

第2版

实验口腔医学

EXPERIMENTAL STOMATOLOGY

主编 章魁华 于世凤



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



实验口腔医学

EXPERIMENTAL
STOMATOLOGY

第 1 卷 第 1 期

第 1 卷 第 1 期

实验口腔医学

Experimental
Stomatology

第2版

- 主 编 章魁华
于世凤
► 助 编 李斌斌

 人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

实验口腔医学/章魁华等主编. —2 版. —北京:
人民卫生出版社, 2009. 7

ISBN 978 - 7 - 117 - 11835 - 4

I. 实… II. 章… III. 口腔科学 IV. R78

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 059237 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.hrhexam.com	执业护士、执业医师、 卫生资格考试培训

实验口腔医学

第 2 版

主 编: 章魁华 于世凤

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010 - 67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

印 刷: 北京人卫印刷厂 (富华)

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 35.5 插页: 8

字 数: 863 千字

版 次: 2002 年 3 月第 1 版 2009 年 7 月第 2 版第 2 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 11835 - 4/R · 11836

定 价: 96.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010 - 87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

编者 (以姓氏笔画为序)

- | | |
|----------------|------------------|
| 于世凤 | (北京大学口腔医学院) |
| 马 训 | (北京大学口腔医学院) |
| 马 秦 | (第四军医大学口腔医学院) |
| 王 兴 | (北京大学口腔医学院) |
| 王晓霞 | (北京大学口腔医学院) |
| 司徒镇强 | (第四军医大学口腔医学院) |
| 朱洪平 | (北京大学口腔医学院) |
| 华 红 | (北京大学口腔医学院) |
| 李晓彤 | (北京大学口腔医学院) |
| 李铁军 | (北京大学口腔医学院) |
| 李盛琳 | (北京大学口腔医学院) |
| 李斌斌 | (北京大学口腔医学院) |
| 李翠英 | (首都医科大学附属北京口腔医院) |
| 邱立新 | (北京大学口腔医学院) |
| 张 丁 | (北京大学口腔医学院) |
| 张 益 | (北京大学口腔医学院) |
| 张建国 | (北京大学口腔医学院) |
| 张熙恩 | (北京大学口腔医学院) |
| 岳 林 | (北京大学口腔医学院) |
| 郑树国 | (北京大学口腔医学院) |
| 郝建军 | (第四军医大学口腔医学院) |
| 俞光岩 | (北京大学口腔医学院) |
| 柴 洋 | (美国南加州大学牙科学院) |
| 高 岩 | (北京大学口腔医学院) |
| 高学军 | (北京大学口腔医学院) |
| 章魁华 | (北京大学口腔医学院) |
| 舒胜文 | (北京大学口腔医学院) |
| 蔡志刚 | (北京大学口腔医学院) |
| Slavkin Harold | (美国南加州大学牙科学院) |
| Park No-Hee | (美国加州大学洛杉矶牙科学院) |

第2版序

日前，我的师长章魁华教授再次要我为他和于世凤教授主编的《实验口腔病理学》再版作序。由于内容的扩充和修改，再版的书名更名为《实验口腔医学》。虽然我也曾为不少专家教授的著书写过序。那是我日常工作的一部分，日常学习的一部分也还不至于动情。然而这次写序不一样，居然情不自禁地拨动了我的心弦：怎么章教授还在编书呀！

章魁华教授已是 84 岁高龄，年迈多病。虽然已退休多年，仍然还坚持到北大口腔医学院他的实验室坐班工作。我常常看到他一杯茶、一支烟在那已经陈旧的办公桌前伏案笔耕。十几年来，他一直承担着繁忙的 The Chinese Journal of Dental Research 执行主编工作。对所有的稿件，无论是基础学科，还是各临床学科，他都一一审阅。对文章的文字、语法一字一句修改，以及最后校样。简直是我们口腔医学界的全能英文冠军；他辛勤劳作几年，刚刚完稿了作为第一主编的《英汉口腔医学词典》现在又正在为再版《实验口腔病理学》一书资料收集、组织编写忙碌着。我一边写一边浮想联翩……

章魁华教授原本是我国老一辈著名口腔颌面外科专家。他酷爱读书，看各种书籍和专业文献是他的嗜好。回想起在西什库北大口腔老院时，每当我中午找他请教文章时，见到的形象总是一个模式：斜靠在椅子上、一手一支烟、一手一本书，桌上一杯茶、茶旁一块饼可谓 4 件套（他中午一般不用午餐）。这是章教授的定态。有一次我中午又找他。一看 4 件套少了一件。只见他一只手抽烟，另一只手空着。我好奇地问章大夫怎么不看书了？他的回答让我大吃一惊。他说图书馆里的书都看完了，没有书可借了！日复一日年复一年地勤奋读书，铸成了章魁华教授的博学多才。他是我们公认的才子！

20 世纪 70 年代末，改革开放带来了科学研究的春天。口腔颌面外科的领导班子决定要建立口腔颌面外科实验室（研究室），开展临床学科的基础研究。在当时口腔颌面外科几十位医师中都没有作实验性基础研究的功底。没有人可担此重担。再说也没有人愿意放弃手术刀。虽然章魁华教授也是临床医师，然而他的专业知识面广，英文功底好，阅读英文资料快。他勇敢地挑起了创建国内第一个口腔颌面外科实验室的重担，和李盛琳医师开创了在临床学科作基础实验研究，在临床学科培养 Ph.D 研究生的先河。几十年来章魁华教授和于世凤、李盛琳教授积累了实验口腔医

学学科的丰富的知识技能和方法,为我国主编了首部《实验口腔病理学》,推动了我国实验口腔医学的发展。章魁华教授是我国实验口腔医学的开拓者之一,也是口腔颌面外科实验研究的奠基人。

1990年10月启动了人类基因组计划,历时16年到2006年5月18日人类最后一个染色体测序工作完成,宣告了人类基因组计划已圆满结束。期间干细胞研究以及克隆技术的蓬勃发展,基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等前沿学科的兴起,使得基础医学的研究突飞猛进。各种新概念、新技术和新方法日新月异,分子生物学技术、组织工程技术,包括牙组织工程技术、基因工程技术(基因重组)、基因克隆、基因芯片、DNA疫苗技术及蛋白工程技术……很大地促进了口腔医学实验性基础研究的发展。丰富了许多实验性技术和方法。另一方面,近年来许多口腔疾病的临床研究以及临床基础研究也快速发展。因此,2002年出版的《实验口腔病理学》在这次再版时增加了许多新的内容。例如,龋病、骨质疏松、腭裂、颌骨骨折、牵引成骨、阻塞性呼吸暂停低通气综合征、细胞外基质研究及组化应用技术等基础研究课题。使得《实验口腔医学》一书内容更加丰富,涵盖口腔医学的基础学科更广,包括了口腔医学基础研究的最新成果和进展。

2006年1月召开的全国科学技术大会上,中共中央国务院发出了建设创新型国家的号召。科学技术的总体目标是到2020年进入创新型国家行列。我国口腔医学经历了改革开放后30年的发展,基础研究也有了长足的进展。在这正向创新性研究进军的时刻,本书的出版将推动我国口腔医学基础研究的发展。我愿意向广大口腔科技工作者、研究人员和研究生推荐《实验口腔医学》。

张震康

2009年4月

第1版序

如果说 20 世纪是物理和化学的世纪,那么许多科学家预言,21 世纪将是生命科学的世纪。人类智力的辉煌,在 20 世纪使物理和化学灿烂夺目。DNA 双螺旋结构的发现是灿烂夺目中最绚丽的一颗明珠,它照亮了生命科学的新纪元。人类从探索自然开始转向探索自身。

在探索自然界一切规律中,最复杂的是生命现象,而生命现象中最为深奥神秘的乃是人的生理和病理现象。人的崇高尊严使我们不能像对其他物体包括动植物在内那样,直接在人体进行研究。这样体外实验和动物实验就成为探索人的病理现象的主要方法。

改革开放的 20 年间,是新中国成立后,我国口腔医学研究最旺盛的时期。口腔研究工作者几乎天天进行体外实验,制造动物模型和进行动物实验。但是在口腔医学领域已出版的几十上百部专著中,还没有一本实验口腔病理学的专著。不能不说是口腔医学书籍中一个遗憾的空白,两位主编的辛勤,满足了我已久的盼望。

本书的主编是我国两位资深的著名口腔颌面外科、口腔实验病理和口腔病理学专家。章魁华教授是我国第一个口腔颌面外科实验研究室的创建者。他的渊博知识和在口腔颌面外科实验研究中的卓著成绩被国人所公认。于世凤教授在口腔病理学方面耕耘 40 年,在口腔肿瘤和牙周病病理学的研究成绩显著。尤其是她在国内首次引进并将成骨和破骨细胞分离成功,为颌骨的成骨和破骨机制研究进行了开创性工作。在编委中,有我国实验口腔病理开拓者之一的资深专家司徒镇强教授,还有一批在国外著名实验室进行研究工作多年的回国学子。值得提到的还有两位国外专家。一位是现任美国国立牙颌面研究院院长 Slavkin 教授;一位是现任美国加州大学洛杉矶分校牙科学院院长 Park 教授,他们都是国际著名专家。编著者的阵容使本书具有权威性。

实验口腔病理学包括体外实验和体内实验两部分。系统地介绍了当今常用的先进的实验技术和方法。还反映了许多前沿学科研究成果和最新进展,它既是很好的一本口腔医学基础学科的高级参考书,又是口腔研究人员很好的一本工具书。它的出版将推动我国口腔基础医学的研究。

张震康

1999 年 11 月

致 谢

本书是在众多专家学者的鼓励和支持下，以及北京医科大学口腔医学院原院长、中华口腔医学会名誉会长张震康教授的关怀下完成的，在本书完成之际又蒙他在百忙中为本书作序。

北京大学口腔医学院口腔颌面外科研究室李盛琳研究员、傅嘉主管技师及王衣祥医师在编写过程中给予了大力协助。

本书是在各位编者密切合作的基础上共同完成的，特致以衷心的感谢。

口腔

实验口腔医学 STOMATOLOGY

EXPERIMENTAL

实验

实验口腔医学是口腔医学的重要组成部分，是培养口腔医学专业学生临床思维能力和实践能力的重要环节。本书以《口腔医学》教材为基础，结合临床实际，编写了本实验教材。本书共分八章，主要介绍口腔医学实验的基本理论、基本方法和基本技能。本书可作为口腔医学专业及相关专业的实验教材，也可供从事口腔医学工作的医务人员参考。

主编：王学军

本书在编写过程中，得到了许多领导和专家的关心与支持，在此表示衷心的感谢。

由于编者水平有限，书中难免存在不足之处，恳请读者批评指正。

第2版前言

本书是在实验口腔病理学的基础上，增加内容并修订而成。新增加及修订的内容包括：①龋病一节，重新改写并增加内容，以更全面地反映对龋病的研究；②骨折章节，重新改写并增加内容；③牵引成骨的实验研究为新增加的一节；④阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的实验研究也是新增加的内容；⑤骨质疏松一节增加了颌骨结构特点及研究方法等内容；⑥腭裂一节，新增加的内容更为广泛，提供了不少新的思路；⑦细胞外基质的研究和有关免疫组织化学部分皆做了修订及增加内容；⑧体外研究部分也做了修订。

由于内容更为广泛，涉及口腔医学的各个学科，已不是“实验口腔病理学”所能包括，故改名为“实验口腔医学”（Experimental Stomatology），更能反映本书的实际情况。

实验口腔医学一书，国内尚未见到，国外则只见到 Dreizen S. 和 Levy BM 合著的《Handbook of Experimental Stomatology》，内容较为简略，而体内研究则未包括，可能是该时体内的研究报道不多，而有关口腔医学的内容，更为罕见之故。

本书是邀请各方面学有专精的专家写成，提供了实验研究较广泛的思路。希望本书能有助于有志进行实验研究者参考。

本书尚存在许多不足之处，我们热切地希望各学科的专家、学者、医师、研究生和同仁们提出宝贵的意见。

章魁华 于世凤

2009年3月

第1版前言

口腔病理学是口腔医学中的一门重要学科,是口腔医学基础和临床之间的桥梁,其根本任务是探讨口腔疾病的组织学发生及其发病机制和本质,为临床诊断、预防和治疗疾病提供理论基础。

随着现代科学技术的发展,口腔病理学的研究方法和手段也日益进步,从而在其范畴之中出现了一些新的领域或分支,实验口腔病理学即为其中之一。

实验口腔病理学是口腔病理学的一个重要组成部分,近年来发展迅速,但迄今为止,尚未见到较全面的专著。

口腔病理学的发展在很大程度上依赖于对活体组织检查所获得的资料所作的分析和总结。然而,这些检查(绝大多数是镜下检查)都只观察到疾病发展过程中的一个片断,不能全面地了解疾病发生、发展的全过程,尤其难以研究疾病的病因学、发病机制、形态发生学,以及形态与功能改变的联系。因此,实验口腔病理学应运而生。

实验口腔病理学包括体内实验和体外实验两种手段。

体内实验即动物实验(疾病的动物模型研究),其目的是以选定的因素在动物体内复制疾病,既可肯定病因,又可在疾病发生、发展的全过程中,连续研究患病机体的各种变化。不仅可以认识疾病的全貌,而且可以多次重复并予以研究预防和治疗的手段,这些研究在人体上是不可能做到的。

动物实验在口腔医学中开展甚早,例如,Euler在1923年即以狗为实验动物,研究了正常拔牙创的愈合,提出了正常拔牙创愈合的7个基本阶段。Meyer在1924年也用狗为实验动物,研究了异常拔牙创的愈合过程及碘仿纱条的治疗效果。

肿瘤的动物模型研究起源甚早,日本的山极和市川于1915年以沥青涂抹兔耳皮肤诱发皮肤癌成功。1944年,Salley首次以DMBA(二甲基苯并蒽)涂抹叙利亚金黄地鼠颊囊黏膜,成功地制成颊黏膜癌。自此以后,对口腔癌的研究起了巨大的促进作用,特别是对肿瘤发生发展过程是从正常上皮,经增生、异常增生(为癌前病变,分轻、中、重三级),然后发展为癌的认识,对肿瘤的防治作用有重大影响。

动物模型研究在本书中以疾病的复制为主,尽可能地引用国内的研究成果。然而,对龋病的研究,目前已很少用动物进行实验,而以体外研究为主。但其起源为动物实验,故仍将其列入动物模型研究之中。

体外的实验方法主要是以细胞培养和组织器官培养的方法,研究离体组织和细胞在一定因素作用下的改变。此工作近 20 年来在我国发展迅速。例如,在正常细胞培养方面,成功地进行了正常口腔黏膜上皮细胞培养、牙髓细胞培养、牙周膜细胞培养、唾液腺细胞培养、面神经施万细胞培养、面神经运动神经元培养、髁突软骨细胞培养、成骨及破骨细胞培养、间质干细胞培养等等,对口腔疾病防治的研究起了重要作用。例如,北京医科大学口腔医学院于 1988 年首先引进并改进了成骨及破骨细胞的分离培养并作了一系列研究,对骨破坏的防治将有深远影响。间质干细胞则有望用于骨缺损的修复。在器官培养方面,已成功地进行了颌骨器官培养及牙胚器官培养,工作方兴未艾,大有发展前途。

肿瘤细胞培养对癌细胞细胞生物学的研究起着十分重要的作用,自 1981 年和 1983 年上海第二医科大学口腔医学院和北京医科大学口腔医学院先后建成舌癌细胞株以来,已成功地建立了多个肿瘤细胞株,如腺样囊性癌、黏液表皮样癌等,并用之进行了多种研究如治疗研究,取得了很大成绩。更进一步,建立了高转移肿瘤细胞株和多药耐药细胞株,为研究肿瘤的转移机制及防治和肿瘤化疗开阔了广泛前景。

总之,实验口腔病理学在我国的发展是本书的重要基础,没有全国同道的辛勤工作,本书是难以完成的。

对口腔的研究不仅局限于口腔,也涉及全身。据保守的估计,约有 200 种以上的疾病有口腔结构上和功能上的改变。口腔也好像一面镜子,可反映过去和现在的营养紊乱情况,可惜这方面的研究在国内很少,不得不引用国外的一些资料。

在研究中需要应用的方法甚多,本书对免疫组化、免疫荧光、分子生物学等技术也作了一些介绍,供参考。

参加本书写作者,多数是学有专长的中青年专家,反映了我国口腔医学的发展后继有人。

本书的写作是一初步尝试,缺点甚多,望能引起关注和提出宝贵意见,以供进一步补充和修改。

章魁华 于世凤

注:①在本书中参考文献附各篇之后,按出现先后顺序排列。

②图的编号按篇 章 节 顺序排列,例:Ⅰ-2-17-2 为第一篇,第二章,第十七节,第 2 图。

目 录

第一篇 体内研究

第一章 实验动物	3
第一节 概述	3
第二节 常用实验动物简介	10
一、小鼠	10
二、裸小鼠	12
三、金黄地鼠	13
四、大鼠	13
五、豚鼠	14
六、兔	14
七、狗	14
八、羊	15
九、猪	15
十、猕猴	16
第二章 动物模型研究	17
第一节 龋病	17
第二节 牙髓炎	28
第三节 慢性根尖周炎	30
第四节 氟牙症	32
第五节 殆创伤	33
第六节 牙周炎及骨质疏松动物模型	36
一、牙周炎动物模型	36
二、骨质疏松动物模型	42
三、骨质疏松动物模型建立的标准及其规范化建议	43
第七节 复发性口腔溃疡	45
第八节 口腔黏膜白色念珠菌感染	49
第九节 干槽症	54
第十节 剩余牙槽嵴吸收	58
第十一节 牙种植	63
第十二节 颞下颌关节骨关节病	73

第十三节	三叉神经痛	77
第十四节	舍格伦综合征	79
第十五节	骨和颌骨骨折	87
第十六节	口腔组织对创伤的反应	98
第十七节	牙源性囊肿	100
第十八节	牙源性肿瘤	104
第十九节	口腔黏膜癌前病变	106
第二十节	口腔黏膜下纤维性变	114
第二十一节	唾液腺癌	115
第二十二节	口腔黏膜癌	118
一、概述		118
二、颊黏膜癌		121
三、舌癌		127
四、牙龈癌		130
五、腭黏膜癌		131
第二十三节	可移植性肿瘤	131
第二十四节	颌骨骨髓炎	136
第二十五节	射线对口腔组织的作用	136
第二十六节	颌骨放射性骨坏死	140
第二十七节	正颌外科	144
第二十八节	唇腭裂	168
一、常染色体三倍体小鼠实验动物模型的研究进展		174
二、18 常染色体三倍体 NMRI 小鼠发育畸形的实验动物模型的建立		177
三、18 常染色体三倍体 NMRI 小鼠发育畸形的实验动物模型的相关参数		187
四、18 常染色体三倍体 NMRI 小鼠发育畸形的实验动物模型建立的意义		196
第二十九节	颌骨牵引成骨	201
第三十节	阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征	209
一、自发性动物模型		209
二、诱发性动物模型		210
第三十一节	口腔病毒感染	212
第三十二节	营养	214
第三十三节	激素紊乱	230
第三十四节	口腔感觉	235
第三十五节	其他	236

第二篇 体外研究

第一章	基本概念	241
一、口腔组织培养相关组织特征		241

二、组织培养技术在我国口腔医学研究中的应用及发展	246
第二章 组织培养的基本知识和技术	247
第一节 组织培养实验室设计及设备	247
一、实验室设计	247
二、常用设备	247
三、清洗及灭菌	249
四、培养用液及制备	250
第二节 体外培养细胞的需求	253
一、细胞类型与培养体系	253
二、细胞生长的需求	256
第三节 合成培养基	259
一、常用培养基简史	259
二、合成培养基的主要成分	263
三、需血清培养基	264
四、无血清培养基	264
五、培养基的选择	267
第四节 组织培养中的一般问题	272
一、污染的检测	272
二、培养基中抗生素的应用	276
三、培养物污染的去除	277
四、细胞的保护、贮存和运输	278
第五节 组织培养的一般技术	281
一、组织培养技术的基本要求	281
二、组织的取材及分离	282
三、单层细胞培养技术	286
第六节 细胞系与细胞克隆	299
一、细胞克隆	299
二、细胞系的建立与命名	301
第七节 细胞系的特征及鉴定	303
一、培养细胞形态学观察	303
二、细胞生长指标的测定	307
三、细胞遗传性状的鉴定	311
第八节 细胞永生化研究进展	317
第三章 口腔颌面部正常组织培养	320
第一节 正常口腔黏膜角质细胞培养	320
第二节 永生化人口腔角质细胞系的建立	322
第三节 牙髓细胞培养	334

第四节 牙周膜细胞的培养	339
第五节 唾液腺腺细胞培养	342
第六节 面神经施万细胞培养	349
第七节 面神经运动神经元细胞培养	352
第八节 髁突软骨细胞培养	358
第四章 破骨细胞、成骨细胞及间质干细胞培养	360
第一节 破骨细胞培养	360
第二节 成骨细胞培养	371
第三节 颌骨骨代谢研究方法的评估	377
第四节 间质干细胞培养	380
第五节 人牙髓干细胞培养	384
第五章 口腔及唾液腺癌细胞系的建立	389
第一节 培养中的肿瘤细胞特性	389
第二节 口腔和唾液腺癌细胞系的建立	393
第三节 高转移细胞系及转移动物模型的建立	399
第四节 人口腔鳞癌多药耐药细胞系的建立及多药耐药性的检测	406
一、人口腔鳞癌多药耐药细胞系的建立	406
二、口腔颌面部恶性肿瘤多药耐药性的检测	408
第六章 口腔器官培养	415
第一节 早期胚胎鼠下颌器官的体外培养	415
第二节 牙胚器官培养	422
 第三篇 免疫组化及分子生物学等在口腔医学中的应用	
第一章 免疫组织化学在口腔医学中的应用	429
第一节 免疫组织化学技术的发展	429
第二节 免疫组织化学的优缺点	430
第三节 免疫组织化学第一反应剂及第二检测系统的选择	431
第四节 常用免疫组织化学染色步骤和注意事项	435
第五节 正常和病变口腔组织的免疫组织化学特点	438
第二章 免疫荧光技术在口腔病研究中的应用	453
第一节 口腔疾患与免疫	453
一、概述	453
二、口腔免疫系统	455
三、口腔疾患与免疫	456