

复发性阿弗他溃疡发作期免疫功能的相关研究

尚进, 吴国英*, 李留炆, 钱棱

(南京医科大学口腔医学研究所, 南京医科大学附属口腔医院牙体牙髓黏膜科, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:通过检测复发性阿弗他溃疡(recurrent aphthous ulcer, RAU)患者发作期免疫功能的相关指标,探讨免疫功能在RAU发病机制中的作用,为临床提供依据。方法:分别选取60例轻型RAU患者以及20例健康志愿者为实验组与对照组,上午8~10点空腹状态对每个对象采集抗凝全血,采用流式细胞仪技术检测血液中T、B淋巴细胞以及NK细胞的比例。结果:实验组CD3⁺T淋巴细胞比例和CD8⁺T淋巴细胞比例和对照组相比明显升高($P < 0.01$),具有统计学意义;CD4⁺T淋巴细胞比例、CD4/CD8比值以及NK细胞比例明显低于对照组($P < 0.05$);实验组B淋巴细胞比例与对照组无统计学差异($P > 0.05$)。结论:RAU患者在溃疡发作期存在细胞免疫功能紊乱以及非特异性免疫功能下降的情况,由此推测,机体免疫功能异常在RAU的发生发展过程中可能起着重要作用。

[关键词] 复发性阿弗他溃疡;细胞免疫;体液免疫;非特异性免疫

[中图分类号] R781.5

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2013)12-1804-03

doi:10.7655/NYDXBNS20131244

复发性阿弗他溃疡(recurrent aphthous ulcer, RAU)是最为常见的口腔黏膜病,大量流行病学调查显示,其在任何性别、年龄和人种均可发生^[1-2]。但RAU的病因及发病机制不明,目前主要观点认为RAU的发生是由免疫、遗传、环境等多种因素共同作用的结果^[3]。研究表明,免疫因素在RAU的发病过程中起着重要的作用^[4]。本研究采用流式细胞仪技术检测RAU患者和健康人群血液中T、B淋巴细胞以及NK细胞的比例,以探讨其与RAU发生的关系和意义。

1 对象和方法

1.1 对象

实验组(即RAU组)选择2011年6月~2012年3月在南京医科大学附属口腔医院黏膜科就诊,诊断为轻型RAU(诊断标准参照《口腔黏膜病学》第3版^[1])的患者60例,其中男27例,女33例,年龄18~58岁,平均年龄38.3岁。患者均处于溃疡发作期,病程不超过48h,并且尚未进行治疗。对照组选择健康志愿者20例,其中男10例,女10例,年龄20~52岁,平均年龄36.8岁,无RAU病史。两组病

例均无全身系统性疾病(如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、银屑病等^[5-6]),且近期未使用过影响淋巴细胞功能的药物(如头孢地嗪、罗哌卡因、奎尼丁等^[7-8])。以上所有受试者均于上午8~10点空腹状态经静脉抽取外周血2ml,置于EDTA-K2抗凝真空全血采血管备用。

鼠抗人CD3-FITC、CD4-PE、CD8-PerCP、CD19-PE、CD16-PE、CD56-PE单克隆抗体(BD公司,美国);Optilyse C溶血素(BD公司,美国);FACSCalibur流式细胞仪(BD公司,美国)。

1.2 方法

样品的制备:①取100 μ l EDTA-K2抗凝全血样本,加入鼠抗人CD3-FITC、CD4-PE、CD8-PerCP单抗20 μ l,室温避光孵育30 min,按要求加入0.5 ml Optilyse C溶血素溶解红细胞,混匀,作用30 min,制成待测样品;②取100 μ l EDTA-K2抗凝全血样本,加入鼠抗人CD3-FITC、CD19-PE单抗20 μ l,室温避光孵育30 min,按要求加入0.5 ml Optilyse C溶血素溶解红细胞,混匀,作用30 min,制成待测样品;③取100 μ l EDTA-K2抗凝全血样本,加入鼠抗人CD3-FITC、CD16-PE、CD56-PE单抗20 μ l,室温避光孵育30 min,按要求加入0.5 ml Optilyse C溶血素溶解红细胞,混匀,作用30 min,制成待测样品。

所有样品均使用FACSCalibur流式细胞仪进行检测,激发光为488 nm激光,使用机器自带的Cel-

[基金项目] 江苏高校优势学科建设工程资助项目

*通信作者(Corresponding author), E-mail: wuguoying888@163.com

IQUESTPro 软件进行分析,得出结果。

1.3 统计学方法

采用 SPSS19 for windows 软件对各组数据进行统计分析,统计变量以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间进行 *t* 检验, $P \leq 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 T 淋巴细胞亚群检测结果

与对照组相比,RAU 组的 CD3⁺T 淋巴细胞比例明显升高,CD4⁺T 淋巴细胞比例下降,而 CD8⁺T 淋巴细胞比例明显升高,CD4/CD8 比值亦明显下降,均具有统计学意义(表 1)。

2.2 B 淋巴细胞检测结果

RAU 组的 B 淋巴细胞比例与对照组相比无统计学意义。RAU 组的 NK 细胞比例低于对照组,具有统计学意义(表 1)。

表 1 3T 淋巴细胞亚群检测结果

($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i>	CD3 ⁺ T	CD4 ⁺ T	CD8 ⁺ T	CD4/CD8	B 细胞	NK 细胞
RAU 组	60	72.27 \pm 9.65	37.30 \pm 4.85	31.71 \pm 7.17	1.22 \pm 0.23	16.01 \pm 4.17	15.56 \pm 9.82
对照组	20	63.38 \pm 13.19	41.58 \pm 11.89	18.88 \pm 3.21	2.20 \pm 0.42	15.18 \pm 2.48	21.08 \pm 11.74
<i>P</i> 值		0.002	0.024	< 0.001	< 0.001	0.404	0.042

3 讨论

机体的免疫功能是通过免疫系统进行免疫应答来实现的,免疫应答又是由各种免疫细胞(T、B 淋巴细胞以及 NK 细胞)所介导的^[9]。本研究采用了流式细胞仪技术,主要对血液中 T、B 淋巴细胞以及 NK 细胞比例进行检测,并从免疫应答各个方面(细胞免疫、体液免疫以及非特异性免疫)综合探讨 RAU 患者发作期免疫状态的改变,揭示免疫功能紊乱在 RAU 的病因以及发病机制中的作用,为 RAU 的临床诊断提供理论依据。

3.1 细胞免疫与 RAU

目前关于 RAU 细胞免疫学方面的研究,主要集中在 CD4⁺、CD8⁺以及 CD3⁺T 淋巴细胞亚群,一般情况下,机体内 CD4/CD8 比值处于动态平衡,可以依此判定机体免疫状态是否稳定^[10-11]。国内外大部分学者^[12-13]研究提示 RAU 患者发作期 CD3⁺、CD4⁺T 淋巴细胞比例及 CD4/CD8 比值低于正常,CD8⁺T 淋巴细胞比例高于正常,马丽等^[12]学者针对该结论得出 RAU 发生的可能机制为:CD3⁺、CD4⁺T 淋巴细胞水平及 CD4/CD8 比值低于正常时可增加细胞对各种特异性和非特异性致病因子的易感性,引起机体或局部细胞免疫功能降低,同时使防止机体免疫应答持续处于过高状态的作用无法正常发挥,在其他诱发因素的参与下导致口腔黏膜上皮局部发生损伤、破坏、坏死而形成溃疡。而部分学者^[14-15]研究表明 RAU 患者发作期 CD4⁺T 淋巴细胞比例及 CD4/CD8 比值低于正常,但 CD3⁺及 CD8⁺T 淋巴细胞比例与对照组相比无明显统计学差异。

本研究结果显示,RAU 组 CD3⁺T 淋巴细胞比例

与对照组相比,明显下降;CD4⁺T 淋巴细胞比例下降,CD8⁺T 淋巴细胞比例明显升高,CD4/CD8 比值亦明显下降,这些结果提示在 RAU 患者溃疡发作期细胞免疫功能出现紊乱。

3.2 体液免疫与 RAU

关于 RAU 患者体液免疫状况的研究,至今尚未达成共识^[16-17]。本实验的结果显示:RAU 组与对照组之间 B 淋巴细胞比例无显著性差异,提示在 RAU 发作期患者的体液免疫总体水平无明显变化。

3.3 非特异性免疫与 RAU

NK 细胞具有生理性免疫调节作用,对体液免疫起抑制作用,对细胞免疫起增强作用^[9,18]。国内外学者关于 RAU 患者外周血中 NK 细胞比例的研究不少,但这两者之间究竟存在怎样的联系还有着很多争议^[13,15,18]。本研究以 CD16⁺、CD56⁺作为 NK 细胞的表面标志物进行检测,结果显示 NK 细胞比例下降,提示在 RAU 发作期患者的非特异性免疫功能减弱。此外,NK 细胞比例下降,对 T 细胞增殖反应的辅助作用降低^[9],可能导致机体的细胞免疫总体水平下降,这与本实验的细胞免疫研究结果相一致。

本研究结果表明,RAU 患者发作期存在着免疫功能改变,具体表现为细胞免疫功能紊乱,非特异性免疫功能下降,而体液免疫功能基本正常。结合近年来的文献资料,不难看出,细胞免疫功能紊乱在 RAU 患者发作期确实存在,而体液免疫以及非特异性免疫与 RAU 的关系尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 陈谦明,周曾同.口腔黏膜病学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2008:58-68
- [2] Talacko AA, Gordon AK, Aldred MJ. The patient with re-

- current oral ulceration [J]. Aust Dent J, 2010, 55(Suppl 1): 14-22
- [3] 周海文, 吴 岚, 周曾同. 口腔黏膜病临床治疗VI. 复发性阿弗他溃疡的诊断与治疗 [J]. 中华口腔医学杂志, 2007, 42(1): 57-59
- [4] Natah SS, Kontinen YT, Enattah NS, et al. Recurrent aphthous ulcers today: a review of the growing knowledge [J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2004, 33(3): 221-234
- [5] Dejaco C, Duftner C, Klauser A, et al. Altered T-cell subtypes in spondyloarthritis, rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica [J]. Rheumatology International, 2010, 30(3): 297-303
- [6] Kim JR, Chae JN, Kim SH, et al. Subpopulations of regulatory T cells in rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and Behcet's disease [J]. Korean Journal of Medical Sciences, 2012, 27(9): 1009-1013
- [7] 王 鹏, 阚全程, 余祖江. 头孢地嗪对免疫性肝损伤小鼠外周血 T 细胞亚群的影响 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2008, 29(4): 397-400
- [8] 黄泽清, 吴 楠. 罗哌卡因硬膜外阻滞对 T 细胞亚群、NK 细胞及免疫球蛋白的影响 [J]. 辽宁医学院学报, 2007, 28(1): 17-22
- [9] 金伯泉, 熊思东. 医学免疫学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 88-149
- [10] 陈海彬, 周红光, 程海波, 等. 消癌解毒方对中晚期恶性肿瘤患者免疫功能的影响 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2009, 29(9): 1257-1259
- [11] Kojima K, Maruyama K, Inaba T, et al. The CD4/CD8 ratio in vitreous fluid is of high diagnostic value in sarcoidosis [J]. Ophthalmology, 2012, 119(11): 2386-2392
- [12] 马 丽, 颜淑云, 宋晓蕾, 等. 复发性阿弗他溃疡患者外周血 T 淋巴细胞亚群水平测定及意义 [J]. 山东医药, 2010, 50(23): 35-36
- [13] 吴 伟, 宣 璐, 李幼华. 复发性口腔溃疡期免疫功能的变化及其意义 [J]. 现代实用医学, 2009, 21(9): 1001-1002
- [14] 李 敏, 陈方淳, 黄孝庆, 等. 复发性阿弗他溃疡的中医证型与免疫的关系研究 [J]. 激光杂志, 2012, 33(2): 71-72
- [15] 方 玲, 李美华, 董立武, 等. 流式细胞术分析 RAU 患者外周血淋巴细胞表型 [J]. 中国实验诊断学, 2005, 9(4): 609-611
- [16] Mohammad R, Halboub E, Mashlah A, et al. Levels of salivary IgA in patients with minor recurrent aphthous stomatitis: a matched case-control study [J]. Clin Oral Investig, 2013, 17(3): 975-980
- [17] Saluja R, Kale A, Hallikerimath S. Determination of levels of salivary IgA subclasses in patients with minor recurrent aphthous ulcer [J]. J Oral Maxillofac Pathol, 2012, 16(1): 49-53
- [18] Tian Z, Gershwin ME, Zhang C. Regulatory NK cells in autoimmune disease [J]. J Autoimmun, 2012, 39(3): 206-215

[收稿日期] 2013-02-27

本刊邮发代号 28-61

网址: <http://jnmu.njmu.edu.cn>