

桑黄素调控 SIRT1/PGC-1 α /Nrf2 通路对牙周炎小鼠牙槽骨吸收的影响^Δ

丁春燕^{1*}, 汪瑞娟², 王毅军¹, 孟丽颖³, 房广林⁴(1. 天津医科大学附属宝坻医院口腔科, 天津 301800; 2. 天津市宝坻区海滨医院口腔科, 天津 301800; 3. 天津市宝坻区周良卫生院口腔科, 天津 301800; 4. 天津市宝坻区郝各庄医院口腔科, 天津 301800)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)07-0902-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.07.13



摘要 目的 基于沉默信息调节因子1/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α /核转录因子红系2相关因子2(SIRT1/PGC-1 α /Nrf2)通路,研究桑黄素对牙周炎小鼠牙槽骨吸收的影响及机制。方法 将小鼠随机分为对照组、模型组、桑黄素组(40 mg/kg)、SRT1720(SIRT1激活剂)组(5 mg/kg)、桑黄素+EX527(SIRT1抑制剂)组(40 mg/kg桑黄素+7.5 mg/kg EX527),每组18只。除对照组外,其余各组小鼠均通过丝线结扎法建立牙周炎模型。建模成功后,各组小鼠灌胃或腹腔注射相应药液/生理盐水,每天给药1次,连续2周。末次给药后,检测小鼠血清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-10水平;测量小鼠釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离,并计算骨体积分数和骨矿物质密度;观察小鼠牙周组织病理学形态;检测小鼠牙周组织中破骨细胞数;检测小鼠牙周组织中核因子 κ B受体激活蛋白配体(RANKL)、骨保护素(OPG)mRNA表达水平和丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平以及SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达水平。结果 与模型组比较,桑黄素组、SRT1720组小鼠牙槽骨吸收和牙周组织炎症细胞浸润现象有所改善;血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平,釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离,牙周组织中破骨细胞数、RANKL mRNA表达水平、MDA水平均显著降低/缩短/减少($P<0.05$);血清中IL-10水平,骨体积分数和骨矿物质密度,牙周组织中OPG mRNA表达水平、SOD水平和SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠上述病理改变明显加重,定量指标水平均显著逆转($P<0.05$)。结论 桑黄素可能通过激活SIRT1/PGC-1 α /Nrf2通路,减轻炎症反应和氧化应激反应,从而抑制牙周炎小鼠牙槽骨吸收。

关键词 牙周炎;桑黄素;SIRT1/PGC-1 α /Nrf2通路;牙槽骨吸收;氧化应激

Effect of morin on alveolar bone resorption in periodontitis mice by regulating the SIRT1/PGC-1 α /Nrf2 pathway

DING Chunyan¹, WANG Ruijuan², WANG Yijun¹, MENG Liying³, FANG Guanglin⁴(1. Dept. of Stomatology, Baodi Hospital Affiliated to Tianjin Medical University, Tianjin 301800, China; 2. Dept. of Stomatology, Baodi District Haibin Hospital of Tianjin, Tianjin 301800, China; 3. Dept. of Stomatology, Baodi District Zhouliang Health Center of Tianjin, Tianjin 301800, China; 4. Dept. of Stomatology, Baodi District Haogezhuang Hospital of Tianjin, Tianjin 301800, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effect and mechanism of morin on alveolar bone resorption in periodontitis mice based on the silent information regulator 1 (SIRT1)/peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α)/nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) pathway. **METHODS** The mice were randomly divided into control group, model group, morin group (40 mg/kg), SRT1720 (SIRT1 activator) group (5 mg/kg), and morin+EX527 (SIRT1 inhibitor) group (40 mg/kg morin+7.5 mg/kg EX527), with 18 mice in each group. Except for control group, mice in other groups were subjected to silk ligation to establish periodontitis model. After successful modeling, mice in each group were treated with corresponding medicinal solutions or normal saline intragastrically or intraperitoneally, once a day, for two consecutive weeks. After the last medication, serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6 and IL-10 were measured. The distance between the cemento-enamel junction and alveolar bone crest was determined, and bone volume fraction and bone mineral density were calculated. Pathological changes of periodontal tissue were observed, and the number of osteoclasts was measured. mRNA expressions of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) in periodontal tissue, the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) as well as protein expressions of SIRT1,

^Δ 基金项目 国家卫生健康委医药卫生科技发展研究中心课题(No. W2023ZT226);天津市自然科学基金联合基金项目(No. 24JCYBJC00291)

* 第一作者 主任医师。研究方向:口腔医学。E-mail: dingchunyan01975@163.com

PGC-1 α , and Nrf2 were determined. **RESULTS** Compared with model group, the alveolar bone resorption and inflammatory cell infiltration in the periodontal tissues of mice were improved in morin group and SRT1720 group. The serum levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6, the distance between cemento-enamel junction and alveolar bone crest, the number of osteoclasts in periodontal tissue, RANKL mRNA expression and the MDA level were decreased, shortened and reduced significantly ($P < 0.05$); however, serum level of IL-10, bone volume fraction and bone mineral density, OPG mRNA expression in periodontal tissue, SOD level and protein expressions of SIRT1, PGC-1 α and Nrf2 were increased significantly ($P < 0.05$). Compared with morin group, the above pathological changes were significantly aggravated in the morin+EX527 group; and the levels of quantitative indicators were markedly reversed ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** Morin may inhibit alveolar bone resorption in periodontitis mice by activating the SIRT1/PGC-1 α /Nrf2 pathway to reduce inflammatory reaction and oxidative stress.

KEYWORDS periodontitis; morin; SIRT1/PGC-1 α /Nrf2 pathway; alveolar bone resorption; oxidative stress

牙周炎是一种影响牙齿支撑结构的慢性炎症性疾病,可导致牙槽骨吸收、牙齿松动甚至牙齿丧失等,从而影响口腔健康^[1]。牙槽骨吸收是牙周炎进展过程中最核心的病理改变,也是导致牙齿丧失的关键原因,有效抑制牙槽骨吸收已成为牙周炎干预治疗的重要靶点^[2]。目前,去除牙菌斑、应用抗生素等多种措施已被用于防治牙槽骨吸收,但其仍存在牙体表面损伤、抗生素耐药性等局限性,进而影响整体治疗效果^[3]。

天然药物因其多靶点、低毒性等特点,在调控牙周炎方面展现出独特的应用前景^[4]。桑黄素是一种天然生物类黄酮,具有抗炎、抗氧化作用^[5]。已有研究证实,桑黄素可保护小鼠免受脂多糖诱导的炎症性骨质流失^[6],可预防绝经后骨质疏松小鼠骨流失^[7],还可促进颅骨缺陷小鼠骨再生^[8];这提示桑黄素对病理性骨吸收可能具有抑制作用。然而,桑黄素是否可抑制牙槽骨吸收尚不明确。

研究发现,沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)可影响牙周膜干细胞的成骨分化及炎症浸润^[9]。SIRT1/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α)/核转录因子红系2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)通路是介导SIRT1功能的关键下游通路,其通过调控氧化应激、炎症反应及骨代谢平衡,与牙槽骨吸收形成密切关联^[10-11]。基于此,本研究拟基于SIRT1/PGC-1 α /Nrf2通路,研究桑黄素对牙周炎小鼠牙槽骨吸收的抑制作用及机制,以期为临床治疗牙周炎提供参考依据。

1 材料

1.1 主要仪器

XM型小动物Micro-CT成像系统购自佰泰科技有限公司;DT-MB96A型酶标仪购自常州德杜精密仪器有限公司;CX53型光学显微镜购自日本Olympus公司;Q5型荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪购自美国ABI公司;UV1700型分光光度计购自上海奥析科学仪器有限公司;Invitrogen型凝胶成像系统购自美国Bio-Rad公司。

1.2 主要药品与试剂

SIRT1激活剂SRT1720、SIRT1抑制剂EX527(货号分别为HY-10532、HY-15452)均购自美国MCE公司;桑黄素对照品(货号20231116,纯度不低于98%)购自上海通蔚生物科技有限公司;小鼠白细胞介素-1 β (interleukin, IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6、IL-10酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(货号分别为SBJ-M0027、SBJ-M0030-96T、SBJ-M0044、SBJ-M0073)均购自南京森贝伽生物科技有限公司;抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)染色试剂盒(货号44212)购自上海雅吉生物科技有限公司;Trizol试剂、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(货号分别为R0016、C0105S)均购自上海碧云天生物技术股份有限公司;小鼠丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(货号分别为20231226、20231129)均购自上海古朵生物科技有限公司;兔源SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2、GAPDH抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗(货号分别为ab110304、ab176328、ab62352、ab8245、ab6721)均购自英国Abcam公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级C57BL雄性小鼠,共90只,8周龄,体重23~24 g,均由江苏青龙山生物科技有限公司提供,动物生产许可证号为SCXK(苏)2024-0001。所有小鼠均饲养于恒温(20~22 $^{\circ}$ C)、恒湿(50%~60%)、12 h/12 h光暗循环的标准动物房内。本实验于天津医科大学实验动物科学部开展,且实验方案已通过天津医科大学实验动物伦理委员会审查批准(批准号为ICAU202403046)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

将小鼠随机分为对照组、模型组、桑黄素组、SRT1720(SIRT1激活剂)组、桑黄素+EX527(SIRT1抑制剂)组,每组18只。除对照组(不做任何处理,仅正常饲养)外,其余各组小鼠均通过丝线结扎法建立牙周炎模型:用6-0无菌丝线穿过处于麻醉状态的小鼠左上颌第

一磨牙与第二磨牙之间,并于第一磨牙远中颊侧打结,以进行造模;打结4周后,若小鼠出现牙龈红肿充血、牙齿松动、牙周袋形成,且Micro-CT成像系统检查显示存在牙槽骨吸收(表现为釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离增大、骨体积分数和骨矿物质密度降低),则表明造模成功^[2]。造模过程中,各组小鼠无死亡。造模成功后,桑黄素组小鼠灌胃40 mg/kg桑黄素(基于前期预实验及文献报道^[13]确定的最佳剂量),且腹腔注射等体积的生理盐水;SRT1720组小鼠腹腔注射5 mg/kg SRT1720^[14],且灌胃等体积的生理盐水;桑黄素+EX527组小鼠灌胃40 mg/kg桑黄素,且腹腔注射7.5 mg/kg EX527^[15];对照组、模型组小鼠腹腔注射且灌胃等体积的生理盐水。各组小鼠每天给药1次,连续2周。

2.2 小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10水平检测

末次给药24 h后,所有小鼠以1%戊巴比妥钠(50 mg/kg,腹腔注射)麻醉,于腹主动脉采血;将血样进行离心处理,以分离血清,然后根据相应ELISA试剂盒说明书方法检测小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10水平。

2.3 小鼠牙槽骨吸收与骨密度指标检测

取血完成后,各组随机选取6只小鼠处死,收集小鼠左上颌骨并浸泡于4%多聚甲醛中,使用Micro-CT成像系统以5 μ m分辨率扫描小鼠左上颌骨创建3D图像,测量小鼠上颌第一磨牙颊侧釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离,并计算骨体积分数和骨矿物质密度。

2.4 小鼠牙周组织病理学形态观察

各组随机选取6只小鼠处死后,收集小鼠牙周组织并以4%多聚甲醛固定,经梯度脱水、石蜡包埋、切片(5 μ m)后,取部分切片进行HE染色,经梯度脱水、二甲苯透明后,以中性树脂封片,再采用光学显微镜观察小鼠牙周组织病理学形态变化。

2.5 小鼠牙周组织中破骨细胞数检测

取“2.4”项下剩余切片,加入适量TRAP染色液在37 $^{\circ}$ C下孵育30 min;冲洗后,切片用苏木精复染5 min;冲洗后,采用光学显微镜观察牙周组织中TRAP阳性细胞(即破骨细胞,其细胞质呈红色或酒红色,紧贴骨组织表面),并计数(选取5个不重叠的牙周组织视野,计数后取平均值)。

2.6 小鼠牙周组织中核因子 κ B受体激活蛋白配体、骨保护素mRNA表达检测

取各组剩余的6只小鼠,处死后,收集小鼠牙周组织;取部分牙周组织采用Trizol试剂从中提取RNA;将RNA逆转录为cDNA后,以cDNA为模板进行PCR扩增。PCR扩增条件为95 $^{\circ}$ C预变性5 min;95 $^{\circ}$ C变性30 s,60 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,共40个循环。以GAPDH为内参,采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算目的基因的表达水平。其中,核因子 κ B受体激活蛋白配体(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)、骨保护素

(osteoprotegerin, OPG)的引物序列设计与合成均由生物工程(上海)股份有限公司完成,具体信息见表1。

表1 PCR引物序列和扩增产物长度

基因名称	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
RANKL	正向:AAACGCAGATTGCGACTCG	187
	反向:GTTGCAGTTCCTTCTGCACGG	
OPG	正向:AGGTCCTGCAGAGCTTCACAA	212
	反向:AAACAGCCAGTGACCATTCTCA	
GAPDH	正向:GGTGAAGGTCGGTGTGAACG	194
	反向:CTCGCTCTGGAAGATGGTG	

2.7 小鼠牙周组织中MDA、SOD水平检测

取“2.6”项下牙周组织适量,根据相应试剂盒说明书方法操作,检测小鼠牙周组织中MDA、SOD水平。

2.8 小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达检测

取“2.6”项下牙周组织适量,加入RIPA裂解液提取总蛋白,经BCA法测定蛋白浓度后,将蛋白进行变性处理;取变性后蛋白30 μ g,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,经转膜、封闭后,加入SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2、GAPDH(稀释度分别为1:3 000、1:4 000、1:3 000、1:6 000)一抗于4 $^{\circ}$ C条件下孵育过夜;次日加入相应二抗(稀释度为1:3 000)室温孵育2 h,经发光液处理后,采用凝胶成像系统成像,然后采用Image J软件分析蛋白灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.9 统计学方法

采用GraphPad Prism 9软件进行统计分析。计量资料经检验均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK- q 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 桑黄素对牙周炎小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10水平的影响

与对照组比较,模型组小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平均显著升高,IL-10水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,桑黄素组、SRT1720组小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平均显著降低,IL-10水平均显著升高($P<0.05$);与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平均显著升高,IL-10水平显著降低($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10水平比较($\bar{x} \pm s, n=18, \text{pg/mL}$)

组别	TNF- α	IL-1 β	IL-6	IL-10
对照组	181.36 \pm 9.65	121.57 \pm 6.83	36.58 \pm 2.34	101.44 \pm 8.35
模型组	345.56 \pm 17.75 ^a	265.54 \pm 14.41 ^a	125.59 \pm 8.43 ^a	26.67 \pm 2.33 ^a
桑黄素组	223.63 \pm 11.82 ^b	153.67 \pm 7.83 ^b	55.63 \pm 2.81 ^b	81.15 \pm 5.23 ^b
SRT1720组	241.15 \pm 12.67 ^b	162.88 \pm 8.19 ^b	63.45 \pm 2.93 ^b	72.66 \pm 5.45 ^b
桑黄素+EX527组	275.56 \pm 14.05 ^c	200.57 \pm 10.14 ^c	96.68 \pm 6.18 ^c	44.67 \pm 2.83 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与桑黄素组比较, $P<0.05$ 。

3.2 桑黄素对牙周炎小鼠牙槽骨吸收与骨密度指标的影响

与对照组比较,模型组小鼠釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离显著增加,骨体积分数和骨矿物质密度均显著降低($P<0.05$);与模型组比较,桑黄素组、SRT1720组小鼠釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离均显著缩短,骨体积分数和骨矿物质密度均显著升高($P<0.05$);与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离显著增加,骨体积分数和骨矿物质密度均显著降低($P<0.05$)。结果见图1、表3。

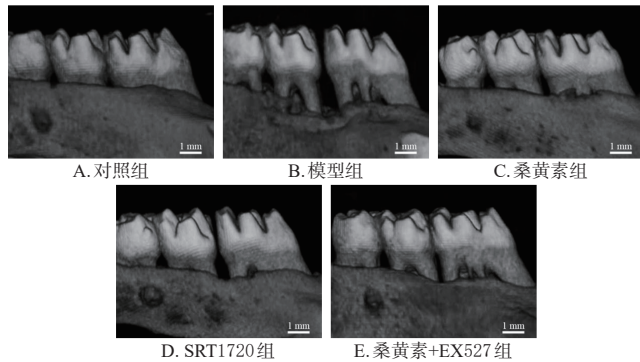


图1 各组小鼠牙槽骨吸收显微观察图

表3 各组小鼠牙槽骨吸收与骨密度指标比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离/mm	骨体积分数/%	骨矿物质密度/(mg/mm^3)
对照组	0.28 ± 0.02	61.15 ± 3.54	0.83 ± 0.06
模型组	0.70 ± 0.06^a	15.78 ± 0.73^a	0.37 ± 0.03^a
桑黄素组	0.39 ± 0.02^b	49.93 ± 2.56^b	0.69 ± 0.05^b
SRT1720组	0.43 ± 0.03^b	46.65 ± 2.48^b	0.61 ± 0.06^b
桑黄素+EX527组	0.58 ± 0.05^c	30.72 ± 1.59^c	0.46 ± 0.04^c

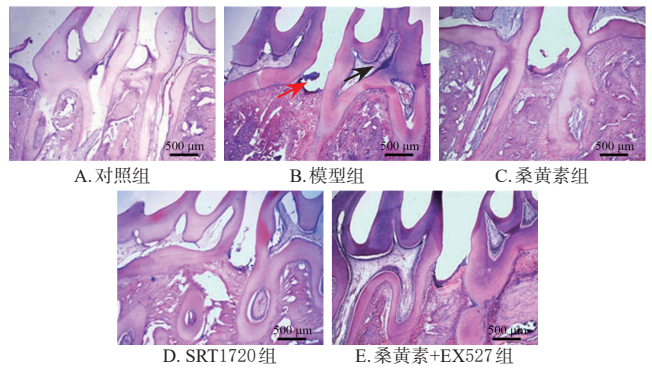
a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$; c: 与桑黄素组比较, $P<0.05$ 。

3.3 桑黄素对牙周炎小鼠牙周组织病理学形态的影响

对照组小鼠牙周组织结构完整,未见明显炎症细胞浸润,牙槽骨结构清晰;模型组小鼠牙槽骨吸收严重,牙周组织中可见大量炎症细胞浸润;与模型组比较,桑黄素组、SRT1720组小鼠牙槽骨吸收及牙周组织炎症细胞浸润现象有所改善;与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠牙槽骨吸收及牙周组织中炎症细胞浸润现象严重。结果见图2。

3.4 桑黄素对牙周炎小鼠牙周组织中破骨细胞数的影响

与对照组[(2.23 ± 0.12)个]比较,模型组小鼠牙周组织中破骨细胞数[(13.69 ± 0.67)个]显著增加($P<0.05$);与模型组比较,桑黄素组、SRT1720组小鼠牙周组织中破骨细胞数[分别为(5.45 ± 0.28)、(6.36 ± 0.37)个]均显著减少($P<0.05$);与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠牙周组织中破骨细胞数[(10.27 ± 0.53)个]显著增加($P<0.05$)。结果见图3。



注:黑色箭头所指为牙槽骨损伤;红色箭头所指为炎症细胞。

图2 各组小鼠牙周组织的病理学形态观察显微图(HE染色)

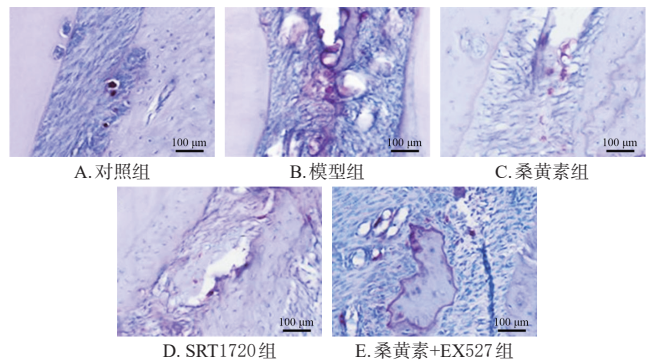


图3 各组小鼠牙周组织中破骨细胞观察的显微图(TRAP染色)

3.5 桑黄素对牙周炎小鼠牙周组织中RANKL、OPG mRNA表达的影响

与对照组比较,模型组小鼠牙周组织中RANKL mRNA表达水平显著升高,OPG mRNA表达水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,桑黄素组、SRT1720组小鼠牙周组织中RANKL mRNA表达水平均显著降低,OPG mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$);与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠牙周组织中RANKL mRNA表达水平显著升高,OPG mRNA表达水平显著降低($P<0.05$)。结果见表4。

表4 各组小鼠牙周组织中RANKL、OPG mRNA表达比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	RANKL mRNA	OPG mRNA
对照组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型组	2.37 ± 0.18^a	0.15 ± 0.01^a
桑黄素组	1.32 ± 0.11^b	0.83 ± 0.07^b
SRT1720组	1.49 ± 0.13^b	0.71 ± 0.06^b
桑黄素+EX527组	1.83 ± 0.14^c	0.32 ± 0.02^c

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$; c: 与桑黄素组比较, $P<0.05$ 。

3.6 桑黄素对牙周炎小鼠牙周组织中MDA、SOD水平的影响

与对照组比较,模型组小鼠牙周组织中MDA水平显著升高,SOD水平显著降低($P<0.05$);与模型组比

较,桑黄素组、SIRT1720组小鼠牙周组织中MDA水平显著降低,SOD水平显著升高($P<0.05$);与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠牙周组织中MDA水平显著升高,SOD水平显著降低($P<0.05$)。结果见表5。

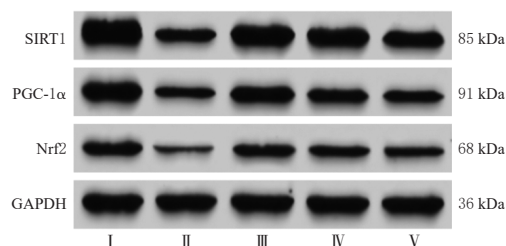
表5 各组小鼠牙周组织中MDA、SOD水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	SOD(U/mg)	MDA/(nmol/mg)
对照组	62.85±3.24	2.23±0.13
模型组	29.67±1.58 ^a	7.89±0.31 ^a
桑黄素组	54.30±2.67 ^b	3.59±0.17 ^b
SIRT1720组	50.06±2.58 ^b	3.72±0.19 ^b
桑黄素+EX527组	41.36±2.34 ^c	5.02±0.23 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与桑黄素组比较, $P<0.05$ 。

3.7 桑黄素对牙周炎小鼠牙周组织中SIRT1/PGC-1 α /Nrf2通路相关蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$);与模型组比较,桑黄素组、SIRT1720组小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$);与桑黄素组比较,桑黄素+EX527组小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图4、表6。



I:对照组;II:模型组;III:桑黄素组;IV:SIRT1720组;V:桑黄素+EX527组。

图4 各组小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达的电泳图

表6 各组小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	SIRT1/GAPDH	PGC-1 α /GAPDH	Nrf2/GAPDH
对照组	1.81±0.20	1.21±0.11	0.86±0.07
模型组	0.73±0.08 ^a	0.40±0.03 ^a	0.15±0.01 ^a
桑黄素组	1.46±0.15 ^b	0.98±0.07 ^b	0.72±0.07 ^b
SIRT1720组	1.25±0.13 ^b	0.76±0.06 ^b	0.65±0.06 ^b
桑黄素+EX527组	1.07±0.10 ^c	0.61±0.05 ^c	0.39±0.03 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与桑黄素组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

牙周炎是常见的口腔慢性炎症性疾病,其特征是牙周组织发生炎症反应,从而促进炎症介质IL-1 β 、TNF- α 等的表达水平升高,进而导致结缔组织损伤和牙槽骨吸收^[16-17]。本研究构建了牙周炎小鼠模型,结果显示,模型组小鼠血清中促炎因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平及牙

周组织中炎症细胞浸润程度明显高于对照组,血清中抗炎因子IL-10水平明显低于对照组,这符合牙周炎的炎症特征。另外,模型组小鼠釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离明显增加,骨体积分数和骨矿物质密度明显降低,且牙槽骨吸收严重。相关研究显示,牙槽骨吸收与破骨细胞增加密切相关^[18]。在骨代谢过程中,RANKL是促进骨吸收的关键因子;OPG作为RANKL的诱饵受体,可通过竞争性结合RANKL,阻断RANKL与核因子 κ B受体激活蛋白受体的结合,从而抑制破骨细胞活性并诱导其凋亡^[19]。此外有研究显示,氧化应激程度的加重可能导致破骨细胞介导的骨吸收异常^[20]。MDA是脂质过氧化产生的主要醛类产物,而SOD是一种重要的抗氧化酶,二者在评估氧化应激水平方面发挥着重要作用^[21]。据报道,SOD水平的降低以及MDA水平的升高可促进牙周炎大鼠牙槽骨吸收^[22]。本研究结果显示,经桑黄素干预后,小鼠血清中促炎因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平和牙周组织中MDA水平、RANKL mRNA表达水平以及破骨细胞数、釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离均明显降低/减少/缩短,抗炎因子IL-10水平、骨体积分数、骨矿物质密度以及牙周组织中SOD水平、OPG mRNA表达水平均明显升高。这提示桑黄素可通过减轻炎症反应和氧化应激反应,抑制破骨细胞生成,从而抑制牙周炎小鼠牙槽骨吸收。

SIRT1作为一种NAD⁺依赖的去乙酰化酶,可通过对PGC-1 α 进行去乙酰化修饰,增强其转录活性;活化的PGC-1 α 可协同促进Nrf2的核转位及下游抗氧化元件的表达,从而形成SIRT1/PGC-1 α /Nrf2级联调控轴,进而在减轻氧化应激、抑制炎症反应及维持骨代谢平衡中发挥关键作用^[23]。有研究证实,SIRT1可调控牙周膜干细胞成骨分化、抑制牙周组织炎症细胞浸润^[9]。为明确该通路在牙周炎牙槽骨吸收中的具体作用,本研究选用SIRT1特异性激活剂SIRT1720与抑制剂EX527进行干预。结果显示,与模型组比较,SIRT1720组小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达上调,釉牙骨质界与牙槽骨嵴顶的距离缩短,骨体积分数和骨矿物质密度升高,这表明激活SIRT1/PGC-1 α /Nrf2通路可抑制牙周炎小鼠牙槽骨吸收。经桑黄素干预后,小鼠牙周组织中SIRT1、PGC-1 α 、Nrf2蛋白表达也上调,由此推测桑黄素可能通过激活SIRT1/PGC-1 α /Nrf2通路发挥抑制牙周炎小鼠牙槽骨吸收的作用。为了验证该推测,本研究采用SIRT1抑制剂EX527进行了回复实验,结果显示,EX527减弱了桑黄素对牙周炎小鼠牙槽骨吸收的抑制作用。

综上所述,桑黄素可能通过激活SIRT1/PGC-1 α /Nrf2通路,减轻炎症反应和氧化应激反应,从而抑制牙周炎小鼠牙槽骨吸收。本研究尚存在一定的不足:(1)桑黄素调控牙槽骨吸收的机制较为复杂,可能还涉及其他通路;(2)本研究虽然以SIRT1激活剂SIRT1720作为

阳性对照,但未设置经典牙周炎药物作为阳性对照,无法直接比较药效优势。后续本课题组将增设经典阳性对照组,完善实验设计并深入挖掘桑黄素调控牙槽骨吸收的潜在机制,以期桑黄素的临床应用提供更充分的参考依据。

参考文献

- [1] LI S H, YANG W R, LI A L, et al. Protective effect of Nrf2 in periodontitis: a preclinical systematic review and meta-analysis[J]. Arch Oral Biol, 2023, 151: 105713.
- [2] SADEK K M, EL MOSHY S, RADWAN I A, et al. Molecular basis beyond interrelated bone resorption/regeneration in periodontal diseases: a concise review[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(5): 4599.
- [3] 张洋, 宋磊, 吴芷芸. 复方黄芩含漱液对慢性牙周炎患者牙周临床指数的影响[J]. 锦州医科大学学报, 2025, 46(4): 64-67.
- [4] HASHIM N T, BABIKER R, CHAITANYA N C S K, et al. New insights in natural bioactive compounds for periodontal disease: advanced molecular mechanisms and therapeutic potential[J]. Molecules, 2025, 30(4): 807.
- [5] SHAO Y, CHEN Y F, LAN X, et al. Morin regulates M1/M2 microglial polarization via NF- κ B p65 to alleviate vincristine-induced neuropathic pain[J]. Drug Des Devel Ther, 2024, 18: 3143-3156.
- [6] PARK H J, PARK J N, YOON S Y, et al. Morin disrupts cytoskeleton reorganization in osteoclasts through an ROS/SHP1/c-src axis and grants protection from LPS-induced bone loss[J]. Antioxidants, 2022, 11(5): 963.
- [7] SHI Y F, YE L, SHEN S W, et al. Morin attenuates osteoclast formation and function by suppressing the NF- κ B, MAPK and calcium signaling pathways[J]. Phytother Res, 2021, 35(10): 5694-5707.
- [8] WAN J, MA T, JIN Y, et al. The effects of morin on bone regeneration to accelerate healing in bone defects in mice[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2020, 34: 2058738420962909.
- [9] 伍栋, 习梅. 炎症微环境下 SIRT1 促进牙周膜干细胞成骨分化的作用及机制研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2023, 39(2): 218-222.
- [10] CHEN J S, ZHANG Y R, GAO J, et al. Sirtuin 3 deficiency exacerbates age-related periodontal disease[J]. J Periodontal Res, 2021, 56(6): 1163-1173.
- [11] TOSSETTA G, FANTONE S, TOGNI L, et al. Modulation of NRF2/KEAP1 signaling by phytotherapeutics in periodontitis[J]. Antioxidants, 2024, 13(10): 1270.
- [12] 漆美瑶, 祁星颖, 周欣奕, 等. 大麻二酚联合米诺环素对牙周炎治疗作用的实验研究[J]. 国际口腔医学杂志, 2024, 51(4): 392-400.
- [13] QIU L, YAN C Q, YANG Y, et al. Morin alleviates DSS-induced ulcerative colitis in mice via inhibition of inflammation and modulation of intestinal microbiota[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 140: 112846.
- [14] ZHANG X S, XIE H B, LIU Z B, et al. HMGB 1 acetylation mediates trichloroethylene-induced immune kidney injury by facilitating endothelial cell-podocyte communication[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2023, 259: 115042.
- [15] 魏雪乔, 张建影, 黄娟, 等. 基于 SIRT1/PGC-1 α 通路探讨黄芪补肾活血汤对糖尿病肾病大鼠的保护作用及机制[J]. 陕西中医, 2025, 46(8): 1036-1041.
- [16] YIN Y, MA Z Y, SHI P L. Nookatone mitigates periodontal inflammation and reduces alveolar bone loss via Nrf2/HO-1 and NF- κ B pathways in rat model of periodontitis[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2024, 62(3): 145-153.
- [17] 刘昌玲, 陈耀武, 魏晓莹, 等. 慢性牙周炎患者血清 CGRP、PGE₂、CCL20 与牙周临床指标和 Th17/Treg 失衡的相关性分析[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(14): 2745-2749.
- [18] ZHANG Z J, SONG J H, KWON S H, et al. Pirfenidone inhibits alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis by suppressing the NF- κ B signaling pathway in mice[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(10): 8682.
- [19] WANG L T, CHEN L R, CHEN K H. Hormone-related and drug-induced osteoporosis: a cellular and molecular overview[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(6): 5814.
- [20] SI Y H, LI Y, GU K, et al. Icarin ameliorates osteoporosis in ovariectomized rats by targeting Cullin 3/Nrf2/OH pathway for osteoclast inhibition[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 173: 116422.
- [21] 王朝晨, 张浩, 崔健, 等. 盐酸氟桂利嗪对脑出血大鼠氧化应激、炎症因子表达以及神经功能的影响及机制探索[J]. 现代生物医学进展, 2025, 25(3): 419-427, 467.
- [22] PAKSOY T, USTAOĞLU G, ŞEHIRLI A Ö, et al. Effect of bromelain on periodontal destruction and alveolar bone in rats with experimental periodontitis[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 121: 110446.
- [23] XIE S C, JIANG X L, DOYCHEVA D M, et al. Activation of GPR39 with TC-G 1008 attenuates neuroinflammation via SIRT1/PGC-1 α /Nrf2 pathway post-neonatal hypoxic-ischemic injury in rats[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 226.

(收稿日期: 2025-12-16 修回日期: 2026-03-06)

(编辑: 唐晓莲)