

## · 口腔正畸学研究 ·

IL-1 $\beta$ 、MMP-2 在大鼠牙根吸收组织中的表达及意义

黄林\* 方威苏 曹君

(深圳市龙华区人民医院口腔科 广东 深圳 518109)

**[摘要]** 目的:分析白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)与大鼠牙根吸收组织吸收程度的相关性。方法:30只Wistar大鼠随机分为3组,每组10只。A组为空白对照组,不做处理,B组于右侧上颌切牙和第一磨牙间置持续性压低重力作用装置施以40g力,C组于相同位置施以100g力。组织学观察牙根吸收程度,并于加力前、加力1、7、14、21、28d后,采用酶联免疫法检测三组龈沟液IL-1 $\beta$ 、MMP-2。**结果:**HE染色显示A组未见明显牙根吸收,牙周膜纤维致密,排列规则;B组直接骨吸收,牙槽骨边缘可见成骨细胞呈立方状排列,成骨活跃;C组牙周纤维排列较紊乱,根分叉处牙根吸收,牙根吸收达牙本质层。施力前,3组IL-1 $\beta$ 、MMP-2水平比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );施力1d后,A组IL-1 $\beta$ 、MMP-2水平分别为(108.7 $\pm$ 7.25)mg/L、(658.3 $\pm$ 28.9) $\mu$ g/L,B组分别为(165.2 $\pm$ 12.4)mg/L、(702.3 $\pm$ 30.4) $\mu$ g/L,C组分别为(225.7 $\pm$ 16.4)mg/L、(845.7 $\pm$ 46.4) $\mu$ g/L,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),其中C组显著高于B组、A组,且于第7天达到高峰。**结论:**IL-1 $\beta$ 、MMP-2水平参与牙根吸收,对其进行监测有利于对牙根吸收诊断及防治工作提供新思路。

**[关键词]** 牙根吸收 动物模型 白介素-1 $\beta$  基质金属蛋白酶-2

**[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671—7651(2019)06—0604—04

**[doi]** 10.13701/j.cnki.kqxyj.2019.06.022

### Expression of Interleukin-1 $\beta$ and Matrix Metalloproteinase-2 in Periodontal Tissues of Rat during Root Resorption.

HUANG Lin\*, FANG Wei-su, CAO Jun. Department of Stomatology, The People's Hospital of Longhua District, Shenzhen 518109, China.

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the expression of interleukin-1 $\beta$  and matrix metalloproteinase-2 in the periodontal tissues of rat during root resorption. **Methods:** Thirty Wistar rats were randomly divided into three groups, each with ten rats. Group A was the blank control group, and no treatment was done. Group B was applied 40g force on the right upper incisor and the first molar, and group C was applied 100g force at the same position. The degree of root absorption of the teeth was observed by histologically. Before and after 1, 7, 14, 21, and 28 days, interleukin-1 $\beta$  and matrix metalloproteinase-2 of gingival crevicular fluid were detected by enzyme-linked immunoassay. **Results:** HE staining showed no obvious root absorption in group A, with dense periodontal membrane fibers and regular arrangement and bone resorption in group B, and the osteoblasts were cubic arranged at the margin of alveolar bone. In group C, periodontal fibers were disordered, and the root was absorbed at the bifurcation point and absorbed to the dentin layer. Before applying the force, there was no statistically significant difference in expression of interleukin-1 $\beta$  and matrix metalloproteinase-2 among three groups ( $P>0.05$ ). After 1 day of force application, interleukin-1 $\beta$  and matrix metalloproteinase-2 levels in group A were (108.7 $\pm$ 7.25)mg/L and (658.3 $\pm$ 28.9) $\mu$ g/L, (165.2 $\pm$ 12.4)mg/L, and (702.3 $\pm$ 30.4) $\mu$ g/L in group B, (225.7 $\pm$ 16.4)mg/L and (845.7 $\pm$ 46.4) $\mu$ g/L in group C. The differences were statistically significant ( $P<0.05$ ), and group C was significantly higher than group B and group A, reaching peak on the 7th day. **Conclusion:** The levels of interleukin-1 $\beta$  and matrix metalloproteinase-2 are involved in root resorption, and monitoring them can provide new ideas for root resorption diagnosis and prevention.

**[Key words]** Root absorption Animal models Interleukin-1 $\beta$  Matrix metalloproteinase-2

牙根吸收是正畸治疗过程中由于局部牙周膜(根的保护组织)受到机械或化学的破坏压缩产生根吸收,其会导致成纤维细胞增殖,成骨细胞分化,最终导致组织无菌坏死,引起牙齿冠根比例失调,甚至

基金项目 深圳市龙华新区公益科研项目(编号:2013038)

作者简介 黄林(1977~),女,安徽怀宁人,硕士,主治医师,主要从事口腔临床治疗工作。

\* 通讯作者 黄林, E-mail: qiujiang2013@126.com

松动脱落<sup>[1]</sup>。目前, X 线检查是牙根吸收的检查、诊断的主要方法, 但是其只能提供二维的信息来判断根尖变化, 并且只有在矿化组织丧失 60%~70% 时才能发现牙根吸收, 因此, 如何早期发现牙根吸收成为临床亟待解决的问题<sup>[2]</sup>。研究表明, 正畸力所导致的牙根吸收具有炎症反应的所有特征, 而基质金属蛋白酶(MMPs)家族是一组二价金属阳离子依赖性的细胞外蛋白溶解酶, 其表达和活性的增加与炎症、氧化应激有关<sup>[3]</sup>, 基于这一点, 本次研究主要对 IL-1 $\beta$ 、MMP-2 与大鼠牙根吸收组织吸收程度的相关性进行研究, 旨在为牙根吸收早期诊断提供依据。现报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 试剂及仪器 南京德铁 HBS-1096C 酶标仪、北京普天 PT-9602 全自动洗板机, 试剂盒由上海博湖生物科技发展有限公司; 日本 OLYMPUS 光学株式会社光学显微镜。人结肠腺癌细胞株 LS174T、人结肠癌细胞 SW480 由中国科学院上海细胞库提供。

1.2 动物分组及模型构建 SPF 级 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体重(200 $\pm$ 20) g, 由实验中心提供。实验前至少饲养一周以适应环境。随机分为 3 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 3 组大鼠一般资料无明显统计学差异, 可进行分组比对。A 组为空白对照组, 不做处理, B 组于右侧上颌切牙和第一磨牙间置持续性压低重力作用装置施以 40 g 力, C 组于相同位置施以 100 g 力。

1.3 观察指标 于加力前(0 d)、加力 1、7、14、21、

28 d 后, 根据 Lamste 描述的滤纸条称重法收集龈沟液样本后, 采用酶联免疫吸附试验进行 IL-1 $\beta$ 、MMP-2 检测。比较 3 组不同时间点龈沟液 IL-1 $\beta$ 、MMP-2 水平。于加力 28 d 后, 取 3 组上颌磨牙区及其周围牙槽骨组织, 立即放入足够适量的 10% 中性甲醛溶液固定室温下固定 48 h, 用 10% EDTA 脱钙液进行脱钙 60 d, 常规石蜡包埋切片, 采用二甲苯各 10 min、100%、85%、70% 的乙醇各 3 min 将石蜡切片脱蜡至水化, DAB 显色, 苏木素复染, 1% 盐酸酒精分色 30 s, 自来水冲洗反蓝, 酒精和二甲苯梯度脱水, 透明后使用中性和树胶封片观察。

1.4 统计学处理 使用统计软件 SPSS 17.0 对本研究的相关指标数据进行分析处理, 计量资料且呈正态分布, 以  $\bar{x} \pm s$  表示, 3 组及以上比较采用 *F* 检验, 两组间的比较采用 Post-Hoc 检验; 计数资料采用四表格卡方( $\chi^2$ )检验, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3 组组织学结果分析 A 组未见明显牙根吸收, 牙周膜纤维致密, 排列规则; B 组直接骨吸收, 牙槽骨边缘可见成骨细胞呈立方状排列, 成骨活跃; C 组牙周纤维排列较紊乱, 根分叉处牙根吸收, 牙根吸收达牙本质层。3 组 HE 染色结果见图 1。

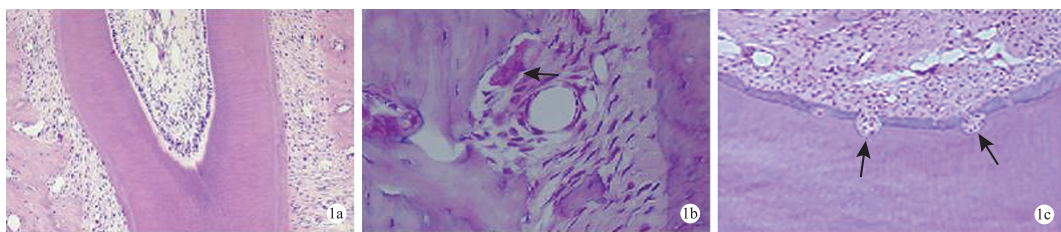
2.2 3 组不同时间点 IL-1 $\beta$  水平分析 施力前, 3 组 IL-1 $\beta$  水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 施力后, 3 组 IL-1 $\beta$  水平比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 其中 C 组显著高于 B 组、A 组, 且于第 7 天达到高峰。见表 1。

表 1 3 组不同时间点 IL-1 $\beta$  水平分析

Tab. 1 Analysis of IL-1 $\beta$  levels at different time points in three groups

组别	第 0 天	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
A 组	109.1 $\pm$ 7.46	108.7 $\pm$ 7.25	109.2 $\pm$ 7.50	108.2 $\pm$ 7.84	108.5 $\pm$ 7.55	109.4 $\pm$ 7.12
B 组	110.2 $\pm$ 7.94	165.2 $\pm$ 12.4 <sup>*1*3</sup>	216.6 $\pm$ 19.8 <sup>*1*3</sup>	207.4 $\pm$ 15.7 <sup>*1*3</sup>	204.2 $\pm$ 16.4 <sup>*1*3</sup>	205.9 $\pm$ 15.8 <sup>*1*3</sup>
C 组	108.9 $\pm$ 7.69	225.7 $\pm$ 16.4 <sup>*1*2*3</sup>	315.0 $\pm$ 21.6 <sup>*1*2*3</sup>	286.9 $\pm$ 18.4 <sup>*1*2*3</sup>	287.3 $\pm$ 17.5 <sup>*1*2*3</sup>	285.2 $\pm$ 18.3 <sup>*1*2*3</sup>
<i>F</i> 值	0.443	12.030	19.875	11.476	10.287	9.793
<i>P</i> 值	0.517	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 与 A 组比较, \*1  $P < 0.05$ , 与 B 组比较, \*2  $P < 0.05$ ; 与同组第 0 天比较, \*3  $P < 0.05$



1a: A 组( $\times 100$ ); 1b: B 组( $\times 400$ ); 1c: C 组( $\times 200$ )

图 1 3 组苏木精-伊红染色结果

Fig. 1 HE staining results of three groups.

表 2 3组不同时间点 MMP-2 水平分析

Tab. 2 Analysis of MMP-2 levels at different time points in three groups

mg/L,  $\bar{x} \pm s$ 

组别	第 0 天	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
A 组	659.5 ± 29.4	658.3 ± 28.9	657.6 ± 29.5	656.9 ± 28.1	657.1 ± 28.6	656.5 ± 29.1
B 组	662.3 ± 28.1	702.3 ± 30.4 <sup>*1*3</sup>	847.6 ± 45.3 <sup>*1*3</sup>	816.9 ± 39.4 <sup>*1*3</sup>	817.1 ± 39.0 <sup>*1*3</sup>	816.5 ± 38.2 <sup>*1*3</sup>
C 组	660.1 ± 28.7	845.7 ± 46.4 <sup>*1*2*3</sup>	984.2 ± 60.7 <sup>*1*2*3</sup>	876.3 ± 52.8 <sup>*1*2*3</sup>	872.9 ± 53.5 <sup>*1*2*3</sup>	874.3 ± 52.9 <sup>*1*2*3</sup>
F 值	0.102	15.023	20.398	12.774	10.245	11.781
P 值	0.784	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 A 组比较, \* 1  $P < 0.05$ , 与 B 组比较, \* 2  $P < 0.05$ ; 与同组第 0 天比较, \* 3  $P < 0.05$

2.3 3组不同时间点 MMP-2 水平分析 施力前, 3组 MMP-2 水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 施力后, 3组 MMP-2 水平比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中 C 组显著高于 B 组、A 组, 且于第 7 天达到高峰。见表 2。

### 3 讨论

牙颌畸形是口腔科常见的病种之一, 随着饮食结构的改变, 牙齿拥挤、深覆盖等牙颌畸形发生率逐渐升高, 而正畸治疗采用矫治器等各种矫治装置以最小范围地移动牙齿能够改善患者咀嚼功能及面部美观备受临床及患者青睐<sup>[4]</sup>。研究表明, 正畸治疗患者由于遗传、个体敏感性、牙根解剖外形、年龄、性别、口腔不良习惯以及牙齿发育情况等因素影响, 当正畸力作用于牙齿压迫牙周膜使其产生透明样变, 牙周膜的变化会使牙骨质受到影响, 张力侧牙槽骨的內面成骨细胞活动, 有新骨沉积, 诱发变短性的牙根吸收, 其是正畸治疗后常见并发症<sup>[5]</sup>, 流行病学调查显示, 其发生率高达 22%~100%, 2%~5% 的患者发生严重的根尖吸收 (超过 5 mm)<sup>[6]</sup>。牙根吸收使牙周组织的微循环被扰乱, 进而导致组织无菌坏死, 可导致牙根尖变钝变短, 引起牙齿冠根比例失调, 甚至松动脱落, 对于发生牙根吸收的患者, 主要采用暂停治疗, 将牙齿被动结扎 2~3 个月或者给予低强度的脉冲超声治疗进行修复干预, 但是如何早期诊断牙根吸收成为亟待解决的问题。

目前, 牙根吸收的诊断主要采用影像学检查, 如疗程长者及拔牙病例每 6 个月则需拍摄 1 次 X 线片, 但是其只有在矿化组织丧失 60%~70% 时才能发现牙根吸收, 耽误了最佳治疗时机。IL-1 $\beta$  基因调控的 IL-1 $\beta$  属于非特异性免疫的组成机制部分, 在炎症反应中具有重要作用, 与炎症反应程度呈正相关性, 其主要由巨噬细胞、T 细胞、B 细胞等多种细胞产生, 作为机体出现急性炎症反应的标志物, 其对巨噬细胞等炎性细胞具有调理诱导作用, 可诱导巨噬细胞完成吞噬功能, 并刺激单核细胞以及相关炎性因子表达并完成免疫诱导功能, 能够调控破牙

骨质细胞前体分化、成熟的破骨细胞分化因子和破骨细胞活化因子、巨噬细胞集落刺激因子, 参与矿化的启动, 作为调节因子在前期牙本质向牙本质的转化过程中的某些方面发挥作用<sup>[7-10]</sup>。研究表明, IL-1 $\beta$  基因对于牙根吸收有一种重要的诱惑作用<sup>[11]</sup>, 本研究结果显示施力前, 3组 IL-1 $\beta$  水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 施力后, 3组 IL-1 $\beta$  水平比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中 C 组显著高于 B 组、A 组, 且于第 7 天达到高峰, 表明 IL-1 $\beta$  作为炎症因子参与了牙根吸收的发生过程, 随着施加压力的增大而升高, 对于牙根吸收程度具有指示作用, 可能与其调控破骨细胞/破牙骨质细胞的激活, 导致相对低的骨代谢吸收而增加牙根吸收, 进而参与骨改建、根吸收紧密相关。

MMPs 家族是参与细胞外基质转化的重要成分, 近些年来, 基质金属蛋白酶, 尤其是 MMP-2 在牙根吸收中作用日益受到重视。牙根吸收是一个组织降解、吸收的过程, MMP-2 存在于成纤维细胞、成骨细胞和成牙骨质细胞, MMP-2 与结缔组织的降解和重建有关, 对胞外基质的降解起着主导作用, 被认为是牙根吸收发生、发展过程中重要的因子, 牙周膜的生长与分化受其影响<sup>[3,12-14]</sup>。本研究结果显示施力前, 3组 MMP-2 水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 施力后, 3组 MMP-2 水平比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中 C 组显著高于 B 组、A 组, 且于第 7 天达到高峰, 表明定量检验 MMP-2 作为诊断牙根吸收的标准, 且 MMP-2 可能反映牙周病大鼠牙根吸收的程度。此外, HE 染色结果显示, 第 28 天, A 组未见明显牙根吸收, 牙周膜纤维致密, 排列规则, B 组直接骨吸收, 牙槽骨边缘可见成骨细胞呈立方状排列, 成骨活跃, C 组牙周纤维排列较紊乱, 根分叉处牙根吸收, 牙根吸收达牙本质层, IL-1 $\beta$ 、MMP-2 水平与其相一致。目前, 临床上对于牙根吸收模型众多<sup>[15]</sup>, 本研究对大鼠上颌前牙施加持续性压低重力, 组织学结果证实引起直接性骨吸收或者不同程度的牙根吸收, 提示该模型有助于纵

向研究牙根吸收的发生机制和发展变化。

综上所述,IL-1 $\beta$ 、MMP-2 水平参与牙根吸收,对其进行监测有利于对牙根吸收诊断及防治工作提供新思路。

### 参考文献

- [1] 李翀乾,刘继光. 正畸治疗中牙根吸收影响因素的研究进展[J]. 北京口腔医学,2018,26(3):178-181.
- [2] 程涛. 口腔正畸治疗中牙根吸收的研究进展[J]. 临床口腔医学杂志,2016,32(1):59-61.
- [3] 王月,王明洁,常悦,等. 牙周病大鼠正畸源性牙根吸收和 MMP-9 表达的观察[J]. 郑州大学学报(医学版),2015,50(3):381-384.
- [4] 梁昌富,陈国新,肖秀凤,等. 正畸治疗对下颌髁突肥大术后颞下颌关节的影响[J]. 口腔医学研究,2018,34(8):870-875.
- [5] 张静. 基质金属蛋白酶及其抑制剂与正畸源性牙根吸收的研究进展[J]. 中国美容医学,2017,26(2):132-135.
- [6] 杨亚欣,杨亚普,王晨曦,等. 成人上颌牙牙根吸收及牙槽骨改建的 CBCT 分析[J]. 郑州大学学报(医学版),2016,51(6):795-798.
- [7] 张攀,任伯义,季洪超,等. 牙龈环切辅助牙周炎患牙正畸施压前后龈沟液中 IL-1 $\beta$ 、PGE-2 水平的变化[J]. 临床合理用药杂志,2015,5(22):169-170.
- [8] 罗瑜. 盐酸米诺环素软膏对慢性根尖周炎患者血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平的影响[J]. 现代医药卫生,2017,33(16):2451-2453.
- [9] 张攀,任伯义,季洪超,等. 牙龈环切辅助牙周炎患牙正畸的疗效及施压前后龈沟液中 IL-1 $\beta$ 、PGE2 水平的变化[J]. 临床合理用药杂志,2015,8(1):138-139.
- [10] 吴雅琴,胥春. 炎症体及相关蛋白在力诱导牙周炎症反应中的作用[J]. 医用生物力学,2015,30(5):474-478.
- [11] 张振华,张晓惠,张玥,等. 纤维桩和金属桩修复后龈沟液中炎症因子和蛋白酶含量、氧化应激程度的测定[J]. 海南医学院学报,2016,22(14):1607-1610.
- [12] 刘红,卢军,张真,等. MMP-2 和 TIMP-2 参与大鼠实验性正畸牙齿移动及牙根吸收机制的研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志,2017,27(7):382-386.
- [13] 周嵩琳. 牙周病大鼠牙组织中 MMP-9 表达水平及与牙根吸收程度的关系[J]. 中国老年学杂志,2017,37(12):2887-2889.
- [14] 谷冬华,王宝彦. 成人正畸牙周炎患者龈沟液内 PAK5、MMP-2 的检测与研究[J]. 陕西医学杂志,2015,44(12):1592-1594.
- [15] 尹鹏,唐茜,杨四维,等. 正畸性牙根吸收的研究进展[J]. 西南军医,2015,17(1):50-52.

[收稿日期:2018-10-09]

(本文编辑 李四群)

## 《口腔医学研究》口腔修复专刊征稿通知

《口腔医学研究》是武汉大学口腔医学院主办的中文核心期刊,是中国科技论文统计源期刊,入编《中文核心期刊要目总览》。为及时发布口腔修复研究成果,促进口腔修复研究学科发展,《口腔医学研究》拟于2020年3月出版一期口腔修复专刊(正刊),现特向各单位征集稿件。稿件可为口腔修复相关的专家述评、综述、研究论著和病例报告(仅限有基金支持的病例)。稿件具体要求请参见《口腔医学研究》杂志官网(www.kqxyj.com)或扫描杂志封面二维码)稿约要求。投稿人请将正式稿件经杂志官网投稿,我们将择优录用。稿件征集截止日期2019年12月30日。请务必在稿件题目后注明“口腔修复专刊投稿”字样。