

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.026

慢性牙周炎患者唾液中 IL-17, miR-146a 表达水平与疾病程度的相关性分析 *

侯云华¹ 周肖英¹ 林 彬¹ 缪 捷¹ 陆 伟^{2Δ}

(1 无锡卫生高等职业技术学校 江苏 无锡 214082; 2 解放军第 101 医院 江苏 无锡 214082)

摘要 目的:观察和分析慢性牙周炎(CP)患者唾液中白细胞介素-17(IL-17)、微小 RNA-146a(miR-146a)表达水平与疾病程度的相关性。**方法:**选取 80 例 CP 患者作为病例组,选取 80 名健康志愿者作为对照组,对两组研究对象唾液样本中的 IL-17、miR-146a 表达水平进行检测和比较。对病例组患者的菌斑指数(PLI)、牙龈指数(GI)、牙周探诊深度(PD)和附着丧失(AL)等牙周病指标进行检测。**结果:**病例组患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平显著高于对照组,两组之间的差异均有统计学意义($P<0.05$)。随着疾病程度的加剧,患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平也逐渐上升,各组之间的差异均有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 等级相关分析结果显示,CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与牙周炎严重程度均呈正相关关系($P<0.05$)。直线相关分析结果显示,CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与 PLI、GI、PD、AL 等牙周炎临床指标均呈正相关关系 ($P<0.05$)。**结论:**CP 患者表现为唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平的显著升高,其表达水平与疾病严重程度和临床指标均具有相关性。

关键词:慢性牙周炎;唾液;白细胞介素-17;miRNA-146a;相关性分析

中图分类号:R781.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)09-1721-05

Analysis on the Correlation between the Expression of IL-17, miR-146a in Saliva and the Degree of Disease of Patients with Chronic Periodontitis*

HOU Yun-hua¹, ZHOU Xiao-ying¹, LIN Bin¹, MIAO Jie¹, LU Wei^{2Δ}

(1 Wuxi higher health vocational technology school, Wuxi, Jiangsu, 214082, China;

2 101 Hospital of PLA, Wuxi, Jiangsu, 214082, China)

ABSTRACT Objective: To observe and analyze the correlation between the expression of interleukin -17 (IL-17), micro RNA-146a (miR-146a) in saliva and the degree of disease of patients with chronic periodontitis (CP). **Methods:** 80 cases of patients with CP were selected as the case group and 80 healthy volunteers were selected as the control group. The expression of IL-17, miR-146a in saliva of the subjects in the two groups were detected and compared. The periodontal disease indicators of plaque index (PLI), gingival index (GI), probing depth (PD) and attachment loss (AL) of the patients in the case group were detected. **Results:** The expressions of IL-17, miR-146a in saliva of patients in the case group was significantly higher than those in the control group, the differences between the two groups were statistically significant ($P<0.05$). With the severity of the disease, the expressions of IL-17, miR-146a in saliva of patients gradually increased, the differences between the groups were statistical significance ($P<0.05$). The results of Spearman rank correlation showed that the expressions of IL-17, miR-146a in saliva of patients were positively correlated with severity of periodontal disease ($P<0.05$). Linear correlation analysis showed that the expressions of IL-17, miR-146a in saliva of patients were positively correlated with the periodontal disease indicators of PLI, GI, PD, AL ($P<0.05$). **Conclusions:** The patients with CP show significantly increased expression of IL-17, miR-146a in saliva and the expressions are correlated with the severity of disease and the clinical indicators, suggesting that over-expressions of IL-17, miR-146a may be an important mechanism in promoting periodontal tissue destruction in patients with CP.

Key words: Chronic periodontitis; Saliva; Interleukin -17; miRNA-146a; Correlation analysis

Chinese Library Classification(CLC): R781.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)09-1721-05

前言

慢性牙周炎(CP)是一种由口腔菌群紊乱导致的牙周组织慢性破坏性疾病,也是危害人类口腔健康的多发病和导致成人

牙缺失的主要原因之一。近年来研究结果显示,CP 的危害并不局限于口腔部位,而且可导致患者的全身性微炎症,目前的研究已证实了 CP 与动脉粥样硬化、糖尿病、肺部疾病、消化道疾病、妊娠不良结局、心脑血管疾病、慢性肾脏病、阿尔茨海默

* 基金项目:全军医药卫生科研基金项目(3204435)

作者简介:侯云华(1979-),硕士研究生,主要研究方向:免疫学,E-mail: schyh@163.com

Δ 通讯作者:陆伟(1977-),博士,副主任医师,主要研究方向:牙周疾病,E-mail: profind@163.com,电话:0510-85142561

(收稿日期:2017-06-30 接受日期:2017-07-24)

症等全身系统性疾病均具有密切的相关性^[1-3],CP已成为威胁人类健康和生活质量的重要疾病之一。虽然CP的发病诱因是病原微生物对牙周组织的破坏,但患者机体的免疫炎症机制在CP的发生和发展之中均发挥着重要的作用。在病原微生物的长期反复刺激下,牙周组织细胞会产生过量的活性氧物质,从而形成氧化应激,这一机制可通过炎症因子和水解酶类的大量释放及对组织生物大分子的直接破坏最终引发牙周组织损伤^[4,5]。IL-17是Th17细胞分泌的特异性细胞因子,IL-17及IL-17家族是近年来发现的一组促炎症性细胞因子,能够发挥较强的趋化中性粒细胞的作用,对多种炎性介质的产生和释放发挥调节作用,与感染、肿瘤、过敏、移植及自身免疫性疾病等多种炎症性疾病的发生和发展均具有密切的相关性。近年来的报道显示,IL-17表达水平异常在牙周病理性损伤中扮演着重要的角色,是牙周病病理机制的重要组成部分^[6]。微小核糖核苷酸-146a(miR-146a)是微小核糖核苷酸(miRNA)家族成员之一,miR-146a参与了细胞增生、免疫、炎症、肿瘤等多种生物学进程,在炎症反应和自身免疫病中发挥着重要的作用^[7]。本研究针对CP患者唾液中IL-17、miR-146a表达水平与疾病程度的相关性进行了研究和分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2015年8月~2016年8月在无锡市解放军第101医院就诊的80例CP患者作为病例组,纳入患者均符合人民卫生出版社出版的《牙周病学(第3版)》中的CP诊断标准,其中,男性48例,女性32例,年龄为31~68岁,平均年龄为(50.6±9.2)岁。选取同期在我院体检的80名健康志愿者作为对照组,其中,男性44例,女性36例,年龄为29~70岁,平均年龄为(51.2±10.8)岁。两组研究对象均排除妊娠期、哺乳期或月经期妇女、排除合并有感染性疾病、全身性疾病、入组前6个月内应用过抗菌药物或免疫调节药物的患者,排除入组前3个月内接受过牙周治疗的患者、排除全口存留牙齿少于15颗或者全口牙列缺失者,排除入组前2年内有吸烟史的患者。

1.2 观察指标

对病例组患者的菌斑指数(PLI)、牙龈指数(GI)、牙周探诊深度(PD)和附着丧失(AL)等牙周病指标进行检测,所有牙周检查均由同一名口腔科医师完成,并根据《牙周病学(第3版)》中的分级标准将病例组患者分为轻度牙周炎组、中度牙周炎组和重度牙周炎组。采用棉签法采集两组研究对象的清晨唾液标本^[8],采集前2h内受试者禁食、水且不能剧烈运动及情绪剧烈

波动,以无RNA酶离心管收集唾液标本于4℃下以3000 r/min的速度离心15 min,取上层液体置于-80℃的冰箱中保存待测。应用抗体夹心ELISA法对唾液标本中的IL-17表达水平进行检测,试剂盒购自上海通蔚实业有限公司,操作步骤严格按照使用说明书执行。应用实时荧光定量PCR法(RT-qPCR法)对唾液标本中的miR-146a表达水平进行检测,具体检测方法为:应用mirVana PARIS Kit(美国Ambion公司生产)提取总RNA,应用PrimeScript RT reagent Kit反转录试剂盒(日本TaKaRa公司)对miRNA进行反转录,全成cRNA,以miR-16作为内参,对miR-146a进行定量检测,引物序列见表1,PCR扩增反应体系:SYBR PreMix Ex TaqTM (2×)12.5 μL;ROX Reference Dye (50×)0.5 μL;cDNA2 μL;PCR Forward Primer (10 μM)0.5 μL;PCR Reverse Primer (10 μM)0.5 μL;ddH₂O 9 μL。PCR反应条件:预变性:95℃,30 s 1个循环。扩增:95℃,5 s变性;60℃,30 s退火;72℃收集荧光40个循环。创建熔解曲线:95℃,15 s;60℃,60 s;95℃,15 s 1个循环连续收集荧光。应用SDS2.0软件分析Ct值,计算miR-146a与miR-16的Ct差值(ΔCt),以标准化后的2^{-ΔCt}表示miR-146a的相对表达量。

1.3 统计学分析

应用SPSS 20.0 for Windows统计软件包建立数据库并进行统计学分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)的形式表示,两组之间比较应用独立样本t检验进行处理,多组之间比较采用单因素方差分析进行处理,两两比较采用最小显著差法(LSD法)进行处理,两指标之间的相关性分析采用直线相关分析或Spearman等级相关分析进行处理,均以P<0.05为差异有统计学意义。

表1 目的miRNA的RT-qPCR检测相关引物序列

Table 1 Related primer sequences of miRNA by RT-qPCR detection		
miRNA	Primers	Sequences
miR-146a	Forward	CAACACCAGTCGATGGGCTGT
	Reverse	GTGCAGGGTCCGAGGT
miR-16	Forward	CTCGCTTCGGCAGCACA
	Reverse	GTGCAGGGTCCGAGGT

2 结果

2.1 两组研究对象唾液中IL-17、miR-146a表达水平的比较

病例组患者唾液中IL-17、miR-146a表达水平显著高于对照组,两组之间的差异均有统计学意义(P<0.05),见表2。

表2 两组研究对象唾液中IL-17、miR-146a表达水平的比较

Table 2 Comparison of expression levels of IL-17 and miR-146a between two groups

Groups	n	IL-17(ng/L)	miR-146
CP group	80	11.61±3.21	2.63±0.95
Control group	80	7.08±1.55	0.81±0.46
t		11.346	15.498
P		0.000	0.000

2.2 不同疾病程度CP患者唾液中IL-17、miR-146a表达水平的比较

不同疾病程度CP患者在年龄、性别构成、并发症发生率方面的差异均无统计学意义(P>0.05),见表3。轻度CP、中度

CP、重度 CP 患者唾液中 IL-17 水平分别为(7.84± 1.35)ng/L、(11.15± 1.23)ng/L、(14.80± 1.98)ng/L,miR-146a 相对表达量为 1.79± 0.84、2.44± 0.66、3.43± 0.54,不同疾病程度 CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平的差异均有统计学意义(F=124.

743,39.187,P<0.05),随着疾病程度的加剧,患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平也逐渐上升,各组之间的差异均有统计学意义(P<0.05),见图 1。

表 3 不同疾病程度 CP 患者临床资料的比较

Table 3 Comparison of clinical data of patients with different degrees of CP

Groups	n	Age(ng/L)	Gender(male, %)	Complications(n,%)
Slight periodontitis	22	49.4± 8.5	13(59.1)	4(18.2)
Moderate periodontitis	28	51.2± 9.8	17(60.7)	4(14.0)
Severe periodontitis	30	50.9± 9.6	18(60.0)	6(20.0)
F/x ²		0.535	0.014	0.337
P		0.591	0.993	0.845

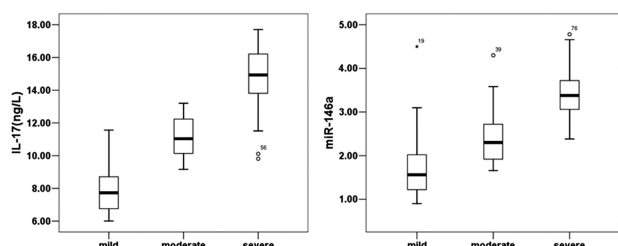


图 1 不同疾病程度 CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平的比较

Fig.1 Comparison of expression levels of IL-17 and miR-146a in saliva of patients with different degrees of CP

2.3 CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与疾病程度的相关性

Spearman 等级相关分析结果显示,CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与牙周炎严重程度均呈正相关关系(rs=0.878、0.732,P<0.05),见表 4、图 2。病例组患者的 PLI、GI、PD、AL 分别为 2.36± 0.60、4.15± 0.84、4.59± 0.91、2.57± 0.53,直线相关分析结果显示,CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与 PLI、GI、PD、AL 等牙周炎临床指标均呈正相关关系(rs=0.708~0.927,P<0.05),见表 5、图 3、图 4。

表 4 CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与牙周炎严重程度的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between IL-17 and miR-146a expression levels in saliva of patients with periodontitis and the severity of disease

Variable	Severity of disease	
	rs	P
IL-17	0.878	0.000
miR-146a	0.732	0.000

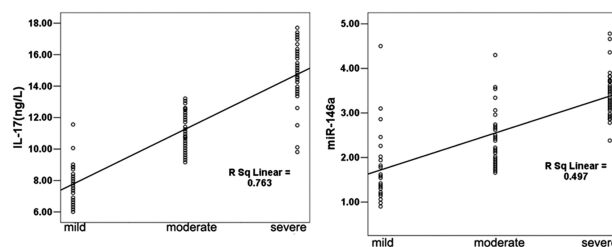


图 2 CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与牙周炎严重程度的相关性

Fig.2 Correlation analysis between IL-17 and miR-146a expression levels in saliva of patients with periodontitis and the severity of disease

表 5 CP 患者唾液中 IL-17、miR-146a 表达水平与牙周炎临床指标的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of IL-17 and miR-146a expression levels in saliva of CP patients with clinical parameters

Variable	PLI		GI		PD		AL	
	r _s	P	r _s	P	r _s	P	r _s	P
IL-17	0.849	0.000	0.927	0.000	0.880	0.000	0.926	0.000
miR-146a	0.712	0.000	0.782	0.000	0.708	0.000	0.776	0.000

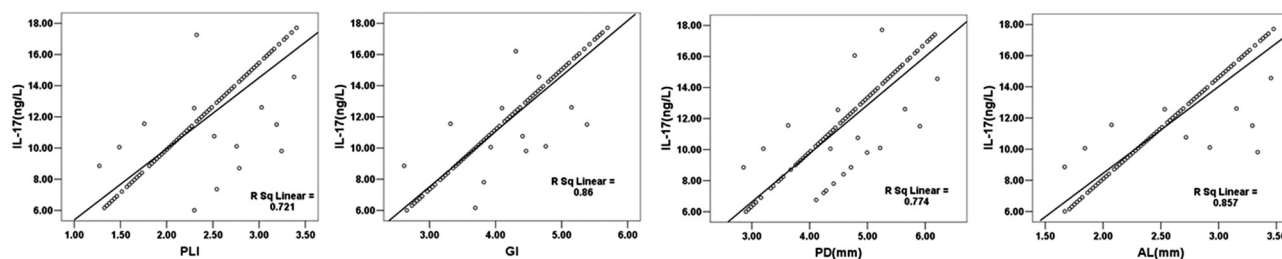


图 3 CP 患者唾液中 IL-17 与牙周炎临床指标的相关性

Fig.3 Correlation analysis of IL-17 expression levels in saliva of CP patients with clinical parameters

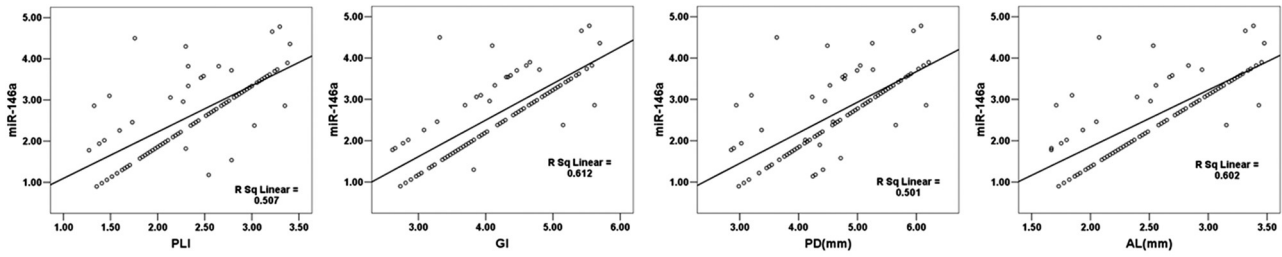


图4 CP患者唾液中miR-146a与牙周炎临床指标的相关性

Fig.4 Correlation analysis of miR-146a expression levels in saliva of CP patients with clinical parameters

3 讨论

本研究结果显示,CP患者唾液中的IL-17表达水平会出现显著升高,而且其水平与CP的严重程度和临床指标均呈高度正相关关系,这提示了口腔局部分泌物中IL-17的过表达可能参与了CP的病情进展。近年来,学者针对IL-17与CP的相关性进行了大量研究,取得了较多的研究成果,但IL-17水平与CP疾病程度的相关性并未得到证实。在Isaza-Guzmán等^[9]针对105例CP患者和44名健康志愿者唾液中IL-17表达水平的研究报道中,并非证实IL-17与CP患者的牙周破坏程度有关,而是证实了唾液中的IL-22和IFN- γ 水平是反映CP患者牙周破坏程度的独立因素。相对针对唾液样本的研究,针对CP患者血液样本、龈沟液(GCF)样本和牙周组织样本中IL-17表达水平的研究较多。Chen等^[10,11]的研究结果显示,CP患者外周血中的Th17细胞和Th1细胞比例均高于健康人群,而且这两种细胞比例与PD均呈正相关关系,虽然患者血浆和GCF中大多数Th1、Th2、Th17细胞因子水平差异均并不显著,但患者GCF中的IL-17水平却显著高于血浆,患者牙龈活检标本中的IL-17也呈高表达,这体现了外周血和牙龈局部的Th17细胞异常激活可能参与了CP的发病。Mitani等^[12]针对CP患者GCF和牙龈组织中Th17细胞、IL-17表达水平的研究结果显示,CP患者牙龈组织和GCF中的IL-17表达水平显著高于健康志愿者,其水平与AL水平呈正相关,而且患者牙龈组织中的IL-17 mRNA表达水平显著高于健康志愿者。针对IL-17表达水平的监测研究也被用于评价CP的治疗效果及与其它口腔疾病进行鉴别诊断。Stadler等^[13]针对CP患者GCF中细胞因子/趋化因子水平的研究结果显示,在治疗前,患者GCF中IL-17表达水平显著偏高,而在接受牙周治疗后患者GCF中的IL-17水平会出现显著下降,但研究并未支持GCF中IL-17水平的变化会增加CP疾病进展风险的结论。Szkaradkiewicz等^[14]针对38例中度CP成年患者的研究结果显示,应用益生菌片治疗可改善患者GCF中的IL-17表达水平,患者的龈沟出血指数(SBI)、PD、AL等临床指标也会随之显著改善。Fu等^[15]针对148例CP患者GCF中IL-17基线水平及治疗后8周、16周、24周水平的监测研究结果显示,患者GCF中IL-17水平会随着治疗的开展而逐渐下降,而IFN- γ 和IL-10的水平则保持不变。Wang等^[16,17]的研究结果显示,与口腔扁平瘰(OLP)的患者相比较,CP患者牙周组织中IL-17水平会出现显著升高,而且女性CP患者的血清IL-17水平也会高于女性OLP患者,特别是糜烂性CP患者的血清IL-17水平升高幅度更大,其水平与PLT和PD水平均呈正相关性,这体现了CP患者不仅具有局部的微生物

感染,而且还出现了局部和全身性炎症反应的加剧,这也可用于疾病的鉴别诊断。此外,IL-17及IL-17受体(IL-7R)的基因多态性与CP的相关性研究也是近年来的热点课题,Kadkhodazadeh等^[18,19]针对CP患者的IL-17受体(IL-7R)基因多态性进行了研究,结果显示,CP患者、口腔种植体周围炎患者、健康志愿者三者之间IL-17受体的基因型和等位基因频率的差异并无统计学意义,但IL17多态性CC基因型可能是导致种植体周围炎和CP的发病机制,IL-17基因多态性也可能是与CP发病风险相关的重要因素。总之,虽然IL-17表达水平与CP发病的相关性已被学术界所认可,但与CP疾病严重程度的相关性程度尚有待进一步研究予以讨论。

本研究结果显示,CP患者唾液中的miR-146a表达水平会出现显著升高,其水平与CP的严重程度和临床指标也具有一定的正相关关系,但相关性弱于IL-17,这提示了口腔局部分泌物中miR-146a表达水平的升高可能也是CP进展的机制之一。在近年来的研究中,针对miR-146a与CP的相关性研究并不多见。Motedayyen等^[20]针对20例CP患者和10例健康志愿者的研究结果显示,CP患者牙龈组织样本中的miR-146a表达水平显著高于健康志愿者,其水平与PD、AL等临床指标均有相关性,而miR-146a表达水平会随着TNF- α 、IL-6 β 等炎症因子表达水平而变化^[20]。Kadkhodazadeh等^[21]针对197例CP患者、种植体周围炎、健康志愿者miR-146a基因多态性的研究结果显示,三种研究对象miR-146a基因型频率的差异并不显著。同时,在一些针对牙周疾病和牙周组织损害的研究中,研究者也针对miR-146a的作用机制进行了研究。Nayar等^[22]的动物模型研究结果显示,miR-146a表达水平的异常与原发性和继发性牙周感染导致的颌下唾液腺、泪腺和胰腺等继发部位感染的发生具有相关性。Jiang等^[23]针对人牙周膜细胞的研究结果显示,miR-146a可通过影响TLRs信号通路和炎症因子表达水平在牙周膜细胞炎症损伤中发挥重要的作用。Xie等^[24]针对人牙龈成纤维细胞的研究结果显示,人牙龈成纤维细胞中的miR-146a和miR-146b-5p表达水平与IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子水平具有相关性,能发挥显著的免疫调节作用^[24]。此外,在Nahid等^[24]的研究中还报道了引发CP等慢性牙周组织破坏的牙周致病菌中也会检出与人类相似的miR-146a表达模式,这提示了牙周致病菌miR-146a表达也可能直接或间接地参与了慢性牙周疾病的病理过程。虽然这些研究均为miR-146a在CP病变过程中的作用研究提供了线索,但其具体机制还未能明确,这应该是进一步研究的重点方向。

综上所述,CP患者表现为唾液中IL-17、miR-146a表达水平的显著升高,其表达水平与疾病严重程度和临床指标均具有

相关性。

参考文献(References)

- [1] Wang Q, Kang J, Cai X, et al. The association between chronic periodontitis and vasculogenic erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Clin Periodontol*, 2016, 43(3): 206-215
- [2] Alfakry H, Malle E, Koyani CN, et al. Neutrophil proteolytic activation cascades: a possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease[J]. *Innate Immun*, 2016, 22(1): 85-99
- [3] Gaur S, Agnihotri R. Alzheimer's disease and chronic periodontitis: is there an association?[J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2015, 15(4): 391-404
- [4] Ma L, Chu WM, Zhu J, et al. Interleukin-1 β (3953/4) C→T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis in Asians: evidence from a meta-analysis of 20 case-control studies [J]. *Arch Med Sci*, 2015, 11(2): 267-273
- [5] Dosseva-Panova VT, Popova CL, Panov VE. Subgingival microbial profile and production of proinflammatory cytokines in chronic periodontitis[J]. *Folia Med (Plovdiv)*, 2014, 56(3): 152-160
- [6] Duarte PM, Bastos MF, Fermiano D, et al. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review [J]. *J Periodontol Res*, 2015, 50(1): 18-27
- [7] Saba R, Sorensen DL, Booth SA. MicroRNA-146a: A Dominant, Negative Regulator of the Innate Immune Response [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 578
- [8] Bahn JH, Zhang Q, Li F, et al. The landscape of microRNA, Piwi-interacting RNA, and circular RNA in human saliva [J]. *Clin Chem*, 2015, 61(1): 221-230
- [9] Isaza-Guzmán DM, Cardona-Vélez N, Gaviria-Correa DE, et al. Association study between salivary levels of interferon (IFN)-gamma, interleukin (IL)-17, IL-21, and IL-22 with chronic periodontitis[J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(1): 91-99
- [10] Chen XT, Chen LL, Tan JY, et al. Th17 and Th1 Lymphocytes Are Correlated with Chronic Periodontitis [J]. *Immunol Invest*, 2016, 45(3): 243-254
- [11] Chen XT, Tan JY, Lei LH, et al. Cytokine levels in plasma and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis [J]. *Am J Dent*, 2015, 28(1): 9-12
- [12] Mitani A, Niedbala W, Fujimura T, et al. Increased expression of interleukin (IL)-35 and IL-17, but not IL-27, in gingival tissues with chronic periodontitis[J]. *J Periodontol*, 2015, 86(2): 301-309
- [13] Stadler AF, Angst PD, Arce RM, et al. Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis[J]. *J Clin Periodontol*, 2016, 43(9): 727-745
- [14] Szkaradkiewicz AK, Stopa J, Karpiński TM. Effect of oral administration involving a probiotic strain of *Lactobacillus reuteri* on pro-inflammatory cytokine response in patients with chronic periodontitis [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2014, 62(6): 495-500
- [15] Fu QY, Zhang L, Duan L, et al. Correlation of chronic periodontitis in tropical area and IFN- γ , IL-10, IL-17 levels[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2013, 6(6): 489-492
- [16] Wang H, Han Q, Luo Z, et al. Oral lichen planus may enhance the expression of Th17-associated cytokines in local lesions of chronic periodontitis[J]. *Clin Oral Investig*, 2014, 18(6): 1647-1654
- [17] Wang H, Luo Z, Lei L, et al. Interaction between oral lichen planus and chronic periodontitis with Th17-associated cytokines in serum[J]. *Inflammation*, 2013, 36(3): 696-704
- [18] Kadkhodazadeh M, Baghani Z, Ebadian AR, et al. IL-17 gene polymorphism is associated with chronic periodontitis and peri-implantitis in Iranian patients: a cross-sectional study [J]. *Immunol Invest*, 2013, 42(2): 156-163
- [19] Kadkhodazadeh M, Ebadian AR, Amid R, et al. Interleukin 17 receptor gene polymorphism in periimplantitis and chronic periodontitis[J]. *Acta Med Iran*, 2013, 51(6): 353-358
- [20] Motedayyen H, Ghotloo S, Saffari M, et al. Evaluation of MicroRNA-146a and Its Targets in Gingival Tissues of Patients With Chronic Periodontitis[J]. *J Periodontol*, 2015, 86(12): 1380-1385
- [21] Kadkhodazadeh M, Jafari AR, Amid R, et al. MiR146a and MiR499 gene polymorphisms in Iranian periodontitis and peri-implantitis patients[J]. *J Long Term Eff Med Implants*, 2013, 23(1): 9-16
- [22] Nayar G, Gauna A, Chukkapalli S, et al. Polymicrobial infection alter inflammatory microRNA in rat salivary glands during periodontal disease[J]. *Anaerobe*, 2016, 38: 70-75
- [23] Jiang SY, Xue D, Xie YF, et al. The negative feedback regulation of microRNA-146a in human periodontal ligament cells after *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide stimulation [J]. *Inflamm Res*, 2015, 64(6): 441-451
- [24] Xie YF, Shu R, Jiang SY, et al. MicroRNA-146 inhibits pro-inflammatory cytokine secretion through IL-1 receptor-associated kinase 1 in human gingival fibroblasts[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2013, 10(1): 20
- [25] Nahid MA, Rivera M, Lucas A, et al. Polymicrobial infection with periodontal pathogens specifically enhances microRNA miR-146a in ApoE^{-/-} mice during experimental periodontal disease [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(4): 1597-1605