 2022, 37(2): 157-164.
- [29] LENG FD, EDISON P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2021, 17: 157-172.
- [30] JOSHI DC, ZHANG CL, MATHUR D, LI A, KAUSHIK G, SHENG ZH, CHIU SY. Tripartite crosstalk between cytokine IL-1 β , NMDA-R and misplaced mitochondrial anchor in neuronal dendrites is a novel pathway for neurodegeneration in inflammatory diseases[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2022, 42(38): 7318-7329.
- [31] AL-GHRAIYBAH NF, WANG JW, ALKHALIFA AE, ROBERTS AB, RAJ R, YANG E, KADDOUMI A. Glial cell-mediated neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(18): 10572.
- [32] ZHANG J, YU CB, ZHANG X, CHEN HW, DONG JC, LU WL, SONG ZC, ZHOU W. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 37.
- [33] HU Y, LI HX, ZHANG J, ZHANG X, XIA XY, QIU C, LIAO Y, CHEN HW, SONG ZC, ZHOU W. Periodontitis induced by *P. gingivalis*-LPS is associated with neuroinflammation and learning and memory impairment in sprague-dawley rats[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, 14: 658.
- [34] NAKANISHI H, NONAKA S, WU Z. Microglial cathepsin B and *Porphyromonas gingivalis* gingipains

- as potential therapeutic targets for sporadic Alzheimer's disease[J]. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 2020, 19(7): 495-502.
- [35] MEMEDOVSKI Z, CZERWONKA E, HAN J, MAYER J, LUCE M, KLEMM LC, HALL ML, MAYER AMS. Classical and alternative activation of rat microglia treated with ultrapure *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide *in vitro*[J]. *Toxins*, 2020, 12(5): 333.
- [36] NIE R, WU Z, NI JJ, ZENG F, YU WX, ZHANG YF, KADOWAKI T, KASHIWAZAKI H, TEELING JL, ZHOU YM. *Porphyromonas gingivalis* infection induces amyloid- β accumulation in monocytes/macrophages[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2019, 72(2): 479-494.
- [37] LEIRA Y, IGLESIAS-REY R, GÓMEZ-LADO N, AGUIAR P, CAMPOS F, D'AIUTO F, CASTILLO J, BLANCO J, SOBRINO T. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-induced periodontitis and serum amyloid-beta peptides[J]. *Archives of Oral Biology*, 2019, 99: 120-125.
- [38] REYES L. *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Trends in Microbiology*, 2021, 29(4): 376-377.
- [39] HADITSCH U, ROTH T, RODRIGUEZ L, HANCOCK S, CECERE T, NGUYEN M, ARASTU-KAPUR S, BROCE S, RAHA D, LYNCH CC, HOLSINGER LJ, DOMINY SS, ERMINI F. Alzheimer's disease-like neurodegeneration in *Porphyromonas gingivalis* infected neurons with persistent expression of active gingipains[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2020, 75(4): 1361-1376.
- [40] GROBLER C, van TONGEREN M, GETTEMANS J, KELL DB, PRETORIUS E. Alzheimer's disease: a systems view provides a unifying explanation of its development[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2023, 91(1): 43-70.
- [41] CHU J, LAURETTI E, PRATICÒ D. Caspase-3-dependent cleavage of Akt modulates tau phosphorylation via GSK3 β kinase: implications for Alzheimer's disease[J]. *Molecular Psychiatry*, 2017, 22(7): 1002-1008.
- [42] OLSEN I, SINGHRAO SK. Is there a link between genetic defects in the complement cascade and *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease?[J]. *Journal of Oral Microbiology*, 2019, 12(1): 1676486.
- [43] VEITH PD, GLEW MD, GORASIA DG, CASCALES E, REYNOLDS EC. The type IX secretion system and its role in bacterial function and pathogenesis[J]. *Journal of Dental Research*, 2022, 101(4): 374-383.
- [44] 刘忠斌, 龙伟, 黄嘉玲, 徐依萍, 葛颂. 牙龈卟啉单胞菌外膜囊泡与阿尔茨海默病的相关性研究进展[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(8): 3647-3658.
- LIU ZB, LONG W, HUANG JL, XU YP, GE S. Relationship between *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles and Alzheimer's disease: a review[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(8): 3647-3658 (in Chinese).
- [45] KIM JY, SUH JW, KANG JS, KIM SB, YOON YK, SOHN JW. Gram-negative bacteria's outer membrane vesicles[J]. *Infection & Chemotherapy*, 2023, 55(1): 1-9.
- [46] NARA PL, SINDELAR D, PENN MS, POTEPA J. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles as the major driver of and explanation for neuropathogenesis, the cholinergic hypothesis, iron dyshomeostasis, and salivary lactoferrin in Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2021, 82(4): 1417-1450.
- [47] HAN EC, CHOI SY, LEE Y, PARK JW, HONG SH, LEE HJ. Extracellular RNAs in periodontopathogenic outer membrane vesicles promote TNF- α production in human macrophages and cross the blood-brain barrier in mice[J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2019, 33(12): 13412-13422.
- [48] LEE KE, KIM JK, HAN SK, LEE DY, LEE HJ, YIM SV, KIM DH. The extracellular vesicle of gut microbial *Paenibacillus hominis* is a risk factor for vagus nerve-mediated cognitive impairment[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 107.
- [49] 温娜娜, 郑国华. 肠道菌群与老年认知障碍的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(2): 697-708.
- WEN NN, ZHENG GH. Research progress on gut microbiota and cognitive impairment in the elderly[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(2): 697-708 (in Chinese).
- [50] CHEN XW, SUN GQ, TIAN E, ZHANG MZ, DAVTYAN H, BEACH TG, REIMAN EM, BLURTON-JONES M, HOLTZMAN DM, SHI YH. Modeling sporadic Alzheimer's disease in human brain organoids under serum exposure[J]. *Advanced Science*, 2021, 8(18): e2101462.
- [51] KURZ C, WALKER L, RAUCHMANN BS, PERNECZKY R. Dysfunction of the blood-brain barrier in Alzheimer's disease: evidence from human studies[J]. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 2022, 48(3): e12782.

- [52] TSARTSALIS S, SLEVEN H, FANCY N, WESSELY F, SMITH AM, WILLUMSEN N, CHEUNG TKD, ROKICKI MJ, CHAU V, IFIE E, KHOZOIE C, ANSORGE O, YANG X, JENKYNs MH, DAVEY K, McGARRY A, MUIRHEAD RCJ, DEBETTE S, JACKSON JS, MONTAGNE A, et al. A single nuclear transcriptomic characterisation of mechanisms responsible for impaired angiogenesis and blood-brain barrier function in Alzheimer's disease[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 2243.
- [53] FARRUGIA C, STAFFORD GP, MURDOCH C. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles increase vascular permeability[J]. *Journal of Dental Research*, 2020, 99(13): 1494-1501.
- [54] NONAKA S, KADOWAKI T, NAKANISHI H. Secreted gingipains from *Porphyromonas gingivalis* increase permeability in human cerebral microvascular endothelial cells through intracellular degradation of tight junction proteins[J]. *Neurochemistry International*, 2022, 154: 105282.
- [55] FAN RY, ZHOU Y, CHEN X, ZHONG XM, HE FZ, PENG WZ, LI L, WANG XQ, XU Y. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles promote apoptosis via msRNA-regulated DNA methylation in periodontitis[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(1): e0328822.
- [56] FURUTA N, TAKEUCHI H, AMANO A. Entry of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles into epithelial cells causes cellular functional impairment[J]. *Infection and Immunity*, 2009, 77(11): 4761-4770.
- [57] INOUE E, MINATOZAKI S, SHIMIZU S, MIYAMOTO S, JO M, NI JJ, TOZAKI-SAITOH H, ODA K, NONAKA S, NAKANISHI H. Human β -defensin 3 inhibition of *P. gingivalis* LPS-induced IL-1 β production by BV-2 microglia through suppression of cathepsins B and L[J]. *Cells*, 2024, 13(3): 283.
- [58] CAI YW, CHAI YH, FU Y, WANG YD, ZHANG YM, ZHANG X, ZHU LP, MIAO MX, YAN TH. Salidroside ameliorates Alzheimer's disease by targeting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis[J]. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2022, 13: 809433.
- [59] MAO HC, GONG T, SUN YT, YANG SY, QIAO X, YANG DQ. Bacterial growth stage determines the yields, protein composition, and periodontal pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2023, 13: 1193198.
- [60] YOSHIDA K, YOSHIDA K, SEYAMA M, HIROSHIMA Y, MEKATA M, FUJIWARA N, KUDO Y, OZAKI K. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles in cerebral ventricles activate microglia in mice[J]. *Oral Diseases*, 2023, 29(8): 3688-3697.
- [61] MA XY, SHIN YJ, YOO JW, PARK HS, KIM DH. Extracellular vesicles derived from *Porphyromonas gingivalis* induce trigeminal nerve-mediated cognitive impairment[J]. *Journal of Advanced Research*, 2023, 54: 293-303.