

DOI:10.13350/j.cjpb.250203

• 论著 •

# 冠状动脉微血管疾病中菌株作用及其与炎症反应的关系\*

陈林林\*\*, 蒋志明, 卓晓军, 尹玉莲

(长沙市第四医院心血管内科, 湖南长沙 410006)

**【摘要】** 目的 本研究旨在探讨冠状动脉微血管疾病(Coronary microvascular disease, CMVD)患者口腔菌群的微生物群落特征,并评估特定菌株通过炎症途径对内皮细胞功能的影响。方法 选取2023年3月至2024年3月期间确诊为CMVD的100例患者,采集其口腔菌群样本。通过16S rRNA基因测序分析口腔菌群样本中的微生物群落多样性和结构特征。进一步采用体外实验,使用人冠状动脉内皮细胞(HCAEC)评估选定菌株(*Bacteroides*、*Prevotella*、*Ruminococcus*、*Lactobacillus*和*Enterococcus*)的感染对炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ )表达水平和细胞活力的影响。结果 16S rRNA基因测序结果显示,CMVD患者口腔菌群样本中存在丰富的微生物多样性,主要由*Bacteroides*(9.96 $\pm$ 3.04)%、*Prevotella*(9.61 $\pm$ 2.98)%、*Ruminococcus*(10.77 $\pm$ 3.08)%、*Lactobacillus*(9.94 $\pm$ 3.13)%和*Enterococcus*(9.67 $\pm$ 3.07)%等10种菌群组成。体外实验结果表明,*Bacteroides*感染显著提高了TNF- $\alpha$ (750.32 $\pm$ 50.68 pg/mL vs 299.84 $\pm$ 19.87 pg/mL,  $P < 0.01$ )、IL-6(820.45 $\pm$ 59.87 pg/mL vs 259.78 $\pm$ 30.25 pg/mL,  $P < 0.01$ )和IL-1 $\beta$ (899.87 $\pm$ 69.45 pg/mL vs 309.90 $\pm$ 24.78 pg/mL,  $P < 0.01$ )的表达水平,并显著降低了HCAEC的细胞活力(65.34% $\pm$ 5.68% vs 92.45% $\pm$ 3.45%,  $P < 0.01$ )。而*Prevotella*和*Ruminococcus*感染组也显示出类似的炎症反应和细胞活力下降( $P < 0.01$ ),而*Lactobacillus*和*Enterococcus*感染组对炎症因子表达水平和细胞活力的影响较小,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 本研究揭示了CMVD患者口腔菌群的微生物群落特征,并为*Bacteroides*、*Prevotella*和*Ruminococcus*菌株通过诱导炎症反应显著影响内皮细胞功能提供了证据。口腔菌群可能在CMVD的发病机制中发挥重要作用,为该疾病的诊断和治疗提供了新的思路。

**【关键词】** 冠状动脉微血管疾病;口腔菌群;炎症反应;内皮细胞;16S rRNA基因测序

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2025)02-0141-06

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Feb.;20(02):141-146.]

## The role of bacterial strains in coronary microvascular disease and their relationship with inflammatory response

CHEN Linlin, JIANG Zhiming, ZHOU Xiaojun, YIN Yulian (Changsha Fourth Hospital, Department of Cardiovascular Medicine, Changsha 410006, China)\*\*\*

**【Abstract】** **Objective** To explore the microbial community characteristics of the oral flora in patients with coronary microvascular disease (CMVD) and evaluate the impact of specific strains on endothelial cell function through inflammatory pathways. **Methods** 100 patients diagnosed with CMVD between March 2023 and March 2024 were selected, and their oral flora samples were collected. The diversity and structural characteristics of microbial communities in oral flora samples were analyzed by 16S rRNA gene sequencing. Further in vitro experiments were performed using human coronary artery endothelial cells (HCAEC) to evaluate the effects of infection with selected strains (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus* and *Enterococcus*) on the expression levels of inflammatory factors (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) and Effect on cell viability. **Results** The 16S rRNA gene sequencing results showed that there was rich microbial diversity in the oral flora samples of CMVD patients, mainly composed of *Bacteroides* (9.96 $\pm$ 3.04)%, *Prevotella* (9.61 $\pm$ 2.98)%, *Ruminococcus* (10.77 $\pm$ 3.08)%, *Lactobacillus* (It consists of 10 species of bacteria including 9.94 $\pm$ 3.13% and *Enterococcus* (9.67 $\pm$ 3.07)%. In vitro experimental results showed that *Bacteroides* infection significantly increased TNF- $\alpha$  (750.32 $\pm$ 50.68 pg/mL vs 299.84 $\pm$ 19.87 pg/mL,  $P < 0.01$ ), IL-6 (820.45 $\pm$ 59.87 pg/mL vs 259.78 $\pm$ 30.25 pg/mL,  $P < 0.01$ ) and IL-1 $\beta$  (899.87 $\pm$ 69.45 pg/mL vs 309.90 $\pm$ 24.78 pg/mL,  $P < 0.01$ ) expression levels, and significantly reduced the cell viability of HCAEC (65.34% $\pm$ 5.68% vs 92.45% $\pm$ 3.45%,  $P < 0.01$ ). The *Prevotella* and *Ruminococcus* infection groups also showed similar inflammatory responses and decreased cell viability ( $P < 0.01$ ), while the *Lactobacillus* and *Enterococcus* infection groups had less impact on the expression levels of

\* **【基金项目】** 湖南省卫生健康委科研项目(No. B202303017002);长沙市卫健委项目(No. SB2023-515)。

\*\* **【通讯作者(简介)】** 陈林林(1982-),男,湖南郴州人,硕士研究生,副主任医师,主要研究冠心病病理基础及介入治疗工作。E-mail: gxykdell@163.com

inflammatory factors and cell viability, and the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** This study reveals the microbial community characteristics of the oral flora of patients with CMVD and provides evidence that *Bacteroides*, *Prevotella*, and *Ruminococcus* strains significantly affect endothelial cell function by inducing inflammatory responses. Oral flora may play an important role in the pathogenesis of CMVD, providing new ideas for the diagnosis and treatment of this disease.

**【Keywords】** Coronary microvascular disease, Oral flora, inflammatory response, endothelial cells, 16S rRNA gene sequencing

冠状动脉微血管疾病 (Coronary microvascular disease, CMVD) 是一种以冠状动脉微循环功能障碍为特征的心血管疾病, 近年来受到越来越多的关注。CMVD 患者常表现出典型的心绞痛症状, 但在冠状动脉造影检查中却难以发现显著的冠状动脉狭窄<sup>[1-2]</sup>, 这种“缺血无梗阻”的临床表现, 使 CMVD 的诊断和治疗挑战重重<sup>[3-4]</sup>。尽管 CMVD 的病理机制尚未完全阐明, 但炎症反应被认为在其发病过程中起到了关键作用<sup>[5-7]</sup>。

已有研究表明, 慢性炎症是 CMVD 发病的重要驱动因素之一<sup>[8]</sup>, 尤其是由细菌感染诱发的免疫反应可能对微血管功能产生重要影响<sup>[9-10]</sup>。口腔微生物群, 作为人体重要的微生物生态系统之一, 已被广泛研究与多种全身性疾病, 包括心血管疾病, 建立了潜在关联。研究表明, 口腔病原菌, 尤其是与牙周炎相关的菌株, 可能通过血液传播或炎症介质扩散影响远端组织, 从而导致动脉粥样硬化、冠心病等心血管疾病<sup>[11-12]</sup>。研究还发现, 某些细菌通过改变宿主的免疫反应, 可能导致微血管内皮功能障碍<sup>[13-14]</sup>, 这提示微生物与 CMVD 的发生发展可能存在密切关联。此外, 牙周疾病与心血管疾病的相关性已在多项流行病学研究中得到证实, 推测口腔菌群失调可能通过引发全身性炎症反应, 最终影响冠状动脉微血管的功能。尽管口腔微生物群与心血管疾病之间的关联已逐渐被揭示, 但目前关于口腔菌群在 CMVD 中的具体作用及其通过炎症途径影响病程的研究仍较为有限。

本研究旨在探讨不同口腔菌株在 CMVD 中的作用及其与炎症反应的关系, 鉴定出与 CMVD 相关的口腔菌株, 并通过体外模型评估这些菌株如何通过诱导炎症反应影响内皮细胞的功能。考虑到 CMVD 的复杂性, 本研究期望揭示口腔微生物在 CMVD 病理机制中的潜在作用, 进一步探索微生物与心血管疾病之间的联系, 从而为该疾病的诊断和治疗提供新的思路。

## 对象和方法

### 1 研究对象

本研究对象为于 2023 年 3 月至 2024 年 3 月于长沙市第四医院心血管内科确诊冠状动脉微血管疾病 (CMVD) 的患者 100 例。患者的纳入标准包括: (1) 年

龄 45~75 岁, 男女不限; (2) 经临床确诊为 CMVD, 表现为典型的心绞痛症状或其他心肌缺血相关症状, 但冠状动脉造影检查结果无显著狭窄; (3) 无其他严重的全身性疾病, 如严重的感染性疾病、自身免疫性疾病或恶性肿瘤。排除标准包括: (1) 过去 3 个月内使用过抗菌药物或其他能够显著影响微生物群的药物; (2) 有既往冠状动脉搭桥手术史或心脏支架植入史; (3) 存在严重的肝肾功能不全或其他严重的心脏病变。所有参与者均由专业的心血管科医生进行筛选, 并在招募之前详细了解了研究的目的和过程。

在知情同意的前提下, 患者均自愿签署了知情同意书, 确保他们充分理解并同意参与研究。研究的所有步骤都严格遵循赫尔辛基宣言的伦理原则, 并获得了长沙市第四医院伦理委员会的批准 (批准号: CSSDSYY-LLSC-KYXM-2022-5-90)。

### 2 口腔菌群样本的采集和处理

患者的口腔菌群样本通过无菌棉签从口腔黏膜、舌背或牙龈沟处采集。采集时, 确保使用无菌操作, 避免污染和交叉感染。口腔菌群样本采集后, 迅速转移至无菌保存管中, 并置于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  的低温保存装置中, 准备后续的病原菌群分析。样本采集和处理的所有步骤均严格遵循标准化操作规程 (SOP), 以确保样本的完整性和分析的准确性。

### 3 病原菌株的鉴定

口腔菌群样本采集后, 使用 Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit 试剂盒提取总 DNA。提取的 DNA 样本通过 NanoDrop 2000 分光光度计测定其浓度和纯度, 并使用琼脂糖凝胶电泳验证其完整性, 确保样本适用于后续的基因组分析。

本研究采用 16S rRNA 基因测序技术对口腔菌群样本中的病原菌群进行鉴定。通过扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 高变区进行 PCR 扩增。扩增产物纯化后, 送至 Illumina MiSeq 测序平台进行高通量测序。测序获得的原始数据通过质量控制流程进行处理, 过滤掉低质量的 reads 和接头序列, 最后生成的序列数据将用于后续的微生物群落分析。质控后的序列数据通过 QIIME 2 软件使用 DADA2 算法对序列进行去噪处理, 生成代表性序列, 并与 Greengenes 数据

库进行比对,从而确定样本中的菌群组成。随后,利用多样性分析工具评估样本的 $\alpha$ 多样性(包括Chao1指数和Shannon指数)和 $\beta$ 多样性(Bray-Curtis距离),以分析不同样本之间的微生物群落差异。此外,通过LEfSe(Linear discriminant analysis Effect Size)分析进一步筛选与CMVD显著相关的特定菌株。此外,本研究采用qPCR技术对关键病原菌的16S rRNA基因进行定量分析,使用特异性引物和探针,以标准曲线法计算样本中目标菌株的相对丰度,验证测序结果。

#### 4 体外炎症反应实验

为了探讨鉴定出的口腔病原菌株对冠状动脉微血管内皮细胞(Human Coronary Artery Endothelial Cells, HCAEC)的影响,本研究在体外进行炎症反应实验。使用的HCAEC细胞培养基为含有10%胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS)、1%青霉素-链霉素混合液(Penicillin-Streptomycin Solution)和1%谷氨酰胺的内皮细胞基础培养基(Endothelial Cell Basal Medium)。细胞在37℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中维持培养,至细胞生长至80%~90%融合度时用于实验。

在进行菌株感染实验前,HCAEC细胞首先用无血清培养基饥饿处理12h以同步细胞周期。随后,细胞按每孔 $1 \times 10^5$ 密度接种于96孔板中,待细胞贴壁后,加入目标菌株。菌株的感染复数(Multiplicity of infection, MOD)设定为100,以确保足够的感染效应。实验设立多个平行组,包括未感染对照组和不同菌株感染组。感染后,细胞继续在培养箱中孵育24h。感染处理完成后,收集细胞培养上清液进行炎症因子的检测,包括肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)和白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )。通过酶联免疫吸附实验(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)定量分析其表达水平。

此外,本研究采用CCK-8法(Cell Counting Kit-8)评估菌株感染对HCAEC细胞活力的影响。细胞在感染24h后,加入CCK-8试剂,并在37℃孵育2h。随后,利用酶标仪在450nm波长下测定各孔的光密度值(OD值)。实验设置多个重复孔,并以未感染的细胞组作为对照。

#### 5 统计学分析

本研究中所有的数据分析和统计计算均使用R语言版本4.1.0完成。连续变量数据使用Shapiro-Wilk检验测试其正态性,符合正态分布的数据使用均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)表示,并采用独立样本 $t$ 对组间进行比较。如果数据不符合正态分布,则使用中位数(四分位数间距)表示,并采用Kruskal-Wallis检验对多组间进行非参数比较。16S rRNA基因测序数据使用QIIME 2进行初步的序列处理和分类分析后,将

结果导入R环境中进行进一步统计分析。使用phyloseq<sup>[15]</sup>和vegan<sup>[16]</sup>等R包进行 $\alpha$ 多样性和 $\beta$ 多样性分析,评估不同样本之间微生物群落的异质性。所有统计检验均为双侧检验,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

## 结果

### 1 一般资料

本研究最终纳入100例确诊为冠状动脉微血管疾病(CMVD)患者,平均年龄为 $60.12 \pm 10.03$ 岁,其中男性患者占比为59.0%,女性患者占比为41.0%。入组患者中,41.0%(41例)患有高血压,19.0%(19例)患有糖尿病。此外,31.0%(31例)的患者为现吸烟者,21.0%(21例)为既往吸烟者,48.0%(48例)为从不吸烟者。

### 2 口腔菌群样本的微生物群落特征

**2.1 菌群多样性分析** 对100例CMVD患者的口腔菌群样本进行16S rRNA基因测序,计算其微生物群落的 $\alpha$ 多样性。结果显示,样本的Chao1指数平均为 $1502.15 \pm 198.57$ ,Shannon指数平均为 $4.48 \pm 0.51$ (图1),表明CMVD患者的口腔菌群中存在较为丰富的微生物多样性。在 $\beta$ 多样性分析中,使用Bray-Curtis距离矩阵,通过主坐标分析(PCoA)对样本间的微生物群落结构差异进行分析,PCoA结果显示,CMVD患者的口腔菌群样本在微生物群落结构上存在一定的异质性(图2)。PC1和PC2分别解释了总变异的42.3%和18.9%,表明患者之间的微生物群落组成存在一定程度的差异,但没有明显的分组趋势,提示这些差异可能与个体差异较大有关。

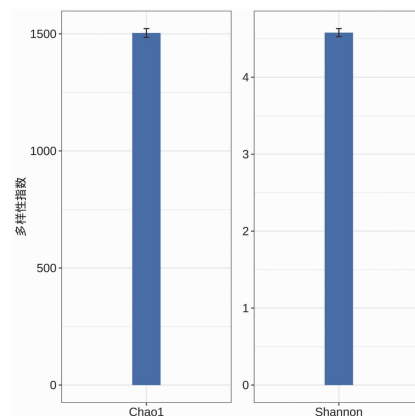


图1 CMVD患者口腔菌群样本的 $\alpha$ 多样性指数  
Fig. 1 Alpha Diversity Index of Oral Flora Samples from Patients with CMVD

**2.2 菌群结构分析** 对100例CMVD患者的口腔菌群组织样本进行16S rRNA基因测序后,发现样本中广泛存在10种主要的微生物菌群(图3),分别为:*Bacteroides*、*Prevotella*、*Ruminococcus*、



*Lactobacillus*、*Enterococcus*、*Firmicutes*、*Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Fusobacteria* 和 *Verrucomicrobia*,其相对丰度占比分别为:(9.96±3.04)%、(9.61±2.98)%、(10.77±3.08)%、(9.94±3.13)%、(9.67±3.07)%、(9.47±3.55)%、(10.04±3.1)%、(10.37±3.24)%、(10.36±3.38)%、(9.64±2.9)% ,在所有样本中均有检测,并呈现出明显的个体间变异性,其他菌群的总相对丰度在各样本中随机分布。

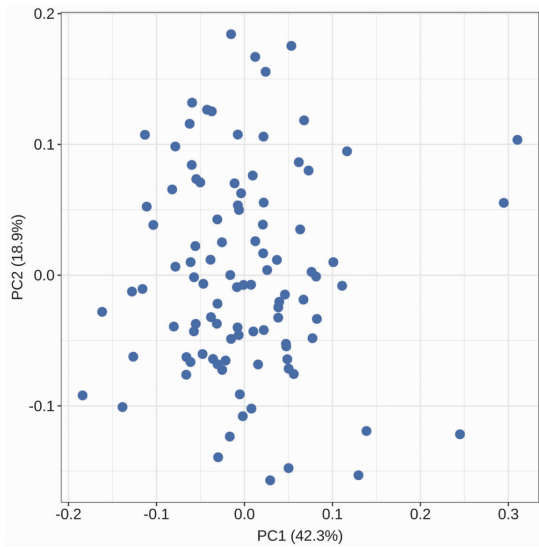


图2 口腔菌群组织样本的 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析  
Fig. 2 PCoA analysis of Bray-Curtis distance of oral flora samples

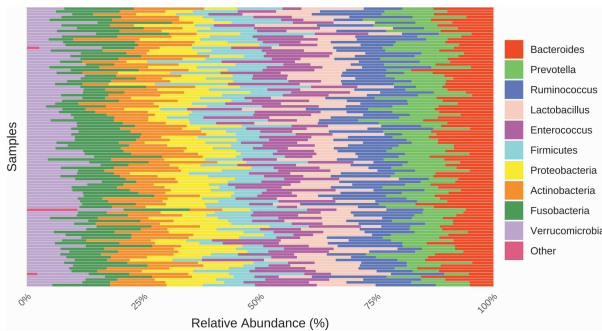


图3 CMVD 患者口腔菌群组织样本的微生物群落物种组成  
Fig. 3 Microbial community species composition of oral flora samples from patients with CMVD

**2.3 体外炎症反应结果** 本研究选取了五种主要菌群,包括 *Bacteroides*、*Prevotella*、*Ruminococcus*、*Lactobacillus* 和 *Enterococcus*,分别感染人冠状动脉内皮细胞(HCAEC)分析不同菌株感染对炎症因子表达水平的影响(图4)。

TNF- $\alpha$  的表达水平在 *Bacteroides* 感染的 HCAEC 中显著升高(750.32±50.68 pg/mL vs 299.84±19.87 pg/mL),差异有统计学意义( $t=25.80, P<0.01$ )。 *Prevotella* 感染组的 TNF- $\alpha$  表达

水平也显著升高,达到(540.12±39.68) pg/mL,与对照组相比差异显著( $t=14.90, P<0.01$ )。 *Ruminococcus* 感染组的 TNF- $\alpha$  表达为(480.45±29.89)pg/mL,与对照组相比差异显著( $t=16.02, P<0.01$ )。 *Lactobacillus* 和 *Enterococcus* 感染组的 TNF- $\alpha$  表达水平相对较低,分别为(390.21±25.37) pg/mL 和(359.91±19.85)pg/mL,与对照组相比差异无统计学意义(*Lactobacillus*:  $t=9.72, P=0.084$ ; *Enterococcus*:  $t=8.99, P=0.112$ )。

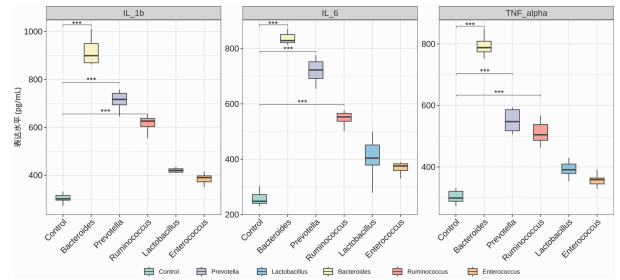


图4 不同菌株感染对 HCAEC 中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  表达水平的影响

Fig. 4 Effects of infection with different strains on the expression levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 $\beta$  in HCAEC

IL-6 的表达水平在 *Bacteroides* 感染组中显著升高,达到(820.45±59.87)pg/mL,而对照组的 IL-6 表达水平为(259.78±30.25)pg/mL,差异具有统计学意义( $t=26.33, P<0.01$ )。 *Prevotella* 感染组的 IL-6 表达水平为(700.34±49.45)pg/mL,与对照组相比差异显著( $t=20.75, P<0.01$ )。 *Ruminococcus* 感染组的 IL-6 表达水平为(520.78±40.12)pg/mL,与对照组相比差异有统计学意义( $t=18.23, P<0.01$ )。 *Lactobacillus* 和 *Enterococcus* 感染组的 IL-6 表达水平分别为(390.12±34.98) pg/mL 和(369.89±29.67) pg/mL,与对照组相比差异无统计学意义(*Lactobacillus*:  $t=11.68, P=0.065$ ; *Enterococcus*:  $t=10.96, P=0.089$ )。

IL-1 $\beta$  的表达水平在 *Bacteroides* 感染组中显著高于对照组,达到(899.87±69.45)pg/mL,而对照组的 IL-1 $\beta$  表达水平为(309.90±24.78)pg/mL,差异显著( $t=27.20, P<0.01$ )。 *Prevotella* 感染组的 IL-1 $\beta$  表达水平为(710.45±49.34) pg/mL, *Ruminococcus* 感染组为(619.78±39.87)pg/mL,两者均与对照组相比差异显著(*Prevotella*:  $t=22.06, P<0.01$ ; *Ruminococcus*:  $t=19.93, P<0.01$ )。 *Lactobacillus* 和 *Enterococcus* 感染组的 IL-1 $\beta$  表达水平分别为(400.23±34.45)pg/mL 和(380.12±24.89)pg/mL,与对照组相比无显著性差异(*Lactobacillus*:  $t=14.03, P=0.055$ ; *Enterococcus*:  $t=13.48, P=0.061$ )。

**2.4 细胞活力分析** 本研究进一步评估了 *Bacteroides*、*Prevotella*、*Ruminococcus*、*Lactobacillus* 和 *Enterococcus* 等5种不同菌株感染对 HCAEC 活力的影响(图5)。结果表明, *Bacteroides* 感染显著降低了 HCAEC 的活力, 感染后细胞存活率为(65.34 ± 5.68)%, 与对照组(92.45 ± 3.45)% 相比差异有统计学意义( $t=12.56, P<0.01$ ), 表明, *Bacteroides* 感染对 HCAEC 的生存能力产生了显著的抑制作用。 *Prevotella* 感染也明显降低了 HCAEC 的活力, 细胞存活率下降至(75.67 ± 4.89)%, 与对照组相比差异显著( $t=10.23, P<0.01$ )。这一结果提示, *Prevotella* 感染对内皮细胞的损伤作用较为显著, 但其影响程度略低于 *Bacteroides*。 *Ruminococcus* 感染后的细胞活力为(80.45 ± 4.56)%, 与对照组相比同样显示出显著性降低( $t=8.45, P<0.01$ )。尽管 *Ruminococcus* 的抑制作用不及前两种菌群, 但其仍然对细胞活力产生了明显的负面影响。相比之下, *Lactobacillus* 和 *Enterococcus* 感染对 HCAEC 活力的影响较小。 *Lactobacillus* 感染组的细胞存活率为(89.34 ± 3.45)%, 而 *Enterococcus* 感染组的存活率为(90.23 ± 3.23)%。这两组与对照组相比, 活力差异均无统计学意义(*Lactobacillus*:  $t=2.34, P=0.078$ ; *Enterococcus*:  $t=1.98, P=0.101$ )。这些结果表明, *Lactobacillus* 和 *Enterococcus* 菌群对 HCAEC 的生存能力影响不大, 可能与它们对内皮细胞的相对温和性质有关。

## 讨论

本研究探讨了冠状动脉微血管疾病(CMVD)患者口腔菌群中的微生物群落结构, 重点分析了特定菌株对内皮细胞炎症反应和细胞活力的影响。通过 16S rRNA 基因测序, 本研究揭示了 CMVD 患者口腔菌群中的微生物多样性和菌群组成, 并在体外实验中验证了部分关键菌株对炎症因子表达及细胞活力的影响。

口腔微生物群落的多样性分析显示, CMVD 患者的口腔菌群存在丰富的菌群多样性, 主要包括 *Bacteroides*、*Prevotella*、*Ruminococcus*、*Lactobacillus*、*Enterococcus*、*Firmicutes*、*Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Fusobacteria* 和 *Verrucomicrobia* 等10种主要菌群。这些菌群在不同个体中的丰度存在显著的变异性, 表明口腔菌群可能与 CMVD 的病理特征相关。近年来, 口腔菌群与心血管疾病之间的关联已逐渐被揭示。研究表明, 口腔病原菌, 特别是与牙周病相关的菌株, 可能通过血液传播或炎症介质扩散影响远端的冠状动脉微血管功能, 进而引发心血管疾病。例如, *Porphyromonas*

*gingivalis* 等牙周致病菌能够通过细菌脂多糖(LPS) 激活宿主的免疫反应, 导致全身性炎症反应, 从而加重动脉粥样硬化等心血管疾病<sup>[17-18]</sup>。因此, 口腔菌群的失调可能通过引发全身性炎症, 参与 CMVD 的发生与发展。

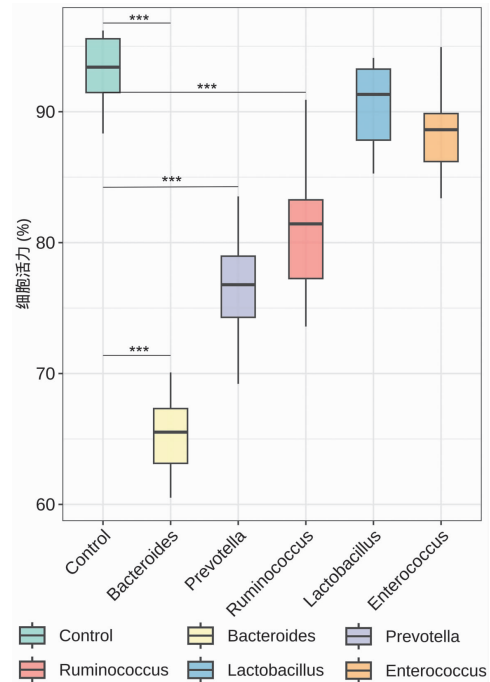


图5 不同菌株感染对 HCAEC 细胞活力的影响对比  
Fig. 5 Comparison of the effects of infection with different strains on HCAEC cell viability

在体外实验中, 本研究进一步验证了部分菌株对 HCAEC 细胞炎症反应和细胞活力的影响。结果显示, *Bacteroides*、*Prevotella* 和 *Ruminococcus* 菌株的感染显著提高了炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  的表达水平, 同时显著降低了 HCAEC 的细胞活力。这些发现与先前的研究一致, 表明这些菌群可能通过诱导内皮细胞的炎症反应, 导致微血管功能障碍, 从而在 CMVD 的发生和发展中起到重要作用<sup>[19-20]</sup>。特别是 *Bacteroides*, 作为一种常见的口腔和肠道共生菌群, 已被广泛研究并与多种心血管疾病相关联。其在口腔中的过度增殖可能通过局部炎症或诱发全身性炎症反应, 影响微血管功能<sup>[21]</sup>。这一结果与其他研究发现的 *Bacteroides* 在肠道菌群失调与代谢综合征及糖尿病之间的关联性相符<sup>[22]</sup>。相比之下, *Lactobacillus* 和 *Enterococcus* 菌株的感染对炎症因子表达和细胞活力的影响较小, 未达到统计学显著性, 这可能与这些菌群的生物学特性有关。 *Lactobacillus* 通常被认为是益生菌, 广泛存在于口腔、肠道和泌尿生殖道中, 其通过产生乳酸和抑制病原菌的生长来维持肠道菌群的平衡<sup>[23]</sup>。在本研究中, 虽然 *Lactobacillus* 感染对炎症因子的表达水平影响有限, 但考虑到其在其他研究中的

抗炎作用及保护心血管功能的潜力<sup>[24]</sup>,未来研究仍需进一步探讨其在CMVD中的具体作用机制。

本研究的结果为理解口腔菌群与CMVD之间的潜在关联提供了新的证据,但仍存在一些局限性。首先,本研究的样本量相对较小,且仅限于确诊为CMVD的患者,缺乏健康对照组和其他心血管疾病患者对照组,可能限制了结果的广泛适用性。未来研究应扩大样本量,并纳入不同类型的心血管疾病患者,以更全面地了解口腔菌群在不同心血管疾病中的作用。其次,虽然本研究在体外验证了部分菌株对内皮细胞的影响,但体内微环境的复杂性和菌群之间的相互作用尚未被充分模拟。因此,未来的研究应考虑通过动物模型或临床研究进一步验证这些发现。此外,微生物群落的代谢产物及其与宿主代谢的交互作用可能在CMVD的发病过程中发挥重要作用,未来的研究应纳入这些因素进行深入探讨。

综合上述结果,本研究在冠状动脉微血管疾病患者的口腔菌群样本中揭示了丰富的微生物群落,并发现了 *Bacteroides*、*Prevotella* 和 *Ruminococcus* 菌株通过诱导炎症反应可能对内皮细胞功能产生负面影响。这些发现为理解CMVD的病理机制提供了新的视角,并提示口腔菌群可能是未来CMVD防治的潜在靶点。

#### 【参考文献】

- [1] Mileva N, Nagumo S, Mizukami T, et al. Prevalence of coronary microvascular disease and coronary vasospasm in patients with nonobstructive coronary artery disease: Systematic review and meta-analysis [J]. J Am Heart Assoc, 2022, 11(7): e023207.
- [2] Del Buono MG, Montone RA, Camilli M, et al. Coronary microvascular dysfunction across the spectrum of cardiovascular diseases: JACC state-of-the-art review [J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 78(13): 1352-1371.
- [3] Yang Z, Lin S, Liu Y, et al. Traditional chinese medicine in coronary microvascular disease [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 929159.
- [4] Smilowitz NR, Toleva O, Chieffo A, et al. Coronary microvascular disease in contemporary clinical practice [J]. Circ Cardiovasc Interv, 2023, 16(6): e012568.
- [5] Guo Z, Yang Z, Song Z, et al. Inflammation and coronary microvascular disease: relationship, mechanism and treatment [J]. Front Cardiovasc Med, 2024, 11: 1280734.
- [6] Sagris M, Theofilis P, Antonopoulos AS, et al. Inflammation in Coronary Microvascular Dysfunction [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(24): 13471.
- [7] Schindler TH, Bhandiwad A. Coronary microvascular dysfunction: Linking inflammation and cardiac dysfunction? [J]. JACC Basic Transl Sci, 2023, 8(2): 152-154.
- [8] Sozzi FB, Gherbesi E, Faggiano A, et al. Viral Myocarditis: Classification, Diagnosis, and Clinical Implications [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 908663.
- [9] 梁峰翎,周艳,李华桦. 肠道微生物组成与冠状动脉疾病患者对他汀类药物反应及心血管事件关系研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2024, 19(8): 896-900.
- [10] Morris PD, Gosling R, Zwierzak I, et al. A novel method for measuring absolute coronary blood flow and microvascular resistance in patients with ischaemic heart disease [J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(6): 1567-1577.
- [11] Winning L, Patterson CC, Linden K, et al. Periodontitis and risk of prevalent and incident coronary heart disease events [J]. J Clin Periodontol, 2020, 47(12): 1446-1456.
- [12] 胡颖文,马晓岚,牛海涛,等. 牙龈卟啉单胞菌与心血管疾病致病机制的相关进展[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2023, 44(2): 193-202.
- [13] Gronnemose RB, Garde C, Wassmann CS, et al. Bacteria-host transcriptional response during endothelial invasion by *Staphylococcus aureus* [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 6037.
- [14] Zhang L, Chi J, Wu H, et al. Extracellular vesicles and endothelial dysfunction in infectious diseases [J]. J Extracell Biol, 2024, 3(4): e148.
- [15] Wen T, Niu G, Chen T, et al. The best practice for microbiome analysis using R [J]. Protein Cell, 2023, 14(10): 713-725.
- [16] Al-Emran HM, Rahman S, Hasan MS, et al. Microbiome analysis revealing microbial interactions and secondary bacterial infections in COVID-19 patients comorbidly affected by Type 2 diabetes [J]. J Med Virol, 2023, 95(1): e28234.
- [17] Ma X, Shin YJ, Yoo JW, et al. Extracellular vesicles derived from *Porphyromonas gingivalis* induce trigeminal nerve-mediated cognitive impairment [J]. J Adv Res, 2023, 54: 293-303.
- [18] Lv YT, Zeng JJ, Lu JY, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide (Pg-LPS) influences adipocytes injuries through triggering XBP1 and activating mitochondria-mediated apoptosis [J]. Adipocyte, 2021, 10(1): 28-37.
- [19] Wang RR, Yuan TY, Wang JM, et al. Immunity and inflammation in pulmonary arterial hypertension: From pathophysiology mechanisms to treatment perspective [J]. Pharmacol Res, 2022, 180: 106238.
- [20] Engelen SE, Robinson AJB, Zurke YX, et al. Therapeutic strategies targeting inflammation and immunity in atherosclerosis: how to proceed? [J]. Nat Rev Cardiol, 2022, 19(8): 522-542.
- [21] Pang W, Jiang Y, Li A, et al. Bacteroides thetaiotaomicron ameliorates experimental allergic airway inflammation via activation of ICOS(+) Tregs and inhibition of Th2 response [J]. Front Immunol, 2021, 12: 620943.
- [22] Witkowski M, Weeks TL, Hazen SL. Gut microbiota and cardiovascular disease [J]. Circ Res, 2020, 127(4): 553-570.
- [23] Alli SR, Gorbovskaya I, Liu JCW, et al. The gut microbiome in depression and potential benefit of prebiotics, probiotics and synbiotics: A systematic review of clinical trials and observational studies [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(9): 4494.
- [24] Pavlidou E, Fasoulas A, Mantzourou M, et al. Clinical evidence on the potential beneficial effects of probiotics and prebiotics in cardiovascular disease [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(24): 15898.