

TNF- α 、HMGB-1 与慢性牙周炎伴口臭的相关性研究

申东旺 郭茹 曾彬*

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要: 目的 探讨 TNF- α 、HMGB-1 与慢性牙周炎伴口臭的相关性。方法 选自长沙医学院附属医院口腔科以及美奥口腔诊所 2020 年 9 月—2021 年 9 月慢性牙周炎患者约 40 例。拟选取牙周健康志愿者 20 例 (I 组); 单纯口臭患者 20 例 (II 组); 口臭伴轻度慢性牙周炎 20 例 (III 组); 口臭伴中重度慢性牙周炎 20 例 (IV 组), 实验时间两周。检测龈沟液中 TNF- α 和 HMGB-1 的测定及口臭值(organoleptic rating, OR)和牙菌斑指数(plaque index, PLI)。结果 与 I 组相比, II、III、IV 组外周血中的 TNF- α 和 HMGB-1 水平均显著升高, 有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 II、III 组相比, IV 组的 PLI、OR 显著增高 ($P < 0.05$); 且 II 组的 OR 明显高于 III 组 ($P < 0.05$)。结论 TNF- α 、HMGB-1 的超表达和过度释放可能与牙周炎慢性化和口臭有一定的相关性。

关键词: 龈沟液; 牙周炎; TNF- α 、HMGB-1、口臭

在口源性口臭中, 导致口臭的主要物质为口腔中挥发性硫化物 (volatilesulfur compounds, VSCs), 产生 VSCs 的致病菌主要来源于牙周袋和舌苔, 多认为牙周病是口臭发生的最常见病因。但慢性牙周炎及顽固性口臭的原因, 至今仍不完全清楚。故本课题组认为, 各种细胞因子在慢性牙周炎及顽固性口臭发病机制中具有重要作用。因此, 本课题在采集单纯口臭和口臭伴慢性牙周炎患者 (包含轻度牙周炎、中重度牙周炎患者) 和健康人数据的基础上, 通过采集其龈沟液, ELISA 测定其中的 TNF- α 和 HMGB-1 水平。鼻闻法测口臭值 (OR), 检查记录菌斑指数 (PLI)。对口臭和口臭伴慢性牙周炎患者的口臭指数和牙菌斑指数与其龈沟液中 TNF- α 和 HMGB-1 关系做初步探讨。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 一般资料

研究对象选自长沙医学院附属医院口腔科以及美奥口腔诊所 2020 年 9 月—2021 年 9 月慢性牙周炎患者约 40 例。拟选取牙周健康志愿者 20 例 (I 组); 单纯口臭患者 20 例 (II 组); 口臭伴轻度慢性牙周炎 20 例 (III 组); 口臭伴中重度慢性牙周炎 20 例 (IV 组), 实验时间两周。制作知情同意书和数据记录表。

1.1.2 实验试剂与仪器

ELISA 检测 TNF- α 和 HMGB-1 因子试剂盒 (北京四正柏生物科技有限公司), Whatman3 号滤纸条 (英国 Whatman 公司), 酶联免疫检测仪, 1% 碱性品红溶液, 游标卡尺。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准

①年龄 18-55 岁, 无全身性疾病; 4 周内未服用过抗生素, 3 个月内无牙周治疗史; 检查前 2h 内未进任何食品和饮料; 口臭检查期间未服用二甲基硫化物、奎宁和抗组织胺类药物, 牙周炎患者无牙周溢脓、脓肿、牙齿松动等牙周炎活动期症状; III 组 IV 组病例需符合慢性牙周炎分度的诊断标准及口臭诊断标准; 全口至少 10 颗牙齿可进行牙周评价; II 组病例需专业医师鼻测法口臭值 ≥ 3 ; 患者依从性强且资料完善, 自愿参加, 知情同意。

1.2.2 排除标准

①有精神疾病、意识障碍; 吸烟史; 免疫相关性疾病; 妊娠及哺乳期女性; 糖尿病史、高血压病史和 2 个月内有急性感染病史。

1.2.3 牙周炎及口臭诊断标准

使用镊子、口镜、探针进行检查, 牙周健康定义为: 牙龈无炎症及出血, 无牙周袋形成和附着丧失, 口臭值小于 2。口臭定义为: 牙周健康, 专业医师鼻闻法口臭值 (OR) ≥ 3 。口臭伴轻度慢性牙周炎分度定义为: 牙龈有炎症和探诊出血, 牙周袋深度 ≤ 4 mm, X 线片显示牙槽骨吸收不超过根长的 1/3。有口臭, 符合口臭定义。口臭伴中重度慢性牙周炎分度定义为: 中度为牙龈有炎症和探诊出血, 也可有脓。牙周袋深度 ≤ 6 mm, X 线片显示牙槽骨吸收超过根长的 1/3, 但不超过根长的 1/2。牙齿可能有轻度松动。重度为全口牙至少有 6 个位点牙周袋 ≥ 6 mm; 平均临床附着丧失 (clinical attachment loss, CAL) ≥ 3.5 mm 者 $> 30\%$, X 线显示牙槽骨吸收超过根长的 1/2, 伴或不伴牙龈出血。有口臭, 符合口臭定义。

1.3 检测指标

1.3.1 口臭值(OR)

检查方法: 由同一医师用口臭值检测的金标准鼻闻法来测试。方法: 检查者和受试者面对面, 受试者闭嘴吸气, 在离检查者鼻部 10 cm 处张嘴缓慢呼出嘴里气体。根据检查者感受到的口臭程度分为 0: 无口臭; 1: 可疑口臭; 2: 轻微口臭; 3: 中等口臭; 4: 严重口臭; 5: 非常严重口臭。

1.3.2 牙菌斑指数(PLI)

检查方法: 用显示剂检测法, 使用菌斑显示剂 1% 碱性品红溶液涂于受检牙体组织上, 在菌斑着色同时测量染色范围, 判断牙菌斑指数。牙菌斑指数 (PLI) = 各牙菌斑指数之和 / 被检查总牙数。牙菌斑指数分度如下: 0: 牙面无菌斑; 1: 牙颈部龈缘处可见散在的点状菌斑; 2: 牙颈部连续窄带状菌斑宽度不超过 1mm; 3: 牙颈部菌斑覆盖面积超过 1mm, 但少于牙面 1/3; 4: 菌斑覆盖面积至少占牙面 1/3, 但不超过 2/3; 5: 菌斑覆盖面积占牙面 2/3 或 2/3 以上。

1.3.3 龈沟液中 TNF- α 和 HMGB-1 的测定

受试者通过滤纸条法采集龈沟液保存待测。方法如下: 采取滤纸条法中的沟内法, 沟内法指先干燥牙面、隔湿, 把 2mm \times 8mm 的滤纸条插入颊侧近中或远中牙周袋或龈沟内, 直到遇轻微阻力为止, 留置 30s 后取出, 每隔 30s 后在同一位点再次取样 3 次, 将患牙的四张滤纸条湿润部分剪断装入有 100 μ l 生理盐水的 Effendorf 管中, -70°C 储存备用, 测量滤纸条剩余部分长度, 换算成湿润部分长度, 标记。以人血清做样本, 用微量加样枪依次取血清 0.1 μ

L, 0.2 μL, 0.3 μL, 到 1.5 μL, 分别滴在制备好的同样规格的滤纸条上, 测量滤纸条的浸润长度, 绘制血清量与滤纸条浸润长度关系的标准曲线, $Y=0.01136+0.14689X$ ($R^2=0.99875$), 根据标准曲线可换算检测样本中龈沟液量。冷藏的 Effondorf 管于室温解冻, ELISA 法检测 TNF-α 和 HMGB-1 水平, 以标准品系列稀释后作为阳性对照。含量与吸光度 (A) 值成正比, 通过绘制标准曲线计算出采集样本中的检出量。

1.4 统计分析

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计分析, 数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TNF-α 和 HMGB-1 水平的比较

与 I 组相比, II、III、IV 组外周血中的 TNF-α 和 HMGB-1 水平均显著升高, 有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 TNF-α 和 HMGB-1 水平的比较

| 组别 | n | TNF-α | HMGB-1 |
|-------|----|----------------|-------------|
| I 组 | 20 | 10.41 ± 2.11 | 2.45 ± 0.62 |
| II 组 | 20 | 2012.46 ± 3.12 | 3.02 ± 0.97 |
| III 组 | 20 | 13.44 ± 2.63 | 5.02 ± 1.62 |
| IV 组 | 20 | 15.37 ± 3.51 | 7.85 ± 2.66 |

2.2 口臭值和菌斑指数的比较

与 II、III 组相比, IV 组的 PLI、OR 显著增高 ($P < 0.05$); 且 II 组的 OR 明显高于 III 组 ($P < 0.05$)。

表 2 口臭值和菌斑指数的比较

| 组别 | n | OR | PLI |
|-------|----|-------------|-------------|
| I 组 | 20 | - | - |
| II 组 | 20 | 3.85 ± 0.62 | 2.44 ± 0.95 |
| III 组 | 20 | 0.78 ± 0.69 | 2.31 ± 1.12 |
| IV 组 | 20 | 4.51 ± 0.64 | 4.49 ± 0.71 |

3 讨论

引起口源性口臭的口腔因素很多, 如牙周病、舌苔、龋齿、假牙不清洁、不良修复体及口腔粘膜病等。口腔气味主要来源于口腔内的微生物(主要是革兰氏阴性厌氧菌)分解含硫氨基酸产生代谢产物, 主要是挥发性硫化物(Volatile Sulfur Compounds, VSCs), 其中 90% 是硫化氢(H₂S)和甲基硫醇(CH₃SH), 其次有少量的二甲硫醇((CH₃)₂S)、二甲二硫((CH₃)₂S₂)等, 而甲基硫醇则是口臭的主要诱发因素。沈子晶^[1]等研究表明真性口臭分为生理性口臭和病理性口臭。在病理性口臭中, 由口腔疾病导致的病理性口臭称为口源性口臭, 有关数据表明, 80%~90%的口臭是由口腔因素所致。

研究表明口源性口臭常伴有慢性口腔疾病如牙龈炎、牙周炎、黏膜溃疡性口炎等^[2]。随着牙周炎症的迁延及慢性化, 致病菌一方面使口腔中 VSCs 量明显升高, 另一方面刺激机体免疫活性细胞, 在患者外周血中、唾液、龈沟液及牙龈组织中过度表达炎症细胞因子, 在放大炎症的同时, 还抑制牙周膜细胞生成, 增加破骨细胞的

形成及增强其活性, 促进牙槽骨吸收, 最终导致牙周组织破坏, 使炎症病情加重和病程延长^[3]。赵华强^[4]等有研究显示, 慢性牙周炎发生发展与局部牙菌斑细菌及其产物关系密切;慢性牙周炎属于细菌感染性疾病, 其中牙龈卟啉单胞菌、伴放线杆菌等代表革兰阴性菌是主要致病菌种;其能够在牙周局部厌氧环境下大量繁殖, 并可到达牙周深部。

李炜^[5]等通过实验探讨龈沟液血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的水平与种植体周围组织炎症的关系。文中说明 VEGF 在种植体周围组织炎症反应中具有重要作用, 在临床上如果可以通过各种途径将 VEGF 的产生及生物学效应的发挥有效调控, 加强种植体周围炎龈沟液中 VEGF 的临床检测, 将会对临床种植体周围炎的预防和治疗产生积极的意义, 但是 VEGF 与其他细胞因子的关系及 VEGF 在种植体周围炎病变过程中的具体分子学机制, 仍需要进一步的研究。张燕^[6]等通过双抗夹心酶联免疫法研究男性和女性镍铬合金烤瓷牙修复后不同时期龈沟液 IL-8 含量水平, 了解镍铬合金在不同时期对牙龈刺激程度的性别差异。

本文探讨 TNF-α、HMGB-1 与慢性牙周炎伴口臭的相关性结果与 I 组相比, II、III、IV 组外周血中的 TNF-α 和 HMGB-1 水平均显著升高, 有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 II、III 组相比, IV 组的 PLI、OR 显著增高 ($P < 0.05$); 且 II 组的 OR 明显高于 III 组 ($P < 0.05$)。有以往报道基本一致。研究指出一定浓度 HMGB-1 可上调炎症因子的表达, 较高浓度时可引起病理损伤。

参考文献:

- [1]沈子晶, 邹荣海, 龚镭, 等. 碱性口臭与氨性口臭的定性方法探 [J]. 实用口腔医学杂志, 2019, 22(2): 271-272.
 - [2]赵华强, 穆萍萍, 魏玲玲, 等. 高迁移率族蛋白 1 在慢性牙周炎变牙髓组织中的表达 [J]. 华西口腔医学杂志, 2017, 31(2): 191-194.
 - [3]Sirintha S. Insight into the mechanisms regulating immune homeostasis in health and disease [J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2019, 29(1): 1-14.
 - [4]赵华强, 穆萍萍, 魏玲玲, 等. 高迁移率族蛋白 1 在慢性牙周炎变牙髓组织中的表达 [J]. 华西口腔医学杂志, 2017, 31(2): 191-194.
 - [5]李炜, 曹阳, 吴卫. 血管内皮生长因子在牙周炎患者牙龈中的表达 [J]. 广西医科大学学报, 2016, 21, (1): 63-64.
 - [6]张燕, 李红彩, 宁静, 等. 固定义齿修复以牙槽骨严重吸收牙作为基牙的临床研究 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2018, 23(02): 121-124.
- 项目基金: 2020 年湖南省大学生创新创业训练计划项目, S202010823062, 湘教通[2020]191 号-3945; 2020 年长沙医学院创新训练项目: 长医教[2020]26 号-107
- *通讯作者: 曾彬, 女, 本科, 讲师, 研究方向: 口腔内科学术研究;
- 第一作者: 申东旺, 男, 本科生, 口腔医学专业。