

燕婷婷, 李昊. 2 型糖尿病和种植体周围炎啮齿动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(10): 1313-1319.
YAN T T, LI H. Research progress on rodent models for type 2 diabetes mellitus and peri-implantitis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(10): 1313-1319.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.10.009

2 型糖尿病和种植体周围炎啮齿动物模型的研究进展

燕婷婷^{1,2}, 李昊^{1,2*}

(1. 广西医科大学口腔医学院/附属口腔医院口腔修复科, 南宁 530021;
2. 广西口腔颌面修复与重建研究重点实验室, 南宁 530021)

【摘要】 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是一种常见的代谢性疾病, 特征为高血糖和胰岛素抵抗。种植体周围炎是口腔种植常见的并发症, 是导致种植体修复失败的常见病因之一。T2DM 在持续性高血糖状态易出现种植体周围炎, 并加重骨破坏。越来越多 T2DM 伴牙缺失患者选择口腔种植, 此类患者种植体周围炎发生的概率也增多, 但其发病机制以及两者的关联性仍缺乏深入研究。啮齿类动物模型能模拟 T2DM 及种植体周围炎, 并广泛应用于 2 种疾病的动物模型构建中; T2DM 合并种植体周围炎的动物模型有助于模拟复杂的内部环境, 深入研究其病理进展、发病机制、相互作用及其治疗方法等, 但目前此类模型构建较少。本文综述了近年来常用的 T2DM、种植体周围炎及 T2DM 合并种植体周围炎啮齿动物模型的构建方法及其优缺点, 以期对相关研究者提供参考和帮助。

【关键词】 2 型糖尿病; 种植体周围炎; 啮齿动物; 动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 10-1313-07

Research progress on rodent models for type 2 diabetes mellitus and peri-implantitis

YAN Tingting^{1,2}, LI Hao^{1,2*}

(1. Department of Prosthodontics, College & Hospital of Stomatology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Oral and Maxillofacial Restoration and Reconstruction, Nanning 530021, China)
Corresponding author: LI Hao. E-mail: sherrylee2011@126.com

【Abstract】 Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a common metabolic disease characterized by hyperglycemia and insulin resistance. Peri-implantitis is a common complication of oral implants and is a frequent cause of implant restoration failure. In persistent hyperglycemia, T2DM patients are prone to peri-implant inflammation and aggravated bone destruction. An increasing proportion of T2DM patients with tooth loss choose oral implantation, and the probability of peri-implant inflammation in such patients is increased. However, the pathogenesis and correlation between the conditions have not been the focus of in-depth studies. Rodent models can simulate T2DM and peri-implant inflammation and are widely used animal models of both diseases. Animal models of T2DM complicated with peri-implant inflammation are helpful for simulating the complex internal environment and further studying the pathologic progression, pathogenesis, interactions, and treatment. However, few such models have been constructed as yet. In this paper, we review rodent models of T2DM, periimplantitis, and T2DM combined with periimplantitis constructed in recent years, and their advantages and disadvantages, to provide a reference and help for relevant researchers.

【基金项目】 国家自然科学基金 (82060195)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (82060195).

【作者简介】 燕婷婷, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 口腔颌面部骨缺损修复。Email: yanttyt@163.com

【通信作者】 李昊, 女, 主任医师, 博士, 研究方向: 口腔颌面部骨缺损修复。Email: sherrylee2011@126.com

[Keywords] type 2 diabetes mellitus; peri-implantitis; rodent animal; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种代谢性疾病,第 10 版国际糖尿病联盟 IDF 糖尿病地图显示,2021 年全球约有 5.37 亿人患 DM,到 2045 年预计达 7.8 亿人,其中 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是最常见的 DM 分型,约占所有 DM 患者的 90%^[1]。T2DM 的特征是血糖升高和胰岛素抵抗,高血糖会促进骨髓间充质干细胞凋亡,并抑制骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化并且 DM 的高血糖状态和微炎症会促进破骨细胞发育和骨破坏^[2-5]。

种植体周围炎是菌斑导致种植体周围边缘骨质流失的口腔软组织炎症,也是口腔种植常见的并发症及导致口腔种植失败最常见的病因^[6-7]。DAUBERT 等^[8]研究发现,约 1/4 接受口腔种植修复缺失牙的患者在种植 11 年后出现种植体周围炎。DM 患者术后出现种植体周围炎的风险比非 DM 患者高约 50%^[9]。T2DM 患者的高血糖状态是种植体周围炎的重要危险因素,血糖控制到正常血糖浓度,可以与非 DM 患者取得相似的种植成功率;若血糖控制不佳,易导致感染和炎症的发生,控制不良的 DM 会增加种植体周围炎的风险^[10-12]。近年来关于 DM 患者种植体周围炎的研究很多,但 T2DM 介导的种植体周围疾病加重的致病机制尚未得到充分研究。

动物模型对于了解疾病的发生和进展至关重要,也可以促进疾病的治疗。建立体内模型来模拟 T2DM 种植体周围炎的复杂内部环境,可以更好地了解 T2DM 患者的种植体周围炎的致病机制和开展其治疗方法的研究;与其他动物模型相比,啮齿动物常作为动物模型的首选。啮齿动物的优点在于成本较低、诱导方法灵活、有大型基因组信息数据库,可剖析疾病发病机制,还可跨多个尺度比较数据,尤其是小鼠模型,还具有可基因操纵的额外优势^[13-15]。此外,T2DM 的小鼠遗传基因和并发症之间的关系也已被分析得较为清楚^[2]。

因此建立共患 T2DM 和种植体周围炎的啮齿动物模型非常有意义。本文就 T2DM 和种植体周围炎啮齿动物模型建立的研究进展进行综述。

1 T2DM 啮齿动物模型的建立

目前开发出的 T2DM 啮齿动物模型有非常多种

类型,最常用的 T2DM 啮齿动物模型类型包括 2 种:自发性 T2DM 啮齿动物模型、高糖高脂饮食联合链脲佐菌素(streptozolcin, STZ)诱导的啮齿动物模型。

1.1 常用的自发性 T2DM 啮齿动物模型

自发性 T2DM 的动物模型是指这类动物能自发发生 T2DM。常用于构造自发性 T2DM 的动物模型有 ob/ob 小鼠、db/db 小鼠、Zucker 糖尿病肥胖(zucker diabetes fatty, ZDF)大鼠、TH (TallyHo/JngJ, TH)小鼠、OLETF (otsuka long-evans tokushima fatty, OLETF)大鼠等。

ob/ob 小鼠、db/db 小鼠均属于自发性 T2DM 动物模型,它们常染色体上的基因发生突变,瘦素信号有缺陷,表现出肥胖表型、肥胖相关胰岛素抵抗及高血糖等^[16]。ob/ob 小鼠的 ob 基因突变导致瘦素的产生缺乏,db/db 小鼠其在 4 号染色体上编码瘦素受体的基因突变导致未出现瘦素的应答和高胰岛素血症^[17]。db/db 小鼠与 ob/ob 小鼠有许多相同之处,但也有一些差异,db/db 小鼠比 ob/ob 小鼠更易患糖尿病,db/db 小鼠与 ob/ob 小鼠的肠道微生物群组成不同^[18]。

ZDF 大鼠,也是常用的 T2DM 实验动物模型,其携带突变形式的瘦素受体,导致肥胖和糖耐量受损,在受体加工方面有缺陷,阻止其在细胞膜上表达,从而表现出葡萄糖代谢的早期失调,ZDF 大鼠的葡萄糖感应和胰岛素分泌相关基因也有改变,胰岛素分泌模式存在多种缺陷^[19]。ZDF 大鼠在 8 ~ 10 周龄间出现明显的 DM 症状,ZDF 大鼠可以模拟人类在儿童期或青春期时的 T2DM,ZDF 大鼠还可以观察到明显的骨代谢异常,成骨细胞障碍等^[20-21]。

TH 小鼠,是较新的 T2DM 动物模型,属于一种多基因模型,表现为葡萄糖耐量受损和高血糖,以及代谢异常。10 ~ 14 周龄出现高血糖、胰岛素抵抗、高胰岛素血症和高脂血症,也可以运用于模拟人类青少年时期发病的 T2DM^[22]。以往的研究认为 TH 小鼠会自发出现骨质疏松和骨骼畸形,适宜用于 DM 相关的骨病研究,TH 小鼠成骨细胞的骨钙素和骨保护素降低,而在 TH 小鼠破骨细胞驱动的骨吸收标志物白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)和核因子- κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)显著升高^[23]。近期的研究有着相反的见解,约 25% 的 TH 小鼠不会

发生高血糖,将其与发生 T2DM 的 TH 小鼠进行对比,两者都出现了皮质骨面积和厚度的减少,2 种 TH 小鼠与非 DM 的 C57BL/6J 小鼠相比,TH 小鼠均出现了骨小梁缺损,并且 2 种 TH 小鼠之间无显著性差异,TH 小鼠出现骨骼的变异是来源于遗传基因而非 DM 带来的影响^[22]。TH 小鼠可以用于研究 T2DM 的发育机制,但可能不适用于 DM 相关骨病的研究。

OLETF 大鼠也是一种自发性 T2DM 的动物模型,受多个基因调控^[24]。OLETF 大鼠从 8 周龄开始观察到葡萄糖耐量受损,12 ~ 20 周龄出现轻度肥胖和高胰岛素血症,并且从 18 周龄开始,血糖水平升高,30 周龄会出现肾功能不全和肾小球损伤,与人类 T2DM 晚期出现的肾病类似^[20,25]。

上述这些 T2DM 啮齿动物模型与人类 T2DM 的症状相似,但这些症状实际上是继发于基因突变,啮齿动物的基因突变不能反映人类 T2DM 的病因,人类 T2DM 是多因素病因导致的且有复杂的发病机制,自发性 T2DM 啮齿动物与人类 T2DM 的具体情况还是存在一些差异,并且这类啮齿动物的价格昂贵,成本较高^[26-27]。

1.2 高糖高脂饮食联合 STZ 诱导啮齿动物 T2DM 模型

STZ 是一种能引起胰岛 β 细胞损伤的抗生素,能够抑制葡萄糖诱导的胰岛素分泌,造成胰岛素的缺乏^[28]。STZ 目前最常用于诱导大鼠和小鼠的 DM,高糖高脂饮食联合 STZ 诱导啮齿动物 T2DM 模型,其原理是使用高脂肪饮食喂养来诱导胰岛素抵抗,此时啮齿动物会出现 DM 前期的主要特征,包括葡萄糖耐量降低、餐后高血糖等,然后使用低至中等剂量的 STZ,能够使胰岛 β 细胞破坏,并产生轻度至中度的胰岛素缺乏症,以此来构建 T2DM 动物模型^[29-30]。

目前关于这种方法构建 T2DM 模型已经有了共识,其步骤是予以 SD 雄性大鼠或 Wistar 雄性大鼠 60%脂肪含量的高脂饮食 3 周后,往腹腔腔内注射溶解在 pH = 4.5 柠檬酸钠缓冲液的 STZ (0.15 mol/L),注射剂量为 1 mL/kg,雄性动物的胰岛 β 细胞比雌性更容易受到 STZ 诱导的细胞毒性影响,一般选择雄性啮齿动物构造 T2DM 动物模型^[31]。

这种模型被认为是表征与人类 T2DM 许多并发症最为相似的模型,目前越来越受欢迎。其优点在于比自发性 T2DM 的啮齿动物成本更低,且操作简

单。但缺点在于这种模型尚未完全精确的模拟人类 T2DM 发生和发展的机制,但是研究 T2DM 引起的长期并发症中,还是可以利用该模型^[32]。

2 种植体周围炎啮齿动物模型建立

目前关于种植周围炎啮齿动物模型的建立常用方法有结扎法、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 注射法、细菌灌注法、细菌生物膜定植种植体法等。

2.1 结扎法

结扎诱导种植体周围炎,是常用的诱导种植体周围炎的方法,其方法是在确定种植体已形成良好的骨结合后,在种植体顶端放置结扎丝,结扎丝的存在会导致牙菌斑堆积,结扎丝多选择 5-0、6-0、7-0 的丝线^[33]。1992 年 LINDHE 等^[33]就通过结扎法成功在比格犬中成功诱导出种植体周围炎模型。如前文所述的啮齿动物的优点,目前使用啮齿动物作为实验动物模型的构建越来越普遍。在啮齿动物上使用结扎法也能成功诱导出种植体周围炎模型。2013 年,BECKER 等^[34]首次提出在啮齿动物上构建种植体周围炎模型,在小鼠的上腭中间植入钛种植体,并用结扎法成功诱导了种植体周围炎。但这不能完全复现种植体周围炎的进展过程,钛种植体并未植入牙缺损区的牙槽骨中。2015 年,PIRIH 等^[35]拔除 C57BL/6J 小鼠的上颌第 1、2、3 磨牙后,使其愈合 8 周。再在拔牙区植入定制钛种植体。形成良好的骨结合后,将 6-0 结扎丝绑在种植体的顶端及种植体龈下的部位,诱导种植体周围炎产生,12 周后可观察到小鼠模型出现种植体周围炎的特征。

目前仅使用结扎法诱导啮齿动物种植体周围炎的模型基本与 PIRIH 等^[35]的构建方法大致相似。ZHANG 等^[36]在大鼠拔牙后即刻种植后,立即结扎种植体,也成功构建了种植体周围炎的模型。以这种方式诱导的实验性种植体周围炎与实际的种植体周围炎之间有所不同。结扎法会导致长期机械性刺激,会对种植体周围的软组织有影响,结扎诱导的种植体周围炎的组织破坏,去除结扎丝后仍持续进行 6 个月,并且使用结扎丝的动物模型不利于比较牙周炎和种植体周围炎的发病和发展^[37-38]。

2.2 LPS 注射法

LPS 注射法是将 LPS 注射到种植体周围的牙龈组织中或种植体龈沟中,LPS 为细菌的成分,以此来构造种植体周围炎的动物模型,检测宿主对细菌成分的先天免疫反应。PIRIH 等^[15]提出了一种 LPS

诱导的种植体周围炎的小鼠模型,拔除 4 周龄 C57BL/6J 小鼠左上颌第 1、2、3 磨牙,拔牙 8 周后,植入钛种植体,骨整合后,每周 2 次、持续 6 周将浓度为 10 mg/mL 牙龈卟啉单胞菌 LPS 2 μ L 注射到腭侧的种植体周围黏膜上,LPS 注射导致植入物头部周围的软组织水肿显著增加。显微 CT 分析显示,LPS 组的植入物的骨质流失明显增加,标本的组织学分析表明,LPS 组软组织血管增多,软组织血管内有致密的混合炎性细胞浸润,骨骼表现出明显的破骨细胞活性,成功建立种植体周围炎的小鼠模型。TAKAMORI 等^[38]也使用 LPS 成功诱导出种植体周围炎的大鼠模型,但不同之处在于拔除大鼠右侧上颌第 1 磨牙后立即植入种植体并在种植后 1 个月使用微量注射器将悬浮在磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)中大肠杆菌的 LPS(50 mg/mL)注射到种植体的龈沟内,连续 3 d,每天在 30 min 内注射 7 次大肠杆菌 LPS,每次 3 μ L,每次间隔 5 min,成功构建了种植体周围炎的动物模型,种植体周围组织表现出严重炎症反应和显著的骨丢失。

通过这类方法构建的实验性种植体周围炎模型,其优点在于可以改变刺激浓度和实验持续时间来检查疾病的发生和进展,对炎症诱导机制的研究具有敏感性和准确性,与结扎法进行对比,这类模型能消除结扎引起的机械刺激。但这类构建方法,缺少细菌在种植体周围的定植,与实际的种植体周围炎的发生和进展过程还是不同的。

2.3 细菌灌洗法

细菌灌洗法是通过给已植入种植体的大鼠灌洗细菌来诱导大鼠种植体周围炎模型的方法。SUN 等^[39]将钛种植体植入 SD 大鼠的第 1 磨牙前的上颌牙槽嵴上,植入后 3 周内大鼠口服灌注抗生素(20 mg 卡那霉素,20 mg 氨苄西林),随后持续 1 个月使用含有 1×10^8 CFU 口腔链球菌及 3% 蔗糖的 500 μ L PBS 进行口腔灌洗,随后的 2 个月持续使用含有 1×10^8 CFU 口腔链球菌、 1×10^8 CFU 放线菌及 3% 蔗糖的 500 μ L PBS 进行口腔灌洗。大鼠的结缔组织中出现大量中性粒细胞和巨噬细胞浸润,大量中性粒细胞通过种植体周围龈沟上皮迁移到种植体周围龈沟,上皮层广泛溃疡,骨吸收活性高,有骨吸收陷窝和大量破骨细胞,证明大鼠的种植体周围有骨丢失和炎症宿主反应,成功建立大鼠种植体周围炎模型。

这种方法所建立大鼠种植体周围炎模型,按照

种植体、愈合过程、混合微生物引发和种植体周围疾病进展的顺序模拟人类种植体周围炎,可以近似反映实际的人类种植体周围炎的主要特征。

2.4 细菌生物膜定植种植体法

生物膜定植种植体法是将已定植细菌生物膜的种植体植入啮齿动物中,来构建种植体周围炎模型。这类模型与结扎或灌洗法接种细菌诱导种植体周围炎的动物模型不同,这类模型独特地引入了附着在钛植入物上的生物膜。FREIRE 等^[40]建立了一种特殊的种植体周围炎啮齿动物模型,先将钛种植体通过氧化铝(100 μ m)喷砂和盐酸(pH = 3, 20 min, 80 $^{\circ}$ C)蚀刻使种植体表面粗糙,经加工的钛种植体浸没在接种了放线菌的改良胰蛋白胨大豆肉汤(0.05 CFU/mL),建立生物膜 1 ~ 3 d,种植体表面附着伴放线菌生物膜,再将种植体植入磨牙区中线区域的硬腭中及上颌磨牙和切牙之间的牙槽嵴天然间隙中,成功诱导了种植体周围炎模型。NIE 等^[41]将被金黄色葡萄球菌(10^8 CFU/mL)附着的种植体植入大鼠股骨,经 X 线和 Micro-CT 分析,3 周后种植体周围形成感染。

这类方法是被细菌污染的纯钛种植体植入大鼠骨组织中,与结扎法对比,可以消除长期机械刺激对病变的影响,种植体表面存在生物膜诱导骨溶解和组织破坏^[40]。这类模型可用于研究溶骨性生物膜介导的疾病,但其缺点在于无法模拟复杂的口腔微环境,不适合研究在长期情况下口腔内细菌变化对于种植体的影响,并且其骨整合前的体外生物膜形成过程与人类临床情况无关。

3 T2DM 和种植体周围炎复合啮齿动物模型建立

在体内环境中,T2DM 会加重种植体周围炎和骨破坏,构建适宜的动物模型可以运用于研究 T2DM 与种植体周围炎之间的作用机制及 T2DM 患者种植体周围炎的有效的治疗方法。当前构建 T2DM 和种植体周围炎复合动物的模型,也多选用啮齿动物,并采用上述任意一种构造 T2DM 的方法以及一种或多种构造种植体周围炎的方法合并来构建合适的动物模型。根据种植体植入、T2DM、种植体周围炎发生的先后顺序可分为 2 类。

3.1 先植入种植体后再建立 T2DM 及种植体周围炎

HE 等^[42]构建了一种先植入种植体后通过高糖

高脂饮食和 STZ 联合诱导 T2DM 及 LPS 注射法诱导种植体周围炎的 T2DM 大鼠种植体周围炎模型, 拔除 4 ~ 5 周龄 SD 雄性大鼠的上颌第 1 磨牙, 拔牙 4 周后, 在拔除部位植入定制钛种植体, 种植术后 4 周, 放入定制基台, 在植入基台后 4 周内, 大鼠被喂以高脂肪饮食, 之后在大鼠的腹膜内注射低剂量 STZ (30 mg/kg) 诱导 T2DM, 同时有高胰岛素抵抗和高血糖的 T2DM 大鼠, T2DM 诱导 1 周后, 将牙龈卟啉单胞菌 LPS (1 mg/mL) 的 PBS 悬浮液局部注射到 T2DM 大鼠的种植体龈沟中, 每 2 d 一组, 每组 5 次注射, 每次注射 10 μ L, 每次注射间隔 5 min, 共 4 周, 以诱导种植体周围炎。该模型探诊时出现明显的出血和牙龈肿胀, 软组织内有大量炎性细胞浸润, 并伴有炎性细胞因子 IL- β 分泌增多, MMP-9 的高表达和破骨细胞数量的增加导致胶原崩解和骨吸收, 成功建立种植体周围炎动物模型。在人类种植体周围炎的龈沟液中也发现了促炎因子 IL-1 β 及 MMP-9 的表达增多^[43-44] 现象。LPS 的诱导可使种植周围组织出现炎症反应和显著的骨丢失, 但只能模拟 T2DM 患者种植周围炎目前炎症状态, 不能用于观察 T2DM 合并种植体周围炎的整体病理进展。

YAMAZAKI 等^[45] 也构建了 1 种先植入种植体后出现 T2DM 及种植体周围炎的啮齿动物模型, 使用 5 周龄的 Wistar 大鼠, 用镊子拔除双侧上颌第 1 磨牙, 拔牙创愈合 1 个月后将种植体植入, 种植体植入后 1 个月链接愈合基台, 基台装置 1 周后, STZ (50 mg/kg) 腹腔注射给药, STZ 注射后 3 d, 观察到高血糖诱导的临床变化, 尾静脉采集血液, 血糖水平 > 16.7 mmol/L 大鼠为成功诱导高血糖的大鼠, 并在成功诱导高血糖的大鼠的一侧基台周围边缘放置 4-0 丝结扎线, 来诱导种植体周围炎, 结扎侧显著的骨吸收与编码 IL-1 β 的 mRNA 水平显著高于对照组。

这类模型构建了种植体植入后再出现 T2DM 进而出现种植体周围炎的模型, 和一些年轻患者植入种植牙后再发生 T2DM 的过程相类似, 能用于此种类型的种植体周围炎的研究。

3.2 已自发或诱导 T2DM 后再行口腔种植术及构造种植体周围炎

LI 等^[46] 使用自发性 T2DM 啮齿动物 db/db 小鼠, 构建了一种 T2DM 合并种植体周围炎的啮齿动物模型, 4 周龄的 db/db 小鼠拔除左侧上颌第 1 和第 2 磨牙, 拔牙 6 周后, 植入螺旋型钛种植体, 种植

体植入 4 周后, 在种植体头部顶端的每个种植体周围龈下放置 7-0 丝结扎线来诱导实验性种植体周围炎, 结扎 3 周后, 移除所有结扎线。并且在喂养这些小鼠的过程中持续或间断口服罗格列酮来控制血糖和血糖波动^[47], 成功建立了持续性高血糖的 T2DM 合并种植体周围炎的小鼠和血糖波动的 T2DM 合并种植体周围炎的小鼠。血糖波动的小鼠与持续高血糖的小鼠相比, 有更大范围的种植体周围骨丢失、炎性细胞浸润和破骨细胞生成。该模型的意义在于提出了 1 种血糖波动的 T2DM 合并种植体周围炎的模型, 有利于了解 T2DM 患者血糖波动对于种植体周围炎的影响。

LIU 等^[48] 使用 8 周龄的雄性 SD 大鼠, 高脂高糖饮食 4 周后, 所有大鼠腹腔注射 STZ (30 mg/kg) 诱导 T2DM, 术后 3、7、14 d 测量血糖浓度, 3 次血糖浓度测量值 > 16.7 mmol/L 并伴有体重减轻的大鼠为成功诱导 T2DM 的大鼠, 拔除 T2DM 大鼠的右侧上颌第 1 磨牙, 拔牙 4 周后, 植入定制种植体, 种植体周围炎由结扎术 (4-0 蚕丝) 和种植体龈沟注射牙龈卟啉单胞菌 LPS (0.1 mg/mL) 2 种方法结合来诱导, 每组注射 3 次, 每次连续注射 10 μ L 牙龈卟啉单胞菌 LPS, 每次间隔 10 min, 每 4 d 重复 1 组注射, 共 2 周。大鼠口腔出现食物残渣和牙菌斑堆积明显、软组织愈合不良、牙龈肿胀、明显炎症、骨种植体接触面积减少, 呈现典型的浅盘或火山口样骨吸收、IL-6 和 RANKL 表达升高、破骨细胞活性增加现象都证明成功诱导出了种植体周围炎^[49-50]。LIU 等^[48] 联合使用了结扎法和 LPS 注射法, 诱导出种植体周围炎的可能性较大。SD 大鼠模型是 T2DM 和种植体周围炎的理想动物模型, 但它并不能完全概括人类 T2DM 和种植体周围炎的特征。

WENG 等^[51] 使用 4 周龄的 C57BL/6J 小鼠, 予以高糖食物 3 周, 单次腹腔注射 2% STZ 诱导, 空腹血糖 $\geq$ 16.7 mmol/L 的小鼠定义为 T2DM 小鼠, 拔除右上颌第 1 磨牙后, 8 周植入定制种植体, 缝线末端诱发种植体周围炎, 该模型操作简单易行。

上述 3 种模型都是在发生 T2DM 后, 再构建种植体周围炎, 并都使用了结扎法。这类模型可以模拟已患有 T2DM 患者行种植术后出现的种植体周围炎, 并应用于这类研究, 但是由于使用了结扎法, 不能消除结扎丝对于种植体的机械刺激影响。

QIU 等^[52] 使用自发性 T2DM 啮齿动物和细菌生物膜定植种植体法构造了一种特殊的 T2DM 合并

种植体周围炎的动物模型,8 周龄 ZDF 雄性大鼠,高脂饮食 2 周,2 周后大鼠空腹血糖为 13.6 ± 3.0 mmol/L 大于 11.1 mmol/L,成功建立 T2DM 模型,将被金黄色葡萄球菌 (10^8 CFU/mL) 污染的纯钛种植体植入大鼠股骨中再进行缝合,关闭创口。通过病理学评估出现明显的化脓感染迹象,皮质骨损伤严重,伴有明显的炎性细胞浸润、髓质死骨形成和炎性肉芽组织,炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-10 的 mRNA 表达水平显著升高。该模型可以模拟种植体被污染情况下的 T2DM 患者行种植术后出现的种植体周围炎,并且可以判断单一种细菌对于 T2DM 合并种植体周围炎的影响,但其植入部位在股骨与正常种植体的植入部位不同,不能完全模拟 T2DM 合并种植体周围炎的病程。

4 总结与展望

综上所述,现有的 T2DM 啮齿动物模型并不能完全体现人类的 T2DM,并且构建种植体周围炎的方法仍存在缺陷,所以目前的一些 T2DM 和种植体周围炎复合啮齿动物具有一定的局限性。但目前基于啮齿动物的研究已经为 T2DM 合并种植体周围炎的机制及治疗提供了一些可靠的新见解,并且啮齿动物价格便宜、操作方便、有较为完整的基因库,有其他实验动物不可取代的优势。由于越来越多的患者在种植后再出现 T2DM,种植、种植体周围炎及 T2DM 的先后顺序需加入动物模型构建的考虑。选用何种 T2DM 啮齿动物模型和种植体周围炎的模式合并,如何开发出一种新型的、能近乎完全模拟 T2DM 患者的种植体周围炎的啮齿动物模型,使之能更好地运用于研究 T2DM 患者的种植体周围炎的机制及治疗,是未来非常值得关注的问题。

参 考 文 献(References)

- [1] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119.
- [2] LONE I M, IRAQI F A. Genetics of murine type 2 diabetes and comorbidities [J]. *Mamm Genome*, 2022, 33(3): 421-436.
- [3] LUO M, ZHAO Z, YI J. Osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cell in hyperglycemia [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1150068.
- [4] KAUR J, KHOSLA S, FARR J N. Effects of diabetes on osteocytes [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2022, 29(4): 310-317.
- [5] JIAO H, XIAO E, GRAVES D T. Diabetes and its effect on bone and fracture healing [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2015, 13(5): 327-335.
- [6] Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications [J]. *J Periodontol*, 2013, 84(4): 436-443.
- [7] DERKS J, TOMASI C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology [J]. *J Clin Periodontol*, 2015, 42(16): S158-S171.
- [8] DAUBERT D M, WEINSTEIN B F, BORDIN S, et al. Prevalence and predictive factors for peri-implant disease and implant failure: a cross-sectional analysis [J]. *J Periodontol*, 2015, 86(3): 337-347.
- [9] MONJE A, CATENA A, BORGNACKE W S. Association between diabetes mellitus/hyperglycaemia and peri-implant diseases: systematic review and meta-analysis [J]. *J Clin Periodontol*, 2017, 44(6): 636-648.
- [10] SHANG R, GAO L. Impact of hyperglycemia on the rate of implant failure and peri-implant parameters in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis [J]. *J Am Dent Assoc*, 2021, 152(3): 189-201.
- [11] ZACAY G, HERSHKOWITZ SIKRON F, HEYMANN A D. Glycemic control and risk of cellulitis [J]. *Diabetes Care*, 2021, 44(2): 367-372.
- [12] NIBALI L, GKRIANAS N, MAINAS G, et al. Periodontitis and implant complications in diabetes [J]. *Periodontol 2000*, 2022, 90(1): 88-105.
- [13] EPIG J T, BLAKE J A, BULT C J, et al. The mouse genome database (MGD): facilitating mouse as a model for human biology and disease [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D726-D736.
- [14] HIYARI S, WONG R L, YAGHSEZIAN A, et al. Ligature-induced peri-implantitis and periodontitis in mice [J]. *J Clin Periodontol*, 2018, 45(1): 89-99.
- [15] PIRIH F Q, HIYARI S, LEUNG H Y, et al. A murine model of lipopolysaccharide-induced peri-implant mucositis and peri-implantitis [J]. *J Oral Implantol*, 2015, 41(5): e158-e164.
- [16] LUTZ T A. An overview of rodent models of obesity and type 2 diabetes [J]. *Methods Mol Biol*, 2020, 2128: 11-24.
- [17] BARRIOS-CORREA A A, ESTRADA J A, CONTRERAS I. Leptin signaling in the control of metabolism and appetite: lessons from animal models [J]. *J Mol Neurosci*, 2018, 66(3): 390-402.
- [18] SURIANO F, VIEIRA-SILVA S, FALONY G, et al. Novel insights into the genetically obese (ob/ob) and diabetic (db/db) mice: two sides of the same coin [J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 147.
- [19] LUTZ T A. Mammalian models of diabetes mellitus, with a focus on type 2 diabetes mellitus [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2023, 19(6): 350-360.
- [20] KATSUDA Y, OHTA T, MIYAJIMA K, et al. Diabetic complications in obese type 2 diabetic rat models [J]. *Exp Anim*, 2014, 63(2): 121-132.
- [21] MONAHAN G E, SCHIAVI-TRITZ J, BRITTON M, et al. Longitudinal alterations in bone morphometry, mechanical integrity and composition in type-2 diabetes in a Zucker diabetic fatty (ZDF) rat [J]. *Bone*, 2023, 170: 116672.

- [22] EMINI L, SALBACH-HIRSCH J, KRUG J, et al. Utility and limitations of TALLYHO/JngJ as a model for type 2 diabetes-induced bone disease [J]. JBM Plus, 2023, 7(12): e10843.
- [23] WON H Y, LEE J A, PARK Z S, et al. Prominent bone loss mediated by RANKL and IL-17 produced by CD4⁺ T cells in TallyHo/JngJ mice [J]. PLoS One, 2011, 6(3): e18168.
- [24] YAMADA T, KOSE H, OHTA T, et al. Genetic dissection of complex genetic factor involved in NIDDM of OLETF rat [J]. Exp Diabetes Res, 2012, 2012: 582546.
- [25] BAEK S M, KIM K, KIM S, et al. SP prevents T2DM complications by immunomodulation [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 16753.
- [26] WANG B, CHANDRASEKERA P C, PIPPIN J J. Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes [J]. Curr Diabetes Rev, 2014, 10(2): 131-145.
- [27] MARTÍN-CARRO B, DONATE-CORREA J, FERNÁNDEZ-VILLABRILLE S, et al. Experimental models to study diabetes mellitus and its complications: limitations and new opportunities [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(12): 10309.
- [28] LENZEN S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes [J]. Diabetologia, 2008, 51(2): 216-226.
- [29] BURGEIRO A, CERQUEIRA M G, VARELA-RODRÍGUEZ B M, et al. Glucose and lipid dysmetabolism in a rat model of prediabetes induced by a high-sucrose diet [J]. Nutrients, 2017, 9(6): 638.
- [30] KHADKE S P, KUVALEKAR A A, HARSULKAR A M, et al. High energy intake induced overexpression of transcription factors and its regulatory genes involved in acceleration of hepatic lipogenesis: a rat model for type 2 diabetes [J]. Biomedicines, 2019, 7(4): 76.
- [31] FURMAN B L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats [J]. Curr Protoc Pharmacol, 2015, 70: 1-20.
- [32] FURMAN B L, CANDASAMY M, BHATTAMISRA S K, et al. Reduction of blood glucose by plant extracts and their use in the treatment of diabetes mellitus; discrepancies in effectiveness between animal and human studies [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 247: 112264.
- [33] LINDHE J, BERGLUNDH T, ERICSSON I, et al. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog [J]. Clin Oral Implants Res, 1992, 3(1): 9-16.
- [34] BECKER ST, FÖGE M, BECK-BROICHSITTER BE, et al. Induction of periimplantitis in dental implants [J]. J Craniofac Surg, 2013, 24(1): e15-e18.
- [35] PIRIH F Q, HIYARI S, BARROSO A D, et al. Ligature-induced peri-implantitis in mice [J]. J Periodontal Res, 2015, 50(4): 519-524.
- [36] ZHANG H, YUAN Y, WU X, et al. Application of immediate implant placement techniques in peri-implantitis modeling [J]. J Craniofac Surg, 2023, 34(8): 2544-2550.
- [37] BERGLUNDH T, ZITZMANN N U, DONATI M. Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? [J]. J Clin Periodontol, 2011, 38(11): 188-202.
- [38] TAKAMORI Y, ATSUTA I, NAKAMURA H, et al. Histopathological comparison of the onset of peri-implantitis and periodontitis in rats [J]. Clin Oral Implants Res, 2017, 28(2): 163-170.
- [39] SUN J, EBERHARD J, GLAGE S, et al. Development of a peri-implantitis model in the rat [J]. Clin Oral Implants Res, 2020, 31(3): 203-214.
- [40] FREIRE M O, SEDGHIZADEH P P, SCHAUDINN C, et al. Development of an animal model for *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* biofilm-mediated oral osteolytic infection: a preliminary study [J]. J Periodontol, 2011, 82(5): 778-789.
- [41] NIE B E, AO H, LONG T, et al. Immobilizing bacitracin on titanium for prophylaxis of infections and for improving osteoinductivity: an in vivo study [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2017, 150: 183-191.
- [42] HE Q, MU Z, SHRESTHA A, et al. Development of a rat model for type 2 diabetes mellitus peri-implantitis: a preliminary study [J]. Oral Dis, 2022, 28(7): 1936-1946.
- [43] LUMBIKANANDA S, SRITHANYARAT S S, MATTHEOS N, et al. Oral fluid biomarkers for peri-implantitis: a scoping review [J]. Int Dent J, 2024, 74(3): 387-402.
- [44] ZHANG Q, XU H, BAI N, et al. Matrix metalloproteinase 9 is regulated by LOX-1 and erk1/2 pathway in dental peri-implantitis [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2020, 21(9): 862-871.
- [45] YAMAZAKI S, MASAKI C, NODAI T, et al. The effects of hyperglycaemia on peri-implant tissues after osseointegration [J]. J Prosthodont Res, 2020, 64(2): 217-223.
- [46] LI H, WANG Y, ZHANG D, et al. Glycemic fluctuation exacerbates inflammation and bone loss and alters microbiota profile around implants in diabetic mice with experimental peri-implantitis [J]. Int J Implant Dent, 2021, 7(1): 79.
- [47] Drugs for type 2 diabetes [J]. Med Lett Drugs Ther, 2019, 61(1584): 169-178.
- [48] LIU Q Q, WU W W, YANG J, et al. A GP130-targeting small molecule, LMT-28, reduces LPS-induced bone resorption around implants in diabetic models by inhibiting IL-6/GP130/JAK2/STAT3 signaling [J]. Mediators Inflamm, 2023, 2023: 9330439.
- [49] KENSARA A, HEFNI E, WILLIAMS M A, et al. Microbiological profile and human immune response associated with peri-implantitis: a systematic review [J]. J Prosthodont, 2021, 30(3): 210-234.
- [50] GORTÁZAR A R, ARDURA J A. Osteocytes and diabetes: altered function of diabetic osteocytes [J]. Curr Osteoporos Rep, 2020, 18(6): 796-802.
- [51] WENG J, FAN H, LIU H, et al. Abnormal decrease of macrophage ALKBH5 expression causes abnormal polarization and inhibits osteoblast differentiation [J]. Stem Cells Int, 2023, 2023: 9974098.
- [52] QIU W, CHEN Z, WANG Z, et al. AdipoAI suppresses osteoclastogenesis by activating AdipoR1/APPL1: an in vivo experimental study in diabetes-associated peri-implantitis [J]. Clin Oral Implants Res, 2023, 34(6): 602-617.