

## • 专家论坛 •

## 高原地区牙周病的系列研究

张纲 谭颖徽

(第三军医大学新桥医院口腔科 重庆 400037)

**[摘要]** 高原地区具有大气压低、氧分压低等特点,流行病学调查显示其牙周病的患病率显著高于平原地区,但人们对高原地区牙周病的发病机制缺乏足够的研究和认识。本课题组对其作了一系列的研究,通过建立大鼠和兔高原地区牙周炎的动物模型,分析探讨了影响高原地区牙周病的发生发展的相关因素等。

**[关键词]** 牙周病; 高原; 系列研究

**[中图分类号]** R 781.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2013.02.001

**Series study of periodontal diseases under highland environment** Zhang Gang, Tan Yinghui. (Dept. of Stomatology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**[Abstract]** Highland area is characterized with low atmospheric pressure and low partial pressure of oxygen. The epidemiological investigation shows that the prevalence of periodontitis in highland area is higher than that in plain area. However, there is little known about the pathogenesis of periodontitis under high altitude environment. Establishing rabbits and rats periodontitis animal models, this series of research is to investigate the correlation factors of affecting the generation and progress of periodontal diseases in highland.

**[Key words]** periodontal diseases; highland; series study

高原地区的大气压低、氧分压低、气温低、昼夜温差大、风沙大、紫外线辐射强,其最常见的口腔疾病是牙周病和慢性唇炎。在高原地区,牙周炎的患病率显著高于其他地区,高达70.2%<sup>[1]</sup>,并且具有发病隐蔽、缓慢、病程长等特点,与全身健康密切相关。原有牙周病的患者进入高原地区后,其病变进展速度亦会加快,许多患者原来松动程度仅 I ~ II 度的患牙,进入高原后 2~3 年,疾病迅速发展,甚至会发展至全口牙完全脱落。虽然对高原牙周病的临床现象已有一定认识,但人们对其发生、发展的病理生理特点仍缺乏足够的研究和认识。本课题组对其进行了一系列研究,并取得了一定研究成果。

## 1 流行病学调查

按照全军口腔健康调查方案,肖娴等<sup>[2]</sup>采用整群抽样方法选择了850名驻藏(海拔3 700 m)和879

名驻渝(海拔400 m)的某2个步兵团官兵共1 729名进行了口腔健康行为学问卷调查和口腔疾病临床检查,其中与牙周病相关的调查结果如下:1)在刷牙时间、刷牙次数、饭后漱口及定期洁治的行为上,两组相比差异无统计学意义;2)高原组牙石、牙龈出血检出率为68.6%和30.4%,平原组分别为53.5%和18.8%,高原组明显高于平原组。美军曾在1972年、1982年和1993年分别对38 890名士兵的口腔疾病进行统计发现,因口腔疾病造成每个师每年损失战斗力近18 720人次<sup>[3]</sup>。因此,应有针对性对官兵进行口腔卫生保健习惯和卫生知识的宣教和指导,减少因口腔疾病造成的非战斗减员。

## 2 建立兔和大鼠牙周炎动物模型

本课题组在国内外率先建立了高原牙周炎大鼠和兔动物模型。

### 2.1 建立大鼠高原牙周炎模型

大鼠雌雄各半共80只,两周适应性饲养后将80只大鼠随机分为4组:高原对照组、高原实验组、平原对照组及平原实验组,每组20只,分笼喂养。将高原实验组、高原对照组放入低压舱模

**[收稿日期]** 2012-09-15; **[修回日期]** 2012-11-23

**[基金项目]** 全军医药卫生科研“十一五”基金资助项目(06MA184); 全军医药卫生科研“十二五”基金资助项目(CWS11J320)

**[作者简介]** 张纲(1971—),男,湖南人,副教授,博士

**[通讯作者]** 谭颖徽, Tel: 023-68755632

拟海拔高度为 5 000 m 的生活环境, 每天低氧时间为 23 h。参照 Tomofuji 等<sup>[4]</sup>的方法复制牙周炎动物模型, 口腔正畸结扎钢丝结扎实验组大鼠右上颌第一磨牙牙颈部, 对照组不结扎; 每天高糖饮食喂养和肌注醋酸泼尼松龙 0.2 mg<sup>[5]</sup>。观察发现, 高原实验组大鼠的体质量一直呈下降趋势, 与其他各组比较差别非常显著 ( $P < 0.01$ ); 建模 8 周后, 高原和平原实验组大鼠的牙周组织糜烂、萎缩, 牙周有大量食物残渣, 牙龈触之出血或有自发性出血现象, 实验组牙龈斑指数 (plaque index, PLI)、牙周袋深度及牙槽嵴高度均出现明显的变化; 高原实验组的附着丧失 (attachment loss, AL)、出血指数 (bleeding index, BI)、PLI 三项临床指标均明显高于其余各组, 并且差异有统计学意义<sup>[6]</sup>。

## 2.2 建立兔高原牙周炎模型

选用中国大白兔 40 只随机平均分为平原对照组、平原实验组、高原对照组及高原实验组, 高原组送入低压氧舱内饲养, 平原组在平原环境下饲养, 实验组按牙周炎食谱饲养<sup>[7]</sup>, 8 周后观察兔有无牙龈组织充血、肿胀、萎缩, 有无探诊出血、牙周袋形成、牙松动等临床表现。检测牙周临床指标, 包括 AL、PLI 和牙龈指数 (gingival index, GI), 并且采集血液、龈沟液和牙周组织标本。观察发现: 高原组动物体质量生长缓慢, 后期体质量有下降趋势, 8 周时高原实验组与其他三组相比, 体质量下降较为明显; X 线片显示, 对照组牙周膜间隙未见明显异常, 牙槽嵴顶未见明显吸收, 而实验组可见牙周膜间隙增宽, 牙槽嵴顶吸收, 呈不规则降低, 其中以高原实验组最为严重; 高原实验组的牙龈明显红肿退缩, 可探及较深牙周袋; 组织切片可见, 高原实验组的上皮及固有层的结缔组织内有大量炎性细胞浸润, 牙槽嵴吸收明显, 其牙周临床指标 (AL、PLI、GI) 与其他组相比, 差异有统计学意义<sup>[8-9]</sup>。

上述研究表明, 无论是大鼠还是兔, 8 周后均能建立高原牙周炎的动物模型, 同时观察发现, 高原实验组动物的体质量会有明显下降, 并且其牙周组织的损伤最严重, 牙槽骨吸收程度也超过了其他 3 组。

## 3 龈沟液的致病菌情况

Xiao 等<sup>[10]</sup>用聚合酶链反应-变形梯度凝胶电泳技术对大鼠牙周炎龈沟液 (gingival crevicular fluid, GCF) 的致病菌群进行了多样性分析后发现, 高原

牙周炎的致病菌种属与平原组相比, 仅有牙龈卟啉单胞菌和中间普雷沃菌相同, 而其他条带均不尽相同, 且相同的优势菌的细菌数量也存在差异。由此可见, 在不同海拔高度环境下, 龈沟液中的优势菌群存在一定的差异性。

## 4 龈下菌斑菌群与高原环境的关系

在对兔动物模型的研究中发现, 平原组龈下菌斑中的细菌种类单一, 主要以 G-杆菌及球菌为主, 而高原组的细菌种类较为丰富, G-杆菌、球菌, G+杆菌均占了一定的比例。罗丽等<sup>[11]</sup>用聚合酶链反应扩增细菌 16S rDNA 片段方法检测了龈下菌斑中 6 种牙周可疑致病菌 (牙龈卟啉单胞菌、中间普雷沃菌、福赛斯坦纳菌、伴放线放线杆菌、具核梭杆菌和齿垢密螺旋体), 结果表明这 6 种牙周可疑致病菌在高原实验组和平原实验组中都可检出; 其中, 具核梭杆菌在高原实验组的检出率为 80%, 显著高于其余各组, 中间普雷沃菌在平原实验组的检出率为 70%, 显著高于其余各组。黄镜静等<sup>[12]</sup>用分离纯化培养牙龈卟啉单胞菌的方法发现, 高原实验组的检出率高达 95%, 而高原对照组的检出率仅为 55%, 平原实验组检出率为 50%, 平原对照组未检出, 这可能与样本量不足、细菌定植数量过少及传统厌氧菌培养法要求高、干扰因素多等影响因素有关。

内毒素是牙周炎症的重要病因之一, 是 G-菌独有的一类高度活性的致病物质, 龈下菌斑中内毒素的表达水平与其中定植的细菌种类及数量、牙周临床炎症程度和组织学炎症程度等显著相关<sup>[13-14]</sup>。黄镜静等<sup>[8]</sup>研究发现, 高原实验组中活菌数及内毒素水平均高于其余各组, 提示高原低压低氧的特殊环境更利于 G-厌氧菌的生长。尽管平原组的龈下菌斑中仍以 G-杆菌及球菌为主, 但其内毒素水平却显著低于高原组, 由此可见, 高原组中的 G-杆菌及球菌活跃度明显增强, 增加了内毒素的释放。高原实验组兔龈沟液 pH 值为  $7.80 \pm 0.39$ , 与平原实验组的  $7.43 \pm 0.39$  比较存在显著差异。分析其原因可能是因为, 低氧环境下口腔内唾液分泌减少, 自洁能力减弱, 加速了毒性较强的厌氧菌在龈袋内的繁殖, 使得龈袋内氧气消耗增加, 氧化还原电势降低, pH 值随之升高, 而 pH 值的升高不适宜产酸菌的生长, 故深牙周袋中 pH 值偏高呈碱性。高原实验组龈沟液的 pH 值、活菌数及内毒素水平与牙周临床指标呈正相关,

即细菌的种类、数量越多,内毒素水平越高,引发的牙周炎症的严重程度则越高。

## 5 细胞因子在高原牙周病中的作用

孔燕等<sup>[9]</sup>研究发现,高原实验组GCF中肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 、前列腺素E<sub>2</sub>(prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)的表达水平明显高于平原实验组,且与牙周破坏指数AL、PLI、BI呈显著正相关,而白细胞介素(interleukin, IL)-8的表达水平则明显低于对照组,与牙周破坏指数呈显著负相关。由此推测,海拔的升高对GCF中细胞因子浓度的变化有一定影响。

武曦等<sup>[9,15]</sup>测定了兔血清和牙龈组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力的改变,以及可溶性细胞间黏附分子(soluble intercellular adhesion molecule, sICAM)-1、可溶性血管黏附分子(soluble vascular cell adhesion molecule, sVCAM)-1表达水平的改变,并分析了这些介质与牙周临床指标的相关性,结果表明,高原实验组SOD活力较其他组显著降低,血清及牙龈组织中SOD活力与AL、PLI、GI呈明显负相关,高原实验组血清和牙龈组织中sICAM-1、sVCAM-1的含量均高于其余各组,并且其含量还与PLI、GI、AL呈正相关关系。

Canakçi等<sup>[16]</sup>研究表明,在牙周炎患者的血清、唾液、GCF中,SOD的活力和总抗氧化能力都明显降低。Van Raamsdonk等<sup>[17]</sup>研究表明,SOD能提高组织的损伤修复能力,其活性的降低提高了机体对各种刺激的敏感性,并降低修复能力。目前虽然没有直接的证据表明SOD活力的降低可以引起急性高原疾病,但是本课题组的一系列研究结果均表明,在低氧环境下,机体的抗氧化酶活性降低,尤其是局部牙龈组织中的氧化还原信号的变化增加了机体的应激反应,降低了牙周组织的损伤修复能力,这可能是高原地区牙周炎病变加重、发展迅速的一个重要原因。Park等<sup>[18]</sup>研究表明,ICAM-1、VCAM-1的启动子区域均含有一些转录因子的结合位点,能够促进单核细胞向内皮的黏附,从而导致内皮功能的紊乱和血管化的炎症。本课题组的研究结果也表明,低氧环境能促进sICAM-1和sVCAM-1的表达,增强了免疫细胞的功能,使局部牙龈组织和全身体液免疫反应增强,加剧了牙周炎症的损伤。因此,在低氧环境下,全身免疫应答水平的增强可能是引起全

身生理病理改变的重要因素之一。

综上,高原环境加快了牙周疾病的进展速度,加重了炎症的破坏程度。高原的特殊环境更有利于G-厌氧菌的定居,且致病菌释放出更多的内毒素,致使毒力增强。

## 6 参考文献

- [1] 张远华,曹楨吾. 4500米高原1000名官兵牙周炎调查分析[J]. 解放军预防医学杂志, 1995, 13(2):150-151.
- [2] 肖娴,张纲,李焰,等. 驻高原和平原官兵口腔健康状况调查[J]. 解放军预防医学杂志, 2010, 28(1):40-41.
- [3] Antoft P, Rambusch E, Antoft B, et al. Caries experience, dental health behaviour and social status—three comparative surveys among Danish military recruits in 1972, 1982 and 1993[J]. Community Dent Health, 1999, 16(2):80-84.
- [4] Tomofuji T, Azuma T, Kusano H, et al. Oxidative damage of periodontal tissue in the rat periodontitis model: Effects of a high-cholesterol diet[J]. FEBS Lett, 2006, 580(15):3601-3604.
- [5] 李生娇,曹志中,周中华. 糖皮质激素对牙周炎发病作用的实验研究[J]. 临床口腔医学杂志, 2002, 18(4):253-255.
- [6] 孔燕,肖娴,张纲,等. 模拟高原条件下大鼠牙周炎模型牙周组织中TNF- $\alpha$ 、PGE<sub>2</sub>的表达[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2009, 19(5):261-264.
- [7] 吴世莲,刘丽. 牙周炎动物模型的研究概况[J]. 口腔医学, 2006, 26(5):385-387.
- [8] 黄镜静,武曦,张纲,等. 模拟高原低氧环境对兔龈下菌斑影响的实验研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2011, 21(11):623-626.
- [9] 武曦,黄镜静,张纲,等. 高原低氧环境对兔牙周炎模型血清和牙龈组织中超氧化物歧化酶活力的影响[J]. 华西口腔医学杂志, 2012, 30(3):247-250.
- [10] Xiao X, Li Y, Zhang G, et al. Detection of bacterial diversity in rat's periodontitis model under imitational altitude hypoxia environment[J]. Arch Oral Biol, 2012, 57(1):23-29.
- [11] 罗丽,张纲,祝金香,等. 模拟高原缺氧环境对家兔慢性牙周炎龈下菌群种类分布的影响[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(3):206-209.
- [12] 黄镜静,武曦,张纲,等. 模拟高原低氧环境对牙龈卟啉单胞菌的影响[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(4):375-378.
- [13] Muthukuru M, Jotwani R, Cutler CW. Oral mucosal endotoxin tolerance induction in chronic periodontitis[J]. Infect Immun, 2005, 73(2):687-694.
- [14] Ara T, Kurata K, Hirai K, et al. Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal



了功能障碍。目前研究发现, 该位点的突变与NSCL/P<sup>[9]</sup>、卵巢癌<sup>[10]</sup>等有关。在本研究中, G等位基因的频率是0.278 1, 与Brandalize等<sup>[11]</sup>在意大利人群中的研究结果(0.21)基本一致, 且试验组和对照组间的差异无统计学意义。

MTHFD1是叶酸代谢过程中的一个关键酶, 人MTHFD1定位于14q24, 编码序列包括2 808 bp, 编码了长度为935个氨基酸的蛋白质。Mills等<sup>[12]</sup>的研究与本试验结果相比, A等位基因的频率较低, 而与Palmieri等<sup>[13]</sup>在意大利人群中的研究结果一致。

本研究结果显示: 当MTHFD1处在某一基因型时, MTR中AG、GG两基因型导致发生NSCL/P的危险性无统计学意义, 同样, 当MTR处于同一状态时, MTHFD1中GA、AA两基因型发生NSCL/P的危险性也无统计学意义。两基因间对于NSCL/P有交互作用, AG-AA、GG-GA、GG-AA型分别是AA-GG型发生NSCL/P的危险性的2.078、4.508、6.497倍。这表明MTR的G基因和MTHFD1的A基因同时存在会增加NSCL/P发生的危险性, 但还不能证明MTR和MTHFD1的突变就会导致NSCL/P的发生, 这可能是由于该研究人群的局限性所致。另外, NSCL/P的发生是由多种微效基因、环境因素和遗传因素相互作用的结果。因此在今后的研究中应加入环境因素的影响, 并且通过流行病学的调查, 了解孕妇怀孕过程中的其他诱发因素以及家族影响。

#### 4 参考文献

[1] Wyszynski DF. Cleft lip and palate: From origin to treatment [M]. New York: Oxford University Press, 2002: 127-157.  
 [2] Park J, Park BY, Kim HS, et al. MSX1 polymorphism associated with risk of oral cleft in Korea: Evidence from case-parent trio and case-control studies[J]. Yonsei Med J, 2007, 48(1): 101-108.

(上接第 143 页)

disease[J]. J Periodontol Res, 2009, 44(1): 21-27.  
 [15] 武曦, 黄镜静, 张纲, 等. 模拟高原低氧兔牙周炎模型血清和牙龈组织中sICAM-1及sVCAM-1的含量[J]. 实用口腔医学杂志, 2012, 28(2): 178-181.  
 [16] Canakçi CF, Tatar A, Canakçi V, et al. New evidence of premature oxidative DNA damage: Mitochondrial DNA deletion in gingival tissue of patients with periodontitis[J]. J Periodontol, 2006, 77(11): 1894-1900.  
 [17] Van Raamsdonk JM, Hekimi S. Superoxide dismutase is

[3] Cooper ME, Stone RA, Liu Y, et al. Descriptive epidemiology of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in Shanghai, China, from 1980 to 1989[J]. Cleft Palate Craniofac J, 2000, 37(3): 274-280.  
 [4] Prescott NJ, Winter RM, Malcolm S. Nonsyndromic cleft lip and palate: Complex genetics and environmental effects[J]. Ann Hum Genet, 2001, 65(Pt 6): 505-515.  
 [5] 王江波. MTR基因rs1805087多态性与非综合征性唇腭裂的相关性研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2011: 16-19.  
 [6] Galbiatti AL, Ruiz MT, Maniglia JV, et al. Head and neck cancer: Genetic polymorphisms and folate metabolism[J]. Braz J Otorhinolaryngol, 2012, 78(1): 132-139.  
 [7] Yang L, Liu L, Wang J, et al. Polymorphisms in folate-related genes: Impact on risk of adult acute lymphoblastic leukemia rather than pediatric in Han Chinese[J]. Leuk Lymphoma, 2011, 52(9): 1770-1776.  
 [8] 阴旭斌, 陈显久, 南欣荣. 中国山西省部分地区人群肌节同源结构域1基因与非综合征性唇腭裂的关联性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(28): 5301-5304.  
 [9] Mostowska A, Hozyasz KK, Wojcicki P, et al. Associations of folate and choline metabolism gene polymorphisms with orofacial clefts[J]. J Med Genet, 2010, 47(12): 809-815.  
 [10] Webb PM, Ibiebele TI, Hughes MC, et al. Folate and related micronutrients, folate-metabolising genes and risk of ovarian cancer[J]. Eur J Clin Nutr, 2011, 65(10): 1133-1140.  
 [11] Brandalize AP, Bandinelli E, Borba JB, et al. Polymorphisms in genes MTHFR, MTR and MTRR are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil[J]. Braz J Med Biol Res, 2007, 40(6): 787-791.  
 [12] Mills JL, Molloy AM, Parle-McDermott A, et al. Folate-related gene polymorphisms as risk factors for cleft lip and cleft palate[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2008, 82(9): 636-643.  
 [13] Palmieri A, Masiero E, Martinelli M, et al. The MTHFD1 gene is not involved in cleft lip with or without palate onset among the Italian population[J]. Ann Hum Genet, 2008, 72(Pt 3): 297-299.

(本文编辑 张玉楠)

dispensable for normal animal lifespan[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(15): 5785-5790.

[18] Park HJ, Jeong SK, Kim SR, et al. Resveratrol inhibits *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-induced endothelial adhesion molecule expression by suppressing NF-kappaB activation[J]. Arch Pharm Res, 2009, 32(4): 583-591.

(本文编辑 张玉楠)