

文章编号:1004-7220(2021)01-0164-05

微小 RNA 在力相关牙周炎症反应和组织改建中的作用

宋迎爽^{1,2,3}, 胥春^{1,2,3}

(1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院/口腔医学院 口腔修复科, 上海 200011; 2. 国家口腔疾病临床医学研究中心, 上海 200011; 3. 上海市口腔医学重点实验室/上海市口腔医学研究所, 上海 200011)

摘要:微小核糖核酸(micro-ribonucleic acid, miRNA)是一种非编码单链 RNA 分子,可通过抑制靶基因 mRNA 的翻译来调控生物体遗传信息表达,参与体内多种生物学过程的发生发展。miRNA 在机械力诱导机体产生的炎症性疾病和组织改建中发挥着重要作用。牙周组织中机械力敏感细胞可在力作用下导致牙周组织炎症反应、组织改建等病理/生理性变化,在这一过程中 miRNA 可能通过抑制这些细胞中特定基因的翻译,对力相关牙周炎症和组织改建的发生发展起到重要的调控作用。对 miRNA 在力相关炎症反应和组织改建,尤其是牙周炎症反应和组织改建中的作用展开综述。

关键词:微小核糖核酸; 机械力; 牙周组织; 炎症; 组织改建

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.01.026

The Role of MicroRNA in Force-Related Periodontal Inflammatory Response and Tissue Remodeling

SONG Yingshuang^{1,2,3}, XU Chun^{1,2,3}

(1. Department of Prosthodontics, Shanghai Ninth People's Hospital, College of Stomatology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. National Clinical Research Center for Oral Diseases, Shanghai 200011, China; 3. Shanghai Key Laboratory of Stomatology & Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai 200011, China)

Abstract: Micro-ribonucleic acid (miRNA) is a kind of non-coding single-stranded RNA, which can regulate the expression of genetic information by inhibiting mRNA translation of the target gene and participate in the occurrence and development of a variety of biological processes *in vivo*. miRNAs also take part in inflammatory diseases and tissue remodeling induced by mechanical forces. Mechanosensitive cells in periodontal tissue can lead to pathological/physiological changes such as periodontal inflammatory response and periodontal remodeling. miRNAs might have played important roles in the occurrence and development of force-related periodontal inflammatory diseases and tissue remodeling, by inhibiting the translation of specific genes in these cells. This article reviews the roles of miRNAs in force-related inflammatory response and tissue remodeling, especially in periodontal inflammatory response and tissue remodeling.

Key words: micro-ribonucleic acid(miRNA); mechanical force; periodontium; inflammation; tissue remodeling

收稿日期:2020-04-24; 修回日期:2020-05-05

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(13PJD021),上海市青年科技启明星计划(A类)项目(10QA1404200)

通信作者:胥春,主任医师,E-mail:imxuchun@163.com

健康的牙周组织是人体维持牙齿稳固、行使正常咀嚼功能的基础。适量应力负载下发生的牙周组织改建是维持牙周组织健康以及正畸等口腔治疗的生物学基础,而过度的应力负载,如咬合创伤以及不良矫治力等,则可能引起牙周组织炎症反应,激活一系列生物信号导致牙周组织破坏、吸收^[1]。

近年来,牙周组织在机械力刺激下发生的炎症反应和组织改建逐渐引起学界注意。随着研究的不断深入,有报道显示微小核糖核酸(micro-ribonucleic acid, miRNA)可能在机械力诱导的机体炎症和组织改建过程中发挥了重要的调控作用。因此,本文对 miRNA 在力相关炎症反应和组织改建,尤其是牙周炎症反应和组织改建中的作用展开综述。

1 miRNA

miRNA 是一类长约 21~23 核苷酸(nucleotide, nt)的内源型非编码单链 RNA 分子,在 DNA、RNA 和蛋白质水平上抑制基因表达。目前已在人类基因组内发现数千种功能各异的 miRNA^[2]。

经典的 miRNA 加工合成途径如下:首先, RNA 聚合酶在细胞核内将 miRNA 相关基因转录为长达数千 nt 的原 miRNA (pri-miRNA),并由核酸内切酶剪切成约 70~80 nt 的前体 miRNA (pre-miRNA),形成发卡结构。随后, pre-miRNA 被转运出核,在胞浆中被 RNA 酶与双链 RNA 结合蛋白(Tar (HIV-1) RNA-binding protein, TRBP)的复合物剪切为长度约 22~24 nt 的双链 miRNA,继而分解为单链,被 Argonaute 2 蛋白(AGO2)装配到 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)上,与靶基因 mRNA 的 3' 非编码区(3'-untranslated region, 3'-UTR)区或开放阅读框(open reading frame, ORF)互补结合,完成对靶基因 mRNA 的剪切、降解或促进其脱腺苷化,从而抑制靶基因的转录后表达,藉此调控生物体基因表达、细胞周期、发育时序等^[2]。

miRNA 在许多哺乳动物细胞中都有较为丰富的表达,且具有复杂的调控网络。每个 miRNA 可调控至少百余个靶基因,而同一个基因也可被多

个 miRNA 靶向调节。miRNA 可能参与绝大多数生物学过程,miRNA 表达失调常与疾病的发生、发展相关,如已有充分的研究证明血液循环中的 miRNA 是多种癌症、心血管疾病以及脑损伤的生物标志物,可能在这些疾病的诊断与治疗中起到重要作用^[3]。

2 miRNA 在力相关炎症反应和组织改建中的作用

随着近年来对 miRNA 研究的不断深入,学者们发现 miRNA 在机械力刺激下也可以通过调控特定靶基因的翻译,参与力相关炎症性疾病以及组织改建过程。

已有研究证明,血管中复杂的流体力学环境会影响血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)的生物学行为,并且有多种 miRNA 参与了 ECs 对血管生物力学刺激的响应^[4-5]。许多心血管疾病,如高血压、动脉粥样硬化等,本质上均为炎症性疾病,且大部分与 ECs 异常增殖导致的血管改建相关^[6]。研究显示,在模拟高血压病理性环境的周期牵张力作用下,血管平滑肌细胞通过旁分泌将 miRNA-27a (miR-27a)输送至 ECs,通过靶向抑制 G 蛋白偶联受体激酶 6(G protein-coupled receptor kinase 6, GRK6)的表达诱导 ECs 增殖,导致血管舒张和收缩失衡,促炎细胞因子含量升高,引发炎症反应,参与高血压的发病机制^[7]。

肺部机械通气在为机体提供通气支持的同时,也带来了一系列并发症,如以炎症为主要特征的呼吸机相关性肺损伤(ventilator-induced lung injury, VILI)。对小鼠的机械通气体内实验研究发现,机械通气作用下 miR-127 活化肺组织中 NF- κ B 与 p38 MAPK 信号通路,伴随肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)等促炎细胞因子的释放,使肺组织炎症反应逐级放大,促进 VILI 的进展,造成肺组织损伤^[8]。

支气管哮喘是气道的慢性炎症性疾病,而以气道平滑肌肥大特征的气道重塑是哮喘最主要的病理改变。气道平滑肌细胞可响应拉伸应力刺激而上调 miR-26a 的表达,抑制内源性糖原合成酶激

酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)形成,促进气道平滑肌细胞肥大,引起气道重塑,参与哮喘的发病^[9]。

3 机械力与牙周组织炎症反应和牙周组织改建

牙周组织包括牙龈、牙周膜、牙骨质、牙槽骨等软、硬组织。牙周组织在机体咀嚼功能中起到传导、分散、缓冲咬合应力的作用,通过神经反馈调节咬合力大小,使得咀嚼肌群、颞下颌关节、口腔软硬组织处于平衡状态。除咬合力之外,还有多种机械力作用于牙周组织,如正畸治疗中的矫治力、创伤性外力等。机械力依据形式不同,也可分为剪切力、压缩力、拉伸力等。

一般来说,牙周组织的炎症疾病,如牙龈炎、牙周炎、根尖周炎等,多为细菌性炎症。但研究发现,牙周组织在机械力刺激下也可产生无菌性炎症,即虽无细菌侵袭但依然出现了典型的炎症反应及组织破坏^[10]。对牙列不齐患者进行正畸治疗的基本原理是通过安装于牙齿等口腔组织上的器件,将适宜大小的正畸力传导至牙周组织,激活一系列信号传导途径,通过牙周膜纤维重新附着、压力侧骨吸收和张力侧骨形成之间的动态平衡,完成牙周膜、牙槽骨的改建,实现可控、近似生理性的牙齿移动,而这一过程的生理基础是机械力刺激下发生的无菌性炎症反应^[10-11]。研究显示,在正畸治疗中牙周组织早期改建阶段,牙周组织中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)及白细胞介素-18 (IL-18)等促炎细胞因子表达升高,这些因子作为机体最早参与急性期炎症反应的介质,在正畸加力 24 h 后即可在龈沟液中检测到表达明显上调^[12]。当施加的正畸力过快、过大时,牙周组织的炎症反应则会进一步发展,牙周软、硬组织改建的平衡被打破,牙周组织发生破坏吸收,造成牙周疾病^[13]。义齿设计制作不当以及咬合创伤等因素造成牙齿受力过大时,过大的力传导作用到牙周组织,也会诱发牙周组织炎症反应和牙周组织破坏吸收^[1]。创伤性咬合力在数分钟内即可使牙周膜微循环产生变化,导致血小板聚集,释放 IL-1、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX2) 等促炎细胞因子,引起牙周组织的炎症反应^[14]。

4 miRNA 在机械力诱导牙周组织炎症反应和组织改建中的作用

牙周组织中对机械力敏感的细胞可感知牙周组织中的应力和应变,并在力作用下产生形态及功能上的变化,促进牙周组织的炎症反应和组织改建^[15]。研究发现,牙周组织中机械力刺激的直接效应细胞在将机械力信号转化为生物信号的过程中,往往有 miRNA 参与, miRNA 在所述力相关牙周炎症和组织改建过程中也可能起着关键的调控作用。

牙周膜细胞 (periodontal ligament cells, PDLs) 通过合成和降解胶原及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 分子调控牙周膜再生与破坏间的动态平衡。PDLs 感受到机械力刺激后,一方面表达核因子受体激活剂- κ B 配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL), 启动破骨细胞形成与分化,另一方面分泌骨保护素 (osteoprotegerin, OPG), 抑制破骨细胞分化,平衡成/破骨过程,维持牙槽骨代谢的稳定^[15]。RANKL 的表达呈现出力刺激强度-时间依赖性,过大的力刺激值将打破 RANKL/OPG 表达量的平衡, RANKL/OPG 比值上升,破坏成/破骨平衡,造成牙槽骨吸收等牙周组织的破坏^[16]。在这一过程中, miRNA 起到关键的调控作用。研究显示, PDLs 中 miR-3198 在压应力下表达上调、在张应力下表达下调,且 miR-3198 抑制 OPG 表达但不影响 RANKL 表达,故观察到受压侧 RANKL/OPG 比值升高,出现骨吸收;对应地,张力侧 RANKL/OPG 比值下降,出现促进骨形成^[17]。miR-3198 在不同种类机械力刺激下的差异表达促进了正畸力作用下发生的牙周组织改建和牙齿移动。对小鼠进行正畸牙移动的实验研究发现, miR-21 基因敲除小鼠在张力侧牙周组织中成骨细胞数量与成骨相关基因 (ALP、Runx2) 表达量均低于野生型 (wild type, WT) 小鼠,而破骨细胞数量与破骨细胞标志基因 (TRAP、Ctsk) 表达量在张力侧与压力侧均低于 WT 小鼠,牙齿移动幅度低于 WT 小鼠^[18]。该结果提示, miR-21 在正畸牙移动过程中张应力和压应力作用下具有不同的作用,促进张力侧成/破骨以及压力侧的破骨,从而促进牙齿在正畸力作用下向受压侧移动。此外, miR-21 还可增加脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的牙周炎症微

环境下的正畸牙移动幅度,显示了 miRNA 在炎症微环境下对牙槽骨改建的调控作用^[18]。体内、体外实验均证实,张应力作用下 PDLCS 中 miR-195-5p 表达下调。抑制 miR-195-5p 的表达可增强 PDLCS 成骨分化,而过表达 miR-195-5p 抑制 PDLCS 成骨分化。张应力可能通过下调 miR-195-5p 的表达,降低其对靶基因 WNT3A(可激活 Wnt/ β -catenin 通路并调控细胞的增殖分化)和 BMPR1A(BMP 通路的膜受体) mRNA 的结合和翻译抑制作用,从而促进 Wnt、BMP 信号通路的激活,使 PDLCS 向成骨细胞样分化,参与骨改建与成骨,促进正畸牙移动^[19]。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)对于牙周组织的再生至关重要,在维持牙周组织内环境稳态中起到重要作用,其中牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)是参与牙周组织再生的主要 MSCs 之一。适当强度的机械力刺激下,PDLSCs 增殖并通过上调 Runx2、Oxsr 及 Satb2 等成骨特异性转录因子参与成骨分化^[20]。它产生的 RANKL 又为破骨细胞的形成提供关键信号,达成成/破骨平衡。与此同时,MAPK、TGF- β /Smad 及 Wnt/ β -catenin 等信号通路也被激活,调控 PDLSCs 细胞外基质的重塑与组织内稳态^[21]。若对 PDLSCs 施加超出阈值的机械力刺激,TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等破骨细胞分化相关细胞因子表达水平明显增加,促进破骨细胞分化成熟,导致牙槽骨吸收^[22]。编码人 III 型胶原 α 1 链的基因 Col3A1 可促进骨形成,在松质骨的形成和维持稳定中发挥重要作用,而它正是 miR-29 家族的靶基因之一^[23]。有研究发现,随着压应力刺激下 PDLSCs 中 miR-29 的表达上调,Col3A1 等数个编码 ECM 蛋白的基因翻译被抑制,牙周组织内环境中成/破骨平衡向破骨方向倾斜,破坏牙周膜胶原纤维的有序排列^[24]。一项针对接受正畸治疗患者的研究显示,龈沟液中 miR-29 分泌量与正畸力作用时长呈正相关,而 miR-29 能募集破骨细胞到牙周组织;故由此推测,在正畸治疗过程中,在龈沟液中加入特定 miRNA 有可能通过影响牙周组织吸收与重建的动态平衡来调整牙齿移动速率^[25]。

上述研究进展证实了 miRNA 在力相关牙周炎症反应和组织改建过程中发挥重要作用,但目前对于 miRNA 在上述生理/病理过程中具体作用机制的报道尚少。

5 总结与展望

现有研究初步揭示 miRNA 在力相关炎症、组织改建等生理/病理过程中的作用,miRNA 在机械力诱导的牙周炎症反应和组织改建中的作用也得到证实,但其作用机制尚不完全清楚。深入研究 miRNA 在力诱导牙周炎症反应和组织改建中的作用及机制,有助于进一步揭示力相关牙周炎症疾病和牙周改建的发生发展机制,对于防治力刺激造成的牙周疾病和牙周组织损害具有重要的科学意义和临床价值。

参考文献:

- [1] FAN J, CATON JG. Occlusal trauma and excessive occlusal forces: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations [J]. J. Periodontol, 2018, 89 (Suppl 1): S214-S222.
- [2] TREIBER T, TREIBER N, MEISTER G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(1): 5-20.
- [3] MORI MA, LUDWIG RG, GARCIA-MARTIN R, et al. Extracellular miRNAs: From biomarkers to mediators of physiology and disease [J]. Cell Metab, 2019, 30(4): 656-673.
- [4] 张炎林, 兰祥星, 刘睿, 等. Bmi1 在低切应力抑制血管内皮细胞迁移中的作用[J]. 医用生物力学, 2019, 34(5): 536-540.
ZHANG YL, LAN XX, LIU R, et al. The role of Bmi1 on migration of HUVECs under low shear stress [J]. J Med Biomech, 2019, 34(5): 536-540.
- [5] BOON RA, HERGENREIDER E, DIMMELER S. Atheroprotective mechanisms of shear stress-regulated microRNAs [J]. Thromb Haemost, 2012, 108(4): 616-620.
- [6] ZHONG SS, LI LX, SHEN X, et al. An update on lipid oxidation and inflammation in cardiovascular diseases [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 144: 266-278.
- [7] WANG L, BAO H, WANG KX, et al. Secreted miR-27a induced by cyclic stretch modulates the proliferation of endothelial cells in hypertension via GRK6 [J]. Sci Rep, 2017, 7: 41058.
- [8] LI Q, GE YL, LI M, et al. MiR-127 contributes to ventilator-induced lung injury [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(4): 4119-4126.
- [9] MOHAMED JS, LOPEZ MA, BORIEK AM. Mechanical stretch up-regulates microRNA-26a and induces human

- airway smooth muscle hypertrophy by suppressing glycogen synthase kinase-3 β [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(38): 29336-29347.
- [10] KONERMANN A, GÖTZ W, WOHLLEBER D, *et al.* Osteoimmunological mechanisms involved in orthodontically and bacterially induced periodontal stress [J]. *J Orofac Orthop*, 2012, 73(6): 430-439.
- [11] 罗睿, 焦飞, 孙青, 等. 正畸与咬合力作用下大鼠牙槽骨内液体流动的数值模拟[J]. *医用生物力学*, 2020, 35(1): 57-63.
 LUO R, JIAO F, SUN Q, *et al.* Numerical simulation on fluid flow within rat alveolar bone under orthodontic and occlusal loading [J]. *J Med Biomech*, 2020, 35(1): 57-63.
- [12] HAMAMCI N, ACUN KF, UYSAL E, *et al.* Identification of interleukin 2, 6, and 8 levels around miniscrews during orthodontic tooth movement [J]. *Eur J Orthod*, 2012, 34(3): 357-361.
- [13] LI ZX, YU M, JIN SS, *et al.* Stress distribution and collagen remodeling of periodontal ligament during orthodontic tooth movement [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1263.
- [14] MCCULLOCH CA, LEKIC P, MCKEE MD. Role of physical forces in regulating the form and function of the periodontal ligament [J]. *Periodontol 2000*, 2000, 24: 56-72.
- [15] HILBERT DA, MEMMERT S, MARCINIAK J, *et al.* Molecular biology of periodontal ligament fibroblasts and orthodontic tooth movement: Evidence and possible role of the circadian rhythm [J]. *J Orofac Orthop*, 2019, 80(6): 336-347.
- [16] KANZAKI H, CHIBA M, SHIMIZU Y, *et al.* Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand up-regulation via prostaglandin E2 synthesis [J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(2): 210-220.
- [17] KANZAKI H, WADA S, YAMAGUCHI Y, *et al.* Compression and tension variably alter osteoprotegerin expression via miR-3198 in periodontal ligament cells [J]. *BMC Mol Cell Biol*, 2019, 20(1): 6.
- [18] CHEN N, SUI BD, HU CH, *et al.* MicroRNA-21 contributes to orthodontic tooth movement [J]. *J Dent Res*, 2016, 95(12): 1425-1433.
- [19] CHANG ML, LIN H, FU HD, *et al.* MicroRNA-195-5p regulates osteogenic differentiation of periodontal ligament cells under mechanical loading [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(12): 3762-3774.
- [20] TANG N, ZHAO ZH, ZHANG LK, *et al.* Up-regulated osteogenic transcription factors during early response of human periodontal ligament stem cells to cyclic tensile strain [J]. *Arch Med Sci*, 2012, 8(3): 422-430.
- [21] ZHANG LQ, LIU WJ, ZHAO JD, *et al.* Mechanical stress regulates osteogenic differentiation and RANKL/OPG ratio in periodontal ligament stem cells by the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(10): 2211-2219.
- [22] LIU J, LI Q, LIU SY, *et al.* Periodontal ligament stem cells in the periodontitis microenvironment are sensitive to static mechanical strain [J]. *Stem Cells Int*, 2017, doi: 10.1155/2017/1380851.
- [23] VOLK S, SHAH S, COHEN A, *et al.* Type III collagen regulates osteoblastogenesis and the quantity of trabecular bone [J]. *Calcif Tissue Int*, 2014, 94(6): 621-631.
- [24] CHEN Y, MOHAMMED A, OUBAIDIN M, *et al.* Cyclic stretch and compression forces alter microRNA-29 expression of human periodontal ligament cells [J]. *Gene*, 2015, 66(1): 13-17.
- [25] ATSAWASUWAN P, LAZARI P, CHEN YH, *et al.* Secretory microRNA-29 expression in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement [J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194238.