

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.03.010

· 综述 ·

小檗碱预防和治疗牙周炎的研究进展

钟永进, 唐权, 黄睿洁

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院儿童口腔科, 四川成都(610041)

【摘要】 小檗碱是一种从黄连等传统中药植物中提取的天然异喹啉类生物碱。小檗碱具有抑菌、抗炎、抗骨吸收、降血糖等多种生物学功效,且副作用小,近年来越来越多的研究报道了其在牙周炎防治中具有潜在的应用前景。本文总结了小檗碱在牙周炎预防和治疗方面的研究进展,旨在为牙周疾病的临床防治工作提供新的思路。研究表明,小檗碱可以通过抑制牙周致病菌生长、减轻牙周组织炎症反应以及调控牙槽骨吸收等抑制牙周炎的发生发展,从而达到预防和治疗牙周炎的效果。但是,牙周炎的发生机制十分复杂,目前的研究仍比较局限,未来需要更多的体内体外研究进一步探讨小檗碱抑制牙周炎发生发展的具体机制,以及进行更多的大样本前瞻性临床研究来确定小檗碱对牙周炎的防治效果。

【关键词】 小檗碱; 牙周炎; 牙周病; 牙周致病菌; 炎症介质; 牙槽骨吸收; 预防; 治疗

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2022)03-0217-04

【引用著录格式】 钟永进,唐权,黄睿洁.小檗碱预防和治疗牙周炎的研究进展[J].口腔疾病防治,2022,30(3):217-220. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.03.010.



微信公众号

Research progress on berberine in the prevention and treatment for periodontitis ZHONG Yongjin, TANG Quan, HUANG Ruijie. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases, Department of Pediatric Dentistry, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China
Corresponding author: HUANG Ruijie, Email: hwangrj@163.com, Tel: 86-13541048425

【Abstract】 Berberine is a natural isoquinoline alkaloid extracted from Rhizoma Coptidis and other Chinese herbal medicines. Since berberine has a variety of biological effects, such as bacteriostasis, anti-inflammatory, anti-bone resorption and blood sugar-lowering effects, and is associated with few side effects, studies are increasingly discovering its potential application in the prevention and treatment of periodontitis. This review summarizes the relevant research progress of berberine in the prevention and treatment of periodontitis in recent years, aiming to provide a new strategy for the clinical prevention and treatment of periodontitis. The results of the literature review showed that berberine could prevent the occurrence and development of periodontitis by inhibiting periodontal pathogens, reducing periodontal tissue inflammation and inhibiting alveolar bone resorption. However, the mechanism of periodontitis is complicated, and current research remains limited. In the future, more *in vivo* and *in vitro* studies are needed to further explore the mechanism of berberine in inhibiting the occurrence and development of periodontitis, and more large-sample prospective clinical studies should be conducted to confirm the effect of berberine on the prevention and treatment of periodontitis.

【Key words】 berberine; periodontitis; periodontal disease; periodontal pathogens; inflammation mediator; alveolar bone resorption; prevention; treatment

J Prev Treat Stomatol Dis, 2022, 30(3): 217-220.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No. NSFC31800114) and Undergraduate's Platform for Innovation and Entrepreneurship Training Program of Sichuan university (No. C2021115563).

【收稿日期】 2021-02-03; **【修回日期】** 2021-03-13

【基金项目】 国家自然科学基金青年科学基金项目(NSFC31800114);四川大学大学生创新创业训练计划项目(C2021115563)

【作者简介】 钟永进,本科,Email: 1103903418@qq.com

【通信作者】 黄睿洁,副教授,Email: hwangrj@163.com, Tel: 86-13541048425

牙周炎是由牙菌斑生物膜定植,细菌感染牙周组织而引起的慢性炎症性疾病,其特征是牙周组织的进行性破坏^[1]。牙周病患者一些表现为没有骨破坏的牙龈炎,而另一些则经历慢性进行性或快速侵袭性牙龈结缔组织损伤和骨丢失^[2]。

小檗碱是一种从黄连等中草药植物中分离出的异喹啉类季铵碱,又被称为黄连素,为黄色粉末状物质,味苦^[3]。小檗碱具有多种生物学效能,包括炎症调控、抑制微生物生长、抑制肿瘤发生、防止血栓形成、抗氧化、降血糖、降血脂等作用^[3]。近年来,国内外一些学者从天然中药植物提取物的角度出发,将小檗碱的生物学作用与口腔疾病,特别是牙周炎的防治联系起来,展现出了良好的成效。本文就小檗碱在牙周炎防治方面的研究进展作一综述,为进一步探讨小檗碱在牙周炎防治方面的应用提供参考。

1 小檗碱防治牙周炎机理的体外研究

1.1 小檗碱抑制牙周致病菌

小檗碱可以通过破坏细菌细胞壁结构,改变细胞膜通透性,抑制相关酶和外排泵,影响蛋白质和DNA的合成等达到抑菌杀菌的效果。在众多的口腔微生物中,可引起牙周炎的细菌主要包括牙龈卟啉单胞菌、福赛斯坦纳菌、齿垢密螺旋体及伴放线放线杆菌等。由这些细菌形成的牙菌斑以及它们的代谢产物能够引起机体免疫和炎症反应机制,进而破坏正常牙周支持组织。近年来,越来越多的学者关注到小檗碱对牙周致病菌的抑制作用。Hu等^[4]研究发现小檗碱可以明显抑制包括中间普氏菌、牙龈卟啉单胞菌、内氏放线菌、伴放线放线杆菌以及产黑色素普氏菌在内的牙周可疑致病菌的生长。另外,小檗碱还能够抑制伴放线放线杆菌及牙龈卟啉单胞菌分泌的胶原酶活性,从而有效减轻该酶对牙周结缔组织中胶原纤维和蛋白质的大量降解。Zhang等^[5]研究表明小檗碱除了可以抑制牙龈卟啉单胞菌的生长(其效果呈剂量依赖性,最小抑菌浓度为31.3 μg/mL)外,还可以显著降低该细菌主要毒力因子精氨酸特异性蛋白酶A(Arginine-specific gingipain A, RgpA)的活性,这提示小檗碱可以作为RgpA的抑制剂使用。另外,口腔中的具核梭杆菌具有桥接作用,可共聚菌斑内微生物,是介导形成牙菌斑生物膜的关键菌种之一。Xie等^[6]研究发现了31.25 μg/mL的小檗碱溶液可以有效抑制具核梭杆菌的生长,且当小檗碱

与氯己定联合使用时,会增强其抑菌效果。

1.2 小檗碱拮抗牙周炎症介质表达

当牙周组织受到细菌侵入刺激时,人牙周膜细胞(human periodontal ligament cells, hPDLs)能够合成并分泌一种碱性蛋白——单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)。MCP-1通过吸引单核细胞进入炎症反应区域,从而在牙周组织炎症反应中发挥着重要的作用^[7]。Nisha等^[8]研究报道了相比起健康人群,慢性牙周炎患者的唾液中具有更高的MCP-1含量。张帆等^[9]通过体外实验进一步发现脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)可刺激hPDLs分泌MCP-1,而盐酸小檗碱的加入可抑制该过程,并同时观察到细胞培养液中MCP-1的含量明显下降。此外,Zhang等^[10]研究还发现巨噬细胞在LPS的刺激下能够提高MCP-1的表达,而当他们用小檗碱处理后,巨噬细胞MCP-1的分泌也会显著降低。以上研究结果表明,小檗碱可以拮抗牙周组织中炎症介质MCP-1的表达,从而有效减轻牙周组织炎症反应。

1.3 小檗碱缓解牙槽骨的吸收

牙槽骨的降低和吸收是牙周炎的另一个显著特征。传统的牙周炎治疗方法虽然有一定效果,但并不能完全消除牙周组织炎症,而基于干细胞的再生技术是目前一种非常有前景的牙周炎治疗方法。骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)在植入有缺损的牙周部位后,能够在体内形成牙骨质、牙周膜和牙槽骨^[5]。Zhang等^[5]报道了BMSCs的成骨分化作用会受到牙龈卟啉单胞菌的负面影响,而小檗碱的应用可以通过促进BMSCs表达成骨相关蛋白来降低这一影响。另外,一些学者报道了从牙周组织内能够分离出一种新的间充质细胞群体——人牙周膜干细胞(human periodontal ligament stem cells, hPDLSCs),而小檗碱能够诱导hPDLSCs的成骨分化反应,促进牙周组织再生并维持牙周膜完整性^[11]。另外,有研究通过向体外培养的hPDLSCs中加入不同剂量的小檗碱,观察到0.1 mg/L的小檗碱能够明显提升hPDLSCs早期、中期和晚期的成骨能力,提高细胞内OPN和OCN的水平^[12]。

目前,越来越多的研究报道了小檗碱可能通过抑制或激活某些信号通路来抑制牙槽骨丢失:①核因子κB受体活化因子(receptor activator of nuclear factor kappa-B, RANK)/RANKL/骨保护蛋白(osteoprotegerin, OPG)是调节骨沉积与吸收的关键

通路,其中RANKL促进骨吸收,OPG抑制骨吸收,研究发现,小檗碱可通过阻碍NF- κ B激活,抑制RANKL介导的破骨细胞的形成与激活,从而减少骨的吸收,减轻牙槽骨丢失^[13];②在成骨过程中,Wnt/ β -catenin通路扮演着重要的角色。Zhang等^[11]通过体外实验发现糖尿病终产物可以部分激活Wnt/ β -catenin通路以降低hPDLSCs的成骨分化能力,而小檗碱可以抑制这一典型的途径,促进hPDLSCs在糖尿病相关牙周炎患者中的成骨分化能力。此外,Cui等^[14]研究发现小檗碱首先增强 β -catenin的表达并促进其进入细胞核,诱导激活下游的Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2),继而促进成熟成骨细胞的形成;③胞外信号调控激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)-FOS信号通路:Liu等^[12]报道了小檗碱可能与hPDLSCs膜上的EGFR结合,激活细胞内的EPK-FOS通路,从而增强hPDLSCs的成骨分化。

2 小檗碱防治牙周炎的动物实验研究

2.1 小檗碱抑制炎症因子表达

牙周组织炎症反应由复杂的炎性介质和细胞因子参与和调控,白细胞介素(interleukin, IL)与肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)在其中发挥着重要作用,包括IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 等^[15]。近年来,多项研究显示小檗碱可有效降低牙周组织中炎症因子的表达。Sun等^[16]通过体内实验证明小檗碱能有效降低IL-1 β 、TNF- α 和核因子 κ B受体激活剂配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)的mRNA表达水平。同样地,Gu等^[17]成功构建大鼠牙周炎模型后,予实验组大鼠每日灌服盐酸小檗碱0.12 g/kg,并采用苏木精伊红溶液对组织切片染色以及使用酶联免疫吸附检测TNF- α 、IL-1 β 、IL-10的水平,结果提示小檗碱能够明显减少炎症细胞浸润,减轻组织水肿,显著降低牙周炎组织中TNF- α 、IL-10、IL-1 β 的水平。

2.2 小檗碱调控蛋白酶分泌

在牙周炎患者的牙周组织内,成纤维细胞、巨噬细胞及浸润的淋巴细胞能大量表达基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs),该酶可以介导细胞周围基质的降解,从而导致牙周组织的进行性破坏。Tu等^[18]研究报道,小檗碱能够有效下调经LPS刺激后的牙龈中MMPs的表达。另外,研究者还通过构建大鼠牙周炎模型,发现小檗碱可

显著降低牙周组织内MMP-2和MMP-9阳性表达的细胞数量。同时,研究者还发现小檗碱通过阻碍p38MAPK/NF- κ B磷酸化使牙周组织内炎症因子TNF- α 水平降低,而TNF- α 的减少会相应的降低人牙周膜成纤维细胞MMP-2的表达。Sun等^[16]研究观察到牙周炎患者和实验性牙周炎小鼠中前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin9型(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)的血清水平会增加,而这种蛋白酶的过表达会促进炎症反应。

2.3 小檗碱调节肠道微生物

小檗碱能够调节肠道微生物群的组成,从而发挥重要的生物学效应。早期研究表明,小檗碱可以诱导肠道有害细菌的死亡,同时促进青春双歧杆菌和嗜酸乳杆菌等肠道益生菌的增殖。而肠道微生物群及其代谢产物与骨的生理病理变化又有着重要联系^[19]。Jia等^[20]在切除卵巢的大鼠上建立了实验牙周炎模型并用小檗碱进行了7周的治疗,结果提示小檗碱治疗可显著改善由雌性激素缺乏引起的大鼠骨代谢异常和牙槽骨丢失。进一步研究发现,小檗碱防止牙槽骨丢失的机制可能是通过上调肠道微生物分泌丁酸盐,以此来强化肠道屏障,进而调控全身和牙周组织的病理反应。

3 小檗碱防治牙周炎的临床应用研究

作为抗菌药物,小檗碱在治疗霍乱、细菌性痢疾及急性肠胃炎等肠道感染性疾病方面发挥着十分重要的作用;对于口腔疾病,特别是在牙周炎的防治方面,小檗碱的临床应用还比较局限。由于小檗碱水溶性差,难以被胃肠道吸收等特性,使得其生物利用度(<5%)无法达到理想水平,阻碍了其在临床上的应用。近年来,纳米技术蓬勃发展,越来越多的研究关注到将纳米载体等纳米技术应用于药物传递系统上具有独一无二的优势。Wang等^[21]制备了一种头基为Fe₃O₄,体基为SiO₂的磁性介孔纳米颗粒,他们发现这种纳米颗粒拥有着良好的超顺磁性,能够携带大量的小檗碱到达相应的组织,且该纳米颗粒能够破坏溶酶体膜的稳定性,改善小檗碱向胞浆的释放。Yin等^[22]研究发现,硒包覆纳米脂质载体能有效加强小檗碱的体内吸收,改善其生物利用度,且与普通的纳米脂质载体相比,其具有更好的小檗碱缓释性能。Djebbi等^[23]将小檗碱稳定在镁铝双金属氢氧化物纳米载体上,发现这种新型的无机药物载体增强了小檗碱的吸附和释放,并提高了其抗菌活性。

[Author contributions] Zhong YJ wrote the article. Tang Q revised the article. Huang RJ reviewed the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Ma JJ, Liu HM, Xu XH, et al. Study on gene expression patterns and functional pathways of peripheral blood monocytes reveals potential molecular mechanism of surgical treatment for periodontitis [J]. *World J Clin Cases*, 2019, 7(12): 1383-1392. doi: 10.12998/wjcc.v7.i12.1383.
- [2] Cheng WC, Saleh F, Abuaiasha KB, et al. Comparative analysis of immune cell subsets in peripheral blood from patients with periodontal disease and healthy controls[J]. *Clin Exp Immunol*, 2018, 194(3): 380-390. doi: 10.1111/cei.13205.
- [3] Cicero AF, Baggioni A. Berberine and its role in chronic disease [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 928: 27-45. doi: 10.1007/978-3-319-41334-1_2.
- [4] Hu JP, Takahashi N, Yamada T. Coptidis rhizoma inhibits growth and proteases of oral bacteria[J]. *Oral Dis*, 2000, 6(5): 297-302. doi: 10.1111/j.1601-0825.2000.tb00142.x.
- [5] Zhang R, Yang J, Wu J, et al. Berberine promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells with therapeutic potential in periodontal regeneration[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 851: 144-150. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.02.026.
- [6] Xie Q, Johnson BR, Wenckus CS, et al. Efficacy of berberine, an antimicrobial plant alkaloid, as an endodontic irrigant against a mixed-culture biofilm in an *in vitro* tooth model[J]. *J Endod*, 2012, 38(8): 1114-1117. doi: 10.1016/j.joen.2012.04.023.
- [7] Gunpinar S, Alptekin NO, Dundar N. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with aggressive periodontitis[J]. *Oral Dis*, 2017, 23(6): 763-769. doi: 10.1111/odi.12658.
- [8] Nisha KJ, Suresh A, Anilkumar A, et al. MIP-1 α and MCP-1 as salivary biomarkers in periodontal disease[J]. *Saudi Dent J*, 2018, 30(4): 292-298. doi: 10.1016/j.sdentj.2018.07.002.
- [9] 张帆, 余占海. 盐酸小檗碱对人牙周膜细胞分泌单核细胞趋化蛋白1影响的体外实验[J]. *中华口腔医学杂志*, 2012, 47(10): 610-613. doi: 10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2012.10.008.
Zhang F, Yu ZH. Effect of berberine hydrochloride on the secretion of monocyte chemoattractant protein-1 from human periodontal ligament cells *in vitro*[J]. *Chin J Stomatol*, 2012, 47(10): 610-613. doi: 10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2012.10.008.
- [10] Zhang H, Shan Y, Wu Y, et al. Berberine suppresses LPS-induced inflammation through modulating Sirt1/NF- κ B signaling pathway in RAW264.7 cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 52: 93-100. doi: 10.1016/j.intimp.2017.08.032.
- [11] Zhang LN, Wang XX, Wang Z, et al. Berberine improves advanced glycation end products-induced osteogenic differentiation responses in human periodontal ligament stem cells through the canonical Wnt/ β catenin pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(6): 5440-5452. doi: 10.1016/j.phymed.2013.06.001.
- [12] Liu J, Zhao X, Pei D, et al. The promotion function of Berberine for osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells via ERK-FOS pathway mediated by EGFR[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2848. doi: 10.1038/s41598-018-21116-3.
- [13] Hu JP, Nishishita K, Sakai E, et al. Berberine inhibits RANKL-induced osteoclast formation and survival through suppressing the NF- κ B and Akt pathways[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 580(1/2): 70-79. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.11.013.
- [14] Cui YJ, Jing X, Fu YJ, et al. Berberine mediates root remodeling in an immature tooth with apical periodontitis by regulating stem cells from apical papilla differentiation[J]. *Int J Oral Sci*, 2020, 12(2): 172-181.
- [15] Ramadan DE, Hariyani N, Indrawati R, et al. Cytokines and chemokines in periodontitis[J]. *Eur J Dent*, 2020, 14(3): 483-495. doi: 10.1055/s-0040-1712718.
- [16] Sun HL, Wu YR, Song FF, et al. Role of PCSK9 in the development of mouse periodontitis before and after treatment: a double-edged sword[J]. *J Infect Dis*, 2018, 217(4): 667-680. doi: 10.1093/infdis/jix574.
- [17] Gu L, Ke Y, Gan J, et al. Berberine suppresses bone loss and inflammation in ligature-induced periodontitis through promotion of the G protein-coupled estrogen receptor-mediated inactivation of the p38MAPK/NF- κ B pathway [J]. *Arch Oral Biol*, 2021, 122: 104992. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104992.
- [18] Tu HP, Fu MM, Kuo PJ, et al. Berberine's effect on periodontal tissue degradation by matrix metalloproteinases: an *in vitro* and *in vivo* experiment[J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(13): 1203-1210. doi: 10.1016/j.phymed.2013.06.001.
- [19] Yan J, Herzog JW, Tsang K, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(47): e7554-e7563. doi: 10.1073/pnas.1607235113.
- [20] Jia X, Jia L, Mo L, et al. Berberine ameliorates periodontal bone loss by regulating gut microbiota[J]. *J Dent Res*, 2019, 98(1): 107-116. doi: 10.1177/0022034518797275.
- [21] Wang Z, Wang YS, Chang ZM, et al. Berberine-loaded Janus nano-carriers for magnetic field-enhanced therapy against hepatocellular carcinoma[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2017, 89(3): 464-469. doi: 10.1111/cbdd.12866.
- [22] Yin J, Hou Y, Yin Y, et al. Selenium-coated nanostructured lipid carriers used for oral delivery of berberine to accomplish a synergic hypoglycemic effect[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 8671-8680. doi: 10.2147/IJN.S144615.
- [23] Djebbi MA, Bouaziz Z, Elabed A, et al. Preparation and optimization of a drug delivery system based on berberine chloride-immobilized MgAl hydrotalcite[J]. *Int J Pharm*, 2016, 506(1/2): 438-448. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.04.048.

(编辑 周春华)



官网