

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00914

## 粪肠球菌再感染根尖周炎病程进展分析

郭晓霞,王燕煌,黄晓晶\*,卢冰玲,张明

福建医科大学口腔医学院牙体牙髓教研室,福建省高校口腔医学重点实验室,福州 350002

**[摘要]** **目的** 构建粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, *E. faecalis*)再感染大鼠根尖周炎模型,通过观察实验牙根尖区骨质破坏面积、根尖区炎症状态及 TNF- $\alpha$  表达,分析 *E. faecalis* 再感染大鼠根尖周炎的病程进展。**方法** SD 大鼠 30 只,采用双侧上颌第一磨牙开髓后置入细菌内毒素脂多糖并自然暴露于口腔正常菌群 4 周的方法建立混合菌初次感染慢性根尖周炎模型,建模成功后对实验牙行根管预备、封药消毒 2 周,其后去除填充物,根管内注入 *E. faecalis* 菌悬液,封闭洞口 1 周建立 *E. faecalis* 再感染大鼠根尖周炎模型,之后连续观察 3 周。*E. faecalis* 再感染根尖周炎组大鼠在建模成功后 1 周、2 周、3 周时,以及混合菌初次感染慢性根尖周炎组正常培养 6 周后、慢性根尖周炎氢氧化钙治疗组经氢氧化钙治疗 6 周后,各组随机处死 6 只大鼠,通过 X 线测量法、H-E 染色和免疫组化染色分别检测实验牙根尖周区骨质破坏面积、根尖周区炎症状态及炎症因子 TNF- $\alpha$  的表达量。**结果** (1) *E. faecalis* 再感染大鼠根尖周炎建模成功后连续观察 3 周发现根尖周骨质破坏面积持续增加,骨破坏边界仍不清晰,而根尖周炎症 1~2 周时达重度炎症,在 3 周时已转为慢性炎症状态, TNF- $\alpha$  表达量在 2 周后下降。(2) 混合菌初次感染慢性根尖周炎组根尖周骨质破坏面积较小,骨破坏边缘清晰,根尖炎症程度低, TNF- $\alpha$  表达量少。(3) 慢性根尖周炎氢氧化钙治疗组根尖周骨质破坏面积最小,炎症消退,可见根尖周牙骨质和牙槽骨新生明显, TNF- $\alpha$  极少量表达。**结论** *E. faecalis* 具有较强的破坏根尖周组织的能力,在慢性炎症时,根尖周组织仍有进行性溶骨破坏的现象。

**[关键词]** 粪肠球菌;根尖周炎;动物模型

**[中图分类号]** R 781.42 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)08-0914-05

## Progression analysis of periapical periodontitis caused by repeated root canal infection with *Enterococcus faecalis*

GUO Xiao-xia, WANG Yan-huang, HUANG Xiao-jing\*, LU Bing-ling, ZHANG Ming

Department of Endodontics, School of Stomatology, Key Laboratory for Stomatology of the Education Department of Fujian Province, Fujian Medical University, Fuzhou 350002, Fujian, China

**[Abstract]** **Objective** To develop a rat model of periapical periodontitis caused by repeated root canal infection with *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), and to evaluate the disease progression by observing the periapical lesion area, inflammation, and TNF- $\alpha$  expression in the root apex. **Methods** Thirty Sprague Dawley rats were used in this study. The pulps of the bilateral first maxillary molar teeth of each rat were exposed, absorbent cotton with lipopolysaccharides (LPS) was implanted, and then the teeth were exposed in the oral environment for four weeks to induce periapical periodontitis of primary root canal infection with mixed bacteria. Then the root canal was subjected to disinfection treatment for two weeks, followed by inoculation with *E. faecalis* suspension for one week to produce repeated root canal infection model with *E. faecalis* for a 3-week observation. X-ray, H-E staining and immunohistochemical staining were used to observe the periapical lesion area, inflammation, and TNF- $\alpha$  expression in the root apex at one week, two weeks, three weeks after establishment of repeated root canal infection model; the above parameters were also observed for periapical periodontitis caused by primary root canal infection with mixed bacteria (6 weeks later) and for root canal disinfected by Ca (OH)<sub>2</sub> (for 6 weeks). **Results** (1) Periapical periodontitis caused by repeated root canal infection with *E. faecalis* had gradually increased periapical lesion area, with unclear damage border; the infection reached a severe level during the 1-2 weeks and became chronic inflammation at week three; and the expression of TNF- $\alpha$  began to decrease after two weeks. (2) The periapical periodontitis caused by primary root canal infection with mixed bacteria had a smaller periapical lesion area, with clear damage border, slighter infiltration of inflammatory

**[收稿日期]** 2012-12-30 **[接受日期]** 2013-05-08

**[基金项目]** 福建省自然科学基金(2012J01346). Supported by Natural Science Foundation of Fujian Province (2012J01346).

**[作者简介]** 郭晓霞,硕士.现工作于陕西中医学院第二附属医院口腔科,咸阳 712000. E-mail: 297880773@qq.com

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0591-83736434, E-mail: hxiaoj@163.com

cells, and less TNF- $\alpha$  expression. (3) The periapical periodontitis with root canal disinfected by Ca (OH)<sub>2</sub> had the smallest periapical lesion area, with disappeared inflammation, slight TNF- $\alpha$  expression, and hyperplasia of cementum and alveolar bone. **Conclusion** *E. faecalis* has a strong periapical damaging effect, with continuous bone absorption observed even under the chronic inflammatory status.

[Key words] *Enterococcus faecalis*; periapical periodontitis; animal models

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(8): 914-918]

近年来粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, *E. faecalis*)是牙体牙髓领域的研究热点。*E. faecalis*在初次感染的根管中定植较少,在经治疗但失败的再感染根管中检出率较高<sup>[1]</sup>。以*E. faecalis*为主的细菌形成的根管再感染病例多表现为难治性根尖周炎,即根尖周组织存在持续或反复的炎症,虽经多次正规治疗仍不能痊愈,甚至发生炎症扩散,在原有根尖周组织破坏的周围出现新的炎症破坏区,X线片表现为根尖周阴影面积扩大。进一步研究发现,*E. faecalis*与难治性根尖周炎各类临床症状存在相关性,Pinheiro等<sup>[2]</sup>发现*E. faecalis*与疼痛症状有关,而牛卫东等<sup>[3]</sup>与郭惠杰等<sup>[4]</sup>则分别证实了*E. faecalis*的存在与咬合痛及窦道(形成)的密切关系。因此可以推断*E. faecalis*在难治性根尖周炎的发生发展中起着重要作用。

为明确*E. faecalis*在难治性根尖周炎中的作用,本实验拟采用本课题组前期建立的*E. faecalis*再感染根尖周炎动物模型,观察其病程进展,探讨*E. faecalis*与难治性根尖周炎的关系。此外,临床上还发现根管初次感染的根尖周炎临床症状较轻,经根管治疗后成功率高,而难治性根尖周炎等根管再感染的根尖周炎,虽经反复正规治疗,仍有根尖周骨质的大面积破坏和炎症不易修复的现象,推测再感染根管内的细菌对根尖周组织具有更强的致炎性和溶骨破坏作用。因此本实验还比较分析了初次感染根尖周炎模型和*E. faecalis*再感染根尖周炎模型的病程进展,观察两种不同模式根尖周炎发生发展过程中细菌对根尖周组织的破坏程度以及病变过程是否存在差异。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物及材料 8周龄雄性SD大鼠30只,体重200~250g(南京军区福州总医院比较医学科提供);大肠杆菌内毒素(*E. coli*; B5 L2880,美国Sigma公司);*E. faecalis*标准株(ATCC 33186,美国菌种保藏中心);脑心浸液粉(广东省微生物科技有限公司);全自动酶联免疫测定仪(德国Human公司);便携式

电动牙钻机(韩国世洋微科公司);1/4号球钻(瑞士Densply公司);数字化X线牙片机(法国Trophy公司);TNF- $\alpha$ 抗体(英国Abcam公司);TNF- $\alpha$ 免疫组化试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)。

1.2 开髓 氯胺酮溶液(150 mg/kg)腹腔内注射麻醉后,将其仰卧固定于手术板上,四肢用丝线栓拉固定,由助手用巾钳牵拉上下颌切牙和舌体,充分暴露出磨牙区,用便携式电动牙钻机及1/4号球钻行双侧上颌第一磨牙颌面开髓术,开髓深度为球钻直径并能探及穿髓点。

1.3 大肠杆菌内毒素放置 将饱蘸大肠杆菌内毒素脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)溶液(5 mg/mL)的小棉球置于开髓窝洞内,洞口直接暴露于口腔环境中,降颌,待动物清醒后正常饲养。

1.4 根管预备与根管消毒 麻醉固定大鼠,碘伏消毒手术野,取出窝洞内小棉球,修整洞形,用根管挫H挫去除牙髓,K锉预备根管至25#,每更换大一号K型锉前应用15%(质量分数)EDTA溶液和2.5%(体积分数)次氯酸钠溶液交替冲洗,最后用生理盐水冲洗后,无菌纸擦干根管,根管口封入甲醛甲酚(FC)干燥小棉球,窝洞用光固化玻璃离子充填,待动物清醒后正常饲养。

1.5 菌液制备 将-70℃保存的*E. faecalis*标准株接种于脑心浸液琼脂培养基上,37℃厌氧(80% N<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>、10% H<sub>2</sub>)复苏培养24h,根据菌落形态、革兰染色、触酶实验证实无杂菌污染,挑选单个菌落于脑心浸液粉液体培养基中培养8h制备成菌悬液,并调节细菌密度, $D_{630}=1.0$ 。

1.6 *E. faecalis*再感染模型建立 麻醉固定大鼠,碘伏消毒手术野,去除洞口充填物及棉球,75%乙醇消毒窝洞,根管内注入*E. faecalis*菌液至平齐根管口,髓腔干燥,窝洞用光固化玻璃离子充填,待动物清醒后正常饲养。

1.7 实验分组及处理 实验分为3组,各组分别为:(1)细菌初次感染慢性根尖周炎组(慢性根尖周炎组);SD大鼠6只,开髓并放置LPS,降颌,髓腔自然开放于口腔正常混合菌群,正常饲养4周,随机取

样检测确定形成慢性根尖周炎模型后,继续正常饲养6周后取样检测;(2)细菌初次感染慢性根尖周炎经氢氧化钙治疗组[Ca(OH)<sub>2</sub>治疗组]:SD大鼠6只,开髓并放置LPS后正常饲养4周,确定形成慢性根尖周炎模型后,根管预备、根管内导入Ca(OH)<sub>2</sub>消毒后继续正常6周后取样检测;(3)*E. faecalis*再感染根尖周炎组:SD大鼠18只,按以上方法先形成初次感染慢性根尖周炎模型,经根管预备、封药消毒治疗2周,随机取样检测确定取得疗效(根尖慢性炎症停止进展并进入修复期)后,在根管内注入*E. faecalis*并封闭1周,随机取样检测确定建模成功后,继续正常饲养3周,分别在建模成功后1周、2周和3周时取样检测。

1.8 检测指标 按上述实验分组设计的不同时间点取样进行如下检测。

1.8.1 X线片拍摄 取4%多聚甲醛溶液中固定3d的颌骨组织,用数字化X线牙片机从磨牙颊舌向拍摄分离的下颌骨组织X线片,曝光条件为:8mA,7kV,0.5s。将X线影像输入计算机图像分析系统,测量根尖周阴影面积。

1.8.2 组织学切片制作 处死大鼠后,立即切取含牙上颌骨组织,剔除软组织,置于4%(质量分数)多聚甲醛固定液中固定3d,10%(质量分数)EDTA溶液脱钙20d,流水冲洗24h,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡浸蜡和包埋。制作颊舌向平行于牙齿长轴且通过根尖孔厚度为4μm的连续切片,行H-E染色。每颗牙随机选取2张切片,置于光学显微镜下观察上颌第一磨牙根尖周组织形态,记录结果并摄像。

将各组的切片编号,记录每张切片炎症细胞数,计算各组炎症细胞均数,根尖周炎症程度按组织学分级标准进行分级。分级标准<sup>[5]</sup>:0级,无或偶见炎症细胞;1级,根尖周毛细血管扩张充血,炎症细胞轻度浸润(观察5个高倍视野,平均每个视野炎症细胞数小于50个);2级,根尖周毛细血管明显扩张充血,炎症细胞中度浸润(平均每个视野炎症细胞数为50~150个),伴有骨吸收;3级,炎症细胞重度浸润(平均每个视野炎症细胞数大于150个),有脓肿形成,根尖牙骨质和牙槽骨明显吸收。

1.8.3 免疫组化检测 行石蜡切片加热抗原修复,后二步法免疫组化染色测定TNF-α表达。数字摄像机拍摄照片,并将照片导入图像分析系统,连续选取根尖孔周围共5个区域(151像素×151像素),分

别测量累积光密度(ID)值,每个切片测量3次,取平均值。

1.9 统计学处理 应用SPSS 19.0软件包进行统计学分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用方差分析和t检验。检验水平(α)为0.05。

## 2 结果

2.1 X线影像分析结果 X线检查可见*E. faecalis*再感染根尖周炎组根尖周阴影面积呈时间依赖性,3周时以实验牙为中心根尖周阴影面积最大,且边界仍不清晰,说明骨质破坏仍在继续;慢性根尖周炎组根尖周阴影面积小,边界清晰,周围骨质较致密;Ca(OH)<sub>2</sub>治疗组根尖周阴影面积明显降低,骨质破坏的边界清晰、范围小,显示出根尖周组织明显的修复迹象。统计学分析显示,3组间实验牙根尖周阴影面积测量值差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,表1)。

表1 各组实验牙根尖周阴影面积的X线测量结果

$n=6, \bar{x} \pm s, A/mm^2$

分组	根尖周阴影面积
<i>E. faecalis</i> 再感染根尖周炎组	
1周	2.015±0.093**△△
2周	2.123±0.115**△△
3周	2.297±0.132**△△
慢性根尖周炎组	1.212±0.520△△
慢性根尖周炎Ca(OH) <sub>2</sub> 治疗组	0.489±0.418**

\*\* $P < 0.01$ 与慢性根尖周炎组比较,△△ $P < 0.01$ 与慢性根尖周炎Ca(OH)<sub>2</sub>治疗组比较

2.2 根尖周组织学分析结果 H-E染色结果显示:*E. faecalis*再感染根尖周炎组1周和2周时实验牙根尖周组织均呈重度炎症状态,1周、2周时炎症程度均为3级,在3周时转为慢性炎症,牙周膜增宽较明显,牙周膜纤维排列紊乱,根尖周炎症减退,但仍见炎细胞浸润,未见骨质增生,炎症程度为2级(图1A~1C);慢性根尖周炎组根尖周组织呈轻度慢性炎症,炎症程度1级(图1D);Ca(OH)<sub>2</sub>治疗组牙周膜未见增宽,纤维排列基本正常,极少量炎细胞浸润,根尖周病损愈合明显,炎症程度0级(图1E)。

2.3 免疫组化染色法测定根尖周组织TNF-α表达结果 TNF-α阳性表达呈棕蓝色染色。以实验牙为中心,*E. faecalis*再感染根尖周炎组根尖周组织TNF-α表达量在1周时(图2A)最强(2315.89±44.59),2周(1922.37±30.15,图2B)和3周

( $1\ 798.52 \pm 28.27$ , 图 2C) 逐渐下降, 但均高于慢性根尖周炎组 ( $987.52 \pm 15.32$ , 图 2D) 和  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  治

疗组 ( $513.32 \pm 9.18$ , 图 2E), 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

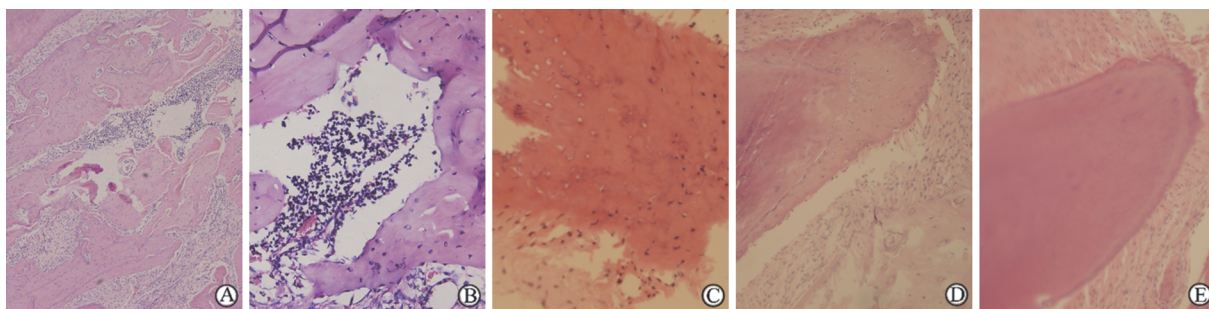


图 1 各组实验牙根尖周组织 H-E 染色结果

A: *E. faecalis* 再感染根尖周炎组(1周); B: *E. faecalis* 再感染根尖周炎组(2周); C: *E. faecalis* 再感染根尖周炎组(3周); D: 慢性根尖周炎组; E:  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  治疗组. Original magnification:  $\times 20$

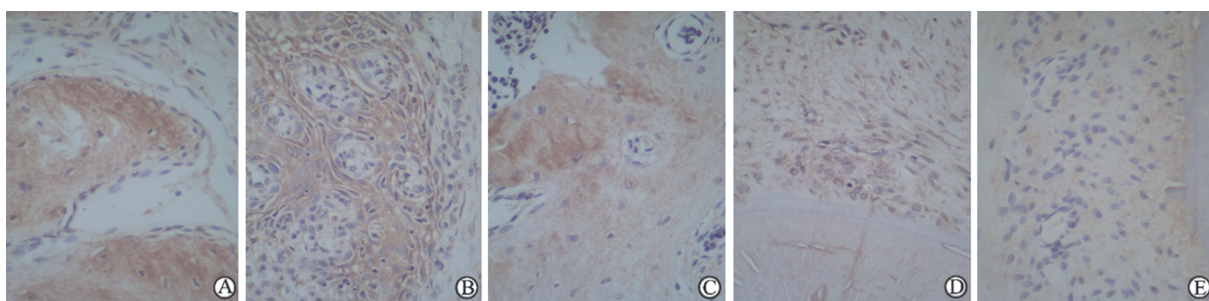


图 2 各组实验牙根尖周组织 TNF- $\alpha$  表达的免疫组化染色结果

A: *E. faecalis* 再感染根尖周炎组(1周); B: *E. faecalis* 再感染根尖周炎组(2周); C: *E. faecalis* 再感染根尖周炎组(3周); D: 慢性根尖周炎组; E:  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  治疗组. Original magnification:  $\times 20$

### 3 讨论

细菌是造成根管感染的最主要原因, 与根尖周组织炎症的发生发展有着密切关系。有证据表明, 感染根管内是以厌氧菌为主多种细菌构成的混合感染, 且对于初次感染和再感染的根尖周炎病例, 其感染根管内细菌种类、构成比存在明显差异<sup>[6]</sup>; 初次感染根管内以  $G^-$  厌氧菌为主, 细菌种类较多; 再感染根管内以  $G^+$  厌氧菌为主, 细菌种类较少<sup>[4]</sup>。此外, 临床上发现混合菌初次感染根尖周炎治疗效果良好, 而再感染根尖周炎多次治疗仍症状迁延不愈, 推测不同细菌所导致的根尖周炎症发展变化不同。

本研究结果表明, 慢性根尖周炎组其根尖周炎症程度轻, 骨质破坏面积小, TNF- $\alpha$  表达量较低, 经  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  治疗后效果较好, 表明混合菌初次感染根尖周炎预后良好。 *E. faecalis* 再感染根尖周炎组连续观察 3 周发现其炎症程度均较重, 根尖区骨质破坏严重, TNF- $\alpha$  表达量较高, 较以往研究报道的混合菌初次感染根尖周炎同时期观察<sup>[7]</sup> 结果严重, 值得注意的是, *E. faecalis* 再感染根尖周炎组其根尖区

组织已处于慢性炎症状态时, 仍有进行性骨质破坏现象, 这些均表明以 *E. faecalis* 为主的再感染根管内的细菌具有强烈的破坏根尖周组织的能力, 提示 *E. faecalis* 再感染根尖周炎治疗预后不佳, 这可能也是临床上 *E. faecalis* 常引起难治性根尖周炎的原因。

*E. faecalis* 可产生一系列毒力因子, 包括脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)、肽聚糖、聚集体、表面黏着物等。LTA 是 *E. faecalis* 主要致病因子之一<sup>[8]</sup>, 是 *E. faecalis* 引发炎症反应、诱导组织损伤的重要武器, LTA 可以耐受抗菌素和杀菌剂, 通过 Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR-2) 信号转导途径将炎症信号转移到细胞内, 引起转录因子 NF- $\kappa$ B 激活, 导致中性粒细胞分泌 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等炎症因子增加, 引起根尖周局部炎症产生及颌骨吸收破坏。其机制可能是 LTA 与细胞表面 TLR-2 结合, 在髓样分化因子 88 的协同下, 激活募集结合 IL-1R 相关激酶、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 等信号通路, 并活化 NF- $\kappa$ B, 启动相关靶基因转录, 诱导 IL-1、TNF- $\alpha$  等相关炎症因子的表达<sup>[9]</sup>, 此外, LTA

与TLR结合,还可抑制细胞外反应激酶磷酸化,刺激破骨前体细胞向破骨细胞分化,引起骨吸收破坏<sup>[10]</sup>。

*E. faecalis* 具有促进TNF- $\alpha$ 表达的作用<sup>[11]</sup>,其机制可能是通过刺激破骨前体细胞内吞作用产生活性氧,激活丝裂原活化蛋白激酶家族,启动细胞的氧化还原反应,获得NF- $\kappa$ B和活化蛋白1,从而上调TNF- $\alpha$ 的表达<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$ 是导致局部牙槽骨吸收的主要炎症细胞因子之一<sup>[13]</sup>,能诱导多种宿主细胞表达NF- $\kappa$ B受体活化因子配体,并作用于破骨细胞形成的所有阶段,与破骨前体细胞上的受体相结合,诱导基质细胞产生巨噬细胞集落刺激因子,上调破骨前体细胞表达NF- $\kappa$ B受体,进而促进骨吸收。而且TNF- $\alpha$ 还可作为破骨细胞生成的一个自分泌因子,与NF- $\kappa$ B受体活化因子配体形成协同作用。

根尖周骨质进行性破坏的原因尚不明确,有学者认为*E. faecalis*通过溶细胞素能抑制细胞的自我修复,促使局部恶化,损害细胞膜,这可能导致了根尖周病变的不愈合<sup>[14]</sup>。同时,*E. faecalis*的强成膜能力常使其形成根尖生物膜,即存在于根尖孔外表面的细菌生物膜,根尖生物膜隐蔽的病理位置使生物膜中的细菌在根管治疗过程中难以被机械清除,而常规消毒药物也只能杀死生物膜表面的细菌,暂时性缓解临床症状,却无法杀死生物膜内的细菌,生物膜内的细胞外基质为细菌提供了良好的保护屏障。*E. faecalis*的强耐药性以及适宜恶劣环境的能力,使其可抵抗机体的免疫反应,继续缓慢生长,阻止病变愈合<sup>[9]</sup>。

综上所述,*E. faecalis*对根尖周组织具有严重的破坏作用和持续溶骨破坏现象,且病变不易愈合,*E. faecalis*的致病机制仍不清楚,有待进一步研究。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] Friedman S. Considerations and concepts of case selection in the management of post-treatment endodontic disease (treatment failure) [J]. *Endodontic Topics*, 2002,1:54-78.  
 [2] Pinheiro E T, Gomes B P, Ferraz C C, Sousa E L, Teixeira F B, Souza-Filho F J. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions[J]. *Int Endod J*, 2003,36:1-11.

[3] 牛卫东,宋其义,王丽娜,郑建博,史春,李继遥,等.再治疗根管内粪肠球菌检出及其与临床表征关系的分析研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2010,28:535-538.  
 [4] 郭惠杰,田琦,高承志. 未经治疗和根管治疗失败的慢性根尖周炎的细菌学研究[J]. *实用口腔医学杂志*, 2010,27:71-74.  
 [5] Uden C E, Ganatra S, Reinhardt R A, Patil K D. Histology near periodontitis osteoclasts [J]. *J Periodontol*, 1998,69:363-366.  
 [6] Gomes B P, Pinheiro E T, Jacinto R C, Zaia A A, Ferraz C C, Souza-Filho F J. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction[J]. *J Endod*, 2008,34:537-540.  
 [7] Baik J E, Jang K S, Kang S S, Yun C H, Lee K, Kim B G, et al. Calcium hydroxide inactivates lipoteichoic acid from *Enterococcus faecalis* through deacylation of the lipid moiety[J]. *J Endod*, 2011,37:191-196.  
 [8] Szemes T, Vlkova B, Minarik G, Tothova L, Drahovska H, Turna J, et al. On the origin of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms in *Enterococcus faecalis* [J]. *Redox Rep*, 2010,15:202-206.  
 [9] Jules J, Shi Z, Liu J, Xu D, Wang S, Feng X. Receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK) cytoplasmic IVVY535-538 motif plays an essential role in tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )-mediated osteoclastogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2010,285:37427-37435.  
 [10] Lee S H, Baek D H. Antibacterial and neutralizing effect of human  $\beta$ -defensins on *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecalis* lipoteichoic acid[J]. *J Endod*, 2012,38:351-356.  
 [11] Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small—understanding the endodontic microbial flora[J]. *Aust Dent J*, 2007,52(1 Suppl):S38-S51.  
 [12] Karlsson H, Hessle C, Rudin A. Innate immune responses of human neonatal cells to bacteria from the normal gastrointestinal flora[J]. *Infect Immun*, 2002,70:6688-6696.  
 [13] Bei M, Kratochwil K, Maas R L. BMP4 rescues a non-cell-autonomous function of Msx1 in tooth development [J]. *Development*, 2000,127:4711-4718.  
 [14] Kim S J, Choi E Y, Kim E G, Shin S H, Lee J Y, Choi J I, et al. Prevotella intermedia lipopolysaccharide stimulates release of tumor necrosis factor-alpha through mitogen-activated protein kinase signaling pathways in monocyte-derived macrophages [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2007,51:407-413.

[本文编辑] 商素芳