

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.13.033

血清 TNF- α 、IL-6, 8 水平与复发性阿弗他溃疡患者免疫功能的关系研究

陈英 钟波 付洪 张敏 周琦^a

(深圳市第二人民医院口腔科 广东 深圳 518035)

摘要 目的:探讨血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素 -6 (IL-6)、白介素 -8 (IL-8) 水平与复发性阿弗他溃疡 (RAU) 患者免疫功能的关系。**方法:**收集我院于 2015 年 6 月~2016 年 6 月间收治的 82 例 RAU 患者作为观察组,另取 80 例健康体检人员作为对照组,比较两组血清 TNF- α 、IL-6、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平,并分析各指标的相关性。**结果:**观察组血清 TNF- α 、IL-6、IL-8、CD8⁺ 水平均高于对照组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。观察组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平低于对照组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$);两组 CD3⁺ 水平比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。血清 TNF- α 、IL-6、8 水平与 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 均呈负相关 ($P<0.05$)。**结论:**RAU 疾病的发生与机体免疫功能障碍有关,检测患者 TNF- α 、IL-6、8 水平可反映出患者免疫功能水平。

关键词:复发性阿弗他溃疡; TNF- α ; IL-6; IL-8; 免疫功能

中图分类号:R781.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)13-2528-03

Correlation of TNF- α , IL-6, 8 and Immune Function in Patients with Recurrent Aphthous Ulcers

CHEN Ying, ZHONG Bo, FU Hong, ZHANG Min, ZHOU Qi^a

(Department of Stomatology, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, 518035, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the correlation of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and immune function in patients with recurrent aphthous ulcers (RAU). **Methods:** 82 cases of patients with RAU in our hospital from June 2015-June 2016 were selected as the observation group; 80 cases of healthy people were selected as the control group. The levels of serum TNF- α , IL-6, 8, CD3, CD4⁺ and CD8⁺, CD4/CD8 and their correlation were compared and analyzed. **Results:** The levels of serum TNF- α , IL-6, IL-8 and CD8⁺ were higher than the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ in observation group were lower than that of the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$); The levels of CD3⁺ in two groups had no statistically difference ($P>0.05$). Serum TNF- α , IL-6, 8 levels were negatively correlated with CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ ($P<0.05$). **Conclusion:** The incidence of RAU is related to immune dysfunction, detecting the levels of serum TNF- α , IL-6, 8 can reflect the level of immune function.

Key words: Recurrent aphthous ulcer; TNF- α ; IL-6; IL-8; Immune function

Chinese Library Classification(CLC): R781.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)13-2528-03

前言

复发性阿弗他溃疡(recurrent aphthous ulcer, RAU)又名复发性口腔溃疡,为口腔黏膜病中最为常见的疾病,发病率达20%以上^[1]。RAU临床症状表现为独立的单个或多个浅表性溃疡,其形状为圆形或类圆形。RAU其发病机制较为复杂,目前尚未明确,临床中仍无治疗RAU特效药物^[2]。因此,对于RAU的病因及发病机制一直为口腔黏膜病研究的热点。国外学者在对RAU患者行血液免疫学检测后发现免疫功能失调是导致RAU的主要病因之一^[3]。以往对RAU的研究大多仅限于RAU患者某一细胞因子变化上,而将炎症反应与免疫功能进行综合观察研究可能更为理想^[4,5]。基于以上考虑,本次研究通过观察

RAU患者肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)浓度变化与患者CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺细胞百分比、CD4⁺/CD8⁺的关系,分析细胞因子对RAU患者免疫功能的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集我院于2015年6月~2016年6月间收治的82例RAU患者作为观察组。纳入标准:经检查符合Lehner RAU分型及诊断标准^[6];患者正处于溃疡期;溃疡时间不超过4d;溃疡具有周期性、复发性及自愈性;过去半年内每月至少发作一次;近一个月内未经任何治疗。排除标准:既往过敏史患者;哺乳期妇女及孕妇;自身免疫性疾病患者;伴发严重感染性疾病者;肝、肾、肺严重器质性病变者;三个月内使用过皮质激素、免疫抑制剂者。其中男性44例,女性38例,年龄15~65岁,平均为(39.23 $\pm$ 7.53)岁。另取80例健康体检人员作为对照组。对照组中男性41例,女性39例,年龄17~67岁,平均为(40.43 $\pm$ 8.53)岁。两组人员年龄、性别分布情况差异无统计学意义($P>0.05$)。

作者简介:陈英(1981-),女,本科,主治医师,从事口腔内科方面的研究, E-mail:chenyingcycy123@163.com

^a 通讯作者:周琦(1963-),男,本科,主任医师,从事口腔全科方面的研究

(收稿日期:2016-09-13 接受日期:2016-10-08)

本次研究由伦理委员会批准,患者均知情同意。

1.2 研究方法

细胞因子检测:两组人员均采集静脉血 6 mL,其中 3 mL 置于肝素抗凝管中,另外 3 mL 置于普通试管中,经 37℃ 水浴后静置 30 min,在离心机中于 3000 r/min 的转速下离心 5 min,分离上层血清于 -80℃ 的条件下保存待检。使用时应避免反复冻融,检测前应将试剂置于室温条件下平衡,血清中若存在沉淀物,应先离心去除沉淀后再使用。本次研究均由一名经验丰富的检验科医师进行标准化检测。TNF- α 、IL-6、8 水平的检测均采用放射免疫法,TNF- α 、IL-6、8 放射免疫试剂盒均由九鼎医学生物工程有限公司提供,试剂盒均置于 2~8℃ 条件下避光保存,放射性计数的检测北京若水合科技有限公司生产的 wiCN202N-GC-2016 型放射免疫 Y 计数器进行检测。充分混合后,于室温条件下静置 20 min,以 3500 rpm 的转速下离心 25 min,操作流程均严格参照试剂盒说明书执行。免疫细胞测定:3 mL 肝素抗凝管中的静脉血以 2000 rpm 的转速下离心 20

min,平均分装于 3 个肝素钠抗凝真空采血管中,分别加入鼠抗人 CD3 单克隆抗体(北京科昕生物科技有限公司生产)、鼠抗人 CD4 单克隆抗体(上海微蒙生物技术有限公司生产)、鼠抗人 CD8 单克隆抗体(上海钰博生物技术有限公司生产),采用 FACSCalibur 流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司制造)测定 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺,同时计算 CD4⁺/CD8⁺ 水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 软件对数据进行处理,计数资料经由 n 或%表示,经由卡方 χ^2 检验进行比较,计量资料由 ($\bar{x} \pm s$) 表示,经由 t 检验,相关性经由 Spearman 秩相关分析, $P < 0.05$ 时代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平比较

观察组血清 TNF- α 、IL-6 及 IL-8 水平均高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组血清 TNF- α 、IL-6、8 水平比较

Table 1 Comparison of levels of serum TNF- α and IL-6, 8 in two groups

Groups	N	TNF- α (fmol/mL)	IL-6 (ng/mL)	IL-8 (ng/mL)
Observation group	82	15.25 $\pm$ 3.45	0.68 $\pm$ 0.29	5.56 $\pm$ 3.67
Control group	80	9.17 $\pm$ 1.79	0.09 $\pm$ 0.05	1.43 $\pm$ 0.44
t		14.027	17.937	9.994
P		0.000	0.000	0.000

2.2 两组免疫功能比较

观察组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平低于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);观察组 CD8⁺ 水平高于对照组,差异有统计学

意义 ($P < 0.05$);两组 CD3⁺ 水平比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

表 2 两组免疫功能比较

Table 2 Comparison of immune function in two groups

Groups	N	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Observation group	82	69.89 $\pm$ 4.54	34.96 $\pm$ 3.63	32.64 $\pm$ 6.34	1.29 $\pm$ 0.47
Control group	80	68.92 $\pm$ 4.36	31.26 $\pm$ 3.54	22.53 $\pm$ 5.21	1.80 $\pm$ 0.79
t		1.386	6.566	11.073	5.007
P		0.167	0.000	0.000	0.000

2.3 两组血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平与免疫功能相关性分析

相关性分析显示,血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平与 CD3⁺、

CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 均呈负相关 ($P < 0.05$),见表 3。

表 3 两组血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平与免疫功能相关性分析

Table 3 Correlation of serum TNF- α , IL-6, 8 and immune function in two groups

Indexes		CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
IL-6	r	-0.868	-0.747	-0.722	-0.724
	P	0.035	0.021	0.007	0.016
IL-8	r	-0.908	-0.796	-0.716	-0.818
	P	0.017	0.024	0.028	0.19
TNF- α	r	-0.937	-0.782	-0.644	-0.773
	P	0.014	0.017	0.023	0.031

3 讨论

RAU 又名复发性口腔溃疡,为常见的口腔黏膜疾病,好发于口

腔角化程度较差的区域,而角化程度低的部位较为少见,具有病因复杂、发病率高、反复发作的特点^[7,8]。RAU 的发作具有一定的规律性,通常可分为前驱期、溃疡期、间隔期及愈合期^[9]。处

于前驱期的患者口腔黏膜会出现灼痛感,大约 1 d 后灼痛部位出现白色或红色小点,再经 2~3 d 灼痛部位破损,再经 3~5 d 后溃疡愈合,具有不治而愈的特点。间歇期的长短因人而异,初发间歇期通常较长,随后逐渐缩短^[10]。RAU 虽然可以不治而愈,但其反复发作影响患者说话、进食,严重影响了患者的生活质量。目前大量研究显示 RAU 可能和遗传、精神压力、胃肠功能、内分泌、免疫、感染等多个因素有关^[11-13]。其中和免疫因素联系密切,免疫调节因子水平的异常可能导致机体病理性紊乱,与 RAU 的发生、发展有密切的关系,表现为人体无法正常的调节 TNF- α 、IL-6、IL-8 等促炎细胞因子水平^[14]。

本次研究结果显示,观察组血清 TNF- α 、IL-6 及 IL-8 水平均高于对照组 ($P<0.05$)。以上结果表明,RAU 患者血清 TNF- α 、IL-6 及 IL-8 水平均明显升高。TNF- α 主要是由巨噬细胞、T 淋巴细胞产生的因子,在机体中表现出的生物学作用具有双向性,一方面参与了机体免疫防护机制,在免疫功能的调节中具有重要作用;另外一方面也参与了免疫性疾病的发展^[15]。TNF- α 不仅对肿瘤有显著的杀伤作用,同时对机体炎症反应和免疫调节均具有重要作用,炎症、外伤等情况下会促进血清 TNF- α 上升,对机体具有一定的保护作用,但浓度过高则会导致组织细胞出现病理性损害^[16]。IL-6 主要是由巨噬细胞、单核细胞及 B 细胞等分泌的一种多肽物质,具有多种生物活性,可作用于多种细胞,参与了人体的抗感染防御、免疫调节、造血、炎症反应等^[17]。IL-8 为巨噬细胞、单核细胞及 T 细胞分泌的小分子量活性多肽。多种刺激如低氧、创伤、炎症、缺血等均可能促进多种细胞如白细胞、上皮细胞、胶质细胞分泌 IL-8。以往多数对于 RAU 的研究常把血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 等某一细胞因子作为研究对象,但各种细胞因子在机体中存在拮抗或者协同作用,进一步形成功能各异的细胞网络因子^[18]。文献研究显示,RAU 患者血清 TNF- α 浓度的升高可能影响血清 IL-6、IL-2 等细胞因子水平的改变,导致细胞因子网络被破坏,而血清 IL-6 水平的升高则会反馈性制约血清 TNF- α 水平的升高^[19]。因此对于多个指标进行联合检测可能更有意义。观察组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平低于对照组 ($P<0.05$),且 CD8⁺ 水平高于对照组 ($P<0.05$)。以上结果表明,RAU 患者存在免疫功能紊乱的情况,主要表现为 CD4⁺ 浓度降低,CD8⁺ 浓度升高,CD4⁺/CD8⁺ 水平下降。在人体免疫系统中,不同 T 细胞亚群互相协调,互相制约,当 T 细胞亚群数量发生改变时,可能导致人体出现免疫功能紊乱或出现自身免疫病。国外文献报道显示,在对 RAU 患者的研究中,CD4⁺ 浓度降低,CD8⁺ 浓度基本不变,CD4⁺/CD8⁺ 水平下降^[20]。与本次实验结果不一,可能与患者病情、检测流程、采集样本的时期等因素有关。相关性分析显示,血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平与 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 均呈负相关 ($P<0.05$)。以上结果表明,TNF- α 、IL-6、IL-8 水平的升高与人体免疫功能的紊乱存在一定的协同作用。提示检测 RAU 患者细胞因子水平的同时可对患者免疫功能的变化情况进行评价,治疗时可通过阻断细胞因子生成以及恢复患者免疫功能方面着手。

综上所述,RAU 疾病的发生与机体免疫功能障碍有关,检测患者 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平可反映出患者免疫功能水平。

参考文献(References)

[1] Karthikeyan P, Aswath N. Stress as an etiologic co-factor in recurrent aphthous ulcers and oral lichen planus [J]. J Oral Sci, 2016, 58(2): 237-240

[2] Gü lcan E. Serum lipid levels in patients with minor recurrent aphthous ulcers[J]. Am J Dent, 2015, 28(3): 133-136

[3] Bhalang K, Thunyakitpisal P, Rungsirisatean N. Acemannan, a polysaccharide extracted from Aloe vera, is effective in the treatment of oral aphthous ulceration [J]. J Altern Complement Med, 2013, 19(5): 429-434

[4] Vaillant L, Samimi M. Aphthous ulcers and oral ulcerations[J]. Presse Med, 2016, 45(2): 215-226

[5] Hamed S, Sadehpour O, Shamsardekani MR, et al. The Most Common Herbs to Cure the Most Common Oral Disease: Stomatitis Recurrent Aphthous Ulcer (RAU)[J]. Iran Red Crescent Med J, 2016, 18(2): e21694

[6] Cantekin K, Arslan D, Delikan E. Presence and distribution of dental enamel defects, recurrent aphthous lesions and dental caries in children with celiac disease[J]. Pak J Med Sci, 2015, 31(3): 606-609

[7] Stoopler ET, Sollecito TP. Recurrent Oral Ulcers[J]. JAMA, 2015, 313(23): 2373-2374

[8] Zwiri AM. Anxiety, Depression and Quality of Life among Patients with Recurrent Aphthous Ulcers [J]. J Contemp Dent Pract, 2015, 16(2): 112-117

[9] Deen K, Curchin C, Wu J. Successful treatment of recurrent aphthous ulcers with nicotine lozenges in a lifelong non-smoker[J]. Australas J Dermatol, 2015, 56(2): 143-144

[10] Al-Samadi A, Drozd A, Salem A, et al. Epithelial Cell Apoptosis in Recurrent Aphthous Ulcers[J]. J Dent Res, 2015, 94(7): 928-935

[11] Saraceno R, Perugia C, Ventura A, et al. Aphthous, celiac disease and other dental disorders in childhood [J]. G Ital Dermatol Venereol, 2016, 151(3): 239-243

[12] Babaee N, Baradaran M, Mohamadi H, et al. Therapeutic effects of Zataria Multiflora essential oil on recurrent oral aphthous lesion [J]. Dent Res J(Isfahan), 2015, 12(5): 456-460

[13] Montgomery-Cranny JA, Wallace A, Rogers HJ, et al. Management of Recurrent Aphthous Stomatitis in Children [J]. Dent Update, 2015, 42(6): 564-566, 569-572

[14] Najafi S, Yousefi H, Mohammadzadeh M, et al. Association study of interleukin-1 family and interleukin-6 gene single nucleotide polymorphisms in recurrent aphthous stomatitis [J]. Int J Immunogenet, 2015, 42(6): 428-431

[15] Avci E, Akarslan ZZ, Erten H, et al. Oxidative stress and cellular immunity in patients with recurrent aphthous ulcers[J]. Braz J Med Biol Res, 2014, 47(5): 355-360

[16] Ficarra G, Baroni G, Massi D. Pyostomatitis vegetans: cellular immune profile and expression of IL-6, IL-8 and TNF- α [J]. Head Neck Pathol, 2010, 4(1): 1-9

[17] Pekiner FN, Aytugur E, Demirel GY, et al. Interleukin-2, interleukin-6 and T regulatory cells in peripheral blood of patients with Behçet's disease and recurrent aphthous ulcerations [J]. J Oral Pathol Med, 2012, 41(1): 73-79

[18] Parent D. Oral ulcerations[J]. Rev Med Brux, 2011, 32(4): 210-218

[19] M K PD, D N S V R, Koppal S, et al. Efficacy of rebamipide and levamisole in the treatment of patients with recurrent aphthous ulcer-a comparative study[J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(11): ZC119-ZC122

[20] Lewkowicz N, Lewkowicz P, Kurnatowska A, et al. Innate immune system is implicated in recurrent aphthous ulcer pathogenesis [J]. J Oral Pathol Med, 2003, 32(8): 475-481