[文章编号] 1000-1182(2008)02-0147-05 ·临床研究·

牙龈卟啉单胞菌与牙周基础治疗关系的实验研究

杨 禾[1], 徐 屹[2], 赵 蕾[1], 孟 姝[1], 吴亚菲[2]
(1.口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学; 2.四川大学华西口腔医院 牙周科, 四川 成都 610041)

[摘要] 目的 应用TaqMan实时荧光定量聚合酶链反应法检测慢性牙周炎患者牙周洁刮治术(SRP)治疗前后龈下菌斑中牙龈卟啉单胞菌(P. gingivalis)的变化，分析P. gingivalis与SRP疗效之间的关系，探讨应用实时荧光定量聚合酶链反应监测和评价SRP的可能性。方法 选择20例中重度慢性牙周炎患者为研究对象，检查SRP治疗前后的临床指标，包括探诊深度(PD)、临床附着丧失(CAL)和探诊出血(BOP)；采集SRP治疗前后的龈下菌斑共142个样本，应用TaqMan实时荧光定量聚合酶链反应检测样本中的P. gingivalis。构建含有P. gingivalis扩增片段的重组质粒，建立定量标准。结果 慢性牙周炎患者SRP治疗后PD、CAL和BOP均明显下降(P<0.001)；治疗前P. gingivalis检出率为80.28%，治疗后下降为54.23%；治疗前P. gingivalis数量与PD相关，Kendall相关系数为0.70(P<0.001)，治疗后牙周袋内细菌数量明显减少(P<0.001)。治疗前牙周袋内P. gingivalis的定植数量与PD、CAL和BOP的改善无相关性(P>0.05)，但治疗后治疗有效位点P. gingivalis数量减少程度明显大于治疗无效位点(P<0.05)，细菌减少量与PD改善弱相关(r=0.25，P=0.04)。结论 SRP治疗可以明显改善临床症状，降低P. gingivalis检出率和绝对数量；治疗前P. gingivalis定植水平对临床指标的改善没有影响，治疗后P. gingivalis数量下降程度可以反映治疗效果。TaqMan实时荧光定量聚合酶链反应可以用于牙周炎治疗效果的监测和评价。

[关键词] 牙周炎； 牙龈卟啉单胞菌； 牙周洁刮治术； 实时荧光定量聚合酶链反应
[中图分类号] R781.4 [文献标识码] A

Association between Porphyromonas gingivalis and scaling and root planning therapy

YANG He[1], XU Yi[2], ZHAO Lei[1], MENG Shu[1], WU Ya-fei[2]. (1. State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Dept. of Periodontology, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Objective Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis) is considered to be major putative periodontal pathogens. The purpose of the study was to evaluate P. gingivalis and clinical effects of scaling and root planning (SRP) in 20 subjects after 3 months. Methods Twenty periodontitis patients were selected. The mean age was (44.33±13.86) years old. Clinical assessments of probing depth (PD), clinical attachment loss (CAL) and bleeding on probing (BOP) were made prior to SRP and at 3 months post-therapy. Subgingival plaque samples were taken at each visit and analyzed using TaqMan real-time polymerase chain reaction for the presence and levels of P. gingivalis. The quantification for P. gingivalis was also performed with the help of the species-specific primers/probes and the serial dilution of the plasmid standards. Results Mean probing depth, mean clinical attachment loss and bleeding on probing showed sig-nificant reduction at 3 months (P<0.001). The prevalence and level of P. gingivalis were significantly reduced after SRP (P<0.001). A positive correlation was found between the numbers of P. gingivalis and PD at baseline (P<0.001). There were no correlation between the initial level of P. gingivalis at baseline and the clinical improvement after therapy. But the number of P. gingivalis at responding sites was more decreased than non-responding sites after SRP (P<0.05). Conclusion SRP produced a good clinical improvement. The prevalence and level of P. gingivalis were significantly reduced after SRP. The effect of SRP may be determined by the degree of P. gingivalis decreased. The real-time polymerase chain reaction can be used to evaluate the effect of periodontal therapy.

[Key words] periodontitis； Porphyromonas gingivalis； scaling and root planning； real-time polymerase chain reaction

牙周炎是一种慢性感染性疾病，牙周致病菌是牙周炎发生发展的重要因素。牙周洁刮治术(scaling and root planning，SRP)是牙周炎的基础治疗，能

[收稿日期] 2007-10-18； [修回日期] 2007-12-10
[基金项目] 国家“十五”科技攻关资助项目(2004BA720A26)
[作者简介] 杨 禾(1969-)，女，贵州人，讲师，博士
[通讯作者] 吴亚菲，Tel：028-85501471

显著改善临床指标，使牙周致病菌检出率下降[1]。SRP对龈下菌斑有着深刻的影响，术后龈下菌群中某些细菌的持续存在将对治疗效果及预后产生一定影响。因此对致病微生物的监测不仅有利于牙周病的诊断，而且有利于治疗计划的拟订及疗效评价。培养法是分析龈下菌斑的经典方法，但对实验条件和技术要求高，只能检测在特定培养基上生长的细菌[2]；酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）和DNA探针技术也可评价SRP治疗后龈下菌斑微生物的变化[3-4]，但存在特异性差或敏感性低等缺点。实时荧光定量聚合酶链反应（real-time polymerase chain reaction，real-time PCR）是近年来发展起来的一种定量检测方法，具有实时检测、灵敏、特异、无需电泳、快速、可定量等优点，现在已广泛应用于细菌和病毒的定量检测，用于牙周微生物研究仍是一个较新的课题。牙龈卟啉单胞菌（Porphyromonas gingivalis，P. gingivalis）是慢性牙周炎的重要致病菌，本研究应用TaqMan real-time PCR定量检测慢性牙周炎患者SRP治疗前后龈下菌斑中P. gingivalis的变化及其与临床指标的关系，探讨P. gingivalis水平对疗效的影响，寻找快速可靠的监测和评价牙周治疗疗效的新方法。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取2005年12月—2006年5月在四川大学华西口腔医院牙周科初诊的中、重度慢性牙周炎患者20例为研究对象，其中男性12例，女性8例；年龄30～68岁，平均年龄（44.33±3.86）岁。慢性牙周炎的诊断标准采用Armitage（1999年）的标准[5]。所有患者要求：1）经常规PCR检测，唾液P. gingivalis阳性；2）全口存留牙不少于16颗，其中至少有4颗磨牙牙周袋探诊深度（probing depth，PD）超过4 mm；3）无全身系统性疾病，3个月内无牙周病治疗史、无抗菌药物和非甾体类药物服用史，妇女无妊娠。

1.2 实验流程

所有患者在确诊后采集龈下菌斑样本，检查牙周临床指标，然后进行彻底的全口牙周洁刮治术，并行口腔卫生宣教。3个月后复查，再次取龈下菌斑样本，并检查牙周临床指标，比较治疗前后临床指标和P. gingivalis检出情况的变化。所有的检查和治疗均由同一名牙周专科医生完成。

1.3 临床指标检查和样本采集方法

所有患者均进行全口检查，将患者牙列分为4个区，选取每个区牙周袋最深位点取样（若一个区所有牙齿PD<4 mm，则不取样）。取样时用无菌刮匙去除龈上菌斑，无菌棉球隔湿，干燥，插入两根40号标准化灭菌纸尖（天津达雅鼎医疗器械有限公司）直至牙周袋底，静置10 s，然后取出纸尖置于含有1 mL厌氧转送液的EP管中，-20 ℃冻存备用。取样后记录取样位点的PD、临床附着丧失（clinical attachment loss，CAL）和探诊出血（bleeding on probing，BOP）。共取样71个位点。

1.4 DNA提取

样本在室温下解冻30 min，充分振荡混匀，移取90 μL样本至另一EP管中，将体积分数为25% Chelex-100与样本液按体积比1∶3混合，充分振荡混匀，56 ℃加热30 min，100 ℃加热10 min，4 ℃下15 000 r/min离心8 min，收集含DNA上清液，-20 ℃保存，备用。

1.5 TaqMan实时荧光定量PCR

1.5.1 引物和探针 TaqMan实时荧光定量PCR所用的特异性引物：5′-TGTAGATGACTGATGGTGAAACC-3′，5′-ACGTCATCCCCACCTTCCTC-3′；探针：FAM-ATGACTGATGGTGAAAACCGTCTTCCCTTC-TAMRA（由上海基康生物技术有限公司合成），PCR产物为83 bp。

1.5.2 标准品制备 P. gingivalis用以上特异性引物经常规PCR反应，得到83 bp扩增产物，将其作为目的片段，构建P. gingivalis的重组质粒，并将该质粒标准品连续10倍稀释至密度为每微升1×10^2～1×10^7个拷贝，建立定量标准。

1.5.3 常规PCR 常规PCR反应体系为25 μL，具体组成如下：2 μL DNA模板，1 μmol/L 上下游引物，2.5 μL 10倍稀释的缓冲液，2.5 mmol/L $MgCl_2$，0.2 mmol/L dNTP，0.625 U TaqDNA聚合酶（fermentas公司，立陶宛），再用无菌三蒸水补足总体积至25 μL。温度条件：预变性95 ℃ 5 min，变性95 ℃ 30 s，退火58 ℃ 30 s，延伸72 ℃ 1 min，35个循环；循环结束后于72 ℃延伸7 min。

1.5.4 实时荧光定量PCR的定量检测 反应体系为25 μL：TaqMan Master Mix 12.5 μL（Applied Biosystems公司，美国），上下游引物各22.5 pmol，6.25 pmol TaqMan探针，DNA模板5 μL，ddH_2O 4.625 μL。反应条件：50 ℃ 2 min，95 ℃ 10 min；95 ℃ 30 s，60 ℃ 30 s，进行45个循环。所有反应在ABI Prism® 7300型荧光定量PCR仪（Applied Biosystems公司，美国）上进行，并在反应过程中自动绘制线性标准曲线。质粒标准品和样本均重复检测3次，取平均值计算细菌数量。以P. gingivalis ATCC 33277作为检测牙龈卟啉单胞菌的阳性对照，等体积双蒸水作为空白对照。

1.6 统计分析

用SPSS 13.0统计软件进行数据分析。采用秩和检验比较治疗前后PD和CAL的变化，以及治疗前P. gingivalis数量情况；用卡方检验比较治疗前后BOP和P. gingivalis检出率的变化；将细菌数量经对数转换使其呈正态分布，用t检验来比较治疗前后P. gingivalis数量水平及其与临床指标的关系，并进行相关分析。

2 结果

2.1 P. gingivalis定量检测

将每微升1×10^2~1×10^7个拷贝的P. gingivalis重组质粒DNA进行实时荧光定量PCR所获得的标准曲线见图1。根据标准曲线对龈下菌斑样本中P. gingivalis数量进行检测。

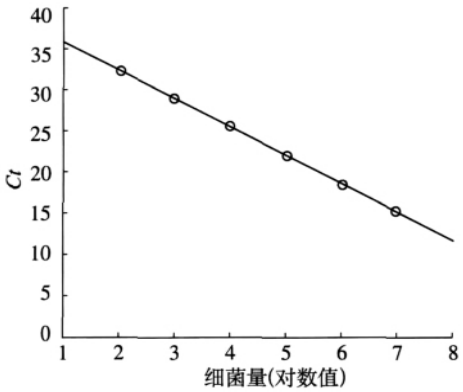

图 1 *P. gingivalis*实时荧光定量PCR标准曲线

Fig 1 Standard curves from real-time PCR with *P. gingivalis* specific probe/primer

2.2 SRP治疗前后临床指标的变化

治疗前后平均PD、CAL和BOP情况见表1。由表1可见，经SRP治疗后患者的PD和CAL均明显下降（P<0.001）。根据治疗前探诊深度的不同，将观察位点分为PD≤6 mm（43个位点）和PD>6 mm（28个位点）两组。SRP治疗后，PD≤6 mm位点附着水平获得为0.41 mm；PD>6 mm位点附着水平获得为1.06 mm，两组位点治疗后附着水平获得量具有统计学差异（P<0.05）。

表 1 治疗前后临床指标的改变

Tab 1 Clinical parameters before and after therapy

分组	位点数	PD (mm, $\bar{x}\pm s$)	CAL (mm, $\bar{x}\pm s$)	BOP 阳性位点数（阳性率）
治疗前	71	6.44±1.75	6.57±2.30	45（63.38%）
治疗后	71	4.93±1.82*	5.65±2.39*	11（15.49%）*

注：*P<0.001

2.3 SRP治疗前后P. gingivalis检出率及数量的变化

本实验共检测142个龈下菌斑样本，治疗前P. gingivalis检出率为80.28%，治疗后为54.23%，治疗后细菌检出率下降（P=0.004）。治疗前不同探诊深度P. gingivalis定植数量见表2。由表2可见，不同探诊深度位点的P. gingivalis定植数量不同，相关性分析显示二者有明显相关性，Kendall相关系数为0.70（P<0.001），提示牙周袋越深细菌数量越多。细菌数量经对数转换，治疗前P. gingivalis平均数为5.92±1.28，治疗后为3.23±2.47，治疗后P. gingivalis数量明显下降（P<0.001）。

表 2 治疗前不同探诊深度P. gingivalis定植数量（个细菌/mL）

Tab 2 Numbers of P. gingivalis in pockets before therapy（cells/mL）

PD (mm)	位点数	均值	范围	上四分位数	下四分位数
4	6	2.885×10^3	0~4.360×10^4	0	1.524×10^4
5	18	5.625×10^4	0~8.560×10^5	0	1.486×10^5
6	16	1.180×10^5	0~9.320×10^5	0	2.960×10^5
7	12	5.660×10^5	0~6.470×10^6	0	1.556×10^6
8	11	4.280×10^6	3.140×10^5~8.070×10^7	8.087×10^5	6.752×10^7
≥9	8	5.610×10^7	2.310×10^6~5.630×10^8	2.150×10^7	3.550×10^8

根据治疗后PD的变化，将71个位点分为治疗有效位点组（PD减少不低于2 mm）和治疗无效位点组（PD减少低于2 mm）。治疗有效位点有43个，治疗前P. gingivalis数量的对数值为5.84±1.18，治疗后为2.55±2.27；治疗无效位点有28个，治疗前P. gingivalis数量的对数值为6.04±1.47，治疗后为4.31±2.45。经统计学检验，治疗前两组位点P. gingivalis定植数量无统计学差异（P=0.06），治疗后P. gingivalis数量均有明显下降（P<0.001），但有效位点组细菌减少幅度明显大于无效位点组（P<0.05）。治疗前P. gingivalis定植数量与PD、CAL改变没有明显相关性，Kendall系数分别为0.07和0.02（P=0.55，P=0.86）。治疗后P. gingivalis减少量与PD改善有弱相关（r=0.25，P=0.04），但与CAL改善无关（r=0.07，P=0.50）。

将SRP治疗后BOP阳性变为阴性的位点视为BOP改善位点，BOP无变化或由阴性变为阳性者视为无改善位点。BOP改善位点45个，治疗前P. gingivalis数量的对数值为5.70±1.10，治疗后为2.79±2.42；无改善位点26个，治疗前P. gingivalis数量的对数值为6.47±1.60，治疗后为4.38±2.31。经统计学检验，治疗前两组位点P. gingivalis定植数量没有统计学差异（P=0.07），治疗后均明显降低（P<0.001），且细菌下降程度没有统计学差异（P=0.16），细菌减少量与BOP改善无关（r=0.08，P=0.49）。治疗前P. gingivalis定植数量与BOP改变也无相关性，Kendall系数为0.23（P=0.06）。

3 讨论

SRP是通过去除或减少牙周袋内致病菌、病变牙骨质、牙石，达到控制炎症的目的，其疗效非常确定，不仅用于牙周炎的治疗，还用于治疗后维持疗效，防止疾病复发。本研究中，20例中重度慢性牙周炎患者经SRP治疗后，临床症状均有明显好转，PD和CAL下降，有明显的附着水平再获得；且BOP位点阳性率由治疗前的63.38%下降到治疗后的15.49%。本研究显示，SRP对深牙周袋的影响较明显，PD>6 mm位点的附着水平再获得较PD≤6 mm位点更显著，这与Haffajee等[6]的研究结果一致。Haffajee等[6]认为，较浅的牙周袋（PD<4 mm）经SRP治疗后，附着水平获得较少；中等深度牙周袋（4~6 mm）获得中等附着水平；而深牙周袋（PD>6 mm）附着水平获得较多。

临床指标的检查都比较主观，不同检查者的结果存在差异，且只能体现检查时的牙周状况和炎症程度；微生物检测比较客观，研究者们希望通过检测基线时或治疗后微生物水平，有助于判断牙周炎的预后和治疗效果。不同学者采用不同方法检测了SRP治疗后P. gingivalis检出情况的变化，结果不尽相同。Takamatsu等[1]用DNA探针法，发现SRP治疗后P. gingivalis检出率由84.6%降为50%，但也有报道P. gingivalis在SRP治疗后检出率下降较少[6-7]。实时荧光定量PCR是一种新的分子生物学检测技术，不仅能检测龈下菌斑中的细菌，还能精确定量，快速且稳定[8]。本研究采用TaqMan实时荧光定量PCR方法对142个龈下菌斑进行检测，结果发现，SRP治疗后P. gingivalis检出率从80.28%降为54.23%。笔者分析不同学者检测结果不一致的原因可能是由于微生物检测方法、患者选择不同所致。

本研究发现，治疗前细菌在牙周袋内定植数量与PD有关，PD越深，P. gingivalis数量越多，Kendall相关系数为0.70；SRP治疗后P. gingivalis数量明显下降，与其他研究相似[9-10]。Kawada等[10]应用实时荧光定量PCR检测发现，P. gingivalis数量与牙周袋深度有明显相关性，PD每增加1 mm，P. gingivalis数量增加10倍，SRP治疗后P. gingivalis检出率和绝对数量显著下降。以上研究提示SRP治疗可使P. gingivalis减少，有效改善临床指标。对于牙周致病菌是内源性致病菌还是外源性致病菌尚有争议，外源性致病菌学说致力于彻底清除致病菌，而内源性致病菌学说则致力于保持牙周微生态平衡。彻底清除牙周致病菌并不可能，也没有必要。牙周致病菌可能是内源性致病菌，由于局部环境改变使致病菌数量增加，达到一定阈值时导致牙周组织破坏，通过SRP治疗可以有效清除或减少这些致病菌，使牙周炎症得以控制。

治疗前P. gingivalis数量可以影响慢性牙周炎患者SRP治疗的效果。Fujise等[11]发现PD<6 mm的治疗无效位点在治疗前P. gingivalis定植数量比治疗有效位点高。Haffajee等[6]也发现治疗后附着水平获得超过2 mm的位点在治疗前P. gingivalis的数量明显较少。基础治疗后出现P. gingivalis的位点，或P. gingivalis量增加的位点疗效较差，同一探诊深度的牙周袋内P. gingivalis数量越高，治疗效果越差[1]。本研究71个检测位点中，治疗有效位点43个，无效位点28个，治疗前两组位点均有高水平的P. gingivalis定植，SRP治疗后两组位点P. gingivalis定植数量均有明显下降，但有效位点P. gingivalis数量下降幅度比无效位点大。细菌减少量与PD改善有关，但治疗前龈下菌斑中P. gingivalis数量与治疗后PD、CAL改变没有相关性。产生不同结果的原因可能与样本量大小、检测方法、患者选择等因素有关，有待扩大样本量进一步探讨。本研究提示，虽然治疗前有高水平的P. gingivalis定植，只要能有效减少P. gingivalis数量，就可以使PD改善；此外，本研究也表明SRP治疗后龈下菌斑中P. gingivalis数量减少程度可以反映治疗效果。

本研究中BOP改善位点和无改善位点在治疗前P. gingivalis数量没有统计学差异，治疗后P. gingivalis均减少，但两组位点细菌减少的程度无差别，提示龈下菌斑中P. gingivalis定植数量与BOP关系不大。BOP是否与牙周其他致病菌或菌斑中细菌相互作用等因素有关还不清楚。有研究显示龈下菌斑中中间普氏菌（Prevotella intermedia）的出现或增加将会影响BOP的改善[12-13]。

SRP治疗能有效改善慢性牙周炎患者的临床症状。从微生物水平看，SRP能有效减少P. gingivalis数量，治疗后P. gingivalis减少程度可能反映治疗的效果，治疗前P. gingivalis定植数量与PD、CAL和BOP的改变没有相关性。本研究只对P. gingivalis数量及其与SRP疗效间关系进行观察，所提供的信息有限。龈下菌斑微生物是牙周炎发生发展的主要因素，龈下菌斑组成复杂，牙周炎又是一个多因素疾病，所以观察细菌与牙周基础治疗疗效间的关系还需进行多因素分析，扩大样本量并延长观察时间。本研究所采用的TaqMan实时荧光定量PCR方法能精确定量龈下菌斑中P. gingivalis数量，方法简便而快速，对牙周治疗微生物监测、疗效评价具有很好的应用前景。

[参考文献]

[1] Takamatsu N, Yano K, He T, et al. Effect of initial periodontal therapy on the frequency of detecting Bacteroides forsythus, Porphyromonas gingivalis, and Actinobacillus actinomycetemcomitans [J]. J Periodontol, 1999, 70(6):574-580.

[2] Eick S, Pfister W. Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival plaque samples[J]. J Clin Periodontol, 2002, 29(7):638-644.

[3] Shelburne CE, Prabhu A, Gleason RM, et al. Quantitation of Bacteroides forsythus in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction[J]. J Microbiol Methods, 2000, 39(2):97-107.

[4] Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, et al. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site[J]. J Clin Periodontol, 1991, 18(10):766-775.

[5] Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions[J]. Ann Periodontol, 1999, 4(1):1-6.

[6] Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases[J]. J Clin Periodontol, 1997, 24(5):324-334.

[7] Darby IB, Mooney J, Kinane DF. Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy[J]. J Clin Periodontol, 2001, 28(8):796-805.

[8] Jervøe-Storm PM, Koltzscher M, Falk W, et al. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples[J]. J Clin Periodontol, 2005, 32(7):778-783.

[9] Gmür R, Strub JR, Guggenheim B. Prevalence of Bacteroides forsythus and Bacteroides gingivalis in subgingival plaque of prosthodontically treated patients on short recall[J]. J Periodontal Res, 1989, 24(2):113-120.

[10] Kawada M, Yoshida A, Suzuki N, et al. Prevalence of Porphyromonas gingivalis in relation to periodontal status assessed by real-time PCR[J]. Oral Microbiol Immunol, 2004, 19(5):289-292.

[11] Fujise O, Hamachi T, Inoue K, et al. Microbiological markers for prediction and assessment of treatment outcome following non-surgical periodontal therapy[J]. J Periodontol, 2002, 73(11):1253-1259.

[12] Mombelli A, Schmid B, Rutar A, et al. Persistence patterns of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia/nigrescens, and Actinobacillus actinomycetemcomitans after mechanical therapy of periodontal disease[J]. J Periodontol, 2000, 71(1):14-21.

[13] Kook JK, Sakamoto T, Nishi K, et al. Detection of Tannerella forsythia and/or Prevotella intermedia might be useful for microbial predictive markers for the outcome of initial periodontal treatment in Koreans[J]. Microbiol Immunol, 2005, 49(1):9-16.

(本文编辑 吴爱华)

(上接第146页)

不同缺牙类型的三维有限元模型，并可根据需要进行有限元分析，其操作简便，操作时间短，适宜于临床医生掌握。4)建立和操作模型只需普通的硬件设备：本研究中所有的三维实体模型和三维有限元模型的建立所用的计算机为普通PC机。由于对计算机的硬件要求不高，该模型的建模和网格化以及为模拟临床上各种牙列缺损状态需进行的其他操作过程均可在普通PC机上实现，增加该模型的适用性。

本研究建立了有效的含下牙列的下颌骨体部三维实体模型和三维有限元模型操作平台，对该模型进行简单操作，即可生成不同病理状态的三维有限元模型，为今后的教学、口腔临床各种病理状态的生物力学研究提供了便利条件。

[参考文献]

[1] Stegaroiu R, Kusakari H, Nishiyama S, et al. Influence of prosthesis material on stress distribution in bone and implant: A 3-dimensional finite element analysis[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1998, 13(6):781-790.

[2] Farah JW, Powers JM, Dennison JB, et al. Effects of cement bases on the stresses and deflections in composite restorations[J]. J Dent Res, 1976, 55(1):115-120.

[3] 王勖成, 邵 敏. 有限单元法基本原理和数值方法[M]. 2版. 北京：清华大学出版社, 1997:1.
WANG Xu-cheng, SHAO Min. Basic theory and numerical methods of finite element method[M]. 2nd ed. Beijing: Tsinghua University Press, 1997:1.

[4] 孔 亮, 胡开进, 于 擎, 等. Matlab软件辅助建立全牙列下颌骨三维有限元模型[J]. 口腔颌面外科杂志, 2004, 14(1):17-19.
KONG Liang, HU Kai-jin, YU Qing, et al. Reconstructing three-dimensional finite element model of the dentulous mandible with thin-layer ct scanning and Matlab software[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2004, 14(1):17-19.

[5] 王晓洁, 罗教明, 陈继镛, 等. 下颌第一磨牙种植体周围应力三维有限元分析[J]. 华西口腔医学杂志, 2005, 23(2):167-169.
WANG Xiao-jie, LUO Jiao-ming, CHEN Ji-yong, et al. The study on three-dimension finite element analysis of the stress distribution in the mandible bone around dental in plants[J]. West China J Stomatol, 2005, 23(2):167-169.

(本文编辑 王 晴)