

白花败酱草对牙周炎小鼠的抗炎作用

洗桂羽, 郭振宇, 秦依雯, 夏明珠, 卿即娜*

长沙医学院口腔医学院 湖南长沙

【摘要】目的 探究白花败酱草水煎剂对牙周炎小鼠血清中炎症因子 C 反应蛋白(CRP)、白介素 -6(IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量的影响。**方法** 将 50 只 C57BL/6 小鼠随机分为空白对照组、牙周炎阳性对照组、白花败酱草低、中、高剂量组, 每组十只, 共五组, 将后四组进行牙周炎建模进行实验。利用酶联免疫法 (Elisa) 进行检测, 采用 SPSS20.0 统计学软件分析所得结果, 比较不给药和给药不同浓度白花败酱草药物下小鼠血清中该三种炎症因子的含量。**结果** 与牙周炎阳性对照组相比, 白花败酱草水煎剂对各组低、中和高剂量组小鼠的牙周炎炎症有抑制作用; 不同的服用药量对牙周炎小鼠炎症均有抑制作用, 与服用剂量呈正相关, 其中, 白花败酱草高剂量组的 CRP 水平为 $16.21 \pm 1.95 \text{mg/L}$, IL-6 水平为 $33.21 \pm 3.05 \text{pg/ml}$, TNF- α 水平为 $10.65 \pm 5.58 \text{pg/mg}$, 与阳性对照组相比, 三组给药组均为 $p < 0.05$ 。**结论** 白花败酱草可降低牙周炎小鼠血清中炎症因子含量, 对牙周炎小鼠的抗炎发挥一定的作用。

【关键词】 牙周炎; 白花败酱草; CRP; IL-6; TNF- α

【基金项目】 2022 年长沙医学院大学生创新创业项目 (长医教[2022]41 号--154); 2020 年湖南省教育厅科学研究项目 (20C0183); 2021 年湖南省教育厅科学研究项目 (21C0892)。

【收稿日期】 2023 年 6 月 22 日 **【出刊日期】** 2023 年 8 月 7 日 **【DOI】** 10.12208/j.ijmd.20230105

Anti-inflammatory effect of *Patrinia alba* on mice with periodontitis

Guiyu Xian, Zhenyu Guo, Yiwen Qin, Mingzhu Xia, Jina Qing*

School of Stomatology, Changsha Medical University, Changsha, Hunan

【Abstract】 Objective To investigate the effects of water decoction of *Patrinia alba* on the content of inflammatory factor C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum of mice with periodontitis. **Methods** Fifty C57BL/6 mice were randomly divided into five groups, including blank control group, periodontitis positive control group, low, medium and high dose groups with ten mice in each group, and the last four groups were subjected to periodontitis modeling. Enzyme-linked immunoassay (Elisa) was used to detect the three inflammatory factors, and the results were analyzed by SPSS20.0 statistical software. The contents of the three inflammatory factors in the serum of mice were compared between those treated with no medication and those treated with different concentrations of *Patrinia*. **Results** Compared with the periodontitis positive control group, the water decoction of *Parazepia alba* could inhibit the periodontitis inflammation of mice in low, medium and high dose groups. Different dosages inhibited the inflammation of periodontitis mice, and were positively correlated with dosages. In the high-dose group, CRP level was $16.21 \pm 1.95 \text{mg/L}$, IL-6 level was $33.21 \pm 3.05 \text{pg/ml}$, and TNF- α level was $10.65 \pm 5.58 \text{pg/mg}$. Compared with the positive control group, $p < 0.05$ was observed in all three groups. **Conclusion** The content of inflammatory factors in serum of mice with periodontitis can be decreased, and the anti-inflammation of mice with periodontitis can be achieved.

【Keywords】 Periodontitis; *Patrinia alba*; CRP; IL-6; TNF alpha

共同第一作者: 洗桂羽, 郭振宇

*通讯作者: 卿即娜, 硕士研究生, 助教。

牙周炎是一种以牙菌斑微生物膜为始动因素, 在各种环境因素及遗传因素的促进下发生的导致牙周支持组织被破坏的慢性疾病^[1]。大量堆积的牙菌斑微生物将会刺激该部位的免疫细胞分泌相关炎症因子, 诱发宿主产生炎症效应^[2]。牙周炎患者的临床症状一般为牙龈红肿, 出现探诊出血, 牙槽骨吸收和深牙周袋的形成等现象, 影响患者的生活质量。研究表明^[3], 牙周炎作为不断发展的慢性疾病, 它不仅损害患者口腔咀嚼系统功能, 还会作为局部病灶, 引起全身的炎症反应, 并且与心脑血管疾病、糖尿病、肾病等疾病具有潜在的关联, 对人类的身心健康造成不可忽视的影响^[4]。因此应当重视对牙周炎的管理和治疗。而对牙周炎的管理, 可以基于控制其炎症来限制其病情的进一步加深^[5]。许多研究均表明, 牙周炎的发生与体内炎症因子 C 反应蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子(TNF- α)的含量变化呈正相关^[6]。

白花败酱草为一种中草药, 属于败酱科败酱属, 其被《神农本草经》收录, 列为中品^[7]。别名苦芥公、苦益菜等^[8]。此中草药在我国广泛分布, 尤其是华东、华南、华中各地^[9]。其味苦, 性寒, 活血排脓、化痰及清热解毒的作用较好^[10], 且在民间常常当作野生蔬菜食用, 具有较高的营养价值^[11], 近些年还被制成茶类当作保健品^[12]。经分离提纯发现, 白花败酱草含有 β -谷甾醇、白花败酱醇、槲皮素、阿魏酸、熊果酸、 β -胡萝卜素和芦丁七种抗炎成分^[13]。作为一种具有较好治疗功效的药物, 白花败酱草的作用范围也较广, 临床上常用于治疗各种炎症疾病, 如阑尾炎、眼结膜炎^[14]、痈肿疮毒和扁桃体炎等^[15]。经研究发现, 白花败酱草具有明确的抑菌活性、抗肿瘤和消炎镇静等多种药用功能^[16]。即使目前关于将白花败酱草用于治疗牙周炎炎症的相关研究较少, 但由上述研究资料可知, 目前临床上可将白花败酱草用于许多炎症性疾病的治疗, 而牙周炎亦是一类炎症性疾病。

因此, 我们推测, 白花败酱草可通过改善患者体内该三种炎症因子的含量, 从而发挥其减轻牙周炎炎症的作用。为探究该推测是否成立, 本研究通过将白花败酱草煮沸滤渣后得到的药液进行浓缩处理, 作用于牙周炎小鼠, 探究白花败酱草对牙周炎小鼠体内炎症因子 CRP、IL-6 和 TNF- α 含量的影响,

初步探讨白花败酱草对牙周炎的抗炎作用, 为白花败酱草药物治疗牙周炎炎症提供基础的实验资料及参考。

1 仪器与材料

1.1 主要材料及仪器

材料: 常规基础喂养饲料; 无菌水; 白花败酱草; 缝合针(型号: 3/8 弧, 4 \times 12, 4-0, 单针, 圆针)、4-0 医用丝线; 0.3%戊巴比妥钠; 白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 检测试剂盒(编号: PI326)、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF- α)试剂盒(编号: PT512)和 C 反应蛋白(C Reactive protein, CRP)试剂盒(编号: PC186)(碧云天生物技术); 腹腔注射器; 高速万能粉碎机(型号: WN-200); 离心机(型号: LX-100 型)

1.2 药物制备^[17]

将洗净的白花败酱草保持干燥, 后将其置于高速万能粉碎机粉碎成粉末, 利用电子秤称取 50.0g 白花败酱草粉末, 加入 500ml 蒸馏水, 稍微搅拌后浸泡半小时, 而后开火煮沸再调成文火煎煮 1h, 将药渣过滤, 在滤出的药渣再加入 200ml 蒸馏水, 煮沸后文火煎煮 30min, 再次将药渣滤出。两次药液一起放置入离心机进行 3000r/min 离心 20min, 离心后的药液进行浓缩至 50ml, 制成 1g/ml 浓度的药物, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。

1.3 实验动物

50 只健康清洁的 SFP 级雄性昆明种(KM)小鼠, 合格证号 SCXK(湘)2019-0004, 周龄 7 周, 在无特异致病菌及恒温恒湿、12h 昼夜循环照明环境中利用常规基础喂养饲料与无菌水进行适应性喂养, 自由进食与饮水, 于一周后开始实验。洗净后进行晾晒。

2 方法

2.1 实验分组及建模

50 只小鼠适应性喂养一周后进行随机分组, 即空白对照组、牙周炎阳性对照组、26mg/只白花败酱草低剂量组, 78mg/只白花败酱草中剂量组, 234mg/只白花败酱草高剂量组^[18], 共 5 组, 每组 10 只。空白对照组不施加任何干预措施用于对照, 而其余 4 组则使用丝线结扎法, 持用显微持针器利用 5-0 医用丝线进行结扎建模, 小鼠结扎部位为左右下颌第一二磨牙牙邻面接触点下方, 打结于下颌第一磨牙

近中牙颈部靠近牙龈沟内。结扎后于每 3d 检查丝线是否脱落, 如有脱落则再次进行结扎。约四周后小鼠牙槽骨吸收, 牙齿出现松动, 结扎部位牙龈红肿, 探诊出血, 并伴有深牙周袋的形成, 提示建模成功^[19]。

2.2 实验给药

确定建模成功后即开始给药。空白对照组和牙周炎阳性组不作处理, 使其自由进食和饮水。其余三组则进行白花败酱草药液的腹腔注射, 低剂量组给予 26mg/只, 中剂量组给予 78mg/只, 高剂量组给予 234mg/只。并固定于每天十点进行, 每天一次灌胃给药, 持续一周。

2.3 样本收集

在血清收集前一天晚十点进行禁食, 第二天早上十点采用摘眼球法进行样本收集。对小鼠进行称重, 后按照 0.1ml/10g 的剂量使用 0.3%戊巴比妥钠进行腹腔注射麻醉小鼠。将左手抓住小鼠颈部皮肤,

并用食指将小鼠眼周皮肤往后颈部压, 使其眼球突出, 并用眼科镊夹去眼球, 将小鼠倒立, 将灭菌后的离心管收集小鼠血液。将血液进行 3000r/min 离心 10min, 取上层血清用于后续实验。

2.4 ELISA 法检测

将离心后收集的小鼠血清采用 ELISA 法检测其中的 CRP、IL-6 和 TNF- α 水平, 检测步骤将严格按照试剂盒上的说明书进行操作。

2.5 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计学软件分析结果, 统计结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用两独立样本 T 检验进行两组间比较, 多组间进行比较时采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

各组动物血清 CRP, IL-6, TNF- α 水平对比, 见表 1。

表 1 各组动物血清 CRP, IL-6, TNF- α 水平对比

组别	n	CRP (mg/L)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/mg)
空白对照组	10	8.81 \pm 3.05	32.38 \pm 4.65	5.58 \pm 0.34
牙周炎阳性对照组	10	23.95 \pm 2.41*	53.79 \pm 7.68*	224.83 \pm 21.59*
白花败酱草低剂量组	10	22.58 \pm 1.02#	41.05 \pm 4.33#	150.05 \pm 10.32#
白花败酱草中剂量组	10	18.85 \pm 2.31#	37.05 \pm 2.91#	142.21 \pm 8.59#
白花败酱草高剂量组	10	16.21 \pm 1.95#	33.21 \pm 3.05#	10.65 \pm 5.58#

注: 与空白对照组相比 * $p < 0.05$, 与牙周炎阳性对照组相比 # $p < 0.05$

4 讨论

随着世界人牙周炎是常见的危害口腔健康的重要疾病之一, 其是导致成年人牙齿松动、缺牙的主要原因^[20]。口老龄化程度的加重, 牙周炎逐渐成为较大的公共卫生问题, 其逐渐升高的患病率也给医疗资源造成较大的负担, 因此, 寻求更有效的牙周炎治疗方法是人们亟待解决的问题^[21]。在牙周炎病情发展过程中, 因菌斑微生物感染, 导致患者出现组织损伤现象, 继续发展则出现牙槽骨吸收等对患者口腔内牙组织造成永久性破坏的情况, 从而影响患者身心和心理健康^[22]。

导致牙周炎发生的因素较多, 除目前已知的牙菌斑微生物因素外, 还有不良生活习惯和系统性疾病的影响等。而菌斑微生物作为始动因子, 其诱发机制与菌斑种类、口腔环境有关^[23]。现阶段, 牙周

炎的治疗方式可分为手术治疗和药物治疗^[24]。但手术治疗如龈上洁治术等易使患者牙龈出现创伤, 或多或少会带来不适感, 且治疗成本也较高^[25]; 随着人们对口腔健康追求的程度不断提高, 医学上针对牙周炎的治疗方法也在不断深入探索研究, 目前临床上常采用的治疗方法之一是药物治疗控制, 包括对牙周炎炎症的控制, 及减轻患者的炎症反应^[26]。

如上文所述, 临床上常用白花败酱草治疗许多炎症性疾病, 治疗效果较理想。鉴于此, 本研究采用白花败酱草水煎剂腹腔注射治疗牙周炎小鼠, 探究该药物对小鼠血清中炎症因子 CRP、IL-6 和 TNF- α 的含量影响, 从而探究其对牙周炎炎症的缓解和抑制作用。本实验研究结果表明, 白花败酱草低、中和高剂量组小鼠血清中炎症因子的含量均低于牙周炎阳性对照组, 其中, 高剂量组含量最低,

中剂量组次之, 低剂量组最后, 上述四组的炎症因子水平均高于空白对照组。提示治疗牙周炎炎症时, 服用白花败酱草中草药水煎剂可有效控制患者口腔内该炎症的发展, 抑制该病情的程度加重和改善临床症状。

综上, 服用白花败酱草水煎剂用于治疗小鼠牙周炎炎症具有明显效果, 可缓解小鼠体内的炎症反应, 建议进一步探讨其在临床上治疗牙周炎炎症的效果, 探究其疗效。作为一种具有丰富药用价值的中草药, 在将来, 白花败酱草有望成为新的改善牙周炎炎症的代替治疗药物。

参考文献

- [1] 苑舒月, 刘春艳, 刘冰, 等. 巨噬细胞的极化与牙周炎[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(17): 2699-707.
- [2] 田悦. 蜜环菌多糖对实验性牙周炎小鼠炎症和牙槽骨吸收的影响[D]. 吉林大学, 2022.
- [3] 王羽, 李娟娟, 李娜. 盐酸米诺环素软膏联合甲硝唑口腔粘贴片治疗牙周炎的临床疗效[J]. 临床合理用药, 2023, 16(06): 159-61.
- [4] 李莎莎, 王卫峰, 李凡, 等. 中药治疗牙周炎的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(02): 313-7.
- [5] BARTOLD P M, DYKE T V J P. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis.[J]. Unlearning learned concepts, 2013, 62(1): 203-17.
- [6] 王俊丰, 尹学勇. 口炎清颗粒联合甲硝唑治疗慢性牙周炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(04): 1133-6.
- [7] 刘伟, 贾绍华, 项峥. GC-MS 法检测白花败酱草与黄花败酱草挥发性成分[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2016, 32(01): 6-10.
- [8] PENG J, YANG G, FAN G, et al. Preparative isolation and separation of a novel and two known flavonoids from *Patrinia villosa* Juss by high-speed counter-current chromatography [J]. 2005, 1092(2): 235-40.
- [9] 彭金咏, 范国荣, 吴玉田. 白花败酱草化学成分研究 [J]. 中药材, 2005, 10: 24-5.
- [10] 刘全林. 抗癌液对人大肠癌裸小鼠移植瘤 P53、VEGF 和 EGFR 表达的影响[D]. 河南中医学院, 2014.
- [11] 范宇, 沙冬梅, 沙马里牛, 等. 白花败酱草的化学成分、药理活性及质量控制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(22): 6005-19.
- [12] 曾祥玲, 王丹, 邹晶晶, 等. 不同工艺条件白花败酱茶的品质比较分析 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(01): 157-64+232.
- [13] 李娜, 赵斌, 余娅芳, 等. 白花败酱抗炎作用化学成分研究 [J]. 中药材, 2008, 01: 51-3.
- [14] PENG J Y, FAN G R, WU Y T J C P J. Isolation and Separation of Flavones from *Patrinia villosa* by High-Speed Counter-Current Chromatography [J]. 2006, 41(13): 977-9.
- [15] 彭金咏, 范国荣, 吴玉田. 白花败酱草黄酮类成分的高速逆流色谱快速制备[J]. 中国药理学杂志, 2006, 13: 977-9.
- [16] 崔文燕, 刘素香, 宋晓凯, 等. 黄花败酱草和白花败酱草的化学成分与药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2016, 39(03): 482-8.
- [17] 李淑红, 王京仁, 成钢, 等. 四种中草药对小鼠抗炎作用比较研究[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(04): 892-4.
- [18] 陈芳, 谢静, 蔡雨婷, 等. 中草药败酱草浸出液对小鼠胃溃疡的治疗作用[J]. 饮食保健, 2020, 7(17): 79-80.
- [19] 孙继军, 王栋, 王爱芹. 实验性牙周炎大鼠模型的建立[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(37): 6867-70.
- [20] HAN D H, LIM S Y, SUN B C, et al. The association of metabolic syndrome with periodontal disease is confounded by age and smoking in a Korean population[J]. The Shihwa-Banwol Environmental Health Study, 2010, 37(7):
- [21] GENCO R J, SANZ M J P. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases[J]. An overview, 2020, 83(1): 7-13.
- [22] 许静, 马向涛, 赵康英, 等. 超声龈下工作尖治疗慢性牙周炎的疗效综合评价[J]. 现代口腔医学杂志, 2020, 34(01): 31-6.
- [23] 冯铁军, 潘宣. 牙周病病因学的研究进展[J]. 中国医药导刊, 2011, 13(02): 256-7.
- [24] 冀璇, 贾汶沅, 刘昀, 等. 牙周炎非手术治疗的研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2020, 36(02): 396-401.
- [25] HEITZ-MAYFIELD L J A, LANG N P J P. Surgical and nonsurgical periodontal therapy. [J]. Learned and unlearned concepts, 2013, 62(1):
- [26] 许青芬, 吴莉. 高压氧结合复方甲硝唑膜治疗糖尿病牙周炎的临床价值分析[J]. 基层医学论坛, 2021, 25(04): 499-501.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS