

出國報告(出國類別：進修)

第十七型輔助性 T 細胞(Th17)與細胞激素 IL-17 在牙周病致病機轉中所扮演的角色

服務機關：三軍總醫院

姓名職稱：鄭琬蓀、主治醫師

派赴國家：英國

出國期間：100 年 6 月 29 日至 104 年 6 月 8 日

報告日期：104 年 8 月 24 日

摘要

牙周病為盛行率相當高的一種口腔常見疾病，其嚴重程度會引起牙齒周邊軟、硬組織破壞及導致牙齒動搖及牙齒脫落。牙周病起因目前公認是由特定的牙周病致病菌堆積於牙齒表面及其所引起的宿主免疫反應所造成，然而其確切致病機轉仍尚未完全被確立。本人為三軍總醫院牙周病科主治醫師，於住院醫師期間便開始參與臨床與基礎相關之牙周病學研究，並非常榮幸獲得國防部補助於民國 100 年至 104 年至英國倫敦大學國王學院進行博士進修。進修期間於指導教授 Francis Hughes 及 Leonie Taams 教導下探討輔助型 T 細胞 (Thelper 17 cell) 和輔助型 T 細胞因子 (IL-17) 於牙周病致病機轉中所扮演的角色 (The role of IL-17 and Th17 cells in the pathogenesis of periodontitis)。此研究成果將對於牙周病致病機轉之基礎醫學研究及未來牙周病之臨床治療之應用提供一定程度之幫助。

目次

封面.....	第 0 頁
摘要.....	第 1 頁
目次.....	第 2 頁
內文.....	第 3-7 頁
目的.....	第 3 頁
過程.....	第 4-6 頁
心得與建議.....	第 6-8 頁

本文

目的

牙周病是由口腔內細菌所引發的慢性發炎性疾病，當牙周組織受到細菌入侵之後，體內啟動的免疫反應包括血管方面的變化，伴隨白血球的趨化聚集，並在後續有發炎前間質的釋放，例如前列腺素、細胞激素等。發炎前細胞激素又包括了 IL-1 β , TNF α , IL-6 和 IL-8 等，它們均是外傷性，關節炎和牙周病等發炎疾病的主要病理間質。牙周病包括組織發炎和齒槽骨吸收，細菌內毒素則可能刺激牙周組織細胞產生細胞激素和前列腺素而造成組織的損壞。在牙周病患者的牙齦溝液中可檢測到高濃度的 IL-1 β , IL-6 和 TNF α , 這些細胞激素在牙周病中的角色已被學者所證實，最近研究指出當使用功能性阻斷可溶性細胞激素的接受器拮抗 IL-1 和 TNF α 活性，牙周發炎情況和齒槽骨的喪失有明顯的降低。另外一種由第十七型輔助性 T 細胞 (T helper 17 cells) 所分泌的細胞激素 IL-17，近來也被發現在多種發炎疾病中扮演重要的角色，其中可導致類風濕關節炎中的關節組織破壞及骨吸收。許多體外研究亦指出 IL-17 可明顯增加蝕骨性骨吸收。然而 T helper 17 cells 及 IL-17 在牙周病疾病生成及齒槽骨破壞機轉中所扮演的角色仍尚未被完全了解。如能對於 T helper 17 cells 及 IL-17 在牙周組織的存在性，功能性及調節性有進一步之了解，對於牙周病疾病控制，未來臨床診斷、治療計畫擬定及治療藥物研發將有莫大助益。本人進修過程即以探討第十七型輔助性 T 細胞 (T helper 17 cell) 和輔助型 T 細胞激素 (IL-17) 於牙周病致病機轉中所扮演的角色 (The role of IL-17 and Th17 cells in the pathogenesis of periodontitis) 為研究主軸，並彙整實驗結果撰寫博士論文及後續文章發表。希望此研究成果能對牙周病致病機轉有進一步的了解，並能將所學貢獻於教學、研究及臨床病人服務。

過程

第一年學習目標

- (1) 文獻回顧：收集與第十七型輔助性 T 細胞 (T helper 17 cell) 和輔助型 T 細胞因子 (IL-17) 與牙周病之間關係探討之相關文獻資料，以了解目前此類型研究之深度及廣度。另外將收集的文獻資料經過嚴謹的分析及系統性歸納後，彙整為一文獻回顧文章並進行文章投稿。
- (2) 訓練及熟悉實驗所需用到的技巧及儀器操作，以求後續實驗進行的準確性及快速性。其中主要學習的實驗操作技巧為：磁性細胞分選技術 (magnetic cell sorting)，細胞培養，細胞藉染色方法表現型的界定 (phenotypic detection)，流式細胞儀操作技術 (flow cytometry) 與蛋白質分泌量之分析。
- (3) 尋求適合之牙周致病菌來源，以利後續實驗進行。

第一年學習成果

文獻回顧已順利投稿並刊登於牙周病學雜誌 *The journal of clinical periodontology* (2014)。另外實驗操作技術學習堪稱順利，唯獨牙周致病菌之取得不易。然而雖歷時較久，最後仍幸運的尋得可靠及穩定的牙周致病菌來源。

第二年學習目標

建立牙周病致病菌刺激細胞培養模式，並以其實驗模式探討牙周致病菌誘導產生 T helper 17 cell/IL-17 反應的作用機轉。其細胞培養模式重點在於共同培養由人類血液分離出來的單核細胞 (monocytes) 及輔助型 T 細胞 (CD4+ T cells) 再加上牙周致病菌 *Porphyromonas gingivalis* 或 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 的刺激。並於其不同時間點檢測細胞分泌之 IL-17 量及 CD4+ T cells 分化為 T helper 17 cells 的百分比。

第二年學習成果

實驗結果發現牙周致病菌刺激可以經由活化單核細胞後進而誘導 T helper 17 cells 的分化及 IL-17 細胞激素的分泌。另外實驗結果顯示牙周致病菌刺激誘導 T helper 17 cells 的分化及 IL-17 細胞激素的分泌與單核球藉由表面受體 Toll-like receptor 認知牙周致病菌，單核球受細菌刺激後所產生的發炎性細胞激素以及細胞表面所表現之共同刺激分子有關。此部分研究以海報方式發表於 2013 年英國口腔與牙齒研究學會年會 (The British Society for Oral and Dental Research)，並得到許多相同領域研究學者的寶貴意見，對後續實驗設計極有幫助。

第三年學習目標

第三年研究目的為探討第十七型輔助性 T 細胞 (T helper 17 cell) 和輔助型 T 細胞因子 (IL-17) 於牙周病患者和牙周健康受試者表現量之比較。研究計畫經人體試驗委員會核准通過後，收取牙周病患者及健康受試者之血液，牙齦溝液及唾液，再利用流式細胞分析 (flow cytometry) 及酵素連結免疫吸附法 (ELISA) 檢測血液中 T helper 17 cells 百分比以及血清，牙齦溝液及唾液 IL-17 蛋白質定量，並比較牙周病患者和牙周健康自願者表現量之異同。

第三年學習成果

實驗結果顯示牙周病患者牙齦溝液中 IL-17 蛋白質總量較健康受試者顯著增加，然而其在血清及唾液中之總量並無顯著差異。另外結果亦顯示牙周病患者及健康受試者之血液中 T helper 17 cells 所佔百分比並無不同。此部分研究結果亦獲選以口頭報告方式發表於 2014 年英國免疫學會年會 (The British Society for Immunology)。

第四年學習目標

最後一年研究重心為彙整所有研究成果及實驗數據，並詳加整理以利論文撰寫。期

間並將重要成果撰寫為文章並投稿至免疫醫學期刊。

第四年學習成果

論文寫作及文章投稿已完成，另外統整之研究結果獲選以口頭報告方式發表於 2015 年第八屆歐洲牙周病學大會 (The EuroPerio 8 Congress)。

心得與建議

此次赴英國進修四年，期間除課程研習及實驗操作外，觀察國外環境及諸多人、事、物均帶來許多不同感受，以下僅擷取其中幾項重要心得，並列舉針對軍醫單位、國家未來送訓及派送出國進修人員建議事項如下：

1. 外語能力的增強

此次赴國外進修前，雖有研習英文並通過學校對語文能力的要求規定，然而實際到達國外開始課程進修時仍然深感英文能力的不足。若能在出國前有計畫地加強外文能力的培養，不僅能充分參與各項討論增加收穫，並且與師長同儕交流可以更順利，另外對於人際關係的建立與保持都有很大的助益。

2. 研究學程時間的規劃

因國防部規定出國進修有一定的年限，例如全時進修期限為四年，若能在出國前與國外指導教授充分說明進修時間有限的情況，以挑選合適的主題作為研究題目，則可以增加如期完成學業的機會。出國後亦需要隨時檢視實驗進度及後續實驗之可行性，並積極與指導教授討論實驗進程，對於不如預期或窒礙難行的實驗提出更換實驗题目的可能性，以確保能盡量取得順利於規定年限內完成學業的機會。

3. 獨立思考及思辯能力(Critical thinking)的重要性

此次國外進修學習過程中，深刻感受國外教育對於培養學生建立獨立思考及思辯能力的注重。舉凡實驗設計，問題討論，實驗結果研判與實驗進行等，皆由學生進行獨立思考判斷其準確性，重要性以及是否為驗證假說的有效方法。指導老師則從旁輔助，引導學生對於實驗大方向的掌握及提供疑難諮詢與經驗傳承。另外思辯能力的培養更有其重要性。現今社會處於資訊爆炸的時代，各類型論文期刊發表速度更是驚人。面對繁多的資訊乃至於相同領域發表的期刊論文，學習及擁有思辯能力對於判斷資訊來源的嚴謹性，正確性和可用性相當的重要，更有助於自己的實驗設計，相互實驗結果比較以及文獻的引用。

4. 參加會議及研究討論之重要性

進修期間深刻感受到指導教授們及同學們對於學問知識的追求持相當開放及樂於分享和討論的態度。指導老師們除鼓勵學生充分參與科部內所舉辦的各項研究討論會議之外，更鼓勵學生多多參與各項國內或國外重要學術會議。一方面可以增長知識見聞，掌握相同領域中其他學者的研究進展，以及學習不同領域的研究中對於各種新穎技術的應用。另一方面也可以藉由參與學術會議的機會，與研究學者分享自己的實驗結果，除可藉由其他學者對自己實驗結果問題的提出，來檢視實驗設計的缺失與不足外，更可以獲取不同的意見回饋作為對於未來實驗設計的參考。

5. 臨床病人參與臨床試驗之重要性及前瞻性

本次進修過程中因實驗設計需求，需申請臨床人體試驗計畫。計畫經英國國民保健署研究倫理審議會 (NHS RECs) 審查及通過後開始收取牙周病患者及健康受試者的組織檢體進行分析。雖人體試驗審查過程歷時許久，期間仍學習到英國研究倫理審議會對於人體試驗計畫審查的嚴謹性，特別是對於受試者權益保障規範的嚴格要求。另外亦觀察到英國在臨床研究與基礎研究結合的蓬勃發展，各類型計

畫乃至大型、跨區或跨國多中心合作計畫相當頻繁及多元。臨床病患經過詳細解說之後大部分都相當樂意簽署同意書參與試驗。受試者提供的珍貴檢體進一步作分析研究後，不僅可以幫助疾病診斷之確立，致病機轉之探討，現有藥物治療成效的檢視以及新藥的研發。本院為醫學中心，各類疾病患者相對較多，受試者招募及檢體取得也相對可行，善加利用此珍貴的研究資源將有利於臨床試驗的拓展，更可作為增進醫學研究發展重要的一環。

6. 未來研究方向及臨床應用

此次進修主題主要為探討第十七型輔助性 T 細胞 (T helper 17 cell) 和輔助型 T 細胞因子 (IL-17) 於牙周病患者和牙周健康受試者表現量之比較，以及其在牙周病致病機轉中所扮演的角色。T helper 17 細胞所分泌的細胞激素 IL-17，近來也被發現在多種發炎疾病中扮演重要的角色，尤以導致風濕關節炎中的關節組織破壞及骨吸收最為被深入探討。許多體外研究已指出 IL-17 可明顯增加蝕骨性骨吸收，除了釋放可以促進骨破壞的細胞激素 IL-17，免疫系統裡的 T 細胞可以直接地或間接地使得核因子 κ -B 配體受體致活劑 (RANKL) 增多，RANKL 是啟動噬骨細胞生成的主要物質，所以 T 細胞和骨吸收之間的關係也成了熱門的研究主題，有學者甚至提出了 osteoimmunology 這個新名詞，來突顯出免疫系統和骨頭重塑間的關聯及重要性。臨床上有許多的牙科治療，如牙周病治療，人工植牙，與齒槽骨之狀態是息息相關的。儘管有許多原因可造成齒槽骨狀態之改變，但如能深入探討 T helper 17 細胞及其所分泌的細胞激素 IL-17 對於齒槽骨生成及喪失之狀態有一徹底之了解，對於未來診斷，治療計畫擬定及治療藥物研發將有莫大助益。

致謝

此次能有機會赴國外進修，要特別感謝國防部軍醫局的大力補助才有可能成行，在此特別表達無限的謝意。另外對於醫院及學院各位長官及師長持續的栽培與支持，

亦在此表達深深的謝意。最後希望能將自己所學貢獻於未來教學、研究及臨床服務上，更期能對牙周病學有更進一步的了解以對臨床及基礎研究有所助益。