

慢性牙周炎患者龈沟液中白细胞介素-4的检测和意义

周艳红¹, 武云霞²

(1.山西红十字口腔医院口腔内科 山西 太原 030001;

2.山西医科大学第一附属医院口腔科 山西 太原 030001)

[摘要] 目的 检测慢性牙周炎患者牙周基础治疗前后龈沟液中白细胞介素-4(IL-4)的质量浓度,探讨 IL-4 与牙周炎的关系及其在牙周炎发病机制、病情进展等方面所起的作用。方法 用滤纸条浸润法采集成年健康者和牙周炎患者治疗前后的龈沟液样本,用酶联免疫吸附测定检测样本中 IL-4 的质量浓度。结果 慢性牙周炎患者龈沟液中 IL-4 的质量浓度低于健康对照组($P<0.05$)。经牙周基础治疗 1 个月后,IL-4 的质量浓度无明显变化,治疗前后的差异无统计意义($P>0.05$);IL-4 的质量浓度与探诊深度呈显著负相关,与牙龈指数和附着丧失无明显相关性。结论 IL-4 缺乏可能会导致牙周病的发生,IL-4 可作为早期诊断牙周病和检测易患人群的敏感性指标。

[关键词] 牙周炎; 龈沟液; 白细胞介素-4

[中图分类号] R781.4, Q51 **[文献标识码]** A

Detection and clinical benefits of interleukin-4 in gingival crevicular fluid in the patients with periodontitis ZHOU Yan-hong¹, WU Yun-xia². (1. Dept. of Oral Medicine, Shanxi Red Cross Stomatological Hospital, Taiyuan 030001, China; 2. Dept. of Stomatology, The First Affiliated Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[Abstract] **Objective** To detect the concentration of interleukin-4(IL-4) in gingival crevicular fluid(GCF) in the patients with chronic periodontitis before and after treatment, to research the relationship between IL-4 in GCF and periodontitis and the effect of IL-4 in pathogenesis of periodontitis and its progressiveness. **Methods** The concentration of IL-4 in GCF were detected by way of enzyme-linked immunosorbent assay following careful sampling of GCF with the standardized filter strips in healthy adults as well as periodontitis patients. **Results** The concentration of IL-4 in GCF in the inflammatory group was significant lower than the normal group($P<0.05$). No significant deference of IL-4 concentration and statistical significance were found before and after a month's treatment($P>0.05$). Negative correlation was found between probing depth and the concentration of IL-4 in GCF, while the concentration of IL-4 in GCF was not significantly associated with the clinical parameters gingival index and attachment loss. **Conclusion** Deficiency of IL-4 can result in periodontitis and the examination of IL-4 in GCF might be used as a sensitive diagnosis index of periodontitis at early stage.

[Key words] periodontitis; gingival crevicular fluid; interleukin-4

牙周病是发生于牙周支持组织的慢性间歇性非特异感染性疾病,在世界范围内均有较高的患病率^[1],是造成健康人失牙的最主要因素之一。许多细胞因子参与了牙周病的发生发展过程,其中某些细胞因子可能会成为有价值的诊断指标或判别牙周炎症的指征^[2]。白细胞介素(interleukin, IL)-4具有强大而广泛的生物学活性,对白血病、肿瘤、自身免疫性疾病和感染性疾病有治疗作用,

还具有抗辐射和促进成肌细胞融合、生长的作用^[3]。Giannopoulou等^[4]认为,IL-4与牙周炎的形成有关。本实验对龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF)中IL-4的质量浓度进行检测,分析IL-4的质量浓度与牙周炎各项临床指标间的关系,探讨IL-4在牙周炎发病机制中的作用。

1 材料和方法

1.1 病例选择

选择 2006 年 6 月—2007 年 2 月就诊于山西医科大学第一附属医院口腔科门诊的成人牙周炎

[收稿日期] 2008-02-18; [修回日期] 2008-08-01

[作者简介] 周艳红(1974-),女,山西人,主治医师,硕士

[通讯作者] 周艳红, Tel: 13753159249

患者 50 例和健康成人 20 例为研究对象, 将其分为 3 组。1) 牙周炎组 25 例, 其中男 12 例, 女 13 例; 年龄 28~61 岁, 平均年龄 46.4 岁; 每例选患牙 1 颗(均为磨牙), 要求牙周探诊深度(probing depth, PD) ≥ 3 mm, 牙龈指数(gingival index, GI; Löe 和 Silness 记分法) ≥ 1 , 附着丧失(attachment loss, AL) ≥ 2 mm。2) 牙周炎治疗组 25 例, 均为牙周炎组治疗后 4 周者。3) 健康对照组 20 例, 其中男 10 例, 女 10 例; 年龄 26~60 岁, 平均年龄 38.9 岁; 要求 PD ≤ 2 mm, GI 为 0, AL 为 0, 每例选健康磨牙 1 颗。患者纳入标准: 所有研究对象均全身健康无系统性疾病, 3 个月内未接受牙周治疗并未使用抗生素、止痛药和免疫抑制剂, 妇女未妊娠, 受试者均不吸烟。

1.2 龈沟液的采集和测量

用无菌干棉球擦干待检牙面和牙龈, 隔湿。选取 2 条已经用分析天平称量的 2 mm \times 20 mm Whatman 3M 滤纸条, 将第 1 条滤纸条插入取样牙周袋内, 深度为龈沟内 1 mm 或遇轻微阻力时停止, 留置 60 s; 移走第 1 条滤纸条后 3 min, 将第 2 条滤纸条插入同样位点 60 s。若滤纸条带血则弃之不用。将 2 条定量滤纸条作为一个标本置于同一已称重的 Eppendorf (EP) 管中称重, 算出 GCF 的质量, 在 EP 管中加入 PBS-T 200 μ L, 置于 -70 $^{\circ}$ C 的冰箱内保存。检查并记录该牙的 GI、PD 和 AL 指标。取样和临床测量后, 治疗组患者接受包括全口的龈上超声洁治和龈下刮治等基础治疗, 体积分数 3% 的过氧化氢和生理盐水交替冲洗牙周袋, 并于牙周袋内上碘甘油, 治疗结束后 1 个月再次在相同部位取 GCF 样本并作临床指标测量, 方法同治疗前。检查记录, 洁刮治均由同一名有经验的临床医师完成。

1.3 IL-4 的检测

从 -70 $^{\circ}$ C 的冰箱内取出样本, 室温下解冻, 在 4 $^{\circ}$ C 的离心机内离心 10 min, 1 000 r/min, 取上清液备用。利用 IL-4 检测试剂盒(上海轩昊科技发展有限公司提供), 用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测 GCF 中 IL-4 的质量浓度, 严格按照试剂盒所附说明书进行操作。

1.4 统计学处理

数据统计分析采用 SPSS 11.5 统计软件进行。描述性分析用均数和标准差, 样本呈正态分布, 采用 *t* 检验, IL-4 的表达与临床指标的相关

性用直线相关分析。

2 结果

2.1 各组龈沟液中 IL-4 的质量浓度比较

慢性牙周炎患者 GCF 中 IL-4 的质量浓度显著低于健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), IL-4 的质量浓度在治疗后高于治疗前的牙周炎位点, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 治疗后与健康对照组相比较差异有统计学意义($P < 0.05$, 表 1)。

表 1 各组 GCF 中 IL-4 的质量浓度比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of IL-4 concentration in GCF in different groups($\bar{x} \pm s$)

组别	牙数	IL-4 (ng/L)
牙周炎组	25	117.660 \pm 111.115
健康对照组	20	277.529 \pm 98.563
牙周炎治疗组	25	155.058 \pm 117.873

注: 治疗前与健康对照组 $P = 0.000$, 治疗前与治疗组 $P = 0.109$, 治疗后与健康对照组 $P = 0.001$

2.2 各组牙周临床指标的变化情况

治疗前 GI、PD、AL 明显高于健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后, GI、PD、AL 较治疗前显著下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 表明牙周临床症状明显改善(表 2)。

表 2 正常牙龈和成人牙周炎治疗前后的临床检查记录($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Documentation of the normal gingival and the adult periodontitis before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	牙数	GI	PD (mm)	AL (mm)
健康对照组	20	0.00 \pm 0.000	2.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000
牙周炎组	25	2.13 \pm 0.352	3.30 \pm 0.414	4.17 \pm 1.332
牙周炎治疗组	25	0.87 \pm 0.352	2.88 \pm 0.373	3.83 \pm 1.220

2.3 IL-4 与临床指标的相关性

对牙周炎组 IL-4 的质量浓度与各临床指标的相关分析显示, GCF 中 IL-4 的质量浓度与 PD 呈显著负相关($P < 0.05$), 与 GI 和 AL 无明显相关关系。其相关系数 *r* 和 *P* 值见表 3。

表 3 IL-4 的质量浓度与临床指标的相关性

Tab 3 Correlation of the IL-4 concentration and the clinical indicators

临床指标	IL-4 相关系数	
	<i>r</i>	<i>P</i> 值
GI	-0.182	0.517
PD	-0.637	0.011
AL	0.009	0.974

3 讨论

GCF 是结缔组织内的液体不断通过龈沟内壁上皮和结合上皮进入龈沟内所形成的^[5], 由于其所在位置的重要性和成分的复杂性, 故与口腔内疾病特别是与牙周组织疾病有非常密切的关系, 是细菌和宿主、机体内外环境交汇的一个微观界面环境^[6]。在正常情况下, 细胞因子之间相互制约、相互影响, 以网络形式发挥着生物学效应。当机体受到异常刺激时, 某些细胞因子便会发生变化, 打破细胞因子正常的网络系统, 从而引起全身或局部组织的病理性反应。

人 IL-4 主要由活化 Th₂ 淋巴细胞亚群产生, 是 Th₂ 的特征细胞因子。此外, 各种抗原、抗 CD 单抗、抗 T 细胞受体单抗以及丝裂原植物凝血素(phytohaemagglutinin, PHA)、伴刀豆球蛋白 A (concanavalin A, Con A) 和商陆有丝分裂原(pokeweed mitogen, PWM) 等均可诱导 IL-4 的产生。人 IL-4 由 153 个氨基酸残基组成, 其中 24 个氨基酸为信号肽。其基因位于 5 号染色体, 由 4 个外显子和 3 个内含子组成, 约 10 kb。IL-4 具有广泛的靶细胞, 而且不同的靶细胞依赖 IL-4 受体(IL-4R)表现出不同的生物学反应。IL-4R 广泛分布于内皮细胞、滑膜细胞、造血细胞、肌肉细胞和脑组织中, 一些肿瘤细胞也可表达 IL-4R^[7]。IL-4 具有多种生物学功能, 在调节 T、B 淋巴细胞的分化、活化, 促进以 Th₂ 细胞为特征的免疫应答过程中发挥重要作用, 对由细胞因子网络向 Th₁ 偏移引起的炎症、移植排斥等疾病有抑制作用, 在 Th₁ 和 Th₂ 平衡中扮演重要角色, 许多疾病的发生都与 Th₁ 和 Th₂ 的失衡相关。

Seymour 学说认为, 牙周炎组织中 IL-4 的质量浓度增高。Birkedal-Hansen^[2]发现, 在处于活跃期的牙周炎症区的 GCF 中, IgG₄(IL-4 依赖型) 的质量浓度是血清中 IgG₄ 的 24 倍, 且明显高于健康牙周组织的 GCF 中 IgG₄ 的质量浓度, 从而间接证明牙周炎症区存在大量的 IL-4。其后, McFarlane 等^[8]在牙周炎患者的血清中检测到较高质量浓度的 IL-4。Yamamoto 学说则认为, 牙周炎组织中 IL-4 缺乏。Kabashima 等^[9]运用免疫组化法在严重牙周炎位点的 GCF 中未检测到 IL-4, 在牙周炎治疗后的相同位点的 GCF 中可检测到 IL-4。Ebersole 等^[10]在牙周炎患者的 GCF 中未检测到 IL-4。

在牙周组织破坏中, 研究细胞因子的特点相当有价值, 细菌或细菌产物侵入到组织中导致单核细胞和 T 淋巴细胞轴激活, 反过来致单核细胞释放肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、IL-1 β 和 IL-6 增多, 这些因子和牙周组织的破坏密切相关。IL-4 能抑制包括 IL-1、TNF- α 、IL-6 和 IL-8 在内的促炎因子的合成, 同细胞因子网络其他成员相比较, IL-4 显示出调节牙周组织细胞炎症反应的作用。患者牙周组织局部缺乏 IL-4, 牙龈炎容易发展为牙周炎^[4]。

上述研究表明, 在慢性牙周炎患者的 GCF 中可检测到 IL-4, 但其质量浓度显著低于健康对照组, 印证了 Yamamoto 学说。经有效的牙周基础治疗后, 牙周炎临床症状明显改善, IL-4 的质量浓度有所升高, 但与治疗前相比较, 差异无统计学意义, 与健康对照组相比差异有统计学意义, 即 IL-4 质量浓度的变化与牙龈炎症的控制无关。Pontes 等^[11]发现, IL-4 缺乏可能使个体对牙周病产生易感性。对牙周炎各临床指标的相关性研究表明, IL-4 的质量浓度与 PD 呈显著负相关, 与 GI 和 AL 无明显相关关系。随着 PD 的增加, 革兰阴性厌氧菌的数量及其内毒素也相应增加, 产生更多的 TNF- α , 导致牙周组织破坏加重。IL-4 质量浓度下降, 牙周袋进一步加深, 提示 IL-4 是参与牙槽骨吸收破坏的重要细胞因子。

细胞因子类药物通常在免疫性疾病和疑难杂症的治疗中有其优势。在自身免疫性疾病中直接应用 IL-4 或用其他药物或方法刺激体内 IL-4 水平的升高, 对缓解疾病有一定作用^[3]。程培红等^[12]发现在牙周炎时, 许多细胞因子的异常表达主要发生于牙龈组织局部, 即牙周炎炎症牙龈组织局部细胞因子网络失调是牙周炎进展的主要原因, 而调整局部细胞因子的失衡可望收到较好的治疗效果。IL-4 作为 Th₂ 产生的细胞因子在免疫调节网络中举足轻重, 但 IL-4 的结构稳定性、活性保持以及生物作用多效性、复杂性、时相性和双向性等问题使其用于治疗还有相当的难度。因此, 对其结构的生物和化学修饰改造以及结合更有效的治疗方法以提高其作用效力显得尤为重要, 并可为人重组 IL-4 或抗 IL-4 抗体应用于临床治疗牙周炎提供可行性指导。

综上所述, IL-4 在牙周炎的发病过程中可能起重要作用, 是牙周炎症形成的重要原因之一。GCF 中 IL-4 的检测可作为早期诊断牙周病和检

测其易患人群的敏感性指标，局部应用外源性 IL-4 补充内源性 IL-4 的不足，有望成为治疗牙周炎的有效手段。

4 参考文献

[1] 薛晨屹, 邓汉龙. 龈沟液中酶的检测及其与牙周病的关系[J]. 口腔材料器械杂志, 2004, 13(2): 99-101.

[2] Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction[J]. J Periodontal Res, 1993, 28(6 Pt 2): 500-510.

[3] 胡洪慧, 王凤山, 凌沛学. 白细胞介素-4的研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(10): 721-724.

[4] Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level[J]. J Clin Periodontol, 2003, 30(2): 145-153.

[5] 张 初. 龈沟液与口腔疾病的关系[J]. 医学文选, 1999, 18(4): 640-641.

[6] Cimasoni G. Crevicular fluid updated[J]. Monogr Oral Sci, 1983, 12: - .

[7] Eisenmesser EZ, Horita DA, Altieri AS, et al. Solution

structure of interleukin-13 and insights into receptor engagement[J]. J Mol Biol, 2001, 310(1): 231-241.

[8] McFarlane CG, Meikle MC. Interleukin-2, interleukin-2 receptor and interleukin-4 levels are elevated in the sera of patients with periodontal disease[J]. J Periodontal Res, 1991, 26(5): 402-408.

[9] Kabashima H, Nagata K, Hashiguchi I, et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-4 in gingival crevicular fluid of patients with inflammatory periodontal disease[J]. J Oral Pathol Med, 1996, 25(8): 449-455.

[10] Ebersole JL, Singer RE, Steffensen B, et al. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites[J]. J Periodontal Res, 1993, 28(6 Pt 2): 543-546.

[11] Pontes CC, Gonzales JR, Novaes AB Jr, et al. Interleukin-4 gene polymorphism and its relation to periodontal disease in a Brazilian population of African heritage[J]. J Dent, 2004, 32(3): 241-246.

[12] 程培红, 戚向敏, 孙善珍, 等. IL-10 mRNA及其蛋白在慢性牙周炎牙龈组织中的表达[J]. 上海口腔医学, 2005, 14(3): 284-288.

(本文编辑 刘世平)

文 摘

24. “阅读者”皮瓣：一种修补圆形皮肤缺损的新术式 [英] Mutaf M. // Ann Plast Surg. - 2008, 60(4). - 420-425.

大部分的皮肤病灶以圆形的形式出现，手术切除这些病变后所产生的缺损也往往为圆形。传统的局部皮瓣修复有待改进，整形医学的发展急需新的圆形缺陷皮瓣修复技术。本研究为封闭圆形皮肤缺损设计了一个新的手术术式，即通过 Z 成形术减张额外皮肤来关闭圆形缺损。该皮瓣被命名为“阅读者”皮瓣，因其外形似一名男子正举着一本书在阅读。

材料和方法 运用 Z 成形术设计 2 个皮瓣：首先在圆形缺损区松弛皮肤张力线的垂直方向做一切口，该切口即是圆形缺损的假想切线，其长度为圆形缺损直径的 1.5 倍；在切口线的游离端做一靠近缺损假想线，与切口线成 60°；在切口线圆形缺损端做一远离缺损假想线，与切口线成 45°。通过这样的设计，即可获得 2 块皮瓣。然后

根据缺损区的解剖结构翻瓣，以获得纯皮皮瓣或者筋膜皮瓣。一块皮瓣 f₁ 用于修补圆形缺损区，另一块皮瓣 f₂ 用于覆盖 f₁ 皮瓣的供瓣区。3 年来，该项技术已修补了 19 男、8 女共 27 例圆形皮肤缺损，患者年龄从 2 个月到 68 岁，圆形缺损直径大小介于 1.5~14 cm 之间。

结果和讨论 该术式所修补患者的皮肤圆形缺损，均为无张力缺损封闭。所有皮瓣愈合良好，无“狗耳朵”畸形和其他并发症发生。患者预后良好，平均 15 个月后形成可为社会审美所接受的瘢痕。该研究提示，“阅读者”皮瓣是一项可用于修补各种圆形皮肤缺损的简便实用的新技术，整形外科医生可以最小瘢痕和最小额外的健康皮肤切除为代价，获得较大圆形皮肤缺损区的无张力缝合。

[谢贇旭摘 李龙江校]

(本文编辑 刘世平)