

## 实验性牙髓炎模型兔的构建\*★

毛小泉<sup>1</sup>, 邢璐<sup>2</sup>, 谈顺<sup>2</sup>, 吴多荣<sup>3</sup>, 徐普<sup>1</sup>, 黄茜<sup>1</sup>

### Construction of experimental pulpitis models in rabbits

Mao Xiao-quan<sup>1</sup>, Xing Lu<sup>2</sup>, Tan Shun<sup>2</sup>, Wu Duo-rong<sup>3</sup>, Xu Pu<sup>1</sup>, Huang Qian<sup>1</sup>

#### Abstract

**BACKGROUND:** Animal models of pulpitis have been established using endotoxin in the past; however, they cannot fully reflect the formation process of clinical pulpitis.

**OBJECTIVE:** To observe the inflammatory characteristics at different time points of rabbit models of pulpitis induced by *Streptococcus mutans*.

**METHODS:** The mandibular anterior teeth of 20 healthy New Zealand rabbits were divided into experiment group and control group. The lingual surfaces of the rabbit mandibular anterior teeth were drilled; normal saline was imported into the control tooth, while *Streptococcus mutans* was imported into the experiment tooth. Five rabbits were sacrificed on 1, 3, 5 and 7 days after operation, respectively; inflammation outcomes of pulpitis was observed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Inflammatory reaction in the experiment group was slight on 1 day after operation, and was aggravated gradually on 3, 5 and 7 days after operation, accompanied with vascular hyperemia in the pulp, severe effusion and necrosis of the pulp tissue. Inflammation in the control group was aggravated gradually as time went on; very few necrosis were found in the pulp tissues. These findings indicate that the forming process of pulpitis induced by *Streptococcus mutans* is more suitable to the pathological features of pulpitis.

Mao XQ, Xing L, Tan S, Wu DR, Xu P, Huang Q. Construction of experimental pulpitis models in rabbits. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(24): 4467-4470. [<http://www.crter.cn> <http://en.zglckf.com>]

#### 摘要

**背景:** 以往牙髓炎动物模型的建立大多应用内毒素, 不能完全反映临床牙髓炎的形成过程。

**目的:** 观察应用变形链球菌诱导兔牙髓炎模型不同时间炎症特征。

**方法:** 选用20只健康新西兰大白兔, 随机将下颌前牙分为实验组和对照组; 在兔两颗下颌前牙舌面钻孔, 对照组一颗置入生理盐水, 实验组另一颗置入变形链球菌, 术后1, 3, 5, 7 d各处死兔5只; 观察牙髓炎炎症转归。

**结果与结论:** 实验组术后1 d炎症反应较轻, 经过3, 5, 7 d牙髓炎炎症反应逐渐加重, 牙髓血管充血、渗出严重, 牙髓组织出现坏死。对照组牙髓炎炎症随着时间的推移, 血管扩张逐渐加重, 偶有牙髓组织坏死。结果表明, 应用变形链球菌诱导牙髓炎炎症形成过程更符合牙髓炎病理学特征。

**关键词:** 牙髓炎; 动物模型; 炎症; 兔; 组织学

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.24.020

毛小泉, 邢璐, 谈顺, 吴多荣, 徐普, 黄茜. 实验性牙髓炎模型兔的构建[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(24): 4467-4470. [<http://www.crter.org> <http://cn.zglckf.com>]

## 0 引言

牙髓炎的发生、发展及转归过程有许多核心问题迄今尚不清楚, 以往动物模型的建立大多使用内毒素<sup>[1-2]</sup>, 和临床牙髓炎的自然形成有一定差别, 不能完全反映临床牙髓炎

的形成过程<sup>[3-4]</sup>。动物模型的建立尽可能模拟炎症的发病过程<sup>[5]</sup>, 否则, 所得的结果可能会与临床实际相差甚远<sup>[6]</sup>。因此建立和牙髓炎形成过程相似的实验动物模型是非常必要的, 本文将模拟牙髓炎的形成过程, 使用变形链球菌诱导兔牙髓炎炎症, 观察炎症的发生、发展和转归。

<sup>1</sup>Hainan Provincial Stomatology Center, <sup>2</sup>Department of Pathology, <sup>3</sup>Center Laboratory, Affiliated Haikou Hospital Xiangya School of Medicine, Central South University, Haikou 570208, Hainan Province, China

Mao Xiao-quan★, Master, Associate chief physician, Hainan Provincial Stomatology Center, Affiliated Haikou Hospital Xiangya School of Medicine, Central South University, Haikou 570208, Hainan Province, China [horse.m@163.com](mailto:horse.m@163.com)

Corresponding author: Xu Pu, Doctor, Professor, Chief physician, Hainan Provincial Stomatology Center, Affiliated Haikou Hospital Xiangya School of Medicine, Central South University, Haikou 570208, Hainan Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Hainan Province, No. 807091\*

Received: 2011-11-04  
Accepted: 2011-12-03

中南大学湘雅医学院附属海口医院, <sup>1</sup> 海南省口腔医学中心, <sup>2</sup> 病理科, <sup>3</sup> 中心实验室, 海南省海口市 570208

毛小泉★, 男, 1966年生, 江西省高安市人, 汉族, 2006年遵义医学院毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事牙体牙髓研究。  
horse.m@163.com

通讯作者: 徐普, 博士, 教授, 主任医师, 中南大学湘雅医学院附属海口医院口腔中心·海南省口腔医学中心, 海南省海口市 570208

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2012)24-04467-04

收稿日期: 2011-11-04  
修回日期: 2011-12-03  
(20110104010W-LX)

## 1 材料和方法

**设计:** 自体对照动物观察。

**时间及地点:** 实验于2008-01/2010-01在海口市人民医院完成。

**材料:**

**实验动物:** 10~12月龄新西兰大白兔20只, 雌雄不限, 体质量1.7~2.2 kg, 购自长沙市开福区东创实验动物科技服务部, 许可证号: scxk(湘)2006-0001。

**主要试剂、药品及设备:**

试剂及仪器	来源
变形链球菌(细菌培养后配置为 $9 \times 10^9$ cfu/mL 备用)	购自中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心
玻璃离子水门汀(GIC)	日本 Fuji 公司
高速涡轮机	上海医用仪器设备厂
球钻(半径 0.5 mm)	日本松风公司

**实验方法:**

**动物分组:** 20只新西兰大白兔, 随机将兔下颌前牙分为实验组和对照组, 实验组使用变形链球菌诱导牙髓炎症的形成, 对照组使用生理盐水。

各组动物经10 g/L戊巴比妥(3 mL/kg)耳缘静脉麻醉后固定, 以体积分数75%乙醇消毒双侧下颌正切牙颊舌面, 用5#球钻在舌面开髓, 钻入深度9 mm(从切缘计算), 暴露穿髓点。

**建立牙髓炎模型:** 左下正切牙穿髓点处置饱和变形链球菌溶液的棉球, 右下正切牙穿髓点处则置生理盐水棉球, 再用无菌棉球擦干牙面, 玻璃离子水门汀暂封。实验组每日更换棉球, 连续3 d, 可建成满足临床条件的牙髓炎模型。

**指标检测:** 分别于建模后1, 3, 5, 7 d处死5只, 用涡轮机将下颌切牙取下, 甲醛固定24 h, 脱钙后各标本作5 μm厚的石蜡切片, 苏木精-伊红染色, 光镜观察。

**主要观察指标:** 两组成牙本质细胞排列, 炎症细胞浸润, 牙髓充血水肿情况。

## 2 结果

2.1 两组标本大体观察 髓腔约为牙长的

1/2, 自切缘垂直向下约9 mm可达髓腔; 牙髓位于牙体中部, 冠髓为2条, 长条形, 自冠部向根部逐渐增粗, 约在根中1/3处合二为一形成根髓; 根髓扁圆粗大, 冠髓为圆锥形。

**实验组:** 牙髓颜色自冠髓向根髓由紫红色逐渐转变为白色, 一般距根尖1/3处转变为白色, 有些整条牙髓呈红色。

**对照组:** 牙髓颜色自冠髓向根髓由淡红色逐渐转变为白色, 一般于根髓中部转变为白色, 也有整条牙髓呈淡红色。

2.2 两组标本组织学观察:

**术后1 d:** 实验组牙髓组织血管轻度扩张, 无炎症渗出, 无牙髓组织坏死, 根髓基本正常。成牙本质细胞排列轻度紊乱, 有时可见散在的小泡形成。牙髓中部充血明显, 偶有淋巴细胞浸润, 根髓基本正常。对照组牙髓组织有少量炎症渗出, 血管无扩张, 无牙髓组织坏死, 大部分冠髓及根髓正常, 神经细胞排列整齐, 见图1, 2。

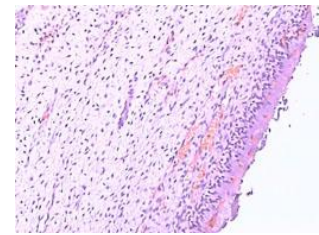


Figure 1 Histology observation of the experiment group on 1 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图1 实验组第1天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

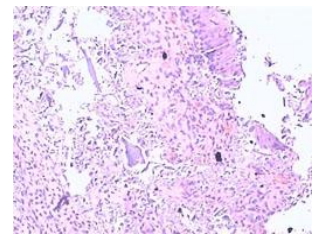


Figure 2 Histology observation of the control group on 1 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图2 对照组第1天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

**术后3 d:** 实验组牙髓充血水肿明显, 髓腔中部充血严重, 牙髓组织有明显炎症渗出和坏死, 炎症细胞浸润不明显, 有时可见微脓肿形

成。成牙本质细胞层排列紊乱, 可见有散在的小泡形成, 根髓部位的成牙本质细胞层排列轻度紊乱, 少许神经纤维退行性变, 偶有钙盐沉着。对照组穿髓孔下方偶有炎症细胞浸润, 牙髓组织血管中度扩张, 髓腔中部充血明显, 炎症渗出轻微, 未见牙髓组织坏死, 见图3, 4。

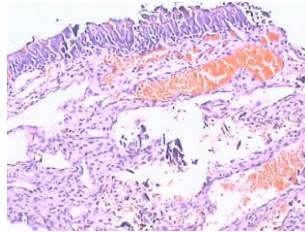


Figure 3 Histology observation of the experiment group on 3 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图3 实验组第3天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

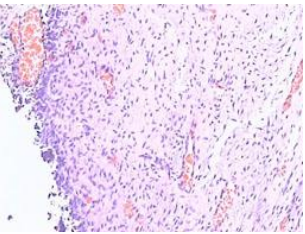


Figure 4 Histology observation of the control group on 3 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图4 对照组第3天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

术后5 d: 实验组冠髓部分坏死, 充血水肿明显, 有微脓肿形成。成牙本质细胞层排列紊乱, 空泡性变, 细胞间水泡增大融合可挤压牙本质细胞体积变形乃至萎缩消失, 根髓成牙本质细胞层排列紊乱, 髓腔中部血管充血。对照组牙髓组织血管充血明显, 炎症渗出轻微, 穿髓下方偶有炎细胞浸润, 纤维样组织增多, 未见牙髓组织坏死, 见图5, 6。

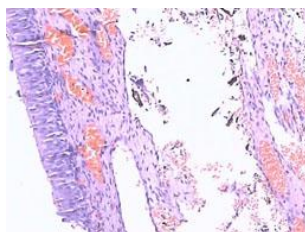


Figure 5 Histology observation of the experiment group on 5 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图5 实验组第5天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

术后7 d: 实验组牙髓组织明显坏死, 血管扩张明显, 炎症渗出严重, 冠髓部位的成牙本质细胞液化、坏死,

体积变形乃至萎缩消失, 根髓部位成牙本质细胞层排列紊乱, 空泡性变, 根管壁有少量修复性牙本质形成。牙髓中部充血水肿严重。对照组牙髓组织血管扩张明显, 炎症渗出严重, 牙髓中部充血明显, 偶有牙髓组织坏死, 见图7, 8。

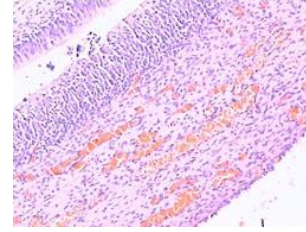


Figure 6 Histology observation of the control group on 5 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图6 对照组第5天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

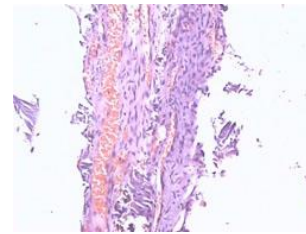


Figure 7 Histology observation of the experiment group on 7 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图7 实验组第7天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

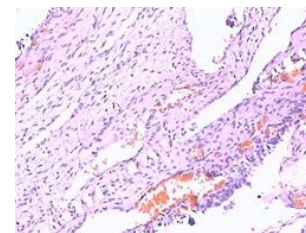


Figure 8 Histology observation of the control group on 7 d after operation (Hematoxylin-eosin staining, x10)  
图8 对照组第7天组织学观察(苏木精-伊红染色, x10)

### 3 讨论

本实验选用兔下颌前牙, 在喷水条件下用5号球钻开髓, 垂直钻入深度9 mm, 穿髓孔直径为0.5 mm, 确保在实验中穿髓孔的大小、深度基本一致, 在同一饲养条件下喂养, 外界环境和内在条件基本相同, 尽量减少误差。

本实验结果显示: 实验组术后1 d炎症反应较轻, 经过3, 5, 7 d牙髓炎症反应逐渐加重, 牙髓血管充血、

成牙本质细胞空泡性变、在根管壁可见少量修复性牙本质形成, 但炎症细胞浸润不明显, 偶有微脓肿形成; 对照组炎症反应相对轻微, 偶有炎症细胞浸润。与 Yamasaki<sup>[7]</sup>的研究结果相似。

实验组炎症反应随着时间推移逐渐加重, 血管扩张, 有时可见微脓肿形成; 成牙本质细胞排列紊乱, 细胞变性。原因可能为变形链球菌产生的蛋白酶和核酸酶降解蛋白质和DNA, 及细菌在生长过程中释放的代谢产物, 如氨、硫化氢、吲哚和有机酸直接损伤牙髓组织, 牙髓细胞受损后, 细胞膜上磷脂在各种酶的作用下, 产生前列腺素和白三烯<sup>[8]</sup>, 细菌代谢产物丁酸还可抑制成纤维细胞和T细胞分裂, 并刺激白细胞介素1释放, 刺激巨噬细胞分泌肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素6、白细胞介素8、C3、PG等多种生物活性物质<sup>[9-10]</sup>, 炎症细胞因子对创伤细胞有明显的趋化活性<sup>[11]</sup>, 促使毛细血管通透性增加。牙髓细胞在肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素1等介导下, 释放氧化产物、蛋白水解酶及多种炎性介质<sup>[12]</sup>, 这些炎症介质使毛细血管通透性增加<sup>[13-14]</sup>, 血浆成分增多, 同时前列腺素和白三烯还可趋化白细胞, 促进白细胞对病原体的吞噬和杀灭作用, 部分白细胞在吞噬过程中蜕变, 释放溶酶体酶<sup>[15-16]</sup>, 牙髓组织出现小脓肿或部分坏死。

对照组刺激相对轻微, 以血管扩张为主, 基本没有牙髓脓肿、坏死, 血管扩张仍能和炎症递质的释放有关, 但由于刺激的强度较弱, 牙髓产生的病变轻微<sup>[17]</sup>; 牙髓没有脓肿、坏死, 说明牙髓在外界刺激下的炎症反应过程和牙髓自身的防御修复潜能之间的平衡没有被打破, 牙髓病变没有超过牙髓的自身防御能力<sup>[18]</sup>。

综上所述, 变形链球菌诱导的牙髓炎模型更符合牙髓炎病理特征, 更贴近自然炎症发生、发展、转归状态。

#### 4 参考文献

- [1] Gu W, Liu HC, Guo H, et al. Zhonghua Laonian Kouqiang Yixue Zazhi. 2009;7(5):304-307.  
顾斌, 刘洪臣, 郭宏, 等. 大鼠急性牙髓炎动物模型的建立[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2009, 7(5):304-307.
- [2] Mutoh N, Tani-Ishii N, Tsukinoki K, et al. Expression of toll-like receptor 2 and 4 in dental pulp. J Endod. 2007;33(10):1183-1186.
- [3] Lü JQ, Lü TT, Zhao JX et al. Zhongguo Meitan Gongye Yixue Zazhi. 2008;11(5):734.  
吕建清, 吕亭亭, 赵锦香, 等. 急性牙髓炎的保髓治疗38例[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2008, 11(5):734.
- [4] Zhou WQ, Zhu L, Li J. Zhonghua Yiliao Qianyan. 2008; 3(24): 33.  
周伟群, 朱靓, 李军. 急性牙髓炎应急治疗的临床体会[J]. 中国医疗前沿, 2008;3(24):33.
- [5] Han J, Yang QL, Ma FQ. Heilongjiang Yiyao Kexue. 2010; 33(1): 16-17.  
韩杰, 杨青岭, 麻凤清. 实验性可复性牙髓炎动物模型的建立[J]. 黑龙江医药科学. 2010;33(1):16-17.
- [6] Wu SL, Liu L, Zheng YN, et al. Kouqiang Yixue, 2009; 29(1): 20-22.  
吴世莲, 刘丽, 郑园娜, 等. 牙周牙髓联合病变动物模型的建立[J]. 口腔医学, 2009, 29(1):20-22.
- [7] Yamasaki M, Nakamura K, Amano K, et al. Granulocyte colony-stimulating factor induced reduction in pulpal necrosis. Int Endod J. 2008;41(7):593-601.
- [8] Jia RZ, Liu XM. Zhongguo Zuzhi Huaxue Yu Xibao Huaxue Zazhi. 2009;18(5):536-540  
贾瑞喆, 刘晓梅. 足月妊娠PGE2及其受体表达与引产成功率的关系[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2009, 18(5):536-540.
- [9] Cleaton-Jones P, Duggal M, Parak R, et al. Equivalency study of histological responses to complete or partial pulpotomies in inflamed baboon immature first permanent molars. SADJ. 2007;62(2):62-65.
- [10] Cascales L, Mas-Moruno C, Tamborero S, et al. Tiratricol neutralizes bacterial endotoxins and reduces lipopolysaccharide-induced TNF-alpha production in the cell. Chem Biol Drug Des. 2008;72(4):320-328.
- [11] Nakanishi W, Masafumi G, Inagaki A, et al. A precise analysis of c5a inhibitory Peptide on inflammatory mediators induced after islet transplantation. Transplant Proc. 2011;43(9):3235-3238.
- [12] Fischer H, Taylor N, Allerstorfer S, et al. Fibroblast growth factor receptor-mediated signals contribute to the malignant phenotype of non-small cell lung cancer cells: therapeutic implications and synergism with epidermal growth factor receptor inhibition. Mol Cancer Ther. 2008;7(10):3408-3419.
- [13] Zhang GL, Li P, Li YJ, et al. Zhongguo Zhongyao Zazhi. 2011; 36(8):1083-1086.  
张甘霖, 李萍, 李玉洁, 等. 褐藻多糖硫酸酯通过溶酶体组织蛋白酶D调节过氧化氢诱导的PC12细胞凋亡[J]. 中国中药杂志. 2011, 36(8):1083-1086.
- [14] Liu HJ, Wang HJ. Zhonghua Quanke Yixue. 2011;9(2):269-270.  
刘红军, 王洪巨. 组织蛋白酶L在心血管病中的研究进展[J]. 中华全科医学, 2011;9(2):269-270.
- [15] Yao F, Jin L, Duan ML, et al. Linchuang Mazuixue Zazhi. 2010; 26(6):512-514.  
姚芬, 金利, 段满林, 等. 两种不同明胶液对脓毒症大鼠肺毛细血管漏的影响[J]. 临床麻醉学杂志. 2010, 26(6):512-514.
- [16] Ma SQ, Li W, Wang YF, et al. Shiyong Zhongyiyao Zazhi. 2011; 27(9):587-588.  
马拴全, 李伟, 王用峰, 等. 甘石冰脑洗剂对组胺及5-羟色胺所致大鼠皮肤毛细血管通透性影响研究[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(9):587-588.
- [17] Cheng YX, Li F, Lu JY, et al. Growth of G422 glioma implanted in the mouse brain was affected by the immune ability of the host. Chin Med J (Engl). 2011;124(13):1994-1998.
- [18] Yu QH, Pan XL, Xu XH. Haerbin Yikedaxue Xuebao Zazhi. 2006; 40(6):471-473.  
于清华, 潘杏兰, 许小鸿. 大鼠实验性牙髓炎的组织病理学观察[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2006, 40(6):471-473.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 海南省自然科学基金资助项目(807091)。