

文章编号: 1004-7220(2015)05-0474-05

炎症体及相关蛋白在力诱导牙周炎症反应中的作用

吴雅琴^{1,2}, 胥春^{1,2}

(1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院 口腔修复科, 上海 200011; 2. 上海市口腔医学研究所, 上海市口腔医学重点实验室, 上海 200011)

摘要: 炎症体是一种多蛋白复合体,能介导 IL-1 β 等多种炎症细胞因子释放,在炎症的发生发展中具有重要的作用。随着对炎症体研究的不断深入,目前已有文献报道炎症体可能参与机械力所诱导的机体炎症性疾病。与此同时,近年来研究显示,机械力可诱导牙周组织发生炎症反应,并伴随 IL-1 β 和 caspase-1/-5 的表达。然而,炎症体及相关蛋白在力诱导牙周炎症反应中的作用尚不明确。综述炎症体的特点、在力相关炎症性疾病中的作用、机械力诱导的牙周炎症及其与炎症体和相关蛋白关系的研究进展。

关键词: 炎症体; 机械力; 牙周组织

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2015.05.474

The role of inflammasomes and related proteins in periodontal inflammation induced by mechanical forces

WU Ya-qin^{1,2}, XU Chun^{1,2} (1. Department of Prosthodontics, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. Shanghai Key Laboratory of Stomatology, Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai 200011, China)

Abstract: Inflammasome is a kind of multi-protein complexes which can mediate the release of several inflammatory cytokines such as IL-1 β and thus plays an important role in the occurrence and development of inflammation. Along with the progressive researches on inflammasomes, recent literature has reported that inflammasomes might participate in some inflammatory diseases induced by mechanical forces. Meanwhile, recent studies have shown that mechanical forces can induce inflammation in periodontium, with the expression of IL-1 β and caspase-1/-5. However, the role of inflammasomes and related proteins in periodontal inflammation has not been specified so far. In this article, the recent advances on characteristics of inflammasomes and their role in inflammatory diseases related to forces, as well as periodontal inflammation induced by mechanical forces and its relationship with inflammasomes and related proteins were reviewed.

Key words: Inflammasomes; Mechanical force; Periodontium

健康的牙周组织对于保证牙齿的稳固并提供正常的咀嚼功能至关重要。越来越多的研究表明,适宜的力学刺激对于维持牙周组织的健康和调节组织改建具有重要意义^[1],而咬合力的异常增加、减弱

乃至丧失则可导致牙周组织形态和结构改变。

近年来,有关力诱导牙周组织发生炎症反应的报道逐渐引起学者注意。在机械力刺激下,牙周组织中多种炎症因子表达上调。与此同时,随着对炎

收稿日期: 2015-03-09; 修回日期: 2015-05-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470903, 31270991, 30900282), 上海市浦江人才计划项目(13PJ021), 上海市青年科技启明星计划(A类)项目(10QA1404200), 上海市重点学科建设项目(T0202, S30206-sms02)。

通信作者: 胥春, 副主任医师, Tel: (021)23271699-5691; E-mail: imxuchun@163.com。

症研究的不断深入,有研究显示炎症体可能参与机械力所诱导的机体炎症性疾病。因此,本文将对炎症体和相关蛋白在力诱导牙周炎症反应中的作用进行综述。

1 炎症体

IL-1 β (interleukin-1 β)是IL-1家族的成员,属于前期炎症细胞因子,可由多种细胞分泌而成,在机体固有免疫系统中具有重要作用。随着对IL-1 β 激活机制的深入研究,Martinon等^[2]于2002年首次提出了“炎症体(inflammasome)”的概念。

炎症体由分子感受器、接头蛋白——凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD,ASC)和炎性天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(cysteine-dependent aspartate-specific proteases,caspases)^[3]组成。分子感受器蛋白,包括经典的核苷酸结合寡聚化结构域蛋白样受体(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors,NLRs)和非经典的nonNLR(如AIM2、RIG-1以及IFI16)^[4]。NLRs是最近研究发现的一种模式识别受体(pattern recognition receptor,PRR),存在于细胞内,能识别胞浆内的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns,PAMPs)和宿主源性的危险相关分子模式(danger associated molecular patterns,DAMPs)^[5]。NLRs由三部分组成,C端是亮氨酸富集重复区,识别上游激活信号;中间有一个核苷酸结合性寡聚区;N端是效应结构域,为热蛋白结构域(pyrin domain,PYD)或半胱天冬酶募集结构域(caspase recruitment domains,CARD)。NLRs感知刺激后,可直接利用CARD,或通过ASC的间接作用募集并活化效应蛋白炎性caspases,形成炎症复合体,从而进一步激活IL-1 β 等多种炎症因子^[6]。

caspases以非活性的酶原形式存在,可在特定条件下被激活。根据caspases的结构与功能不同,将其分成两大类:一是凋亡相关caspases,包括凋亡起始蛋白caspase-2、-8、-9、-10和效应蛋白caspase-3、-6、-7^[7];二是炎症相关caspases,包括caspase-1、-4、-5、-11、-12^[8],可诱导多种炎症细胞因子的表达。

目前已发现的NLR炎症体包括NLRP1、NLRP3、NLRP4、NLRP5、NLRP6、NLRP10和NLRP12等。其中,NLRP1为最早报道的炎症复合体,活化caspase-

1/-5^[2],促进IL-1 β 、IL-18和IL-33的活化和释放。NLRP3炎症体是目前研究最为深入的炎症体,活化caspase-1,并诱导IL-1 β 等炎症因子的释放。

炎症体参与激活机体的固有免疫系统,并涉及多种疾病,包括阿尔茨海默病、帕金森氏病、2型糖尿病等的发展过程,对于宿主抵抗内源性和外源性刺激具有重要意义。

2 炎症体及相关蛋白在力相关炎症反应中的作用

近年来,炎症体已成为研究热点。有不少学者发现,炎症体可能参与机械力所诱导的炎症反应。其中,机械力相关炎症性疾病,如外伤性脑损伤、动脉粥样硬化、肺损伤和压迫性溃疡与炎症体的关联已有报道。

外伤性脑损伤可引起急性炎症反应,从而导致神经元细胞的丧失、轴突破坏和脱髓鞘等病变^[9]。实验发现,利用液体冲击模拟脑部外伤,大脑皮质神经元细胞内表达NLRP1炎症体以及caspase-1、caspase-11、ASC等相关蛋白,并引起IL-1 β 的生成^[10]。

力学因素对于血管重建具有重要意义^[11]。动脉粥样硬化是一种炎症性疾病^[12],血液流动产生机械力作用于血管内皮细胞,在血管分叉和弯曲处易发生血液扰动,产生低振荡剪切应力(oscillatory shear stress,OSS),而动脉粥样硬化病变正是好发于这些部位。OSS可诱导内皮细胞、巨噬细胞内NLRP3炎症体的形成,激活固有免疫系统,促进caspase-1和IL-1 β 的释放^[13]。

机械通气可加速原有肺损伤甚至伤害健康的肺部,造成通气性肺损伤(ventilator-induced lung injury,VILI)^[14]。VILI以炎症为主要特征,伴随IL-1 β 的产生。在对IL-1 β 的深入研究中,Kuipers等^[15]报道了NLRP3炎症体参与介导VILI的炎症过程。此后,其他学者也证明机械通气可诱导人肺泡巨噬细胞内NLRP3炎症体活化,激活caspase-1,并释放IL-1 β 和IL-18^[16]。

压迫性溃疡是由于软组织受到长期机械力(包括压力、剪切力、摩擦力)的作用而发生,伴有局部皮肤的缺血和潮湿^[17]。年轻皮肤表达活跃的免疫反应,在受载后角质细胞发生胶原排列和组织形态

的改变,并可上调 NLRP3 炎症体及相关蛋白的表达,但 IL-1 β 的水平却明显降低^[18]。

3 机械力与牙周炎症

作用于牙周组织的力多种多样,包括咬合力、正畸力、外力创伤等,可造成压应力、牵张应力、剪切应力等多种形式的机械应力。近年来,有关力诱导牙周组织发生变化的报道越来越多,其中关于机械力可引起牙周组织无菌性炎症的研究也已有报道。

炎症是机体对内源性和外源性刺激的一种防御反应,出现红、肿、热、痛及功能障碍。无菌性炎症不伴随细菌侵蚀,但仍然具有细菌性炎症的典型临床表现。

牙周组织包括牙龈、牙槽骨、牙周膜和牙骨质。其中,牙周膜是介于牙槽骨和牙骨质之间的一层致密结缔组织,可将牙齿固定于牙槽窝中,并对牙齿所承受的力发挥传递和缓冲的作用。牙周膜中存在多种细胞,包括成纤维细胞、成骨细胞、成牙骨质细胞等。人牙周膜细胞(human periodontal ligament cells, HPDLCs)在动态牵张作用下,细胞形态及排列方式发生改变^[19],并可通过 caspase-9 引发细胞的早期凋亡,凋亡率呈牵张时间和强度依赖^[20]。

正畸力或牙合创伤可引起牙周组织的无菌性炎症。机械力所诱导的牙周炎症初期为急性,逐渐转为慢性,参与牙周组织内机械信号的转导和组织改建^[21]。在正畸治疗过程中,牙齿的移动依赖牙周组织的改建,正畸力传导至牙周膜和牙槽骨,使压力侧和张力侧分别发生骨的吸收和增生;若正畸力过大,牙周组织将被破坏或发生牙根吸收。咬合创伤或过大的侧向力也会引起牙周支持组织的破坏,牙槽骨高度下降,牙周膜面积减小,进而导致牙齿松动。在机械力作用下,牙周的矿化组织(牙槽骨、牙骨质)及非矿化组织(牙周膜、牙龈)内多种细胞和细胞外基质将发生一系列形态结构和组织化学的变化;与此同时,相关的神经血管和免疫系统也会随之变化。牙周膜内血管数量先减少后增加,有助于多种细胞因子和化学因子的生成和释放,并伴随炎性 caspases 和多种炎症因子的表达上调^[21]。

4 炎症体及相关蛋白与机械力诱导牙周炎症的关系

在机械应力的作用下,牙周组织会出现一系列

生理性或病理性反应,分泌大量炎症因子,包括集落刺激因子、前列腺素、白细胞介素、干扰素、肿瘤坏死因子等。研究发现,HPDLCs 在机械应力作用下,炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 、TNF- β 、IFN- γ 、PGE₂、M-CSF 等的 mRNA 及其蛋白水平显著增高。在机械力作用后的实验动物龈沟液中,也发现 IL-1 β 和 PGE₂ 的表达上调^[22]。

IL-1 β 在牙周炎症信号通路中居于重要地位。在牙周组织中,IL-1 β 可促进 HPDLCs 中基质金属蛋白酶 MMP-1、-2 表达^[23],同时抑制金属蛋白酶组织抑制剂 TIMP-1 的表达^[24];上调单核细胞趋化蛋白 MCP-1,促进单核细胞的募集^[24];刺激前列腺素 PGE₂ 的合成^[25],并参与 IL-8 的生成^[26],从而促进骨质吸收和牙周组织的破坏。

IL-1 β 的产生机制至今尚未完全明晰。然而,已有大量证据显示,炎症体的激活可促使 IL-1 β 等多种炎症细胞因子的释放。关于 NLRP3 炎症体的激活,目前认为有 3 种方式:一是胞外 ATP 激活细胞膜表面 P2X₇ 嘌呤受体;二是晶体或微粒促使溶酶体释放组织蛋白酶-B;三是活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)引起相关蛋白构象发生变化。Kanjamekanant 等^[27]研究发现,HPDLCs 在受力后通过释放 ATP 上调 IL-1 β 的表达,阻断 P2X₇ 受体可显著抑制 IL-1 β 的生成。在正畸牙齿移动或牙合创伤中,压力侧的牙周膜出现局部缺血缺氧,刺激 ROS 的生成,并伴随 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 的表达上调^[28]。使用实时 PCR 芯片技术发现,对 HPDLC 施加动态牵张应变,编码 caspase-5 的基因 CASP5 表达明显增加^[19, 29]。采用免疫印迹检测技术也发现动态牵张上调了活化状态和非活化状态的 caspase-5 蛋白,并呈现牵张时间和应变值依赖性。此外,还有研究报道,对大鼠的下颌第 1 磨牙施以正畸力,可引起牙周组织内 caspase-1 表达升高^[30]。如前所述, caspase-1/-5 为炎性 caspases,与 NLRP1、NLRP3 炎症体的活化有关。上述研究都将机械力刺激下 IL-1 β 产生和释放的关键调控因子指向炎症体及其相关蛋白。

值得一提的是,近年来研究显示,与细菌感染相关的牙周、牙髓炎症组织内存在炎症体的表达。牙龈卞琳单孢菌(*P. gingivalis*)可引起牙龈组织内 caspase-1 的活化并激活 NLRP3 和 AIM2 炎症体,进

而诱导 IL-1 β 的释放^[31]。牙髓组织在受到病原菌侵蚀时,人牙髓成纤维细胞中亦有 NLRP3 炎症体、caspase-1、IL-1 β 及相关分子 P2X₇ 的表达^[32]。这些研究都提示,炎症体及相关蛋白在力诱导牙周组织炎症反应中很可能具有重要的作用。

因此,虽然目前暂无直接证据证明炎症体参与诱导牙周炎症中 IL-1 β 的产生和释放,但综合现有研究发现,机械力作用于牙周组织后,可能通过 ATP 的释放并激活 P2X₇ 受体,或通过刺激 ROS 生成的机制,上调 caspase-1/-5,形成炎症体并活化,从而诱导 IL-1 β 等炎症因子的表达,进而导致牙周组织炎症。

5 总结与展望

越来越多证据显示,力学刺激可转化成生物化学信号,诱导细胞内相关基因和蛋白发生变化。近年来,炎症体已成为研究热点,力学刺激与炎症体的相互关系也逐渐受到关注。关于炎症体是否参与机械力诱导牙周组织发生炎症反应,目前尚不明确。然而,综合现阶段研究发现,机械力可引起牙周组织的无菌性炎症,并伴随 IL-1 β 和炎性 caspase-1/-5 等多种炎症体相关蛋白的表达,而在细菌感染导致的牙周、牙髓炎症组织内也发现了炎症体的表达。因此,炎症体及相关蛋白在力诱导牙周组织炎症反应中极有可能具有重要的作用,值得进一步对其开展深入研究。

参考文献:

[1] 胡海楠, 张晓荣. 隐形矫治技术生物力学研究进展 [J]. 医用生物力学, 2014, 29(4): 392-385.
Hu HN, Zhang XR. Progress of biomechanical research on invisible appliance technology [J]. J Biomech, 2014, 29(4): 392-385.

[2] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: A molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta [J]. Mol Cell, 2002, 10(2): 417-426.

[3] Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(6): 397-411.

[4] Franchi L, Munoz-Planillo R, Nunez G. Sensing and reacting to microbes through the inflammasomes [J]. Nat Immunol, 2012, 13(4): 325-332.

[5] Chen GY, Nunez G. Sterile inflammation: Sensing and reacting to damage [J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(12): 826-837.

[6] Franchi L, Munoz-Planillo R, Reimer T, *et al.* Inflammasomes as microbial sensors [J]. Eur J Immunol, 2010, 40(3): 611-615.

[7] Wu MH, Jin XK, Yu AQ, *et al.* Caspase-mediated apoptosis in crustaceans: Cloning and functional characterization of EsCaspase-3-like protein from Eriocheir [J]. Fish Shellfish Immunol, 2014, 41(2): 625-632.

[8] Martinon F, Tschopp J. Inflammatory caspases and inflammasomes: Master switches of inflammation [J]. Cell Death Differ, 2007, 14(1): 10-22.

[9] Tomura S, de Rivero Vaccari JP, Keane RW, *et al.* Effects of therapeutic hypothermia on inflammasome signaling after traumatic brain injury [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32(10): 1939-1947.

[10] de Rivero Vaccari JP, Lotocki G, Alonso OF, *et al.* Therapeutic neutralization of the NLRP1 inflammasome reduces the innate immune response and improves histopathology after traumatic brain injury [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2009, 29(7): 1251-1261.

[11] 陆奇明, 顾翔, 姜晓华, 等. Rab28 相关信号通路在低切应力诱导血管平滑肌细胞迁移中的作用 [J]. 医用生物力学, 2014, 29(1): 7-13.
Lu QM, Gu X, Jiang XH, *et al.* The role of Rab28 and ERK in low shear stress induced migration of vascular smooth muscle cells [J]. J Med Biomech, 2014, 29(1): 7-13.

[12] Han Y, Zhan Y, Hou G, *et al.* Cyclin-dependent kinase 9 may as a novel target in downregulating the atherosclerosis inflammation [J]. Biomed Rep, 2014, 2(6): 775-779.

[13] Chen Z, Martin M, Li Z, *et al.* Endothelial dysfunction: the role of sterol regulatory element-binding protein-induced NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3 inflammasome in atherosclerosis [J]. Curr Opin Lipidol, 2014, 25(5): 339-349.

[14] Gajic O, Dara SI, Mendez JL, *et al.* Ventilator-associated lung injury in patients without acute lung injury at the onset of mechanical ventilation [J]. Crit Care Med, 2004, 32(9): 1817-1824.

[15] Kuipers MT, Aslami H, Janczy JR, *et al.* Ventilator-induced lung injury is mediated by the NLRP3 inflammasome [J]. Anesthesiology, 2012, 116(5): 1104-1115.

[16] Jones HD, Crother TR, Gonzalez-Villalobos RA, *et al.* The NLRP3 inflammasome is required for the development of hypoxemia in LPS/mechanical ventilation acute lung injury [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 50(2): 270-280.

[17] Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and

- regeneration: Mechanisms, signaling, and translation [J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(265): 1-16.
- [18] Stojadinovic O, Minkiewicz J, Sawaya A, *et al.* Deep tissue injury in development of pressure ulcers: A decrease of inflammasome activation and changes in human skin morphology in response to aging and mechanical load [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e69223.
- [19] Xu C, Hao Y, Wei B, *et al.* Apoptotic gene expression by human periodontal ligament cells following cyclic stretch [J]. *J Periodontal Res*, 2011, 46(6): 742-748.
- [20] Hao Y, Xu C, Sun SY, *et al.* Cyclic stretching force induces apoptosis in human periodontal ligament cells via caspase-9 [J]. *Arch Oral Biol*, 2009, 54(9): 864-870.
- [21] Krishnan V, Davidovitch Z. On a path to unfolding the biological mechanisms of orthodontic tooth movement [J]. *J Dent Res*, 2009, 88(7): 597-608.
- [22] Ren Y, Vissink A. Cytokines in crevicular fluid and orthodontic tooth movement [J]. *Eur J Oral Sci*, 2008, 116(2): 89-97.
- [23] 谭国琴. 天花粉蛋白对 IL-1 β 介导下的人牙周膜细胞 MMP-1、MMP-2 表达的影响[D]. 西安:第四军医大学硕士学位论文, 2012.
- [24] 张斯. IL-1 β 在犬牙根吸收组织中的表达及其对人牙周膜细胞 MMP-1、TIMP-1 表达的影响[D]. 西安:第四军医大学硕士学位论文, 2012.
- [25] Saito M, Saito S, Ngan PW, *et al.* Interleukin 1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress in vivo and in vitro [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1991, 99(3): 226-240.
- [26] Maeda A, Soejima K, Bandow K, *et al.* Force-induced IL-8 from periodontal ligament cells requires IL-1beta [J]. *J Dent Res*, 2007, 86(7): 629-634.
- [27] Kanjanamekanant K, Luckprom P, Pavasant P. Mechanical stress-induced interleukin-1beta expression through adenosine triphosphate/P2X7 receptor activation in human periodontal ligament cells [J]. *J Periodontal Res*, 2013, 48(2): 169-176.
- [28] Chae HS, Park HJ, Hwang HR, *et al.* The effect of antioxidants on the production of pro-inflammatory cytokines and orthodontic tooth movement [J]. *Mol Cells*, 2011, 32(2): 189-196.
- [29] Ritter N, Mussig E, Steinberg T, *et al.* Elevated expression of genes assigned to NF-kappaB and apoptotic pathways in human periodontal ligament fibroblasts following mechanical stretch [J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 328(3): 537-548.
- [30] Yan X, Chen J, Hao Y, *et al.* Changes of caspase-1 after the application of orthodontic forces in the periodontal tissues of rats [J]. *Angle Orthod*, 2009, 79(6): 1126-1132.
- [31] Park E, Na HS, Song YR, *et al.* Activation of NLRP3 and AIM2 inflammasomes by Porphyromonas gingivalis infection [J]. *Infect Immun*, 2014, 82(1): 112-123.
- [32] 蒋文凯. 人牙髓成纤维细胞 NLRP3/Caspase-1 炎症体通路机制的初步研究[D]. 西安:第四军医大学硕士学位论文, 2013.

(上接第 462 页)

- [6] 王少强, 魏松洋. 搏动体外循环增加小儿搏动灌注和非搏动灌注对肾功能的影响[J]. *中国体外循环杂志*, 2011, 9(3): 149-151.
- [7] 廖伟强, 张斌, 曾德长, 等. 磁力传动及其应用与设计[J]. *机械设计与制造*, 2007, 5: 148-149.
- [8] 李为, 李庆华, 裴永昌, 等. 直线往复磁力传动参数分析及其优化设计[J]. *试验技术与试验机*, 2006, 46(3): 64-68.
- [9] 赵国涛, 谭庆仓, 李为, 等. 直线往复运动磁力传动[J]. *机械工程学报*, 2007, 43(1): 100-103.
- [10] 胡卫. 微型体外循环应用的进展[J]. *重庆医学*, 2009, 38(6): 711-714.
- [11] 刘肖, 孙安强, 占帆, 等. 动脉血流旋动原理在人造血管研制和血管移植术中的应用[J]. *医用生物力学*, 2010, 25(5): 334-337.
- Liu X, Sun AQ, Zhan F, *et al.* Clinical application of the swirling flow mechanism in arterial prostheses and bypasses [J]. *J Med Biomech*, 2010, 25(5): 334-337.
- [12] 刘有军, 乔爱科. 血流动力学及其医学应用[J]. *医用生物力学*, 2012, 27(5): 475-479.
- Liu YJ, Qiao AK. Hemodynamics and its medical application [J]. *J Med Biomech*, 2012, 27(5): 475-479.
- [13] 刘明, 刘肖, 康红艳, 等. 主动脉处的血流动力学特性及其生理意义[J]. *医用生物力学*, 2012, 27(5): 481-486.
- Liu M, Liu X, Kang HY, *et al.* Hemodynamic characteristics of the aorta and its physiological significance [J]. *J Med Biomech*, 2012, 27(5): 481-486.