

• 论 著 •

7 项指标在牙周炎患者血清及龈沟液中的表达^{*}陈忠寿¹, 黄风云¹, 韩永刚²

(广东省深圳市龙岗区第四人民医院:1. 检验科;2. 口腔科 518123)

摘要:目的 检测牙周炎患者血清及龈沟液中基质金属蛋白酶(MMP)、高迁移率族蛋白(HMGB)、趋化因子 CX3CL1、趋化因子 CCL11 及白细胞介素(IL)-1 β 的变化,为牙周炎的靶向治疗提供依据。方法 随机选择 2016 年 1—5 月在该院诊治的牙周炎患者 20 例作为患者组,选取同期健康体检者 20 例作为对照组。检测血清及龈沟液中 MMP-4、MMP-5、HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1 β 的水平。结果 患者组血清 MMP-4、MMP-5、HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1 β 平均水平分别为(563.64 $\pm$ 62.27)pg/mL、(615.36 $\pm$ 70.44)pg/mL、(564.65 $\pm$ 57.38)pg/mL、(481.33 $\pm$ 51.42)pg/mL、(53.47 $\pm$ 6.14)pg/mL、(41.20 $\pm$ 4.16)pg/mL 和(47.84 $\pm$ 10.18)pg/mL,均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);患者组龈沟液 MMP-4、MMP-5、HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1 β 平均水平分别为(830.58 $\pm$ 86.31)pg/mL、(793.47 $\pm$ 81.65)pg/mL、(766.52 $\pm$ 68.44)pg/mL、(801.69 $\pm$ 75.36)pg/mL、(50.89 $\pm$ 6.02)pg/mL、(44.52 $\pm$ 5.21)pg/mL、和(53.61 $\pm$ 10.29)pg/mL,均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 牙周炎患者血清及龈沟液中 MMP-4、MMP-5、HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1 β 均显著上升,趋势呈一致性,与牙周炎的发生发展有关。

关键词:牙周炎; 基质金属蛋白酶; 高迁移率族蛋白; 趋化因子 CX3CL1; 趋化因子 11; 白细胞介素-1 β

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.08.013 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)08-1080-03

Expression of seven markers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis^{*}CHEN Zhongshou¹, HUANG Fengyun¹, HAN Yonggang²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Stomatology, Fourth People's Hospital of Longgang District, Shenzhen, Guangdong 518123, China)

Abstract: **Objective** To detect serum and gingival sulcus fluid matrix metalloproteinases(MMP), high mobility group box protein(HMGB), chemokine CX3CL1, human chemokine 11(CCL11) and interleukin-1 β (IL-1 β) changes to provide the basis for the targeted treatment of periodontitis. **Methods** Twenty patient with periodontitis in our hospital from January to May in 2016 were randomly selected as the patients group and contemporaneous 20 individuals undergoing the physical examination were selected as the control group. Serum and gingival sulcus fluid MMP-4, MMP-5, HMGB2, HMGB1, CX3CL1, CCL11 and IL-1 β levels were detected. **Results** The serum MMP-4, MMP-5, HMGB2, HMGB1, CX3CL1, CCL11 and IL-1 β levels in the patients group were (563.64 $\pm$ 62.27)pg/mL, (615.36 $\pm$ 70.44)pg/mL, (564.65 $\pm$ 57.38)pg/mL, (481.33 $\pm$ 51.42)pg/mL, (53.47 $\pm$ 6.14)pg/mL, (41.20 $\pm$ 4.16)pg/mL and (47.84 $\pm$ 10.18)pg/mL respectively, which were higher than those in the control group, the differences were statistically significant($P<0.05$). The gingival sulcus fluid MMP-4, MMP-5, HMGB2, HMGB1, CX3CL1, CCL11 and IL-1 β levels in the patients group were (830.58 $\pm$ 86.31)pg/mL, (793.47 $\pm$ 81.65)pg/mL, (766.52 $\pm$ 68.44)pg/mL, (801.69 $\pm$ 75.36)pg/mL, (50.89 $\pm$ 6.02)pg/mL, (44.52 $\pm$ 5.21)pg/mL and (53.61 $\pm$ 10.29)pg/mL, which were higher than those in the control group, the differences were statistically significant($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum and gingival sulcus fluid MMP-4, MMP-5, HMGB2, HMGB1, CX3CL1, CCL11 and IL-1 β in the patients with periodontitis are significantly increased, the trend shows the consistency, which is related with the development of periodontitis.

Key words: periodontitis; MMP; HMGB; CX3CL1; CCL11; IL-1 β

牙周炎主要是由局部因素引起的牙周支持组织的慢性炎性反应,常累及牙龈、牙周膜、牙槽骨和牙骨质,其主要特征为牙周袋的形成及袋壁的炎性反应。为了解相关因子在牙周炎发生发展中的作用,本研究检测牙周炎患者血清及龈沟液中基质金属蛋白酶(MMP)、高迁移率族蛋白(HMGB)、趋化因子 CX3CL1、趋化因子 CCL11 及白细胞介素(IL)-1 β 的变化,探讨各细胞因子与牙周炎的关系,为牙周炎的靶向治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选择 2016 年 1—5 月在本医院诊治的牙周炎患者 20 例作为患者组,均符合牙周炎诊断标准;其中男 11 例,女 9 例;年龄 31~74 岁,平均(49.83 $\pm$ 11.51)岁。选取同期健康体检者 20 例作为对照组,均确认无牙周炎及病史;男、女各 10 例;年龄 30~75 岁,平均(49.76 $\pm$ 11.38)岁。2 组患者性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。排除患者:

^{*} 基金项目:广东省深圳市龙岗区科技发展资金项目(YS2013189)。

作者简介:陈忠寿,男,主管技师,主要从事医学检验方面的研究。

急、慢性感染性疾病、肿瘤患者及合并慢性疾病患者、无显著错
习合畸形及妊娠妇女。

1.2 方法 抽取龈沟液 2 mL,经 1 000 r/min 离心后,取上清
液保持在-20 ℃,所有患者均进行牙部抽取。采用免疫酶连
吸附试验(ELISA)检测患者血清及龈沟液中 MMP-4、MMP-5
(试剂盒购于上海森雄科技实业有限公司)、HMGB1、HMGB2
(购于北京泰泽瑞达科技有限公司)、CX3CL1(购于上海远慕
生物科技有限公司)、CCL11(购于丹麦 Dako 公司)和 IL-1β(购
于博士德公司)的表达。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件,计量资料均采用
 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 表示差异有统
计学意义。

2 结 果

表 1 2 组患者各项指标血清检测结果($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

分组	<i>n</i>	MMP-4	MMP-5	HMGB1	HMGB2	CX3CL1	CCL11	IL-1β
对照组	20	97.80±46.35	92.96±51.27	89.72±41.23	81.65±40.67	21.06±5.22	17.95±3.81	19.27±9.32
患者组	20	563.64±62.27*	615.36±70.44*	564.65±57.38*	481.33±51.42*	53.47±6.14*	41.20±4.16*	47.84±10.18*

注:与对照组比较,**P*<0.05。

表 2 2 组患者各项指标龈沟液检测结果($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

分组	<i>n</i>	MMP-4	MMP-5	HMGB1	HMGB2	CX3CL1	CCL11	IL-1β
对照组	20	114.62±73.29	120.31±76.73	108.29±57.30	117.58±81.72	22.14±5.64	21.33±4.08	20.38±9.11
患者组	20	830.58±86.31*	793.47±81.65*	766.52±68.44*	801.69±75.36*	50.89±6.02*	44.52±5.21*	53.61±10.29*

注:与对照组比较,**P*<0.05。

3 讨 论

牙周病是一种慢性感染性口腔疾病,主要临床特征是牙齿
支持组织的非特异性感染、破坏。在其发病过程中,炎性反应
介质、细胞因子的产生和介导,促进牙周软组织和牙槽骨的破
坏,相关细胞因子水平在血液中呈上升趋势^[1]。龈沟液是由结
缔组织内液体不断通过龈沟内壁上皮和结合上皮进入龈沟内
所形成,有研究认为,牙周炎发病与龈沟液中炎性因子的形成
与聚集密切相关。对血液和龈沟液中细胞因子的检测有助于
牙周炎诊断确定或预测牙周炎性反应活动性破坏情况。

本研究结果显示,患者组血清和龈沟液 MMP-4、MMP-5、
HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1β 显著上升。有研
究认为,牙周炎发生发展中,细胞外基质的降解是由 MMP 和
组织金属蛋白酶抑制剂之间的平衡遭到破坏而引起^[2]。MMP
家族是一类能有效地降解细胞外基质、依赖金属锌离子的蛋白
水解酶家族,在炎性反应的发生发展、血管形成、纤维化及肿瘤
的生长浸润过程中均起着重要作用。MMP-4 为端肽酶,相对
分子质量为 35×10³,可在 I 型胶原 α1 链羧基末端端肽区三股
螺旋 17 位赖氨酸残基间切割,使胶原不稳定,加快胶原的降
解。MMP-5 又称 3/4 胶原肽链内切酶,具有较强胶原酶、明胶
酶活性,可对 MMP-1 降解 I 型胶原所产生的天然 3/4 胶原片
段进行降解,还能降解牙周组织中结缔组织,并对牙槽骨产生
破坏进而影响牙齿支持组织^[3]。

HMGB1 是一种核内非组蛋白染色体结合蛋白,血清及龈
沟液中 HMGB1 的上升主要发生在炎性反应出现后 20~72 h

2.1 2 组患者各项指标血清检测结果 患者组血清 MMP-4、
MMP-5、HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1β 分别为
(563.64±62.27)pg/mL、(615.36±70.44)pg/mL、(564.65±
57.38)pg/mL、(481.33±51.42)pg/mL、(53.47±6.14)pg/
mL、(41.20±4.16)pg/mL 和 (47.84±10.18)pg/mL,均高于
对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 1。

2.2 2 组患者各项指标龈沟液检测结果 患者组龈沟液
MMP-4、MMP-5、HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1β
分别为 (830.58±86.31)pg/mL、(793.47±81.65)pg/mL、
(766.52±68.44)pg/mL、(801.69±75.36)pg/mL、(50.89±
6.02)pg/mL、(44.52±5.21)pg/mL、和 (53.61±10.29)pg/
mL,均高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

后,为晚期炎性调节因子。在牙周组织感染或损伤时,细胞通
透性改变,受损的细胞迅速释放 HMGB1,与不同的受体结合,
导致炎性介质的产生,进一步加重牙周的炎性反应。HMGB2
是间充质干细胞分化成软骨细胞所必需的一个重要转录因子,
随着成骨和成软骨分化的进行,在软骨中的表达逐渐减少,能
够促使 MMP 降解软骨细胞外基质及基底膜成分,导致软骨基
质合成与分解代谢失衡^[4-5]。

CX3CL1 是 CX3C 类趋化因子中的唯一成员,是一种黏附
分子,可介导细胞间黏附,诱导白细胞黏附及游走移行,引发免
疫损伤。CCL11 属于 CC 趋化因子家族,能够通过 T 细胞、嗜
酸性粒细胞和单核细胞上表达的受体发挥作用,活化肥大细
胞,水平升高的 CCL11 招募 Th2 细胞、嗜中性细胞和嗜酸性
粒细胞到炎性部位,最终导致白细胞依赖性组织水肿。同时,
其可促进破骨细胞功能活跃,为激活潜在形式的 HMGB1 创造
局部酸性微环境条件^[6-7]。

IL-1β 作为早期炎性介质,参与牙周病的炎性破坏过程及
局部免疫反应,促进牙周成纤维细胞中的 MMP 的表达,使牙
周组织崩解。HMGB1 作为一种重要的晚期炎性介质和细胞
因子,可与 IL-1β 等促炎因子相互影响,引发免疫反应和炎性
反应,维持和延长机体内炎性反应。牙周病起初因细菌感染,
随着白细胞活性的提高及细胞因子的释放,激发炎性级联反
应,MMP 的增加导致牙周支持组织的破坏^[8-9]。

有研究认为,HMGB1 可与糖基化终末产物受体(RAGE)
结合,激活 ERK1/2 和 NF-κB 信号传导通路,(下转第 1084 页)

2012,26(4):265-270.

- [4] 施德仕,邵海枫. 细菌生物膜感染的研究进展[J]. 医学研究生学报,2011,24(12):1319-1323.
- [5] Simion M, Kim DM, Pieroni S, et al. Bacterial biofilm morphology on a failing implant with an oxidized surface: a scanning electron microscope study[J]. Int J Periodontics Restorative Dent, 2016,36(4):485-488.
- [6] Jang CH, Cho YB, Jang YS, et al. Antibacterial effect of electrospun polycaprolactone/Polyethylene oxide/vancomycin nanofiber mat for prevention of periprosthetic infection and biofilm formation[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2015,79(8):1299-1305.
- [7] Chopde N, Jawale B, Pharande A, et al. Microbial colonization and their relation with potential cofactors in patients with denture stomatitis[J]. J Contemp Dent Pract, 2012,13(4):456-459.
- [8] 刘晓斐,石云,邹全明,等. Th17 细胞及 IL-17 在病原微生物感染中的研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2009,25(9):854-857.
- [9] Lastic AL, Rodi M, Mouiaki A. Effect of dendritic cell state and antigen-presentation conditions on resulting T-cell phenotypes and Th cytokine profiles[J]. Immunobiology, 2016,221(8):862-870.

- [10] Imperatore N, Rispo A, Capone P, et al. Gluten-free diet not influence the occurrence and the Th1/Th17-Th2 nature of immune-mediated diseases in patients with coeliac disease[J]. Dig Liver Dis, 2016,48(7):740-744.
- [11] 王国钺,王小芳,汪磊,等. 细菌生物膜对 TH17 免疫细胞的刺激作用[J]. 中国免疫学杂志,2015,31(1):36-39.
- [12] 岳睿. Th17 细胞在免疫相关血液系统疾病发病机制中的作用[J]. 医学综述,2015,21(1):12-14.
- [13] Pene J, Chevalier S, Preisser L, et al. Chronically inflamed human tissues are infiltrated by highly differentiated TH17 lymphocytes[J]. J Immunol, 2008,180(11):7423-7430.
- [14] Kirkham BW, Wasko MC, Hsia EC, et al. Effects of golimumab an anti-tumour necrosis factor- α human monoclonal antibody, on lips and makers of inflammation[J]. Ann Rheum Dis, 2014,73(1):161-169.
- [15] 何改平,张彬,张宝文,等. 肺癌脑转移患者 TH17 细胞和 IL-17 水平变化的研究[J]. 中国肺癌杂志,2013,16(9):476-481.
- [16] 袁睿,韦嘉. IL-17/Th17 细胞在感染性疾病总的作用研究进展[J]. 医学综述,2013,19(13):2322-2324.

(收稿日期:2016-12-18 修回日期:2017-01-09)

(上接第 1081 页)

引起多种促炎细胞因子的释放,诱导单核细胞、巨噬细胞进一步释放 IL-1 β 等炎性因子,加重局部炎性反应及牙周组织破坏程度^[10-11]。受到损伤或刺激时,小胶质细胞 CX3CR1 的表达上调,CCL11 的黏附作用也刺激 IL-1 β 等促炎细胞因子的释放,引起炎性介质的释放,最终导致组织的破坏。活化的 RAGE 还可激活所附着的细胞产生关键的 MMP 等介质, HMGB2 进一步促进 MMP 降解软骨细胞外基质及基底膜成分,破坏牙周组织。

本研究未能从组织学上证明 HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 在牙周组织中的表达,需进一步研究,将有助于牙周分子靶向治疗的研究。

综上所述,牙周炎患者血清及龈沟液中 MMP-4、MMP-5、HMGB2、HMGB1、CX3CL1、CCL11 及 IL-1 β 均显著上升,趋势呈一致性,共同参与牙周炎的发病过程,并在其发生发展中发挥着重要作用。

参考文献

- [1] 单炜. 高迁移率族蛋白 B1 与牙周病及糖尿病伴牙周病关系研究进展[J]. 中国实用口腔杂志,2014,7(9):561-565.
- [2] Cificbasi E, Kantarci A, Badur S, et al. Impact of metronidazole and amoxicillin combination on matrix metalloproteinases-1 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases balance in generalized aggressive periodontitis[J]. Eur J Dent, 2015,9(1):53-59.
- [3] 孙建琴,陈红英,姚忠红. 电针配合威灵仙关节腔内注射

对大鼠膝关节关节炎 MMPs 及 HA 的影响[J]. 中国中医急症,2016,25(5):791-794.

- [4] 魏佳琦,柳宏志,王天祥. 咬合创伤对 OVX 小鼠牙周组织中 HMGB1 表达的影响[J]. 口腔医学研究,2016,32(6):575-579.
- [5] 侯聪聪,刘宏斌,肖湖南,等. 高迁移率族蛋白 B1 与自噬的关系[J]. 解放军医学院学报,2016,37(6):671-673.
- [6] 唐国栋,杨国夫. HMGB2 与骨性关节炎相关性的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志,2015,23(13):1199-1201.
- [7] 刘红梅,李梦迪,毛燕南,等. 趋化因子 CX3CL1/CX3CR1 生物轴促进铂类药物诱导卵巢癌细胞凋亡的研究[J]. 临床肿瘤学杂志,2016,21(5):390-396.
- [8] 崔古琴,李文静,刘焕. 自锁托槽矫治器对慢性广泛型牙周炎正畸治疗患者龈沟液中 IL-1 β 和 TNF- α 表达的影响[J]. 河北医药,2016,38(10):1445-1449.
- [9] 李雨衡,王文,罗层,等. 电针抑制脊髓内趋化因子 CX3CL1 表达减轻炎性痛的实验研究[J]. 神经解剖学杂志,2016,32(2):169-173.
- [10] 路涛,司梦雅,邹金波. 1 趋化因子 CCL11、D-二聚体水平在荨麻疹中的变化及其意义[J]. 中国热带医学,2016,16(6):594-596.
- [11] 林梅,张冬雪,刘志强,等. 慢性牙周炎患者血清 IL-33、TNF- α 、IL-6 的检测及意义[J]. 首都医科大学学报,2016,37(3):255-259.

(收稿日期:2016-12-19 修回日期:2017-01-10)