



在线全文

牙周疾病动物模型复制研究进展*

王霏扬^{1,2,3}, 马语卓^{1,2,3}, 吕雪蓉^{1,2,3}, 张可为^{1,2,3}, 王悦^{1,2,3},
盛佳琦^{1,2,3}, 曹煜^{1,2,3}, 韩香^{1,2,3}, 王晓茜^{1,2,3}[△]

1. 南京医科大学附属口腔医院 牙周病科(南京 210029); 2. 口腔疾病研究与防治国家级重点实验室培育建设点(南京 210029);
3. 江苏省口腔转化医学工程研究中心(南京 210029)

【摘要】 啮齿类动物模型在研究人类牙周疾病中占据重要地位,为探索牙周骨缺损的病理机制提供关键证据,相关研究涵盖基因表达、炎症调控机制、微生物与宿主相互作用,以及疾病消退与愈合过程。研究方法主要分为两类:牙周炎症模型和手术缺损模型。前者通过诱发牙周病模拟牙周缺损,后者则通过手术手段人为移除牙周组织,构建模拟临床牙周缺损的形态。但现有牙周疾病动物模型存在难以同时满足疾病复杂性模拟、动态修复过程追踪及临床转化需求的问题。本文回顾并总结了近年来构建牙周疾病模型的方法及其特点,提出建立多模态评估体系,如整合空间转录组学、单细胞测序及活体荧光成像等技术,或将成为突破现有研究瓶颈的关键路径。

【关键词】 牙周炎 牙槽骨吸收 动物疾病模型

Research Advances in the Replication of Animal Models for Periodontal Diseases

WANG Feiyang^{1,2,3}, MA Yuzhuo^{1,2,3}, LYU Xuerong^{1,2,3}, ZHANG Kewei^{1,2,3}, WANG Yue^{1,2,3}, SHENG Jiaqi^{1,2,3}, CAO Yu^{1,2,3}, HAN Xiang^{1,2,3}, WANG Xiaoqian^{1,2,3}[△]. 1. Department of Periodontology, The Affiliated Stomatological Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; 2. State Key Laboratory Cultivation Base of Research, Prevention and Treatment for Oral Disease, Nanjing 210029, China; 3. Jiangsu Province Engineering Research Center of Stomatological Translational Medicine, Nanjing 210029, China

△ Corresponding author, E-mail: xiaoqianwang@njmu.edu.cn

【Abstract】 Rodent models play a crucial role in research on human periodontal diseases, providing key evidence for investigation into the pathological mechanisms of periodontal bone defects. Relevant research in the field involves gene expression, inflammatory regulation mechanisms, host-microbial interactions, as well as disease resolution and healing processes. Research methodology in the field falls under 2 categories—periodontal inflammation models and surgical defect models. The former simulates periodontal defects by inducing periodontal diseases, while the latter constructs clinically simulated periodontal defects through surgical removal of periodontal tissue. However, the currently available animal models of periodontitis face challenges in simultaneously capturing the disease complexity, tracking dynamic repair processes, and meeting translational needs. Herein, we reviewed and summarized the methods and characteristics of periodontal disease modeling in recent years. We proposed the establishment of a multimodal assessment framework integrating technologies such as spatial transcriptomics, single-cell sequencing, and *in vivo* fluorescence imaging, which may serve as a critical pathway for overcoming existing research challenges.

【Key words】 Periodontitis Alveolar bone loss Disease models, animal

牙周疾病是一种影响牙周组织的炎症性疾病,包括牙龈、牙周韧带和牙槽骨,表现为牙龈炎症、牙周附着丧失以及周围组织的破坏^[1-2]。全球10%~15%的人口患有重度牙周炎,不仅会导致牙齿脱落,还会对其他全身性疾病控制和产生负面影响^[3]。目前的研究认为,与牙周疾病相关的致病菌能够进入全身血液循环,影响其他远

隔器官^[4]。建立科学、合理的牙周疾病动物模型,不仅可用于对牙周疾病病因、影响因素及发病机制的深入研究,还可进一步用于研究其对动脉粥样硬化、糖尿病和类风湿性关节炎等全身性疾病的影响^[5]。多种模型已被用于模拟牙周疾病的不同病理阶段,并探究疾病的体内机制^[6]。本文将主要综述啮齿类动物牙周疾病模型的建立方法(表1),包括牙周炎症模型和手术缺损模型,并探讨多种方法联用构建模型的策略。

1 牙周炎症模型

牙周炎症模型包括结扎法、接种细菌法、脂多糖

* 国家自然科学基金(No. 82101018)、江苏省科教能力提升工程—江苏省研究型医院建设单位(No. YJXYJSDW4)、口腔疾病防治全国重点实验室开放课题(No. SKLOD2024OF06)和江苏省医学创新中心(No. CXZX202227)资助

△ 通信作者, E-mail: xiaogianwang@njmu.edu.cn

出版日期: 2025-03-20

表 1 各种模型的适用范围和优缺点

Table 1 The scope of application and the advantages and disadvantages of various models

Type	Advantages	Disadvantages	Applicable research directions
Ligation method	Simulating natural disease progression	Being technically challenging and prone to ligature slippage	Host-pathogen interactions and drug efficacy evaluation
Bacterial inoculation method	Polymicrobial simulation for better clinical relevance	Requiring high bacterial colonization concentration	Pathogenic mechanisms of periodontal pathogens and immune regulation studies
LPS injection method	Being time-efficient with controllable dosage	Reflecting endotoxin response only and being an incomplete infection process	Anti-inflammatory drug screening and inflammatory signaling pathway research
High-sugar diet induction	Simulating diabetes comorbidity	Slow pathological progression	Mechanisms of diabetes-associated periodontitis
Bone fenestration defect	Standardized morphology	Lacking biofilm-induced inflammation	Biocompatibility testing of bone regeneration materials
Infrabony defect	Controlled regenerative assessment	Multi-walled defects may promote spontaneous healing	Validation of guided tissue regeneration (GTR) techniques
Furcation defect	Clinically relevant complex cases	Larger surgical trauma	Regenerative strategies for multi-rooted teeth

(lipopolysaccharide, LPS)注射法等,能够较好模拟人体体内牙周炎进展,但是缺损存在形态各异、难以均一化,并且构造时间较长等问题。

1.1 结扎法

结扎法是诱发牙周病最常用方法之一。通常使用不可吸收尼龙缝合线、正畸钢丝、橡皮圈等。一般选择结扎在上颌或者下颌磨牙龈沟内,绕过颊侧、唇侧以及近远中侧,最后轻轻打结以防对牙周组织造成损伤^[7]。牙菌斑会在结扎线周围积聚,结扎线的放置会导致炎症持续性浸润^[8-9]。

根据ABE等^[10]的研究,结扎法操作需要Dumont镊子、Dumont盖玻片镊子、弹簧剪刀和5-0缝合丝线。确保实验动物处于麻醉状态,并固定于操作台上。首先消毒清洁口腔,以减少感染风险。使用Dumont镊子将5-0缝合丝线轻轻穿过目标牙间隙(通常选择上颌或下颌的第一或第二磨牙区域)。将丝线绕过第二磨牙,确保丝线紧密贴合牙颈部。使用Dumont盖玻片镊子将丝线打结固定,确保结扎牢固但不过紧,以避免对牙周组织造成额外损伤。剪去多余的丝线,确保口腔内无异物残留。定期检查结扎区域,防止丝线脱落或感染。研究发现,结扎法诱导的牙周炎模型中,腭侧骨丧失研究发现,结扎后腭侧骨丧失相对平稳,颊侧则在第5至8天出现骨丧失加速。

然而,结扎法也存在一些局限性。由于啮齿类动物口腔空间狭窄,牙槽间隔不易观察,导致操作难度较大,需要借助张口器等工具。此外,大鼠咀嚼时舌头活动可能导致结扎线移位,需要频繁检查和调整。为了克服这些局限性,研究人员尝试使用正畸钢丝替代缝合线。首先在牙间隙内通过来回拉扯缝合线来留出空间以防止龈沟损伤,然后使用持针器将直径(0.2 mm、0.4 mm、0.5 mm)的正畸钢丝放入牙间隙。有项研究对操作进行了改良^[11],即使用#8和#10根管锉从尖端弯曲90°并小心插入通过推拉动作进入牙间隙,为正畸钢丝的插入创造

空间。与通过缝合线创造间隙相比,钢丝可以很容易地进入。

在结扎诱导的牙周炎模型中,细菌在结扎线及其周围区域的定植是导致局部炎症反应的关键起始因素,并且从结扎线中能够相对更容易提取和研究相关细菌。

1.2 接种细菌法

人类牙周病中牙周组织的破坏是由感染菌斑微生物引起的。宿主对细菌的免疫反应被认为在牙周组织破坏的进展中有着非常重要的作用^[12]。在接种细菌法中,常使用牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P.g*)、福赛斯坦纳菌(*Tannerella forsythia*, *T.f*)、齿垢密螺旋体(*Treponema denticola*, *T.d*)、伴放线聚集杆菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *A.a*)、具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*, *F.n*)等^[13]。在这些选择中,目前采用单独接种*P.g*或*P.g*与其他细菌联用,因为其对于牙周骨破坏影响最大^[14],*P.g*可以在口腔中存活,并侵入牙周组织,影响宿主细胞、免疫细胞。与单一微生物接种模型相比,多微生物接种模型中骨丧失更加明显^[15]。

但ANCUTA等^[16]的一项研究中,基于链球菌参与牙菌斑的早期形成^[17],*F.n*是导致生物膜形成的主要细菌^[18],*A.a*是慢性牙周炎和炎症的主要病原体^[19],所以采用以上3种混合接种。发现细菌浓度达到10⁹时能观察到明显牙周组织炎症,在这中间也同时观察到牙髓组织破坏。

有学者提出,通过注射或涂抹来接种细菌的方式与牙周病的自然起始过程并不一致;相比之下,将致病菌接种于食物中,从而使细菌在口腔中定植,这一方法更贴近期于口腔病原体自然感染的过程^[20]。

1.3 LPS注射法

LPS是革兰氏阴性菌细胞壁外膜的主要组成部分,它被免疫系统视为细菌病原体侵袭的信号,有很高的致病性和抗原性。牙周致病菌产生的LPS是一种潜在的内毒素,能够引起持续的炎症反应^[21]。当LPS被注射到牙龈组

织时,它会成为一个重要的刺激源,激活天然免疫反应。研究表明,细菌LPS能够诱导炎症细胞因子的表达,并启动骨吸收过程,最终导致骨破坏,这是牙周炎的关键病理特征^[22-23]。

为了分离和纯化细菌LPS,研究者们采用了多种方法,包括在4℃下使用三氯乙酸提取、水/丁醇提取、冷乙醇提取,在100℃水中提取、苯酚提取、氯仿提取、石油醚提取和甲醇提取等。在这些方法中,热苯酚水提取法和苯酚氯仿提取法被广泛用于从不同细菌菌株中提取LPS^[24]。在此技术操作中,一般采用28~33 G的微注射器,将悬浮在微小体积(1~10 μL)中的纯化LPS注入牙龈组织^[25]。首选的注射位置是磨牙区的腭侧或舌侧,根据实验的具体安排,每周可以进行1~3次注射。可以在牙龈沟的单个或多个位置注射LPS。注射的细菌悬浮液体积不同,诱导时间也随之变化,从而观察到不同程度的炎症和骨吸收^[26]。研究表明,首次注射后,最早在7 d内就能观察到骨丢失的情况^[27]。LPS注射方法的一个显著优点是,它能在短时间内通过直接将致病因子送入组织来诱导牙周炎。这种方法还能够对诱导过程更精细控制。而且,通过在特定位置施用LPS,可以在目标区域有效地引发炎症和骨吸收^[28]。

然而,LPS主要反映实验动物对单一细菌内毒素的急性炎症反应,不能完全模拟细菌致病的复杂过程,因此该方法主要用于评估药物对炎症的治疗效果。

1.4 高脂黏性饮食诱导模型

高糖黏性模型常与2型糖尿病(T2DM)建模方法相结合以构建糖尿病牙周炎模型。首先通过高脂饮食以诱导胰岛素抵抗,随后腹腔注射低剂量链脲佐菌素部分破坏胰岛β细胞功能,建立稳定的糖尿病模型^[29]。同步将基础饲料替换为高糖黏性食物,利用其物理黏附特性延长致龋菌在牙面的滞留时间,并通过蔗糖代谢加速牙菌斑生物膜内牙龈卟啉单胞菌的增殖。不仅能够模拟糖尿病状态下慢性炎症微环境,还通过晚期糖基化终产物(advanced glycation end-products, AGEs)加剧牙龈微血管病变^[30],使牙周炎进展速度较单一建模方法提升40%~60%,为研究糖尿病与牙周炎交互作用提供高效模型^[31]。

1.5 牙周炎症模型构建成功标准

牙周炎症动物模型的构建成功标准主要是通过临床指标、影像学图像以及组织病理学3个方面进行评估^[32]。牙龈指数应达到2级及以上(表现为明显红肿及自发性出血),探诊深度较基线增加超过1 mm,且临床附着丧失的探诊出血率阳性位点比例需达到70%以上。影像学评估

主要通过分析微型计算机断层扫描(micro-computed tomography, Micro-CT)图像。垂直骨丧失需显著高于对照组,牙槽骨颊舌向水平吸收幅度明显增加,骨体积分数(BV/TV)较对照组显著下降。组织病理学验证需满足在高倍镜视野(400×)下,炎性细胞数量较多,并观察到牙龈上皮厚度明显增加且基底膜完整性受损,上皮钉突延长等特征。

2 手术缺损模型

在构建急性牙周缺损动物模型时,通过外科手术精确去除牙槽骨(alveolar bone)、牙骨质(cementum)及牙周膜(periodontal ligament)等牙周支持组织,以模拟临床上常见的牙周组织缺损状况。制备流程快捷,确保了缺损形态与尺寸的高度标准化。因此,在探讨牙周组织再生潜力的实验研究中,急性牙周缺损模型因其可控性和重复性也被广泛认为是理想的牙周缺损实验模型^[33]。然而,由于缺乏由微生物菌斑积累引起的炎症微环境,通过急性骨缺损获得的模型在牙周炎的病因、发展和预后方面并不令人满意^[34]。手术引起的急性骨缺损缺少炎症诱导过程。因此,它并未在牙周炎相关研究中广泛使用,而更多用于材料植入后评估^[35]。

2.1 骨开窗缺损模型

SHANG等^[36]制造了一个类似骨开窗的大鼠模型用于研究一种纳米纤维屏障膜在牙周引导组织再生术中的可行性。研究者们选用雄性8周Wistar大鼠,在下颌颊侧精确地创建了一个尺寸为5 mm×4 mm×1 mm(W×L×H)的骨缺损。该缺损位于下颌前牙区后方大约1 mm处,其顶部边缘与牙槽嵴顶相距约1 mm,随后植入纳米纤维屏障膜。术后进行组织学观察与测量以分析材料的再生效果。

LIAN等^[37]为了验证一种引导骨组织再生材料,在全麻条件下,对大鼠实施口腔外科手术,通过切开并翻起粘骨膜瓣,暴露上颌第一磨牙腭侧的牙槽骨。使用牙科钻头并辅以生理盐水持续冲洗,去除部分腭侧牙槽骨,从而构建了一个长度约3 mm、宽度约1 mm、深度约2 mm的牙周骨缺损模型。实验表明此模型可用于体内牙周再生材料方法或效果评价。

2.2 骨缺损模型

ALSHERIF等^[38]提出了一种制造三壁骨缺损模型。在大鼠右侧下颌第一磨牙近中牙槽嵴处,施行一长度为3 mm的全层垂直切口。通过精细的外科技术,最小程度地掀起颊侧和舌侧的黏骨膜瓣,以暴露出牙槽骨。在持续水冷却的条件下,采用低速手机配合1 mm直径的圆形金刚砂钻头,去除了右侧下颌第一磨牙牙槽窝的近中

骨壁,精确地创建了一个三壁骨缺损。使用临床牙周探针测量缺损的尺寸,确保达到预定的 $2\text{ mm}\times 2\text{ mm}\times 1.5\text{ mm}$ ($W\times L\times H$)。随后,对暴露的根面进行根面平整,以清除牙周膜纤维。充分冲洗缺损区域,去除任何可能的手术碎屑,之后使用无菌纱布将根面彻底干燥。

BODA等^[39]制造了一种临界三壁骨缺损。首先拔除大鼠上颌第一磨牙(M1),在生理盐水冲洗的条件下,使用直径为 2 mm 的球钻,将牙槽窝扩大,形成直径 2 mm 、深度 2 mm 的骨缺损。

骨缺损可分为一壁、二壁及三壁骨缺损。缺损周围的骨壁数目显著影响缺损区域的再生效果^[40]。三壁或二壁骨缺损相较于一壁骨缺损的临床再生效果更优。究其原因,是因为围绕缺损区域的血供以及相关可再生组织来源(牙周膜与牙槽骨)在三壁及二壁骨缺损中更加充分。

在评估再生材料对牙周缺损修复效果的研究中,一个关键的标准是空白对照组的愈合速度必须低于实验组。理想的骨缺损模型应当只在再生材料的作用下才促进骨组织再生。如果缺损的尺寸过小,周围的细胞本身就具备再生能力,能够自行复制并填补缺损区域,这样就不能准确评估再生材料的实际效果。因此,为了研究牙周组织的再生能力,所采用的动物模型必须达到一个临界尺寸的缺损(critical size defect, CSD),这是评价再生材料效果的一个重要标准。当二壁或三壁骨缺损用于评价再生材料或方法时,发生自然再生的潜力比一壁骨缺损更大,从而不如一壁骨缺损更加符合CSD的概念^[41]。对于二壁骨缺损模型,组织再生的结果受到切片位置的影响,靠近侧壁的切片显示出更好的再生效果,而远离侧壁的则效果较差。因此,二壁骨缺损可能不是评估潜在生物材料的最佳选择。尽管一壁骨缺损在理论上更贴近CSD的定义,但三壁骨缺损因其结构稳定性高、更接近临床复杂病例^[42](如多根牙周围缺损),在部分研究中被提出作为潜在优选模型。因此,研究设计需权衡理论严谨性与临床相关性:若以严格隔离材料效果为目标,一壁骨缺损更优;若模拟真实临床场景,三壁骨缺损可能更具参考价值,但需辅以充分的对照组和长期观察。

2.3 根分叉缺损模型

在全身麻醉和严格无菌操作条件下,XU等^[43]在上颌第一磨牙(M1)的近中部位创造了一个 5 mm 的垂直全层黏膜切口。接着,将黏膜瓣轻轻地抬起,充分暴露M1的近中牙槽骨及腭侧牙槽嵴。利用长球钻去骨以暴露M1腭侧根分叉区,同时避免上颌窦的意外穿通。在确保去骨术野清晰后,使用牙周探针进行了精确的尺寸测量,

从而在M1的近中-腭侧根面构建一个标准的急性牙周缺损模型,其尺寸为 $3\text{ mm}\times 2\text{ mm}\times 30\text{ mm}$ ($W\times L\times H$)。随后,采用专业的牙周Gracey刮匙对根面进行了细致的清创,同时配合乙二胺四乙酸(EDTA)溶液进行根面处理,以彻底清除牙周膜和牙骨质表面的有机残留物。使用无菌生理盐水彻底冲洗缺损区域后,采用无菌棉球进行压迫止血。根据实验设计,在缺损区域分别进行了生物材料植入或直接进行瓣膜复位。在复位后,采用间断缝合技术将黏膜瓣紧密缝合,以促进创口的初期愈合过程。

WANG等^[44]在下颌下缘做一平行于下颌的 2 cm 长的口外切口,以暴露并分离皮下组织和咬肌。使用大量无菌生理盐水冲洗手术视野。采用低速手机和直径圆钻,在第二磨牙根部创建一个长 4 mm 、宽 2 mm 的缺损,直至暴露牙骨质表面。该缺损位于牙槽嵴下方 1 mm 处,以避免损伤牙根。缺损区经缓冲液冲洗两次后,根据实验分组将样本植入缺损处。该方法能够较好评价新材料的生物机械性能与牙周组织再生效果。

3 多种方法联用构建模型

MUNAR-BESTARD等^[45]联合使用结扎法和LPS注射法,发现 14 d 后龈沟液中关键炎症介质 $\text{IL-1}\beta$ 水平提高,锥形束计算机断层扫描显示骨丧失明显。GAO等^[32]首次在大鼠体内联合使用骨缺损模型和结扎模型。通过手术丝线牵拉舌头,以完全显露手术视野,随后在下颌第一磨牙和第二磨牙之间制造实验性牙周缺损,手术中提起黏膜骨膜瓣,制造 $1\text{ mm}\times 1\text{ mm}\times 1\text{ mm}$ ($W\times L\times H$)的骨缺损并对下颌第一磨牙进行结扎,发现 $9\sim 12\text{ d}$ 时骨高度下降最为明显。目前对于啮齿类动物牙周炎症模型联合手术缺损模型研究尚少,二者如何结合仍需进一步思考。

4 小结及展望

牙周疾病动物模型作为探究疾病病理机制、评价再生材料性能及揭示全身系统关联的关键实验载体,其模型构建策略面临研究范式革新。根据致病机制与建模方式差异,现有模型体系可分为炎症诱导型与手术创伤型两大研究范式。

在炎症模型构建领域,四大技术路径呈现差异化特征:①结扎法通过机械滞留菌斑模拟自然病程,虽具有病程可重复性优势,却存在操作复杂度高、动物自洁行为干扰等局限性;②多菌种复合感染模式,如*P.g.*、*T.d*和*F.n*联合接种,更符合临床致病特征,但需突破口腔定植效率与菌群稳态调控的技术瓶颈;③LPS局部注射法凭借炎症刺激强度可控性高的特点,成为信号通路研究的优选方案,

但其急性炎症模型属性与慢性病程存在病理差异;④高糖黏性膳食诱导模型创新性地整合代谢紊乱与菌斑生物膜协同效应,为糖尿病相关牙周炎研究提供了特色病理生理微环境研究基础。

手术缺损模型通过标准化牙周组织缺损构建,在生物材料骨整合性能评估中展现独特优势。然而其无菌性损伤本质与临床病损的炎性微环境存在显著差异,难以模拟宿主免疫应答动态演变过程。值得注意的是,CSD设计存在理论严谨性与临床相关性平衡难题:标准化一壁骨缺损虽满足CSD定义要求,但临床常见的多壁复合缺损因血供模式与生物力学环境差异,其再生机制可能呈现显著异质性。

当前研究体系面临双重挑战:首先是病理还原度不足,单一模型难以整合菌群失调、免疫失衡及代谢异常等多维度病理要素;其次是评估体系局限性,尽管显微CT与组织形态计量可量化骨丧失程度,但对动态修复过程监测精度不足,分子调控网络解析深度有限。建立多模态评估体系,如整合空间转录组学、单细胞测序及活体荧光成像等技术,或将成为突破现有研究瓶颈的关键路径。

* * *

作者贡献声明 王霏扬负责论文构思、调查研究、研究方法、研究项目管理、验证、可视化、初稿写作和审读与编辑写作,马语卓和吕雪蓉负责调查研究、研究方法、监督指导和初稿写作,张可为、王悦、盛佳琦和曹煜负责调查研究和监督指导,韩香负责监督指导,王晓茜负责论文构思、经费获取、调查研究、研究方法、研究项目管理、提供资源、监督指导、验证、可视化、初稿写作和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution WANG Feiyang is responsible for conceptualization, investigation, methodology, project administration, validation, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. MA Yuzhuo and LYU Xuerong are responsible for investigation, methodology, supervision, and writing--original draft. ZHANG Kewei, WANG Yue, SHENG Jiaqi, and CAO Yu are responsible for investigation and supervision. HAN Xiang is responsible for supervision. WANG Xiaoqian is responsible for conceptualization, funding acquisition, investigation, methodology, project administration, resources, supervision, validation, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

[1] FIGUEREDO C A, ABDELHAY N, FIGUEREDO C M, *et al.* The impact

- of vaping on periodontitis: a systematic review. *Clin Exp Dent Res*, 2021, 7(3): 376-384. doi: 10.1002/cre2.360.
- [2] BECK J D, PHILIPS K, MOSS K, *et al.* Periodontal disease classifications and incident coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk in Communities study. *J Periodontol*, 2020, 91(11): 1409-1418. doi: 10.1002/JPER.19-0723.
- [3] KWON T, LAMSTER I B, LEVIN L. Current concepts in the management of periodontitis. *Int Dent J*, 2021, 71(6): 462-476. doi: 10.1111/idj.12630.
- [4] KAAAN A M M, KAHHAROVA D, ZAURA E. Acquisition and establishment of the oral microbiota. *Periodontol*, 2021, 86(1): 123-141. doi: 10.1111/prd.12366.
- [5] SANTACROCE L, PASSARELLI P C, AZZOLINO D, *et al.* Oral microbiota in human health and disease: a perspective. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2023, 248(15): 1288-1301. doi: 10.1177/15353702231187645.
- [6] HAJISHENGALLIS G, CHAVAKIS T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(7): 426-440. doi: 10.1038/s41577-020-00488-6.
- [7] 李斌, 许春梅, 谢旭东, 等. 骨膜蛋白在小鼠牙周炎进程中的时空表达规律研究. *华西口腔医学杂志*, 2024, 42(3): 286-295. doi: 10.7518/hxkq.2024.2023336.
- LI W, XU C M, XIE X D, *et al.* Temporal and spatial expression analysis of periostin in mice periodontitis model. *West China J Stomatol*, 2024, 42(3): 286-295. doi: 10.7518/hxkq.2024.2023336.
- [8] AKKAOUI J, YAMADA C, DUARTE C, *et al.* Contribution of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide to experimental periodontitis in relation to aging. *Geroscience*, 2021, 43(1): 367-376. doi: 10.1007/s11357-020-00258-1.
- [9] LIN P, NIIMI H, OHSUGI Y, *et al.* Application of ligature-induced periodontitis in mice to explore the molecular mechanism of periodontal disease. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8900. doi: 10.3390/ijms22168900.
- [10] ABE T, HAJISHENGALLIS G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J Immunol Methods*, 2013, 394(1/2): 49-54. doi: 10.1016/j.jim.2013.05.002.
- [11] LI D, FENG Y, TANG H, *et al.* A Simplified and effective method for generation of experimental murine periodontitis model. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 444. doi: 10.3389/fbioe.2020.00444.
- [12] ZHOU M, GRAVES D T. Impact of the host response and osteoblast lineage cells on periodontal disease. *Front Immunol*, 2022, 13: 998244. doi: 10.3389/fimmu.2022.998244.
- [13] TANG Y, QI Y, CHEN Y, *et al.* Erythrocyte-mimicking nanovesicle targeting *Porphyromonas gingivalis* for periodontitis. *ACS Nano*, 2024, 18(32): 21077-21090. doi: 10.1021/acsnano.4c02316.
- [14] BOYER E, LEROYER P, MALHERBE L, *et al.* Oral dysbiosis induced by *Porphyromonas gingivalis* is strain-dependent in mice. *J Oral Microbiol*, 2020, 12(1): 1832837. doi: 10.1080/20002297.2020.1832837.
- [15] 孔晨, 李永丽, 李思佳, 等. 牙周炎动物模型的研究进展. *医学综述*, 2019, 25(17): 3344-3349. doi: 10.3969/j.issn.1006-2084.2019.17.004.
- KONG C, LI Y L, LI S J, *et al.* Advances in animal models of periodontitis. *Medical Recapitulate*, 2019, 25(17): 3344-3349. doi: 10.3969/j.issn.1006-2084.2019.17.004.
- [16] ANCUTA D L, ALEXANDRU D M, CRIVINEANU M, *et al.* Induction of periodontitis using bacterial strains isolated from the human oral microbiome in an experimental rat model. *Biomedicines*, 2023, 11(8): 2098. doi: 10.3390/biomedicines11082098.
- [17] AL-AHMAD A, WUNDER A, AUSCHILL T M, *et al.* The *in vivo* dynamics of *Streptococcus spp.*, *Actinomyces naeslundii*, *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella spp.* in dental plaque biofilm as analysed by five-colour multiplex fluorescence *in situ* hybridization. *J Med Microbiol*, 2007, 56(Pt 5): 681-687. doi: 10.1099/jmm.0.47094-0.
- [18] ZHOU L J, LIN W Z, MENG X Q, *et al.* Periodontitis exacerbates atherosclerosis through *Fusobacterium nucleatum*-promoted hepatic glycolysis and lipogenesis. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(8): 1706-1717. doi: 10.1093/cvr/cvad045.
- [19] MEHTA J, EATON C, ALAMRI M, *et al.* The association between *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* JP2 clone and periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res*, 2023, 58(3): 465-482. doi: 10.1111/jre.13102.
- [20] BAKER J L, MARK WELCH J L, KAUFFMAN K M, *et al.* The oral

- microbiome: diversity, biogeography and human health. *Nat Rev Microbiol*, 2024, 22(2): 89-104. doi: 10.1038/s41579-023-00963-6.
- [21] SHIBA F, FURUSHO H, TAKATA T, *et al*. Equisetum arvense inhibits alveolar bone destruction in a rat model with lipopolysaccharide (lps)-induced periodontitis. *Int J Dent*, 2022, 2022(1): 7398924. doi: 10.1155/2022/7398924.
- [22] WANG L, LI Y, HONG F, *et al*. Circ_0062491 alleviates LPS-induced apoptosis and inflammation in periodontitis by regulating miR-498/SOCS6 axis. *Innate Immun*, 2022, 28(5): 174-184. doi: 10.1177/17534259211072302.
- [23] SHI Y T, HE J M, TONG Z A, *et al*. Ligature-Induced periodontitis drives colorectal cancer: an experimental model in mice. *J Dent Res*, 2023, 102(6): 689-698. doi: 10.1177/00220345231158269.
- [24] 秦敏, 杨国友, 周富昌, 等. 甲型副伤寒沙门氏菌LPS提取和O-SP纯化. *微生物学免疫学进展*, 2005, 33(1): 27-31. doi: 10.3969/j.issn.1005-5673.2005.01.007.
- QIN M, YANG G Y, ZHOU F C, *et al*. Preparation lipopolysaccharide and purification O-SP from *Salmonella paratyphoid A*. *Prog Vet Microbiol Immunol*, 2005, 33(1): 27-31. doi: 10.3969/j.issn.1005-5673.2005.01.007.
- [25] PUSSINEN P J, KOPRA E, PIETIÄINEN M, *et al*. Periodontitis and cardiometabolic disorders: the role of lipopolysaccharide and endotoxemia. *Periodontology*, 2022, 89(1): 19-40. doi: 10.1111/prd.12433.
- [26] 杨建花, 何小宁, 刘治, 等. 甲氧螺吡啶药囊泡在小鼠实验性牙周炎治疗中的作用研究. *中华口腔医学杂志*, 2024, 59(7): 681-689. doi: 10.3760/cma.j.cn112144-20231114-00249.
- YANG J H, HE X N, LIU Z, *et al*. Study of the methotrexate loaded extracellular vesicles in the treatment of experimental periodontitis in mice. *Chin J Stomatol*, 2024, 59(7): 681-689. doi: 10.3760/cma.j.cn112144-20231114-00249.
- [27] XU W, ZHOU W, WANG H, *et al*. Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2020, 120: 45-84. doi: 10.1016/bs.apcsb.2019.12.001.
- [28] NGUYEN M P, TRAN L V H, NAMGOONG H, *et al*. Applications of different solvents and conditions for differential extraction of lipopolysaccharide in Gram-negative bacteria. *J Microbiol*, 2019, 57(8): 644-654. doi: 10.1007/s12275-019-9116-5.
- [29] MARINO F, SALERNO N, SCALISE M, *et al*. Streptozotocin-induced type 1 and 2 diabetes mellitus mouse models show different functional, cellular and molecular patterns of diabetic cardiomyopathy. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1132. doi: 10.3390/ijms24021132.
- [30] 都沙沙, 蔡智国, 杨琨, 等. 2型糖尿病伴牙周炎模型大鼠胰岛自噬及胰岛素相关基因蛋白的表达. *中国组织工程研究*, 2022, 26(29): 4605-4610. doi: 10.12307/2022.926.
- DU S S, CAI Z G, YANG K, *et al*. Pancreatic autophagy and protein expression of insulin-related genes in type 2 diabetic rats with periodontitis. *Chin J Tissue Eng Res*, 2022, 26(29): 4605-4610. doi: 10.12307/2022.926.
- [31] HANEY J M, ZIMMERMAN G J, WIKESJÖ U M. Periodontal repair in dogs: evaluation of the natural disease model. *J Clin Periodontol*, 1995, 22(3): 208-213. doi: 10.1111/j.1600-051X.1995.tb00136.x.
- [32] GAO J, CAI S, WANG Z, *et al*. The optimization of ligature/bone defect-induced periodontitis model in rats. *Odontology*, 2022, 110(4): 697-709. doi: 10.1007/s10266-022-00715-7.
- [33] 秦旭, 周红华, 李归平, 等. 锥形束计算机断层扫描在犬炎性牙周骨缺损修复中的应用评价. *兰州大学学报(医学版)*, 2023, 49(6): 15-19. doi: 10.13885/j.issn.1000-2812.2023.06.003.
- QIN X, ZHOU H H, LI G P, *et al*. Evaluation of cone beam computed tomography in the repair of inflammatory periodontal bone defect of canines. *J Lanzhou Univ Med Sci*, 2023, 49(6): 15-19. doi: 10.13885/j.issn.1000-2812.2023.06.003.
- [34] 郝思维, 丁柏辰, 刘梦蝶, 等. 牙周炎实验动物的口腔解剖生理结构与模型建立. *中国实用口腔科杂志*, 2023, 16(1): 104-109. doi: 10.19538/j.kq.2023.01.018.
- HAO S W, DING B C, LIU M D, *et al*. Oral anatomy and physiological structure and model establishment of periodontitis experimental animals. *Chin J Pract Stomatol*, 2023, 16(1): 104-109. doi: 10.19538/j.kq.2023.01.018.
- [35] QIAO X, TANG J, DOU L, *et al*. Dental pulp stem cell-derived exosomes regulate anti-inflammatory and osteogenesis in periodontal ligament stem cells and promote the repair of experimental periodontitis in rats. *Int J Nanomedicine*, 2023, 18: 4683-4703. doi: 10.2147/IJN.S420967.
- [36] SHANG L, LIU Z, MA B, *et al*. Dimethylallyl glycine/nanosilicates-loaded osteogenic/angiogenic difunctional fibrous structure for functional periodontal tissue regeneration. *Bioact Mater*, 2020, 6(4): 1175-1188. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.10.010.
- [37] LIAN M, HAN Y, SUN B, *et al*. A multifunctional electrowritten bilayered scaffold for guided bone regeneration. *Acta Biomater*, 2020, 118: 83-99. doi: 10.1016/j.actbio.2020.08.017.
- [38] ALSHERIF A A, ELTOKHEY H M, TAIEMA D A. Platelet rich fibrin versus ozone gel for periodontal regeneration in induced rats' intrabony three-wall periodontal defects. *J Oral Biol Craniofac Res*, 2020, 10(4): 639-649. doi: 10.1016/j.jobcr.2020.09.001.
- [39] BODA S K, ALMOSHARI Y, WANG H, *et al*. Mineralized nanofiber segments coupled with calcium-binding BMP-2 peptides for alveolar bone regeneration. *Acta Biomater*, 2019, 85: 282-293. doi: 10.1016/j.actbio.2018.12.051.
- [40] KIM C S, CHOI S H, CHAI J K, *et al*. Periodontal repair in surgically created intrabony defects in dogs: influence of the number of bone walls on healing response. *J Periodontol*, 2004, 75(2): 229-235. doi: 10.1902/jop.2004.75.2.229.
- [41] HUGO J, KOLDSLAND O C, AASS A M, *et al*. Development and initial testing of an *in vitro* model simulating class II furcation defects. *Clin Exp Dent Res*, 2021, 7(2): 179-188. doi: 10.1002/cre2.346.
- [42] 王爽, 孙江, 于雁云. 三壁骨缺损对牙周膜应力影响的三维有限元分析. *华西口腔医学杂志*, 2019, 37(1): 42-47. doi: 10.7518/hxkq.2019.01.008.
- WANG S, SUN J, YU Y Y. Influence of three-wall osseous defects on periodontal ligament stress with three-dimensional finite element analysis. *West China J Stomatol*, 2019, 37(1): 42-47. doi: 10.7518/hxkq.2019.01.008.
- [43] XU X, ZHOU Y, ZHENG K, *et al*. 3D polycaprolactone/gelatin-oriented electrospun scaffolds promote periodontal regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(41): 46145-46160. doi: 10.1021/acsmi.2c03705.
- [44] WANG W, WANG A, HU G, *et al*. Potential of an aligned porous hydrogel scaffold combined with periodontal ligament stem cells or gingival mesenchymal stem cells to promote tissue regeneration in rat periodontal defects. *ACS Biomater Sci Eng*, 2023, 9(4): 1961-1975. doi: 10.1021/acsbomaterials.2c01440.
- [45] MUNAR-BESTARD M, VILLA O, FERRÀ-CANELLAS M D M, *et al*. Induction of periodontitis via a combination of ligature and lipopolysaccharide injection in a rat model. *J Vis Exp*, 2023(192): e64842. doi: 10.3791/64842.

(2025-01-02收稿, 2025-03-10修回)

编辑 余琳



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*