

骨膜蛋白在小鼠牙周炎进程中的时空表达规律研究

李钺 许春梅 谢旭东 施培磊 王骏 丁一

口腔疾病防治全国重点实验室 国家口腔医学中心 国家口腔疾病临床医学研究中心

四川大学华西口腔医院牙周病科, 成都 610041

[摘要] **目的** 研究小鼠牙周炎进程中骨膜蛋白表达的时空变化规律。**方法** 采用丝线结扎法构建小鼠牙周炎模型。设置对照组、栓丝4 d组、栓丝7 d组、栓丝14 d组、自愈组(栓丝14 d再去除丝线14 d), 通过Micro-CT、组织学染色观察各组小鼠牙周组织的动态变化特征, 利用RNAscope、免疫组织化学染色分析牙周膜内骨膜蛋白在牙周炎进程不同阶段的变化规律。培养人牙周膜细胞并随机分为对照组、脂多糖(LPS)刺激组(LPS处理12 h)、去除LPS刺激组(LPS处理3 h后再用培养基培养9 h), 实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测骨膜蛋白、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、基质金属蛋白酶2(MMP2)的表达。**结果** 栓丝7 d组可见明显的牙槽骨吸收, 栓丝14 d组牙周组织破坏加重, 表现为破骨细胞增多、牙周膜间隙增宽、牙槽骨高度降低, 而自愈组见一定程度的牙周组织修复。与对照组相比, 栓丝4 d组、栓丝7 d组牙周膜内骨膜蛋白表达降低, 栓丝14 d组骨膜蛋白表达相较于栓丝4 d组及栓丝7 d组增加, 自愈组骨膜蛋白表达与对照组相似。qRT-PCR结果显示, LPS刺激组与对照组相比骨膜蛋白、TGF- β 1的表达均下降, 而去除LPS刺激组与LPS刺激组相比骨膜蛋白、TGF- β 1的表达均升高。**结论** 小鼠牙周膜内骨膜蛋白表达随炎症进展呈先下降后回升的趋势, 去除炎症刺激后骨膜蛋白表达的恢复可能与TGF- β 1表达上调有关。

[关键词] 牙周炎; 骨膜蛋白; 牙周再生; 牙槽骨; 动物模型

[中图分类号] R781.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2024.2023336



本文链接 开放科学标识码

Temporal and spatial expression analysis of periostin in mice periodontitis model

Li Yue, Xu Chunmei, Xie Xudong, Shi Peilei, Wang Jun, Ding Yi

State Key Laboratory of Oral Diseases & National Center for Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Periodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Supported by: The National Natural Science Foundation of China (82071127, 82270990); Sichuan Key Research and Development Program (2023YFS0032); Fundamental Research Foundation for the Central Universities, Research and Development Program of West China Hospital of Stomatology, Sichuan University (RD-02-202403); Natural Science Foundation of Sichuan Province (2022NSFSC0795)

Correspondence: Wang Jun, E-mail: junwang@scu.edu.cn; Ding Yi, E-mail: yiding2000@126.com

[Abstract] **Objective** This study aimed to investigate the temporal and spatial changes in the expression of periostin during periodontal inflammation in mice. **Methods** A periodontitis model was constructed using silk thread ligation. Mice were randomly divided into five groups including control group, 4-day ligation group, 7-day ligation group, 14-day ligation group, and self-healing group (thread removal for 14 days after 14-day ligation). Micro-CT and histological staining were performed to characterize the dynamic changes in the mouse periodontal

[收稿日期] 2023-10-10; **[修回日期]** 2023-11-09

[基金项目] 国家自然科学基金(82071127, 82270990); 四川省重点研发计划(2023YFS0032); 中央高校基本科研业务费专项基金(四川大学华西口腔医院探索与研发项目(RD-02-202403)); 四川省自然科学基金(2022NSFSC0795)

[作者简介] 李钺, 硕士, E-mail: lant59liyue@163.com

[通信作者] 王骏, 副教授, 博士, E-mail: junwang@scu.edu.cn; 丁一, 教授, 博士, E-mail: yiding2000@126.com

tissue in each group. RNAscope and immunohistochemical staining were used to analyze the pattern of changes in periostin at various stages of periodontitis. The cell experiment was divided into three groups: control group, lipopolysaccharide (LPS) stimulation group (treated with LPS for 12 h), and LPS stimulation removal group (treated with LPS for 3 h followed by incubation with medium for 9 h). Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression of periostin, transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), and matrix metalloproteinase 2 (MMP2). **Results** Significant alveolar bone resorption was observed 7 days after ligation. With increasing duration of ligation, the damage to the mouse periodontal tissue was aggravated, which manifested as increased osteoclasts, widening of the periodontal membrane space, and decreased alveolar bone height. Some degree of periodontal tissue repair was observed in the self-healing group. Periostin expression decreased at 4 and 7 days compared with the control group and increased at 14 days compared with 4 and 7 days. A significant recovery was found in the self-healing group. The qRT-PCR results showed that the expression of periostin and TGF- β 1 in the LPS stimulation group decreased compared with that in the control group but significantly recovered in the LPS removal group. **Conclusion** Periostin expression in the PDL of mice showed a downward and upward trend with inflammation progression. The significant recovery of periostin expression after removing inflammatory stimuli may be related to TGF- β 1, which is crucial to maintain the integrity of the PDL.

[Key words] periodontitis; periostin; periodontal regeneration; alveolar bone; animal model

牙周炎是一种以菌斑微生物为始动因子的炎症性疾病,会导致牙齿支持组织的破坏吸收,是成人失牙的主要原因,严重影响口颌系统功能^[1-3]。骨膜蛋白(periostin)是一种细胞外基质蛋白,主要表达于骨膜、牙周膜组织中^[4-6],对细胞外结构的构建和稳定至关重要。骨膜蛋白具有众多结合位点,既与其他细胞外基质蛋白(如I型、IV型胶原蛋白)结合,还可与催化它们共价交联的酶结合,这些结合位点将相互作用的蛋白组装成细胞外结构,这些结构决定了结缔组织的机械化学性质^[7]。

骨膜蛋白不仅与牙齿及骨组织的矿化、重建有关,还在牙周组织的发育和稳态维持中起着重要作用^[8]。研究^[9-11]表明,骨膜蛋白可以促进牙周膜来源于干细胞的增殖、迁移和分化功能,具有促牙周组织再生的潜能,并且对出生后牙发育及矿化有直接作用^[12]。相反,骨膜蛋白基因表达缺陷小鼠出现早期牙体及牙周组织破坏,表现为釉质和牙本质发育缺陷、牙槽骨创伤性破坏、细菌侵袭性增强导致的炎症和免疫反应^[13-14],并且在正畸牙移动过程中矿物质沉积率显著降低^[15]。但是,目前对牙周炎进程中骨膜蛋白的表达变化尚有争议:一方面,研究^[5,16]报道牙周炎患者的龈沟液中骨膜蛋白水平相比健康人明显降低。在小鼠牙周炎模型中,牙周膜内骨膜蛋白表达减少^[17];另一方面,研究^[18]发现在牙周炎患者来源的牙周膜干细胞中,骨膜蛋白的表达明显高于非牙周炎患者。对牙周炎进程中骨膜蛋白表达规律的认知不足一

定程度上限制了骨膜蛋白在牙周炎治疗中的应用。为了进一步探究骨膜蛋白在牙周炎症环境下的表达特点和规律,本研究观察并分析了体内环境下牙周炎症进展不同时间点牙周膜中骨膜蛋白的表达变化和规律,以期为进一步探索牙周炎发病机制和治疗策略提供思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组及动物模型建立

本实验自成都恩斯维尔生物科技有限公司购买6~8周龄的健康雄性C57小鼠,体重 $20\text{ g}\pm 4\text{ g}$ 。小鼠饲养在四川大学华西医院动物实验中心,室内温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,食物及水源充足。在正常昼夜节律下饲养3 d,待适应环境后进入实验。本实验共使用了25只小鼠,随机抽取5只作为对照组,再随机将剩余20只分为4组,每组5只,进行双侧下颌第一磨牙丝线结扎。按照 0.25 mg/g 体重的剂量经由腹腔注射1.25%阿佛丁溶液麻醉小鼠,将小鼠仰面固定在手术台上,使用开口器打开小鼠上下颌。在体式显微镜下,采用5-0丝线结扎双侧下颌第一磨牙,根据分组,相应的处理为栓丝4 d(栓丝4 d组)、栓丝7 d(栓丝7 d组)、栓丝14 d(栓丝14 d组)、栓丝14 d再去去除丝线14 d(自愈组)。相应处理结束时处死小鼠。

1.2 样本收集和处理

通过脊椎脱臼法处死小鼠,取小鼠下颌骨置于4%多聚甲醛中,常温固定24 h,进行Micro-CT

(SCANCO Medical公司, 瑞士)扫描后转入10% EDTA中脱钙(4 °C, 低温脱钙), 每日更换脱钙液。待脱钙完全后脱水处理进行石蜡包埋和切片, 切片厚度为5 μm, 收集切片置于4 °C冰箱保存备用。

1.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色

挑选切片后置于65 °C孵箱中1 h, 待切片冷却至室温后, 按以下步骤脱蜡至水: 二甲苯5 min, 2次; 100%乙醇3 min, 2次。双蒸水3 min, 苏木素3 min, 双蒸水冲洗, 伊红30 s, 冲洗后100%乙醇泡后晾干、封片。光学显微镜下观察第一磨牙根分叉区域的牙槽骨、牙周膜形态学变化。

1.4 抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)染色

挑选切片按前述步骤脱蜡至水。含吐温-20的磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline with tween-20, PBST)洗10 min, 磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)洗2次, 每次5 min, 滴加TRAP染色液于切片上, 置于37 °C蒸箱中静置10 min, 蒸馏水洗3 min, 甲基绿复染3 min, 流水冲洗至清澈后100%乙醇脱水、晾干、封片。光学显微镜下观察第一磨牙根分叉区域的牙槽骨内破骨细胞数量变化。

1.5 天狼猩红染色

挑选切片按前述步骤脱蜡至水。滴加苏木素染色液, 静置8 min。自来水漂洗至清亮, 天狼猩红染色液浸染1 h, 依次放于0.5%酸化水I、II液(乙酸:水=1:200)中漂洗各3 min。再依次经75%、95%乙醇、无水乙醇进行梯度脱水, 各2 min, 室温晾干、封片, 进行偏振光图像采集。

1.6 RNAscope

挑选切片按前述步骤脱蜡至水。滴加RNAscope[®]过氧化氢, 室温避光孵育10 min。蒸馏水洗2次, 每次1 min, 将玻片转移至盛装RNAscope[®] 1×Target Retrieval Reagent的片盒中, 置于沸水中水浴15 min。蒸馏水漂洗30 s, 将玻片置于100%乙醇中脱水3 min, 室温下晾干。滴加RNAscope[®] Protease Plus, 40 °C孵箱中孵育10 min。蒸馏水洗2次, 每次1 min, 滴加CTNNB1探针, 40 °C孵箱中孵育2 h后, 将玻片转移至1×RNAscope[®] Wash Buffer中。蒸馏水洗2次, 每次2 min, 滴加RNAscope[®] 2.5 AMP1, 40 °C孵箱中孵育30 min, Buffer洗2次, 每次2 min。后续再按顺序滴加AMP2、AMP3、AMP4并分别在40 °C孵箱中孵育15、30、15 min, 滴加AMP5、AMP6并分别在常温下孵育

30、15 min, 每次孵育后用上述Buffer洗2次, 每次2 min。滴加RNAscope[®] 2.5 DAB工作液进行显色, 湿盒内避光反应10 min, 蒸馏水洗2次, 每次2 min。50%苏木素染液复染细胞核3 min, 自来水漂洗至背景透亮。0.02%氨水浸泡10 s至细胞核呈蓝紫色, 自来水漂洗30 s。最后梯度乙醇脱水: 70%乙醇2 min; 95%乙醇2 min, 2次; 100%乙醇, 3 min, 室温晾干、封片。光学显微镜下观察第一磨牙牙周膜内骨膜蛋白RNA的表达变化。根据每个细胞边界内存在的斑点数量分为0~4级, 进行RNAscope分析^[19]。

1.7 免疫组织化学染色

挑选切片按前述步骤脱蜡至水。3%过氧化氢避光浸10 min, PBST及PBS各洗5 min, 滴加3%牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)(溶于20%山羊血清), 室温封闭1 h。滴加骨膜蛋白抗体(AF2955, 1:100), 湿盒中4 °C冰箱过夜。次日将切片置于37 °C孵箱中复温30 min, PBST及PBS各洗5 min, 滴加兔抗羊多克隆抗体IgG(1:200), 室温孵育1 h, PBST和PBS各洗5 min。滴加ABC溶液(A液:B液:山羊血清:PBS=1:1:2:96), 室温孵育1 h, PBST和PBS各洗5 min。滴加DAB显色剂, 甲基绿复染核10 min, 10%乙醇冲洗3 min, 晾干、封片。光学显微镜下观察第一磨牙牙周膜内骨膜蛋白的表达变化。使用Image J软件对牙周膜内骨膜蛋白阳性区域的面积、第一磨牙总牙周膜面积进行计数, 计算骨膜蛋白阳性细胞占比。

1.8 人牙周膜细胞原代培养及实验分组

牙周膜细胞取自就诊于四川大学华西口腔医院口腔外科门诊的18~25岁患者因正畸减数而拔除的健康前磨牙, 告知取牙用途并取得患者及家属知情同意, 符合伦理学标准。拔下后用含青链霉素(青霉素100 U/mL, 链霉素100 μg/mL)的PBS液冲洗牙根表面, 用锋利刀片刮取牙根中1/3的牙周膜组织, 再将其均匀铺于培养瓶底部, 加入含20%胎牛血清的DMEM细胞培养液, 于细胞培养箱孵育, 待原代细胞密度达80%更换为完全培养基(10%胎牛血清的DMEM细胞培养液)进行传代培养, 传至4~6代用于细胞实验。将细胞随机分为对照组、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激组和去除LPS刺激组, 其中LPS刺激组用1 μg/mL LPS(Invitrogen公司, 美国)处理细胞12 h后收样, 去除LPS刺激组用1 μg/mL LPS处理3 h后更换为完全培养基, 再培养9 h(共计12 h)后收样。

1.9 实时定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)

采用 TRIzol 试剂 (上海碧云天生物技术有限公司) 提取细胞总 RNA, 利用 Takara 试剂盒按照说明书进行逆转录, 再用 SYBR Premix Ex Taq™ II (Bio-Rad 公司, 美国) 与目标基因引物在 Light-Cycler 96 实时荧光定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪 (Roche 公司, 瑞士) 进行目标基因骨膜蛋白、转化生长因子β1 (transforming growth factor-β1, TGF-β1)、基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2) 的检测, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab 1 Primer sequences

基因	引物序列
GAPDH	Forward: 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'
	Reverse: 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGA-3'
TGF-β1	Forward: 5'-GCCTTTCCTGCTTCTCATGG-3'
	Reverse: 5'-TCCTTGC GGAAGTCAATGTAC-3'
MMP2	Forward: 5'-ACCCATTACACCTACACCAAG-3'
	Reverse: 5'-TGTTCAGATCTCAGGAGTG-3'
骨膜蛋白	Forward: 5'-CAACGGGCAAATACTGGAAAC-3'
	Reverse: 5'-TCTCGCGGAATATGTGAATCG-3'

1.10 统计分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 所有实验

至少重复 3 次, 数据用均数±标准差表示。采用方差分析及独立样本 t 检验进行数据分析, 检验标准为 α=0.05, P<0.05 为差异具有统计学意义。

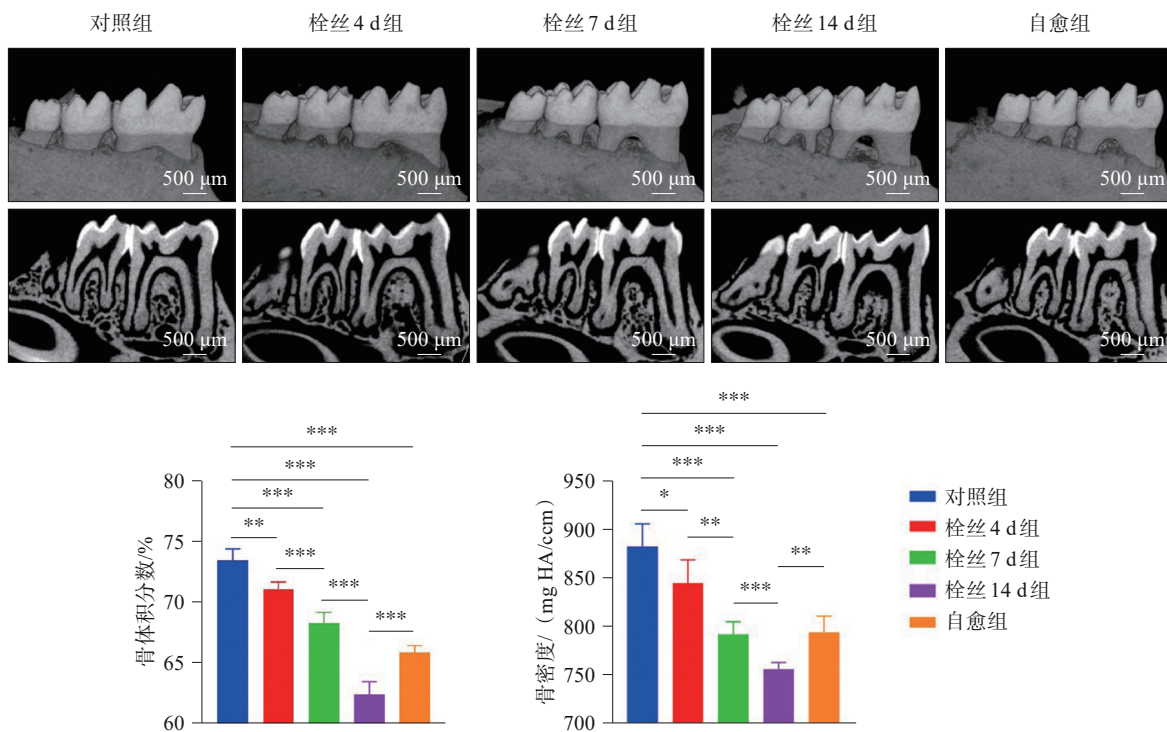
2 结果

2.1 牙周炎不同阶段牙周组织变化及特点

Micro-CT 扫描 (图 1) 显示, 与对照组相比, 栓丝 4 d 组第一磨牙周围牙槽骨出现轻微骨吸收; 栓丝 7 d 组牙槽骨高度降低, 骨吸收破坏明显, 骨体积分数以及骨密度降低; 栓丝 14 d 组骨破坏进一步加重。与栓丝 14 d 组相比, 自愈组牙槽骨相关骨参数有改善, 但仍差于对照组 (P<0.05)。

TRAP 染色 (图 2) 显示, 随着结扎时间延长, 破骨细胞增多 (P<0.05), 自愈组破骨细胞数量减少至接近对照组水平 (P>0.05)。

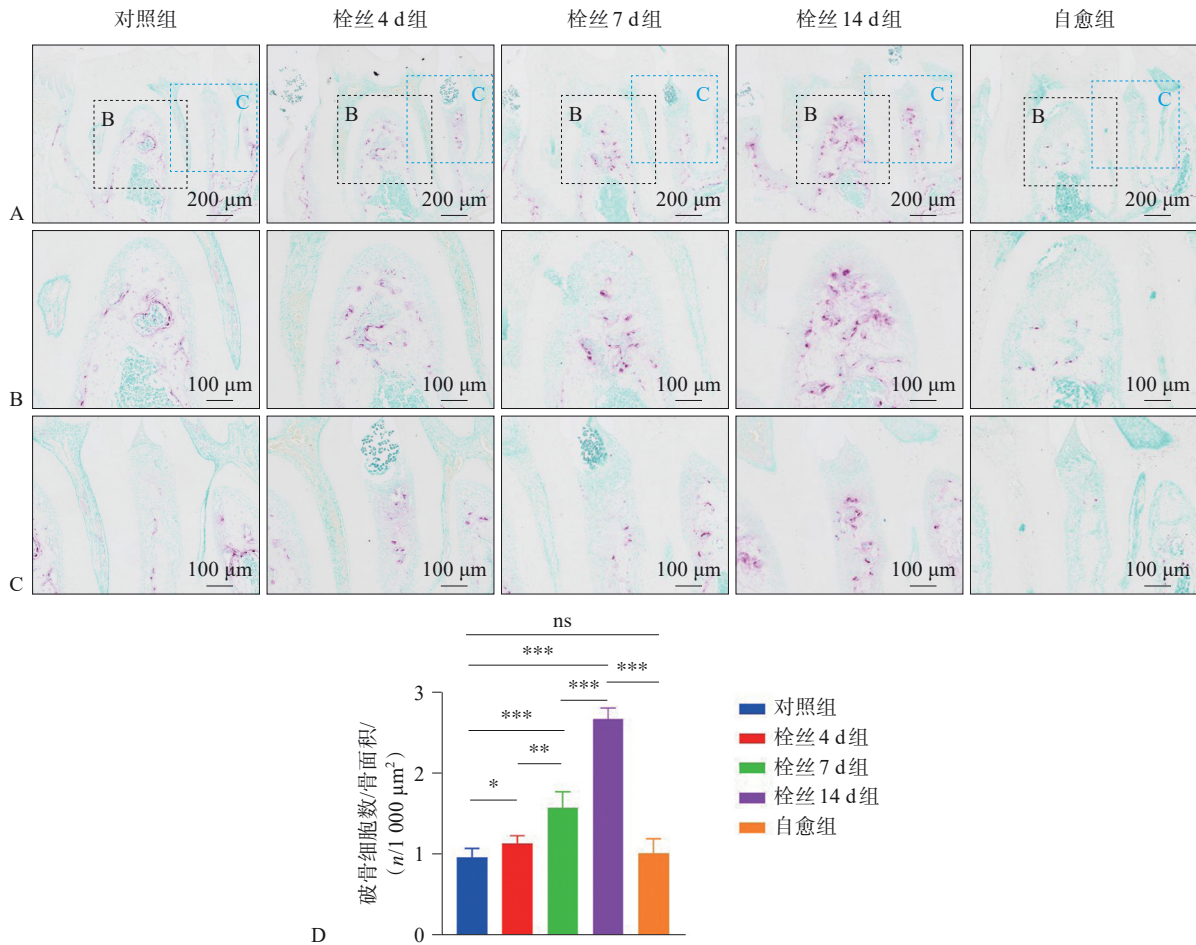
HE 染色 (图 3) 显示, 与对照组相比, 栓丝 4 d 组、栓丝 7 d 组根分叉区域牙周膜间隙增宽, 其中可见细胞排列紊乱、胶原纤维破坏、大量炎性细胞浸润; 栓丝 14 d 组, 虽然牙槽骨高度进一步降低, 但根分叉区域牙周膜细胞排列较有序, 胶原纤维致密, 炎性细胞浸润较少; 自愈组牙槽骨高度得到一定恢复, 牙周膜成纤维细胞排列与对照组相似。



上: Micro-CT 图像; 下: 骨参数统计分析。*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001。

图 1 各组下颌牙槽骨 Micro-CT 图像及骨参数统计分析结果

Fig 1 Micro-CT images and statistical analysis results of bone parameters of mandibular alveolar bone in each group



A、B、C 图为 TRAP 染色，其中 B、C 图分别是 A 图中 B、C 方框内容的放大图。D 图为统计分析，ns: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。

图 2 各组小鼠下颌第一磨牙 TRAP 染色及统计分析结果

Fig 2 TRAP staining and statistical analyses results in the first mandibular molar of mice in each group

天狼猩红染色偏振光扫描 (图 4) 显示，栓丝 14 d 组牙周膜被致密的胶原纤维替代，与 HE 染色结果一致；自愈组牙周膜胶原纤维排布与对照组相似。表明去除炎症刺激后牙周组织存在一定的修复再生。

2.2 牙周炎不同阶段牙周膜内骨膜蛋白 RNA 的表达

与对照组相比，栓丝 4 d 组及栓丝 7 d 组骨膜蛋白 RNA 的表达降低 ($P<0.001$)。栓丝 14 d 组骨膜蛋白 RNA 的表达相较于栓丝 4 d 组及栓丝 7 d 组增加，但仍低于对照组。自愈组牙周膜中骨膜蛋白 RNA 的表达相比栓丝 14 d 组明显增加 ($P<0.001$)，与对照组相似，二者差异无统计学意义 (图 5)。

2.3 牙周炎不同阶段牙周膜内骨膜蛋白的表达

与 RNAscope 结果相似，免疫组织化学染色结果 (图 6) 显示，栓丝 4 d 组及栓丝 7 d 组骨膜蛋白表达水平与对照组相比降低，而栓丝 14 d 组骨

膜蛋白的表达回升，但仍低于对照组 ($P<0.001$)。自愈组骨膜蛋白表达进一步增多，与对照组相似 ($P>0.05$)。结果表明，在牙周炎症进展过程中，骨膜蛋白的表达先降低后升高，去除炎症刺激后出现明显恢复。

2.4 牙周炎不同阶段牙周膜内骨膜蛋白表达机制初探

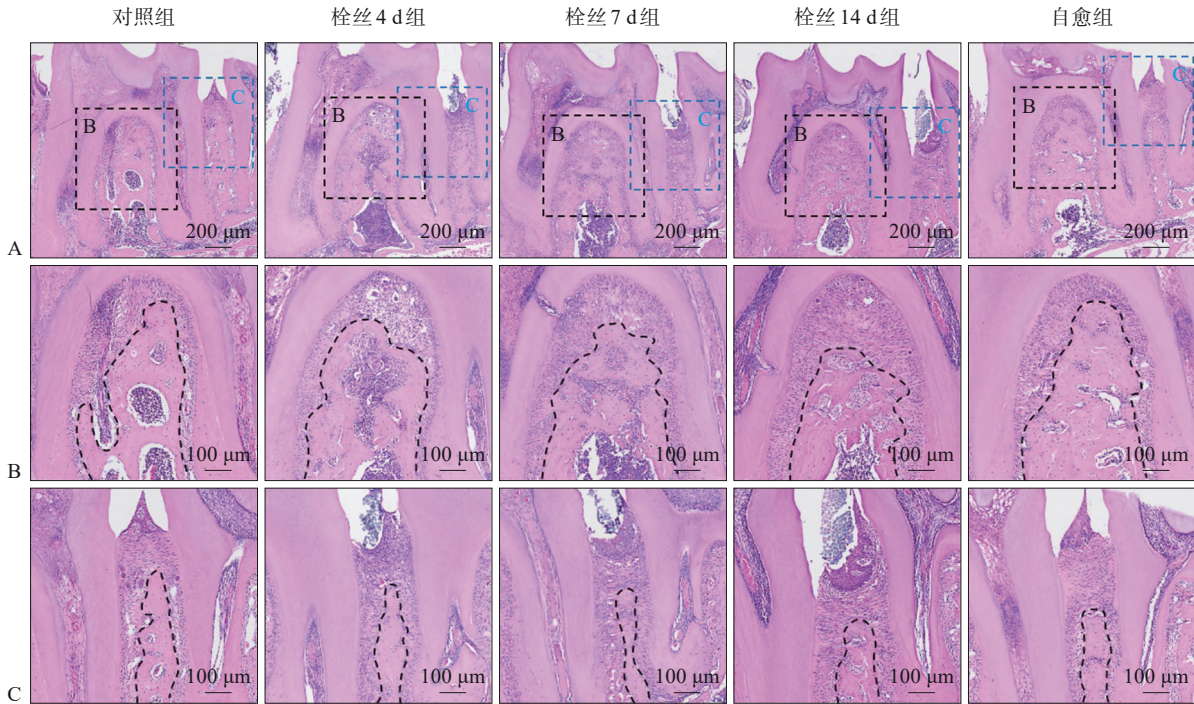
细胞实验结果 (图 7) 显示，LPS 刺激组与对照组相比骨膜蛋白、TGF- β 1 mRNA 表达下降，去除 LPS 刺激组与 LPS 刺激组相比骨膜蛋白、TGF- β 1 mRNA 表达升高 ($P<0.05$)。对照组、LPS 刺激组、去除 LPS 刺激组的 MMP2 表达差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨论

骨膜蛋白在牙周膜内特异性高表达，对于牙周组织功能稳定及修复有着重要作用。探究炎症

进展不同阶段骨膜蛋白的表达规律对于进一步揭示牙周炎治疗和牙周组织再生中骨膜蛋白的作用具有重要意义。本研究发现,随着炎症的进展,小鼠牙周膜内骨膜蛋白的mRNA和蛋白表达呈现出

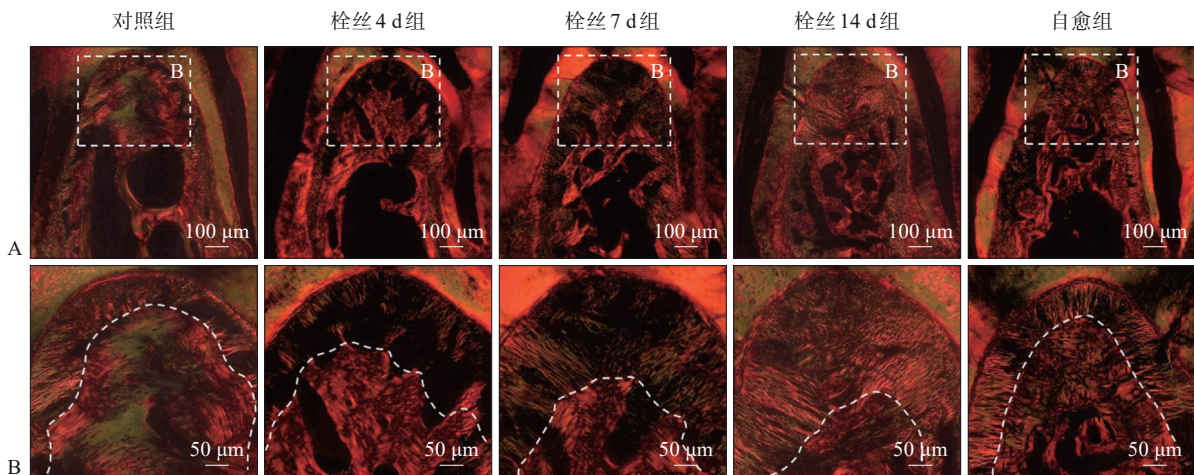
先减少而后回升的趋势,但其相对表达量仍低于对照组;去除炎症刺激后随着牙周组织的修复骨膜蛋白的表达也恢复至接近对照组水平。



B、C图分别是A图中B、C方框内容的放大图,虚线表示牙周膜和牙槽骨的界限。

图3 各组小鼠下颌第一磨牙HE染色

Fig 3 Images of HE staining in the first mandibular molar of mice in each group



B图是A图中B方框内容的放大图,虚线表示牙周膜和牙槽骨的界限。

图4 各组小鼠下颌第一磨牙天狼猩红染色偏振光扫描

Fig 4 Polarized light scanning images of Sirius red staining in the first mandibular molar of mice in each group

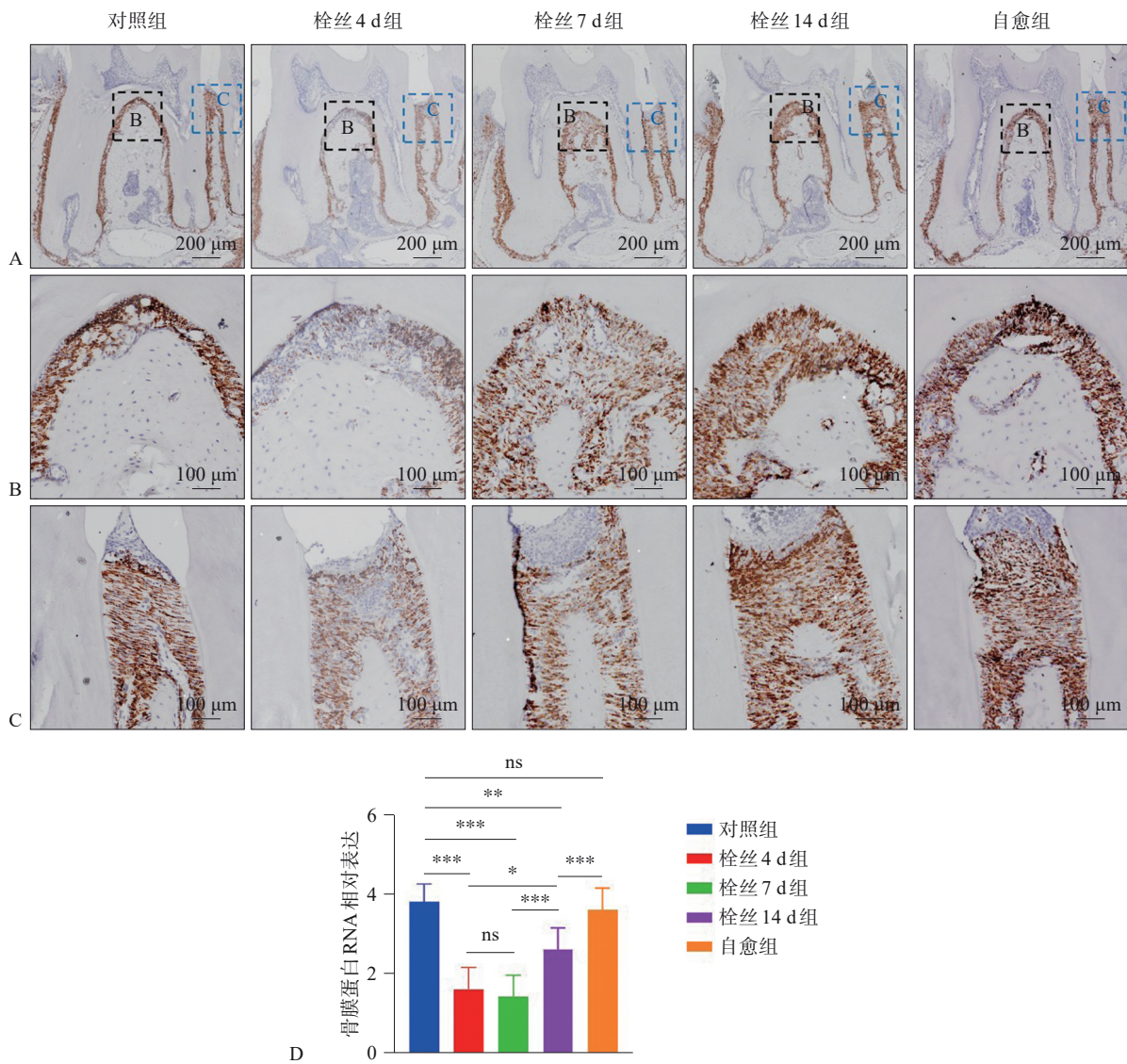
组织学结果显示,栓丝4d和7d时,牙周膜中出现类似急性炎症的反应,包括大量炎性细胞浸润、成纤维细胞退变、胶原破坏等,与既往研究^[20]结果一致,而牙槽骨破坏相对轻微,此时牙周膜内骨膜蛋白的表达减少可能与急性期炎症浸

润及胶原破坏有关。随着炎症进展,栓丝14d时破骨细胞数目显著增多,牙槽骨吸收明显加重,牙周膜间隙增宽明显,而增宽的牙周膜间隙中出现明显纤维性修复,伴随牙周膜内骨膜蛋白表达回升。研究^[21-22]发现,在其他一些慢性病理条件

下，骨膜蛋白表达增加与组织纤维化有关，而本研究中栓丝 14 d 组牙周膜中炎症细胞浸润明显减少且增宽牙周膜间隙充满密集排布的胶原纤维。基于此，本研究中栓丝 14 d 组骨膜蛋白表达上调可能与牙周炎引起的牙周组织炎性损伤向慢性纤维化转归有关。骨膜蛋白与牙周膜中胶原纤维束的规律排列密切相关^[23-24]，而后者这种慢性纤维化的过程可能是机体在炎性刺激下维持组织完整性的保护性措施。

牙周膜内的骨膜蛋白主要由成纤维细胞分泌

于细胞外基质中^[25-26]，与牙周膜纤维束的规律排列密切相关，将牙骨质与牙槽骨连接起来，形成牙齿的支持结构^[27]。基于此，骨膜蛋白与牙周膜内的纤维化对牙周膜完整性的保持具有重要作用。在本研究中，炎症条件下的骨膜蛋白表达是炎症早期减少而后后期增多，结合骨膜蛋白与牙周膜组织变化的密切联系，推测骨膜蛋白是牙周炎症环境中的一种维持牙周膜组织完整性的重要保护性蛋白。此外，在一些研究^[4,28]中，骨膜蛋白已经被用作一种成功的牙周再生标志物。



A、B、C 图为 RNAscope，其中 B、C 图分别是 A 图中 B、C 方框内容的放大图。D 图为统计分析，ns: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

图 5 各组小鼠下颌第一磨牙牙周组织中骨膜蛋白 RNA 表达变化

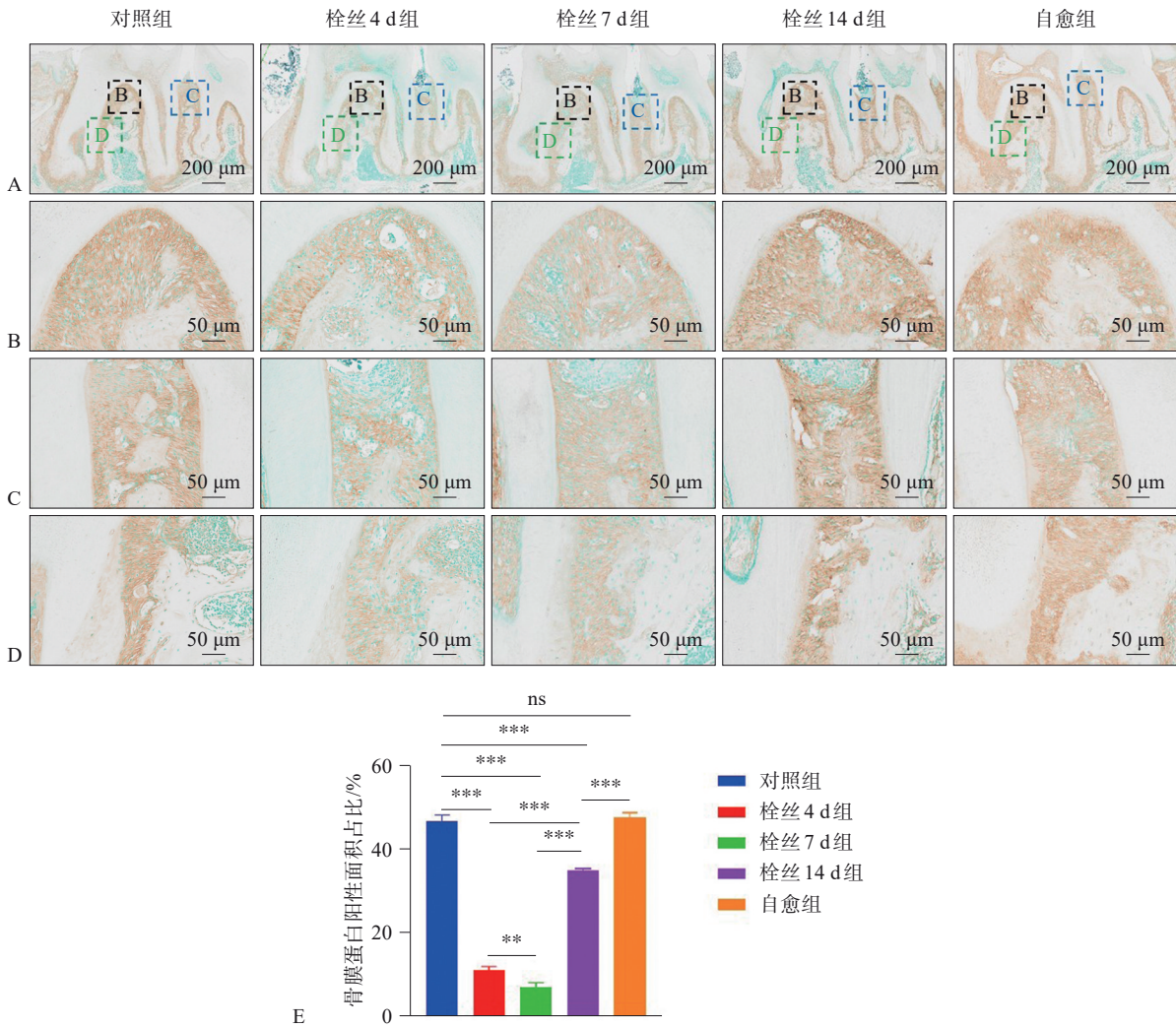
Fig 5 Changes of RNA expression of periostin in the periodontal tissue of the first mandibular molar of mice in each group

TGF-β1 作为 TGF-β 超家族的一员，参与炎症反应、细胞生长、免疫反应等过程，是一种多功能细胞因子^[29-31]，在牙周炎病因学及牙周再生领域

有重要地位。研究^[12]报道，TGF-β1 可以直接调节骨膜蛋白的表达，从而维持牙周组织完整性。本研究细胞实验证实，牙周膜细胞在炎症条件下降

低了TGF-β1的表达,且在炎症改善时又增加,这一趋势与骨膜蛋白在不同炎症状态下的改变一致。另有研究^[32-33]报道骨膜蛋白可通过增强MMP2表达

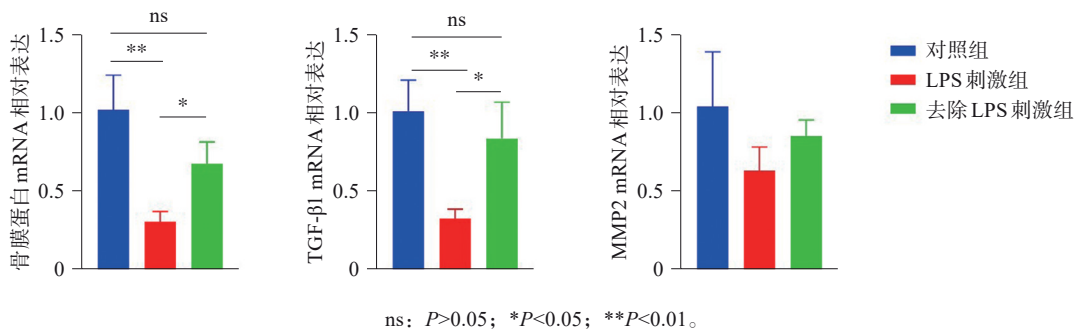
来促进损伤组织中血管生成过程,但本研究中骨膜蛋白下游调控分子MMP2的表达水平尽管呈现相似趋势,但组间差异无统计学意义。



A~D 图为免疫组织化学,其中 B、C、D 图分别是 A 图中 B、C、D 方框内容的放大图。E 图为统计分析, ns: $P>0.05$; $**P<0.01$; $***P<0.001$ 。

图 6 各组小鼠下颌第一磨牙的牙周组织中骨膜蛋白表达变化

Fig 6 Changes in periostin expression in the periodontal tissue of the first mandibular molar of mice in each group



ns: $P>0.05$; $*P<0.05$; $**P<0.01$ 。

图 7 各组牙周膜细胞中骨膜蛋白及其相关因子的 mRNA 表达变化

Fig 7 Changes of mRNA expression of periostin and related factors in periodontal ligament cells in each group

综上,骨膜蛋白在牙周组织损伤的应答以及重建中发挥着重要作用,对牙周再生有潜在的价

值,在未来需要进一步探索其在炎症下的表达调控机制和在牙周组织修复中的作用。

利益冲突声明：作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future[J]. *Periodontol* 2000, 2017, 75(1): 7-23.
- [2] Chien WC, Fu E, Chung CH, et al. Type 2 diabetes mellitus and periodontitis: bidirectional association in population-based 15-year retrospective cohorts[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2023, 108(11): e1289-e1297.
- [3] Sun J, Guo G. Association between atherogenic index of plasma and periodontitis among US adults[J]. *BMC Oral Health*, 2023, 23(1): 166.
- [4] Lazar L, Dako T, Bortoc R, et al. Periostin as a marker of periodontal status. A narrative review[J]. *Romanian J Oral Rehabil*, 2022, 14(4): 228-238.
- [5] Sophia K, Suresh S, Sudhakar U, et al. Comparative evaluation of serum and gingival crevicular fluid periostin levels in periodontal health and disease: a biochemical study[J]. *Cureus*, 2020, 12(3): e7218.
- [6] Arslan R, Karsiyaka Hendek M, Kisa U, et al. The effect of non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid periostin levels in patients with gingivitis and periodontitis[J]. *Oral Dis*, 2021, 27(6): 1478-1486.
- [7] Kii I, Ito H. Periostin and its interacting proteins in the construction of extracellular architectures[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(23): 4269-4277.
- [8] Du J, Li M. Functions of Periostin in dental tissues and its role in periodontal tissues' regeneration[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(23): 4279-4286.
- [9] Padiál-Molina M, Volk SL, Rios HF. Periostin increases migration and proliferation of human periodontal ligament fibroblasts challenged by tumor necrosis factor- α and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharides[J]. *J Periodontol Res*, 2014, 49(3): 405-414.
- [10] Wu Z, Dai W, Wang P, et al. Periostin promotes migration, proliferation, and differentiation of human periodontal ligament mesenchymal stem cells[J]. *Connect Tissue Res*, 2018, 59(2): 108-119.
- [11] Yan Y, Zhang H, Liu L, et al. Periostin reverses high glucose-inhibited osteogenesis of periodontal ligament stem cells via AKT pathway[J]. *Life Sci*, 2020, 242: 117184.
- [12] Ma D, Zhang R, Sun Y, et al. A novel role of periostin in postnatal tooth formation and mineralization[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(6): 4302-4309.
- [13] Rios H, Koushik SV, Wang H, et al. Periostin null mice exhibit dwarfism, incisor enamel defects, and an early-onset periodontal disease-like phenotype[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(24): 11131-11144.
- [14] Rios HF, Ma D, Xie Y, et al. Periostin is essential for the integrity and function of the periodontal ligament during occlusal loading in mice[J]. *J Periodontol*, 2008, 79(8): 1480-1490.
- [15] Rangiani A, Jing Y, Ren YS, et al. Critical roles of periostin in the process of orthodontic tooth movement[J]. *Eur J Orthod*, 2015, 38(4): 373-378.
- [16] Balli U, Keles ZP, Avci B, et al. Assessment of periostin levels in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontal disease[J]. *J Periodontol Res*, 2015, 50(6): 707-713.
- [17] Padiál-Molina M, Volk SL, Taut AD, et al. Periostin is down-regulated during periodontal inflammation[J]. *J Dent Res*, 2012, 91(11): 1078-1084.
- [18] Tang HN, Xia Y, Yu Y, et al. Stem cells derived from "inflamed" and healthy periodontal ligament tissues and their sheet functionalities: a patient-matched comparison [J]. *J Clin Periodontol*, 2016, 43(1): 72-84.
- [19] Jolly S, Lang V, Koelzer VH, et al. Single-cell quantification of mRNA expression in the human brain[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12353.
- [20] Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, et al. New concepts of destructive periodontal disease[J]. *J Clin Periodontol*, 1984, 11(1): 21-32.
- [21] Daines SM, Wang Y, Orlandi RR. Periostin and osteopontin are overexpressed in chronically inflamed sinuses [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2011, 1(2): 101-105.
- [22] Uchida M, Shiraishi H, Ohta S, et al. Periostin, a matrix protein, plays a role in the induction of chemokines in pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, 46(5): 677-686.
- [23] Kii I, Amizuka N, Minqi L, et al. Periostin is an extracellular matrix protein required for eruption of incisors in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(3): 766-772.
- [24] Tabata C, Hongo H, Sasaki M, et al. Altered distribution of extracellular matrix proteins in the periodontal ligament of periostin-deficient mice[J]. *Histol Histopathol*, 2014, 29(6): 731-742.
- [25] Suzuki H, Amizuka N, Kii I, et al. Immunohistochemical localization of periostin in tooth and its surrounding

- tissues in mouse mandibles during development[J]. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 2004, 281(2): 1264-1275.
- [26] Afanador E, Yokozeki M, Oba Y, et al. Messenger RNA expression of periostin and Twist transiently decrease by occlusal hypofunction in mouse periodontal ligament[J]. *Arch Oral Biol*, 2005, 50(12): 1023-1031.
- [27] Park CH, Rios HF, Jin Q, et al. Tissue engineering bone-ligament complexes using fiber-guiding scaffolds[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(1): 137-145.
- [28] Jiang Y, Yang P, Li C, et al. Periostin regulates LPS-induced apoptosis via Nrf2/HO-1 pathway in periodontal ligament fibroblasts[J]. *Oral Dis*, 2023, 29(5): 2188-2204.
- [29] Lodyga M, Hinz B. TGF- β 1—A truly transforming growth factor in fibrosis and immunity[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 101: 123-139.
- [30] Moreau JM, Velegaki M, Bolyard C, et al. Transforming growth factor- β 1 in regulatory T cell biology[J]. *Sci Immunol*, 2022, 7(69): eabi4613.
- [31] Wei Q, Liu D, Chu G, et al. TGF- β 1-supplemented decellularized annulus fibrosus matrix hydrogels promote annulus fibrosus repair[J]. *Bioact Mater*, 2022, 19: 581-593.
- [32] Khurshid Z, Mali M, Adanir N, et al. Periostin: immunomodulatory effects on oral diseases[J]. *Eur J Dent*, 2020, 14(3): 462-466.
- [33] Yin SL, Qin ZL, Yang X. Role of periostin in skin wound healing and pathologic scar formation[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(18): 2236-2238.

(本文编辑 李彩)

《儿童口腔科普绘本（全4册）》出版发行

书籍名称：儿童口腔科普绘本（全4册）

著者：王晴、沃嘉伟

出版社：东方出版社

内容简介：全套书是专为0~6岁儿童打造的儿童口腔科普绘本，共4册，精装彩绘，分别为《小海豚Xixi害怕去看牙》《鮫鯨鱼Papa爱吃甜食》《小海胆Lulu想当牙医》《小章鱼Momo爱吃手》。本书旨在一站解决儿童的口腔难题，有效培养儿童自主爱护牙齿意识，轻松帮助儿童养成良好的口腔卫生习惯，激发儿童爱护牙齿的兴趣，牢牢吸引儿童关注牙齿健康。本书内附专家导读，解读爱牙护齿的专业知识，对亲子阅读给予关键指导。此外，本书配有免费故事音频，由专业动画片配音演员朗读，绘声绘色，可以边看边听，让孩子认为看牙是非常有趣好玩的事情，以便每次都可以积极配合医生和护士完成牙齿检查和治疗。

