



代谢相关脂肪性肝病口腔病毒组的特征分析*

屠叶^{ID}, 牛晨光^{ID}, 黄正蔚^{ID}[△]

上海交通大学医学院附属第九人民医院 牙体牙髓科, 上海交通大学口腔医学院, 国家口腔医学中心, 口腔疾病国家临床医学研究中心,
上海市口腔医学重点实验室, 上海市口腔医学研究所 (上海 200001)

【摘要】目的 探讨代谢相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD)患者唾液和龈上菌斑病毒组特征, 为MAFLD的口腔无创筛查和生态干预提供新思路。**方法** 本研究纳入21例MAFLD患者和20例健康对照者, 采集唾液和龈上菌斑样本, 使用宏基因组测序技术解析人群口腔病毒组的特征。**结果** 唾液病毒组的 α 多样性和 β 多样性在MAFLD患者和健康人群间无明显差异($P>0.05$), 而龈上菌斑病毒组 α 多样性(Shannon指数)和 β 多样性(Bray curtis距离)与健康人群间的差异有统计学意义($P=0.0303$, $P=0.001$); 对于相对丰度大于0.1%的物种, 唾液和龈上菌斑中分别有14种和5种病毒物种的相对丰度水平在两组人群中具有明显差异($P<0.05$), 多种链球菌噬菌体在MAFLD患者唾液中富集; 通过LEfSe和随机森林分析筛选出唾液和龈上菌斑的潜在生物标志物, 联合受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析结果表明, 这些潜在生物标志物在唾液和龈上菌斑中均表现出良好的疾病诊断效能(曲线下面积=0.9548, 95%置信区间: 0.8898~1.0000; 曲线下面积=0.8952, 95%置信区间: 0.7774~1.0000); Spearman相关性分析结果表明, 唾液和龈上菌斑病毒物种与多种疾病指标有关($P<0.05$); 与健康人群相比, MAFLD患者唾液和龈上菌斑病毒组物种共现性网络均表现出更高的节点数量、显著性关系数量和平均节点度数。**结论** MAFLD患者口腔病毒组的物种组成和结构与健康人群存在差异, 口腔病毒物种可作为诊断MAFLD的潜在生物标志物。

【关键词】 脂肪肝/代谢 病毒组 口腔微生态 宏基因组

Analysis of the Characteristics of the Oral Virome in Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease

TU Ye^{ID}, NIU Chenguang^{ID}, HUANG Zhengwei^{ID}[△]. Department of Endodontics, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; College of Stomatology, Shanghai Jiao Tong University; National Center for Stomatology; National Clinical Research Center for Oral Diseases; Shanghai Key Laboratory of Stomatology; Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai 200001, China

[△] Corresponding author, E-mail: huangzhengwei@shsmu.edu.cn

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82071104, No. 82571073), Major and Key Cultivation Projects of Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (No. JYZP006).

[Abstract] Objective To investigate the characteristics of salivary and supragingival plaque viromes in patients with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD), and provide new insights for noninvasive oral screening and ecological intervention for MAFLD. **Methods** This study included 21 MAFLD patients and 20 healthy controls. Saliva and supragingival plaque samples were collected, and metagenomic sequencing was used to analyze the characteristics of the oral virome. **Results** The α -diversity and β -diversity of the salivary virome did not differ significantly between MAFLD patients and healthy individuals ($P>0.05$). However, compared with healthy individuals, the α -diversity (Shannon index) and β -diversity (Bray-Curtis distance) of the supragingival plaque virome showed significant differences ($P=0.0303$, $P=0.001$). For species with a relative abundance greater than 0.1%, 14 viral species in saliva and 5 in supragingival plaque differed significantly in relative abundance between the two groups ($P<0.05$), with multiple Streptococcus phages enriched in the saliva of MAFLD patients. LEfSe and random forest analyses identified potential biomarkers in saliva and supragingival plaque. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis showed strong diagnostic performance for these biomarkers in both saliva (area under the curve [AUC] = 0.9548, 95% CI: 0.8898-1.0000) and supragingival plaque (AUC = 0.8952, 95% CI: 0.7774-1.0000). Spearman correlation analysis revealed associations between viral species in saliva or supragingival plaque and various disease indicators ($P<0.05$). Compared with healthy individuals, MAFLD patients showed higher node counts, significant relationship numbers, and average node degrees in the co-occurrence networks of salivary and supragingival plaque viromes. **Conclusion** Differences in the species composition and structure of the oral virome between MAFLD patients and healthy individuals suggest that

* 国家自然科学基金(No. 82071104, No. 82571073)和上海交通大学医学院附属第九人民医院重大重点培育项目(No. JYZP006)资助

[△] 通信作者, E-mail: huangzhengwei@shsmu.edu.cn

出版日期: 2026-01-20

oral viral species could serve as potential biomarkers for diagnosing MAFLD.

[Key words] Fatty liver/metabolism Virome Oral microbiota Metagenome

代谢相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD)指伴随代谢功能紊乱的慢性肝病,与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)、超重或肥胖、代谢功能障碍密切相关,其不良结局包括肝硬化、肝细胞癌等终末期肝病^[1]。MAFLD影响了约全球四分之一人口,其患病率呈现持续上升趋势,已成为严峻的全球性公共卫生问题^[2-3]。MAFLD发病机制涉及多重因素,包括遗传易感性、慢性炎症、氧化应激、脂肪毒性、线粒体功能障碍等^[4-5],鉴于其复杂的发病机制,MAFLD目前尚缺乏有效的药物和治疗手段,亟待开发新的防治靶点。

口腔微生态系统是仅次于肠道的人体第二大微生态系统,越来越多的证据表明口腔微生态的紊乱与MAFLD密切相关:牙周炎患者罹患MAFLD和肝硬化的风险显著增加,牙周炎患者唾液菌群及牙周致病菌 *Porphyromonas gingivalis* 可促进肝细胞脂肪变性和肝纤维化^[6-11]。然而现有研究大多集中于常见的口腔致病菌,对口腔微生态系统的整体研究仍显不足。病毒是口腔微生态系统的重要组成部分,其种类包括感染细菌的噬菌体、感染古生菌等其他单细胞微生物的病毒和感染真核细胞的病毒^[12-13]。人体内病毒样颗粒与人体细胞的比例接近100:1,远高于原核生物与人体细胞1:1至10:1的比例^[14],这提示病毒对系统性疾病的影响可能被低估。已有研究表明,全身系统性疾病患者存在消化道病毒组紊乱:1型糖尿病患者肠道病毒组多样性显著降低^[15];T2DM患者肠道病毒组的组成和多样性显著改变,噬菌体丰度水平显著增加^[16-17];高血压患者口腔和肠道病毒组组成和结构与健康人群存在显著差异^[18]。上述研究结果提示,人体微生态病毒组紊乱可能在代谢性疾病的发展中发挥重要作用。然而,口腔病毒组与MAFLD的关联尚未见报道。

本研究纳入MAFLD患者和健康人群队列,使用宏基因组测序技术分析并探讨了人群间唾液和龈上菌斑病毒组的特征和差异,并挖掘了潜在的口腔病毒生物标志物,为MAFLD的生态学防治提供新思路。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究由温州医科大学口腔医学院伦理委员会批准(WYKQ2021006),纳入2021年7月-2022年6月温州医科大

学口腔医院收治的21例MAFLD患者,同时纳入20例年龄匹配的健康对照者,所有参与者签署知情同意书。排除标准包括:其他肝脏疾病(病毒性肝炎、自身免疫性肝炎、肝豆状核变性等);药物性肝损伤史(他莫昔芬、胺碘酮、丙戊酸钠、甲氨蝶呤、糖皮质激素等);其他已知可能导致肝脂肪变性的因素(长期全肠外营养、炎症性肠病、乳糜泻、甲状腺功能减退、库欣综合征、脂蛋白缺乏症、脂肪萎缩性糖尿病等);近6个月使用降脂药物;1型或2型糖尿病;口腔疾病患者(未经治疗的口腔感染、癌前病变、口腔癌、口腔真菌感染、超过8颗牙的牙列缺损、牙周炎等);近期使用益生菌或抗真菌药物者;以及其他特殊情况(妊娠或哺乳期妇女、长期重度吸烟、近6个月内连续使用抗生素超过5 d、系统性疾病严重急性发作期、甲状腺功能异常、家族性高脂血症等)。

由经过培训的工作人员收集受试者人口统计学信息及临床指标数据,包括:年龄、性别、体质量、身高、血浆总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、 γ -谷氨酰转氨酶(gamma glutamyl transferase, GGT)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹血清胰岛素(fasting serum insulin, FSI)、糖化血红蛋白A1c(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)、白细胞(white blood cell, WBC)计数以及血浆高敏C反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)。

1.2 样本采集

唾液和龈上菌斑样本采集参照文献^[19-20]:受试者晨起进食前,采集10 mL非刺激性全唾液,保存于15 mL无菌离心管;使用刮治器采集龈上菌斑,保存于2 mL无菌离心管。所有样本均于冰袋保护下,2 h内送至实验室, -80 °C冻存。

1.3 DNA提取和宏基因组测序

使用QIAamp DNA Mini Kit抽提样品微生物群落总DNA,构建PE文库,使用Illumina NovaSeq 6000平台进行宏基因组测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。原始数据已提交至NCBI数据库(SRP429021)。使用fastp(v0.20.0)去除adapter序列,过滤长度>50 bp或平均质量

<20的reads, 使用BWA(v0.7.17)比对宿主DNA序列, 去除比对相似性高的污染reads。使用MEGAHIT(v1.1.2)拼接优化序列, Prodigal(v2.6.30)预测开放阅读框(opening reading frames, ORFs), 使用CD-HIT(v4.7)聚类基因序列(90% identity、90% coverage)选取最长基因作为代表序列, 构建非冗余基因集。使用SOAPaligner(v2.21)比对高质量reads与非冗余基因集(95% identity), 统计基因在对应样本中的丰度信息。

1.4 生物信息学分析和统计学方法

使用Diamond(v2.0.13)将非冗余基因集序列与NR数据库进行比对(BLASTP比对参数设置期望值e-value为 $1e^{-5}$), 通过NR库对应的分类学信息数据库获得物种以及病毒注释结果, 并使用物种对应的基因丰度总和计算该物种的丰度。使用美吉生物云平台(<https://www.majorbio.com>)进行生物信息学分析。采用Chao/Shannon指数评价 α 多样性; 基于Bray-Curtis距离进行主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)和相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)评价 β 多样性; 采用线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)和效应量分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)筛选关键差异丰度物种($LDA \geq 2$); 采用随机森林筛选潜在生物标

志物, 并通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线的曲线下面积(area under the curve, AUC)评估其诊断效能; 采用Spearman相关性分析评估物种与临床指标的关联性; 构建共现性网络分析评价物种间的互作关系。人口统计学及临床指标采用 t 检验进行两组间比较, 宏基因组测序结果采用Wilcoxon秩和检验进行两组间比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人口统计学及临床指标

本研究共纳入了21例MAFLD患者和20例健康对照组。统计结果显示健康人群与MAFLD患者在性别、年龄和身高方面差异无统计学意义, 而MAFLD患者的多项临床指标如体质量指数(body mass index, BMI)、血脂水平、肝功能指标以及血糖相关指标与健康人群存在明显差异($P < 0.05$)。详见网络资源附件附表1。

2.2 口腔病毒组的多样性

基于种水平使用Chao和Shannon指数评价病毒组的 α 多样性。对于唾液, MAFLD患者和健康人群病毒组Chao和Shannon指数值无明显差异($P > 0.05$, 图1A); 对于龈上菌斑, 尽管MAFLD患者和健康人群的

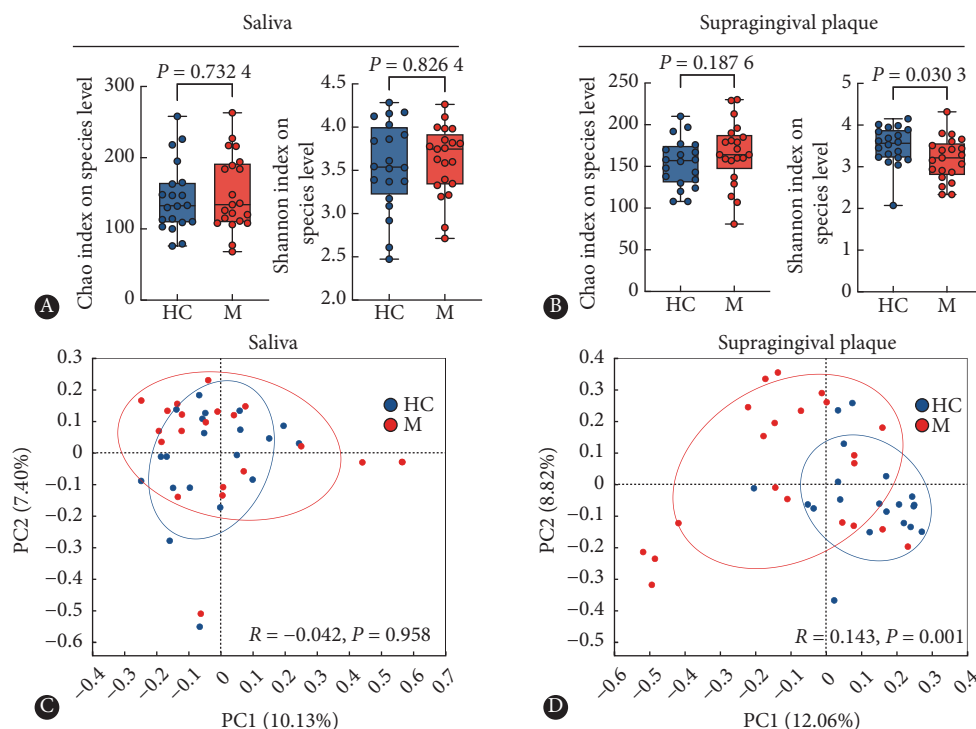


图1 唾液和龈上菌斑病毒组多样性

Fig 1 Viral diversity in saliva and supragingival plaques

PCoA: principal coordinates analysis; ANOSIM: analysis of similarities; HC: healthy controls; M: patients with MAFLD. A and B, α diversity of saliva (A) and supragingival plaques (B) assessed by the Chao and Shannon indices at the species level. C and D, β diversity of saliva (C) and supragingival plaques (D) assessed by PCoA with the ANOSIM test based on Bray-Curtis distance at the species level.

Chao指数值亦无明显差异($P=0.1876$),但MAFLD患者龈上菌斑病毒组的Shannon指数值低于健康人群,差异有统计学意义($P=0.0303$)(图1B)。上述结果提示MAFLD患者口腔病毒组,特别是龈上菌斑病毒组的 α 多样性较健康人群存在一定差异。

在种水平基于Bray_Curtis距离使用PCoA联合ANOSIM评价口腔病毒组 β 多样性。结果显示,MAFLD患者与健康人群唾液病毒组的 β 多样性距离无明显差异($P=0.958$,图1C);而龈上菌斑病毒组的PCoA结果显示样本坐标在两组间存在明显分离,ANOSIM结果表明两组 β 多样性差异有统计学意义($P=0.001$)(图1D)。结果提示MAFLD患者口腔病毒组的 β 多样性较健康人群具有一定差异。

2.3 口腔病毒组物种组成和差异

Venn图显示在相对丰度水平排名前50以及相对丰度大于0.1%的病毒物种中,分别有22个和111个病毒物种在唾液和龈上菌斑中共有(附图1A、1B),结果表明即使均在口腔位点内,唾液和龈上菌斑病毒组的物种组成亦存在一定的区别。评估疾病和健康人群病毒组组成的差异,对于相对丰度水平排名前50的病毒物种,*Streptomyces phage RosaAsantewaa*和*Propionibacterium phage PFR2*分别在健康人群的唾液和龈上菌斑中富集(附图1C、1D);对于相对丰度大于0.1%的病毒物种,有5种和9种病毒物种分别在健康人群和MAFLD患者唾液中富集(附图1E),有5种病毒物种在健康人群的龈上菌斑中富集(附图1F)。上述结果表明MAFLD患者唾液和龈上菌斑病毒组物种组成和物种丰度水平发生改变,与健康人群存在差异。附图1见网络资源附件。

2.4 口腔病毒组的生物标志物

LEfSe结果表明,分别有32个和30个病毒物种是人群唾液和龈上菌斑中的关键差异物种(图2A、2B)。基于随机森林分析结果的MDA(mean decrease accuracy)选取排名前10的物种作为潜在生物标志物,在唾液潜在标志物中,*Streptomyces phage RosaAsantewaa*在健康人群组富集,而*Streptococcus phage YMC 2011*、*Streptococcus phage CHPC1230*和*Streptococcus phage Javan326*在MAFLD患者组富集(图2C);在龈上菌斑潜在标志物中,*Pseudomonas virus Noxifer*在MAFLD患者龈上菌斑中显著富集(图2D)。分别对唾液和龈上菌斑的10种潜在生物标志物作联合ROC分析,结果显示两位点潜在生物标志物联合ROC的AUC分别为0.9548(95%置信区间:0.8898~1.0000)和0.8952(95%置信区间:0.7774~1.0000)(图2E、2F),结果表明口腔病毒组具有良好的诊断效能。

2.5 口腔病毒组高丰度物种与临床指标的相关性

使用Spearman相关性分析评估相对丰度水平前50的病毒物种与临床指标间的关系。对于唾液,除血浆TG和ALT外,其余临床指标与高丰度病毒物种间均存在一定的相关性;其中*Streptomyces phage RosaAsantewaa*在健康人群唾液中富集,其丰度水平与血浆LDL-C水平呈负相关($r=-0.32301$, $P=0.03941$;图3A);对于龈上菌斑,除FBG外,其余临床指标与高丰度病毒物种间存在一定的相关性(图3B)。尽管唾液和龈上菌斑共有高丰度物种与临床指标的相关性并不完全一致,但上述结果表明口腔内高丰度病毒物种与MAFLD临床指标存在关联。

2.6 口腔病毒组高丰度物种的共现性网络

微生态内物种通常存在复杂的协作或拮抗关系,共同调控宿主健康。使用共现性网络分析探究唾液和龈上菌斑相对丰度水平前50的病毒物种间的互作特征。MAFLD患者唾液病毒组互作网络的节点数量、显著性关系数和平均节点度数均高于健康人群(附图2A、2B);这一趋势同样出现在MAFLD患者龈上菌斑病毒组中(附图2C、2D)。上述结果提示与健康人群相比,MAFLD患者口腔病毒组具有更紧密复杂的互作网络。附图2见网络资源附件。

3 讨论

MAFLD指伴随代谢功能紊乱的慢性肝病,亟待开发新的防治手段^[21-22]。人体消化道微生态紊乱在MAFLD的发生发展中具有重要作用,口腔作为人体第二大微生态系统,口腔微生态失衡对MAFLD的影响日益受到关注^[6,23]。病毒是微生态系统中重要的组成部分,其对维持微生态平衡、调节人体全身健康具有关键作用^[12],但口腔病毒组与MAFLD的相关性尚未得到充分研究。本研究通过临床队列口腔双位点的宏基因组分析,探究了MAFLD患者和健康人群唾液和龈上菌斑病毒组的特征和差异,揭示了口腔病毒组生态失衡与MAFLD之间存在关联。

生物多样性是评估生态系统健康与稳定性的关键指标。本研究发现,尽管MAFLD患者和健康人群唾液病毒组物种多样性的差异无统计学意义,但MAFLD患者龈上菌斑病毒组的Shannon指数明显下降,且 β 多样性在两组人群间的差异亦有统计学意义,提示MAFLD患者口腔病毒组物种多样性和稳定性的丧失。这一发现与先前研究结果一致:肥胖合并T2MD患者口腔病毒组的 α 多样性较单纯肥胖症患者显著降低^[24],表明代谢紊乱的

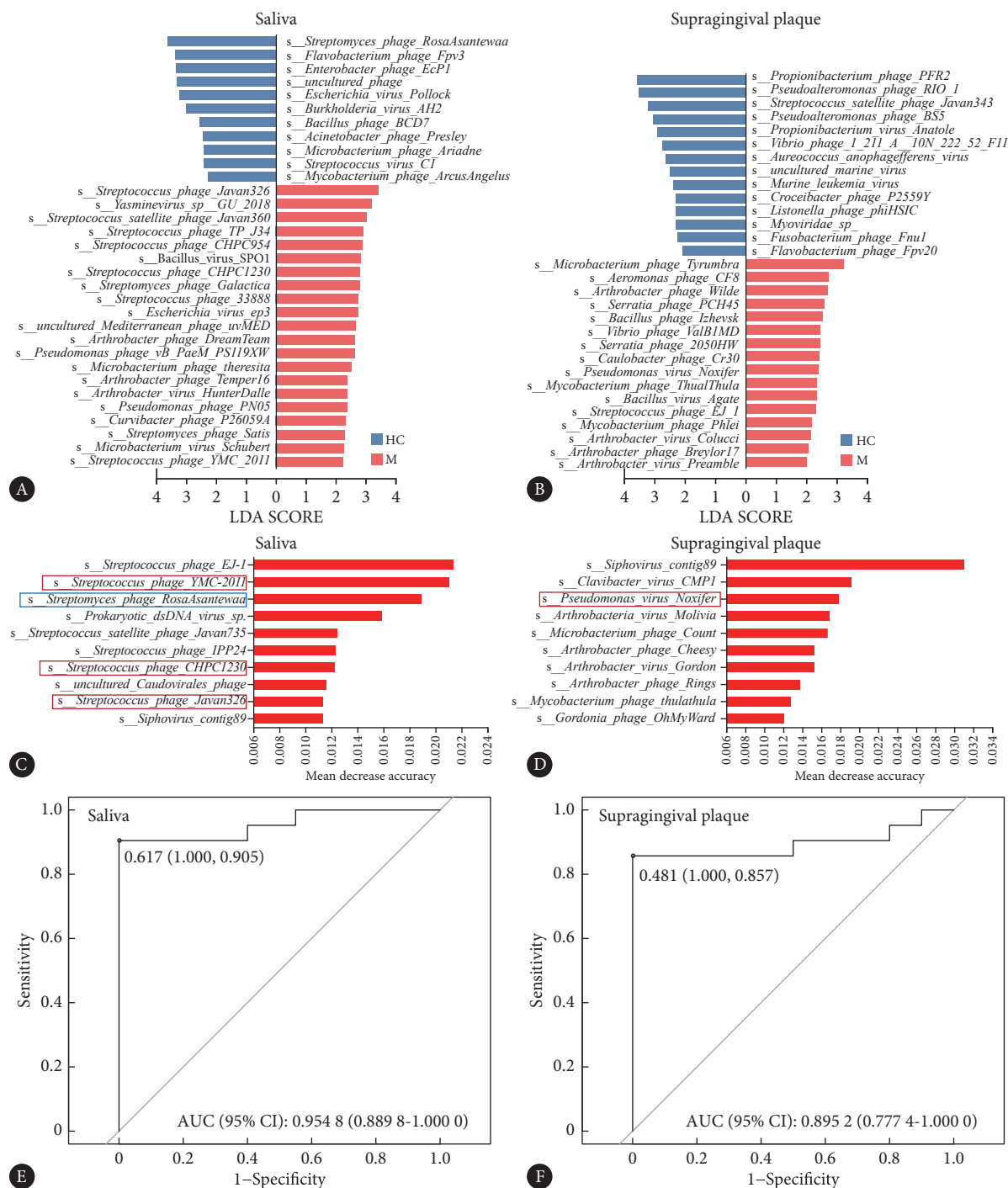


图 2 唾液和龈上菌斑病毒生物标志物

Fig 2 Viral biomarkers in saliva and supragingival plaques

HC: healthy controls; M: patients with MAFLD; AUC: area under the curve. A and B, Discriminative viral species identified by linear discriminant analysis effect size (LEfSe) in saliva (A) and supragingival plaque (B). C and D, The top 10 species contributing most to the variations in the saliva (C) and supragingival plaque (D) virome, as assessed by mean decrease accuracy. Blue and red frames indicate significant enrichment of species in the healthy and MAFLD groups, respectively. E and F, Multivariate receiver operating characteristic (ROC) analysis of a combination of 10 candidate biomarkers in saliva (E) and supragingival plaque (F).

加重伴随着口腔病毒组多样性的失调。此外,已有研究发现MAFLD患者口腔细菌群落的多样性亦存在显著下降^[25],这可能是导致病毒组多样性改变的关键诱因。而口腔病毒组,特别是噬菌体多样性的丧失,可能削弱其对

细菌群落的调控能力,导致特定细菌包括致病菌的过度增殖,加剧微生态失衡^[13]。上述研究结果提示,作为口腔生态系统中密切相关的组成部分,病毒和细菌的互作失调可能与MAFLD存在关联。值得注意的是,唾液和龈上

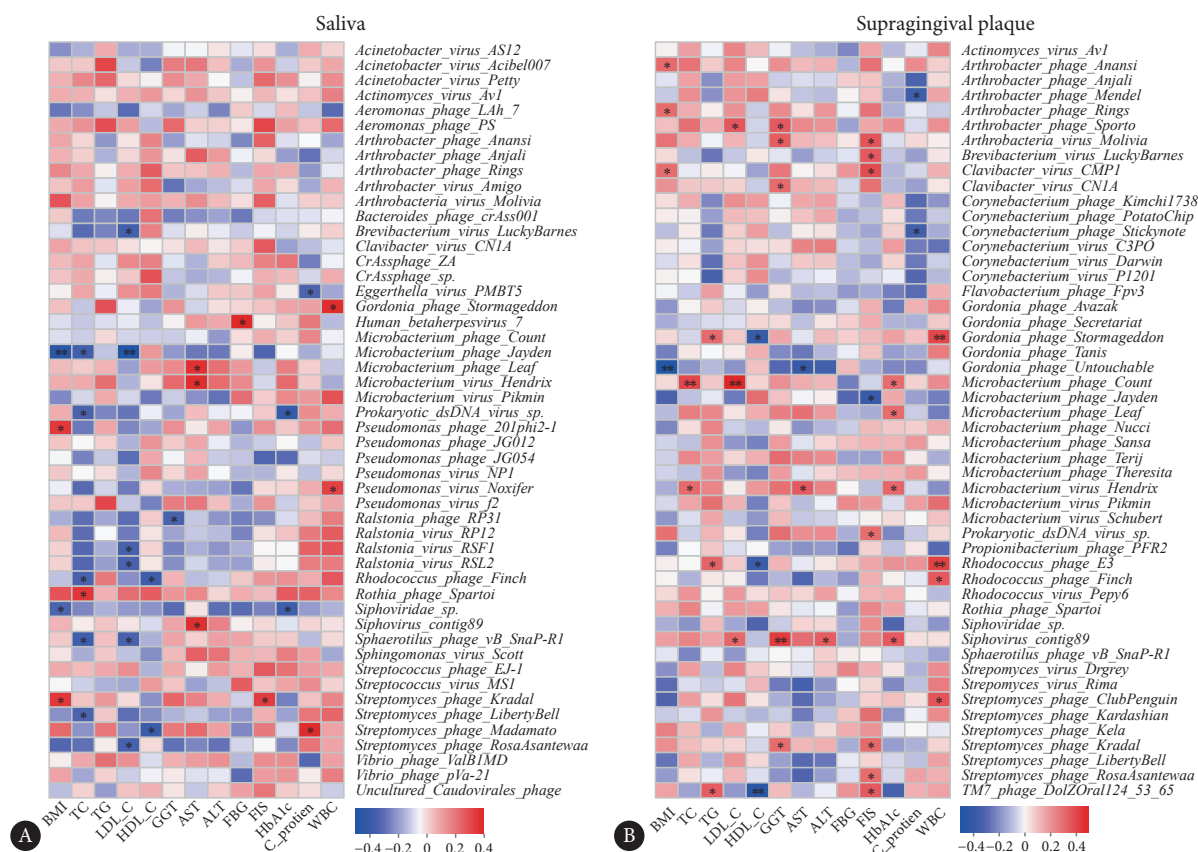


图 3 唾液和龈上菌斑病毒组物种与临床指标的相关性

Fig 3 Correlation between virome species in saliva and supragingival plaque and clinical indicators

BMI, TC, TG, LDL-C, HDL-C, GGT, AST, ALT, FBG, FIS, HbA1c, hs-CRP, and WBC are defined as in table 1. A and B, Heatmaps of Spearman's correlation coefficients between the top 50 viral species and clinical parameters in saliva (A) and supragingival plaque (B). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

菌斑病毒组物种多样性在两组人群间的比较结果并不一致,且两位点病毒组的物种组成和丰度水平也存在一定差异。尽管唾液和龈上菌斑均属于口腔微生境,但各微生境的独立性和复杂性在先前细菌组的研究中已有报道^[26-27],不同环境条件造就了微生境间的区别:唾液的流动性使其物种来源多样,可视作口腔微生态的综合体现;龈上菌斑中生物膜可长期存留,其微生态更为稳定且复杂;此外,氧分压水平和营养梯度也导致了唾液和龈上菌斑微生态组成和结构的差异^[28-29]。

进一步探寻MAFLD相关关键口腔病毒物种,结果显示多种链球菌噬菌体在MAFLD患者唾液中的富集,并与疾病指标存在显著相关关系,其中3种链球菌噬菌体可作为诊断MAFLD的潜在生物标志物。前期研究发现相较于健康人群或病情轻微的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)患者,严重或合并肝硬化的NAFLD患者肠道链球菌噬菌体丰度水平亦出现显著升高^[30],这提示了慢性肝病患者口-肠位点病毒组组成的改变具有潜在的一致性。此外,链球菌噬菌体在克罗恩病和溃疡性结肠炎患者肠道中存在类似的富集现象^[31-32],提示了口腔来源的链球菌噬菌体

可能经“口-肠轴”途径进入肠道并异位定植。尽管噬菌体可调控致病菌的定植和生长,但其对肠道革兰氏阴性菌的裂解作用可促进脂多糖(LPS)的释放,加剧机体的炎症反应^[33-34];而链球菌噬菌体的感染对象——链球菌,作为常见的益生菌,可通过诱导调节性T细胞(Tregs)缓解炎症反应、增加叶酸合成等方式改善代谢紊乱^[35-37]。因此,MAFLD患者口肠位点链球菌噬菌体的富集现象提示了口腔病毒可能通过异位定植干扰消化道有益细菌,影响宿主代谢。

微生物群落通过复杂的协作或拮抗关系动态调控宿主健康,共现性网络分析可从全局角度解析物种间的互动模式^[38]。尽管不同研究的结果存在差异,但现有研究表明代谢功能紊乱患者消化道微生物的互作网络出现改变。CHENG等^[38]发现脂肪肝的缓解伴随肠道微生物互作网络的密度和稳定性的增强,而WU等^[39]观察到脂肪肝患者肠道菌群物种互作联系较健康人群显著增加。本研究结果显示MAFLD患者唾液和龈上菌斑高丰度病毒的互作网络与健康人群存在差异,表现为更多的物种间显著相关关系和更高的平均节点度数。物种间互动模式的

改变进一步提示了MAFLD患者口腔病毒组在微生物系统内处于失衡状态。

本研究尚存在以下局限性: 首先, 本研究临床队列样本量相对较小, 而更大的样本量对于统计效能的提高和结果的可推广性至关重要, 因此后续还需构建多中心、大样本的队列来验证本研究的结论。其次, 病毒与细菌联系密切, MAFLD患者口腔病毒组与细菌群落的跨物种交互作用有待进一步探索。需要强调的是, 虽然本研究揭示了MAFLD患者与健康人群间口腔病毒组的差异, 但上述结果仅表明口腔病毒组与MAFLD之间存在相关性, 而非因果关系, 后续的研究需要进一步构建动物模型或开展体外实验, 以验证相关病毒对MAFLD的作用和机制。尽管存在上述局限性, 但本研究首次揭示了MAFLD患者口腔病毒组微生态的改变, 并筛选出与MAFLD相关的潜在口腔病毒标志物, 研究结果将为MAFLD经口腔位点的无创筛查和生态防治提供新的思路。

* * *

作者贡献声明 屠叶负责论文构思、正式分析、研究方法和初稿写作, 牛晨光负责调查研究、可视化和审读与编辑写作, 黄正蔚负责经费获取、研究项目管理、提供资源和监督指导。所有作者已经同意将文章提交给本刊, 且对将要发表版本进行最终定稿, 并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution TU Ye is responsible for conceptualization, formal analysis, methodology, and writing--original draft. NIU Chenguang is responsible for investigation, visualization, and writing--review and editing. HUANG Zhengwei is responsible for funding acquisition, project administration, resources, and supervision. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] ESLAM M, EL-SERAG H B, FRANCOUE S, *et al.* Metabolic (dysfunction)-associated fatty liver disease in individuals of normal weight. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(10): 638-651. doi: 10.1038/s41575-022-00635-5.
- [2] HAGSTRÖM H, SHANG Y, HEGMAR H, *et al.* Natural history and progression of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2024, 9(10): 944-956. doi: 10.1016/s2468-1253(24)00193-6.
- [3] PORTINCASA P, KHALIL M, MAHDI L, *et al.* Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease: From Pathogenesis to Current Therapeutic Options. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(11): 5640. doi: 10.3390/ijms25115640.
- [4] FILIPOVIC B, MARJANOVIC-HALJILJI M, MIJAC D, *et al.* Molecular Aspects of MAFLD-New Insights on Pathogenesis and Treatment. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(11): 9132-9148. doi: 10.3390/cimb45110573.
- [5] CLARE K, DILLON J F, BRENNAN P N. Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathogenesis of MAFLD. *J Clin Transl Hepatol*, 2022, 10(5): 939-946. doi: 10.14218/jct.2022.00067.
- [6] KURAJI R, SEKINO S, KAPILA Y, *et al.* Periodontal disease-related nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: An emerging concept of oral-liver axis. *Periodontol 2000*, 2021, 87(1): 204-240. doi: 10.1111/prd.12387.
- [7] KUROI K, FURUTA M, TAKEUCHI K, *et al.* Association between periodontitis and fibrotic progression of non-alcoholic fatty liver among Japanese adults. *J Clin Periodontol*, 2021, 48(3): 368-377. doi: 10.1111/jcpe.13415.
- [8] ZEYBEL M, ARIF M, LI X, *et al.* Multiomics Analysis Reveals the Impact of Microbiota on Host Metabolism in Hepatic Steatosis. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(11): e2104373. doi: 10.1002/adv.202104373.
- [9] WANG M, LI L, QIAN J, *et al.* Periodontitis salivary microbiota exacerbates nonalcoholic fatty liver disease in high-fat diet-induced obese mice. *iScience*, 2023, 26(4): 106346. doi: 10.1016/j.isci.2023.106346.
- [10] 周陆军, 陈柏延, 李雨霖, 等. 口腔微生物与全身系统性疾病的关系. *四川大学学报(医学版)*, 2023, 54(1): 1-6. doi: 10.12182/20230160504.
- [11] ZHOU L J, CHEN B Y, LI Y L, *et al.* Oral Microbiome and Systemic Diseases. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2023, 54(1): 1-6. doi: 10.12182/20230160504.
- [12] 章可, 孙妍, 潘乙怀. 牙龈卟啉单胞菌与非口腔疾病关系的研究进展. *四川大学学报(医学版)*, 2023, 54(1): 20-26. doi: 10.12182/20230160509.
- [13] ZHANG K K, SUN Y, PAN Y H. Developments in Research on the Relationship Between *Porphyromonas gingivalis* and Non-Oral Diseases. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2023, 54(1): 20-26. doi: 10.12182/20230160509.
- [14] LIANG G, BUSHMAN F D. The human virome: assembly, composition and host interactions. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(8): 514-527. doi: 10.1038/s41579-021-00536-5.
- [15] MARTÍNEZ A, KURAJI R, KAPILA Y L. The human oral virome: Shedding light on the dark matter. *Periodontol 2000*, 2021, 87(1): 282-298. doi: 10.1111/prd.12396.
- [16] YANG F, XIONG L, LI M, *et al.* A signature-protein-based approach for accurate and efficient profiling of the human gut virome. *Cell Rep Methods*, 2025: 101250. doi: 10.1016/j.crmeth.2025.101250.
- [17] ZHAO G, VATANEN T, DROIT L, *et al.* Intestinal virome changes precede autoimmunity in type 1 diabetes-susceptible children. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(30): E6166-e6175. doi: 10.1073/pnas.1706359114.
- [18] MA Y, YOU X, MAI G, *et al.* A human gut phage catalog correlates the gut phageome with type 2 diabetes. *Microbiome*, 2018, 6(1): 24. doi: 10.1186/s40168-018-0410-y.
- [19] YANG K, NIU J, ZUO T, *et al.* Alterations in the Gut Virome in Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus. *Gastroenterology*, 2021, 161(4): 1257-1269. doi: 10.1053/j.gastro.2021.06.056.
- [20] YE H L, ZHI M F, CHEN B Y, *et al.* Alterations of oral and gut viromes in hypertension and/or periodontitis. *mSystems*, 2024, 9(1): e0116923. doi: 10.1128/msystems.01169-23.
- [21] CHEN B Y, LIN W Z, LI Y L, *et al.* Characteristics and Correlations of the Oral and Gut Fungal Microbiome with Hypertension. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(1): e0195622. doi: 10.1128/spectrum.01956-22.
- [22] NIU C, TU Y, JIN Q, *et al.* Mapping the human oral and gut fungal microbiota in patients with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1157368. doi: 10.3389/fcimb.2023.1157368.
- [23] VALENZUELA R, FARÍAS C, MUÑOZ Y, *et al.* Interrelationship between alcohol consumption, overnutrition, and pharmacotherapy for liver steatosis: Considerations and proposals. *Mol Cell Endocrinol*, 2026, 611: 112676. doi: 10.1016/j.mce.2025.112676.
- [24] HABIBULLAH M, JEMMIEH K, OUDA A, *et al.* Metabolic-associated fatty liver disease: a selective review of pathogenesis, diagnostic approaches, and therapeutic strategies. *Front Med (Lausanne)*, 2024, 11: 1291501. doi: 10.3389/fmed.2024.1291501.

- [23] IMAI J, KITAMOTO S, KAMADA N. The pathogenic oral-gut-liver axis: new understandings and clinical implications. *Expert Rev Clin Immunol*, 2021, 17(7): 727-736. doi: [10.1080/1744666x.2021.1935877](https://doi.org/10.1080/1744666x.2021.1935877).
- [24] XU T, JIAO X, LIU G, *et al*. Oral virome metagenomic catalog links *Porphyromonas gingivalis* phages to obesity and type 2 diabetes. *Cell Rep Med*, 2025, 6(9): 102325. doi: [10.1016/j.xcrm.2025.102325](https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2025.102325).
- [25] WANG M, YAN L Y, QIAO C Y, *et al*. Ecological shifts of salivary microbiota associated with metabolic-associated fatty liver disease. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1131255. doi: [10.3389/fcimb.2023.1131255](https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1131255).
- [26] 黄瑾, 赵芮, 马青, 等. 种植修复患者唾液与龈下菌斑微生物群落结构关联及其影响因素研究. *中国实用口腔科杂志*, 2023, 16(1): 54-61. doi: [10.19538/j.kq.2023.01.010](https://doi.org/10.19538/j.kq.2023.01.010).
HUANG J, ZHAO R, MA Q, *et al*. Correlation between saliva and subgingival plaque microbial community structure and its influencing factors in patients with implant restoration. *Chinese Journal of Practical Stomatology*, 2023, 16(1): 54-61. doi: [10.19538/j.kq.2023.01.010](https://doi.org/10.19538/j.kq.2023.01.010).
- [27] GEM H, EBADI M, SEBASTIAN G, *et al*. A sex-dependent salivary bacterium influences oral mucositis severity after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2024, 10(1): 140. doi: [10.1038/s41522-024-00611-8](https://doi.org/10.1038/s41522-024-00611-8).
- [28] MARK WELCH J L, RAMÍREZ-PUEBLA S T, BORISY G G. Oral Microbiome Geography: Micron-Scale Habitat and Niche. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(2): 160-168. doi: [10.1016/j.chom.2020.07.009](https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.07.009).
- [29] SAKANAKA A, FURUNO M, ISHIKAWA A, *et al*. Diabetes alters the supragingival microbiome through plasma-to-saliva migration of glucose and fructose. *Microbiome*, 2025. doi: [10.1186/s40168-025-02256-x](https://doi.org/10.1186/s40168-025-02256-x).
- [30] LANG S, DEMIR M, MARTIN A, *et al*. Intestinal Virome Signature Associated With Severity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, 2020, 159(5): 1839-1852. doi: [10.1053/j.gastro.2020.07.005](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.07.005).
- [31] KONG C, LIU G, KALADY M F, *et al*. Dysbiosis of the stool DNA and RNA virome in Crohn's disease. *J Med Virol*, 2023, 95(2): e28573. doi: [10.1002/jmv.28573](https://doi.org/10.1002/jmv.28573).
- [32] ZUO T, LU X J, ZHANG Y, *et al*. Gut mucosal virome alterations in ulcerative colitis. *Gut*, 2019, 68(7): 1169-1179. doi: [10.1136/gutjnl-2018-318131](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-318131).
- [33] TETZ G, TETZ V. Bacteriophages as New Human Viral Pathogens. *Microorganisms*, 2018, 6(2): 54. doi: [10.3390/microorganisms6020054](https://doi.org/10.3390/microorganisms6020054).
- [34] CHEN Q, MA X, LI C, *et al*. Enteric Phageome Alterations in Patients With Type 2 Diabetes. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 575084. doi: [10.3389/fcimb.2020.575084](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.575084).
- [35] YANG Y, YANG L, WU J, *et al*. Optimal probiotic combinations for treating nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and network meta-analysis. *Clin Nutr*, 2024, 43(6): 1224-1239. doi: [10.1016/j.clnu.2024.04.004](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2024.04.004).
- [36] MEGALA G, KAVITHA M. Folate from probiotic bacteria and its therapeutic applications. *Arch Microbiol*, 2025, 207(6): 124. doi: [10.1007/s00203-025-04327-x](https://doi.org/10.1007/s00203-025-04327-x).
- [37] LU C H, MA J, LIN M C, *et al*. Streptococcal pyrogenic exotoxin a induces regulatory T cells via TNF- α -TNFR2 signaling. *Med Microbiol Immunol*, 2025, 214(1): 25. doi: [10.1007/s00430-025-00835-1](https://doi.org/10.1007/s00430-025-00835-1).
- [38] CHENG R, WANG L, LE S, *et al*. A randomized controlled trial for response of microbiome network to exercise and diet intervention in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2555. doi: [10.1038/s41467-022-29968-0](https://doi.org/10.1038/s41467-022-29968-0).
- [39] WU D, LIU L, JIAO N, *et al*. Targeting keystone species helps restore the dysbiosis of butyrate-producing bacteria in nonalcoholic fatty liver disease. *Imeta*, 2022, 1(4): e61. doi: [10.1002/imt2.61](https://doi.org/10.1002/imt2.61).

(2025-10-27 收稿, 2026-01-06 修回)

编辑 余琳



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0 国际许可协议 (CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2026 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences)