

文章编号: 1000-1182(2006)06-0523-04

# 白细胞介素-1B-511基因多态性与牙周炎进展的关系

伍雪丽<sup>1</sup>袁萍<sup>2</sup>袁周学东<sup>1</sup>

1. 口腔生物医学工程教育部重点实验室 四川大学 2. 四川大学华西口腔医院 牙周科 四川 成都 610041 冤

**[摘要]** 目的 了解不同程度慢性牙周炎病程的自然发展及其与白细胞介素-1B-511(IL-1B-511)基因多态性的关系。方法 选取慢性牙周炎患者100例,分别在基线、6个月、12个月时检查全口余留牙的临床附着丧失量(AL),每个牙检查6个位点。棉拭子刮取患者颊黏膜脱落细胞,采用聚合酶链反应检测IL-1B-511基因型分布。结果 1年内,100例患者平均AL增加1.43 mm;病情进展缓慢(全口年平均AL增加不超过1.0 mm)的16例,进展快速(全口年平均AL增加超过1.0 mm)的84例;IL-1B-511基因型分布及等位基因分布频率在病情进展缓慢和快速的患者间未发现统计学差异( $P>0.05$ )。基线检查时为轻中度牙周炎的患者在1年的观察期内出现全口年平均AL增加超过1.0 mm的人数多于重度牙周炎患者( $P<0.05$ );从患牙部位看,两次复查时AL增加均超过2.0 mm的牙位以磨牙为多,多于前牙和前磨牙;且在重度牙周炎患者中更易出现,多于轻中度牙周炎患者( $P<0.05$ )。结论 不同个体牙周炎的进展程度不一致;AL改变与白细胞介素-1基因多态性尚未发现有相关性。

**[关键词]** 慢性牙周炎; 白细胞介素-1基因多态性; 牙周附着丧失

**[中图分类号]** R781.4 **[文献标识码]** A

Association of the Progress of Chronic Periodontitis with Interleukin-1B-511 Genetic Polymorphisms WU Xue-li<sup>1</sup>, HUANG Ping<sup>2</sup>, ZHOU Xue-dong<sup>1</sup>. (1. Key. Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Dept. of Periodontology, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**[Abstract]** Objective To study the natural progress of different degree chronic periodontitis and its association with IL-1B-511 genetic polymorphisms. Methods 100 subjects with chronic periodontitis were selected and examined at baselined and in the 6 month and in 1 year on attachment loss at 6 sites of each tooth. DNA samples were obtained with buccal swabbing technique and were further analyzed for IL-1B-511 genotype polymorphisms using PCR-RFLP-based method in all subjects. Results The mean AL increases were 1.43 mm within 1 year. Among 100 subjects, 16 patients with moderate progression ( $0\text{ mm} < \text{AL increase/a year} \leq 1.0\text{ mm}$ ), 84 patients with rapid progression of periodontal disease ( $\text{AL increase/a year} > 1.0\text{ mm}$ ). There was no significant difference for the distribution and frequency of IL-1B-511 genotype and alleles between the  $\text{AL increase/a year} > 1.0\text{ mm}$  group and  $\text{AL increase/a year} \leq 1.0\text{ mm}$  group. The progression of periodontal disease ( $\text{AL increase/a year} > 1.0\text{ mm}$  group) was significantly higher in the non-severe chronic periodontitis group than in the severe group ( $P<0.05$ ). The percentage of molar was higher as far as the rapid-progress sites ( $\text{AL increase} > 2.0\text{ mm}$  both in the 6<sup>th</sup> and the 12<sup>th</sup> months examination) were concerned than that of premolar and anterior ( $P<0.05$ ). The number of progressed sites in the severe group was higher than the non-severe chronic periodontitis group ( $P<0.05$ ). Conclusion The progress of chronic periodontitis varies individually. No specific relationship was found between the progression of chronic periodontitis and IL-1 gene polymorphisms.

**[Key words]** severe chronic periodontitis; interleukin-1 genetic polymorphism; periodontal attachment loss

牙周炎是一种慢性感染性疾病,是成人失牙的主要原因。流行病学调查显示,牙石、菌斑与牙周炎的发生成正相关关系,但少数人群虽然牙石、菌

斑较少,却发生严重的牙周破坏,说明牙周炎的发生、发展存在个体差异<sup>[1]</sup>。遗传因素在其发病中可能具有重要的促进作用<sup>[2]</sup>。近年来,牙周炎敏感性的相关基因成为研究热点,其中白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)基因多态性备受瞩目<sup>[3]</sup>。IL-1是介导牙周炎症过程的主要细胞因子,其家族有3个

收稿日期: 2006-04-27; 修回日期: 2006-09-25

作者简介: 伍雪丽(1982-),女,贵州人,硕士研究生

通讯作者: 袁萍, Tel: 028-85502343

成员——IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-1ra, 相应的基因分别为IL-1A、IL-1B和IL-RN, 定位于2q13<sup>[4]</sup>。许多研究表明IL-1基因家族的多态性可作为评价个体对牙周疾病的敏感性指标<sup>[5]</sup>, IL-1A-889和IL-1B+3954的复合等位基因II即IL-1阳性基因型与牙周炎的严重程度密切相关<sup>[6]</sup>, 但多数停留在横断面研究上, 对于IL-1基因多态性与牙周炎的进展、破坏速度是否相关报道甚少。本研究纵向观察不同程度牙周炎患者牙周病变1年的自然进程, 并探讨其与IL-1B-511基因多态性的相关性。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

选取成都市某厂区100例牙周病患者, 其中男29例, 女71例, 年龄27~65岁, 要求全口余留牙至少16颗, 至少有4颗磨牙(不含第三磨牙); 不同象限至少有2个部位牙周袋探诊深度(probing depth, PD)不低于5 mm, 附着丧失量(attachment loss, AL)不低于2 mm; 无糖尿病、心血管病、甲亢等系统性疾病。

### 1.2 牙周检查

检查所有受试者的AL, 全口牙齿均接受检查, 每个牙检查6个位点。每位患者在纳入时做一次全口检查, 作为基线资料, 6个月、12个月时再做一次同样的检查。受检者均由同一位医生检查, 另一位医生进行记录, 检查者每次检查前都进行校正( $\kappa > 0.75$ )。根据患者全口牙齿的牙周平均附着丧失量, 将受检者分为2组<sup>[7]</sup>。①轻中度慢性牙周炎组: 全口余留牙平均AL在0.6~2.5 mm之间, AL $\geq 3$  mm的邻面少于8个, 分布于至少3个区域或最少6颗牙; 缺失牙不超过5颗(不包括第三磨牙或因正畸需要拔除牙、外伤脱落牙、大面积龋失牙及先天缺牙等)。②重度慢性牙周炎组: 全口余留牙平均AL $\geq 2.5$  mm, 至少3个象限内有1个或多个邻面AL $\geq 5$  mm, 缺失牙不超过14颗(不包括第三磨牙或因正畸需要拔除牙、外伤脱落牙、大面积龋失牙及先天缺牙等)。轻中度慢性牙周炎组46例, 男性7例, 女性39例, 年龄27~65岁, 平均53岁; 重度慢性牙周炎组54例, 男性22例, 女性32例, 年龄27~65岁, 平均54岁。

### 1.3 样本采集和DNA提取<sup>[8]</sup>

用无菌棉拭子刮取患者颊黏膜细胞, 室温下自然干燥过夜, 在无菌容器中保存。取颊黏膜拭子, 剥取拭子表层, 加入Chelex-100 150  $\mu$ L, 使其浸没标本, 再加入20 mg/mL蛋白酶K 4  $\mu$ L, 漩涡混匀, 55  $^{\circ}$ C水溶3 h, 煮沸10 min, 冰浴3 min, 14 000 r/min离心2 min, 取上清液, -20  $^{\circ}$ C保存。

### 1.4 IL-1B-511/Ava I 基因型分析<sup>[9]</sup>

采用PCR扩增IL-1B-511, 然后用Ava I限制性内切酶酶切以鉴定其基因型。PCR反应体系为20  $\mu$ L, 包括引物A、B各0.2  $\mu$ L(50  $\mu$ mol/L), dNTP 3  $\mu$ L(1 mmol/L), DNA模板3  $\mu$ L, 10 $\times$ PCR缓冲液2  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub>溶液1.3  $\mu$ L(25 mmol/L), Taq DNA聚合酶1.2 U, 用无菌去离子水补足体积至20  $\mu$ L。循环参数为预变性94  $^{\circ}$ C 5 min, 94  $^{\circ}$ C 35 s, 56  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 50 s共35个循环, 72  $^{\circ}$ C 5 min。目的基因扩增片段长度为304 bp。Ava I限制性内切酶酶切: 取PCR扩增产物5  $\mu$ L, Ava I限制性内切酶2 U, 10 $\times$ 酶切缓冲液1  $\mu$ L, 无菌去离子水补足总体积至10  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C水浴过夜, 酶切产物经7%PAGE凝胶电泳检测, 银染后读取结果。由于等位基因I存在Ava I位点, 出现190 bp和114 bp 2个片段; 等位基因II酶切位点消失而不能切开, 为304 bp片段。因此可能得到3种基因型: 阴性纯合子I/I, 杂合子I/II, 阳性纯合子II/II。

### 1.5 PCR质量控制措施

所有实验标本均在盲法下进行测定, 随机抽取10%样本在单盲情况下重复测定各位点基因型, 以检验所测基因型结果的重复性和可靠性, 重复测定符合率为100%。

### 1.6 统计分析

实验结果输入SPSS10.0统计软件包进行统计学处理。

## 2 结果

### 2.1 不同时期患者全口AL的改变

100例患者在基线、6个月和12个月时的AL检查结果分别为(2.69 $\pm$ 0.15) mm、(3.41 $\pm$ 0.13) mm和(4.12 $\pm$ 0.15) mm, 随着观察时间的延长, AL有增加的趋势( $P < 0.01$ )。

与基线相比, 6个月复查时全口平均AL增加( $\Delta$ AL)超过0.5 mm的有72例, 不超过0.5 mm的有28例。轻中度牙周炎组中 $\Delta$ AL $> 0.5$  mm者为35例, 占76.09%; 重度牙周炎组 $\Delta$ AL $> 0.5$  mm者为37例, 占68.52%; 两组间无统计学差异( $\chi^2 = 0.706, P > 0.05$ )。

与6个月检查时相比, 12个月复查时全口 $\Delta$ AL $> 0.5$  mm者有89例,  $\Delta$ AL $\leq 0.5$  mm者有11例, 轻中度牙周炎组中 $\Delta$ AL $> 0.5$  mm者为44例, 占95.65%, 重度牙周炎组 $\Delta$ AL $> 0.5$  mm者为45例, 占83.33%, 两组间无统计学差异( $\chi^2 = 3.850, P = 0.050$ )。

与基线相比, 12个月复查时, 100例患者中病情缓慢加重(年平均AL增加不超过1.0 mm)者16例, 其中男6例, 女10例, 年龄中位数57岁; 病情快速

进展(年平均AL增加超过1.0 mm)者84例,其中男23例,女61例,年龄中位数54岁。经统计学检验,病情进展与性别和年龄无相关关系。轻中度牙周炎组年平均AL增加超过1.0 mm者43例,占93.48%,重度牙周炎组则为41例,占75.93%,两组间有统计学差异  $P<0.05$ )。

### 2.2 不同时期牙位AL的改变

6个月复查时,100例患者中有32例患者的32个牙位  $\Delta AL \geq 2.0$  mm,占32.00%;12个月复查时,有67例患者的165个牙位  $\Delta AL \geq 2.0$  mm,占67.00%,二者有统计学差异  $P<0.05$ )。

将牙齿按前牙、前磨牙和磨牙分类,6个月和12个月复查时  $\Delta AL \geq 2.0$  mm牙位发生率见表1。经统计学分析,前牙、前磨牙的发生率与磨牙相比有统计学差异  $P<0.05$ ),磨牙的发生率高于前牙和前磨牙,而前牙和前磨牙的发生率无统计学差异  $P>0.05$ );3类牙齿在12个月复查时  $\Delta AL \geq 2.0$  mm牙位发生率均高于6个月复查时。

12个月复查时,轻中度牙周炎组  $\Delta AL \geq 2.0$  mm的牙位有23例患者的56个牙位,重度牙周炎组有44例患者的109个牙位,两组间有统计学差异  $\chi^2=$

13.865,  $P<0.01$ ),重度牙周炎组  $\Delta AL \geq 2.0$  mm的牙位数高于轻中度牙周炎组。

表1 与基线相比,分别于6个月、12个月复查时  $\Delta AL \geq 2.0$  mm的牙位分布

Tab 1 The site distribution of  $\Delta AL \geq 2.0$  mm in the sixth and twelfth months

牙位	牙位总数	$\Delta AL \geq 2.0$ mm牙数		发生率(%)		
		6个月	12个月	6个月	12个月	
前牙	上颌	565	4	19	0.71	3.36
	下颌	554	7	30	1.26	5.42
	合计	1119	11	49	0.98	4.38
前磨牙	上颌	374	2	17	0.53	4.55
	下颌	388	3	15	0.77	3.87
	合计	762	5	32	0.66	4.20
磨牙	上颌	358	8	43	2.23	12.01
	下颌	349	8	44	2.29	12.61
	合计	707	16	84	2.26	11.88

### 2.3 IL-1B-511基因分布及等位基因频率测定结果

100例患者中的年平均  $\Delta AL > 1.0$  mm的患者有84例,  $\Delta AL \leq 1.0$  mm的有16例,其IL-1B-511基因型分析结果见表2。

表2 IL-1B-511基因型在全口年平均  $\Delta AL > 1.0$  mm和  $\Delta AL \leq 1.0$  mm患者中的分布

Tab 2 The IL-1B-511 genotype distribution between the rapid progression group and the non-rapid group

指标	例数	基因型例数 构成比(%)			等位基因频率%	
		I/I	I/II	II/II	I	II
$\Delta AL > 1.0$ mm	84	10(11.9)	24(28.6)	50(59.5)	26.0(44/168)	73.8(124/168)
$\Delta AL \leq 1.0$ mm	16	4(6.3)	9(56.2)	6(37.5)	34.4(11/32)	65.6(21/32)
合计	100	14(11.0)	33(33.0)	56(56.0)	27.6(55/200)	72.4(145/200)

由表2可见,经统计学分析,IL-1B-511基因型分布在  $\Delta AL > 1.0$  mm和  $\Delta AL \leq 1.0$  mm的患者中无统计学差异  $\chi^2=4.675$ ,  $P>0.05$ ),IL-1B-511等位基因分布频率在  $\Delta AL > 1.0$  mm和  $\Delta AL \leq 1.0$  mm的患者中也无统计学差异  $\chi^2=0.903$ ,  $P>0.05$ )。

### 3 讨论

在1年的纵向观察中,所有的受检者均出现一定程度的附着丧失,AL平均增加1.43 mm,其改变有统计学差异  $P<0.01$ )。基线检查时,轻中度牙周炎患者为46例,重度牙周炎为54例,1年之后,全部患者均为重度牙周炎。100例患者中病情进展缓慢(年平均AL增加不超过1.0 mm)的仅有16例,而进展较快(年平均AL增加超过1.0 mm)的为84例,轻中度牙周炎组病情进展较快的患者所占比例(93.48%)明显高于重度牙周炎组(75.93%)。患者的病情变化

主要出现在第6个月至12个月之间,因此即使患者的病情较轻,也不能忽视维持治疗的重要性,否则发生重度牙周炎的可能性非常大。

许多研究发现<sup>[10-11]</sup>,有小部分个体对常规治疗反应不理想,治疗过程中仍持续发生附着丧失和牙槽骨吸收。对牙周病自然病程的研究还发现,附着丧失的位点在个体之间分布不均<sup>[12-13]</sup>,约59%~70%的附着丧失位点出现于12%~20%的人群。本研究显示,6个月复查时,32位患者的32个牙位AL增加超过2.0 mm(含2.0 mm),说明1/3的患者进展速度较快;12个月复查时,67位患者的165个牙位AL增加超过2.0 mm,说明超过1/2的患者病情出现了较快的发展。上述67位患者中,44例重度牙周炎患者的109个牙位、23例轻中度牙周炎患者的56个牙位出现快速进展。从牙位分布来看,磨牙出现快速进展的比例明显高于前牙和双尖牙,重度牙周炎患者出

现快速进展的牙位数明显高于轻中度牙周炎患者。患病越严重的患者，其局部位点的破坏要大于患病较轻的患者，与病情进展综合分析可以发现，重度牙周炎组的牙位破坏主要集中在小部分个体。因此，遗传因素在牙周病的发生和发展中起着重要的作用。

牙周病是遗传因素和环境因素长期共同作用的结果。现在越来越多的研究者以一种相互联系的、动态的态度去分析遗传因素和环境因素之间的作用。Papapanou等<sup>[14]</sup>发现IL-1B+3954等位基因Ⅱ的复合携带与牙周炎的严重程度有关，黄海云等<sup>[6]</sup>的研究显示IL-1A-889和IL-1B-511复合等位基因Ⅱ、IL-1B+3953和IL-1B-511复合等位基因Ⅱ可能是汉族人重度慢性牙周炎易感基因的遗传标志。国外研究<sup>[15]</sup>也显示IL-1B+3953的复合等位基因Ⅱ与IL-1β的高表达有关，且呈基因剂量效应，带Ⅱ/Ⅱ基因型的患者单核巨噬细胞受内毒素刺激时分泌的IL-1β量是I/Ⅱ型患者的2倍，是I/I型患者的4倍。可见复合等位基因Ⅱ与牙周疾病关系密切，但是关于牙周炎病情进展与IL-1基因多态性的关系的研究很少。本研究结果未发现IL-1B-511基因型和等位基因频率与AL的增加有相关性，可能是由于样本量较少的原因。但本实验结果表明IL-1B-511基因型Ⅱ/Ⅱ在全口年平均AL增加超过1.0 mm的患者携带率(59.5%)高于年平均AL增加不超过1.0 mm的患者(37.5%)，提示IL-1B-511基因型Ⅱ/Ⅱ可能是牙周炎病情进展的危险因素。对于牙周炎进展与IL-1基因多态性的关系，还需扩大样本量作进一步的研究。

#### [参考文献]

[1] Brown IJ, Loe H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease[J]. *Periodontol* 2000, 1993, 2(1) 57-71.  
[2] Michalowicz BS, Aepli DP, Virag JG, et al. Periodontal findings in adults twins[J]. *J Periodontol*, 1991, 62(5) 293-299.  
[3] Moreira PR, De Sa AR, Xavier GM, et al. A functional interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals[J]. *J Periodontol Res*, 2005, 40(4) 306-311.  
[4] Amitage GC, Wu Y, Wang HY, et al. Low prevalence of a periodontitis associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage[J]. *J Periodontol*, 2000, 71(2) :164-

171.  
[5] 段海燕, 章锦才, 黄萍, 等. 四种方法获取DNA用于检测IL-1基因多态性的比较分析[J]. *华西口腔医学杂志*, 2001, 19(1) : 11-13.  
(DUAN Hai-yan, ZHANG Jin-cai, HUANG Ping, et al. Buccal swab :A convenient source of DNA for analysis of interleukin-1 gene polymorphisms[J]. *West China J Stomatol*, 2001, 19(1) :11-13.)  
[6] 黄海云, 章锦才. 白细胞介素1基因多态性与四川地区慢性牙周炎相关关系的研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2004, 22(5) :415-419.  
(HUANG Hai-yun, ZHANG Jin-cai. Investigation on the association of interleukin-1 genotype polymorphism with chronic periodontitis[J]. *West China J Stomatol*, 2004, 22(5) :415-419.)  
[7] Loe H, Anerud A, Boysen H, et al. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age[J]. *J Clin Periodontol*, 1986, 13(5) :431-444.  
[8] Cohen RE. Position paper : Periodontal maintenance[J]. *J Periodontol*, 2003, 74(9) :1395-1401.  
[9] Rosling B, Serino G, Hellstrom MK, et al. Longitudinal periodontal tissue alterations during supportive therapy. Findings from subjects with normal and high susceptibility to periodontal disease[J]. *J Clin Periodontol*, 2001, 28(3) :241-249.  
[10] Reddy MS, Geurs NC, Jeffcoat RL, et al. Periodontal disease progression[J]. *J Periodontol*, 2000, 71(10) :1583-1590.  
[11] Lindhe J, Okamoto H, Yoneyama T, et al. Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects[J]. *J Clin Periodontol*, 1989, 16(10) :662-670.  
[12] 黄萍, 章锦才, 黄海云. 202例牙周炎患者患病情况调查[J]. *华西口腔医学杂志*, 2005, 23(1) :38-40.  
(HUANG Ping, ZHANG Jin-cai, HUANG Hai-yun. A study of 202 periodontitis subjects in Chengdu[J]. *West China J Stomatol*, 2005, 23(1) :38-40.)  
[13] 黄萍, 章锦才, 黄海云. 慢性牙周炎自然病程1年观察及其与IL-1基因多态性的关系[J]. *实用口腔医学杂志*, 2006, 22(1) : 53-56.  
(HUANG Ping, ZHANG Jin-cai, HUANG Hai-yun. One-year progress of chronic periodontitis and its association with IL-1 genetic polymorphisms[J]. *J Pract Stomatol*, 2006, 22(1) :53-56.)  
[14] Papapanou PN, Neiderud AM, Sandros J, et al. Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study [J]. *J Clin Periodontol*, 2001, 28(5) :389-396.  
[15] Pociot F, Molvig J, Wogensen L, et al. A Taq I polymorphism in the human interleukin-1B gene correlates with IL-1β secretion *in vitro*[J]. *Eur J Clin Invest*, 1992, 22(6) :396-402.

( 本文编辑 吴爱华 )

#### 《 华西口腔医学杂志 》继续入选中国科技核心期刊

经过中国科学技术信息研究所多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《 华西口腔医学杂志 》继续入选“ 中国科技论文统计源期刊(“ 中国科技核心期刊 )”。2006年4月收到收录证书,证书编号G148-2006。

《 华西口腔医学杂志 》编辑部