

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.09.046

尼古丁对全身及口腔牙周组织的病理作用研究

陈翔^{1,2} 周志斐³ 刘芬⁴ 苏惠玲^{1,2} 张翼^{1,2,△}

(1 解放军第174医院口腔科 福建 厦门 361000; 2 厦门大学附属成功医院口腔科 福建 厦门 361000;

3 西藏军区总医院口腔科 西藏 拉萨 850000; 4 陕西省妇幼保健院口腔科 陕西 西安 710032)

摘要:在烟草的毒性物质中,尼古丁是主要成分。作为烟草的活性成分,尼古丁可对全身多系统产生病理性危害作用。除此以外,进入母体血液中的尼古丁可对正在发育的胎儿产生影响。牙周炎是口腔常见病,是成人牙齿丧失的主要原因之一。吸烟是牙周炎的重要危险因素。吸烟者较不吸烟者牙周炎的患病率高、病情重。大量研究表明:吸烟与牙周袋形成、附着丧失、骨丧失及牙齿丧失有关。牙周炎的发生发展存在牙周组织破坏和再生修复两种相互交替的过程,而尼古丁对牙周炎的影响也在于加速牙周组织破坏,抑制再生修复从而使得较之于非吸烟者而言,吸烟者的病情更加严重。同时,尚可使吸烟者经系统性牙周治疗的预后较差。本文通过文献回顾,旨在探讨吸烟对多种全身系统性疾病的影响尤其是在牙周病发生发展过程中的可能作用。同时提出未来研究的可能方向及临床应用。

关键词:尼古丁;系统性疾病;牙胚发育;牙周炎; $\alpha 7$ 亚型乙酰胆碱受体

中图分类号:S572;R78 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)09-1778-03

Study on the Deteriorating Effect of Nicotine Toward the Systematic and Periodontal Tissues

CHEN Xiang^{1,2}, ZHOU Zhi-fei³, LIU Fen⁴, SU Hui-ling^{1,2}, ZHANG Yi^{1,2,△}

(1 Department of Oral Medicine, No.174 Hospital, PLA, Xiamen, Fujian, 361000, China; 2 Department of Oral Medicine, Chenggong Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian, 361000, China; 3 Department of Oral Medicine, General Hospital of Tibetan Military Region, Tibet, Lahsa, 850000, China; 4 Department of Oral Medicine, Maternal and Child Care Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT: Nicotine is the well established toxic substance in cigarette. Besides its side effect toward many organs in the performance of systematic disease, it could also deteriorate the development of infants. Periodontitis is a common seen disease in oral system which has already been considered as a main reason of losing teeth for adults and cigarette smoking is a well established risk factor in its etiology. Compared with normal control, smokers have a higher prevalence and a more severe condition in periodontitis suffering. Published reports indicated that smoking has something to do with the formation of periodontal pocket, loss of periodontal attachment and loss of bone volume and teeth. The effect of nicotine on periodontitis has two sides. For one thing it would increase the susceptibility for smokers and accelerate the disease progress; for the other, the prognosis of a smoker is unsatisfactory even if he/she receives systematic therapy and a worse regenerative of periodontal bony substance would be detected compared with non smokers. This review aims to discuss the mechanism of the deteriorating effect of nicotine and provide some theoretical evidence for its research.

Key words: Nicotine; Systematic disease; Tooth development; Periodontitis; $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor

Chinese Library Classification(CLC): S572; R78 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)09-1778-03

在烟草的毒性物质中,烟碱是其主要成分,即尼古丁,是一种存在于茄科植物(茄属)中的生物碱。尼古丁是一种难闻、味苦、无色透明的油质液体,挥发性强,在空气中极易氧化成暗灰色,能迅速溶于水及酒精中,通过口鼻支气管粘膜很容易被机

体吸收。粘在皮肤表面的尼古丁亦可被吸收渗入体内。当尼古丁进入人体后,会产生许多作用:如四肢末梢血管收缩、心跳加快、血压上升、呼吸变快、精神状况改变(如变得情绪稳定或精神兴奋),并促进血小板凝集,为造成心脏血管阻塞、高血压、脑卒中等心脏血管性疾病的主要危险因素。尼古丁对中枢神经少量时有兴奋作用而大量时有抑制作用^[1]。

尼古丁作用于烟碱型乙酰胆碱受体,特别是自律神经上的接受器和中枢神经的接受器,前者位于副肾髓质和其他位置,后者位于中央神经系统。低浓度时,尼古丁增加了这些接受体的活性,尼古丁对于其他神经传递物也有少量直接作用,高浓度时则以抑制效应为主。

作者简介:陈翔(1984-),男,本科,主治医师,主要研究方向:儿童乳牙龋病的预防和治疗,电话:15209224594,

E-mail:geoffrey2002@sina.com

△通讯作者:张翼,主任,副教授,主任医师,

E-mail:zhangyi9732@sina.com

(收稿日期:2014-08-10 接受日期:2014-08-31)

1 尼古丁对全身系统性疾病的影响

1.1 婴儿发育

母亲在孕期吸烟导致新生儿体重降低已被许多学者的研究工作所证实。一般认为有两个方面的原因,一是烟雾中的尼古丁作用于胎盘,使胎儿血流量减少;二是胎儿血液中的CO和碳氧血红蛋白影响了胎儿的生物氧化和生长发育^[2]。尼古丁可使胎鼠存活数下降,总体重量减少^[4]。在仔鼠发育过程中,给予高剂量尼古丁,可见其枕骨上骨、骺骨、前肢和后肢骨化显著延迟;且均出现不同程度的骨量减少,骨化程度降低^[3]。在口颌面组织发育中有学者研究发现尼古丁在引起舌发育异常的同时,可造成腭发育异常而出现腭裂^[2]。

1.2 神经系统

在神经系统方面,尼古丁与其受体结合后的重要现象之一就是诱导了黑质纹状体区域的多巴胺释放。这一方面直接减缓了由于多巴胺缺乏所导致的一系列运动障碍;另一方面,从长期的角度看,对黑质纹状体区域的损伤也起到了保护作用^[5]。大量研究表明,尼古丁受体与 β 淀粉样蛋白前体蛋白的代谢过程有密切联系,在AD的发病中起着重要的作用。采用RNA干扰技术抑制 $\alpha 7$ nAChR的表达,并用特异性 $\alpha 7$ nAChR激动剂上调其表达发现 $\alpha 7$ nAChR能通过增强 α 分泌酶对APP的切割、增强细胞抗氧化能力及对抗A β 13的神经毒性作用来发挥其神经保护作用。阿尔茨海默病时nAChR的表达减少与该病的发生发展有密切的关系^[6]。

1.3 呼吸系统

研究表明,尼古丁通过nAChR诱导肺组织中生长因子和生长因子受体促进肺癌细胞增殖^[7],其可能机制为促进 Ca^{2+} 内流,而后者激活分裂素原活化蛋白激酶激酶1(MEKK-1)、细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)和核糖体S6蛋白激酶p90通道。在一项临床研究中发现,尼古丁可以抑制抗肿瘤药物引起的小细胞肺癌和非小细胞肺癌的细胞凋亡。尼古丁在正常细胞如肺支气管上皮细胞、内皮细胞中也有抗凋亡作用。在大鼠模型中,尼古丁可以抵制脂多糖引起的凋亡^[8]。已经有学者提出,尼古丁的这类抗凋亡作用受肾上腺能受体调节^[9]。

1.4 骨骼及全身运动系统

烟草对骨愈合的不利影响也已得到证实,在腰椎融合患者中,吸烟导致假关节的出现率是不吸烟者的5倍,术后停止吸烟则可部分减少其不利影响^[10];而在胫骨骨折患者中,吸烟者的愈合时间是不吸烟者的1.5倍。因此在骨愈合期间戒烟是有益的。

1.5 心血管系统

在血管平滑肌细胞中尼古丁通过烟碱型乙酰胆碱受体释放血管内皮生长因子。同时,通过尼古丁诱导的血管内皮生长因子由血管平滑肌细胞中的EGFR-ERK通路来调节。因此在吸烟者中,血管内皮生长因子增加了患心血管疾病的危险^[11]。同时,一项临床流行病学调查提示,尼古丁慢性长期高剂量作用下,被观察到可以在心血管疾病的发生和进展中起到病理性破坏作用,包括心肌病和外周血管疾病^[12]。

2 尼古丁与牙胚发育

早在1995年,就有学者发现吸烟的妊娠妇女其子女的第

一恒磨牙有减小的趋势,恒切牙近远中距离亦减小^[13]。在临床流行病学调查中发现,双亲都吸烟者,儿童的牙齿年龄与实际年龄差别最大,约35%的牙齿发育迟缓。受影响最多的是上颌第二前磨牙,受影响最少的是切牙^[14]。一项大鼠动物实验提示,尼古丁可使牙胚体积减小,发育迟缓,细胞数减少,分化程度减弱^[4]。

尼古丁对牙胚发育影响可能机制的研究已经被越来越多的开展。选择牙乳头细胞为研究对象,发现尼古丁对人牙乳头间充质细胞有明显的抑制增殖作用,其抑制作用表现为对时间及剂量的依赖性,尼古丁由于抑制了牙乳头间充质细胞的增殖,可能造成对牙齿生长发育的影响^[15]。进一步研究发现,尼古丁抑制了人牙乳头间充质细胞和牙胚细胞BMP的合成,因而在一定程度上抑制了该类细胞的分化^[16]。

碱性磷酸酶活性是一种较为肯定的参与促进细胞和组织分化、矿化的酶类。ALP既是参与骨和牙齿等硬组织形成、代谢、再生的重要物质,而且可能是细胞分化和向骨组织转化的先决条件。研究发现,尼古丁硫酸盐在3、5、7d的培养期内对人牙乳头间充质细胞ALP活性都有抑制作用,且表现出对浓度的依赖性。尼古丁可能通过对ALP活性的抑制作用,抑制了该细胞的分化、矿化或者说尼古丁对牙乳头间充质细胞ALP活性的抑制作用体现在它对该细胞分化和矿化的影响^[17]。

还有研究发现,尼古丁作用于牙胚组织后,小鼠牙胚组织细胞合成和分泌TGF- β 1的功能受到了影响。由此推测尼古丁可能通过影响TGF- β 1在牙胚组织中的作用继而影响牙胚组织的发育^[4]。

近年来,随着生物化学及分子生物学的发展,首次发现鼠外胚间充质细胞存在nAChR,而尼古丁对外胚间充质细胞的作用可能是由nAChR介导的,nAChR可能介导了尼古丁对牙胚生长发育的影响,nAChR拮抗剂 α -Bgt可阻断尼古丁的作用^[4]。除了外胚间充质细胞外,还发现尼古丁能够抑制成牙本质细胞的增殖,这种作用的分子信号传导机制可能为尼古丁与nAChR结合后使成牙本质细胞内 Ca^{2+} 浓度明显增高,激活PKC等激酶的活性,使胞浆转录因子USF1被磷酸化而发生核转位,从而调控下游与细胞生长相关的基因表达,实现抑制细胞增殖^[18]。

3 尼古丁与牙周炎

吸烟者较不吸烟者牙周炎的患病率高、病情重,且牙周治疗的预后较差^[19]。研究表明:吸烟与牙周袋形成、附着丧失、骨丧失和牙齿丧失有关^[20]。临床上常常可以观察到吸烟者上颌前牙区牙槽骨吸收更明显,提示吸烟对这一部分牙周组织产生了局部影响。吸烟者与非吸烟者下前牙和上颌前牙舌侧的探诊深度和附着水平差异最大^[21]。

在早期,有学者通过研究发现不同浓度尼古丁作用于牙周膜细胞时,可使细胞胞浆内产生空泡,形态发生改变,并且对细胞的增殖有抑制作用,呈浓度依赖性^[22]。进一步的研究发现一定浓度尼古丁作用于牙周膜细胞时可影响牙周膜细胞DNA合成和细胞增殖,并影响细胞对牙根面的贴附^[23]。

牙周膜成纤维细胞、牙龈成纤维细胞、成/破骨细胞对维持牙周组织的健康至关重要,而上述细胞功能的异常都可能导

致牙周炎的发生。当浓度在 50 和 200 $\mu\text{mol/L}$ 时,尼古丁抑制了 PDLF 48% 和 86% 的增殖;当浓度高于 2.5 mmol/L 时,尼古丁开始产生细胞毒性作用;当浓度升至更高的 10 mmol/L 时,蛋白生成则受到明显的抑制,仅仅是对照组的 44%^[24]。

除了直接诱导细胞凋亡,有人还发现尼古丁可以时间及浓度依赖性的方式刺激中性粒细胞产生 IL-8, 而 IL-8 是一种与牙周炎密切相关的细胞因子^[25]。对细胞因子行进一步研究发现 IL-1 分子的生物学活性可通过尼古丁的刺激而上调,有可能是牙周组织破坏的直接原因^[26]。

随着分子生物学及免疫学研究的深入开展,近年来发现在正常大鼠的牙周组织中存在 $\alpha 7$ nAChR 蛋白和 mRNA 的阳性表达,主要表达于牙龈上皮细胞、牙龈成纤维细胞和牙周膜成纤维细胞;在丝线结扎造成牙周炎的牙周组织中牙周袋内壁上皮细胞、破骨细胞等也表达 $\alpha 7$ nAChR,尼古丁给药后各实验组牙周组织 $\alpha 7$ nAChR 表达进一步增强^[27]。尼古丁是烟碱受体的特异性配体,只有当它与细胞特异性受体结合后,才能启动信号转导系统,产生相应效应。而给予受体拮抗剂美加明后,不但尼古丁对 $\alpha 7$ nAChR 的上调作用受到明显抑制,而且大体及病理观察表明,美加明可一定程度地遏制尼古丁加重牙周炎作用。这些提示 $\alpha 7$ nAChR 可能作为尼古丁的靶受体,在吸烟相关性牙周炎的发生发展中起到重要作用^[28]。

继续进行下游机制研究发现,在 $\alpha 7$ nAChR 激活后,下游的 Ras/Raf/MEK/ERK1/2 及 JAK-2/STAT-3 信号通路被相应激活,最终调控了基因表达,细胞增殖等生理病理过程^[29]。 $\alpha 7$ nAChR 受体在人牙周膜成纤维细胞和大鼠牙周组织中的功能性表达可能更好的帮助了解吸烟,尼古丁和牙周炎之间的关系。

4 小结及展望

尼古丁同牙周炎之间发生发展的关系目前的研究已经深入到分子受体及信号转导层面。在文献回顾中,我们发现,在有受体拮抗剂及尼古丁同时存在的条件下, $\alpha 7$ AchR 表达水平可下调,但不能被完全抑制,因此,尼古丁是否可能通过除受体结合引发下游反应的其他作用方式来对牙周组织造成影响尚有待进一步研究。另外,近来已经发现,除了成纤维细胞外,牙周膜中还存在有牙周膜干细胞,其对牙周组织的再生和愈合有着重要的影响,那么尼古丁对牙周膜干细胞的作用如何,其具体机制是什么?大量的基础研究已经比较清晰的揭示了尼古丁及其受体之间的关系。基础研究的发展是为了临床服务,通过之前的文献回顾,我们设想,是否可以利用已经明确的尼古丁受体为作用靶点,来治疗和预防牙周炎。这些,都值得我们在后续的研究中进一步探索。

除尼古丁的危害作用外,通过文献回顾,我们尚还发现,微量的尼古丁并不直接对人体造成危害。并且已有临床研究证明,尼古丁有望成为治疗老年痴呆症、帕金森症、抑郁症的有效药物。同时,尼古丁在牙周组织中所介导的炎性破坏作用在全身其他系统性组织中却被证实发挥了一条积极的抗炎作用。因此,对于尼古丁药理病理作用的研究尚需进一步深入,从而真正全面的认识其所扮演的角色,更好的应用于临床工作。

参考文献(References)

- [1] World Health Organization. [Internet]. Geneva: WHO; 2010 [cited 2010 Oct 18]. Available from: <http://www.who.int/fctc/press.pdf>
- [2] Hekkinen T, Aalvesalo L, Osborne RH, et al. Maternal smoking and tooth formation in the foetus of Tooth crown size in the deciduous dentition[J]. Early hum Dev, 1992, 30(1): 49-57
- [3] Paulson RB, Shanfeld J, Prause L, et al. Pre and post conceptions: tobacco effects on the CD-1 mouse fetus [J]. J Craniofac Dev Biol, 1991, 11(1): 48-58
- [4] Chambrone L, Chambrone D, Lima LA. Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies[J]. J Clin Periodontol, 2010, 37(7): 675-684
- [5] Oeill MJ. The role of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in acute and chronic neuro degeneration [J]. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord, 2002, 1(4): 399-411
- [6] 齐晓岚, 官志忠. $\alpha 7$ 神经型尼古丁受体的神经保护作用及其与阿尔茨海默病发病的关系[J]. 中华病理学杂志, 2008, 37(1): 51-55
Qi Xiao-lan, Guan Zhi-zhong. The neuro protective effect of $\alpha 7$ nAChR and its relationship of Alzheimer Disease [J]. Chinese Journal of Pathology, 2008, 37(1): 51-55
- [7] Schuller HM. Neuro transmitter receptor-mediated signaling pathways as modulators of carcinogenesis [J]. Prog Exp Tumor Res, 2007, 39: 45-63
- [8] Zeidler R, Albermann K, Lang S. Nicotine and apoptosis [J]. Apoptosis, 2008, 12(11): 1927-1943
- [9] Jin Z, Gao F, Flagg T, et al. Nicotine induces multi-site phosphorylation of bid in association with suppression of apoptosis [J]. J Biol Chem, 2009, 279(22): 23837-23844
- [10] Brown CW, Orme TJ, Richardson HD. The rate of pseudoarthrosis (surgical nonunion) in patients who are smokers and patients who are nonsmokers: a comparison study [J]. Spine, 1986, 11(9): 942-943
- [11] Yasunari Kanda, Yasuhiro Watanabe. Nicotine-induced vascular endothelial growth factor release via the EGFR-ERK pathway in rat vascular smooth muscle cells [J]. Life Sciences, 2007, 80 (27): 1409-1414
- [12] Pitchai Balakumar, Jagdeep Kaur. Is nicotine a key player or spectator in the induction and progression of cardiovascular disorders [J]. Pharmacological Research, 2009, 60 (7): 361-368
- [13] Seller MJ, Bnait KS. Effects of tobacco smoke inhalation on the developing mouse embryo and fetus [J]. Reprod Toxicol, 2010, 9(5): 449-459
- [14] Kieser JA, Groeneveld HT, Da Silva PC. Delayed tooth formation in children exposed to tobacco smoke [J]. J Clin Pediatr Dent, 1996, 20 (21): 97-101
- [15] 王小竞, 文玲英. 尼古丁对牙乳头间充质细胞增殖的抑制作用[J]. 实用口腔医学杂志, 2000, 16(5): 369-371
Wang Xiao-jing, Wen Ling-ying. The suppressive effect of nicotine on the proliferation of tooth papilla mesenchymal cells [J]. Journal of Practical Stomatology, 2000, 16(5): 369-371
- [16] 王小竞, 文玲英, 杨富生, 等. 尼古丁对牙胚 / 牙乳头间充质细胞 BMP 分泌影响的体外研究 [J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2004, 14 (3): 134-136

- [7] Vucic S, Kiernan MC, Cornblath DR (2009) Guillain-Barre syndrome: an update. *J Clin Neurosci* 16: 733-741
- [8] 张艳, 王德生, 韩辉, 等. HansLink. 哈尔滨市 1997 年至 1999 年吉兰-巴雷综合征发病率的流行病学调查 [J]. *中国临床康复*, 2004, 8 (34): 7812-7815
Zhang Yan, Wang De-sheng, Han Hui, et al. HansLink. Harbin 1997-1999 Guillain - Barre syndrome incidence epidemiological investigation [J]. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2004, 8 (34): 7812-7815
- [9] Chang KH, Chuang TJ, Lyu RK, et al. Identification of gene networks and pathways associated with Guillain-Barre syndrome[J]. *PLoS One*, 2012, 7 (1)
- [10] Gijbels K, Galardy RE, Steinman L. Reversal of experimental autoimmune encephalomyelitis with a hydroxamate inhibitor of matrix metalloproteinases[J]. *J Clin. Invest*, 1994, 94(6): 2177-2182
- [11] Zhang H L, Azimullah S, Zheng X Y, et al. IFN- γ deficiency exacerbates experimental autoimmune neuritis in mice despite a mitigated systemic Th1 immune response[J]. *J Neuroimmunol*, 2012, 246(1): 18-26
- [12] Yuki N. Guillain-Barre syndrome and anti-ganglioside antibodies: a clinician-scientist's journey [J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2012, 88(7): 299-326
- [13] Poropatich KO, Walker CL, Black RE. Quantifying the association between Campylobacter infection and Guillain-Barre syndrome: a systematic review [J]. *J Health Popul Nutr*, 2010, 28(6): 545-552
- [14] Kaida K, Ariga T, Yu RK. Antiganglioside antibodies and their pathophysiological effects on Guillain-Barre syndrome and related disorders--a review [J]. *Glycobiology*, 2009, 19(7): 676-692
- [15] Scharn N, Ganzenmueller T, Wenzel JJ, et al. Guillain-Barre syndrome associated with autochthonous infection by hepatitis E virus subgenotype 3c [J]. *Infection*, 2013
- [16] Poly F, Guerry P. Pathogenesis of Campylobacter [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2008, 24(1): 27-31
- [17] Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, et al. Campylobacter jejuni infection and guillain-Barre syndrome [J]. *N Engl J Med*, 1995, 333 (21): 1374-1379
- [18] Jacobs BC, Rothbarth PH, van der Meche FG, et al. The spectrum of antecedent infections in Guillain-Barre syndrome: a case control study[J]. *Neurology*, 1998, 51(4): 1110-1115
- [19] Ho TW, Mishu B, Li CY, et al. Guillain-Barre syndrome in northern China: relationship to Campylobacter jejuni infection and anti-glycolipid antibodies [J]. *Brain*, 1995, 118(3): 597-605
- [20] Li CY, Xue P, Tian WQ, et al. Experimental Campylobacter jejuni infection in the chicken: an animal model of axonal Guillain-Barre syndrome[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1996, 61(3): 279-284
- [21] Fry BN, Feng S, Chen YY, et al. The galE Gene of Campylobacter jejuni is involved in lipopolysaccharide Synthesis and Virulence[J]. *Infect Immun*, 2000, 68(5): 2594-2601
- [22] Kuroki S, Saida T, Nukina M, et al. Campylobacter jejuni strains from patients with Guillain-Barre syndrome belong mostly to Penner serogroup 19 and contain beta-N-acetylglucosamine residues [J]. *Ann Neurol*, 1993, 33(3): 243-247
- [23] Goddard EA, Lastovica AJ, Argent AC. Campylobacter O:41 isolation in Guillain-Barre syndrome[J]. *Arch Dis Child*, 1997, 76(6): 526-528

(上接第 1780 页)

- Wang Xiao-jing, Wen Ling-ying, Yang Fu-sheng, et al. In vitro study of nicotine on the secretion of BMP for tooth papilla mesenchymal cells [J]. *Chinese Journal of Conservative Dentistry*, 2004, 14(3): 134-136
- [17] Lind M, Deleuran B, Thestrup-Pedersen K, et al. Chemotaxis of human osteoblasts. effects of osteotropic growth factors [J]. *APMIS*, 1995, 103(2): 140-146
- [18] 吴礼安, 文玲英. 尼古丁抑制成牙本质细胞增殖及作用机制的研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2008, 26(2): 186-188
Wu Li-an, Wen Ling-ying. Study of nicotine on suppressing the proliferation of odontal blast cells and its mechanism [J]. *West China Journal of Stomatology*, 2008, 26(2): 186-188
- [19] Mascarenhas P, Gapski R, Al Shammari K, et al. Clinical response of azithromycin as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in smokers[J]. *J Periodontol*, 2011, 76(3): 426-436
- [20] Bergst M J. Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease [J]. *Odontology*, 2004, 92(9): 1-8
- [21] van der Weijden GA, de Slegte C, Timmerman MF, et al. Periodontitis in smokers and non-smokers: intra-oral distribution of pockets [J]. *J Clin Periodontol*, 2008, 28(10): 955-960
- [22] GlannoDoulou C, Geinoz A, Cimasoni G. Effects of nicotine on periodontal ligament fibroblasts in vitro [J]. *J Clin Periodontol*, 1999, 26(1): 49
- [23] Gamal AY, Bayomy MM. Effect of cigarette smoking on human PDL fibroblasts attachment to periodontally involved root surfaces in vitro [J]. *J Clin Periodontol*, 2002, 29(8): 763-770
- [24] Chang YC, Huang FM, Tai KW, et al. Mechanisms of cytotoxicity of nicotine in human periodontal ligament fibroblast cultures in vitro[J]. *J Periodontol Res*, 2002, 37(4): 279-285
- [25] Iho S, Tanaka Y, Takauji R. Nicotine induces human neutrophils to produce IL-8 through the generation of peroxynitrite and subsequent activation of NF-kappaB [J]. *J Leukoc Biol*, 2003, 74(5): 942-951
- [26] Wang Xiao-Jing, Liu Ying-Feng, Wang Qing-Yu. Functional expression of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in human periodontal ligament fibroblasts and rat periodontal tissues [J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 340(21): 347-355
- [27] Mao D, Perry DC, Yasuda RP, Wolfe BB, et al. The $\alpha 4 \beta 2$ $\alpha 5$ nicotinic cholinergic receptor in rat brain is resistant to up-regulation by nicotine in vivo [J]. *J Neurochem*, 2008, 104(2): 446-456
- [28] Russo P, Taly A. $\alpha 7$ -Nicotinic acetylcholine receptors: an old actor for new different roles [J]. *Curr Drug Targets*, 2012, 13(5): 754-758
- [29] Juan A, Alexander IC, David LJ, et al. Receptor-mediated tobacco toxicity: cooperation of the Ras/Raf-1/MEK1/ERK and JAK-2/STAT-3 pathways downstream of $\alpha 7$ nicotinic receptor in oral keratinocytes[J]. *FASEB J*, 2006, 20(10): 2093-2101