

直线加速器诱导的大鼠放射性颌骨坏死模型改进

刘珂¹ 曾晨玉² 李益坤³ 钱雨馨⁴ 辛明哲¹ 金磊^{1,5}

¹南京大学医学院附属金陵医院(东部战区总医院)口腔科,南京 210002; ²南京中医药大学金陵临床医学院口腔科,南京 210022; ³南京大学医学院附属金陵医院(东部战区总医院)放射治疗科,南京 210002; ⁴南京医科大学第一附属医院口腔科,南京 210029; ⁵浙江大学医学院附属第二医院口腔医学中心,杭州 310009

通信作者:金磊,Email:ljin@nju.edu.cn

【摘要】 目的 探讨不同辐照方案(单次20 Gy和分割5×7 Gy)对放射性颌骨坏死(ORNJ)大鼠模型的影响,优化建模方案。方法 将27只雄性SD大鼠采用随机数字表法随机分为单次辐照组(20 Gy)、多次辐照组(5×7 Gy)及对照组,每组9只。辐照前,测量大鼠左侧下颌骨皮下深度及颊舌径,通过直线加速器精准定位左侧下颌骨磨牙靶区,辅以补偿膜以增强浅表剂量。辐照后1周,显微辅助下拔除左侧下颌骨磨牙,术后12周通过大体观察、显微CT(Mirco-CT)扫描重建及组织病理学[苏木精-伊红、Masson和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)]评估骨质破坏、死骨形成、纤维化和破骨细胞数量,统计存活率与建模成功率。结果 单次辐照组出现急性放射反应(皮肤红肿、毛发脱落),4周后明显咬合错乱,建模成功率71%;多次辐照组急性反应轻微但后期纤维化更严重,建模成功率78%。Micro-CT显示,单次辐照组骨小梁断裂、皮质骨中断及病理性骨折更明显,多次辐照组骨缺损更深。组织学显示辐照组均可见死骨形成、纤维组织增生、空白骨陷窝及脂肪空泡增多、破骨细胞浸润,其中多次辐照组骨髓脂肪空泡、纤维化及破骨细胞浸润显著。结论 分割辐照(5×7 Gy)方案更符合ORNJ病理特征,优化后的建模方法具有高重复性与可控性,为ORNJ机制研究及防治策略开发提供了可靠模型。

【关键词】 直线加速器; 放射性颌骨坏死; 动物模型

基金项目:江苏省第六期“333人才”培养支持项目(2022)

引用著录格式:刘珂,曾晨玉,李益坤,等. 直线加速器诱导的大鼠放射性颌骨坏死模型改进[J/OL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2026,20(1):51-60.

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2026.01.008

Establishment of a modified rat model for osteoradionecrosis of the jaws using a linear accelerator

Liu Ke¹, Zeng Chenyu², Li Yikun³, Qian Yuxin⁴, Xin Mingzhe¹, Jin Lei^{1,5}

¹Department of Stomatology, Nanjing Jinling Hospital (General Hospital of Eastern Theater Command), Affiliated Hospital of Medical School, Nanjing University, Nanjing 210002, China; ²Department of Stomatology, Jinling Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; ³Department of Radiation Oncology, Nanjing Jinling Hospital (General Hospital of Eastern Theater Command), Affiliated Hospital of Medical School, Nanjing University, Nanjing 210002, China; ⁴Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; ⁵Oral Health Center, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medical, Hangzhou 310009, China

Corresponding author: Jin Lei, Email:ljin@nju.edu.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of different irradiation schemes (single-dose 20 Gy and fractionated 5 × 7 Gy) on a rat model of osteoradionecrosis of the jaws (ORNJ), to optimize the modeling protocol. **Methods** Twenty-seven male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into a single-dose irradiation group (20 Gy), a fractionated-dose irradiation group (5 × 7 Gy), and a control

group. Prior to irradiation, the subcutaneous depth and buccolingual diameter of the left mandible in rats were measured. A linear accelerator was used to precisely target the left mandibular molar region, supplemented with a compensator membrane to enhance superficial dose delivery. One week after irradiation, all left mandibular molars were extracted with the aid of a microscope. Twelve weeks post-extraction, gross observation, micro-CT scanning and reconstruction, as well as histopathological analyses (H & E, Masson's trichrome and TRAP staining) were performed to assess bone destruction, sequestrum formation, fibrosis, and osteoclast. Survival rate and modeling success rate were analyzed. **Results** The single-dose group exhibited acute radiation reactions (skin redness, hair loss) and significant occlusal disorder after four weeks, with a modeling success rate of 71%. The fractionated -dose group showed milder acute reactions but more severe late-stage fibrosis, with a modeling success rate of 78%. Micro-CT revealed more obvious trabecular fractures, cortical bone disruption, and pathological fractures in the single -dose group, while the fractionated group exhibited deeper bone defects. Histologically, both experimental groups displayed necrotic bone formation, fibrous tissue hyperplasia, empty bone lacunae, increased fatty vacuoles, and osteoclast infiltration. The fractionated group demonstrated marked bone marrow fat vacuolization, fibrosis, and osteoclast infiltration. **Conclusions** The fractionated irradiation scheme (5 × 7 Gy) is more consistent with the pathological features of ORNJ. The optimized modeling method demonstrates high reproducibility and controllability, providing a reliable platform for investigating ORNJ mechanisms and developing prevention/therapeutic strategies.

【Key words】 Linear accelerator; Osteoradionerosis of the jaws; Animal model

Fund program: The Sixth "333 Talents" Training Project in Jiangsu Province (2022)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2026.01.008

放射性颌骨坏死(osteoradionerosis of the jaws, ORNJ)是口腔颌面部及头颈部肿瘤放疗后发生率约5%的严重并发症^[1-3]。其临床诊断标准为受辐射区域骨组织暴露于皮肤或黏膜超过3个月且排除肿瘤复发或转移^[1,4]。ORNJ临床表现为从局限性骨暴露到广泛性骨坏死伴病理性骨折,其他局部症状包括浆液性或脓性分泌物、疼痛、开口受限和感染等,全身症状可能为消瘦、贫血和败血症^[5-6],严重影响患者的骨代谢、血管形成^[7]、美观及功能,降低其生活质量。尽管,ORNJ研究已开展数十年,但由于疾病的病理过程和发病程度复杂多样,其病理机制仍未完全阐明。

构建ORNJ动物模型对研究其发病机制、预防措施和治疗方法至关重要,但现有建模方案存在显著异质性:动物存活率低,利用直线加速器外束放射治疗靶区深度界定不明确,单次与分割辐照方案建模侧重表现不一致,甚至出现参数(如总剂量、分割剂量)换算不准确等,且未形成明确的ORNJ建模评分标准。本研究首次系统比较直线加速器不同辐照方案(单次20 Gy和分割5×7 Gy/次)对ORNJ大鼠模型的影响,针对现存建模方法遗漏的关键点进行细节完善,以提高存活率且尽可能贴近临床患者放疗的实际情况,并尝试制定建模评分标准,从多维度指标综合评估ORNJ大鼠模型的有效性,旨在探索标准化建模方案及评价体系。

材料与方法

一、实验动物及分组

27只SPF级雄性SD大鼠[8周龄,(269±22)g]由上海必凯科翼生物科技有限公司[许可证号:SCXK(沪)2023-0009]提供,于东部战区总医院屏障环境分笼饲养。将全部大鼠通过随机数字表法分为多次辐照组($n=9$)、单次辐照组($n=9$)和对照组($n=9$),尾部标记,标准鼠饲料,自由进食,适应性饲养1周。具体建模流程图见图1。本研究通过东部战区总医院实验动物伦理委员会批准(批准文号:2022DZGKJDWLS-00145)。

二、建模方法

1. 靶区定位与辐照:使用小动物麻醉机(R500通用型,深圳市瑞沃德生命科技有限公司)进行异氟烷吸入麻醉(诱导:3%异氟烷,2.5 L/min;维持:2.7%异氟烷,0.7 L/min),进入深度麻醉状态后,取右侧卧位,1 cm铅板屏蔽非靶区,暴露左侧下颌骨磨牙区(1 cm×2 cm),见图2A。

基于解剖进行辐照前测量,左侧下颌骨磨牙区约位于皮下3 mm,下颌骨颊舌径约2 mm,目标靶区皮下深度4 mm,辅以6 mm医用高分子材料组织等效补偿膜进行剂量补偿。

采用直线加速器(CLINAC 21EX, Varian, 美国)进

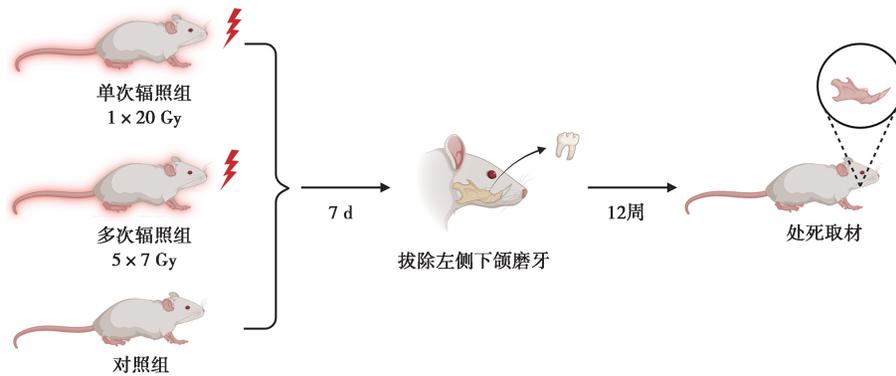


图1 直线加速器诱导的大鼠放射性颌骨坏死(ORNJ)模型构建流程

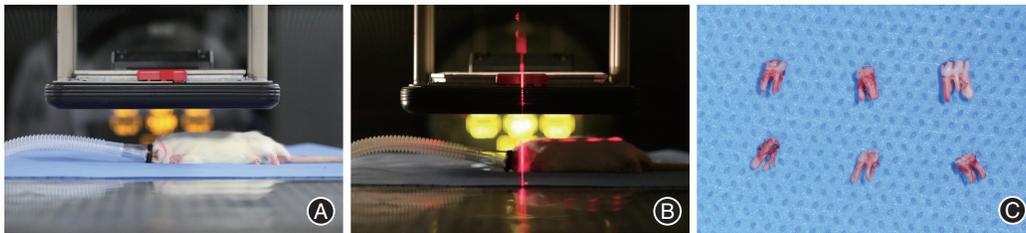


图2 直线加速器诱导的SD大鼠放射性颌骨坏死(ORNJ)模型建模设计 A:大鼠吸入麻醉、摆位及保护装置;B:激光定位;C:拔除左侧下颌骨磨牙。

行照射,根据设备参数计算输出剂量,能量6 MeV,剂量率400 MU/min,限光筒25 cm×25 cm,触诊并激光精准定位(图2B)。根据不同辐照方案进行组别划分。多次辐照组连续5 d同一时间,在深度麻醉下进行辐照,辐照剂量为7 Gy/d;在第5天时,单次辐照组进行麻醉下辐照,辐照剂量为20 Gy;对照组仅麻醉、摆位,未进行辐照。

2. 拔牙创伤诱导:从辐照结束日(辐照第5天)起7 d后3组大鼠均在异氟烷吸入麻醉下,由同一术者于3倍放大镜下规范拔除所有大鼠左侧下颌骨磨牙(图2C)。

3. 营养支持:辐照后和拔牙后3 d,全部SD大鼠均给予饲料及高蛋白软食混合喂养。

三、观察指标

1. 大体观察及取材:辐照后,隔日同一时间记录大鼠辐照局部及全身情况,包括毛发、门齿咬合情况、口腔黏膜及行为和精神状态,每周同一时间称量记录大鼠体质量。对门齿过长者定期修整。拔牙12周后,异氟烷深度麻醉下颈椎脱臼法安乐死所有大鼠,摘除下颌骨,用4%多聚甲醛溶液固定7 d后进行后续分析。

2. 显微CT(Micro-CT)扫描及重建:采用AX3000CT-D Micro-CT[240 kV, 100 μA, 12 μm分辨率,奥影检测科技(上海)有限公司]逐层扫描,采用AYRecon-Auto-V3.5[奥影检测科技(上海)有限公司]

软件三维重建,采用VG Studio MAX2023.2(Volume Graphics, Hexagon, 瑞典)分析左侧下颌骨磨牙区松质骨显微形态。感兴趣区域(regions of interest, ROI)上界为牙槽嵴顶平面,下界为下牙槽神经管上缘平面,内外界为皮质骨和松质骨交界。

3. 组织病理学分析:将完成Micro-CT分析的下颌骨处理后置于10%乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)(pH 7.4)溶液脱钙,后包埋、连续切片,进行苏木精-伊红、Masson和抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)染色,于显微镜下观察。3位观察者盲法评估死骨形成、纤维化及破骨细胞情况,定量分析空白骨陷窝(高倍放大,3视野/样本)。“空白骨陷窝”判定标准为骨陷窝内无细胞核且边缘模糊。

四、建模成功标准及建模成功率

1. 建模成功标准:明确颌骨辐照史,排除肿瘤复发;临床表现符合ORNJ特征;影像学确认颌骨质破坏;组织病理学显示骨细胞坏死、炎性浸润及纤维化等。

2. 计算模型成功率:公式如下

$$\text{建模成功率} = \frac{\text{组内成功构建模型的大鼠数量}}{\text{组内存活大鼠总数}} \times 100\%。$$

五、统计学处理方法

采用GraphPad Prism 9进行统计学分析。用Shapiro-Wilk方法检验所有定量资料均符合正态分

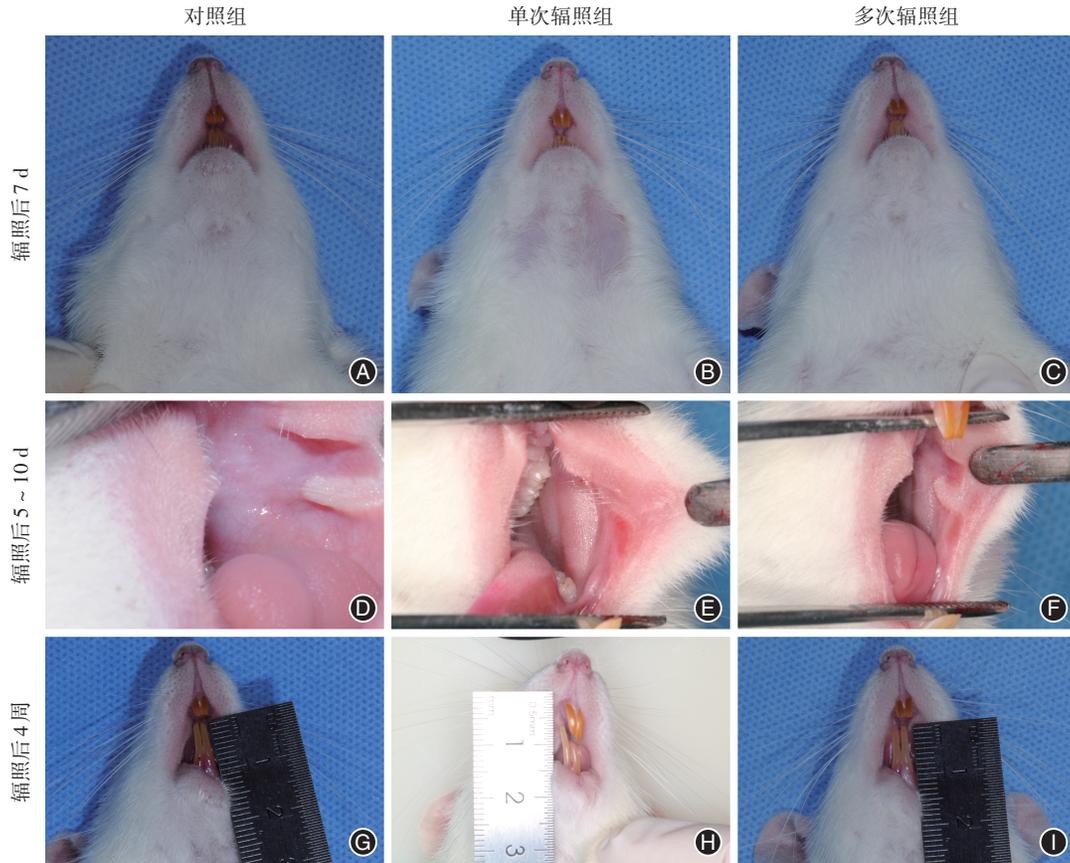


图3 SD大鼠临床典型症状随访表现 A~C:局部毛发情况;D~F:口腔黏膜情况;G~I:咬合情况。

布,用Brown-Forsythe检验所有数据方差齐,均以形式表示。建模成功率采用Fisher精确检验,辐照组与对照组的体质量和空白骨陷窝的比较采用单因素方差分析,多重比较采用Bonferroni检验,检验水准双侧 $\alpha=0.05$ 。

结 果

一、临床观察

辐照后7d,单次辐照组出现特征型急性放射反应,即皮肤红肿、毛发脱落(图3B),主要局限于颈前区域,后逐渐恢复正常,辐照后4周,出现严重咬合错乱现象(图3H),多次辐照组和对照组未出现明显急性放射反应(图3A、3C)及咬合错乱现象(图3G、3I)。辐照组均在辐照后5~10d间发现一定的口腔黏膜红肿,并未见明显溃疡,后自愈(图3D~3F)。

辐照联合拔牙后,多次辐照组及对照组大鼠未出现明显自主活动减少或异常行为,群体活动未减少,单次辐照组拔牙后抓挠稍频繁,蜷缩状态。辐照组SD大鼠全身毛发较对照组粗糙无光泽,拔牙后2~4周,体质量处于平台期,4周后逐渐增加,多次辐照组为(431±29.74)g,对照组为(534.3±33.39)g,

多次辐照组体质量增长显著滞后,组间差异有统计学意义($t=4.448, P=0.005$,图4)。

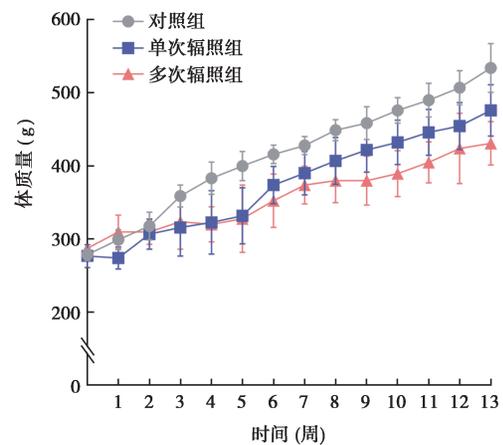


图4 3组SD大鼠体质量随时间变化趋势(0起点为辐照结束日)

拔牙12周后摘取下颌骨,肉眼观单次辐照组大鼠左侧下颌骨出现膨隆、肥大,内侧可见皮质骨缺损(图5)。

二、影像学特征

Micro-CT三维重建图显示,对照组牙槽骨表面光滑结构完整(图6A),辐照组出现剂量依赖性骨质

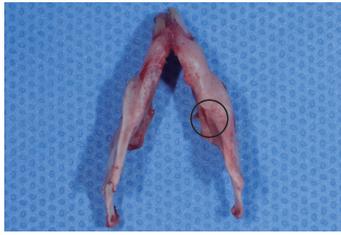


图5 单次辐照组SD大鼠拔牙后12周左侧下颌骨体部下缘肉眼观 黑圆圈示皮质骨缺损区域。

破坏,表面粗糙甚至破坏,拔牙窝处形成明显缺损(图6B~6C)。扫描图显示,对照组的骨质饱满,辐照组照射区域骨密度呈现异质性分布,松质骨厚度明显降低,且在牙槽间隔处有不同程度的高度降

低,其中单次辐照组可见大面积骨小梁断裂,形态不规则,结构模糊或消失,皮质骨连续性中断,出现病理性骨折,磨牙残根周围骨质最薄,并在牙槽间隔处形成明显骨缺损(图6E、6H、6K、6N)。

三、组织病理学观察

苏木精-伊红染色显示,对照组拔牙窝处黏膜覆盖,骨质修复完整(图7A、7D),单次辐照组拔牙创缺损范围稍大但深度较浅,可见死骨形成(图7B、7E),多次辐照组拔牙窝处形成较深骨缺损,未见骨质修复,死骨形成较多,周围炎细胞浸润,穿插于死骨间,形成游离死骨(图7C、7F)。对照组拔牙创下方骨小梁排列规则,结构清晰,骨髓腔内可见正常

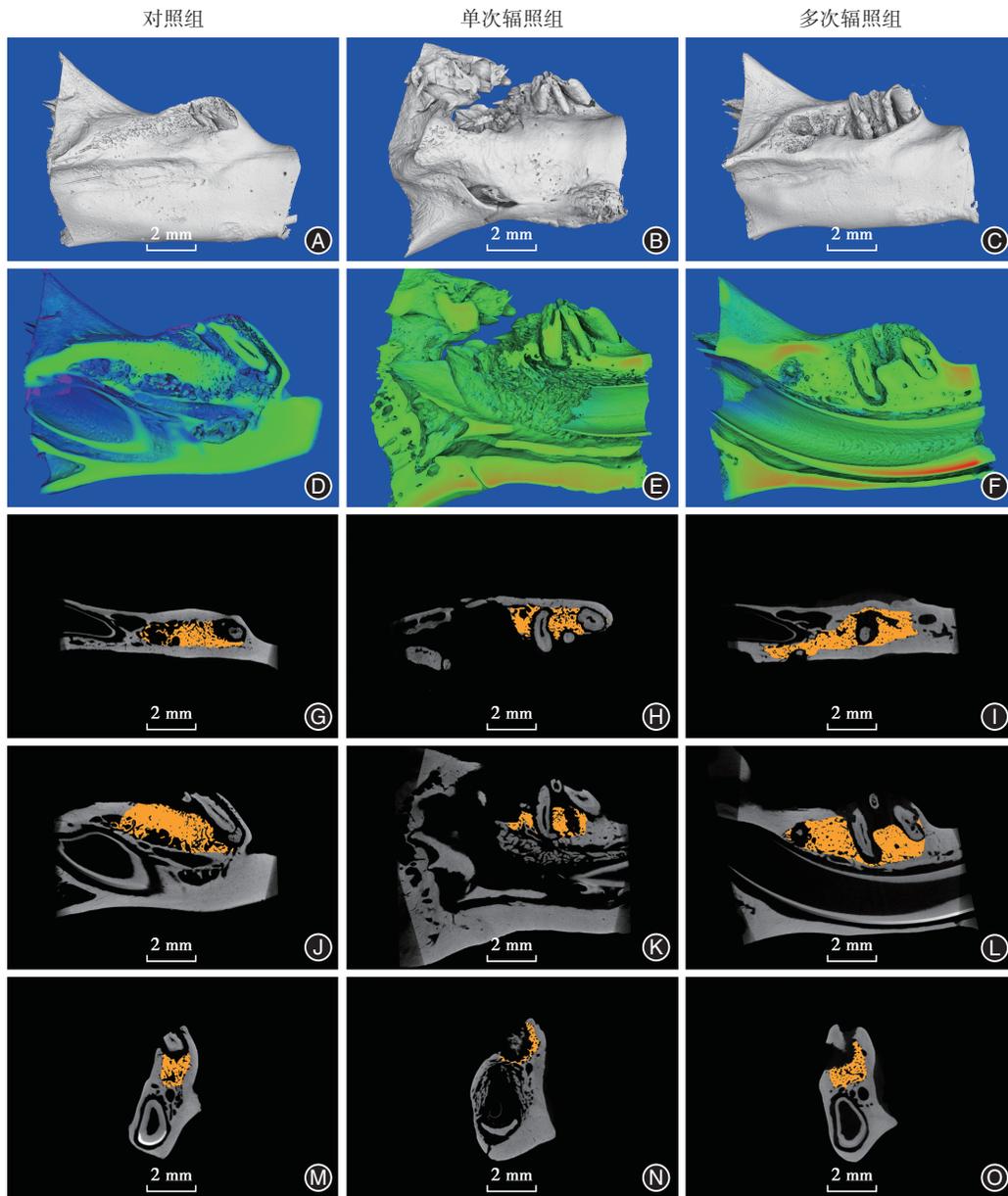


图6 3组SD大鼠拔牙后12周左侧下颌骨骨组织的显微CT(Micro-CT)观察 A~C:三维重建图;D~F:骨密度情况,蓝至红表示平均灰度值增加;G~I:水平面观察,黄色示松质骨;J~L:矢状面观察,黄色示松质骨;M~O:冠状面观察,黄色示松质骨。

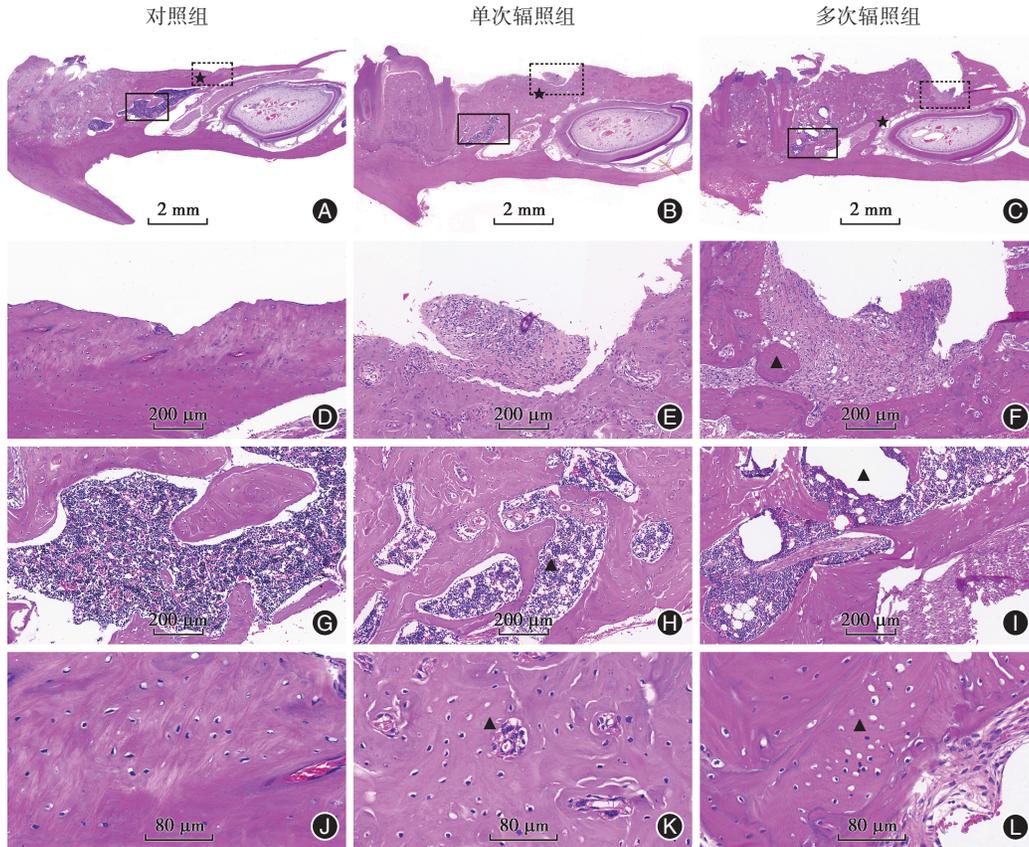


图7 3组SD大鼠拔牙后12周左侧下颌骨组织镜下观(苏木精-伊红) A~C:镜下整体观;D~F:拔牙窝及骨坏死区域;G~I:骨髓腔显示不同程度脂肪空泡;J~L:空白骨陷窝;A~C图中黑色虚框对应D~F图,黑色实框对应G~I图,黑色五角对应J~L图选取位置;黑色三角在F图中示局灶性死骨,在H~I图中示脂肪空泡,在K~L图中示空白骨陷窝。

脂肪细胞(图7G),辐照组小梁不同程度破坏,骨细胞部分消失,排列紊乱,骨髓腔内出现大小不一的脂肪空泡(图7H、7I),血管数量减少,尤其多次辐照组,脂肪空泡显著,占据髓腔大部分面积。对照组骨组织内未见明显空白骨陷窝,辐照组内空白骨陷窝计数均增加,且多次辐照组空白骨陷窝数量明显多于单次辐照组(图7J~7L),差异有统计学意义(图8)。

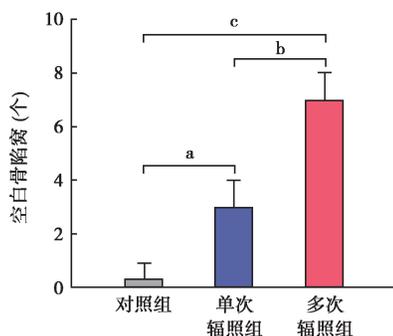


图8 3组SD大鼠拔牙后12周空白骨陷窝计数比较(* $P=0.030$,^b $P=0.004$,^c $P<0.001$)

Masson 染色(图9)显示,对照组未见明显纤维组织增生,单次辐照组拔牙窝骨缺损区及骨髓腔内出现少量纤维组织增生,多次辐照组纤维化更广泛,拔牙窝骨缺损区可见大量纤维组织充填,拔牙窝下方组织及骨髓腔内纤维结缔组织数量更多,更致密。

TRAP 染色(图10)显示,对照组未见明显的多核破骨细胞,在辐照组拔牙窝底部可见不同程度破骨细胞累积,其中多次辐照组较单次辐照组破骨细胞数量更多且范围更广。

四、建模效能

拔牙时,单次辐照组死亡2只,对照组死亡1只。多次辐照组存活率100%,建模成功率78%(7/9);单次辐照组存活率78%,建模成功率71%(5/7)。建模成功率差异无统计学意义($OR=1.400$, $P>0.05$)。

讨论

一、放射性颌骨坏死动物模型构建

ORNJ 动物模型的构建方法呈现多元特征,主

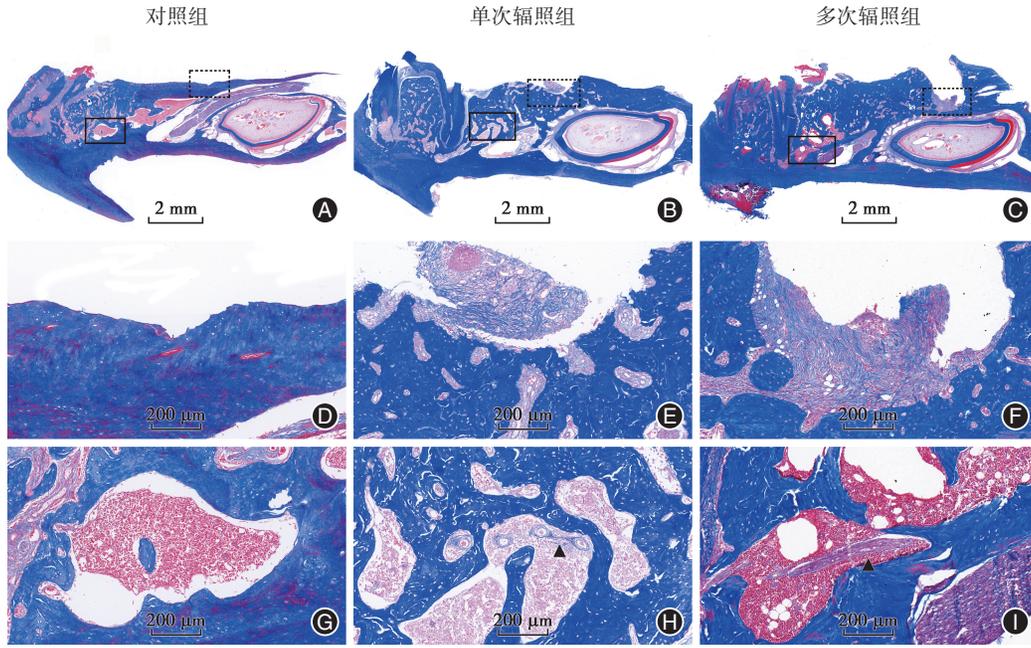


图9 3组SD大鼠拔牙后12周左侧下颌骨组织Masson染色分析 A~C:镜下整体观;D~F:拔牙窝及骨坏死区域纤维化情况;G~I:骨髓腔显示不同程度纤维化;黑色三角示骨髓腔纤维组织增生。

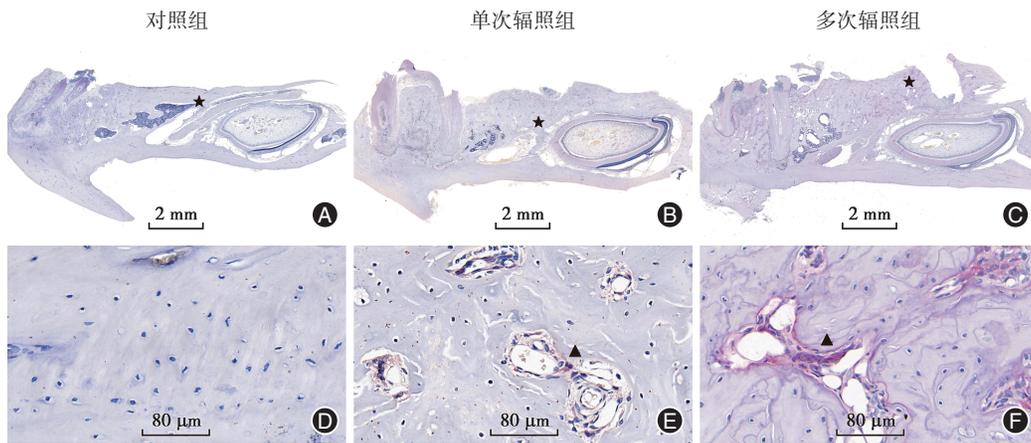


图10 3组大鼠拔牙后12周左侧下颌骨组织抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色分析 A~C:镜下整体观;D~F:A~C图中黑色五角星对应选取位置,黑色三角示破骨细胞。

要体现在实验动物选择、建模方法、辐照设备选择和辐照参数设置等关键环节。

1. 动物选择:在实验动物方面,目前文献报道的建模对象涵盖大鼠、兔和小型猪等多个物种^[8]。其中,大鼠因其经济性、遗传背景明确且骨骼结构与人类具有较高相似度,已成为大型实验动物的理想替代模型而被广泛应用^[9]。值得注意的是,为避免雌激素等性激素对骨代谢的潜在干扰,绝大多数研究优先选择雄性大鼠进行建模^[10]。

2. 建模方法:建模方法差异主要聚焦于是否引入拔牙或人工骨缺损等机械性刺激。临床研究表明,拔牙操作是ORNJ发病的重要诱因之一^[11-12],而

放射治疗后拔牙与ORNJ的临床相关性尤为显著^[13]。为更好地模拟临床发病机制,当前建模策略多采用“辐照联合辐照后拔牙”的干预模式,此方法可在降低辐照总剂量的同时提升模型临床相关性。在辐照技术上,主要分为近距离放射治疗与外束放射治疗两类:前者通过植入放射性同位素实现局部照射,虽具有剂量分布精准的优势,但需要专业团队进行导管置入及个体化CT扫描规划,且因同位素衰变需实时校准剂量,操作复杂性限制了其应用范围;后者作为临床头颈部放射治疗的常规方案^[14],其非侵入性特点,更适用于动物实验。

3. 辐照设备:在辐照设备选择方面,直线加速器

因具有射线方向可控、能量利用率高(约93%),成为首选设备;而专为小动物设计的小型辐照仪虽操作便捷,但其球状发散射线模式导致能量利用率仅约20%,且存在设备老化引起的剂量衰减问题,可能影响实验结果稳定性。

4. 辐照剂量:头颈部肿瘤放疗剂量与ORNJ风险存在剂量-效应关系,随着治疗剂量升高,患者发生ORNJ的危险性显著增加。现有研究证实,放射剂量 ≥ 60 Gy可以显著增加放射性骨坏死发生率^[4]。根据生物学等效公式,可以比较不同放射治疗方案的放射生物学效果,评估其等效性。线性二次模型,生物有效剂量(biologically effective dose, BED)= $nd[1+d/(\alpha/\beta)]$, n 表示辐照次数, d 表示单次辐照剂量, α/β 表示组织对辐射剂量的敏感性,对电离辐射损伤更敏感的组织(如皮肤或黏膜),也称为早期反应组织,一般 α/β 比率取值10,相反,骨骼属于晚期反应组织,比率较低(< 5)^[15],通常取值3。

临床常规分割为典型高分次模式,通常为2 Gy/次,动物实验中具体实施模式包括单次高剂量照射与分次分割照射。单次高剂量方案能缩短实验周期,但易引发严重急性放射反应(如黏膜炎等),导致实验动物死亡率显著升高;分次分割方案通过模拟临床放射生物学效应,可有效减轻急性毒性反应,但需多次麻醉可能增加动物应激风险。单次高剂量辐照方案应最大限度地减少不可逆的骨再生,形成骨坏死,同时最小化动物的死亡率。其他研究者证实,单次剂量超过15 Gy,可以最大限度地减少骨再生^[16],动物无法承受超过40 Gy的脑部辐射剂量^[17]。

本实验中,设置BED双层级别,单次辐照组采用20 Gy的剂量(临床剂量92 Gy/46次),BED约为153 Gy中等风险,多次辐照组采用 5×7 Gy大剂量分割方案,选择临床头颈部肿瘤常规放射治疗公认的剂量基准(70 Gy/35次)^[15],约为头颈部癌症患者临床治疗方案中颌骨所经受的生物等效剂量的100%,BED约117 Gy低风险。近年来常用ORNJ动物模型建模方案见表1,采用线性二次模型将不同物理剂量-分次方案转换为可比较的统一指标见表2。

5. 措施改进:尽管大鼠模型具有显著优势,但现有建模体系仍面临动物存活率低的挑战,文献报道死亡率可达18.2%~43%^[26-27],主要死因包括麻醉意外及拔牙操作导致的呼吸道阻塞。本研究中,单次辐照组在拔牙及苏醒阶段各死亡1只,考虑急性

表1 放射性颌骨坏死(ORNJ)的大鼠建模方案

辐照设备	辐照方案	
	辐照剂量	辐照次数
直线加速器	20/25/30/40 Gy ^[7]	单次高剂量
直线加速器	20 Gy ^[4,8,18]	单次高剂量
HDR	20 Gy ^[19]	单次高剂量
X射线辐照仪	35 Gy ^[20]	单次高剂量
⁶⁰ Co	30/45 Gy ^[11]	单次高剂量
X射线辐照仪	80 Gy ^[21]	单次高剂量
X射线辐照仪	5×7 Gy ^[22-23]	大剂量分割辐照
中压X射线治疗系统	5×7 Gy ^[24-25]	大剂量分割
中压X射线治疗系统	$5 \times 5.91/7/8.89$ Gy ^[15]	大剂量分割

表2 常见的动物建模剂量与临床常规分割剂量换算

动物建模	临床常规	
	次数(次)	剂量(Gy)
20 Gy, 单次	46	92
25 Gy, 单次	70	140
30 Gy, 单次	99	198
35 Gy, 单次	133	266
40 Gy, 单次	172	344
7 Gy/次, 5次	35	70

不良反应大,大鼠身体状态差,未能存活^[7]。本研究通过以下技术改良显著提升存活率:(1)采用可控性更佳的异氟烷吸入麻醉,系统优化诱导与维持浓度;(2)由经验丰富的口腔颌面外科医师实施显微辅助拔牙术:取左侧卧位避免误吸呛咳,术野充分暴露后,在3倍放大镜下精准快速拔除目标牙,术后即刻将未苏醒动物置于预热鼠笼并维持侧卧位直至恢复自主活动。

现采用直线加速器的建模方法描述多局限于设备参数、照射区域等,缺乏临床实操上的细节完善。基于此,本实验在建模过程中总结现存方法遗漏的关键点并进行针对性措施改进,以尽可能贴近临床头颈部肿瘤患者放疗的实际情况:辐射目标靶区或处方剂量不准确,辐照准备阶段,测量大鼠下颌骨皮下深度及下颌骨颊舌径,明确目标靶区,并根据实际设备,计算具体输出剂量;在辐照过程中,采取多样手段,最大限度降低摆位误差或照射脱靶问题,优化体位固定技术,尽可能确保辐照区域呈水平状,避免因轮廓不规则而导致靶区剂量分布不均匀,采用激光定位联合触诊法双重确认,精准锁定辐照中心^[21],结合放疗补偿膜,提高浅表下颌骨剂量;选择直线加速器进行辐照,应用领域成熟,施加辐照均匀,保护装置高效方便,避免额外伤害。

二、动物模型放射性颌骨坏死诊断标准

诊断ORNJ的先决条件为颌骨放射史、无肿瘤复发、口腔黏膜病变、骨暴露和覆盖骨坏死。病理性骨折、瘘管或蜂窝组织炎并不是诊断的必要条件^[27],且无明确的ORNJ组织学定义标准。骨细胞数量减少、空白骨陷窝计数增加、骨基质玻璃样变及骨髓纤维化、水肿和坏死被认为是ORNJ相关特征^[2,21],其中骨陷窝是骨细胞占据的区域,空白骨陷窝是骨细胞凋亡的可靠证据^[15,28]。

本研究观察到单次辐照组与多次辐照组在临床表现、行为及精神状态上存在显著差异。单次辐照组动物呈现典型急性放射反应,例如局部毛发脱落、门齿咬合错乱及口腔黏膜红肿,体质量在辐照后第1周下降,在拔牙后3周增长缓慢,提示急性反应对全身状态的影响较大。单次辐射剂量越大,组织无法修复,急性不良反应越大,如毛发呈黄湿状、口腔黏膜糜烂甚至溢脓等,相近剂量情况下,多次辐照组动物可得到一定程度的身体恢复,急性临床表现不明显,但两组组织学检测均发现死骨形成,这一现象与既往研究相印证:Niehoff等^[16]证实20 Gy单次辐照可以最大限度地抑制大鼠下颌骨的骨再生;Yamasaki等^[4]通过20 Gy单次辐照联合辐射后拔牙,成功建立ORNJ模型;Li等^[22]和Deshpande等^[25]采用5×7 Gy分割方案(总剂量35 Gy)所得结果与本研究高度一致,提示分割模式更符合临床放射生物学规律。值得注意的是,dos Santos等^[7]测试医用直线加速器不同辐射剂量(20、25、30和40 Gy)联合拔牙建立大鼠ORNJ模型效果,虽未观察到20 Gy明显骨缺损,但通过增强CT造影发现其对下颌骨脉管系统破坏显著,可能与本研究采用补偿膜增强浅表剂量有关。本研究发现,多次辐照组虽未表现急性毒性,但后期纤维化更显著,提示分割模式可能通过“波浪式”损伤机制加剧微环境进行性恶化,最终导致更严重的慢性纤维化,这可能与分次辐照可通过促炎因子持续释放激活转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)通路,导致胶原沉积有关。

研究表明,ORNJ可以在没有口腔黏膜或面部皮肤破损的情况下,出现影像学表现^[29-30]。本研究辐照组局部毛发、口腔黏膜及创口情况与对照组未形成明显差异,考虑辐照剂量控制精准,目标靶区明确且保护措施高效。Ruaro等^[2]采用5×7 Gy分割方案以皮下4 mm为目标靶区辐照兔下颌骨,观察期间实验动物始终未出现黏膜破损、溃疡或骨暴露

等临床表现。大多数ORNJ定义中的黏膜病变和其他ORNJ相关临床表现,如病理性骨折并不存在。Seo等^[20]以35 Gy总剂量联合拔牙建立SD大鼠模型,同样观察到无临床症状(脓液和肿胀)的ORNJ。

综上所述,分割辐照(5×7 Gy)方案通过模拟临床放射生物学效应,减少急性毒性并提高动物存活率,更符合ORNJ病理特征。通过优化建模方法,建立了稳定可靠的ORNJ动物模型,方案具有操作可控、重复性高和精准辐照等特点,并提出了ORNJ动物建模的评分标准,以评估模型的有效性及干预措施效果。为不同物种ORNJ模型的建立提供了可迁移的方法学框架,有效贯彻实验动物伦理的3R原则(减少、优化、替代),为深入解析探索ORNJ的病理机制及临床预防、治疗策略提供理想平台,并为优化头颈部肿瘤放疗方案提供实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 刘珂:设计实验、实验研究、采集数据、分析数据、统计分析、论文撰写;曾晨玉、李益坤、钱雨馨、辛明哲:对文章的知识内容作批评性审阅;金磊:研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

- [1] Gundestrup AK, Lynggaard CD, Forner L, et al. Mesenchymal stem cell therapy for osteoradionecrosis of the mandible: A systematic review of preclinical and human studies [J]. Stem Cell Rev Rep, 2020, 16(6): 1208-1221. DOI: 10.1007/s12015-020-10034-5.
- [2] Ruaro A, Taboni S, Chan HHL, et al. Development of a preclinical double model of mandibular irradiated bone and osteoradionecrosis in new zealand rabbits [J]. Head Neck, 2025, 47(2): 625-634. DOI: 10.1002/hed.27955.
- [3] Guan Z, Zhang J, Jiang N, et al. Efficacy of mesenchymal stem cell therapy in rodent models of radiation-induced xerostomia and oral mucositis: A systematic review [J]. Stem Cell Res Ther, 2023, 14(1): 82. DOI: 10.1186/s13287-023-03301-y.
- [4] Yamasaki MC, Roque-Torres GD, Peroni LV, et al. A modified protocol of mandibular osteoradionecrosis induction in rats with external beam radiation therapy [J]. Clin Oral Investig, 2020, 24(4): 1561-1567. DOI: 10.1007/s00784-019-03054-0.
- [5] Li J, Yin P, Chen X, et al. Effect of alpha2-macroglobulin in the early stage of jaw osteoradionecrosis [J]. Int J Oncol, 2020, 57(1): 213-222. DOI: 10.3892/ijo.2020.5051.
- [6] Guo Z, Wang Z, Liu Y, et al. Carbon dots from *Lycium barbarum* attenuate radiation-induced bone injury by inhibiting senescence via METTL3/Clip3 in an m⁶A-dependent manner [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2023, 15(17): 20726-20741. DOI: 10.1021/acsami.3c01322.
- [7] dos Santos M, Demarquay C, Ermenoux L, et al. Refining the mandibular osteoradionecrosis rat model by *in vivo* longitudinal

- μ CT analysis [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):22241. DOI: 10.1038/s41598-021-01229-y.
- [8] Wang Y, Wang X, Liu Z, et al. Establishment of an osteoradionecrosis model and its mechanism via single ionizing radiation exposure [J]. *Int Dent J*, 2025, 75(3): 1672-1682. DOI:10.1016/j.identj.2025.03.006.
- [9] Bagi CM, Berryman E, Moalli MR. Comparative bone anatomy of commonly used laboratory animals: Implications for drug discovery [J]. *Comp Med*, 2011, 61(1):76-85.
- [10] de Oliveira SV, Dos Reis T, Amorim J, et al. Efficacy of photobiomodulation therapy on healing of ionizing irradiated bone: A systematic review of *in vivo* animal studies [J]. *Lasers Med Sci*, 2022, 37(9): 3379-3392. DOI: 10.1007/s10103-022-03649-2.
- [11] Nguyen TTH, Eo MY, Seo MH, et al. Effects of pentoxifylline and tocopherol on a rat-irradiated jaw model using micro-CT cortical bone analysis [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019, 276(12):3443-3452. DOI:10.1007/s00405-019-05600-8.
- [12] Murphy CK, Fey EG, Watkins BA, et al. Efficacy of superoxide dismutase mimetic M40403 in attenuating radiation-induced oral mucositis in hamsters [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(13):4292-4297. DOI:10.1158/1078-0432.Ccr-07-4669.
- [13] Frankart AJ, Frankart MJ, Cervenka B, et al. Osteoradionecrosis: Exposing the evidence not the bone [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2021, 109(5): 1206-1218. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2020.12.043.
- [14] Cabrera AR, Yoo DS, Brizel DM. Contemporary radiotherapy in head and neck cancer: Balancing chance for cure with risk for complication [J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2013, 22(3):579-598. DOI:10.1016/j.soc.2013.02.001.
- [15] Tchanque-Fossuo CN, Monson LA, Farberg AS, et al. Dose-response effect of human equivalent radiation in the murine mandible: Part I. A histomorphometric assessment [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2011, 128(1): 114-121. DOI: 10.1097/PRS.0b013e31821741d4.
- [16] Niehoff P, Springer IN, Açil Y, et al. HDR brachytherapy irradiation of the jaw: As a new experimental model of radiogenic bone damage [J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2008, 36(4): 203-209. DOI:10.1016/j.jcms.2008.01.003.
- [17] Little JB. Cellular, molecular, and carcinogenic effects of radiation [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 1993, 7(2): 337-352. DOI:10.1016/S0889-8588(18)30244-2.
- [18] Yamasaki MC, Roque-Torres GD, Peroni LV, et al. Does the administration of meloxicam before head and neck radiotherapy reduce the risk of mandibular osteoradionecrosis? An animal model study [J]. *Clin Oral Investig*, 2021, 25(6): 3739-3745. DOI:10.1007/s00784-020-03701-x.
- [19] Janus JR, Jackson RS, Lees KA, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells for osseous rehabilitation of induced osteoradionecrosis: A rodent model [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2017, 156(4): 616-621. DOI: 10.1177/0194599816688647.
- [20] Seo MH, Myoung H, Lee JH, et al. Effects of pentoxifylline and tocopherol on an osteoradionecrosis animal model [J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2020, 48(7): 621-631. DOI: 10.1016/j.jcms.2020.02.008.
- [21] Dréno M, Bléry P, Guicheux J, et al. Development of a rat model of mandibular irradiation sequelae for preclinical studies of bone repair [J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2020, 26(8): 447-455. DOI:10.1089/ten.TEC.2020.0109.
- [22] Li J, Kong XB, Chen XY, et al. Protective role of α 2-macroglobulin against jaw osteoradionecrosis in a preclinical rat model [J]. *J Oral Pathol Med*, 2019, 48(2): 166-173. DOI: 10.1111/jop.12809.
- [23] Page EE, Deshpande SS, Nelson NS, et al. Prophylactic administration of Amifostine protects vessel thickness in the setting of irradiated bone [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2015, 68(1):98-103. DOI:10.1016/j.bjps.2014.08.054.
- [24] Deshpande SS, Gallagher KK, Donneys A, et al. Parathyroid hormone therapy mollifies radiation-induced biomechanical degradation in murine distraction osteogenesis [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2013, 132(1): 91e-100e. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3182910ae7.
- [25] Deshpande SS, Gallagher KK, Donneys A, et al. Stem cells rejuvenate radiation-impaired vasculogenesis in murine distraction osteogenesis [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2015, 135(3): 799-806. DOI:10.1097/PRS.0000000000001024.
- [26] Sapir-Koren R, Livshits G. Osteocyte control of bone remodeling: Is sclerostin a key molecular coordinator of the balanced bone resorption-formation cycles? [J]. *Osteoporos Int*, 2014, 25(12): 2685-2700. DOI:10.1007/s00198-014-2808-0.
- [27] Tamplen M, Trapp K, Nishimura I, et al. Standardized analysis of mandibular osteoradionecrosis in a rat model [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2011, 145(3): 404-410. DOI: 10.1177/0194599811400576.
- [28] Mullender MG, van der Meer DD, Huiskes R, et al. Osteocyte density changes in aging and osteoporosis [J]. *Bone*, 1996, 18(2):109-113. DOI:10.1016/8756-3282(95)00444-0.
- [29] Seo MH, Lee MY, Eo MY, et al. Development of a standardized mucositis and osteoradionecrosis animal model using external radiation [J]. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*, 2020, 46(4):240-249. DOI:10.5125/jkaoms.2020.46.4.240.
- [30] Moreno AC, Watson EE, Humbert-Vidan L, et al. International expert-based consensus definition, classification criteria, and minimum data elements for osteoradionecrosis of the jaw: An interdisciplinary modified delphi study [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2025, 122(2): 341-354. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2024.12.017.

(收稿日期:2025-06-26)

(本文编辑:王嫚)