

饮水型慢性氟中毒大鼠硬组织氟蓄积的对比研究

杨世榕¹, 刘纯¹, 丁琪², 杨桦¹, 贾莹¹

1. 贵州医科大学口腔医学院, 贵州 贵阳 550004

2. 贵州医科大学附属口腔医院, 贵州 贵阳 550004



DOI 10.11836/JEOM21324

摘要:

[背景] 既往有大量关于氟全身骨损害的研究报道,但是关于颌骨氟蓄积特征的认识还较少。颌骨是全身骨组织的同源发生组织,是口腔中不可缺少的重要框架结构。

[目的] 研究饮水型慢性氟中毒 SD 大鼠持续染氟期间牙齿、颌骨及股骨中氟蓄积情况及变化趋势。

[方法] 取 144 只 3 周龄 SD 大鼠,雌雄各半,随机均分为 2 组,正常对照组及染氟组。正常对照组大鼠饮用来自贵州地区消毒过滤的纯净水,水中的氟含量为 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (低于国家水质标准 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),染氟组大鼠饲以 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氟化钠 (NaF) 水溶液。分别染氟 3、5、7 个月,采用氟离子电极法测定尿、血、牙、颌骨、股骨中氟离子含量。

[结果] 染氟组及正常对照组大鼠不同生物样本中氟含量无性别差异 (均 $P > 0.05$)。染氟 3 个月,染氟组大鼠均出现约 II 级氟斑牙表现,染氟组大鼠血、尿中氟离子含量均高于正常对照组 (均 $P < 0.05$),表明饮水型慢性氟中毒大鼠模型建模成功。正常对照组大鼠股骨中氟离子含量保持稳定,3 个月时颌骨氟、牙氟含量分别为 (1097.36 ± 470.34) 、 $(453.09 \pm 173.43) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,7 个月时颌骨氟、牙氟含量分别为 (2113.18 ± 634.49) 、 $(1604.80 \pm 160.43) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,颌骨及牙齿表现出氟蓄积增加的时间正效应,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。染氟组大鼠持续染氟后,3 个月时颌骨氟、牙氟、股骨氟含量分别为 (3145.02 ± 765.82) 、 (1550.20 ± 77.73) 、 $(3640.55 \pm 699.42) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,7 个月时颌骨氟、牙氟、股骨氟含量分别为 (8420.36 ± 1728.56) 、 (4702.08 ± 1417.06) 、 $(6091.99 \pm 1384.97) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,三种硬组织均表现出氟蓄积增加的时间正效应,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),且累积增幅大于正常对照组。其中,颌骨氟增幅最大;5 个月时颌骨氟、股骨氟、牙氟含量分别为 (6485.02 ± 2141.98) 、 (4914.99 ± 1529.41) 、 $(3365.21 \pm 1462.27) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,持续染氟至 5 个月,发现颌骨中氟含量远高于股骨及牙齿中氟含量,差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

[结论] 骨骼、牙齿等硬组织是氟敏感组织。与股骨比较,颌骨表现显著高氟蓄积,牙齿则表现相对滞后的氟蓄积特征。

关键词: 氟中毒;尿;血;股骨;颌骨;牙齿

Comparative study on fluoride accumulation in hard tissues of rats with chronic drinking-water-borne fluorosis YANG Shirong¹, LIU Chun¹, DING Qi², YANG Hua¹, JIA Ying¹ (1. School of Stomatology, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 2. Affiliated Stomatological Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China)

Abstract:

[Background] A large number of studies on fluoride-induced systemic bone damage have been reported previously, but there is little understanding of the characteristics of fluoride accumulation in jawbone. Jawbone is homologous to the other bone tissues in the body, and is an indispensable and important frame structure in the oral cavity.

[Objective] To study fluoride accumulation and its change trends in teeth, jawbone, and femur of SD rats with chronic drinking-water-borne fluorosis.

[Methods] A total of 144 three-week-old SD rats, half male and half female, were randomly divided into two groups, a normal control group and a fluoride group. The rats in the normal control

基金项目

国家自然科学基金(81860795);贵州省科技计划项目(黔科合[2018]2754号);贵阳市科技计划项目(筑科合同[2018]1-83号)

作者简介

杨世榕(1995—),女,硕士生,医师;
E-mail: 870982569@qq.com

通信作者

贾莹, E-mail: 1746870529@qq.com

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-07-18

录用日期 2021-12-25

文章编号 2095-9982(2022)02-0174-05

中图分类号 R114

文献标志码 A

引用

杨世榕, 刘纯, 丁琪, 等. 饮水型慢性氟中毒大鼠硬组织氟蓄积的对比研究[J]. 环境与职业医学, 2022, 39(2): 174-178.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21324

Funding

This study was funded.

Correspondence to

JIA Ying, E-mail: 1746870529@qq.com

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2021-07-18

Accepted 2021-12-25

To cite

YANG Shirong, LIU Chun, DING Qi, et al. Comparative study on fluoride accumulation in hard tissues of rats with chronic drinking-water-borne fluorosis[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(2): 174-178.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21324

group drank purified water disinfected and filtered from Guizhou, and the water contained $0.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ fluoride which was lower than the national water quality standard at $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The rats in the fluoride group were fed with sodium fluoride (NaF) solution with a concentration of $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. At 3, 5 and 7 months of the fluoride exposure, the levels of fluoride in urine, blood, teeth, jawbone, and femur were measured by fluoride ion electrode method.

[Results] There was no sex difference in fluoride content in different biological samples of rats in the fluoride group and the normal control group (all $P > 0.05$). After 3 months of fluoride exposure, the rats in the fluoride group showed dental fluorosis of grade II, and higher levels of fluoride ion in blood and urine than the normal control group (all $P < 0.05$), indicating that the rat model of fluoride drinking-water-borne chronic fluorosis was successfully replicated. In the normal control group, the levels of fluoride in femur remained stable; at the end of 3 months, the levels of fluoride in jawbone and teeth were (1097.36 ± 470.34) and $(453.09 \pm 173.43) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively, and at the end of 7 months, the levels of fluoride in jawbone and teeth were (2113.18 ± 634.49) and $(1604.80 \pm 160.43) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively. Both jawbone and teeth showed a positive temporal effect of increasing fluoride accumulation ($P < 0.05$). After continuous fluoride feeding, the fluoride levels in jawbone, teeth, and femur of rats in the fluoride group were (3145.02 ± 765.82) , (1550.20 ± 77.73) , and $(3640.55 \pm 699.42) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ after 3 months, and (8420.36 ± 1728.56) , (4702.08 ± 1417.06) , and $(6091.99 \pm 1384.97) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ after 7 months. The three kinds of hard tissues all showed a positive temporal effect of increasing fluoride accumulation ($P < 0.05$), and the cumulative increase was large than that in the normal control group. Among them, jawbone fluorine increased most. At the end of 5 months, the levels of fluoride in jawbone, femur, and teeth were (6485.02 ± 2141.98) , (4914.99 ± 1529.41) , and $(3365.21 \pm 1462.27) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively, and the levels of fluoride in jawbone was much higher than those in femur and teeth ($P < 0.05$).

[Conclusion] Hard tissues such as bones and teeth are fluorine sensitive tissues. Compared with femur, jawbone showed significantly high fluoride accumulation, while teeth show relatively lagging fluoride accumulation.

Keywords: fluorosis; urine; blood; femur; jawbone; tooth

氟是生物体所必需的微量元素,过量的氟主要蓄积在硬组织中(骨组织及牙),主要表现为氟斑牙和氟骨症,继续累积还会造成其他组织器官的损伤^[1-2]。现有研究多是关于氟斑牙及四肢躯干氟骨症的研究,但目前对颌骨氟蓄积的特征了解甚少。颌骨是全身骨组织的同源发生组织,且是口腔中的重要框架结构和牙齿存在所依赖的不可缺少的组织基础。流行病学调查发现氟中毒患者牙周组织健康状况不良^[3]。王海慧等^[4]的临床观察也发现氟斑牙患者颌骨骨密度显影性状也与正常人群颌骨X线表现不同,提示可能与颌骨氟蓄积有关。了解颌骨氟蓄积特征及骨损害特点,有利于预防控制慢性氟中毒的发生,以及改善慢性氟中毒患者口腔正畸、种植修复、牙周组织健康维护等治疗的效果。

因此,本课题组选取慢性氟中毒大鼠的股骨为参照,观察牙氟、颌骨氟蓄积特征,并初步探讨三种氟易感硬组织中氟蓄积可能存在的联系。

1 对象与方法

1.1 动物、仪器与试剂

1.1.1 实验动物 3周龄SD大鼠(SPF级)共计144只,雌雄各半,体重 $(60 \pm 5) \text{ g}$,温度 $22^\circ\text{C} \sim 24^\circ\text{C}$,湿度 $55\% \sim 60\%$,12 h光照/12 h黑暗的环境,自由进食,饲养于贵州医科大学实验动物中心,动物质量合格证编号为SCXK

(湘)2019-0014。实验方案经贵州医科大学实验动物伦理委员会批准(批准号为2000890)。

1.1.2 主要实验仪器及设备 pH计(PHS-3C型,中国上海仪电科学仪器股份有限公司),雷磁复合氟电极(CSB-F-2型,中国长沙益天实验仪器有限公司春花制作中心),微溶池(CSB,中国长沙益天实验仪器有限公司春花制作中心),电子天平(AR2140型,中国上海奥豪斯公司),台式离心机(80-2型,中国上海医疗器械有限公司手术器械厂)。

1.1.3 主要实验试剂 NaF(优级纯,纯度 $\geq 99\%$,美国Sigma-Aldrich),NaOH、冰乙酸、二水合柠檬酸三钠、磷酸氢二铵(分析纯,中国天津市科密欧化学试剂有限公司),氯化钠(优级纯,中国天津市科密欧化学试剂有限公司),10%福尔马林(中国南昌雨露实验器材公司),乙二醇四乙酸二钠(中国北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 采用随机数字表法将实验动物随机均分为2组,正常对照组及染氟组,每组72只。以染毒后慢性氟中毒模型建立成功的时间为依据,在染毒3、5、7个月后进行氟中毒水平监测,分为3、5、7个月组,共3个时间亚组,每个亚组24只,雌雄各半。

1.2.2 饮水型慢性氟中毒模型建立 正常对照组自由饮用来自贵州地区消毒过滤的纯净水(含氟量 $< 0.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,低于国家水质标准 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),染氟组自

由饮用 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaF 水溶液, 建立饮水型慢性氟中毒模型。模型建立成功的标志以氟斑牙的出现及血氟、尿氟的明显升高为标准, 氟引起大鼠切牙氟牙症表现与人类氟牙症表现极为相似^[5], 本研究应用人氟牙症分级标准评价大鼠氟牙症特征, 具体分级表现见表 1^[6]。

表 1 氟斑牙分级
Table 1 Classification of dental fluorosis

分级	表现
0级	釉质呈半透明乳白色, 表面光滑、有光泽
I级	牙面横向出现细小规则的棕、白色相间横纹
II级	不规则棕、白色相间横纹, 横纹间白垩部分变宽, 棕纹在某些区域中断, 但仍多于50%的牙面
III级	白垩区更多, 棕色横纹少于50%的牙面并且牙面有微小的独立的窝状缺损, 但牙形态无明显改变
IV级	整个牙面呈白垩样改变, 牙缘常断缺

1.2.3 样本收集及测定 据观察时间点 3、5、7 月采集尿液及血液, 处死前一天禁饮禁食, 使用代谢笼(用粪尿分离装置直接收集实验动物自然排出的尿液的一种密封式饲养笼)收集各组大鼠 24 h 尿液, 按照 WS/T 89—2015《尿中氟化物测定离子选择电极法》测定尿氟浓度。用 10%(质量分数)水合氯醛溶液腹腔注射麻醉, 心脏采全血, 置于离心机 4°C 、 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ (离心半径为 5 cm), 离心 10 min, 收集血清, 按照 WS/T 212—2001《血清中氟化物的测定离子选择电极法》测定血氟浓度。取其下颌骨、牙, 取股骨并剥离表面附着软组织, 剔骨, 磷酸缓冲液冲洗, 采用高温灰化-氟离子选择电极法检测氟离子含量。

1.3 统计学分析

利用 SPSS 26.0 统计软件进行分析, 应用 Origin 2019 绘制统计图。计数资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。雌雄差异及正常组与染氟组差异比较时, 采用独立样本 t 检验; 不同时间点之间的差异比较, 采用单因素方差分析。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 饮水型慢性氟中毒大鼠模型建立情况

染氟组大鼠饲以 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaF 水溶液, 持续喂养 3 个月后, 大鼠均出现约 II 级氟斑牙表现, 见图 1。检测后发现大鼠血氟、尿氟、颌骨氟、股骨氟、牙氟含量均高于正常对照组(均 $P < 0.05$), 见表 2, 表明饮水型慢性氟中毒大鼠建模成功。

2.2 雌、雄大鼠氟离子蓄积比较

在染氟 3、5、7 个月后, 分别比较各时间点染氟组

大鼠的血氟、尿氟、股骨氟、颌骨氟、牙氟蓄积均无显著的性别差异(均 $P > 0.05$), 见图 2。因此, 后续将雌鼠、雄鼠数据合并处理。

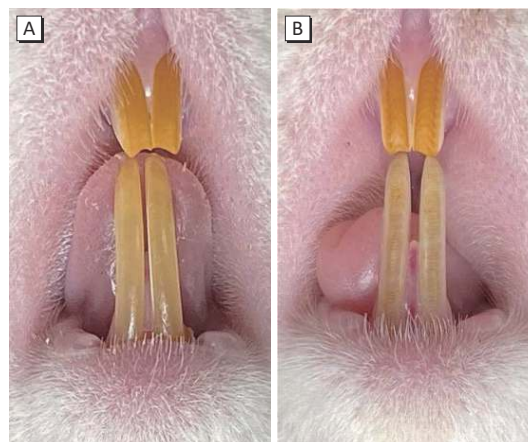


图 1 染氟 3 个月后正常对照组 (A) 与染氟组 (B) 大鼠氟斑牙表现情况

Figure 1 Dental fluorosis in normal control group (A) and fluoride group (B) after 3 months of fluoride exposure

2.3 正常对照组大鼠氟离子蓄积分布特征

在 7 个月观察期内, 血、尿中氟离子维持低水平存在, 尿氟含量先升后降, 总体表现为降低趋势, 血氟含量则经过小幅升高后下降, 较初始水平更低, 但差异无统计学意义。硬组织中氟离子含量在数值上远高于血、尿中氟离子含量, 在观察期内, 股骨中氟离子含量保持稳定, 颌骨及牙表现出氟蓄积增加的时间正效应($P < 0.05$), 呈现氟蓄积增加趋势; 从组织中氟离子累积时间来看, 牙蓄氟稍晚于股骨, 在 3 个月观察时间点, 牙氟含量低于股骨氟含量($P < 0.05$), 至 7 个月观察期终末时, 未发现股骨、颌骨、牙中氟含量差异。见表 2。

2.4 染氟组大鼠氟离子蓄积分布特征

染氟组大鼠持续饲氟后, 在 7 个月观察期内, 血、尿中氟蓄积呈现逐渐降低趋势。硬组织中氟离子含量在数值上远高于血、尿中氟离子含量, 三种硬组织均表现出氟蓄积增加的时间正效应, 7 个月时的氟蓄积量均高于 3 个月, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), 提示氟蓄积增加趋势, 且累积增幅大于正常对照组, 其中, 颌骨氟增幅最大, 持续染氟至 5 个月后, 发现颌骨中氟含量远高于股骨及牙齿中氟含量($P < 0.05$)。从组织中氟离子累积时间来看, 与正常对照组氟蓄积情况类似, 牙蓄氟稍晚于骨骼, 在 3 个月观察时间点, 牙氟均低于股骨氟及颌骨氟(均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 大鼠不同生物样本中氟离子蓄积情况及变化趋势 ($\bar{x} \pm s$, $n=24$)

Table 2 Fluoride accumulation and change trends in selected biological samples of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=24$)

氟含量	3个月		5个月		7个月	
	正常对照组	染氟组	正常对照组	染氟组	正常对照组	染氟组
尿氟/(mg·L ⁻¹)	12.68±5.94	44.89±25.91 [△]	16.95±9.40	45.76±23.02 [△]	9.86±3.38 [#]	21.66±9.01 [#]
血氟/(mg·L ⁻¹)	0.42±0.12 [#]	1.45±0.40 ^{△a}	0.55±0.18 [*]	0.61±0.09 ^{△a}	0.22±0.06 [#]	0.38±0.08 ^{△a}
颌骨氟/(mg·kg ⁻¹)	1097.36±470.34	3145.02±765.82 ^{△a}	1501.62±460.26	6485.02±2141.98 ^{△a}	2113.18±634.49 [#]	8420.36±1728.56 ^{△a}
股骨氟/(mg·kg ⁻¹)	1279.24±817.64	3640.55±699.42 [△]	1373.30±271.35	4914.99±1529.41 [△]	1790.84±438.21	6091.99±1384.97 ^{△a}
牙氟/(mg·kg ⁻¹)	453.09±173.43 [△]	1550.20±77.73 ^{△a}	1030.85±806.39	3365.21±1462.27 [△]	1604.80±160.43 [△]	4702.08±1417.06 ^{△a}

[注] 同一生物样本, 相同观察时间, [△]: 与正常对照组比较, $P < 0.05$; 同一生物样本同组间比较, ^{*}: 与 3 月比较, $P < 0.05$; [#]: 与 5 月比较, $P < 0.05$; 同一观察时间, 硬组织比较, ^a: 与颌骨比较, $P < 0.05$, ^b: 与股骨比较, $P < 0.05$ 。

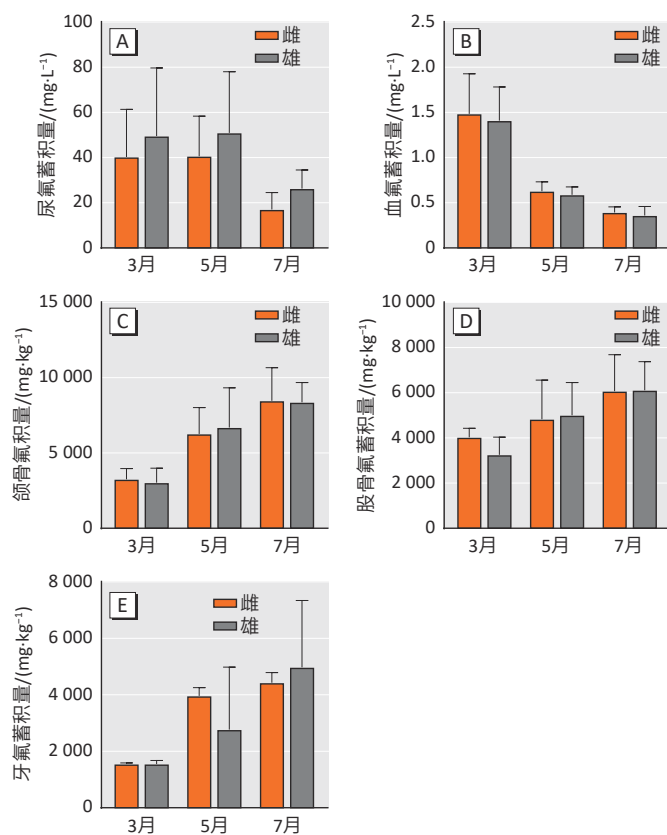


图 2 染氟组雌、雄大鼠氟离子蓄积比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Figure 2 Comparison of fluoride accumulation in female and male rats with fluoride exposure ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

3 讨论

慢性氟中毒时, 机体为了消除过多摄入的氟离子, 会有 90% 的氟沉积在骨骼和牙齿中, 并且处于终生蓄氟状态, 导致氟斑牙和氟骨症的发生。颌骨与全身骨具有组织同源性, 慢性氟中毒环境下也会受累^[7]。与全身运动大骨不同, 颌骨主施咀嚼、语言、进食吞咽等口颌面细小运动, 且颜面表情肌、唇颊舌等口周运动肌的补偿作用丰富, 颌骨自身的骨骼功能表现不及全身骨明确和突出, 因而慢性氟病损影响容易被忽略。目前关于氟相关骨损害的研究报道多见于四肢长

骨及全身中轴骨^[2]。关于颌骨氟蓄积的研究报道较少。

颌骨是牙齿存在不可或缺的组织基础。口腔正畸、种植修复、牙周组织健康维护及牙周病治疗、颞下颌关节疾病等均依赖颌骨的组织状态和骨微结构环境^[8-9]。大量研究发现高氟摄入后, 颌骨骨质形态等会发生变化。Schultz 等^[10]发现高氟区马鹿的下颌骨变形, 牙槽骨吸收伴随严重的牙周破坏。国内学者研究发现氟斑牙患者上颌牙槽骨颊侧骨皮质和骨松质密度降低^[11]; 然而, 国外学者研究结果表明, 氟摄入量高会导致无牙颌个体下颌骨骨密度增加^[12]。因此, 深入研究颌骨慢性氟中毒损害是口腔环境疾病研究领域的重要部分。

颌骨在人体生长发育过程中表现为终生改建状态, 具有高度的增殖性, 体外和体内的成骨能力较长骨及中轴骨更强, 其血液循环、营养供应更加丰富^[13]; 因此, 推测颌骨氟蓄积代谢可能较四肢长骨更活跃。

本研究发现大鼠自然饮水状态下, 股骨、颌骨和牙齿三种硬组织氟离子分布情况相近, 其氟离子含量在数值上均高于血、尿氟离子水平。这提示大鼠体内氟离子分布在硬组织中有积累趋势, 颌骨和牙齿的累积趋势较股骨明显, 推测颌骨和牙齿的蓄氟敏感性更高。而血、尿组织中氟离子随组织液代谢, 保持较低水平表达。

慢性氟中毒环境下, 骨、牙硬组织氟离子含量均升高, 超过正常对照水平。其中, 颌骨随染氟时间延长, 表现高氟离子富集。相较于颌骨, 股骨氟蓄积较缓, 染氟 5 个月后才开始表现氟离子含量增加, 且观察期内总累积量低于颌骨。牙齿的蓄氟趋势与股骨基本一致, 氟中毒早期(3 个月)低于股骨, 后期(7 个月)总累积水平与股骨无统计学差异, 但也明显低于颌骨水平。

本研究在氟中毒造模成功后, 继续同浓度(剂量)

染氟,选取隔月重复观察以上三种硬组织氟蓄积变化。结果发现所观察的三种硬组织氟离子含量均表现时间依赖的正增长变化,且未出现蓄积饱和的平台期。这提示硬组织可持续受氟中毒环境影响,相应损害也可能表现持续进展。颌骨的蓄氟饱和阈值可能较股骨等全身长骨更高。该蓄氟特征可能源自颌骨丰富的松质骨结构,以及终生活跃的骨生长和改建特性。确切的颌骨氟离子代谢机制还有待实验观察和证实。

牙齿与颌骨不仅存在结构关联,颌骨还提供牙齿发生的起源环境^[14]。牙齿通过牙周组织与颌骨连接。大量研究围绕氟斑牙展开,认为氟斑牙是慢性氟中毒早期的体征表现^[15]。此外,股骨也是氟骨相损害最常受累的靶器官^[16]。通过对比,本研究发现牙齿和股骨的氟蓄积趋势相似,与慢性氟中毒同时纳入牙齿和长骨的损害作为诊断判别标准相呼应,提示牙齿和长骨(股骨)病损表征与组织中氟离子含量直接相关。氟斑牙的程度具有一定的剂量依赖性,即氟中毒早期,染氟时间越长,饲氟浓度越高,氟斑牙程度越重。但该依赖关系为弱相关关系,且氟斑牙程度有一定自限性,牙齿发育达一定成熟阶段后,不再受染氟环境影响而变化^[17]。本研究结果显示,从牙齿氟蓄积趋势看,先表现低水平蓄积,逐渐增高且缓慢维持,因此,可以从牙齿氟蓄积水平佐证和解释氟斑牙病变程度的规律。另一方面,这也说明氟斑牙的损害表现较颌骨病损表现更显见,提示口腔临床应该早期关注慢性氟中毒可能导致的颌骨病损,其可能表现为颌骨氟离子累积水平变化,而非简单直接地对应复杂的隐匿变化。本课题组也将同时展开对颌骨氟病损特征的相关研究,研究结果将陆续整理发表。

本研究结果表明:股骨、颌骨、牙齿等硬组织是氟敏感组织。与股骨比较,颌骨富集氟离子的敏感性和蓄积能力更强,牙齿则表现相对滞后的氟蓄积特征。

参考文献

- [1] WEI W, PANG S, SUN D. The pathogenesis of endemic fluorosis: research progress in the last 5 years[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4): 2333-2342.
- [2] SRIVASTAVA S, FLORA SJ S. Fluoride in drinking water and skeletal fluorosis: a review of the global impact[J]. *Curr Environ Health Rep*, 2020, 7(2): 140-146.
- [3] MIRANDA-RIUS J, BRUNET-LLOBET L, LAHOR-SOLER E, et al. Periodontal and dental conditions of a school population in a volcanic region of Tanzania with highly fluoridated community drinking water[J]. *Afr Health Sci*, 2020, 20(1): 476-487.
- [4] 王海慧, 初可嘉, 郑之峻, 等. 氟斑牙患者下颌骨骨密度的初步研究[J]. *口腔医学研究*, 2018, 34(2): 190-192.
WANG H H, CHU K J, ZHENG Z J, et al. Analysis on mandibular bone mineral density with dental fluorosis[J]. *J Oral Sci Res*, 2018, 34(2): 190-192.
- [5] 章魁华, 于世凤. 实验口腔病理学[J]. 人民卫生出版社, 2002.
ZHANG K H, YU S F. *Experimental oral pathology* [J]. People's Health Publishing House, 2002.
- [6] 王连方. 氟斑牙的几种“Dean氏分类法”浅析[J]. *地方病通报*, 2007(1): 71-73.
WANG L F. Analysis of several "Dean's classification" of dental fluorosis[J]. *Endem Dis Bull*, 2007(1): 71-73.
- [7] 张亚楼, 刘开泰. 氟对骨骼损伤的分子机制研究进展[J]. *中国地方病学杂志*, 2009, 28(2): 231-233.
ZHANG Y L, LIU K T. Research progress on molecular mechanism of skeletal injury induced by fluoride[J]. *Chin J Endemiol*, 2009, 28(2): 231-233.
- [8] ATTIA S, WILTFANG J, STRECKBEIN P, et al. Functional and aesthetic treatment outcomes after immediate jaw reconstruction using a fibula flap and dental implants[J]. *J Cranio Maxill Surg*, 2019, 47(5): 786-791.
- [9] BALLINI A, CANTORE S, FARRONATO D, et al. Periodontal disease and bone pathogenesis: the crosstalk between cytokines and porphyromonas gingivalis[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2015, 29(2): 273-281.
- [10] SCHULTZ M, KIERDORF U, SEDLACEK F, et al. Pathological bone changes in the mandibles of wild red deer (*Cervus elaphus* L.) exposed to high environmental levels of fluoride[J]. *J Anat*, 1998, 193(3): 431-442.
- [11] 王海慧, 初可嘉, 郑之峻, 等. 锥形束CT检测氟斑牙患者上颌牙槽骨密度的临床观察[J]. *中华地方病学杂志*, 2018, 37(5): 399-401.
WANG H H, CHU K J, ZHENG Z J, et al. Clinical observation of maxillary alveolar bone mineral density with dental fluorosis by cone beam computed tomography[J]. *Chin J Endemiol*, 2018, 37(5): 399-401.
- [12] BUYUKKAPLAN U S, GULDAG M U. Evaluation of mandibular bone mineral density using the dual-energy X-ray absorptiometry technique in edentulous subjects living in an endemic fluorosis region[J]. *Dentomaxillofac Radiol*, 2012, 41(5): 405-410.
- [13] AKINTOYE S O. The distinctive jaw and alveolar bone regeneration[J]. *Oral Dis*, 2018, 24(1/2): 49-51.
- [14] YUAN Y, CHAI Y. Regulatory mechanisms of jaw bone and tooth development[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2019, 133: 91-118.
- [15] GU L S, WEI X, LING J Q. Etiology, diagnosis, prevention and treatment of dental fluorosis[J]. *Chin J Dent Res*, 2020, 55(5): 296-301.
- [16] REZAEI T, BOUXSEIN M L, KARIM L. Increasing fluoride content deteriorates rat bone mechanical properties[J]. *Bone*, 2020, 136: 115369.
- [17] CURTIS A M, LEVY S M, CAVANAUGH J E, et al. Decline in dental fluorosis severity during adolescence: a cohort study[J]. *J Dent Res*, 2020, 99(4): 388-394.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)