

牙周基础治疗联合清热解毒中药合剂对慢性牙周炎患牙龈沟液中白细胞介素-1 β 及肿瘤坏死因子- α 水平的影响

程培红¹ 戚向敏² 杜朝霞² 武志红¹

摘要 目的 观察牙周基础治疗联合清热解毒中药合剂对慢性牙周炎患牙龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF)中白细胞介素-1 β (IL-1 β)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响。方法 24 例慢性牙周炎患者(34 颗观察牙)分为中药组 13 例(17 颗观察牙)和对照组 11 例(17 颗观察牙);对照组给予牙周基础治疗,中药组在对照组基础上服用清热解毒中药合剂,疗程为 8 周。分别于治疗前、牙周基础治疗后 2 周及 10 周滤纸条法收集患牙 GCF,并记录相关的临床指标,包括探诊深度(PD)、临床附着丧失(CAL)和探诊出血点数(BOP)。放免法检测 GCF 中 TNF- α 及 IL-1 β 水平。结果 两组牙周基础治疗后患牙 GCF 中 TNF- α 及 IL-1 β 水平显著低于治疗前($P < 0.01$);同时患牙 PD、CAL 及 BOP 明显下降($P < 0.01$)。中药治疗后中药组 TNF- α 水平($\mu\text{g/L}$)为 2.5551 ± 1.0157 ,明显低于同期对照组的 3.4341 ± 1.0762 ,中药组 IL-1 β 水平($\mu\text{g/L}$)为 0.1335 ± 0.0216 明显低于同期对照组的 0.1471 ± 0.0169 ($P < 0.05$)。结论 清热解毒中药合剂在牙周基础治疗基础上可进一步降低 TNF- α 及 IL-1 β 水平,减轻牙周炎症反应。

关键词 清热解毒中药;慢性牙周炎;牙周基础治疗;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素-1 β

Effect of Periodontal Initial Therapy Together with Chinese Herbal Compound for Clearing Heat and Detoxification on Interleukin-1 β and Tumor Necrosis Factor- α in Gingival Crevicular Fluid of Patients with Chronic Periodontitis CHENG Pei-hong, QI Xiang-min, DU Zhao-xia, et al *Qilu Hospital of Shandong University, Jinan (250012)*

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of periodontal initial therapy together with Chinese herbal compound for clearing heat and detoxification (Abbr. TCM) on the levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-1beta (IL-1 β) in gingival crevicular fluid (GCF) of patients with chronic periodontitis (CPD). **Methods** Thirty-four teeth of 24 patients with CPD were randomly assigned to the control group (17 teeth of 11 patients) and the treated group (17 teeth of 13 patients), they were treated for 8 weeks with periodontal initial therapy, but TCM was given additionally to the treated group. The GCF of the observed teeth was collected at the time before initial therapy (datum line) and at 2 and 8 weeks after treatment. At the same time, the clinical parameters, including probing depth (PD), clinical attachment loss (CAL), and bleeding on probing (BOP) were recorded, and the levels of TNF- α and IL-1 β in GCF were measured by radioimmunoassay. **Results** The levels of TNF- α and IL-1 β in GCF after treatment were significantly lowered in all patients as compared with those before treatment ($P < 0.01$), while PD, CAL and BOP showed significant reduction ($P < 0.01$). After treatment, TNF- α and IL-1 β levels in the treated group were lower than those in the control group (TNF- α : $2.5551 \pm 1.0157 \mu\text{g/L}$ vs $3.4341 \pm 1.0762 \mu\text{g/L}$, IL-1 β : $0.1335 \pm 0.0216 \mu\text{g/L}$ vs $0.1471 \pm 0.0169 \mu\text{g/L}$; $P < 0.05$). **Conclusion** TCM could enhance the effect of periodontal initial therapy in lowering TNF- α and IL-1 β levels, which was attributed to reducing the inflammatory reaction of periodontal tissues.

KEYWORDS Chinese herbal compound for clearing heat and detoxification; chronic periodontitis; periodontal initial therapy; tumor necrosis factor- α ; interleukin-1 β

牙周炎是由牙菌斑始动的牙周支持组织的慢性炎

症性破坏性疾病。牙周基础治疗(包括口腔卫生指导、龈上洁治和龈下刮治)可以有效去除龈上、龈下菌斑及其产生的毒素和病变组织,是治疗牙周炎的最基本和最有效的治疗方法;药物治疗可以去除洁、刮治后

作者单位:1. 山东大学齐鲁医院(济南 250012); 2. 山东大学口腔医院

通讯作者:程培红, Tel: 0531 - 82169359, E-mail: chph689@163.com

残存的牙周致病菌,加强基础治疗的效果。然而,目前临床治疗牙周病的抗菌药物多为抗生素类的化学制剂,长期应用易产生细菌耐药性及干扰口腔菌群生态平衡。研究表明金银花、连翘、黄连、黄芩等清热解毒中药可以辅助牙周基础治疗,对牙周炎有很好的疗效,且可以长期应用^[1]。本试验通过观察牙周基础治疗联合清热解毒中药对慢性牙周炎患牙龈沟液(gingival crevicular fluid, GCF)中白细胞介素-1 β (IL-1 β)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的变化,初步探讨清热解毒中药治疗慢性牙周炎的作用机制。

资料与方法

1 临床资料 选择2005年2月—2007年3月在山东大学齐鲁医院和山东大学口腔医院就诊,同意参加本试验的符合慢性牙周炎诊断标准^[2]的患者24例(男13例,女11例,年龄38~55岁)。患者无全身系统性疾病,无吸烟史,至少1年未行牙周治疗,近1个月内未使用抗生素、非甾体药物或其他影响白细胞的药物,女性为非月经期和妊娠期,无错殆畸形,口内剩余牙数不少于24颗,牙周袋探诊全口至少1/3以上位点探诊深度 ≥ 4 mm。每例患者选取1~2个牙周袋探诊深度 ≥ 5 mm,且牙颈部无龋损和充填体的后牙为观察对象。按门诊就诊顺序将患者编入两组,中药组13例(17颗观察牙),对照组11例(17颗观察牙)。

2 方法

2.1 治疗方法 两组患者均行牙周基础治疗,并进行卫生宣教,教会患者正确的刷牙方式,即用软毛牙刷,以水平颤动法每日早、晚各刷牙1次,每次3 min。中药组于牙周基础治疗后2周开始服用清热解毒中药合剂:金银花、连翘、黄连、黄芩各12 g,水煎服,每日1剂,早、晚两次分服,疗程8周。

2.2 样本收集方法及临床指标检查 两组患者分别于牙周基础治疗前(基线时)、治疗2周(中药组服药前)及10周(中药组服中药8周)用滤纸条法收集GCF。嘱患者以清水漱口,将待取样本区域以棉卷隔湿,吹干取样牙颊面及邻近牙龈组织,用洁治器小心去除龈上菌斑,将2 mm $\times$ 20 mm无菌滤纸条轻轻插入取样牙颊侧近/远中处龈沟内,至有阻力时停止,30 s后取出,准确记录取样位点。若滤纸条上有肉眼可见的血迹或沾染唾液则弃掉重新取样。立即将滤纸条放入2 mL EP管中,贮存于-80℃的冰箱中待用。取样后记录观察牙探诊最深位点的探诊深度(PD,牙周袋底至龈缘的距离)及临床附着丧失(CAL,牙周袋底至釉牙骨质界的距离);采用4点法记录观察牙颊、舌及

近、远中位点的探诊出血点数(BOP)。所有临床操作均由同一术者进行。

2.3 放免法测定 GCF 中 TNF- α 及 IL-1 β 浓度 装有滤纸条的 EP 管自-80℃冰箱取出,放置于室温下1 h解冻,每管加入500 μ L pH 7.2的PBS缓冲液,恒温振荡器上振荡1 h,高速离心机低温离心10 min(4℃,10 000 r/min)备用。按TNF- α 及IL-1 β 放免试剂盒说明书进行检测(放免试剂盒购自北京尚柏生物制品有限公司)。

3 统计学处理 采用SPSS 11.0 数据分析软件, TNF- α 、IL-1 β 、PD 及 CAL 治疗前后数据之间的比较采用 *t* 检验;治疗前后 BOP 的比较采用 χ^2 检验。

结 果

1 两组观察牙治疗前后 GCF 中 IL-1 β 及 TNF α 水平比较(表1) 两组观察牙经牙周基础治疗后2周及10周IL-1 β 及TNF- α 的水平较牙周基础治疗前均明显降低($P<0.01$)。中药组治疗后10周与治疗后2周比较,IL-1 β 及TNF- α 水平也显著降低($P<0.05$);与同期对照组比较,其降低幅度更大($P<0.05$)。

表 1 两组观察牙治疗前后 GCF 中 IL-1 β 及 TNF- α 水平比较 (μ g/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	牙数	时间	IL-1 β	TNF- α
中药	17	治疗前	0.1864 $\pm$ 0.0264	4.4872 $\pm$ 1.0346
		治疗后2周	0.1627 $\pm$ 0.0151*	3.4977 $\pm$ 1.0632*
		治疗后10周	0.1335 $\pm$ 0.0216* Δ	2.5551 $\pm$ 1.0157* Δ
对照	17	治疗前	0.1791 $\pm$ 0.0383	4.5163 $\pm$ 0.9782
		治疗后2周	0.1501 $\pm$ 0.0207*	3.5748 $\pm$ 1.0178*
		治疗后10周	0.1471 $\pm$ 0.0169* Δ	3.4341 $\pm$ 1.0762* Δ

注:与本组治疗前比较,* $P<0.01$;与本组治疗后2周比较, $\Delta P<0.05$;与中药组同期比较, $\Delta P<0.05$

2 两组观察牙治疗前后 PD、CAL 及 BOP 比较(表2) 两组治疗后2周及10周PD、CAL及BOP水平较治疗前均明显降低($P<0.01$)。治疗后10周,两组PD、CAL及BOP的水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 两组观察牙治疗前后 PD、CAL 及 BOP 比较

组别	牙数	时间	PD (mm, $\bar{x} \pm s$)	CAL (mm, $\bar{x} \pm s$)	BOP 阳性 位点数(个)
中药	17	治疗前	5.51 $\pm$ 1.26	6.83 $\pm$ 1.12	47
		治疗后2周	4.28 $\pm$ 1.32*	5.72 $\pm$ 1.23*	11*
		治疗后10周	3.71 $\pm$ 1.17*	5.65 $\pm$ 1.28*	9*
对照	17	治疗前	5.35 $\pm$ 1.34	6.67 $\pm$ 1.29	44
		治疗后2周	4.11 $\pm$ 1.28*	5.47 $\pm$ 1.25*	12*
		治疗后10周	3.92 $\pm$ 1.22*	5.51 $\pm$ 1.24*	13*

注:与本组治疗前比较,* $P<0.01$

讨 论

TNF- α 及 IL-1 β 是牙周炎症和免疫反应过程中的 2 种重要的细胞因子,研究表明牙周炎患牙 TNF- α 及 IL-1 β 水平明显高于健康对照牙,其水平与牙周炎活动性及牙周组织破坏的严重程度成正相关^[3],其量的变化先于临床指标(探诊深度及附着丧失)的变化,因此被认为是监测和诊断牙周炎症状态的敏感标记物^[4,5]。

清热解毒中药如金银花、连翘、黄连、黄芩均有清热解毒、泻火、祛瘀消肿的功效,对多种致病菌有抑制作用,广泛应用于临床抗炎治疗^[6,7]。动物实验表明金银花、连翘、黄芩对体外脂多糖(LPS)刺激的鼠腹腔巨噬细胞分泌过量的 TNF- α 及 IL-1 β 等炎症细胞因子的活性有显著抑制作用^[8]。黄连的主要成分盐酸小檗碱可以抑制实验性牙周炎鼠模型牙周组织中 TNF- α 及 IL-1 β 的表达^[9]。

本试验结果显示牙周基础治疗后 2 周患牙临床指标 PD、CAL 及 BOP 和 GCF 中 TNF- α 及 IL-1 β 水平显著低于治疗前($P < 0.01$),进一步证实牙周基础治疗的确定疗效,这与许多研究结果^[4,10]一致。中药治疗组用药后与用药前比较,TNF- α 及 IL-1 β 水平明显下降($P < 0.05$),而对照组下降不明显($P > 0.05$);中药治疗组用药后与对照组同期比较,TNF- α 及 IL-1 β 水平显著降低($P < 0.05$),提示清热解毒中药合剂可以有效降低牙周炎患牙 GCF 中 TNF- α 及 IL-1 β 水平,减轻牙周炎免疫反应。这与动物实验^[8,9]结果相吻合;而中药治疗组用药后与用药前比较,临床指标 PD、CAL 及 BOP 下降不明显,提示其对临床指标的敏感性较低。

Hsieh 等^[11]研究发现黄芩苷通过抑制细胞因子上游转录调控因子——核转录因子- κ B 的活性而呈剂量依赖性显著抑制 IL-1 β 及 TNF- α 介导的炎症因子 IL-6、IL-8 的表达,可见黄芩苷对 IL-1 β 、TNF- α 的上游调控因子及下游相关因子的表达 2 个环节均发挥作用。其他清热解毒中药是否也具有相同的作用还有待进一步研究。

以上研究提示清热解毒中药可以通过抑制 IL-1 β 及 TNF- α 的分泌及由 IL-1 β 及 TNF- α 诱导产生的次级炎症细胞因子的分泌,影响细胞因子网络对炎症的调控,减轻组织炎症免疫反应,发挥抗炎作用。

参 考 文 献

- [1] 胡壮,沈海滨. 中医辨证分型治疗牙周炎 78 例[J]. 上海中医药杂志, 2008, 37(3):33-34.
Hu Z, Shen HB. Treatment of periodontitis on syndrome differentiation in 78 cases [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2008, 37(3):33-34.
- [2] 曹采方. 牙周病学. 北京:人民卫生出版社, 2000:120.
Cao CF, ed. Periodontics. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002:120.
- [3] Górski 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.
- [4] Masada MP, Persson R, Kenney JS, et al. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease[J]. J Periodont Res, 1990, 25(3):156-163.
- [5] Rossomando EF, Kennedy JE, Hadjimichael J. Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans [J]. Arch Oral Biol, 1990, 35(6):431-434.
- [6] Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, et al. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts [J]. Life Sci, 2002, 70(9):1023-1033.
- [7] Park E, Kum S, Wang C, et al. Anti-inflammatory activity of herbal medicines: inhibition of nitric oxide production and tumor necrosis factor-alpha secretion in an activated macrophage-like cell line [J]. Am J Chin Med, 2005, 33(3): 415-424.
- [8] 吴迪,张霞,陈宁,等. 双黄连对体外腹腔巨噬细胞分泌细胞因子的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7(3):178.
Wu D, Zhang X, Chen N, et al. Effect of Shuanghualian on macrophagocyte derived from mice abdomen producing cytokine [J]. Chin J Integr Tradit West Med Intensive Crit Care, 2000, 7(3):178.
- [9] 余占海,张国英,张小恒,等. 盐酸小檗碱对大鼠牙周组织中白细胞介素-1 β 和肿瘤坏死因子- α 表达的影响[J]. 华西口腔医学志, 2008, 26(1):82-86.
Yu ZH, Zhang GY, Zhang XH, et al. Effect of berberine hydrochloride on the expression of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissues in rats [J]. West China J Stomatol, 2008, 26(1): 82-86.
- [10] 路瑞芳,徐莉,孟焕新,等. 重度广泛型侵袭性牙周炎患者非手术治疗的临床疗效观察[J]. 中华口腔医学杂志, 2008, 43(5):264-268.
Lu RF, Xu L, Meng HX, et al. Clinical effects of non-surgical treatment on severe generalized aggressive periodontitis [J]. Chin J Stomatol, 2008, 43(5):264-268.
- [11] Hsieh CJ, Hall K, Ha T, et al. Baicalin inhibits IL-1 beta- and TNF-alpha-induced inflammatory cytokine production from human mast cells via regulation of the NF-kappaB pathway [J]. Clin Mol Allergy, 2007, 26(5):5.

(收稿:2008-11-12 修回:2009-08-11)