

# MMP1、MMP9 基因与慢性牙周炎的因果关系： 基于两样本孟德尔随机化研究

杨春桃<sup>1</sup>, 左玉<sup>2</sup>

(1.泉州医学高等专科学校口腔医学院,福建 泉州 362011; 2.桂林医科大学附属口腔医院口腔修复科,广西 桂林 541004)

**摘要:** **目的** 采用两样本孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)方法探索 MMP1/MMP8/MMP9 基因与慢性牙周炎是否存在因果关系。**方法** 使用 FinnGen R10(于2023年12月公开发布)慢性牙周炎(K11\_PERIODON\_CHRON)全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)汇总数据,选择与暴露基因(MMP1/MMP8/MMP9)显著相关且符合标准的单核苷酸多态性作为工具变量,以 MMP1/MMP8/MMP9 基因作为暴露变量,慢性牙周炎作为结局变量。采用 MR-Egger 回归、加权中位数、逆方差加权、简单模式、加权模式进行 MR 分析。用 Cochran's Q 检验和 MR-Egger 回归进行异质性检测。用 MR-Egger 截距和 MR-PRESSO 分析方法评估水平多效性。并用 leave-one-out 分析方法评估 MR 分析结果的整体稳定性。使用比值比(odds ratio, OR)和 95% 置信区间(confidence interval, CI)来量化 MMP1/MMP8/MMP9 基因对慢性牙周炎的因果关系。**结果** 在数据集 ebi-a-GCST90012033( $P=0.005$ , OR=0.955, 95% CI=0.924~0.986)和数据集 eqtl-a-ENSG00000196611( $P=0.048$ , OR=0.912, 95% CI=0.832~0.999)中,基于逆方差加权分析的结果提示 MMP1 基因预测的表达水平与慢性牙周炎风险之间存在显著的因果关系。在数据集 prot-a-1920( $P=0.087$ , OR=0.993, 95% CI=0.985~1.001)和数据集 eqtl-a-ENSG00000118113( $P=0.883$ , OR=0.992, 95% CI=0.887~1.109)中,基于逆方差加权分析的结果提示 MMP8 基因预测的表达水平与慢性牙周炎风险之间不存在显著的因果关系。在数据集 prot-a-1921( $P=0.450$ , OR=0.985, 95% CI=0.948~1.024)中,基于逆方差加权分析的结果提示 MMP9 基因预测的表达水平与慢性牙周炎风险之间不存在显著的因果关系。但在数据集 eqtl-a-ENSG00000100985( $P=2.405\times 10^{-5}$ , OR=1.123, 95% CI=1.064~1.184)中,基于逆方差加权分析的结果提示 MMP9 基因预测的表达水平与慢性牙周炎风险之间存在显著的因果关系。**结论** 从遗传学层面,MR 分析结果支持 MMP1、MMP9 基因在慢性牙周炎发病机制中可能发挥致病作用。从病因学层面,MMP1、MMP9 基因只是慢性牙周炎的致病因素之一。

**关键词:** MMP1 基因;MMP8 基因;MMP9 基因;慢性牙周炎;孟德尔随机化;单核苷酸多态性;因果关系

中图分类号:R781.4+2

文献标志码:A

## Causal relationship of MMP1 and MMP9 genes with chronic periodontitis: an exploratory study based on two-sample Mendelian randomization

YANG Chuntao<sup>1</sup>, ZUO Yu<sup>2</sup>

(1. School of Stomatology, Quanzhou Medical College, Quanzhou 362011, Fujian, China;

2. Department of Prosthodontics, Affiliated Stomatology Hospital of Guilin Medical University,  
Guilin 541004, Guangxi, China)

**Abstract: Objective** To investigate whether the MMP1/MMP8/MMP9 genes have a causal relationship with chronic periodontitis using a two-sample Mendelian randomization (MR) analysis. **Methods** Genome-wide association study

(GWAS) was used to summarize data on chronic periodontitis (phenotype code: K11\_PERIODON\_CHRON) from the FinnGen R10 database (publicly available since December 2023). Single nucleotide polymorphisms significantly associated with exposure (*MMP1/MMP8/MMP9* genes) and meeting the criteria were chosen as instrumental variables. The *MMP1*, *MMP8* and *MMP9* genes were defined as exposure variables and chronic periodontitis was defined as the outcome variable. MR analyses were performed using MR-Egger regression, weighted median, inverse variance weighted (IVW), weighted mode and simple mode methods. Heterogeneity was assessed using the Cochran's  $Q$  test and MR-Egger regression. Horizontal pleiotropy was evaluated using the MR-Egger intercept test and MR-PRESSO analysis. The general stability of the MR results was examined by leave-one-out analysis. The causal relationship between the *MMP1/MMP8/MMP9* genes and chronic periodontitis was quantified using odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI). **Results** Based on inverse variance weighted (IVW) analysis, a significant causal relationship was observed between genetically predicted *MMP1* expression and the risk of chronic periodontitis in the ebi-a-GCST90012033 dataset ( $P=0.005$ , OR=0.955, 95%CI=0.924-0.986) and the eqtl-a-ENSG00000196611 dataset ( $P=0.048$ , OR=0.912, 95%CI=0.832-0.999). In contrast, IVW results did not show a significant causal association between genetically predicted *MMP8* expression and chronic periodontitis in the prot-a-1920 dataset ( $P=0.087$ , OR=0.993, 95%CI=0.985-1.001) and the eqtl-a-ENSG00000118113 dataset ( $P=0.883$ , OR=0.992, 95%CI=0.887-1.109). Similarly, no significant causal relationship was found between genetically predicted *MMP9* expression and chronic periodontitis in the prot-a-1921 dataset ( $P=0.450$ , OR=0.985, 95%CI=0.948-1.024). Although IVW analysis based on the dataset eqtl-a-ENSG00000100985 yielded a statistically significant result ( $P=2.405\times 10^{-5}$ , OR=1.123, 95%CI=1.064-1.184), the general evidence consistently support a robust causal association between *MMP9* expression and chronic periodontitis. **Conclusion** From a genetic point of view, the results of the MR analysis support a potential pathogenic role for *MMP1* and *MMP9* in the development of chronic periodontitis. From an etiological perspective, *MMP1* and *MMP9* may be contributing factors, although not exclusive, involved in the pathogenesis of chronic periodontitis. **Key words:** *MMP1* gene; *MMP8* gene; *MMP9* gene; Chronic periodontitis; Mendelian randomization; Single nucleotide polymorphisms; Causal relationship

牙周炎是一种由多因素引起的炎症性疾病,虽然牙周炎的始动因子是菌斑生物膜,但牙周病原体激活宿主的免疫防御系统,最终导致牙周组织的降解,因此遗传因素、环境因素以及口腔微生物菌群和宿主免疫炎症反应之间的相互复杂作用被认为是引起牙周炎的主要原因<sup>[1]</sup>。牙周支持组织的丧失是宿主免疫炎症反应的最终结果,而基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)与广泛的炎症性疾病有关,被认为是引起牙周支持组织丧失的主要调控因子<sup>[2]</sup>。既往研究证实了MMP基因多态性与巴西人群<sup>[3]</sup>、中国人群<sup>[4]</sup>、伊朗人群<sup>[5]</sup>的慢性牙周炎的发生发展存在相关性,但相关性不是因果关系,而且分析来自不同数据库的各种MMP基因多态性时,可能会出现显著的异质性和潜在的发表偏倚。因此目前MMP基因与牙周炎之间因果关系的证据仍然缺乏。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)是一种基于遗传变异“单核苷酸多态性”(single nucleotide polymorphism, SNP)作为工具变量,评估暴露与结局之间因果关系的统计推断方法。在受孕时,遗传变异被随机分配,类似于随机对照试验<sup>[6]</sup>。

两样本MR是指从同一潜在人群中取两个单独的队列:一个用于暴露的遗传变异,另一个用于结局的遗传变异,然后将他们的数据结合起来进行分析<sup>[7]</sup>。本研究利用两样本MR对*MMP1/MMP8/MMP9*基因与慢性牙周炎的因果关系进行分析,这不仅可以避免既往研究中混淆因素和反向因果关系的影响,还可以明确*MMP1/MMP8/MMP9*基因是否为慢性牙周炎发生的潜在危险因素,为将来牙周炎的精准治疗提供一定的理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究设计

本研究的MR分析基于三个基本假设:①工具变量(SNP)和暴露(*MMP1/MMP8/MMP9*基因)表现出强烈的关联;②工具变量(SNP)和“暴露(*MMP1/MMP8/MMP9*基因)→结局(慢性牙周炎)”途径中的任何混杂因素均无关联;③工具变量(SNP)仅通过暴露(*MMP1/MMP8/MMP9*基因)来影响结局(慢性牙周炎),没有任何其他途径。当以上三个假设均成立时,就可以进行因果关系推论,见图1。

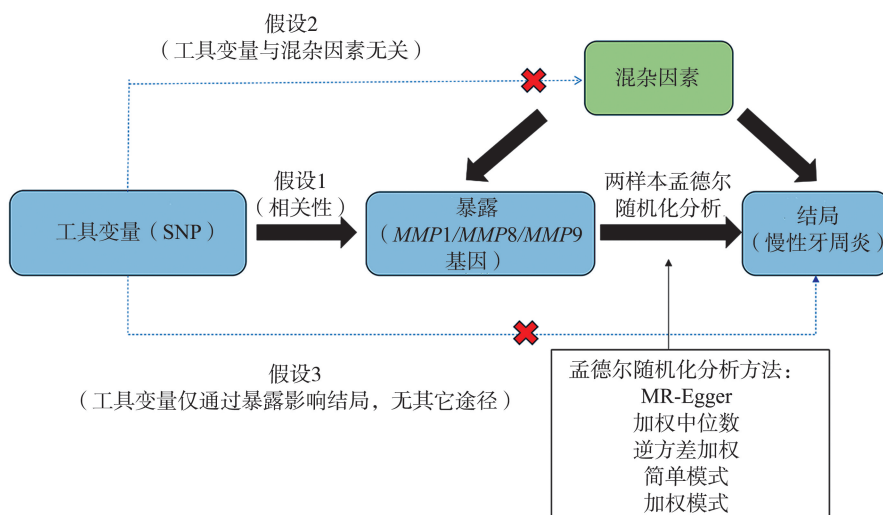


图1 MR分析基于的三个基本假设

Figure 1 The MR analysis is based on three basic assumptions

## 1.2 数据来源

### 1.2.1 暴露变量数据集来源

暴露变量所用的 GWAS 数据集来源如下: ①MMP1基因数据来源于 ebi-a-GCST90012033 和 eqtl-a-ENSG00000196611 数据集; ②MMP8 基因数据来源于 prot-a-1920 和 eqtl-a-ENSG00000118113 数据集; ③MMP9 基因数据来源于 prot-a-1921 和 eqtl-a-ENSG00000100985 数据集。以上 GWAS 数

据来源均为欧洲血统。

### 1.2.2 结局变量数据集来源

结局变量为慢性牙周炎, GWAS 数据集来自 FinnGen R10(于2023年12月公开发布)(<https://www.finngen.fi/en>)。表型代码为 K11\_PERIODON\_CHRON。

暴露变量和结局变量的 GWAS 数据集相关信息见表1。

表1 全基因组关联分析研究的相关信息

Table 1 The relevant information for genome wide association study

变量	GWAS ID	GWAS 样本量/ <i>n</i>	SNP 数量/ <i>k</i>	发表年份
暴露变量				
MMP1	ebi-a-GCST90012033	21 758	12 705 782	2020
	eqtl-a-ENSG00000196611	31 684	19 500	2018
MMP8	prot-a-1920	3 301	10 534 735	2018
	eqtl-a-ENSG00000118113	30 935	19 554	2018
MMP9	prot-a-1921	3 301	10 534 735	2018
	eqtl-a-ENSG00000100985	31 684	18 885	2018
结局变量				
慢性牙周炎	-	诊断为慢性牙周炎的患者 4 784 例和 对照患者 272 252 例	-	2023

## 1.3 工具变量 SNP 筛选

①筛选出与 MMP1/MMP8/MMP9 基因具有显著相关( $P < 5 \times 10^{-6}$ )的 SNP<sup>[8]</sup>; ②排除连锁不平衡(连锁不平衡系数  $r^2 < 0.001$ , 连锁不平衡区域宽度  $< 10 \text{ kb}$ <sup>[9]</sup>), 确保所选 SNP 相互独立; ③排除弱工具变量( $F$  统计量  $< 10$ ); ④暴露和结局数据集中均存在的 SNP。

其中  $\beta$  为各 SNP 对 MMP 基因的遗传效应估计值, EAF 为效应等位基因频率, SE 为  $\beta$  的标准误差,  $N$  为 MMP 基因的 GWAS 样本量<sup>[10]</sup>。

根据以下公式计算  $F$  统计量:

$$F = r^2 \times (N - k - 1) / [(1 - r^2) \times k],$$

其中  $r^2$  为每个 SNP 解释 MMP 基因变异的比列,  $N$  为 MMP 基因的 GWAS 样本量,  $k$  为 SNP 数量<sup>[11]</sup>。

## 1.4 统计学处理

采用 R 软件(版本 4.4.1), 基于 TwoSample MR 软件包(版本 0.6.6)和 MR-PRESSO 进行统计分析。

根据以下公式计算  $r^2$ :

$$r^2 = \frac{2 \times \beta^2 \times \text{EAF} \times (1 - \text{EAF})}{2 \beta^2 \times \text{EAF} \times (1 - \text{EAF}) + \text{SE}^2 \times 2 \times N \times \text{EAF} \times (1 - \text{EAF})},$$

MR-Egger 回归、加权中位数、逆方差加权、简单模式、加权模式五种方法用以确定 *MMP1/MMP8/MMP9* 基因与慢性牙周炎之间的因果关系。从 FinnGen 数据库中提取慢性牙周炎数据。排除与结局(慢性牙周炎)相关的 SNP ( $P < 5 \times 10^{-6}$ )。在 *MMP1/MMP8/MMP9* 基因和慢性牙周炎的 GWAS 中协调效应等位基因,并根据 EAF (Two Sample MR 包中“协调”函数的默认  $EAF > 0.42$ ) 排除回文 SNP<sup>[11]</sup>,只使用剩余的 SNP。采用逆方差加权作为 MR 分析的主要方法来评估暴露 (*MMP1/MMP8/MMP9* 基因)对结局(慢性牙周炎)的因果关系。该方法基于 MR 假设,假设所有工具变量均有效,并结合不同 SNP 对因果关系的 Wald 比值的估计,评估暴露 (*MMP1/MMP8/MMP9* 基因)对结局(慢性牙周炎)的因果关系。鉴于逆方差加权评估效率较低,因此 MR-Egger 回归、加权中位数、简单模式、加权模式同时被用作逆方差加权评估的补充。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。使用 OR 和 95%CI 来量化 *MMP1/MMP8/MMP9* 基因对慢性牙周炎的因果关系。OR 值反映每单位基因表达变化(或等位基因增加)对慢性牙周炎发生风险的影响。通过 TwoSample MR 软件包将 MR 分析结果进行可视化。

使用逆方差加权 (Cochran's  $Q$  检验,  $P < 0.05$ ) 和 MR-Egger 回归进行异质性检测,漏斗图用来可视化异质性<sup>[11]</sup>。使用 MR-Egger 截距和 MR-PRESSO 方法来评估和校正水平多效性,散点图用来发现潜在的水平多效性。当水平多效性变异的百分比  $< 10\%$

时,它减少了偏倚,并且比逆方差加权和 MR-Egger 具有更好的精度。使用 leave-one-out 分析以评估 MR 分析是否受到单个 SNP 的驱动或影响<sup>[11]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 *MMP1* 基因

#### 2.1.1 数据集 ebi-a-GCST90012033

以 *MMP1* 基因作为暴露,在数据集 ebi-a-GCST90012033 中提取与结局(慢性牙周炎)密切相关的 SNP 共 172 个 ( $P < 5 \times 10^{-6}$ ),其中 7 个 SNP 在结局中数据缺如,最后纳入 165 个 SNP 进行分析。 $F$  平均统计量为 56.572,范围为 21.171 ~ 1 037.209。MR 分析:逆方差加权结果显示 *MMP1* 基因与慢性牙周炎存在因果关系,*MMP1* 基因每升高 1 个标准差,慢性牙周炎风险降低 4.5%。逆方差加权、MR-Egger 回归、加权中位数、加权模式、简单模式的 MR 分析结果见表 2。Cochran's  $Q$  检验 ( $P = 0.386$ ) 及 MR-Egger 回归 ( $P = 0.366$ ) 提示低异质性,漏斗图亦较对称(图 2A)。MR-Egger 截距(截距  $P = -0.001$ )和 MR-PRESSO 结果 ( $P = 0.878$ ) 提示未发现显著水平多效性。散点图提示大部分 SNP 分布较为集中,除简单模式外,其余 MR 分析方法回归线提示可能存在轻度负向因果效应(图 2B)。leave-one-out 结果提示 MR 分析未受到单个 SNP 的驱动或影响。

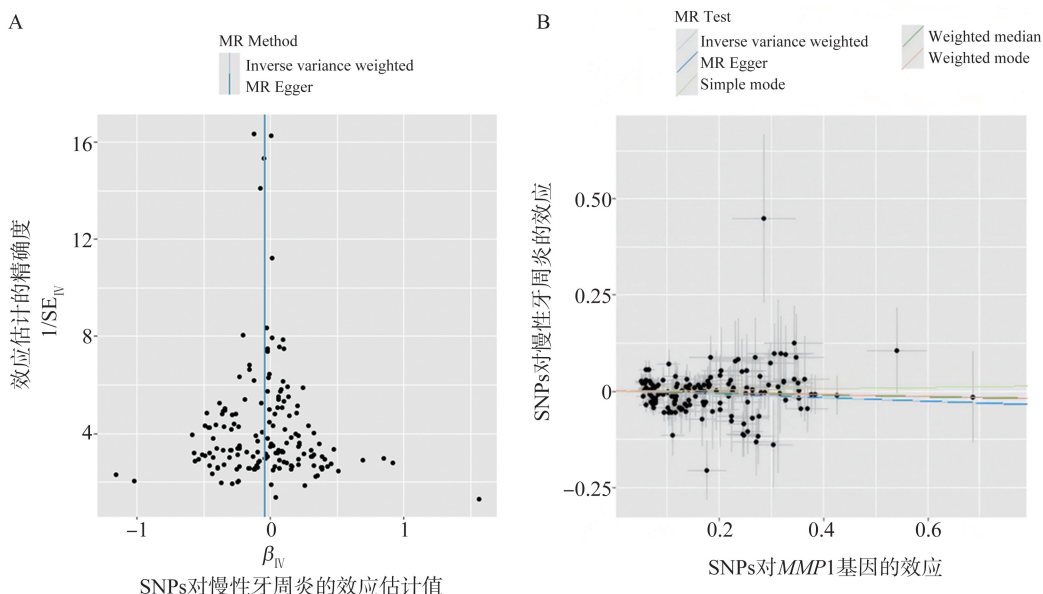


图2 数据集 ebi-a-GCST90012033 中 *MMP1* 基因相关 SNPs 对慢性牙周炎因果关系

A: 漏斗图; B: 散点图。

Figure 2 The causal effects of *MMP1* gene-related SNPs on chronic periodontitis in the ebi-a-GCST90012033 dataset

A: The funnel plot; B: The scatter plot.

### 2.1.2 数据集 eqtl-a-ENSG00000196611

以 *MMP1* 基因作为暴露,在数据集 eqtl-a-ENSG00000196611 中提取与结局(慢性牙周炎)密切相关的 SNP 共 29 个( $P < 5 \times 10^{-6}$ )。F 平均统计量为 56.073,范围为 21.423~182.044。MR 分析:逆方差加权结果显示 *MMP1* 基因与慢性牙周炎存在因果关系,*MMP1* 基因每升高 1 个标准差,慢性牙周炎风险降低 8.8%。逆方差加权、MR-Egger 回归、加权中位数、加权模式、简单模式的 MR 分析结果见

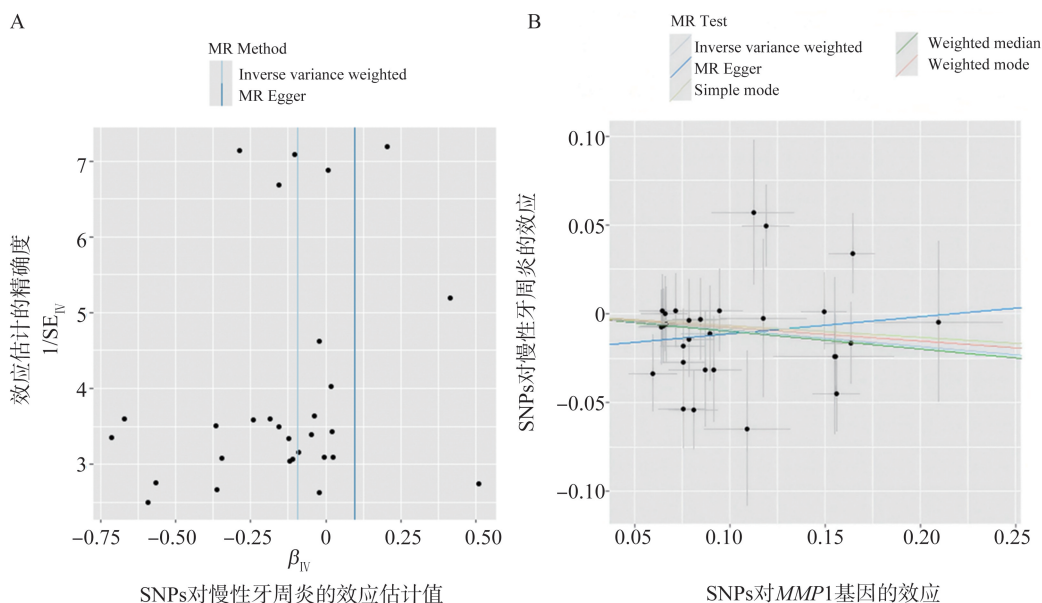


图3 数据集 eqtl-a-ENSG00000196611 中 *MMP1* 基因相关 SNPs 对慢性牙周炎因果关系

A: 漏斗图; B: 散点图。

Figure 3 The causal effects of *MMP1* gene-related SNPs on chronic periodontitis in the eqtl-a-ENSG00000196611 dataset

A: The funnel plot; B: The scatter plot.

## 2.2 *MMP8* 基因

### 2.2.1 数据集 prot-a-1920

以 *MMP8* 基因作为暴露,在数据集 prot-a-1920 中提取与结局(慢性牙周炎)密切相关的 SNP 共 320 个( $P < 5 \times 10^{-6}$ ),其中 34 个 SNP 在结局中数据缺如,最后纳入 286 个 SNP 进行分析。F 平均统计量为 296.278,范围为 20.893~542.224。MR 分析:逆方差加权结果显示 *MMP8* 基因与慢性牙周炎不存在因果关系。逆方差加权、MR-Egger 回归、加权中位数、加权模式、简单模式的 MR 分析结果见表 2。Cochran's *Q* 检验( $P = 0.996$ )及 MR-Egger 回归( $P = 0.996$ )提示低异质性,漏斗图亦较对称(图 4A)。MR-Egger 截距(截距  $P = 0.000$ )和 MR-PRESSO 结果( $P = 0.927$ )提示未发现显著水平多效性。散点图提示大部分 SNP 分布较为集中,各 MR 分析方法回归线较为一致,拟合斜率提示可能存在轻微负向因果关系(图 4B)。leave-one-out 结果提示 MR 分析未受到单个 SNP 的驱动或影响。

表 2。Cochran's *Q* 检验( $P = 0.270$ )及 MR-Egger 回归( $P = 0.343$ )提示低异质性,漏斗图亦较对称(图 3A)。MR-Egger 截距(截距  $P = -0.021$ )和 MR-PRESSO 结果( $P = 0.124$ )提示未发现显著水平多效性。散点图提示 SNP 分布较为分散,除 MR-Egger 外,其余 MR 分析方法回归线提示可能存在负向因果关系(图 3B)。leave-one-out 结果提示 MR 分析未受到单个 SNP 的驱动或影响。

### 2.2.2 数据集 eqtl-a-ENSG00000118113

以 *MMP8* 基因作为暴露,在数据集 eqtl-a-ENSG00000118113 中提取与结局(慢性牙周炎)密切相关的 SNP 共 26 个( $P < 5 \times 10^{-6}$ ),其中 3 个 SNP 在结局中数据缺如,最后纳入 23 个 SNP 进行分析。F 平均统计量为 58.292,范围为 21.120~115.959。MR 分析:逆方差加权结果显示 *MMP8* 基因与慢性牙周炎不存在因果关系。逆方差加权、MR-Egger 回归、加权中位数、加权模式、简单模式的 MR 分析结果见表 2。Cochran's *Q* 检验( $P = 0.130$ )及 MR-Egger 回归( $P = 0.112$ )提示低异质性,漏斗图亦较对称(图 5A)。MR-Egger 截距(截距  $P = -0.014$ )和 MR-PRESSO 结果( $P = 0.585$ )提示未发现显著水平多效性。散点图提示 SNP 分布较为分散,5 种 MR 分析方法回归线方向一致,提示稳定的轻度正向因果效应(图 5B)。leave-one-out 结果提示 MR 分析未受到单个 SNP 的驱动或影响。

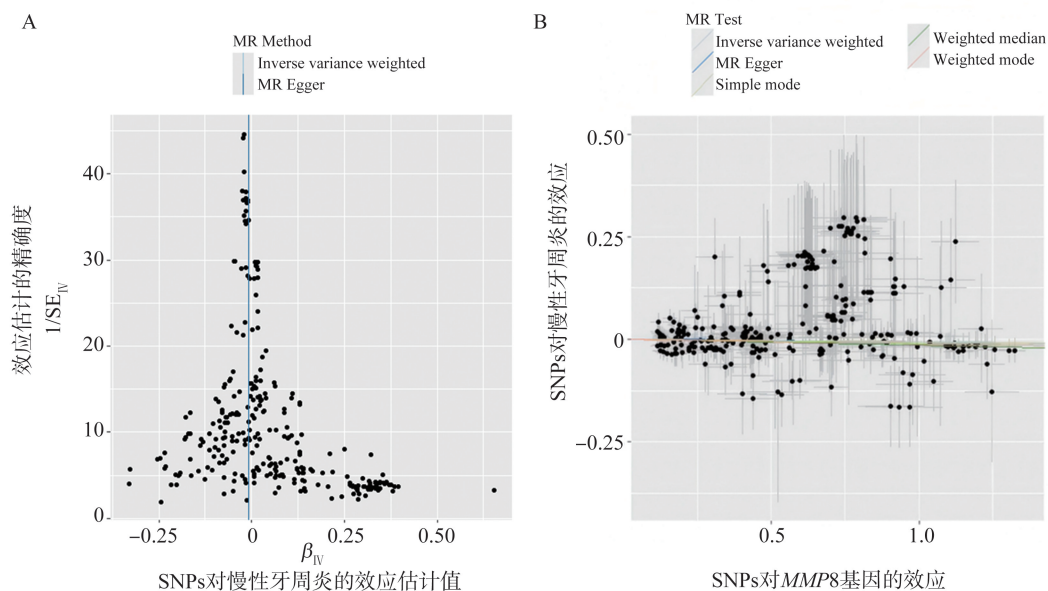


图4 数据集 prot-a-1920 中 *MMP8* 基因相关 SNPs 对慢性牙周炎因果关系

A: 漏斗图; B: 散点图。

Figure 4 The causal effects of *MMP8* gene-related SNPs on chronic periodontitis in the prot-a-1920 dataset

A: The funnel plot; B: The scatter plot.

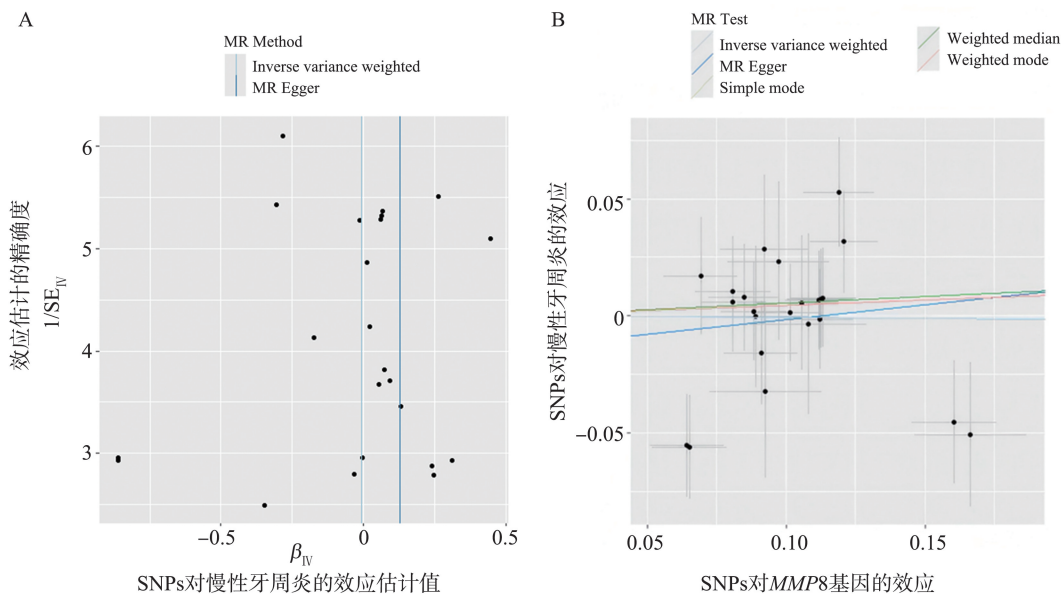


图5 数据集 eqtl-a-ENSG00000118113 中 *MMP8* 基因相关 SNPs 对慢性牙周炎因果关系

A: 漏斗图; B: 散点图。

Figure 5 The causal effects of *MMP8* gene-related SNPs on chronic periodontitis in the eqtl-a-ENSG00000118113 dataset

A: The funnel plot; B: The scatter plot.

## 2.3 *MMP9* 基因

### 2.3.1 数据集 prot-a-1921

以 *MMP9* 基因作为暴露, 在数据集 prot-a-1921 中提取与结局(慢性牙周炎)密切相关的 SNP 共 46 个 ( $P < 5 \times 10^{-6}$ ), 其中 3 个 SNP 在结局中数据缺如, 最后纳入 43 个 SNP 进行分析。F 平均统计量为 35.545, 范围为 20.853 ~ 113.076。MR 分析: 逆方差加权结果显示 *MMP9* 基因与慢性牙周炎不存在因果关系。逆方差加权、MR-Egger 回归、加权中位数、

加权模式、简单模式的 MR 分析结果见表 2。Cochran's *Q* 检验 ( $P = 0.308$ ) 及 MR-Egger 回归 ( $P = 0.541$ ) 提示低异质性, 漏斗图亦较对称(图 6A)。MR-Egger 截距(截距  $P = 0.021$ ) 和 MR-PRESSO 结果 ( $P = 0.014$ ) 提示工具变量可能通过非暴露途径影响结局。散点图提示 SNP 分布较为分散, 5 种 MR 分析方法回归线方向一致, 提示轻微负向因果效应(图 6B)。leave-one-out 结果提示 MR 分析未受到单个 SNP 的驱动或影响。

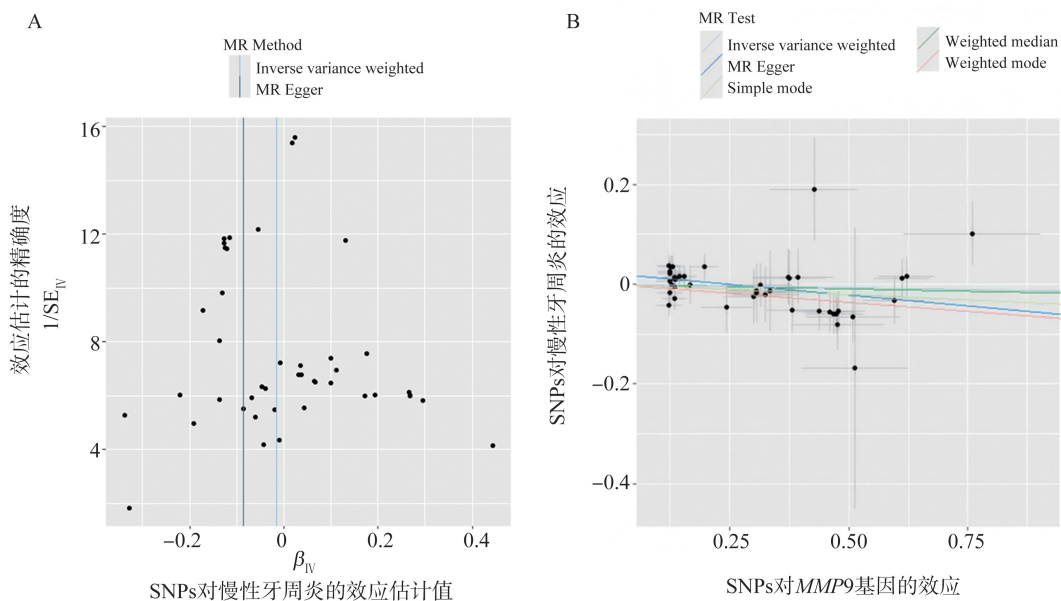


图 6 数据集 prot-a-1921 中 *MMP9* 基因相关 SNPs 对慢性牙周炎因果关系

A: 漏斗图; B: 散点图。

Figure 6 The causal effects of *MMP9* gene-related SNPs on chronic periodontitis in the prot-a-1921 dataset

A: The funnel plot; B: The scatter plot.

### 2.3.2 数据集 eqtl-a-ENSG00000100985

以 *MMP9* 基因作为暴露,在数据集 eqtl-a-ENSG00000100985 中提取与结局(慢性牙周炎)密切相关的 SNP 共 69 个( $P < 5 \times 10^{-6}$ ),其中 4 个 SNP 在结局中数据缺如,最后纳入 65 个 SNP 进行分析。 $F$  平均统计量为 136.584,范围为 20.939~461.211。MR 分析:逆方差加权结果显示 *MMP9* 基因与慢性牙周炎存在因果关系,*MMP9* 基因每升高 1 个标准差,慢性牙周炎风险增加 12.3%。逆方差加权、MR-

Egger 回归、加权中位数、加权模式、简单模式的 MR 分析结果见表 2。Cochran's  $Q$  检验( $P = 0.721$ )及 MR-Egger 回归( $P = 0.779$ )提示低异质性,漏斗图亦较对称(图 7A)。MR-Egger 截距(截距  $P = -0.010$ )和 MR-PRESSO 结果( $P = 0.099$ )提示未发现显著水平多效性。散点图提示大部分 SNP 分布趋于一致,5 种 MR 分析方法回归线方向一致,提示稳定的轻度正向因果效应(图 7B)。leave-one-out 结果提示 MR 分析未受到单个 SNP 的驱动或影响。

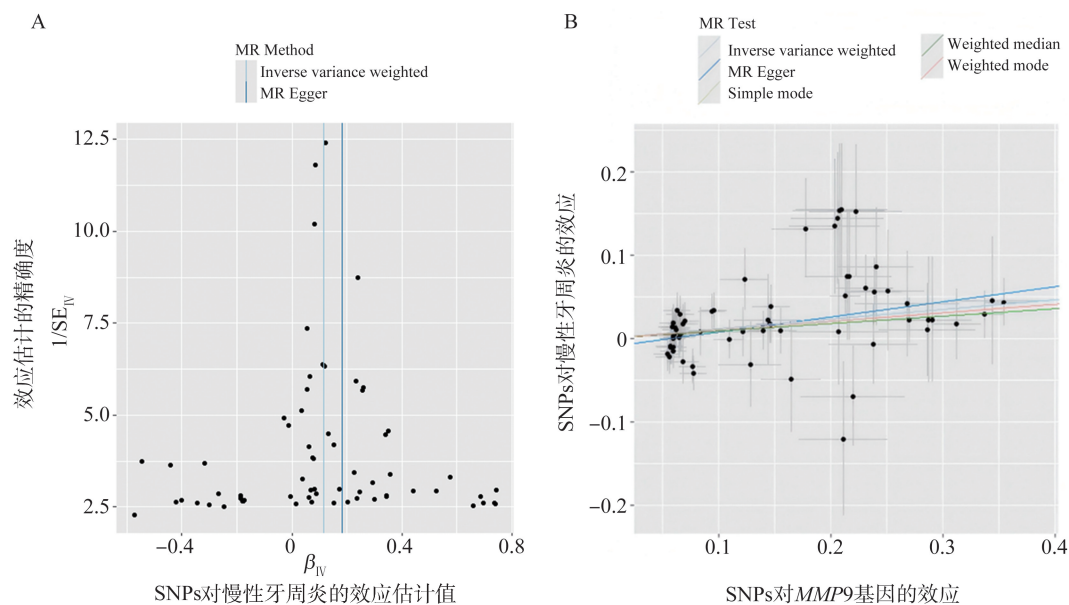


图 7 数据集 eqtl-a-ENSG00000100985 中 *MMP9* 基因相关 SNPs 对慢性牙周炎因果关系

A: 漏斗图; B: 散点图。

Figure 7 The causal effects of *MMP9* gene-related SNPs on chronic periodontitis in the eqtl-a-ENSG00000100985

A: The funnel plot; B: The scatter plot.

表2 MR分析结果  
Table 2 The MR analysis results

暴露(基因)	GWAS ID	结局	MR分析方法	SNP/n	$\beta$	SE	P	OR(95%CI)	效应方向与逆方差加权
MMP1	ebi-a-GCST90012033	慢性牙周炎	MR-Egger 回归	165	-0.043	0.030	0.155	0.958(0.904~1.016)	一致
			加权中位数		-0.024	0.027	0.381	0.977(0.927~1.030)	一致
			逆方差加权		-0.046	0.016	0.005	0.955(0.924~0.986)	一致
			简单模式		0.016	0.056	0.776	1.016(0.911~1.133)	不一致
			加权模式		-0.023	0.030	0.437	0.977(0.921~1.036)	一致
	eqtl-a-ENSG00000196611	慢性牙周炎	MR-Egger 回归	29	0.096	0.128	0.456	1.101(0.858~1.414)	不一致
			加权中位数		-0.099	0.067	0.141	0.906(0.794~1.033)	一致
			逆方差加权		-0.093	0.047	0.048	0.912(0.832~0.999)	一致
			简单模式		-0.066	0.125	0.601	0.936(0.733~1.196)	一致
			加权模式		-0.076	0.108	0.485	0.926(0.750~1.145)	一致
MMP8	prot-a-1920	慢性牙周炎	MR-Egger 回归	286	-0.008	0.007	0.263	0.992(0.979~1.006)	一致
			加权中位数		-0.015	0.006	0.011	0.985(0.974~0.997)	一致
			逆方差加权		-0.007	0.004	0.087	0.993(0.985~1.001)	一致
			简单模式		-0.006	0.009	0.502	0.994(0.976~1.012)	一致
			加权模式		-0.011	0.005	0.042	0.989(0.979~1.000)	一致
	eqtl-a-ENSG00000118113	慢性牙周炎	MR-Egger 回归	23	0.126	0.249	0.618	1.134(0.696~1.847)	不一致
			加权中位数		0.055	0.068	0.418	1.057(0.925~1.208)	不一致
			逆方差加权		-0.008	0.057	0.883	0.992(0.887~1.109)	一致
			简单模式		0.045	0.132	0.735	1.046(0.808~1.354)	不一致
			加权模式		0.045	0.126	0.723	1.046(0.818~1.338)	不一致
MMP9	prot-a-1921	慢性牙周炎	MR-Egger 回归	43	-0.086	0.033	0.014	0.918(0.860~0.980)	一致
			加权中位数		-0.019	0.029	0.502	0.981(0.928~1.038)	一致
			逆方差加权		-0.015	0.020	0.450	0.985(0.948~1.024)	一致
			简单模式		-0.043	0.060	0.479	0.958(0.853~1.007)	一致
			加权模式		-0.073	0.046	0.116	0.929(0.850~1.016)	一致
	eqtl-a-ENSG00000100985	慢性牙周炎	MR-Egger 回归	65	0.182	0.048	$3.426 \times 10^{-4}$	1.199(1.092~1.317)	一致
			加权中位数		0.089	0.041	$3.025 \times 10^{-2}$	1.093(1.009~1.185)	一致
			逆方差加权		0.116	0.027	$2.405 \times 10^{-5}$	1.123(1.064~1.184)	一致
			简单模式		0.102	0.070	$1.487 \times 10^{-1}$	1.107(0.966~1.269)	一致
			加权模式		0.102	0.043	$2.000 \times 10^{-2}$	1.107(1.018~1.204)	一致

### 3 讨论

MMPs 是一大类钙依赖性含锌内肽酶,它们的主要作用是切割细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的各种成分,包括胶原、弹性蛋白、明胶、基质糖蛋白和蛋白聚糖<sup>[12]</sup>以及生长因子、细胞因子、趋化因子和黏附蛋白等。MMPs 以非活性形式作为前酶(proMMP)合成,在正常生理条件下,MMP 的活性通过基因表达、proMMP 激活和内源性金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitors of MMPs, TIMPs)来调节。

正常情况下,MMPs 的前肽结构域含有半胱氨酸残基,该残基与活性位点的催化锌相互作用,阻止

其与底物结合,从而使 MMPs 保持非活性状态<sup>[13]</sup>。TIMPs 家族包括 4 个成员(TIMP1-TIMP4),它们嵌入到 MMPs 的活性位点,从而抑制了 MMPs 的活性<sup>[14]</sup>。病理条件下,MMPs 活性的平衡被打破,MMPs 活性的增加被认为会诱导炎症反应<sup>[15]</sup>,一旦 MMPs 从非活性形式转变为活性形式,其开始发挥蛋白水解作用,同时 MMPs 与白介素(IL-8 和 IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、骨保护素、前列腺素、核因子  $\kappa$  B 配体受体激活剂等一起释放<sup>[16]</sup>,从而导致牙周组织的破坏和其他炎症性疾病。

根据 MMPs 的结构和功能,I 型胶原酶(MMP1)、II 型胶原酶(MMP8)主要负责 I 型、II 型胶原蛋白的降解;明胶酶 B(MMP9)属于 IV 型胶原酶,主要负责基底膜中 IV 型胶原蛋白的降解<sup>[12,15]</sup>。

牙周组织主要含有 I 型胶原蛋白,它们是牙龈、牙周膜和牙槽骨的主要基质成分。与健康牙周组织相比,牙周炎患者结缔组织和龈沟液中 MMP 水平明显升高,胶原蛋白的形状、数量和类型发生改变<sup>[17]</sup>。MMPs 基因过表达和 MMPs 活性的增加,可使 MMPs 从上皮细胞中释放的量增加,从而影响结合上皮的顶端根向迁移和侧向延伸,最终导致牙周结缔组织附着的丧失<sup>[12]</sup>。

在数据集 ebi-a-GCST90012033 中逆方差加权结果提示 MMP1 基因与牙周炎存在因果关系,OR 值略低于 1 且散点图提示轻微负向因果效应,可能与工具变量方向不一致导致效应估计偏离。MR-Egger 回归结果差异无统计学意义,但其效应方向与逆方差加权方向一致,并结合 *F* 统计量的范围,推测 MR-Egger 回归的潜在效应可能受弱工具变量倚倚或异质性影响而被稀释。加权中位数和加权模式的效应方向进一步支持逆方差加权的方向性,但统计效力较低可能掩盖真实关联。简单模式的方向性与逆方差加权不同,可能是因为统计效力较低限制了其结果的可靠性。既往研究,如 Nokhbehshaim 等<sup>[18]</sup>采用 RT-PCR 方法对德国牙周健康者和牙周炎患者的牙龈活检组织进行分析以确定 MMP1 的水平含量,该研究结果证实了相较于牙周健康者,德国牙周炎患者牙龈组织中 MMP1 的水平含量升高,该研究结果表明 MMP1 的水平含量与欧洲血统的牙周炎存在正相关。而且 MMP1 基因的表达水平可能会受到上游 NF- $\kappa$ B 通路<sup>[19]</sup>及 MAPK 通路<sup>[20]</sup>的影响,而牙周炎分泌的炎症因子(如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ )可能会通过以上两种通路上调 MMP1 基因的表达。此外,牙周炎环境下,由宿主自身的免疫细胞或组织细胞分泌产生的内源性的转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$  可激活 TGF- $\beta$  受体,导致 Smad2/Smad3 磷酸化,Smad 与 MMP1 AP1 位点相互作用,并介导 TGF- $\beta$  对诱导的 MMP1 基因表达的抑制<sup>[21]</sup>。同样,由宿主免疫细胞分泌的内源性干扰素(interferon, IFN)- $\gamma$  可通过诱导 ATF-3 和抑制含 Fra-1 的 AP-1 复合物与 DNA 结合从而抑制 MMP1 基因的表达<sup>[22]</sup>。而 p53 蛋白则通过与 MMP1 启动子结合,竞争性抑制 AP-1(c-Jun/c-Fos),从而减少 MMP1 基因的表达<sup>[23]</sup>。综上所述,牙周炎环境下 MMP1 基因的表达是受多种因素(遗传因素、牙周炎特定的炎症环境、宿主的免疫炎症反应)所调控的,MR 分析并不能规避所有混杂因素的影响,这可能也是 OR 值与既往研究相互矛盾的原因所在。

在数据集 eqtl-a-ENSG00000196611 中逆方差

加权结果提示 MMP1 基因与牙周炎存在因果关系,但 OR 值略低于 1,且散点图总体提示存在轻微负向因果效应,可能因效应量较小(纳入的 SNP 仅有 29 个)导致 OR 值略低于 1。MR-Egger 回归效应方向与逆方差加权方向相反,这可能与 95%CI 较宽有关。加权中位数和加权模式的效应方向进一步支持逆方差加权的方向性,但其真实效应可能被稀释。简单模式与逆方差加权方向一致,但效力较低可能限制了其解释力。

在数据集 prot-a-1920 中逆方差加权结果提示 MMP8 基因与牙周炎不存在因果关系,OR 值略低于 1,提示因果效应可能较弱,未达到统计学显著,因此与既往发现的正相关趋势不完全一致。加权中位数和加权模式的效应方向与逆方差加权方向一致,但效应量略大于逆方差加权,这可能是因为加权中位数对异质性更稳健(允许部分工具变量无效),而逆方差加权是基于假设所有工具变量均有效,若存在微弱异质性,可导致逆方差加权估计偏保守。

在数据集 eqtl-a-ENSG00000118113 中逆方差加权结果提示 MMP8 基因与牙周炎不存在因果关系,OR 值略低于 1,但散点图和其余 MR 分析方法均显示正向效应方向,提示总体因果效应较弱且不稳定。MR-Egger 回归效应方向与逆方差加权方向相反,这可能是因为部分工具变量通过非暴露途径正向影响结局(如遗传变异同时关联其他风险因素)。加权中位数和加权模式的效应方向与逆方差加权方向相反,但均未达显著性,这可能是因为部分工具变量的非平行多效性或“暴露 $\rightarrow$ 结局”的非线性关系导致效应估计的分歧。以上两个数据集均不支持 MMP8 基因与牙周炎存在因果关系,这与既往研究存在差异。Nagarajan 等<sup>[24]</sup>发现在美国牙周炎进展期的患者中,IL-1 $\beta$  和 MMP8 的水平含量显著高于牙周炎稳定期的患者。另一些既往研究也证实了 MMP8 水平含量与牙周状态、严重程度和进展成正相关<sup>[25]</sup>,且 MMP8 可以作为诊断牙周炎的生物标志物<sup>[26]</sup>。MR 分析与既往研究存在差异,这可能是因为:① MMP8 在牙周炎中可能只是一个炎症标志物,其水平升高是由于牙周炎的炎症激活了 MMP8 的表达,而非其直接参与了牙周炎的病因学机制。MR 分析结果提示 MMP8 水平的遗传性差异对牙周炎没有因果作用,但并不否定 MMP8 作为炎症标志物的意义;② MMP8 可能在某些环境因素的参与下才对牙周炎产生效应,而单独的遗传变异可能不足以驱动牙周炎发生,而 MR 分析未能捕捉到 MMP8 基因与环境交互作用的效应,因而得出“无

因果关系”的结论。

在数据集 prot-a-1921 中逆方差加权结果提示 *MMP9* 基因与牙周炎不存在因果关系,但所有方法的效应方向一致。MR-Egger 回归效应量大于逆方差加权,这可能是由于水平多效性的干扰。MR-Egger 截距与 MR-PRESSO 结果均提示存在显著水平多效性,但 leave-one-out 结果未见 IVs 主导结果,因此该研究结果应结合相关实验研究进行进一步分析。MR-Egger 截距显著但方向与逆方差加权一致,提示多效性均匀分布于保护效应方向(如内源性 IL-10、TGF- $\beta$ 、IFN- $\gamma$  等均会抑制 *MMP9* 基因的表达),从而部分抵消真实效应,导致逆方差加权保守估计。而且在该数据集中 *F* 统计量的范围较低,这提示可能会存在某些 SNP 与 *MMP9* 基因表达的关联较弱,从而导致统计效力降低甚至出现偏倚。Klucnavská 等<sup>[27]</sup>证实了慢性牙周炎患者的唾液中 *MMP9* 的水平含量显著高于牙周健康者,且 *MMP9* 的水平含量与牙周炎的严重程度相关。鉴于大量研究表明牙周炎患者唾液中的 *MMP8*、*MMP9* 的表达活性较牙周健康者增加<sup>[12]</sup>,且在牙周非手术治疗后唾液中的 *MMP8*、*MMP9* 水平含量显著下降<sup>[28]</sup>,因此 *MMP8*、*MMP9* 被认为是目前诊断牙周炎的有效指标<sup>[12]</sup>。

在数据集 eqtl-a-ENSG00000100985 中逆方差加权结果提示 *MMP9* 基因与牙周炎存在显著因果关系,暴露每增加 1 个单位,牙周炎风险升高约 12.3%。MR-Egger 回归进一步验证了这种关联。加权中位数和加权模式显示方向一致的弱显著性,进一步支持逆方差加权结果的稳健性。简单模式与逆方差加权方向一致,但效力较低。

本 MR 分析结果提示 *MMP1*、*MMP9* 基因在遗传学层面与慢性牙周炎存在因果关系,而 *MMP8* 基因在遗传学层面与慢性牙周炎不存在因果关系。既往研究更多的是关注 *MMP8*、*MMP9* 的水平含量与牙周炎的相关性,本研究首次发现 *MMP1* 基因是导致慢性牙周炎发生的遗传学因素之一,这为牙周炎的精准治疗提供了一定的理论支撑。但需要明确的是,从遗传学层面来看,*MMP1*、*MMP9* 基因与慢性牙周炎的确存在因果关系,但是慢性牙周炎的发生和发展是由多种因素相互作用而形成的,因此,从病因学角度来看,*MMP1*、*MMP9* 基因只是慢性牙周炎的致病因素之一。未来研究可以从以下几个方面进一步深入:①结合环境与生活方式因素(如吸烟),开展基因-环境相互作用的研究,用以评估遗传因素在不同环境中对慢性牙周炎的修饰效应;②通过

多组学分析(如转录组学、蛋白质组学等)进一步探讨 *MMP1*、*MMP9* 基因与其它相关通路的交互作用及其在牙周炎发生发展过程中所扮演的角色;③进行功能实验等验证,阐明 *MMP1*、*MMP9* 基因在慢性牙周炎中的生物学机制,进一步为牙周炎的精准治疗提供理论支撑。

本研究存在一些局限性:①使用的 GWAS 数据仅来自欧洲血统,因此结果暂时无法外推至欧洲以外的人群,将来需要纳入更多种族、更大样本量的研究,以进一步验证本研究结果;②纳入的研究存在方法学上的差异(如对牙周炎的诊断标准不一致),可能会导致研究结果的偏倚;③所选择的牙周炎 GWAS 数据集的差异可能会影响研究结果的一致性。本研究亦有一些优势:①对每个“暴露→结局”的 MR 分析都使用了两个数据集,以此增加对 MR 分析结果的可信度;②通过严格的工具变量筛选和多种敏感性分析,有效规避了混杂偏倚。

## 参考文献:

- [1] Wan CY, Yin Y, Li X, et al. MMP-9 deficiency accelerates the progress of periodontitis[J]. *Genes Dis*, 2024, 11(5): 101231. doi: 10.1016/j.gendis.2024.101231
- [2] 王亚敏, 张瑞敏. 基质金属蛋白酶作为牙周炎调节因子的研究进展[J]. *口腔医学*, 2019, 39(3): 271-274. WANG Yamin, ZHANG Ruimin. Research progress of matrix metalloproteinases as modulators of periodontitis[J]. *Stomatology*, 2019, 39(3): 271-274.
- [3] Astolfi CM, Shinohara AL, da Silva RA, et al. Genetic polymorphisms in the *MMP-1* and *MMP-3* gene may contribute to chronic periodontitis in a Brazilian population[J]. *J Clin Periodontol*, 2006, 33(10): 699-703.
- [4] Li G, Yue Y, Tian Y, et al. Association of matrix metalloproteinase (*MMP*)-1, 3, 9, interleukin (*IL*)-2, 8 and cyclooxygenase (*COX*)-2 gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population[J]. *Cytokine*, 2012, 60(2): 552-560.
- [5] Saremi L, Esmaceli S, Ghaffari ME, et al. Evaluation of matrix metalloproteinase-1, -2, -3, -7, and -13 gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis and healthy controls[J]. *Clin Oral Investig*, 2023, 27(12): 7417-7423.
- [6] Huang SJ, Li R, Xu S, et al. Assessment of bidirectional relationships between circulating cytokines and periodontitis: Insights from a mendelian randomization analysis[J]. *Front Genet*, 2023, 14: 1124638. doi: 10.3389/fgene.2023.1124638
- [7] Zhao SS, Mackie SL, Zheng J. Why clinicians should

- know about Mendelian randomization[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2021, 60(4): 1577-1579.
- [8] Zhou H, Qi YX, Cao RY, et al. Causal relationship between mitochondrial biological function and periodontitis: evidence from a mendelian randomization study[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25 ( 14 ): 7955. doi: 10.3390/ijms25147955
- [9] Yan Q, Forno E, Herrera-Luis E, et al. A genome-wide association study of asthma hospitalizations in adults[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147(3): 933-940.
- [10] Wang Y, Chu T, Gong Y, et al. Mendelian randomization supports the causal role of fasting glucose on periodontitis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 860274. doi: 10.3389/fendo.2022.860274
- [11] Ma Y, Cai J, Liu LW, et al. Causal relationships exist between polycystic ovary syndrome and adverse pregnancy and perinatal outcomes: a Mendelian randomization study[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2024, 15: 1327849. doi: 10.3389/fendo.2024.1327849
- [12] Luchian I, Goriuc A, Sandu D, et al. The role of matrix metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in periodontal and peri-Implant pathological processes[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 ( 3 ): 1806. doi: 10.3390/ijms23031806
- [13] Bassiouni W, Ali MAM, Schulz R. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease[J]. *Febs J*, 2021, 288(24): 7162-7182.
- [14] Zhao X, Chen J, Sun H, et al. New insights into fibrosis from the ECM degradation perspective: the macrophage-MMP-ECM interaction[J]. *Cell Biosci*, 2022, 12(1): 117. doi: 10.1186/s13578-022-00856-w
- [15] Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9739. doi: 10.3390/ijms21249739
- [16] Atanasova T, Stankova T, Bivolarska A, et al. Matrix metalloproteinases in oral health-special attention on MMP-8[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(6): 1514. doi: 10.3390/biomedicines11061514
- [17] Wang F, Guan M, Wei L, et al. IL-18 promotes the secretion of matrix metalloproteinases in human periodontal ligament fibroblasts by activating NF- $\kappa$ B signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(1): 703-710.
- [18] Nokhbehsaim M, Nogueira AVB, Damanaki A, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-1 by filifactor alocis in human gingival and monocytic cells[J]. *Clin Oral Investig*, 2020, 24(6): 1987-1995.
- [19] Kim JM, Noh EM, You YO, et al. Downregulation of matriptase inhibits porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced matrix metalloproteinase-1 and proinflammatory cytokines by suppressing the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathways in human gingival fibroblasts[J]. *Biomed Res Int*, 2022: 3865844. doi: 10.1155/2022/3865844
- [20] Kim SJ, Lee SH, Quang BD, et al. Avenanthramide-C shows potential to alleviate gingival inflammation and alveolar bone loss in experimental periodontitis[J]. *Mol Cells*, 2023, 46(10): 627-636.
- [21] Hall MC, Young DA, Waters JG, et al. The comparative role of activator protein 1 and Smad factors in the regulation of *Timp-1* and *MMP-1* gene expression by transforming growth factor-beta 1[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(12): 10304-10313.
- [22] Ho HH, Antoniv TT, Ji JD, et al. Lipopolysaccharide-induced expression of matrix metalloproteinases in human monocytes is suppressed by IFN-gamma via superinduction of ATF-3 and suppression of AP-1[J]. *J Immunol*, 2008, 181(7): 5089-5097.
- [23] Sun Y, Sun Y, Wenger L, et al. p53 down-regulates human matrix metalloproteinase-1 (Collagenase-1) gene expression[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(17): 11535-11540.
- [24] Nagarajan R, Miller CS, Dawson D III, et al. Biologic modelling of periodontal disease progression[J]. *J Clin Periodontol*, 2019, 46(2): 160-169.
- [25] Hernández M, Baeza M, Contreras J, et al. MMP-8, TRAP-5, and OPG levels in GCF diagnostic potential to discriminate between healthy patients', mild and severe periodontitis sites[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(11): 1500. doi: 10.3390/biom10111500
- [26] Zhang Y, Kang N, Xue F, et al. Evaluation of salivary biomarkers for the diagnosis of periodontitis[J]. *BMC Oral Health*, 2021, 21(1): 266. doi: 10.1186/s12903-021-01600-5
- [27] Kluknavská J, Rabajdová M, Urban P, et al. Expression of selected inflammatory proteins and metalloproteinases in periodontitis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2022, 26(6): 1825-1831.
- [28] Teles FRF, Chandrasekaran G, Martin L, et al. Salivary and serum inflammatory biomarkers during periodontitis progression and after treatment[J]. 2024, 51(12): 1619-1631.