

葛根素对大鼠正畸牙移动过程中牙周组织的影响

余艾晋^{1a}, 樊琴^{1a}, 纪伟^{1b}, 段炜², 张义林³

1. 成都市新都区妇幼保健院 a. 口腔科, b. 内科, 四川 成都 610500; 2. 成都中医药大学附属医院口腔科, 四川 成都 610032;
3. 四川大学华西空港医院口腔科, 四川 成都 610200

【摘要】 目的 探讨葛根素(Pue)调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路对大鼠正畸牙移动过程中牙周组织的影响。方法 取SD大鼠随机分为对照组(C组)、模型组(M组)、葛根素低剂量(Pue-L组)、葛根素高剂量(Pue-H组)、葛根素(200 mg/kg)+茴香霉素(ANS)组(Pue+ANS组),每组12只,除C组外,其余各组大鼠建立正畸牙模型,然后以葛根素和茴香霉素分组干预各组大鼠后检测其牙齿移动距离、牙槽骨骨密度、骨微结构、血清白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、骨保护素(OPG)、核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)及单核细胞趋化性蛋白-1(MCP-1)水平,检测牙周组织中IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1、IL-6水平及MAPK/NF- κ B通路相关蛋白表达。结果 与C组相比,M组大鼠牙槽骨骨微结构受损,牙齿移动距离、血清IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、MCP-1及RANKL水平、p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65增高($P<0.05$);与M组相比,Pue-L、Pue-H组大鼠牙齿移动距离、牙槽骨骨密度、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)、血清OPG水平均升高($P<0.05$),骨小梁间隙(Tb.Sp)、血清IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、MCP-1及RANKL水平、p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65均降低,Pue-H组大鼠上述各指标变化比Pue-L组更强;与Pue-H组相比,Pue+ANS组大鼠牙齿移动距离、牙槽骨骨密度、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)、血清OPG水平均降低($P<0.05$),骨小梁间隙(Tb.Sp)、血清IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、MCP-1及RANKL水平、p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65均升高($P<0.05$)。结论 Pue可抑制MAPK/NF- κ B信号激活,进而减少炎症因子释放,抑制正畸牙模型大鼠牙周组织炎症,减轻其牙槽骨骨量丢失及微结构损伤,并加速正畸牙移动。

【关键词】 葛根素; 丝裂原活化蛋白激酶; 核转录因子- κ B; 正畸牙; 骨密度; 炎症反应

【中图分类号】 R783

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-6170(2024)06-0049-05

The effects of puerarin on periodontal tissue during orthodontic tooth movement in rats YU Ai-jin^{1a}, FAN Qin^{1a}, JI Wei^{1b}, DUAN Wei², ZHANG Yi-lin³ 1a. Department of Stomatology, 1b. Department of Internal Medicine, Chengdu Xindu Maternal and Child Health Hospital, Chengdu 610500, China; 2. Department of Stomatology, Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610032, China; 3. Department of Stomatology, West China Airport Hospital, Sichuan University, Chengdu 610200, China

【Corresponding author】 ZHANG Yi-lin

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of puerarin (Pue) on periodontal tissue during orthodontic tooth movement in rats by regulating the mitogen-activated protein kinase (MAPK)/nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** SD rats were randomly divided into a control group (C group), a model group (M group), a low-dose puerarin group (Pue-L group), a high-dose puerarin group (Pue-H group), and a puerarin (200mg/kg) + anisomycin group (ANS) (Pue + ANS group), 12 rats in each group. Except for the control group, orthodontic tooth models were established in all groups, and then intervened with puerarin and/or anisomycin. After intervention, the distance of tooth movement, bone mineral density (BMD), bone microstructure, levels of serum interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) were detected. The levels of IL-1 β , TNF- α , MCP-1 and IL-6 and the expression of MAPK/NF- κ B pathway related proteins in periodontal tissue were also detected. **Results** Compared with the group C, rats in the group M had damage to the alveolar bone microstructure, tooth movement distance, serum IL-1 β , TNF- α , IL-6, MCP-1 and RANKL levels, p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 were increased ($P<0.05$). Compared with the M group, the tooth movement distance, alveolar bone density, bone volume fraction (BV/TV), trabecular number (Tb.N), trabecular thickness (Tb.Th), and serum OPG levels were increased ($P<0.05$), and trabecular space (Tb.Sp), serum IL-1 β , TNF- α , IL-6, MCP-1 and RANKL levels, p-p38 MAPK/p38 MAPK, and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 were all reduced in the Pue-H group and the Pue-L group, and the changes in the above indicators of rats in the Pue-H group were stronger than those in the Pue-L group. Compared with the Pue-H group, the tooth movement distance, alveolar bone BMD, such as bone volume/tissue volume (BV/TV), Tb.N, Tb.Th, and serum OPG level were significantly decreased ($P<0.05$) while Tb.SP, serum levels of IL-1 β , TNF- α , IL-6, MCP-1 and RANKL levels, p-p38 MAPK/p38 MAPK, and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 were significantly increased in the Pue + ANS group ($P<0.05$). **Conclusions** Puerarin can inhibit the MAPK/NF- κ B signal activation, thereby reducing the release of inflammatory factors. Thus, it inhibits the periodontal tissue inflammation, reduces the alveolar bone loss and microstructure damage in orthodontic tooth model rats, and accelerates the orthodontic tooth movement.

【Key words】 Puerarin; MAPK; NF- κ B; Orthodontic teeth; Bone density; Inflammatory reaction

【基金项目】 成都中医药大学附属医院 2020 年科技发展基金课题(编号:20HL17)

【通讯作者】 张义林

正畸是改善错颌畸形的常用治疗方法,可改善患者颌面异常,缓解患者咀嚼、咬合困难症状,但正畸过程会造成患者不便及痛苦,引发口腔炎症,影

响治疗效果,如何安全有效地加速正畸牙移动是医患双方的迫切愿望^[1,2]。正畸力通过牙齿传递向牙周组织,诱发炎症介质大量合成并释放,是有别于口腔卫生等其他因素引发炎症的一种无菌炎症反应,可影响牙周组织改建,是造成牙槽骨吸收及骨丢失的主要因素,积极探究正畸过程中的炎症反应机制并对其进行限制可有效改善牙周组织改建,促使牙齿移动^[3,4]。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)可诱导多种炎症相关基因的过表达,激活核转录因子- κ B(NF- κ B)信号,诱发炎症发生发展,牙周组织附着的牙菌斑可激活巨噬细胞 MAPK/NF- κ B,促进炎症反应进展^[5],抑制 p38 MAPK 信号激活可通过抑制炎症而促使正畸治疗中牙骨质细胞分化和矿化并减轻炎性牙根吸收^[6],降低 NF- κ B 磷酸化可通过减轻正畸引发的无菌性炎症而改善牙周组织重塑^[7],因而 MAPK/NF- κ B 可作为缓解正畸治疗中牙周炎症的潜在作用靶点。葛根素(Puerarin, Pue)是存在于天然葛属植物中的一种异黄酮类化合物,能起到抑制炎症、骨吸收和改善骨结构的药理作用^[8],Pue 可促进正畸治疗患者人牙周膜干细胞增殖和成骨分化^[9],还可通过抑制 NF- κ B 信号激活而减轻髓核细胞炎症与凋亡^[10],由此预测 Pue 可能通过调节 MAPK/NF- κ B 信号减轻正畸引发的牙周组织炎症,本文通过建立正畸牙大鼠模型,探究 Pue 调节 MAPK/NF- κ B 信号通路对其正畸牙移动过程中牙周组织骨密度和炎症反应的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 2023 年 6~9 月,选取 SPF 级雄性 SD 大鼠,日龄 42~49 天,体质量 210~230 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号 SCXK(京)2018-0013,在温度 23~25℃、相对湿度 55~65%的动物房中喂养,具体严格遵照《关于善待实验动物的指导性意见》并符合 3R 原则。

1.2 试剂与仪器 中国食品药品检定研究院购买 Pue(纯度 95.4%,批号 110752-201816);茴香霉素(ANS)(纯度 \geq 98%,批号 GOY-R7277)购于上海谷研实业有限公司;大鼠骨保护素(OPG)、核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、单核细胞趋化性蛋白-1(MCP-1)、白细胞介素(IL)-1 β 与 IL-6、ELISA 试剂盒购于上海颀心实验室设备有限公司;英国 Abcam 公司购买兔源抗大鼠 Anti-p38 MAPK、Anti-p-NF- κ B p65、Anti-p-p38 MAPK、Anti-NF- κ B p65、Anti-GAPDH 一抗及山羊抗兔二抗(HRP 标记)等。

1.3 制备大鼠正畸牙模型并分组给药 取 SD 大

鼠随机分为 C 组、M 组、Pue-L 组、Pue-H 组、Pue+ANS 组,每组 12 只,M 组和药物处理组大鼠参照文献^[7]中方法制备正畸牙模型:腹腔注射 5 mg/100 g 戊巴比妥钠麻醉大鼠,于其上颌切牙和第 1 磨牙之间连接镍钛螺旋弹簧(金属丝尺寸 0.2 mm;直径 1mm,加拿大 Smart Technology 公司)施加约 50 g 的机械力,C 组大鼠不做处理。

将 Pue 和 ANS 分别加入生理盐水中溶解,制为 10 mg/ml 的 Pue 溶液、20 mg/ml 的 Pue 溶液、ANS (1 mg/ml)与 Pue(20 mg/ml)混合溶液备用。在固定好镍钛螺旋弹簧后即开始给药处理:Pue 低剂量(100 mg/kg)组、Pue 高剂量(200 mg/kg)组大鼠分别腹腔注射 10、20 mg/ml 的 Pue 溶液 10 ml/kg,1 次/天^[10];Pue+ANS 组大鼠腹腔注射 1 mg/ml 的 ANS^[11]与 20mg/ml 的 Pue 混合溶液 10 ml/kg,1 次/周,每周其余时间每天注射 1 次 20 mg/ml 的 Pue 溶液 10 ml/kg;C 组、M 组大鼠腹腔注射生理盐水 10 ml/kg,1 次/d。各组大鼠均处理 3 周。

1.4 标本采集 3 周给药结束后 24 h 麻醉各组大鼠,收集其尾静脉血进行离心(4℃、10 min、1500 r/min),取上部分血清存在-20℃备用;处死各组大鼠后取双侧上颌骨及相连牙周组织,将 0.6 g 牙周组织存在液氮备用,多聚甲醛中固定上颌骨备用。

1.5 指标检测

1.5.1 测量大鼠牙齿移动距离及牙槽骨微结构 将 1.4 中的各组大鼠上颌骨自 4% 多聚甲醛中取出,牙冠平行地面固定在 inspeXio SMX-100CT 微焦点 X 射线系统(日本 SHIMADZU 公司)扫描床上进行 Micro-CT 扫描,参数:阈值 212~1000、管电压和电压分别为 75 kV、140 μ A,CT 数据分析用 TRI/3D-BON 软件,在测量第一磨牙与第二磨牙牙冠之间正中矢状向截面最小距离即为牙齿移动距离,记录骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb. Th)、骨密度(bone mineral density, BMD)、骨小梁数目(trabecular number, Tb. N)、骨体积分数(bone volume/tissue volume, BV/TV)、骨小梁间隙(trabecular space, Tb. Sp)。

1.5.2 测量大鼠血清 OPG、RANKL、IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1、IL-6 及牙周组织 IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1、IL-6 水平 将 1.4 中的各组大鼠血清自-20℃取出,在冰水浴中解冻后每组取 520 μ l,采用 iMark 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)测量其中 OPG、RANKL、IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1、IL-6 水平,具体参考 ELISA 试剂盒操作说明;将 1.4 中的各组大鼠牙周组织自液氮中取出,剪碎后投入 RAPI 试剂内高速研磨,离心(4℃、15 min、3000 r/min)取上清,获得牙周组织样品

液,采用 BCA 法测出其中总蛋白浓度后每组取 400 μ l,采用 ELISA 试剂盒测量其中 IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1、IL-6 水平,具体测量方法均遵循各自试剂盒说明书中指导。

1.5.3 免疫印迹法检测大鼠牙周组织 MAPK/NF- κ B 通路相关蛋白表达 将 1.5.2 中剩余的各组大鼠牙周组织样品液放入沸水浴中 8 min,待蛋白变性后加入适量上样缓冲液,吹打均匀后每组取含 15 μ g 总蛋白的样品液,在 110V 恒压下以 XCell4 SureLock 电泳仪(赛默飞世尔科技中国有限公司)进行电泳,然后以 SureLock Tandem 转印设备(赛默飞世尔科技中国有限公司)做湿式转印,将转印后的膜浸入 5% 脱脂牛奶中来封闭膜上蛋白,分别孵育兔源抗大鼠 Anti-p38 MAPK、Anti-p-NF- κ B p65、Anti-p-p38 MAPK、Anti-NF- κ B p65、Anti-GAPDH 一抗,洗膜后均孵育山羊抗兔二抗,洗膜后以化学发光试剂使二抗上标记的 HRP 显色,扫描采集各组蛋白图篇后在 Image-J 软件中获得其灰度值,然后以内参

GAPDH 为标准化各组蛋白相对表达。

1.6 统计学方法 采用统计软件 GraphPad Prism 8.0 进行数据分析。计量资料采用均数 \pm 标准差的形式表示,多组之间差异比较行单因素方差分析,两两之间差异进一步比较行 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠牙齿移动距离、牙槽骨 BMD 与骨微结构的比较 各组间牙槽骨 BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th 比较,M 组低于 C 组,PUE-H 组、Pue-L 组高于 M 组,PUE-H 组高于 Pue-L 组,Pue+ANS 组低于 PUE-H 组;各组间牙齿移动距离比较,PUE-H 组、Pue-L 组、M 组、C 组依次降低,组间差异有统计学意义($P < 0.05$),Pue+ANS 组低于 PUE-H 组($P < 0.05$)。各组间 Tb. Sp 比较,M 组高于 C 组,PUE-H 组、Pue-L 组低于 M 组,PUE-H 组低于 Pue-L 组,Pue+ANS 组高于 PUE-H 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠牙齿移动距离与牙槽骨 BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th、Tb. Sp 比较

组别	移动距离(μ m)	BMD(mg/cm^3)	BV/TV(%)	Tb. N(1/mm)	Tb. Th(μ m)	Tb. Sp(μ m)
C 组	52.13 \pm 16.20	1172.65 \pm 8.28	0.53 \pm 0.03	8.01 \pm 0.21	867.36 \pm 43.61	91.23 \pm 5.30
M 组	380.42 \pm 25.14 ^a	1141.23 \pm 5.16 ^a	0.41 \pm 0.01 ^a	6.84 \pm 0.13 ^a	659.47 \pm 32.45 ^a	127.45 \pm 8.12 ^a
Pue-L 组	523.56 \pm 30.43 ^b	1153.76 \pm 6.20 ^b	0.46 \pm 0.02 ^b	7.36 \pm 0.16 ^b	753.58 \pm 36.24 ^b	109.32 \pm 6.24 ^b
Pue-H 组	674.19 \pm 34.86 ^{bc}	1168.32 \pm 7.45 ^{bc}	0.51 \pm 0.02 ^{bc}	7.93 \pm 0.19 ^{bc}	849.15 \pm 42.85 ^{bc}	94.90 \pm 5.18 ^{bc}
Pue+ANS 组	396.84 \pm 29.35 ^d	1146.18 \pm 5.31 ^d	0.42 \pm 0.03 ^d	6.91 \pm 0.14 ^d	670.03 \pm 34.12 ^d	124.16 \pm 5.73 ^d

a 与 C 组比较, $P < 0.05$;b 与 M 组比较, $P < 0.05$;c 与 Pue-L 组比较, $P < 0.05$;d 与 Pue-H 组比较, $P < 0.05$

2.2 各组大鼠血清 OPG、RANKL 与炎症因子水平的比较 各组间 OPG 水平比较,M 组低于 C 组,PUE-H 组、Pue-L 组高于 M 组,PUE-H 组高于 Pue-L 组,Pue+ANS 组低于 PUE-H 组;各组间 RANKL、

TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1、IL-6 水平比较,M 组高于 C 组,PUE-H 组、Pue-L 组低于 M 组,PUE-H 组低于 Pue-L 组,Pue+ANS 组高于 PUE-H 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血清 OPG、RANKL、TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1、IL-6 水平比较

组别	OPG(ng/ml)	RANKL(pg/ml)	IL-1 β (ng/L)	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	MCP-1(ng/L)
C 组	3.17 \pm 0.34	19.86 \pm 2.21	223.65 \pm 45.34	21.87 \pm 5.92	47.16 \pm 13.62	31.07 \pm 7.34
M 组	1.21 \pm 0.22 ^a	36.42 \pm 3.45 ^a	845.47 \pm 58.25 ^a	115.96 \pm 10.38 ^a	358.42 \pm 25.17 ^a	168.94 \pm 13.15 ^a
Pue-L 组	2.12 \pm 0.25 ^b	28.75 \pm 2.96 ^b	553.26 \pm 52.16 ^b	71.52 \pm 7.94 ^b	210.73 \pm 21.43 ^b	102.31 \pm 10.68 ^b
Pue-H 组	3.08 \pm 0.31 ^{bc}	21.59 \pm 2.32 ^{bc}	241.18 \pm 46.50 ^{bc}	28.13 \pm 6.12 ^{bc}	58.04 \pm 15.21 ^{bc}	38.65 \pm 8.10 ^{bc}
Pue+ANS 组	1.29 \pm 0.24 ^d	34.78 \pm 3.24 ^d	824.34 \pm 56.47 ^d	103.45 \pm 9.23 ^d	342.60 \pm 23.15 ^d	157.83 \pm 12.76 ^d

a 与 C 组比较, $P < 0.05$;b 与 M 组比较, $P < 0.05$;c 与 Pue-L 组比较, $P < 0.05$;d 与 Pue-H 组比较, $P < 0.05$

2.3 各组大鼠牙周组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1、IL-6 水平的比较 各组间 TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1、IL-6 水平比较,M 组高于 C 组,PUE-H 组、Pue-L 组低于 M 组,PUE-H 组低于 Pue-L 组,Pue+ANS 组高于 PUE-H 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 各组大鼠牙周组织 MAPK/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达的比较 各组间 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 比较,M 组高于 C 组,PUE-H 组、Pue-L 组,PUE-L 组高于 Pue-H 组,Pue+ANS 组高于 PUE-H 组($P < 0.05$)。见图 1、表 4。

表 3 各组大鼠牙周组织炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、MCP-1 水平比较

组别	IL-1 β (ng/g prot)	TNF- α (ng/g prot)	IL-6(ng/g prot)	MCP-1(ng/g prot)
C 组	82.54 \pm 23.42	10.13 \pm 3.29	18.61 \pm 5.64	13.05 \pm 4.32
M 组	319.46 \pm 31.52 ^a	65.78 \pm 6.82 ^a	129.45 \pm 10.16 ^a	64.85 \pm 7.16 ^a
Pue-L 组	203.78 \pm 25.14 ^b	39.52 \pm 4.95 ^b	78.32 \pm 8.45 ^b	41.03 \pm 6.20 ^b
Pue-H 组	91.82 \pm 24.07 ^{bc}	13.61 \pm 6.12 ^{bc}	23.40 \pm 5.81 ^{bc}	16.24 \pm 4.51 ^{bc}
Pue+ANS 组	304.34 \pm 29.75 ^d	60.13 \pm 6.74 ^d	121.03 \pm 9.52 ^d	59.39 \pm 6.84 ^d

a 与 C 组比较, $P < 0.05$; b 与 M 组比较, $P < 0.05$; c 与 Pue-L 组比较, $P < 0.05$; d 与 Pue-H 组比较, $P < 0.05$

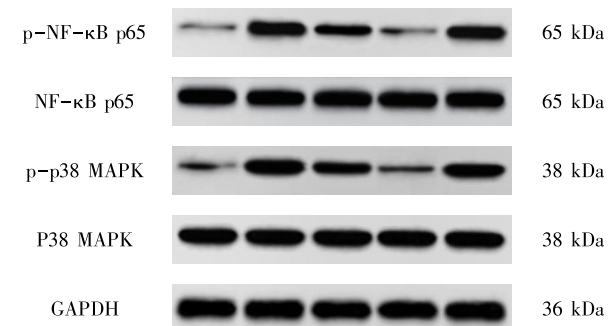


图 1 免疫印迹检测各组大鼠牙周组织 MAPK/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达 A: C 组; B: M 组; C: Pue-L 组; D: Pue-H 组; E: Pue + ANS 组。

表 4 各组大鼠牙周组织 MAPK/NF- κ B 信号通路相关蛋白相对表达比较

组别	p-p38 MAPK/p-38 MAPK	p-NF- κ B p65/NF- κ B p65
C 组	0.10 \pm 0.03	0.09 \pm 0.02
M 组	0.91 \pm 0.07 ^a	0.89 \pm 0.08 ^a
Pue-L 组	0.53 \pm 0.05 ^b	0.50 \pm 0.07 ^b
Pue-H 组	0.13 \pm 0.04 ^{bc}	0.11 \pm 0.03 ^{bc}
Pue+ANS 组	0.87 \pm 0.06 ^d	0.86 \pm 0.07 ^d

a 与 C 组比较, $P < 0.05$; b 与 M 组比较, $P < 0.05$; c 与 Pue-L 组比较, $P < 0.05$; d 与 Pue-H 组比较, $P < 0.05$

3 讨论

正畸装置会给患者日常口腔清洁及咀嚼造成不便,进而易引发牙髓炎、牙周炎等口腔疾病,因此缩短正畸时间是正畸治疗的关键,也是正畸界临床和基础研究的热点^[12,13]。正畸牙移动的实质过程是牙周组织改建,骨吸收和骨生成的平衡是其主要病理基础,而正畸力引发的牙周无菌性炎症可诱导炎性骨吸收并抑制骨形成,进而破坏牙周组织的改建,影响正畸牙移动,因而阻止牙周无菌性炎症是促使正畸牙移动的有效手段^[3,4,14,15]。Pue 是具有显著抗炎作用的一种天然黄酮类化合物,可通过减轻骨吸收及改善骨微结构而预防骨质流失^[8],能通过促进新生血管形成和骨形成来促使骨缺损修复^[16],通过抑制氧化应激来阻止破骨细胞生成,从而减轻卵巢切除小鼠的骨量损失^[17],另外 Pue 还能促进正畸患者牙周膜干细胞成骨分化^[9],因而推测

Pue 可能通过其抗炎作用而促进正畸牙移动。本文结果显示,正畸牙模型大鼠 Tb. Sp、血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、MCP-1 及 RANKL 水平、牙周组织 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 及 MCP-1 水平相比 C 组升高,牙槽骨骨密度、BV/TV、Tb. N、Tb. Th、血清 OPG 水平降低,表明正畸治疗可引发牙周组织炎性介质大量释放,引发牙周炎症,进而破坏牙槽骨微结构并造成其骨量丢失。相比 M 组大鼠,Pue 处理组大鼠血清与牙周组织 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、MCP-1 水平明显降低,表明 Pue 可减少炎性因子表达释放,抑制正畸引发的牙周组织炎症;相比 M 组大鼠,Pue 处理组大鼠血清 RANKL 水平明显降低,同时其牙齿移动距离、牙槽骨 BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th、血清 OPG 水平升高,表明 Pue 可促使骨保护因子释放,减轻其骨量丢失,改善牙槽骨微结构,并最终促使正畸牙移动,揭示 Pue 在正畸治疗中具有很好的研发应用前景。

MAPK/NF- κ B 信号可通过调控炎症而介导骨骼疾病的发生发展,并与正畸治疗中的牙周组织改建过程关系密切,降低 MAPK、NF- κ B 的磷酸化可阻止炎症反应发生发展,进而通过减轻破骨细胞形成、骨吸收和骨基质降解而延缓骨关节炎进展^[18,19];抑制 MAPK/NF- κ B 信号激活可通过减轻炎症、软骨侵蚀、脂质过氧化而改善痛风性关节炎症状^[20],还可阻止正畸诱发的牙周组织炎症、促进牙骨质形成和抑制牙根炎性吸收,进而改善正畸过程中的牙周改建^[6,7]。本文结果显示,相比 C 组,M 组大鼠牙周组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 增高,以 Pue 处理可逆转上述蛋白变化趋势,表明 MAPK/NF- κ B 信号参与介导 Pue 对大鼠正畸牙移动过程中牙周组织骨丢失和炎症反应的抑制作用;相比 Pue-H 组大鼠,Pue+ANS 组大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、MCP-1 及 RANKL 水平、牙周组织 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 及 MCP-1 水平、p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 升高,牙齿移动距离、牙槽骨 BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th、血清 OPG 水平降低,表明以 Pue 和 MAPK 激活剂 ANS 联合处理,可减弱 Pue 单独处理对正畸牙模型

大鼠的牙周炎症的抑制作用,拮抗其对正畸牙模型大鼠牙槽骨微结构的改善作用,削弱其对正畸牙模型大鼠牙周组织骨量丢失的减轻作用,最终逆转其对正畸牙模型大鼠牙齿移动的促进作用,揭示 Pue 抑制大鼠正畸牙移动过程中牙周组织炎症反应和骨丢失是通过抑制 MAPK 信号激活实现的。

总之,Pue 可降低 MAPK、NF- κ B 的磷酸化水平,减少正畸诱发的炎症因子表达释放,进而阻止牙周组织炎症发生发展,解除炎症对牙槽骨微结构的破坏并缓解牙周骨量丢失,最终促使正畸牙移动,抑制 MAPK/NF- κ B 信号激活可能是 Pue 发挥上述药理功效的作用机制之一,本文为缩短正畸时间提供了一种新的药物选择,对于改进正畸治疗方法可发挥一定积极影响。

【参考文献】

- [1] Shroff B. Research and orthodontics: About scientific progress in biomechanics[J]. *J World Fed Orthod*, 2023, 12(4):161-165.
- [2] Thomas DC, Briss D, Rossouw PE, et al. Temporomandibular Disorders: Implications in Restorative Dentistry and Orthodontics[J]. *Dent Clin North Am*, 2023, 67(2):309-321.
- [3] Yamaguchi M, Fukasawa S. Is Inflammation a Friend or Foe for Orthodontic Treatment? Inflammation in Orthodontically Induced Inflammatory Root Resorption and Accelerating Tooth Movement[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5):2388-2408.
- [4] Yong J, Gröger S, VON Bremen J, et al. Photobiomodulation therapy assisted orthodontic tooth movement: potential implications, challenges, and new perspectives[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2023, 24(11):957-973.
- [5] Shen S, Sun T, Ding X, et al. The exoprotein Gbp of *Fusobacterium nucleatum* promotes THP-1 cell lipid deposition by binding to CypA and activating PI3K-AKT/MAPK/NF- κ B pathways[J]. *J Adv Res*, 2024, 57:93-105.
- [6] Ye Y, Fang L, Li J, et al. Chemerin/ChemR23 regulates cementoblast function and tooth resorption in mice via inflammatory factors[J]. *J Periodontol*. 2021, 92(10):1470-1482.
- [7] Wang C, Yang Q, Han Y, et al. A reduced level of the long non-coding RNA SNHG8 activates the NF- κ B pathway by releasing functional HIF-1 α in a hypoxic inflammatory microenvironment[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):229-242.
- [8] Kulczyński B, Gramza-Michalowska A, Suliburska J, et al. Puerarin-an isoflavone with beneficial effects on bone health[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2021, 26(12):1653-1667.
- [9] Li J, Peng Y. Effect of puerarin on osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(4):300060519851641.
- [10] Tang H, Zhang S, Lu X, et al. Effects of puerarin on the intervertebral disc degeneration and biological characteristics of nucleus pulposus cells[J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1):12-22.
- [11] 郭俊玲, 吴曼, 李颖, 等. 基于 MAPK/ERK 信号通路探究延胡索乙素对心肌梗死后心力衰竭大鼠的心肌保护作用[J]. *中国药师*, 2022, 25(5):765-771.
- [12] Campobasso A, Battista G, Lo Muzio E, et al. New 3D printed polymers in orthodontics: a scoping review[J]. *Eur J Paediatr Dent*, 2023, 24(3):224-228.
- [13] Wang YL, Liu ZJ. Unique Features of Nanomaterials and their Combination Support Applications in Orthodontics[J]. *Chin J Dent Res*, 2023, 26(3):143-152.
- [14] Alghamdi B, Jeon HH, Ni J, et al. Osteoimmunology in Periodontitis and Orthodontic Tooth Movement[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2023, 21(2):128-146.
- [15] Jeon HH, Teixeira H, Tsai A. Mechanistic Insight into Orthodontic Tooth Movement Based on Animal Studies: A Critical Review[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(8):1733-1747.
- [16] Cao H, Li L, Li L, et al. New use for old drug: Local delivery of puerarin facilitates critical-size defect repair in rats by promoting angiogenesis and osteogenesis[J]. *J Orthop Translat*, 2022, 36:52-63.
- [17] Xiao L, Zhong M, Huang Y, et al. Puerarin alleviates osteoporosis in the ovariectomy-induced mice by suppressing osteoclastogenesis via inhibition of TRAF6/ROS-dependent MAPK/NF- κ B signaling pathways[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(21):21706-21729.
- [18] Ding D, Yan J, Feng G, et al. Dihydroartemisinin attenuates osteoclast formation and bone resorption via inhibiting the NF- κ B, MAPK and NFATc1 signaling pathways and alleviates osteoarthritis[J]. *Int J Mol Med*, 2022, 49(1):4-21.
- [19] Nishiyama S, Hirose N, Yanoshita M, et al. ANGPTL2 Induces Synovial Inflammation via LILRB2[J]. *Inflammation*, 2021, 44(3):1108-1118.
- [20] Jati GAK, Assihhah N, Wati AA, et al. Immunosuppression by piperine as a regulator of the NLRP3 inflammasome through MAPK/NF- κ B in monosodium urate-induced rat gouty arthritis[J]. *Vet World*, 2022, 15(2):288-298.

(收稿日期:2024-01-07;修回日期:2024-06-23)

(本文编辑:侯晓林)