

# 慢性牙周炎患者唾液中 miR-1246 的表达及其临床意义

姚伟莉, 袁 静, 耿 彪, 王丽丽, 韩明明 (保定市第二中心医院检验科, 河北涿州 072750)

**摘要:** **目的** 探讨慢性牙周炎 (CP) 患者唾液中 miR-1246 的表达及其临床意义。 **方法** 选取 2017 年 1 月~2019 年 5 月保定市第二中心医院收治的 94 例 CP 患者作为 CP 组和 50 例体检正常者作为对照组。CP 患者分为轻度牙周炎组 ( $n=23$ ), 中度牙周炎组 ( $n=37$ ) 和重度牙周炎组 ( $n=35$ ), 检测各组唾液中 miR-1246 的表达水平。对 CP 患者进行牙周基础治疗, 分别检测治疗前和治疗 6 周后患者唾液中 miR-1246 的表达水平, 并检查牙周探诊深度 (PD), 附着丧失 (AL), 菌斑指数 (PLI) 和出血指数 (BI) 各项牙周临床指标。采用 Pearson 相关分析 CP 患者 miR-1246 表达水平与 PD, AL, PLI 及 BI 的相关性。 **结果** CP 组唾液中 miR-1246 表达水平明显高于对照组 ( $7.28 \pm 2.56$  vs  $3.52 \pm 1.14$ ), 差异有统计学意义 ( $t=16.294$ , 均  $P<0.01$ )。重度组唾液中 miR-1246 表达水平均明显高于中度组和轻度组 ( $10.47 \pm 3.38$  vs  $7.38 \pm 2.70$ ,  $4.24 \pm 1.30$ ), 差异有统计学意义 ( $t=13.516, 21.482$ ,  $P<0.01$ )。CP 患者治疗后唾液中 miR-1246 表达水平明显低于治疗前 ( $4.75 \pm 1.61$  vs  $7.28 \pm 2.56$ ), 差异有统计学意义 ( $t=10.490$ ,  $P<0.01$ )。CP 患者治疗后 PD ( $2.84 \pm 0.72$  mm vs  $5.16 \pm 1.30$  mm), AL ( $3.08 \pm 0.64$  mm vs  $5.62 \pm 1.15$  mm), PLI ( $1.13 \pm 0.28$  vs  $2.62 \pm 0.41$ ) 及 BI ( $2.95 \pm 0.58$  vs  $1.64 \pm 0.47$ ) 均明显低于治疗前, 差异均有统计学意义 ( $t=8.742\sim 10.873$ , 均  $P<0.01$ )。相关分析显示, 治疗前后 CP 患者 miR-1246 表达水平与 PD, AL, PLI 及 BI 均呈正相关 ( $r=0.592\sim 0.874$ , 均  $P<0.01$ )。 **结论** CP 患者唾液中 miR-1246 表达水平明显升高, 治疗后明显下降, 其表达水平与 CP 严重程度和牙周炎临床指标密切相关, 有望为 CP 的防治提供新的思路。

**关键词:** 慢性牙周炎; miR-1246

中图分类号: R781.42; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 01-065-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.01.017

## Expression of miR-1246 in Saliva of Patients with Chronic Periodontitis and Its Clinical Significance

YAO Wei-li, YUAN Jing, GENG Biao, WANG Li-li, HAN Mingming

(Department of Clinical Laboratory, the Second Central Hospital of Baoding, Hebei Zhuozhou 072750, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression of miR-1246 in saliva of patients with chronic periodontitis (CP) and its clinical significance. **Methods** 94 CP patients admitted to the Second Central Hospital of Baoding City from January 2017 to May 2019 were selected as the CP group and 50 normal patients as the control group. Patients with CP were divided into mild periodontitis group ( $n=23$ ), moderate periodontitis group ( $n=37$ ) and severe periodontitis group ( $n=35$ ). The expression level of miR-1246 in saliva of each group was detected. The CP patients were treated with periodontal basic therapy, and the expression level of miR-1246 in saliva of the patients before and after treatment was detected respectively, and the periodontal clinical indicators of depth of exploration (PD), loss of attachment (AL), plaque index (PLI) and bleeding index (BI) were examined. Pearson correlation were used to analyze the correlation between the expression of miR-1246 and PD, AL, PLI and BI in patients with CP. **Results** The expression level of miR-1246 in saliva of CP group was significantly higher than that of control group ( $7.28 \pm 2.56$  vs  $3.52 \pm 1.14$ ,  $t=16.294$ ,  $P<0.01$ ). The expression level of miR-1246 in saliva of severe group ( $10.47 \pm 3.38$  vs  $7.38 \pm 2.70$ ,  $4.24 \pm 1.30$ ) were significantly higher than that of moderate group and mild group, the difference was statistically significant ( $t=13.516, 21.482$ , all  $P<0.01$ ). The expression level of miR-1246 in saliva of CP patients after treatment ( $4.75 \pm 1.61$  vs  $7.28 \pm 2.56$ ) was significantly lower than that before treatment, the difference was statistically significant ( $t=10.490$ ,  $P<0.01$ ). After treatment, PD ( $2.84 \pm 0.72$  mm vs  $5.16 \pm 1.30$  mm), AL ( $3.08 \pm 0.64$  mm vs  $5.62 \pm 1.15$  mm), PLI ( $1.13 \pm 0.28$  vs  $2.62 \pm 0.41$ ) and BI ( $2.95 \pm 0.58$  vs  $1.64 \pm 0.47$ ) in CP patients were significantly lower than those before treatment, the difference was statistically significant ( $t=8.742\sim 10.873$ , all  $P<0.01$ ). The correlation analysis showed that the expression level of miR-1246 was positively correlated with PD, AL, PLI and BI in CP patients before and after treatment ( $r=0.592\sim 0.874$ , all  $P<0.01$ ). **Conclusion** The expression level of miR-1246 in the saliva of CP patients was significantly increased and decreased significantly after treatment. The expression level of miR-1246 was closely related to the severity of CP and clinical indicators of periodontitis, which was expected to provide a new idea for the prevention and treatment of CP.

**Keywords:** chronic periodontitis; miR-1246

慢性牙周炎 (chronic periodontitis, CP) 是在牙周支持组织发生的炎症破坏性疾病, 其牙周炎表现为牙槽骨吸收、牙龈退缩等, 已成为危害人类口腔健康和导致成人牙缺失的常见慢性炎症<sup>[1]</sup>。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 作为一种内源性、非编码小分子参与调节转录后基因表达, 在牙周炎发病过程中发挥一定作用<sup>[2]</sup>。近年来研究发现, 炎症性疾病中 miR-1246 存在异常表达, miR-1246 参与炎症因子信号传导, 调控免疫细胞分化及免疫功能, 有望成为炎症性疾病病情监测的重要生物标志物<sup>[3]</sup>。本研究通过检测 miR-1246 在 CP 患者唾液中表达情况, 分析 miR-1246 表达与 CP 患者病情严重程度的关系, 旨在为 CP 患者的靶向治疗提供帮助。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 选取 2017 年 1 月 1 日~2019 年 5 月 31 日保定市第二中心医院收治的 CP 患者 94 例, 其中男性 55 例, 女性 39 例, 年龄 32~68(46.30±8.25) 岁。根据《牙周病学 (第 3 版)》中的分级标准将 CP 患者分为轻度牙周炎组 23 例、中度牙周炎组 37 例和重度牙周炎组 35 例。纳入患者均符合慢性牙周炎诊断标准。排除并发口腔局部炎症性疾病及其他局部炎症, 女性有妊娠、哺乳及月经期者。另选取同期来我院健康体检正常者 50 例作为对照组, 其中男性 27 例, 女性 23 例, 年龄 34~70(47.20±8.60) 岁。

**1.2 仪器与试剂** ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪, 美国 ABI 公司。

**1.3 方法** 由同一位医师完成所有研究对象的口腔检查, 牙周探诊深度 (periodontal probing depth, PD), 附着丧失 (clinical attachment loss, AL) 水平用 William 牙周探针检查, 记录菌斑指数 (plaque index, PLI) 和出血指数 (bleeding index, BI)。CP 患者行全口超声龈上洁治术、龈下刮治及根面平整术, 治疗结束 6 周后患者进行复诊, 检测 CP 患者治疗前后唾液上清中 miR-1246 的表达, 并记录 PD, AL, PLI 及 BI 各项牙周临床指标。所有研究对象均于清晨采集唾液, 用棉签蘸取 2% 的枸橼酸多次擦拭口腔, 待唾液流出时, 以无 RNA 酶离心管收集唾液标本, 在 4℃ 下以 3 000 r/min 离心 15 min, 取唾液上清置于 -80℃ 低温冰箱保存待测。在 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪上进行实时荧光定量聚合酶链反应。PCR 总反应体系为 20 μl: 1 μl 引物及探针 Mix (20×), 10 μl TaqMan 通用混合物溶液 (2×), 1.33 μl 反转录产物 cDNA, 7.67 μl 无核酸酶的水。扩增条件为: 95℃ 10min 1 个循环, 95℃ 15s, 60℃ 60s 进行 45 个循环。每个反应体系中荧光信号达到所设定的阈值的经历的循环数即为

Ct 值, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miR-1246 的表达水平。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS20.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用方差分析, 两组间比较采用 *t* 检验。相关性分析采用 Pearson 相关。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CP 组和对照组唾液中 miR-1246 表达水平比较** CP 组唾液中 miR-1246 表达水平为  $7.28 \pm 2.56$ , 明显高于对照组的  $3.52 \pm 1.14$ , 差异有统计学意义 ( $t=16.294$ ,  $P < 0.01$ )。

**2.2 不同疾病程度 CP 患者唾液中 miR-1246 表达水平比较** 重度组唾液中 miR-1246 表达水平为  $10.47 \pm 3.38$ , 明显高于中度组 ( $7.38 \pm 2.70$ ) 和轻度组 ( $4.24 \pm 1.30$ ), 差异均有统计学意义 ( $t=13.516$ ,  $21.482$ , 均  $P < 0.01$ ); 且中度组唾液中 miR-1246 表达水平明显高于轻度组, 差异有统计学意义 ( $t=13.850$ ,  $P < 0.01$ )。

**2.3 CP 患者治疗前后唾液中 miR-1246 表达水平比较** CP 患者治疗后唾液中 miR-1246 表达水平为  $4.75 \pm 1.61$ , 明显低于治疗前 ( $7.28 \pm 2.56$ ), 差异有统计学意义 ( $t=10.490$ ,  $P < 0.01$ )。

**2.4 CP 患者治疗前后 PD, AL, PLI 及 BI 指标比较** 见表 1。CP 患者治疗后 PD, AL, PLI 及 BI 均明显低于治疗前, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.01$ )。

表 1 CP 患者治疗前后 PD, AL, PLI 及 BI 指标比较 ( $n=94$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

项目	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
PD (mm)	$5.16 \pm 1.30$	$2.84 \pm 0.72$	10.135	<0.001
AL (mm)	$5.62 \pm 1.15$	$3.08 \pm 0.64$	10.873	<0.001
PLI	$2.62 \pm 0.41$	$1.13 \pm 0.28$	9.816	<0.001
BI	$1.64 \pm 0.47$	$0.95 \pm 0.58$	8.742	<0.001

**2.5 CP 患者 miR-1246 表达水平与 PD, AL, PLI 及 BI 的相关性分析** 见表 2。Pearson 相关分析显示, 治疗前后 CP 患者 miR-1246 表达水平与 PD, AL, PLI 及 BI 均呈正相关 (均  $P < 0.01$ )。

表 2 CP 患者 miR-1246 表达水平与 PD, AL, PLI 及 BI 的相关性分析

指标	治疗前 miR-1246		治疗后 miR-1246	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
PD	0.815	<0.001	0.793	<0.001
AL	0.874	<0.001	0.850	<0.001
PLI	0.735	<0.001	0.716	<0.001
BI	0.638	<0.001	0.592	0.004

### 3 讨论

CP是口腔中最常见的慢性炎症性疾病,可引起牙周组织的破坏及疾病的慢性迁延。miRNA是近年来研究最为广泛的一类内源性非编码小分子RNA,在维持免疫反应的平衡及调控炎症反应等过程中发挥重要的作用<sup>[4-5]</sup>。有研究表明,miRNA在牙周炎的调控及免疫调节中发挥着重要作用,可为牙周炎的发病和治疗方法提供新的思路<sup>[6]</sup>。miR-1246是一种与炎症密切相关的miRNA,在多种炎症细胞中呈明显高表达,可促进炎症反应的发生发展<sup>[7]</sup>。

本研究显示,CP组唾液中miR-1246表达水平明显高于对照组,提示miR-1246表达上调可能参与CP的发生发展。本研究中随着CP患者病情越严重,miR-1246表达水平越高,即重度组miR-1246表达水平>中度组>轻度组,提示唾液中miR-1246表达水平与CP患者的病情严重程度有关,其表达水平高的CP患者,病情较严重。MOTEDAYYEN等<sup>[8]</sup>应用实时聚合酶链反应对10例健康对照者和20例CP患者牙龈组织中miR-146a表达进行检测,并测量CP患者的PD和AL,发现CP患者牙龈组织中miR-146a表达明显上调,且与PD和AL相关,提示miR-146a可能参与了CP的发病过程。GHOTLOO等<sup>[9]</sup>研究表明,牙周病患者miR-146a表达水平较健康对照组明显升高,且与疾病严重程度相关,miR-146a可作为牙周病严重程度的判断指标。本研究对CP患者治疗前后唾液中miR-1246表达水平的变化进行比较,结果显示CP患者治疗后唾液中miR-1246表达水平明显低于治疗前,CP患者治疗后牙周临床症状指标均明显低于治疗前,且治疗前后CP患者miR-1246表达水平与牙周临床症状指标均呈明显正相关。提示miR-1246异常表达可能与CP的发病机制有关,可能是牙周炎症发展状况及治疗效果评估的潜在生物学指标,对CP的病情监测及预后评估具有一定的参考意义。赵家珍等<sup>[10]</sup>研究显示,CP患者唾液上清中miR-146a表达水平明显高于正常人,并在牙周基础治疗后显著下降,且与牙周组织的炎症破坏程度有关。高颖等<sup>[11]</sup>研究发现,CP患者唾液中miR-146a表达量异常增高,且与龈沟炎症程度、牙周损伤程度一致,是辅助诊断及判断CP病情严重程度的良好指标。另有研究表明,CP患者miRNA表达水平明显升高,其表达水平与疾病严重程度和牙周临床症状指标均具有相关性,miRNA可能直接或间接地参与了CP的病理过程,为CP病变过程中的作用研究提供了线索<sup>[12]</sup>。

综上所述,CP患者唾液中miR-1246表达水平明显升高,治疗后明显下降,其表达水平与CP严重程度和牙周炎临床指标密切相关,有望作为CP病情监测及疗效评估的生物标志物,并可为CP的

防治提供新的思路和靶点。但由于本研究样本量少,随访时间较短,未来仍需扩大样本并延长随访时间进一步深入研究。

### 参考文献:

- [1] SERRANO C, SUAREZ E. Prevalence of severe periodontitis in a colombian adult population[J]. J Int Acad Periodontol, 2019, 21(2): 53-62.
- [2] LUO Yu, PENG Xian, DUAN Dingyu, et al. Epigenetic regulations in the pathogenesis of periodontitis[J]. Current Stem Cell Research & Therapy, 2018, 13(2): 144-150.
- [3] KRISANSSEN G W, YANG Yi, MCQUEEN F M, et al. Overexpression of miR-595 and miR-1246 in the sera of patients with active forms of inflammatory bowel disease[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2015, 21(3): 520-530.
- [4] STOLZENBURG L R, HARRIS A. The role of microRNAs in chronic respiratory disease: recent insights[J]. Biological Chemistry, 2018, 399(3): 219-234.
- [5] LIU Cuilian, YANG Haoran, SHI Weiyun, et al. MicroRNA-mediated regulation of T helper type 17/regulatory T-cell balance in autoimmune disease[J]. Immunology, 2018, 155(4): 427-434.
- [6] AMARAL S A, PEREIRA T S F, BRITO J A R, et al. Comparison of miRNA expression profiles in individuals with chronic or aggressive periodontitis[J]. Oral Dis, 2019, 25(2): 561-568.
- [7] WU Dapeng, ZHANG Junlei, WANG Jingyu, et al. MiR-1246 promotes LPS-induced inflammatory injury in chondrogenic cells ATDC5 by targeting HNF4 $\gamma$  [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(5): 2010-2021.
- [8] MOTEDAYYEN H, GHOTLOO S, SAFFARI M, et al. Evaluation of MicroRNA-146a and its targets in gingival tissues of patients with chronic periodontitis[J]. J Periodontol, 2015, 86(12): 1380-1385.
- [9] GHOTLOO S, MOTEDAYYEN H, AMANI D, et al. Assessment of microRNA-146a in generalized aggressive periodontitis and its association with disease severity[J]. J Periodontal Res, 2019, 54(1): 27-32.
- [10] 赵家珍, 闫文娟, 吴补领. 慢性牙周炎患者唾液中miR-146a的表达及临床意义[J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(9): 907-911.  
ZHAO Jiazhen, YAN Wenjuan, WU Buling. Expression and clinical significance of saliva miR-146a in patients with chronic periodontitis [J]. Journal of Third Military Medical University, 2015, 37 (9): 907-911
- [11] 高颖, 郝晨笛. 慢性牙周炎患者唾液中miR-146a的表达及其与龈沟炎症、MMP-8/TIMP-1水平的关系[J]. 上海口腔医学, 2018, 27(3): 309-312.  
GAO Ying, HAO Chendi. Expression of miR-146a in saliva of chronic periodontitis patients and its influence on gingival crevicular inflammation and MMP-8/TIMP-1 levels [J]. Shanghai Journal of Stomatology, 2018, 27 (3): 309-312.
- [12] TOMOFUJI T, YONEDA T, MACHIDA T, et al. MicroRNAs as serum biomarkers for periodontitis[J]. Journal of Clinical Periodontology, 2016, 43(5): 418-425.

收稿日期: 2020-05-20

修回日期: 2020-10-13