

水飞蓟宾在小鼠牙周炎引发的肾损伤中的作用机制研究

胡梦婷¹ 商雅琦¹ 车贞贞¹ 刘歆婵² 邓愉¹ 于维先^{1,3,4}

1. 吉林大学白求恩口腔医院牙周病科, 长春 130021;
2. 吉林大学白求恩口腔医院VIP综合科, 长春 130021;
3. 吉林大学白求恩口腔医院老年口腔科, 长春 130021;
4. 吉林省牙发育及颌骨重塑与再生重点实验室, 长春 130021

[摘要] **目的** 探索水飞蓟宾在牙周炎引发的肾损伤中的作用及机制。**方法** 将24只雄性C57BL/6J小鼠随机分为3组,分别为正常对照(Control)组、牙周炎(P)组及牙周炎+水飞蓟宾干预(P+SB)组,每组8只。通过7-0丝线结扎上颌第二磨牙颈部,建立牙周炎动物模型,利用苏木精-伊红(HE)、Masson染色及Micro-CT技术多角度验证牙周炎模型构建成功。通过HE染色、过碘酸雪夫(PAS)染色和Masson染色检测肾脏组织学变化,通过透射电子显微镜观察超微结构,检测血液生化指标等方法多方位评估肾脏损伤程度。通过检测肾脏组织氧化应激指标及MitoSOX Red荧光染色,观察肾脏组织内氧化与抗氧化的平衡。采用定量逆转录聚合酶链反应技术检测哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)mRNA的表达,并结合免疫组织化学染色,进一步明确mTOR在小鼠肾脏组织中的定位及表达水平。**结果** 与Control组相比,P组小鼠第二磨牙周围牙龈炎症及破坏明显,牙槽骨出现明显吸收,具体表现为骨体积分数(BV/TV)和骨小梁厚度(Tb.Th)降低,骨小梁间距(Tb.Sp)增宽,同时肾脏组织呈现肾小球鲍曼囊腔增宽、肾小管上皮细胞脱落、足突形态破坏、线粒体肿胀、线粒体嵴消失等肾脏损伤迹象,并伴有丙二醛(MDA)含量显著上升,谷胱甘肽(GSH)和超氧化物歧化酶(SOD)活性下降,mTOR信号通路激活。相比之下,P+SB组小鼠牙龈及牙槽骨破坏程度明显减轻,肾脏损伤情况得到有效缓解,MDA水平降低,SOD和GSH活性恢复,并伴有mTOR信号通路显著抑制。**结论** 水飞蓟宾可能通过调控mTOR信号通路,有效减轻肾脏组织的氧化应激损伤,进而对牙周炎引发的肾损伤起到明显的缓解作用。

[关键词] 牙周炎; 氧化应激; 肾损伤; 水飞蓟宾; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路

[中图分类号] R781.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2026.2025287



本文链接 开放科学标识码

Mechanism of silibinin in renal injury induced by periodontitis in mice

Hu Mengting¹, Shang Yaqi¹, Che Zhenzhen¹, Liu Xinchan², Deng Yu¹, Yu Weixian^{1,3,4}

1. Dept. of Periodontology, Bethune Stomatological Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Dept. of VIP Synthesis, Bethune Stomatological Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 3. Dept. of Geriatrics, Bethune Stomatological Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 4. Jilin Provincial Key Laboratory of Tooth Development and Bone Remodeling, Changchun 130021, China

Supported by: Jilin University Bethune Plan Project (2025B16); Science and Technology Project of Jilin Provincial Department of Finance (jcsz2023481-16)

[收稿日期] 2025-07-11

[基金项目] 吉林大学白求恩计划项目(2025B16);吉林省财政厅科技项目(jcsz2023481-16)

[第一作者] 胡梦婷, 硕士, E-mail: humt23@mails.jlu.edu.cn

[通信作者] 于维先, 教授, 博士, E-mail: ywx@jlu.edu.cn

Correspondence: Yu Weixian, E-mail: ywx@jlu.edu.cn

[Abstract] **Objective** This study aimed to explore the role and mechanism of silibinin in renal injury induced by periodontitis. **Methods** Twenty-four male

C57BL/6J mice were randomly divided into three groups: normal control (Control), periodontitis (P), and periodontitis+silibinin intervention (P+SB). Ligation with 7-0 silk thread around the maxillary second molar's neck was performed to generate a periodontitis animal model. Hematoxylin-eosin (HE), Masson staining, and micro-CT techniques were used to verify the successful construction of the periodontitis model. Renal injury degree was evaluated by renal histological examination (HE, periodic acid-schiff, and Masson staining), ultrastructure observation under a transmission electron microscope, and blood biochemical index detection. The balance of oxidation and antioxidation in kidney tissue was observed by detecting the index of oxidative stress and MitoSOX Red fluorescence staining. The mRNA expression of mammalian target of rapamycin (mTOR) was detected by quantitative reverse transcription polymerase chain, and the localization and expression of mTOR in mouse kidney was further clarified using immunohistochemical staining. **Results** Compared with that in the Control group, gingival destruction and inflammation around the second molar were more evident in the P group. The alveolar bone was absorbed remarkably, as characterized by a decrease in bone volume fraction (BV/TV) and trabecular thickness and the widening of trabecular spacing. Renal tissue showed signs of renal injury, such as widening of Bowman space, exfoliation of renal tubular epithelial cells, morphological destruction of foot process, swelling of mitochondria, and disappearance of mitochondrial crest, accompanied with a significant increase in malondialdehyde (MDA) level, a decrease in glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) activities, and the activation of mTOR signal pathway. In the P+SB group, the destruction of gingiva and alveolar bone was significantly reduced, kidney injury was effectively alleviated, the MDA level decreased, SOD and GSH activities were recovered, and the mTOR signal pathway was significantly inhibited. **Conclusion** Silibinin can effectively alleviate the oxidative stress injury of kidney and alleviate the renal injury caused by periodontitis by regulating the mTOR signal pathway.

[Key words] periodontitis; oxidative stress; kidney injury; silibinin; mammalian target of rapamycin signal pathway

牙周炎是广泛存在的口腔健康问题,全球超过10%的人口受重度牙周炎困扰^[1-2]。牙周炎的病理表现为牙周支持组织渐进性损伤。在牙周炎进展过程中,典型的临床特征包括牙龈炎症反应、牙周袋加深和牙槽骨丧失,严重时会出现牙齿松动与脱落^[3]。牙周炎的危害远不止于此,它不仅影响患者口腔健康,降低患者生活质量^[4],还会给个人及社会经济带来巨大负担^[5]。牙周炎与多种全身性疾病密切相关,包括阿尔茨海默病^[6]、糖尿病^[7]、心血管疾病^[8]、炎症性肠病^[9]、类风湿关节炎^[10]、多囊卵巢综合征^[11]等。近年来,大量研究^[12-14]证实牙周炎与慢性肾病存在紧密联系,牙周炎已被认为是导致肾脏损伤的一个重要原因之一。慢性肾病的核心特征是肾脏结构或功能异常,包括肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)下降[$<60 \text{ mL}/(\text{min}\cdot 1.73 \text{ m}^2)$]或出现蛋白尿、血尿、多囊肾、发育不良肾等肾脏损伤迹象^[15]。全球约有8.5亿人患有慢性肾病^[16]。目前牙周治疗已被证实可以减轻全身炎症负担,增强肾功能,延缓慢性肾病进展^[17]。

氧化应激(oxidative stress)是指机体或细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生超出了抗氧化系统的调节能力,导致氧化与抗氧

化的平衡被打破,进而引起生物大分子氧化损伤的病理状态^[18]。在牙周炎中,炎症介质的释放及宿主免疫细胞的激活会导致过多的ROS生成,引起氧化应激发生,而持续的氧化应激状态将耗竭机体抗氧化系统,促进炎症进展和组织损伤,从而加重牙周炎发展^[19]。作为高耗能器官,肾脏对氧化应激带来的损伤尤为敏感,氧化应激可以使鲍曼囊腔增大、肾小管退化,影响肾功能,甚至带来肾损伤^[13]。氧化应激在牙周炎与慢性肾病的紧密关系中发挥不可或缺的重要作用,牙周炎引起的氧化应激会对肾脏结构及功能产生负面影响^[14,18,20]。

细胞内的氧化还原平衡并非被动维持,而是受到一系列关键信号通路的精密调控。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是细胞氧化还原水平的核心枢纽和关键调节因子^[21-22]。mTOR信号通路与ROS之间存在双向调节关系,mTOR信号通路受细胞内ROS水平的调节,同时其自身也能调控细胞内的氧化与抗氧化代谢平衡,从而影响ROS的生成与清除^[21,23]。近年来,通过精准调控mTOR信号通路来维持机体氧化与抗氧化系统平衡,已成为医学研究的前沿和热点^[24]。

水飞蓟宾 (silibinin) 是从菊科植物水飞蓟种子中提取出来的天然多酚类黄酮化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤、护肝等作用, 被广泛用来治疗肝脏疾病^[25]。目前, 水飞蓟宾在牙周炎相关肾损伤中的抗氧化保护作用及其具体机制尚未完全阐明。水飞蓟宾强大的抗氧化效应是否与 mTOR 信号通路有关, 仍有待探索。本研究拟考察水飞蓟宾对牙周炎所致肾脏损伤的干预效果及作用机制, 以期揭示牙周炎诱导肾损伤的深层病理机制, 为牙周炎影响全身健康提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物、试剂和仪器

实验动物: SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 (长春市亿斯实验动物技术有限责任公司)。

主要试剂如下。组织染色试剂: Masson 三色染色液 (福州迈新生物技术开发有限公司), 过碘酸希夫 (periodic acid-schiff, PAS) 染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司); 肾功能检测试剂: 白蛋白 (albumin, Alb)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酐 (creatinine, Cre) 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 氧化应激指标检测: 丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 测试盒 (MDA 购自南京建成生物工程研究所, 后两者购自上海碧云天生物技术股份有限公司); ROS 检测: MitoSOX Red (美国赛默飞世尔科技公司); 分子生物学试剂: 定量逆转录聚合酶链反应 (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR) 及逆转录试剂盒 (上海翌圣生物科技股份有限公司), 引物及内参 (上海生工生物工程股份有限公司); 免疫检测试剂: mTOR 及 phospho-mTOR 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司), 免疫组织化学试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司)。

仪器: Micro-CT (SkyScan1275, 德国布鲁克公司), 透射电子显微镜 (JELO1400 plus, 日本电子株式会社), 酶标检测仪 (BioTek Synergy H1, 美国伯腾仪器公司), PCR 仪 (Applied Biosystems 7500, 美国赛默飞世尔科技公司)。

1.2 实验设计

本研究经吉林大学实验动物伦理委员会审批通过 (伦理批号: 2025 年研审第 357 号), 确保实

验过程符合伦理。将 24 只 8 周龄 SPF 级雄性 C57-BL/6J 小鼠 (21~23 g), 在标准条件下适应饲养 5 d, 随机分为 3 组, 每组 8 只, 分别为正常对照组 (Control 组)、牙周炎组 (P 组)、牙周炎+水飞蓟宾干预组 (P+SB 组)。异氟烷吸入使小鼠麻醉后, 用 7-0 丝线结扎 P 组和 P+SB 组小鼠双侧上颌第二磨牙的牙颈部, 建立小鼠实验性牙周炎模型。在实验期间每日检查丝线的稳固性, 以确保模型建立的持续性。P+SB 组进行药物干预, 即每日给予水飞蓟宾 (100 mg/kg) 灌胃处理, 其余 2 组每日灌胃等体积生理盐水。持续干预 8 周后处死小鼠, 采集以下样本: 上颌骨标本、双侧肾脏组织、血清样本、尿液样本, 所有样本均按标准操作规范采集, 并置于 -80 °C 保存备用。

1.3 检查项目及方法

1.3.1 Micro-CT 分析

将固定的上颌骨放入 Micro-CT 扫描容器内, 按操作说明分析骨生物学参数: 骨小梁间距 (trabecular bone separation, Tb.Sp)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb.Th)、骨体积分数 (bone volume per total volume, BV/TV)。

1.3.2 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色、PAS 染色及 Masson 染色

样本前处理: 取固定后的肾组织及脱钙上颌骨标本, 经梯度乙醇脱水、石蜡包埋后制备 3 μm 切片。HE 染色: 常规 HE 染色步骤进行染色。PAS 染色: 将肾组织、牙周组织切片经脱蜡、水化处理后, 室温下氧化剂孵育 10 min, 希夫试剂浸染 10 min, 苏木素染色 1 min, 双蒸水返蓝后脱水、透明、封片。Masson 染色: Masson 复合染色液孵育 (5 min, 室温), 磷钼酸分化 (5 min, 室温), 苯胺蓝孵育 (2 min, 室温), 醋酸孵育 (45 s, 室温) 后无水乙醇脱水、透明、封片。

1.3.3 透射电子显微镜检测

采用透射电子显微镜观察肾组织超微结构。将固定的肾组织置于 -4 °C PBS 缓冲液漂洗过夜后, 1% 锇酸固定 (4 °C, 避光 2 h), PBS 冲洗 3 次 (每次 10 min), 梯度乙醇及丙酮脱水, 包埋剂 37 °C 条件下浸透后包埋, 切片, 观察。

1.3.4 肾功能及尿蛋白指标检测

取肾组织、尿液冻存样本, 严格按照试剂说明书操作流程, 检测 Alb、BUN、Cre、蛋白尿指标。

1.3.5 氧化应激标志物检测

取肾组织冻存样本, 严格按照试剂说明书操

作流程检测氧化应激关键指标。

1.3.6 MitoSOX Red染色

制备肾组织冰冻切片(厚度8 μm), MitoSOX Red工作液避光孵育30 min, PBS漂洗干净后,采

用荧光显微镜观察并采集图像。

1.3.7 qRT-PCR检测

按照说明书步骤检测mTOR的mRNA表达水平。基因引物序列信息见表1。

表1 基因引物序列

Tab 1 Genetic sequences

基因	引物序列(5'—3')	碱基数/bp	基因号
mTOR	F: CCGTACTGTGTCTTGGCAT	118	NM_020009.2
	R: CAGCTCGCGGATCTCAAAGA		
β -actin	F: CACTGTCGAGTCGCGTCC	102	NM_007393.5
	R: CGCAGCGATATCGTCATCCA		

1.3.8 免疫组织化学染色

按照试剂盒说明书加入mTOR、phospho-mTOR一抗稀释液进行染色。

1.4 统计分析

采用Graphpad Prism统计学软件对数据进行统计学分析,检验水准为双侧 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 成功建立小鼠牙周炎模型

HE染色显示:Control组小鼠牙周组织结构清晰,牙龈上皮完整,无附着丧失,无明显炎症细胞浸润;P组小鼠可见深牙周袋、附着丧失及炎症细胞浸润(图1A、B)。Masson染色显示:Control组小鼠牙周组织胶原纤维排列致密、清晰、完整;P组胶原纤维排列紊乱,破坏明显(图1C、D)。HE和Masson染色均显示Control组小鼠牙槽嵴顶高度几乎与第二磨牙牙颈部平齐,而P组牙槽骨高度明显低于牙颈部。Micro-CT三维重建显示:Control组小鼠第二磨牙区周围牙槽骨结构完整,未见明显骨吸收;P组磨牙区周围牙槽嵴高度显著降低,呈现典型骨吸收征象(图2A)。骨生物学参数检测结果(图2B)显示:与Control组相比,P组BV/TV、Tb.Th均明显降低,Tb.Sp明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。上述结果提示牙周炎模型构建成功。

2.2 水飞蓟宾减轻小鼠牙周组织损伤

HE染色显示:与P组相比,P+SB组小鼠牙周袋变浅,附着丧失及炎症细胞浸润情况均有减轻(图1A、B)。Masson染色显示:与P组相比,P+SB组小鼠牙周组织胶原纤维破坏情况减轻(图1C、D)。HE及Masson染色均显示:P+SB组第二磨牙近中牙槽嵴顶高度距离牙颈部较Control组近。Micro-CT三维重建分析表明:与P组相比,P+SB

组牙槽骨吸收减少(图2A)。骨生物学参数分析提示:与P组相比,P+SB组小鼠BV/TV、Tb.Th显著升高,Tb.Sp明显降低,差异有统计学意义(图2B)。这些结果表明:水飞蓟宾干预显著改善了牙周组织的病理损伤。

2.3 水飞蓟宾减轻小鼠肾损伤

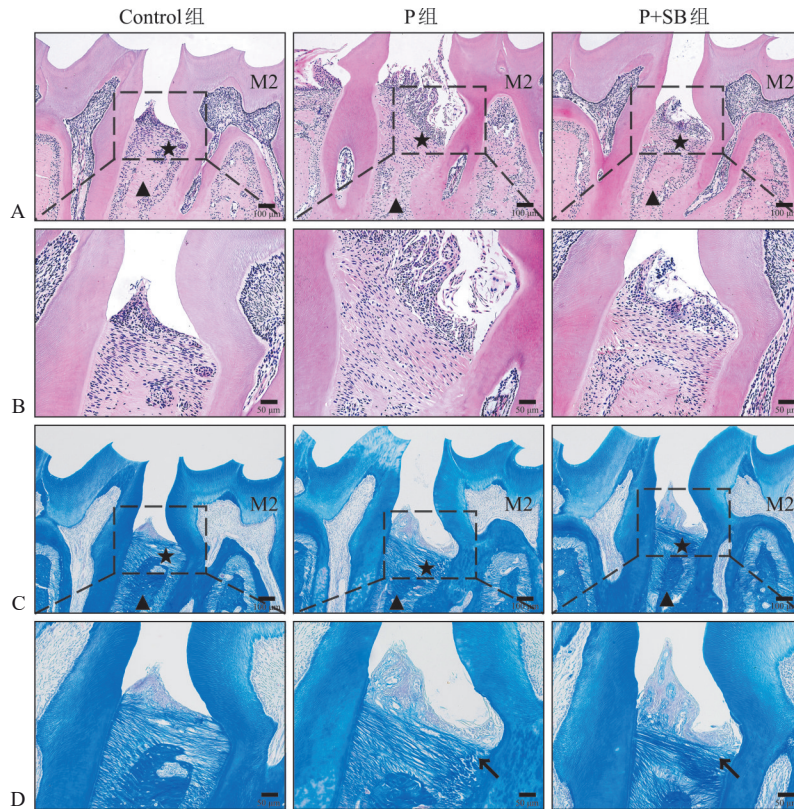
肾脏功能相关指标检测结果分析见表2。与Control组相比,P组小鼠血清Alb水平、血清BUN水平、尿蛋白排泄量呈上升趋势,但差异并无统计学意义($P>0.05$)。P+SB组与P组相比,血清Alb水平变化不明显,血清BUN水平升高,尿蛋白排泄量降低,但三者差异均无统计学意义($P>0.05$)。P组与Control组相比,Cre水平升高,P+SB组与P组相比Cre水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。

HE染色观察显示:Control组小鼠肾小球及肾小管结构完整,未见明显损伤;P组小鼠可见肾小球鲍曼囊腔增大,肾小管上皮细胞部分脱落;P+SB组小鼠肾小球鲍曼囊腔扩张程度有所减轻,肾小管上皮细胞脱落现象也得到改善(图3A、B)。PAS染色观察显示:P组小鼠肾小球基底膜较Control组有明显的增厚改变,肾小管刷状缘破坏且形态不规则;P+SB组小鼠肾小球基底膜未见显著增厚,刷状缘结构保持相对完整(图3C、D)。Masson染色可见:Control组的肾脏组织未见明显胶原纤维沉积;P组肾小球及肾小管周围可见显著胶原沉积;而P+SB组小鼠胶原纤维沉积现象不明显(图3E、F)。

透射电子显微镜显示:Control组小鼠肾小管上皮细胞足突排列整齐、形态清晰,呈典型的“梳齿”样结构;P组足突广泛融合,正常结构完全消失;P+SB组足突损伤程度较P组明显改善(图4A、B)。Control组肾小管上皮细胞的线粒体形态正常,呈长条状且嵴清晰;P组线粒体明显肿

胀呈圆形，部分呈空泡化改变，线粒体嵴结构模糊、消失；P+SB组线粒体形态正常，线粒体嵴结

构清晰（图4C、D）。



A: HE染色 ×100; B: HE染色 ×200; C: Masson染色 ×100; D: Masson染色 ×200。M2示上颌第二磨牙; ▲示M2近中牙槽嵴; ★示牙龈组织; 黑色箭头示胶原纤维破坏。

图1 小鼠牙周组织HE及Masson染色

Fig 1 Shows HE and Masson staining of periodontal tissues in mice

2.4 水飞蓟宾减轻小鼠肾脏氧化应激水平

小鼠肾组织氧化应激指标分析见表3。与Control组相比，P组小鼠GSH、SOD水平下降，MDA水平升高，两组间差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。与P组相比，P+SB组小鼠GSH、SOD水平升高，MDA水平下降，两组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

小鼠肾脏组织 MitoSOX Red 荧光图像（图5A）显示：P组肾脏组织红色荧光信号较Control组显著增强，即ROS增多；与P组相比，P+SB组小鼠肾脏组织红色荧光强度减弱，即ROS减少。半定量分析（图5B）进一步证实：Control组与P组、P组与P+SB组的组间平均荧光信号强度差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。

2.5 水飞蓟宾抑制mTOR信号通路

免疫组织化学分析显示：P组肾脏组织中mTOR及phospho-mTOR蛋白表达较Control组显著上调；与P组相比，P+SB组mTOR及phospho-mTOR蛋白表达水平显著下调（图6A~F）。qRT-

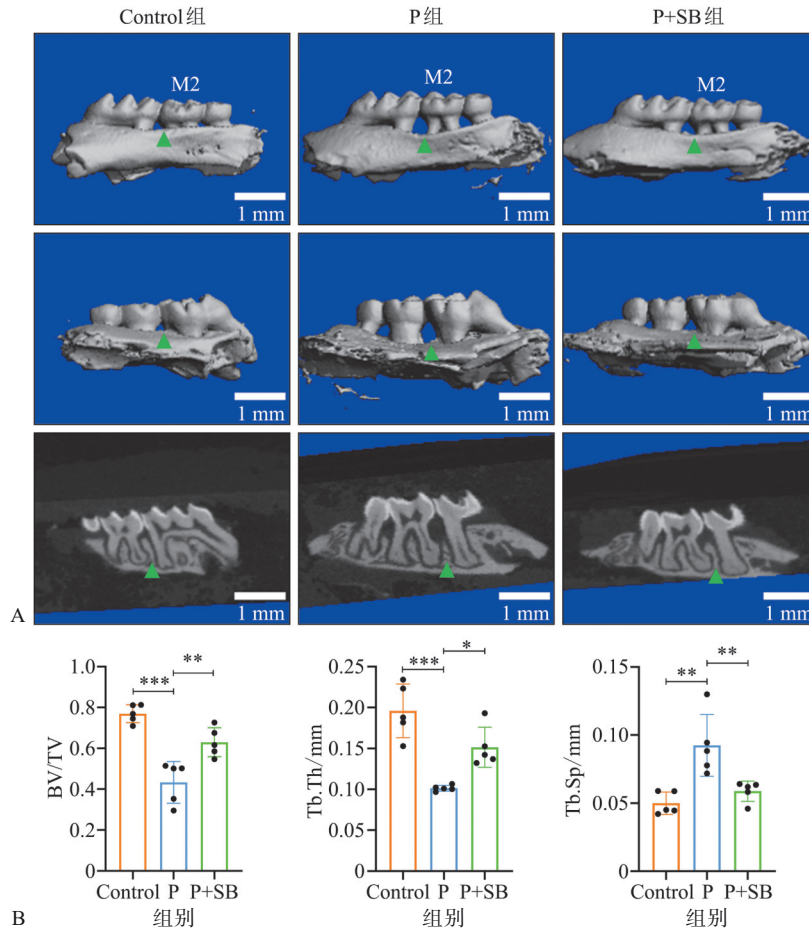
PCR检测发现：P组mTOR mRNA表达水平明显高于Control组；与P组相比，P+SB组mTOR mRNA表达显著下调（图6G）。

3 讨论

牙周炎的病理损伤是一个多环节、多因素相互作用的复杂过程，不仅损害牙周组织，还影响全身健康^[26]。从病因学角度看，牙菌斑生物膜中的致病菌释放脂多糖、蛋白酶等毒力因子，导致过度的炎症反应^[27]。牙周组织局部的微循环障碍导致组织缺氧，氧化应激反应增强加剧了牙周组织破坏^[27]。已有研究^[28]表明：氧化应激在牙周炎引起的组织损伤中起重要作用，且膳食中适当补充抗氧化剂能够有效预防或减轻牙周组织损伤。牙周炎与多种全身性疾病，如糖尿病、慢性肾病等都存在双向关联，它们相互影响，形成恶性循环^[16,29]。牙周炎与慢性肾病的双向关联已成为医学研究的前沿和热点^[30-31]。由于肾脏是代谢活跃且易

受损的器官,其功能状态与氧化应激水平密切相关,换言之,肾脏对氧化应激损伤尤为敏感^[32]。基于这一特性,本研究提出牙周炎相关肾损伤可能涉及氧化应激反应。笔者推测:牙周炎引起肾损伤的深层机制可能在于,细菌及其产物的刺激

与宿主免疫细胞的激活,导致过多的ROS在肾脏中累积,打破了肾脏组织内氧化与抗氧化的平衡,可能引起细胞内脂质过氧化、酶失活、DNA碱基氧化等不良反应,导致肾脏的负担增加^[33]。



A: 小鼠上颌骨 Micro-CT 三维重建图像, 从上到下依次为颊面观、腭面观、矢状面观; B: 小鼠上颌骨骨生物学参数分析 (n=5), 从左到右依次为 BV/TV、Tb.Th、Tb.Sp。M2: 小鼠上颌第二磨牙; 绿色三角: M2 近中牙槽嵴。*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001。

图 2 小鼠上颌骨 Micro-CT 三维重建图及骨生物学参数

Fig 2 Three-dimensional reconstruction image of the maxilla of mice by micro-CT and bone biological parameters

表 2 小鼠肾脏功能指标

Tab 2 Kidney function indices of mice

相关指标	Control组	P组	P+SB组
体重/g	25.00±1.35	25.82±1.62	25.17±0.88
肾重/g	0.34±0.02	0.34±0.03	0.33±0.03
Cre/ (μmol/L)	28.54±4.61	39.59±4.88**	31.15±4.95 [#]
Alb/ (g/L)	27.06±2.96	29.25±2.18	28.84±1.90
BUN/ (nmol/L)	5.25±1.23	7.33±2.10	10.33±2.91
尿蛋白/ (mg/L)	741.60±181.50	779.80±117.90	693.60±168.60

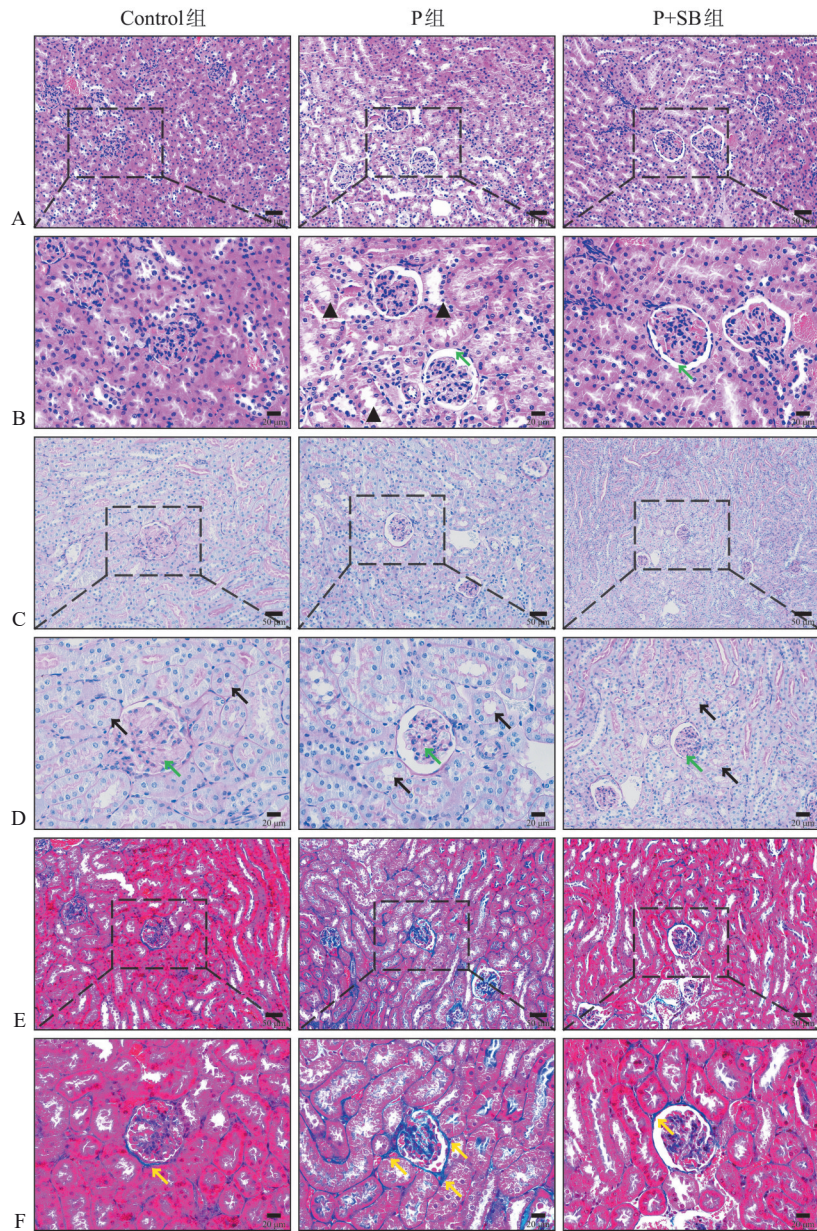
注: **示P组与Control组比较, P<0.01; [#]示P组与P+SB组比较, P<0.05。

基于以上推测, 本研究成功构建牙周炎动物模型, 观察到牙周炎能导致肾脏组织损伤, 并伴有氧化应激水平升高、ROS增多及mTOR信号通路上调。水飞蓟宾的干预可以减轻牙周炎带来的

肾脏损伤改变, 并伴有氧化应激水平降低、ROS减少及mTOR信号通路下调。尽管既往已有研究^[34]证实水飞蓟宾对非牙周炎所致的肾脏损伤具有改善作用, 但这些研究均未聚焦于牙周炎所致

的肾损伤，且未能深入阐明水飞蓟宾改善肾损伤的作用机制与氧化应激这一关键病理环节之间的联系。在此基础上，本研究的核心目标在于厘清

水飞蓟宾在改善牙周炎导致的肾损伤过程中，对氧化应激通路的具体调控作用，深入探索水飞蓟宾抗氧化的具体机制。



A: 小鼠肾脏组织HE染色 ×200; B: 小鼠肾脏组织HE染色 ×400, 绿色箭头示鲍曼囊腔, ▲示肾小管上皮细胞; C: 小鼠肾脏组织PAS染色 ×200; D: 小鼠肾脏组织PAS染色 ×400, 绿色箭头示肾小球基底膜, 黑色箭头示肾小管刷状缘; E: 小鼠肾脏组织Masson染色 ×200; F: 小鼠肾脏组织Masson染色 ×400, 黄色箭头示胶原纤维。

图 3 小鼠肾脏组织病理形态学表现

Fig 3 Shows the pathological morphological manifestations of mouse kidney tissue

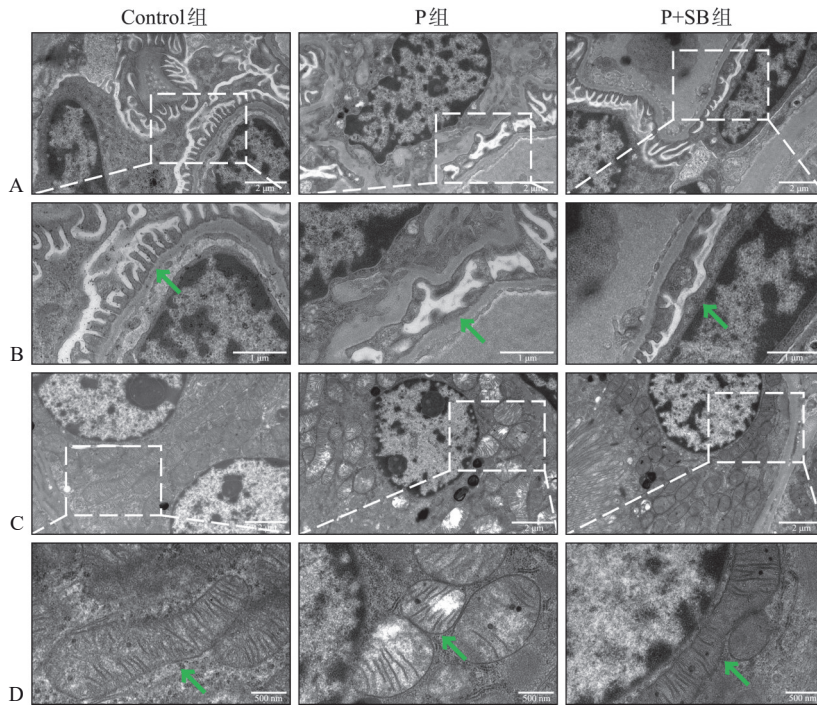
mTOR作为氧化应激的上游调节因子，与氧化应激之间存在复杂的相互作用关系，mTOR信号通路可以通过多种机制调控氧化应激，而氧化应激反过来也会作用于mTOR信号通路的活性^[21-22,24,35]。mTOR信号通路异常激活，可以增加细胞内的ROS水平，破坏细胞的氧化状态，从而引发各种细胞损伤^[21]；而调控mTOR信号通路，可

以促进抗氧化因子的表达，减轻氧化应激对细胞造成的氧化损伤^[24]。

水飞蓟宾与mTOR信号通路之间存在重要关联。水飞蓟宾可以抑制mTOR信号通路，减轻猪乳腺上皮细胞中脂多糖诱导的炎症反应^[36]；水飞蓟宾通过抑制mTOR信号通路，下调I型和III型胶原蛋白表达^[37]。这些研究^[36-37]已经证实水飞蓟宾

具有 mTOR 信号通路抑制作用,本研究在牙周炎肾损伤模型中也验证了这一调控作用,由此可以推测,抗氧化剂水飞蓟宾能够有效清除 ROS,其

内在机制可能在于抑制了氧化与抗氧化的核心枢纽——mTOR 信号通路,从而减轻肾脏组织氧化应激,减轻牙周炎导致的肾损伤。



A、B: 透射电子显微镜观察肾小管上皮细胞足突形态结构, A: ×12 000, B: ×30 000, 绿色箭头示足突; C、D: 透射电子显微镜观察肾小管上皮细胞线粒体形态结构, C: ×12 000, D: ×40 000, 绿色箭头示线粒体。

图 4 小鼠肾脏组织超微结构观察

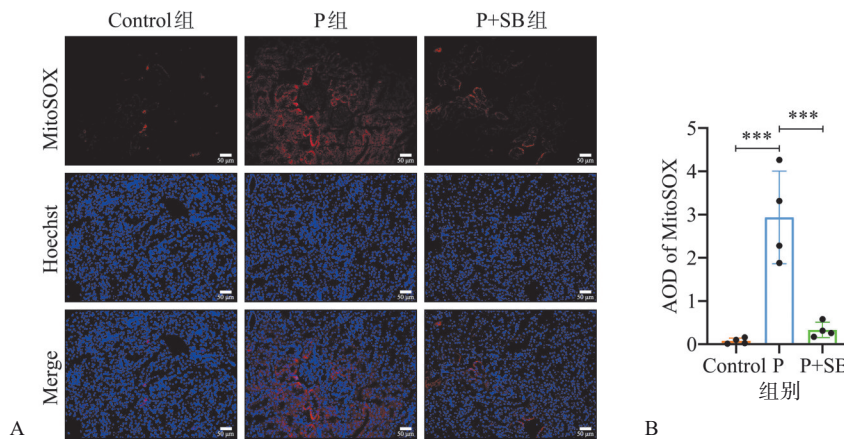
Fig 4 Observation of the ultrastructure of mouse kidney tissue

表 3 小鼠肾脏氧化应激指标

Tab 3 Index of oxidative stress in mice kidney

氧化应激指标	Control组	P组	P+SB组
GSH/ (μmol/g)	3.51±0.40	1.81±0.58***	3.21±0.63##
SOD/ (U/mgprot)	56.53±3.85	31.18±4.29***	44.20±3.85###
MDA/ (nmol/mgprot)	2.38±0.24	4.57±0.52***	2.56±0.51###

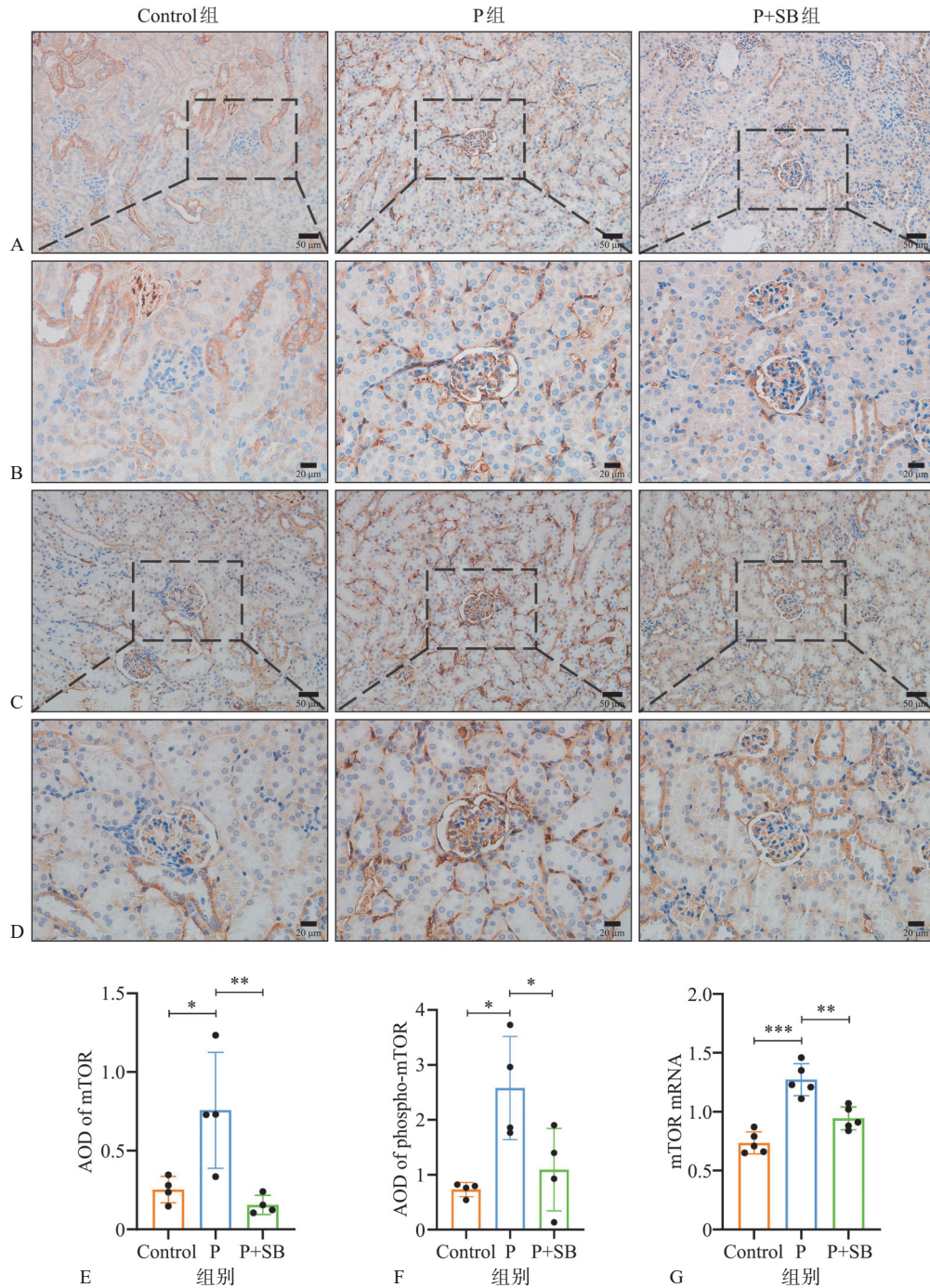
注: *示P组与Control组相比,差异有统计学意义, ***P<0.001; #示P组与P+SB组相比,差异有统计学意义, ##P<0.01, ###P<0.001。



A: MitoSOX Red染色 ×200; B: MitoSOX Red染色平均荧光强度半定量分析, ***示P<0.001。

图 5 小鼠肾脏组织 MitoSOX Red 染色

Fig 5 MitoSOX Red staining of mouse kidney tissue



A: mTOR免疫组织化学染色 × 200; B: mTOR免疫组织化学染色 × 400; C: phospho-mTOR蛋白表达的免疫组织化学染色 × 200; D: phospho-mTOR蛋白表达的免疫组织化学染色 × 400; E: mTOR蛋白表达半定量分析; F: phospho-mTOR蛋白表达半定量分析; G: qRT-PCR检测mTOR mRNA的半定量分析。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 6 小鼠肾脏组织免疫组织化学染色及蛋白表达定量分析

Fig 6 Immunohistochemical staining and quantitative analysis of protein expression in mouse kidney tissue

综上所述，氧化应激关键调节因子mTOR在实验性牙周炎引起的肾损伤中可能发挥重要作用，而水飞蓟宾可能通过抑制mTOR信号通路来减轻氧化应激，从而缓解牙周炎引起的肾脏损伤作用。由于氧化应激调控网络涉及众多分子机制，关于水飞蓟宾在牙周炎肾损伤中的具体作用靶点和调

控途径仍需要进行更深入的机制研究。

利益冲突声明：作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

[1] Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, et al. Global epi-

- demology of dental caries and severe periodontitis—a comprehensive review[J]. *J Clin Periodontol*, 2017, 44 (Suppl 18): S94-S105.
- [2] GBD 2021 Oral Disorders Collaborators. Trends in the global, regional, and national burden of oral conditions from 1990 to 2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021[J]. *Lancet*, 2025, 405 (10482): 897-910.
- [3] Rodean IP, Halațiu VB, Popa TM, et al. Association between periodontal pathogens and inflammation in patients with acute coronary syndromes[J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(9): 4360.
- [4] Slowik J, Panasiuk A, Kaczor M, et al. Oral health-related quality of life in patients with periodontitis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Oral Health*, 2025, 6: 1503829.
- [5] Wu L, Huang CM, Wang Q, et al. Burden of severe periodontitis: new insights based on a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021[J]. *BMC Oral Health*, 2025, 25(1): 861.
- [6] Gharaibeh S, Alsabbah A, Alloubani A, et al. Reciprocal interactions between periodontal disease and Alzheimer's disease: implications for mutual triggering, exacerbation, and treatment interventions—a comprehensive review of the literature[J]. *Neurol Int*, 2025, 17(6): 81.
- [7] Shaw S, Khan J. Risk of dental caries and periodontal disease among older adults and elderly persons with diabetes in India: a population-based cross-sectional study [J]. *BMC Oral Health*, 2025, 25(1): 737.
- [8] Guerrero-Sabater M, Cosín-Villanueva M, Almiñana-Pastor P, et al. Expression of miRNAs in the relationship between periodontitis and cardiovascular diseases: a systematic review[J]. *Noncoding RNA*, 2025, 11(3): 37.
- [9] Yu JP, Lyu JL, Zhu TX, et al. Oral-gut axis in inflammation: periodontitis exacerbates ulcerative colitis via microbial dysbiosis and barrier disruption[J]. *BMC Oral Health*, 2025, 25(1): 894.
- [10] Astuti L, Masulili SLC, Gunardi I, et al. Periodontal pathogens correlate with rheumatoid arthritis disease parameters: a systematic review based on clinical studies [J]. *Dent J*, 2025, 13(5): 214.
- [11] Bitonti V, Perri T, Cigni L, et al. The association between periodontal disease and polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis[J]. *Dent J*, 2025, 13(5): 188.
- [12] Wei W, Sun J, Ji ZX, et al. Gingipain and oncostatin M synergistically disrupt kidney tight junctions in periodontitis-associated acute kidney injury[J]. *J Periodontol*, 2024, 95(9): 867-879.
- [13] Lee YS, Kim AR, Jeon YE, et al. Periodontitis deteriorates renal fibrosis and macrophage infiltration in rats with chronic kidney disease[J]. *Oral Dis*, 2024, 30(3): 1497-1505.
- [14] 李琼, 马浩楠, 商雅琦, 等. 线粒体解偶联蛋白2在大鼠实验性牙周炎相关肾损伤中的作用研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2024, 42(4): 502-511.
- Li Q, Ma HN, Shang YQ, et al. The role of uncoupling protein 2 in experimental periodontitis-associated renal injury in rats[J]. *West China J Stomatol*, 2024, 42(4): 502-511.
- [15] Webster AC, Nagler EV, Morton RL, et al. Chronic kidney disease[J]. *Lancet*, 2017, 389(10075): 1238-1252.
- [16] He I, Poirier B, Jensen E, et al. Demystifying the connection between periodontal disease and chronic kidney disease—an umbrella review[J]. *J Periodontal Res*, 2023, 58(5): 874-892.
- [17] Rajaratnam H, Abdul Rahman NA, Hanafi MH, et al. Exploring the outcomes of non-surgical periodontal therapy in modulating periodontal parameters, renal function, and inflammatory biomarkers in chronic kidney disease patients with periodontitis[J]. *PeerJ*, 2025, 13: e19492.
- [18] Shang JX, Liu HF, Zheng YL, et al. Role of oxidative stress in the relationship between periodontitis and systemic diseases[J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1210449.
- [19] Liu W, Guo DY. Oxidative stress in periodontitis and the application of antioxidants in treatment: a narrative review[J]. *Front Physiol*, 2025, 16: 1485367.
- [20] 马浩楠, 于维先. 氧化应激在牙周炎影响全身疾病过程中的作用研究[J]. *现代口腔医学杂志*, 2024, 38(2): 136-139.
- Ma HN, Yu WX. Study on the role of oxidative stress in the process of periodontitis affecting systemic diseases [J]. *J Modern Stomatol*, 2024, 38(2): 136-139.
- [21] Srivastava SP, Kopasz-Gemmen O, Thurman A, et al. The molecular determinants regulating redox signaling in diabetic endothelial cells[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1563047.
- [22] Cabrera-Serrano AJ, Sánchez-Maldonado JM, González-Olmedo C, et al. Crosstalk between autophagy and oxi-

- ductive stress in hematological malignancies: mechanisms, implications, and therapeutic potential[J]. *Antioxidants*, 2025, 14(3): 264.
- [23] Su JL, Fan XM, Zou YY, et al. Inhibition of aberrant activated fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis by leishmania peptide via the regulation of fatty acid synthesis metabolism[J]. *Adv Sci*, 2025, 12(19): e2409154.
- [24] Shi LY, Wang ZS, Xiao JX, et al. Folic acid alleviates hydrogen peroxide-induced oxidative stress in bovine placental trophoblast cells by regulating the NRF2/mTOR signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(6): 2818.
- [25] Pereira-Filho JL, Mendes AGG, Campos CDL, et al. A comprehensive review on the antibacterial, antifungal, antiviral, and antiparasitic potential of silybin[J]. *Antibiotics*, 2024, 13(11): 1091.
- [26] Foroughi M, Torabinejad M, Angelov N, et al. Bridging oral and systemic health: Exploring pathogenesis, biomarkers, and diagnostic innovations in periodontal disease[J]. *Infection*, 2025, 53(6): 2277-2302.
- [27] Yekani M, Dastgir M, Fattahi S, et al. Microbiological and molecular aspects of periodontitis pathogenesis: an infection-induced inflammatory condition[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2025, 15: 1533658.
- [28] Chen XR, Han R, Liu XW, et al. Association between composite dietary antioxidant index and the prevalence of periodontitis: results from NHANES 2009–2014[J]. *BMC Oral Health*, 2025, 25(1): 779.
- [29] Conte R, Valentino A, Sepe F, et al. Resveratrol-loaded solid lipid nanoparticles reinforced hyaluronic hydrogel: multitarget strategy for the treatment of diabetes-related periodontitis[J]. *Biomedicines*, 2025, 13(5): 1059.
- [30] Zhu G, Chen L, Liu Q. The relationship between periodontitis and proteinuria in chronic kidney disease: a review[J]. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2025, 30(6): e839-e848.
- [31] Fan TT, Guo KL, Cao FD, et al. Study on the effect of periodontitis on renal tissue in atherosclerotic mice[J]. *J Periodontal Res*, 2023, 58(3): 655-667.
- [32] 丁旭, 李鑫, 刘歆婵, 等. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白在牙周炎大鼠相关肾损伤中的作用[J]. *口腔医学*, 2022, 42(5): 420-424.
- Ding X, Li X, Liu XC, et al. Role of mammalian target of rapamycin in renal injury associated with periodontitis in rats[J]. *Stomatology*, 2022, 42(5): 420-424.
- [33] Ganimusa I, Chew E, Lu EMC. Vitamin D deficiency, chronic kidney disease and periodontitis[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2024, 60(3): 420.
- [34] Deng YJ, Zeng LY, Liu HX, et al. Silibinin attenuates ferroptosis in acute kidney injury by targeting FTH1[J]. *Redox Biol*, 2024, 77: 103360.
- [35] Luk HY, Jiwan NC, Appell CR, et al. Passive dehydration increases oxidative stress and mTOR signalling pathway activation in young men following resistance exercise[J]. *J Physiol*, 2025, 603(12): 3551-3570.
- [36] Xu SY, Jiang XJ, Liu YL, et al. Silibinin alleviates lipopolysaccharide induced inflammation in porcine mammary epithelial cells via mTOR/NF- κ B signaling pathway[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2023, 67(14): e2200715.
- [37] Choi S, Ham S, Lee YI, et al. Silibinin downregulates types I and III collagen expression via suppression of the mTOR signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(18): 14386.

(本文编辑 吴爱华)