

种植体周围龈沟液中白细胞介素-17 和 23 质量浓度的测定

常炜 李英

(山西医科大学附属第一医院口腔科 太原 030001)

[摘要] 目的 探讨白细胞介素(IL)-17和 23 在正常种植体和种植体周围炎中表达的异同,两者在种植体周围炎发生发展过程中的作用和相互关系。方法 根据种植体周情况将其分为健康种植体组和炎症种植体组,以对侧同名健康天然牙为对照组。采集龈沟液并测量其体积,运用夹心酶联免疫吸附试验测定 IL-17 和 23 的质量浓度。结果 在种植体周围炎患者龈沟液中,IL-17 和 23 的质量浓度明显高于健康种植体组($P<0.01$),健康种植体组略高于对照组($P<0.05$)。种植体周和天然牙周龈沟液的体积以及 IL-17 和 23 与牙周状况呈正相关关系,种植体周围龈沟液中 IL-17 与 23 呈线性正相关。结论 IL-17 和 23 的质量浓度与种植体周围炎的发生相关,种植体周 IL-17 与 23 间的质量浓度呈正相关,即 IL-17 和 23 可能在种植体周围炎症反应过程中形成了 IL-23—IL-17 免疫应答途径。

[关键词] 种植体; 白细胞介素; 种植体周围龈沟液

[中图分类号] Q 51 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2012.04.007

The determination on the concentration of interleukin-17 and 23 in the peri-implant sulcular fluid of patients Chang Wei, Li Ying. (Dept. of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[Abstract] **Objective** To explore the similarities and differences of the expression of interleukin (IL) -17 and 23 between the group of peri-implantitis and peri-implantar healthy patients. To determine the effect and mutual relations of IL-17 and 23 in the development and progression of peri-implantitis. **Methods** Implant cases were divided into health-implant group and peri-implantitis group, the health of natural teeth of the opposite side with the same name as the control group. The peri-implant sulcular fluid were collected to determine the concentration of IL-17 and IL-23 by using enzyme-linked immunosorbent assay method. **Results** In the peri-implant sulcular fluid of the peri-implantitis, the concentration of IL-17 and 23 was significantly higher than that in the implant group($P<0.01$), health-implant group was slightly higher than that in the control group($P<0.05$). The volume of implant and natural periodontal gingival crevicular fluid, and IL-17 and 23 had a positive correlation with periodontal status. There was a significant positive correlation between the concentration of IL-17 and IL-23 in the peri-implantitis group. **Conclusion** The concentration of IL-17 and IL-23 were positively correlated with the incidence of peri-implantitis. IL-17 and IL-23 can form IL-23—IL-17 immune response pathway in the incidence of peri-implantitis.

[Key words] implant; interleukin; peri-implant sulcular fluid

种植体周围炎可使支持骨丧失,骨性结合失败,甚至导致种植体脱落。在种植体周围炎发生发展过程中,激活和释放的一些细胞因子和生长因子在微观上参与了种植体周骨的形成和吸收。辅助性T细胞(helper T cell, Th)-17分泌的前炎症

因子白细胞介素(interleukin, IL)-17具有招募中性粒细胞和促进多种细胞因子释放的作用。IL-17与 IL-23 密切相关,两者在炎症免疫应答过程中形成 IL-23—IL-17 免疫应答途径。

1 材料和方法

1.1 病例选择

选择 2000—2010 年在山西医科大学附属第一

[收稿日期] 2011-08-20; [修回日期] 2012-03-28

[作者简介] 常炜(1983—),男,山西人,住院医师,硕士

[通讯作者] 李英, Tel: 13935177923

医院口腔科行 XIVE 系统种植及上部义齿修复的患者 30 例为研究对象，其中种植牙 40 颗，天然对照牙 40 颗；女性 11 例，男性 19 例。纳入标准：无全身系统性疾病，不吸烟，妇女未妊娠，至少 30 d 内未使用抗生素及非甾体类药物，种植义齿行使功能 3 个月以上，无过高咬合等局部因素；反之，则排除。

1.2 监测指标和分组标准

1.2.1 监测指标 以探诊深度(probing depth, PD)和龈沟出血指数(sulcus bleeding index, SBI)为监测指标，其检查由同一名口腔医师完成，探诊使用 Willams 牙周探针。

1.2.2 分组标准 健康天然牙周：周围龈袋 PD ≤ 3 mm, SBI < 2。有炎症的天然牙周情况：PD > 3 mm, SBI ≥ 2。健康的种植体周：PD ≤ 3 mm, SBI < 2。种植体周围炎：PD > 3 mm, SBI ≥ 2。

1.2.3 分组情况 健康的种植体周组牙齿 28 颗，种植周围炎组牙齿 12 颗，对侧同名健康天然牙对照组牙齿 40 颗。

1.3 试验材料

酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测 IL-17 试剂盒(北京四正柏生物科技有限公司), ELISA 检测 IL-23 试剂盒(上海西唐生物科技有限公司), Whatman 号滤纸(Whatman 公司, 英国), 酶联免疫检测仪, 隔水式电热恒温培养箱, 游标卡尺。

1.4 龈沟液的采集和定量

统一规格的滤纸条：将 Whatman 号滤纸裁成宽 2 mm、长 20 mm 的纸条，置于干净的容器中待用。龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF)的采集：用无菌干棉球擦干牙面，隔湿，去除较大的菌斑，轻吹牙龈，将制备好的滤纸条插入种植体颊侧近远中、舌(腭)侧近远中龈沟中，1 min 后取出，用游标卡尺测量并记录浸湿长度，剪去干燥部分，放入装有 1 mL 生理盐水的 Eppendorf 管中，每管皆含一个样本的 4 条滤纸，离心半径 8 cm, 10 000 r·min⁻¹, 4 °C 离心 10 min, 取上清液，-70 °C 冷冻保存。

GCF 成分与健康人的血清相似，可根据健康人的血清体积与滤纸浸湿面积的标准曲线来确定 GCF 的体积。健康人的血清以 0.1 μL 递增，将 0.1~2.0 μL 分为 20 组，用 10 μL 微量加样器取各组血清滴于相同的滤纸条上，每组 3 条滤纸，游标卡尺测量滤纸浸湿长度，换算为浸湿面积。计

算健康人的血清体积与滤纸浸湿面积的相关系数并行直线相关 t 检验，根据标准曲线、样本的滤纸浸湿面积可计算 GCF 的体积^[1]。

1.5 IL-17 和 23 质量浓度的检测

室温下解冻标本 20 min, 离心半径 8 cm, 1 000 r·min⁻¹, 离心 10 min, 取上清液，采用双抗体夹心 ELISA 检测标本中 IL-17 和 23 的质量。以标准的 IL-17 和 23 系列稀释后作为阳性对照。IL-17 和 23 的质量与吸光度(A)值呈正比，绘制标准曲线并计算样本中 IL-17 和 23 的质量，可据此计算 IL-17 和 23 的总质量(pg)。IL-17 和 23 的总质量等于 IL-17 加 IL-23 的检出量与洗提体积的积，IL-17 和 23 的质量浓度(pg·μL⁻¹)等于 IL-17 加 IL-23 总质量与 GCF 质量的商^[2]。

1.6 统计学处理

以 SPSS 13.0 统计软件包行数据分析，计量资料用均数±标准差表示；组间比较采用方差分析，两组间比较采用 LSD-t 检验，方差不齐采用 Dunnett T3 检验，检验水准为双侧 α=0.05，IL-17 和 23 的表达与种植体周及牙周临床指标的相关分析采用 Spearman 秩相关分析，两者的相互关系采用 Pearson 相关分析。P<0.05 为组间差异有统计学意义。

2 结果

健康人的血清体积与滤纸浸湿面积呈直线线性相关(图1), r=0.998 75(P<0.01)。

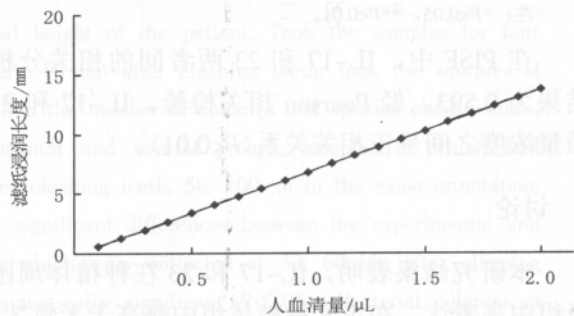


图 1 血清体积与滤纸浸润长度关系的标准曲线
Fig 1 Standard curve of the serum volume and filter paper infiltration length

健康种植体组、炎症种植体组和对照组三组间的检测指标以及种植体周龈沟液(peri-implant sulcular fluid, PISF)中 IL-17 和 23 质量浓度的比较见表 1。由表 1 可见：炎症种植体组 PISF 中 IL-17 和 23 的质量浓度均高于健康种植体组和对照组(P<0.01)，健康种植体组 PISF 中 IL-17 和 23 的质量浓度略高于对照组(P<0.05)；其余指标，

健康种植体组与对照组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 三组间检测指标以及 PISF 中 IL-17 和 23 的质量浓度比较

Tab 1 Comparison of detection indicators and IL-17 and 23 concentration of PISF among the three groups $\bar{x}\pm s$

检查指标	健康种植体组	炎症种植体组	对照组
PD/mm	2.45±0.64	4.21±0.69**	2.20±0.74
SBI	0.64±0.68	3.42±1.00**	0.68±0.73
PISF/ μL	0.95±0.22	1.94±0.49**	0.66±0.23*
IL-17/ $\text{pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$	7.08±3.59	10.47±2.64**	5.11±2.98*
IL-23/ $\text{pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$	4.01±1.99	12.02±4.50**	3.33±1.46*

注：炎症种植体组与健康种植体组和对照组比较，** $P<0.01$ ，* $P<0.05$ 。

各临床指标与 IL-17 和 23 的质量浓度以及 PISF 量的秩相关分析见表 2。经 Spearman 秩相关检验，PD 和 SBI 与 PISF 的体积以及 IL-17 和 23 的质量浓度呈正相关关系。

表 2 各临床指标与 IL-17 和 23 质量浓度以及 PISF 体积间的相关性

Tab 2 Correlation of the clinical indicators with concentration of IL-17 and 23, and PISF volume $\bar{x}\pm s$

项目	PISF	IL-17	IL-23
PD	0.609**	0.444**	0.598**
SBI	0.282*	0.336**	0.512**

注：* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

在 PISF 中，IL-17 和 23 两者间的相关分析结果为 0.593。经 Pearson 相关检验，IL-17 和 23 质量浓度之间呈正相关关系($P<0.01$)。

3 讨论

本研究结果表明，IL-17 和 23 在种植体周围炎组中高表达，在正常种植体组中略高于天然牙。该结果与 Severino 等^[3]的研究结果相同。IL-17 是 Th-17 型细胞因子中一个最关键的促炎症性细胞因子。种植体在病原微生物作用下产生炎症免疫应答反应，激活 Th-17 分泌 IL-17。IL-17 在炎症反应过程中诱导牙龈成纤维细胞分泌 IL-6 和 8 等炎症递质^[4]，加剧炎症反应^[5]；可以引起中性粒细胞中蛋白水解酶活性增高，从而引起局部中性粒细胞聚集；可以刺激牙龈成纤维细胞，通过细胞外信号调节激酶的介导释放 IL-6^[6]和 8，促进黏蛋

白 MUC5AC 和 MUC5B 的表达；刺激肿瘤坏死因子 α 、IL-1 β 、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和粒细胞集落刺激因子的表达；诱导单核细胞趋化蛋白 1 表达，影响骨质的破坏^[7]。另外，还可与多种细胞因子一起加剧炎症反应和牙槽骨吸收^[5]。因此，IL-17 的质量浓度越高，也就是 IL-17 分泌得越多，所产生的炎症效应也越剧烈，表现为种植体周的 PD 和 SBI 也越明显。这也符合本试验的结果：种植体周各临床指标与 IL-17 的质量浓度呈正相关关系。

本研究的另一个结果同样表明，PISF 中 IL-23 与 IL-17 的质量浓度呈正相关关系。IL-23 是 IL-12 分子家族中的促炎性细胞因子，炎症早期的病原微生物结合树突细胞和巨噬细胞上的 Toll 样受体诱导产生 IL-23^[8]。有研究^[9]显示，IL-23 是 Th-17 数量扩增和功能维持的关键性细胞因子，IL-23 靶基因缺失小鼠的体液免疫受损，IL-23 缺陷的抗原呈递细胞刺激 T 细胞分泌 IL-17 的能力也明显下降；因此，IL-23 是产生 IL-17 的关键因子，可调节 T 细胞亚群分泌 IL-17。也就是说，IL-23 促进和维持 Th-17 分泌 IL-17，IL-17 广泛地参与炎症反应，两者形成了 IL-23—IL-17 免疫应答途径。该免疫应答途径存在于脊髓关节病^[10]、炎症性肠炎^[11]和脑脊髓炎^[12]等炎症免疫应答过程之中。

在本研究中，IL-23 与 IL-17 之间的正相关关系有可能是在种植体周围炎症反应过程中 IL-23—IL-17 免疫应答途径的表现，但因所研究的例数不足和缺乏种植体周免疫组织化学方面的印证，IL-23—IL-17 免疫应答途径在种植体周围炎中的机制还需要进一步的研究。

IL-17 在种植体周围炎中的早期特异性表达，在炎症免疫应答过程中的关键位置皆提示，有关 IL-17 水平的研究在种植体周围炎早期诊断和早期预防中具有重要的意义，对种植体周 IL-23—IL-17 免疫应答途径机制更加深入的研究，有可能达到预防和治疗种植体周围炎症的目的。

4 参考文献

[1] 符苏杰, 王国平. 种植体周围龈沟液白介素-8 水平的研究[J]. 口腔医学, 2007, 27(5): 265-267.

[2] Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, et al. Interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha levels and neutrophil

孢子、动植物碎裂分解体等，其中含微生物的气溶胶称为微生物气溶胶。微生物气溶胶与人类的生命健康密切相关，全球因微生物气溶胶引起的呼吸道感染发生率高达 20%，世界上约有 500 多种致病菌，经气溶胶传播的至少有 100 多种，占全球传播途径首位^[3]。本研究的气溶胶和飞沫中的细菌主要为需氧、耐干燥的病原体，它们能存活很长时间，通过空气传播很远后依然能存活。气溶胶的颗粒直径 ≤ 50 μm，有研究表明，粒径为 10~30 μm 的细菌气溶胶颗粒可以进入鼻腔和上呼吸道；6~10 μm 的颗粒可以沉着在小支气管内；1~5 μm 的颗粒可以进入肺深处。此微粒具有很强的穿透力，易寄生于肺内细小分支，被认为是最易吸入肺内传播疾病的潜在危险颗粒。飞沫的颗粒直径 > 50 μm，在空气中停留、悬浮时间较短，易沉积到地面及物体表面，而这些沉积在地面及物体表面的飞沫，可由风吹、清扫、震动和机械作用等扬起而污染空气。本研究中发现，两种干预方法中医生的口罩以及办公台台面的污染都较为严重，建议医生每洁治 1 名患者必须更换口罩，使用防护面罩。办公台台面使用含氯消毒剂每小时擦拭 1 次，以此来减少病菌传播，避免操作中的医务人员成为易受感染的高危人群，减少职业暴露危险。

本研究通过使用 2 种不同的干预措施，比较

(上接第 448 页)

elastase activity in peri-implant crevicular fluid[J]. Clin Oral Implants Res, 2002, 13(5) :470-476.

[3] Severino VO, Napimoga MH, de Lima Pereira SA. Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis [J]. Arch Oral Biol, 2011, 56(8) :823-828.

[4] 邹德容, 朱红, 瞿晓辉. 种植体周围龈沟液中白细胞介素-8含量的测定[J]. 华西口腔医学杂志, 2005, 23(4) : 292-294.

[5] Takahashi K, Azuma T, Motohira H, et al. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of peri-odontal disease[J]. J Clin Periodontol, 2005, 32(4) :369-374.

[6] 吴亚菲, 赵川江, 张静仪. 牙周治疗前后龈沟液中白细胞介素-6水平的变化[J]. 华西口腔医学杂志, 2001, 19(2) :99-101.

[7] Ryu S, Lee JH, Kim SI. IL-17 increased the production of vascular endothelial growth factor in rheumatoid arthritis synoviocytes[J]. Clin Rheumatol, 2006, 25(1) :16-20.

[8] de Paus RA, van de Wetering D, van Dissel JT, et al.

空气中气溶胶和飞沫在不同距离时的污染程度，结果表明，使用本课题组研制的开口器，在控制空气污染方面比使用强负压吸唾管的效果显著，且使用这种开口器噪音小，操作简便。

在洁牙结束后 10 min，空气中的细菌菌落数仍高于国家规定标准，这与刘靖等^[4]的研究结果相同。洁牙后的 10 min 正是医生与患者的交流时间，提醒医护人员不要疏忽治疗结束后的防护，过早去除防护用具。目前，各种空气清新片及空气洁净机是较为常用的空气消毒方法，但这些方法均不宜在有患者的情况下应用，因口腔科空气污染的特殊性，需要一种能动态空气消毒的方法来进行空气消毒。

4 参考文献

[1] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006 :437.

[2] 顾红政, 曹卫平. 牙科手机高速旋转形成的气溶胶与医院感染关系研究[J]. 口腔生物医学, 2011, 2(3) :145-147.

[3] 潘湛, 王勤熙. 气溶胶病毒富集与检测研究进展[J]. 温州医学院学报, 2008, 38(6) :579-581.

[4] 刘靖, 顾宁, 陈武. 超声洁治前含漱对减少诊室内空气细菌污染作用的研究[J]. 口腔医学, 2011, 31(4) :196-198.

(本文编辑 张玉楠)

IL-23 and IL-12 responses in activated human T cells retrovirally transduced with IL-23 receptor variants [J]. Mol Immunol, 2008, 45(15) :3889-3895.

[9] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages [J]. Nat Immunol, 2005, 6(11) :1123-1132.

[10] Smith JA, Turner MJ, DeLay ML, et al. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response are linked to synergistic IFN-β induction via X-box binding protein 1[J]. Eur J Immunol, 2008, 38(5) :1194-1203.

[11] Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene[J]. Science, 2006, 314(5804) :1461-1463.

[12] Bork K, Barnstedt SE, Koch P, et al. Hereditary angioedema with normal C1-inhibitor activity in women[J]. Lancet, 2000, 356(9225) :213-217.

(本文编辑 刘世平)