

### 慢性牙周炎患者治疗前后患牙龈沟液中 T 细胞亚群表达水平的研究

符起亚<sup>1</sup>, 张黎<sup>1</sup>, 段莉<sup>1</sup>, 郑旭<sup>1</sup>, 钱士匀<sup>1</sup>, 吴玲<sup>2</sup>, 巫翠萍<sup>1</sup>, 庞红霞<sup>1</sup>

(1.海南医学院附属医院口腔科, 海南 海口 570102;

2.海南医学院, 海南 海口 570100)

**【摘要】** 目的 探讨慢性牙周炎患者治疗前后龈沟液(GCF)中 T 细胞亚群中 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>8</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 的改变及其临床意义。方法 选取我院进行治疗的 48 例慢性牙周炎患者为治疗组, 全部常规治疗, 正常健康对照组 32 例, 检测治疗组治疗前、治疗后 6、12、24 周的临床指数, 采用流式细胞术检测治疗组治疗前后及正常对照组 GCF 中 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 的所占比例及计算 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 的值, 并分析二者的相关性。结果 慢性牙周炎通过常规治疗后, 牙周临床指标包括 PD、CAL、PI 和 PLI 均有明显改善 (P<0.01 或 P<0.05); 治疗组 GCF 中 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 在治疗前和治疗后的 6 周、12 周与对照组的相应时间点比较, 差异有统计学意义 (P<0.01); 治疗前水平与治疗后 6 周、12 周和 24 周比较, 差异有统计学意义 (P<0.01); 治疗前后 PD、PI 和 PLI 与 GCF 中 T 细胞亚群的水平有明显相关性 (P<0.01 或 P<0.05)。结论 T 淋巴细胞亚群的变化与慢性牙周炎的炎症状态密切相关, 可作为一项评估预后的指标。

**【关键词】** 慢性牙周炎; 龈沟液(GCF); T 细胞亚群; 免疫功能

**【中图分类号】** R781.4<sup>2</sup> **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2014)21-3138-03

#### Levels of T Cell subsets in gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after treatment.

FU Qi-ya<sup>1</sup>, ZHANG Li<sup>1</sup>, DUAN Li<sup>1</sup>, ZHENG Xu<sup>1</sup>, QIAN Shi-yun<sup>1</sup>, WU Ling<sup>2</sup>, WU Cui-ping<sup>1</sup>, PANG Hong-xia<sup>1</sup>.

1. Department of Stomatology, the Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan, CHINA;

2. Hainan Medical University, Haikou 570100, Hainan, CHINA

**【Abstract】 Objective** To investigate the changes in levels of T cell subsets CD<sub>3</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> and CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> in gingival crevicular fluid (GCF) in chronic periodontitis patients before and after treatment and their clinical significance. **Methods** The treatment group included 48 patients with chronic periodontitis who were given conventional periodontal treatment, while the control group enrolled 32 periodontally healthy individuals. Clinical parameters were collected at baseline and 6, 12 and 24 weeks after treatment, along with GCF CD<sub>3</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> levels and CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> ratios, which was measured using flow cytometry. The correlation between clinical parameters and T cell subset levels was analyzed. **Results** Significant improvement of clinical parameters in chronic periodontitis patients was observed following conventional treatment (P<0.01 or P<0.05). There were statistical differences between the treatment and

基金项目:海南省自然科学基金资助项目(编号:309067)

通讯作者:符起亚。E-mail:fuqiyak@qq.com

\*\*\*\*\*

#### 参考文献

[1] Walter T. Chronic obstructive pulmonary disease and obstructive sleep apnea: overlaps in pathophysiology, systemic inflammation, and cardiovascular disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(8): 692-700.

[2] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2007年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(1): 8-17.

[3] 中华医学会呼吸病学睡眠呼吸疾病学组. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(2011年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 35(1): 9-12.

[4] Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, et al. A new natriuretic peptide in porcine brain [J]. Nature, 1988, 332: 78-81.

[5] Baerts L, Gomez N, Vanderheyden M, et al. Possible mechanisms for brain natriuretic peptide resistance in heart failure with a focus on interspecies differences and canine BNP biology [J]. Vet J, 2010, 194(1): 34-39.

[6] 饶玲璋, 袁有园, 罗锦兰. N 端前脑钠肽在慢性心力衰竭评估中的意义[J]. 广东医学, 2012, 33(16): 2464-2465.

[7] 冉丕鑫, 王晨, 姚婉贞, 等. 体重指数与慢性阻塞性肺疾病及生活质量的关系[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(1): 18-22.

[8] Kapur VK. Obstructive sleep apnea: diagnosis, epidemiology and economics [J]. Respir Care, 2010, 55(9): 1155-1167.

[9] Flenley DC. Sleep in chronic obstructive lung disease [J]. Clin Chest Med, 1985, 6: 651-661.

[10] Weitzenblum E, Chaouat A, Kessler R, et al. Overlap syndrome obstructive sleep apnea in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Proc Am Thorac Soc, 2008, 5: 237-241.

[11] Chaouat A, Weitzenblum E, Krieger J, et al. Association of chronic obstructive pulmonary disease and sleep apnea syndrome [J]. Am Rev Respir Dis, 1995, 151: 82-86.

[12] 牛占丛, 平芬. 重叠综合征与肺动脉高压[J]. 中国老年医学, 2007, 27(11): 2156-2158.

(收稿日期:2014-03-11)

control groups in  $CD_3^+$ ,  $CD_4^+$ ,  $CD_8^+$  and  $CD_4^+/CD_8^+$  levels at baseline, and 6 and 12 weeks after treatment ( $P<0.01$ ). There were statistical differences between baseline levels and levels at 6, 12 and 24 weeks after treatment ( $P<0.01$ ). The correlation between clinical parameters, including PD, PI and PLI, and GCF T cell subset levels before and after treatment, was statistically significant ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **Conclusion** GCF T cell subset levels are closely associated with the clinical inflammatory status of chronic periodontitis and may be used as markers for evaluation of prognosis.

**【Key words】** Chronic periodontitis; Gingival crevicular fluid; T cell subsets; Immune function

慢性牙周炎是影响牙周支持组织的慢性炎症,主要表现为牙槽骨和牙周附着的逐步丧失。如果不能得到及时有效的治疗,牙齿会逐步松动,直至脱落。特定的微生物感染以及与之相关的炎症免疫反应被认为是牙周破坏的主要原因<sup>[1]</sup>。临床常用的牙周诊断方法有探诊和放射影像,分别显示附着丧失和牙槽骨吸收的程度,但通常只反映以往牙周破坏的累积结果。

准确评估牙周组织炎症的活动性极具挑战性。近年来,龈沟液(GCF)成分的分析及其与炎症程度的关联显示了良好的前景。龈沟液是源于牙周结缔组织的炎性渗出液,在局部组织受到炎症刺激时进入龈沟或牙周袋,其成分在很大程度上代表了菌斑微生物和炎症免疫细胞相互作用的结果<sup>[2]</sup>。本研究通过观察治疗前后慢性牙周炎患者及正常健康人GCF中T细胞亚群的水平来探讨将其作为一项判断牙周炎症程度及进展指标的潜力。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2009年1月至2011年12月期间来我院口腔科就诊的48例慢性牙周病患者为研究对象,其中男性26例,女性22例。患者年龄22~67岁,平均(30.25±6.51)岁。所有患者均符合以下标准并签署知情同意书。(1)无重大全身疾患,如糖尿病、高血压、恶性肿瘤及免疫系统疾病,女性患者不处于妊娠或哺乳期;(2)过去3个月无服药史,包括各类抗生素、糖皮质激素及免疫抑制剂;(3)过去一年未接受牙周治疗;(4)口腔内的余留牙不少于20颗;(5)部分牙为中、重度牙周炎,多个位点的探诊深度(PD)≥5 mm,牙槽骨吸收程度由X线片显示;(6)患者的心电图、心肺功能及肝肾功能检查结果均正常。正常对照组32例,其中男性17例,女性15例,年龄20~69岁,平均(32.13±7.19)岁,从体检者中募集。两组的年龄和性别构成差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 治疗方法** 治疗组患者在研究开始后常规口服利君沙、灭滴灵或牙周宁一周,并根据病情需要分别接受龈上洁治、龈下刮治及根面平整,调整咬合,牙周袋内放置甲硝唑药条等局部治疗。对照组不接受以上治疗。

**1.3 临床指标** 从每个受试者口腔中随机选取探诊深度(PD)≥5 mm、牙龈指数(GI)为2或3的4个

牙位,共计192个牙位。记录对照组(A0)、治疗组治疗前(A1)、治疗后6周(A2)、12周(A3)和24周(A4)的临床指标,即牙周探诊深度(PD)、临床附着丧失(CAL)、牙龈指数(GI)和菌斑指数(PLI),检查和记录由长期从事牙周诊疗工作的医师完成。

**1.4 龈沟液的采集** 在采集龈沟液前,用探针去除采集部位的龈上菌斑,用棉球隔湿后轻轻擦干待测牙面,将标准滤纸条(Periopaper)插入牙周袋,直到有轻微阻力为止,30 s后取出。如滤纸条有血液污染则将其遗弃,择另一时间取样。将取出后的滤纸条立即用分析天平称重,按比重为1换算龈沟液体积,随即将滤纸条置入含有250 ml磷酸缓冲液的微量离心管,然后在-70℃低温冰箱中保存待测<sup>[3]</sup>。

**1.5 龈沟液标本检测** 龈沟液标本中 $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$ 的水平以及 $CD_4^+/CD_8^+$ 的比例采用流式细胞技术(双色直标免疫荧光)进行测定。检测试剂盒由武汉博士生物有限公司公司提供,检测方法严格按照厂家提供的说明书进行操作。

**1.6 统计学方法** 采用SPSS15.0统计软件进行数据分析,计量数据以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,治疗前后各项牙周指标的的比较分别采用 $t$ 检验,牙周T细胞亚群变化的比较采用 $\chi^2$ 检验,变量间的相关性采用Spearman等级相关分析。显著性检验水平分别设为0.05和0.01。

## 2 结果

**2.1 治疗前后各项牙周指标的变化** 经过常规治疗后,治疗组患者炎症牙位的各项临床指标均得到明显改善,治疗后6周PD、CAL、GI、PLI与治疗前比较,差异均有统计学意义( $P<0.01$ ),GI、PLI在12周时仍处于较低水平,与治疗前比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),24周后略有回升;而治疗后12周、24周PD、CAL与治疗前比较,差异均无统计学意义,见表1。

表1 患者治疗前后各项牙周指标的比较( $\bar{x}\pm s$ )

临床指标	A1	A2	A3	A4
PD (mm)	2.31±0.64	0.65±0.41 <sup>a</sup>	0.16±0.27	0.83±0.42
CAL	2.26±0.87	0.61±0.49 <sup>a</sup>	0.29±0.18	0.57±0.43
GI	6.14±2.11	3.68±0.36 <sup>a</sup>	2.96±0.29 <sup>b</sup>	3.52±0.43
PLI	15.08±1.83	5.64±1.06 <sup>a</sup>	4.95±0.89 <sup>b</sup>	5.26±1.01

注:与治疗前比较:<sup>a</sup>  $P<0.01$ ,<sup>b</sup>  $P<0.05$ 。

2.2 GCF 中 T 细胞亚群的变化 治疗组 T 细胞亚群中 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>8</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 在治疗前、治疗后的 6 周、12 周与对应的正常对照组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 治疗后的 24 周与对应的正常对照组的比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 治疗后的 6 周、12 周、24 周分别与治疗前的水平比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 患者治疗前后与正常对照组牙周 T 细胞亚群变化的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> (%)	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>
A0	32	64.3±8.3	34.1±5.2	20.7±2.9	1.84±0.6
A1	48	84.2±19.4 <sup>a</sup>	67.8±8.6 <sup>a</sup>	7.6±0.57 <sup>a</sup>	8.63±1.5 <sup>a</sup>
A2	48	75.8±13.5 <sup>ad</sup>	51.2±5.4 <sup>ad</sup>	11.4±0.85 <sup>ad</sup>	4.58±1.3 <sup>ad</sup>
A3	48	69.7±11.2 <sup>bd</sup>	43.3±4.9 <sup>bd</sup>	16.8±1.1 <sup>bd</sup>	3.21±0.92 <sup>bd</sup>
A4	48	66.2±9.7 <sup>cd</sup>	35.8±4.4 <sup>cd</sup>	18.7±1.9 <sup>cd</sup>	2.14±0.7 <sup>cd</sup>

注: 与 A0 比较: <sup>a</sup>  $P < 0.01$ , 均 <sup>b</sup>  $P < 0.05$ , 均 <sup>c</sup>  $P > 0.05$ ; A2、A3、A4 与 A1 比较, 均 <sup>d</sup>  $P < 0.01$ 。

2.3 相关性分析 经 Spearman 等级相关分析显示, GCF 中 T 细胞亚群水平在治疗前后不同时间点的变化与 PD、GI 和 PLI 分别有明显相关性, 与 CAL 无相关性, 见表 3。

表 3 GCF 中 T 细胞亚群水平与牙周临床指标的相关性

临床指标	CD <sub>3</sub> <sup>+</sup>	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup>	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>
PD	0.535 <sup>a</sup>	0.627 <sup>a</sup>	0.482 <sup>b</sup>	0.576 <sup>a</sup>
CAL	0.303	0.259	0.271	0.312
GI	0.497 <sup>b</sup>	0.546 <sup>a</sup>	0.528 <sup>a</sup>	0.474 <sup>b</sup>
PLI	0.489 <sup>b</sup>	0.513 <sup>b</sup>	0.475 <sup>b</sup>	0.496 <sup>b</sup>

注: 表中值为相关系数。 <sup>a</sup>  $P < 0.01$ , <sup>b</sup>  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

目前认为牙周炎是由微生物引起的慢性感染性疾病, 主要致病菌有牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*, Pg)、伴放线放线杆菌 (*Actinobacillus actinomycescomitans*, Aa) 和福赛斯坦纳菌 (*Tannerella forsythia*, Tf) 等<sup>[4]</sup>, 确切的发病机制仍未明了。由于牙周袋内存在大量毒力较强的细菌, 牙周炎可作为病灶造成远隔器官的病变。近年来研究表明, 牙周炎患者发生冠心病的危险性较非牙周炎患者增加<sup>[5]</sup>。因此, 建立反映慢性牙周炎症的活动状态和疾病进展的指标以及制定有针对性的治疗措施不仅有助于维护牙周健康, 而且可以防止对全身健康造成不良影响。

病原体是否致病与机体的免疫状态密切相关。CD<sub>3</sub><sup>+</sup> 是成熟 T 细胞的重要标志, 通常代表总 T 细胞; CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 代表 Th/Ti, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 代表 Ts/Tc, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 的比例关系则是机体免疫调控网络的重要枢纽<sup>[6]</sup>。在生理状态下, CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 相互协调、相互制约, 处于动态平衡。在牙周炎时, 患者外周血 CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 升高, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值上升。一旦被激活, CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 可通过不同的分化途径而发挥特定的生物学功能。一般来说, CD<sub>4</sub><sup>+</sup> T 细胞可根据其产生的不同细胞因子以及其相应的生物学特性分为 Th1 和 Th2 细胞亚群, 而每一 T 细胞亚群变化能反映机体的特定的免疫功能和状态。

本研究的结果显示, 慢性牙周炎通过常规治疗后, 各项牙周指标均有明显改善 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 与王利军<sup>[1]</sup>、龚斌等<sup>[2]</sup>的观察一致。治疗组 GCF 中 T 细胞亚群分别与正常对照组的比较, 均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 而治疗后 24 周的指标与正常对照组指标比较, 则不再具有统计学意义 ( $P > 0.05$ )。此外, 治疗前与治疗后 T 细胞亚群水平的差异也具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。同时, T 细胞亚群水平与临床炎症指标, 如 PD 和 PI, 以及致病因素指标, 如 PLI, 都显示出了良好的相关性。CAL 是牙周组织破坏后的状态, 其变化比较缓慢, 不能有效地反映现有的炎症活动性。由此可见, GCF 中 T 细胞亚群水平有可能作为反映慢性牙周组织炎症状态及预后的一项指标。

### 参考文献

- [1] 王利军. 微波对慢性牙周炎患者龈沟液中多项因子水平影响研究 [J]. 河南外科学杂志, 2011, 17(2): 7-9.
- [2] 龚斌, 徐静, 舒威, 等. 正常人、牙龈炎和牙周炎患者龈沟液内一氧化氮含量的检测 [J]. 口腔医学研究, 2011, 27(5): 431-433.
- [3] 于新波, 钟德钰, 许晓燕, 等. 慢性牙周炎患者牙周治疗前后龈沟液中白介素-10 水平的变化 [J]. 口腔医学, 2006, 26(5): 373-375.
- [4] Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide [J]. J Clin Periodontol, 2008, 35(8Suppl): 346-361.
- [5] Humphrey LL, Fu R, Buckley DI, et al. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis [J]. J Gen Intern Med, 2008, 23(12): 2079-2086.
- [6] 崔玉宝, 李朝品, 王健. 粉尘螨浸液免疫治疗螨性哮喘患者的免疫功能观察 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2003, 16(5): 305-307.

(收稿日期: 2014-04-21)