高级氧化蛋白产物在糖尿病相关性牙周炎中的作用

李华菁综述 付云审校
(中山大学光华口腔医学院·附属口腔医院牙周科 广州 510055)

[摘要] 高级氧化蛋白产物(AOPP)是在氧化应激过程中对机体产生的一系列病理生理性作用的一组蛋白质产物的总称，而其所介导的氧化应激作用是糖尿病相关性牙周炎加重的发病机制之一。本文就 AOPP 的结构及其理化特性，AOPP 的合成和分离及鉴定，AOPP 与糖尿病相关性牙周炎的关系，糖尿病相关性牙周炎的治疗等研究进展作一综述。

[关键词] 高级氧化蛋白产物； 氧化应激； 糖尿病； 牙周病
[中图分类号] Q 51 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2011.06.016

Effect of advanced oxidative protein products on diabetes-associated periodontitis *Li Huajing, Fu Yun.*

(*Dept. of Periodontics, Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-Sen University, Guangzhou* 510055, *China*)

[Abstract] Advanced oxidative protein products (AOPP) are a complex group of oxidative products presented during the oxidative stress progress *in vivo* and are related to a series of pathophysiological reactions. This review will discuss the structure, and properties of AOPP, its synthesis, purification and identification, as well as its relationship with diabetes-associated periodontitis.

[Key words] advanced oxidative protein product； oxidative stress； diabetic mellitus； periodontitis

牙周炎是发生在牙支持组织的由牙菌斑中的微生物所引起的慢性感染性疾病，可导致牙周支持组织发炎、牙周袋形成、进行性附着丧失和牙槽骨吸收，最后可致牙松动甚至脱落，是中国成人失牙的首位原因。牙周炎是包括冠心病、糖尿病等多种系统性疾病的危险因素[1-2]。Löe[3]认为，牙周炎已成为糖尿病(diabetes mellitus，DM)第六大并发症。DM 与牙周炎之间相互影响，两者均可刺激促炎症性细胞因子的释放，损伤牙周组织[4]。牙周炎与 DM 同时存在可对血糖产生负面影响，而规范的牙周炎治疗可帮助控制 DM 病情。

DM 加重牙周病等并发症的机制主要包括两个方面：一是高级糖基化终产物(advanced glycation end product，AGE)累积对细胞造成的损伤，二是体内氧化应激增强对机体产生的一系列病理生理性作用。Allen等[5]认为，牙周炎与 2 型DM 可能正是通过氧化应激实现了相互影响。高级氧化蛋白产物(advanced oxidative protein product，AOPP)是氧化损伤的标志物，能启动氧化应激并增强全身的炎症反应。AOPP 所介导的氧化应激作用与DM 及其并发症的发生发展密切相关。

1 AOPP 的结构和理化特性

AOPP 是Witko-Sarsat等[6]于1996年在尿毒症患者的血浆中发现的，具有不可逆性，是体内氧化应激增强，活化中性粒细胞，在髓过氧化物酶(myeloperoxidase，MPO)作用下产生的诸多的活性氧簇和含氯氧化物如次氯酸，攻击氧化体内蛋白质的氨基酸残基致其产生双酪氨酸交联结构，并聚集于血浆和组织中的一组性质各异的分子，即是由氧化应激导致体内各种蛋白质氧化损伤所形成的终末产物的总称。

当血浆或纯化的人血清清蛋白(human serum albumin，HSA)暴露于次氯酸下时，AOPP 的质量呈剂量依赖性增长；而且在一定次氯酸浓度下，AOPP 的质量亦随着 HSA 质量浓度的升高而增加。HSA-AGE 也会增加 AOPP 的质量。体外纯化的 HSA 或血浆蛋白在被次氯酸氧化处理时，可诱导双酪氨酸产生，且水平与 AOPP 的质量显著相关[6]。

[收稿日期] 2010-09-18； [修回日期] 2011-06-19
[基金项目] 广东省自然科学基金资助项目(8151008901000087)
[作者简介] 李华菁(1985—)，女，河北人，硕士
[通讯作者] 付云，Tel：020-83889253

AOPP的分子形态大小各异，其确切的化学结构仍不清楚。AOPP由氧化的血浆蛋白所携带，却没有氧化剂的特性。层析法可以将其分为高相对分子质量（high molecular weight，HMW）-AOPP和低相对分子质量（low molecular weight，LMW）-AOPP[6]。血清清蛋白在合成AOPP的一系列产物中所占比例达到95%，故其主要成分是氧化清蛋白[7]。Witko-Sarsat等[6]认为，脂蛋白为HWM-AOPP的组成部分，但并非为AOPP合成所必需，只是有可能促进了体内AOPP的合成。除此以外，AOPP的增加或HSA中双酪氨酸结构质量的增加，会引起α-螺旋结构的轻微降低，而且在氧化后的HSA中其疏水基团明显减少[8]。

肝脏（约51%）和脾脏（约23%）为AOPP代谢清除的主要部位，但外周血中AOPP通过何种机制被降解及清除，目前仍不清楚[8]。由于蛋白质氧化后其结构发生变化，极易交联，形成相对大分子质量的蛋白质聚合物而难以清除；因此，AOPP易潴留在患者体内，产生生物学作用。

2 AOPP的合成和分离及鉴定

当血浆蛋白暴露在激活的巨噬细胞下时，次氯酸通过激活的MPO，即血浆蛋白在MPO、过氧化氢和氯离子的作用下生成了AOPP[9-10]。故体外制备AOPP的方法如下：将人血清清蛋白用次氯酸在常温下处理一段时间后，透析去除多余的次氯酸后即可；但这样得到的是非单一成分的粗产品，无法用于作用机制或免疫学研究。如果要得到纯度高的AOPP-HSA，需在纯化HSA的基础上，经凝胶层析和离子交换高压液相层析（high performance liquid chromatography，HPLC）两步层析分离纯化[11]。

体外制备的AOPP无论在蛋白质构成、分子构成，还是生物学活性方面都具备与体内AOPP相同的特点[12]，两者均可行使炎症递质的功能。体外经次氯酸处理的HSA或体内产生的AOPP，均能在体外激发中性粒细胞和单核细胞的氧化裂解作用[13]。

AOPP的分离存在不确定性。Witko-Sarsat等[6]认为，AOPP是采用一步凝胶层析由慢性肾功能衰竭血液透析患者血浆中分离的，但与其首次分离出的包括HMW-AOPP和LMW-AOPP相比较，Kaneda等[14]采用同样方法只得到HMW-AOPP一种形式。孙岩等[11]用HSA-次氯酸孵育法体外制备AOPP（AOPP-HSA）作为研究对象，经过凝胶层析和离子交换HPLC法纯化之后，亦未能成功分离出LMW-AOPP。对此，孙岩等[11]推测其原因可能为二者的分离方法不同，以及粗纯品与血浆中HMW-AOPP和LMW-AOPP组成比例不同所致；但其体内分离的不确定性仍未有合理的定论。

既往研究对AOPP的鉴定主要包括两个方面：1）结构特征上，是含有双酪氨酸的蛋白质交联聚合物；2）生物活性上，是一种炎症递质，能够促发单核细胞的炎症反应，如肿瘤坏死因子-α的释放。因此，只要纯化的蛋白质满足上述两方面，就可被认定为AOPP[15]。

光谱学特征也有利于对AOPP作出鉴定：双酪氨酸是蛋白质在氧化终末阶段产生的一种损伤标志物，具有特殊的紫外吸收和荧光发射激发特性。双酪氨酸的出现以及酪氨酸和色氨酸等芳香族氨基酸残基的损失，使得AOPP吸收光谱和荧光光谱具备两大特征：1）紫外吸收光谱在280 nm处吸收峰消失，并在320 nm处曲线缓慢下降；2）荧光发射光谱在410 nm出现发射峰，故可据此对AOPP进行光谱学鉴定。

3 AOPP与DM相关性牙周炎

AOPP与AGE有共同的形成机制和生物活性，可通过与AGE的协同作用发挥其对伴DM的患者牙周组织的破坏作用。AGE可诱导HSA生成AOPP。Witko-Sarsat等[6]发现，在AGE-HSA和次氯酸处理的HSA中存在着AOPP质量升高，且两者呈相关性。同一作者的体内研究显示，在慢性肾衰竭的患者血浆中，AGE与AOPP的质量密切相关，且两者水平用肌酐清除率调正过后仍呈明显的相关性。通过梅拉德反应生成的AGE（以苯妥西定为代表）在氧化物缺失或氧化物清道夫存在的情况下，水平会受到明显地抑制[16]，且与氧化物水平对AOPP生成的影响类似。研究[17-18]证实，AGE在DM相关性牙周炎患者体内累积，并因此造成大量的牙周组织破坏。AGE修饰的蛋白质包含某种结构上的基团会引起氧化应激，AGE介导的生物活性可能依赖其氧化水平[19]。即AGE可能通过促AOPP生成而发挥其生物学效用。

AOPP可通过介导氧化应激破坏体内氧化还原系统的平衡而实现对牙周组织的破坏，加重DM相关性牙周炎。Martín等[20]在观察氧化应激在1型DM相关并发症发生中的作用时发现，氧化

修饰的蛋白质可能为导致DM并发症的危险因素。Nishimura等[21]发现，在DM伴发牙周炎的患者血清中，肿瘤坏死因子-α水平与AOPP水平呈正相关；因此，推测DM伴发牙周炎的发生机制之一，可能是AOPP和AGE通过引起细胞因子异常增高而增强了炎症反应。

DM患者在高糖状态下，可激活中性粒细胞中蛋白激酶C和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶，形成活性氧族（reactive oxygen species，ROS）。ROS能使体内氧化、抗氧化体系失衡，其作用产物可使体内蛋白质发生氧化损伤，增加AOPP的产生[19-22]，加重炎症反应[23]。同时，AGE在发挥生物效应过程中也会升高AOPP水平[24]，其本身和AOPP均可激活还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸[25]，形成正反馈。以超氧化物歧化酶和过氧化氢等为代表的氧自由基强氧化损伤作用和以超氧化物歧化酶为代表的体内抗自由基物质活性降低，可造成牙周组织的进一步损伤。

AOPP还可通过对牙龈成纤维细胞的直接抑制作用诱导胶原纤维和结缔组织中细胞外基质的降解，促进牙周组织破坏。成纤维细胞是牙龈结缔组织的主要构成细胞，约占细胞总体的65%，在牙周组织的形成与再生、完整性的维持和功能发挥中起着重要的作用。人牙龈成纤维细胞（human gingival fibroblast，hGF）的主要功能是合成胶原纤维、弹性纤维以及无定形的细胞外基质，也参与调节胶原纤维的降解。邓雨泉等[26]发现，AOPP可通过抑制hGF的增殖来影响牙周组织的修复能力，促进hGF合成基质金属蛋白酶-1来介导胶原降解，加重DM患者的牙周组织破坏。

4 DM相关性牙周炎的治疗

对AOPP及其介导的氧化应激的有效控制，有望成为治疗DM及其并发症的途径之一。基于AOPP与AGE在结构、功能和生物学效应方面的相似性，有学者推测AOPP和AGE 均可利用高级糖基化终产物受体产生生物学效应[12]；因此，通过抑制高级糖基化终产物受体及其配体的相互反应，可能抑制部分AOPP的生物学效用。

AOPP可作为一种可靠的指标，用以评估蛋白质损伤程度并预测治疗方法的有效性[6]。N-乙酰半胱氨酸（N-acetylcysteine，NAC）可显著降低HSA-AOPP介导的对正常单核细胞和中性粒细胞的作用[27]，从而为NAC作为治疗手段减少氧化应激相关的炎症提供了新的证据。Milward等[28]发现，血清中抗氧化剂质量浓度的增加会降低牙周炎的发病风险和严重程度。抗氧化物如维生素C、E以及硫辛酸可抑制部分DM视网膜病[29-30]、神经病变[31-32]和肾病[22-33]等微血管病变。抗氧化剂和抗氧化作用营养素可通过抑制AOPP及氧化应激作用达到治疗DM及其并发症的目的。

5 参考文献

[1] 葛颂，吴亚菲，刘天佳，等．中、重度慢性牙周炎与冠心病相关性的研究[J]．华西口腔医学杂志，2008，26(5)：262-266.

[2] 谷宇新，李庆星，由彦玲，等．牙周炎对2型糖尿病患者血清C反应蛋白水平的影响[J]．华西口腔医学杂志，2006，24(5)：435-437.

[3] Löe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 1993, 16(1)：329-334.

[4] Mealey BL, Rethman MP. Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship[J]. Dent Today, 2003, 22(4)：107-113.

[5] Allen EM, Matthews JB, O'Connor R, et al. Periodontitis and type 2 diabetes：Is oxidative stress the mechanistic link[J]. Scott Med J, 2009, 54(2)：41-47.

[6] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia[J]. Kidney Int, 1996, 49(5)：1304-1313.

[7] Himmelfarb J, McMonagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia[J]. Kidney Int, 2001, 60(1)：358-363.

[8] Iwao Y, Anraku M, Hiraike M, et al. The structural and pharmacokinetic properties of oxidized human serum albumin, advanced oxidation protein products (AOPP)[J]. Drug Metab Pharmacokinet, 2006, 21(2)：140-146.

[9] Capeillère-Blandin C, Gausson V, Descamps BL, et al. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products[J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1689(2)：91-102.

[10] Naskalski JW, Mrcinkiewicz J, Drozdz R. Myeloperoxidase-mediated protein oxidation：Its possible biological functions[J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(5)：463-468.

[11] 孙岩，吴雄飞，金锡御．晚期氧化蛋白产物的分离纯化和鉴定[J]．第三军医大学学报，2006，28(10)：1084-1086.

[12] Witko-Sarsat V, Nguyen TK, Jungers P, et al. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia[J]. Nephrol Dial Transplant, 1999, 14(Suppl 1)：76-78.

[13] Witko-Sarsat V, Gausson V, Descamps-Latscha B. Are

advanced oxidation protein products potential uremic toxins[J]. Kidney Int Suppl, 2003(84):S11-S14.
[14] Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, et al. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease[J]. Atherosclerosis, 2002, 162(1):221-225.
[15] Vanholder R, Glorieux G, De RS, et al. New insights in uremic toxins[J]. Kidney Int Suppl, 2003(84):S6-S10.
[16] Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes[J]. Diabetes, 1991(4):405-412.
[17] Singh R, Barden A, Mori T, et al. Advanced glycation end-products: A review[J]. Diabetologia, 2001, 44(2):129-146.
[18] Ren L, Fu Y, Deng Y, et al. Advanced glycation end products inhibit the expression of collagens type Ⅰ and Ⅲ by human gingival fibroblasts[J]. J Periodontol, 2009, 80(7):1166-1173.
[19] Abou-Seif MA, Youssef AA. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients[J]. Clin Chim Acta, 2004, 346(2):161-170.
[20] Martín PG, Carrascosa A, Gussinyé M, et al. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications[J]. Free Radic Biol Med, 2003, 34(12):1563-1574.
[21] Nishimura F, Takahashi K, Kurihara M, et al. Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus[J]. Ann Periodontol, 1998, 3(1):20-29.
[22] Kowluru RA, Tang J, Kern TS. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experimental galactosemia. Ⅶ. Effect of long-term administration of antioxidants on the development of retinopathy[J]. Diabetes, 2001, 50(8):1938-1942.
[23] Yildirim Z, Uçgun NI, Kiliç N, et al. Antioxidant enzymes and diabetic retinopathy[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1100:199-206.
[24] Thomas MC, Forbes JM, Cooper ME. Advanced glycation end products and diabetic nephropathy[J]. Am J Ther, 2005, 12(6):562-572.
[25] Shi XY, Hou FF, Niu HX, et al. Advanced oxidation protein products promote inflammation in diabetic kidney through activation of renal nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase[J]. Endocrinology, 2008, 149(4):1829-1839.
[26] 邓雨泉, 付云, 苏小鹏, 等. 晚期蛋白氧化产物对人牙龈成纤维细胞增殖、凋亡及合成基质金属蛋白酶1的影响[J]. 中华口腔医学杂志, 2009, 44(5):270-273.
[27] Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT, et al. AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: A potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients[J]. Kidney Int, 2003, 64(1):82-91.
[28] Milward MR, Chapple IL, Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations[J]. J Nutr, 2007, 137(3):657-664.
[29] Kowluru RA, Koppolu P. Diabetes-induced activation of caspase-3 in retina: Effect of antioxidant therapy[J]. Free Radic Res, 2002, 36(9):993-999.
[30] Miyata T, Maeda K, Kurokawa K, et al. Oxidation conspires with glycation to generate noxious advanced glycation end products in renal failure[J]. Nephrol Dial Transplant, 1997, 12(2):255-258.
[31] Cameron NE, Cotter MA, Archibald V, et al. Anti-oxidant and pro-oxidant effects on nerve conduction velocity, endoneurial blood flow and oxygen tension in non-diabetic and streptozotocin-diabetic rats[J]. Diabetologia, 1994, 37(5):449-459.
[32] Nagamatsu M, Nickander KK, Schmelzer JD, et al. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress, and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy[J]. Diabetes Care, 1995, 18(8):1160-1167.
[33] Matsuo Y, Lal MA, Körner A, et al. Combined antioxidant and COMT inhibitor treatment reverses renal abnormalities in diabetic rats[J]. Diabetes, 2000, 49(8):1381-1389.

(本文编辑 汤亚玲)

(上接第676页)

[17] Harris DA, Jones AS, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 8. Volumetric analysis of root resorption craters after application of controlled intrusive light and heavy orthodontic forces: A microcomputed tomography scan study[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2006, 130(5):639-647.
[18] Liou EJ, Chang PM. Apical root resorption in orthodontic patients with en-masse maxillary anterior retraction and intrusion with miniscrews[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2010, 137(2):207-212.
[19] Murakami T, Yokota S, Takahama Y. Periodontal changes after experimentally induced intrusion of the upper incisors in Macaca fuscata monkeys[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 1989, 95(2):115-126.
[20] Erkan M, Pikdoken L, Usumez S. Gingival response to mandibular incisor intrusion[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2007, 132(2):143.e9-143.e13.
[21] Weiland FJ, Bantleon HP, Droschl H. Evaluation of continuous arch and segmented arch leveling techniques in adult patients—a clinical study[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 1996, 110(6):647-652.

(本文编辑 王晴)