doi:10.11659/jjssx.03E025062

·基础研究·

# 缺氧环境中土大黄苷对人牙周膜干细胞增殖和迁移能力的影响及机制研究

李思程[1,2,3],蒋 琳[1,2],王 伟[1,2],邵益森[1,2] (1.江西中医药大学,江西 南昌 330004;2.江西中医药大学附属医院口腔创伤整形科,江西 南昌 330006;3.南昌大学口腔医学院,江西 南昌 330006)

[摘 要] **目的** 探讨缺氧环境下土大黄苷对人牙周膜干细胞(hPDLSCs)增殖和迁移的影响及其可能机制。**方法** 配制不同浓度(0、12.5、25、50、100、200、300 μmol/L)的土大黄苷,添加至缺氧环境下培养的hPDLSCs,CCK-8实验检测土大黄苷对hPDLSCs活力的影响。EdU实验和Transwell实验评估土大黄苷对hPDLSCs增殖和迁移的影响。Western blot检测PCNA、CXCR4和缺氧诱导因子-1A(HIF1A)表达。使用AutoDock软件进行蛋白分子间的对接可视化。**结果** 100 μmol/L土大黄苷处理后细胞存活率显著增加($P<0.05$),而土大黄苷浓度超过100 μmol/L时,细胞存活率显著下降($P<0.05$),故选择浓度为100 μmol/L的土大黄苷进行后续实验。土大黄苷可显著促进缺氧环境下hPDLSCs的增殖和迁移。同时,土大黄苷处理后,hPDLSCs增殖和迁移相关蛋白PCNA、CXCR4的表达水平升高($P<0.05$),而缺氧应激蛋白HIF1A的表达水平降低($P<0.05$)。分子对接模拟显示,土大黄苷与HIF1A蛋白具有良好结合力。**结论** 缺氧环境下土大黄苷可促进hPDLSCs的增殖和迁移,其机制可能与调控HIF1A表达有关。

[关键词] 土大黄苷;牙周炎;人牙周膜干细胞;增殖;迁移;缺氧诱导因子-1A
[中图分类号] R781.4 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-03-11

## Effects of rhaponticin on the proliferation and migration of human periodontal ligament stem cells under hypoxic conditions and its mechanism

LI Si-cheng[1,2,3], JIANG Lin[1,2], WANG Wei[1,2], SHAO Yi-sen[1,2] (1.Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang Jiangxi 330004, China; 2.Department of Oral Trauma Plastic Surgery, Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang Jiangxi 330006, China; 3.School of Stomatology, Nanchang University, Nanchang Jiangxi 330006, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects and potential mechanisms of rhaponticin on the proliferation and migration of human periodontal ligament stem cells (hPDLSCs) under hypoxic conditions. **Methods** Rhaponticin solutions at various concentrations (0, 12.5, 25, 50, 100, 200, 300 μmol/L) were prepared, and then added to hPDLSCs cultured under hypoxic conditions. The effect of rhaponticin on hPDLSCs viability was determined by CCK-8 assay. Rhaponticin effects on the proliferation and migration of hPDLSCs were evaluated by EdU assay and Transwell assay. The expressions of PCNA, CXCR4, and hypoxia inducible factor-1A (HIF1A) were determined by Western blot. The protein-protein docking was visualized by AutoDock software. **Results** Cell survival rate significantly increased after treatment with 100 μmol/L of rhaponticin ($P<0.05$), while cell survival rate decreased significantly at rhaponticin concentrations exceeding 100 μmol/L ($P<0.05$). Therefore, 100 μmol/L of rhaponticin was selected for subsequent experiments. Rhaponticin significantly promoted the proliferation and migration of hPDLSCs under hypoxic conditions. Concurrently, treatment with rhaponticin upregulated the expression levels of proliferation- and migration-related proteins PCNA and CXCR4 in hPDLSCs ($P<0.05$), while downregulated the expression level of hypoxia stress protein HIF1A ($P<0.05$). Molecular docking demonstrated a favorable binding affinity between rhaponticin and HIF1A protein. **Conclusion** Rhaponticin promotes the proliferation and migration of hPDLSCs under hypoxic conditions. This effect is likely mediated by the regulation of HIF1A expression.

**Keywords:** rhaponticin; periodontitis; human periodontal ligament stem cells; proliferation; migration; hypoxia inducible factor-1A

牙周炎是一种常见的慢性炎症性疾病,主要由牙齿表面积聚的牙菌斑生物膜长期刺激牙周组织引起[1]。严重的牙周炎不仅会显著损害牙周组织的健康和功能,还与多种系统性疾病密切相关,若牙周炎未得到有效控制,可能会导致口腔及全身健康问题的进一步恶化[2]。研究表明,老年人和男性更易患牙周炎,且该病常伴随较高的牙齿缺失率[3]。当前牙周炎的主要治疗方法包括机械清创和抗生素治疗,两种方法在短期内都能够有效缓解病情,但长期疗效有限,且可能导致耐药性等问题[4-5]。来自植物、中草药及其他天然来源的天然生物活性化合物展现出抗炎、抗氧化、

[基金项目] 国家自然科学基金(82360958;81960891);江西省中医药管理局,中医口齿病重点研究室(KP202202003);江西省卫生和计划生育委员会科研课题(202410312);江西中医药大学重点学科建设基金(2023jzzdxk004)

[通信作者] 邵益森,E-mail:shaoyisen@jxutcm.edu.cn

抗菌和组织再生的特性[6-8]。因此,开发具有更高安全性和显著疗效的天然药物,已成为牙周炎研究领域的重要方向。

中药具有防治慢性疾病的独特优势[9]。传统中医认为中药大黄具有清热解毒、活血化瘀的功效,广泛用于各种炎症性疾病的治疗[10]。土大黄苷是大黄的主要成分之一,具有显著的抗炎、抗氧化及促进成骨分化的生物学特性,已被应用于炎症性疾病和骨重塑的治疗中[11]。已有研究证实土大黄苷具有抑制炎症作用。Li等[12]的研究发现,土大黄苷可通过下调iNOS、COX2及NF-κB/MAPK信号通路,显著抑制脂多糖诱导的内皮细胞炎症反应;Zhang等[13]的研究则表明,土大黄苷能够显著抑制中性粒细胞中活性氧和中性粒细胞外陷阱的生成;Shi等[14]的研究发现,土大黄苷具有降血糖、抗氧化和抗炎作用,可减轻糖尿病大鼠的视网膜病变。

在牙周炎的病理过程中,缺氧是其典型的微环境特征之一。缺氧诱导因子-1A(hypoxia inducible factor-1A,HIF1A)作为关键的调节分子,负责调控细胞对缺氧的应答[15],通过调控与炎症、血管生成和组织修复相关的基因表达,参与牙周组织的损伤与修复[16-17]。人牙周膜干细胞(human periodontal ligament stem cells,hPDLSCs)作为具有再生潜能的成体干细胞[18],在缺氧时其增殖、迁移及成骨分化能力受影响[19]。然而,目前尚未见研究报道土大黄苷在牙周炎治疗中的作用,尤其是在调控hPDLSCs生物学过程中的作用。

基于上述背景,本研究首先通过EdU增殖实验、Transwell迁移实验和Western blot实验验证缺氧环境下土大黄苷对hPDLSCs增殖和迁移的促进作用;随后,运用分子对接模拟进一步确认土大黄苷与HIF1A蛋白之间的结合程度,为深入了解土大黄苷治疗牙周炎的分子机制提供理论依据,并为其是否可作为治疗牙周炎的天然药物提供科学支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞及主要试剂

hPDLSCs购自上海富衡生物科技有限公司;土大黄苷(纯度≥98%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;α-MEM培养基、特级胎牛血清购自赛澳美细胞技术(北京)有限公司;厌氧产气袋、氧气指示剂购自日本三菱;CCK-8试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;EdU试剂盒购自杭州联科生物技术股份有限公司;Transwell小室购自美国Corning公司;一抗(HIF1A抗体、PCNA抗体、CXCR4抗体)购自美国CST公司;β-actin抗体购自武汉博士德生物公司;二抗购自杭州华安生物公司。

称取适量土大黄苷,配制5 mL 300 μmol/L的土大黄苷母液,根据后续实验要求再配制成不同浓度。用0.22 μm孔径的细菌滤器过滤配制好的土大黄苷后储存在-20 ℃的冰箱备用。

### 1.2 细胞培养和分组

将hPDLSCs用含10%胎牛血清、1%青-链霉素的α-MEM完全培养基培养,并置于5% $CO_2$、37 ℃恒温细胞培养箱中,每2~3 d更换培养基并观察细胞状态,待细胞生长密度达80%后进行传代,取3~5代的细胞进行后续实验。筛选出土大黄苷的适宜浓度后,将细胞置于缺氧条件下培养,分为对照组(未加入土大黄苷)和土大黄苷组(加入100 μmol/L土大黄苷),24 h后进行后续实验。

### 1.3 体外缺氧模型建立

将厌氧密封盒和厌氧产气袋表面用酒精擦拭消毒,置于超净工作台中紫外线照射30 min。从培养箱中取出需进行缺氧处理的细胞置于厌氧密封盒内,将厌氧产气袋和氧气指示剂外包装撕开后迅速置于厌氧密封盒的隔层中,盖上密封盖,置于37 ℃恒温培养箱中培养。观察氧气指示剂颜色变化确定细胞培养环境。氧气指示剂变色范围:浅紫色至粉红色为缺氧状态(氧浓度小于0.1%);淡蓝色至深蓝色为有氧状态(氧浓度大于0.5%)。

### 1.4 CCK-8实验

于96孔板中接种细胞悬液(约4 000个/孔),每孔100 μL,设置5个复孔及空白孔。加入含不同浓度(0、12.5、25、50、100、200、300 μmol/L)土大黄苷的α-MEM完全培养基并置于缺氧环境中培养24 h后,去除原培养基,PBS清洗3次,每孔分别加入90 μL α-MEM完全培养基和10 μL CCK-8,于培养箱中培养1.5 h后用酶标仪检测450 nm波长处的吸光度,计算细胞存活率。细胞存活率=[(实验孔吸光度-空白孔吸光度)/(对照孔吸光度-空白孔吸光度)]×100%。

### 1.5 EdU增殖实验

在12孔板中培养hPDLSCs,待细胞密度为80%左右时,置于缺氧环境中培养。将EdU溶解于不同浓度的土大黄苷培养基中(终浓度为10 μmol/L),然后加入细胞中,37 ℃孵育24 h。除去培养基,PBS清洗2次。加入4%多聚甲醛溶液,室温固定15 min。用0.1% Triton X-100室温通透10 min。根据试剂盒说明书,配制Click反应液,然后加入样本,室温避光孵育30 min。PBS清洗3次,去除未结合的荧光标记物。按照说明

书配制1×Hoechst33342溶液，每孔加入500 μL稀释后的Hoechst33342溶液，室温避光孵育15 min；结束后除去Hoechst33342溶液；每孔用500 μL PBS清洗3次，每次3 min。倒置荧光显微镜下拍照，计算细胞增殖率。细胞增殖率=（红色荧光细胞数/蓝色荧光细胞数）×100%。

1.6 Transwell实验

取对数生长期的hPDLSCs培养制备细胞悬液，调整细胞密度为$2\times10^5$/mL，每孔加入200 μL细胞悬液至Transwell上室，下室加入600 μL含20%胎牛血清的培养基。置于缺氧环境并加入不同浓度土大黄苷培养24 h后，去除上室培养基，并在4%多聚甲醛溶液中室温固定15 min。去除固定液后，PBS清洗3次，加入0.1%结晶紫溶液染色30 min。用棉签轻轻擦去上室表面，去除多余染料。适当风干后，倒置荧光显微镜下选取不同视野观察细胞并拍照，使用Image J软件计算染色细胞数目。

1.7 Western blot

在缺氧环境中用不同浓度土大黄苷处理hPDLSCs，分别在6 h、12 h、24 h后收集蛋白。BCA法检测提取的蛋白浓度，将蛋白变性后通过凝胶电泳分离蛋白，并转至PVDF膜上，封闭液封闭，蛋白条带置于一抗稀释液中4 ℃孵育过夜，随后室温下置于二抗稀释液中孵育1 h。在蛋白条带表面滴加显影液，置于化学发光成像系统中进行曝光、显影和拍照。使用Image J软件进行蛋白显影定量分析。

1.8 分子对接模拟

在蛋白质数据库（http://www.rcsb.org/）中下载并保存HIF1A的蛋白三维结构。在PubChem数据库（http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov）中下载并保存土大黄苷的三维结构。使用AutoDock软件将土大黄苷和HIF1A蛋白进行分子对接。

1.9 统计学分析

数据分析使用SPSS 26.0软件，实验数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间数据比较采用单因素方差分析，两两比较采用独立样本$t$检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 细胞缺氧模型建立成功

通过氧气指示剂颜色的变化确定细胞培养环境，结果显示，hPDLSCs处于缺氧环境中，缺氧模型建立成功（图1）。

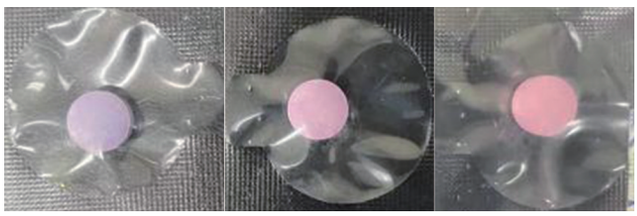
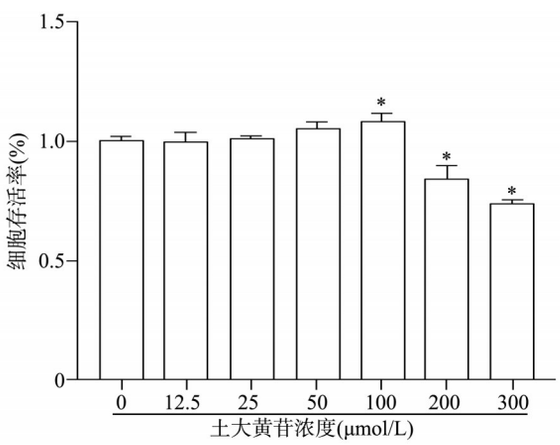


**图1 氧气指示剂颜色变化**

2.2 土大黄苷促进缺氧环境下hPDLSCs的增殖

CCK-8实验结果显示，与0 μmol/L土大黄苷相比，100 μmol/L土大黄苷处理后细胞存活率显著升高（$P<0.05$），而土大黄苷浓度超过100 μmol/L时，细胞存活率显著下降（$P<0.05$），见图2。因此，后续实验选择浓度为100 μmol/L的土大黄苷进行。

EdU实验结果显示，土大黄苷组细胞增殖率明显高于对照组（$P<0.05$），见图3。




*：与0 μmol/L比较，$P<0.05$

**图2 不同浓度土大黄苷对缺氧环境下hPDLSCs活力的影响**

2.3 土大黄苷促进缺氧环境下hPDLSCs的迁移

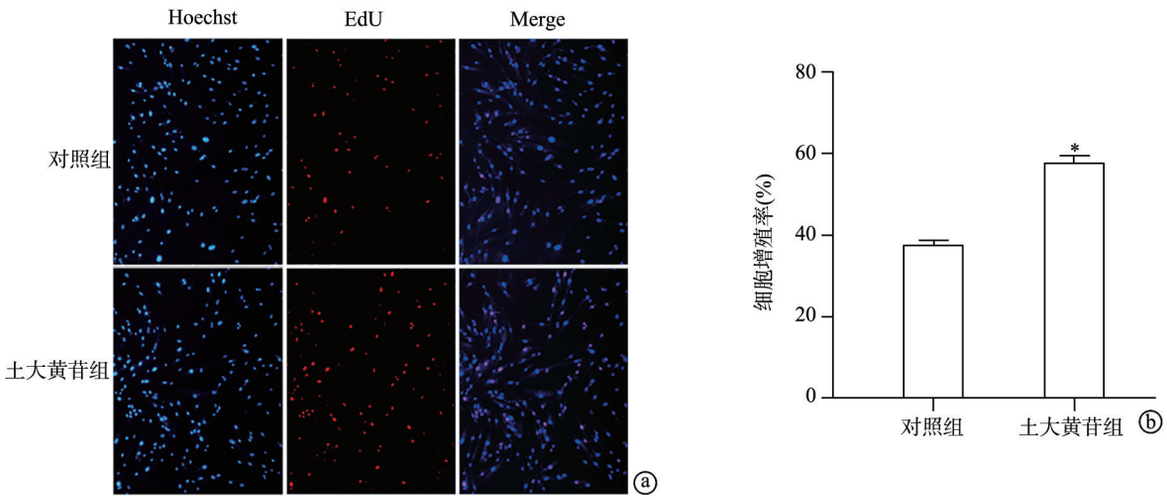
Transwell实验结果显示，与对照组相比，土大黄苷组细胞迁移数显著增加（$P<0.05$），见图4。

2.4 土大黄苷对缺氧环境下hPDLSCs增殖、迁移及缺氧相关蛋白表达的影响

Western blot检测结果显示：在6、12、24 h时，土大黄苷组中hPDLSCs的PCNA、CXCR4蛋白表达量均明显高于对照组（$P<0.05$），而HIF1A蛋白表达量低于对照组（$P<0.05$），见图5。

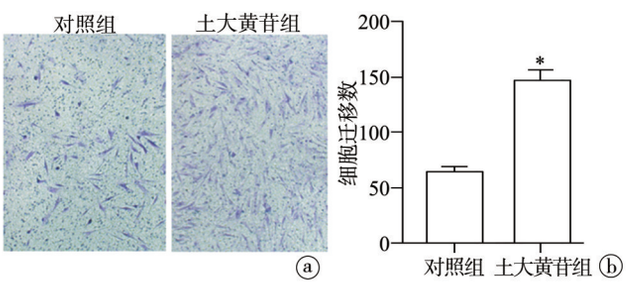
2.5 土大黄苷与HIF1A蛋白的结合

分子对接模拟结果显示，土大黄苷能够与HIF1A蛋白活性位点的GLU-64残基形成多个氢键相互作用，可较好地匹配结构口袋中的小分子结构（图6a）；土大黄苷能够较好地与HIF1A蛋白结构空腔处契合（图6b）。




a:EdU 实验检测细胞增殖情况(×20);b:细胞增殖率比较　*:与对照组比较,$P<0.05$

**图3　土大黄苷对缺氧环境下hPDLSCs增殖的影响**



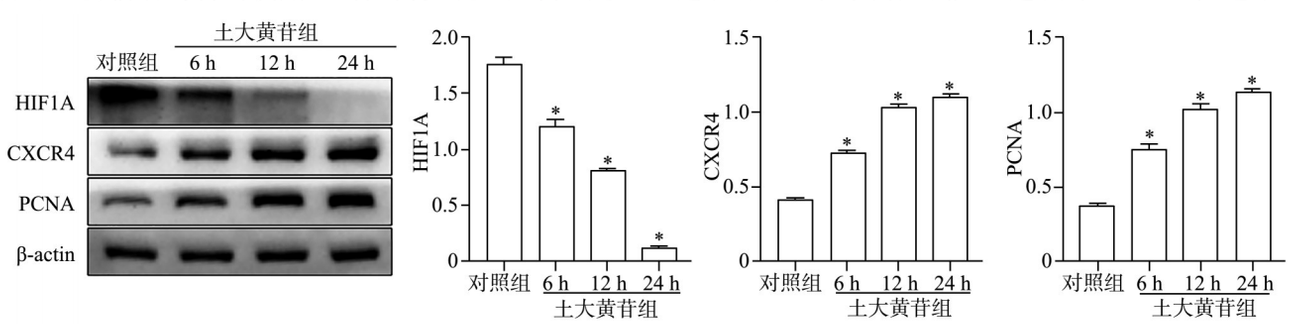

a:Transwell 实验检测细胞迁移情况(×20);b:细胞迁移定量分析　*:与对照组比较,$P<0.05$

**图4　土大黄苷对缺氧环境下hPDLSCs迁移的影响**

## 3　讨论

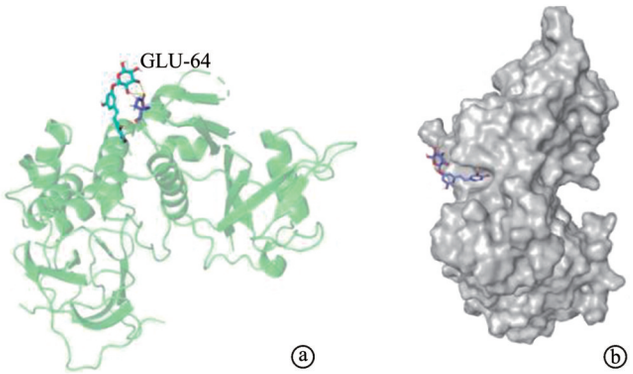
截至2021年,全球已有超过10亿人受牙周炎的影响[20]。牙周炎治疗的主要目标是去除生物膜控制感染,并减缓或抑制骨质丧失的进展。这可通过加强口腔卫生教育、激励患者重视自身口腔卫生健康及非手术的龈下洁治等方法实现[21]。去除感染的牙根表面生物膜后,牙龈上皮细胞可重新增殖并在牙根表面形成长连接的上皮屏障。然而,对于难以进行机械治疗的区域,如何有效去除生物膜和控制炎症仍无有效方法。因此,辅助药物的使用显得尤为关键[22]。氯己定作为常用的抗菌药物,具有广谱抗微生物活性,能够有效清除生物膜。然而,长期使用氯己定可能出现味觉改变、口干及牙齿和舌面染色等副作用[23]。因此,寻找副作用较小的替代药物成为急需解决的问题。中药由于其多组分、多靶点的特性,近年来越来越受到关注。

氧气感知机制及缺氧信号通路逐渐成为炎症性疾病治疗的关键靶点[24]。HIF1A作为唯一能够响应缺氧的转录因子,在低氧环境下能稳定表达,参与重要病理生理过程[25]。有研究表明,在牙周炎大鼠模型中,牙龈出现炎性浸润并伴随牙槽骨丢失,同时HIF1A的表达显著升高[26]。低氧环境显著影响人间充质干细胞中CXCR4的表达,进而降低其向损伤区域的迁移能力[27]。以上研究表明,HIF1A可能是治疗牙周炎的潜在靶点。本课题组前期的研究发现,土大黄苷可通过ARNT结构域靶向结合HIF1A,并有效抑制其表达[28]。此外,已有研究表明,土大黄苷能显著抑制HIF1A通路,导致缺氧状态下HIF1A积累并减少其核内表达[29]。这提示,土大黄苷可能通过调节HIF1A表达影响




*:与对照组比较,$P<0.05$

**图5　土大黄苷对缺氧环境下hPDLSCs相关蛋白表达的影响**




a:土大黄苷与HIF1A的分子对接模拟可视化;b:土大黄苷与HIF1A对接的表面结构模型

**图6 土大黄苷与HIF1A蛋白结合可视化**

hPDLSCs的生物学过程,为牙周炎的治疗提供了理论依据。

目前,关于牙周炎的治疗研究主要集中在控制炎症,而对于牙周组织中普遍存在的缺氧微环境及其在疾病发生发展中的作用,相关研究仍较有限,还存在较大的研究空白。本研究建立体外缺氧模型,模拟牙周炎深部袋底的缺氧环境[30]。HIF1A作为细胞对低氧环境的感知因子,通常调控细胞的迁移和代谢适应,而其表达下调可能反映细胞逐渐适应微环境变化[15]。PCNA、CXCR4与细胞增殖、迁移密切相关。PCNA的上调提示细胞DNA复制和增殖能力增强[31],CXCR4的升高则表明干细胞迁移和归巢能力增强[32]。SDF-1/CXCR4信号通路与hPDLSCs归巢过程密切相关,是牙周组织再生中重要的趋化和迁移机制之一[33]。本研究在体外建立缺氧模型模拟炎症组织低氧微环境,观察到土大黄苷在100 μmol/L浓度时对hPDLSCs促增殖与迁移效果最强,而更高浓度则可导致细胞存活率下降。这表明低浓度(≤100 μmol/L)土大黄苷可能作为低氧应激调节剂,缓解缺氧诱导的线粒体活性氧积累对细胞的损害和能量代谢压力,从而提高细胞存活率;但当浓度>100 μmol/L时,可能干扰膜稳定性,导致细胞毒性增加、代谢失衡等,最终细胞存活率下降。在缺氧早期,HIF-1介导的防御程序被激活,这一程序优先支持代谢适应与应激耐受,并非组织再生[34]。常氧条件下,冯·希佩尔-林道蛋白可介导HIF1A的泛素化,并促进其蛋白酶体降解[35]。因此,土大黄苷可能加速HIF1A的泛素化降解过程,降低HIF1A的表达,调控PCNA驱动的增殖及SDF-1/CXCR4信号通路介导的迁移,促进缺氧环境下hPDLSCs的增殖和迁移。在分子对接模拟中,当配体与受体间的结合能小于0时,两者可自发进行结合[36]。本研究分子对接模拟结果显示两分子的结合能小于0,提示土大黄苷可能与HIF1A蛋白表面的关键结构直接结合,改变其构象稳定性,加速降解。结合本研究Western blot实验结果,可推测土大黄苷可能通过直接靶向调节HIF1A稳态,继而间接激活hPDLSCs增殖与迁移的生物功能,这为土大黄苷作为牙周炎的治疗药物提供了理论支持。

综上所述,土大黄苷可促进缺氧环境下hPDLSCs的增殖与迁移,其机制可能与调控HIF1A有关,这为牙周炎的治疗提供了新的方向。

## [参考文献]

[1] Liu X, Li H. Global trends in research on aging associated with periodontitis from 2002 to 2023: a bibliometric analysis [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2024, 15: 1374027. doi: 10.3389/fendo.2024.1374027.

[2] Bimstein E, Huja PE, Ebersole JL. The potential lifespan impact of gingivitis and periodontitis in children [J]. J Clin Pediatr Dent, 2013, 38(2): 95-99. doi: 10.17796/jcpd.38.2.j525742137780336.

[3] Chatzopoulos GS, Jiang Z, Marka N, et al. Periodontal disease, tooth loss, and systemic conditions: an exploratory study [J]. Int Dent J, 2024, 74(2): 207-215. doi: 10.1016/j.identj.2023.08.002.

[4] GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990-2021: a systematic analysis with forecasts to 2050 [J]. Lancet, 2024, 404(10459): 1199-1226. doi: 10.1016/S0140-6736(24)01867-1.

[5] Makeeva IM, Daurova FY, Byakova SF, et al. Sensitivity of microbial associations of periodontal lesions to antibacterial agents [J]. Stomatologiia (Mosk), 2016, 95(3): 26-30. doi: 10.17116/stomat201695326-30.

[6] Sohn SI, Priya A, Balasubramaniam B, et al. Biomedical applications and bioavailability of curcumin-an updated overview [J]. Pharmaceutics, 2021, 13(12): 2102. doi: 10.3390/pharmaceutics13122102.

[7] Ye Y, Zhou J. The protective activity of natural flavonoids against osteoarthritis by targeting NF-κB signaling pathway [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1117489. doi: 10.3389/fendo.2023.1117489.

[8] Aghababaei F, Hadidi M. Recent advances in potential health benefits of quercetin [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2023, 16(7): 1020. doi: 10.3390/ph16071020.

[9] 翟静波. 以患者为中心的中医药防治慢性病临床诊疗方案遴选与评价方法学框架 [J]. 中国循证医学杂志, 2023, 23(4): 439-443. doi: 10.7507/1672-2531.202212047.

[10] 杨宗慧,陈红刚,赵文龙,等. 大黄及有效成分治疗脂肪肝作用机制的研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2025, 41(7): 113-120. doi: 10.13412/j.cnki.zyyl.20240420.001.

[11] Yang T, Wang Q, Qu Y, et al. Protective effect of rhaponticin on ovariectomy-induced osteoporosis in rats [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(9): e22837. doi: 10.1002/jbt.22837.

[12] Li R, Chinnathambi A, Alharbi SA, et al. Anti-inflammatory effects of rhaponticin on LPS-induced human endothelial cells through inhibition of MAPK/NF-kappabeta signaling pathways [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(5): e22733. doi: 10.1002/jbt.22733.

[13] Zhang J, Xie X, Shen Q, et al. Rhaponticin alleviates collagen-

induced arthritis by inhibiting NLRP3/GSDMD-mediated neutrophil extracellular traps[J]. Inflammation, 2025, 48(4): 2756-2771. doi: 10.1007/s10753-024-02228-7.

[14] Shi Q, Cheng Y, Dong X, et al. Effects of rhaponticin on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes through NRF2/HO-1/NF-kappaB signalling[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2020, 34(11): e22568. doi: 10.1002/jbt.22568.

[15] Iyer NV, Leung SW, Semenza GL. The human hypoxia-inducible factor 1alpha gene: HIF1A structure and evolutionary conservation[J]. Genomics, 1998, 52(2): 159-165. doi: 10.1006/geno.1998.5416.

[16] Chen D, Wu L, Liu L, et al. Comparison of HIF1A-AS1 and HIF1A-AS2 in regulating HIF-1alpha and the osteogenic differentiation of PDLCs under hypoxia[J]. Int J Mol Med, 2017, 40(5): 1529-1536. doi: 10.3892/ijmm.2017.3138.

[17] Kosyreva AM, Dzhalilova DS, Miroshnichenko EA, et al. Stratification of experimental LPS-induced systemic inflammatory response by expression level of Hif1a and NFkb genes[J]. Bull Exp Biol Med, 2024, 178(2): 261-266. doi: 10.1007/s10517-025-06318-w.

[18] Calabrese EJ. Human periodontal ligament stem cells and hormesis: enhancing cell renewal and cell differentiation[J]. Pharmacol Res, 2021, 173: 105914. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105914.

[19] Shan C, Xia Y, Wu Z, et al. HIF-1alpha and periodontitis: novel insights linking host-environment interplay to periodontal phenotypes[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2023, 184: 50-78. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2023.09.002.

[20] Nascimento GG, Alves-Costa S, Romandini M. Burden of severe periodontitis and edentulism in 2021, with projections up to 2050: the Global Burden of Disease 2021 study[J]. J Periodontal Res, 2024, 59(5): 823-867. doi: 10.1111/jre.13337.

[21] Apatzidou DA, Kinane DF. Nonsurgical mechanical treatment strategies for periodontal disease[J]. Dent Clin North Am, 2010, 54(1): 1-12. doi: 10.1016/j.cden.2009.08.006.

[22] Tomasi C, Abrahamsson KH, Apatzidou D. Subgingival instrumentation[J]. Periodontol 2000, 2023. doi: 10.1111/prd.12485.

[23] Karpinski TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine-pharmaco-biological activity and application[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19(7): 1321-1326.

[24] Pham K, Parikh K, Heinrich EC. Hypoxia and inflammation: insights from high-altitude physiology[J]. Front Physiol, 2021, 12: 676782. doi: 10.3389/fphys.2021.676782.

[25] Mcgarry T, Biniecka M, Veale DJ, et al. Hypoxia, oxidative stress and inflammation[J]. Free Radic Biol Med, 2018, 125: 15-24. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042.

[26] Yan K, Lin Q, Tang K, et al. Substance P participates in periodontitis by upregulating HIF-1alpha and RANKL/OPG ratio[J]. BMC Oral Health, 2020, 20(1): 27. doi: 10.1186/s12903-020-1017-9.

[27] Khasawneh RR, Abu-El-Rub E. Hypoxia disturbs the migration and adhesion characteristics of mesenchymal stem cells[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2022, 68(11): 28-32. doi: 10.14715/cmb/2022.68.11.5.

[28] Wu Y, Wan X, Shao Y, et al. Rhaponticin suppresses the hypoxia-induced factor-1 alpha-mediated aggressive phenotype of tongue squamous cell carcinoma[J]. Mol Cell Toxicol, 2023, 20(2): 259-269. doi: 10.1007/s13273-023-00337-2.

[29] Kim A, Ma JY. Rhaponticin decreases the metastatic and angiogenic abilities of cancer cells via suppression of the HIF-1alpha pathway[J]. Int J Oncol, 2018, 53(3): 1160-1170. doi: 10.3892/ijo.2018.4479.

[30] Mettraux GR, Gusberti FA, Graf H. Oxygen tension (pO2) in untreated human periodontal pockets[J]. J Periodontol, 1984, 55(9): 516-521. doi: 10.1902/jop.1984.55.9.516.

[31] González-Magaña A, Blanco FJ. Human PCNA structure, function and interactions[J]. Biomolecules, 2020, 10(4): 570. doi: 10.3390/biom10040570.

[32] Bianchi ME, Mezzapelle R. The chemokine receptor CXCR4 in cell proliferation and tissue regeneration[J]. Front Immunol, 2020, 11: 2109. doi: 10.3389/fimmu.2020.02109.

[33] Wu N, Song J, Liu X, et al. Effect of an low-energy Nd: YAG laser on periodontal ligament stem cell homing through the SDF-1/CXCR4 signaling pathway[J]. BMC Oral Health, 2023, 23(1): 501. doi: 10.1186/s12903-023-03132-6.

[34] Yang C, Zhong ZF, Wang SP, et al. HIF-1: structure, biology and natural modulators[J]. Chin J Nat Med, 2021, 19(7): 521-527. doi: 10.1016/s1875-5364(21)60051-1.

[35] Corcoran SE, O'Neill LA. HIF1α and metabolic reprogramming in inflammation[J]. J Clin Invest, 2016, 126(10): 3699-3707. doi: 10.1172/jci84431.

[36] Chen Q, Wang Y, Shi C, et al. Molecular mechanism of the asarum-angelica drug pair in the treatment of periodontitis based on network pharmacology and experimental verification[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(24): 17389. doi: 10.3390/ijms242417389.

(编辑:龙小芬)