

TGF- β 1、TNF- α 、VEGF在慢性牙周炎中的意义

李元庆¹,付亚宁²,张丽娟³,王 瑛⁴,葛 莉⁵

(1.昌邑市人民医院耳鼻喉科,山东 昌邑 261300;

2.昌邑市人民医院口腔修复科 山东 昌邑 261300;

3.昌邑市人民医院查体中心,山东 昌邑 261300;

4.陆军第八十集团军医院神经内科,山东 潍坊 261041;

5.潍坊市人民医院病理科,山东 潍坊 261041)

摘要:目的 分析慢性牙周炎患者血清中转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和牙龈组织中血管内皮生长因子(VEGF)的表达变化。方法 选取2017年1月-2021年12月于昌邑市人民医院就诊的慢性牙周炎患者40例作为试验组,并选取40例同期牙周健康者作为对照组。比较两组血清TGF- β 1、TNF- α 及牙龈组织VEGF表达,并研究TGF- β 1、TNF- α 、VEGF与临床特征的关系,另采用Pearson相关性分析TGF- β 1与TNF- α 、VEGF的关系。结果 试验组血清TGF- β 1表达低于对照组,血清TNF- α 及牙龈组织中VEGF表达高于对照组($P<0.05$);慢性牙周炎患者血清TGF- β 1、TNF- α 、VEGF表达与牙周炎严重程度有关($P<0.05$),但与牙周炎持续时间、牙齿缺损数目无关($P>0.05$);Pearson相关性分析显示,慢性牙周炎患者血清TGF- β 1低表达水平与TNF- α ($r=-0.301$, $P=0.029$)及组织VEGF($r=-0.281$, $P=0.039$)的高表达呈负相关。结论 慢性牙周炎患者血清中TGF- β 1表达降低,而血清TNF- α 及组织VEGF表达升高,TGF- β 1表达与TNF- α 、VEGF表达密切相关,三者在慢性牙周炎的形成中起一定作用。

关键词:慢性牙周炎;转化生长因子 β 1;肿瘤坏死因子 α ;血管内皮生长因子

中图分类号:R781.4

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.23.022

文章编号:1006-1959(2023)23-0088-04

Significance of TGF- β 1, TNF- α and VEGF in Chronic Periodontitis

LI Yuan-qing¹, FU Ya-ning², ZHANG Li-juan³, WANG Ying⁴, GE Li⁵

(1.Department of Otorhinolaryngology, Changyi People's Hospital, Changyi 261300, Shandong, China;

2.Department of Prosthodontics, Changyi People's Hospital, Changyi 261300, Shandong, China;

3.Department of Regular Physical Examination Centre, Changyi People's Hospital, Changyi 261300, Shandong, China;

4.Department of Internal Medicine-Neurology, Army 80th Group Military Hospital, Weifang 261041, Shandong, China;

5.Department of Pathology, Weifang People's Hospital, Weifang 261041, Shandong, China)

Abstract: Objective To analyze the expression changes of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), tumor necrosis factor α (TNF- α) in serum and vascular endothelial factor (VEGF) in gingival tissue in patients with chronic periodontitis. **Methods** Forty patients with chronic periodontitis who were treated in Changyi People's Hospital from January 2017 to December 2021 were selected as the experimental group, and 40 periodontally healthy people in the same period were selected as the control group. Serum TGF- β 1, TNF- α and VEGF expression in gingival tissue were compared between the two groups, and the relationship between TGF- β 1, TNF- α , VEGF and clinical characteristics was studied. Pearson correlation was used to analyze the relationship between TGF- β 1 and TNF- α , VEGF. **Results** The expression of serum TGF- β 1 in the experimental group was lower than that in the control group, and the expression of serum TNF- α and VEGF in gingival tissue was higher than that in the control group ($P<0.05$). The expression of serum TGF- β 1, TNF- α and VEGF in patients with chronic periodontitis was related to the degree of periodontitis ($P<0.05$), but not related to the duration of periodontitis and the number of tooth defects ($P>0.05$). Pearson correlation analysis showed that the low expression level of serum TGF- β 1 in patients with chronic periodontitis was negatively correlated with the high expression of TNF- α ($r=-0.301$, $P=0.029$) and tissue VEGF ($r=-0.281$, $P=0.039$). **Conclusion** The expression of serum TGF- β 1 of patients with chronic periodontitis is decreased, while the expression of serum TNF- α and VEGF in gingival tissue is increased. The expression of TGF- β 1 is closely related to the expression of TNF- α and VEGF, which play a certain role in the formation of chronic periodontitis.

Key words: Chronic periodontitis; Transforming growth factor- β 1; Tumor necrosis factor alpha; Vascular endothelial factor

基金项目:潍坊市卫生健康委科研项目(编号:WFWSJK-2022-108)

作者简介:李元庆(1973.3-),男,山东昌邑人,本科,主治医师,主要从事鼻腔疾病的研究

通讯作者:葛莉(1986.10-),女,山东潍坊人,硕士,主治医师,主要从事基础医学研究

牙周炎(periodontitis)是一种慢性炎症反应性疾病,慢性牙周炎是最常见的牙周炎类型,由于牙齿支持组织的非特异性感染破坏,会导致不可逆的牙周组织的损害,造成牙齿松动甚至脱落^[1-3]。牙周炎的发病机制尚未明确,但研究发现^[4-6],牙周炎不仅和致病菌对牙龈组织的损害有关,机体的免疫应答反应参与了牙周炎组织损害的过程,微生物激发的机体免疫反应,各种细胞活化产生的细胞因子在牙周炎的发生过程中起到了重要的作用。细胞活化产生的细胞因子有数种,大致可分为致炎性细胞因子和抗炎性细胞因子^[7]。转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)位于染色体19q3,是TGF- β 三种亚型中最重要的一种,是与纤维化相关的细胞因子,主要为炎症细胞或成纤维细胞产生,参与促进伤口的愈合和肉芽组织的形成,调节免疫反应等^[8-10]。TGF- $\beta 1$ 对牙周炎的发生、发展也起一定的抑制作用^[11]。根据分泌的细胞因子的不同,将CD4⁺T细胞分为Th0、Th1、Th2三种亚型。其中,Th1细胞参与细胞免疫,主要分泌肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-2、interferon- γ 等。TNF- α 具有广泛的生物学效应,参与机体正常的炎症反应和免疫反应^[13,14]。血管内皮生长因子(vascular endothelial factor, VEGF)可作用于血管内皮细胞,促进新生血管的形成,增加血管通透性。VEGF同样参与慢性炎症的血管形成^[15,16]。本研究通过检测牙周炎患者血清中TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 及慢性牙周炎牙龈组织中VEGF表达水平的变化并分析与常见临床病理参数的关系,探讨TGF- $\beta 1$ 表达变化与TNF- α 、VEGF表达变化之间的关系,进一步研究TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 、VEGF在牙周炎发生发展过程中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将2017年1月-2021年12月在昌邑市人民医院口腔科确诊的慢性牙周炎患者40例作为试验组,其中男17例、女23例;年龄23~65岁,平均年龄(45.45 \pm 11.81)岁。同时选择40例同期牙周健康的人群作为对照组,其中男19例、女21例;年龄21~65岁,平均年龄(43.38 \pm 12.32)岁。纳入标准:试验组符合慢性牙周炎诊断标准,对照组均为健康人群。排除标准:系统疾病、血液疾病、肿瘤史;3个月内使用抗生素及免疫抑制剂;6个月未进行任何牙周治疗;孕期妇女及哺乳期妇女。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

本研究经昌邑市人民医院伦理委员会批准通过,所有入选者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 牙龈组织标本收集方法:中重度者选择因牙周病需拔除的患牙;轻度及对照组选择因牙体疾病、阻生等无保留价值患牙。常规拔牙,取拔牙创边缘牙龈组织。血标本收集方法:所有观察对象抽取清晨空腹静脉血6 ml,放入非抗凝试管。

1.2.2 VEGF表达水平 牙龈组织放入10%的中性福尔马林固定12 h,经梯度酒精脱水、二甲苯透明行常规HE染色。VEGF染色,每个切片随机选择3个视野,观察染色效果,评价染色强度及阳性细胞的百分数。染色阳性的细胞面积<5%、5%~25%、26%~50%、51%~75%、>75%,依次计分0、1、2、3、4分;着色强度标记为-、+、++、+++ ,依次计分0、1、2、3分;染色阳性的细胞面积分数和着色强度分数相乘,<6分判读为低表达, ≥ 6 分判读为高表达。

1.2.3 TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 表达水平检测 抽取空腹外周静脉血6 ml,3000 r/min、离心10 min后取血清,存放在-80℃冰箱。检测血清TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 的表达水平时,从冰箱取出血清,放在冰上解冻,2000 r/min离心15 min,取上清液,然后按照ELISA试剂盒说明书使用双抗体夹心ABC-ELISA法检测。试剂盒购买于上海江莱生物科技有限公司。通过美国全自动酶联检测仪450 nm处读取OD值,将所读取的OD值代入试剂标准曲线和标准公式计算出相对应的样品浓度。按照TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 的表达水平,分为TGF- $\beta 1$ 低表达组(≤ 40 pg/L)、TGF- $\beta 1$ 高表达组(>40 pg/L);血清TNF- α 低表达组(≤ 55 pg/ml)、TNF- α 高表达组(>55 pg/ml)。

1.3 观察指标 ①比较两组血清TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 表达和组织中VEGF表达;②分析TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 、VEGF与临床特征参数的关系[牙周炎分级:根据世界卫生组织指定的标准,轻度牙周炎:牙龈有炎症,出血指数(bleeding index, BI) ≥ 2 ,牙周袋深度(probing depth, PD)3~4 mm,附着丧失(attachment loss, AL)1~2 mm,X片显示牙槽骨吸收不超过牙根长度的1/3;中重度牙周炎:BI ≥ 2 ,PD ≥ 5 mm,AL ≥ 3 mm,X片显示牙槽骨吸收不超过牙根长度的1/3];③分析TGF- $\beta 1$ 表达与TNF- α 、VEGF表达的关系。

1.4 统计学方法 采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资

料以 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验;采用 Pearson 相关性分析 TGF- β 1 与 TNF- α 、VEGF 的相关性,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 TGF- β 1、TNF- α 、VEGF 水平比较 试验组血清 TGF- β 1 表达低于对照组,血清 TNF- α 及组织中 VEGF 表达高于对照组($P<0.05$),见表 1。

2.2 血清 TGF- β 1、TNF- α 及组织 VEGF 水平与临床特征的关系 慢性牙周炎患者血清 TGF- β 1、TNF- α 、VEGF 表达与牙周炎程度有关($P<0.05$),但与牙周炎持续时间、牙齿缺损数目无关($P>0.05$),见表 2。

2.3 血清 TGF- β 1 与 TNF- α 、VEGF 的关系 Pearson 相关性分析显示,慢性牙周炎患者血清 TGF- β 1 低表达水平与 TNF- α ($r=-0.301$, $P=0.029$)及组织 VEGF ($r=-0.281$, $P=0.039$)的高表达呈负相关,见图 1。

表 1 两组 TGF- β 1、TNF- α 、VEGF 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TGF- β 1(pg/L)	TNF- α (pg/ml)	VEGF 表达(分)
试验组	40	36.10 \pm 14.09	62.35 \pm 15.19	6.50 \pm 2.93
对照组	40	49.45 \pm 14.62	45.95 \pm 10.87	3.45 \pm 2.48
t		4.079	6.068	8.717
P		0.000	0.000	0.003

表 2 慢性牙周炎患者血清 TGF- β 1、TNF- α 及组织 VEGF 与临床特征的关系(n)

指标	n	TGF- β 1 低($n=24$)	χ^2	P	TNF- α 高($n=22$)	χ^2	P	VEGF 高($n=23$)	χ^2	P
持续时间(个月)			2.934	0.087		0.030	0.860		0.272	0.601
≤ 6	16	7			9			10		
> 6	24	17			13			13		
牙齿缺损(颗)			0.067	0.796		0.382	0.536		1.520	0.217
≤ 1	19	11			9			9		
> 1	21	13			12			14		
牙周炎程度			5.434	0.020		4.642	0.032		5.038	0.025
轻度	16	3			3			3		
中重度	24	21			19			20		

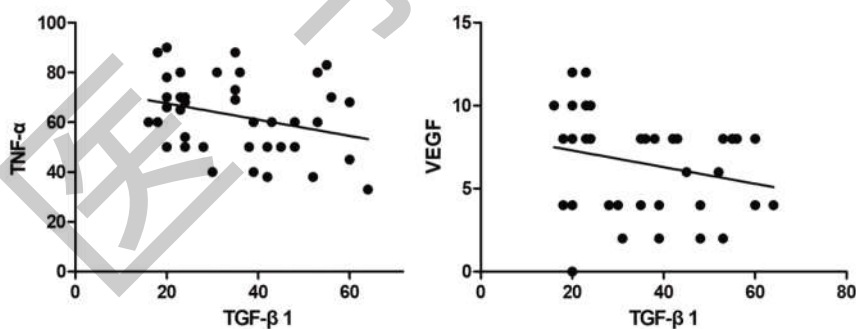


图 1 TGF- β 1 与 TNF- α 、VEGF 的关系

3 讨论

牙周炎占口腔科就诊的大多数,牙周组织的损害是感染微生物后直接和(或)间接引起机体的免疫反应的结果^[17]。探讨牙周炎的发病机制,寻求新的有助于预防和指导临床治疗的生物分子对于牙周炎的研究有重要的意义。

TGF- β 1 是由炎症细胞和成纤维细胞等分泌的细胞因子,具有广泛的生物学活性,参与血管生成、

细胞外基质形成、炎症反应及损伤修复等的调节过程^[18]。有研究报道^[11],TGF- β 1 在健康人牙龈组织中的含量明显高于牙周炎组,TGF- β 1 能够抑制炎症反应,促进牙龈的修复。而本研究显示,试验组血清 TGF- β 1 表达低于对照组 ($P<0.05$),进一步验证了 TGF- β 1 的低表达参与慢性牙周炎的过程。

TNF- α 能够刺激黏附分子的表达和炎性介质的产生,启动炎症反应,提高破骨细胞的活性,从而

导致骨吸收,这也是牙周炎形成的机制之一。既往研究指出^[19],TNF- α 在牙周炎患者血清中出现表达增高的现象。在炎症过程中,有血管的改建,VEGF能够刺激血管内皮细胞的生长,促进新生血管的形成,低氧的环境能够刺激VEGF的分泌,而牙龈炎感染的细菌大多为厌氧菌,局部循环障碍,炎性因子也会促进VEGF的分泌,因此慢性牙周炎牙龈组织在这些因素下,可导致VEGF的表达增加^[20]。本研究进一步探讨了在牙周炎患者血清中TNF- α 和牙龈组织中VEGF的表达,结果发现试验组血清TNF- α 及组织中VEGF表达高于对照组($P<0.05$),说明TNF- α 、VEGF的异常表达参与了牙周炎的过程。同时,本研究进一步探讨TGF- β 1、TNF- α 、VEGF与临床特征参数的关系,发现慢性牙周炎患者血清TGF- β 1、TNF- α 、VEGF表达水平与牙周炎程度有关($P<0.05$)。且Pearson相关性分析显示,慢性牙周炎患者血清TGF- β 1低表达水平与TNF- α ($r=-0.301, P=0.029$)及组织VEGF ($r=-0.281, P=0.039$)的高表达呈负相关,说明TGF- β 1参与影响炎症因子分泌的过程,并且与新生血管的形成有关,但TGF- β 1影响TNF- α 、VEGF的机制及其相互关系尚需要继续研究。

综上所述,慢性牙周炎患者血清TGF- β 1表达降低,血清TNF- α 和牙龈组织中VEGF表达增高,且TGF- β 1低表达与TNF- α 、VEGF表达密切相关,三者共同参与了慢性牙周炎的过程。

参考文献:

- [1]马思环,董伊雯,马晓东.慢性牙周炎合并慢性阻塞性肺疾病患者血清IL-6、IL-8水平变化[J].中国医师杂志,2022,24(2):285-287.
- [2]Choi S, Kim K, Chang J, et al. Association of Chronic Periodontitis on Alzheimer's Disease or Vascular Dementia [J]. J Am Geriatr Soc, 2019, 67(6):1234-1239.
- [3]Luo W, Li Y, Luo Z, et al. Chronic atrophic gastritis aggravate chronic periodontitis with Helicobacter pylori infection and CD4+Th cytokines infiltration[J]. Histol Histopathol, 2020, 35(7):665-672.
- [4]Wang J, Wang B, Lv X, et al. NIK inhibitor impairs chronic periodontitis via suppressing non-canonical NF- κ B and osteoclastogenesis[J]. Pathog Dis, 2020, 78(7):ftaa045.
- [5]Majumder P, Panda SK, Ghosh S, et al. Interleukin gene polymorphisms in chronic periodontitis: A case-control study in the Indian population[J]. Arch Oral Biol, 2019, 101:156-164.
- [6]魏媛,朱雅男,杨卫东. Toll样受体-4抑制剂 TAK-242 对大鼠重度牙周炎骨吸收的影响 [J]. 口腔疾病防治, 2022, 30(3):160-168.
- [7]胡耕瑜. 正畸治疗对牙周炎患者牙周状态和肿瘤坏死因子- α 白细胞介素-1 β 白细胞介素-5 的影响 [J]. 中国药物与临床, 2019, 19(23):4128-4130.
- [8]Qian W, Cai X, Qian Q, et al. Astragaloside IV modulates TGF- β 1-dependent epithelial-mesenchymal transition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(9):4354-4365.
- [9]Ding A, Bian YY, Zhang ZH. SP1/TGF- β 1/SMAD2 pathway is involved in angiogenesis during osteogenesis [J]. Mol Med Rep, 2020, 21(3):1581-1589.
- [10]Zhang L, Hu J, Meshkat BI, et al. LncRNA MALAT1 Modulates TGF- β 1-Induced EMT in Keratinocyte [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21):11816.
- [11]李爽,孟晓雪,周建业,等.慢性牙周炎患者血清中TGF- β 各亚型的定量分析[J].口腔医学研究,2017,33(6):618-622.
- [12]Gong W, Hoffmann JM, Stock S, et al. Comparison of IL-2 vs IL-7/IL-15 for the generation of NY-ESO-1-specific T cells [J]. Cancer Immunol Immunother, 2019, 68(7):1195-1209.
- [13]Weigelt CM, Fuchs H, Schöninger T, et al. AAV-Mediated Expression of Human VEGF, TNF- α , and IL-6 Induces Retinal Pathology in Mice [J]. Transl Vis Sci Technol, 2021, 10(11):15.
- [14]李宝坤,陈晓涛,杨柯,等.慢性牙周炎患者外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞表达 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(5):487-490.
- [15]Mamer SB, Wittenkeller A, Imoukhuede PI. VEGF-A splice variants bind VEGFRs with differential affinities [J]. Sci Rep, 2020, 10(1):14413.
- [16]郭丹,张娟,王洪涛,等. miR-150 靶向调控血管内皮生长因子影响脑梗死后神经康复和血管新生 [J]. 重庆医科大学学报, 2022, 47(4):381-386.
- [17]刘洋,许莹,董丹江. P 物质在牙周炎诱导全身炎症反应致多器官功能损伤中的作用和机制研究 [J]. 口腔医学, 2022, 42(2):97-102.
- [18]李中,黄旭,陈守峰,等. 吡非尼酮通过抑制 TGF- β 1 通路和炎症反应预防大鼠尿道损伤后的纤维化及狭窄 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(3):411-417.
- [19]郑学彬,龙淑会,李富杰,等.老年慢性牙周炎合并冠心病患者龈沟液及血清中IL-1 β 、TNF- α 、IL-18及IFN- γ 的表达与临床意义[J].中国老年学杂志,2020,40(11):2360-2363.
- [20]胡运苑,苏黎,梁惠均. VEGF 和 ICAM-1 在慢性牙周炎患者牙龈组织中的表达及意义 [J]. 现代诊断与治疗, 2019, 30(3):347-349.

收稿日期:2022-11-18;修回日期:2023-01-11

编辑/杜帆