蛇床子素调节SDF-1/CXCR4信号轴对根尖周炎 大鼠的改善作用研究

沈慧 王静 赵亚鹏 陈亚琼* (青海红十字医院口腔科, 西宁 810000)

摘要 该文旨在探究蛇床子素(Ost)调节基质细胞衍生因子-1(SDF-1)/CXC家族趋化因子受体 4(CXCR4)信号轴对根尖周炎大鼠的改善作用。构建根尖周炎大鼠模型。将大鼠分为对照组(Control 组), 模型组(Model组), 蛇床子素低、中、高剂量组(Ost-L组、Ost-M组、Ost-H组)和高剂量蛇床子素 +SDF-1/CXCR4通路抑制剂组(Ost-H+AMD3100组)。HE染色观察大鼠牙周组织病理变化;对大鼠下 颌骨进行Micro-CT检测;酶联免疫吸附法检测大鼠血清中白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-6(IL-6)、 肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平;光学显微镜观察大鼠牙槽骨吸收程度;HE染色观察大鼠根尖周围组织 病理变化;免疫组化法检测骨保护素(OPG)、核因子KB受体活化因子配体(RANKL)表达情况;蛋白质 免疫印迹法检测SDF-1/CXCR4通路相关蛋白表达情况。与Control组比较, Model组牙周组织炎性细 胞浸润明显,牙周膜增宽,IL-6、TNF-α、IL-1β水平增加,CEJ-ABC距离及根尖骨吸收增加,骨密度、 骨体积分数降低, OPG、SDF-1、CXCR4表达量降低, RANKL表达量升高(P<0.05); 与Model组比较, Ost-L、Ost-M、Ost-H组炎性细胞浸润缓解, IL-6、TNF-α、IL-1β水平逐渐降低, CEJ-ABC距离缩短及 根尖骨吸收减少,骨密度、骨体积分数升高,OPG、SDF-1、CXCR4表达量上升,RANKL表达量下降 (P<0.05); 与Ost-H组相比, Ost-H+AMD3100组炎性细胞浸润加重, IL-6、TNF-α、IL-1β水平增加, CEJ-ABC距离及根尖骨吸收增加, 骨密度、骨体积分数下降, OPG、SDF-1、CXCR4表达量下降, RANKL 表达量升高(P<0.05)。蛇床子素激活SDF-1/CXCR4信号轴缓解根尖周炎大鼠炎性损伤。

关键词 蛇床子素; 根尖周炎; 基质细胞衍生因子-1/CXC家族趋化因子受体4信号轴; 改善作用

Study on the Improvement Effect of Osthol on Periapical Periodontitis Rats by Regulating the SDF-1/CXCR4 Signaling Axis

SHEN Hui, WANG Jing, ZHAO Yapeng, CHEN Yaqiong* (Department of Stomatology, Qinghai Red Cross Hospital, Xining 810000, China)

Abstract This study aims to investigate the improvement effect of Ost (osthol) on periapical periodontitis in rats by regulating the SDF-1 (stromal cell-derived factor-1)/CXCR4 (CXC chemokine receptor 4) signaling axis. A rat model of periapical periodontitis was constructed. Rats were assigned into a Control group, a Model group, low, medium, and high dose osthol groups (Ost-L group, Ost-M group, Ost-H group), and a highdose osthol+SDF-1/CXCR4 pathway inhibitor group (Ost-H+AMD3100 group). HE staining was used to observe pathological changes in rat periodontal tissue. The mandible of rats was subjected to Micro-CT testing. The serum levels of IL-1 β (interleukin-1 β), IL-6 (interleukin-6), and TNF- α (tumor necrosis factor- α) in rat were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The degree of alveolar bone resorption in rats was measured by optical microscopy. The pathological changes in the periapical tissues of rats were observed by HE staining. The expression of OPG (osteoprotegerin) and RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) was detected by immunohistochemistry and the expression of SDF-1/CXCR4 pathway-associated proteins was detected by Western blot. Compared with the Control group, the inflammatory cell infiltration in the periodontal tissue of the Model group was great, and the periodontal membrane widened, the levels of IL-6, TNF- α , IL-1 β , and CEJ-ABC distance increased, the apical bone resorption increased, the bone density and bone volume fraction decreased, the expression levels of OPG, SDF-1, and CXCR4 decreased, and the expression level of RANKL increased (P<0.05). Compared with the Model group, the inflammatory cell infiltration was alleviated in the Ost-L, Ost-M, and Ost-H groups, the levels of IL-6, TNF- α , IL-1 β , and CEJ-ABC distance, apical bone resorption and the expression level of RANKL decreased, while the bone density and bone volume fraction, the expression levels of OPG, SDF-1, and CXCR4 increased (P<0.05). Compared with the Ost-H group, the inflammatory cell infiltration in the Ost-H+AMD3100 group was aggravated, the levels of IL-6, TNF- α , IL-1 β , and CEJ-ABC distance increased, apical bone resorption and the expression level of RANKL increased (P<0.05). Osthol activates the SDF-1/CXCR4 signaling axis to alleviate inflammatory injury in rats with periapical periodontitis.

Keywords osthol; periapical periodontitis; stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine receptor 4 signaling axis; improvement effect

根尖周炎是一种慢性口腔炎性疾病,特征是根 尖周围组织中牙槽骨的破坏和吸收,其常由严重的 龋齿、牙髓病变或牙周病引起[1]。有研究表明,根尖 周围区域的细菌感染是根尖炎症的主要原因。而巨 噬细胞消除细菌的同时会伴随着复杂的炎症活动, 进而加剧根尖周组织破坏[2]。然而,目前关于根尖 周炎的发病机制仍处于研究阶段, 而探究其发病机 制对于控制疾病的进展至关重要。蛇床子素(osthol, Ost)是一种天然香豆素衍生物,表现出多种药理活 性,如抗炎、抗肿瘤、护肝、神经保护、免疫调节 剂和骨骼保护等,能调节各种信号通路,参与调控炎 症及成骨细胞分化,提高骨密度和骨强度[3]。据报道, 蛇床子素能显著抑制脂多糖诱导的巨噬细胞中炎症 因子产生,通过调控胆碱能抗炎途径减轻炎症⁽⁴⁾。然 而蛇床子素对根尖周炎的作用仍未可知。基质细胞 衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)是一 种众所周知的炎症性趋化因子,在多种炎症模型中 表达上调,其在牙龈卟啉单胞菌诱导的牙周炎小鼠 模型中能通过与CXC家族趋化因子受体4(CXC chemokine receptor 4 signaling axis, CXCR4)相互作用, 参与调节炎症相关信号转导,减轻炎症和减少牙槽 骨丢失,从而缓解牙周炎^[5]。还有研究发现,SDF-1 能够促进人牙周韧带干细胞(human periodontal mesenchymal stem cells, hPDLSCs)的内皮分化, 通过激 活 SDF-1/CXCR4信号通路促进 hPDLSCs的增殖^[6]。 然而, SDF-1/CXCR4通路在根尖周炎中的作用尚未 被报道。本课题组通过建立根尖周炎大鼠模型,基 于 SDF-1/CXCR4信号通路,重点探讨蛇床子素对根 尖周炎大鼠的改善作用。

1 材料与方法

1.1 材料

动物: 雄性 SPF级 SD 大鼠[许可证号: SCXK(鄂)2022-0012]购于三峡大学。

主要试剂:蛇床子素(货号:YJ-11765R)购于上 海雅吉生物科技有限公司;SDF-1/CXCR4通路抑制 剂AMD3100(货号:CS-01Y72910)购于上海莼试生 物技术有限公司;大鼠白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)(货号:XY-IL6-Ra)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)(货号:xy-CL-R0019c)、白 细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)(货号:xy-CL-R0012c)试剂盒购于上海信裕生物科技有限公司; 兔抗大鼠SDF-1(货号:A00053-1)、CXCR4(货号: bs-1011R-1)、骨保护素(osteoprotegerin, OPG)(货号: bs-0431R-1)、核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL)(货 号:bs-0747R-1)抗体购于上海恒斐生物科技有限公 司。

1.2 造模

建立根尖周炎模型^[7]:将大鼠腹腔注射1%戊巴 比妥钠麻醉,仰卧固定,在左侧下颌第一磨牙处局部 消毒,进行开髓术,暴露牙髓,手术操作完成后禁食 24 h。上述操作均由同一研究员进行。于术后4周 时采用Micro-CT对大鼠根尖周炎动物模型是否构建 成功进行鉴定。本研究经过青海红十字医院伦理委 员会审核(伦理批号: 伦-202410B)。

1.3 实验分组

将牙周炎模型大鼠分组,分为模型组(Model组)、 药物处理组[包括蛇床子素低(Ost-L组)、中(Ost-M组)、 高(Ost-H组)剂量组以及高剂量组+SDF-1/CXCR4通路 抑制剂组(Ost-H+AMD3100组)],20只每组,另取20只 正常大鼠不做任何处理,设为对照组(Control组)。根 据参考文献[8],Ost-L组、Ost-M组、Ost-H组分别灌 胃10、20、40 mg·kg⁻¹·d⁻¹蛇床子素;Ost-H+AMD3100 组灌胃40 mg·kg⁻¹·d⁻¹蛇床子素及灌胃1 mg·kg⁻¹·d⁻¹的 AMD3100^[9];Control组与Model组灌胃等剂量的生理 盐水,连续给药4周。

1.4 大鼠血清炎性因子水平检测

末次给药后次日,固定大鼠四肢,剃除左侧颈 部毛发,暴露总动脉,取血后静置30 min,室温下 3 000 r/min离心15 min,保留上层血清并分装。用 试剂盒检测大鼠血清中IL-6、TNF-α、IL-1β水平, 其余血清放于-80 °C冰箱保存。

1.5 Micro-CT检测

采血完成后将大鼠处死,分离下颌骨,各组随 机取5只大鼠,拍摄Micro-CT。用Scanco Evaluation 软件分析大鼠骨密度和根尖区骨体积分数,重建大 鼠下颌骨的三维图像。

1.6 大鼠牙槽骨吸收情况检测

随机取各组5只大鼠,分离下颌骨,剃除软组织,加0.1%亚甲蓝室温孵育2 min。光学显微镜观察,计 算第一磨牙到第三磨牙处釉-牙骨质界到牙槽嵴顶 (cementoenamel junction and alveolar bone crest, CEJ-ABC)的距离,以评估牙槽骨吸收情况。

1.7 HE染色观察根尖周围组织病理形态

各组随机取5只大鼠麻醉,4%聚甲醛室温固定 心脏灌流,分离下颌骨组织,固定24h,10%EDTA脱 钙处理,石蜡包埋,切片,酒精脱水。用HE染液对各 组大鼠的根尖周部位组织样本染色,梯度浓度(70%、 85%、95%、100%)酒精脱水,二甲苯透明,封片,显 微镜下观察根尖周围组织病理形态。

1.8 免疫组化检测骨相关蛋白表达情况

将1.7中下颌骨组织切片进行脱蜡水化,用柠檬酸钠修复,除去过氧化酶活性,10%牛血清白蛋白封闭,加OPG(1:200)、RANKL(1:200)一抗于4℃孵育过夜,磷酸盐缓冲液清洗3次,加二抗(1:1000)室温孵育30min,DAB显色,显微镜下控制反应时间,流动水冲洗,苏木精复染,梯度浓度(70%、85%、95%、100%)酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,光学显微镜下观察并统计吸光度(D)值。

1.9 蛋白检测

RIPA液裂解并提取每组剩余5只大鼠下颌骨 根尖牙周组织蛋白,BCA法测定其浓度。取50μg 蛋白上样,β-actin(1:1000)作内参,进行SDS-PAGE 电泳,转膜,5%脱脂牛奶室温封闭,洗膜,加SDF-1(1:1000)、CXCR4(1:1000)一抗,4°C过夜孵 育,加二抗(1:2000),室温孵育1h,ECL液显色,采 用ImageJ软件分析蛋白条带灰度值,计算SDF-1、 CXCR4表达量。

1.10 统计学分析

用 SPSS 25.0软件分析数据,以平均数±标准差 (x±s)表示符合正态分布的数据。采用单因素方差 分析比较多组间差异, SNK-q检验比较各组间差异。 P<0.05表示差异显著。

2 结果

2.1 根尖周炎大鼠模型构建结果

大鼠牙周膜增宽、出现根尖阴影,说明根尖周炎大鼠模型建立成功,见图1。

2.2 蛇床子素对根尖周炎大鼠炎性因子的影响

与Control组相比, Model组IL-6、TNF-α、IL-1β 水平上升(P<0.05); 与Model组相比, Ost-L、Ost-M、 Ost-H组IL-6、TNF-α、IL-1β水平降低(P<0.05); 与 Ost-H组相比, Ost-H+AMD3100组IL-6、TNF-α、 IL-1β水平升高(P<0.05), 见表1。

2.3 根尖周炎大鼠Micro-CT检测

与Control组相比, Model组根尖骨吸收较多, 骨密度、骨体积分数降低(P<0.05); 与Model组比 较, Ost-L、Ost-M、Ost-H组根尖骨吸收减少, 骨密 度、骨体积分数升高(P<0.05); 与Ost-H组相比, Ost-H+AMD3100组根尖骨吸收增加, 骨密度、骨体积分 数下降(P<0.05), 结果见图2和表2。



图1 根尖周炎大鼠模型构建影像学图片 Fig.1 Imaging images of the rat model of periapical periodontitis constructed

Table 1 Effects of Osthol on the levels of 12-0, 11(1-4 and 12-1)					
组别	II -6 /pg·mI ⁻¹	TNE-a /pa·mI ⁻¹	II -16 /ng·mI $^{-1}$		
Group	iL-07pg iiL	inti-u/pg inL	itt-ip/pg iitt		
Control group	16.74±1.85	16.84±2.74	13.62±2.45		
Model group	86.35±8.93*	75.34±8.96*	63.57±7.59*		
Ost-L group	75.98±7.74 [#]	62.57±7.55 [#]	51.75±6.37 [#]		
Ost-M group	54.23±5.82 ^{#@}	43.69±5.62 ^{#@}	36.28±4.98 ^{#@}		
Ost-H group	41.17±4.33 ^{#@&}	32.46±4.37 ^{#@&}	25.36±3.64 ^{#@&}		
Ost-H+AMD3100 group	$66.59{\pm}6.97^{\$}$	55.41±6.78 ^{\$}	45.06±5.73 ^s		
F	313.671	222.135	224.840		
Р	< 0.001	<0.001	< 0.001		

表1 蛇床子素对IL-6、TNF-α、IL-1β水平的影响 Table 1 Effects of ostbol on the levels of IL-6 TNF-a and IL-18

*P<0.05,与Control组比较; *P<0.05,与Model组比较; @P<0.05,与Ost-L组比较; *P<0.05,与Ost-M组比较; \$P<0.05,与Ost-H组比较。

*P<0.05 compared with Control group, #P<0.05 compared with Model group; @P<0.05 compared with Ost-L group; &P<0.05 compared with Ost-M group; $^{\$}P < 0.05$ compared with Ost-H group.



Ost-M group

group



Ost-H group

图2 牙周组织Micro-CT检测 Fig.2 Micro-CT detection of periodontal tissues

Table 2Effects of osthol on bone mineral density and bone volume fraction in rats with apical periodontitis					
组别	骨密度/g·cm ⁻³	骨体积分数/%			
Group	Bone mineral density $/g \cdot cm^{-3}$	Bone volume fraction /%			
Control group	386.35±40.21	0.34±0.03			
Model group	175.06±19.63*	$0.12{\pm}0.01*$			
Ost-L group	234.58±22.47 [#]	$0.16{\pm}0.01^{\#}$			
Ost-M group	289.96±29.16 ^{#@}	$0.23{\pm}0.02^{\#@}$			
Ost-H group	344.79±35.74 ^{#@&}	$0.28{\pm}0.03^{\#@\&}$			
Ost-H+AMD3100 group	241.42±26.96 ^s	$0.20{\pm}0.02^{\circ}$			
F	33.752	68.750			
Р	< 0.001	< 0.001			

表2	蛇床子素ヌ	村根尖	周炎大	、鼠骨密度	Ē.	骨体积	、分数	牧的 景	影响				
 _						-						_	

*P<0.05,与Control组比较; [#]P<0.05,与Model组比较; [@]P<0.05,与Ost-L组比较; [&]P<0.05,与Ost-M组比较; ^{\$}P<0.05,与Ost-H组比较。

*P<0.05 compared with Control group; [#]P<0.05 compared with Model group; [@]P<0.05 compared with Ost-L group; [&]P<0.05 compared with Ost-M group; ^{\$}P<0.05 compared with Ost-H group.



图3 牙槽骨吸收检测 Fig.3 Alveolar bone resorption detection

表3 虹	:床子	素对根	尖周	炎大師	鼠牙植	曹骨呀	败的影	饷
------	-----	-----	----	-----	-----	-----	-----	---

Table 2	Effect of esthele	n alwaalan h		ation in mos	to with .	nomia mia al	nonio dontitio
Table 5	Effect of Osthol o	n alveolar u	Jone resor	puon m ra	ts with	pertapical	periouoninis

组别	CEJ-ABC距离/mm
Group	CEJ-ABC distance /mm
Control group	0.10 ± 0.01
Model group	$0.95 {\pm} 0.09 *$
Ost-L group	$0.78{\pm}0.07^{\#}$
Ost-M group	$0.50{\pm}0.05^{\#@}$
Ost-H group	$0.32{\pm}0.03^{\#@\&}$
Ost-H+AMD3100 group	$0.64 \pm 0.06^{\circ}$
F	142.950
P	<0.001

*P<0.05, 与Control组比较; [#]P<0.05, 与Model组比较; [@]P<0.05, 与Ost-L组比较; [&]P<0.05, 与Ost-M组比较; ^{\$}P<0.05, 与Ost-H组比较。 *P<0.05 compared with Control group; [#]P<0.05 compared with Model group; [@]P<0.05 compared with Ost-L group; [&]P<0.05 compared with Ost-M group; ^{\$}P<0.05 compared with Ost-H group.

2.4 蛇床子素对根尖周炎大鼠牙槽骨吸收的影响

与Control组比较, Model组CEJ-ABC距离增加 (*P*<0.05); 与Model组比较, Ost-L、Ost-M、Ost-H组

CEJ-ABC距离缩短(P<0.05); 与Ost-H组相比, Ost-H+AMD3100组CEJ-ABC距离增加(P<0.05), 结果见 图3和表3。



图4 根尖组织病理改变 Fig.4 Pathological changes of apical tissue

2.5 根尖周炎大鼠根尖组织HE染色

Control组根尖组织无异常现象;与Control组相 比,Model组牙槽骨吸收明显,大量炎性细胞浸润,牙 周膜增宽;与Model组比较,Ost-L、Ost-M、Ost-H组 牙槽骨吸收减少,炎性细胞浸润缓解;与Ost-H组相 比,Ost-H+AMD3100组牙槽骨吸收增加,炎性细胞 浸润严重,结果见图4。

2.6 蛇床子素对根尖周炎大鼠骨相关蛋白表达的 影响

OPG主要位于骨细胞胞核和高尔基体中, RANKL主要位于成骨细胞及成纤维细胞胞质中。与 Control组相比, Model组OPG表达量降低, RANKL表 达量升高(P<0.05); 与Model组比较, Ost-L、Ost-M、 Ost-H组OPG表达量上升, RANKL表达量下降(P<0.05); 与Ost-H组相比, Ost-H+AMD3100组OPG表达量下降, RANKL表达量升高(P<0.05), 结果见图5和表4。

2.7 蛇床子素对 SDF-1/CXCR4通路相关蛋白表 达的影响

与Control组相比, Model组SDF-1、CXCR4表 达水平下降(P<0.05); 与Model组比较, Ost-L、Ost-M、Ost-H组SDF-1、CXCR4表达水平上升(P<0.05); 与Ost-H组相比, Ost-H+AMD3100组SDF-1、CXCR4 表达水平降低(P<0.05), 结果见图6、表5。

3 讨论

来自牙髓腔的各种微生物在根尖周炎的发展中

起主导作用。根尖周炎被认为是由直接的细菌损伤 引发的,并触发宿主的免疫反应,从而导致主要的组 织破坏和骨破坏^[10]。根管治疗是根尖周炎的一种经 典治疗方法,它能够最大限度地减少微生物感染的空 间并为根尖周组织创造有益的愈合环境^[11]。探索根 尖周炎的病理机制对根尖周炎的治疗十分重要。

天然药物因其悠久的使用历史、药理作用和较 小的副作用在预防和治疗各种人类疾病方面表现出 药用价值。蛇床素也被称为蛇床子素,它可以通过 从植物中提取和分离或完全合成获得。研究表明, 蛇床子素具有多种药理学活性,有多种生物学作用, 包括抗炎、抗肿瘤、成骨、抗菌、免疫调节剂和肝 炎抑制剂[12]。据报道,骨质疏松性骨髓来源的间充质 干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC) 诱导T细胞凋亡的能力降低;通过蛇床子素处理,成 功恢复了骨质疏松性BMSC的免疫抑制能力,提高了 其在实验性炎症性结肠炎和骨质疏松症中的治疗效 果,说明蛇床子素预处理后BMSC的免疫调节特性增 强^[13]。研究发现,蛇床子素减少了LPS和RANKL诱 导的骨髓来源巨噬细胞中活性氧的产生。此外,它 通过抑制P38/MAPK和NF-κB通路有效抑制破骨细 胞分化和破骨细胞特异性基因表达,蛇床子素大大 改善了LPS诱导的骨吸收,并调节了骨溶解部位巨噬 细胞的比例[14]。本研究中,根尖周炎大鼠血清炎症 因子水平上升,牙槽骨、根尖骨吸收较多,骨密度、 骨体积分数下降,说明根尖周炎大鼠模型成功建立。



图5 检测OPG、RANKL蛋白表达情况 Fig.5 Detection of OPG and RANKL protein expression

	表4	蛇床子素对OPG、RANKL蛋白表达的影响
Table 4	Effects	of osthol on the expression of OPG and RANKL proteins

	•	•
组别	OPG(光密度值)	RANKL(光密度值)
Group	OPG (optical density value)	RANKL (optical density value)
Control group	1.06±0.10	0.22±0.02
Model group	0.28±0.02*	1.15±0.12*
Ost-L group	$0.41{\pm}0.04^{\#}$	$0.91{\pm}0.09$ [#]
Ost-M group	$0.62{\pm}0.06^{\#@}$	$0.69{\pm}0.07^{\#@}$
Ost-H group	$0.85{\pm}0.08^{\#@\&}$	$0.46{\pm}0.05^{\#@\&}$
Ost-H+AMD3100 group	$0.49{\pm}0.05^{\circ}$	$0.78{\pm}0.08^{\circ}$
F	103.612	88.460
Р	< 0.001	< 0.001

*P<0.05,与Control组比较; [#]P<0.05,与Model组比较; [@]P<0.05,与Ost-L组比较; [&]P<0.05,与Ost-M组比较; ^{\$}P<0.05,与Ost-H组比较。

*P < 0.05 compared with Control group; *P < 0.05 compared with Model group; @P < 0.05 compared with Ost-L group; *P < 0.05 compared with Ost-M group; ^{\$}P<0.05 compared with Ost-H group.



A: Control组; B: Model组; C: Ost-L组; D: Ost-M组; E: Ost-H组; F: Ost-H+AMD3100组。

A: Control group; B: Model group; C: Ost-L group; D: Ost-M group; E: Ost-H group; F: Ost-H+AMD3100 group.

图6 检测SDF-1、CXCR4蛋白表达情况

Fig.6 Detection of the protein expression of SDF-1 and CXCR4

表5 蛇床子素对SDF-1/CXCR4通路相关蛋白表达的影响 Table 5 Effects of osthol on the expression of SDF-1/CXCR4 signaling pathway-associated proteins

组别 Group	SDF-1	CXCR4
Cloup		
Control group	$0.96 {\pm} 0.09$	1.03±0.10
Model group	0.27±0.02*	0.31±0.03*
Ost-L group	0.39±0.04 [#]	$0.44{\pm}0.04^{\#}$
Ost-M group	$0.61 \pm 0.06^{\#@}$	$0.68{\pm}0.07^{\#@}$
Ost-H group	$0.81{\pm}0.08^{\#@\&}$	$0.89{\pm}0.09^{\#@\&}$
Ost-H+AMD3100 group	$0.52 \pm 0.05^{\circ}$	$0.57 \pm 0.06^{\circ}$
F	88.389	76.069
Р	<0.001	<0.001

*P<0.05,与Control组比较; *P<0.05,与Model组比较; @P<0.05,与Ost-L组比较; *P<0.05,与Ost-M组比较; *P<0.05,与Ost-H组比较。

*P<0.05 compared with Control group; "P<0.05 compared with Model group; "P<0.05 compared with Ost-L group; "P<0.05 compared with Ost-M group; "P<0.05 compared with Ost-H group.

通过不同剂量的蛇床子素处理后,大鼠血清炎症指标降低,根尖牙周组织中炎症浸润减少,骨密度、骨体积分数上升,说明蛇床子素能够抑制根尖周炎的炎症反应,发挥骨保护作用,与文献[14]报道相一致。研究发现,炎症环境能通过多种机制诱导破骨细胞前体细胞的增殖和分化,导致根尖周炎的骨吸收,在根尖骨重塑过程中起重要作用^[15]。本研究发现,蛇床子素处理能缩短CEJ-ABC距离,提示蛇床子素可改善骨吸收,参与骨形成,从而促进骨稳态,可能治疗根牙周炎及骨破坏。

OPG由多种类型的细胞合成,如成骨细胞、肺 或肝脏驻留细胞及B淋巴细胞。OPG能够抑制破骨 细胞形成,过表达OPG导致骨硬化。OPG被认为是 一种与RANKL结合的诱饵受体,通过阻断RANKL-RANK相互作用来负向调节破骨细胞的分化和活 化^[16]。RANKL是一种同源三聚体蛋白,由成骨细 胞、活化的T细胞和其他细胞产生。破骨细胞是 负责骨吸收的主要细胞,位于骨骼表面。活化的破 骨细胞释放蛋白水解酶和一些酸,破坏骨骼的结缔 组织和矿物质部分。为了调节单核细胞到破骨细胞的分化,成骨细胞会释放OPG和RANKL以及巨噬细胞集落刺激因子,在RANKL/RANK/OPG通路中,RANKL与作为其受体的RANK结合,并最终导致破骨细胞前体成熟^[17]。本研究中,根尖周炎大鼠OPG表达水平下降,RANKL表达水平上升,说明炎症因子可能通过激活破骨细胞造成骨吸收。蛇床子素干预根尖周炎大鼠后,OPG表达水平上升, RANKL表达水平下降,说明蛇床子素能够促进成骨细胞形成,抑制破骨细胞活性,抑制牙槽骨和根尖骨的吸收,从而抑制大鼠根尖周炎疾病进展。

趋化因子 SDF-1与CXCR4的特异性结合具有 多种生物学效应^[18]。SDF-1是一种有效的体内引 诱剂,通过 SDF-1/CXCR4通路作用于间充质干细 胞。SDF-1的上调可促进 SDF-1/CXCR4通路的激 活。CXCR4在牙源性干细胞中广泛表达。SDF-1 可以募集间充质干细胞和其他细胞参与组织修复 和再生,并可用作信号分子募集和吸引 hPDLSCs 归巢, hPDLSCs负责牙周组织的稳态和再生^[19]。 研究证明, 柚皮素通过SDF-1/CXCR4信号通路促 进SDF-1α基因和蛋白的表达^[20]。还有研究报道, 西格列汀促进LPS诱导的hPDLSCs增殖和成骨分 化,抑制细胞凋亡和炎症反应,可能是通过激活 SDF-1/CXCR4通路发挥作用的^[21]。本研究中,模 型大鼠中SDF-1、CXCR4下调表达,根尖周炎大 鼠通过蛇床子素治疗后SDF-1、CXCR4表达水平 升高,提示蛇床子素可能通过激活SDF-1/CXCR4 信号通路从而抑制炎症反应。在此基础上,使用 SDF-1/CXCR4通路抑制剂AMD3100进行回复验 证,发现AMD3100能够逆转上述实验结果,说明 蛇床子素可能通过激活SDF-1/CXCR4通路抑制根 尖周炎大鼠的炎症反应。

综上,蛇床子素能够抑制根尖周炎大鼠的炎症 反应,对牙槽骨和根尖骨的吸收起到抑制作用,可能 是通过激活 SDF-1/CXCR4信号通路进一步发挥作 用的。然而蛇床子素能否通过其他通路在根尖周炎 中发挥作用还不清楚,还需深入研究。

参考文献 (References)

- YE L, CAO L, SONG W, et al. Interaction between apical periodontitis and systemic disease (Review) [J]. Int J Mol Med, 2023, 52(1): 60.
- [2] LIU H, LIU Y, FAN W, et al. Fusobacterium nucleatum triggers proinflammatory cell death via Z-DNA binding protein 1 in apical periodontitis [J]. Cell Commun Signal, 2022, 20(1): 196.
- [3] CHEN J, LIAO X, GAN J. Review on the protective activity of osthole against the pathogenesis of osteoporosis [J]. Front Pharmacol, 2023, 14(1): 1236893.
- [4] LI S H, LI M Y, YUAN T T, et al. Osthole activates the cholinergic anti-inflammatory pathway via α7nAChR upregulation to alleviate inflammatory responses [J]. Chem Biodivers, 2024, 21(4): e202400290.
- [5] KIM S Y, SON M K, PARK J H, et al. The anti-inflammatory effect of SDF-1 derived peptide on porphyromonas gingivalis infection via regulation of NLRP3 and AIM2 inflammasome [J]. Pathogens, 2024, 13(6): 474.
- [6] ZHANG L, HE H, ZHANG M, et al. Assessing the effect and related mechanism of naringenin on the proliferation, osteogenic differentiation and endothelial differentiation of human periodontal ligament stem cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021, 534(1): 337-42.
- [7] 许颖华, 姜龙, 史春. 慢性根尖周炎模型大鼠表观遗传分子: 溴结构域蛋白4的表达变化[J]. 中国组织工程研究(XU Y H, JIANG L, SHI C. Changes in the expression of bromodomaincontaining protein 4, an epigenetic molecule, in a rat model of chronic periapical periodontitis [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research), 2022, 26(14): 2167-71.
- [8] 袁文秀, 王旭霞, 张丽娜, 等. 蛇床子素对大鼠正畸牙牙周组

织改建的影响[J]. 上海口腔医学(YUAN W X, WANG X X, ZHANG L N, et al. Effect of osthole on periodontal remodeling during orthodontic tooth movement in rats [J]. Shanghai Stomatology), 2019, 28(6): 561-6.

- [9] 苏娟娟, 王旭, 陈洪婷, 等. 苍术素对牙周炎大鼠牙周组织炎性 损伤和牙槽骨丢失的影响及机制[J]. 中国药房(SU J J, WANG X, CHEN H T, et al. Effects of atractylodin on inflammatory damage of periodontal tissue and alveolar bone loss in periodontitis rats and its mechanism [J]. Chinese Pharmacy), 2023, 34(23): 2868-73.
- [10] LUO X, WAN Q, CHENG L, et al. Mechanisms of bone remodeling and therapeutic strategies in chronic apical periodontitis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12(1): 908859.
- [11] YANG M, SHEN Z, ZHANG X, et al. Ferroptosis of macrophages facilitates bone loss in apical periodontitis via NRF2/FSP1/ROS pathway [J]. Free Radic Biol Med, 2023, 208(1): 334-47.
- [12] SUN M N, SUN M J, ZHANG J Y. Osthole: an overview of its sources, biological activities, and modification development [J]. Med Chem Res, 2021, 30(10): 1767-94.
- [13] YU Y, CHEN M, YANG S, et al. Osthole enhances the immunosuppressive effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by promoting the Fas/FasL system [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(10): 4835-45.
- [14] WANG F, YANG P, WAN T, et al. Osthole inhibits M1 macrophage polarization and attenuates osteolysis in a mouse skull model [J]. Oxid Med Cell Longev, 2023, 2023(1): 2975193.
- [15] WANG L, DONG M, SHI D, et al. Role of PI3K in the bone resorption of apical periodontitis [J]. BMC Oral Health, 2022, 22(1): 345-57.
- [16] KIM J M, LIN C, STAVRE Z, et al. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis [J]. Cells, 2020, 9(9): 2073.
- [17] TOBEIHA M, MOGHADASIAN M H, AMIN N, et al. RANKL/RANK/OPG pathway: a mechanism involved in exercise-induced bone remodeling [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020(1): 6910312.
- [18] CHEN J, CHEN N, ZHANG T, et al. Rongjin Niantong Fang ameliorates cartilage degeneration by regulating the SDF-1/CX-CR4-p38MAPK signalling pathway [J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 2253-65.
- [19] WU N, SONG J, LIU X, et al. Effect of an low-energy Nd: YAG laser on periodontal ligament stem cell homing through the SDF-1/CXCR4 signaling pathway [J]. BMC Oral Health, 2023, 23(1): 501.
- [20] WANG Y, BAI S, CHENG Q, et al. Naringenin promotes SDF-1/CXCR4 signaling pathway in BMSCs osteogenic differentiation [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2021, 59(1): 66-73.
- [21] 唐小雪,周政,李启期,等.西格列汀激活基质细胞衍生因子-1/CXC趋化因子受体4信号通路对脂多糖诱导的人牙周膜干细胞增殖、凋亡、炎症和成骨分化的影响[J].华西口腔医学杂志(TANG X X, ZHOU Z, LI Q Q, et al. Effects of sitagliptin activation of the stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine receptor 4 signaling pathway on the proliferation, apoptosis, inflammation, and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells induced by lipopolysaccharide [J]. West China Journal of Stomatology), 2024, 42(1): 37-45.