

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.22.014

重组牛碱性成纤维细胞生长因子联合利多卡因治疗儿童复发性阿弗他溃疡对钟基因及炎症因子的影响

宋佳凝,孔楠楠[△]

西安市儿童医院口腔科,陕西西安 710003

摘 要:目的 探究重组牛碱性成纤维细胞生长因子(rb-bFGF)联合利多卡因治疗儿童复发性阿弗他溃疡对钟基因及炎症因子的影响。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2020 年 1 月该院收治的复发性阿弗他溃疡患儿 120 例,随机分为 rb-bFGF 组(采用 rb-bFGF 治疗)和联合组(采用 rb-bFGF 联合利多卡因治疗),每组 60 例。比较两组患儿临床症状缓解时间、钟基因表达水平和炎症因子水平。**结果** rb-bFGF 组临床缓解时间明显长于联合组($P<0.05$)。治疗前两组钟基因 Period1(Per1)和 Cry1 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);与治疗前比较,治疗 7 d 后两组患者钟基因 Per1 和 Cry1 表达水平均下降,且 rb-bFGF 组高于联合组($P<0.05$)。治疗前两组炎症因子白细胞介素(IL)-4、IL-6 和 IL-8 水平差异均无统计学意义($P>0.05$);与治疗前比较,治疗 7 d 后两组炎症因子 IL-6 和 IL-8 水平下降,且 rb-bFGF 组高于联合组($P<0.05$),而两组炎症因子 IL-4 水平升高,且 rb-bFGF 组低于联合组($P<0.05$)。**结论** rb-bFGF 联合利多卡因治疗儿童复发性阿弗他溃疡可有效缓解临床症状,减轻炎症反应,促进生物节律的恢复。

关键词:重组牛碱性成纤维细胞生长因子; 利多卡因; 复发性阿弗他溃疡; 钟基因

中图法分类号:R632.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)22-3077-04

Effects of recombinant bovine basic fibroblast growth factor combined with lidocaine on clock gene and inflammatory factors in children with recurrent aphthous ulcer

SONG Jianing, KONG Nannan[△]

Department of Stomatology, Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710003, China

Abstract: Objective To investigate the effects of recombinant bovine basic fibroblast growth factor (rb-bFGF) combined with lidocaine on clock gene and inflammatory factors in the treatment of recurrent aphthous ulcer in children. **Methods** A total of 120 children with recurrent aphthous ulcer treated in Xi'an Children's Hospital from January 2019 to January 2020 were randomly divided into rb-bFGF group (treated with rb-bFGF) and combined group (treated with rb-bFGF combined with lidocaine), with 60 cases in each group. The clinical symptom relief time, clock gene expression and inflammatory factors levels were compared between the two groups. **Results** The clinical remission time in rb-bFGF group was significantly longer than that in the combined group ($P<0.05$). There were no significant differences in the expression levels of clock genes Period 1 (Per1) and Cry1 between the two groups before treatment ($P>0.05$). Compared with those before treatment, the clock genes Per1 and Cry1 in the two groups decreased 7 days after treatment, and the clock genes Per1 and Cry1 in the rb-bFGF group were higher than those in the combined group ($P<0.05$). There was no significant difference in the levels of inflammatory factors interleukin (IL)-4, IL-6 and IL-8 between the two groups before treatment ($P>0.05$). Compared with those before treatment, the levels of inflammatory factors IL-6 and IL-8 in the two groups decreased 7 days after treatment, and those in the rb-bFGF group was higher than those in the combined group ($P<0.05$). The inflammatory factor IL-4 level increased in both groups, and that in the rb-bFGF group was lower than that in the combined group ($P<0.05$). **Conclusion** rb-bFGF combined with lidocaine in the treatment of recurrent aphthous ulcer in children could effectively alleviate clinical symptoms, reduce systemic inflammatory response and promote the recovery of biological rhythm.

Key words: recombinant bovine basic fibroblast growth factor; lidocaine; recurrent aphthous ulcer; clock gene

复发性阿弗他溃疡(RAS)是一种口腔黏膜溃疡性疾病,其特征是口腔黏膜中具有局限性边缘的小溃疡反复发作,主要影响非角化黏膜^[1]。RAS 常引起严重的疼痛和不适,影响口腔功能,如进食和饮水等,从而严重影响患者的生活质量^[2]。据统计,RAS 发病率可达 20%,且是青少年最常见的口腔黏膜疾病^[3]。RAS 的发病机制尚不清楚,但可能与免疫功能障碍、应激、创伤、遗传因素和维生素缺乏等有关^[4]。

研究表明,人体几乎所有细胞中都存在钟基因,钟基因的异常表达与各种疾病的发生发展密切相关^[5]。Period1(Per1)和 Cry1 是重要的核心钟基因,多项研究证实 Per1 和 Cry1 在胃癌和非小细胞肺癌等多种肿瘤中表达异常,但是其在儿童 RAS 中的作用尚不清楚^[6-7]。此外,临床以药物治疗 RAS 为主,常见药物有重组牛碱性成纤维细胞生长因子(rb-bFGF)、利多卡因和维生素等^[8]。因此,本研究探究 rb-bFGF 联合利多卡因治疗儿童 RAS 对患儿钟基因及炎症因子的影响,以期为临床治疗提供借鉴。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2020 年 1 月本院收治的 RAS 患儿 120 例为研究对象,随机分为 rb-bFGF 组和联合组,每组 60 例。rb-bFGF 组中,男 24 例,女 36 例;年龄(7.5±2.1)岁;溃疡分级:Ⅱ级 19 例,Ⅲ级 26 例,Ⅳ级 15 例。联合组中,男 26 例,女 34 例;年龄(7.8±1.9)岁;溃疡分级:Ⅱ级 18 例,Ⅲ级 26 例,Ⅳ级 16 例。两组患者一般资料(性别、年龄和溃疡分级)比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经过本院伦理委员会审批同意。

纳入标准:(1)患儿及家属签署知情同意书;(2)符合 RAS 诊断标准^[9];(3)身体一般状况良好。

排除标准:(1)合并其他感染及恶性肿瘤;(2)利多卡因和 rb-bFGF 过敏;(3)重要脏器功能不全。

1.2 仪器与试剂 实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪购自美国赛默飞世尔科技公司,反转录试剂盒和荧光定量试剂盒购自北京宝日医生物技术有限公司,白细胞介素(IL)-4、IL-6 和 IL-8 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.3 方法 用药前对患儿进行口腔清洁,rb-bFGF 组在餐前涂抹适量 rb-bFGF 凝胶(国药准字 S10980077,珠海亿胜生物制药有限公司)在溃疡面,3 次/天。联合组在餐前同时涂抹 rb-bFGF 和利多卡因(国药准字 H20180007,北京泰德制药股份有限公司)在溃疡面,3 次/天,用药后半小时内禁止饮食漱口,总疗程 7 d。分别记录两组患儿临床症状(疼痛消失、溃

疡愈合、进食改善)缓解时间。

PCR 检测:患者抽取清晨空腹时的静脉血,离心后按照试剂盒的说明书依次提取 RNA,评估 RNA 的完整性并反转录为 DNA。采用 PCR 检测钟基因 Per1 和 Cry1,基因扩增的条件:酶活化 95℃,10 min;变性 95℃,15 s;退火及延伸 60℃,循环 55 次。

ELISA 检测:患者抽取清晨空腹时的静脉血,离心后获得上清,按照试剂盒的说明书检测 IL-4、IL-6 和 IL-8 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS24.0 统计学软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床症状缓解时间比较 rb-bFGF 组临床症状(疼痛消失、溃疡愈合、进食改善)缓解时间均长于联合组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组临床症状缓解时间比较($\bar{x} \pm s, d$)				
组别	<i>n</i>	疼痛消失	溃疡愈合	进食改善
rb-bFGF 组	60	4.67±1.13	5.26±1.37	4.88±1.27
联合组	60	2.45±0.59	4.01±1.05	3.19±0.65
<i>t</i>		13.49	5.609	9.176
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组钟基因表达水平比较 两组钟基因表达的比较首先进行 RNA 质检,采用琼脂糖凝胶电泳,两组 18 s 条带及 28 s 条带明显,28 s 和 18 s RNA 比值约为 2:1,5 s 较为模糊,提示两组 RNA 完整无降解。见图 1。

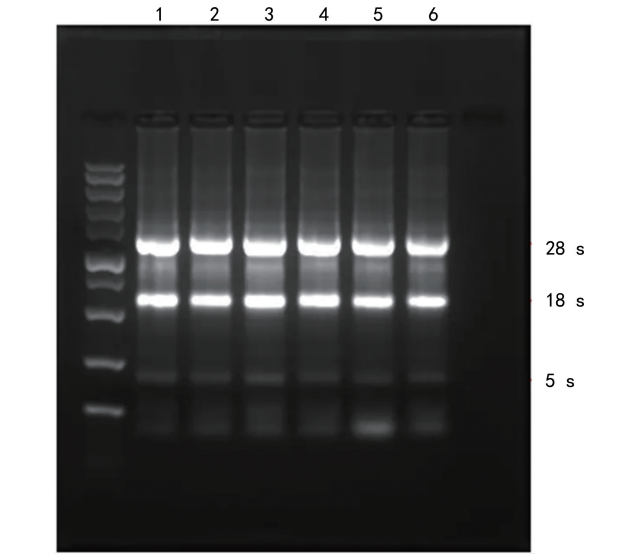
治疗前两组患者钟基因 Per1 和 Cry1 表达水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$);与治疗前比较,治疗 7 d 后两组患者钟基因 Per1 和 Cry1 表达水平均下降,且治疗 7 d 后 rb-bFGF 组高于联合组($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组钟基因表达水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	时间	Per1	Cry1
rb-bFGF 组	60	治疗前	1.87±0.38	1.76±0.32
		治疗后	1.52±0.21 ^{ab}	1.58±0.24 ^{ab}
联合组	60	治疗前	1.79±0.41	1.72±0.36
		治疗后	1.38±0.19 ^a	1.40±0.21 ^a

注:与同组治疗前,^a $P<0.05$;与联合组同时期比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 两组炎症因子水平比较 治疗前两组患者炎症因子 IL-4、IL-6 和 IL-8 水平差异均无统计学意义

($P>0.05$);与治疗前比较,治疗 7 d 后两组患者炎症因子 IL-6 和 IL-8 水平下降,且 rb-bFGF 组高于联合组($P<0.05$);炎症因子 IL-4 水平升高,且 rb-bFGF 组低于联合组($P<0.05$)。表 3。



注:1~3 代表 rb-bFGF 组 RNA 电泳,4~6 代表联合组 RNA 电泳。

图 1 RNA 电泳

表 3 两组炎症因子表达的比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)					
组别	n	时间	IL-4	IL-6	IL-8
rb-bFGF 组	60	治疗前	21.87±6.36	15.72±2.35	92.47±23.44
		治疗后	33.52±6.24 ^{ab}	10.58±1.64 ^{ab}	64.37±15.93 ^a
联合组	60	治疗前	22.75±6.41	16.22±2.33	90.22±24.97
		治疗后	43.38±7.19 ^a	8.96±1.35 ^{ab}	42.47±12.94 ^a

注:与同组治疗前,^a $P<0.05$;与联合组同时期比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨 论

RAS 属于口腔黏膜慢性炎症性疾病,该病最典型的症状是反复出现单一或多个疼痛性糜烂和溃疡,主要出现在口唇、脸颊和舌,偶尔也可发生在腭和牙龈黏膜^[10]。迄今为止,RAS 的发病机制仍未完全阐明。潜在的致病因素包括遗传易感性、病毒和细菌感染、食物过敏、维生素和微量元素缺乏、全身性疾病(如乳糜泻、克罗恩病、溃疡性结肠炎、艾滋病)、氧化应激增加、机械损伤和焦虑等,其中生物节律和炎症因子失调是致病的重要原因之一^[11]。目前临床上治疗 RAS 以对症治疗、抑制炎症和降低复发率为原则。

rb-bFGF 是来源于中胚层和神经外胚层细胞具有多种功能的细胞因子,可发挥促进细胞增殖的作用,有助于血管新生和组织损伤后修复,此外还可调节炎症反应。rb-bFGF 通过对组织的刺激作用,进而改善局部血液循环,调节免疫功能^[12]。利多卡因是一种酰胺类局部麻醉药物,具有穿透性好、灵敏度高、不

良反应少等特点,常用于局部麻醉及心律失常治疗,具有见效快、效果较强且持久等优点^[13]。研究报道,利多卡因凝胶涂抹在 RAS 溃疡面可有效缓解患者疼痛^[14]。本研究结果显示,与 rb-bFGF 组相比,联合组效果更佳,主要反映在更短的临床缓解时间,更轻的炎症反应和合适的生物节律。这可能由于两药联用的协同效应,不仅在局部也在全身发挥作用,并经由多种机制改善患者的症状。

目前的研究表明,钟基因的异常表达与肿瘤等多种疾病的发生发展密切相关^[15]。已发现 14 个钟基因,包括 Per1、Period2、Period3、Bmal1、Clock、Tim、CK1ε、NPAS2、REV-ERBs、Dec1、Dec2、Cry1、Cry2 和 ROR。这些钟基因调节着人类基因中大约 43% 编码蛋白质的基因^[15]。因此,它们对体内的许多生理过程具有重要的调节作用。Per1 和 Cry1 是核心钟基因^[16]。在本研究中,笔者分析了 rb-bFGF 联合利多卡因治疗后患者钟基因的表达水平变化,发现治疗后 Per1 和 Cry1 表达水平降低,且联合组降低更明显,这提示 RAS 可能引起患者生物节律的异常,联合治疗有效促进了生物节律的恢复。

炎症因子的失调是 RAS 的重要致病因素,IL-4 是产生于免疫系统中的一类细胞因子,属于抗炎介质,可调节免疫系统中白细胞的活性,还可参与抗体反应、造血和肿瘤监视^[17]。此外,研究表明 IL-4 水平变化与 RAS 病情紧密相关^[18]。IL-6 和 IL-8 属于趋化细胞因子,在人类生殖生理和病理过程中起一定的调节作用,其可通过细胞趋化作用实现对炎症反应的调节、杀菌和减少细胞损伤的目的,其可作为反映口腔溃疡炎症程度的重要指标^[18]。本研究结果证实,rb-bFGF 联合利多卡因可有效减轻炎症反应,其原因可能为两药联合可增加抑炎因子 IL-4 表达,减少促炎因子 IL-6 和 IL-8 表达,从而改善病变黏膜微循环,减轻黏膜损伤。

综上所述,rb-bFGF 联合利多卡因治疗儿童 RAS 可有效缓解临床症状,减轻炎症反应,促进生物节律的恢复。但本研究存在局限性,纳入样本数量有限,所得出的结论仍需大样本多中心随机对照试验证实。

参考文献

[1] 吴子湘,湛晶蕾,王浩冰,等.复发性阿弗他溃疡药物治疗的新进展[J].医学信息,2021,34(17):41-43.
[2] 年丽岩.康复新液与口腔溃疡散联合应用治疗复发性阿弗他溃疡的临床分析[J].中国现代药物应用,2021,15(14):10-12.
[3] 项海东,王一龙,刘从娜,等.康复新液治疗顽固性轻型复

发性阿弗他溃疡的效果[J]. 河北医药, 2021, 43(13): 2001-2003.

[4] 王倩. 复发性阿弗他溃疡的药物发现研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021.

[5] 陶悦, 李旭, 范隆华, 等. 核心钟基因 Clock 在原发下肢静脉曲张中的表达及其意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(15): 1658-1661.

[6] 秦青华, 邱春红. 钟基因在炎性肠病中的免疫调控研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(7): 1324-1328.

[7] MILICEVIC N, HAKKARI O A, BAGCHI U, et al. Core circadian clock genes Per1 and Per2 regulate the rhythm in photoreceptor outer segment phagocytosis[J]. FASEB J, 2021, 35(7): e21722.

[8] 刘盘龙, 吴翠, 孙帅. 重组牛碱性成纤维细胞生长因子外用溶液联合康复新液治疗复发性口腔溃疡的临床效果及复发率[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(27): 94-96.

[9] 杨卜玮. 复发性阿弗他溃疡的诊断和治疗[J/CD]. 全科口腔医学电子杂志, 2019, 6(17): 49-50.

[10] 张春雨. 复发性阿弗他溃疡病因及防治[J]. 医学食疗与健康, 2020, 18(18): 206.

[11] 蔡东霖, 卢锐. 儿童复发性阿弗他溃疡病因学的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2018, 45(2): 145-149.

[12] 李群, 谭劲, 刘寻, 等. rb-bFGF 联合利多卡因治疗儿童复发性口腔溃疡的效果及对患儿 Treg 细胞的影响[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(6): 597-601.

[13] 毛琛. 康复新液联合利多卡因辅助氧疗治疗复发性口腔溃疡对炎性因子及复发率的作用[J]. 吉林医学, 2021, 42(5): 1149-1150.

[14] 胡小梦. 维生素 E 联合利多卡因治疗口腔溃疡患儿的临床疗效分析[J]. 中国现代药物应用, 2021, 15(2): 223-224.

[15] SUYAMA A, IWATA N, SOEJIMA Y, et al. Roles of NR5A1 and NR5A2 in the regulation of steroidogenesis by Clock gene and bone morphogenetic proteins by human granulosa cells[J]. Endocr J, 2021, 68(11): 1283-1291.

[16] 李琼. 昼夜紊乱对小鼠行为、健康及钟基因的影响[D]. 大连: 大连理工大学, 2021.

[17] 杨承胜. 健脾清胃解毒汤对复发性口腔溃疡患者血清炎症因子及免疫功能的影响[J]. 医学理论与实践, 2021, 34(21): 3770-3771.

[18] 车颀, 高艳, 肖蕾, 等. 口腔溃疡相关因子的研究进展[J]. 日用化学工业, 2021, 51(9): 881-889.

(收稿日期: 2021-12-16 修回日期: 2022-04-08)

(上接第 3076 页)

[7] 张明, 王喜青, 汪静. 两种检测方法测定抗甲状腺球蛋白抗体和抗甲状腺过氧化物酶抗体结果的比较[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(6): 722-725.

[8] 李莲, 胡忠娉, 王艳. 甲状腺球蛋白抗体与过氧化物酶抗体在自身免疫性甲状腺疾病中的诊断价值[J]. 实用妇科内分泌, 2020, 7(21): 193-194.

[9] 中华人民共和国卫生部. 临床化学设备线性评价指南: WS/T408-2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.

[10] 国家食品药品监督管理局. 人抗甲状腺球蛋白抗体测定试剂盒: YY/T1594-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.

[11] 王冰, 郗洪庆, 万政, 等. 单中心 9 662 例甲状腺癌流行病学特征及临床病理特征分析[J]. 中华内分泌外科杂志, 2021, 15(4): 342-347.

[12] 李婷婷, 李素梅, 许琳琳. 甲状腺癌流行病学分析及超声诊断价值[J]. 医学信息, 2020, 33(5): 85-87.

[13] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.

[14] 王磊. 甲状腺抗体检测在甲状腺功能诊断中价值[J]. 河南预防医学杂志, 2018, 29(6): 448-449.

[15] 田亮, 霍占江, 王志杰, 等. 分化型甲状腺癌患者术后血清中 Cyfra21.1 水平检测价值研究[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2020, 27(10): 564-567.

[16] 李宁. 测定血清甲状腺球蛋白抗体和甲状腺过氧化物酶抗体在甲状腺癌诊断中的意义[J]. 实用医技杂志, 2017, 24(12): 1328-1329.

[17] 任杰, 范哲琦, 吴贝贝. 甲状腺结节患者血清抗甲状腺球蛋白抗体水平与甲状腺癌风险的关系[J]. 实用医技杂志, 2021, 28(7): 889-890.

[18] 黄燕群. 血清甲状腺球蛋白抗甲状腺球蛋白抗体及促甲状腺激素水平检测在良恶性甲状腺结节诊断中的应用[J]. 实用医技杂志, 2020, 27(5): 592-594.

[19] 孙楠, 曲守方, 于婷, 等. 人抗甲状腺球蛋白抗体测定试剂盒行业标准的建立与验证[J]. 中国药事, 2020, 34(4): 454-458.

[20] 宋兴贤, 曾秋婷. TRAb、TgAb、TP0Ab 三种自身抗体在诊疗自身免疫性甲状腺疾病中的临床价值[J]. 中国医疗器械信息, 2020, 26(20): 55.

[21] 金文琪. 血清抗甲状腺过氧化物酶抗体联合抗甲状腺球蛋白抗体检测对桥本甲状腺炎的诊断价值[J]. 河南医学研究, 2019, 28(21): 3978-3980.

(收稿日期: 2022-01-06 修回日期: 2022-06-12)