

· 疾病控制 ·

牙龈干细胞外泌体对牙周炎大鼠IL-6和TNF- α 表达的影响

姜可¹, 肖威¹, 王权炳², 陈虹^{1,3}

1.蚌埠医学院口腔医学院, 安徽 蚌埠 233030; 2.浙江省人民医院, 浙江 杭州 310014; 3.浙江医院, 浙江 杭州 310030

摘要: **目的** 探讨牙龈干细胞外泌体(GMSC-Exos)对牙周炎大鼠白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达的影响,为牙周炎治疗提供参考。**方法** 40只8周龄SPF大鼠随机分为空白组、牙周炎组、GMSC-Exos组和磷酸盐缓冲液(PBS)组,除空白组外的其他3组大鼠采用结扎丝法构建牙周炎模型,造模成功后空白组和牙周炎组大鼠不进行治疗,GMSC-Exos组和PBS组大鼠分别注射20 μ L GMSC-Exos和PBS。4周后进行大鼠牙周探诊检查,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测外周血TNF- α 和IL-6浓度;采用实时荧光定量PCR技术检测TNF- α 和IL-6相关基因;取左上颌牙周组织进行病理检查。比较各组大鼠牙周临床指标、IL-6和TNF- α 水平。**结果** 4周后,GMSC-Exos组大鼠龈沟出血指数、牙龈指数、探诊深度和菌斑指数(1.87 \pm 0.41, 1.03 \pm 0.19, 1.91 \pm 0.09和1.11 \pm 0.17)高于空白组大鼠(0.96 \pm 0.31, 0.83 \pm 0.31, 1.09 \pm 0.05, 1.01 \pm 0.38),但低于牙周炎组(2.65 \pm 0.50, 1.36 \pm 0.22, 2.61 \pm 0.07和1.51 \pm 0.26)和PBS组大鼠(2.44 \pm 0.50, 1.23 \pm 0.20, 2.49 \pm 0.10和1.39 \pm 0.28);GMSC-Exos组大鼠外周血IL-6和TNF- α 浓度[(205.97 \pm 11.47)和(90.11 \pm 8.57) pg/mL]高于空白组大鼠[(143.10 \pm 4.87)和(80.07 \pm 5.13) pg/mL],低于牙周炎组[(367.33 \pm 13.89)和(158.29 \pm 13.10) pg/mL]和PBS组大鼠[(364.23 \pm 13.62)和(140.60 \pm 11.73) pg/mL];GMSC-Exos组大鼠牙龈组织IL-6和TNF- α mRNA表达量(1.09 \pm 0.14和1.61 \pm 0.29)高于空白组大鼠(0.99 \pm 0.10和1.06 \pm 0.14),低于牙周炎组(1.63 \pm 0.09和3.63 \pm 0.26)和PBS组大鼠(1.58 \pm 0.11和3.79 \pm 0.32),差异均有统计学意义(均 P <0.05)。病理检查结果显示,与牙周炎组和PBS组比较,GMSC-Exos组大鼠牙周组织破坏程度、炎症细胞浸润程度及牙槽骨吸收程度减轻,结合上皮未见明显的根方增殖。**结论** GMSC-Exos可降低牙周炎大鼠IL-6和TNF- α 基因表达,减轻牙周炎症和牙槽骨吸收。

关键词: 牙龈干细胞; 外泌体; 牙周炎; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子- α ; 炎症因子

中图分类号: R781.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087(2023)11-0961-05

Effect of gingival stem cells-derived exosomes on interleukin (IL)-6 and tumor necrosis factor (TNF)- α expression in rats with periodontitis

JIANG Ke¹, XIAO Wei¹, WANG Quanbing², CHEN Hong^{1,3}

1.School of Stomatology, Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233030, China; 2.Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310014, China; 3.Zhejiang Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310030, China

Abstract: Objective To evaluate the effect of gingival stem cells-derived exosomes (GMSC-Exos) treatment on the expression of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in rats with periodontitis, so as to provide the evidence for periodontitis treatment. **Methods** Forty specific pathogen-free (SPF) rats at ages of 8 weeks were randomly divided into 4 groups, including the blank group, periodontitis group, GMSC-Exos group and PBS group. Rats in the periodontitis group, GMSC-Exos group and PBS group were modeled for periodontitis using the ligature method.

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2023.11.010

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2020KY449); 蚌埠医学院研究生科研创新项目(Byycx22147)

作者简介: 姜可, 硕士研究生在读

通信作者: 陈虹, E-mail: hssy81@126.com

Rats in the blank group and periodontitis group were given no treatment, while rats in the GMSC-Exos group and PBS group were given 20 μ L GMSC-Exos and PBS by injection, respectively. The periodontal index was measured in all rats 4 weeks post-treatment, and the TNF- α and IL-6 levels were measured in rat serum samples using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The TNF- α and IL-6 gene expression was quantified using the polymerase chain reaction (PCR) assay in the gingival tissues of the rat left upper maxillary area, and the periodontal tissues in the left upper maxillary areas were sampled for pathological examinations. Periodontal clinical indexes, IL-6 and TNF- α levels were compared in each group. **Results** The gingival sulcus bleeding index, gingival index, probing depth, and plaque index in the GMSC-Exos group (1.87 \pm 0.41, 1.03 \pm 0.19, 1.91 \pm 0.09 and 1.11 \pm 0.17) were higher than those in the blank group (0.96 \pm 0.31, 0.83 \pm 0.31, 1.09 \pm 0.05 and 1.01 \pm 0.38), but lower than those in the periodontitis group (2.65 \pm 0.50, 1.36 \pm 0.22, 2.61 \pm 0.07 and 1.51 \pm 0.26) and PBS group (2.44 \pm 0.50, 1.23 \pm 0.20, 2.49 \pm 0.10 and 1.39 \pm 0.28) (all P <0.05). The serum IL-6 and TNF- α levels in the GMSC-Exos group [(205.97 \pm 11.47) and (90.11 \pm 8.57) pg/mL] were higher than those in the blank group [(143.10 \pm 4.87) and (80.07 \pm 5.13) pg/mL], but lower than those in the periodontitis group [(367.33 \pm 13.89) and (158.29 \pm 13.10) pg/mL] and PBS group [(364.23 \pm 13.62) and (140.60 \pm 11.73) pg/mL] (all P <0.05). The IL-6 and TNF- α mRNA expression in the rat gingival tissues in the GMSC-Exos group (1.09 \pm 0.14 and 1.61 \pm 0.29) was higher than that in the blank group (0.99 \pm 0.10 and 1.06 \pm 0.14), but lower than that in the periodontitis group (1.63 \pm 0.09 and 3.63 \pm 0.26) and PBS group (1.58 \pm 0.11 and 3.79 \pm 0.32) (all P <0.05). Pathological examinations showed alleviation of periodontal tissue destruction, inflammatory cell infiltration and alveolar bone resorption, and no obvious root dental root regeneration in the junctional combined epithelium in the GMSC-Exos group relative to the periodontitis group and the PBS group. **Conclusion** Administration of GMSC-Exos may reduce periodontal inflammation and alveolar bone resorption by inhibiting IL-6 and TNF- α expression in rats with periodontitis.

Keywords: gingival stem cell; exosome; periodontitis; interleukin-6; tumor necrosis factor- α ; inflammatory factor

炎症和牙槽骨吸收是牙周炎的标志症状,在牙周炎初期,牙龈组织首先受到损伤,牙龈成纤维细胞在脂多糖刺激下,产生白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等炎症因子,进而引起破骨细胞分化和牙槽骨吸收^[1]。实验表明牙周炎患者血清及龈沟液中IL-6、TNF- α 水平均高于普通人群^[2]。因此,抑制炎症细胞募集和促炎性介质的产生是牙周炎治疗的重要靶点。临床上常使用抗生素治疗,但全身使用抗生素会干扰正常生理系统,并可能引起不良反应^[3]。近年来干细胞研究为牙周炎治疗提供了新思路。干细胞通过多囊体与细胞膜融合,将含有RNA、蛋白质、脂质和代谢产物的外泌体释放到细胞外环境,通过外泌体发挥重要的免疫调节作用^[4]。研究表明,牙龈干细胞外泌体(gingival mesenchymal stem cells derived exosomes, GMSC-Exos)可有效抑制TNF- α 表达,通过抑制CD4⁺T淋巴细胞影响T细胞功能活化,促进Treg细胞形成并抑制干扰素 γ (interferon gamma, IFN- γ)的产生,也可触发M1巨噬细胞向M2巨噬细胞转化,减少M1巨噬细胞释放促炎物质,防止破骨细胞形成^[5-6]。本研究构建牙周炎大鼠模型,探究GMSC-Exos对IL-6和TNF- α 表达的影响,为

GMSC-Exos通过抑制炎症治疗牙周炎提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

江苏集萃药康生物科技有限公司提供的8周龄SPF级大鼠40只,雌雄不限,体重约300g,由浙江省人民医院饲养于SPF级环境中,22℃恒温,湿度50%,标准饲料喂养。所有实验程序遵守蚌埠医学院动物保健和使用委员会的指导原则,符合3R原则,伦理审批号:伦动科批字[2023]第503号。

1.2 试剂与器材

DMEM培养基、胎牛血清、青链霉素双抗(Gibco公司);I型胶原酶(美国Sigma公司);多聚甲醛、水合氯醛(碧云天公司);胰蛋白酶消化液、磷酸盐缓冲液(PBS)(索莱宝公司);酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海江莱生物科技有限公司);反转录试剂盒(日本Takara公司);trizol裂解液(美国Invitrogen公司);培养板、培养瓶、冻存管、离心管(美国Corning公司)。倒置荧光显微镜(日本Sigma公司);电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);实时荧光定量PCR仪(赛默飞公司);超速离心机(美国Beckman公司);流式细胞仪(美国安捷伦公司)。

1.3 GMSC-Exos 提取

征得医院口腔科需要切除牙龈组织患者的知情同意后, 取其部分废弃健康牙龈组织, 采用酶消化法^[7]提取 GMSCs。研究通过蚌埠医学院伦理委员会审查, 伦理审批号: 伦科批字 [2023] 301 号。选取第 3~6 代 GMSCs, 待细胞融合率达到 60%、活性较强时, 更换为无血清细胞培养液, 继续培养 48 h 后收集上清液, 采用差速离心法提取 GMSC-Exos。

1.4 牙周炎大鼠模型建立和干预

大鼠随机分为 4 组: 空白组, 健康大鼠; 牙周炎组, 牙周炎大鼠不进行任何干预; GMSC-Exos 组, 牙周炎大鼠+GMSC-Exos 注射; PBS 组, 牙周炎大鼠+PBS 注射。除空白组外, 其余组大鼠采用结扎丝法^[8]构建牙周炎模型。腹腔注射 10% 水合氯醛按 30 mg/kg 体重麻醉大鼠, 用结扎丝绕左侧上颌第一磨牙牙颈部结扎一圈, 将结扎丝充分压入龈沟内, 远中腭侧打结; 术后给予高糖黏性饲料, 持续 4 周。牙周炎会导致牙龈红肿、探诊出血、牙周袋形成和牙槽骨吸收等局部病理变化^[9], 当大鼠结扎区出现明显的此类病理现象即代表大鼠牙周炎造模成功。造模成功后, GMSC-Exos 组大鼠拆除结扎丝, 牙龈颊腭侧近中、中央、远中分别注射 10 μg/mL 的 GMSC-Exos 悬浊液 20 μL, 每周 3 次, 连续注射 4 周; PBS 组大鼠拆除结扎丝后于相同部位注射同体积的 PBS。

1.5 GMSC-Exos 注射治疗后效果评估

1.5.1 牙周探诊检查

末次给药 24 h 后, 每组大鼠随机抽取 6 只进行牙周探诊检查, 记录牙周炎临床指标, 包括龈沟出血指数 (sulcus bleeding index, SBI)、牙龈指数 (gingival index, GI)、探诊深度 (probing depth, PD) 和菌斑指数 (plaque index, PLI)。

1.5.2 外周血 IL-6、TNF-α 浓度检测

末次给药 24 h 后麻醉大鼠, 腹主动脉取血 5 mL, 4 °C 静止 2 h, 离心 10 min (4 °C 3 000 r/min, 离心半径 99 mm), 取上层血清, -80 °C 保存。按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清 IL-6、TNF-α 浓度。

1.5.3 IL-6、TNF-α 相关基因表达检测

末次给药后处死所有大鼠, 部分大鼠分离左侧上颌骨, 取第一磨牙颊腭侧新鲜牙龈组织, -80 °C 冻存。采用 Trizol 法提取牙龈组织总 RNA, 反转录获得 cDNA, 反应条件: 65 °C, 5 min; 42 °C, 60 min; 85 °C, 10 min。采用实时荧光定量 PCR 扩增, 反应条件: 95 °C, 3 min; 95 °C, 15 s; 60 °C, 30 s; 39

个循环。IL-6 上游引物序列: CCACCAGGAAC-GAAAGTCAAC, 下游引物序列: GGCAGTGGCTGT-CAACAACA; TNF-α 上游序列: GTTCCATG-GCCCAGACCCT, 下游序列: AGCTGCTCCTCCGCTT-GGTG。

1.5.4 大鼠牙周组织病理检查

剥离大鼠左上颌骨, 用 4% 多聚甲醛固定液将组织标本固定 2 d, 组织脱钙后冲洗, 修剪标本, 放入包埋盒, 经无水乙醇、二甲苯脱水处理过夜后石蜡包埋, 冷冻石蜡包埋盒后组织切片, 烘干后进行苏木精-伊红 (HE) 染色, 光镜下观察结合上皮位置、炎症细胞浸润和牙槽嵴高度。

1.6 统计分析

采用 SPSS 26.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布, 采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠牙周炎临床指标检查结果

牙周炎组、PBS 组和 GMSC-Exos 组大鼠 SBI、GI、PD 和 PLI 均高于空白组大鼠; GMSC-Exos 组大鼠 SBI、GI、PD 和 PLI 均低于牙周炎组和 PBS 组大鼠 (均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 4 组大鼠牙周炎临床指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of clinical indexes of periodontitis in rats in four groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	SBI	GI	PD	PLI
空白组	0.96±0.31	0.83±0.31	1.09±0.05	1.01±0.38
牙周炎组	2.65±0.50 ^①	1.36±0.22 ^①	2.61±0.07 ^①	1.51±0.26 ^①
PBS 组	2.44±0.50 ^①	1.23±0.20 ^①	2.49±0.10 ^{①②}	1.39±0.28 ^①
GMSC-Exos 组	1.87±0.41 ^{①②}	1.03±0.19 ^②	1.91±0.09 ^{①②③}	1.11±0.17 ^{②③}
<i>F</i> 值	26.658	8.735	698.045	6.260
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.002

注: ①表示与空白组比较 $P < 0.05$; ②表示与牙周炎组比较 $P < 0.05$; ③表示与 PBS 组比较 $P < 0.05$ 。

2.2 大鼠外周血 IL-6 和 TNF-α 浓度

牙周炎组、PBS 组和 GMSC-Exos 组大鼠外周血 IL-6 和 TNF-α 浓度高于空白组大鼠; GMSC-Exos 组大鼠外周血 IL-6 和 TNF-α 浓度低于牙周炎组和 PBS 组大鼠 (均 $P < 0.05$)。见表 2。

2.3 大鼠牙龈组织 IL-6 和 TNF-α 表达

表 2 4 组大鼠血清 IL-6 和 TNF-α 浓度比较 ($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

Table 2 Comparison of serum IL-6 and TNF-α levels in rats in four groups ($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	IL-6	TNF-α
空白组	143.10±4.87	80.07±5.13
牙周炎组	367.33±13.89 ^①	158.29±13.10 ^①
PBS组	364.23±13.62 ^①	140.60±11.73 ^①
GMSC-Exos组	205.97±11.47 ^{①②③}	90.11±8.57 ^{①②③}
F值	896.557	56.690
P值	<0.001	<0.001

注：①表示与空白组比较 $P<0.05$ ；②表示与牙周炎组比较 $P<0.05$ ；③表示与PBS组比较 $P<0.05$ 。

牙周炎组、PBS组和GMSC-Exos组大鼠牙龈组织 IL-6 和 TNF-α mRNA 表达水平均高于空白组大鼠；GMSC-Exos组大鼠 IL-6 和 TNF-α mRNA 表达水平低于牙周炎组和 PBS组大鼠（均 $P<0.05$ ）。见表 3。

表 3 4 组大鼠牙龈组织 IL-6 和 TNF-α mRNA 表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of expression differences between IL-6 and TNF-α in rat gingival tissues in four groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	IL-6	TNF-α
空白组	0.99±0.10	1.06±0.14
牙周炎组	1.63±0.09 ^①	3.63±0.26 ^①
PBS组	1.58±0.11 ^①	3.79±0.32 ^①
GMSC-Exos组	1.09±0.14 ^{①②③}	1.61±0.29 ^{①②③}
F值	24.335	111.793
P值	<0.001	<0.001

注：①表示与空白组比较 $P<0.05$ ；②表示与牙周炎组比较 $P<0.05$ ；③表示与PBS组比较 $P<0.05$ 。

2.4 大鼠牙周组织病理学结果

如图 1 所示，空白组大鼠牙周组织结构完整，牙龈紧密附着于牙面，结合上皮附着于釉牙骨质界处，未见炎症细胞浸润。牙周炎组和 PBS组大鼠可见牙周组织结构破坏，炎症细胞数目增加，结合上皮向根方伸展形成深的牙周袋，牙槽嵴的顶部破坏。GMSC-Exos组大鼠牙周组织破坏程度减轻，结合上皮未见明显的根方增殖，炎症细胞浸润程度减轻，未见明显炎症细胞。

3 讨论

牙龈干细胞起源于神经嵴，易于培养，在传代数量较高时也可表现出较强的免疫调节和增殖能力，且

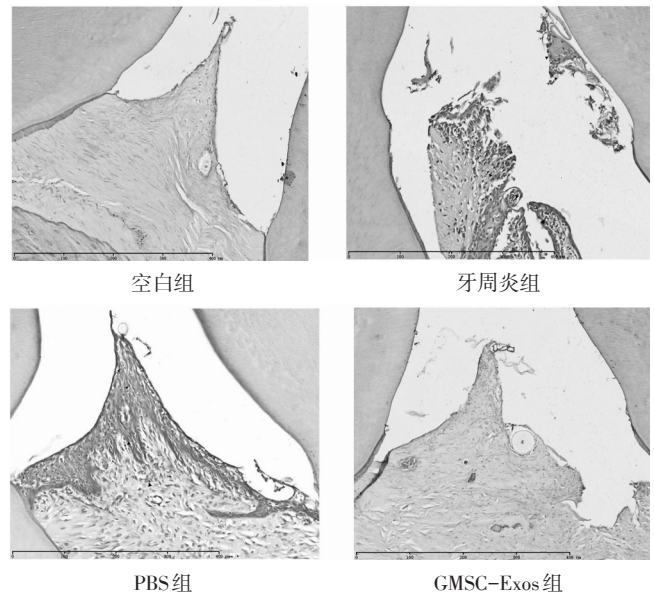


图 1 4 组大鼠牙周组织的病理学改变 (HE 染色, ×40)
Figure 1 Pathological changes in rat periodontal tissues in four groups (HE staining, ×40)

具有稳定的功能特征，因此被广泛用于牙周炎治疗 [10-12]。传统牙周病治疗方法侧重于通过机械清创术减少牙周袋中的细菌负荷，而调节宿主免疫炎症反应可能在阻止疾病进展、促进愈合修复方面发挥重要作用 [13]，因此抑制炎症细胞募集和促炎性介质产生被认为是牙周炎治疗的重要靶点。IL-6 和 TNF-α 是牙周炎主要的促炎细胞因子 [14]，TNF-α 可提高中性粒细胞黏附因子水平，促进中性粒细胞黏附，损伤内皮细胞；IL-6 可刺激骨吸收、破坏牙周组织、抑制金属蛋白酶抑制因子，导致牙槽骨破坏和吸收 [15]。

在本研究中，采用结扎丝法致大鼠牙周炎，造模 4 周后大鼠结扎区菌斑堆积、牙龈红肿、探诊出血和牙周袋形成，表明已成功建立了大鼠牙周炎模型；空白组、牙周炎组、PBS组和GMSC-Exos组的病理检查、牙周临床指标检查结果存在差异，证实了该牙周炎模型的科学性。牙周炎大鼠经 GMSC-Exos 治疗后，牙周炎区域牙龈组织及外周血中 IL-6、TNF-α 水平降低，同时病理检查显示牙龈组织炎症程度减轻，牙周情况改善，牙槽骨吸收程度降低，而 PBS组大鼠上述指标并未发生明显变化。以上结果提示 GMSC-Exos 可降低炎症因子 IL-6 和 TNF-α 表达，改善牙周炎症，减缓牙槽骨吸收，保护牙周支持组织，为牙周炎治疗提供了新的辅助治疗手段。

参考文献

[1] MOREIRA P R, LIMA P M, SATHLER K O, et al. Interleukin-6

- expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals [J]. *Clin Exp Immunol*, 2007, 148 (1): 119-126.
- [2] BARNEA T V, SAVA A, GENTIMIR C, et al. Genetic polymorphisms of TNF- α and IL-1 and generalized aggressive periodontitis [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2015, 56 (2): 459-464.
- [3] GARALA K, JOSHI P, SHAH M, et al. Formulation and evaluation of periodontal in situ gel [J]. *Int J Pharm Investig*, 2013, 3 (1): 29-41.
- [4] PHINNEY D G, PITTINGER M F. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy [J]. *Stem Cells*, 2017, 35 (4): 851-858.
- [5] ZHANG Y L, WANG Z G, SHI B H, et al. Effect of gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes on inflammatory macrophages in a high-lipid microenvironment [J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94 [2023-10-04]. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107455>.
- [6] ZARUBOVA J, HASANI-SADRABADI M M, DASHTIMOGHADAM E, et al. Engineered delivery of dental stem-cell-derived extracellular vesicles for periodontal tissue regeneration [J/OL]. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11 (12) [2023-10-04]. <https://doi.org/10.1002/adhm.202102593>.
- [7] 孙文东, 孙慧斌, 刘晓璇, 等. 牙龈间充质干细胞的培养与鉴定 [J]. *青岛大学医学院学报*, 2017, 53 (2): 157-160.
- [8] LI D F, FENG Y, TANG H, et al. A simplified and effective method for generation of experimental murine periodontitis model [J/OL]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8 [2023-10-04]. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00444>.
- [9] TONETTI M S, GREENWELL H, KORNMANN K S. Staging and grading of periodontitis: framework and proposal of a new classification and case definition [J]. *J Periodontol*, 2018, 89 (Suppl. 1): S159-S172.
- [10] ZHANG Q Z, SHI S H, LIU Y, et al. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis [J]. *J Immunol*, 2009, 183 (12): 7787-7798.
- [11] KIM D, LEE A E, XU Q, et al. Gingiva-derived mesenchymal stem cells: potential application in tissue engineering and regenerative medicine—a comprehensive review [J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12 [2023-10-04]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667221>.
- [12] LIU X, WANG Z, SONG W, et al. Systematically transplanted human gingiva-derived mesenchymal stem cells regulate lipid metabolism and inflammation in hyperlipidemic mice with periodontitis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19 (1): 672-682.
- [13] BLANCO-PINTOS T, REGUEIRA-IGLESIAS A, BALSAL-CASTRO C, et al. Update on the role of cytokines as oral biomarkers in the diagnosis of periodontitis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1373: 283-302.
- [14] ASSUMA R, OATES T, COCHRAN D, et al. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis [J]. *J Immunol*, 1998, 160 (1): 403-409.
- [15] CARDOSO E M, REIS C, MANZANARES-CESPEDES M C. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases [J]. *Postgrad Med*, 2018, 130 (1): 98-104.

收稿日期: 2023-07-26 修回日期: 2023-10-04 本文编辑: 徐文璐

(上接第960页)

- [7] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 职业性噪声聋的诊断: GBZ 49—2014 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [8] 郭堂春. 职业卫生与职业医学 (第8版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
- [9] CHEN K H, SU S B, CHEN K T. An overview of occupational noise-induced hearing loss among workers: epidemiology, pathogenesis, and preventive measures [J/OL]. *Environ Health Prev Med*, 2020, 25 (1) [2023-10-02]. <https://doi.org/10.1186/s12199-020-00906-0>.
- [10] ZHOU J, SHI Z, ZHOU L, et al. Occupational noise-induced hearing loss in China: a systematic review and meta-analysis [J/OL]. *BMJ Open*, 2020, 10 (9) [2023-10-02]. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2020-039576>.
- [11] 王鑫, 边洪英, 董一文, 等. 3家铁路运输设备制造企业的噪声致劳动者听力损失的风险评估 [J]. *卫生研究*, 2022, 51 (6): 904-910.
- [12] 林燕, 郑双来, 张宝津. 杭州市某区9895例噪声作业工人职业健康检查结果及相关因素分析 [J]. *工业卫生与职业病*, 2022, 48 (5): 377-379.
- [13] 高美伶, 张永利, 易井萍. 舟山市噪声作业工人高频听力损失的影响因素分析 [J]. *预防医学*, 2020, 32 (8): 834-838.
- [14] 白瑞. 职业性噪声聋成因及防护对策 [J]. *现代职业安全*, 2011 (10): 98-99.
- [15] 秦汝男, 张明, 唐慧晶, 等. 某钢管制造企业高温与噪声联合暴露对工人健康影响的调查分析 [J]. *工业卫生与职业病*, 2022, 48 (1): 10-13, 17.
- [16] 刘丹. 耳毒性有机溶剂与噪声联合暴露对劳动者听力影响研究 [D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2021.

收稿日期: 2023-07-12 修回日期: 2023-10-02 本文编辑: 刘婧出