

2 型糖尿病患者龈沟液中基质金属蛋白酶-3 的检测和临床意义

丁 岩^{1*}, 林 杰², 凌 厉¹, 卜瑞芳³

(¹南京医科大学附属无锡精神卫生中心口腔科, 江苏 无锡 214151; ²解放军第 101 医院检验科, 江苏 无锡 214044; ³无锡市人民医院内分泌科, 江苏 无锡 214023)

[摘要] 目的: 比较 2 型糖尿病患者、牙周病患者与健康者龈沟液中基质金属蛋白酶-3(MMP-3)和龈沟液量, 以及 2 型糖尿病患者龈沟液中 MMP-3 含量与糖代谢状况的关系。方法: 使用滤纸条法采集龈沟液, 2 型糖尿病患者、牙周病患者和全身健康者各 30 例; 用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定龈沟液中 MMP-3 含量; 运用高效液相色谱原理测定 2 型糖尿病患者的糖化血红蛋白(HbA1c)水平。结果: 糖尿病组和牙周病组龈沟液量显著高于正常对照组($P < 0.01$), 糖尿病组龈沟液量显著高于牙周病组($P < 0.01$)。牙周病组龈沟液中 MMP-3 含量显著高于正常对照组($P < 0.01$), 糖尿病组与正常对照组龈沟液中 MMP-3 含量之间的差异无统计学意义($P > 0.01$)。糖尿病合并牙周病组龈沟液中 MMP-3 含量与 HbA1c 水平无显著直线相关性。结论: 龈沟液 MMP-3 含量不是单一的信息分析与单一抑制分子简单作用, 而是多因素综合作用的结果, 所以还需深入研究。

[关键词] 2 型糖尿病; 牙周病; 龈沟液; 基质金属蛋白酶-3

[中图分类号] R587.1, R781.4

[文献标识码] B

[文章编号] 1007-4368(2012)02-273-03

糖尿病现在已成为继心血管和肿瘤之后, 第 3 位威胁人类健康和生命的非传染性慢性病^[1]。糖尿病有很多并发症, 牙周病就是其中之一。大量研究表明, 糖尿病与牙周病之间是双向关系, 存在共同危险因素, 且互为高危因素^[2]。在牙周病的发生发展过程中, 基质金属蛋白酶家族 (matrix metalloproteinases, MMPs) 起着重要的作用。MMP-3 属于基质溶解素, 能够剪切其他类型 MMPs, 使之由酶原形式转化为活性 MMPs, 引起牙槽骨的吸收和改建, 对于牙周炎症的加重起重要作用^[3]。本实验对糖尿病患者龈沟液中的 MMP-3 含量进行检测, 同时测定了糖尿病患者糖化血红蛋白(HbA1c)浓度, 分析糖尿病患者与正常人龈沟液中 MMP-3 含量的差异以及 MMP-3 含量与反应糖代谢控制状况的 HbA1c 浓度的相互关系, 探讨 2 型糖尿病患者的牙周病易感性。

1 对象与方法

1.1 对象

选取在无锡市人民医院内分泌科住院且同意参加本研究的 2 型糖尿病患者 30 例, 其中男 17 例, 女 13 例, 年龄 32~75 岁。受检者符合以下条件:

①根据中华医学会糖尿病学分会建议我国人群中采用 WHO(1999)的诊断标准, 被诊断为 2 型糖尿病至少 6 个月以上; ②无其他全身疾病; ③一直采用口服降糖药物或注射胰岛素治疗, 近期病情没有变化; ④妇女未妊娠; ⑤龈沟深度 ≤ 2 mm, 龈沟探诊不出血, 无明显牙龈退缩, 牙颈部无龋坏和充填体。每位患者选取 2 颗第一磨牙。

牙周病组病例来自无锡市精神卫生中心口腔科就诊且同意参加本研究的患者, 按《牙周病学》(人民卫生出版社, 曹采方主编, 2003 年第 2 版)诊断标准确诊为慢性中重度牙周病患者 30 例, 其中男 16 例, 女 14 例, 年龄 18~65 岁。受检者符合以下条件: ①无系统性全身疾病; ②近 3 个月未使用过抗生素及免疫抑制剂; ③近 6 个月未做过公认的牙周基础治疗 (包括全口龈上洁治和全口龈下刮治) 且未进行过牙周药物及牙周手术治疗; ④妇女未妊娠。每位患者选取 1 颗颊侧至少有 1 个位点的牙周袋探诊深度 ≥ 4 mm, 且牙颈部无龋损和充填体的第一磨牙或第二磨牙。

对照组选择自无锡市精神卫生中心口腔科就诊患者中同意参加本实验的牙周健康者 30 例, 其中男 15 例, 女 15 例, 年龄 18~65 岁。受检者符合以下条件: ①无系统性全身疾病; ②近 3 个月未使用抗生素及免疫抑制剂; ③近 6 个月未做过公认的牙周基础治疗 (包括全口龈上洁治和全口龈下刮治)

[基金项目] 南京医科大学科技发展基金面上项目 (2010NJMU137)

*通讯作者, E-mail: dingyan2202@yahoo.cn

且未进行过牙周药物及手术治疗；④妇女未妊娠；⑤龈沟深度 ≤ 2 mm, 龈沟探诊不出血, 无明显牙龈退缩, 牙颈部无龋坏和充填体。每位选取 2 颗第一磨牙。

1.2 方法

1.2.1 样本的采集

Whatman 专用滤纸(Whatman 公司, 英国)裁成 2 mm × 8 mm 大小, 高压消毒、烘干、称重。隔湿, 擦干牙面后将滤纸插入待测牙的龈沟内, 停留 60 s 取出, 再次称重, 与采集前重量相减即为龈沟液重量, 用相对质量浓度换算成体积。滤纸用 1%PBS 离心洗提, 取上清液, 保存于 -70℃ 冰箱, 待测。

1.2.2 MMP-3 测定

试剂为武汉博士德生物工程有限公司产品(MMP-3 ELISA 试剂盒)。应用 ELISA 方法在解放军第 101 医院检验科完成检测, 检测步骤严格按产品说明书进行。

1.2.3 HbA1c 的测定

使用美国 Bio-Rad 公司生产的全自动 HbA1c 分析仪 Variant II, 运用高效液相色谱原理测定 2 型糖尿病患者的 HbA1c 水平。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。结果以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用方差分析, 变量之间关系采用直线相关分析, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

牙周病组龈沟液中 MMP-3 含量显著高于对照组 ($P < 0.01$), 糖尿病组与对照组龈沟液中 MMP-3 含量之间的差异无统计学意义 ($P > 0.01$)。糖尿病组和牙周病组在一定时间内龈沟液的量也显著高于正常对照组 ($P < 0.01$), 糖尿病组龈沟液的量显著高于牙周病组 ($P < 0.01$, 表 1)。糖尿病组龈沟液中 MMP-3 含量与 HbA1c 水平无显著相关性 ($P > 0.05$)。

表 1 各组 MMP-3 含量、龈沟液量及 HbA1c 检测结果
($n=30, \bar{x} \pm s$)

组别	MMP-3(pg)	龈沟液量(μl)	HbA1c(%)
糖尿病组	19.55 ± 3.05 [△]	2.81 ± 1.58* [△]	8.52 ± 1.96
牙周病组	70.02 ± 9.63*	3.56 ± 2.96*	
对照组	13.40 ± 1.60	1.02 ± 0.65	

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与牙周病组比较, [△] $P < 0.01$ 。

糖尿病组再分为 2 个亚组, 血糖控制较好组 (HbA1c < 8%) 与血糖控制不良组 (HbA1c ≥ 8%) 的

MMP-3 含量相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 2)。

表 2 糖尿病组 MMP-3 及 HbA1c 水平比较

($\bar{x} \pm s$)			
糖尿病患者分组	n	MMP-3(pg)	HbA1c(%)
HbA1c ≥ 8%	18	16.96 ± 7.43	9.72 ± 1.30
HbA1c < 8%	12	21.62 ± 4.77	6.92 ± 0.75

3 讨论

糖尿病和牙周病关系的研究表明, 糖尿病本身不引发牙周病, 但是可增加牙周病的发病风险。国内外的动物实验表明糖尿病有缩短引起实验性牙周病时间和加重牙周组织破坏程度的作用, 但不直接引起牙周病^[4]。糖尿病通过影响机体糖代谢等因素, 降低机体的愈合能力和抗感染力, 使牙周组织易为细菌和其他病原体感染破坏, 从而表现为糖尿病人群中牙周病的高发生率。

MMPs 是一类酶活性中心含有二价锌离子的蛋白水解酶家族, 对细胞外基质有特异的降解作用, 它不仅参与许多正常的生理性组织改建, 在很多病理性的组织破坏和重建中也具有重要作用, 如牙周炎等^[5]。MMP-3 在牙周炎症过程中, 由破骨细胞、破牙骨质细胞、牙周膜成纤维细胞分泌, MMPs 的活性可以提示牙周炎症的严重程度^[6]。龈沟液是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的, 牙周炎症时龈沟液的量明显增加。

本实验结果表明, 牙周病组龈沟液中 MMP-3 含量显著高于正常对照组, 糖尿病组龈沟液中 MMP-3 含量高于对照组, 但差异无统计学意义。对于牙周病患者, 某些牙周病致病菌能刺激多形核中性粒细胞 (PMN)、成纤维细胞、巨噬细胞和角质细胞产生 MMP-3, 与此同时, 这些细胞还能产生纤维蛋白溶解酶原激活物, 将纤维蛋白酶原转化为纤维蛋白酶, 继而激活潜在形式的 MMPs 降解细胞外基质^[7], 所以牙周病患者龈沟液中 MMP-3 含量显著高于牙周正常人。糖尿病可影响胶原的合成、成熟和降解, 甚至影响胶原分子本身的结构, 胶原的溶解和破坏, 这些都是牙周病进程中的主要环节。高糖血症可以抑制牙周韧带中成纤维细胞和成骨细胞的活性^[8], 但是在牙周健康的情况下, 本实验结果显示糖尿病患者与正常人龈沟液中 MMP-3 含量的差异并无统计学意义。可能原因是, 细胞外基质在维持正常组织结构与功能中起重要作用, 它不是静止不动的, 而是处在不断代谢更新、降解重塑的动态平衡之中。

其中 MMPs 及其抑制因子(TIMPs)两个酶系统的调节作用非常重要,所以可能是调节系统在起作用^[9-10]。同时也可能是本实验选取的糖尿病组患者糖代谢水平并不高,且参加实验的患者数量不够大,故需要增大样本量继续深入研究探讨。

本实验的结果中糖尿病组和牙周病龈沟液量显著高于正常对照组。龈沟液的产生模式是微血管系统内液体经内皮细胞渗入细胞间,形成细胞间液,再通过淋巴管回吸收。糖尿病组可能由于血糖浓度增高影响了正常的血流,造成组织缺氧、血管内皮损伤,内皮细胞肿胀、增生,基底膜灶性断裂使管壁通透性改变。糖尿病高血糖还引起特征性微血管改变(基底膜增厚)以及早期特有的血流动力学紊乱,以上由高血糖引起的改变都可以使龈沟液的量增加。对于牙周病患者,从生物学角度看,牙周组织炎症时龈沟内含有的菌斑微生物产生一定量的大分子产物,聚集于基底膜,从而产生了持续的渗透梯度,形成了龈沟液的流动,增加了龈沟液的产生量。从组织病理学角度看,牙周组织炎症时龈沟上皮和结合上皮下的毛细血管渗透性明显增加,结缔组织水肿,上皮间隙增宽,使得龈沟液的量增加。研究结果还发现,牙周病组龈沟液量显著高于糖尿病组,主要就是因为牙周炎症的存在。

本研究结果还显示糖尿病组患者龈沟液中 MMP-3 含量与 HbA1c 无显著相关性,且血糖控制较好和血糖控制不良的糖尿病患者 MMP-3 含量也没有显著性差异。这可能是因为糖尿病患者的血糖控制受很多因素影响,如饮食控制、牙周炎症、日常运动等,由于糖尿病和牙周病都属于慢性疾病,因此糖尿病病程长短和总的代谢量将会影响到糖尿病患者龈沟液中 MMP-3 含量与 HbA1c 的相关性^[11-12]。

综上所述,本实验中糖尿病组龈沟液中 MMP-3 含量只是从数值上升高,并无统计学意义,糖尿病患者 MMPs 系统不是单一的信息分析与单一抑制分子简单作用,而是多因素综合作用的结果,所以还需进行深入研究。龈沟液量增加提示了糖尿病患者牙周病的易感性,所以糖尿病患者在控制血糖的同时要特别注重口腔卫生,要采取有力控制牙菌斑的措施,如增加每天刷牙次数、正确使用牙线、牙间

隙刷等,并定期进行牙周检查,维护牙周组织的健康,以降低罹患牙周病的风险。

[参考文献]

- [1] 何春环. 牙周病与糖尿病的关系 [J]. 北京口腔医学, 2004, 12(3): 175
- [2] 郑 虹, 苏本利. 牙周病与糖尿病的关系 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2011, 31(3): 203-205
- [3] 沈敏华, 束 蓉. 基质金属蛋白酶与牙周病关系的研究进展 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2007, 17(1): 44-49
- [4] Loos BG, Tjoa S. Host - derived diagnostic markers for periodontitis; do they exist in gingival crevice fluid [J]. Periodontol 2000, 2005, 39(1): 53-72
- [5] 张 琳, 吴亚菲. 糖尿病与牙周病相关机制的研究进展 [J]. 国际口腔医学杂志, 2008, 35(3): 295-300
- [6] Ganea E, Trifan M, Laslo AC, et al. Matrix metalloproteinases; useful and deleterious [J]. Biochem Soc Trans, 2007, 35 (4): 689-691
- [7] Feldman M, La VD, Lombardo Bedran TB, et al. Porphyromonas gingivalis-mediated shedding of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) by oral epithelial cells; a potential role in inflammatory periodontal disease [J]. Microbes Infect, 2011, 13 (14): 1261 - 1269
- [8] Tuter G, Kurtis B, Serdar M, et al. Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 [J]. J Clin Periodontol, 2005, 32(2): 1011-1015
- [9] 王万春, 吴 宁, 陈 青. 糖基化终产物对人牙周膜细胞 MMP-3 及 TIMP-1 表达的影响 [J]. 临床口腔医学杂志, 2009, 25(1): 36-39
- [10] Alpagot T, Bell C, Lundergan W, et al. Longitudinal evaluation of GCF MMP-3 and TIMP-1 levels as prognostic factors for progression of periodontitis [J]. J Clin Periodontol, 2001, 28(4): 353-359
- [11] Zeldich E, Koren R, Dard M, et al. Enamel matrix derivative induces the expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-3 in human gingival fibroblasts via extracellular signal-regulated kinase [J]. J Periodontal Res, 2010, 45(2): 200-205
- [12] 阳 琰, 高 琳, 郝 涛, 等. 糖尿病合并牙周病与糖脂代谢的关系 [J]. 重庆医学, 2011, 40(5): 443-446

[收稿日期] 2011-08-04