

# 活性氧在牙周炎中病理作用的研究进展

郑燕丹, 黄翔

作者单位: 惠州市第六人民医院口腔科, 广东 惠州 516211

**摘要:** 牙周炎是一种常见的慢性炎症疾病, 引起牙周组织的损伤, 受损部位包括牙龈、牙周韧带和牙槽骨。引发牙周炎的主要原因是人体对口腔微生物及其代谢产物的免疫反应, 其中活性氧(ROS)的稳态失衡和抗氧化防御系统在牙周炎的发病进程中扮演了重要的促进角色。升高的ROS引发病灶组织细胞的自噬, 导致相应的组织细胞凋亡, 进一步阐明牙周炎自噬过程中氧还原调控的作用和机制, 对牙周病治疗策略的研究具有一定的临床指导意义。笔者对ROS在牙周炎中的相关病理作用做了简要综述。

**关键词:** 活性氧; 牙周炎; 自噬

## Progress in the pathologic role of active oxygen in periodontitis

ZHENG Yandan, HUANG Xiang

Author Affiliation: Department of Stomatology, Sixth People's Hospital of Huizhou, Huizhou, Guangdong 516211, China

**Abstract:** Periodontitis is a chronic inflammatory disease that causes injury in periodontal tissues, including gum, periodontal ligament and alveolar bone. The main cause of periodontal tissue destruction is the host immune response to oral microbes and their metabolites, in which the steady-state imbalance of reactive oxygen species and the antioxidant defense system play an important role. Increased reactive oxygen species induce autophagy, leading to apoptosis of the corresponding tissue. To further elucidate the role and mechanism of oxygen reduction in autophagy of periodontitis, and to study the therapeutic strategies of periodontal disease has certain clinical significance. In this article, we briefly reviewed the related pathological effects of ROS on periodontitis.

**Key words:** Reactive oxygen species; Periodontitis; Autophagy

从20世纪70年代早期的口腔疾病研究开始, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)与牙周炎之间的密切关系一直被人们所重视<sup>[1-2]</sup>, 牙周炎是一种口腔炎症性疾病, 它通过牙周病原体的相互作用和宿主的免疫反应, 损害牙齿支撑组织的完整性<sup>[3]</sup>。大多数牙周组织损伤是由宿主免疫反应的破坏引起的, 白细胞、补体分子和ROS都参与其中<sup>[4]</sup>。ROS作为短暂存在的高活性分子, 主要包括过氧化物、过氧化氢、羟基和单氧分子<sup>[5]</sup>。细胞水平上的ROS对于真核细胞牙周炎过程的生理和自噬至关重要, 包括细胞信号转导、细胞分化和细胞凋亡<sup>[5]</sup>, 另外, 活性氧在人体内有清除病原体的作用。有临床研究发现, 血清活性氧代谢产物与特定牙周病病原体的免疫球蛋白G抗体呈正相关<sup>[6]</sup>。自噬是进化上保守的细胞内降解系统, 对维持人体内环境的稳定起重要作用。细胞内损坏的或多余的细胞质材料(例如受损的细胞器, 变性的蛋白质和细菌)递送至溶酶体回收降解, 产生的产物用于新的物质合成, 在炎症反应中细胞自噬的激活是普遍存在的

现象。

### 1 ROS在牙周组织中的生理作用

ROS具有多方面的功能, 主要由其所处的氧化还原状态决定。在牙周病的进程中, ROS是一把双刃剑。在不同浓度下, ROS有截然不同的作用: 在低浓度时, ROS可以促进人牙周韧带纤维母细胞在培养中的增殖和分化; 而在高浓度时, 它们可能对牙周组织产生强烈的细胞毒性作用, 另一方面参与病原体的杀灭<sup>[7]</sup>。

牙周组织损伤是由宿主免疫反应的破坏引起的, 与多种微生物菌群失调和宿主免疫的激活有关, 白细胞、补体和ROS都参与其中<sup>[4]</sup>。起作用的微生物主要是革兰阴性厌氧菌或兼性细菌, 对氧化环境的变化非常敏感<sup>[8]</sup>, ROS可以改变细胞所处的氧化还原环境, 抑制病原体的增值, 并参与杀灭病原体。另外, 在细胞水平上, ROS作为第二信使有调节信号转导、细胞内稳态、细胞死亡的生理作用。

### 2 ROS的体内平衡

通常来说, ROS包括了多种过氧化物、羟基和

单氧分子<sup>[5]</sup>。这些活性氧分子大多由过氧化物酶体( peroxisomes )、内质网( endoplasmic reticulum, ER)以及多种酶和线粒体电子传递链( mitochondrial electron transfer chain)<sup>[9]</sup>产生。一个细胞一天产生的 ROS 量可达 10 亿分子,学术界普遍认可线粒体电子传递链是 ROS 产生的主要来源<sup>[10]</sup>。在线粒体中,可能发生过早的电子泄漏到 O<sub>2</sub>,产生 O<sup>-2</sup>·作为电子传递链的副产物。超氧化物歧化酶 1( superoxide dismutase 1, SOD1)在膜间隙中或通过基质中的超氧化物歧化酶 2( superoxide dismutase 2, SOD)对 O<sup>-2</sup>·歧化产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>再通过谷胱甘肽过氧化物酶还原成 H<sub>2</sub>O。

在 ROS 平衡过程中,包括 ROS 的产生和清除。酶(例如 SOD, GPX 和 CAT),小分子(例如维生素 C 和谷胱甘肽)以及谷氧还蛋白和硫氧还蛋白系统参与其中以维持氧化还原的稳态。ROS 的产生和消除之间的平衡对于人类健康至关重要。过量的 ROS 产生,或者低水平的抗氧化剂、抑制抗导致氧化酶引起氧化应激,可能导致体内对生物大分子(脂质,蛋白质和 DNA)的不加区分的损害。研究表明 ROS 与各种疾病之间存在关联,包括癌症,牙周炎,心血管疾病和糖尿病<sup>[5]</sup>。

### 3 ROS 在牙周炎中病理作用的相关研究

牙周炎是机体常见的慢性炎症性疾病,在人群中及其普遍,炎症通过破坏机体的牙龈、牙槽骨等牙周组织引起牙周感染和损伤,严重时可导致牙齿松动脱落,其破坏机制通过口腔微生物导致宿主体内相应内环境的改变,特别是 ROS 水平的改变。升高的 ROS 作为细胞内的信号分子导致细胞发生自噬,在牙周炎中起着双重作用:一方面抑制病原体的增值,另一方面阻止感染细胞凋亡。另外,自噬反过来还可以调节 ROS 生成和清除。研究表明 ROS 在牙周炎中的致病机制一是影响组织的氧化还原环境的失衡,二是激活牙周组织的自噬。

牙周病病灶中普遍存在一种不稳定的氧化还原平衡,主要是 ROS 的失衡。ROS 和抗氧化防御系统之间的稳态失衡可能引发应激反应,这被认为与牙周破坏密切相关<sup>[11]</sup>,相关研究表明,牙周炎病人血清、唾液和龈沟液中的活性氧代谢物和总氧化状态水平增加<sup>[12]</sup>,见表 1。进一步的证据来自于体外和动物模型研究,ROS 水平的降低导致破骨细胞分化标记基因的表达下降,减少骨质流失<sup>[13]</sup>。ROS 还可以通过调控基因转录因子,如激活 B 细胞的 nf-kb 因子<sup>[14]</sup>,唤起免疫反应。此外,ROS 可通过 JNT 激酶激活诱导细胞凋亡<sup>[15]</sup>。总的来说,口腔环境中

表 1 牙周炎病人的氧化应激导致组织损伤

| 类型     | ROS 标志物                   | 宏观的组织表现                       |
|--------|---------------------------|-------------------------------|
| 脂质损伤   | 脂质过氧化(TBARS 测定)           | 唾液,血浆和组织的 ROS 增加              |
| 蛋白质损伤  | 丙二醛(Malondialdehyde, MDA) | 血浆,红细胞裂解液和唾液 ROS 增加           |
|        | 蛋白质羰基化                    | 血清中 ROS 水平无显著变化<br>唾液中 ROS 增加 |
| DNA 损伤 | 8-羟基-2-脱氧鸟苷(8-OHdG)       | 唾液中 ROS 增加                    |
|        | 白细胞端粒长度(LTL)              | LTL 与氧化应激负相关;和牙周炎的严重程度正相关     |

ROS 浓度的升高是牙周炎的危险因素。

牙周组织的损伤可能直接由氧化应激产生,间接通过激活与炎症、细胞凋亡以及其他因素相关的细胞信号传导途径来产生。已经有研究证明 ROS 升高会导致细胞脂质过氧化和细胞膜破坏,从而引起牙周组织的损伤<sup>[16]</sup>,这个过程进而引起蛋白质和酶的失活,导致核酸损伤(例如链断裂和碱基对突变)和染色体破坏,致使线粒体损伤和 ROS 的大量产生。

ROS 参与牙周病发病机制的另一个机制是激活牙周组织细胞的自噬。从广义上讲,自噬有四种形式:巨自噬,微自噬,分子伴侣自噬和非典型自噬,在这些形式中,巨自噬(以下称为自噬)是最广泛研究的类型<sup>[17]</sup>。在 2016 年的诺贝尔生理学或医学奖授予在自噬领域做出重要贡献的大隅良典教授,自噬成为了一个研究热点<sup>[18]</sup>。大量的证据表明 ROS 和自噬之间有密切的联系,表明 ROS-自噬之间的相互作用参与牙周炎的疾病进程。有研究证明自噬相关基因(Atg12 和 LC3)的表达与牙周炎病人的外周血单核细胞中的线粒体 ROS 产生呈正相关<sup>[19]</sup>,而且线粒体 ROS 的减少会引起细胞自噬的减少。

线粒体中 ROS 已经被确定为调节自噬的重要信号分子,细菌感染诱导 ROS 的产生<sup>[20]</sup>。自噬是一种溶酶体的自我降解途径<sup>[21]</sup>,自噬通路与 ROS 之间存在着一种复杂的互惠关系。有研究表明,ROS 会影响自噬,而自噬也会反过来调节 ROS<sup>[22]</sup>。ROS 和自噬的相互作用在癌症中也有体现<sup>[23]</sup>。这类研究也越来越多,受到了国内研究者的关注,如李柄辉等<sup>[24]</sup>对牙周病和胃癌发生相关性的分析。ROS 对自噬调控似乎很复杂,还有很多未知的地方,包括各种自噬信号通路和自噬相关基因。但是,相关研究表明,活性氧对细胞自噬的调控作用在肿瘤的发展过程中起着细胞毒性作用<sup>[25]</sup>。重要

的是,自噬被证明通过细菌消除来参与牙周炎发病机制,促进特定牙周病原体的内化,抑制免疫反应,抑制牙周细胞凋亡<sup>[26-27]</sup>。自噬通过调节牙周组织的免疫应答,来调控炎性体依赖性和炎性体非依赖性炎症来影响牙周炎症。

作为细胞毒性信号传导的一种形式,ROS 的过度生成可加重炎症反应,并导致细胞凋亡,诱导牙周功能障碍的自噬活性失调。相反的,自噬的氧化还原调节是抗菌反应的有效措施,保护牙周细胞免受细胞凋亡。但是由于目前研究的局限性,没有足够的证据证明 ROS 与自噬在牙周功能障碍中的相互作用,因此推测自噬中氧化还原的调节作用是非常困难的。然而,以前的研究表明自噬的氧化还原调控具有双重作用,这些研究已经证明,ROS 可能通过诱导自噬或细胞凋亡从而决定细胞命运。综上所述,虽然已有研究表明自噬参与细胞的氧化还原环境的调节,但背后的具体机制还有待进一步阐明。

#### 4 展望

ROS 在牙周炎发生和发展中的生理和病理作用已经被研究了数十年,获得了一系列的研究成果。尽管低水平的 ROS 可能是有益的,但是 ROS 的过量产生以及抗氧化剂缺乏会导致牙周疾病中的牙周相关组织破坏,主要是与牙周组织中抗氧化系统的稳态失衡和牙周组织细胞自噬的激活有关。ROS 和自噬是如何共同影响疾病病理进程的,现在还没有一个明确的共识,但是它们被证明与其多种疾病的发生发展相关,比如各种癌症,这些都需要进一步的研究探讨。总之,ROS 的研究为牙周病的治疗提供了一种新思路,也给其他疾病研究提供了启发,具有一定意义。

#### 参考文献

- [1] SHAPIRA L, BORINSKI R, SELA MN, et al. Superoxide formation and chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes in rapidly progressive periodontitis patients [J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 1991, 18(1): 44-48.
- [2] MARQUIS RE. Oxygen metabolism, oxidative stress and acid-base physiology of dental plaque biofilms [J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1995, 15(3): 198-207.
- [3] DUMITRESCU AL. Depression and inflammatory periodontal Disease considerations—an interdisciplinary approach [J]. *Frontiers in Psychology*, 2016, 7: 347.
- [4] NAYAR G, GAUNA A, CHUKKAPALLI S, et al. Polymicrobial infection alter inflammatory microRNA in rat salivary glands during periodontal disease [J]. *Anaerobe*, 2016, 38: 70-75.
- [5] DI MEO S, REED TT, VENDITTI P, et al. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 1245049. DOI: 10.1155/2016/1245049.
- [6] TAMAKI N, HAYASHIDA H, FUKUI M, et al. Oxidative stress and antibody levels to periodontal bacteria in adults: the Nagasaki Islands study [J]. *Oral Diseases*, 2014, 20(3): e49-e56. DOI: 10.1111/odi.12127.
- [7] GALLI C, PASSERI G, MACALUSO GM. FoxOs, Wnts and oxidative stress-induced bone loss: new players in the periodontitis arena? [J]. *Journal of Periodontal Research*, 2011, 46(4): 397.
- [8] LAMONT RJ, HAJISHENGALLIS G. Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2015, 21(3): 172-183.
- [9] ZHANG L, WANG K, LEI Y, et al. Redox signaling: Potential arbitrator of autophagy and apoptosis in therapeutic response [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2015, 89: 452-465.
- [10] FILOMENI G, DE ZD, CECCONI F. Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs [J]. *Cell Death & Differentiation*, 2015, 22(3): 377.
- [11] AKALIN FA, BALTACIOGLU E, ALVER A, et al. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis [J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2007, 34(7): 558-565.
- [12] BALTACIOGLU E, KEHRIBAR MA, YUVA P, et al. Total Oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis [J]. *Journal of Periodontology*, 2013, 85(2): 317-326.
- [13] KANZAKI H, SHINOHARA F, KAJIYA M, et al. The Keap1/Nrf2 protein axis plays a role in osteoclast differentiation by regulating intracellular reactive oxygen species signaling [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(32): 23009-23020.
- [14] THUMMURI D, JEENGAR MK, SHRIVASTAVA S, et al. Thymoquinone prevents RANKL-induced osteoclastogenesis activation and osteolysis in an in vivo model of inflammation by suppressing NF- $\kappa$ B and MAPK Signalling [J]. *Pharmacological Research*, 2015, 99: 63-73.
- [15] LIU W, GU J, QI J, et al. Lentinan exerts synergistic apoptotic effects with paclitaxel in A549 cells via activating ROS-TXNIP-NLRP3 inflammasome [J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2015, 19(8): 1949-1955.
- [16] PRADEEP AR, RAO NS, BAJAJ P, et al. 8-Isoprostane: a lipid peroxidation product in gingival crevicular fluid in healthy, gingivitis and chronic periodontitis subjects [J]. *Archives of Oral Biology*, 2013, 58(5): 500-504.
- [17] KABAT AM, POTT J, MALOY KJ. The mucosal immune system and its regulation by autophagy [J]. *Frontiers in Immunology*, 2016, 7: 240.
- [18] LEVINE B, KLIONSKY DJ. Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine: Breakthroughs in baker's yeast fuel advances in biomedical research [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114(2): 201-205.
- [19] BULLON P, CORDERO MD, QUILES JL, et al. Autophagy in periodontitis patients and gingival fibroblasts: unraveling the link between chronic diseases and inflammation [J]. *BMC Medicine*, 2012,