

牙周炎与慢性阻塞性肺疾病患者的唾液多肽组学分析

王蕾¹, 李雪芬², 张天翼³, 李威⁴, 王左敏⁴, 林梅^{4△}

1. 清华大学附属垂杨柳医院 口腔科(北京 100022); 2. 北京大学口腔医院 中心实验室(北京 100081);

3. 韩国庆北国立大学(大邱 41566); 4. 首都医科大学附属北京朝阳医院(北京 100020)

【摘要】目的 分析牙周炎(periodontitis, PD)与慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)患者唾液中与疾病相关的差异性表达多肽,寻找具有潜在诊断意义的生物标志物,为探讨COPD的早期防治开辟新视角。**方法** 筛选PD患者10例(PD组)、PD伴COPD患者10例(PD伴COPD组)及健康对照人群8例(对照组),收集各组临床资料及唾液样本。应用弱阳离子交换磁珠(weak-cation-exchange magnetic beads, WCX-MB)分离纯化唾液上清样本,应用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)系统获取样本生物学信息,进行多肽差异性质谱分析,筛选出组间差异性多肽,并通过液相色谱-质谱/质谱联用技术(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)对差异性多肽进行鉴定。**结果** 三组样本共检测出77个差异多肽峰,其中PD伴COPD组和PD组间显著性差异多肽峰10个,PD伴COPD组有8个多肽峰(1193.5、1836.2、1735.1、1321.3、1356.8、2086.8、1863.6、2230.9)表达增高,2个多肽峰(1067.3、1124.4)表达减低。其中1193.5、1356.8多肽峰被鉴定为富组蛋白1、颌下腺激素调节蛋白3B及唾液酸性富脯氨酸蛋白1/2。**结论** 本研究通过WCX-MB和MALDI-TOF-MS分析出PD伴COPD患者唾液中存在与疾病相关的差异性表达多肽,筛选出的差异性表达多肽有望成为早期诊断COPD的辅助指标。

【关键词】 牙周炎 慢性阻塞性肺疾病 唾液多肽 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱 液相色谱-质谱/质谱联用

Salivary Peptide Profiling Analysis of Patients with Periodontitis and Chronic Obstructive Pulmonary Disease

WANG Lei¹, LI Xue-fen², ZHANG Tian-yi³, LI Wei⁴, WANG Zuo-min⁴, LIN Mei^{4△}. 1. Department of Stomatology, Chuiyangliu Hospital Affiliated to Tsinghua University, Beijing 100022, China; 2. Central Laboratory, Peking University Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China; 3. Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea; 4. Beijing Chao-Yang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China

△ Corresponding author, E-mail: linyta@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the salivary peptide profiles of patients with periodontitis (PD) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), to identify differentially expressed peptides that are associated with diseases, to explore for biomarkers with potential diagnostic significance, and to probe for new perspectives for the early prevention and treatment of COPD. **Methods** A total of 10 PD patients (the PD group), 10 PD patients with COPD (the PD plus COPD group), and 8 healthy controls (the Control group) were selected for the study. The clinical data and saliva samples of the subjects were collected. Salivary supernatant samples were separated and purified with weak-cation-exchange magnetic bead-based (WCX-MB). With matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS), the biodata of the samples were obtained and differential salivary peptide profiling was conducted to screen for peptides exhibiting inter-group differences. In addition, all the differentially expressed peptides were examined and verified with liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Result** An average of 77 peptide mass peaks were detected among three groups, the peaks intensities differed significantly for 10 peptides between PD patients and PD patients with COPD. Among them, eight peptides (1193.5, 1836.2, 1735.1, 1321.3, 1356.8, 2086.8, 1863.6, and 2230.9) showed increased expression and two peptides (1067.3 and 1124.4) showed decreased expression in the PD plus COPD group, in comparison with the PD group. Among the 10 differential peptides, 1193.5 and 1356.8 were identified as histidine-rich protein-1, submaxillary gland androgen-regulated protein 3B, and salivary acidic proline-rich protein 1/2. **Conclusion** With WCX-MB and MALDI-TOF-MS, we have identified, from the saliva of patients with concomitant PD and COPD, differentially expressed salivary peptides that were associated with diseases. The differentially expressed peptides thus screened out show promises for being used as auxiliary biomarkers for early diagnosis of COPD.

【Key words】 Periodontitis Chronic obstructive pulmonary disease Salivary peptides MALDI-TOF-MS LC-MS/MS

慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种以持续的不完全可逆的气流受限

为特点的进行性慢性疾病,主要临床表现为慢性咳嗽、胸闷、呼吸困难等,COPD在世界主要死亡原因中排名第四位^[1]。牙周炎(periodontitis, PD)是一种以牙周组织炎

△ 通信作者, E-mail: linyta@163.com

症、牙槽骨吸收为特点的疾病,其晚期表现为牙齿松动脱落,并被认为是成年人牙齿丧失的主要原因^[2]。越来越多的证据显示,牙周炎与许多全身性疾病相关,包括糖尿病、骨质疏松、心血管疾病和COPD^[3-5]。

由于COPD的高患病率和高危害性,对COPD的预防和早期诊断成为医学界当前重要的课题之一。临床研究发现牙周炎与COPD有着共同的危险因素^[6]。因此临床上找到一种新的诊断方法,通过对严重牙周炎患者进行口腔检查和唾液样本检测来筛查COPD高危人群,以便预测COPD的发病风险,为COPD的早期发现和早期诊断提供研究切入点。

研究表明,蛋白质/多肽组学在干燥综合征/儿童早期龋病,口腔鳞状细胞癌和牙周炎,以及心血管疾病等系统性疾病的早期诊断、转移和复发的监测中显示出强大优势^[7-9]。但目前利用唾液多肽质谱技术探讨患有PD和COPD患者间的差异性表达多肽研究较少。本研究采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)系统和弱阳离子交换磁珠(weak-cation-exchange magnetic beads, WCX-MB)对PD合并COPD和单纯PD患者的唾液样本进行分析,识别相关差异表达肽谱,探索早期检测和预防COPD的潜在生物标志物。

1 材料和方法

1.1 伦理声明

该研究经首都医科大学生物医学伦理委员会附属北京朝阳医院批准(批准号:2018-科-292)。所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 受试者分组

选择2018年5-10月在首都医科大学附属朝阳医院口腔科及呼吸科就诊的患者和健康志愿者共28人,最小18岁,最大75岁。根据牙周健康状况和肺功能状况,将受试者分为3组:对照组($n=8$),PD组($n=10$)和COPD伴PD组($n=10$)。

1.3 纳入及排除标准

牙周炎及COPD患者纳入标准:①牙周炎患者由牙周科医师诊断为中重度牙周炎:口内存留牙不少于15颗,口内至少有6个位点牙周探诊深度 ≥ 6 mm,附着丧失(clinical attachment loss, CAL) ≥ 4 mm, X线片显示多个位点牙槽骨吸收超过根长的1/3,1年之内未接受过牙周治疗;②COPD患者由呼吸科医师诊断为COPD并处于稳定期。本研究以全球慢性阻塞性肺疾病倡议(GOLD)和2007年修订的COPD诊断和管理指南作为诊断标准。使

用支气管扩张剂后第1秒用力呼气容积/用力肺活量比值(FEV_1/FVC) $< 70\%$ 可以确认存在不可逆的气流受阻;③口内存留牙 ≥ 15 颗。

对照组人群纳入标准:①探诊深度 ≤ 3 mm,无临床附着丧失;②探诊出血位点 $< 10\%$,出血指数(bleeding index, BI)为0~3;③口内存留牙 ≥ 15 颗。

排除标准:①近6个月内进行过牙周治疗;②近3个月内服用过抗生素;③患有除COPD外的其他呼吸系统疾病;④患有其他严重的系统性疾病,感染性疾病和自身免疫性疾病。

受试者的基本信息见表1。

表1 受试者基本信息

Table 1 Demographic data of subjects in different groups

Group	n	Sex/case		Age/yr.	Height/cm	Body mass/kg
		Female	Male			
Control	8	4	4	27.4 \pm 4.6	168.5 \pm 9.0	61.9 \pm 13.1
COPD+PD	10	6	4	69.5 \pm 8.7	166.8 \pm 7.9	66.4 \pm 11.6
PD	10	4	6	51.7 \pm 18.3	165.0 \pm 9.1	66.7 \pm 14.2

1.4 牙周及肺功能检查

牙周检查:参照WHO的《口腔健康调查基本方法》(第4版)。由2名专业牙周科医师进行口腔检查,检查者进行一致性检验的结果符合标准。采用Williams探针(上海康桥齿科器械厂)探查全口除第三磨牙以外的余牙,每颗牙检查6个位点(近中颊、中央颊、远中颊、近中舌、中央舌、远中舌侧),探查牙周探诊深度、CAL及BI。

肺功能检查:使用肺功能仪检测肺功能,测定前让患者休息30 min。测试前20 min吸入沙丁胺醇400 μ g,记录每位入组受试者的肺功能检测指标。

1.5 唾液的收集和处理

唾液样本的收集时间控制在清晨空腹(8:00-9:00),收集前1 h嘱受试者禁食禁饮及服用任何药物。在收集唾液之前,受试者被要求坐在一个安静的房间里,用清水漱口后静坐于椅上,收取自然流出的非刺激性唾液(混有血迹者弃之)于50 mL无菌离心管内,每例收集多于5 mL的唾液,编号并暂存于4 $^{\circ}$ C冰箱,2 h内送至实验室预处理;将唾液样本按1 mL预分装至无菌1.5 mL EP管中,4 $^{\circ}$ C下,10 000 r/min,10 min,离心后取唾液上清液200 μ L作为待检样本,于-80 $^{\circ}$ C冰箱保存待下一步备用。

1.6 WCX-MB对唾液预处理及MALDI-TOF-MS检测

采用WCX-MB试剂盒(北京Bioyong公司,中国)从唾液样品中提取多肽:基于弱阳离子交换原理,使用磁珠在高盐低pH溶液中特异吸附生物样品中的蛋白质多肽,在低

盐溶液中释放蛋白质多肽分子,捕获唾液中的蛋白质多肽,并可直接用于基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析。

采用MALDI-TOF-MS系统(Bruker Daltonik公司,德国)检测两组唾液样品。MALDI-TOF-MS结合弱阳离子筛选分离相对分子质量小于10 000的多肽组分。制备的样品通过MALDI-TOF质谱仪进行分析。MALDI-TOF MS校准后,采集相对分子质量为1 000~10 000的多肽,用累积50倍的400倍激光能量扫描单个质谱信号,获得肽质量指纹,筛选差异性多肽峰。

1.7 统计学方法

应用方差分析检验比较三组唾液样本间肽峰强度的差异,两组间的多重比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

用MALDI-TOF MS和WCX-MB对28个唾液样本中提取的多肽段的全部质谱进行分析和比较(图1)。每个患者的多肽峰都是在一个特定的 m/z 范围内显示出最大强度。多肽的相对分子质量主要为1 000~7 000。

三组样本共检测到77个差异多肽峰。经过组间两两比较后,PD组与PD伴COPD组中,筛选出10个多肽峰差异有统计学意义($P < 0.05$)。其中,PD并COPD组有8个多肽峰(1 193.5、1 836.2、1 735.1、1 321.3、1 356.8、2 086.8、1 863.6、2 230.9)表达增高,2个多肽峰(1 067.3、1 124.4)表达减低(图2)。

取样本中统计学差异最明显、重现性较好的位点(1 193.5和1 836.2)($P < 0.01$),建立拟合曲线(图3、图4),绘制散点图(图5)。此外,通过LC-MS/MS鉴定,1 193.5、1 356.8多肽峰被鉴定富组蛋白1(histatin-1),颌下腺激素调节蛋白3B(submaxillary gland androgen-regulated protein 3B)及唾液酸性富脯磷蛋白1/2。

3 讨论

越来越多的研究表明牙周炎不仅仅是一种局部的炎症反应,还可能与许多全身性疾病相关,其中包括呼吸系统疾病。有研究分析发现伴随着牙周附着的丧失,肺功能出现减低的趋势,这提示牙周炎与COPD之间存在着某种联系^[10]。

但是目前国际上对于二者相关性的病理机制研究得并不多。本课题组前期已对牙周炎和COPD的关系进行了一系列的临床研究和动物实验。结果发现:牙周炎在COPD初期诱发和病程进展恶化方面都起了重要作用;

COPD患者的重度牙周炎患病率、重度患病位点百分比均值显著高于非COPD患者^[11]。另外口腔自我保健、定期口腔检查及是否具有口腔保健知识与COPD的发病率具有显著相关性^[12]。在对牙周炎患者维生素D水平与肺功能的关系等研究中,本课题组发现单纯牙周炎患者与COPD伴牙周炎患者体内维生素D水平的差异有统计学意义($P < 0.01$)^[13]。同时本课题组还对COPD患者进行牙周干预治疗,研究结果显示:牙周干预治疗有助于减轻COPD的临床症状和发作频率^[14]。建立牙周炎诱发和加重COPD的动物实验研究发现COPD伴牙周炎小鼠肺部组织终末细支气管周围炎性表现重于COPD小鼠组,提示牙周炎对COPD具有促发作用^[15-16]。相关免疫学研究发现牙周炎可能通过自身免疫反应失衡进而影响COPD的病理机制^[17]。另外本课题组还检测到牙周炎与COPD伴牙周炎患者唾液生物多样性具有显著性差异^[18]。

近年来,随着唾液蛋白质组学研究方法的进步,许多研究人员发现一些口腔疾病如口腔癌、扁平苔藓、龋齿、唇腭裂、牙周炎和牙龈炎等,唾液中部分蛋白质或多肽如 α -淀粉酶和免疫球蛋白发生了变化^[19]。此外,唾液蛋白所含的血清成分可以为糖尿病和心血管疾病等系统性疾病提供诊断参考^[20]。因此唾液中的许多生物标志物在疾病早期发现及早期诊断方面的优势也开始逐渐显示出来^[21]。

质谱法在分析生物化合物方面有很高的效率。它广泛用于临床实验室和生物医学研究的常规分析。MALDI-TOF-MS操作简单、结果客观、样品制备简单、灵敏度高、样品消耗低、自动化程度高。组合磁珠更有利于检测唾液中的低丰度蛋白质^[22]。牙周病是多因素复杂疾病,基于现代质谱技术的多肽组学和蛋白质组学实验研究,可以用于寻找多肽组、蛋白质组与这些疾病临床指标之间的关系^[23]。目前,利用该技术进行牙周炎、慢性阻塞性肺疾病的多肽研究和疾病监测的研究很少。本研究利用质谱技术和唾液样本取样及监测的便捷,研究了牙周炎和COPD患者唾液多肽组的特征变化,为利用质谱技术快速筛选多肽生物标记物提供了依据。

多肽组是指存在于器官、组织、细胞和体液中的所有内源性多肽,其中包括具有特殊功能的活性肽和蛋白质代谢产生的多肽。在疾病研究中,多肽组通常被用来进行疾病生物标志物的筛查、疾病的诊断、疗效评价和预防。本研究用28例样本经过磁珠纯化、MALDI-TOF-MS及ClinProTools软件分析其唾液多肽差异谱,通过对PD伴COPD组、PD组以及健康对照组的唾液多肽图谱进行比较分析后,在相对分子质量1 000~10 000范围内共检测到77个差异多肽峰。PD伴COPD组和PD组差异多

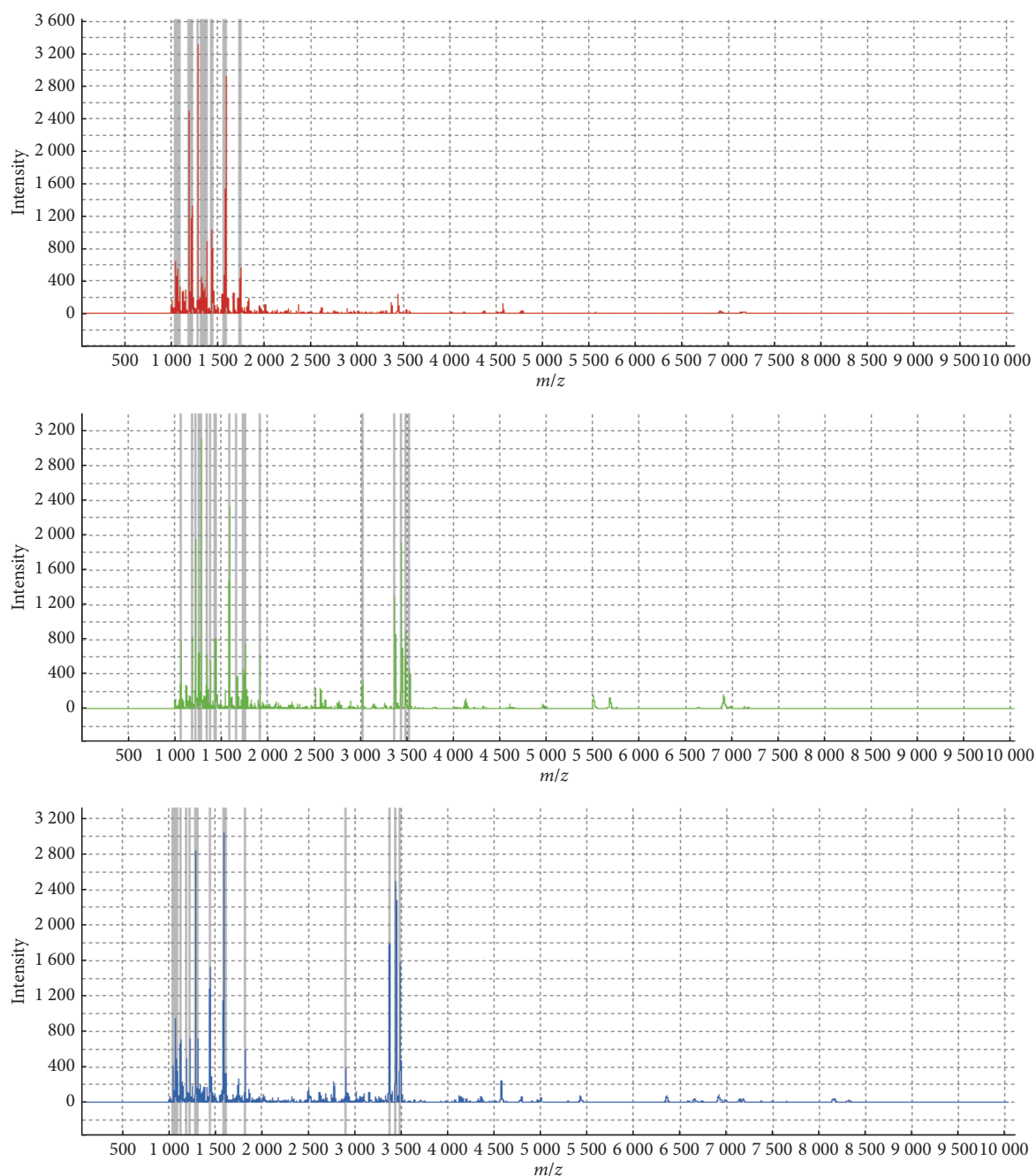


图 1 受试者质谱图

Fig 1 The entire mass spectra of the peptide samples from the subjects

The fingerprint peaks from each subject were shown. Red curve: healthy control group; green curve: PD plus COPD group; blue curve: PD group; m/z : mass-to-charge ratio.

肽峰共有10个,其中,PD伴COPD组有8个多肽峰表达增高,2个多肽峰表达减低。其中两个差异最显著、重现性较好的多肽峰,通过LC-MS/MS鉴定,被鉴定富组蛋白1、颌下腺激素调节蛋白3B及唾液酸性富脯磷蛋白1/2。其中富组蛋白是一组富含组氨酸的抗菌肽,由人类腮腺和下颌下腺的腺泡细胞分泌,富组蛋白1是这些抗菌肽中最重要蛋白之一,具有38个氨基酸残基,有促进细胞黏

附、伸展、迁移、血管化生、抗炎等多方面作用,参与宿主免疫炎症过程,同时也与多种肿瘤性疾病密切相关。有研究表明,在机体受炎症、创伤等刺激后,唾液富组蛋白分泌增加^[24]。同时有研究报道颌下腺激素调节蛋白参与肿瘤的病理发展过程^[25]。这提示富组蛋白、颌下腺激素调节蛋白可能参与牙周炎等疾病的病理发展,因此这些多肽的差异表达有望成为早期诊断COPD的辅助指标,

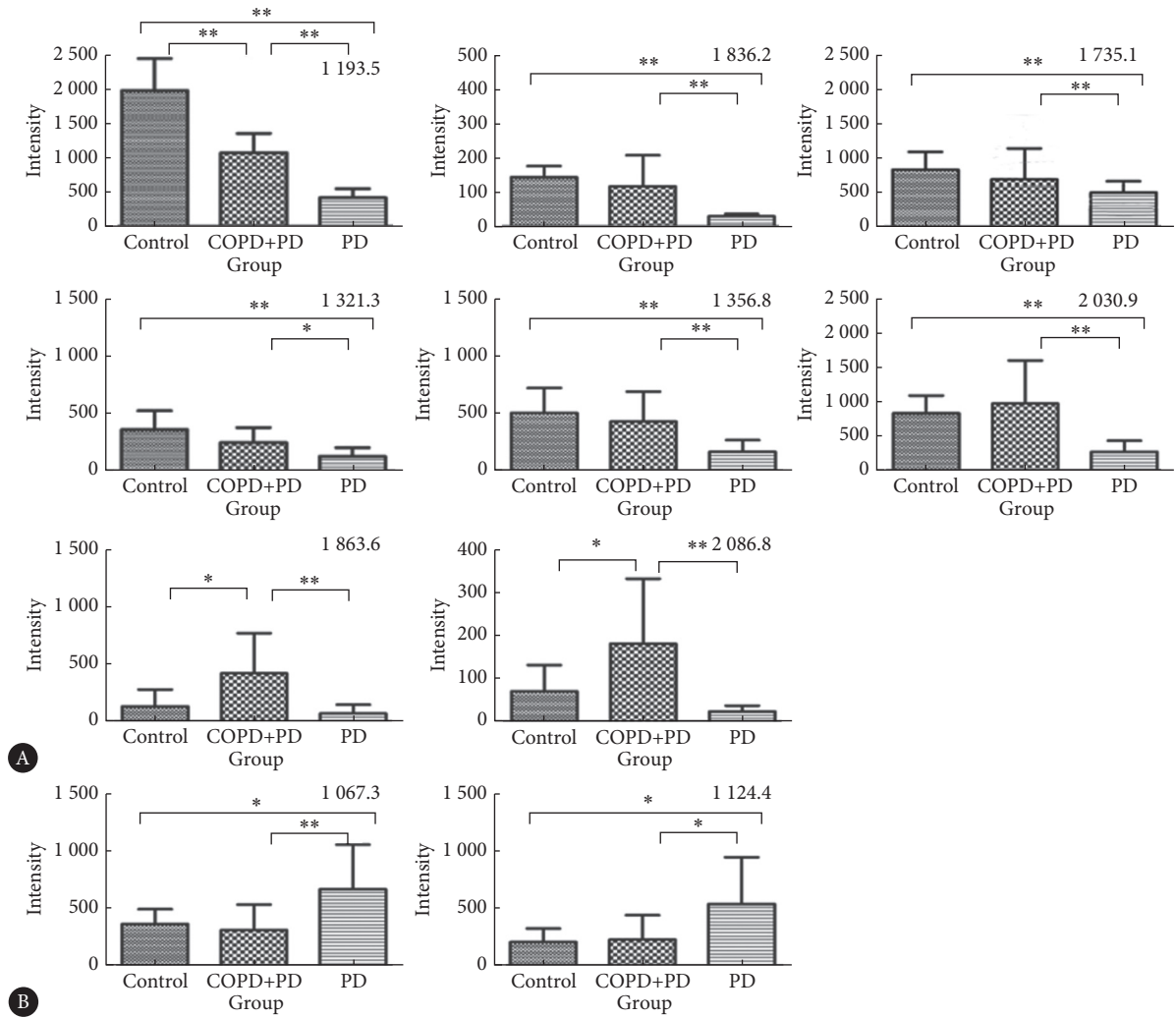


图 2 PD组与PD伴COPD组之间的10个差异多肽峰表达水平

Fig 2 Column view of the mass spectra of 10 peptides showing significant differences between the PD group and COPD plus PD group

The peak intensities showed differential expression, with an increasing trend in peak intensity (A) at 1193.5, 1836.2, 1735.1, 1321.3, 1356.8, 2086.8, 1863.6, and 2230.9 and a decreasing trend peak (B) at 1067.3 and 1124.4. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

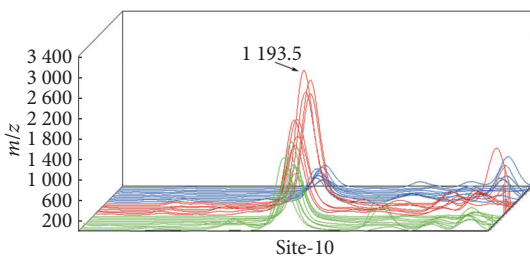


图 3 差异峰的位点-峰值3D图

Fig 3 3D m/z ratio-intensity map of differential peptide peaks

3D m/z ratio-intensity maps showed the significantly different peptide at 1193.5, which had a particular trend among the three groups. Green curve: COPD plus PD group; red curve: healthy control group; blue curve: PD group.

我们将在进一步的研究中深入验证和探讨。

由于本研究的样本量受限, 观察时间相对较短, 同时尚不能排除唾液功能特性变化如pH、流量和缓冲能力等

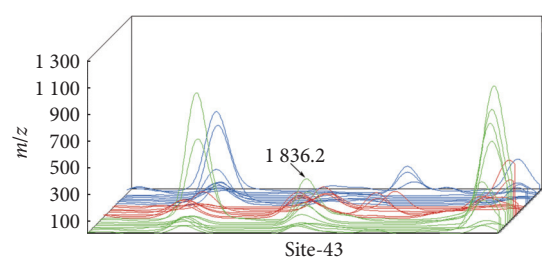


图 4 差异峰的位点-峰值3D图

Fig 4 3D m/z ratio-intensity map of differential peptide peaks

3D m/z ratio-intensity maps showed the significantly different peptide 1836.2, which had a particular trend among the three groups. Green curve: COPD plus CP group; red curve: healthy control group; blue curve: CP group.

对结果的影响, 因此可以作为日后深入探讨牙周炎和COPD唾液标记物的一项初步探索, 通过延长纵向观察时间、增加横向对照和控制可能的混杂因素等方法, 可以对

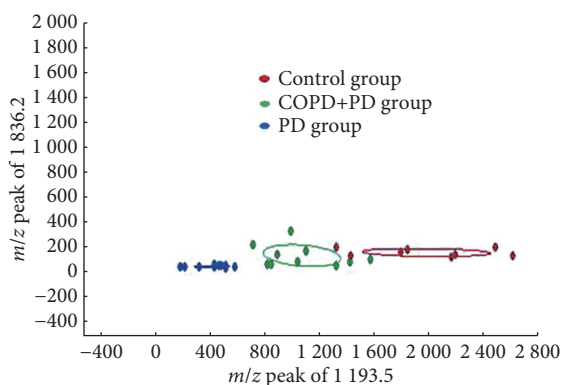


图 5 峰值散点图

Fig 5 Scatter plot of differential peptide peaks

The scatter plots showed a well-fitting curve of three peaks with a significant difference ($P < 0.01$) in their distribution among the three groups.

牙周炎和COPD在发生和发展的全部过程中唾液蛋白的动态变化进行更加深入的检测和分析,从而进一步揭示唾液多肽和蛋白标志物与牙周炎和COPD发生和发展之间的关联。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 陈亚红. 2022年GOLD慢性阻塞性肺疾病诊断, 治疗, 管理及预防全球策略更新要点解读. *中国全科医学*, 2022, 25(11): 1294–1304. doi: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.01.302.
- [2] PEI X, OUYANG X, HE L, *et al.* A 4-year prospective study of the progression of periodontal disease in a rural Chinese population. *J Dent*, 2015, 43(2): 192–200. doi: 10.1016/j.jdent.2014.12.008.
- [3] 闫福华. 牙周炎对全身疾病和健康影响的研究进展. *口腔医学*, 2018, 38(7): 5. doi: 10.13591/j.cnki.kqyx.2018.07.001.
- [4] ZHOU X, WANG J, LIU W, *et al.* Periodontal status and microbiologic pathogens in patients with chronic obstructive pulmonary disease and periodontitis: a case-control study. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2020, 15: 2071–2079. doi: 10.2147/COPD.S266612.
- [5] SCANNAPIECO F A, SHAY K. Oral health disparities in older adults. *Dent Clin North Am*, 2014, 58(4): 771–782. doi: 10.1016/j.cden.2014.06.005.
- [6] BISSETT G. Periodontal disease and systemic health--a summary. *Dental Nursing*, 2018, 14(6): 296–297. doi: 10.12968/denn.2018.14.6.296.
- [7] TIAN C, SUN X Y, LIU X C, *et al.* Salivary peptidome profiling analysis for occurrence of new carious lesions in patients with severe early childhood caries. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182712. doi: 10.1371/journal.pone.0182712.
- [8] JIANG W, WANG Z, XU L, *et al.* Diagnostic model of saliva peptide finger print analysis of oral squamous cell carcinoma patients using weak cation exchange magnetic beads. *Biosci Rep*, 2015, 35(3): e00211. doi: 10.1042/BSR20150023.
- [9] PATEL R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clin Chem*, 2014, 61(1): 100–111. doi: 10.1373/clinchem.2014.221770.
- [10] SCANNAPIECO F A, HO A W. Potential associations between chronic respiratory disease and periodontal disease: analysis of National Health and Nutrition Examination Survey III. *J Periodontol*, 2001, 72(1): 50–56. doi: 10.1902/jop.2001.72.1.50.
- [11] SI Y, FAN H, SONG Y, *et al.* Association between periodontitis and chronic obstructive pulmonary disease in a Chinese population. *J Periodontol*, 2012, 83(10): 1288–1296. doi: 10.1902/jop.2012.110472.
- [12] WANG Z, XUAN Z, JING Z, *et al.* Periodontal health, oral health behaviours, and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Periodontol*, 2010, 36(9): 750–755. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01448.x.
- [13] ZHOU X, HAN J, SONG Y, *et al.* Serum levels of 25-hydroxyvitamin D, oral health and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Periodontol*, 2012, 39(4): 350–356. doi: 10.1111/j.1600-051X.2012.01852.x.
- [14] LIU Z Q, ZHANG W, ZHANG J, *et al.* Oral hygiene, periodontal health and chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *J Clin Periodontol*, 2012, 39(1): 45–52. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01808.x.
- [15] 林梅, 张冬雪, 王左敏. 牙周炎对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺损伤的作用研究. *实用口腔医学杂志*, 2012, 28(5): 545–549. doi: 10.3969/j.issn.1001-3733.2012.05.01.
- [16] TIAN H, ZHANG Z, WANG X Y, *et al.* Role of experimental periodontitis in inducing pulmonary inflammation in mice. *Oral Dis*, 2022, 28(8): 2294–2303. doi: 10.1111/odi.13949.
- [17] 林梅, 王悦颖, 王蕾, 等. B10细胞在牙周炎和慢性阻塞性肺疾病患者中的检测及意义. *中华口腔医学杂志*, 2021, 56(6): 525–531. doi: 10.3760/cma.j.cn112144-20210131-00052.
- [18] LIN M, LI X F, WANG J T, *et al.* Saliva microbiome changes in patients with periodontitis with and without chronic obstructive pulmonary disease. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 124. doi: 10.3389/fcimb.2020.00124.
- [19] HARTENBACH F A R R, VELASQUEZ É, NOGUEIRA F C S, *et al.* Proteomic analysis of whole saliva in chronic periodontitis. *J Proteomics*, 2020, 213: 103602. doi: 10.1016/j.jprot.2019.103602.
- [20] BADIA-BOUNGOU F, SANE F, ALIDJINOUE E K, *et al.* Marker of coxsackievirus-B4 infection in saliva of patients with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 2017, 33(7): e2916. doi: 10.1002/dmrr.2916.
- [21] KATSANI K R, SAKELLARI D. Saliva proteomics updates in biomedicine. *J Biol Res (Thessalon)*, 2019(26): 17. doi: 10.1186/s40709-019-0109-7.
- [22] GALINA L, IVAN T, VLADIMÍRA S, *et al.* MALDI-TOF MS profiling in the discovery and identification of salivary proteomic patterns of temporomandibular joint disorders. *Open Chem*, 2020, 18(1): 1173–1180. doi: 10.1515/chem-2020-0174.
- [23] ORTI V, MERTENS B, VIALARET J, *et al.* Data from a targeted proteomics approach to discover biomarkers in saliva for the clinical diagnosis of periodontitis. *Data Brief*, 2018(18): 294–299. doi: 10.1016/j.dib.2018.03.036.
- [24] 邱越桦, 王海燕. 富组蛋白1在基础研究中的研究进展. *中国医药科学*, 2021, 11(1): 55–58.
- [25] THIERAUF J, VEIT J A, GRÜNOW J, *et al.* Expression of submaxillary gland androgen-regulated protein 3A (SMR3A) in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Anticancer Res*, 2016, 36(2): 611–615.

(2022-09-23收稿, 2022-12-22修回)

编辑 汤洁

