

[文章编号] 1000-1182(2010)04-0417-03

## 成人牙周炎不同临床状态牙龈组织中 白细胞介素-10 mRNA的表达

程培红<sup>1</sup> 戚向敏<sup>2</sup> 杨丕山<sup>2</sup> 孙善珍<sup>2</sup> 刘琳<sup>3</sup>

(1.山东大学齐鲁医院 口腔科; 2.山东大学口腔医学院 山东省口腔生物医学重点实验室, 山东 济南 250012;  
3.济南市第五人民医院 口腔科, 山东 济南 250022)

**[摘要]** 目的 探讨白细胞介素-10(IL-10) mRNA在活动期和稳定期牙周炎牙龈组织中的表达状况。方法 选择急性牙周脓肿患者12例、牙周炎基础治疗后稳定期患者12例及阻生第三磨牙拔除患者6例为研究对象, 分别设为试验A组(活动期组)、试验B组(稳定期组)和对照组, 采集牙龈组织样本, 采用原位杂交技术检测3组样本中IL-10 mRNA的表达, 并进行半定量分析。结果 IL-10 mRNA表达阳性的细胞类型主要有淋巴细胞、巨噬细胞及牙龈成纤维细胞。试验A组IL-10 mRNA的表达量最低, 明显低于对照组和试验B组( $P<0.01$ ); 试验B组IL-10 mRNA的表达量最高, 高于对照组和试验A组( $P<0.01$ )。结论 IL-10 mRNA表达量与牙周炎的临床状态密切相关。

**[关键词]** 白细胞介素-10; 成人牙周炎; 活动期; 稳定期; 原位杂交

**[中图分类号]** R 781.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1000-1182.2010.04.019

**The expression of interleukin-10 mRNA in gingival lesion of different clinical states in patients with adult periodontitis** CHENG Pei-hong<sup>1</sup>, QI Xiang-min<sup>2</sup>, YANG Pi-shan<sup>2</sup>, SUN Shan-zhen<sup>2</sup>, LIU Lin<sup>3</sup>. (1. Dept. of Stomatology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China; 2. Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Biomedicine, School of Stomatology, Shandong University, Jinan 250012, China; 3. Dept. of Stomatology, The Fifth People's Hospital in Jinan, Jinan 250022, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of interleukin-10(IL-10) mRNA in gingival tissue of active and stable stage in patients with adult periodontitis. **Methods** 12 patients with acute abscesses of the periodontium, 12 patients after periodontal initial treatment and 6 periodontal healthy patients having extraction of impacted wisdom tooth were randomly divided into group A(active stage group), group B(stable stage group) and the control group. Biopsies of gingival tissues were collected from every subject of three groups. Technique of in situ hybridization was applied to observe the expression of IL-10 mRNA in the biopsies from three groups semi-quantitatively. **Results** IL-10 mRNA was positively expressed in lymphocytes, macrophages and fibroblasts. The quantity of IL-10 mRNA of group A was the lowest in the three groups and was significantly lower than that of control group and group B respectively( $P<0.01$ ). The quantity of IL-10 mRNA of group B was the highest in the three groups and was significantly higher compared with the control group and group A( $P<0.01$ ). **Conclusion** The quantities of IL-10 mRNA expression are closely related with various clinical states of periodontitis.

**[Key words]** interleukin-10; adult periodontitis; active stage; stable stage; in situ hybridization

白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)是目前发现的人体内最重要的抗炎细胞因子, 对炎症反应的调控发挥着重要作用。研究<sup>[1-2]</sup>表明, 慢性牙周炎患者的龈沟液及牙龈组织中IL-10表达异常。但是, 不同研究的研究方法、标本来源及牙龈标本炎症状态等均有不同, 加之细胞因子网络的复杂性, 其结

果存在差异<sup>[1-3]</sup>。本研究选择牙周炎急性牙周脓肿切龈术和牙周基础治疗后牙龈翻瓣术中切除的牙龈组织作为标本, 采用原位杂交法检测IL-10 mRNA的表达情况, 以探讨其与牙周炎症状的关系。

### 1 材料和方法

#### 1.1 研究对象的选择

于山东大学齐鲁医院口腔科及山东大学口腔医院口腔内科的就诊患者中选择24例成人牙周炎患者

[收稿日期] 2009-12-31; [修回日期] 2010-04-23

[作者简介] 程培红(1968—), 女, 山东人, 主治医师, 硕士

[通讯作者] 戚向敏, Tel: 0531-88382940

为试验组,另外选择牙周健康但需拔除阻生第三磨牙的6例患者为对照组。试验组患者男13例,女11例,年龄25~60岁,平均44.5岁;至少有4颗牙符合中重度牙周炎诊断标准,即探诊深度大于5 mm且附着丧失不低于3 mm,无龋病及非龋性牙体疾病。试验组又分为2组:12例至少有1颗牙齿诊断为急性牙周脓肿的患者,设为试验A组;其余12例为经过牙周基础治疗,治疗后连续监测2个月其探诊出血均为阴性的患者,设为试验B组。对照组患者男3例,女3例,年龄20~35岁,平均25.3岁;其阻生第三磨牙近期末出现牙周炎症,临床检查牙龈无充血红肿和探诊出血。3组患者均无系统性疾病,就诊前3个月未服用过抗生素、非甾体抗炎药及免疫抑制剂,试验A组和对照组半年内未进行过任何牙周治疗,试验B组仅行本试验涉及的牙周治疗。

本研究的目的及标本采集均在患者知情同意的情况下进行。

## 1.2 牙龈标本的制备

试验A组:局部麻醉下行牙周脓肿急性期切龈术,术中留取牙龈标本。试验B组:选择探诊深度超过5 mm的位点行牙龈翻瓣术,术中留取牙龈标本。对照组:阻生第三磨牙拔除术中留取牙龈标本。

将术中切取的牙龈标本修整后于质量分数4%多聚甲醛溶液中固定,2 h内常规脱水、浸蜡、包埋,制成5  $\mu$ m厚的连续切片。

## 1.3 IL-10原位杂交试验

1.3.1 主要试剂及设备 IL-10原位杂交试剂盒(武汉博士德公司);JD801形态学显微图像分析系统(江苏捷达科技发展有限公司)。IL-10探针mRNA序列:5'-AAGGGTTACCTGGGTTGCCAAGCCTTGTC-3';5'-CAGGTGAAGAATGCCTTTAATAAGCTCC-AA-3';5'-TTTGACATCTTCATCAACTACATAGAA GCC-3'。

1.3.2 主要试验步骤 按原位杂交试剂盒说明进行杂交试验。石蜡切片常规脱蜡,并灭活内源性酶,暴露mRNA核酸片段,然后经预杂交和杂交,杂交后洗涤,再依次滴加封闭液、生物素化鼠抗地高辛、生物素化过氧化物酶,最后行DAB显色。以不加探针的预杂交液代替杂交液处理切片作为阴性对照。

1.3.3 结果判断方法 细胞浆有棕黄色着色颗粒为阳性,无棕黄色着色颗粒为阴性。在光学显微镜下观察阳性细胞类型,并以棕黄色的着色深浅表示阳性表达强度。将图像输入分析系统,对切片的阳性表达强度进行半定量分析。每张切片计算5个高倍

视野下总阳性细胞数,取其均数为阳性细胞数;同时自切片染色的中心区域上下左右各选择相同面积有代表性的区域测量平均光密度,取其均数作为整张切片的光密度值。

1.3.4 统计学处理 采用SPSS 12.0统计软件包进行统计分析,IL-10 mRNA阳性细胞数和光密度值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3组间的差异采用方差分析和两两比较。

## 2 结果

IL-10 mRNA表达阳性细胞主要有淋巴细胞、巨噬细胞及牙龈成纤维细胞。这些细胞弥散分布于牙龈结缔组织固有层内,着色明显,有的细胞在血管周围分布相对集中;上皮层未见明显阳性表达信号。试验A组牙龈组织中可见大量炎性细胞浸润,细胞坏死崩解,可见极少数细胞的细胞浆淡染,阳性表达较弱(图1)。试验B组牙龈组织中IL-10 mRNA主要表达于牙龈结缔组织中的炎性细胞和成纤维细胞,阳性细胞较多,有时成簇分布(图2)。对照组牙龈组织中IL-10 mRNA表达于正常的结缔组织固有层,可见阳性细胞分布于血管周围(图3)。

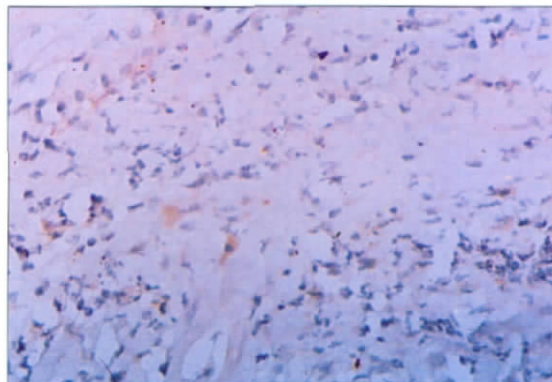


图1 试验A组牙龈组织IL-10 mRNA表达情况 原位杂交  $\times 400$

Fig 1 The expression of IL-10 mRNA in gingival tissue in group A in situ hybridization  $\times 400$

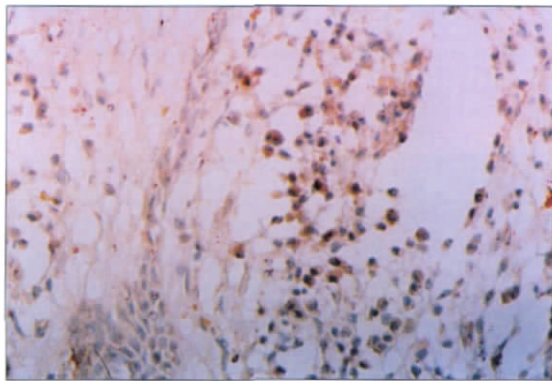


图2 试验B组牙龈组织IL-10 mRNA表达情况 原位杂交  $\times 400$

Fig 2 The expression of IL-10 mRNA in gingival tissue in group B in situ hybridization  $\times 400$

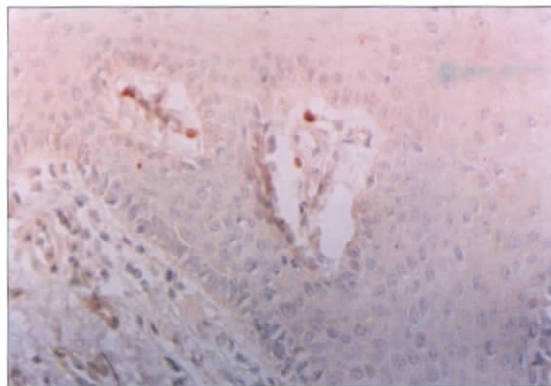


图3 对照组牙龈组织IL-10 mRNA表达情况 原位杂交 ×400

Fig 3 The expression of IL-10 mRNA in gingival tissue in control group in situ hybridization ×400

3组IL-10 mRNA阳性细胞数目及光密度值见表1。经统计学分析,3组间阳性细胞数和光密度值的差异均有统计学意义,进一步行两两比较,每2组之间的差异也有统计学意义( $P<0.01$ );试验A组的阳性细胞数及光密度值最低,试验B组的阳性细胞数及光密度值最高。

表1 IL-10 mRNA阳性细胞数及光密度值( $\bar{x}\pm s$ )

Tab 1 The number of positive cells and the optical density values of IL-10 mRNA( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	阳性细胞数	光密度值
试验A组	12	5.41±2.71	0.23±0.04
试验B组	12	23.58±3.99	0.65±0.10
对照组	6	11.83±3.43	0.36±0.12

### 3 讨论

炎症和免疫反应失调引起的过度的宿主反应是导致牙周炎患者牙周组织破坏的主要原因,细胞因子是决定牙周组织炎症状态的重要因素<sup>[1]</sup>。研究<sup>[1-2]</sup>发现,侵袭性牙周炎牙龈组织中存在IL-10 mRNA的低水平表达。本研究结果表明,急性牙周脓肿牙龈组织中IL-10 mRNA表达水平明显低于正常牙龈组织和处于治疗后稳定期的牙龈组织,提示IL-10 mRNA的表达水平与牙周炎的临床状态密切相关。促炎细胞因子在牙周炎活动位点处的高表达已为许多研究所证实<sup>[4-5]</sup>。笔者推测,炎症活动位点处IL-10表达相对或绝对减少,因此不能有效地拮抗促炎细胞因子。不论是促炎细胞因子的过度释放还是其作用的过度增强,均可引起局部组织的病理改变,这可能是牙周炎活动期局部组织呈持续性破坏的重要原因。Górska等<sup>[5]</sup>证实,牙周炎牙龈组织中IL-1 $\beta$ 与IL-

10的比值增加与牙周炎严重程度密切相关,Gamonal等<sup>[3]</sup>的研究则发现,在牙周炎活动位点处IL-10升高,牙周治疗后其表达量降低。该结果与本研究的结果有差异,可能与2个试验中的牙龈炎症状态不同有关。

有研究<sup>[2,5]</sup>证实,在牙龈炎以及处于牙周炎稳定期的牙龈组织中存在IL-10的高表达;Lappin等<sup>[6]</sup>也发现,牙周炎稳定期IL-10阳性细胞显著增加并广泛存在于牙龈组织中;本研究结果也证实了上述结论:这提示一定量的IL-10的存在可以使炎症反应维持在适当的水平。

本研究发现,IL-10 mRNA在牙龈组织的淋巴细胞、巨噬细胞、牙龈成纤维细胞等细胞中表达,与Lappin等<sup>[6]</sup>的研究结果一致,提示IL-10在局部组织的炎症反应中起重要作用。

本试验结果表明,IL-10 mRNA的表达水平与牙周炎临床状态密切相关,但是IL-10与其他细胞因子的相互作用机制,及其与牙周炎症状态的具体关系有待进一步深入探讨。

### [参考文献]

- [1] Garlet GP, Martins W Jr, Ferreira BR, et al. Patterns of chemokines and chemokine receptors expression in different forms of human periodontal disease[J]. J Periodontol Res, 2003, 38(2): 210-217.
- [2] Suárez LJ, Ocampo AM, Dueñas RE, et al. Relative proportions of T-cell subpopulations and cytokines that mediate and regulate the adaptive immune response in patients with aggressive periodontitis[J]. J Periodontol, 2004, 75(9): 1209-1215.
- [3] Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, et al. Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment[J]. J Periodontol, 2000, 71(10): 1535-1545.
- [4] Mogi M, Otogoto J, Ota N, et al. Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease[J]. Arch Oral Biol, 1999, 44(6): 535-539.
- [5] Górska R, Gregorek H, Kowalski J, et al. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis[J]. J Clin Periodontol, 2003, 30(12): 1046-1052.
- [6] Lappin DF, MacLeod CP, Kerr A, et al. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue[J]. Clin Exp Immunol, 2001, 123(2): 294-300.

(本文编辑 胡兴戎)