

- talk between stanniocalcins[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2005, 83(11):953-956.
- [15] Zlot C, Ingle G, Hongo J, et al. Stanniocalcin 1 is an autocrine modulator of endothelial angiogenic responses to hepatocyte growth factor [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(48):47654-47659.
- [16] Law AY, Wong CK. Stanniocalcin-2 promotes epithelial-mesenchymal transition and invasiveness in hypoxic human ovarian cancer cells [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(20):3425-3434.
- [17] Volland S, Kugler W, Schweigerer L, et al. Stanniocalcin 2 promotes invasion and is associated with metastatic stages in neuroblastoma [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(9):2049-2057.
- [18] Lai KP, Law AY, Yeung HY, et al. Induction of stanniocalcin-1 expression in apoptotic human nasopharyngeal cancer cells by p53 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 356(4):968-975.
- [19] Johnstone RW. Histone deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1(4):287-299.
- [20] Law AY, Lai KP, Lui WC, et al. Histone deacetylase inhibitor induced cellular apoptosis involves stanniocalcin-1 activation experimental [J]. *Exp cell Res*, 2008, 314(16):2975-2984.
- [21] Block GJ, Ohkouchi S, Fung F, et al. Multipotent stromal cells are activated to reduce apoptosis in part by upregulation and secretion of stanniocalcin-1 [J]. *Stem cells*, 2009, 27(2):670-681.
- [22] Tamura K, Furihata M, Chung SY, et al. Stanniocalcin 2 overexpression in castration resistant prostate cancer and aggressive prostate cancer [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(5):914-919.
- [23] Kanellis J, Bick R, Garcia G, et al. Stanniocalcin-1, an inhibitor of macrophage chemotaxis and chemokinesis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286(2):356-362.

(收稿日期:2011-03-09 修回日期:2011-07-12)

· 综 述 ·

## 体外生产血小板的研究进展

陆 华 综述, 赵树铭 审校

(第三军医大学西南医院输血科, 重庆 400038)

**关键词:** 血小板生成; 造血干细胞; 细胞因子类; 细胞培养技术

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.36.040

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)36-3727-04

血小板是骨髓巨核细胞系统分化的终末细胞, 在止、凝血中发挥着重要的作用。血小板减少或血小板功能障碍会引起不同程度的出血, 常常影响临床治疗效果, 甚至导致患者死亡。对血小板减少或血小板功能障碍的有效治疗措施是输注供者血小板, 目前还没有满意的血小板代用品。血小板的来源较其他血液细胞和成分相对困难, 且不易保存, 易主动活化, 导致临床上血小板长期以来供不应求。国内外不少学者在积极探索如何通过造血干细胞体外培养生产血小板, 以从根本上解决临床血小板供不应求的问题。现将这方面的研究综述如下。

### 1 造血干细胞的来源

传统的用于体外培养的造血干细胞包括骨髓造血干细胞、脐血造血干细胞、外周血造血干细胞等。近年来, 随着胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC)、诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPS 细胞) 的发现和逐步深入的研究, 已有利用这两种细胞作为种子细胞, 诱导分化生成造血细胞甚至产出血小板的文献报道<sup>[1-5]</sup>。

利用骨髓造血干细胞、脐血造血干细胞、外周血造血干细胞诱导分化成巨核系细胞, 并产出血小板的文献报道比较多<sup>[6-19]</sup>。在这 3 种来源的造血干细胞中, 近几年的研究成果认为脐血造血干细胞更具有优势<sup>[9,11]</sup>, 除了取材方便外, 脐血造血干细胞还具有部分 ESC 的特性, 较骨髓和外周血造血干细胞更为原始, 在体外扩增的效率更高, 诱导分化后获得的巨核祖细胞以及后续的各阶段巨核细胞较多<sup>[20-23]</sup>, 但脐血干细胞在培养过程中, 产生的巨核细胞成熟较骨髓和外周血干

细胞来源的巨核细胞更为困难, 主要表现为成熟巨核细胞染色体倍数不够, 导致单个细胞产生的血小板数相对较少<sup>[20,22-23]</sup>。

2001 年 Kaufman 等<sup>[24]</sup>报道人类 ESC (hESC) 与小鼠骨髓基质细胞 S17 或卵黄囊内皮细胞 C166 共培养 17 d, 不需任何生长因子, 可自发分化形成 CD34<sup>+</sup> 造血前体细胞, 诱导效率为 1%~2%。此后, 几个研究小组成功在体外诱导人或鼠 ESC 产出血小板<sup>[25-27]</sup>。2007 年 11 月日本的一个研究小组成功获得 iPS 细胞<sup>[28]</sup>, 2008 年该研究组成功地将 Oct3/4、Klf4、Sox2 和 c2Myc 基因植入人表皮成纤维细胞, 生成 iPS 细胞, 然后将 iPS 细胞分化成了血小板的前身巨核细胞, 并进一步分化成血小板<sup>[27]</sup>。这两种细胞为体外生产血小板提供了新的种子细胞来源, 其最大的优势在于来源方便, 尤其是 iPS 细胞, 如不考虑 HLA 配型的问题, 几乎可以按需获得。虽然 ESC、iPS 细胞让造血细胞的体外扩增、诱导分化的种子细胞在数量上的问题得到了一定程度的解决, 却涉及到伦理方面的一些问题。而且, 在转化成造血干细胞的过程中还有不少调控环节尚未完全明了, 诱导率还需要进一步提升。另外, 这两种干细胞获得的血小板的生物学特性如何、能否满足临床需求也还没有完全探明。

2009 年, Matsubara 等<sup>[29]</sup>报道不需基因植入制成 iPS 细胞, 而是直接将人皮下脂肪组织中的成脂肪细胞在“MA”培养体系中培养为成熟脂肪细胞, 然后将这些成熟脂肪细胞在含有促血小板生成素 (TPO) 的液体培养体系中分化为巨核系细胞, 进而获取血小板。该方法的产量约为 10<sup>7</sup> 个成脂肪细胞, 可产

出  $15 \times 10^4$  个血小板,与通过骨髓造血干细胞和 ESC 体外培养获得血小板的产量大致相仿,在产出的  $CD41^+$ 、且形态与血小板相似的细胞中,30% 被凝血酶激活,35% 能与纤维蛋白原结合。

## 2 细胞因子

在血小板生成过程中,有许多细胞因子参与其中的调控,这些细胞因子可分为特异性和非特异性两类,如干细胞刺激因子(SCF)、白细胞介素-3(IL-3)、FLT-3 ligand(FL)等,对造血干细胞和各系(包括巨核系统)早期祖细胞的扩增都有促进作用,但到了后期的定向分化阶段就没有作用了。目前惟一已知对血小板生成全程都有调控作用的细胞因子是 TPO,从早期的造血干/祖细胞到相对晚期的巨核系细胞,既有促进增殖的作用,又有诱导分化、促进成熟的作用。自从 TPO 被发现以来一直是血小板生成调控研究的重点之一,其染色体定位、基因表达、cDNA 克隆、蛋白结构以及蛋白效应的分子生物学机制等情况,已经报道很多。TPO 虽然目前被认为是在血小板生成过程中参与调控区间最长的细胞因子,但其对于血小板生成是否必须,不少研究结果存在争议。Bunting 等<sup>[30]</sup>研究发现 TPO 基因敲除小鼠体内仍能产生正常的巨核细胞和血小板,这说明还有其他的细胞因子在血小板生成过程中起到重要作用,并且在 TPO 缺失的条件下对巨核细胞发生和血小板生成提供足够的支持作用。Cheng 等<sup>[31]</sup>在体外用人骨髓基质细胞支持  $CD34^+$  造血干细胞分化发育为巨核细胞以及血小板前体细胞的形成,这个研究体系用的是无血清培养基,培养过程中没有添加任何细胞因子,骨髓基质细胞能表达 TPO、IL-6、IL-11、LIF 以及 SCF 的转录本,但在培养过程中用 ELISA 方法却只能在培养体系中检测到 IL-6、IL-11 以及 LIF 的蛋白水平表达,其中 IL-11 一直被稳定地检测到,虽然 ELISA 方法的敏感性较低,但至少也说明 TPO 在体系中的浓度是非常低的,作为一个主要的调控因子,这么低的浓度显然是不合常理的。Avecilla 等<sup>[32]</sup>研究表明,体内在没有 TPO 或靶细胞不表达 TPO 受体(c-Mpl)的情况下,基质趋化因子-1(stromal-derived factor-1 SDF-1)和成纤维细胞生长因子-4(fibroblast growth factor 4 FGF-4)能够促进血栓的形成,并且诱导巨核细胞向骨髓血管迁徙,进而促进其成熟并释放血小板。这些都提示,在巨核细胞成熟以及血小板产生的过程中,还有目前未知的因素在发挥作用。

除了 TPO 外,有研究证明 IL-6、IL-11 在血小板生成过程中也发挥着重要作用。二者对 TPO 有显著的协同促进作用,Lucie 等<sup>[33]</sup>实验表明在 IL-6 和 IL-11 的协同下,血小板产量较只用 TPO 增加 6 倍左右。早在 1997 年 11 月 FDA 就批准了 Genetics Institute 公司的 IL-11 上市,用于放、化疗后血小板减少患者的治疗。

## 3 三维培养体系

目前造血干细胞的体外培养生产血小板大多还是用二维培养体系,所产出的血小板数量少、活性低。推测主要原因可能是因为:(1)在二维培养体系中,细胞之间以及细胞与基质之间的相互作用不够充分,影响营养的摄取、信号的传导等;(2)血小板生成的最后阶段,成熟的巨核细胞需要将细胞质形成“突起”,伸出到骨髓血管内皮细胞间的缝隙外,在液体剪切力的作用下生成血小板,而二维培养体系无法提供这样的环境。

美国俄亥俄州立大学的研究小组从 2000 年初就开始致力于研发三维细胞培养支架,体外模拟骨髓微环境,并成功实现了造血干细胞在体外三维体系中的培养、扩增。2008 年 Sul-

lenbarger 等<sup>[19]</sup>报道将聚酯纤维、水凝胶构建三维支架,结合灌注式生物反应器,体外诱导脐血  $CD34^+$  细胞长时间持续产出血小板,持续时间可达 40 d 以上,产量较二维培养体系显著增高。但他们发现产出的血小板中相当一部分在没有激活剂的情况下会自动激活,部分血小板形态也不正常。尽管如此,该研究使得体外大规模生产血小板越来越成为可能。

## 4 还需要解决的主要问题

近年来,尽管体外生成血小板有了不小的进步,但离临床应用还有许多问题尚待解决:(1)血小板生成调控需要更加深入的研究。除了 TPO 外,还有哪些细胞因子在血小板的生成中发挥着等同甚至更为重要的作用,这些因子之间、因子与细胞之间、因子与其他调控因素之间的相互作用机制又如何,这对于体外诱导血小板生成,需要构建怎样的培养体系具有非常重要的指导意义。目前研究相对较多的是正调控因素,负调控因素则相对较少,但若血小板的体外生产形成体系后,产量的调控难免涉及负调控,尤其是可逆性负调控。另外,在血小板生成的过程中,物理环境、神经体液等因素又发挥怎样的作用,他们与血小板的活性、功能又有着什么样的关系,这些也都需要进一步探索。(2)体外诱导血小板生成的产量离临床需求还相距甚远。血小板生成过程中任何一个环节,干、祖细胞的扩增,后续细胞的诱导,产出血小板的收集等都会影响其产量。目前体外诱导生成血小板针对以上部分环节或多或少地都有相应的应对策略,但就培养过程中如何解决巨核细胞多倍体问题一直没有很好的办法。一般认为巨核细胞染色体倍数越高,产出血小板的能力越强,正常体内成熟巨核细胞最高能达到 64 倍体<sup>[20]</sup>,而目前体外培养的巨核细胞通常最多只能达到 2 倍体,现在的研究尚未完全探明造成这种现象的原因。此外,血小板生产的生物反应器也需要进一步研制开发,现有文献报道的都仅限于小型的模型,不能满足规模化生产的要求,且生产过程中各个环节如何合理控制、如何实现环境的自稳、如何在体外最大限度地模拟体内骨髓微环境、如何实现标准化生产等都还有很长的路要走。(3)血小板产品修饰的问题。目前有学者尝试用大分子物质封闭血小板表面抗原或减少血小板表面某些抗原的表达,进而减少相关抗体的产生,但抗原封闭后的血小板在体内的功能如何尚未得知<sup>[34-36]</sup>。体外生产血小板的优势之一就是可控性,如果从基因水平对产出的血小板进行抗原修饰,在不影响其生物学活性的前提下,降低其免疫原型,减少甚至避免血小板相关抗体的产生,就能大大降低临床血小板输注无效的比例。另外,如何使血小板在不丧失活性的情况下增强环境的适应性,更加便于保存,也有很多值得深入研究的课题。

虽然,体外诱导干细胞规模化生产血小板,离满足临床需求还有不小差距,但这无疑为解决临床血小板的紧缺提供了一个可供选择的途径。相信随着医学界、生物工程界的不懈努力,体外生产能用于临床的血小板的目标最终一定能实现。

## 参考文献:

- [1] Fujimoto TT, Kohata S, Suzuki H, et al. Production of functional platelets by differentiated embryonic stem (ES) cells in vitro[J]. Blood, 2003, 102(12): 4044-4051.
- [2] Takayama N, Nishikii H, Usui J, et al. Generation of functional platelets from human embryonic stem cells in vitro via ES-sacs, VEGF-promoted structures that concentrate hematopoietic progenitors[J]. Blood, 2008, 111(11): 5298-

5306.

- [3] Nishikii H, Eto K, Tamura N, et al. Metalloproteinase regulation improves in vitro generation of efficacious platelets from mouse embryonic stem cells[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(8):1917-1927.
- [4] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. *Cell*, 2006, 126(4):663-676.
- [5] Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells[J]. *Science*, 2007, 318(5858):1917-1920.
- [6] Bertolini F, Battaglia M, Pedrazzoli P, et al. Megakaryocytic progenitors can be generated ex vivo and safely administered to autologous peripheral blood progenitor cell transplant recipients[J]. *Blood*, 1997, 89(8):2679-2688.
- [7] Mazur EM, Basilico D, Newton JL, et al. Isolation of large numbers of enriched human megakaryocytes from liquid cultures of normal peripheral blood progenitor cells[J]. *Blood*, 1990, 76(1):1771-1782.
- [8] Guerriero R, Testa U, Gabbianelli M, et al. Unilineage megakaryocytic proliferation and differentiation of purified hematopoietic progenitors in serum-free liquid culture[J]. *Blood*, 1995, 86(10):3725-3736.
- [9] Tao H, Gaudry L, Rice A, et al. Cord blood is better than bone marrow for generating megakaryocytic progenitor cells[J]. *Exp Hematol*, 1999, 27(2):293-301.
- [10] Shim MH, Hoover A, Blake N, et al. Gene expression profile of primary human CD34+CD38lo cells differentiating along the megakaryocyte lineage[J]. *Exp Hematol*, 2004, 32(7):638-648.
- [11] De Bruyn C, Delforge A, Martiat P, et al. Ex vivo expansion of megakaryocyte progenitor cells; Cord blood versus mobilized peripheral blood[J]. *Stem Cells Dev*, 2005, 14(4):415-424.
- [12] Bruno S, Gunetti M, Gammaitoni L, et al. In vitro and in vivo megakaryocyte differentiation of fresh and ex-vivo expanded cord blood cells; Rapid and transient megakaryocyte reconstitution[J]. *Haematologica*, 2003, 88(4):379-387.
- [13] Choi ES, Nichol JL, Hokom MM, et al. Platelets generated in vitro from proplatelet-displaying human megakaryocytes are functional[J]. *Blood*, 1995, 85(2):402-413.
- [14] Norol F, Vitrat N, Cramer E, et al. Effects of cytokines on platelet production from blood and marrow CD34+ cells[J]. *Blood*, 1998, 91(3):830-843.
- [15] Sun L, Tan P, Yap C, et al. In vitro biological characteristics of human cord blood-derived megakaryocytes[J]. *Ann Acad Med Singapore*, 2004, 33(5):570-575.
- [16] Proulx C, Boyer L, Hurnanen DR, et al. Preferential ex vivo expansion of megakaryocytes from human cord blood CD34+-enriched cells in the presence of thrombopoietin and limiting amounts of stem cell factor and Flt-3 ligand[J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2003, 12(2):179-188.
- [17] Gandhi MJ, Drachman JG, Reems JA, et al. A novel strategy for generating platelet-like fragments from megakaryocytic cell lines and human progenitor cells[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2005, 35(1):70-73.
- [18] Matsunaga T, Tanaka I, Kobune M, et al. Ex vivo large-scale generation of human platelets from cord blood CD34+ cells[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(12):2877-2887.
- [19] Sullenbarger B, Bahng JH, Gruner R, et al. Prolonged continuous in vitro human platelet production using threedimensional scaffolds[J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(1):101-110.
- [20] Bornstein R, Garcia-Vela J, Gilsanz F, et al. Cord blood megakaryocytes do not complete maturation, as indicated by impaired establishment of endomitosis and low expression of G<sub>1</sub>/S cyclins upon thrombopoietin-induced differentiation[J]. *Br J Haematol*, 2001, 114(2):458-465.
- [21] van den Oudenrijn S, von dem Borne AE, de Haas M. Differences in megakaryocyte expansion potential between CD34+ stem cells derived from cord blood, peripheral blood, and bone marrow from adults and children[J]. *Exp Hematol*, 2002, 8(9):1054-1061.
- [22] Mattia G, Vulcano F, Milazzo L, et al. Different ploidy levels of megakaryocytes generated from peripheral or cord blood CD34+ cells are correlated with different levels of platelet release[J]. *Blood*, 2002, 99(3):888-897.
- [23] Miyazaki R, Ogata H, Iguchi T, et al. Comparative analyses of megakaryocytes derived from cord blood and bone marrow[J]. *Br J Haematol*, 2000, 108(3):602-609.
- [24] Kaufman DS, Hanson ET, Lewis RL, et al. Hematopoietic colony-forming cells derived from human embryonic stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(19):10716-10721.
- [25] Fujimoto TT, Kohata S, Suzuki H. Production of functional platelets by differentiated embryonic stem (ES) cells in vitro[J]. *Blood*, 2003, 102(12):4044-4051.
- [26] Nishikii H, Eto K, Tamura N, et al. Metalloproteinase regulation improves in vitro generation of efficacious platelets from mouse embryonic stem cells[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(8):1917-1927.
- [27] Takayama N, Nishikii H, Usui J, et al. Generation of functional platelets from human embryonic stem cells in vitro via ES-sacs, VEGF-promoted structures that concentrate hematopoietic progenitors[J]. *Blood*, 2008, 111(11):5298-5306.
- [28] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors[J]. *Cell*, 2007, 131(5):861-872.
- [29] Matsubara Y, Saito E, Suzuki H, et al. Generation of megakaryocytes and platelets from human subcutaneous adipose tissues[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378(4):716-720.
- [30] Bunting S, Widmer R, Lipari T. Normal platelets and megakaryocytes are produced in vivo in the absence of thrombopoietin[J]. *Blood*, 1997, 90(9):3423-3429.
- [31] Cheng L, Qasba P, Vanguri P, et al. Human mesenchymal stem cells support megakaryocyte and pro-platelet formation from CD34+ hematopoietic progenitor cells[J]. *J*

Cell Physiol, 2000, 184(1): 58-69.

- [32] Avecilla ST, Hattori K, Heissig B, et al. Chemokine mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis[J]. Nat Med, 2004, 10(1): 64-71.
- [33] Lucie B, Amélie R, Chantal P, et al. Increased production of megakaryocytes near purity from cord CD34+ cells using a short two-phase culture system[J]. Journal of Immunological Methods, 2008, 332(1/2): 82-91.
- [34] Figueiredo C, Goudeva L, Horn PA, et al. Generation of HLA-deficient platelets from hematopoietic progenitor

cells[J]. Transfusion, 2010, 50(8): 1690-1701.

- [35] 张印则, 熊文, 李桢, 等. 不同相对分子质量 mPEG-SPA 修饰血小板 CD42a 效果差异分析[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(3): 392-393.
- [36] Ambruso DR, Turman G, Marschner S, et al. Lack of antibody formation to platelet neoantigens after transfusion of riboflavin and ultraviolet light-treated platelet concentrates[J]. Transfusion, 2009, 49(12): 2631-2636.

(收稿日期: 2011-03-09 修回日期: 2011-07-12)

· 综 述 ·

## 中医药防治牙周病的研究进展

李春光 综述, 钟晓波 审校

(重庆医科大学附属口腔医院 400015)

**关键词:** 医学, 中国传统; 牙周疾病; 牙菌斑; 内毒素类

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.36.041

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)36-3730-03

牙周病是古老而普遍的疾病, 是口腔最常见的疾病之一, 在世界范围内均有较高的患病率, 也是中国成年人丧失牙齿的首位原因。中医中药作为中国的传统国粹, 在治疗牙周病方面具有独特的优势。现将中医药在牙周病防治方面的研究现状综述如下。

### 1 中医药治疗牙周病的中医理论

牙周病在中医学中属“牙宣”范畴, 系指齿龈肿痛, 龈肉日渐萎缩, 终至牙根宣露, 齿缝出血或流脓的病证。关于本病的病因, 《圣济总录》曾记载: “气血不足, 措理无方; 风邪袭虚, 客于齿间, 则令肌寒血弱, 龈肉缩落, 渐至宣露, 永不附着齿根也”。《仁斋直指方》认为: “齿者骨之所终, 髓之所养, 肾实主之; 故肾衰则齿豁, 精固则齿坚, 虚热则齿动”。《血证论·齿衄》指出: “牙床尤为胃经络所绕, 故凡衄血, 皆是胃火上炎, 血随气动, 治法以清理胃火为主”。因此气血不足、肾气亏虚、胃火上炎是牙周病发病的主要因素。

中医治疗牙周病有其自身的特点: (1) 重视整体, 扶正固本。中医治疗牙周病过程中注重局部与全身的联系, 重视发挥人体的抗病潜能。(2) 明确虚实, 辨证论治。牙周病在临床上又有虚、实之分。实证主要是胃火上炎, 多由过食膏粱肥甘、嗜酒食辛致郁久化火或外感风寒热邪, 在表不解, 化热传里所致; 虚证主要包括肾气亏虚、气血不足两种证型, 肾气亏虚除先天因素外, 久病累肾, 劳倦过度, 精亏髓少, 阴虚火旺, 虚火上炎所致; 而气血不足多因素体虚弱, 或久病耗伤, 或其他疾病久治不愈进一步导致。故治疗时必须仔细分辨清楚, 分别处理。(3) 重视配伍, 提高疗效。牙周病的病因与胃火炽盛及肾气亏虚密切相关, 临床上若仅采用苦寒泻火、滋阴补肾药物治疗则疗效不佳, 原因在于阳明、少阴二经之火激发、辛散不足, 致火邪清除不彻底, 因而需在苦寒泻火、存阴药物中加入辛温散火之品以反佐, 从而发散火邪, 达到标本兼治, 以提高疗效。

### 2 中医药在牙周病防治中的研究现状

**2.1 中医药对牙周致病菌的抗菌作用** 菌斑微生物是牙周病的始动因子, 因此抑制和杀灭致病菌对防治牙周病有着重要的作用<sup>[1]</sup>。采用天然植物提取物研制一种新型有效的牙周抗菌

制剂防治牙周病是发掘传统医学的重要课题之一。传统中药大黄具有广谱抗菌作用, 其抗菌作用的有效成分为蒽醌衍生物, 这种蒽醌衍生物对临床常见的厌氧菌有很强的抑菌作用, 特别是对脆弱类和产黑色素类杆菌。在牙周病防治方面, 有研究表明大黄蒽醌衍生物对牙龈卟啉单胞菌和中间普氏菌的抗菌作用最强, 其机制可能是通过抑制细胞核酸的生物合成和呼吸过程而具有抗菌作用<sup>[2]</sup>。黄芩具有清热燥湿、泻火解毒之功效, 现代药理学研究表明黄芩具有抗病原微生物、病毒、真菌等作用, 在体外近似厌氧、微碱性环境中黄芩不仅能有效抑制牙周可疑致病菌的生长, 还能抑制牙龈卟啉单胞菌的形态及其内毒素(LPS)含量, 从而可以抑制牙周病原菌在菌斑内的定植, 在始动因子阶段阻挡牙周病的发生<sup>[3]</sup>。桂皮醛是肉桂挥发油的主要成分, 具有解热镇痛, 消炎, 抗厌氧菌、需氧菌、真菌, 降低内毒素等作用, 符合牙周病局部用药的药物性能。杨霞等<sup>[4]</sup>用琼脂稀释法药敏试验测定中药桂皮醛对牙周主要致病菌的抑菌作用发现, 桂皮醛与细菌作用后, 细菌结构被破坏, 细菌的DNA、RNA、蛋白质、细胞壁及细胞膜的生物合成均受抑制, 从而达到抑菌的作用, 可用于抑制和杀灭牙周致病菌。五倍子药用历史悠久, 具有抗菌、解毒、收敛等作用, 有研究证实五倍子在体外近似厌氧、微碱性环境中对牙龈卟啉单胞菌、中间普氏菌、具核梭杆菌、伴放线杆菌等牙周主要致病菌有明显的抑制作用, 且不对牙周有益菌——血链球菌产生明显抑制, 有利于保持牙周微生态平衡<sup>[5]</sup>。

**2.2 中医药对牙周组织的抗炎作用** 牙周病是一种炎症性疾病, 细菌激发的宿主炎症免疫反应是造成牙周组织破坏的重要原因, 因此中医药的抗炎作用在牙周病的防治过程中占有重要地位。LPS是革兰阴性厌氧菌所独有的一种致病物质, 是牙周炎症的主要病因之一。LPS对牙周膜细胞(periodontal ligament cells, PDL)有明显的毒副作用, 并可导致牙槽骨的吸收和牙周结缔组织的破坏<sup>[6]</sup>。近年来, 有研究表明大黄素可阻断LPS与细胞内膜性结构的结合, 抑制LPS本身或LPS诱发的促炎性细胞因子[前列腺素 F2(PGF2)、白细胞介素(IL)-1及肿瘤坏死因子-α(TNFα)等]对成纤维细胞或基质胶原的破坏, 抑