

• 短篇论著 •

2 型糖尿病伴慢性牙周炎患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平及临床研究^{*}

刘昭娜¹, 高惠红², 武鸿毅¹, 方 晓^{1△}

北京市隆福医院:1. 口腔科;2. 检验科, 北京 100010

摘 要:目的 分析 2 型糖尿病伴慢性牙周炎(DMCP)患者血清及龈沟液长链非编码 RNA MIR155 宿主基因(LncRNA MIR155HG)、miR-155 的表达情况及其临床意义。方法 选取该院 42 例 DMCP 患者为 DM-CP 组,46 例单纯慢性牙周炎(CP)患者作为 CP 组,48 例同期健康志愿者作为正常对照(NC)组。统计入组受试者空腹血糖等基线资料;采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平;DMCP 患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与临床指标的相关性采用 Pearson 相关进行分析;血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平对 DMCP 的影响采用 Logistic 回归分析。结果 DMCP 组血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155、空腹血糖、糖化血红蛋白(HbA1c)、附着丧失高于 CP 组、NC 组,探诊深度、牙龈指数、菌斑指数高于 NC 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。CP 组血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155、探诊深度、附着丧失、牙龈指数、菌斑指数高于 NC 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与空腹血糖、HbA1c、探诊深度、附着丧失、牙龈指数、菌斑指数均呈正相关($P < 0.05$)。龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平升高是 DMCP 的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平升高与 2 型糖尿病患者发生 CP 关系密切。

关键词:2 型糖尿病; 慢性牙周炎; 长链非编码 RNA MIR155 宿主基因; miR-155

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.21.024

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2022)21-2674-04

文献标志码:A

糖尿病属于自身免疫性代谢性疾病,其中 2 型糖尿病发病的始动环节为胰岛素抵抗,进一步研究显示,免疫调节异常可能在 2 型糖尿病及其相关并发症的发生、发展中发挥重要作用^[1-2]。牙周疾病与糖尿病存在着密切的联系,二者间的双向作用是近些年学者们研究热点^[3]。研究表明,糖尿病患者较非糖尿病患者更容易出现牙周炎^[4]。长链非编码 RNA MIR155 宿主基因(LncRNA MIR155HG)是 miR-155 的宿主基因,长度为 1 500 bp,与肿瘤的发生、发展有密切联系^[5]。唐敏等^[6]研究显示,LncRNA MIR155HG 在系统性红斑狼疮患者血清中高表达,且与其疾病活动度有关,可能诱发炎症。为明确 LncRNA MIR155HG、miR-155 与慢性牙周炎(CP)及 2 型糖尿病伴慢性牙周炎(DMCP)的关系,本研究拟探讨血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与 CP 相关临床指标的相关性,以及二者对 DMCP 的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2020 年 1 月至 2021 年 10 月收治的 42 例 DMCP 患者为 DMCP 组,年龄 36~72 岁;选取 46 例单纯 CP 患者作为 CP 组,年龄 33~74 岁;选取 48 例同期健康志愿者作为正常对照(NC)组,年龄 34~72 岁。(1)纳入标准:①2 型糖尿病患者均符合《2 型糖尿病基层诊疗指南(实践版·2019)》的

诊断标准^[7],CP 患者符合《牙周病学》(第四版)中的诊断标准^[8];②入组前未进行过 CP 相关治疗;③近期体质质量稳定,且无酗酒、吸烟等不良嗜好。(2)排除标准:①有重要脏器功能障碍及其他内分泌系统疾病或代谢疾病;②侵袭性牙周炎;③有过敏史;④处于哺乳期或妊娠期女性。本研究经本院医学伦理委员会审批通过,所有研究对象均自愿参与本研究,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集所有研究对象性别、年龄、体质质量指数(BMI)、空腹血糖、糖化血红蛋白(HbA1c)、探诊深度、附着丧失、牙龈指数、菌斑指数等资料。

1.2.2 标本采集 血清标本采集:研究对象空腹 12 h 后,抽取次日晨起外周静脉血,以 3 000 r/min 离心 10 min 后收集上层血清,冻存于-80 ℃冰箱中待测。龈沟液标本采集:将滤纸条放入干净、无菌的离心管内并分别编号,用电子天平将带有编号的离心管称重并记录重量;取样前嘱患者清水漱口,无菌干棉球严格隔湿取样位点,探针挂出牙面菌斑,使用气枪吹干牙齿表面,将称重后的滤纸条轻轻插入牙龈下,停留 30 s 后取出,检查滤纸条(带血或被唾液污染者弃去),浸泡于盐酸缓冲液中,30 min 后 3 000 r/min 离心 10 min,洗脱液为龈沟液标本,冻存于-80 ℃冰箱中待测。

1.2.3 血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-

^{*} 基金项目:北京市隆福医院院级课题(LFYYKJ-2022-06)。

[△] 通信作者,E-mail:fangxiaol1917@sina.com。

155 水平检测 采用 Trizol 试剂盒(美国 Invitrogen 公司)提取血清及龈沟液总 RNA,测定纯度及浓度后,采用反转录试剂盒(北京伊塔生物科技有限公司)将其反转录为 cDNA,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR,CFX384 型 qRT-PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司)检测血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平。根据目的基因 LncRNA MIR155HG、

miR-155 设计并合成相应引物(大连宝生物工程有限公司合成),三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、U6 作为内参基因,引物序列见表 1。qRT-PCR 反应条件:95 ℃ 10 min;95 ℃ 15 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,40 个循环。所有待测标本均设置 3 个平行标本,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 相对表达水平。

表 1 引物序列

项目	上游引物 5′-3′	下游引物 5′-3′
LncRNA MIR155HG	GACCTGAGTGGAGCGTCGAC	CTGACGTGTGCAACACGAC
GAPDH	CAGGTCTCATGCTGAGAG	TGACCTACATGAGCTCGACGG
miR-155	GTTGGGACGACTTCAATCGG	CTGGCGACACTGATGACCT
U6	TGGCCAGTGCCATGGTAAG	TGGAGCCAGTGGACATGC

1.3 统计学处理 采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据处理及统计分析,计量资料经 K-S 拟合优度检验是否符合正态分布。呈正态分布及方差齐的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;DMCP 患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与临床指标的相关关系采用 Pearson 相关分析;血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平对 DMCP 的影响采用 Logistic 回归分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组基线资料及临床指标比较 DMCP 组、CP

组和 NC 组性别、年龄、BMI 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。DMCP 组空腹血糖、HbA1c、附着丧失高于 CP 组、NC 组,探诊深度、牙龈指数、菌斑指数高于 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。CP 组探诊深度、附着丧失、牙龈指数、菌斑指数高于 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.2 3 组血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平比较 DMCP 组血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平明显高于 CP 组、NC 组,CP 组血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平明显高于 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 3 组基线资料及临床指标比较[*n*(%)或 $\bar{x}\pm s$]

组别	<i>n</i>	女性	年龄(岁)	BMI (kg/m ²)	空腹血糖 (mmol/L)	HbA1c (%)	探诊深度 (mm)	附着丧失 (mm)	牙龈指数	菌斑指数
DMCP 组	42	24(57.14)	50.04±10.74	23.76±3.05	11.34±1.26 ^{ab}	10.73±1.37 ^{ab}	2.56±1.22 ^a	3.75±1.26 ^{ab}	1.86±0.64 ^a	2.13±0.62 ^a
CP 组	46	25(54.35)	50.22±11.04	23.58±3.14	6.16±1.11	6.22±1.20	2.54±1.31 ^a	2.41±1.32 ^a	1.69±0.38 ^a	2.08±0.60 ^a
NC 组	48	28(58.33)	50.13±10.82	23.82±2.96	5.84±1.02	6.15±1.04	1.60±0.42	0.01±0.01	0.82±0.21	1.50±0.52
χ^2/F		0.159	0.003	0.078	326.251	207.169	12.712	151.240	75.330	16.942
<i>P</i>		0.924	0.997	0.925	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 NC 组比较,^a $P<0.05$;与 CP 组比较,^b $P<0.05$ 。

表 3 3 组血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	血清		龈沟液	
		LncRNA MIR155HG	miR-155	LncRNA MIR155HG	miR-155
NC 组	48	1.01±0.21	0.99±0.20	1.01±0.22	1.02±0.21
CP 组	46	1.54±0.28 ^a	2.07±0.32 ^a	1.72±0.26 ^a	2.35±0.36 ^a
DMCP 组	42	1.89±0.25 ^{ab}	2.42±0.37 ^{ab}	2.21±0.34 ^{ab}	2.78±0.42 ^{ab}
<i>F</i>		144.842	280.212	217.829	339.429
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 NC 组比较,^a $P<0.05$;与 CP 组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 DMCP 患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与临床指标的相关性 Pearson 相关分析结果显示,DMCP 患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与空腹血糖、HbA1c、探诊深度、附着丧失、牙龈指数、菌斑指数均呈正相关($P<0.05$)。见表 4、5。

2.4 血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平影响 DMCP 的 Logistic 回归分析 以是否发生 DMCP 作为因变量,以血清 LncRNA MIR155HG、miR-155 及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示,龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平升高是 DMCP 的独

立危险因素($P<0.05$)。见表 6。

表 4 DMCP 患者血清 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与临床指标的相关性				
指标	LncRNA MIR155HG		miR-155	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
空腹血糖	0.432	<0.001	0.451	<0.001
HbA1c	0.459	<0.001	0.422	<0.001
探诊深度	0.492	<0.001	0.504	<0.001
附着丧失	0.504	<0.001	0.489	<0.001
牙龈指数	0.510	<0.001	0.514	<0.001
菌斑指数	0.528	<0.001	0.522	<0.001

表 6 血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平影响 DMCP 的 Logistic 回归分析						
因素	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Wald</i> χ ²	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
血清 LncRNA MIR155HG	0.194	0.231	0.705	0.401	1.214	0.772~1.909
血清 miR-155	0.165	0.154	1.143	0.285	1.179	0.872~1.594
龈沟液 LncRNA MIR155HG	0.886	0.296	8.956	0.003	2.425	1.358~4.332
龈沟液 miR-155	0.810	0.279	8.420	0.004	2.247	1.301~3.882

3 讨 论

牙周炎是一种慢性炎症性破坏性疾病,主要发生于牙周支持组织,是成年人牙齿脱落的重要原因^[9]。作为机体固有免疫的重要组成部分,炎症反应及相关细胞因子在 DMCP 的发生、发展中发挥了重要作用^[10]。如糖尿病患者血糖控制不佳,会加重牙周局部炎症反应,产生大量炎症介质,致使免疫细胞功能受损,进一步加重牙周组织破坏,削弱牙周损伤组织的修复能力,进而形成恶性循环^[11]。

LncRNA 是一类存在于细胞质内或细胞核内的长度大于 200 nt 的功能性非编码 RNA 分子,在真核细胞内发生普遍转录^[12]。近年来,许多学者对 LncRNA 的功能模式开展了大量研究,其与复杂疾病间的关系也受到广泛关注^[13]。LncRNA MIR155HG 是人染色体 9p21 上的一个 LncRNA,位于 INK4 基因座,因其为 miR-155 的宿主基因而得名^[14-15]。miR-155 可参与巨噬细胞、单核细胞及中性粒细胞的活化,在 B 细胞和 T 细胞介导的免疫应答中扮演着重要角色^[16]。WU 等^[17]研究显示,miR-155 在牙周炎患者唾液中高表达,且与牙周炎严重程度呈正相关。RADOVIC 等^[18]研究表明,CP 患者及 DMCP 患者 miR-155 表达水平上调,miR-155 被认为是非糖尿病和 2 型糖尿病患者牙周炎的新生物标志物。

目前,对 LncRNA MIR155HG、miR-155 与 DMCP 患者临床指标及病理发展的关系也不明确。本研究显示,DMCP 患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平高于单纯 CP 患者,而单纯 CP 患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平高于健康志愿者,其中 miR-155 表达趋势与赵华等^[19]研究结果一致。推测 2 型糖尿病患者体内血糖异常及体内免疫应答异常,造成感染的牙周组织周围炎症因子聚集,同时产生许多炎症介质释放入循环系统,此时 LncRNA MIR155HG 表达水平升高,LncRNA MIR155HG 作为宿主基因可能通过促进

表 5 DMCP 患者龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与临床指标的相关性分析				
指标	LncRNA MIR155HG		miR-155	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
空腹血糖	0.483	<0.001	0.419	<0.001
HbA1c	0.456	<0.001	0.472	<0.001
探诊深度	0.492	<0.001	0.486	<0.001
附着丧失	0.487	<0.001	0.487	<0.001
牙龈指数	0.469	<0.001	0.492	<0.001
菌斑指数	0.504	<0.001	0.508	<0.001

miR-155 表达上调,从而在病原体侵犯、破坏机体牙周组织时做出快速反应,然而其作用机制及功能仍需进一步研究及验证。此外,本研究结果显示,血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 表达水平与空腹血糖、HbA1c、探诊深度、附着丧失、牙龈指数、菌斑指数均呈正相关,与 WU 等^[17]研究结果部分一致。进一步提示 LncRNA MIR155HG、miR-155 在 2 型糖尿病患者 CP 的发生、发展过程中发挥重要促进作用。Logistic 回归分析结果显示,龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平升高是 DMCP 的独立危险因素。RADOVIC 等^[18]的研究显示,miR-155 水平升高与牙周炎发生关系密切。龈沟液而非血清 LncRNA MIR155HG、miR-155 升高是 DMCP 独立危险因素的可能原因为牙周组织发生炎症时,龈沟液从微小血管渗出,其分泌量立即增加。

综上所述,DMCP 患者血清及龈沟液 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平高于单纯 CP 患者,且二者水平与 DMCP 患者临床指标有关。提示 LncRNA MIR155HG、miR-155 水平与 2 型糖尿病患者牙周疾病的发展有关,临床中在治疗 2 型糖尿病患者的过程中,要注意控制牙周疾病的发展。

参考文献

[1] BELLARY S,KYROU I,BROWN J E,et al. Type 2 diabetes mellitus in older adults: clinical considerations and management[J]. Nat Rev Endocrinol,2021,17(9):534-548.

[2] GOLDEN T N,SIMMONS R A. Immune dysfunction in developmental programming of type 2 diabetes mellitus [J]. Nat Rev Endocrinol,2021,17(4):235-245.

[3] ZHANG X,WANG M,WANG X,et al. Relationship between periodontitis and microangiopathy in type 2 diabetes mellitus;a meta-analysis[J]. J Periodontal Res,2021,56(6):1019-1027.

[4] 曹玉林. 2 型糖尿病伴牙周炎患者龈沟液及血清中 RANKL/OPG 的表达与相互关系[J]. 发明与创新·职

- 业教育,2021,1(8):183-184.
- [5] HE X, SHENG J, YU W, et al. LncRNA MIR155HG promotes temozolomide resistance by activating the Wnt/ β -Catenin pathway via binding to PTBP1 in glioma[J]. Cell Mol Neurobiol, 2021, 41(6):1271-1284.
- [6] 唐敏, 张玉高. 系统性红斑狼疮患者血清 LncRNA MIR155HG 的表达及临床意义[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(2):213-216.
- [7] 中华医学会, 中华医学杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 2 型糖尿病基层诊疗指南(实践版·2019)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(9):810-818.
- [8] 孟焕新. 牙周病学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2012:41-42.
- [9] KWON T, LAMSTER I B, LEVIN L. Current concepts in the management of periodontitis[J]. Int Dent J, 2021, 71(6):462-476.
- [10] GAO H, XU J, HE L, et al. Calprotectin levels in gingival crevicular fluid and serum of patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus before and after initial periodontal therapy[J]. J Periodontal Res, 2021, 56(1):121-130.
- [11] 封艳, 马莉, 刘成军, 等. 2 型糖尿病合并慢性牙周炎患者血清与龈沟液中抵抗素水平的研究[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2021, 19(2):93-96.
- [12] XU J, YIN Y, LIN Y, et al. Long non-coding RNAs: Emerging roles in periodontitis[J]. J Periodontal Res, 2021, 56(5):848-862.
- [13] LIN Y, JIN L, WM T, et al. Identification and integrated analysis of differentially expressed long non-coding RNAs associated with periodontitis in humans[J]. J Periodontal Res, 2021, 56(4):679-689.
- [14] 梁伊乐, 胡新俊, 岳峰, 等. 肺结核病人外周血长链非编码 RNA MIR155 宿主基因的表达研究[J]. 安徽医药, 2021, 25(7):1359-1362.
- [15] HUAN Z, MEI Z, NA H, et al. lncRNA MIR155HG alleviates depression-like behaviors in mice by regulating the miR-155/BDNF axis[J]. Neurochem Res, 2021, 46(4):935-944.
- [16] BONILLA-MURO M G, HERNÁNDEZ D O, GONZALEZ-BARRIOS J A, et al. EsxA mainly contributes to the miR-155 overexpression in human monocyte-derived macrophages and potentially affect the immune mechanism of macrophages through miRNA dysregulation[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(2):185-192.
- [17] WU P, FENG J, WANG W. Expression of miR-155 and miR-146a in the saliva of patients with periodontitis and its clinical value[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(6):6670-6677.
- [18] RADOVIC N, NIKOLIC J N, PETROVIC N, et al. microRNA-146a and microRNA-155 as novel crevicular fluid biomarkers for periodontitis in non-diabetic and type 2 diabetic patients[J]. J Clin Periodontol, 2018, 45(6):663-671.
- [19] 赵华, 李夏宁, 曾宪莉, 等. 慢性牙周炎患者牙周膜细胞群的 miR-155 表达[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(6):370-373.

(收稿日期:2022-01-28 修回日期:2022-05-28)

• 短篇论著 •

血浆组织因子微粒、脱- γ -羧基凝血酶原、神经元特异性烯醇化酶在胃癌患者血液高凝状态中的临床价值

李莹莹¹, 朱晓东¹, 冯兴勇¹, 余洁², 邹佳华^{1△}

湖北省黄冈市中心医院:1. 肿瘤内科;2. 胃肠外科, 湖北黄冈 438000

摘要:目的 探讨血浆组织因子微粒(TF-MPs)、脱- γ -羧基凝血酶原(DCP)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)在胃癌患者血液高凝状态中的临床价值。方法 选取2018年1月至2021年1月该院就诊的86例Ⅲ~Ⅳ期不可手术治疗的晚期胃癌患者作为研究对象,根据传统凝血功能检测结果分为高凝组38例和非高凝组48例,在入院后第1天检测两组患者的血浆TF-MPs及血清DCP、NSE水平,并进行对比;采用多元线性回归分析胃癌患者血液高凝状态的独立危险因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线评价3项指标的诊断效能。结果 高凝组的TF-MPs、DCP、NSE水平均高于非高凝组,差异有统计学意义($P < 0.05$);多元线性回归分析结果显示,TF-MPs、DCP、NSE升高是胃癌患者血液高凝状态的独立危险因素($P < 0.05$);TF-MPs、DCP、NSE诊断胃癌患者血液高凝状态的灵敏度分别为89.50%、94.70%、86.80%,特异度分别为85.40%、95.80%、97.90%;ROC曲线分析结果显示,TF-MPs、DCP、NSE诊断胃癌患者血液高凝状态的AUC分别为0.906(95%CI为0.840~0.972)、0.986(95%CI为0.968~0.991)、0.990(95%CI为0.985~0.997)。结论 处于血液高凝状态的胃癌患者血浆TF-MPs及血清DCP、NSE水平会升高,上述指标对于诊断胃癌患者血液高凝状态具有较高的准确性。

关键词:组织因子微粒; 脱- γ -羧基凝血酶原; 神经元特异性烯醇化酶; 胃癌; 血液高凝状态

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.21.025

中图法分类号:R735.2

文章编号:1673-4130(2022)21-2677-04

文献标志码:A

肿瘤患者血液的高凝状态可能是由肿瘤细胞损伤血管内皮,产生局部炎症反应,以及肿瘤细胞释放