

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.03.016

慢性牙周炎合并 2 型糖尿病患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 的变化及临床价值研究*

杨 淇¹ 郑卫卫^{1△} 于 洁¹ 马丽华¹ 郭俊峰²

(1 中国人民解放军联勤保障部队第九七〇医院五官科 山东 烟台 264002; 2 陆军军医大学新桥医院口腔科 重庆 400037)

摘要 目的:探讨慢性牙周炎(CP)合并 2 型糖尿病(T2DM)患者龈沟液沉默信息调节因子-1(Sirtuin-1)、Sirtuin-6 的变化和临床价值。**方法:**选择 2020 年 3 月至 2023 年 3 月中国人民解放军联勤保障部队第九七〇医院收治的 147 例 CP 合并 T2DM 患者(T2DM 组), 128 例单纯 CP 患者(CP 组)和 121 例健康体检者(对照组)。根据牙周检查结果将 T2DM 组患者分为轻度组(n=49)、中度组(n=67)、重度组(n=31)。检测受试者龈沟液中 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平以及外周血单核细胞核苷酸结合寡聚化结构域样受体热蛋白结构域亚家族成员 3(NLRP3)信使核糖核酸(mRNA)、程序性细胞死亡相关斑点样蛋白(ASC)mRNA、半胱氨酸蛋白酶 1(Caspase-1)mRNA 表达,并评估牙周临床指标。Pearson 分析 CP 合并 T2DM 患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平与牙周临床指标、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达的相关性。受试者工作特征(ROC)曲线分析龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 诊断 CP 合并 T2DM 的价值。**结果:**T2DM 组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于 CP 组和对照组($P<0.05$),出血指数(SBI)、牙周袋探诊深度(PD)、牙龈指数(GI)、菌斑指数(PLI)、附着丧失(AL)、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于 CP 组和对照组($P<0.05$)。CP 组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于和对照组($P<0.05$),GI、SBI、PLI、PD、AL、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于对照组($P<0.05$)。重度组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于中度组和轻度组($P<0.05$),GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于中度组和轻度组($P<0.05$)。中度组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于轻度组($P<0.05$),GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于轻度组($P<0.05$)。CP 合并 T2DM 患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平与 GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达均呈负相关($P<0.05$)。龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 诊断 CP 合并 T2DM 的曲线下面积(AUC)为 0.787、0.806,联合诊断 AUC 为 0.912,高于单独诊断。**结论:**CP 合并 T2DM 患者龈沟液中 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平降低,且与牙周组织破坏程度加重、NLRP3 炎症小体激活有关。龈沟液 Sirtuin-1 联合 Sirtuin-6 在 CP 合并 T2DM 诊断中具有较高价值。

关键词:慢性牙周炎; 2 型糖尿病; Sirtuin-1; Sirtuin-6; NLRP3 炎症小体; 临床价值

中图分类号:R587.2;R774 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)03-486-06

Study on the Changes and Clinical Value of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in Gingival Crevicular Fluid of Chronic Periodontitis Patients with Type 2 Diabetes Mellitus*

YANG Qi¹, ZHENG Wei-wei^{1△}, YU Jie¹, MA Li-hua¹, GUO Jun-feng²

(1 Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, The 970 Hospital of Joint Logistics Support Force of Chinese People's Liberation Army, Yantai, Shandong, 264002, China; 2 Department of Stomatology, Army Medical University Xinqiao Hospital, Chongqing, 400037, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the changes and clinical value of silent information regulator-1 (Sirtuin-1) and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid of chronic periodontitis (CP) patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** 147 CP patients with T2DM (T2DM group), 128 patients with simple CP (CP group) and 121 healthy subjects (control group) who were admitted to The 970 Hospital of Joint Logistics Support Force of Chinese People's Liberation Army from March 2020 to March 2023 were selected. Patients in T2DM group were divided into mild group (n=49), moderate group (n=67) and severe group (n=31) according to the results of periodontal examination. The levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid and the expression of nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor hot protein domain subfamily member 3 (NLRP3) messenger ribonucleic acid (mRNA), programmed cell death-associated speck-like protein (ASC) mRNA and cysteine protease 1 (Caspase-1) mRNA in peripheral blood mononuclear cells were detected, and the periodontal clinical indexes were evaluated. The correlation between the levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid and periodontal clinical indicators, the expression of NLRP3 mRNA, ASC mRNA and Caspase-1 mRNA in peripher-

* 基金项目:军队后勤科研基金资助项目(BHJ18J012)

作者简介:杨淇(1985-),女,硕士,主治医师,研究方向:黏膜病、牙周、牙体牙髓,E-mail: lovesunlight2728@163.com

△ 通讯作者:郑卫卫(1978-),男,本科,副主任医师,研究方向:口腔医学,E-mail: wgkzww552@163.com

(收稿日期:2023-08-21 接受日期:2023-09-17)

al blood mononuclear cells in CP patients with T2DM were analyzed by Pearson correlation analysis. The value of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid in the diagnosis of CP combined with T2DM were analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results:** The levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid in T2DM group were lower than those in CP group and control group ($P<0.05$), the bleeding index (SBI), probing depth (PD), gingival index (GI), plaque index (PLI), attachment loss (AL), NLRP3 mRNA, ASC mRNA and Caspase-1 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells in T2DM group were higher than those in CP group and control group ($P<0.05$). The levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid in CP group were lower than those in control group ($P<0.05$), the expressions of GI, SBI, PLI, PD, AL, NLRP3 mRNA, ASC mRNA and Caspase-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells in CP group were higher than those in control group ($P<0.05$). The levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid in severe group were lower than those in moderate group and mild group ($P<0.05$). The expression of GI, PLI, SBI, AL, PD, NLRP3 mRNA, ASC mRNA and Caspase-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells in severe group were higher than those in moderate group and mild group ($P<0.05$). The levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid in moderate group were lower than those in mild group ($P<0.05$), and the expressions of GI, PLI, SBI, AL, PD, NLRP3 mRNA, ASC mRNA and Caspase-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells were higher than those in mild group ($P<0.05$). The levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid of CP patients with T2DM were negatively correlated with GI, PLI, SBI, AL, PD, NLRP3 mRNA, ASC mRNA and Caspase-1 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells ($P<0.05$). The area under the curve (AUC) of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid for the diagnosis of CP combined with T2DM was 0.787 and 0.806 respectively, and the AUC of combined diagnosis was 0.912, which was higher than that of single diagnosis. **Conclusion:** The levels of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid of CP patients with T2DM are decrease, which are relate to the aggravation of periodontal tissue damage and the activation of NLRP3 inflammasome. Sirtuin-1 combine with Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid has high value in the diagnosis of CP combine with T2DM.

Key words: Chronic periodontitis; Type 2 diabetes mellitus; Sirtuin-1; Sirtuin-6; NLRP3 inflammasome; Clinical value

Chinese Library Classification(CLC): R587.2; R774 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)03-486-06

前言

慢性牙周炎(CP)是一种与口腔菌群失调的炎症性疾病,其特征是慢性持续炎症反应诱导的牙槽骨吸收和牙齿脱落^[1,2]。2型糖尿病(T2DM)是一种由胰岛素作用受损引起的代谢性疾病,持续高血糖可促进龈下菌群中致病菌增殖,增加牙周炎和牙周组织破坏的风险^[3,4]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体热蛋白结构域亚家族成员3(NLRP3)炎症小体在CP发病中起关键作用,其异常激活可加剧炎症反应,导致牙槽骨的骨代谢紊乱^[5],有研究表明CP患者唾液和血清中NLRP3炎症小体水平与CP严重程度呈有关^[6]。沉默信息调节因子(Sirtuin)是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的蛋白质去乙酰化酶,可抑制牙周组织炎症反应和牙槽骨吸收,在CP发病过程中具有重要作用^[7]。Sirtuin-1是Sirtuin家族成员之一,也是人牙周韧带细胞分化的调节剂,激活SIRT1可刺激成骨细胞分化,并诱导钙沉积和牙周骨再生^[8]。Sirtuin-6可调节炎症反应过程,也可促进牙周膜干细胞成骨分化^[9]。根尖周围病变大鼠模型中上调Sirtuin-6表达可抑制炎症反应,减轻根尖周围病变^[10]。但目前Sirtuin-1、Sirtuin-6在CP合并T2DM的报道较少,其临床意义尚不清楚,本研究拟探讨Sirtuin-1、Sirtuin-6与CP合并T2DM患者牙周指标,NLRP3炎症小体的关系,旨在为临床诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2020年3月至2023年3月中国人民解放军联勤保障部队第九七〇医院收治的147例CP合并T2DM患者(T2DM组),年龄53~75岁,平均(63.26±8.19)岁,男85例,

女62例,CP病程1~3年,平均(1.52±0.33)年,T2DM病程5~13年,平均(9.24±2.84)年。另选择同期我院口腔科收治的128例单纯CP患者(CP组)和121例于门诊体检中心体检的健康体检者(对照组),对照组,年龄53~76岁,平均(63.12±8.08)岁,男69例,女52例。CP组,年龄55~79岁,平均(63.51±8.27)岁,男71例,女57例,CP病程1~3年,平均(1.46±0.32)年。三组性别、年龄比较无统计学差异($P>0.05$),具有可比性。本研究已经获得中国人民解放军联勤保障部队第九七〇医院伦理委员会批准。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准:T2DM^①符合《中国2型糖尿病防治指南(2017年版)》诊断标准^[11];CP^②符合《牙周病学》第4版中相关诊断标准^[12];^③患者及其家属均书面知情同意,年龄>18岁;^④牙周炎病程≥12个月。排除标准:^①呼吸、泌尿、血液系统疾病;^②半年内牙周治疗史,全口无牙颌,无法配合口腔检查者;^③口腔肿瘤、其它部位实体肿瘤;^④入组前3个月接受牙周治疗。

1.3 龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 检测

所有受试者均于入组次日进行龈沟液采集,采集前所有受试者均在医师指导下进行准备工作(刮除龈上菌斑,漱口,隔湿,气枪吹干牙龈表面)。滤纸吸着法采集龈沟液:纸片(2mm×10mm,Whatman3号滤纸)插入牙龈或牙周袋底,停留30s取出置入EP管内,加入磷酸盐平衡生理盐水缓冲液震荡,离心(相对离心力699×g)15min取上清液。采用酶联免疫吸附试验检测龈沟液Sirtuin-1、Sirtuin-6水平,Sirtuin-1、Sirtuin-6试剂盒分别购自上海梵态生物科技有限公司、上海博湖生物科技有限公司,仪器为Varioskan LUX多功能酶标仪(美国赛默飞公司)。

1.4 牙周临床指标

所有受试者入组后均进行牙周临床指标^[12]评估,指标包括牙周袋探诊深度(PD)、龈沟出血指数(SBI)、附着丧失(AL)、牙龈指数(GI)、菌斑指数(PLI)。GI采用钝头牙周探针结合视诊,0分,牙龈健康;1分,轻度炎症,牙龈水肿,但不出血;2分,中等炎症,牙龈水肿,探针出血;3分,严重炎症,牙龈红肿或溃疡,自动出血。SBI采用探针探入龈沟内探诊,3分,自发性出血;2分,线性出血;1分,散性出血;0分,无出血。PLI评估采用碱性品红染色,3分,大量菌斑;2分,中量菌斑;1分,少量菌斑;0分,无菌斑。AL为探针探查釉牙骨质界到上皮冠方的距离,PD为探针沿牙齿长轴至内龈沟底的距离。CP病情严重程度评估标准^[13]:重度,GI>1,AL为>4 mm,PD>6 mm,牙槽骨吸收>1/2根长;中度,GI>1,AL>2.1~4 mm,PD>4~6 mm,牙槽骨吸收1/3~1/2根长;轻度,GI>1,AL为1~2 mm,PD≤4 mm,牙槽骨吸收<1/3根长。T2DM组患者根据CP病情严重程度分为轻度组(n=49)、中度组(n=67)和重度组(n=31)。

1.5 外周血单核细胞 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 表达检测

所有受试者均于入组次日采集外周静脉血 3mL 左右注入肝素抗凝试管混匀,离心(2000r/min,半径 10cm)20 min 分离外周血单核细胞。MagMAX 稳定血液管 RNA 分离试剂盒(美国赛默飞公司)提取提取外周血单核细胞中的总核糖核酸(RNA),Super Master Mix 合成试剂盒(日本 TaKaRa 公司)将总 RNA 逆转录为互补核糖核酸(cDNA)。ABI 7300 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)进行实时定量聚合酶链反应(RT-PCR),2^{-△△Ct} 法计算 NLRP3 信使核糖核酸(mRNA)、程序性细胞死亡相关斑点样蛋白(ASC)mRNA、半胱氨酸蛋白酶 1(Caspase-1)mRNA 表达量。引物序列:NLRP3:上游,5'-CCATCGGCAAGACCAAGA-3',下游,5'-ACAGGCTC-AGAATGCTCATC-3';ASC:上游,5'-TGGATGCTCTG-TACG-GGAAG-3';下游,5'-CCAGGCTGGT-GTGAACTGAA-3';Cas-

pase-1,上游,5'-CACGAGACCTGT GCGATCAT-3',下游,5'-CTTGAGGGAACCACTCGGTC-3';内参(U6),上游,5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3',下游,5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'。反应体系:提取 RNA 2 μL、SYBR Green Master PCR Mix 10 μL、正向引物 5 pmol、反向引物 5 pmol、稀释 cDNA 模板 1 μL,加无菌蒸馏水至最终体积为 20 μL。PCR 反应条件:95 °C 5 min 预变性;95 °C 15 s、60 °C 60 s,共 42 个循环。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 软件(25.0 版,美国 IBM 公司)进行统计分析,正态分布的连续变量表示为平均值±标准差,使用 student-t 检验或单因素方差分析。分类变量以计数和百分比表示,使用卡方检验。Pearson 分析龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平与牙周临床指标,外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达的相关性。受试者工作特征(ROC)曲线分析龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 诊断 CP 合并 T2DM 的价值,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6、牙周临床指标、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达水平比较

T2DM 组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于 CP 组和对照组(P<0.05),GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于 CP 组和对照组(P<0.05)。CP 组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于对照组(P<0.05),GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于对照组(P<0.05),见表 1。

表 1 三组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6、牙周临床指标、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of Sirtuin-1, Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid, periodontal clinical indexes, NLRP3 mRNA, ASC mRNA and Caspase-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells in three groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Sirtuin-1 (μg/L)	Sirtuin-6 (μg/L)	GI(score)	PLI (score)	SBI (score)	AL(mm)	PD(mm)	NL- RP3mRNA	ASC mRNA	Caspase-1 mRNA
T2DM group	147	0.95±	2.03±	2.02±	2.15±	2.06±	3.36±	5.26±	3.02±	1.95±	1.82±
		0.21 [°]	0.69 [°]	0.33 [°]	0.36 [°]	0.31 [°]	1.21 [°]	1.33 [°]	1.15 [°]	0.21 [°]	0.36 [°]
CP group	128	1.21±	3.85±	1.55±	1.65±	1.42±	2.95±	4.82±	2.21±	1.33±	1.16±
		0.36 [°]	1.24 [°]	0.26 [°]	0.21 [°]	0.30 [°]	1.06 [°]	1.03 [°]	0.43 [°]	0.20 [°]	0.21 [°]
Control group	121	1.42±	4.35±	0.72±	0.56±	0.62±	0.75±	2.85±	1.29±	0.92±	0.83±
		0.41	1.62	0.22	0.20	0.18	0.21	0.61	0.33	0.18	0.15
F value		106.351	119.452	96.709	82.461	77.095	128.461	96.354	85.172	72.351	99.721
P value		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: Compare with control group, ° P<0.05. Compare with CP group, ° P<0.05.

2.2 不同病情 CP 合并 T2DM 患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6、牙周临床指标、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达水平比较

重度组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于中度组和轻度组(P<0.05),GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3

mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于中度组和轻度组(P<0.05)。中度组龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平低于轻度组(P<0.05),GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达高于轻度组(P<0.05),见表 2。

表 2 不同病情 CP 合并 T2DM 患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6、牙周临床指标、外周血单核细胞 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of Sirtuin-1, Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid, periodontal clinical indexes, NLRP3, ASC and Caspase-1 mRNA expression levels in peripheral blood mononuclear cells of CP patients with T2DM in different conditions($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Sirtuin-1 ($\mu\text{g/L}$)	Sirtuin-6 ($\mu\text{g/L}$)	GI(score)	PLI (score)	SBI (score)	AL(mm)	PD(mm)	NL- RP3mRNA	ASC mRNA	Caspase-1 mRNA
Mild group	49	1.10 \pm	2.36 \pm	1.78 \pm	1.85 \pm	1.88 \pm	1.49 \pm	3.39 \pm	2.29 \pm	1.82 \pm	1.53 \pm
		0.06	0.21	0.06	0.06	0.06	0.31	0.10	0.13	0.13	0.06
Moderate group	67	0.92 \pm	2.02 \pm	2.02 \pm	2.25 \pm	2.09 \pm	3.52 \pm	5.39 \pm	3.20 \pm	1.97 \pm	1.90 \pm
		0.10 [°]	0.36 [°]	0.36 [°]	0.16 [°]	0.12 [°]	0.26 [°]	0.31 [°]	0.21 [°]	0.22 [°]	0.13 [°]
Severe group	31	0.78 \pm	1.53 \pm	2.25 \pm	2.41 \pm	2.28 \pm	4.39 \pm	6.35 \pm	3.78 \pm	2.11 \pm	2.11 \pm
		0.03 [°]	0.10 [°]	0.10 [°]	0.06 [°]	0.07 [°]	0.35 [°]	0.13 [°]	0.06 [°]	0.06 [°]	0.03 [°]
F value		65.326	72.094	82.134	108.352	92.054	73.265	92.351	43.087	39.422	60.498
P value		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: Compare with mild group, [°] $P < 0.05$. Compare with moderate group, [°] $P < 0.05$.

2.3 CP 合并 T2DM 患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 与牙周临床指标、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达水平的相关性

CP 合并 T2DM 患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平与 GI、PLI、SBI、AL、PD、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达均呈负相关($P < 0.05$),见表 3。

表 3 CP 合并 T2DM 患者龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 与牙周临床指标、外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达水平的相关性

Table 3 Correlation between Sirtuin-1, Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid and periodontal clinical indexes, peripheral blood mononuclear cells NLRP3 mRNA, ASC mRNA, Caspase-1 mRNA expression levels in CP patients with T2DM

Indexs	Sirtuin-1		Sirtuin-6	
	r value	P value	r value	P value
GI	-0.321	<0.001	-0.284	0.012
PLI	-0.295	0.006	-0.308	<0.001
SBI	-0.336	<0.001	-0.328	<0.001
AL	-0.401	<0.001	-0.356	<0.001
PD	-0.375	<0.001	-0.421	<0.001
NLRP3mRNA	-0.421	<0.001	-0.336	<0.001
ASC mRNA	-0.384	<0.001	-0.289	0.009
Caspase-1 mRNA	-0.316	<0.001	-0.303	<0.001

2.4 龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 对 CP 合并 T2DM 的诊断价值

面积(AUC)为 0.787、0.806,联合诊断 AUC 为 0.912,高于单独诊断,见表 4 和图 1。

表 4 龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 诊断 CP 合并 T2DM 的效能

Table 4 Efficacy of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid in the diagnosis of CP combine with T2DM

Indexs	AUC95%CI)	Critical value	Sensitivity(%)	Specificity (%)	Youden index
Sirtuin-1	0.787(0.733~0.833)	1.03 $\mu\text{g/L}$	78.23	79.69	0.579
Sirtuin-6	0.806(0.754~0.851)	2.96 $\mu\text{g/L}$	80.95	78.13	0.591
Unite	0.912(0.873~0.943)	-	96.60	85.16	0.818

3 讨论

CP 是由牙菌斑引起的牙周韧带和牙槽骨炎症,患病率高达 11.2%^[14]。T2DM 是 CP 的主要危险因素之一,T2DM 患者 CP 患病率较无 T2DM 患者增加约三倍;研究证明 T2DM 和 CP 之间存在双向关联,T2DM 增加 CP 的患病风险,CP 对

T2DM 患者血糖控制会产生负面影响^[15]。NLRP3 炎症小体是先天免疫的主要调节器,牙斑菌增加细胞内活性氧、过氧化氢水平,激活 NLRP3 炎症小体,促使细胞焦亡、牙周炎和牙齿支撑组织破坏^[16]。因此,深入了解 CP 的发病机制,有助于临床实施有效的治疗。

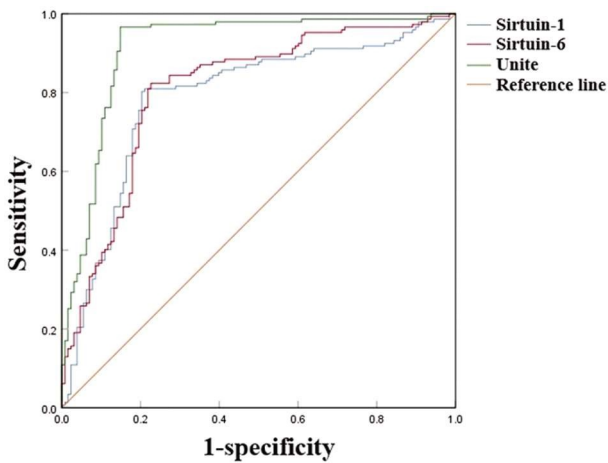


图1 龈沟液 Sirtuin-1、Sirtuin-6 诊断 CP 合并 T2DM 的 ROC 曲线
Fig.1 ROC curve of Sirtuin-1 and Sirtuin-6 in gingival crevicular fluid for the diagnosis of CP combine with T2DM

Sirtuin-1 是一种营养 / 代谢的传感器,主要定位于细胞核,在炎症和免疫功能的调节中发挥关键作用^[17]。既往研究显示 Sirtuin-1 基因多态性与牙周炎发病风险增加有关^[18]。Sirtuin-1 还可抑制炎症和氧化应激,缓解线粒体功能障碍,调节糖代谢,改善胰岛素抵抗,在 T2DM 中发挥保护作用^[19]。本研究显示 T2DM 组龈沟液 Sirtuin-1 水平低于 CP 组和对照组, Sirtuin-1 水平随着 CP 病情的加重而降低,与牙周指标 AL、PLI、GI、PD、SBI 呈负相关,说明 Sirtuin-1 表达缺失可能加重 CP 合并 T2DM 患者牙周支持组织损失。分析原因, Sirtuin-1 可能通过调控炎症反应参与 CP 合并 T2DM 发病过程, 研究显示 Sirtuin-1 可调节辅助性 T 细胞 17/ 调节性 T 细胞(Th17/Treg)平衡,抑制 Th17 增殖,促使 Treg 分化,减轻牙周炎症^[20]。Sirtuin-1 通过靶向抑制 NF- κ B 信号通路下调基质金属蛋白酶 -13 的表达,阻止根尖周骨病变的形成和扩散,缓解牙槽骨吸收^[21]。本研究发现 Sirtuin-1 水平与外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达呈负相关,表明 Sirtuin-1 可能通过抑制 NLRP3 炎症信号通路,减轻牙周炎症和牙周支持组织损伤。Sirtuin-1 可能抑制 NF- κ B 信号通路阻止 NLRP3 炎症小体激活^[22],抑制 CP 发生和进展。

Sirtuin-6 与 Sirtuin-1 属于同一家族成员,可参与糖酵解,糖异生,脂质代谢过程,与糖尿病前期和糖尿病有关^[23]。根尖牙周炎成骨细胞中 Sirtuin-6 的表达被抑制, Sirtuin-6 低表达与巨噬细胞募集、氧化应激有关,上调 Sirtuin-6 表达可抑制 C-C 基序配体 2 合成和炎症反应,减轻根尖周病变程度^[24]。本研究显示 T2DM 组龈沟液 Sirtuin-6 水平低于 CP 组和对照组, Sirtuin-6 水平随着 CP 病情的加重而降低,与牙周指标 AL、PLI、GI、PD、SBI 呈负相关,表明 Sirtuin-6 低表达可能加重 CP 合并 T2DM 患者病情和牙周支持组织破坏。Li 等人^[9]在脂多糖诱导的牙周炎细胞模型中可检测到 Sirtuin-6 在牙周韧带干细胞呈低表达,上调 Sirtuin-6 表达可抑制 NF- κ B 信号通路和炎症反应,增强成骨细胞活力,促使成骨分化,可见 Sirtuin-6 可能通过抑制牙周炎症,减轻牙槽骨骨质流失。本研究相关性分析显示 Sirtuin-6 与外周血单核细胞 NLRP3 mRNA、ASC mRNA、Caspase-1 mRNA 表达呈负相关,提示 Sirtuin-6 可能通过调控 NLRP3 信号通路参与 CP 合并 T2DM 的发生和进展。研究显示

Sirtuin-6 是 NLRP3 信号通路的上游因子, Sirtuin-6 表达上调可抑制 toll 样受体 /NF- κ B 信号传导,使 NLRP3 炎症小体失活^[25,26]。

ROC 分析显示 Sirtuin-1、Sirtuin-6 诊断 CP 合并 T2DM 的 AUC 为 0.787、0.806,联合 Sirtuin-1 和 Sirtuin-6 诊断效能明显提高,表明 Sirtuin-1、Sirtuin-6 可作为 CP 合并 T2DM 的潜在标志物,对临床防治具有重要意义。

综上所述,CP 合并 T2DM 患者龈沟液中 Sirtuin-1、Sirtuin-6 水平较单纯 CP 患者、健康志愿者降低,低水平 Sirtuin-1、Sirtuin-6 与 CP 合并 T2DM 患者牙周组织破坏程度加重有关。联合 Sirtuin-1 和 Sirtuin-6 在 CP 合并 T2DM 诊断中具有较高价值。Sirtuin-1、Sirtuin-6 可能通过调控 NLRP3 信号通路参与 CP 合并 T2DM 发病过程。

参考文献 (References)

- [1] Cardoso EM, Reis C, Manzaneres-Céspedes MC. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases[J]. Postgrad Med, 2018, 130(1): 98-104.
- [2] 曲妍, 张雪楠, 张天子, 等. 2 型糖尿病伴慢性牙周炎患者龈沟液 Omentin-1、MMP-9、OPG/RANKL 比值与牙周指标、氧化应激和 NLRP3 炎症小体的关系 [J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(7): 1257-1262.
- [3] 王佩佩, 华飞, 黄霞, 等. 2 型糖尿病伴慢性牙周炎患者的口腔菌群微环境研究进展[J]. 实用医学杂志, 2023, 39(10): 1320-1324.
- [4] 胡综俊. 2 型糖尿病与慢性牙周炎关联机制的研究进展 [J]. 重庆医学, 2021, 50(21): 3755-3759.
- [5] Zhao Y, Quan Y, Lei T, et al. The Role of Inflammasome NLRP3 in the Development and Therapy of Periodontitis [J]. Int J Med Sci, 2022, 19(10): 1603-1614.
- [6] Isola G, Polizzi A, Santonocito S, et al. Periodontitis activates the NLRP3 inflammasome in serum and saliva[J]. J Periodontol, 2022, 93(1): 135-145.
- [7] 孙金熠, 王勤英, 李英, 等. 沉默信息调节因子 Sirtuins 在牙周炎中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(11): 1737-1742.
- [8] Lee YM, Shin SI, Shin KS, et al. The role of sirtuin 1 in osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells [J]. J Periodontol Res, 2011, 46(6): 712-721.
- [9] Li C, Xiao F, Wen Y, et al. Krü ppel-like factor 5 -mediated Sirtuin6 promotes osteogenic differentiation and inhibits inflammatory injury of lipopolysaccharide-induced periodontal membrane stem cells by inhibiting nuclear factor kappa-B pathway [J]. Bioengineered, 2022, 13(3): 6966-6977.
- [10] Kok SH, Hou KL, Hong CY, et al. Sirtuin 6 Modulates Hypoxia-induced Apoptosis in Osteoblasts via Inhibition of Glycolysis: Implication for Pathogenesis of Periapical Lesions [J]. J Endod, 2015, 41(10): 1631-1637.
- [11] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4): 292-344.
- [12] 孟焕新. 牙周病学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2012: 169-171.
- [13] 孟焕新. 中国牙周病防治指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 45-49.
- [14] Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, et al. Oral diseases: a global public health challenge[J]. Lancet, 2019, 394(10194): 249-260.
- [15] Genco RJ, Borgnakke WS. Diabetes as a potential risk for

- periodontitis: association studies [J]. *Periodontol* 2000, 2020, 83(1): 40-45.
- [16] 朱博文, 陈立妹, 郭竹玲. NLRP3 炎性小体在牙周疾病中的研究进展[J]. *国际口腔医学杂志*, 2019, 46(4): 450-455.
- [17] Kim JK, Silwal P, Jo EK. Sirtuin 1 in Host Defense during Infection [J]. *Cells*, 2022, 11(18): 2921.
- [18] Kriaučiūnas A, Liutkevičienė R, Gedvilaitė G, et al. Value of Serum Sirtuin-1 (SIRT1) Levels and SIRT1 Gene Variants in Periodontitis Patients[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2022, 58(5): 653.
- [19] 肖英, 黎学颖, 徐丹青, 等. 运动调节 Sirt1 蛋白表达改善 2 型糖尿病小鼠内皮祖细胞迁移能力[J]. *广西医科大学学报*, 2022, 39(10): 1550-1555.
- [20] Zheng Y, Dong C, Yang J, et al. Exosomal microRNA-155-5p from PDLSCs regulated Th17/Treg balance by targeting sirtuin-1 in chronic periodontitis[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 20662-20674.
- [21] Qu L, Yu Y, Qiu L, et al. Sirtuin 1 regulates matrix metalloproteinase-13 expression induced by *Porphyromonas endodontalis* lipopolysaccharide via targeting nuclear factor- κ B in osteoblasts[J]. *J Oral Microbiol*, 2017, 9(1): 1317578.
- [22] Yang SR, Hsu WH, Wu CY, et al. Accelerated, severe lupus nephritis benefits from treatment with honokiol by immunoregulation and differentially regulating NF- κ B/NLRP3 inflammasome and sirtuin 1/autophagy axis[J]. *FASEB J*, 2020, 34(10): 13284-13299.
- [23] Bian C, Gao J, Wang Y, et al. Association of SIRT6 circulating levels with urinary and glycometabolic markers in pre-diabetes and diabetes [J]. *Acta Diabetol*, 2021, 58(11): 1551-1562.
- [24] Lee YL, Lin SK, Hou KL, et al. Sirtuin 6 attenuates periapical lesion propagation by modulating hypoxia-induced chemokine (C-C motif) ligand 2 production in osteoblasts[J]. *Int Endod J*, 2018, 51(Suppl 2): e74-e86.
- [25] Kong D, Mai Z, Chen Y, et al. ATL I, Acts as a SIRT6 Activator to Alleviate Hepatic Steatosis in Mice via Suppression of NLRP3 Inflammasome Formation[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(12): 1526.
- [26] Jing S, Wang X, Zhang Z, et al. Hesperetin attenuates cognitive dysfunction via SIRT6/NLRP3 pathway in scopolamine-induced mice [J]. *Metab Brain Dis*, 2023, 38(7): 2443-2456.

(上接第 586 页)

- [21] Schultz L F, Kroll C, Constantino B, et al. Association of Maternal Depression and Anxiety Symptoms with Sleep Duration in Children at Preschool Age[J]. *Matern Child Health J*, 2020, 24(1): 62-72.
- [22] 潘长鹭, 栗达, 赵文利, 等. 饮食及运动综合干预对肥胖儿童人体成分变化的影响[J]. *中国医刊*, 2020, 55(5): 569-571.
- [23] 刘海莲. 女童性早熟的家庭社会行为因素 Logistic 回归分析与防控建议[J]. *中国性科学*, 2020, 29(1): 153-156.
- [24] Hornemann F, Le Duc D, Roth C, et al. Childhood Dystonia-Parkinsonism Following Infantile Spasms—Clinical Clue to Diagnosis in Early Beta-Propeller Protein-Associated Neurodegeneration[J]. *Neuropediatrics*, 2020, 51(1): 22-29.
- [25] You J, Cheng X, Li X, et al. Clinical risk score for central precocious puberty among girls with precocious pubertal development: a cross sectional study[J]. *BMC Endocr Disord*, 2021, 21(1): 75.
- [26] 薄婷婷, 杨萃, 王艳, 等. 天津市滨海新区 1260 名小学生性早熟流行病学调查及相关因素分析 [J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(9): 157-160.