

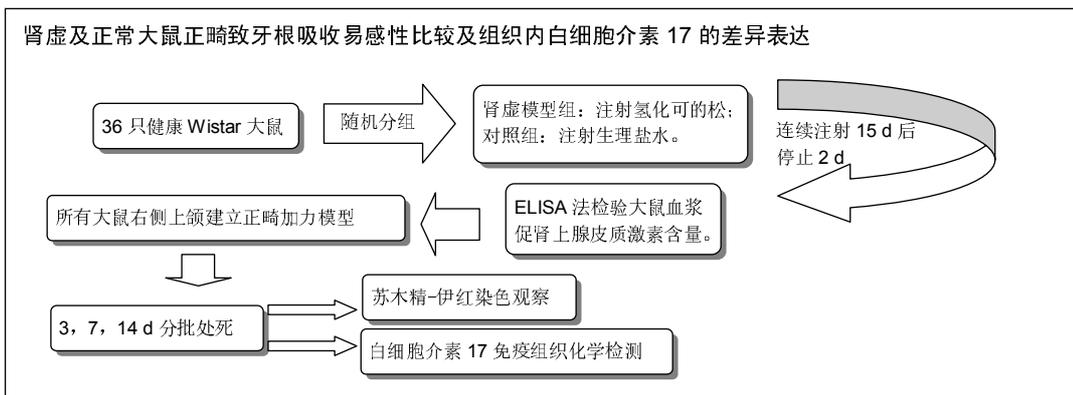
# 肾虚及正常大鼠的正畸致牙根吸收易感性比较及组织内白细胞介素17的表达差异

余彦衡, 黄昕艳, 郑 嵘, 李 超, 董 悦, 高旭广, 吴立鹏(佳木斯大学附属口腔医院正畸科, 黑龙江省佳木斯市 154000)

引用本文: 余彦衡, 黄昕艳, 郑嵘, 李超, 董悦, 高旭广, 吴立鹏. 肾虚及正常大鼠的正畸致牙根吸收易感性比较及组织内白细胞介素17的表达差异[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(51):7703-7709.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.51.016 ORCID: 0000-0002-9903-8804(余彦衡)

文章快速阅读:



余彦衡, 女, 1991年生, 湖北省荆州市人, 佳木斯大学在读硕士, 主要从事口腔正畸学研究。

通讯作者: 吴立鹏, 教授, 主任医师, 佳木斯大学附属口腔医院正畸科, 黑龙江省佳木斯市 154000

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2016)51-07703-07

稿件接受: 2016-10-07

## 文题释义:

**正畸致牙根吸收:** 在口腔正畸临床治疗过程中伴随发生的常见并发症, 伴随牙移动而产生。正畸致牙根吸收多发生与根尖区域, 表现为由外向内的吸收, 故又被称之为根尖外牙根吸收, 其发作特点为局部红、肿、热、痛, 属于有炎症特点的炎性过程。

**肾虚体质:** 现代多数学者认为中医中的“肾虚”主要与肾上腺、甲状腺、性腺三轴的紊乱及免疫力的下降有关。肾虚的主要表现为腰脊酸痛、胫酸膝软或足跟痛、耳鸣耳聋、发脱齿摇、尿有余沥或失禁、阳痿、早泄或月经不调。据中医中的虚证辩证肾虚又可分为多种, 其中最常见的是肾阴虚和肾阳虚。

## 摘要

**背景:** 正畸致牙根外吸收的发生机制目前尚不明确, 且它有较大的个体差异。肾虚体质已被证明与多种细胞因子介导的骨性疾病有直接联系, 白细胞介素17为目前研究出的参与牙根外吸收的重要细胞因子之一。明确肾虚体质是否与牙根吸收相关及白细胞介素17是否参与其中, 有助于正畸致牙根吸收的病因学研究。

**目的:** 探讨正畸移动大鼠牙过程中肾虚体质及白细胞介素17与牙根吸收的关系。

**方法:** 选择36只Wistar大鼠, 随机分为2组, 每组18只。肾虚组应用大鼠药物诱导法建立肾虚模型, 对照组给予生理盐水。肾虚模型建立后, 所有大鼠右侧上颌建立正畸加力模型, 左侧上颌不加力。正畸加力3, 7, 14 d时全麻下分批处死大鼠, 苏木精-伊红染色、免疫组化检测观察第一磨牙近中根压力侧组织形态及白细胞介素17的表达变化。

**结果与结论:** ①组织学结果: 肾虚加力组牙根压力侧吸收, 牙釉质表面不同程度的破骨细胞吸收陷窝, 吸收程度随加力时间延长而加重; 对照加力组牙槽骨吸收、牙周膜增宽; 肾虚不加力组及对照不加力组未见牙槽骨及牙根吸收; ②免疫组化结果: 白细胞介素17在肾虚组加力组牙根压力侧表达高于对照加力组, 在肾虚不加力组的表达高于对照不加力组; ③结果表明, 肾虚体质下进行正畸治疗易发生牙根吸收, 且肾虚体质较正常体质更易产生白细胞介素17, 其造成牙根吸收的机制可能与白细胞介素17相关。

## 关键词:

组织构建; 组织工程; 肾虚大鼠模型; 白细胞介素17; 正畸致牙根吸收; 免疫组化

## 主题词:

模型, 动物; 白细胞介素17; 正畸学; 组织工程

## 基金资助:

佳木斯大学科学技术校级面上项目(S2014-005)

Yu Yan-heng, Studying for master's degree,  
Department of  
Orthodontics, Affiliated  
Stomatology Hospital of  
Jiamusi University, Jiamusi  
154000, Heilongjiang  
Province, China

Corresponding author:  
Wu Li-peng, Professor,  
Chief physician,  
Department of  
Orthodontics, Affiliated  
Stomatology Hospital of  
Jiamusi University, Jiamusi  
154000, Heilongjiang  
Province, China

## Root resorption and interleukin-17 expression in a rat model of kidney deficiency during orthodontic treatment

Yu Yan-heng, Huang Xin-yan, Zheng Rong, Li Chao, Dong Yue, Gao Xu-guang, Wu Li-peng (Department of Orthodontics, Affiliated Stomatology Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154000, Heilongjiang Province, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** The mechanism underlying orthodontic-induced external root resorption is not yet clear, and it differs individually. Kidney deficiency has been proved to be related to bone diseases which mediated by different cytokines. Interleukin-17 is an important cytokine involved in external root resorption. So figuring out whether kidney deficiency and interleukin-17 are related to root resorption will be helpful for etiological research.

**OBJECTIVE:** To explore the relationship between kidney deficiency physique, interleukin-17 and root resorption during orthodontic treatment in rats.

**METHODS:** Thirty-six Wistar rats were selected and equivalently randomized into two groups, followed by modeled into kidney deficiency (kidney deficiency group) or injected with normal saline (control group), respectively. Afterwards, the right maxillary of each rat served as an orthodontic force model, and the left maxillary as a non-orthodontic force model. All rats were respectively sacrificed under general anesthesia at the 3, 7 and 14 days after given orthodontic force. Then, the mesial surface of the root of maxillary first molars and the expression level of interleukin-17 were observed through hematoxylin-eosin staining and immunohistochemical method.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Histological observation showed that significantly increasing root resorption in a time-dependent manner could be observed, and there were various absorbed lacunae of osteoclasts on the enamel in the kidney deficiency orthodontic force group. The alveolar bone resorption and widened periodontal membrane appeared in the control orthodontic force group. While no remarkable root and alveolar bone resorptions were found in the other two non-orthodontic force groups. The expression level of interleukin-17 in the kidney deficiency orthodontic force group was higher than that in the control orthodontic force group; the expression level of interleukin-17 in the kidney deficiency non-orthodontic force group was higher than that in the control non-orthodontic force group. In conclusion, kidney deficiency patients are easy to develop root resorption, the mechanism of which is maybe relevant to the upregulation of interleukin-17.

**Subject headings:** Models, Animal; Interleukin-17; Orthodontics; Tissue Engineering

**Funding:** the Scientific and Technological Project of the Jiamusi University, No. S2014-005

**Cite this article:** Yu YH, Huang XY, Zheng R, Li C, Dong Y, Gao XG, Wu LP. Root resorption and interleukin-17 expression in a rat model of kidney deficiency during orthodontic treatment. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(51):7703-7709.

## 0 引言 Introduction

牙根吸收是临床正畸治疗过程中发生的常见的不良反应之一,且在成人正畸治疗中更加多见,其主要危害是牙齿牙根变短、牙齿松动等<sup>[1-2]</sup>。不少研究表明,根尖片或锥形束CT等检查方法可以辅助诊断牙根吸收<sup>[3]</sup>,但目前预测及预防正畸致牙根吸收的手段仍较缺乏。随着人们生活水平的提高,成人正畸治疗的需求不断增长。因此,通过研究影响正畸致牙根吸收发生的因素来预测及预防临床正畸致牙根吸收发生的概率有其临床意义。

在中医学说中,肾为“先天之本”,主骨生髓,若肾精充足,则骨骼坚固有力,若肾精亏虚,则骨骼软弱无力,甚至发育不良<sup>[4]</sup>。现代医学的研究表明,肾虚体质者不仅骨的质、量、形态、修复情况发生改变,而且因内分泌机

制受到影响,骨的钙、磷、镁的代谢也会异常<sup>[5-6]</sup>。细胞因子白细胞介素17A是具有破骨作用的细胞-辅助性T细胞17分泌的特征性的能够增强破骨细胞活性的细胞因子<sup>[7-8]</sup>。

实验旨在通过苏木精-伊红染色组织切片观察肾虚体质及正常体质大鼠牙根的吸收程度,以及通过白细胞介素17A免疫组化检测观察两种体质下白细胞介素17在组织内的表达,探讨肾虚体质及白细胞介素17A与牙根吸收发生的关系从而辅助于临床应用。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2015年3至11月在黑龙江省佳木斯大学动物实验中心完成。



图1 正畸加力模型图  
Figure 1 An orthodontic force model



图2 肾虚及正常大鼠对照图  
Figure 2 Comparison of kidney deficiency and normal rats

图注: 图A为肾虚大鼠, B为正常大鼠。

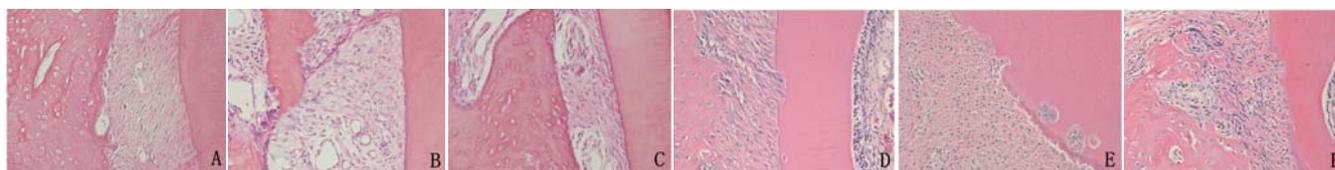


图3 各组大鼠牙根吸收程度比较(苏木精-伊红染色, ×200)

Figure 3 Comparison of root absorption of rats in different groups (hematoxylin-eosin staining, ×200)

图注: 图A为对照不加力组; B为肾虚不加力组; C为对照加力14 d组; D为肾虚加力3 d组; E为肾虚加力7 d组; F为肾虚加力14 d组。

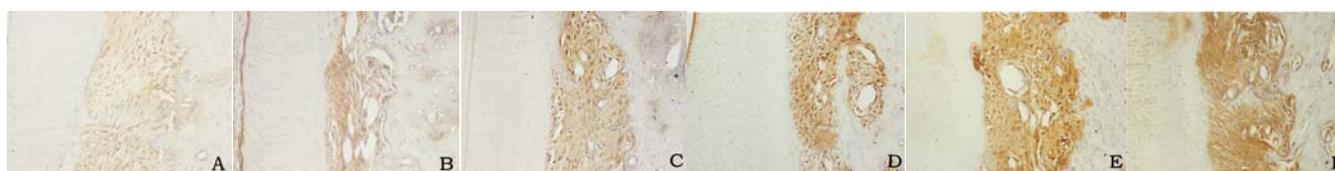


图4 各组大鼠牙周组织中白细胞介素17A的表达变化(免疫组化, ×200)

Figure 4 The expression level of interleukin-17 in the periodontium of rats in each group (immunohistochemical method, ×200)

图注: 图A为对照不加力组; B为对照加力7 d组; C为肾虚不加力组; D为肾虚加力3 d组; E为肾虚加力7 d组; F为肾虚加力14 d组。

### 1.3 材料

**实验动物:** 8周龄SPF级雄性Wistar大鼠36只, 体质量(250±10) g, 由佳木斯大学动物实验中心提供, 动物合格证号: scxlc(黑)2013-001。

**试剂及仪器:** 氢化可的松(批号: 20140805, 规格: 10 mg/2 mL/支, 天津金耀药业有限公司); 大鼠促肾上腺皮质激素ELISA试剂盒(德国IBL); Rabbit Anti-IL-17 antibody Bioss(bs-1183R)通用型(中杉SP-9000); DAB kit(20×三管)(中杉ZLI-9032); 弹簧测力计(阜宁三比医疗器械厂); 镍钛螺旋弹簧(有亿合金, 北京); 富士I玻璃离子水门汀(而至齿科有限公司); 石蜡切片机(Leica RM 2165); 包埋机(Leica EG1160); 光学显微镜(Leica DM RXA2); 脱水机(Leica TP1020)。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 肾虚大鼠模型建立** 36只Wistar大鼠动物由实验中心饲养管理, 统一鼠粮, 自由饮水。每天记录大鼠体质量、饮食水量及精神状态。动物适应性喂养1周后开始建立肾虚大鼠模型。36只大鼠按随机数字表法分为2组, 每组18只。肾虚组大鼠背部皮下注射25 μg/(g·d)氢化可的松注射液, 对照组背部皮下注射3 mL/(kg·d)生理盐水, 连续注射15 d<sup>[9]</sup>。停止注射后第2天, 所有大鼠用体积分数10%水合氯醛腹腔注射麻醉, ELISA法检

测大鼠血浆中促肾上腺皮质激素含量, 若肾虚组大鼠与对照组大鼠相比促肾上腺皮质激素含量显著降低, 则开始建立正畸加力模型; 若未显著降低, 则重复前述步骤直至达到检测标准。

**1.4.2 正畸加力大鼠模型建立** 采用自身对照设计, 按照Hughes等<sup>[10]</sup>的方法建立模型, 以所有大鼠上颌切牙为支抗牙, 镍钛螺簧拉右侧上颌第1磨牙向近中移动, 测力计测量其拉力为35 g<sup>[11-12]</sup>, 见图1; 左侧上颌不放置矫治器为不加力组。每天检查拉簧是否松脱, 脱落者重新麻醉后放置拉簧; 测定力值, 随时调整拉簧, 以保持力值恒定。

**1.4.3 标本制备** 于拉簧持续放置3, 7, 14 d时, 分别用10%水合氯醛腹腔注射麻醉后心脏灌注40 g/L多聚甲醛处死各组动物, 每个时间点6只。选取中的上颌第1恒磨牙包括其周围牙槽骨与部分颌骨。将标本固定于40 g/L多聚甲醛液中48 h后, 30%EDTA常温脱钙4周。梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 温箱浸蜡, 石蜡包埋。将各组标本行近远中向连续切片, 每张厚约4 μm, 选取可见到上颌第一磨牙近中根近中面的组织切片行苏木精-伊红染色及免疫组织化学染色。

**1.4.4 图像分析** 利用图像分析系统(Image-Pro-Plus 6.0)对每张免疫组化染色后的切片做定量分析, 在400倍高倍镜下选取第一磨牙近中根压力侧牙根表面及牙

表1 两组大鼠造模前后一般情况比较 (n=18)

Table 1 Comparison of the basic information of rats in the two groups before and after modeling

组别	摄食	活动	毛色	造模前体质量 ( $\bar{x}\pm s$ , g)	造模后体质量 ( $\bar{x}\pm s$ , g)
肾虚组	减少	减少	无泽	261.69±8.52	292.36±8.15 <sup>a</sup>
对照组	正常	正常	光泽	262.38±5.56	332.80±7.73 <sup>a</sup>
P				> 0.05	< 0.01

表注: 与造模前比较, <sup>a</sup>P < 0.01。

表3 各组大鼠白细胞介素17A阳性表达平均吸光度值的比较 (x±s, n=6, A)

Table 3 Comparison of the mean absorbance values positive for interleukin-17 in the rats of each group

加力时间	肾虚加力组	肾虚不加力组	对照加力组	对照不加力组
3 d	0.247±0.021	0.198±0.020 <sup>ab</sup>	0.129±0.022 <sup>ab</sup>	0.118±0.021
7 d	0.332±0.021	0.197±0.021 <sup>ab</sup>	0.145±0.024 <sup>ab</sup>	0.117±0.020
14 d	0.332±0.024	0.189±0.023 <sup>ab</sup>	0.157±0.022 <sup>ab</sup>	0.116±0.022

表注: 与肾虚加力组比较, <sup>a</sup>P < 0.01; 与对照不加力组比较, <sup>b</sup>P < 0.01。

槽骨区域, 检测加力后不同时间的积分吸光度值, 计算平均吸光度值(积分吸光度值/选定对象的面积)。

**1.5 主要观察指标** ①肾虚及对照大鼠体征及促肾上腺皮质激素含量差异; ②各组大鼠苏木精-伊红染色切片中牙根吸收程度比较; ③各组大鼠牙根及牙周组织内白细胞介素17表达的情况比较。

**1.6 统计学分析** 实验数据用SPSS 20.0进行统计学分析, 采用单因素方差分析比较组间差异。实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 各项分析的检验水准均为 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 实验选用大鼠36只, 随机分为2组, 均进入结果分析, 无脱失。

**2.2 大鼠一般情况** 用药17 d后, 对照组大鼠体毛光滑白亮、行动灵敏、精神佳、食欲好、体质量稳定增长等。肾虚组大鼠则出现体毛干燥稀疏、毛色发黄、倦卧嗜睡、喜聚堆、活动减少、精神萎靡、采食减少、体质量增长减缓等症状, 见图2; 肾虚组体质量增长与对照组比较差异有显著性意义(P < 0.01), 见表1。上述符合肾虚模型症状<sup>[13]</sup>。

**2.3 促肾上腺皮质激素的ELISA检测结果** 表2结果显示, 与对照组比较, 肾虚组大鼠血浆中促肾上腺皮质激素值明显下降(P < 0.01)。结合前述肾虚症状, 符合中医学诊断指标<sup>[13]</sup>。

表2 两组大鼠血浆促肾上腺皮质激素水平比较( $\bar{x}\pm s$ , n=18)

Table 2 Comparison of the plasma adrenocorticotrophic hormone content of rats between groups

组别	促肾上腺皮质激素(ng/L)
肾虚组	62.24±10.90
对照组	95.47±7.80
P	< 0.01

**2.4 大鼠牙根吸收程度** 肾虚不加力组、对照不加力组均未见明显的牙根吸收和牙槽骨吸收。对照加力3d组牙周膜可见小范围的透明样变区, 牙槽骨表面少量骨吸收陷窝, 无明显牙根吸收; 对照加力7 d组牙槽骨明显吸收, 无牙根吸收; 对照加力14 d组牙周膜间隙增宽变形明显, 牙槽骨进一步吸收, 无牙根吸收。肾虚加力3 d组牙骨质边缘可见不整齐, 有类似多核破牙骨质细胞聚集于骨吸收陷窝内, 牙槽骨轻度吸收; 肾虚加力后7 d组牙骨质骨吸收明显, 骨吸收陷窝增多, 牙周牙槽骨吸收程度加重; 肾虚加力后14 d组骨吸收进一步加强, 牙根压力侧表面、根尖区牙骨质及其周围牙槽骨见大面积吸收, 牙槽骨见潜掘性吸收, 见图3。

**2.5 白细胞介素17A在大鼠牙周组织内的表达变化** 免疫组化结果显示, 肾虚组中白细胞介素17在压力区牙体及牙周组织的表达水平比在对照组中高, 见图4。

图像分析系统定量分析白细胞介素17A平均吸光度值结果显示, 细胞因子白细胞介素17A在各组于不同时间点均呈阳性表达, 从加力3 d后逐渐增加; 加力后3, 7, 14 d肾虚组分别与对照组相比, 差异均有显著性意义(P < 0.01), 见表3。

## 3 讨论 Discussion

**3.1 牙根吸收的研究背景** 在正畸治疗过程中, 牙槽骨和牙骨质均受到正畸力的作用。在适当的矫治力的作用下, 压力侧牙槽骨吸收, 张力侧牙槽骨沉积, 不断改建, 牙齿随之移动, 而牙骨质则保持相对稳定; 但在牙齿移动过程中, 因受多种因素影响, 压力侧的牙骨质有时也会出现牙根外吸收<sup>[2]</sup>。

Brudvik 等<sup>[14]</sup>通过动物实验研究表明, 正畸致牙根吸收是透明样变组织清除过程的一部分。正畸力的施加将导致局部牙周组织发生透明样变的无菌性坏死, 从这种坏死组织中会释放出相关细胞因子, 从而激活与牙根吸收相关的巨噬细胞, 这些细胞被证明为破骨细胞及破牙骨质细胞前体, 在这些巨噬细胞清除透明样变坏死组

织的过程中, 牙根表面覆盖于类牙骨质上方的富含成牙骨质细胞的细胞层也被破坏, 从而暴露其下方的高密度矿化牙骨质, 继而导致牙根受累吸收<sup>[15-16]</sup>。

破骨细胞及破牙骨质细胞在正畸致牙根吸收这一炎症反应的进展阶段起着重要作用, 在大鼠牙受到正畸力之后, 其前体已在牙周组织中等待被完全激活进而进行牙根吸收及骨吸收<sup>[10]</sup>。破骨细胞及破牙骨质细胞受到多种细胞因子的调控, 在牙根吸收的过程中, 如巨噬细胞集落刺激因子、肿瘤坏死因子相关激活诱导细胞因子(核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配体、破骨细胞分化因子、骨保护素配体)诱导破骨细胞的形成<sup>[17]</sup>, 破骨细胞生成还受到骨保护素、转化生长因子  $\beta$ 、白细胞介素  $1\beta$ 、白细胞介素  $1\alpha$  等细胞因子的调控<sup>[18-20]</sup>。

牙根吸收的影响因素复杂多样, 局部因素中, 牙根吸收的程度普遍与正畸治疗过程中牙移动所需的距离成正比<sup>[21-22]</sup>, 系统性因素包括营养因素、骨代谢疾病、年龄、药物影响、雌性激素水平、降血钙素等<sup>[23-24]</sup>。

目前对于正畸致牙根吸收的研究的方向多为西医学, 中医学方面鲜见报道。将中西医理论结合是医学发展的趋势之一。且鉴于正畸致牙根吸收的个体易感性差别明显<sup>[25-27]</sup>, 将体质作为整体分析其对正畸致牙根吸收的影响有其意义。

**3.2 中医中的“肾”** 中医中的“肾”有别于现代西医学解剖定位的认识, 其含义广大, 《素问·六节藏象论》《素问·阴阳应象大论》中指出, 肾为“先天之本”, 藏精, 主生长发育和生殖, 主水, 主纳气; 在体为骨, 主骨生髓; 其华在发; 开窍于耳及二阴; 在志为恐, 在液为唾, 与膀胱互为表里。研究证明, 肾虚者免疫稳态失衡, 其原因可能与某些免疫细胞调节因子如白细胞介素  $1\beta$ 、白细胞介素 4 异常有关<sup>[28]</sup>。实验证明, 温补肾阳的药物能减少肾虚大鼠体内偏高的白细胞介素 6、白细胞介素 17 的含量, 从而使大鼠免疫失衡的状态改善, 这也从侧面证明了肾虚体质与某些细胞因子密切相关<sup>[29]</sup>。

**3.3 白细胞介素 17 与牙根吸收** 白细胞介素指在白细胞或免疫细胞间相互作用的淋巴因子, 与血细胞生长因子同属细胞因子。它在传递信息, 激活与调节免疫细胞, 介导 T、B 细胞活化、增殖与分化及在炎症反应中起重要作用。近年来, 有学者研究发现了一种新型的 T 细胞亚群, 即辅助性 T 细胞 17, 一种具有破骨作用的细胞<sup>[30]</sup>, 在自身免疫及机体防御反应中其重要作用。其特征性分泌的白细胞介素 17A(白细胞介素 17)作为调控破骨细胞的上游因子, 可直接激活破骨细胞前体细胞并促进其分

化, 是骨吸收的关键细胞因子<sup>[31]</sup>。近年研究表明, 白细胞介素 17 能增加骨髓细胞中核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配体的表达, 参加正畸致牙根吸收的炎症反应并促进其发生<sup>[32]</sup>。白细胞介素 17 还可通过促进破骨细胞中基质金属蛋白酶 9 的表达来增加其降解骨基质的能力<sup>[33]</sup>。

**3.4 动物模型的建立** 肾虚模型为中医学模型中较早研究者, 根据肾虚证的致病因素及体征表现等, 造模方法多种多样, 但现今尚无模拟出肾虚所有症候的模型。肾上腺皮质激素的过量使用可分别造成肾阴虚及肾阳虚模型, 阴损及阳。实验中糖皮质激素所致肾虚模型的建立即基于肾虚体质者下丘脑-垂体-内分泌轴紊乱这一病理变化, 应用一定量的外源性糖皮质激素(氢化可的松)后突然停用将使垂体的促肾上腺皮质激素释放量受到抑制, 继而会出现一系列肾阳虚表现。但本法对性腺轴的影响不明显<sup>[9]</sup>。据杜江等<sup>[34]</sup>表述, 阳虚多表现为甲状腺轴、肾上腺轴、性腺轴功能的衰减, 虽目前暂无检测肾虚的“金指标”, 但促肾上腺皮质激素的下降能够证明肾虚体质相应腺体功能的降低。此外, 进食饮水减少、体质量、毛色暗淡、活动量减少及体温下降等肾阳虚体征可结合实验室检测结果作为诊断肾阳虚的指标<sup>[13, 35]</sup>。

King 等<sup>[36]</sup>学者认为对大鼠磨牙的牵引力值在 20-40 g 时牙齿移动效率最高, 当力大于 40 g 时移动效率减低, 且牙根吸收的发生概率增加。本实验中采用 35g 正畸力为使大鼠产生有效移动且不易产生牙根吸收的适宜力值<sup>[11-12]</sup>。Hellsing 等<sup>[37]</sup>表示, 牙骨质的修复于大鼠模型进行正畸加力的 2 周后开始。为避免牙根修复对实验结果造成的干扰, 实验组加力时间不超过 14 d。

**3.5 实验结果分析** 本实验通过采用苏木精-伊红染色切片观察牙根表面观察牙根压力侧的根吸收情况, 以往诊断牙根吸收多用 X 射线片及根吸收分级法形态学观察判定根吸收的程度<sup>[38]</sup>。但大鼠牙体小不易操作, 且 X 射线片对诊断牙根吸收有差异性、静态性等局限性<sup>[3]</sup>。高倍镜下观察苏木精-伊红染色切片则可较清晰准确地观察牙根吸收程度。

实验显示, 肾虚加力组大鼠在适宜正畸力下较对照加力组大鼠更易产生牙根吸收, 而肾虚不加力组、对照不加力组大鼠无牙根吸收, 表明适宜的正畸力对正常体质来说, 不会明显诱发牙根吸收并发症; 而适宜的正畸力能够诱发肾虚体质者产生牙根吸收。对照加力组大鼠较对照不加力组大鼠产生更多的白细胞介素 17( $P < 0.01$ ), 说明通过适宜正畸加力产生的白细胞介素 17 并不致使牙根吸收的发生。肾虚不加力组大鼠较对照不加

力组大鼠产生更多白细胞介素 17 ( $P < 0.01$ ), 说明肾虚体质使牙周组织产生更多的白细胞介素 17 的表达在无正畸力的作用下不发生牙根吸收。而肾虚加力组大鼠较对照加力组大鼠产生更多的白细胞介素 17 ( $P < 0.01$ ), 提示白细胞介素 17 可能参与正畸致牙根吸收过程, 但并不发挥诱发牙根吸收的关键作用。肾虚者发生正畸致牙根吸收的具体机制值得进一步探讨。牙根吸收者在压力区更易产生白细胞介素 17, 此与 Nokanoa 等<sup>[32]</sup>的研究结果相符。

**3.6 临床意义探讨** 综上所述, 在临床中对于有肾虚体证的初诊患者, 可通过补肾方法来预防或缓解正畸治疗过程中可能发生的牙根吸收情况。

中医学指出, 体质类型就虚证而言, 肾虚质者腰脊痛, 胫膝软或足跟痛, 耳鸣耳聋, 发脱齿摇, 尿便时里急后重, 阳萎、早泄或月经不调。具备三项者, 加以体质已久病虚损, 且因证以气血阴阳与五脏结合而成, 若另有气虚、阴虚或阳虚症状, 即可结合诊断为各类肾虚<sup>[35]</sup>。

肾虚者对于同属脾虚者, 可采用补肾健脾, 滋阴补血, 活血化瘀, 降浊利水等功效的中药调理。对于无力疲乏者, 可适量服用牛骨髓、鹿茸、人参、党参、黄芪、肉桂、女贞子、阿胶、淫羊藿、补骨脂、山药、菟丝子、生地黄、甘草等滋补类中药; 湿气重者, 可适量服用茯苓、猪苓、泽泻、车前子、白茅根、木通等利水渗湿类中药; 久虚及淤质者, 可适量服用川芎、赤芍、桃仁、红花、丹参、水蛭、蚯蚓、益母草、山楂等活血化瘀类中药<sup>[39]</sup>。

此外, 医食同源, 肾虚者可多补充含铁、维生素、蛋白质丰富的食物, 利尿祛湿食物等。日常生活中也有方法预防, 如适量进行腰部运动; 按摩脚底涌泉穴; 每日早起后分别双手绕过头部上方, 提拉对侧耳朵 12 次, 保证充足的睡眠恢复精气神等。

对于肾虚体质者的诊断无侵入性探查, 无延时性, 诊断方法系统而明确, 且其调理方法多样而易于操作, 调理效果不仅可以一定程度预防及缓解正畸治疗过程中可能发生的牙根吸收, 而且能改善患者的身体状态, 易于被患者接受, 其临床价值值得探讨。

**致谢:** 感谢佳木斯大学对实验所提供的帮助。

**作者贡献:** 实验由第一作者和其他作者共同完成。通讯作者、第一、二作者设计实验; 第一作者负责实验的大部分实施; 通讯作者采用盲法评估此次实验及审校, 其余

作者负责实验的部分实施。

**利益冲突:** 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

**伦理问题:** 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。实验方案中有关动物伦理问题已经佳木斯大学附属口腔医院实验动物伦理委员会讨论批准。

**文章查重:** 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审:** 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

**作者声明:** 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

#### 4 参考文献 References

- [1] Tyrovola JB, Spyropoulos MN. Effects of drugs and systemic factors on orthodontic treatment. Quintessence Int. 2001; 32:365-371.
- [2] Brezniak N, Wasserstein A. Orthodontically Induced Inflammatory Root Resorption. Part I: The Basic Science Aspects. Angle Orthod. 2002;72(2):175-179.
- [3] 余丽霞, 何姝姝, 陈嵩, 等. 全景及根尖片对正畸相关牙根吸收诊断准确性的研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2012, 2(30): 169-171.
- [4] 沈自尹. 中医肾的古今论[J]. 中医杂志, 1997, 38(1): 48-50.
- [5] 杨收平. 肾主骨生髓学说的现代理解[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2002, 3(8): 480-490.
- [6] 黄满玉, 冯峰, 朱太咏. 从肾与骨代谢的关系探讨中医“肾主骨”现代理论内涵[J]. 中国临床康复, 2005, 9(46): 127-129.
- [7] Linden A, Laan M, Anderson GP. Neutrophils, interleukin-17A and lung disease. Eur Respir J. 2005; 25(1):159-172.
- [8] Korn T, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-17 and Th17 cells. Annu Rev Immunol. 2009; 27: 485-517.
- [9] 苟小军, 韩宝侠, 王朝廷, 等. 肾阳虚证造模方法考察[J]. 吉林中医药, 2009, 29(9): 814-815.
- [10] Hughes B, King GJ. Effect of orthodontic appliance reactivation during the period of peak expansion in the osteoclast population. Anat Rec. 1998; 251: 80-86.
- [11] 卢燕勤, 张素银. 正畸大鼠磨牙牙周膜内破骨细胞的出现与应力的关系[J]. 口腔医学纵横, 2001, 17(2): 116-118.
- [12] 罗玲, 税桦桦, 徐小梅, 等. 大鼠正畸性牙根吸收及牙齿移动差异的研究[J]. 口腔医学, 2008, 28(12): 620-622.

- [13] 陈英华, 欧阳轶强, 孙琪, 等. 肾阳虚动物模型规范化研究中诊断指标选择的初步探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003,9(10):26-30.
- [14] Brudvik P, Rygh P. The repair of orthodontic root resorption: an ultrastructural study. *Eur J Orthod*. 1995;17:189-198.
- [15] Brudvik P, Rygh P. The initial phase of orthodontic root resorption incident to local compression of the periodontal ligament. *Eur J Orthod*. 1993;15:249-263.
- [16] Lopatiene K, Dumbravaite A. Risk factors of root resorption after orthodontic treatment. *Stomatologija*. 2008;10(3): 89-95.
- [17] Lean JM, Matsuo K, Fox SW, et al. Osteoclast lineage commitment of bone marrow precursors through expression of membrane-bound trance. *Bone*. 2000; 27:29-40.
- [18] Chambers TJ. Regulation of the differentiation and function of osteoclasts. *J Pathol*. 2000;192:4-13.
- [19] Shimauchi H, Takayama S, Imai-Tanaka T, et al. Balance of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist in human periapical lesions. *J Endod*. 1998; 24:116-119.
- [20] Fouad AF. Il-1 alpha and TNF-alpha expression in early periapical lesions of normal and immunodeficient mice. *J Dent Res*. 1997;76:1548-1554.
- [21] Beck BW, Harris EF. Apical root resorption in orthodontically treated subjects: analysis of edgewise and light wire mechanics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1994;105:350-361.
- [22] Sameshima GT, Sinclair PM. Predicting and preventing root resorption: Part II. Treatment factors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2001;119:511-515.
- [23] Haruyama N, Igarashi K, Saeki S, et al. Estrous-cycle-dependent variation in orthodontic tooth movement. *J Dent Res*. 2002;81:406-410.
- [24] Wiebkin OW, Cardaci SC, Heithersay GS, et al. Therapeutic delivery of calcitonin to inhibit external inflammatory root resorption. I. Diffusion kinetics of calcitonin through the dental root. *Endod Dent Traumatol*. 1996;12:265-271.
- [25] Massler M, Perreault JG. Root resorption in the permanent teeth of young adults. *J Dent Child*. 1954;21:158-164.
- [26] Reitan K. Some factors determining the evaluation of forces in orthodontics. *Am J Orthod*. 1957;43:32-45.
- [27] Newman WG. Possible etiologic factors in external root resorption. *Am J Orthod*. 1975;67:522-539.
- [28] 孙理军, 李翠娟, 孙超越, 等. 肾虚质大鼠血清IL-1 $\beta$ 、IL-4水平的实验研究[J]. 陕西中医学院学报, 2011,34(1): 65-67.
- [29] 欧阳进. 右归丸对自身免疫性卵巢早衰模型小鼠IL-6、IL-17、IL-21水平的影响[D]. 湖南中医药大学, 2014.
- [30] Quinn JM, Saleh H. Modulation of osteoclast function in bone by the immune system. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;310:40-51.
- [31] Li X, Yuan FL, Lu WG, et al. The role of interleukin-17 in mediating joint destruction in rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;397:131-135.
- [32] Nakano Y, Yamaguchi M. Interleukin-17 is involved in orthodontically induced inflammatory root resorption in dental pulp cells. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2015;148: 302-309.
- [33] 姚金丹, 韩光红, 胡敏. IL-17对破骨细胞中MMP-9表达水平的影响及其意义[J]. 吉林大学学报(医学版), 2016, 42(3): 462-466.
- [34] 杜江, 李楠, 王和鸣. 肾虚模型造模方法及相关指标[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(50):9433-9436.
- [35] 沈自尹. 中医虚证辨证参考标准[J]. 中国中西医结合杂志, 1986, 6(10):598.
- [36] King GJ, Keeling SD. Measuring dental drift and orthodontic tooth movement in response to various initial forces in adult rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1991;99:456-465.
- [37] Helling E, Hammarstrom L. The hyaline zone and associated root surface changes in experimental orthodontics in rats: a light and scanning electron microscope study. *Eur J Orthod*. 1996;18:11-18.
- [38] Sharpe W, Reed B, Subtelny JD, et al. Orthodontic relapse, apical root resorption, and crestal alveolar bone levels. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1987; 91:252-258.
- [39] 中医肾脏病学科. 中医学与中药学学科发展报告[A]. 中华中医药学会, 2006:100-148.