

# 兔下颌骨前牙区剩余牙槽嵴模型的建立\*\*\*

胡杨<sup>1</sup>, 马莹<sup>2</sup>, 何惠宇<sup>1</sup>

## Establishment of a rabbit model of anterior residual alveolar ridge

Hu Yang<sup>1</sup>, Ma Ying<sup>2</sup>, He Hui-yu<sup>1</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** A proper anterior residual alveolar ridge model can provide basis for the preservation and repair of residual alveolar ridge.

**OBJECTIVE:** To establish a rabbit animal model of anterior residual alveolar ridge.

**METHODS:** The eighteen New Zealand white rabbits were selected, both side of central incisors of 18 rabbits were extracted under the general anesthesia to prepare anterior residual alveolar ridge models. Rabbits were killed at 4, 8, and 12 weeks after operation. The length, width and height of residual alveolar after extraction were measured by Vernier caliper. The healing process of teeth extraction was observed by hematoxylin-eosin staining. The remodeling of bone trabecula in after extraction was examined by X-ray.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The length, width and height of residual alveolar ridge were gradually decreased with time prolonged. Osteoblasts could be seen scattered in teeth extraction, new trabecular bone and vascular network was born. The deposition of new bone was continued in teeth extraction, the boundaries between new bone and the alveolar bone was not clear, and new bone and bone remodeling were happening in teeth extraction. Hematoxylin-eosin staining and X-ray photo showed that rabbit models of anterior residual alveolar ridge were successfully established.

Hu Y, Ma Y, He HY. Establishment of a rabbit model of anterior residual alveolar ridge. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(20): 3653-3656. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 建立合适的牙槽嵴缺损动物模型可为开展剩余牙槽嵴的保存、修复研究奠定基础。

**目的:** 建立兔下颌骨前牙区剩余牙槽嵴实验动物模型。

**方法:** 全麻下完整拔除 18 只新西兰大白兔双侧下颌中切牙建立兔下颌骨前牙区剩余牙槽嵴模型。术后 4, 8, 12 周, 处死白兔, 游标卡尺测量兔下颌剩余牙槽嵴的长度、宽度和高度, 苏木精-伊红染色观察拔牙窝的愈合程度, X 射线摄片观察兔下颌拔牙创内骨小梁改建情况。

**结果与结论:** 随着手术时间的延长, 牙槽嵴长度、宽度和高度均逐渐降低; 拔牙窝内有成骨细胞散在分布, 新生骨小梁和血管网逐渐形成, 牙槽窝持续沉积新生骨组织, 与周围牙槽骨界限不清, 骨改建生成, 拔牙创愈合。苏木精-伊红染色及 X 射线片均证实兔前牙区剩余牙槽嵴模型建立成功。

**关键词:** 剩余牙槽嵴; 下颌骨前牙区; 动物模型; 兔; 骨组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.20.011

胡杨, 马莹, 何惠宇.兔下颌骨前牙区剩余牙槽嵴模型的建立[J].中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(20):3653-3656. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

牙齿缺失后, 剩余牙槽嵴的持续性萎缩给临床活动义齿、种植义齿修复工作的开展带来很大的困难。为解决这一临床难题, 首先需选择合适的动物构建牙槽嵴缺损模型, 为开展剩余牙槽嵴的保存、修复研究奠定基础<sup>[1]</sup>。理想的拔牙创愈合动物模型要求能够较精确的复制人类颌骨改建过程, 可获得较大体积的颌骨标本, 且手术操作简便, 模型便于复制, 费用低廉。

选择合适的实验动物是成功建立牙槽嵴缺损动物模型的首要问题, 实验动物的种类、年龄等因素也是决定其成功与否的关键问题<sup>[2]</sup>。目前用于研究拔牙创愈合的动物模型有以下几种: 猴、猩猩等灵长类实验动物, 因其价格昂

贵, 不易获得, 饲养管理难度大, 难以大量推广应用<sup>[3]</sup>; 啮齿类小鼠、大鼠、兔等实验动物, 个体小, 繁殖周期短, 价格便宜, 饲养管理简便, 已有文献报道拔除其磨牙、中切牙来进行相关研究<sup>[4-7]</sup>。由于大鼠下颌中切牙拔除操作困难, 如方法不当, 会导致牙槽骨损伤引起创伤性吸收, 不利于模仿人牙槽骨拔牙后自然愈合的过程。

新西兰大白兔价格便宜, 成年个体大小适宜, 饲养周期较短, 性格温顺, 便于饲养管理, 可用于构建剩余牙槽嵴动物模型。与大鼠比较, 兔中切牙牙体较大, 牙位突出, 拔除术操作简易, 可完整、无创拔出下颌中切牙, 形成的拔牙窝深大, 便于骨替代材料的植入, 并可获得较多的颌骨标本进行研究。由于兔是以磨牙为咀嚼中心的咀嚼习惯, 故选用下颌骨中切牙区

<sup>1</sup>Department of Stomatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; <sup>2</sup>Department of Stomatology, Tianhe Central Hospital, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China

Hu Yang★, Master, Physician, Department of Stomatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China Joe98344@sina.cn

Correspondence to: He Hui-yu, Doctor, Professor, Chief physician, Department of Stomatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China hehuiyu2@sina.com

Supported by: the Tackle Key Program in Science and Technology of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 200533118\*; the Scientific Research Plan in Colleges and Universities of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. xj EDU2009122\*; the Science and Technology Items of Urumqi, No. Y09131002\*

Received: 2010-11-02 Accepted: 2010-12-10

<sup>1</sup> 新疆医科大学第一附属医院口腔修复科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054;  
<sup>2</sup> 广州市天河区中心医院口腔科, 广东省广州市 510630

胡杨★, 男, 1983年生, 汉族, 湖北省黄冈市人, 2009年新疆医科大学毕业, 硕士, 医师, 主要从事组织工程与口腔种植修复技术方面的研究。  
Joe98344@sina.cn

通讯作者: 何惠宇, 博士, 教授, 主任医师, 新疆医科大学第一附属医院口腔修复科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054  
hehuiyu2@sina.com

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2011)20-03653-04

收稿日期: 2010-11-02  
修回日期: 2010-12-10  
(20100902010/WLM - 2)

建立拔牙创骨缺损, 可避免动物因为建模手术而导致进食困难, 以致死亡。

目前国内有关建立拔牙后剩余牙槽嵴动物模型方面的研究较少, 实验的目的是探讨完整、无损伤地拔除下颌中切牙, 建立兔剩余牙槽嵴吸收的动物模型, 通过形态学测量、苏木精-伊红染色和X射线摄片的方法观察剩余牙槽嵴骨改建过程。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照设计。

**时间和地点:** 于2008-10/2009-09在新疆医科大学第一附属医院实验动物科学研究部完成。

**材料:**

**实验动物:** 健康普通级3月龄新西兰大白兔18只, 雌雄不限, 体质量2.2~2.5 kg。由新疆医科大学医学实验动物中心提供。动物饲养在室温18~24℃, 湿度40%~60%的环境中, 昼夜规律光照。雌性均为非孕期, 所有白兔口腔黏膜无炎症(色泽正常、无出血、形态完整)。

**试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
持针器等手术器械	山东新华公司, 中国
地西洋注射液	天津金耀氨基酸公司, 中国
盐酸氯胺酮注射液	福建古田药业有限公司, 中国
游标卡尺	迪卡量具公司, 中国
BX41TF 光学显微镜	OLYMPUS 公司, 日本
BA600MOT 自动显微镜控制系统	Motic 公司, 德国
RM 2235 切片机	LEICA, 德国

**方法:**

**兔下颌骨前牙区剩余牙槽嵴模型的建立:** 耳缘静脉注射氯胺酮(10 mg/kg)与地西洋(0.5 mg/kg)的混合液2 mL麻醉白兔, 牙龈分离器钝性分离牙龈, 持针器沿近、远、中方向夹持下颌一侧中切牙, 沿下颌中切牙牙体长轴方向拔除另一侧下颌中切牙。术后4, 8, 12周, 每次取6只白兔用于实验。

**游标卡尺测量:** 白兔处死后, 完整分离左右两侧下颌骨, 去净软组织, 测量下颌骨正中联合处牙槽嵴顶到第一前磨牙近中面处之间牙槽嵴长度、高度和宽度。所有解剖数据均由同一操作者测量3次, 取平均值并记录。

**牙槽嵴高度:** 选取两点, 正中联合处牙槽嵴顶至下颌骨下缘垂直距离; 第一前磨牙近中

面处牙槽嵴顶至下颌骨下缘垂直距离。

**牙槽嵴宽度:** 选取两点, 正中联合处牙槽嵴顶颊舌径; 第一前磨牙近中面处下颌骨颊舌径。

**牙槽嵴长度:** 第一前磨牙近中面处至正中联合处牙槽嵴顶距离。

**苏木精-伊红染色:** 白兔处死后, 取双侧下颌骨, 去净软组织, 置于体积分数10%的甲醛中固定, 常规脱钙, 乙醇逐级脱水, 石蜡包埋。以冠状面为标准做连续组织切片, 切片厚度5 μm, 行苏木精-伊红染色, 光镜下观察<sup>[7]</sup>。

**X射线摄片:** 将去净软组织的双侧下颌骨标本固定后, 平行于X射线胶片板上, 舌侧朝上, 保持颊侧与胶片板平行, 用软X射线机拍片。照射条件: 57 kV, 12 mA, 0.2 s。使用Image-Pro Plus软件采集图像, 观察拔牙区牙槽嵴骨小梁改建过程。

**主要观察指标:** 通过形态学测量、苏木精-伊红染色和X射线摄片的方法观察剩余牙槽嵴骨改建过程。

**统计学分析:** 各组数据应用PEMS 3.1 for windows软件包进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用方差分析。P < 0.05为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 纳入的18只兔的下颌中切牙均完整拔除, 2只出现轻度牙槽骨损伤, 其余16只无损伤。18只兔均进入结果分析。

**2.2 兔下颌前牙区剩余牙槽嵴长度、宽度和高度的变化** 术后4, 8, 12周, 取兔颌骨标本, 游标卡尺测量下颌前牙区剩余牙槽嵴解剖数据发现, 随手术时间的延长, 剩余牙槽嵴的长度、宽度、高度逐渐降低, 见图1。

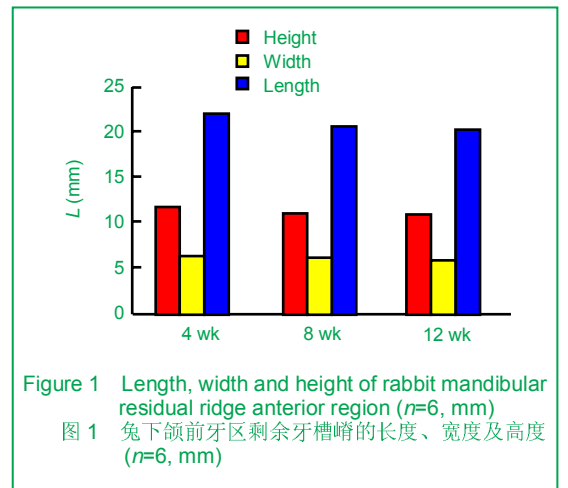


Figure 1 Length, width and height of rabbit mandibular residual ridge anterior region (n=6, mm)  
图1 兔下颌前牙区剩余牙槽嵴的长度、宽度及高度 (n=6, mm)

图1表明兔牙齿缺失后剩余前牙区牙槽嵴体积逐渐萎缩, 与临床实际中人下颌前牙区牙齿缺失后牙槽嵴萎缩类似。

### 2.3 牙槽窝组织形态学改变

#### 拔牙后 4 周:

拔牙窝内可见成骨细胞、骨细胞、成纤维细胞, 新生骨小梁形成编织骨, 排列不规则, 骨小梁间可见稀疏的血管网, 见图 2a。

#### 拔牙后 8 周:

拔牙窝内新生骨小梁继续增多, 排列较规则, 骨小梁开始改建; 细小的血管网继续增多, 排列较规则, 牙槽窝内形成类骨组织, 见图 2b。

#### 拔牙后 12 周:

几乎整个牙槽窝被新生的骨小梁填充, 排列规则; 其中有丰富的血管网, 规则排列, 新生骨小梁逐渐成熟同周围牙槽窝界限不清, 见图 2c。

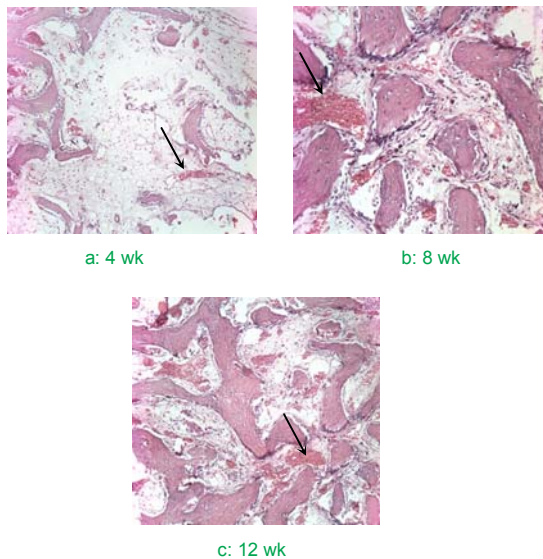


Figure 2 Morphological changes of alveolar socket after tooth extraction (Hematoxylin-eosin staining,  $\times 400$ ; arrow: new vascular network)

图 2 拔牙后牙槽窝的组织形态学变化(苏木精-伊红染色,  $\times 400$ )

### 2.4 拔牙区牙槽骨骨小梁改变

#### 拔牙后 4 周:

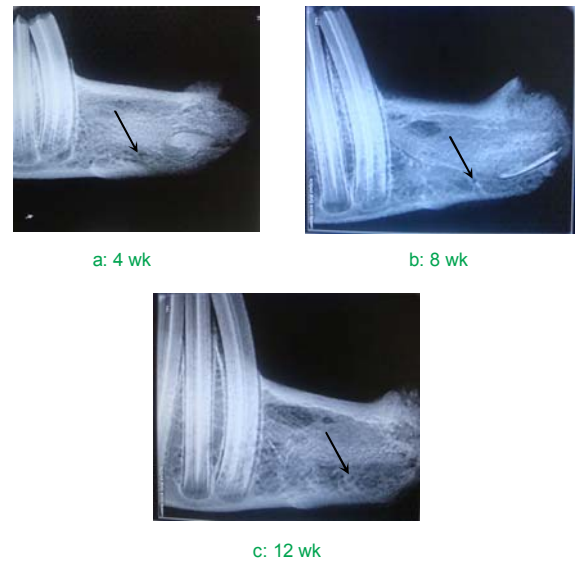
X 射线显示拔牙区牙槽嵴骨皮质与骨小梁界清, 牙槽窝内可见较高亮度的阻射区, 见图 3a。

#### 拔牙后 8 周:

拔牙区牙槽嵴骨皮质与骨松质界限不清, 牙槽窝内可见较高亮度的阻射区, 表明新骨形成, 见图 3b。

#### 拔牙后 12 周:

拔牙区牙槽嵴 X 射线显示骨皮质与骨松质界限逐渐模糊, 牙槽窝内可见低亮度的阻射区, 表明骨改建正在进行, 见图 3c。



Arrow: radiopacity area, bone reconstruction area

Figure 3 X-ray photo of mandible at different times after tooth extraction

图 3 拔牙区牙槽骨的 X 射线片

2.5 可能影响结果的因素分析 拍摄X射线片时, 在颊舌向投照的基础上, 增加唇舌向投照, 会更有说服力。

## 3 讨论

剩余牙槽嵴缺损的动物模型的建立是指在拔除动物牙齿后造成牙槽嵴缺损, 其要求能完整拔出牙齿, 牙槽窝内充盈新鲜血液, 成纤维细胞、成骨细胞、血管和结缔组织等顺利长入, 形成自然愈合模型, 并且继发慢性持续性的骨吸收, 类似人类拔牙术后颌骨改建过程。人类拔牙创愈合分4个阶段。第1阶段, 在拔牙24 h内形成血凝块, 其中包含间充质细胞、中性粒细胞、巨噬细胞及生长因子等<sup>[8]</sup>; 第2阶段, 之后的1~3周形成肉芽组织, 由炎性细胞和新生的毛细血管构成; 第3阶段, 第4~6周, 骨形成期; 第4阶段, 第4~6月, 骨成熟期, 形成层叠的编织骨<sup>[9]</sup>。骨的再矿化和沉积将会持续数月, 直至硬度达到邻牙皮质骨水平<sup>[10]</sup>。现阶段研究表明兔拔牙创的愈合及牙槽骨的改建过程, 经过纤维性骨痂及骨性骨痂的阶段完成愈合<sup>[11]</sup>, 其愈合过程与人类相似。

实验选用成年新西兰大白兔作为研究剩余牙槽嵴模型的实验动物<sup>[12]</sup>, 避免年龄因素对拔牙创牙槽骨重建过程的影响。游标卡尺测量结果显示牙槽嵴高度降低尤为明显, 与人牙槽嵴吸收类似。苏木精-伊红染色显示: 拔牙后4周, 可见不规则样结缔组织, 其间有新生毛细血管, 新生骨小梁排列不规则; 术后8, 12周时, 新生毛细血管及骨小梁增多, 且排列规则。表明兔拔牙创愈合时间和骨改建过程与人类类似<sup>[8-10]</sup>。X射线片显示: 拔

牙后4周, 牙槽窝内可见高亮度的阻射区, 牙槽窝部分被新生骨小梁填充, 与周围骨松质界限清晰; 术后8, 12周时, 牙槽窝内可见低亮度的阻射区, 新生骨小梁增多, 与周围骨松质界限逐渐模糊, 拔牙创正在进行骨改建。苏木精-伊红染色结果和X射线片结果相互印证, 表明兔拔牙创愈合过程类似人类拔牙术后颌骨改建过程。

综上所述, 采用拔除兔下颌中切牙法建立的牙槽嵴缺损动物模型其牙槽骨缺损自然愈合过程与人体类似。且该动物模型有效、可靠, 可用于剩余牙槽嵴保存修复及骨替代材料植入等基础实验研究。

#### 4 参考文献

[1] Devlin H, Sloan P. Early bone healing events in the human extraction socket. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(6):638-641.  
 [2] Hu XY, Dong FS, Zhang TJ, et al. Xiandai Kouqiang Yixue Zazhi. 2008;22(3):310-312.  
 胡晓颖,董福生,张铁军,等.骨质疏松对拔牙创愈合的影响[J].现代口腔医学杂志,2008,22(3):310-312.  
 [3] Cheng SJ, Huang R, Xu J. Jiepouxue Yanjiu. 2002;24(4):301-304.  
 程树军,黄韧,徐杰,阿尔茨海默病非人灵长类模型的研究进展[J].解剖学研究,2002,24(4):301-304.  
 [4] Pietrokovski J, Massler M. Ridge remodeling after tooth extraction in rats. *J Dent Res.* 1967;46(1):222-231.  
 [5] Hsieh YD, Devlin H, Roberts C. Early alveolar ridge osteogenesis following tooth extraction in the rat. *Arch Oral Biol.* 1994;39(5):425-428.  
 [6] Matin K, Nakamura H, Irie K, et al. Impact of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on residual ridge resorption after tooth extraction: an experimental study in the rat. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16(3):400-411.  
 [7] Wu Z, Sun HC, Che YH, et al. Shiyong Kouqiang Yixue Zazhi. 2007;23(1):36-39.  
 吴哲,孙宏晨,车彦海,等.大鼠下颌切牙拔出后剩余牙槽嵴吸收模型的建立[J].实用口腔医学杂志,2007,23(1):36-39.  
 [8] Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1969;27(3):309-318.  
 [9] Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2003;30(9):809-818.

[10] Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, et al. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003;23(4):313-323.  
 [11] Han MS, Zhao YF. Linchuang Kouqiang Yixue Zazhi. 2000;16(2):81-83.  
 韩明生,赵怡芳.下颌骨髁状突即刻再植的实验研究[J].临床口腔医学杂志,2000,16(2):81-83.  
 [12] Tang Q, Wang RF, Chen LL. Zhejiang Shiyong Yixue. 2008;2(13):11-13.  
 唐琪,王仁飞,陈莉丽.实验性牙槽骨吸收动物模型的建立[J].浙江实用医学,2008,2(13):11-13.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 新疆维吾尔自治区科技厅科技攻关项目(200533118), 课题名称: 组织工程骨用于即刻牙种植的骨结合研究; 新疆维吾尔自治区高校科研计划科学研究重点项目(xj EDU2009I22), 课题名称: bFGF 基因转染的骨髓间充质干细胞复合异种煅烧骨修复颌骨缺损的实验研究; 乌鲁木齐市科学技术计划项目(Y09131002), 课题名称: 牙周植骨术联合固定义齿夹板保留牙周炎松动牙的临床应用研究。

**作者贡献:** 何惠宇教授进行实验设计, 实验实施为马莹、胡杨, 资料收集为马莹、胡杨, 胡杨、马莹成文, 何惠宇审核, 胡杨对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理批准:** 实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》的相关要求。

**本文创新性:** 通过 CNKI 数据库进行检索, 以“兔、下颌骨、前牙区、剩余牙槽嵴”为检索词在全文中检索, 检索出 13 条相关文献, 无与文章主题密切相关研究。

#### CRTER 杂志对摘要写作的规范要求: 本刊中文部

摘要格式为背景, 目的, 方法, 结果与结论4段结构式, 中文500字左右, 英文300个单词左右。

**总体要求:** ①客观如实地反映一次文献, 不可加入编者的主观见解及解释和评论。②要有全面性、简洁性、规范性、独立性的特征。③采用第三人称的写法, 表明一次文献的性质和文献主题, 不可使用“本人”、“作者”、“我们”等作陈述主语。可省略主语。④整个摘要在保持一定逻辑关系的前提下, 文字描述应突出特色, 又严谨精炼。

**细节要求:** ①新术语或尚无合适中文术语译名, 在原文或译名后加括号注明原文。②药名需用化学名称, 首次出现时用括号注英文名。③尽量不用缩略语、略称、代号。④格式为背景, 目的, 方法, 结果与结论4段结构式, 中文500字左右, 英文300个单词左右。

**背景:** 语言应避免单一化, 应紧扣文章目的进行铺垫, 突出本文的创新点, 并且与目的及结果结论有一致性的呼应关系。

**目的:** 应阐明研究的背景、设想和目的, 不应与文题用语一致。

**方法:** 简单描述实验的方法和主要观察指标。在进行分组描述时, 应避免赘述, 只要叙述清楚各组的干预方法即可, 不必具体至药品剂量; 但应体现文章特色, 如细胞实验中突出诱导剂及辅助因子的作用时, 用法用量应具体交待。

**结果与结论:** 为避免重复, 将结果与结论合为一项。要求用简练明确的语言描述文章的主要结果, 不必罗列列出所有的数据, 也不必将正文的所有结果全部写出。结论可以与结果合二为一, 也可以在结果后面描述, 但总体原则是表述语言不重复, 并与背景、目的互相呼应, 不应出现扩大结果的主观性推论。