

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.16.005

独一味胶囊对复发性口腔溃疡大鼠免疫功能和溃疡组织 NF- κ B 炎症通路蛋白表达的影响 *

陈克勤 谭为聪 余留先 万 森 何希凡

(湖南省直中医医院口腔科 湖南 株洲 412000)

摘要 目的:探讨独一味胶囊对复发性口腔溃疡(ROU)大鼠免疫功能和溃疡组织核因子- κ B(NF- κ B)炎症通路蛋白表达的影响。**方法:**将 60 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组和独一味胶囊低、中、高剂量组,每组 12 只。除正常组外其余各组均采用免疫法建立 ROU 模型,建模 8 周后独一味胶囊低、中、高剂量组分别灌胃给予 0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.03 mg/mL 独一味胶囊溶液治疗,正常组和模型组灌胃给予等量生理盐水,均连续治疗 20 d。记录各组大鼠口腔溃疡数目、持续时间和口腔溃疡面积,采用酶联免疫吸附法检测血清白介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,流式细胞术检测外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 百分比并计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值,免疫印迹法检测口腔黏膜组织 NF- κ B p65、磷酸化 NF- κ B 抑制蛋白 α (p-I κ B α)、IkappaB 激酶 α (IKK α)蛋白水平。**结果:**正常组未出现口腔溃疡,模型组、独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组溃疡数目依次降低,持续时间依次缩短,溃疡面积依次缩小($P<0.05$)。模型组、独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组、正常组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CD8⁺、NF- κ B p65、p-I κ B α 、IKK α 水平依次降低,CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 依次升高($P<0.05$)。**结论:**独一味胶囊能显著减少 ROU 大鼠口腔溃疡数目和面积,缩短愈合时间,且效果呈剂量依赖性,其机制可能与改善免疫功能和抑制 NF- κ B 炎症通路有关。

关键词:复发性口腔溃疡;独一味胶囊;大鼠;免疫功能;核因子- κ B;炎症通路

中图分类号:R-33;R781.5;R243 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)16-3020-05

Effects of Duiyiwei Capsule on Immune Function and Protein Expression of NF- κ B Inflammatory Pathway in Ulcer Tissue of Rats with Recurrent Oral Ulcer*

CHEN Ke-qin, TAN Wei-cong, YU Liu-xian, WAN Sen, HE Xi-fan

(Department of Stomatology, Hunan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhuzhou, Hunan, 412000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of Duiyiwei capsule on immune function and the expression of nuclear factor- κ B (NF- κ B) inflammatory pathway in recurrent oral ulcer (ROU) rats. **Methods:** 60 SD rats were randomly divided into normal group, model group and Duiyiwei capsule low, medium and high dose group, 12 rats in each group. Except the normal group, the ROU model was established by immunoassay in other groups. 8 weeks after modeling, the low, medium and high dose groups of Duiyiwei capsule were treated with 0.01mg/mL, 0.02 mg/mL and 0.03 mg/mL Duiyiwei capsule solution by gavage respectively. The normal group and model group were treated with the same amount of normal saline by gavage, they were treated continuously for 20d. The number of oral ulcers, duration time and area of oral ulcers of rats in each group were recorded. Serum interleukin (IL)-1 β , IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay, peripheral blood CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ percentages were measured by flow cytometry and CD4⁺/CD8⁺ ratio was calculated. NF- κ B p65, phosphorylation inhibitor of NF- κ B α (p-I κ B α) and IkappaB kinase α (IKK α) protein levels in oral mucosa tissues were measured by immunoblotting. **Results:** No oral ulcers appeared in the normal group, the number of ulcers decreased, the duration time shortened and the area of ulcers decreased in the model group, the Duiyiwei capsule low dose group, the Duiyiwei capsule medium dose group and the Duiyiwei capsule high dose group in that order ($P<0.05$). The IL-1 β , IL-6, TNF- α , CD8⁺, NF- κ B p65, p-I κ B α and IKK α levels decreased in the model group, the Duiyiwei capsule low dose group, the Duiyiwei capsule medium dose group, the Duiyiwei capsule high dose group and the normal group in that order, and the CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ increased in that order ($P<0.05$). **Conclusion:** Duiyiwei capsule can significantly reduce the number and area of oral ulcers in ROU rats, shorten the healing time, and the effect is dose-dependent. Its mechanism may be related to improving immune function and inhibiting NF- κ B inflammatory pathway.

* 基金项目:湖南省中医药科研计划项目(20171485)

作者简介:陈克勤(1987-),男,硕士,主治医师,研究方向:口腔颌面外科学、口腔黏膜病,E-mail: chenkeqin2022@163.com

(收稿日期:2022-01-22 接受日期:2022-02-17)

Key words: Recurrent oral ulcer; Duiyiwei capsule; Rats; Immune function; Nuclear factor- κ B; Inflammatory pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R781.5; R243 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)16-3020-05

前言

复发性口腔溃疡(recurrent oral ulcer, ROU)是临床最常见的口腔黏膜溃疡疾病,以唇、舌、颊和软腭等黏膜部位出现1个及以上的反复发作的椭圆形或圆形溃疡为特点,常伴有溃疡表面黄色假膜、中央凹陷、周围红晕和疼痛,严重降低患者口腔健康水平并影响生活质量^[1,2]。目前西医对ROU主要采取局部封闭、散剂、含片、含漱剂等局部和增强剂、免疫调节剂、免疫抑制剂等进行全身治疗,整体疗效不佳^[3,4]。近年来随着中医药在临床中的广泛使用,在ROU治疗中表现出明显优势,不仅能有效缓解溃疡和疼痛,还能预防远期复发^[5-7]。中医理论认为,ROU虽为局部病变,但与五脏六腑和气血经络密切相关^[8,9]。独一味胶囊是以独一味制成的中成药,具有止血镇痛、活血化瘀之功效,多项研究报道独一味胶囊对ROU具有良好的疗效,能有效促进溃疡愈合、疼痛减轻^[10,11]。但关于独一味胶囊对ROU的作用机制尚不明确。学界普遍认为,免疫功能异常在ROU过程中发挥关键作用,其中T细胞介导的炎症反应直接参与口腔上皮细胞损伤^[12,13]。核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是经典的促炎信号转导途径,NF- κ B激活后能增加多种炎症因子释放,激活并扩大炎症反应^[14]。免疫法ROU大鼠模型可从造模后第3~8周内持续出现多个溃疡病灶,其症状和病理表现均与人类相似,已被广泛用于ROU实验中^[15,16]。本研究就通过免疫法建立ROU大鼠模型,探讨独一味胶囊对大鼠ROU的修复作用及对免疫功能和NF- κ B炎症通路的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级6周龄SD大鼠72只,雌雄各36只,体重180 g~220 g,由成都生物制品研究所有限责任公司提供,许可证号:SYXK(川)2021-249。所有大鼠均由本院动物中心常规饲养,光照12 h,黑暗12 h,湿度(50.24±10.36)%、温度(23.22±1.14)%。本研究经本院动物实验伦理委员会批准,审批号:GB1495-LS2021057。

1.2 仪器和试剂

独一味胶囊:甘肃独一味生物制药有限责任公司,国药准字:Z10970053,规格:0.3 g/粒;弗氏完全佐剂:美国SIGMA,编号:bs-s1;白介素(interleukin)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒:武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,编号:E-EL-R0012c、E-EL-R0015c、E-EL-R2856c;酶标仪:雷杜生命科学股份有限公司,型号:RT-6100;流式细胞仪:美国BD公司,型号:FACSCelesta™;组织蛋白提取试剂盒:北京索莱宝科技有限公司,编号:BC3710;一抗NF- κ B p65、磷酸化NF- κ B抑制蛋白 α (phosphorylation inhibitor of NF- κ B α , p-I κ B α)、IkappaB激酶 α (IkappaB kinase α , IKK α)、GADPH:上海碧云天生物技术有限公司,编号:AF0246、AF5851、AI096、AF2155;二抗山羊抗兔IgG:上海雅酶生物医药科技有限公司,

编号:LF102;蛋白凝胶成像仪:英国伯乐公司,型号:GelDoc GO;光学显微镜:日本奥林巴斯公司,型号:CX23;恒温箱:上海一恒科学仪器有限公司,型号:LHS-25SC。

1.3 方法

1.3.1 建模和分组 建立ROU模型^[15]:随机选取12只大鼠,口腔黏膜注射生理盐水,黏膜剥离后研磨,加入磷酸缓冲液和弗氏完全佐剂各0.1 mL,充分混匀至呈乳状液且无分层即为组织乳化剂。剩余60只大鼠随机分为正常组、模型组和独一味胶囊低、中、高剂量组,每组12只。除正常组外其余各组均采用免疫法建立ROU模型,剔除背毛后常规消毒,脊柱两侧皮内注射组织乳化剂,0.1 mL/点,2点/只,1次/d,正常组则脊柱两侧皮内注射等量生理盐水,均连续注射8周。8周后建模成功,表现为大鼠唇、颊黏膜、口底溃疡分布,溃疡边缘整齐,形状椭圆形或圆形,表面有灰黄色假膜,直径1 mm~2 mm。第9周开始实验给药:独一味胶囊低、中、高剂量组分别灌胃给予0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.03 mg/mL独一味胶囊溶液(独一味胶囊内容物用无菌生理盐水配置浓度为15%的溶液)治疗,1 mL/100 g,1次/d;正常组和模型组灌胃给予等量生理盐水,2 mL/100 g,1次/d;均连续治疗20 d。

1.3.2 口腔溃疡改善情况 治疗20 d后记录各组大鼠口腔溃疡数目和持续时间,游标卡尺测量口腔溃疡最大横径和最大纵径,计算口腔溃疡面积(mm²)=0.25 $\times$ π $\times$ 最大横径(mm) $\times$ 最大纵径(mm)。

1.3.3 血清炎症因子和外周血T细胞亚群检测 最后一次给药后2 h,戊巴比妥钠腹腔注射麻醉各组大鼠,腹主动脉穿刺取血3 mL,1000 $\times$ g离心15 min,取上层血清采用酶联免疫吸附法检测血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平。取大鼠外周静脉血,ED-TA-K2抗凝,1000 $\times$ g离心15 min弃上层血清,磷酸盐缓冲液重悬细胞,BD FACSCelesta™流式细胞仪检测外周血CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺百分比,计算CD4⁺/CD8⁺比值。

1.3.4 口腔黏膜组织NF- κ B炎症通路蛋白表达检测 免疫印迹法检测,麻醉取血完成后处死,分离除正常组外的大鼠口腔溃疡区域组织,取正常组口腔组织,剪碎后加入细胞裂解液研磨,提取溃疡组织总蛋白,凝胶电泳分离蛋白质后转PVDF膜,加入一抗NF- κ B p65 (1:2000)、p-I κ B α (1:2000)、IKK α (1:2000)、GADPH (1:500)溶液4℃孵育过夜,对应添加二抗,37℃恒温箱孵育2 h,曝光,采集图像,采用Image J 18.0软件分析条带灰度值,以靶蛋白灰度值/GADPH灰度值为靶蛋白相对表达量。

1.4 统计学分析

选用SPSS28.0统计学软件,计量资料经S-W检验均呈正态分布,以表示,多组间趋势方差分析,组间两两比较LSD-t检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠口腔溃疡改善情况比较

正常组未出现口腔溃疡,模型组和独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组均出现了口腔溃疡。模型组、独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组溃疡数目随着依次降低,持续时间依次缩短,溃疡面积依次缩小,且效果与独一味胶囊呈剂量依赖性 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠口腔溃疡改善情况比较($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of oral ulcer improvement of rats in each group($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Number of ulcers(n)	Duration time(d)	Area of ulcers(mm ²)
Model group	12	21.03± 2.13 ^{abc}	5.58± 1.02 ^{abc}	3.07± 0.49 ^{abc}
Duyiwei capsule low dose group	12	14.52± 1.23 ^{ab}	4.00± 0.71 ^{ab}	2.46± 0.35 ^{ab}
Duyiwei capsule medium dose group	12	11.91± 1.34 ^a	3.32± 0.62 ^a	1.93± 0.48 ^a
Duyiwei capsule high dose group	12	9.89± 1.74	2.15± 0.67	1.29± 0.43
Normal group	12	-	-	-
F trend	-	286.065	122.853	106.442
P	-	<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the Duyiwei capsule high dose group, ^a $P<0.05$. Compared with the Duyiwei capsule medium dose group, ^b $P<0.05$. Compared with the Duyiwei capsule low dose group, ^c $P<0.05$.

2.2 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较

模型组、独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味

胶囊高剂量组、正常组血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平依次降低,且效果与独一味胶囊呈剂量依赖性($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of serum IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels of rats in each group(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)

Groups	n	IL-1 β	IL-6	TNF- α
Model group	12	123.66± 15.43 ^{abcd}	120.52± 11.51 ^{abcd}	473.03± 40.19 ^{abcd}
Duyiwei capsule low dose group	12	108.19± 10.05 ^{abc}	91.15± 13.66 ^{abc}	416.09± 85.08 ^{abc}
Duyiwei capsule medium dose group	12	79.61± 12.19 ^{ab}	79.25± 8.34 ^{ab}	306.57± 66.20 ^{ab}
Duyiwei capsule high dose group	12	63.55± 12.32 ^a	55.79± 5.39 ^a	255.69± 42.96 ^a
Normal group	12	48.52± 9.02	47.60± 5.74	192.99± 41.38
F trend	-	316.273	437.035	185.459
P	-	<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the normal group, ^a $P<0.05$. Compared with the Duyiwei capsule high dose group, ^b $P<0.05$. Compared with the Duyiwei capsule medium dose group, ^c $P<0.05$. Compared with the Duyiwei capsule low dose group, ^d $P<0.05$.

2.3 各组大鼠外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比较

模型组、独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组、正常组外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 依次升高,CD8⁺ 依次降低,且效果与独一味胶囊呈剂量依赖性($P<0.05$)。见表 3。

2.4 各组大鼠口腔黏膜组织 NF- κ B p65、p-I κ B α 、IKK α 蛋白水平比较

模型组、独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组、正常组口腔黏膜组织 NF- κ B p65、p-I κ B α 、IKK α 蛋白水平依次降低,且效果与独一味胶囊呈剂量依赖性($P<0.05$)。见表 4 和图 1。

3 讨论

ROU 又称复发性阿弗他口炎,其病因尚未完全明确,不同患者病因差异显著,普遍研究认为 ROU 是遗传、环境、免疫等

多种因素共同作用的结果,西医治疗多以消炎、止痛和促进溃疡愈合等对症治疗为主,但受限于疗效、不良反应等因素的影响,患者治疗依从性差,复发间歇期短^[17,18]。中医学对 ROU 早有认识,将其纳入 " 口疮 " 等范畴,早在《黄帝内经》中就有相关记载,如《素问气交变大论》有曰: " 岁金不及,炎火乃行……民病口疮。 " 后历代医家对此认识颇多,总结历代医家论述,认为该病虽在口,但多个脏腑均可通过经络的输布、运行循行于口。血瘀是 ROU 常见证型,与脏腑气血功能密切相关,或因情志不畅,气机失和,气滞血瘀,口舌失养,或因反复发病,耗伤正气,正虚血瘀而生口疮,气滞血瘀,不通则痛,故口疮患者常伴有疼痛,故治疗应以活血化瘀为主^[19]。独一味胶囊是以民间治疗跌打扭伤的草药 " 独一味 " 主要成分制成的中成药,保留了独一味原有药理活性,具备止血镇痛、活血化瘀之功效,适用于血瘀所致的 ROU。近年有临床研究报道,独一味胶囊治疗 ROU 临床疗效可靠^[1]。本研究结果也显示,相比模型组,独一味胶囊

表 3 各组大鼠外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比较($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of peripheral blood CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Model group	12	23.69± 2.03 ^{abcd}	19.27± 1.75 ^{abcd}	22.38± 2.25 ^{abcd}	0.86± 0.11 ^{abcd}
Duyiwei capsule low dose group	12	27.43± 6.48 ^{abc}	22.16± 1.35 ^{abc}	18.97± 1.84 ^{abc}	1.17± 0.17 ^{abc}
Duyiwei capsule medium dose group	12	32.69± 3.52 ^{ab}	23.98± 1.25 ^{ab}	16.10± 2.66 ^{ab}	1.49± 0.26 ^{ab}
Duyiwei capsule high dose group	12	36.24± 3.98 ^a	26.48± 3.15 ^a	13.19± 1.21 ^a	2.01± 0.31 ^a
Normal group	12	40.60± 3.41	29.21± 2.10	11.15± 2.18	2.62± 0.42
F trend	-	109.753	169.088	219.751	314.171
P	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the normal group, ^a*P*<0.05. Compared with the Duyiwei capsule high dose group, ^b*P*<0.05. Compared with the Duyiwei capsule medium dose group, ^c*P*<0.05. Compared with the Duyiwei capsule low dose group, ^d*P*<0.05.

表 4 各组大鼠口腔黏膜组织 NF-κB p65、p-IκBα、IKKα 蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of levels of NF-κB p65, p-IκBα and IKKα protein in oral mucosa of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	NF-κB p65/GADPH	p-IκBα/GADPH	IKKα/GADPH
Model group	12	1.14± 0.13 ^{abcd}	1.12± 0.14 ^{abcd}	0.95± 0.06 ^{abcd}
Duyiwei capsule low dose group	12	0.93± 0.08 ^{abc}	0.65± 0.06 ^{abc}	0.67± 0.12 ^{abc}
Duyiwei capsule medium dose group	12	0.73± 0.12 ^{ab}	0.48± 0.05 ^{ab}	0.52± 0.07 ^{ab}
Duyiwei capsule high dose group	12	0.51± 0.06 ^a	0.38± 0.05 ^a	0.42± 0.04 ^a
Normal group	12	0.41± 0.06	0.24± 0.02	0.32± 0.03
F trend	-	490.358	919.449	553.302
P	-	<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the normal group, ^a*P*<0.05. Compared with the Duyiwei capsule high dose group, ^b*P*<0.05. Compared with the Duyiwei capsule medium dose group, ^c*P*<0.05. Compared with the Duyiwei capsule low dose group, ^d*P*<0.05.

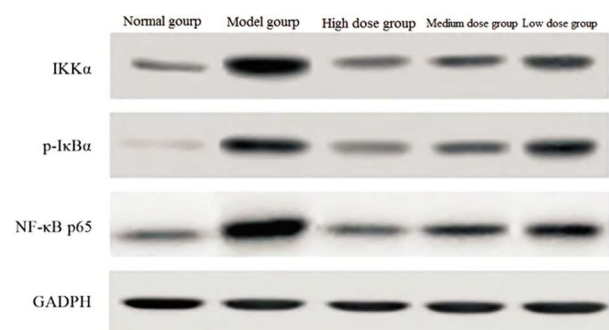


图 1 各组大鼠口腔黏膜组织 NF-κB p65、p-IκBα、IKKα 蛋白表达情况
Fig.1 Expression of NF-κB p65, p-IκBα and IKKα protein in oral mucosa of rats in each group

低、中、高剂量组的溃疡数目、持续时间、溃疡面积均依次减少,也说明独一味胶囊对 ROU 具有良好疗效,且独一味胶囊的效果呈剂量依赖性。然而对于独一味胶囊治疗 ROU 的作用机制尚不明确。

近年研究进展表明,免疫功能异常可能是 ROU 最为重要的发病机制,尤其是 T 细胞免疫功能异常,在 ROU 发病早期可见大量 T 细胞浸润到病变部位,导致局部血管炎症反应和上皮细胞内空泡形成,ROU 活动期时细胞毒性 T 细胞(CD8⁺)引起局部组织细胞炎症损伤,影响上皮细胞修复和创伤愈合^[20,21]。T 细胞是介导的细胞免疫主要机制,当免疫抑制时为 CD3⁺、

CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺降低,CD8⁺升高。研究报道,ROU 患者 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺降低,CD8⁺百分比升高,与 ROU 病情加重密切相关^[22]。本研究结果显示,相比正常组,模型组和独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组的 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显降低,CD8⁺百分比明显升高,说明 ROU 可引起机体免疫紊乱。结果还显示,相比模型组,独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组的 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺依次升高,CD8⁺百分比依次降低,且效果呈剂量依赖性,说明独一味胶囊能有效改善 ROU 大鼠免疫功能。炎症是机体对刺激的一种防御反应,过度炎症可引起免疫功能紊乱并进一步加剧炎症反应^[23]。在 ROU 发病早期,各种致病因子能引起口腔黏膜微环境变化,导致 Toll 样受体 4 等模式识别受体激活,刺激机体分泌 IL-1β、IL-6、TNF-α 等促炎性细胞因子,促进 T 细胞活化和增殖以启动细胞免疫,但随着炎症反应加重和 T 细胞功能紊乱,过度炎症反应破坏口腔上皮完整性引起组织缺损,诱发 ROU 并影响创面愈合^[24,25]。研究表明,炎症反应与 ROU 患者溃疡严重程度相关,降低机体炎症反应有助于创面愈合^[26,27]。本研究结果显示,相比正常组,模型组和独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组的血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平明显升高,说明 ROU 可引起机体炎症反应。结果还显示,相比模型组,独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶

囊高剂量组的血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平依次降低,且效果呈剂量依赖性,说明独一味胶囊能有效降低 ROU 大鼠血清炎症因子水平。NF- κ B 是免疫炎症反应的中枢调节因子,研究表明口腔黏膜微环境变化引起的 Toll 样受体 4 信号通路变化能激活和活化 NF- κ B 信号途径,释放大量促炎细胞因子增加口腔黏膜的通透性,引起口腔黏膜组织快速破坏,是 ROU 发生的重要机制^[28]。Shao 等^[29]研究指出,抑制 NF- κ B 表达能通过改善体内脂肪酸代谢促进 ROU 修复。Shi 等^[30]研究指出,抑制 NF- κ B 表达能通过抗炎作用促进口腔溃疡修复,改善口腔黏膜的病理形态。NF- κ B p65、p-I κ B α 、IKK α 是 NF- κ B 必需调节物,能反映 NF- κ B 信号通路的活化情况。本研究结果显示,相比正常组,模型组和独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组的口腔溃疡组织 NF- κ B p65、p-I κ B α 、IKK α 蛋白水平明显升高,说明 ROU 过程中 NF- κ B 信号通路明显活化。结果还显示,相比模型组,独一味胶囊低剂量组、独一味胶囊中剂量组、独一味胶囊高剂量组的口腔溃疡组织 NF- κ B p65、p-I κ B α 、IKK α 蛋白水平依次降低,且效果呈剂量依赖性,说明独一味胶囊能有效抑制 ROU 中 NF- κ B 信号通路活化。

综上所述,独一味胶囊能显著减少 ROU 大鼠口腔溃疡数目和面积,缩短愈合时间,且效果呈剂量依赖性,其机制可能与改善免疫功能和抑制 NF- κ B 炎症通路有关。但 ROU 发病机制复杂,关于独一味胶囊是否还能通过其他机制发挥 ROU 修复作用还需进一步研究。

参考文献(References)

- [1] 赵军海,韩浩,李立刚,等.口服四种维生素联合 FE 复合酶含漱治疗复发性口腔溃疡的疗效及对血清炎症因子水平的影响[J].现代生物医学进展,2017,17(26): 5096-5099
- [2] 任香英,张凯,周丽丽,等.复发性口腔溃疡患者病情不同阶段口腔微生物菌群和细胞免疫功能的变化[J].中国微生态学杂志,2021,33(5): 573-576
- [3] Suharyani I, Fouad Abdelwahab Mohammed A, Muchtaridi M, et al. Evolution of Drug Delivery Systems for Recurrent Aphthous Stomatitis[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15(27): 4071-4089
- [4] Manfredini M, Guida S, Giovani M, et al. Recurrent Aphthous Stomatitis: Treatment and Management[J]. Dermatol Pract Concept, 2021, 11(4): e2021099
- [5] 谭彩霞,李鉴森,赖成志,等.李俊从脾虚论治复发性口腔溃疡之经验[J].江苏中医药,2021,53(9): 41-43
- [6] 刘晓慧,刘永红,张晓光,等.甘草泻心汤加味治疗寒热错杂型复发性口腔溃疡疗效及机制研究[J].现代中西医结合杂志,2021,30(12): 1300-1304
- [7] 张弘,段志斌.知柏地黄丸联合复方丹参片治疗复发性口腔溃疡患者疗效及对血液流变学的影响[J].血栓与止血学,2021,27(5): 757-759
- [8] 周雨慧,李晓宁,宋梦蝶,等.中医药治疗复发性口腔溃疡研究进展[J].中医学报,2020,35(6): 1207-1211
- [9] 刘晓慧,刘永红,张晓光.甘草泻心汤治疗寒热错杂型复发性口腔溃疡临床研究[J].陕西中医,2021,42(7): 922-925
- [10] 曲宸,鹿晓霞,陈明铭,等.独一味胶囊联合维生素 B₁₂对复发性口腔溃疡大鼠的治疗效果研究[J].中医药导报,2020,26(6): 6-8, 18
- [11] 杨兵,刘俊全,白大兵,等.独一味胶囊联合地塞米松治疗复发性口腔溃疡的临床研究[J].现代药物与临床,2020,35(12): 2410-2414
- [12] Lin D, Yang L, Wen L, et al. Crosstalk between the oral microbiota, mucosal immunity, and the epithelial barrier regulates oral mucosal disease pathogenesis[J]. Mucosal Immunol, 2021, 14(6): 1247-1258
- [13] 高小兰,王汉明. Th 细胞相关细胞因子在复发性口腔溃疡中的研究进展[J].口腔医学研究,2021,37(5): 397-400
- [14] 张敬,令狐瑞琦,沙晶晶,等. NF- κ B 信号转导通路与复发性口腔溃疡的相关性分析[J].上海口腔医学,2018,27(5): 513-517
- [15] 程茜,刘建国,郭玉书,等.实验性 SD 大鼠 ROU 模型的建立[J].临床口腔医学杂志,2008,24(9): 563-565
- [16] Chen P, Yao H, Yuan Q, et al. Discovery of the possible mechanisms in kouyanqing granule for treatment of oral ulcers based on network pharmacology[J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20(1): 258
- [17] Zeng Q, Shi X, Yang J, et al. The efficacy and safety of thalidomide on the recurrence interval of continuous recurrent aphthous ulceration: A randomized controlled clinical trial [J]. J Oral Pathol Med, 2020, 49(4): 357-364
- [18] Deng Y, Wei W, Wang Y, et al. A Randomized controlled clinical trial on dose optimization of thalidomide in maintenance treatment for recurrent aphthous stomatitis [J]. J Oral Pathol Med, 2022, 51(1): 106-112
- [19] 吴陈娟,刘南阳,刘平,等.复发性口腔溃疡证治体会[J].环球中医药,2020,13(5): 902-904
- [20] Dudding T, Haworth S, Lind PA, et al. Genome wide analysis for mouth ulcers identifies associations at immune regulatory loci[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1052
- [21] 徐剑波,王丹丹,彭旭霖,等.口腔菌群及炎症因子、T 细胞亚群水平在复发性口腔溃疡患者病情中变化及意义[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(9): 1494-1497, 1502
- [22] 田丽云,朱红梅.重组牛碱性成纤维细胞生长因子联合西地碘含片对口腔溃疡患儿炎症免疫反应的影响[J].中国妇幼保健,2021,36(13): 3018-3021
- [23] 王静旭,夏海发,姚尚龙.促炎症消退介质通过调节免疫细胞促进炎症消退的机制研究进展[J].中华危重病急救医学,2020,32(7): 873-876
- [24] Ahmady OA, Ibrahim SM, Salem HH, et al. Antiulcerogenic effect of melittin via mitigating TLR4/TRAF6 mediated NF- κ B and p38MAPK pathways in acetic acid-induced ulcerative colitis in mice [J]. Chem Biol Interact, 2020, 331(1): 109276
- [25] Al-Samadi A, Drozd A, Salem A, et al. Epithelial Cell Apoptosis in Recurrent Aphthous Ulcers[J]. J Dent Res, 2015, 94(7): 928-935
- [26] 刘晓慧,刘永红,张晓光.雌激素结合康复新液对复发性口腔溃疡小鼠组织损伤的作用及相关机制[J].临床和实验医学杂志,2021,20(10): 1032-1035
- [27] 程英杰,高昕,汪苑苑,等.复方甘菊利多卡因对兔口腔溃疡愈合的影响及相关药理机制研究[J].口腔医学研究,2020,36(11): 1045-1049
- [28] Günhan Ö, Günel A, Avcı A, et al. Oral epithelial barrier function and the role of nuclear factor kappa- β pathway in the pathogenesis of aphthous ulceration[J]. Turk J Gastroenterol, 2013, 24(6): 508-514
- [29] Shao Y, Ding B, Ji J, et al. The Anti-Inflammatory Effect of Zhibaidihuang Decoction on Recurrent Oral Ulcer with Sirt1 as the Key Regulatory Target[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 21(1): 8886699
- [30] Shi L, An Y, Cheng L, et al. Qingwei San treats oral ulcer subjected to stomach heat syndrome in db/db mice by targeting TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. Chin Med, 2022, 17(1): 1