

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.21.004
文章编号: 1005-8982 (2025) 21-0022-08

实验研究·论著

低氧诱导因子-1 α 对牙周炎氧化应激与铁死亡影响的初步研究*

王彩雯¹, 罗晓洁², 范丽君², 张艳君², 陈晓涛², 是文辉³

(1.石河子大学 口腔医学系,新疆维吾尔自治区 石河子 832000; 2.新疆维吾尔自治区人民医院 口腔科,新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐 830000; 3.新疆特殊环境医学重点实验室,新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐 830000)

摘要: **目的** 探讨低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 在牙周组织中的表达及对氧化应激与铁死亡的影响。**方法** 将40只6~8周龄SD雄性大鼠分为常氧对照组(A组),常氧牙周炎组(B组),低氧对照组(C组),低氧牙周炎组(D组),每组10只,分别复制牙周炎模型和低氧模型。模型复制1、3、6周时取牙龈组织,采用苏木精-伊红(HE)染色检测软组织炎症状态,采用免疫组织化学染色检测HIF-1 α 、铁重链蛋白1(FTH1)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX4)蛋白阳性表达,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清HIF-1 α 、谷胱甘肽(GSH)及活性氧(ROS)表达。**结果** HE染色结果显示:与A组比较,B组炎症随时间延长逐渐加重,C组与A组相似,D组前、中期炎症细胞浸润明显,后期炎症减轻。免疫组织化学染色结果显示:与A组比较,B、C、D组HIF-1 α 、FTH1表达均升高($P < 0.05$),D组前、中期HIF-1 α 、FTH1表达高于B组($P < 0.05$),后期GPX4表达高于B组($P < 0.05$)。ELISA结果显示,D组前期HIF-1 α 、ROS表达升高($P < 0.05$),中期C组和D组GSH表达高于B组($P < 0.05$),后期C组和D组ROS表达低于A组和B组($P < 0.05$)。**结论** 低氧环境激活的HIF-1 α 与牙周组织炎症的发生、发展相关,且HIF-1 α 可能通过影响ROS生成与铁代谢参与牙周组织氧化应激与铁死亡。

关键词: 牙周炎; 低氧诱导因子-1 α ; 氧化应激; 活性氧; 铁死亡; 低氧

中图分类号: R781.42

文献标识码: A

A preliminary investigation into the role of hypoxia-inducible factor-1 α in oxidative stress and ferroptosis associated with periodontitis*

Wang Cai-wen¹, Luo Xiao-jie², Fan Li-jun², Zhang Yan-jun², Chen Xiao-tao², Shi Wen-hui³

(1. Department of Stomatology, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang Uygur Autonomous Region 832000, China; 2. Department of Stomatology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region 830000, China; 3. Key Laboratory of Special Environmental Medicine of Xinjiang, Urumqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region 830000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression level of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in periodontal tissues and its effects on oxidative stress and ferroptosis, while exploring their interrelationships. **Methods** Forty 6-8-week-old male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups: normoxia control (Group A), normoxia periodontitis (Group B), hypoxia control (Group C), and hypoxia periodontitis (Group D). Periodontitis and hypoxia models were established accordingly. At 1, 3, and 6 weeks post-modeling, gingival

收稿日期: 2025-04-05

* 基金项目: 国家自然科学基金地区项目(No:82260195);新疆维吾尔自治区自然科学基金(No:2021D01C159);天山英才医药卫生高层次人才培养项目(No:TSYC202301A016)

[通信作者] 陈晓涛, E-mail: xiaotaochen@163.com; Tel: 15999112966

tissues were collected for hematoxylin-eosin (HE) staining to evaluate inflammatory status. Immunohistochemistry (IHC) was performed to detect protein expression levels of HIF-1 α , ferritin heavy chain 1 (FTH1), and glutathione peroxidase 4 (GPX4). Serum levels of reactive oxygen species (ROS), GPX4, and HIF-1 α were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** HE staining: Compared with Group A, Group B showed progressively aggravated inflammation, while Group D exhibited significant inflammatory cell infiltration during early and middle stages with attenuated inflammation at the later stage. IHC staining: HIF-1 α and FTH1 expression levels were significantly elevated in Groups B, C and D compared with Group A ($P < 0.05$). During early and middle stages, Group D demonstrated higher HIF-1 α and FTH1 expression than Group B, while at the later stage Group D showed increased GPX4 expression compared to Group B. ELISA: Group D displayed significantly elevated HIF-1 α and ROS levels at early stage ($P < 0.05$). During middle stage, the hypoxia groups exhibited higher GSH expression than Group B ($P < 0.05$), while at the later stage the Group C and Group D showed lower ROS levels than Group A and Group B ($P < 0.05$). **Conclusion** The HIF-1 α activated under hypoxic conditions, is associated with the initiation and progression of periodontal inflammation. Furthermore, HIF-1 α may contribute to oxidative stress and ferroptosis in periodontal tissues by regulating reactive oxygen species production and iron metabolism.

Keywords: periodontitis; hypoxia-inducible factor-1 α ; oxidative stress; reactive oxygen species; ferroptosis; hypoxia

牙周炎是一种常见的慢性炎症性疾病,可通过破坏牙周组织导致牙齿松动脱落及全身炎症^[1]。我国成年人的牙周健康率仅为 9.1%^[2]。牙周炎的致病机制极其复杂,在诸多发病机制中,氧化应激的直接或间接参与是导致牙周组织破坏的关键因素^[3]。牙周炎发生时,病原体刺激中性粒细胞等炎症细胞过度产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[4],机体内抗氧化防御系统失衡,发生氧化应激^[5],机体代谢功能全面受损,包括脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)损伤、蛋白质氧化和脂质过氧化损伤^[6]。铁死亡是一种铁依赖性的 ROS 大量积累和脂质过氧化反应触发的质膜破裂的程序性细胞死亡方式^[7],其调控机制主要涉及铁代谢、脂质代谢及谷胱甘肽(Glutathione, GSH)的合成与代谢^[8-9]。牙周炎样本中铁死亡调控基因主要富集在氧化应激、铁死亡和免疫应答通路,提示铁死亡在牙周炎中的作用。

低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)是一种调节氧稳态的核心转录因子,在常氧下容易被降解,在低氧下与缺氧反应元件结合可稳定表达并积累,可参与血管生成、细胞增殖、凋亡及存活等生理过程,以应对缺氧^[10]。HIF-1 α 可通过转录激活和基因表达调控介导氧化应激的适应性反应,参与多种氧化应激相关疾病。由于 HIF-1 α 亚基具有依赖于氧的翻译后调控功能,其在低氧条件下保护缺血性疾病中的作用已被广

泛研究。有证据表明,HIF-1 α 可以通过调控下游靶基因的表达,减少 ROS 的产生^[11]。因此,可推测 HIF-1 α 可能通过调控细胞内 ROS 的生成以抵抗氧化应激,从而减少铁死亡的发生。本研究探讨低氧下 HIF-1 α 在牙周组织中的表达及对氧化应激与铁死亡的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康 SD 大鼠 40 只,雄性,平均体重 200 g,均购自新疆医科大学动物实验中心。实验动物生产许可证号:SCXK(新)2023-0001;实验动物使用许可证号:SYXK2024(新)-004;伦理编号:KY20240130171。按照随机数字表法将大鼠分为 A 组(常氧对照组),B 组(常氧牙周炎组),C 组(低氧对照组),D 组(低氧牙周炎组),每组 10 只。大鼠适应性饲养 1 周后,B、D 组分别复制牙周炎模型,术后次日分组饲养,A、B 组在常氧动物房中饲养,C、D 组在低压氧舱中饲养。模型复制 1、3、6 周(前、中、后期)后分别取材。

1.2 主要器材与试剂

低压氧舱模拟海拔 6 000 ~ 7 000 m 高度,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)高清恒染试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司,HIF-1 α 、ROS 及 GSH 试剂盒均购自上海通蔚生物科技有限公司,HIF-1 α 、铁蛋白重链蛋白 1(ferritin heavy chain 1,

FTH1) 和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 一抗(英国 Abcam 公司), 山羊抗鼠 IgG 二抗(美国 Affinity Biosciences 公司)。

1.3 牙周炎模型复制

将 B 组和 D 组 SD 大鼠用 25 mg/mL 舒泰 50 麻醉剂腹腔注射麻醉。全身麻醉后将大鼠腹部朝上, 固定四肢和头部于固定台, 开口器开口, 舌部向对侧牵拉暴露上颌右侧磨牙, 将口腔正畸结扎钢丝(直径 0.25 mm)从上颌右侧第一磨牙与第二磨牙间穿过并结扎于第一磨牙近中牙颈部, 结扎丝置于龈沟内, 深度以不损伤牙龈结合上皮, 又可避免结扎后滑脱为原则, 术后于龈沟内局部注射 10 μ g/ μ L 脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)^[12], 苏醒后正常饮食。之后每隔 2~3 d 注射 1 次 LPS 并检查结扎情况, 以便及时发现有无意外脱落的结扎丝。

1.4 低氧模型复制

将 C、D 组放置低压氧舱内, 舱内模拟海拔 6 000~7 000 m 的环境, 每天缺氧时间为 23 h, 开舱 1 h 进行喂养与清洁。A 组和 B 组则在常氧环境下饲养。

1.5 样本采集与处理

大鼠全身麻醉后从腹主动脉取血, 置于无添加剂的真空采血管中, 4 $^{\circ}$ C 冰箱内静置过夜, 3 000 r/min 离心 10 min, 取血清, 分装后置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱冻存备用。取血后采用心脏空气栓塞法处死大鼠, 将上颌骨剪下, 从腭中缝剪开, 取右侧上颌第一磨牙腭侧牙龈组织, 将牙龈修剪成长约 1.5 cm, 用 0.9% 氯化钠 NaCl 溶液冲洗, 然后放入 10% 多聚甲醛溶液中固定 48 h 后进行检测。

1.6 苏木精-伊红染色检测牙龈组织病理形态

取各组大鼠牙龈组织进行脱水、透明、浸蜡, 然后常规石蜡包埋、切片、脱蜡至水, 再行苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色, 除去多余染液后, 进行脱水、中性树胶封片处理, 在光学显微镜观察组织病理学形态, 并采用 Matic Images Advanced 3.2 图像分析系统采集图片。

1.7 免疫组织化学染色检测 HIF-1 α 、FTH1 和 GPX4 蛋白表达

取各组大鼠牙龈组织进行免疫组织化学(Immunohistochemistry, IHC)染色, 用二甲苯进行 2 次脱蜡, 每次 20 min, 放入梯度乙醇中依次脱水,

每次 5 min; 冲洗擦干后用 3% 双氧水溶液室温避光孵育 25 min, 将玻片置于磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)中, 在与脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5 min; 用柠檬酸盐缓冲液进行微波热修复; 在组化圈内滴加 3% 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)均匀覆盖组织, 室温封闭 30 min; 按说明书用封闭液稀释一抗, 加入稀释的 HIF-1 α 、FTH1 和 GPX4 一抗, 切片平置于湿盒内 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜后洗膜; 切片稍甩干后加入与一抗相应种属的二抗覆盖组织, 室温孵育 50 min; 洗膜后, 用二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)进行显色, PBS 洗涤 3 次后用苏木精复染, 中性树胶封片后, 置于光显微镜下观察, 随机选择 4 个视野并拍照保存, 棕色颗粒为阳性表达信号, 然后应用 Image J 图像分析系统对其阳性表达进行半定量的测定, 并用阳性面积占比来表示统计结果。

1.8 酶联免疫吸附试验检测 ROS、GSH、HIF-1 α 水平

取各组大鼠血清, 将标准品及待测样品加入微孔酶标板内, 然后严格按照酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒说明书, 采用双抗体夹心法测定 ROS、GSH、HIF-1 α 水平, 试验完成后, 立即用酶标仪测定每孔吸光度, 按照吸光度绘制标准曲线, 并计算 ROS、GSH、HIF-1 α 水平。

1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 23.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 比较用方差分析, 两两比较用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠牙龈组织病理形态

A 组牙龈上皮结构规整, 固有层纤维分布均匀, 随时间延长有少量炎症细胞浸润。与 A 组比较, B、D 组牙龈固有层可见明显大量炎症细胞浸润。随炎症时间延长, B 组炎症细胞数量逐渐增多, 上皮钉突伸长。D 组第 6 周炎症减轻, 炎症细胞相比 B 组较少, 且上皮钉突较短。C 组与 A 组相似, 炎症反应较轻, 未见明显炎症细胞浸润, 可见新生血管形成。见图 1。

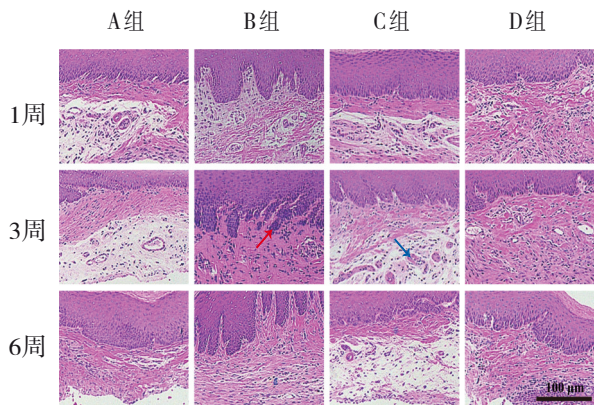


图1 各组大鼠牙龈组织病理形态 (HE染色 $\times 4$)

2.2 各组大鼠牙龈组织HIF-1 α 蛋白阳性表达比较

免疫组织化学染色结果显示,HIF-1 α 在炎症细胞浸润区域呈阳性表达,HIF-1 α 在各组大鼠中均有表达。模型复制1周后,各组大鼠HIF-1 α 阳性表达面积占比比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);B、C组HIF-1 α 阳性表达面积占比与A组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);D组HIF-1 α 阳性表达面积占比大于A组($P<0.05$)。模型复制3周后,各组大鼠HIF-1 α 阳性表达面积占比比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);C组HIF-1 α 阳性表达面积占比均大于A、B组($P<0.05$);D组HIF-1 α 阳性表达面积占比与A、B、C组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。模型复制6周后,各组大鼠HIF-1 α 阳性表达面积占比比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);B组HIF-1 α 阳性表达面积占比均大于A、C组($P<0.05$);D组HIF-1 α 阳性表达面积占比均大于A、C组($P<0.05$);B组与D组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图2和表1。

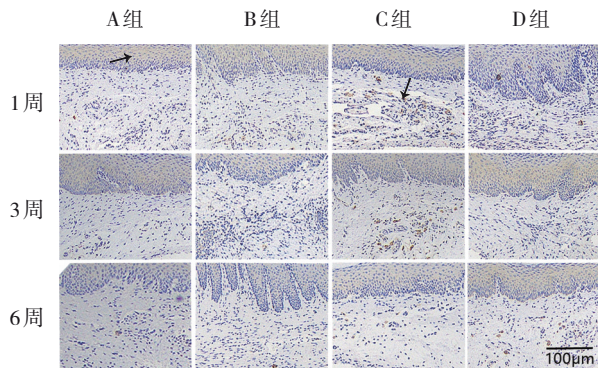


图2 各组大鼠牙龈组织HIF-1 α 阳性表达 (IHC染色 $\times 4$)

表1 各组大鼠HIF-1 α 蛋白阳性表达面积占比比较
($n=10, \%, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | 1周 | 3周 | 6周 |
|----|-----------------|-----------------|-----------------|
| A组 | 3.49 ± 0.41 | 3.89 ± 0.12 | 2.95 ± 0.51 |
| B组 | 4.40 ± 0.18 | 4.16 ± 0.79 | 5.06 ± 0.07 |
| C组 | 5.08 ± 0.91 | 7.00 ± 0.29 | 2.71 ± 0.25 |
| D组 | 5.68 ± 0.25 | 5.40 ± 0.57 | 4.85 ± 0.33 |
| F值 | 6.470 | 15.390 | 27.940 |
| P值 | 0.016 | 0.001 | 0.000 |

2.3 各组大鼠牙龈组织FTH1蛋白阳性表达比较

免疫组织化学染色结果显示,FTH1在炎症细胞浸润区域呈阳性表达,FTH1在各组大鼠中均有表达。模型复制1周后,各组大鼠FTH1阳性表达面积的比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);B、C、D组FTH1表达面积均大于A组($P<0.05$)。模型复制3周后,各组大鼠FTH1阳性表达面积的比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);B组FTH1阳性表达面积大于A组($P<0.05$);D组FTH1阳性表达面积均大于A、B、C组($P<0.05$)。模型复制6周后,各组大鼠FTH1阳性表达面积的比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);B、C、D组FTH1阳性表达面积均大于A组($P<0.05$);B组阳性表达面积大于D组($P<0.05$);C组FTH1阳性表达面积均大于B、D组($P<0.05$)。见图3和表2。

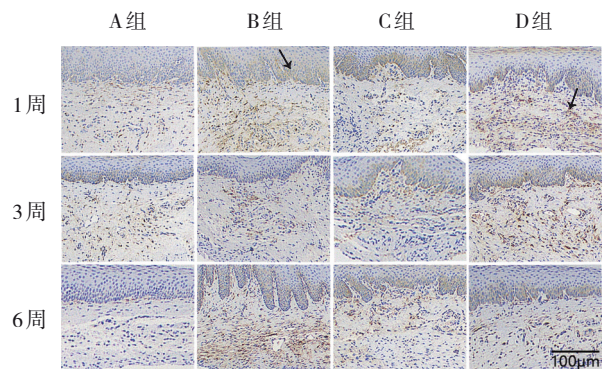


图3 各组大鼠牙龈组织FTH1阳性表达 (IHC染色 $\times 4$)

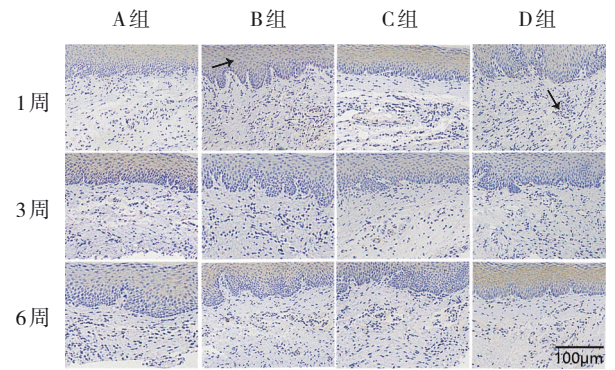
2.4 各组大鼠牙龈组织GPX4蛋白阳性表达比较

免疫组织化学染色结果显示,GPX4在炎症细胞浸润区域呈阳性表达,GPX4在各组大鼠中均有

表 2 各组大鼠 FTH1 蛋白阳性表达面积占比较
($n=10, \%, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | 1周 | 3周 | 6周 |
|----|-------------|-------------|-------------|
| A组 | 3.28 ± 0.21 | 5.08 ± 0.16 | 2.97 ± 0.20 |
| B组 | 6.73 ± 0.08 | 6.19 ± 0.15 | 8.25 ± 0.10 |
| C组 | 7.21 ± 0.09 | 5.51 ± 0.05 | 8.70 ± 0.01 |
| D组 | 7.86 ± 0.70 | 8.92 ± 0.37 | 7.28 ± 0.04 |
| F值 | 61.180 | 125.50 | 1 098.00 |
| P值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

表达。模型复制 1 周后, 各组大鼠 GPX4 阳性表达面积占比的比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); B、D 组 GPX4 阳性表达面积占比均大于 A 组 ($P<0.05$)。模型复制 3 周后, 各组大鼠 GPX4 阳性表达面积占比比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。模型复制 6 周后, 各组大鼠 GPX4 阳性表达面积占比比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); B、C、D 组 GPX4 阳性表达面积占比与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); D 组 GPX4 阳性表达面积占比大于 C 组 ($P<0.05$)。见图 4 和表 3。



GPX4 定位于线粒体与细胞质中, 黑色箭头: 棕染区域阳性表达。
图 4 各组大鼠牙龈组织 GPX4 阳性表达 (IHC 染色 × 4)

表 3 各组大鼠 GPX4 蛋白阳性表达面积占比较
($n=10, \%, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | 1周 | 3周 | 6周 |
|----|-------------|-------------|-------------|
| A组 | 4.28 ± 0.30 | 4.83 ± 0.70 | 4.31 ± 1.00 |
| B组 | 6.12 ± 0.31 | 3.38 ± 0.40 | 4.48 ± 1.50 |
| C组 | 4.77 ± 0.26 | 4.75 ± 1.00 | 2.84 ± 0.45 |
| D组 | 6.02 ± 1.00 | 4.32 ± 0.81 | 6.06 ± 0.50 |
| F值 | 8.080 | 2.310 | 5.620 |
| P值 | 0.008 | 0.153 | 0.023 |

2.5 各组大鼠血清 HIF-1α 水平比较

ELISA 结果显示, 模型复制 1 周后, 各组大鼠血清 HIF-1α 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); B、C 组 HIF-1α 水平与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); D 组 HIF-1α 水平均高于 A、B 组 ($P<0.05$)。模型复制 3 周后, 各组大鼠血清 HIF-1α 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); B、C 组 HIF-1α 水平与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); D 组 HIF-1α 水平均高于 A 组和 C 组 ($P<0.05$); D 组与 B 组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。模型复制 6 周后, 各组大鼠血清 HIF-1α 水平比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

表 4 各组大鼠血清 HIF-1α 水平比较
($n=10, \text{pg/mL}, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | 1周 | 3周 | 6周 |
|----|--------------|--------------|--------------|
| A组 | 29.48 ± 0.15 | 30.13 ± 1.48 | 29.65 ± 1.49 |
| B组 | 29.77 ± 0.43 | 33.59 ± 0.94 | 29.78 ± 1.72 |
| C组 | 31.49 ± 1.49 | 28.35 ± 0.97 | 27.78 ± 0.71 |
| D组 | 32.52 ± 1.28 | 36.02 ± 2.10 | 30.62 ± 0.56 |
| F值 | 5.930 | 19.400 | 2.750 |
| P值 | 0.020 | 0.001 | 0.112 |

2.6 各组大鼠血清 GSH 水平比较

ELISA 结果显示, 模型复制 1 周后, 各组大鼠血清 GSH 水平比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。模型复制 3 周后, 各组大鼠血清 GSH 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); B、C、D 组 GSH 水平与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); D 组 GSH 水平高于 B 组 ($P<0.05$), A 组 GSH 水平高于 B 组 ($P<0.05$)。模型复制 6 周后, 各组大鼠血清 GSH 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); B、C、D 组 GSH 水平与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); C 组 GSH 水平高于 D 组 ($P<0.05$)。见表 5。

2.7 各组大鼠血清 ROS 水平比较

ELISA 结果显示, 模型复制 1 周后, 各组大鼠血清 ROS 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); B、C 组 ROS 水平与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); D 组 ROS 水平均高于 A、B、C 组 ($P<0.05$)。模型复制 3 周后, 各组大鼠血清

表 5 各组大鼠血清 GSH 水平比较

(n=10, ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 1 周 | 3 周 | 6 周 |
|-----|------------------|------------------|------------------|
| A 组 | 19.28 \pm 0.58 | 21.44 \pm 0.81 | 19.15 \pm 0.52 |
| B 组 | 19.71 \pm 1.50 | 18.00 \pm 0.84 | 19.50 \pm 1.15 |
| C 组 | 17.78 \pm 1.12 | 20.64 \pm 0.54 | 19.87 \pm 1.35 |
| D 组 | 16.35 \pm 5.10 | 20.77 \pm 0.99 | 17.28 \pm 1.20 |
| F 值 | 0.900 | 10.280 | 4.180 |
| P 值 | 0.483 | 0.004 | 0.047 |

ROS 水平的比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); C、D 组 ROS 水平与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); A、D 组 ROS 水平均高于 B 组 ($P < 0.05$), C 组 ROS 水平高于 B 组 ($P < 0.05$)。模型复制 6 周后, 各组大鼠血清 ROS 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); B、C、D 组 ROS 水平与 A 组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 6。

表 6 各组大鼠血清 ROS 水平比较

(n=10, ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 1 周 | 3 周 | 6 周 |
|-----|-------------------|------------------|-------------------|
| A 组 | 95.47 \pm 3.74 | 97.98 \pm 1.90 | 100.32 \pm 3.24 |
| B 组 | 94.43 \pm 1.19 | 91.06 \pm 0.11 | 96.12 \pm 1.95 |
| C 组 | 99.09 \pm 1.22 | 96.25 \pm 1.89 | 92.31 \pm 2.01 |
| D 组 | 105.53 \pm 1.87 | 98.16 \pm 1.63 | 91.27 \pm 5.05 |
| F 值 | 15.280 | 11.630 | 4.130 |
| P 值 | 0.001 | 0.003 | 0.048 |

3 讨论

在牙周炎发生、发展过程中, 牙周病原体会募集和激活中性粒细胞, 后者通过释放大量的 ROS 来吞噬病原体^[13]。但过量的 ROS 会引发氧化应激, 干扰细胞周期进程, 诱导细胞凋亡。此外, ROS 作为细胞内信号传导分子可促进破骨细胞形成, 导致牙槽骨吸收和牙周组织损伤^[14]。过量 ROS 的产生可促使细胞膜脂质过氧化从而促进细胞发生铁死亡^[15]。细胞铁死亡的发生主要与铁代谢中 GSH 水平及关系密切的 ROS 积累有关。有学者在牙周炎大鼠的牙龈组织中观察到铁死亡活动, 包括线粒体形态变化和 ROS 积聚等^[16]。正常情况下, GPX4 能够利用 GSH 作为辅因子转换脂质过氧

化物为无害物质, 然而在铁死亡中, GPX4 活性下降或 GSH 耗尽导致无法有效清除脂质过氧化物。GPX4 能降低细胞内 ROS 水平, 抑制细胞发生铁死亡^[17]。FTH1 蛋白主要负责铁的储存, 在细胞内参与铁代谢的调控, 铁代谢通过调节细胞内的易耗铁池来决定细胞铁死亡, 当铁平衡调控机制失效, 过量的铁离子会引发 Fenton 反应, 诱导 ROS 生成, 并激活具有强氧化能力、在膜过氧化中起重要作用的脂氧合酶, 过量的 ROS 积累造成细胞氧化损伤, 导致铁死亡^[18]。

HIF-1 α 在低氧条件下可激活核因子 κ B 通路, 增强肿瘤坏死因子- α 的表达^[19]。WANG 等^[20]发现, HIF-1 α 诱导的核因子 κ B 通路的扩增增加了 Toll 样受体的表达, 并诱导炎症级联, 导致组织损伤。本研究采用低压氧舱给予长期低氧环境使 HIF-1 α 稳定表达, 低氧牙周炎组前期 HIF-1 α 在血清和牙龈组织中的表达均高于常氧对照组和常氧牙周炎组, 牙龈组织可见明显炎症细胞浸润, 且低氧牙周炎组血清 ROS 表达均高于常氧对照组和常氧牙周炎组。这可能是由于早期 HIF-1 α 诱导了氧化应激发生和炎症反应。有研究显示, 缺氧可诱导 ROS 过量产生, 加重氧化应激, 而 HIF-1 α 在缺氧状态下被激活发挥生物活性, 维持氧稳态并保持机体在缺氧条件下的正常工作^[21]。后期相较于常氧牙周炎组牙龈组织大量炎症细胞浸润且上皮钉突可见伸长及部分出现融合, 低氧牙周炎组牙龈组织炎症细胞有所减少, 且上皮层结构较稳定, 提示 HIF-1 α 后期可能抑制了炎症进程。有研究表明, HIF-1 α 能诱导抗氧化酶的表达, 有效清除活性氧类物质减轻氧化应激对组织结构的潜在损害^[22]。

牙周炎属于低氧性炎症性疾病, 既往一项研究发现, 组织长时间处于低氧环境而导致缺氧时会产生缺氧应答反应, HIF-1 α 作为调节氧平衡的关键转录因子, 可以通过调控下游靶基因的表达使组织适应低氧环境下氧变化^[23]。本研究结果发现, 低氧对照组中期牙龈组织中 HIF-1 α 表达至峰值而后期降低, 这可能是由于 HIF-1 α 通过调控作用, 使组织适应不同氧浓度。常氧牙周炎组血清 GSH 降低, 可能是由于炎症加重 GSH 大量消耗, 而低氧牙周炎组无明显变化, 可能是低氧抑制了

GSH 消耗或是机体发生代偿性反应所致,各组血清 ROS 表达均有所下降,提示机体内可能激活了抗氧化机制,调控了 ROS 的产生。低氧牙周炎组后期血清 ROS 表达低于常氧牙周炎组,提示 HIF-1 α 可能抑制了 ROS 的产生。有研究发现, HIF-1 α 可以通过调控 ROS 来介导机体在缺氧条件下对氧化应激的适应性反应。在牙周炎氧化应激状态下,细胞内发生过氧化,细胞对脂质过氧化的防御能力降低,从而促进了铁死亡的发生^[24]。FTH1 和 GPX4 的表达变化反映了细胞铁代谢与抗氧化防御系统在应对氧化应激与铁死亡时发挥作用的方式。HIF-1 α 与铁死亡之间的联系可能在不同疾病中存在差异,在缺血缺氧后升高可引起脊髓损伤后铁死亡^[25], HIF-1 α 也可保护细胞免受缺氧导致的铁死亡, LI 等^[26] 研究发现,在缺氧条件下激活 HIF-1 α 能够促进 GPX4 的表达,从而增强细胞抗氧化能力,抑制脂质过氧化。BAE 等^[27] 发现, HIF-1 α 在低氧下被激活可以调节铁代谢相关基因的表达,其能够上调 FTH1 的表达,增强细胞的铁储存能力。本研究发现低氧与炎症均可诱发铁死亡,在常氧牙周炎组、低氧对照组及低氧牙周炎组中, FTH1 与 GPX4 呈现不同程度的表达,表明细胞可通过上调 FTH1 调控铁代谢或上调 GPX4 激活抗氧化防御系统进行代偿性保护,来缓解与减轻氧化应激与铁死亡造成的损伤。

综上所述, HIF-1 α 在牙周炎中的表现双重作用,其具有时间依赖性,前期可促进炎症发生并加剧氧化应激反应,而随低氧时间延长, HIF-1 α 可能抑制炎症进展,并通过参与调控 ROS 的生成减轻牙周组织氧化应激并减少铁死亡发生从而改善牙周组织炎症。本实验不足之处在于低氧时间较短不能明确 HIF-1 α 长期效应,未设置铁死亡抑制剂组作为对照深入探讨与铁死亡的具体作用通路, HIF-1 α 在氧化应激及铁死亡中的关联机制仍需进一步研究。

参 考 文 献 :

- [1] VILLORIA G E M, FISCHER R G, TINOCO E M B, et al. Periodontal disease: a systemic condition[J]. *Periodontol 2000*, 2024, 96(1): 7-19.
- [2] TRINDADE D, CARVALHO R, MACHADO V, et al. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies[J]. *J Clin Periodontol*, 2023, 50(5): 604-626.
- [3] SCZEPANIK F S C, GROSSI M L, CASATI M, et al. Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: we should treat it that way[J]. *Periodontol 2000*, 2020, 84(1): 45-68.
- [4] IRWANDI R A, KUSWANDANI S O, HARDEN S, et al. Circulating inflammatory cell profiling and periodontitis: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 111(5): 1069-1096.
- [5] FORMAN H J, ZHANG H Q. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(9): 689-709.
- [6] ROTARIU D, BABES E E, TIT D M, et al. Oxidative stress - complex pathological issues concerning the hallmark of cardiovascular and metabolic disorders[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 152: 113238.
- [7] MIAO Y, CHEN Y W, XUE F, et al. Contribution of ferroptosis and GPX4's dual functions to osteoarthritis progression[J]. *EBioMedicine*, 2022, 76: 103847.
- [8] ZOU P J, HE Q M, XIA H M, et al. Ferroptosis and its impact on common diseases[J]. *PeerJ*, 2024, 12: e18708.
- [9] 董唯韦, 陈玉, 刘浩, 等. 微生物组产物调控口腔癌中铁死亡途径参与肿瘤发生的分子机制[J]. *临床口腔医学杂志*, 2024, 40(11): 643-647.
- [10] 石婷婷, 李少婷, 于静侠, 等. 姜黄素调节 HIF-1 α /VEGF 信号通路对骨髓干细胞活性及血管生成的影响[J]. *临床口腔医学杂志*, 2025, 41(2): 72-76.
- [11] YFANTIS A, MYLONIS I, SIMOS G. Direct interaction between mortalin and HIF-1 α at the mitochondria inhibits apoptosis by blocking recruitment of bax[J]. *FEBS J*, 2023, 290(15): 3764-3780.
- [12] 孟令玮, 李雪, 高胜寒, 等. 三种方法建立大鼠种植体周炎模型比较[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2023, 55(1): 22-29.
- [13] MOUSA A O, AL HUSSAINI A H A, HUSSEIN H M. The potential role of reactive oxygen species produced by low-density neutrophils in periodontitis[J]. *Eur J Dent*, 2024, 18(4): 1142-1148.
- [14] 李媛媛, 蔡世新, 王林, 等. BMSCs 对牙周炎大鼠破骨细胞成骨分化、炎症反应及碱性磷酸酶的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(13): 3280-3284.
- [15] TANG D L, CHEN X, KANG R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-125.
- [16] DENG L Y, HE S S, GUO N Q, et al. Molecular mechanisms of ferroptosis and relevance to inflammation[J]. *Inflamm Res*, 2023, 72(2): 281-299.
- [17] ZHANG W Z Q, LIU Y, LIAO Y, et al. GPX4, ferroptosis, and diseases[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 174: 116512.
- [18] ZHENG Y, WANG L, WANG J R, et al. Modulation of the HIF-1 α -NCOA4-FTH1 signaling axis regulating ferroptosis-induced hepatic stellate cell senescence to explore the anti-hepatic fibrosis mechanism of curcumin[J]. *Curr Med Chem*, 2024, 31(19): 2821-2837.

- [19] GUNTON J E. Hypoxia-inducible factors and diabetes[J]. J Clin Invest, 2020, 130(10): 5063-5073.
- [20] WANG D Y, WANG M H, SUN S K, et al. Hypoxia-induced NLRP3 inflammasome activation via the HIF-1 α /NF- κ B signaling pathway in human dental pulp fibroblasts[J]. BMC Oral Health, 2024, 24(1): 1156.
- [21] LIU Z C, ZHENG J C, DING T, et al. HIF-1 α protects nucleus pulposus cells from oxidative stress-induced mitochondrial impairment through PDK-1[J]. Free Radic Biol Med, 2024, 224: 39-49.
- [22] 陈蕾蕾, 景德怀, 张曜文, 等. 缺氧诱导因子-1 α 在炎症性肠病中的作用机制研究进展[J]. 中华炎症肠病杂志(中英文), 2024, 8(2): 174-180.
- [23] MA H, WANG Y Y F, WEI J Y, et al. Stabilization of hypoxia-inducible factor 1 α and regulation of specific gut microbes by EGCG contribute to the alleviation of ileal barrier disorder and obesity[J]. Food Funct, 2024, 15(19): 9983-9994.
- [24] WANG X H, WEI L L, LI Q C, et al. HIF-1 α protects osteoblasts from ROS-induced apoptosis[J]. Free Radic Res, 2022, 56(2): 143-153.
- [25] DONG H R, ZHANG C, SHI D L, et al. Ferroptosis related genes participate in the pathogenesis of spinal cord injury via HIF-1 signaling pathway[J]. Brain Res Bull, 2023, 192: 192-202.
- [26] LI W J, XIANG Z D, XING Y X, et al. Mitochondria bridge HIF signaling and ferroptosis blockage in acute kidney injury[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(4): 308.
- [27] BAE T, HALLIS S P, KWAK M K. Hypoxia, oxidative stress, and the interplay of HIFs and NRF2 signaling in cancer[J]. Exp Mol Med, 2024, 56(3): 501-514.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 王彩雯, 罗晓洁, 范丽君, 等. 低氧诱导因子-1 α 对牙周炎氧化应激与铁死亡影响的初步研究[J]. 中国现代医学杂志, 2025, 35(21): 22-29.

Cite this article as: WANG C W, LUO X J, FAN L J, et al. A preliminary investigation into the role of hypoxia-inducible factor-1 α in oxidative stress and ferroptosis associated with periodontitis[J]. China Journal of Modern Medicine, 2025, 35(21): 22-29.