

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.17.013

血清 GDF5 mRNA 在慢性牙周炎患者中的水平 及其与病变程度的相关性*

刘 洁,王文洁,常 颖

航天中心医院口腔科,北京 100041

摘要:目的 分析血清生长分化因子 5(GDF5) mRNA 在慢性牙周炎患者中的水平及其与病变程度的相关性。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月该院口腔科收治的慢性牙周炎患者 150 例作为研究组,并根据牙周检查情况分为轻度组(53 例),中度组(51 例),重度组(46 例),另选取同期健康体检者 50 例作为对照组;采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测血清 GDF5 mRNA 水平;采用 Pearson 相关分析血清 GDF5 mRNA 水平与牙周袋探诊深度、附着丧失水平和菌斑指数的相关性;采用 Spearman 相关分析 GDF5 mRNA 水平与病变程度的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析慢性牙周炎的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 GDF5 mRNA 水平对重度慢性牙周炎的预测价值。**结果** 对照组与研究组 GDF5 mRNA 水平分别为 1.01 ± 0.30 、 0.70 ± 0.21 ,研究组明显低于对照组,差异有统计学意义($t=8.061, P<0.001$)。血清 GDF5 mRNA 水平、牙周袋探诊深度、附着丧失水平和菌斑指数在轻度组、中度组和重度组中依次升高,两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。GDF5 mRNA 与牙周袋探诊深度、附着丧失水平、菌斑指数、病变程度均呈负相关($r=-0.587$ 、 -0.521 、 -0.628 、 $-0.567, P<0.001$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,GDF5 mRNA 水平降低是慢性牙周炎发生的危险因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,血清 GDF5 mRNA 预测重度慢性牙周炎的曲线下面积为 0.893,灵敏度为 79.23%,特异度为 88.31%。**结论** 慢性牙周炎患者血清 GDF5 mRNA 水平随着病变程度的加重而降低,GDF5 mRNA 还可以作为预测重度慢性牙周炎的指标。

关键词:生长分化因子 5; 慢性牙周炎; 病变程度; 牙周袋探诊深度; 附着丧失

中图分类号:R446.9;R781.4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)17-2529-04

Expression of serum GDF5 mRNA in patients with chronic periodontitis and its correlation with the degree of disease*

LIU Jie, WANG Wenjie, CHANG Ying

Department of Stomatology, Aerospace Center Hospital, Beijing 100041, China

Abstract: **Objective** To analyze the expression of serum growth differentiation factor 5 (GDF5) mRNA in patients with chronic periodontitis and its correlation with the severity of the disease. **Methods** A total of 150 patients with chronic periodontitis who were admitted to the Department of Stomatology of Aerospace Center Hospital from January 2019 to January 2021 were selected as the study group, and were divided into mild group (53 cases), moderate group (51 cases), severe group (46 cases), and 50 healthy cases accepting physical examination during the same period were selected as the control group. The expression level of serum GDF5 mRNA was detected by real-time fluorescence quantification (qRT-PCR). Pearson method was used to analyze the correlation between the expression level of serum GDF5 mRNA and the probing depth of periodontal pocket, attachment loss level and plaque index. Spearman method was used to analyze the correlation between the expression level of GDF5 mRNA and the degree of pathological changes. Multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of chronic periodontitis. The predictive value of serum GDF5 mRNA level for severe chronic periodontitis was analyzed by Receiver Operating Characteristic (ROC) curve. **Results** The expression level of serum GDF5 mRNA in the control group and the study group were 1.01 ± 0.30 , 0.70 ± 0.21 , which in the study group was obviously lower than that in the control group ($t=8.061, P<0.001$). The levels of serum GDF5 mRNA, the probing depth of periodontal pocket, attachment loss and plaque index increased sequentially in the mild group moderate group and severe group, the differences between any two groups were statistically significant ($P<0.05$). The expression of GDF5 mRNA correlated negatively with the probing depth of periodontal pocket, the level of attachment loss and the degree of

* 基金项目:航天医科 2020 年科研项目——转化医学项目(2020YK17)。

作者简介:刘洁,女,副主任医师,主要从事牙周疾病及其与系统疾病的关系研究。

plaque index lesions ($r=-0.587,-0.521,-0.628,-0.567,P<0.001$). Multivariate Logistic regression analysis showed that decreased GDF5 mRNA was a risk factor for the occurrence of chronic periodontitis ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the area under the curve of serum GDF5 mRNA for predicting severe chronic periodontitis was 0.893, with a sensitivity of 79.23% and a specificity of 88.31%. **Conclusion** Serum GDF5 mRNA level in patients with chronic periodontitis decrease with increasing degree of lesions and can also be used as an indicator for predicting severe chronic periodontitis.

Key words: growth differentiation factor 5; chronic periodontitis; degree of lesion; probing depth of periodontal pocket; attachment loss

慢性牙周炎是一种发生于口腔的慢性感染性疾病,也是导致失牙的主要病因之一。牙周致病菌及其毒性代谢产物可引发宿主免疫炎症反应,导致牙周支持组织的丧失、牙龈红肿等,最终造成牙齿松动脱落^[1-3]。随着牙周炎的不断进展,细菌及其炎症因子可随血液循环影响其他远隔器官,对全身健康造成不利影响^[4-5]。因此,临床早期诊断和治疗牙周炎十分重要。生长分化因子 5(GDF5)是骨形态发生蛋白家族(BMPs)的成员,BMPs 具有较强的成软骨细胞诱导能力^[6],GDF5 参与调控软骨形成和关节发育过程,可促进软骨细胞生长增殖^[7]。有研究发现 GDF5 在牙髓干细胞中可促进增殖和分化^[8]。基于此,推测 GDF5 可能参与牙周炎的进展,但目前关于 GDF5 mRNA 在慢性牙周炎中的研究鲜见报道。因此,本研究主要探讨 GDF5 在慢性牙周炎患者血清中的表达及其与病变程度的相关性,为慢性牙周炎的临床诊治及预后预测提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月本院口腔科收治的慢性牙周炎患者 150 例作为研究组,根据牙周检查情况分为轻度组(5 年以上无附着丧失,骨丧失 <0.25 ,大量菌斑生物膜沉积伴低水平破坏)53 例,中度组(5 年以上附着丧失 <2 mm,骨丧失 $0.25\sim1.0$,破坏程度与生物膜量相称)51 例,重度组(5 年以上附着丧失 ≥ 2 mm,骨丧失 >1.0 mm,破坏程度超过生物膜沉积量)46 例^[9]。另选取同期在本院体检的健康者 50 例作为对照组。4 组研究对象一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。纳

入标准:(1)研究组符合慢性牙周炎的相关诊断标准^[9];(2)研究组出现咀嚼痛、牙周袋周围出脓,附着丧失水平 ≥ 1 mm,牙周袋深 ≥ 2 mm;对照组牙龈健康,探诊无出血。排除标准:(1)合并重要脏器衰竭;(2)入院前接受过相关治疗;(3)合并糖尿病和心血管疾病;(4)妊娠或哺乳期女性;(5)全口列牙缺失;(6)合并关节炎等慢性炎症;(7)近期使用过抗菌药物;(8)长期使用激素。所有研究对象均自愿参与本研究,并签署知情同意书,本研究经过本院医学伦理委员会批准[伦理审批号:CR-2019-AMH(2018)-02]。

1.2 血清 GDF5 mRNA 水平检测 采集所有研究对象静脉血 5 mL,采用 TRIzol 法提取总 RNA,评估总 RNA 浓度和纯度,反转录为 cDNA,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)仪检测 GDF5 mRNA 水平,内参为 GADPH,引物序列见表 2。其反应体系共 20 μ L,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 GDF5 mRNA 的相对表达量。

表 1 4 组一般资料比较($\bar{x}\pm s$ 或 n/n)

组别	<i>n</i>	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	性别 (男/女)	体质量 (kg)
对照组	50	41.36 $\pm$ 5.23	23.54 $\pm$ 3.85	26/24	62.34 $\pm$ 6.54
轻度组	53	41.58 $\pm$ 5.34	23.98 $\pm$ 3.68	26/27	62.45 $\pm$ 6.24
中度组	51	42.18 $\pm$ 5.97	23.47 $\pm$ 3.87	26/25	63.17 $\pm$ 6.78
重度组	46	42.20 $\pm$ 6.02	23.54 $\pm$ 3.94	24/22	63.25 $\pm$ 6.98
<i>F</i> / χ^2		0.282	0.194	0.125	0.253
<i>P</i>		0.839	0.900	0.989	0.859

表 2 qRT-PCR 引物序列

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
GDF5 mRNA	ACGAGAAAGCCCTGTTCCCTG	CGATGATCCAGTCGTCCCAG
GADPH	CTCCATCCTGGCCTCGCTGT	GCTGTACCTTCACCGTTCC

1.3 牙周临床指标的检测 对于入组患者进行系统的牙周检查,根据牙周探诊检查牙齿 6 个位点牙周袋探诊深度(龈缘至袋底的距离)、附着丧失水平(釉牙骨质界到上皮冠的距离)和菌斑指数(采用碱性品红染色,0 分为无菌斑,1 分为少量菌斑,2 分为中量菌斑,3 分为大量菌斑)^[10]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,多组间两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 相关分析血清 GDF5 mRNA 水平

与牙周袋探诊深度、附着丧失水平和菌斑指数的相关性;采用 Spearman 相关分析 GDF5 mRNA 水平与病变程度的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析慢性牙周炎的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 GDF5 mRNA 水平对重度慢性牙周炎的预测价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 研究组与对照组 GDF5 mRNA 水平比较 对照组与研究组 GDF5 mRNA 水平分别为 1.01 ± 0.30 、 0.70 ± 0.21 ,研究组明显低于对照组,差异有统计学意义($t=8.061$, $P<0.001$)。

2.2 不同病变程度慢性牙周炎患者血清 GDF5 mRNA 水平比较 轻度组、中度组、重度组 GDF5 mRNA 水平分别为 0.87 ± 0.25 、 0.68 ± 0.21 、 0.53 ± 0.15 ,3 组 GDF5 mRNA 水平比较,差异有统计学意义($F=32.745$, $P<0.001$)。重度组和中度组血清 GDF5 mRNA 水平明显低于轻度组,重度组血清 GDF5 mRNA 水平明显低于中度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 不同病变程度慢性牙周炎患者牙周临床指标比较 中度组及重度组牙周袋探诊深度、附着丧失水平和菌斑指数均明显大于轻度组,重度组牙周袋探诊深度、附着丧失水平和菌斑指数明显大于中度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 慢性牙周炎患者血清 GDF5 mRNA 水平与牙

周临床指标的相关性 Pearson 相关分析结果显示, GDF5 mRNA 水平与牙周袋探诊深度、附着丧失水平、菌斑指数呈负相关($r=-0.587$ 、 -0.521 、 -0.628 , $P<0.001$)。Spearman 相关分析结果显示, GDF5 mRNA 水平与病变程度呈负相关($r=-0.567$, $P<0.001$)。

表 3 不同病变程度慢性牙周炎患者牙周临床指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	牙周袋探诊深度 (mm)	附着丧失水平 (mm)	菌斑指数
轻度组	53	2.78 ± 0.64	2.67 ± 0.60	2.87 ± 0.89
中度组	51	4.87 ± 1.34^a	3.98 ± 1.43^a	3.32 ± 0.87^a
重度组	46	6.12 ± 1.40^{ab}	5.24 ± 1.62^{ab}	4.24 ± 1.35^{ab}
<i>F</i>		104.920	50.147	24.087
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻度组比较,^a $P<0.05$;与中度组比较,^b $P<0.05$ 。

2.5 多因素 Logistic 回归分析慢性牙周炎的影响因素 以是否发生慢性牙周炎(是=1,否=0)为因变量,以 GDF5 mRNA、牙周袋探诊深度、附着丧失水平和菌斑指数为自变量(均为连续变量,实测值输入),采用多因素 Logistic 回归分析慢性牙周炎的影响因素,结果显示,GDF5 mRNA 水平降低是慢性牙周炎发生的危险因素($P<0.05$)。见表 4。

表 4 多因素 Logistic 回归分析慢性牙周炎的影响因素

指标	β	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>OR</i> 的 95% <i>CI</i>
GDF5 mRNA	0.856	0.201	18.141	<0.001	2.354	1.587~3.491
牙周袋探诊深度	0.857	0.521	2.711	0.099	2.356	0.849~6.547
附着丧失水平	1.105	0.621	3.169	0.075	3.019	0.894~10.203
菌斑指数	0.427	0.301	2.021	0.155	1.533	0.850~2.767

2.6 GDF5 mRNA 水平对重度慢性牙周炎的预测价值 以轻度、中度慢性牙周炎患者为对照,绘制 GDF5 mRNA 预测重度慢性牙周炎的 ROC 曲线,结果显示,GDF5 mRNA 预测重度慢性牙周炎的曲线下面积(AUC)为 0.893(95%*CI*:0.840~0.945),最佳截断值为 0.675,灵敏度为 79.23%,特异度为 88.31%。

3 讨 论

牙周组织健康与全身健康息息相关,其炎症状态与糖尿病、心血管疾病、呼吸系统疾病等系统疾病存在相关性^[11-12]。在多数疾病的发生、发展过程中,炎症因子均起到重要作用^[13]。慢性牙周炎的临床症状较为隐匿,容易被患者忽视,往往就诊时就已发展为中重度慢性牙周炎,治疗效果往往并不理想^[14]。牙周炎主要发生在中老年人群中,尽早发现并治疗,正确判断病情的严重程度,在临床上采取合理的治疗方案至关重要。

GDF5 作为 BMPs 家族的重要成员之一,也被称为 BMP14,GDF5 位于染色体 20q11.2 上,其在骨骼和肌肉的生长中发挥着重要的作用,调控着软骨和骨的发育^[15]。GDF5 的表达还与多种骨科疾病的发生、发展有关,是骨骼系统及软组织中的一种调控因子,当其发生基因突变时能够加重骨科疾病的发生^[16]。GDF5 在促进细胞分化方面也具有广泛的作用,其可以促进骨折的修复、软骨组织的形成,还可以诱导间充质干细胞向骨分化^[17]。有研究发现长链非编码 RNA SNHG5 可以通过 GDF5 途径促进骨髓间充质干细胞的成骨分化^[18]。GDF5 在细胞外基质成骨调节中起重要作用,长链非编码 RNA GAS5 通过调控 GDF5 促进人牙周韧带干细胞的成骨分化^[19]。目前,关于 GDF5 在牙周炎中的研究较少,有研究发现 GDF5 在牙周组织中、成牙本质中表达,环状 CDR1as 触发 GDF5 上调,从而促进牙周韧带干细胞的成骨分

化^[20]。miR-132 可通过靶向 GDF5 和激活 NF- κ B 轴来抑制牙周韧带干细胞成骨,可为牙周韧带干细胞用于牙周治疗提供参考^[21]。陈朝旭^[8]研究发现 GDF5 具有促进大鼠牙髓干细胞增殖的作用,且高浓度的 GDF5 在促进大鼠牙髓干细胞增殖时作用更强。本研究中,研究组 GDF5 mRNA 水平明显低于对照组,而且随着病情严重程度增加 GDF5 mRNA 水平也逐渐增加,与上述研究相似,说明 GDF5 参与慢性牙周炎的发生、发展,其水平降低会促进牙周炎的发展。另外,中度组及重度组牙周袋探诊深度、附着丧失水平和菌斑指数均明显大于轻度组,而且随着病变程度的加重而依次增加,说明上述指标与病变程度关系密切。相关分析结果显示,GDF5 mRNA 与牙周袋探诊深度、附着丧失水平、菌斑指数、病变程度均呈负相关($P<0.05$),说明 GDF5 mRNA 与病变程度及牙周临床指标密切相关。

多因素 Logistic 回归分析结果显示,GDF5 mRNA 水平降低是慢性牙周炎发生的危险因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,GDF5 mRNA 预测重度慢性牙周炎的 AUC 为 0.893,灵敏度为 79.23%,特异度为 88.31%。说明 GDF5 mRNA 能有效地在慢性牙周患者中筛选出重度患者,从而及时开展相关检查并给予治疗。

综上所述,慢性牙周炎患者血清 GDF5 mRNA 水平随着病变程度的增加而降低,可以作为预测重度慢性牙周炎的指标。

参考文献

[1] 王春风,李咏,金玲,等.吸烟对慢性牙周炎患者牙周指数及龈沟液 MCP-1,IL-8 表达的影响[J].实用口腔医学杂志,2018,34(6):75-78.

[2] DENG Z L,SZAFRANSKI S P,JAREK M,et al. Dysbiosis in chronic periodontitis: key microbial players and interactions with the human host[J]. Sci Rep,2017,7(1): 3703.

[3] 何杨,肖帅,李邈,等.双波长激光联合米诺环素对慢性牙周炎牙周临床指标及龈沟液 IL-6,IL-8,IL-17,TNF- α 水平的影响[J].现代生物医学进展,2022,22(5):881-885.

[4] 陈飞,史金先,焦鹏,等.牙周炎患者血清中内脂素和 PGE2 水平检测及其与牙周炎活动性的关系[J].吉林大学学报(医学版),2018,44(3):563-567.

[5] 郑学彬,龙淑会,李富杰,等.年慢性牙周炎合并冠心病患者龈沟液及血清中 II-1 β ,TNF- α ,IL-18 及 IFN- γ 的表达与临床意义[J].中国老年学杂志,2020,40(11):2360-2363.

[6] DEGENKOLBE E,KÖNIG J,ZIMMER J,et al. A GDF5 point mutation strikes twice: causing BDA1 and SYNS2 [J]. PLoS Genet,2013,9(10):e1003846.

[7] KANIA K,COLELLA F,RIEMEN A H K,et al. Regula-

tion of Gdf5 expression in joint remodelling, repair and osteoarthritis[J]. Sci Rep,2020,10(1):157.

[8] 陈朝旭. GDF5 对牙髓干细胞增殖及分化的影响[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学,2021.

[9] 孟焕新. 2018 年牙周病和植体周病国际新分类简介[J]. 中华口腔医学杂志,2019,54(2):73-78.

[10] 朱玉平. 二次龈下刮治术治疗牙周病的效果及对探诊深度、附着丧失、龈沟出血指数及菌斑指数的影响[J]. 实用临床医药杂志,2019,23(13):53-55.

[11] 杨扬. 慢性牙周炎和慢性阻塞性肺疾病急性期患者血清 IL-6,IL-8 水平及相关性研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2018.

[12] NIBALI L,DONOS N,FARRELL S,et al. Association between interleukin-6 -174 polymorphism and Aggregatibacter actinomycetemcomitans in chronic periodontitis [J]. J Periodontol,2010,81(12):1814-1819.

[13] 付海标,闫俊杰. 慢性牙周炎患者外周血单核细胞 Notch1 mRNA 的表达及与疾病严重程度的相关性[J]. 中国现代医学杂志,2020,30(16):28-32.

[14] DELI F,ROMANO F,GUALINI G,et al. Resident memory T cells: possible players in periodontal disease recurrence[J]. J Periodontal Res,2020,55(2):324-330.

[15] 姚佳炜,邱波. 转化生长因子 5 在发育性髋关节发育不良中的作用研究进展[J]. 生物技术进展,2020,10(4):345-350.

[16] 艾力·热黑,曹力. 生长分化因子 5 与发育性髋关节脱位的相关性研究[J]. 中国医药导报,2020,17(18):91-94.

[17] TAKAHATA Y S F,HAGINO H,KIMURA A,et al. Regulatory mechanisms of Prg4 and Gdf5 expression in articular cartilage and functions in osteoarthritis[J]. Int J Mol Sci,2022,23(9):4672.

[18] GUMUS E,TEMİZ E,SARIKAYA B R,et al. The association between BMP-2,UQCC1 and CX3CR1 polymorphisms and the risk of developmental dysplasia of the hip [J]. Indian J Orthop,2021,55(1):169-175.

[19] HAN Y N,YANG Q L,HUANG Y P,et al. Long non-coding RNA SNHG5 promotes the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells via the miR-212-3p/GDF5/SMAD pathway [J]. Stem Cell Res Ther,2022,13(1):130.

[20] YANG Q L,HAN Y N,LIU P,et al. Long noncoding RNA GAS5 promotes osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by regulating GDF5 and p38/JNK signaling pathway[J]. Front Pharmacol,2020, 11:701.

[21] XU Y,REN C C,ZHAO X,et al. microRNA-132 inhibits osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells via GDF5 and the NF- κ B signaling pathway [J]. Pathol Res Pract,2019,215(12):152722.