

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.24.029

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20201028.1800.004.html\(2020-10-29\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20201028.1800.004.html(2020-10-29))

吸烟习惯对牙周炎患者牙龈液 hBD-2、hBD-3 及炎症因子水平表达的影响

王乐康¹,徐天天²,刘士东³,刘美玉⁴,谢俊龙⁵

(1. 浙江省中医药大学研究生院,杭州 310053;2. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇三医院口腔科,杭州 350000;3. 浙江省建德中医院口腔科,杭州 311600;4. 浙江省海宁市中心医院耳鼻喉科 314408;5. 哈尔滨医科大学附属第一医院口腔科 150000)

[摘要] **目的** 探讨吸烟习惯对牙周炎患者牙龈液 β 防御素 2(hBD-2)、 β 防御素 3(hBD-3) 及炎症因子水平表达的影响。**方法** 回顾性分析 2018 年 1—12 月海宁市中心医院收治的 138 例慢性牙周炎患者的临床病历资料,根据是否吸烟将纳入患者分为吸烟组($n=61$)和非吸烟组($n=77$),比较两组牙龈液 hBD-2、hBD-3、内皮素-1(ET-1)、一氧化氮(NO)及炎症因子肿瘤坏死因子(TNF- α)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)水平。**结果** 吸烟组牙龈液 hBD-2、hBD-3 水平明显低于非吸烟组($P<0.05$),ET-1、NO、hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8 水平明显高于非吸烟组($P<0.05$);两组治疗后牙周临床指标均有所下降($P<0.05$),吸烟组下降幅度明显小于非吸烟组($P<0.05$)。**结论** 吸烟会导致慢性牙周炎患者牙龈组织中炎症因子水平上升,加重炎症反应。

[关键词] 牙周炎; β 防御素;内皮素;一氧化氮;肿瘤坏死因子;超敏 C 反应蛋白

[中图分类号] R781.4+2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)24-4168-04

Effects of smoking habits on expression levels of gingival fluid hBD-2, hBD-3 and inflammatory factors in patients with periodontitis

WANG Lekang¹, XU Tiantian², LIU Shidong³, LIU Meiyu⁴, XIE Junlong⁵

(1. Zhengjiang Chinese Medical University, Hanzhou, Zhejiang 310053, China;

2. Department of Stomatology, 903 Hospital of PLA Joint Logistic Support

Force, Hangzhou, Zhejiang 35000, China; 3. Department of Stomatology, Zhejiang Provincial Jiande Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang 311600, China;

4. Department of ENT, Haining Municipal Central Hospital, Haining, Zhejiang

314408, China; 5. Department of Stomatology, First Affiliated Hospital of Harbin Medical

University, Harbin, Heilongjiang 150000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of smoking habits on the expression levels of gingival fluid β defensin 2 (hBD-2), β defensin 3 (hBD-3) and inflammatory factors in the patients with periodontitis. **Methods** The clinical medical data of 138 patients with chronic periodontitis treated in the Haining Municipal Central Hospital from January to December 2018 were retrospectively analyzed. According to whether smoking, the patients were divided into the smoking group($n=61$) and non smoking group($n=77$). The levels of hBD-2, hBD-3, endothelin 1 (ET-1), nitric oxide (NO), inflammatory factors such as tumor necrosis factor α (TNF- α), high sensitivity C reactive protein (hs-CRP), interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 4 (IL-4), interleukin 5 (IL-5), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 8 (IL-8) in gingival fluid were compared between the two groups. **Results** The levels of gingival fluid hBD-2 and hBD-3 in the smoking group were significantly lower than those in the non-smoking group($P<0.05$), while the levels of ET-1, NO, hs-CRP, TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6 and IL-8 were significantly higher than those in the non-smoking group($P<0.05$). After treatment, the periodontal clinical indexes in both groups were decreased ($P<0.05$), the decline amplitude in the smoking group was significantly smaller than that in the non-smoking group($P<0.05$). **Conclusion** Smoking can increase the levels of inflammatory factors in gingival tissue of the patients with chronic periodontitis, and aggravates

the inflammatory reactions.

[Key words] periodontitis; β defensin; endothelin; nitric oxide; tumor necrosis factor; high sensitivity C reactive protein

慢性牙周炎是临床上最常见的一类牙周炎,也是严重影响人类生活质量的口腔疾病之一^[1-2]。近年来有研究表明慢性牙周炎是多因素疾病,除了与患者口腔局部环境相关之外,还与社会心理状况、内分泌失调等全身因素密切相关^[3-4]。 β -防御素(hBD)是生物免疫系统中的重要调节分子,hBD-2 与 hBD-3 主要分布于牙周组织中,具有免疫调控作用和抗菌作用,在机体抗牙周致病微生物入侵中可发挥积极的防御作用。现已有研究表明,吸烟是牙周炎的发生的重要危险因素,可通过影响患者的免疫防御功能从而加速牙周炎的发展进程^[5-6]。基于此,本研究回顾性分析慢性牙周炎患者的临床病历资料,旨在探讨吸烟习惯对牙周炎患者牙龈液 hBD-2、hBD-3 及炎症因子水平表达的影响,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析 2018 年 1—12 月海宁市中心医院收治的 138 例慢性牙周炎患者的临床病历资料,纳入标

准:(1)患者牙周袋深度大于或等于 4 mm、牙龈指数大于或等于 2,口内存留牙大于或等于 20 颗,X 线片检查有牙槽骨的水平型轻度吸收(骨吸收达根长的冠 1/3);(2)牙周炎病程大于 3 年;(3)患者认知状态良好,具有较高的依从性,能配合检查与治疗;(4)本研究经过医院伦理委员会批准。排除标准:(1)急性牙周炎或牙髓炎患者;(2)合并其他急、慢性感染性疾病患者;(3)糖尿病患者;(4)伴有心、脑、肝、肾等重要脏器功能不全患者;(5)伴有恶性消耗性疾病患者;(6)伴有自身免疫性炎症性结缔组织病患者;(7)半年内进行过牙周手术或 3 个月内接受免疫调节治疗患者;(8)妊娠、哺乳期妇女;(9)同时接受其他研究的患者。根据是否吸烟(吸烟标准:每天超过 10 只,不吸烟标准:从不吸烟)将纳入患者分为吸烟组($n=61$)和非吸烟组($n=77$),两组患者性别、年龄、体重指数及文化程度等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。

表 1 两组患者一般资料的比较

组别	n	性别[n(%)]		年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	体重指数 ($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	文化程度[n(%)]		
		男	女			小学及以下	初、高中	专科及以上
吸烟组	61	47(77.05)	14(22.95)	46.88 \pm 5.79	22.25 \pm 1.58	10(16.39)	36(59.02)	15(24.59)
非吸烟组	77	49(63.64)	28(36.36)	47.13 \pm 5.54	21.87 \pm 1.62	19(24.68)	31(40.26)	27(35.06)
χ^2/t		2.892		0.258	1.383		4.804	
P		0.089		0.797	0.169		0.091	

1.2 方法

指导患者清水漱口,吹干牙面后刮除龈上菌斑,选取 4 个不相连牙周位点,选用 Whatman3 号滤纸剪成 2 \times 10 mm 纸片,从 16、24、36、44 这 4 个位点取样(牙缺失患者用 11、41 代替)。将滤纸前端轻插入龈沟入口处,直到有轻微阻力后再向龈沟深部插入,保持 30 s 取出后放入 EP 管中,加入 pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲液 100 μ L,置于-80 $^{\circ}$ C 条件下保存。

1.3 观察指标

(1)取出待测龈沟液标本,平衡至室温,离心(离心半径:10 cm,转速:13 000 r/min)10 min 后,取上清液。采用双抗体夹心法检测 hBD2、hBD3 水平;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定内皮素-1(ET-1)、一氧化氮(NO)及炎症因子肿瘤坏死因子(TNF- α)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介

素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)水平,试剂盒均由深圳晶美生物公司提供,所有操作均严格按照试剂说明书进行。(2)患者均常规行牙周基础治疗,包括口腔卫生指导、龈上龈下洁治和根面平整,治疗前及治疗 4 周后使用牙周探针进行牙周检查,选取双侧上下前后牙各 1 颗,记录牙周探诊深度(PD)、附着丧失(AL),探诊出血(BOP)。

1.4 统计学处理

应用 SPSS20.0 软件进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者牙龈液 hBD-2、hBD-3 水平的比较

吸烟组牙龈液 hBD-2、hBD-3 水平明显低于非吸烟组($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组患者牙龈液 hBD-2、hBD-3 水平的比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	n	hBD-2	hBD-3
吸烟组	61	11.41±1.48	3.27±0.51
非吸烟组	77	15.16±2.37	4.59±0.62
t		10.798	13.415
P		0.000	0.000

2.2 两组患者牙龈液 ET-1、NO 水平的比较

吸烟组患者牙龈液 ET-1、NO 水平明显高于非吸烟组($P < 0.05$),见表 3。

表 3 两组患者牙龈液 ET-1、NO 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ET-1(pg/mL)	NO($\mu\text{mol/L}$)
吸烟组	61	1.93±0.41	7.16±0.42
非吸烟组	77	1.38±0.33	5.07±0.54
t		8.732	24.849
P		0.000	0.000

2.3 两组患者牙龈液炎症因子水平的变化

吸烟组患者牙龈液 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8 水平明显高于非吸烟组($P < 0.05$),见表 4。

表 4 两组牙龈液炎症因子水平的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	hs-CRP (ng/mL)	TNF- α (ng/mL)	IL-1 β (ng/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-5 (pg/mL)	IL-6 (ng/mL)	IL-8 (pg/mL)
吸烟组	61	18.23±4.18	5.31±0.65	40.15±5.39	42.43±6.62	41.71±8.26	4.01±0.63	103.43±15.04
非吸烟组	77	15.53±2.24	3.89±0.44	32.23±4.54	30.52±5.22	35.58±4.81	3.22±0.41	85.68±11.37
t		4.858	15.263	9.366	11.819	5.452	8.886	7.895
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.4 两组患者治疗前后牙周临床指标的比较

两组患者治疗后牙周临床指标均有所下降($P < 0.05$),吸烟组下降幅度明显小于非吸烟组($P < 0.05$),见表 5。

表 5 两组患者治疗前后牙周临床指标的比较

组别	n	时间点	PD ($\bar{x} \pm s, \text{mm}$)	AL ($\bar{x} \pm s, \text{mm}$)	BOP [n(%)]
吸烟组	61	治疗前	4.67±0.83	4.14±0.79	57(93.44)
		治疗后	4.01±0.64 ^a	3.61±0.45 ^a	32(52.46) ^a
非吸烟组	77	治疗前	4.74±0.91	3.97±0.66	66(85.71)
		治疗后	3.18±0.42 ^{ab}	2.43±0.36 ^{ab}	20(25.97) ^{ab}

^a: $P < 0.05$,与治疗前比较; ^b: $P < 0.05$,与吸烟组比较。

3 讨 论

牙周炎是由菌斑、牙石、创伤性咬合、食物等多种因素导致的牙龈、牙骨质、牙槽骨等牙齿支持组织的慢性炎症,流行病学研究调查显示我国牙周炎发病率极高,发病年龄以 35 岁以后较为多见,病情随年龄增大而加重^[7-8]。吸烟可通过影响患者免疫系统,降低机体防御能力,促进炎症反应,进而参与疾病的发生、发展过程^[9]。既往研究已证实吸烟是牙周炎的独立危险因素之一^[10]。香烟中有害成分尼古丁、焦油、一氧化碳等有害物质可抑制牙龈上皮细胞正常蛋白分泌和代谢,进而导致人牙周膜成纤维细胞合成纤维结合蛋白、各类胶原的能力降低,导致牙周组织的抵抗力和修复功能降低;在多种化学成分和烟雾高温的长期刺激下,牙龈上皮将出现不可逆变化,如角化层增

厚、黏膜下血管充血等病理现象,牙龈将长期处于慢性炎症状态;烟雾中有害成分可导致牙周组织局部微循环障碍,还可通过刺激成骨细胞碱性磷酸酶的活性促进牙槽骨吸收,导致疾病进一步发展^[11-12]。

细菌侵袭与宿主防御之间的动态平衡紊乱是牙周炎发生、发展的主要因素,既往研究表明抗微生物多肽被灭活或清除是这种动态平衡被打破的主要机制之一^[13]。hBD 是牙龈复层鳞状上皮分泌的小分子抗菌肽,具有高效的广谱抗菌作用和间接的免疫激活作用,是机体先天免疫防御系统中不可或缺的部分。hBD-2、hBD-3 是参与口腔组织的先天免疫和获得性免疫过程的主要抗菌肽,能够直接杀伤病原体,在维护牙周健康方面作用显著^[14-15]。本研究结果显示吸烟组患者牙龈液 hBD-2、hBD-3 水平明显低于非吸烟组,表明吸烟可抑制牙周炎患者 hBD2 和 hBD3 的表达。范云等^[16]研究表明,吸烟是阻碍牙周炎患者 hBD2 和 hBD3 表达的危险因素,本研究与其结果大体一致,追其原因可能是香烟主要成分尼古丁可抑制 hBD 的表达,香烟增香剂丙烯醛可抑制牙龈上皮细胞 hBD2 信使核糖核酸(RNA)的表达。

内皮素是由 21 个氨基酸组成的生物活性多肽,属于内源性长效血管收缩调节因子。ET-1 具有强烈而持久的缩血管效应,在维持循环稳态中可发挥重要调节作用。NO 是由一氧化氮合酶(NOS)催化 L-精氨酸产生的具有广泛的生物活性的信使分子和毒性因子,在抗微生物感染及维持口腔内正常菌群的平衡

中具有重要的作用,适量的 NO 可维护牙周组织的正常生理功能,但过量的 NO 可促使中性粒细胞、巨噬细胞等免疫系统细胞自身凋亡,进而加重牙周炎患者病情。临床研究表明 ET-1 和 NO 的平衡是调节局部组织中炎症反应的重要机制,牙周炎患者血管内皮素水平显著增高,导致 NO 大量产生,扩血管因子与缩血管因子的动态平衡关系被打破,进而引发炎症级联瀑布反应,促进炎症进一步发展^[17]。本研究结果显示吸烟组牙龈液 ET-1、NO 水平明显高于非吸烟组,提示吸烟可通过打破 ET-1 和 NO 的平衡进而加重牙周组织的炎症反应。

慢性牙周炎的基本特征是牙周组织持续的炎症反应,hs-CRP 是肝细胞合成的一种非特异性炎症因子,主要在机体受到炎症性刺激时大量释放入血,是反映机体炎症状态的灵敏标志物。TNF- α 是由单核-巨噬细胞分泌的具有炎症介质作用的细胞因子,可启动牙周慢性炎症的发生,进而参与慢性牙周炎的发展过程^[18]。IL-1 β 是机体在应答感染时产生的细胞因子,在免疫应答和组织修复中可发挥重要作用。IL-4、IL-5 是由活化 T 细胞和肥大细胞等产生的促炎症因子,可促进炎症介质释放,加速炎症发展;IL-6 是由活化 T 细胞和成纤维细胞等产生的多功能炎症细胞因子,与急性炎症期蛋白质之间具有明显的相关性,在促进炎症反应中发挥病理作用^[19]。IL-8 是由单核-巨噬细胞分泌的细胞因子,属于趋化因子家族,能够吸引和激活中性粒细胞,具有促进炎症过程、影响细胞代谢等生理功能。临床研究表明 IL-8 可通过促进金属蛋白酶水解和细胞外基质蛋白降解减弱牙周组织的修复能力,参与牙槽骨的破坏过程^[20]。本研究结果表明吸烟组 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8 水平明显高于非吸烟组,表明吸烟可进一步促进炎症反应,导致炎症因子水平异常,这可能是由于吸烟者的口腔卫生差,吸烟时导致口腔内处于缺氧状态,牙周氧化还原电势下降,有利于厌氧菌生长有关;也可能是由于香烟中一氧化碳、焦油、尼古丁等有害物质可直接进入并侵害黏膜上皮,促使炎症因子释放,加重炎症反应。

本研究结果显示慢性牙周炎患者接受牙周基础治疗后牙周临床指标均有所改善,但吸烟组患者改善幅度小于非吸烟组,表明牙周基础治疗能有效地缓解患者临床症状,减少局部牙龈出血,但对于吸烟患者单纯采取基础治疗并不能从根本上解决问题,需要规劝其戒烟才能促进临床治疗效果的提高。

综上所述,吸烟会导致慢性牙周炎患者牙龈组织中 hBD-2、hBD-3 水平降低,ET-1、NO 和 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8 等炎症因子水平上升,提示在进行牙周炎药物治疗的同时,应加强患

者的口腔卫生宣教,劝导其戒烟,以期巩固疗效或提高临床治疗效果。

参考文献

- [1] MEI L, HUANG X, XIE Y, et al. An injectable in situ gel with cubic and hexagonal nanostructures for local treatment of chronic periodontitis[J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1):1148-1158.
- [2] COSTA L F N P D, AMARAL C D S F, BARBIRATO D D S, et al. Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis[J]. *J Am Dent Assoc*, 2017, 148(5):308-318.
- [3] 尹敏,王海花,宣桂红,等. 牙龈卟啉单胞菌感染对慢性牙周炎患者外周血 MMP-3 及 IFN- γ 水平的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(14):2198-2202.
- [4] 田思睿,赵宁宁,谢艳婷,等. 慢性牙周炎患者后牙区种植修复后 5 年临床疗效分析[J]. *中国实用口腔科杂志*, 2019, 12(10):604-607.
- [5] 杜娟,段春红. 老年人群牙周疾病危险因素分析[J]. *中国药物与临床*, 2018, 18(7):1131-1132.
- [6] 杨再永,李刚,王胜朝,等. 驻疆某部军事人员吸烟对牙周病影响的调查研究[J]. *西北国防医学杂志*, 2015, 36(1):32-34.
- [7] 吴迪,刘凡,陈宏瑞,等. 慢性牙周炎患者口腔健康相关生命质量的影响因素分析[J]. *中国实用护理杂志*, 2017, 33(9):682-685.
- [8] 王旭,石磊,应绚,等. 吸烟对慢性牙周炎牙龈微循环影响的初步研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2019, 37(5):485-489.
- [9] 葛子铭,赵海礁,杨雪,等. 吸烟对慢性牙周炎患者牙槽骨缺损影响研究[J]. *中国实用口腔科杂志*, 2015, 8(1):17-21.
- [10] 鲁诚. 吸烟对慢性牙周炎老年患者病情进展和复发的影响[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(15):2204-2207.
- [11] ERIKSSON K, NISE L, ALFREDSSON L, et al. Seropositivity combined with smoking is associated with increased prevalence of periodontitis in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 77(8):1236-1238.
- [12] FÁBIO R L, NASCIMENTO G G, SCHEUTZ F, et al. Effect of smoking on periodontitis: a systematic review and meta-regression[J]. *Am J Prev Med*, 2018, 54(6):831-841. (下转第 4175 页)