

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.29.005

FTY720-P 联合同种异体骨移植修复兔桡骨大段骨缺损的实验研究*

邓子文^{1,2}, 黄 东^{2△}, 蔡 慧², 徐世明²

(1. 广东医科大学研究生学院, 广东湛江 524023; 2. 广东省第二人民医院创伤显微外科, 广州 510317)

[摘要] **目的** 探索 FTY720-P 联合同种异体骨移植修复兔桡骨大段骨缺损的效果。**方法** 36 只新西兰大白兔右侧桡骨中段建立 15 mm 骨缺损模型后随机分为 3 组, A 组移植 FTY720-P 溶液浸泡后的同种异体骨, B 组移植未做处理的同种异体骨, C 组移植自体桡骨。术后 4、8、12 周通过影像学检查, 组织学、免疫组织化学检测及三点弯曲实验评估骨缺损修复效果。**结果** 术后 12 周, A、C 组移植骨与宿主骨达到骨性愈合。术后 4、8、12 周 A、C 组骨缺损区域骨痂形成量多于 B 组, 并且 A、C 组 Lane-Sandhu 评分均高于 B 组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 而 A、C 组间 Lane-Sandhu 评分比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。组织学检查显示, 术后 4 周 B 组移植骨周围见较多炎性细胞, 而 A 组炎性细胞少见; 术后 8 周 A 组移植骨内新生血管生成。术后 4 周各组内源性骨形态发生蛋白-2(BMP-2)在新生骨质的骨陷窝、新生骨附近成骨细胞细胞质及纤维性骨痂基质内呈强阳性表达。三点弯曲实验显示, A 组修复后的桡骨最大弯曲强度大于 B 组($P<0.05$), 与 C 组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** FTY720-P 联合同种异体骨能较好地修复兔桡骨大段骨缺损, 且达到与自体骨修复相当的效果。

[关键词] FTY720-P; 同种异体骨; 大段骨缺损; 重建

[中图分类号] R683.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)29-3743-05

Experimental study of FTY720-P combined with allogeneic bone transplantation
for repairing rabbit segmental long bone defects*

DENG Ziwen^{1,2}, HUANG Dong^{2△}, CAI Hui², XU Shiming²

(1. The Graduate School, Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524023, China;

2. Department of Traumatic Microsurgery, Guangdong Second Provincial General
Hospital, Guangzhou, Guangdong 510317, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of FTY720-P in combination with allogeneic bone grafting on repairing rabbit segmental long bone defects. **Methods** A total of 36 New Zealand white rabbits were divided into 3 groups after the establishment of the right radius defect model (15 mm in length). Defects were repaired with allogeneic bones which had soaked in FTY720-P solution in group A, with allogeneic bones in group B, with autogenous radiuses in group C, respectively. The repair effect of bone defects were evaluated by radiographic, histological, immunohistochemical and biomechanical examinations at 4, 8, 12 weeks after operation. **Results** At 12 weeks after operation, the bone grafts were completely integrated with the cut ends of the host bone in group A and group C. At 4, 8, and 12 weeks after operation, the amounts of callus formation in the bone defect areas of group A and group C were higher than that of group B, and the Lane-Sandhu scores of group A and group C were higher than that of group B, there were statistically significant differences ($P<0.05$). However, there was no significant difference of Lane-Sandhu score between group A and group C ($P>0.05$). The histological examination showed that more inflammatory cells were observed around the bone graft in group B than those in group A at 4 weeks after operation, and newly formed vessels were observed in group A at 8 weeks after operation. Endogenous BMP-2 were mainly expressed in the bone lacunae of newly formed bones, the osteoblasts cytoplasm, and the matrix of fibrous callus nearing newly formed bones in each groups at 4 weeks after operation. The maximum bending strength of the implanted radiuses assessed by three-point bending test in group A were significantly stronger than that in group B ($P<0.05$), while no significant difference was found compared to group C ($P>0.05$). **Conclusion** FTY720-P in combination with allogeneic bone by soaking could better repair critical-size bone defects in rabbit, and achieve the same effect as the autogenous bone graft.

[Key words] FTY720-P; allogeneic bones; critical-sized bone defects; reconstruction

* 基金项目: 广东省科技发展专项资金资助项目(2016A02015124)。 作者简介: 邓子文(1988—), 在读硕士, 主要从事创伤骨科方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: dong-177@163.com。

骨移植是临床上最常见的移植类手术之一,全球每年有超过 200 万患者进行骨移植手术,在美国选用同种异体骨作为骨移植材料占总骨移植数量的 $1/3^{[1-2]}$ 。但是,大段同种异体骨移植后因感染、再次骨折、骨不连等并发症导致的远期失败率高达 $25\%^{[3-4]}$ 。如何促进大段同种异体骨的骨诱导能力,降低移植后的并发症成为研究热点。FTY720 是一种新型免疫抑制剂,在体内活性成分为 FTY720-P,除能有效抑制免疫反应外,还具有一定的成骨作用,但机制尚不清楚^[5-6]。本文拟通过动物实验探索 FTY720-P 联合同种异体骨修复骨缺损的效果,为该药在临床上的应用及后续研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 普通级成年新西兰大白兔 40 只,雄性,体质量 $2\sim 3$ kg,由广东省医学动物实验中心提供。

1.1.2 主要仪器与试剂 FTY720-P(美国 Cayman 公司),兔骨形态发生蛋白-2(BMP-2)多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司),电子万能试验机(上海企想检测仪器有限公司),BX43 型显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 同种异体骨的制备 随机选取 4 只新西兰大白兔,采用耳缘静脉注射空气法处死,无菌条件下完整取出四肢长骨,用微型多功能电锯将取下的长骨锯成长约 15 mm 的骨段,1:1 甲醇和氯仿 12 h 脱脂,30%过氧化氢(H_2O_2)12 h 脱蛋白,0.6 mmol/L HCl 5 min 脱钙^[7]后独立包装,以 25 kGy ^{60}Co 辐照灭菌 12 h,然后将同种异体骨放入 $-80\text{ }^{\circ}C$ 深低温冰箱中保存备用。

1.2.2 同种异体骨移植 首先按说明书将 FTY720-P 配制浓度为 1 mg/mL 的溶液备用。受试动物用戊巴比妥联合 846 合剂麻醉,右前肢桡骨中段充分暴露,用微型多功能电锯在桡骨中段建立 15 mm 长骨缺损模型,然后将动物随机分为 A、B、C 3 组,每组 12 只。其中 A 组移植用 1 mg/mL FTY720-P 溶液浸泡 30 min 后的同种异体骨,B 组移植未做处理的同种异体骨,C 组移植自体桡骨。

1.2.3 影像学检查 术后 4、8、12 周各组随机抽取 6 只动物经耳缘静脉戊巴比妥麻醉后常规摄 X 线片,观察骨移植区骨痂、新骨形成情况,并采用 Lane-Sandhu 法^[8]进行影像学评分。

1.2.4 组织学与免疫组织化学检测 术后 4、8、12 周各组随机抽取 3 只动物空气法处死,完整取出右前肢桡骨,4%多聚甲醛固定 24 h,乙二胺四乙酸(EDTA)法脱钙 1~3 周,梯度乙醇脱水,石蜡包埋,沿移

植骨纵轴纵行行 4 μm 厚度组织切片,行苏木精-伊红(HE)染色及免疫组织化学染色。BMP-2 抗体工作浓度 1:200,二氨基联苯胺(DAB)方法显色,棕色判为阳性,对照以磷酸盐缓冲液(PBS)代替 I 抗。

1.2.5 生物力学检测 术后 12 周各组剩余的 6 只动物采用耳缘静脉注射空气法处死,然后完整取出右前肢桡骨进行三点弯曲试验。实验前先对标本移植区进行人工弯曲,若移植区不稳定或极易发生弯曲则判定为修复失败,反之继续行三点弯曲实验。将标本放于仪器上,间距 30 mm,在移植骨中点位置向下加载负荷,加载速度 10 mm/min,记录最大弯曲强度及位移。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 5.0 统计软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较及组内各时间点比较采用单因素方差分析,比较采用 SNK 检验;检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 X 线片观察和 Lane-Sandhu 评分 骨移植后第 4 周,A 组移植骨与宿主骨交界处近端观察到骨痂形成;第 8 周,A 组移植骨与宿主骨交界处近远端均观察到骨痂形成,且骨痂形成的量大于 B 组;第 12 周,A、C 组移植骨与宿主骨间已完全融合,B 组则尚未完全达到融合,见图 1。在骨移植后第 4、8、12 周 A、C 组 Lane-Sandhu 评分均高于 B 组,差异有统计学意义($P<0.05$);A、C 组术后各时间点 Lane-Sandhu 评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见图 2。

2.2 组织学观察 术后 4 周,A 组桡骨断端及移植骨周围可见少量炎性细胞,大量骨痂形成,主要成分为纤维组织及软骨细胞、局部见编织骨形成、伴有少量骨髓腔,纤维组织内可见较多破骨细胞及碎骨片(图 3A);B 组桡骨断端周围较多炎性细胞聚集及大量纤维组织增生,局部见少量软骨细胞及少量编织骨(图 3D);C 组桡骨断端及移植骨周围见大量骨性骨痂,植入体内可见少量血管(图 3G)。术后 8 周,A 组桡骨断端见少量软骨细胞及大量编织骨,移植骨内见少量血管生成,骨髓腔内形成骨小梁、可见少量骨髓(图 3B);B 组移植骨与周围编织骨部分融合,融合部位植入体内可见极少量小血管(图 3E);C 组桡骨断端形成大量板层骨,与移植骨融合,骨髓腔再通(图 3H)。术后 12 周,A 组桡骨断端可见大量板层骨生成,移植骨与新生的板层骨融合(图 3C);B 组移植骨与新生骨组织基本融合,周围见少量板层骨(图 3F);C 组移植骨骨皮质重塑,但较正常骨皮质薄(图 3I)。

2.3 BMP-2 免疫组织化学染色 术后 4 周各组中 BMP-2 均可见阳性表达,主要表达于新生成骨质的骨陷窝、新生骨附近成骨细胞细胞质及纤维性骨痂基质内,见图 4。

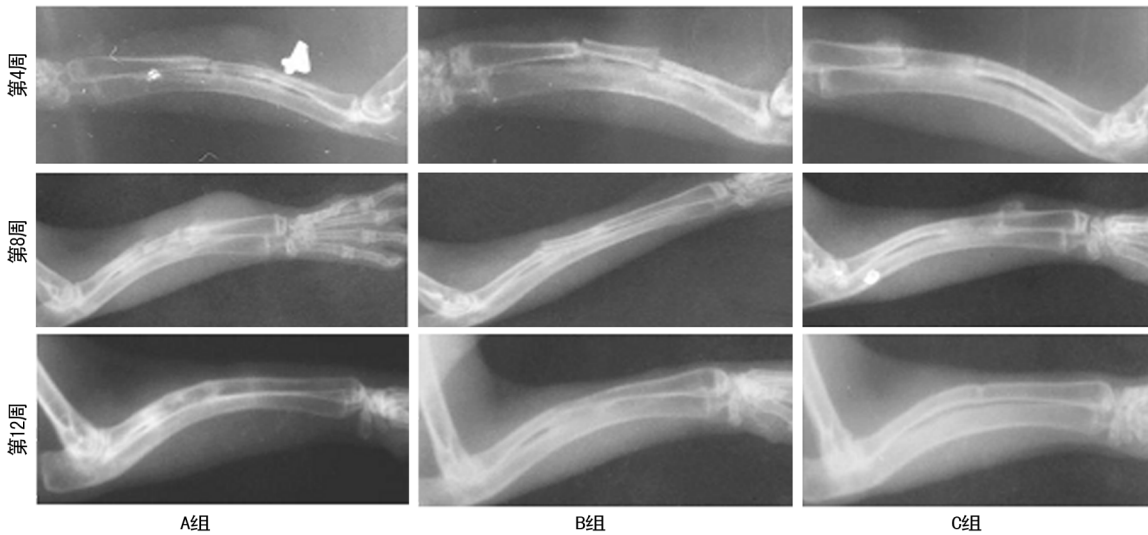


图 1 3 组骨移植后各时间点 X 线片

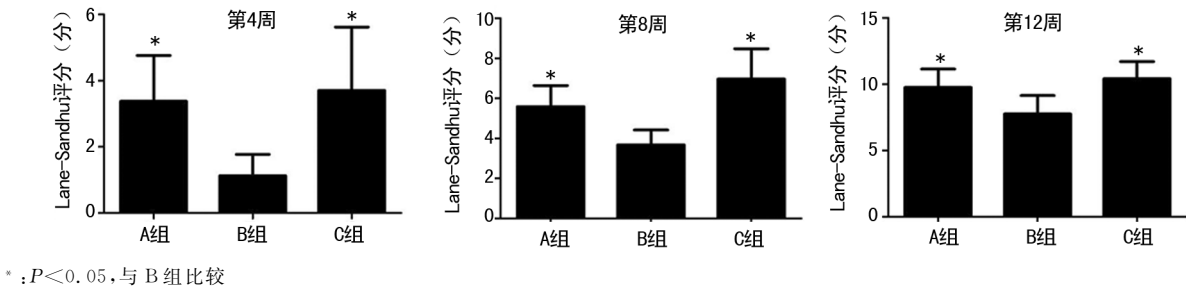
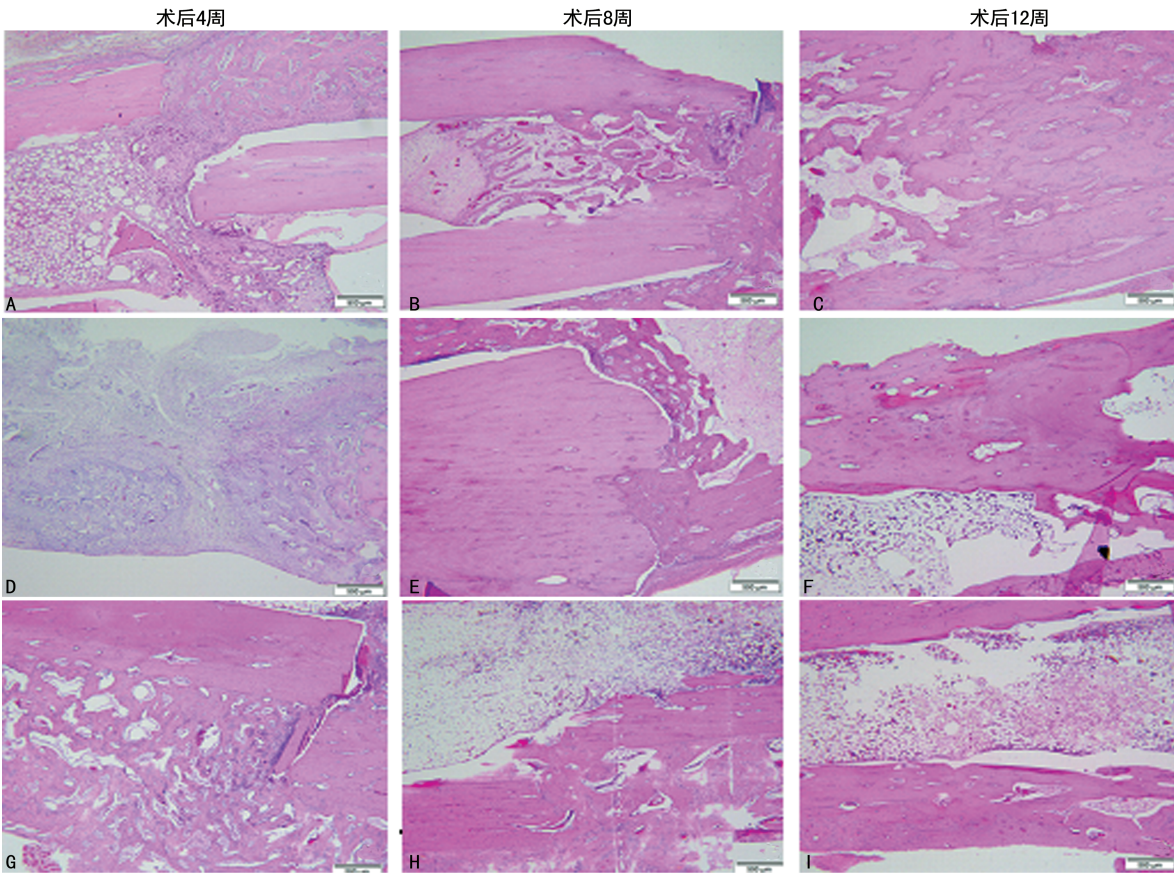
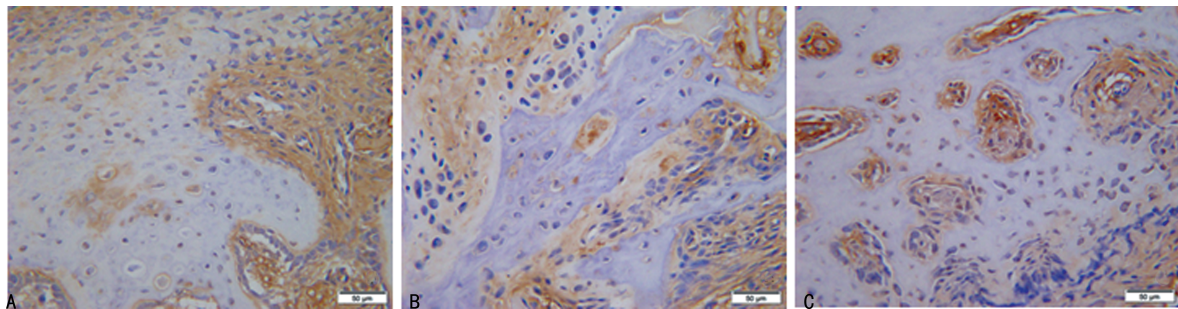


图 2 3 组术后各时间点 Lane-sandhu 评分 ($n=6$)



A~C: A 组术后 4、8、12 周; D~F: B 组术后 4、8、12 周; G~I: C 组术后 4、8、12 周

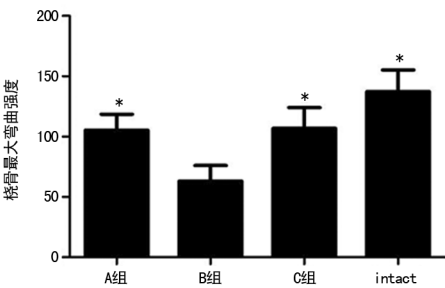
图 3 3 组术后各时间点组织学检查 (HE $\times 40$)



A:A 组;B:B 组;C:C 组

图 4 3 组术后 4 周石蜡切片的 BMP-2 免疫组织化学染色(×400)

2.4 生物力学检测 人工弯曲实验结果显示 A 组、C 组移植骨与宿主骨完全融合, B 组部分标本移植骨与宿主骨界限仍较清晰。三点弯曲实验显示, A 组修复后的桡骨最大弯曲强度大于 B 组($P<0.05$);与 C 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见图 5。



*: $P<0.05$,与 B 组比较;intact:对侧正常桡骨

图 5 三点弯曲实验测试术后 12 周 3 组骨移植修复骨缺损后桡骨的最大弯曲强度

3 讨论

大段同种异体骨常用于严重创伤、骨肿瘤切除后的保肢治疗,但大段同种异体骨移植后移植区域周围血供不足及远期并发症如移植骨与宿主骨骨不连(10%~30%)、持续感染(6%~13%)、二次骨折(10%~30%)^[9-11]等的发生却令临床医生不尽满意,往往导致患者功能差,甚至手术失败。许多学者通过在同种异体骨上复合自体干细胞^[12]、重组蛋白^[13]、富血小板血浆^[14]、基因治疗^[15]等方法来促进大段同种异体骨移植周围微血管网的再生及异体骨与宿主骨的融合,取得一定效果。近期研究发现,局部应用 1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)结构类似物 FTY720 可促进同种异体骨移植后移植骨与宿主骨之间的融合。

S1P 是一类真核生物体内天然存在的具有生物活性的细胞膜鞘类脂质的代谢中间产物^[16],由鞘氨醇在鞘氨醇激酶(sphingosine kinase, SPHK)的磷酸化作用下形成,通过与 S1P 受体(sphingosine-1-phosphate receptor, S1PRs)结合调控多种细胞的增殖、分化、迁移、凋亡、定位^[17]。鞘氨醇结构类似物 FTY720 是一种新型免疫抑制剂,体内经 SPHK2 磷酸化为活

性成分 FTY720-P,可非选择性结合 S1PRs 从而发挥生物效应^[18-19]。现有研究表明,FTY720/FTY720-P 可趋化破骨细胞由骨表面向外周血迁移,抑制破骨细胞的形成^[20-21]。同时,在切除卵巢的小鼠中,FTY720 可促进其骨髓源间充质干细胞向成骨细胞分化,FTY720 显著增加成骨细胞分化标志物碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(OCN)、Runx2 及 Sp7 的表达^[22]。分子细胞的研究说明,FTY720/FTY720-P 对骨代谢有着重要的影响。本研究在利用 FTY720-P 联合同种异体骨修复兔桡骨大段骨缺损的动物实验中观察到,术后 12 周运用 FTY720-P 的 A 组成功修复桡骨大段骨缺损,三点弯曲实验中 A 组修复后的桡骨生物力学强度明显大于单纯同种异体骨修复后的桡骨。术后 4、8、12 周 A 组骨痂形成的量、Lane-Sandhu 评分均明显高于单纯同种异体骨修复的桡骨,可达到类似自体骨的修复效果。说明 FTY720-P 可促进同种异体骨与宿主骨的融合,增强其生物力学强度。

研究发现,通过连续皮下注射 FTY720 并不能促进鼠股骨骨折的愈合及骨缺损的修复^[23]。但将 FTY720 以聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLAGA)为支架复合在同种异体骨上修复鼠颅骨、胫骨骨缺损的实验中,发现 FTY720 可明显促进骨形成^[24-26]。复合在同种异体骨上的 FTY720 随着 PLAGA 的降解持续在骨缺损周围释放,使得局部 FTY720 的浓度维持在一定范围,可促进骨缺损周围微血管网的形成及小动脉的扩张,增加骨缺损区域血供,促进骨缺损的修复^[24-26]。本研究将 FTY720-P 通过浸泡的方法复合在同种异体骨上,增加异体骨局部 FTY720-P 浓度,在术后 8 周 A 组 HE 染色结果观察到异体骨内新生血管形成, B 组仅见极少量血管。说明经 FTY720-P 浸泡后的同种异体骨移植后对其局部血管形成同样有一定促进作用,进而促进异体骨与宿主骨的融合。

同种异体骨移植后的免疫排斥反应同样影响其与宿主骨间的融合。而 FTY720 作为一种免疫抑制剂,可抑制淋巴细胞从淋巴结释放入外周血,并在临床上已应用于治疗多发性硬化症^[18-19]。骨折愈合早期特征是免疫细胞侵入局部血肿的炎症反应阶段^[27]。

同种异体骨局部释放 FTY720 可明显减少移植区 CD45⁺ 白细胞数量^[25]。本实验中观察到术后 4 周 B 组移植骨周围见较多炎性细胞,而 A 组炎性细胞少见,表明 FTY720-P 对局部炎性反应有抑制作用,笔者推测这一作用可能是 FTY720-P 促进异体骨与宿主骨融合的机制之一。

综上所述,移植经 FTY720-P 浸泡后的同种异体骨可促进异体骨局部血管形成、降低局部炎性反应,增强异体骨生物力学强度,成功修复大段骨缺损,可达到自体骨修复骨缺损的效果,为临床降低大段同种异体骨移植后远期并发症的发生提供一种新的治疗决策。但浸泡后 FTY720-P 的复合效率及作用时间的确定还需进一步研究。

参考文献

- [1] GIANNOUDIS P V, DINOPOULOS H, TSIRIDIS E. Bone substitutes: an update[J]. Injury, 2005, 36 (Suppl 3): S20-27.
- [2] DE LONG W G, EINHORN T, KOVAL K, et al. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. A critical analysis[J]. J Bone Joint Surg Am, 2007, 89(3): 649-658.
- [3] CALDROA P, DONATI D, CAPANNA R, et al. A histomorphologic study of explants of massive allografts: preliminary results[J]. Chir Organi Mov, 1995, 80 (2): 191-205.
- [4] ENNEKING W F, CAMPANACCI D A. Retrieved human allografts: a clinicopathological study[J]. J Bone Joint Surg Am, 2001, 83-A(7): 971-986.
- [5] KAPPOS L, RADUE E W, O'CONNOR P, et al. A Placebo-Controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis[J]. N Engl J Med, 2010, 362(5): 387-401.
- [6] MANDALA S, HAJDU R, BERGSTROM J, et al. Alteration of lymphocyte trafficking by sphingosine-1-phosphate receptor agonists[J]. Science, 2002, 296(5566): 346-349.
- [7] 杨海平, 王东, 蔚晋斌, 等. 同种异体骨复合氨基胍对兔桡骨缺损愈合的影响[J]. 中国矫形外科杂志, 2005, 13(4): 282-285.
- [8] LANE J M, SANDHU H S. Current approaches to experimental bone grafting[J]. Orthop Clin North Am, 1987, 18 (2): 213-225.
- [9] WHEELER D L, ENNEKING W F. Allograft bone decreases in strength in vivo over time[J]. Clin Orthop Relat Res, 2005(435): 36-42.
- [10] DELLOYE C, DE NAYER P, ALLINGTON N, et al. Massive bone allografts in large skeletal defects after tumor surgery: a clinical and microradiographic evaluation [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 1988, 107(1): 31-41.
- [11] MANKIN H J, HORNICEK F J, RASKIN K A. Infection in massive bone allografts[J]. Clin Orthop Relat Res, 2005(432): 210-216.
- [12] VULCANO E, MURENA L, CHERUBINO P, et al. Treatment of severe post-traumatic bone defects with autologous stem cells loaded on allogeneic scaffolds[J]. Surg Technol Int, 2012, 22: 291-301.
- [13] YASUDA H, YANO K, WAKITANI S, et al. Repair of critical long bone defects using frozen bone allografts coated with an rhBMP-2-retaining paste[J]. J Orthop Sci, 2012, 17(3): 299-307.
- [14] HAN B, WOODSELL-MAY J, PONTICIELLO M, et al. The effect of thrombin activation of Platelet-Rich plasma on demineralized bone matrix osteoinductivity[J]. J Bone Joint Surg Am, 2009, 91(6): 1459-1470.
- [15] YAZICI C, YANOSO L, XIE C, et al. The effect of surface demineralization of cortical bone allograft on the properties of recombinant adeno-associated virus coatings [J]. Biomaterials, 2008, 29(28): 3882-3887.
- [16] MARTIN R, SOSPEDRA M. Sphingosine-1 phosphate and central nervous system[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2014, 378: 149-170.
- [17] ROSEN H, GOETZL E J. Sphingosine 1-phosphate and its receptors: an autocrine and paracrine network[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(7): 560-570.
- [18] BRINKMANN V. FTY720 (fingolimod) in Multiple Sclerosis: therapeutic effects in the immune and the central nervous system[J]. Br J Pharmacol, 2009, 158(5): 1173-1182.
- [19] BRINKMANN V, BILLICH A, BAUMRUKER TA, et al. Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis[J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(11): 883-897.
- [20] LEE D E, KIM J H, CHOI S H, et al. The sphingosine-1-phosphate receptor 1 binding molecule FTY720 inhibits osteoclast formation in rats with ligature-induced periodontitis[J]. J Periodontol Res, 2017, 52(1): 33-41.
- [21] ZHANG D, HUANG Y, HUANG Z, et al. FTY-720P suppresses osteoclast formation by regulating expression of interleukin-6 (IL-6), interleukin-4 (IL-4), and matrix metalloproteinase 2 (MMP-2)[J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 2187-2194.
- [22] HUANG C, LING R, LI F J, et al. FTY720 enhances osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in ovariectomized rats[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1): 927-935.
- [23] HEILMANN A, SCHINKE T, BINDL R, et al. Systemic treatment with the sphingosine-1-phosphate analog FTY720 does not improve fracture healing in mice[J]. J Orthop Res, 2013, 31(11): 1845-1850.
- [24] HUANG C, DAS A, BARKER D, et al. Local delivery of FTY720 accelerates cranial allograft incorporation and bone formation[J]. Cell Tissue Res, 2012, 347 (3): 553-566.

式进入细胞核后实现的,而 PTHrP KI 小鼠体内的 PTHrP 蛋白缺失了核定位序列和 C-末端。体外研究表明,PTHrP 缺失核定位序列和 C-末端片段能调控细胞周期相关细胞因子的表达,从而使得细胞凋亡明显增加^[14]。研究发现,PTHrP 在牙齿间充质细胞、牙乳头、上皮根鞘等处均有表达^[15],而 PTHrP KI 小鼠分泌的 PTHrP 蛋白因为缺失核定位序列和 C-末端,失去了通过细胞内分泌方式进入细胞核来发挥促细胞增殖的作用,导致牙髓 p27 蛋白表达水平上调,Ki-67 蛋白表达水平下降,导致牙髓间充质细胞的凋亡增加和向成牙本质细胞的分化减少,进而导致成牙本质细胞胞外基质分泌减少,并且进一步影响了牙本质的生成和矿化;此外,牙根的形成和上皮根鞘密切相关^[16-17],同样,PTHrP 蛋白核定位序列和 C-末端缺失还可能导致了小鼠磨牙上皮根鞘处的细胞凋亡增加,进而导致了 PTHrP KI 小鼠磨牙牙根发育障碍。

综上所述,PTHrP 核定位序列和 C-末端缺失导致小鼠磨牙细胞增殖受阻,牙本质细胞外基质分泌减少,矿化障碍,最终导致了小鼠磨牙的发育异常。

参考文献

[1] LEE S, MANNSTADT M, GUO J, et al. A homozygous [Cys25]PTH(1-84) mutation that impairs pth/pthrp receptor activation defines a novel form of hypoparathyroidism[J]. J Bone Miner Res, 2015, 30(10):1803-1813.

[2] HIRAI T, KOBAYASHI T, NISHIMORI S, et al. Bone is a major target of PTH/PTHrP receptor signaling in regulation of fetal blood calcium homeostasis[J]. Endocrinology, 2015, 156(8):2774-2780.

[3] MIAO D, LI J, XUE Y, et al. Parathyroid hormone-related peptide is required for increased trabecular bone volume in parathyroid hormone-null mice[J]. Endocrinology, 2004, 145(8):3554-3562.

[4] MIAO D, SU H, HE B, et al. Severe growth retardation and early lethality in mice lacking the nuclear localization sequence and C-terminus of PTH-related protein[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(51):20309-20314.

[5] 金曙蕾. 甲状旁腺素相关肽核定位序列和 C 末端缺失导致小鼠皮肤衰老的机制研究[D]. 南京:南京医科大学, 2009.

[6] 刘洪, 杨留才, 苗登顺. 1, 25 二羟维生素 D3 缺乏对小鼠继发性牙本质生成、矿化和龋损的影响[J]. 华西口腔医学杂志, 2010, 28(6):599-602.

[7] 刘洪, 孙雯, 郑阳玉. FGF-23(r176Q)过表达对成年小鼠磨牙龋损的影响[J]. 实用口腔医学杂志, 2014, 30(3):322-326.

[8] LIU H, GUO J, WANG L, et al. Distinctive anabolic roles of 1, 25-dihydroxyvitamin D(3) and parathyroid hormone in teeth and mandible versus long bones[J]. J Endocrinol, 2009, 203(2):203-213.

[9] 张菁, 梅陵宣. 牙本质涎蛋白在牙齿发育、牙本质疾病中的表达和作用[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2009, 19(5):294-297.

[10] COSARCĂ A S, MOCAN S L, PĂCURAR M, et al. The evaluation of Ki67, p53, MCM3 and PCNA immunoexpressions at the level of the dental follicle of impacted teeth, dentigerous cysts and keratocystic odontogenic tumors[J]. Rom J Morphol Embryol, 2016, 57(2):407-412.

[11] 郭钰英, 蒙国照, 钱成明. 核仁素和 Ki-67 在口腔鳞癌与癌前病变中的表达及意义[J]. 口腔医学研究, 2011, 27(11):974-977.

[12] GUO J, MA Q, ZHOU X, et al. Inactivation of p27kip1 promotes chemical hepatocarcinogenesis through enhancing inflammatory cytokine secretion and STAT3 signaling activation[J]. J Cell Physiol, 2013, 228(10):1967-1976.

[13] SUN W, SUN W, LIU J, et al. Alterations in phosphorus, calcium and PTHrP contribute to defects in dental and dental alveolar bone formation in calcium-sensing receptor-deficient mice [J]. Development, 2010, 137(6):985-992.

[14] FIASCHI-TAESCH N, SICARI B, UBRIANI K, et al. Mutant parathyroid hormone-related protein, devoid of the nuclear localization signal, markedly inhibits arterial smooth muscle cell cycle and neointima formation by coordinate up-regulation of p15Ink4b and p27kip1[J]. Endocrinology, 2009, 150(3):1429-1439.

[15] KATO A, SUZUKI M, KARASAWA Y, et al. PTHrP and PTH/PTHrP receptor 1 expression in odontogenic cells of normal and HHM model rat incisors[J]. Toxicol Pathol, 2005, 33(4):456-464.

[16] 段学静, 杨丕山, 李纾. 上皮根鞘在牙根发育中的作用[J]. 国际口腔医学杂志, 2005, 32(4):266-268.

[17] 刘晓辉, 苑芳, 邱宜农, 等. 上皮根鞘结构对牙根发育的影响[J]. 上海口腔医学, 2014, 23(2):184-187.

(收稿日期:2018-05-22 修回日期:2018-06-26)

(上接第 3747 页)

[25] ARONIN C E, SHIN S J, NADEN K B, et al. The enhancement of bone allograft incorporation by the local delivery of the sphingosine 1-phosphate receptor targeted drug FTY720[J]. Biomaterials, 2010, 31(25):6417-6424.

[26] ARONIN C E, SEFCIK L S, THOLPADY S S, et al. FTY720 promotes local microvascular network formation

and regeneration of cranial bone defects[J]. Tissue Eng Part A, 2010, 16(6):1801-1809.

[27] CLAES L, RECKNAGEL S, IGNATIUS A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions[J]. Nat Rev Rheumatol, 2012, 8(3):133-143.

(收稿日期:2018-04-28 修回日期:2018-06-10)