

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001739

Wnt/ β -catenin 信号通路对正畸牙根吸收后修复作用的研究

蔡洋伊, 周建萍, 胡 琴, 戴红卫

(重庆医科大学附属口腔医院正畸科、口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室, 重庆 401100)

【摘要】目的:初步探讨 Wnt/ β -catenin 信号通路对移动性牙根吸收修复的作用。**方法:**①通过施加过大正畸力建立炎症性牙根吸收大鼠模型, 将大鼠随机分为 3 组, 每组 10 只: 牙周膜局部注射氯化锂激活 Wnt/ β -catenin 信号通路组 (LiCl 组), 牙周膜局部注射 Dickkopf 相关蛋白 1 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路组 (DKK1 组) 和对照组, 并通过 Micro-CT 扫描对比各组牙根表面陷窝体积变化。②完成扫描后, 3 组分别随机处死大鼠, 并采用免疫组化法分别检测各组大鼠牙周组织中 Wnt/ β -catenin 信号通路的支架蛋白 Axin2、胞内 β -连锁蛋白 β -catenin、重组人骨形态发生蛋白 (recombinant human bone morphogenetic protein 2, BMP-2)、牙骨质附着蛋白 (cementum-derived attachment protein, CAP) 和骨唾液酸蛋白 (bone sialoprotein, BSP) 的表达量。**结果:**①在修复 0 d 时, 牙根表面陷窝体积的修复量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。2 周后 LiCl 组和对照组的牙根修复体积分数增加明显, 仅 DKK1 组的相应指标出现了减少, 3 组数据指标变化明显, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。②免疫组化结果显示: 在修复 0 d 时, 3 组各项检测因子表达量无明显差异; 修复 3 d 时, 3 组中 BMP-2、BSP 和 CAP 的变化量均差异明显 ($P<0.05$), LiCl 组和 DKK1 组的 β -catenin 出现明显差别 ($P<0.05$); 修复第 7 天后, LiCl 组各项检测因子均明显高于 DKK1 组和对照组 ($P<0.05$)。**结论:** Wnt/ β -catenin 信号通路通过调节成骨相关因子 Axin2、 β -catenin、BMP-2、BSP 和 CAP 的表达, 能加快牙根表面吸收陷窝的恢复, 加快大鼠移动性牙根吸收后的修复过程。

【关键词】Micro-CT; Wnt/ β -catenin 信号通路; 牙根吸收; 牙移动**【中图分类号】**R783.3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-11-06Effect of Wnt/ β -catenin signaling pathway on the repair of orthodontic root resorption

Cai Yangyi, Zhou Jianping, Hu Qin, Dai Hongwei

(Department of Orthodontics, Stomatology Hospital of Chongqing Medical University,

Key Laboratory of Chongqing City for Oral Diseases and Biomedical Sciences)

【Abstract】Objective: To investigate the clinical efficacy of Wnt/ β -catenin signaling pathway in the repair of movable root resorption. **Methods:** ①The rat model of inflammatory root absorption was established by exerting large orthodontic force, and the research objects were randomly divided into the LiCl group, the DKK1 group and the control group, with 10 rats in each group. Each root surface lacuna volume change and the changes of bone mineral density were compared by Micro-CT scanning. ②After scanning, the rats in three groups were randomly executed, and the expression of Axin2, β -catenin, BMP-2, BSP and CAP in the periodontal tissues were detected by immunohistochemistry. **Results:** ①In 0 day of repair, the lacunar volume difference of root surface was of no statistical significance ($P>0.05$). After 2 weeks, the repaired volume of root in LiCl group and control group increased significantly ($P<0.05$), while that of the DKK1 group decreased. The indicators of the three groups changed obviously and the differences were significant ($P<0.05$). ②In 0 day of repair, the positive expression levels of Axin2, β -catenin, BMP-2, BSP, and CAP in the three groups had no obvious difference ($P>0.05$). On the 3rd day of repair, the expression levels of BMP-2, BSP, and CAP in the three groups had significant difference, and the β -catenin expressions in LiCl group and DKK1 group were significantly different ($P<0.05$). Seven days after repair, the expression levels of Axin2, β -catenin, and BMP-2 BSP and CAP in the LiCl group were statistically higher than those of the DKK1 group and control group ($P<0.05$). **Conclusion:** Through regulating the expressions of Axin2, β -catenin, BMP-2, BSP and CAP,

the Wnt/ β -catenin signaling pathway can accelerate the root resorption lacunae volume to promote the recovery of trabecular bone structure, and accelerate the repair of moving tooth root resorption in rats.

【Key words】micro-CT; Wnt/ β -catenin signaling pathway; root resorption; tooth movement

作者介绍: 蔡洋伊, Email: yangyi_cai@163.com,

研究方向: 正畸矫治与牙根修复。

通信作者: 戴红卫, Email: dai64@hospital.cqmu.edu.cn。

基金项目: 重庆市渝中区科学技术委员会科研计划资助项目 (编号: 20150124)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180522.1603.042.html>
(2018-05-25)

现代社会越来越多的人开始重视错颌畸形并积极寻求正畸治疗。然而,牙齿在正畸移动过程中可能会存在不同程度的牙根吸收,其确切病因与机制尚不明确。正畸炎症性牙根吸收是非进行性的,当正畸治疗结束后,牙根吸收会自然停止^[1]并开始自主修复,且这种能力是与生俱来的^[2]。牙根吸收修复的过程与骨折修复过程基本相同,即需要成骨细胞和破骨细胞的共同调节才能逐步实现钙化和骨质沉积。Wnt 信号通路是一种在进化过程中高度保守的信号通路,目前认为 Wnt 信号通路主要有 3 种途径。其中,对骨形成起主要作用的是 Wnt/ β -catenin 信号通路^[3-4]。目前研究发现^[5-7],Wnt/ β -catenin 信号通路在牙齿的发育多个阶段发挥着重要的调节作用,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路能够促进成骨细胞、成牙骨质细胞的成熟和分化,引起牙骨质和牙本质的形成。但 Wnt/ β -catenin 信号通路对移动性牙根吸收后修复的作用鲜有报道。已经证实^[8-9],锂离子能够通过抑制 GSK-3 β 对 β -catenin 产生的磷酸化作用使 β -catenin 蛋白在胞质内积累并转移到胞核,从而正向调控 Wnt/ β -catenin 信号通路,而 DKK1 能通过竞争性结合 LRP5/6 受体而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路活性。故本研究旨在通过建立大鼠移动性牙根吸收修复模型,运用 LiCl 激活和 DKK1 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路,采用 Micro-CT 扫描骨组织修复情况和免疫组化检测 Wnt/ β -catenin 成骨相关因子来初步研究 Wnt/ β -catenin 信号通路在移动性牙根吸收后修复的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取 SD 雄性大鼠 30 只,且所选大鼠年龄均为 10 周,体重为 (225 ± 25) g。实验采用完全随机法,其中 LiCl 组 10 只,DKK1 组 10 只,对照组 10 只,所有实验大鼠均由重庆医科大学动物实验中心提供。

1.2 主要试剂及器材

实验组大鼠加力及测量装置有 NiTi 拉簧(浙江普特公司),齿科技工打磨机(NSK M10,日本 NSK 公司),正畸测力计(杭州奥杰医疗器材有限公司)等,使用 Micro-CT(Viva CT40,瑞士 Scanco medical)扫描吸收体积;局部注射药物有 DKK1 蛋白试剂、LiCl 试剂(美国 Sigma 公司),免疫组化检测试剂有兔抗鼠 Axin2、BMP-2、BSP 抗体兔抗鼠、 β -catenin 多克隆抗体羊抗鼠 CAP 单克隆抗体(Abcam 公司),SP 免疫组

化试剂盒、DAB 显色盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)等。

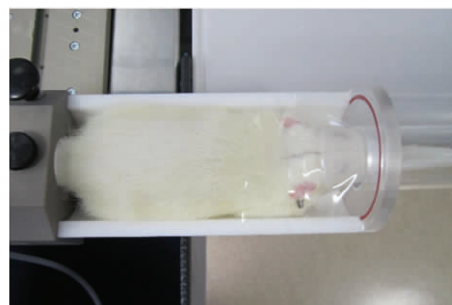
1.3 方法

1.3.1 建立大鼠正畸牙根吸收修复模型 将 30 只实验大鼠随机分为 3 组,DKK1 组、LiCl 组和对照组,每组 10 只。选定左上颌第一磨牙为加力侧。于麻醉大鼠口内固定牙齿施力装置,如图 1 所示。持续加力 14 d 后拆除镍钛拉簧。



图 1 建立正畸移动性牙根吸收模型

1.3.2 Micro-CT 活体扫描 对所有实验大鼠在拆除加力装置当天、2 周时分别对左上 I、II 磨牙和牙槽骨进行骨质扫描,记录牙根修复和骨密度情况。Micro-CT 的参数设定为电压 70 kV、扫描厚度为 0.01 mm、电流 114 μ A、视角直径为 38.9 mm、功率 8 W、整合时间为 350 ms。每只实验大鼠的平均扫描时长为 38 min,扫描所得的图像约 800 张,经系统自带图片处理系统处理后能够用于图像重建和精确对比分析。详见图 2。



A. 固定大鼠



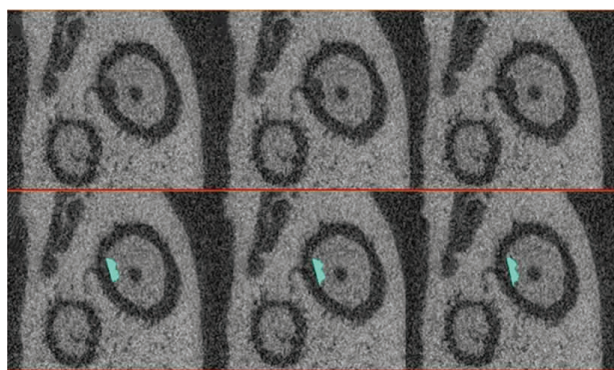
B. 麻醉的大鼠置于 CT 机载物台

图 2 Micro-CT 活体扫描

1.3.3 给药处理 DKK1 组大鼠通过牙周膜注射按 0.2 μ g/kg 剂量给予 DKK1 蛋白,每 2 d 1 次;LiCl 组以同样的方法按 0.2 mL/kg 剂量给予 LiCl 溶液(0.75 g/L),每 2 d 1 次;对照组

不注射任何药物,一直持续到拆除装置后 14 d。

1.3.4 牙根表面吸收陷窝体积 待完成 Micro-CT 扫描,获得左上 I、II 磨牙和牙槽骨的原始数据后,将所有数据转入 Mimics 10.0 软件中进行三维成像处理,计算出表面吸收陷窝体积。体积计算需要应用三维凸包算法,并获取牙根部到牙尖段横径和纵径的原始数据^[10-11](图 3)。首先假设牙齿为光滑、理想的凸面形状,这样与实际牙齿相比,就会存在明显的缺口之处,在每个横截层面上计算出缺口两边缘闭合的面积,将其相加就可以得到陷窝总面积,再乘以平均纵径便可以得到陷窝体积。为了确保研究数据的准确性,反复集中测量 3 次后取平均值作为最终实验数据。陷窝修复量=拆除加力装置当天测算的牙根表面陷窝体积-2 周后的表面陷窝体积。



上方三幅图为第一磨牙的三张冠状扫描图;下方三幅图为通过三维凸包法画出的吸收陷窝的轮廓

图 3 三维凸包算法

1.3.5 制备标本 3 组在修复第 0 天随机抽取 1 只 SD 大鼠处死,并取其左上第一、第二磨牙和周围牙槽组织,沿矢状位连续切片,取 5 张切片常规脱蜡水化,加一抗二抗,处理后镜检,并在修复的 3、7、10、14 d 重复上述操作,完成取样和标本制作工作。

1.3.6 图像处理 将切片置于 400× 的荧光显微镜下观察,并取第一磨牙颈部和近牙根 1/3 的 5 个图像视野,录入 Image Pro Plus 6.0 图像分析系统,计算出各张图片的平均光密度值,取平均值作为最终实验数据,并记录并分析各组的 Axin2、 β -catenin、BMP-2、BSP 和 CAP 的表达强度情况。

1.4 统计学分析

统计学分析采用 SPSS 22.0 版本统计分析软件。对计量资料进行正态性检验,发现数据均服从正态分布,故计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。同期组间数据采取单因素方差分析,当差异具有统计学意义时采用 SNK-*q* 法进行两两比较;同一组内两个时间点之间的比较采用配对 *t* 检验,并对 *P* 值进行 Bonferroni 校正;不同组、不同时间点的免疫组化因子比较采用两因素重复测量方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 牙根表面吸收陷窝体积修复

牙根表面吸收陷窝体积修复情况结果如表 1、表 2 和图 4 所示,结果发现 3 组在修复 0 d 时,牙根表面陷窝体积的修复情况差异不明显,数据对比无统计学意义($P>0.05$)。2 周后 3 组陷窝修复情况出现较大差异,LiCl 组明显高于对照组,DKK1 组未见修复,数据对比具有统计学差异($P<0.05$)。

表 1 牙根表面吸收陷窝体积 ($\times 10^7 \mu\text{m}^3$)

分组	样本量	0 d	14 d	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
LiCl 组	4	8.507 3 $\pm$ 0.516 6	2.818 0 $\pm$ 0.362 3 ^{ab}	31.741	0.000
DKK1 组	4	7.874 4 $\pm$ 0.716 3	9.120 1 $\pm$ 0.659 9	-4.261	0.024
对照组	4	8.532 3 $\pm$ 0.512 2	4.207 9 $\pm$ 0.519 7 ^a	16.445	0.000
<i>F</i> 值		1.600	157.206		
<i>P</i> 值		0.254	0.000		

注:a,与 DKK1 比较, $P<0.05$;b:与对照组比较, $P<0.05$

表 2 牙根表面吸收陷窝体积修复量 ($\times 10^7 \mu\text{m}^3$)

分组	样本量	RRV 差值
LiCl 组	4	5.689 3 $\pm$ 0.358 5 ^{ab}
DKK1 组	4	-1.245 7 $\pm$ 0.584 7
对照组	4	4.324 4 $\pm$ 0.525 9 ^a
<i>F</i> 值		216.839
<i>P</i> 值		0.000

注:a,与 DKK1 比较, $P<0.05$;b:与 LiCl 比较, $P<0.05$

2.2 免疫组化

2.2.1 Axin2 3 组 Axin2 染色结果如图 5 所示。LiCl 组中,Axin2 主要在胞浆、细胞膜、根尖牙骨质和牙槽骨中可检测到染色细胞,且局部修复后期逐步深染;DKK1 组根尖骨质中可检测到微量 Axin2 细胞的阳性表达,但染色强度随着时间的进行逐步降低;对照组未见明显变化。

2.2.2 β -catenin 3 组 β -catenin 染色结果如图 6 所示。 β -catenin 于口腔组织内主要分布在成骨细胞、牙周膜纤维细胞中。LiCl 组随着修复的进行,染色强度逐步增加;DKK1 组的 β -catenin 染色强度逐步降低;对照组未见明显变化。

2.2.3 BSP 3 组 BSP 染色结果如图 7 所示。LiCl 组染色可见细胞的胞浆和膜表面局部呈深染的棕黄色颗粒,随时间增加染色强度逐步加深;DKK1 组 BMP-2 的染色强度逐步降低;对照组未见明显变化。

2.2.4 BMP-2 3 组 BMP-2 染色结果如图 8 所示。LiCl 组的 BMP-2 可在成骨细胞、成牙骨细胞中检测到高强度的阳性染色,且染色强度随着修复的进行而增强;DKK1 组牙根修复区域内的 BMP-2 呈低表达水平,外力撤除表达水平进一步降低;对照组未见明显变化。

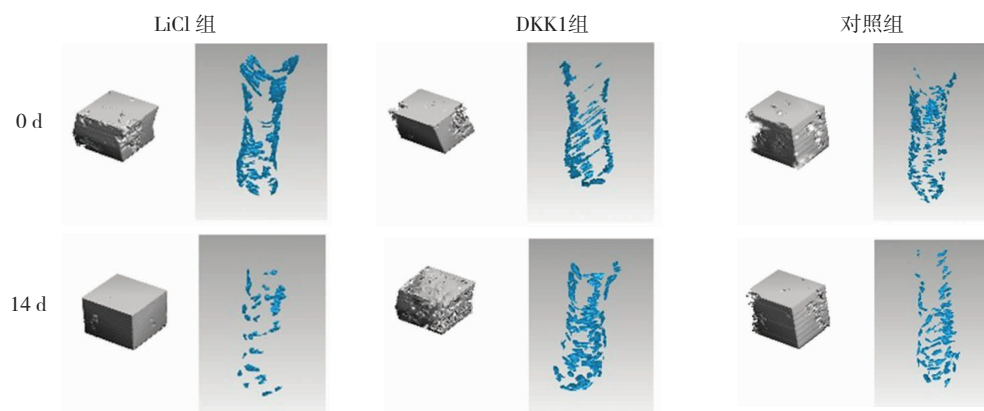
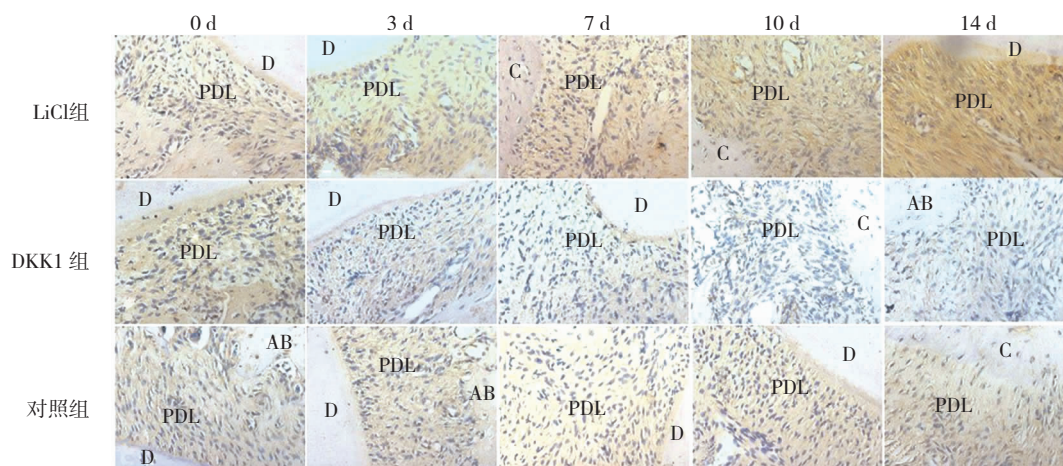
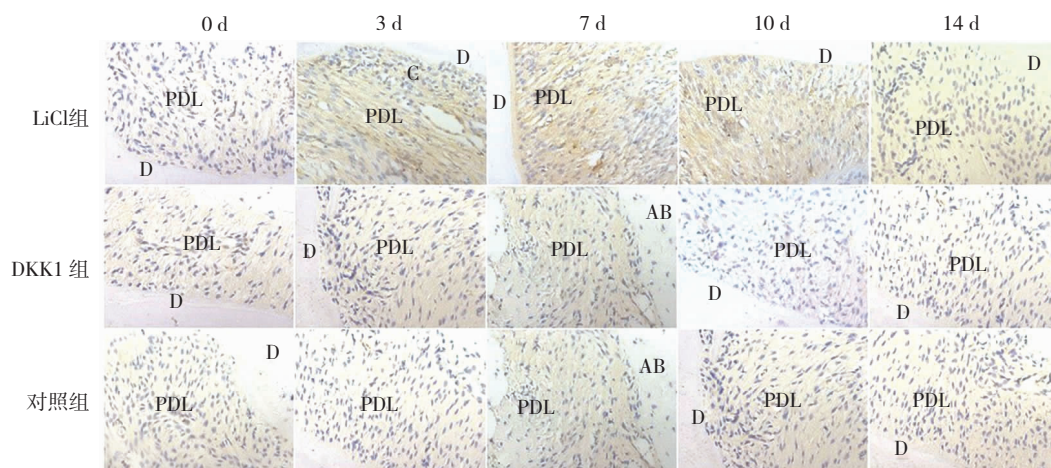


图 4 牙根表面吸收陷窝体积和骨小梁三维重建图



AB: 牙槽骨; PDL: 牙周膜; C: 牙骨质; D: 牙本质

图 5 Axin2 免疫组化染色结果(400×)



AB: 牙槽骨; PDL: 牙周膜; C: 牙骨质; D: 牙本质

图 6 β -catenin 免疫组化染色结果(400×)

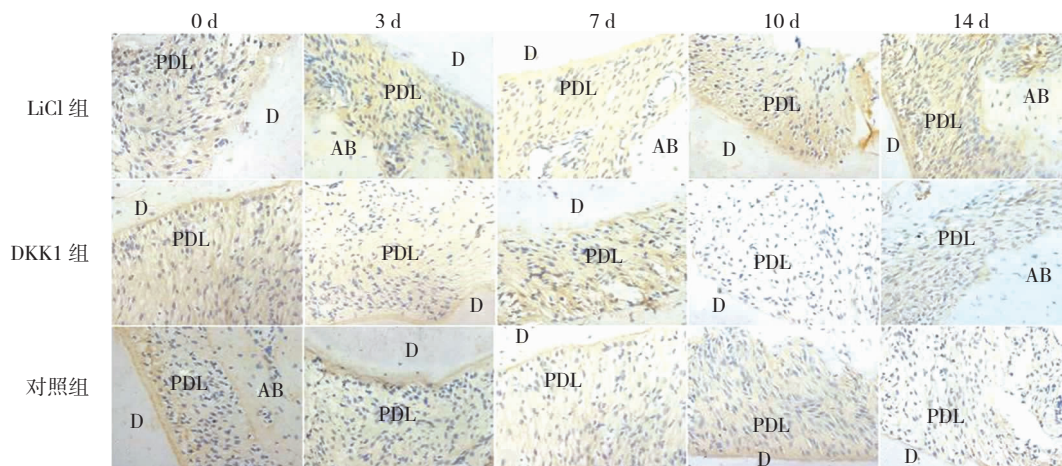
2.2.5 CAP 3 组 CAP 染色结果如图 9 所示。LiCl 组 CAP 染色效果明显,并主要集中在成牙骨质细胞和牙骨质细胞中,随着时间的进行而逐步深染;DKK1 组染色水平随时间逐步下降;对照组未见明显变化。

2.2.6 统计结果 Axin2 组间比较 $F=26.841, P=0.000$;时间点比较 $F=2.267, P=0.037$;组间×时间交互 $F=6.857, P=0.000$ 。

β -catenin 组间比较 $F=27.809, P=0.000$;时间点比较 $F=0.909, P=0.461$;组间×时间交互 $F=3.985, P=0.000$ 。BMP-2 组间比较 $F=138.393, P=0.000$;时间点比较 $F=1.350, P=0.254$;组间×时间交互 $F=7.024, P=0.000$ 。BSP 组间比较 $F=92.507, P=0.000$;时间点比较 $F=1.079, P=0.000$;组间×时间交互 $F=6.338, P=0.000$ 。CAP 组间比较 $F=38.701, P=0.000$;时间点比

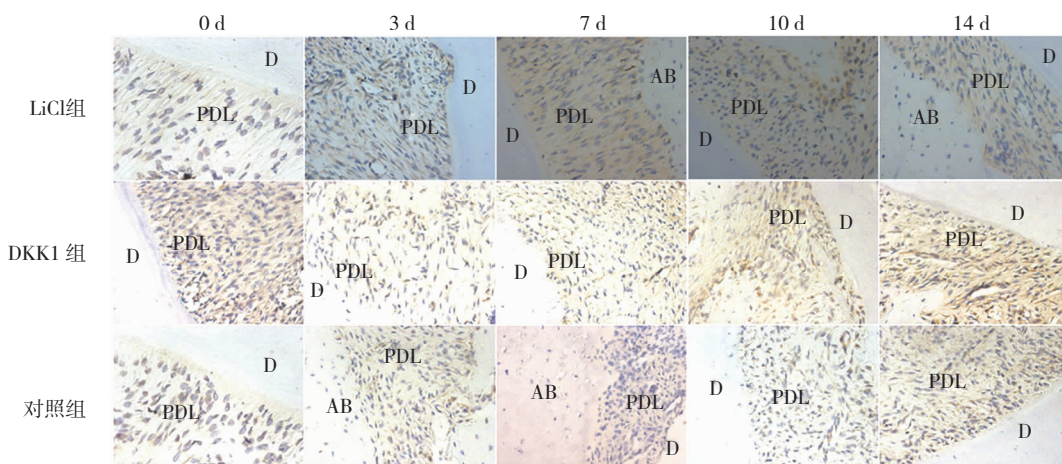
较 $F=1.516, P=0.230$; 组间 $\times$ 时间交互 $F=8.553, P=0.000$ 。结果显示:不同时间点实验组 Axin2、BSP 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 说明 Axin2 和 BSP 随时间增加变化明显; 修复 0 d 时未见各组各项检测因子有明显差异; 修复 3 d 时, 随着时间的增加, LiCl 组的 BMP-2 明显高于对照组和 DKK1 组; 修

复 10 d 时, LiCl 组各项检测因子均高于对照组和 DKK1 组, DKK1 组低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 说明 LiCl 对于以上 Wnt/ β -catenin 相关因子存在促进作用, DKK1 存在抑制作用, 对牙根部的 Wnt/ β -catenin 信号通路均具有影响(表 3)。



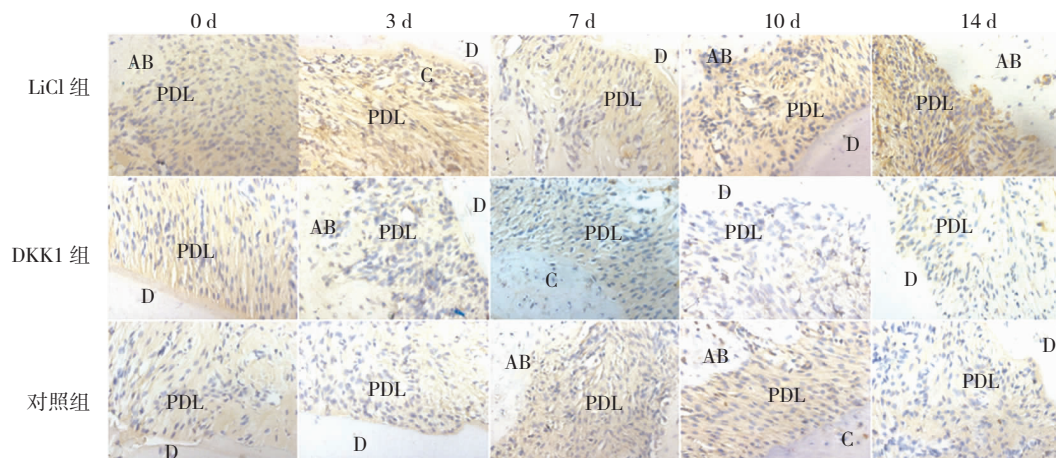
AB: 牙槽骨; PDL: 牙周膜; C: 牙骨质; D: 牙本质

图 7 BSP 免疫组化染色结果(400 $\times$)



AB: 牙槽骨; PDL: 牙周膜; C: 牙骨质; D: 牙本质

图 8 BMP-2 免疫组化染色结果(400 $\times$)



AB: 牙槽骨; PDL: 牙周膜; C: 牙骨质; D: 牙本质

图 9 BMP-2 免疫组化染色结果(400 $\times$)

表 3 各组各时间点 Axin2、 β -catenin、BMP-2、BSP 和 CAP 水平比较

检测指标	分组	样本量	0 d	3 d	7 d	10 d	14 d
Axin2	DKK1组	13	0.017 ± 0.008	0.020 ± 0.006	0.012 ± 0.007	0.011 ± 0.005	0.013 ± 0.005
	对照组	15	0.018 ± 0.006	0.019 ± 0.009	0.018 ± 0.009	0.017 ± 0.006 ^a	0.018 ± 0.008 ^a
	LiCl组	14	0.017 ± 0.005	0.020 ± 0.007	0.021 ± 0.009 ^a	0.029 ± 0.008 ^{ab}	0.033 ± 0.007 ^{ab}
β -catenin	DKK1组	11	0.034 ± 0.008	0.026 ± 0.008	0.024 ± 0.008	0.020 ± 0.008	0.020 ± 0.009
	对照组	15	0.030 ± 0.007	0.029 ± 0.009	0.033 ± 0.007 ^a	0.031 ± 0.009 ^a	0.031 ± 0.008 ^a
	LiCl组	10	0.034 ± 0.007	0.032 ± 0.004	0.035 ± 0.007 ^a	0.041 ± 0.008 ^{ab}	0.038 ± 0.008 ^{ab}
BMP-2	DKK1组	12	0.050 ± 0.004	0.048 ± 0.008	0.040 ± 0.010	0.043 ± 0.009	0.043 ± 0.008
	对照组	14	0.052 ± 0.004	0.051 ± 0.004	0.051 ± 0.004 ^a	0.053 ± 0.008 ^a	0.051 ± 0.008 ^a
	LiCl组	14	0.053 ± 0.008	0.061 ± 0.007 ^{ab}	0.065 ± 0.008 ^{ab}	0.068 ± 0.009 ^{ab}	0.070 ± 0.008 ^{ab}
BSP	DKK1组	8	0.065 ± 0.008	0.055 ± 0.008	0.054 ± 0.007	0.050 ± 0.008	0.050 ± 0.008
	对照组	10	0.068 ± 0.010	0.065 ± 0.009 ^a	0.066 ± 0.008 ^a	0.066 ± 0.008 ^a	0.065 ± 0.009 ^a
	LiCl组	7	0.068 ± 0.007	0.070 ± 0.009 ^a	0.083 ± 0.005 ^{ab}	0.086 ± 0.009 ^{ab}	0.085 ± 0.008 ^{ab}
CAP	DKK1组	11	0.058 ± 0.010	0.054 ± 0.007	0.052 ± 0.006	0.045 ± 0.008	0.045 ± 0.009
	对照组	9	0.057 ± 0.008	0.056 ± 0.010	0.056 ± 0.005	0.061 ± 0.011 ^a	0.057 ± 0.007 ^a
	LiCl组	8	0.056 ± 0.007	0.060 ± 0.007	0.070 ± 0.007 ^{ab}	0.077 ± 0.007 ^{ab}	0.071 ± 0.009 ^{ab}

注:a,同一时间点和 DKK1 组比较, $P < 0.05$;b:同一时间点和对照组比较, $P < 0.05$

3 讨 论

当今接受正畸治疗的人群快速增长,造成的牙根吸收的副作用已经成为一个不容忽视的问题。牙齿在大小、移动方向合适的正畸力影响下,牙根吸收的可能性较小,原因在于牙根表面存在一层尚未矿化的具有一定修复能力的类牙骨质,但当受到的外界压力大于其限度时,会出现牙根外吸收。所以本实验通过研究经典通路 Wnt/ β -catenin 是否为牙根成骨的信号通路来探索修复牙根吸收的新方向。

SD 实验大鼠磨牙的解剖与人类十分相似,故常将其作为人类牙周组织修复、牙根吸收恢复的模型^[12-13]。有实验研究发现^[14],在给予磨牙 100 g 压力促使其移动时,牙根压力侧会出现骨质吸收,且加压的第 8 天、第 12 天骨质吸收明显增多,牙根表面陷窝内的骨质破坏也明显加快^[15];另有研究发现^[16],在给牙齿侧方加压的第 4~20 天,牙齿移动和牙根吸收最为明显。故本实验选择给予大鼠模型磨牙 100 g 的侧方及压力,并将实验周期设定为 14 d,旨在观察移动牙根吸收修复过程中 Wnt/ β -catenin 信号通路是否为牙根修复过程的重要影响因素。Axin2、 β -catenin 是存在与多种细胞中的 Wnt/ β -catenin 信号通路重要调节因子,能在胚胎发育的过程中阶段

性特异性地表达;BSP 是一种唾液酸蛋白,主要在在牙骨质和新生牙槽骨中表达^[17],而 BMP-2 能够诱导并促进 BSP 的表达,并且牙囊细胞向成牙骨质细胞的需要 BMP-2 的介导,其分化过程有内源性 β -catenin 的关键性参与^[18];CAP 是牙骨质中的一种具有特异性蛋白,在牙骨质的形成中具有重要作用,可以诱导成牙骨质细胞进行成骨分化,形成牙骨质。所以本实验免疫组化选择这 5 个成骨重要因子作为检测 Wnt/ β -catenin 信号通路变化的指标。

本实验发现,修复 14 d 后,3 组陷窝修复情况出现较大差异,LiCl 组和对照组的体积分数增加明显,仅 DKK1 组的相应指标出现了减少。以上结果提示 Wnt/ β -catenin 信号通路在牙根吸收后的修复过程中发挥着重要作用,激活该通路便能加快局部修复过程,反之则会抑制修复过程。免疫组化实验结果发现,修复 10 d 后,各组 Axin、 β -catenin、BMP-2、BSP、CAP 差异明显,LiCl 组和对照组中各项因子均高于 DKK1 组,且 LiCl 组高于对照组,以上结果可说明局部注射 LiCl、DKK1 对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响确实存在。免疫组化分析验证了以上 5 项重要因子在牙根成骨过程中 Wnt/ β -catenin 信号通路的确发生了明显变化,然而对于 Wnt/ β -catenin 信号通路对 BSP 和 BMP-2 是直接作用,还是通过与 BMP 信号通路协同作用进行成骨尚未明了,需

要进一步实验来研究。

本实验构建了移动性牙吸收的大鼠模型,并使用 Micro-CT 扫描技术结合免疫组化检测法,通过各项指标和因子的检测结果发现 Wnt/ β -catenin 信号通路在牙根吸收后的修复过程中的确发挥着重要作用,激活该通路便能加快局部修复过程,反之则会抑制修复过程。这为后续基础实验奠定了基础,也为临床防治正畸造成牙根吸收的研究提供了新线索。

参 考 文 献

- [1] Harris DA, Jones AS, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum; part 8. Volumetric analysis of root resorption craters after application of controlled intrusive light and heavy orthodontic forces; a microcomputed tomography scan study[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2006, 130(5): 639–647.
- [2] Timock AM, Cook V, McDonald T, et al. Accuracy and reliability of buccal bone height and thickness measurements from cone-beam computed tomography imaging[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2011, 140(5): 734–744.
- [3] Roscoe MG, Meira JB, Cattaneo PM. Association of orthodontic force system and root resorption; a systematic review[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2015, 147(5): 610–626.
- [4] Rodrigues HG, Marangoni P, Umbera R, et al. Continuous dental replacement in a hyper-chisel tooth digging rodent[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(42): 17355–17359.
- [5] Weltman B, Vig KW, Fields HW, et al. Root resorption associated with orthodontic tooth movement; a systematic review[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2010, 137(4): 462–476.
- [6] Kitaura H, Kimura K, Ishida M, et al. Effect of cytokines on osteoclast formation and bone resorption during mechanical force loading of the periodontal membrane[J]. *Scientific World Journal*, 2014, 2014(5): 617032.
- [7] Ponder SN, Benavides E, Kapila S, et al. Quantification of external root resorption by low- vs high-resolution cone-beam computed tomography and periapical radiography; a volumetric and linear analysis[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2013, 143(1): 77–91.
- [8] Pakula H, Xiang D, Li Z. A tale of two signals; AR and WNT in development and tumorigenesis of prostate and mammary gland[J]. *Cancers*, 2017, 9(2): 14.
- [9] Ahmadzadeh A, Norozi F, Shahrabi S, et al. Wnt/ β -catenin signaling in bone marrow niche[J]. *Cell Tissue Res*, 2015, 363(2): 321–335.
- [10] Roscoe MG, Meira JB, Cattaneo PM. Association of orthodontic force system and root resorption; a systematic review[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2015, 147(5): 610–626.
- [11] Montenegro VC, Jones A, Petocz P, et al. Physical properties of root cementum; part 22. Root resorption after the application of light and heavy extrusive orthodontic forces; a microcomputed tomography study[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2012, 141(1): e1–9.
- [12] Vieira GM, Chaves SB, Ferreira VM, et al. The effect of simvastatin on relapse of tooth movement and bone mineral density in rats measured by a new method using microtomography[J]. *Acta Cir Bras*, 2015, 30(5): 319–327.
- [13] Ferreira MM, Botelho MF, Abrantes M, et al. Histologic evaluation of the effect of mineral trioxide aggregate–Fillapex as a root canal sealer in rat teeth submitted to late replantation[J]. *Eur J Dent*, 2017, 11(1): 89–93.
- [14] Zhou J, Feng G, Zhou W, et al. Expression of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor κ B ligand in root resorption induced by heavy force in rat[J]. *J Orofac Orthop*, 2011, 72(6): 457–468.
- [15] Franzen TJ, Monjo M, Rubert M, et al. Expression of bone markers and micro-CT analysis of alveolar bone during orthodontic relapse[J]. *Orthod Craniofac Res*, 2014, 17(4): 249–258.
- [16] Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2006, 129(4): 469.e1–32.
- [17] Mellis DJ, Itzstein C, Helfrich MH, et al. The skeleton: a multifunctional complex organ; the role of key signalling pathways in osteoclast differentiation and in bone resorption[J]. *J Endocrinol*, 2011, 211(2): 131–143.
- [18] Minear S, Leucht P, Jiang J, et al. Wnt proteins promote bone regeneration[J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2(29): 29–30.

(责任编辑: 冉明会)