

本文引用: 江淑敏, 于晓艳, 李海梅, 李世光. 姜黄素对牙周炎小鼠正畸牙齿移动过程中牙槽骨丢失的影响及机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(7): 1203–1209.

姜黄素对牙周炎小鼠正畸牙齿移动过程中牙槽骨丢失的影响及机制研究

江淑敏*, 于晓艳, 李海梅, 李世光
武安市第一人民医院口腔科, 河北 邯郸 056300

[摘要] **目的** 探究姜黄素(CUR)对牙周炎(PD)小鼠的炎症抑制作用,以及对正畸牙齿移动(OTM)过程中牙槽骨丢失的影响及机制研究。**方法** 100 只小鼠随机均分为 5 组: 正常(Con)组(正常小鼠)、PD 组(PD 小鼠)、OTM 组(PD+OTM 小鼠)、CUR 组(PD+OTM 小鼠灌胃 100 mg/kg CUR)、CUR+脂多糖(LPS)组(PD+OTM 小鼠灌胃 100 mg/kg CUR 并牙龈注射 10 μ L 浓度为 1 μ g/ μ L 的 LPS)。除 Con 组外,其余各组采用左上颌第一磨牙经 0.2 mm 不锈钢丝进行结扎以诱导 PD 模型。治疗 14 d 后,分析牙槽骨的变化;采用 HE、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)进行组织学分析;ELISA 检测牙龈组织中炎症因子[白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]水平;Western blot 检测 Toll 样受体 4(TLR4)、髓样分化初级反应基因 88(MyD88)、核因子- κ B(NF- κ B)蛋白表达水平。**结果** 与 Con 组相比,PD 组牙槽骨质界(CEJ)-牙槽骨嵴顶(ABC)距离,组织损伤评分,阳性多核破骨细胞数量,NF- κ B 受体活化因子配体(RANKL)/骨保护素(OPG)比值,IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平,RANKL、TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达水平均增加($P<0.05$);骨体积分数(BV/TV)、骨小梁的数量(Tb.N)和骨小梁的厚度(Tb.Th)均降低($P<0.05$)。与 PD 组相比,PD+OTM 组 CEJ-ABC 距离,组织损伤评分,阳性多核破骨细胞数量,RANKL/OPG 比值,IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平,RANKL、TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达水平均增加($P<0.05$);BV/TV、Tb.N、Tb.Th 均降低($P<0.05$)。与 PD+OTM 组相比,PD+OTM+CUR 组 CEJ-ABC 距离,组织损伤评分,阳性多核破骨细胞数量,RANKL/OPG 比值,IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平,RANKL、TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达水平均降低($P<0.05$);BV/TV、Tb.N、Tb.Th 均增加($P<0.05$)。与 PD+OTM+CUR 组相比,PD+OTM+CUR+LPS 组 CEJ-ABC 距离,组织损伤评分,阳性多核破骨细胞数量,RANKL/OPG 比值,IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平,RANKL、TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达水平均增加($P<0.05$);BV/TV、Tb.N 和 Tb.Th 均降低($P<0.05$)。**结论** CUR 可抑制炎症因子的释放,下调 RANKL/OPG 比值,进而减少 PD 小鼠 OMT 过程中牙槽骨丢失,其机制可能与调控 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路有关。

[关键词] 牙周炎;正畸;姜黄素;TLR4/MyD88/NF- κ B 通路;牙槽骨;骨代谢

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.07.002

Effects of curcumin on alveolar bone loss during orthodontic tooth movement in periodontitis mice and its mechanism

JIANG Shumin*, YU Xiaoyan, LI Haimei, LI Shiguang

Department of Stomatology, Wu'an First People's Hospital, Handan, Hebei 056300, China

[Abstract] **Objective** To investigate the anti-inflammatory effects of curcumin (CUR) in a mouse model of periodontitis (PD), and its influence on alveolar bone loss during orthodontic tooth movement (OTM), along with the underlying mechanisms. **Methods** A total of 100 mice were randomly divided into 5 groups: control (Con) group (normal mice), PD group (induced PD mice), OTM group (PD+OTM mice), CUR group (PD+OTM mice given 100 mg/kg CUR by gavage), and CUR+lipopolysaccharide (LPS) group (PD+OTM mice given 100 mg/kg CUR by gavage and 10 μ L LPS with a concentration of 1 μ g/ μ L by gingival injection). Except for the Con group, the left maxillary first molars were ligated with 0.2 mm stainless steel wire to induce a

[收稿日期] 2024-11-13

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划(20191656)。

[通信作者] * 江淑敏,女,硕士,副主任医师,E-mail:307943731@qq.com。

PD model in the other groups. After 14 days of treatment, the changes of alveolar bone were analyzed. Hematoxylin-eosin (HE) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) were used for histological analysis. The levels of inflammatory factors [interleukin (IL)-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor- α (TNF- α)] in gingival tissues were checked by ELISA. The protein expression levels of Toll-like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88), and nuclear factor- κ B (NF- κ B) were checked by Western blot. **Results** Compared with the Con group, the PD group exhibited an increased distance between the cemento-enamel junction (CEJ) and alveolar bone crest (ABC), higher histopathological damage scores, a greater number of positive multinuclear osteoclasts, and an elevated RANKL/OPG ratio ($P<0.05$). Additionally, the levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α , as well as the expression levels of RANKL, TLR4, MyD88, and NF- κ B p65, were upregulated in the PD group ($P<0.05$). Conversely, the bone volume fraction (BV/TV), trabecular number (Tb.N), and trabecular thickness (Tb.Th) were all reduced in the PD group ($P<0.05$). Compared with the PD group, the PD+OTM group exhibited increases in the CEJ-ABC distance, histopathological damage scores, number of positive multinuclear osteoclasts, RANKL/OPG ratio, levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α , as well as expression levels of RANKL, TLR4, MyD88, and NF- κ B p65 ($P<0.05$). In contrast, the BV/TV, Tb.N, and Tb.Th were all reduced in the PD+OTM group ($P<0.05$). Compared with the PD+OTM group, the PD+OTM+CUR group showed a reduced CEJ-ABC distance, lower histopathological damage scores, a decreased number of positive multinuclear osteoclasts, a decreased RANKL/OPG ratio, reduced levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α , and downregulated expression levels of RANKL, TLR4, MyD88, and NF- κ B p65 ($P<0.05$). In contrast, the BV/TV, Tb.N, and Tb.Th were all elevated in the PD+OTM+CUR group ($P<0.05$). Compared with the PD+OTM+CUR group, the PD+OTM+CUR+LPS group showed an increased CEJ-ABC distance, higher histopathological damage scores, an increased number of positive multinuclear osteoclasts, an elevated RANKL/OPG ratio, higher levels of IL-6, IL-1 β , and TNF- α , as well as upregulated expression of RANKL, TLR4, MyD88, and NF- κ B p65 ($P<0.05$). Furthermore, the PD+OTM+CUR+LPS group showed decreases in BV/TV, Tb.N, and Tb.Th ($P<0.05$). **Conclusion** CUR can inhibit the release of inflammatory factors, downregulate RANKL/OPG ratio, and reduce alveolar bone loss during OTM in PD mice. The mechanism may be related to the regulation of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway.

[**Keywords**] periodontitis; orthodontics; curcumin; TLR4/MyD88/NF- κ B pathway; alveolar bone; bone metabolism

牙周炎(periodontitis, PD)是一种多因素引起的进行性感染性疾病,主要由牙菌斑中的病原微生物、宿主过度免疫反应、骨骼与结缔组织代谢异常及遗传因素导致^[1],其特征表现为牙龈组织出血、炎症、附着丧失、牙周袋加深及不可逆的牙槽骨丢失^[2]。全球范围内,慢性PD发病率高达11.2%,影响近7.43亿人口^[3]。正畸牙齿运动(orthodontic tooth movement, OTM)通过施加机械力引发无菌炎症反应,促进牙齿位移,以改善面部美观、功能性咬合及牙周健康与稳定^[4]。初期免疫炎症反应有助于对抗牙周感染及推动牙齿移动,但长期炎症介质累积可能损害牙周组织,诱发PD^[5]。随着中医的发展,多种中药被应用于PD治疗。姜黄素(curcumin, CUR)是中药姜黄(姜科植物姜黄 *Curcuma Longa* L.的干燥根茎)的主要活性成分,具有抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗氧化及免疫调节等药理作用^[6]。CUR已被证实能阻断多种炎症性疾病进展,且在过敏性哮喘、关节炎及急性胰腺炎治疗中展现广谱抗菌、抗炎活性^[7]。近年来,CUR在口腔疾病治疗中的应用逐渐增多,包括口腔黏膜疾病、口腔癌及牙周病^[8-10]。鉴于当前关于CUR在PD正畸治疗中对牙周组织重塑影响的研究匮乏,本研究旨在探讨CUR对PD正畸小鼠模型牙槽骨丢失的影响及潜在机制,为PD患者的正畸治疗提供新策略。

1 材料与方法

1.1 实验动物

100只SPF级C57BL/6雄性小鼠,6周龄,体重22~25g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2021-0011。将小鼠置于适宜的饲养环境中,环境温度控制在24~26℃,相对湿度维持在40%~60%,光照周期设定为12h。小鼠可自由进食与饮水,并适应性饲养7d。本研究经本院动物伦理委员会批准(审批号:LS2024005)。

1.2 主要试剂与仪器

姜黄素(批号:C1386,美国Sigma公司);脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(批号:HY-D1056,美国MedChemExpress公司);骨保护素(osteoprotegerin, OPG)抗体(批号:ab203061)、核因子- κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)抗体(批号:ab239607)、Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)抗体(批号:ab217274)、髓样分化初级反应基因88(myeloid differentiation primary response gene 88, MyD88)抗体(批号:ab28763)、核因子- κ B p65亚基(nuclear factor- κ B p65 subunit, NF- κ B p65)抗体(批号:ab288751)、 β -actin抗体(批号:ab179467)、组蛋白H3抗体(批号:ab1791)、白

细胞介素(interleukin, IL)-6(批号:ab222503)、IL-1 β (批号:ab255730)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)(批号:ab236712)ELISA检测试剂盒均购于美国 Abcam 公司。Micro-CT(型号:Quantum GX,美国 PerkinElmer 公司);光学显微镜(型号:DM-125,中国 Biobase 公司)。

1.3 动物模型构建

100 只小鼠采用随机数字表法分为 5 组,每组 20 只:Con 组(正常小鼠)、PD 组(PD 小鼠)、OTM 组(PD+OTM 小鼠)、CUR 组(PD+OTM 小鼠灌胃 100 mg/kg CUR^[10])和 CUR+LPS 组(PD+OTM 小鼠灌胃 100 mg/kg CUR 并牙龈注射 10 μ L 浓度为 1 μ g/ μ L 的 LPS^[11])。实验前小鼠禁食禁水 12 h,腹腔注射 0.3%戊巴比妥钠进行麻醉。除 Con 组外,其余各组利用牙科探针拨开牙龈后,在左上颌第一磨牙经约 0.2 mm 不锈钢丝进行结扎 4 周以诱导 PD 模型^[11]。若小鼠出现牙龈红肿、探诊出血及牙周袋等典型症状,通过 Micro-CT 扫描与病理切片分析,确认牙槽骨吸收及牙龈炎症情况,证实小鼠牙周病模型构建成功。Con 组仅麻醉,不进行其他手术操作。小鼠分笼饲养,给予正常饮水摄食,持续喂养 4 周,80 只小鼠均造模成功。PD 小鼠经 0.3%戊巴比妥钠麻醉后,移除左上颌后牙的结扎钢丝,在上颌切牙的唇侧以及第一磨牙的近中颊侧表面制备深度约 0.5 mm 的凹槽。使用经过校准至 30 g 的螺旋弹簧,借助约 0.2 mm 直径的不锈钢丝,进行结扎固定^[12]。

1.4 给药干预

CUR 组小鼠每天灌胃 100 mg/kg CUR;Con 组、PD 组、OTM 组小鼠灌胃等体积 5%羧甲基纤维素钠溶液作为对照,均持续 14 d;CUR+LPS 组小鼠在每天 CUR 灌胃的基础上,每 2 天牙龈注射 10 μ L LPS 溶液(浓度为 1 μ g/ μ L);Con 组和 PD 组同步注射等量生理盐水作为对照。给药结束后 24 h,每组随机选择 10 只小鼠,断颈处死用于 CT 分析牙槽骨的变化。其余小鼠断颈处死用于组织学、炎症因子和 Western blot 实验。

1.5 Micro-CT 检测 CEJ-ABC 距离、BV/TV、Tb.N 和 Tb.Th

分离小鼠上颌骨,剥离牙龈组织,使用 Micro-CT 观察样本,获取连续的三维成像。计算牙槽骨质界(cemento-enamel junction, CEJ)至牙槽骨嵴顶(alveolar bone crest, ABC)的距离和骨体积分数(bone volume fraction, BV/TV),并观察记录骨小梁的数量(trabecular number, Tb.N)与厚度(trabecular thickness, Tb.Th)。

1.6 组织学分析

上颌骨样本经过乙醇脱水处理,进行包埋固定,以制备出厚度约为 4 μ m 的连续切片。分别进行 HE 染色和抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)染色,以便进行后续的显微观察与分析。在 HE 染色中,参考 RIBEIRO 等^[13]的研究,采用 Ribeiro 评分标准量化牙周组织的病变程度。0 分:几乎无或仅见极少量炎症细胞浸润,牙槽突结构完整且骨质保存良好,无明显损伤迹象;1 分:牙龈区域出现中度程度的炎症细胞浸润,尽管牙骨质层仍保持完整,但牙槽突已呈现轻微吸收迹象;2 分:牙龈及牙周韧带区域细胞浸润现象显著加剧,同时伴随牙槽突及部分牙骨质的明显退化;3 分:牙龈与牙周韧带区域的细胞浸润达到严重程度,牙槽突已完全吸收,且牙骨质层遭受严重破坏。在 TRAP 染色中,破骨细胞呈现红色,统计其牙槽骨面的阳性多核细胞数。

1.7 ELISA 检测 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平

收集每组小鼠的牙周组织,离心取上清液后,根据 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的水平。

1.8 Western blot 检测 RANKL、OPG、TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达水平

小鼠的牙周组织经放射免疫沉淀法裂解缓冲液裂解提取总蛋白,蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移至 PVDF 膜上。室温条件下,用 5%脱脂牛奶处理 1 h,与一抗 RANKL、OPG、TLR4、MyD88、NF- κ B p65(稀释比例均为 1:2 000)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。室温条件下与二抗(稀释比例为 1:5 000)孵育 1 h。内参使用 β -actin,采用 E-CL 对蛋白质条带进行可视化,条带灰度值经 ImageJ 软件量化。

1.9 统计学分析

使用 SPSS 23.0 软件进行数据分析,所有数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间两两比较采用独立样本 t 检验;多组数据间的差异分析,选用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠 CEJ-ABC 距离、BV/TV、Tb.N、Tb.Th 比较

与 Con 组比较,PD 组 CEJ-ABC 距离增加($P<0.05$),BV/TV、Tb.N、Tb.Th 降低($P<0.05$)。与 PD 组比较,OTM 组、CUR+LPS 组 CEJ-ABC 距离增加($P<0.05$),BV/TV、Tb.N、Tb.Th 降低($P<0.05$)。与 OTM 组比较,

CUR 组 CEJ-ABC 距离降低($P<0.05$),BV/TV、Tb.N、Tb.Th 增加($P<0.05$);CUR+LPS 组 Tb.N 升高($P<0.05$)。与 CUR 组比较,CUR+LPS 组 CEJ-ABC 距离增加($P<0.05$),BV/TV、Tb.N、Tb.Th 降低($P<0.05$)。详见表 1。

HE 染色结果显示,Con 组牙周组织细胞正常。与 Con 组比较,PD 组牙龈组织内存在显著的炎症细胞浸润现象,并伴有轻度牙槽突吸收症状,组织损伤评分增加($P<0.05$)。与 PD 组比较,OTM 组炎症细胞浸润现象更严重,其范围扩展至牙周韧带区域,牙骨质与牙槽突出现更为显著的破坏与损伤,组织损伤评分增加($P<0.05$)。与 OTM 组比较,CUR 组炎症细胞在牙周组织中的浸润情况得到显著改善,牙骨质及牙槽突受损程度减轻,组织损伤评分降低($P<0.05$)。与 CUR 组比较,CUR+LPS 组炎症细胞浸润

加重,组织损伤评分增加($P<0.05$)。详见表 1、图 1。

2.2 各组小鼠多核破骨细胞数量、RANKL 和 OPG 表达比较

TRAP 染色结果显示,Con 组中仅可观察到极少数的破骨细胞。与 Con 组比较,PD 组的多核破骨细胞数量增加($P<0.05$),RANKL 表达水平、RANKL/OPG 比值增加($P<0.05$)。与 PD 组比较,OTM 组、CUR+LPS 组多核破骨细胞数量、RANKL 表达水平、RANKL/OPG 比值均增加($P<0.05$)。与 OTM 组比较,CUR 组多核破骨细胞数量、RANKL 表达水平、RANKL/OPG 比值均降低($P<0.05$);CUR+LPS 组 RANKL 表达水平降低($P<0.05$)。与 CUR 组比较,CUR+LPS 组多核破骨细胞数量、RANKL 表达水平、RANKL/OPG 比值均增加($P<0.05$)。详见表 2、图 2。

2.3 各组小鼠牙周组织炎症因子水平比较

与 Con 组比较,PD 组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平

表 1 各组小鼠牙槽骨空间参数以及组织损伤评分比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of alveolar bone spatial parameters and histopathological damage scores among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	CEJ-ABC 距离/mm	BV/TV	Tb.N/mm	Tb.Th/mm	组织损伤评分/分
Con 组	0.29±0.04	0.90±0.10	7.56±0.73	0.191±0.023	0.03±0.01
PD 组	0.54±0.06*	0.58±0.06*	5.16±0.61*	0.158±0.018*	1.68±0.25*
OTM 组	0.81±0.10**	0.42±0.05**	4.23±0.62**	0.125±0.016**	2.76±0.31**
CUR 组	0.36±0.05* Δ	0.78±0.07* Δ	6.51±0.68* Δ	0.179±0.019 Δ	1.31±0.19* Δ
CUR+LPS 组	0.76±0.07** $\blacktriangle$	0.50±0.08** $\blacktriangle$	4.58±0.59** $\Delta\blacktriangle$	0.130±0.018** $\blacktriangle$	2.54±0.29** $\blacktriangle$

注:与 Con 组相比,* $P<0.05$;与 PD 组相比,** $P<0.05$;与 OTM 组相比, $\Delta P<0.05$;与 CUR 组相比, $\blacktriangle P<0.05$ 。

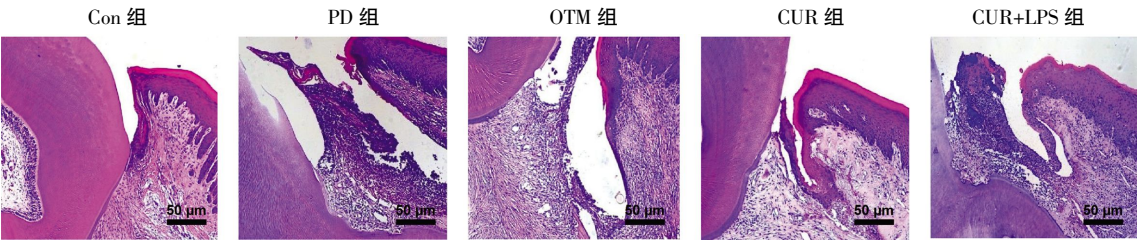


图 1 各组小鼠牙周组织 HE 染色图($\times 100$)

Fig.1 HE staining results of periodontal tissues in each group of mice ($\times 100$)

表 2 各组小鼠多核破骨细胞数量、RANKL 和 OPG 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of the number of multinucleated osteoclasts and the expression levels of RANKL and OPG among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	多核破骨细胞数量(Cells/mm ²)	RANKL	OPG	RANKL/OPG
Con 组	1.85±0.18	0.34±0.05	1.02±0.13	0.34±0.05
PD 组	9.62±1.15*	0.61±0.08*	1.17±0.19	0.54±0.08*
OTM 组	13.49±1.38**	2.35±0.19**	1.12±0.16	2.09±0.25**
CUR 组	6.12±0.94* Δ	0.41±0.08* Δ	1.01±0.13	0.41±0.08 Δ
CUR+LPS 组	12.57±1.41** $\blacktriangle$	2.11±0.16** $\Delta\blacktriangle$	1.05±0.15	1.99±0.21** $\blacktriangle$

注:与 Con 组相比,* $P<0.05$;与 PD 组相比,** $P<0.05$;与 OTM 组相比, $\Delta P<0.05$;与 CUR 组相比, $\blacktriangle P<0.05$ 。

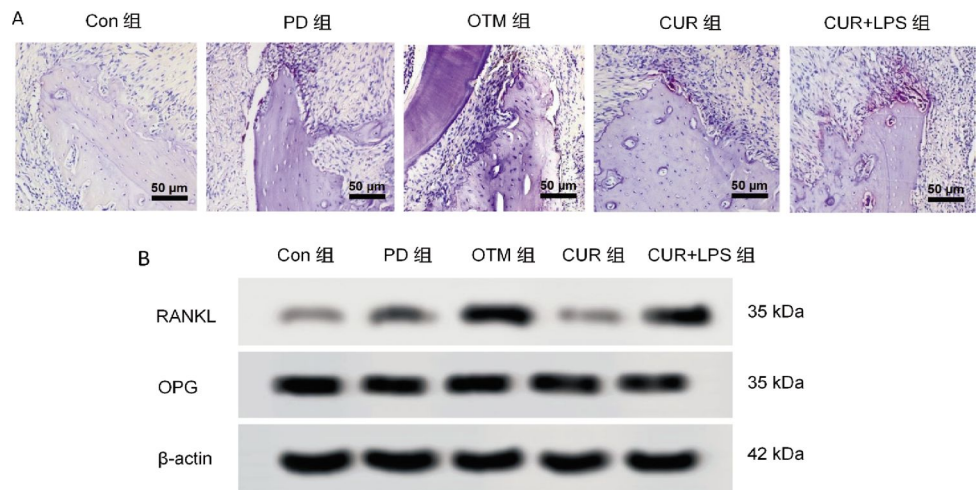


图 2 各组小鼠多核破骨细胞数量、RANKL 和 OPG 表达比较

Fig.2 Comparison of the number of multinucleated osteoclasts and the expression levels of RANKL and OPG among different groups of mice

注:A.各组小鼠牙周组织 TRAP 染色图(×100);B.破骨细胞生成相关蛋白表达条带图。

升高($P<0.05$)。与 PD 组比较,OTM 组、CUR+LPS 组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平升高($P<0.05$)。与 OTM 组比较,CUR 组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平降低($P<0.05$)。与 CUR 组比较,CUR+LPS 组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平升高($P<0.05$)。详见表 3。

表 3 各组小鼠牙周组织炎症因子水平比较
($\bar{x}\pm s$, $n=10$, ng/L)

Table 3 Comparison of the levels of inflammatory factors in periodontal tissues among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=10$, ng/L)

组别	IL-6	IL-1 β	TNF- α
Con 组	42.19 $\pm$ 5.69	123.58 $\pm$ 21.01	78.31 $\pm$ 12.52
PD 组	88.64 $\pm$ 10.97*	216.84 $\pm$ 32.43*	187.19 $\pm$ 21.09*
OTM 组	168.10 $\pm$ 19.82*#	399.67 $\pm$ 38.71*#	309.81 $\pm$ 32.77*#
CUR 组	61.03 $\pm$ 9.41* Δ	165.82 $\pm$ 25.69* Δ	129.87 $\pm$ 22.34* Δ
CUR+LPS 组	159.67 $\pm$ 18.67*# $\blacktriangle$	401.91 $\pm$ 41.58*# $\blacktriangle$	287.48 $\pm$ 28.95*# $\blacktriangle$

注:与 Con 组相比,* $P<0.05$;与 PD 组相比,# $P<0.05$;与 OTM 组相比, Δ $P<0.05$;与 CUR 组相比, $\blacktriangle$ $P<0.05$ 。

2.4 各组小鼠 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达比较

与 Con 组比较,PD 组 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达增加($P<0.05$)。与 PD 组比较,OTM 组 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达增加($P<0.05$);CUR+LPS 组 TLR4 表达降低($P<0.05$),MyD88、NF- κ B p65 表达增加($P<0.05$)。与 OTM 组比较,CUR 组 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达降低($P<0.05$);CUR+LPS 组 TLR4、NF- κ B p65 表达降低($P<0.05$)。与 CUR 组比较,CUR+LPS 组 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达增加($P<0.05$)。详见图 3、表 4。

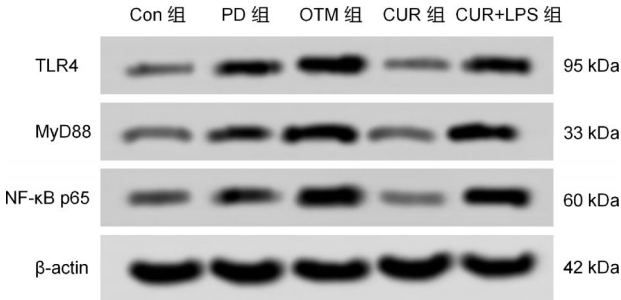


图 3 各组小鼠 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达条带图

Fig.3 Expression bands of TLR4, MyD88 and NF- κ B p65 in each group of mice

表 4 各组小鼠 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 表达水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 4 Comparison of TLR4, MyD88, and NF- κ B p65 expression among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	TLR4	MyD88	NF- κ B p65
Con 组	0.21 $\pm$ 0.04	0.22 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.06
PD 组	0.78 $\pm$ 0.09*	0.59 $\pm$ 0.07*	0.75 $\pm$ 0.08*
OTM 组	1.03 $\pm$ 0.13*#	1.12 $\pm$ 0.15*#	1.19 $\pm$ 0.17*#
CUR 组	0.33 $\pm$ 0.05* Δ	0.23 $\pm$ 0.04 Δ	0.20 $\pm$ 0.04* Δ
CUR+LPS 组	0.68 $\pm$ 0.08*# $\blacktriangle$	1.01 $\pm$ 0.10*# $\blacktriangle$	1.03 $\pm$ 0.09*# $\blacktriangle$

注:与 Con 组相比,* $P<0.05$;与 PD 组相比,# $P<0.05$;与 OTM 组相比, Δ $P<0.05$;与 CUR 组相比, $\blacktriangle$ $P<0.05$ 。

3 讨论

PD 通常由牙菌斑大量积累和宿主过度免疫反应引发。临床治疗旨在通过积极干预,延缓疾病进展,降低牙齿脱落风险。传统 PD 治疗策略多样,包括调整饮食结构、机械清创去除菌斑与结石、局部及全身药物治疗抑制病原菌,必要时采取手术治疗,以

促进牙周组织康复^[14]。OTM 亦用于 PD 治疗,加速牙周组织愈合,稳固患牙,确保长期疗效^[15]。然而,研究发现 OTM 可能加速骨吸收,抑制牙槽骨成骨^[4]。本研究结果显示,相比 PD 组,PD+OTM 组出现更为严重的牙槽骨丢失现象,牙周组织炎症细胞浸润加重且炎症因子水平显著升高。因此,控制 PD 正畸治疗中的炎症反应,阻断牙槽骨吸收,是提升治疗效果的关键。传统中药具有种类丰富、资源广、成本低、易获取、不良反应小等优势,被广泛应用于临床。中医理论中,牙周的状态被视为体内胃与肾功能的外在反映。肾精充盈时,牙齿得以滋养,从而坚固且色泽鲜亮;而胃津充沛,则牙龈得以润泽,表现为红润且色泽鲜明。PD 的发病机制与肾阴不足、气血亏虚、胃肠热盛以及口腔清洁不当密切相关,其导致牙周局部气血运行不畅,产生炎症和疼痛^[16]。而姜黄作为传统中药,源自姜科植物,具有破血行气、通经止痛的功效。研究表明,CUR 具有治疗牙周病潜力,能抑制牙龈卟啉菌生长,阻止生物膜形成及细菌蛋白酶活性,促进 PD 治疗^[17]。研究显示,口服 CUR 可预防病理性牙槽骨丢失^[18]。本研究中,CUR 显著改善 PD 小鼠正畸引起的牙槽骨丢失,减轻牙龈组织炎症浸润及病理损伤,提示 CUR 对 PD 小鼠正畸期间炎症反应及牙槽骨丢失具有治疗作用。

骨生长和骨重塑是一个精密协调的过程,主要由成骨细胞和破骨细胞共同调控。破骨细胞作为源自造血干细胞的多核细胞,负责消化骨矿物质并分解骨组织。正畸中,机械力诱导破骨细胞形成^[19]。PD 时,破骨细胞响应局部炎症信号,溶解和降解牙槽骨,导致牙槽骨丢失^[20]。破骨细胞分化依赖于 RANKL^[21]。RANKL 与受体 RANK 及骨保护素 OPG 同属 TNF 家族,由成骨细胞、成纤维细胞或活化的 T 细胞、B 细胞产生^[22]。OPG 在内皮细胞、血管平滑肌细胞和成骨细胞中表达,通过与 RANKL 结合,调控破骨细胞分化和骨吸收^[23]。RANKL/OPG 比值的降低可促进骨形成,而上升可促进骨吸收^[24]。口腔细菌和破骨细胞衍生蛋白酶可以通过降解 OPG 刺激破骨细胞生成^[25]。研究指出,OPG 缺陷小鼠出现严重牙槽骨丢失^[26]。RANKL 过表达则导致 PD 小鼠牙槽骨高度下降和牙根吸收^[27]。RANKL 和 OPG 的含量对维持骨组织的完整性至关重要。此外,IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子亦促进 PD 骨吸收,增加成骨细胞和牙周韧带细胞 RANKL/OPG 比例,激活破骨细胞^[28]。研究发现,CUR 能抑制炎症因子的表达并降低 LPS 诱导

的 RANKL/OPG 比值,从而调节小鼠 PD 的炎症反应^[29]。在本研究中,与 PD 组比较,OTM+PD 组小鼠的破骨细胞数量和 RANKL/OPG 比值显著上调,且牙龈组织炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著增加。CUR 治疗可显著降低牙龈组织中的破骨细胞数和 RANKL/OPG 比值,抑制 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平。这表明 CUR 通过下调 RANKL/OPG 比值抑制破骨细胞活性,减少 PD 小鼠正畸期间的牙槽骨丢失,同时抑制炎症因子水平,减少正畸过程中的炎症反应。

LPS 是一种细菌内毒素,可通过激活模式识别受体,如 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)参与 PD 的发展^[30]。TLR4 是感知革兰氏阴性菌 LPS 的主要受体,在多种牙周组织中表达^[31]。在炎症条件下,TLR4 的激活触发细胞质中 MyD88 等接头蛋白传递信号,触发 NF- κ B 的核易位,促进 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子的释放,这些因子进一步激活 NF- κ B,形成恶性循环^[32]。在本研究中,与 Con 组相比,PD 组的 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 蛋白表达水平显著上调。此外,RANKL/OPG 比例失调可能与 NF- κ B 激活相关,正畸中 NF- κ B 激活可增加破骨前细胞数量,上调 RANKL 表达,而抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路可显著减少 PD 小鼠正畸期间的牙槽骨丢失^[33]。CUR 具有显著抗炎潜力,可能通过抑制 NF- κ B 激活途径或直接作用于 NF- κ B,阻断其促炎活性,减轻炎症反应^[34]。但二者在 PD 中的调控关系及作用机制还尚未阐明。本研究中,正畸显著上调 PD 小鼠牙龈组织 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 表达水平,而 CUR 显著抑制这一过程,LPS 减弱 CUR 对牙槽骨丢失的改善、牙龈损伤的缓解及对炎症和 TLR4/MyD88/NF- κ B 轴的抑制作用。这表明 CUR 减少 PD 小鼠正畸期间的牙槽骨丢失,可能是通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 轴实现的。

综上所述,CUR 可抑制炎症因子的释放,下调 RANKL/OPG 比值,进而减少 PD 小鼠正畸牙齿移动过程中的牙槽骨丢失,其机制可能与 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路有关。未来的研究仍需要进一步了解确切分子机制和特异性靶点,以及与其他信号通路的交互作用。

参考文献

- [1] 刘志芳,李 垚,刘 帅,等. 固齿散对慢性牙周炎患者的效果及对龈沟液菌群多样性的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(10): 1810-1815.

- [2] 黄晗丹, 杨柳青, 姚经经, 等. 姜黄素在牙周炎防治中的研究进展[J]. 现代口腔医学杂志, 2024, 38(1): 49-53.
- [3] TONETTI M S, JEPSEN S, JIN L J, et al. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action[J]. Journal of Clinical Periodontology, 2017, 44(5): 456-462.
- [4] 贺红, 杜明远. 对正畸诱导性牙根吸收生物层面的认识[J]. 口腔医学研究, 2022, 38(10): 907-912.
- [5] 陈宇翔, 赵安娜, 杨浩然, 等. 基于机器学习和生物信息学分析的脂肪酸代谢相关基因在牙周炎中的作用研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2024, 42(6): 735-747.
- [6] 程永霞, 张茜, 金子恒, 等. 姜黄素的生理功能及其应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(11): 33-40.
- [7] WANG Q R, YE C Q, SUN S K, et al. Curcumin attenuates collagen-induced rat arthritis via anti-inflammatory and apoptotic effects[J]. International Immunopharmacology, 2019, 72: 292-300.
- [8] 杨靖梅, 周子亮, 吴亚菲, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探究姜黄素治疗牙周炎的作用机制[J]. 华西口腔医学杂志, 2023, 41(2): 157-164.
- [9] 刘鹏. 姜黄素防治口腔恶性肿瘤作用机制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2022, 37(12): 2906-2910.
- [10] 曹伟靖, 田莹, 王晓敏. 姜黄素对牙周炎大鼠模型骨丢失的影响及相关机制研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(5): 457-460.
- [11] 王丹, 刘雨笛, 邵丽萍, 等. 黄芪甲苷抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路对牙周炎正畸大鼠牙周组织重塑的影响[J]. 实用口腔医学杂志, 2023, 39(6): 722-729.
- [12] 孙聪, 刘文佳, 金岩, 等. 小鼠正畸牙齿移动模型的制作[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2017, 27(5): 280-283.
- [13] RIBEIRO A B, BROGNARA F, DA SILVA J F, et al. Carotid sinus nerve stimulation attenuates alveolar bone loss and inflammation in experimental periodontitis[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 19258.
- [14] 姜星. 白藜芦醇补充剂对慢性牙周炎患者牙周健康指标及炎症标志物的影响[J]. 转化医学杂志, 2024, 13(3): 474-476, 486.
- [15] 刘昱新. 正畸对牙周炎患者龈沟液骨代谢及炎症因子的影响[J]. 中国医学创新, 2022, 19(35): 10-13.
- [16] 吴泽钰, 宋洁, 赵今. 中药活性成分防治牙周炎的研究进展[J]. 江苏医药, 2023, 49(1): 98-101.
- [17] MURAI H, KUBONIWA M, KAKIUCHI M, et al. Curcumin inhibits growth of Porphyromonas gingivalis by arrest of bacterial dipeptidyl peptidase activity[J]. Journal of Oral Microbiology, 2024, 16(1): 2373040.
- [18] ELBURKI M S, ROSSA C JR, GUIMARÃES-STABILI M R, et al. A chemically modified curcumin (CMC 2.24) inhibits nuclear factor κ B activation and inflammatory bone loss in murine models of LPS-induced experimental periodontitis and diabetes-associated natural periodontitis[J]. Inflammation, 2017, 40(4): 1436-1449.
- [19] ALGHAMDI B, JEON H H, NI J, et al. Osteoimmunology in periodontitis and orthodontic tooth movement[J]. Current Osteoporosis Reports, 2023, 21(2): 128-146.
- [20] JANG J S, HONG S J, MO S Z, et al. PINK1 restrains periodontitis-induced bone loss by preventing osteoclast mitophagy impairment[J]. Redox Biology, 2024, 69: 103023.
- [21] TSUKASAKI M, TAKAYANAGI H. Osteoimmunology: Evolving concepts in bone-immune interactions in health and disease[J]. Nature Reviews Immunology, 2019, 19(10): 626-642.
- [22] ONO T, HAYASHI M, SASAKI F, et al. RANKL biology: Bone metabolism, the immune system, and beyond[J]. Inflammation and Regeneration, 2020, 40: 2.
- [23] 李跃, 于玮玮, 高宏飞. OPG/RANKL/RANK 系统对牙槽骨改建的研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2024, 40(11): 1294-1298.
- [24] 刘勇, 易振宇, 张信成. 基于 OPG/RANK/RANKL 信号通路探究益肾健骨颗粒对绝经后骨质疏松大鼠 BMSCs 成骨分化的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(8): 1277-1282.
- [25] ABDULLAMEER M A, ABDULKAREEM A A. Diagnostic potential of salivary interleukin-17, RANKL, and OPG to differentiate between periodontal health and disease and discriminate stable and unstable periodontitis: A case-control study[J]. Health Science Reports, 2023, 6(2): e1103.
- [26] OZAKI Y, KOIDE M, FURUYA Y, et al. Treatment of OPG-deficient mice with WP9QY, a RANKL-binding peptide, recovers alveolar bone loss by suppressing osteoclastogenesis and enhancing osteoblastogenesis[J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0184904.
- [27] 顾蓉蓉, 丁长伟. miRNA-200c/SOX2 轴在实验性牙周炎牙槽骨吸收中的作用研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2023, 48(3): 281-285.
- [28] 丛铭铭, 颜兴, 李菁, 等. 吸烟对种植体周围炎患者龈下菌群、龈沟液炎症因子和 RANKL/OPG 比值的影响[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(5): 850-854.
- [29] XIAO C J, YU X J, XIE J L, et al. Protective effect and related mechanisms of curcumin in rat experimental periodontitis[J]. Head & Face Medicine, 2018, 14(1): 12.
- [30] HUANG X, SHEN H, LIU Y R, et al. Fisetin attenuates periodontitis through FGFR1/TLR4/NLRP3 inflammasome pathway[J]. International Immunopharmacology, 2021, 95: 107505.
- [31] 柴溥苒, 储开博, 赖永健, 等. 小青龙汤通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路对慢性肾小球肾炎的作用机制研究[J]. 中医药学报, 2024, 52(12): 11-17.
- [32] LI Y L, JIAO J J, QI Y Z, et al. Curcumin: A review of experimental studies and mechanisms related to periodontitis treatment[J]. Journal of Periodontal Research, 2021, 56(5): 837-847.
- [33] SAKAMOTO M, FUKUNAGA T, SASAKI K, et al. Vibration enhances osteoclastogenesis by inducing RANKL expression via NF- κ B signaling in osteocytes[J]. Bone, 2019, 123: 56-66.
- [34] 陈丹红, 刘琦, 吴补领. 姜黄素在口腔医学领域的研究进展[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2021, 22(3): 216-221.