

## 实验性牙周炎模型大鼠牙槽骨微结构的改变

陈景宜<sup>1</sup> 张昀<sup>1</sup> 陈彩云<sup>1</sup> 程岚<sup>2</sup> 张修银<sup>3\*</sup>

(1. 兰州市口腔医院牙周黏膜科 甘肃 兰州 730000;

2. 上海交通大学医学院附属第九人民医院牙周病科 上海 200011;

3. 上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔修复科,上海市口腔医学重点实验 上海 200011)

**[摘要]** **目的:**研究牙周炎对大鼠根分叉区牙槽骨微结构的影响。**方法:**3月龄健康未孕大鼠14只,采用丝线结扎大鼠左侧上颌第一磨牙建立实验性牙周炎模型(实验组),右侧作为对照组。分别于建模后4周及8周时处死大鼠,并测量上颌磨牙牙周探诊深度、收集上颌骨标本。采用Micro-CT分析大鼠上颌第一磨牙根中1/3区牙槽骨微结构的改变。**结果:**4周及8周实验组牙周探针深度均高于对照组( $P < 0.05$ )。Micro-CT图像分析发现对照组牙槽骨致密,主要由板状骨小梁构成;实验组牙槽骨变疏松,杆状骨小梁较多。牙槽骨微结构参数分析发现4周及8周实验组骨密度(BMD)、骨体积分数(BV/TV)及骨小梁宽度(Tb. Th.)均较对照组降低( $P < 0.05$ ),且8周实验组BMD、BV/TV、Tb. Th.较4周组降低( $P < 0.05$ )。8周实验组骨小梁数目(Tb. N.)及骨髓腔宽度(Tb. Sp.)较对照组及4周实验组均增加( $< 0.05$ )。**结论:**牙周炎可导致大鼠根分叉区牙槽骨丢失、骨小梁微结构破坏,且这种破坏随着时间延长不断加剧。

**[关键词]** 牙周炎 牙槽骨 Micro-CT 骨微结构

**[中图分类号]** R781.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-7651(2017)11-1165-04

**[doi]** 10.13701/j.cnki.kqxyj.2017.11.008

**Changes of Microarchitecture of Alveolar Bone in Experimental Periodontitis in Rats.** CHENG Jing-yi<sup>1</sup>, ZHANG Yun<sup>1</sup>, CHENG Cai-yun<sup>1</sup>, CHENG Lan<sup>2</sup>, ZHANG Xiu-yin<sup>3\*</sup>. 1. Stomatology Hospital of Lanzhou, Lanzhou 730000, China; 2. Department of Periodontics, The Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 3. Department of Prosthodontics, The Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai Key Laboratory of Stomatology, Shanghai 200011, China.

**[Abstract]** **Objective:** To study the changes of the microarchitecture of alveolar bone in the experimental periodontitis in rats. **Methods:** Fourteen 3-month-old Sprague-Dawley rats were used to establish periodontitis model by ligaturing the left maxillary 1st molar (PER), and the right maxillary 1st molar was used as control (CON). The rats were sacrificed respectively 4 weeks and 8 weeks later. The maxilla was analyzed by Micro-CT scanning. All statistical analysis was performed with SPSS. **Results:** The probing depth in PER group increased in comparison to CON group at both 4 and 8 weeks. The alveolar bone of CON group was compacted with plate-like trabecular, while the alveolar bone of PER group become porotic with rod-like trabecular. When compared with corresponding CON group, BMD, BV/TV, and Tb. Th. of alveolar bone significantly decreased in PER group at both 4 and 8 weeks. BMD, BV/TV, and Tb. Th. in 8-week PER group decreased compared with 4-week PER group. Tb. N and Tb. Sp. in 8-week PER group increased in compared with both CON group and 4-week PER group. **Conclusion:** Periodontitis could induce bone loss and deterioration of trabeculae of alveolar bone. The deterioration might be aggravated by the extended duration.

**[Key words]** Periodontitis Alveolar bone Micro-CT Microarchitecture

**基金项目** 上海高校高峰高原学科建设项目(编号:20152523)

兰州口腔临床医学中心(2014)

**作者简介** 陈景宜(1981~),男,甘肃人,学士,主治医师,主要从事牙周病临床及科研工作。

\* 通讯作者 张修银,电话:021-23271699

牙周炎(periodontitis)是一种由多种因素导致的,发生在牙周支持组织的进行性炎症疾患,是发病率最高的口腔疾病。牙槽骨丢失是牙周炎重要临床表现之一,也是牙周炎导致牙齿缺失的主要原

因<sup>[1~3]</sup>。牙菌斑是牙周炎的始动因素,亦是牙槽骨破坏的始动因素<sup>[2,4]</sup>。牙菌斑可通过脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)直接激活破骨细胞、促进骨吸收。同时,牙菌斑及其毒性产物可驱动炎症反应,激活炎性细胞(包括 T 细胞、B 细胞、中性淋巴细胞、巨噬细胞等);这些炎性细胞可释放大量炎症介质,如白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )及前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)等<sup>[2,5]</sup>。这些炎症介质可促进破骨细胞前体细胞的分化与成熟,最终导致牙槽骨的吸收与破坏<sup>[2,4,6,7]</sup>。在既往临床及基础研究中,对于牙周炎导致牙槽骨丢失的关注重点集中于牙槽嵴高度的丧失及牙周膜内破骨活性<sup>[8,9]</sup>。本研究通过建立大鼠实验牙周炎模型,采用 Micro-CT 分析建模后不同时间牙槽骨微结构的改变,阐明牙周炎对牙槽骨微结构的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 3 月龄健康未孕雌性 SD 大鼠 14 只(购置于上海斯莱克实验动物有限公司,饲养于上海交通大学医学院附属第九人民医院 SPF 级动物房,许可证号:SYXK(沪)2012-0007。本研究与动物相关的实验方法均符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》。

1.2 主要实验仪器及试剂 水合氯醛(上海国药集团);3/0 丝线(强生[中国]医疗器材有限公司);多聚甲醛(上海国药集团);乙醇(上海国药集团);GE eXplore Locus SP Micro-CT (GE Healthcare)。Micro-ct 数据分析软件 Microview ABA 2.2(GE Healthcare)。

1.3 牙周炎模型 本研究所采用的既往研究中广

泛使用地丝线建模法<sup>[9]</sup>。建模前大鼠适应性饲养 1 周。腹腔注射水合氯醛 400 mg/Kg 麻醉大鼠,分离大鼠上颌左侧第一磨牙牙周组织与牙根,将丝线结扎于牙周组织与牙根间。右侧仅分离牙周组织作为对照组。

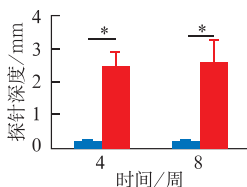


图 1 牙周探诊深度的改变 (\* P<0.05)

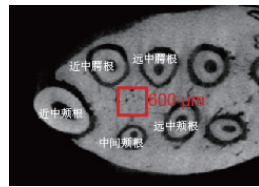


图 2 感兴趣区域示意图

Fig. 1 Changes of probing depths.

Fig. 2 Region of interest.

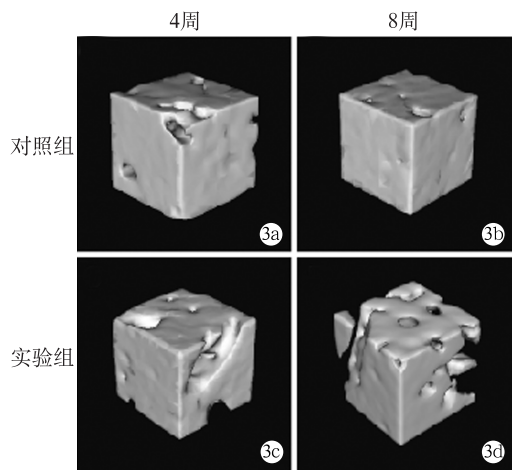


图 3 大鼠上颌第一磨牙牙槽骨三维图

Fig. 3 3-dimensional reconstruction images.

1.4 标本制备 分别于建模后 4 周及 8 周后处死大鼠各 7 只。左侧磨牙作为实验组,右侧作为对照组。采用牙周探针测量实验组及对照组上颌第一磨牙牙周探诊深度。分别测量上颌第一磨牙颊侧及舌

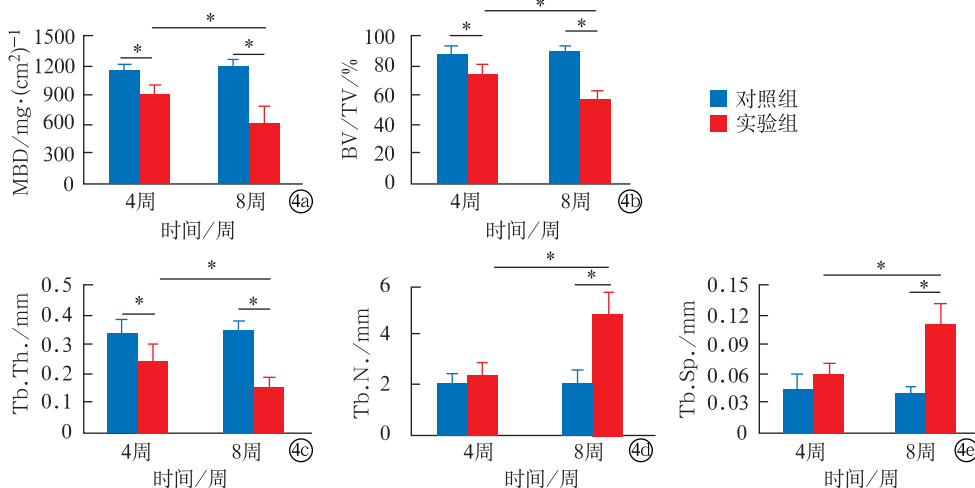


图 4 牙周炎大鼠牙槽骨微结构参数改变 (\* P<0.05)

Fig. 4 Bar diagrams illustrating the microarchitectures parametric values of the alveolar bone.

侧探针深度,取平均值作为探针深度;为减少误差每个标本由同一测量者测量两侧取平均值。取大鼠右侧上颌骨标本并修整规则,保存于 75%乙醇中。

1.5 Micro-CT 扫描及图像分析 利用 GE eXplore Locus SP Micro-CT 扫描大鼠上颌骨,所有扫描均在处死后 2 周内完成。扫描条件为,电压 80 kV、电流 80  $\mu$ A、分辨率 18  $\mu$ m。利用 Microview ABA 2.2 重建大鼠牙槽骨三维图像,并分析骨微结构。根据既往研究结果<sup>[10,11]</sup>,本研究选取的牙槽骨感兴趣区域(Region of Interest, ROI)为上颌第一磨牙远中腭根根中 1/3 区,牙槽骨间隔内一边长为 800  $\mu$ m 的立方骨区域,见图 1。确定 ROI 区域后,利用 Microview ABA 2.2 分析该区域内的骨结构参数。本研究选择的参数包括:骨矿化密度(bone mineral density, BMD),三维测量单位为 mg/cm<sup>3</sup>;骨体积分数(bone volume fraction, BVF),单位为%;骨小梁宽度(trabecular thickness, Tb. Th),单位为 mm;骨小梁数量(trabecular number, Tb. N),单位为 1/mm;骨髓腔宽度(trabecular spacing, Tb. Sp),单位是 mm。

1.6 统计学分析 本研究计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示,利用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,采用 Levene's Test 进行方差齐性检验,组间比较采用独立样本 *t* 检验,当  $P < 0.05$  时认为具有统计学差异。

## 2 结果

2.1 牙周炎模型的建立 为证实牙周炎模型的成功构建,本研究分析了实验组与对照组牙周探诊深度的差异。建模后 4 周及 8 周时,实验组牙周探诊深度均较对照组增加,表明本研究成功构建了大鼠牙周炎模型,见图 1。

2.2 大鼠牙槽骨 Micro-CT 图像分析 如图 2 所示,本研究选取区域为大鼠上颌第一磨牙根中 1/3、牙槽间隔区牙槽骨。4 周及 8 周对照组牙槽骨无显著差别,骨质致密,主要由宽大的板状骨小梁构成,骨髓腔间隙小,见图 3a、3b。4 周实验组大鼠牙槽骨较相应对照组疏松,主要表现为板状小梁骨的宽度减少,见图 3c。建模 8 周后大鼠牙槽骨疏松程度加重表现为骨小梁宽度减小,杆状骨小梁的出现及骨髓腔间隙的增加。

2.3 大鼠牙槽骨 Micro-CT 骨微结构参数分析 大鼠牙槽骨参数分析显示 4 周及 8 周对照组间无统计学差异。建模 4 周及 8 周大鼠牙槽骨骨密度(BMD)、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁宽度(Tb. Th.)均较相应对照组降低,见图 4a、4b、4c。8 周实

验组骨小梁数目(Tb. N.)及骨髓腔宽度(Tb. Sp.)较对照组增加( $P < 0.05$ ),见图 4d、4e。比较 4 周实验组和 8 周实验组牙槽骨微结构参数发现:8 周实验组牙槽骨 BMD, BV/TV 及 Tb. Th. 均较 4 周实验组降低,见图 4a、4b、4c。与此一致,8 周实验组牙槽骨 Tb. N. 及 Tb. N. 均较 4 周实验组增加,见图 4d、4e。以上结果表明对照组比较,实验组牙槽骨骨量下降,骨微结构破坏,并且随着时间延长这种破坏加剧。

## 3 讨论

作为发病率最高的口腔疾病,牙周炎已经成为威胁口腔功能及全身健康的重要疾病之一<sup>[2]</sup>。本研究通过建立实验性牙周炎模型,采用 Micro-CT 分析了牙周炎对于牙槽骨微结构的影响,证实牙周炎可导致根分叉区牙槽骨丢失,骨微结构破坏。

牙周炎的易感动物较多,包括大鼠、小型猪、羊、狗、猴等。大鼠牙周组织结构、病理过程都与人类具有许多相似之处,同时具有经济、操作方便等优点,使得大鼠成为了建立实验性牙周炎模型的理想动物<sup>[8,9]</sup>。既往研究中采用了数种建立大鼠实验性牙周炎的方法,其中采用丝线结扎大鼠磨牙法是最常用的牙周炎模型<sup>[12~14]</sup>。本研究发现丝线结扎 4 周后大鼠磨牙牙周探针深度明显增加,可达 2.5 mm,这表明该方法是一种有效的建立牙周炎模型方法。

牙槽骨结构不规则且存在牙根等硬组织的干扰,常规的二维影像学难以发现牙槽骨微结构的改变<sup>[10,13,15]</sup>。本研究应用 Micro-CT 分析了牙槽骨微结构的特点及牙周炎对牙槽骨微结构的影响,牙槽骨是一类比较致密的骨质,主要由板状骨小梁构成,其骨体积分数可超过 80%<sup>[15,16]</sup>。

骨密度(BMD)与骨体积分数(BV/TV)是临床与基础研究中最常用的衡量骨量的参数。建模 4 周与 8 周实验组大鼠牙槽骨 BMD 及 BV/TV 均较对照组下降,这表明牙周炎会导致根分叉区牙槽骨的丢失。8 周实验组 BMD 及 BV/TV 均低于 4 周实验组,表明随着时间的延长牙周炎导致牙槽骨骨量丢失会逐渐增加,这与牙周炎的临床病理过程相似<sup>[12,16,17]</sup>。

与骨量相比,骨小梁微结构参数是评价骨质量的直接指标,包括骨小梁宽度(Tb. Th.)、骨小梁数目(Tb. N.)及骨髓腔宽度(Tb. Sp.)。本研究发现建模 4 周与 8 周实验组大鼠牙槽骨 Tb. Th. 均较对照组下降;8 周实验组 Tb. Sp. 均较对照组上升,这表明牙周炎可导致牙槽骨骨小梁微结构的破坏。同

时,与4周实验组比,8周实验组 Tb, Th. 下降, Tb, Sp. 上升,表明随着时间延长牙周炎导致骨小梁微结构破坏加剧。

本研究发现8周实验组 Tb, N. 较对照组上升,这可能是由牙槽骨的特殊结果造成的,构成牙槽骨的主要是板状骨小梁,随着牙槽骨的吸收这些板状骨小梁逐渐形成相互分离的杆状骨小梁,增加了骨小梁间的连接节点,因此在牙槽骨骨量降低时 Tb, N. 反而上升。本研究采用 Micro-CT 分析了实验性牙周炎建模不同时间后根分叉区牙槽骨微结构的改变,结果表明,牙周炎可导致大鼠牙槽骨骨量降低、骨小梁微结构破坏,且这种破坏随着时间延长不断加剧。

### 参考文献

- [1] 孟焕新. 牙周病学[M]. 北京:人民卫生出版社,2012
- [2] 于世凤. 口腔组织病理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2012
- [3] Tonsekar PP, Jiang SS, and Yue G, Periodontal disease, tooth loss and dementia: Is there a link? A systematic review [J]. Gerodontology, 2017
- [4] Hienz SA, Paliwal S, and Ivanovski S, Mechanisms of bone resorption in periodontitis [J]. Journal of immunology research, 2015, 2015: 615486
- [5] Azuma MM, Samuel RO, Gomes-Filho JE, et al., The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review [J]. International endodontic journal, 2014, 47(7): 615-21
- [6] Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, et al., Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss [J]. Clinical & developmental immunology, 2013, 2013: 503754
- [7] 石丽萍,何艳艳,王丽. 大鼠实验性牙周炎治疗前后血清中 IL-18 与 sTREM-1 的浓度变化[J]. 口腔医学研究, 2015, 31(6): 591-593
- [8] Xu XC, Chen H, Zhang X, et al. Effects of oestrogen deficiency on the alveolar bone of rats with experimental peri-

odontitis [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(3): 3494-502

- [9] 张璇,王凯. 实验性牙周炎动物模型的研究进展[J]. 中国医药指南, 2016, 14(11): 39-40
- [10] Zhuang L, Bai Y, Meng X, Three-dimensional morphology of root and alveolar trabecular bone during tooth movement using micro-computed tomography [J]. Angle Orthod, 2011, 81(3): 420-425
- [11] 代庆刚,房兵,张鹏,等. 不同去势时间大鼠牙槽骨微结构变化的 Micro-CT 研究[J]. 上海口腔医学, 2014, 23(6): 641-645
- [12] Kuo PJ, Hung TF, Lin CY, et al. Carvacrol ameliorates ligation-induced periodontitis in rats [J]. J Periodontol, 2017: 1-21
- [13] Liu XL, Li CL, Lu WW, et al. Skeletal site-specific response to ovariectomy in a rat model; change in bone density and microarchitecture [J]. Clin Oral Implants Res, 2014
- [14] 李春年,武明轩,陈瑞雪,等. CRP, ICAM-1, E-selectins 在实验性牙周炎大鼠牙周组织中的表达及意义[J]. 口腔医学研究, 2015, 31(2): 109-112
- [15] Dai QG, Zhang P, Wu YQ, et al. Ovariectomy induces osteoporosis in the maxillary alveolar bone: an in vivo micro-CT and histomorphometric analysis in rats [J]. Oral Dis, 2014, 20(5): 514-20
- [16] Hatipoglu M, Saglam M, Koseoglu S, et al. The effectiveness of crataegus orientalis M bieber. (Hawthorn) extract administration in preventing alveolar bone loss in rats with experimental periodontitis [J]. PloS one, 2015, 10(6): e0128134
- [17] de Oliveira PA, de Pizzol-Junior JP, Longhini R, et al. Citimetidine reduces interleukin-6, matrix metalloproteinases-1 and -9 immunoreexpression in the gingival mucosa of rat molars with induced periodontal disease [J]. J Periodontol, 2017, 88(1): 100-111

[收稿日期:2017-05-11]

(本文编辑 汪喻忠)

## 关于《口腔医学研究》启用在线投稿系统的启事

《口腔医学研究》杂志网址为 [www.kqxyj.com](http://www.kqxyj.com),网站主要包括投稿与查询系统、编辑加工系统、专家远程审稿系统3部分。作者可以通过网站投稿并查询稿件处理情况,审稿专家可实现网上审稿。

作者投稿的步骤:登录《口腔医学研究》网站→点击左侧“作者投稿系统”→注册→填写个人资料→登陆“作者投稿系统”即可。初次注册可能需要花费一定时间,但注册成功后投稿和查询便可节约大量时间和精力,今后投稿无需再次注册。

此外,编辑部的有关公告和通知也将通过网站发布,编辑部联系电话:027-87686117, E-mail: [kqxyj@163.com](mailto:kqxyj@163.com)。