

外源性 IL-10 对炎症牙龈组织中 IL-6 和 ICAM-1 表达的影响

杨丕山 赵 民 戚向敏 葛少华

摘要 目的:探讨外源性 IL-10 对炎症牙龈组织中 IL-6 和细胞间粘附分子-1(ICAM-1)表达的影响。方法:采用免疫组化技术检测牙周袋内用或不用 IL-10 时成人牙周炎患者牙龈组织中 IL-6 和 ICAM-1 的表达。结果:IL-6 和 ICAM-1 均可在炎症牙龈组织的多种细胞表达。IL-6 主要表达于淋巴细胞、单核—巨噬细胞、成纤维细胞和内皮细胞。ICAM-1 主要表达于淋巴细胞、上皮细胞、单核—巨噬细胞、成纤维细胞和内皮细胞。使用 Image-Proplus 软件系统测得的 IL-6 和 ICAM-1 表达的 IOD 值在实验组和对照组间有显著性差异($P < 0.05$)。结论:外源性 IL-10 对炎症牙龈组织中 IL-6 和 ICAM-1 的表达有下调作用。

关键词 细胞因子 牙龈组织 成人牙周炎 免疫组织化学

Effects of Exogenous IL-10 on IL-6 and ICAM-1 Expression in Inflammatory Gingival Tissue

Yang Pishan, Qi Xiangmin, Ge Shaohua

College of Stomatology, Shandong University

Zhao Min

The 106 Hospital of PLA, Jinan

Abstract

Objective: This study aimed at investigating effects of exogenous interleukine-10 (IL-10) on IL-6 and intercellular adhesion molecular (ICAM-1) expression in inflamed gingival tissue. **Methods:** The expression of IL-6 and ICAM-1 was examined using immunohistochemical techniques. Inflammatory gingival tissue treated with IL-10 was taken as the experimental group and the same patient's inflammatory gingival tissue without treatment of IL-10 was included into the control group. **Results:** IL-6 expression was found mainly in monocytes, macrophages, lymphocytes, endotheliocytes and fibroblasts. The expression of ICAM-1 was found mainly in epithelial cells, monocot-macrophages, lymphocytes, endotheliocytes and fibroblasts. The immunohistochemical optical density (IOD) of the expression of IL-6 and ICAM-1 was detected by using Image-Proplus software, and the results showed that the expression in the experimental group differed significantly from that in the control group. **Conclusion:** The exogenous IL-10 may down-regulate IL-6 and ICAM-1 expression in inflammatory gingival tissue.

Key words: interleukine-10 gingival tissue interleukine-6 intercellular adhesion molecular immunohistochemistry

细胞因子在牙周病免疫病理过程中起重要作用,IL-1、IL-6、TNF- α 、细胞间粘附分子-1 (intercellular adhesion molecular, ICAM-1) 等直接或间接参与炎症反应和牙周组织的破坏过程。目前有关牙周病中抗炎性细胞因子对致炎性细胞因子的作用所知甚少。本研究观察外源性 IL-10 对炎症牙龈组织中 IL-6 和 ICAM-1 表达的影响,探讨牙周病变中抗炎

性细胞因子对致炎性细胞因子的调控作用。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和材料

小鼠抗人 IL-6 单克隆抗体、小鼠抗人 ICAM-1 单克隆抗体、SABC 试剂盒、DAB 显色试剂盒及粘片剂 poly-lysine 等均购自武汉博士德公司。人重组 IL-10 (Sigma 公司,美国) 滤纸片的制备:将直径 5 mm 的滤纸圆片浸入 PBS 稀释的 IL-10 中,使每张滤纸片约含 IL-10 0.01 μ g,无菌操作下将滤纸片分装,置入-20 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

1.2 研究对象

选择 1999 年 7 月 ~ 12 月山东大学口腔医院牙周粘膜科成人牙周炎患者 15 例为研究对象,其中男性 8 例,女性 7 例,年龄 30 ~ 50 岁,平均年龄 38.5 岁。纳入标准: 临床确诊为成人牙周炎患者; 下颌两侧具有牙龈出血指数相同、近中牙周袋均 5 mm 的同名后牙; 无系统性疾病; 就诊前 3 个月起未服用免疫制剂和抗生素; 患者同意参加本研究。

1.3 研究方法

1.3.1 组织标本收集及处理 患者全口洁、刮治后,在牙龈出血指数相同、近中牙周袋均 5 mm 的下颌两侧同名后牙的一侧牙的近中牙周袋放置含 IL-10 的滤纸片(实验组),另一侧牙的近中牙周袋放置含生理盐水滤纸片作自身对照(对照组)。每日更换滤纸片,连续 3 d 后切取适当大小的牙龈组织(以不影响愈合后的牙龈外形为限)。切下的组织立即包埋,液氮速冻,以 4 ~ 5 μm 的厚度连续切片,实验组和对照组切片顺序相同。用 SABC 法做 IL-6 或 ICAM-1 的免疫组化染色。阴性对照用正常血清稀释液代替一抗,同法染色。

1.3.2 阳性染色细胞的观察与分析 光镜下观察染色细胞的类型,IL-6 及 ICAM-1 表达阳性细胞均被染成棕褐色。并使用 IMAGE-PROPLUS 软件系统测定切片染色的免疫组化光密度值(immu-no-histio-chemical optical density, IOD)。每张切片自染色中心区上下左右各选 1 个视野分别测定,取其平均值作为整张切片的 IOD 值。

1.4 数据处理

所有数据采用配对设计的 *t* 检验作统计处理。

2 结 果

炎症牙龈组织中,IL-6 主要表达于单核-巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞和内皮细胞,且主要集中于淋巴细胞丰富的区域(图 1、2)。ICAM-1 主要表达于上皮细胞、单核-巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞(图 3、4)。



图 1 IL-6 在炎症牙龈组织中的表达 SABC ×100

Fig 1 Expression of IL-6 in inflamed gingival tissue SABC ×100

15 例患者牙龈组织 IL-6、ICAM-1 表达的 IOD 值见表 1。从表 1 可见实验组牙龈组织 IL-6、ICAM-1 表达的 IOD 值明显低于对照组。

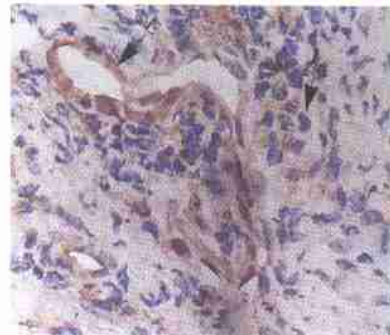


图 2 IL-6 表达于炎症牙龈组织中的炎细胞(L)及内皮细胞(E) SABC ×200

Fig 2 Expression of IL-6 in inflammatory cells and endotheliocytes of inflamed gingival tissue SABC ×200

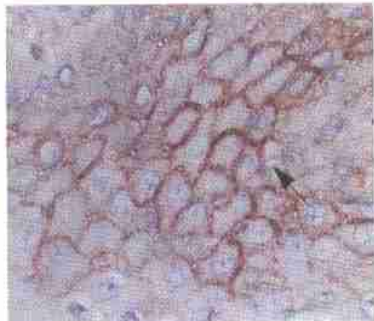


图 3 ICAM-1 在炎症牙龈组织中上皮细胞的表达 SABC ×400

Fig 3 Expression of ICAM-1 in epithelial cells of inflamed gingival tissue SABC ×400



图 4 ICAM-1 在炎症牙龈组织中表达于内皮细胞(E)及固有层炎细胞(L) SABC ×200

Fig 4 Expression of ICAM-1 in endotheliocytes and inflammatory cells of inflamed gingival tissue SABC ×200

3 讨 论

牙周病的病损过程中有多种细胞参与这一过程,如淋巴细胞、巨噬细胞、单核细胞等。这些免疫活性细胞是通过产生大量炎症因子来介导炎症过

程的,IL-6和ICAM-1是其中两种重要的致炎因子。IL-6在健康牙龈组织中基本不表达,而在炎症牙周组织中有特征性分布且表达水平与炎症程度密切相关。本研究发现在炎症牙龈组织中IL-6有较强表达,主要表达于淋巴细胞、单核—巨噬细胞、内皮细胞、成纤维细胞。这也从组织学上证实了IL-6的来源。笔者认为在炎症牙龈组织中IL-6表达明显提高的主要原因是某些细胞(淋巴细胞、内皮细胞、成纤维细胞等)受到炎症因子如IL-1、TNF- α 及细菌代谢产物刺激后分泌IL-6¹⁻⁴,并且分泌的IL-6能与IL-1、TNF- α 一起共同参与介导炎症反应和牙周组织的破坏过程⁵。此外,IL-6是引起骨吸收的介质,牙周炎时牙槽骨的破坏吸收可能与局部IL-6水平提高有关。

表1 15例患者牙龈组织IL-6和ICAM-1表达的IOD值($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 IOD value of IL-6 and ICAM-1 expression in 15 patients($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-6	ICAM-1
对照组	15	108660.1 \pm 15582.9 *	110025.5 \pm 18911.0 *
实验组	15	93706.3 \pm 20686.1	102542.1 \pm 19295.4

* $P < 0.05$

ICAM-1属粘附分子免疫蛋白超家族,在正常牙龈组织的结合上皮可见其表达,但在炎症牙龈组织中其表达明显增强,可见于结合上皮、牙周袋上皮及结缔组织等⁶。本研究显示炎症牙龈组织中,ICAM-1广泛表达于上皮细胞、内皮细胞、淋巴细胞、单核—巨噬细胞、成纤维细胞。在牙周炎时,淋巴细胞、巨噬细胞等聚集到炎症部位释放的IL-1、TNF- α 以及细菌感染时存在的内毒素和其它化学趋化剂都可刺激上皮细胞、内皮细胞、淋巴细胞等表达ICAM-1,使ICAM-1在炎症牙龈组织中的表达明显增强⁷。而ICAM-1能增强抗原递呈细胞(APC)的递呈功能,介导白细胞与血管内皮、淋巴细胞与成纤维细胞之间的粘附,对引导淋巴细胞向龈沟迁移及破骨细胞分化、成熟起重要作用^{8,9}。

IL-10是有多向性效应的细胞因子,能抑制T辅助诱导细胞(T-help-inducer cell,Thi)和B细胞合成炎症介质,抑制炎症因子IL-1和IL-6的作用,且能诱导IL-1受体拮抗剂的产生增加,从而在抑制免疫反应和炎症反应中起重要作用。本研究发现,IL-10对炎症牙龈组织中IL-6和ICAM-1的表达有下调作用。IL-10下调炎症牙龈组织中IL-6表达可能

既能直接抑制某些细胞产生IL-6,也能通过抑制IL-1、TNF、IL-2、GM-CSF等的产生,间接抑制IL-6分泌。目前关于IL-10对ICAM-1作用的研究还较少,本研究结果显示IL-10能下调炎症牙龈组织中ICAM-1的表达。笔者认为原因可能是由于IL-10抑制了TNF、IL-1、IL-6、IL-2、粒细胞—巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor,GM-CSF)等炎症因子的释放,从而间接减少了ICAM-1在炎症牙龈组织的表达。

牙周炎时,各类细胞因子形成网络调控着疾病的发生发展。本研究初步探讨了牙周炎中IL-10对IL-6、ICAM-1的调控。但是由于慢性牙周炎炎症过程中有多种细胞因子参与,IL-10与这些因子间的相互作用呈多向性、复杂性。因此,对牙周炎中IL-10的抗炎作用的确切机制尚需更深入研究。

参考文献

- 1 Okada N, Kodayashi M, Mugikura K, et al. Interleukin-6 production in fibroblast derived from periodontal tissues in differentially regulated by cytokines and glucocorticoid. *J Periodontol Res*, 1997, 32(7): 559 ~ 569
- 2 Naruishi K, Takashiba S, Chou HH, et al. Role of soluble interleukin-6 receptor in inflamed gingiva for binding of interleukin-6 to gingival fibroblasts. *J Periodontol Res*, 1999, 34(6): 296 ~ 300
- 3 Chen CC, Chang KL, Huang JF. Interleukin-6 production by human gingival fibroblasts following stimulation with actinobacillus actinomycetemittans. *Kao Hsuiung I Hsueh Ko Hsueh Tsa Chih*, 1998, 14(6): 367 ~ 378
- 4 Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JI. Increased presence of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. *J Periodontol*, 1998, 69(8): 899 ~ 910
- 5 Kent LW, Rahemtulla F, Michalek SM. Interleukin-1 and porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide stimulation of IL-6 production by fibroblasts derived from healthy or periodontally diseased human gingival tissue. *J Periodontol*, 1999, 70(3): 274 ~ 282
- 6 Crawford JM. Distribution of ICAM-1, LFA-3 and HLA-DR in healthy and gingival tissue. *J Periodontol Res*, 1992, 27(4): 291 ~ 298
- 7 Takeuchi Y, Sakurai K, Ike I, et al. ICAM-1 expressing pocket epithelium, LFA-1 expressing T cells in gingival tissue and gingival crevicular fluid as features characterizing inflammatory cell invasion and exudation in adult periodontitis. *J Periodontol Res*, 1995, 30(6): 426 ~ 435
- 8 Murakami S, Shimabukuro Y, Sho T, et al. Immunoregulatory roles of adhesive interactions between lymphocytes and gingival fibroblast. *J Periodontol Res*, 1997, 32(1): 110 ~ 114
- 9 Tonetti MS. Molecular factor associated with compartmentalization of gingival immune responses and transepithelial migration. *J Periodontol Res*, 1997, 32(1): 104 ~ 109

(2001-01-18 收稿, 2002-04-20 修回)

(本文编辑 邓本姿)