

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20200826.003

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20200826.0821.006.html

## 15d-PGJ2 促进颌骨缺损患者牙周组织再生的可能机制

刘紫娟<sup>1</sup>,陈冰译<sup>1</sup>,张锐<sup>1</sup>,周舟<sup>1</sup>,叶思颖<sup>1</sup>,吴嘉聪<sup>1</sup>,夏慧玲<sup>2</sup>,马婧媛<sup>3</sup>,唐美秀<sup>1</sup>✉

(1.长沙医学院,湖南长沙 410219;2.杭州口腔医院,浙江杭州 310000;3.浙江大学医学院附属第二医院,浙江杭州 310000)

[摘要] 目的:探讨脂质信号分子环戊烯同类前列腺素(cyclopentene isoprostaglandins,15d-PGJ2)促进牙周病导致颌骨缺损患者牙周组织再生的主要生理机制。方法:2016年2月~2019年7月,对长沙医学院73例健康体检居民(健康组)和73例牙周病合并颌骨缺损患者(病例组)进行了对照研究,比较两组对象龈沟液生长因子、外周血细胞、牙骨质特异性蛋白、外周血清酶、骨代谢产物含量,比较病例组治疗前后(15d-PGJ2按200 μg/kg剂量治疗14d)各指标含量,探索各指标的内在关联性。结果:病例组白细胞介素(IL-1β)、白细胞介素-17(IL-17)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、几丁质酶3样蛋白(YKL-40)、人骨成型蛋白2(BMP-2)、I型胶原交联羧基末端肽(ICTP)、I型原胶原羧基末端前肽(PICP)、I型胶原交联C端肽(CTX)高于健康组;病例组核因子κB受体活化因子配体(RANKL)、相关黏附分子1(ICAM-1)、转化生长因子-β(TGF-β1)、辅助性T细胞17(Th17)、调节性T细胞(Treg)、牙周韧带干细胞(PDLSCs)、硬化蛋白(SOST)、骨质附着蛋白(CAP)、高迁移率蛋白1(HMGB1)、组织蛋白酶(CTSK)、5-脂氧合酶(5-LOX)、环氧化酶-2(COX-2)、I型胶原交联N端肽(NTX)低于健康组;组间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗后相比治疗前,IL-1β、IL-17、bFGF、YKL-40、BMP-2、ICTP、PICP、CTX明显降低;而RANKL、ICAM-1、TGF-β1、Th17、Treg、PDLSCs、SOST、CAP、HMGB1、CTSK、5-LOX、COX-2、NTX明显升高;差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。因子分析发现,21项指标可提取4个公因子,累积贡献率96.993%。结论:15d-PGJ2治疗牙周病伴颌骨缺损患者可明显影响多项特征指标的表达,可能牵涉到四种机制:细胞分化或迁移失调、局部炎症或免疫失衡、牙槽骨微结构被破坏、负荷或刺激影响重塑,具体与何种通路相关仍需进一步探究。

[关键词] 牙周病;颌骨缺损;信号分子;环戊烯同类前列腺素;因子分析;组织再生;机制研究

[中图分类号] R782.4 [文献标识码] A [文章编号] 1007-1237(2021)03-180-06

Possible mechanism of 15D-PGJ2 in promoting periodontal tissue regeneration in patients with mandibular defects

LIU Zi-juan<sup>1</sup>, CHEN Bing-yi<sup>1</sup>, ZHANG Rui<sup>1</sup>, ZHOU Zhou<sup>1</sup>, YE Si-ying<sup>1</sup>, WU Jia-cong<sup>1</sup>, XIA Hui-ling<sup>2</sup>, MA Jing-yuan<sup>3</sup>, TANG Mei-xiu<sup>1</sup> ✉

(1. Changsha Medical University, Changsha 410219, China; 2. Hangzhou Stomatology Hospital, Hangzhou 310000, China; 3. The Second Affiliated Hospital of Zhejiang University Medical College, Hangzhou 310000, China)

[Foundation Project]: This is supported by Hunan University Students Innovation and Entrepreneurship Training Program [(2019)191-2440] and Zhejiang Pro-

[基金项目] 湖南省大学生创新创业训练计划项目[(2019)191-2440];浙江省自然科学基金(GF18H140006)

[作者简介] 刘紫娟,女,湖南人,电话:13107422621, E-mail:xiahuilin22@163.com;并列第一作者:夏慧玲,女,浙江人,主治医师。

[通讯作者] 唐美秀(1975-),女,湖南人,副教授。

[收稿日期] 2020-05-20 [修回日期] 2020-08-24 网络出版时间:2020-08-26 09:28:33

vincial Natural Fund (GF18H140006).

[Author]: LIU Zi-juan, Female, Tel:13107422621, E-mail:xiahuilin22@163.com; XIA Hui-ling, Female, Attending Physician.

[Correspondence to]: TANG Mei-xiu, Female, Associate Professor.

Received: 2020-05-20 Revised: 2020-08-24

JHMU, 2021; 27(3): 180-185

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

[ABSTRACT] **Objective:** To explore the main physiological mechanism of 15d-PGJ2 promoting periodontal tissue regeneration in patients with jaw defects caused by periodontal disease. **Methods:** From February 2016 to July 2019, a controlled study was conducted on 73 healthy residents (healthy group) and 73 patients (case group) with periodontal disease combined with jaw defects in Changsha medical university. T test was used to compare the growth factors of gingival crevicular fluid between the two groups, which include peripheral blood cells, cement-specific protein, peripheral blood enzyme and statistical differences in bone metabolites. The t test method compared the content of each index before and after treatment (15d-PGJ2 was treated at a dose of 200  $\mu$ g/kg for 14 d). The method of factor analysis explores the internal correlation of each index. **Result:** Factors including RANKL, ICAM-1, TGF- $\beta$ 1, Th17, Treg, PDLSCs, SOST, CAP, HMGB1, CTSK, 5-LOX, COX-2, NTX were higher in the case group than in the healthy group. In the case group, RANKL, ICAM-1, TGF- $\beta$ 1, Th17, Treg, PDLSCs, SOST, CAP, HMGB1, CTSK, 5-LOX, COX-2, NTX were lower than those in the healthy group. The differences between the groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with before treatment, IL-1 $\beta$ , IL-17, bFGF, YKL-40, BMP-2, ICTP, PICP and CTX were significantly decreased after treatment. Factors such as RANKL, ICAM-1, TGF- $\beta$ 1, Th17, Treg, PDLSCs, SOST, CAP, HMGB1, CTSK, 5-LOX, COX-2 and NTX were significantly increased. The differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Factor analysis shows that four common factors can be extracted from 21 indicators, and the cumulative contribution rate is 96.993%. **Conclusions:** The treatment of 15d-PGJ2 in patients with periodontal disease with maxillary defects can significantly affect the expression of multiple characteristic indicators, which may involve four mechanisms: dysregulation of cell differentiation or migration, local inflammation or immune imbalance, destruction of alveolar bone microstructure, load or stimulation, and remodeling. The specific pathway related to this is still to be further explored.

[KEY WORDS] Periodontal disease; Jawbone defect; Signal molecule; Cyclopentene isoprostaglandin; Factor analysis; Tissue regeneration; Mechanism research

牙周病是以菌斑生物膜为始动要素的慢性感染疾病,病情延续将破坏牙周软组织及牙槽骨结构,若局部颌骨骨量不足,则会出现颌骨缺损而影响患者面容美观度及生理功能<sup>[1]</sup>。虽然骨组织修复理论及技术不断完善,但仍有大量术后患者因严重的免疫炎症反应而不能达到预期疗效。近年来,有学者尝试将环戊烯酮类前列腺素(15-deoxy-A12,14-prostaglandinJ2,15d-PGJz)应用于牙周病合并颌骨缺损患者,利用其与细胞内蛋白亲核基团的 Michael 反应而发挥长期效应,取得了良好的骨代谢调节效果<sup>[2]</sup>。考虑到牙周疾病的病理机制繁杂而交互,凭借现有医疗技术仅能缓解局部症状,并不能彻底阻断疾病进程<sup>[3]</sup>。因此,笔者检索了大量研究文献,从分子生物学角度出发,尝试以患者特征性生化或细胞指标表达为基础,采用降维思维分析疾病的可能机制,探索可能涉及的病理生理通路。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

2016年2月~2019年7月,对长沙医学院73例健康体检居民(健康组)和73例牙周病合并颌骨缺损患者(病例组)进行了对照研究。入组对象对项目内容均知情同意,研究中途无失访,本项目获得长沙医学院医学伦理委员会批准(医伦416)。牙周病诊断标准:参照中华口腔医学会第五届牙周病学专业委员会专家组制定的《重度牙周炎诊断标准及特殊人群牙周病治疗原则的中国专家共识》<sup>[4]</sup>。颌骨缺损诊断标准:参照影像学检查结果进行判定,牙龈至牙槽骨顶 $>2$  mm、存在垂直型骨缺损。两组对象共同纳入标准:年龄60岁以下;无吸烟或酗酒行为;初次入院,近60 d未对牙周系统进行规范治疗;无口腔手术史或使用过矫治器者;共同排除标准:伴有糖尿病、骨质疏松症、艾滋病、全身感染、恶性肿瘤或其他自身免疫性疾病的患者;伴有急性上颌窦感染;重要脏器功能不全;依从性差,不能配合规范治疗者。

## 1.2 基本情况

健康组男性 41 例,女性 32 例;文化程度,高中及以下 13 例、高中以上 60 例;年龄 35~57 岁,平均(42.25±10.41)岁;BMI(21.33±1.04)kg/m<sup>2</sup>。病例组男性 44 例,女性 29 例;文化程度,高中及以下 17 例、高中以上 56 例;年龄 34~59 岁,平均(43.01±9.39)岁;BMI(21.52±1.30)kg/m<sup>2</sup>;病程 8~10 个月。

## 1.3 治疗方法

根据《重度牙周炎治疗临床指南(人民军医出版社)》对病例组患者进行保守治疗,给予牙斑清除、抗菌、消炎等常规治疗,同时每天给予 15d-PGJ2(北京盛科博源生物科技有限公司,中国,规格型号 48T/96T)腹腔注射治疗,剂量 200 μg/kg,连续使用 14 d。若患者出现严重不良反应则当即停止用药。

## 1.4 观察指标

两组对象入院时采集一般资料、基本病情,同时取龈沟液进行生长因子含量检测,取空腹状态下静脉全血(10 mL)进行沉淀、分离等处理,进行外周血细胞、牙骨质特异性蛋白、外周血清酶、骨代谢产物含量的检测。根据 Bin 等<sup>[4]</sup>报道方法取样龈沟液,快速祛除取样点周边的菌斑或牙石,而后用气枪将牙面吹干,使用 Whatman 3 号滤纸(Whatman 公司,英国)插入牙周袋底部,获取龈沟液标本,若不小心蘸取污染物(唾液或血液)则当即放弃,标本快速低温(-80℃)保存、待检。

**1.4.1 龈沟液生长因子** 采用特异性生长因子检测试剂盒(南京卡米洛生物工程技术有限公司)进行定量检测,具体包括白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、核因子 κB 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor-κ B ligand, RANKL)、白细胞介素-17(interleukin 17, IL-17)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β1)。相关黏附分子 1(associated adhesion molecule 1, ICAM-1)表达阳性细胞的评定采用 IMAGE-PROPLUS 软件进行测定<sup>[5]</sup>。

**1.4.2 外周血细胞** 采用流式细胞术检测,包括辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)、调节性 T 细胞(regulatory cells, Treg)。牙周韧带干细胞(periodontal periodontal ligament stem cells, PDLSCs)取自牙周膜组织,经交替冲洗、培养、分选,最终采用 ALP 固定和染色,同样采用 IMAGE-

PROPLUS 软件测定<sup>[6]</sup>。

**1.4.3 牙骨质特异性蛋白** 应用 ELISA 法定量测定人骨成型蛋白 2(human Bone morphogenetic protein 2, BMP-2)、骨质附着蛋白(cementum attachment protein, CAP)、高迁移率蛋白 1(high mobility group protein, HMGB1)、几丁质酶 3 样蛋白(chitinase-3-like-1 protein, YKL-40)。采用 Image-pro plus6.0 分析系统对免疫组织化学染色后的细胞进行图像分析,获取爬片灰度值,取 3 个视野(×100)平均值。硬化蛋白(hardening of the protein, SOST)SOST 采用染色细胞计数定量表示蛋白含量,染色方法为 ABC 法,40 倍镜下取 3 个视野进行检测<sup>[7]</sup>。

**1.4.4 外周血清酶** 使用 RNA 印迹杂交和蛋白质印迹杂交技术进行检测,包括组织蛋白酶(cathepsin, CTSK)、5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)、环氧合酶-2(cyclooxygenase, COX-2)。

**1.4.5 骨代谢产物** 同样应用 ELISA 法定量测定,包括 I 型胶原交联羧基末端肽(carboxyterminal crosslinked telopeptide of type I collagen, ICTP)、I 型原胶原羧基末端前肽(procollagen type I carboxy-terminal propeptide, PICP)、I 型胶原交联 C 端肽(Type I collagen-crosslinked C telopeptide, CTX)、I 型胶原交联 N 端肽(type I collagen-crosslinked N telopeptide, NTX)<sup>[8]</sup>。

## 1.5 统计学处理

所有数据采用 SPSS22.0 统计软件进行分析处理,计量资料(各生化指标或细胞含量)经转换和 KS 检验均服从正态分布,用( $\bar{x} \pm s$ )描述,健康组和病例组的比较用两独立样本 t 检验,治疗前和治疗后比较用配对设计资料 t 检验。因子分析的方法降维提取公因子,皮尔逊相关性分析的方法了解公因子与各指标的相关性,探索各指标(生化指标或细胞)的内在关联性。 $P < 0.001$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组特征性生化标记物含量的比较

病例组 IL-1β、IL-17、bFGF、YKL-40、BMP-2、ICTP、PICP、CTX 高于健康组;病例组 RANKL、ICAM-1、TGF-β1、Th17、Treg、PDLSCs、SOST、CAP、HMGB1、CTSK、5-LOX、COX-2、NTX 低于健康组;组间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组特征性生化标记物含量的比较 ( $n=73, x \pm s$ )Tab 1 Comparison of the content of characteristic biochemical markers between the two groups of subjects ( $n=73, x \pm s$ )

特征性生化标记物		健康组	病例组	<i>t</i>	<i>P</i>
龈沟液生长因子	IL-1 $\beta$ ( $\mu\text{g/L}$ )	0.11 $\pm$ 0.02	1.12 $\pm$ 0.13	65.608	0.000
	RANKL( $\text{pg/mL}$ )	2.51 $\pm$ 0.35	1.82 $\pm$ 0.27	13.337	0.000
	IL-17( $\text{pg/mL}$ )	17.84 $\pm$ 2.11	22.95 $\pm$ 3.42	10.865	0.000
	bFGF( $\text{pg/mL}$ )	31.88 $\pm$ 3.40	69.85 $\pm$ 4.26	59.521	0.000
	ICAM-1(光密度, $\times 10^4$ )	11.79 $\pm$ 1.43	9.01 $\pm$ 0.78	14.582	0.000
	TGF- $\beta$ 1( $\text{ng/mL}$ , $\times 10^2$ )	26.84 $\pm$ 2.56	11.39 $\pm$ 1.40	45.241	0.000
外周血细胞	Th17(%)	1.78 $\pm$ 0.31	1.25 $\pm$ 0.23	11.731	0.000
	Treg(%)	4.92 $\pm$ 0.71	4.13 $\pm$ 0.35	8.527	0.000
	PDLSCs(%)	68.21 $\pm$ 3.01	28.77 $\pm$ 2.50	86.121	0.000
牙骨质特异性蛋白	SOST(染色细胞个数)	21.25 $\pm$ 2.72	9.45 $\pm$ 1.33	33.298	0.000
	CAP	160.66 $\pm$ 5.29	148.27 $\pm$ 4.32	15.500	0.000
	HMGB1( $\times 10^{-2}$ )	2.47 $\pm$ 0.20	1.16 $\pm$ 0.15	44.771	0.000
	YKL-40( $\text{ng/mL}$ )	16.79 $\pm$ 2.04	26.73 $\pm$ 3.41	21.373	0.000
	BMP-2(光密度, $\times 10^{-2}$ )	5.93 $\pm$ 0.24	9.32 $\pm$ 0.36	66.943	0.000
外周血清酶	CTSK	98.35 $\pm$ 6.29	78.01 $\pm$ 5.20	21.294	0.000
	5-LOX	109.34 $\pm$ 6.24	81.57 $\pm$ 5.12	29.395	0.000
	COX-2	432.90 $\pm$ 7.41	303.15 $\pm$ 8.38	99.102	0.000
骨代谢产物	ICTP( $\text{ng/mg}$ )	2.30 $\pm$ 0.25	5.71 $\pm$ 0.72	38.227	0.000
	PICP( $\text{ng/mg}$ )	1.13 $\pm$ 0.17	2.46 $\pm$ 0.33	30.612	0.000
	CTX( $\text{ng/mg}$ )	1.46 $\pm$ 0.22	3.42 $\pm$ 0.40	36.683	0.000
	NTX( $\text{ng/mg}$ )	19.07 $\pm$ 2.85	7.09 $\pm$ 1.28	32.762	0.000

## 2.2 病例组 15d-PGJ2 治疗前后特征性生化标记物含量的比较

治疗后相比治疗前, IL-1 $\beta$ 、IL-17、bFGF、YKL-40、BMP-2、ICTP、PICP、CTX 明显降低; 而

RANKL、ICAM-1、TGF- $\beta$ 1、Th17、Treg、PDLSCs、SOST、CAP、HMGB1、CTSK、5-LOX、COX-2、NTX 明显升高; 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 病例组 15d-PGJ2 治疗前后特征性生化标记物含量的比较 ( $n=73, x \pm s$ )Tab 2 Comparison of the content of characteristic biochemical markers before and after 15d-PGJ2 treatment in the case group ( $n=73, x \pm s$ )

特征性生化标记物		治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
龈沟液生长因子	IL-1 $\beta$ ( $\mu\text{g/L}$ )	1.12 $\pm$ 0.13	0.35 $\pm$ 0.04	48.369	0.000
	RANKL( $\text{pg/mL}$ )	1.82 $\pm$ 0.27	2.08 $\pm$ 0.21	6.494	0.000
	IL-17( $\text{pg/mL}$ )	22.95 $\pm$ 3.42	17.84 $\pm$ 2.11	10.865	0.000
	bFGF( $\text{pg/mL}$ )	69.85 $\pm$ 4.26	58.78 $\pm$ 3.69	16.782	0.000
	ICAM-1(光密度, $\times 10^4$ )	9.01 $\pm$ 0.78	10.33 $\pm$ 1.04	8.675	0.000
	TGF- $\beta$ 1( $\text{ng/mL}$ , $\times 10^2$ )	11.39 $\pm$ 1.40	17.82 $\pm$ 1.63	25.568	0.000
外周血细胞	Th17(%)	1.25 $\pm$ 0.23	1.51 $\pm$ 0.20	7.288	0.000
	Treg(%)	4.13 $\pm$ 0.35	4.57 $\pm$ 0.42	6.876	0.000
	PDLSCs(%)	28.77 $\pm$ 2.50	45.42 $\pm$ 2.81	37.823	0.000
牙骨质特异性蛋白	SOST(染色细胞个数)	9.45 $\pm$ 1.33	12.63 $\pm$ 1.07	15.917	0.000
	CAP	148.27 $\pm$ 4.32	155.56 $\pm$ 7.21	7.410	0.000
	HMGB1( $\times 10^{-2}$ )	1.16 $\pm$ 0.15	1.38 $\pm$ 0.06	11.635	0.000
	YKL-40( $\text{ng/mL}$ )	26.73 $\pm$ 3.41	21.34 $\pm$ 3.07	10.037	0.000
	BMP-2(光密度, $\times 10^{-2}$ )	9.32 $\pm$ 0.36	7.25 $\pm$ 0.40	32.865	0.000
外周血清酶	CTSK	78.01 $\pm$ 5.20	80.35 $\pm$ 3.13	3.294	0.000
	5-LOX	81.57 $\pm$ 5.12	87.34 $\pm$ 2.34	8.757	0.000
	COX-2	303.15 $\pm$ 8.38	333.93 $\pm$ 4.49	27.662	0.000
骨代谢产物	ICTP( $\text{ng/mg}$ )	5.71 $\pm$ 0.72	4.05 $\pm$ 0.35	17.716	0.000
	PICP( $\text{ng/mg}$ )	2.46 $\pm$ 0.33	1.89 $\pm$ 0.41	9.253	0.000
	CTX( $\text{ng/mg}$ )	3.42 $\pm$ 0.40	2.25 $\pm$ 0.32	19.515	0.000
	NTX( $\text{ng/mg}$ )	7.09 $\pm$ 1.28	12.17 $\pm$ 1.97	18.475	0.000

## 2.3 病例组特征性生化标记物的因子分析

对 5 组 21 项特征性生化标记物进行减维处理,

因子分析发现, 可提取 4 个公因子 (特征值  $\lambda$  大于 1), 见表 3。荷矩阵可知: 因子 1 与 4 个指标 (bF-

GF、TGF- $\beta$ 1、PDLSCs、5-LOX)相关性有统计学意义( $P < 0.05$ );因子2与7个指标(IL-1 $\beta$ 、IL-17、Treg、YKL-40、COX-2、ICTP、PICP)相关性有统计学意义( $P < 0.05$ );因子3与5个指标(RANKL、SOST、CAP、HMGB1、BMP-2)相关性有统计学意义

( $P < 0.05$ );因子4与5个指标(ICAM-1、Th17、CTSK、CTX、NTX)相关性有统计学意义( $P < 0.05$ )。累积贡献率96.993%。检索已有研究项目,本研究将当前可靠性较高、且流行的主要机制归纳入各公因子,便于后续基础研究的深入。

表3 牙周病导致颌骨缺损主要流行机制与4个公因子的对应关系

Tab 3 The relationship between the main epidemic mechanism of periodontal disease leading to jaw defects and the four common factors

公因子	贡献率(%)	公因子命名	当前研究主要相关通路
因子1	35.149	细胞分化或迁移失调	Caspase-1/-11 炎性体通路、JNK/线粒体通路、Notch 信号通路、WNT/ $\beta$ -连环蛋白信号转导通路 <sup>[1,2,20]</sup> (4项)
因子2	26.047	局部炎症或免疫失衡	NLRP3 炎性小体通路、TLR4 炎症通路、TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B 信号通路、p38 MAPK 信号通路 <sup>[1,2]</sup> (4项)
因子3	20.774	牙槽骨微结构被破坏	IL-33/ST2 信号通路、PI3K/AKT/mTOR 信号通路、Fas/FasL 信号、PI3K/AKT/mTOR 信号通路、Wnt 信号系统 <sup>[1,2]</sup> (5项)
因子4	15.023	负荷或刺激影响重塑	RANKL/RANK/OPG 通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、 $\alpha$ 7nAChR-ERK1/2-c-Fos 通路 <sup>[1,2]</sup> (3项)

### 3 讨论

牙周病导致颌骨缺损患者兼有两种疾病的病理损伤,临床治疗难度相对较大,考虑到 PGs 类衍生物在抗炎消肿、免疫平衡、代谢调控等方面的综合优势,充分探究 15d-PGJ2 药理机制及牵涉的主要信号通路,可为牙周病系统治疗或药物研发提供可靠依据<sup>[9]</sup>。

本研究发现,健康人群与牙周病导致颌骨缺损患者多种生化指标的表达均有明显差异,由于本研究纳入的 21 项指标均为研究较为关注的生化标记物或外周血细胞,其组间差异的结果与绝大多数研究<sup>[10,11]</sup>基本一致。IL-1 $\beta$  和 IL-17 兼有牙周膜细胞 MMPs 的强效调节作用,即便微量改变也可以产生放大效应,参与细胞外基质对牙周组织的生理改建过程。15d-PGJ2 治疗后的患者,该两项指标明显降低,可能与其作用于病变牙根面而致轻度脱矿,开放的牙本质小管促进了根面上细胞迁移及结缔组织附着有关<sup>[12]</sup>。但是本研究尚未对局部总蛋白或胶原蛋白的表达进行长期监测,15d-PGJ2 提升牙周组织再生功能的效力仍需通过前瞻性研究加以验证。bFGF 凭借强大的干细胞分化促进功能可以直接影响牙釉质或牙本质的成熟,理论上而言,bFGF 高水平表达会诱导微血管新生,使残存牙乳头不断生长,加快根尖孔闭合<sup>[13]</sup>。但病例组治疗后血清中 bFGF 检出水平不增反降,可能与其他机制交叉作用、相互影响有关。也可能与患者治疗过程中局部刺激增加了根管内切力有关,具体原因尚不明确。糖蛋白 YKL-40 主要由免疫细胞或平滑肌细胞分泌,对组织重塑或纤维化意义重大,高含量的 YKL-40 会抑

制 Sema3A/Nrpl 信号轴,进行性加重局部炎症反应,该指标还可作为疾病慢性化的评定标准<sup>[14]</sup>。病例组患者 BMP-2 含量明显高于健康组,该指标对间充质干细胞的定向分化有决定作用,直观表现为可加速牙槽骨的修复或改建。根据已有骨再生研究<sup>[15,16]</sup>,RANKL/OPG 信号途径为介导 BMP-2 参与牙周缺损区域骨性吸收的主要途径,但对牙骨质附近破骨细胞的影响极小。被激活的 BMP-2 可通过负反馈调节机制促使成骨细胞发挥旁分泌或自分泌功能,提升张力区成骨细胞的活力。ICTP 是判定牙本质黏接界面退化程度的灵敏指标,是由激活状态的 MMPs 降解而产生的特异物质,因此其表达含量与 MMPs 呈负性关联。PICP 和 CTX 在病例组、健康组之间的差异可能与人体自酸蚀系统激活,亲水性单体不断渗透而加速胶原降解有关,因此,ICTP、PICP、CTX 含量的线性升高可表征患者的病情处于发展期,若患者治疗过程中有使用黏结剂,极易受此影响而导致黏连强度下降<sup>[17]</sup>。

本研究还发现,病例组多项指标含量高于对照组,而病例组经治疗后,其 RANKL、ICAM-1、TGF- $\beta$ 1、Th17、Treg、PDLSCs、SOST、CAP、HMGB1、CTSK、5-LOX、COX-2、NTX 明显升高。牙槽骨破坏通常与破骨细胞活性异常有关,RANKL 和 TGF- $\beta$ 1 均是促进相关细胞活化的重要因子,不仅可以触发下游信号转导而使前体细胞转变为破骨细胞,还可以经 5-LOX 途径来循环加重患者口腔的炎症水平<sup>[18]</sup>。RANKL 还可在两个协同要素( $\text{Ca}^{2+}$  和 ATP)作用下生成 5-LOX 或不稳定的环氧化白三烯,患者诊治前后强化 RANKL 的定量监测有助于

保障整体控制患者病情。跨膜糖蛋白 ICAMI 在人体内主要发挥细胞间黏附作用,在炎性或应激反应中则会招募大量炎性细胞引入靶组织,恶化局部炎症的反应过程<sup>[19,20]</sup>。COX-2 是合成 PGE 的重要限速酶,其含量与牙周病病情呈正相关,患者无论采取何种治疗方案,控制 COX-2 对改善临床症状至关重要。同时,15d-PGJ2 还是 COX-2 的终极代谢产物之一,多种组织均能产生,但细胞外液中检出水平往往不高。该内源性配体生理功能较为广泛,本研究虽然证实其疗效的确切性,但不规范使用可能会产生适得其反的效果<sup>[21]</sup>。众所周知,5-LOX 途径也是众多疾病病理过程或炎症反应的主要过程,控制原发炎症的同时,该趋化因子骨代谢方面的影响也不容忽视。有流调数据<sup>[22]</sup>发现,骨关节炎或类风湿性关节炎患者体内 5-LOX 的表达尤为异常,当 5-LOX 酶缺陷时,对应下游产物减少,亦会促使破骨细胞聚集。还有体外实验<sup>[23]</sup>发现,5-LOX 抑制剂能抑制 LPS 诱导的破骨细胞生成,是调控 RANK/RANKL 的关键介质,这为 5-LOX 造成牙周组织破坏的机制奠定了相应的理论基础。分泌型蛋白 SOST 主要存在于各种成骨微环境中,有正向调控骨形成的功效,利用甲基化抑制剂 AzadC 可以上调 BMP2 的同时阻断成骨细胞中的 Smadtn 号通路、p38MAPK 通路、MEKI/2 信号通路、JNK 信号通路,因此临床使用甲基化抑制剂 AzadC 需要注意患者是否存在禁忌证,否则极易引发各类不良事件。生理性牙根吸收的过程是骨细胞通过 H<sup>+</sup> 和 Cl<sup>-</sup> 通道而降低骨吸收陷窝内 pH 值,最终释放 CTSK、MMPs 等物质<sup>[24]</sup>。因此,CTSK 活性可以作为牙周炎是否活动的监测指标。牙骨质细胞标记物 CAP 则是一组在牙骨质中提取,而能显著促进牙周膜细胞实现根面附着的蛋白质。CAP 对牙囊细胞的增殖无显著影响,但高浓度的 CAP 可增强牙囊细胞碱性磷酸酶活性。同时,CAP 可能也参与成牙骨质细胞形成的矿化基质的沉积、合成和磷酸盐晶体的形成,对增加牙骨质细胞意义重大。一般情况下,存在于胞核的 HMGB1 呈基础水平表达,轻度牙周病患者也不一定能检出该物质。但若在龈沟液中高水平表达 HMGB1,则提示患者局部致病菌脂多糖含量较高或外界刺激强烈<sup>[25]</sup>。另外一种情况就是正畸牙移动过程中,典型的张力侧骨沉积或导致压力侧骨吸收的加剧,成纤维细胞也会分泌大量的促炎细胞因子促使单核细胞进入受损的牙周膜内,参与牙周膜的坏死成分的清除过程<sup>[24,25]</sup>。

因子分析发现,牙周病导致颌骨缺损患者在疾病发展或转归过程中,21 项研究指标均指示,该病与 4 项机制(细胞分化或迁移失调、局部炎症或免疫失衡、牙槽骨微结构被破坏、负荷或刺激影响重塑)高度相关,其中细胞分化或迁移失调、局部炎症或免疫失衡为最主要的两项机制,累积贡献率超过 60%。本研究还检索了大量类似文献,发现牙周病导致颌骨缺损相关的主要通路共有 16 项,这些信号通路具体如何作用于疾病进程,不同信号通路是独立作用还是存在叠加、交叉等影响,仍需后续大量研究不断验证。但是因子分析获得的累积贡献率高达 96.993%,充分说明本研究所总结的 4 项机制能总体归纳牙周病导致颌骨缺损的主要病理生理过程。

#### 参考文献

- Xin YX, Xuan L, Jia W, et al. Concise review: Periodontal Tissue regeneration using stem cells: strategies and translational considerations [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(4):392-403.
- 闫福华, 李丽丽. 牙周再生治疗研究进展[J]. *口腔医学研究*, 2018, 34(3):217-222.
- Jing CH, Yu C, Yilin X, et al. Periodontal regeneration in swine after cell injection and cell sheet transplantation of human dental pulp stem cells following good manufacturing practice [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1):130.
- Bin Z, Wenjia L, Yihan L, et al. Jawbone microenvironment promotes periodontium regeneration by regulating the function of periodontal ligament stem cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(5):40088.
- 贾婷婷, 颜世果. 特异性 AT 序列结合蛋白 2 在颌面部发育及牙周组织再生中作用的研究进展[J]. *国际口腔医学杂志*, 2019, 46(3):320-325.
- 郝云茹, 王云龙, 曹正国, 等. MicroRNA-675-5p 对成牙骨质细胞分化的影响[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2019, 40(3):395-399.
- 宁航, 夏一如, 董家辰, 等. 载重组人釉原蛋白水凝胶缓释系统对人牙周膜成纤维细胞生物学特性的影响[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2019, 39(3):244-252.
- 都沙沙, 蔡智国, 杨琨, 等. 牙源性间充质干细胞促进牙周组织再生的可能性与前景[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(17):2782-2788.
- Giorgio I, Saeid K, Francesco B. Biomaterials, current strategies, and novel nano-technological approaches for periodontal regeneration [J]. *J Funct Biomater*, 2019, 10(1):3.

(下转第 191 页)

- 对 ICSI 助孕临床结局的影响[J]. 生殖医学杂志, 2016, (12):1059-1063.
- 20 蔡慧中, 刁英. 体外受精-胚胎移植中注射人绒毛膜促性腺激素后不同时间受精对早期胚胎发育及临床结局的影响[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(05):399.
- 21 刘琦, 谢娟珂, 宋小兵, 等. 注射 HCG 后授精时间对 IVF-ET 妊娠结局的影响研究[J]. 中国实用医刊, 2015, 42(24):1-3.
- 22 焦旭梅, 郝亚芬. 拮抗剂方案早卵泡期添加 HCG 的临床结局分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(82):183-184.
- 23 李欣, 凌秀凤, 赵纯, 等. GnRH-a 激动剂联合 hCG 促排卵方案对卵巢高反应患者体外受精-胚胎移植临床结局的影响[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(2):133-137.
- 
- (上接第 185 页)
- 10 黄容裕, 吴纪楠, 胡文, 等. 甘氨酸亚下喷砂联合引导组织再生术治疗种植体周围炎[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2019, 13(1):28-36.
- 11 赵谦, 李健. miRNA 对牙再生调控机制的研究现状[J]. 临床口腔医学杂志, 2018, 34(12):761-763.
- 12 Nannan H, Fengqiu Z, Guoqing L, et al. Local application of IGFBP5 protein enhanced periodontal tissue regeneration via increasing the migration, cell proliferation and osteo/dentinogenic differentiation of mesenchymal stem cells in an inflammatory niche [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(29):210.
- 13 陈巧, 龚磊. 基于内源性干细胞归巢的牙髓再生模式研究进展[J]. 重庆医科大学学报, 2018, 43(11):1532-1536.
- 14 Hao Z, Shiyu L, Bin Z, et al. Composite cell sheet for periodontal regeneration; crosstalk between different types of MSCs in cell sheet facilitates complex periodontal-like tissue regeneration [J]. Stem Cell Res Ther, 2016, 7(14):168.
- 15 Fang W, Lingqian D, Shaohua G. PTH/SDF-1 $\alpha$  cotherapy induces CD90<sup>+</sup> CD34<sup>-</sup> stromal cells migration and promotes tissue regeneration in a rat periodontal defect model [J]. Sci Rep, 2016, 6(2):30403.
- 16 靳路远, 朱文晶, 夏登胜. 化脓链球菌脂磷壁酸对人牙周膜干细胞分化能力的影响[J]. 北京口腔医学, 2018, 26(1):1-4.
- 17 Venkata SV, Keisuke H, Mary MN, et al. Periodontal regeneration by allogeneic transplantation of adipose tissue derived multi-lineage progenitor stem cells in vivo [J]. Sci Rep, 2019, 9(29):921.
- 18 冯顶丽, 卓丽丹, 芦笛, 等. 修复牙周缺损的细胞膜片构建方法新进展[J]. 武警医学, 2018, 29(2):197-200.
- 19 Zhong SW, Zhi HF, Guo FW, et al. The use of platelet-rich fibrin combined with periodontal ligament and jaw bone mesenchymal stem cell sheets for periodontal tissue engineering [J]. Sci Rep, 2016, 6(21):28126.
- 20 刘珍珍, 方蛟, 赵静辉, 等. 牙龈干细胞生物学潜能的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2018, 45(1):55-58.
- 21 Mizuki N, Kengo I, Keiko A, et al. Conditioned medium from periodontal ligament stem cells enhances periodontal regeneration [J]. Tissue Eng Part A, 2017, 23(9):367-377.
- 22 倪璞, 刘宏伟. 骨髓间充质干细胞培养液对牙周组织再生的影响[J]. 同济大学学报(医学版), 2018, 39(1):41-46.
- 23 Guoqing L, Nannan H, Xiuli Z, et al. Local Injection of allogeneic stem cells from apical papilla enhanced periodontal tissue regeneration in minipig model of periodontitis [J]. Biomed Res Int, 2018, 2018(12):3960798.
- 24 Fang S, Shi SL, Jun LM, et al. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of osteoprotegerin-engineered periodontal ligament stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6(1):22.
- 25 魏芬, 吴燕岷, 陈莉丽. 环戊烯酮类前列腺素的生理功能及其在牙周病治疗中应用的研究进展[J]. 吉林大学学报(医学版), 2016, 42(5):1034-1037.