

## 基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002380

## rhPTH加速上颌前部截骨术后正畸牙移动中的实验研究

陈小燕,唐正龙,李 耀,王冬香,高 琼

(贵州医科大学附属口腔医院口腔颌面外科,贵阳 550004)

**【摘要】目的:**研究重组人甲状旁腺激素(recombinant human parathyroid hormone, rhPTH)促进上颌前部截骨术后正畸牙移动的可行性及其调控机制。**方法:**48 只兔建立上颌前部截骨术及右侧上颌第一磨牙正畸移动模型,随机分成实验组和对照组。实验组术后隔日皮下注射 rhPTH 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;对照组隔日皮下注射等量生理盐水。2 组分别于第 5、7、14 及 21 天测量右侧上颌第一磨牙向近中移动的距离,并取移动牙近中牙周组织行抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)染色破骨细胞计数、免疫组化和荧光定量 PCR 检测骨硬化蛋白(sclerostin, SOST)、骨形态蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)的表达及变化。**结果:**在同一时间段,实验组右上颌第一磨牙移动距离及速度均快于对照组( $P<0.05$ )。实验组右上颌第一磨牙的近中牙周组织中表达的破骨细胞计数明显大于对照组( $P<0.05$ )。免疫组化和荧光定量 PCR (fluorescence quantitative polymerase chain reaction, qPCR)检测发现,实验组右上颌第一磨牙近中牙周组织中 SOST mRNA 及蛋白的表达明显大于对照组( $P<0.05$ );而实验组 BMP-2 mRNA 及蛋白的表达则低于对照组( $P<0.05$ )。**结论:**隔日皮下注射 rhPTH 可能通过上调正畸牙近中压力侧 SOST 的表达,下调 BMP-2 的表达,增加牙槽骨的改建从而加快上颌前部截骨术后正畸牙的移动速度。

**【关键词】**重组人甲状旁腺激素;上颌前部截骨术;正畸牙移动;SOST;BMP-2

**【中图分类号】**782.2

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2019-07-21

## Study of recombinant human parathyroid hormone to accelerate orthodontic tooth movement after anterior maxillary osteotomy

Chen Xiaoyan, Tang Zhenglong, Li Yao, Wang Dongxiang, Gao Qiong

(Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital of Guizhou Medical University)

**【Abstract】Objective:** To study the feasibility and regulation mechanism of recombinant human parathyroid hormone (rhPTH) for promoting orthodontic tooth movement after the maxillary anterior osteotomy. **Methods:** Forty-eight rabbits were used to establish the model of anterior maxillary osteotomy and orthodontical movement of right maxillary first molars. They were randomly divided into the experimental group and the control group. The experimental group received subcutaneous injection of rhPTH 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , while the control group received the normal saline every other day. The mesial movement distance of the right maxillary first molars was measured on the 5th, 7th, 14th and 21th day. The mesio-periodontium of moving teeth were taken and tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) staining of osteoclast count, immunohistochemistry and fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) of sclerostin (SOST) and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) were performed. **Results:** During the same period, the moving distance and speed of the first molars in the experimental group were faster than those in the control group ( $P<0.05$ ). In the mesial periodontal tissue of right maxillary first molars, the osteoclast count in the experimental group was significantly larger than that in the control group ( $P<0.05$ ). According to the immunohistochemistry and qPCR, the expression of SOST mRNA and protein of the mesial periodontal tissue of right maxillary first molars in the experimental group was significantly higher than that in the control group ( $P<0.05$ ), while the expression of BMP-2 mRNA and protein in the experimental group was lower than that in the control group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** In the proximal pressure side of the orthodontic tooth after maxillary anterior osteotomy, subcutaneous injection of rhPTH on every other day may increase the alveolar bone remodeling to accelerate the movement speed of orthodontic tooth by upregulating the expression of SOST,

downregulating the expression of BMP-2 and increasing the reconstruction of alveolar bone.

**【Key words】** recombinant human parathyroid hormone (rh-PTH); anterior maxillary osteotomy; orthodontic movement tooth; sclerostin (SOST); bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)

作者介绍:陈小燕, Email: 353969118@qq.com,

研究方向:口腔正颌-正畸联合治疗的基础研究。

通信作者:唐正龙, Email: zhenglongtang@hotmail.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81460101)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200103.1151.004.html>

(2020-01-04)

正颌-正畸联合治疗已广泛应用于治疗骨性牙颌面畸形患者,但由于正畸治疗时间较长,许多患者无法顺利完成治疗。因此,如何加速正畸牙的移动速率成为学者们的研究热点。重组人甲状旁腺激素(recombinant human parathyroid hormone, rhPTH)对骨重建具有双重调节作用,已被广泛用于治疗骨质疏松症及各种骨相关疾病的动物及临床研究。研究表明, rhPTH 能促进颅颌面骨的再生及重建<sup>[1]</sup>,不仅能缩短骨折愈合的时间<sup>[2-3]</sup>,也能加速正畸牙的移动而缩短正畸疗程<sup>[4]</sup>,但能否进一步缩短颌骨手术后正畸治疗的时间仍需进一步探讨。骨硬化蛋白(sclerostin, SOST)及骨形态蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)可通过调节成骨细胞及破骨细胞的增殖及分化,从而调控牙周骨组织改建<sup>[5-6]</sup>。本实验通过建立兔上颌骨截骨术后正畸牙移动实验动物模型,研究术后注射 rhPTH 对正畸牙移动速率的影响,观察移动过程中正畸牙近中牙周组织中破骨细胞的数量,以及检测 SOST 和 BMP-2 在正畸牙牙周组织中的表达,探讨 rhPTH 对正颌-正畸联合治疗中正畸牙移动的调控机制。

## 1 材料与方法

本实验已获得贵州医科大学动物实验动物伦理学委员会批准同意(批准号:1412051),动物合格证号为 SCXK(渝)2007-0005。

### 1.1 实验动物及分组

选用 48 只 SPF 级成年新西兰大耳白雄兔,8~9 月龄,体重 2.5~3.0 kg,分笼饲养于贵州医科大学动物中心,常温分开圈养一周,每只兔子自由饮用标准颗粒兔料及自来水。将 48 只大耳白兔均行上颌骨前部截骨术及正畸牵引右上颌第一磨牙,术后随机分为对照组及实验组,每组 24 只。实验组给予隔日颈部皮下注射 rhPTH(1~34) 20 μg/kg(浓度为 500 μg/mL),对照组予以等量的生理盐水颈部皮下注射。

### 1.2 主要实验仪器及设备

慢速涡轮机(NSK,日本);手术器械(上海医疗器械有限公司,上海);磁力架(Life Technologies,美国);兔台(贵州医科大学动物实验中心,贵阳);微型钛钉钛板(慈北医疗器械有限公司,宁波);正畸测力器(圣玛科技有限公司,北京);正畸用镍钛螺旋弹簧(圣玛科技有限公司,北京);不锈钢游标卡尺(误差为 0.02 mm,圣玛科技有限公司,北京);热循环仪(BIO-RAD,美国);CFX96 qPCR 仪(BIO-RAD,美国);低温高速离心机(BIO-RAD,美国);台式低速离心机(安亭公司,上海);压力蒸汽灭菌器(上海圣科实验设备有限公司);超净工作台(苏洁净化设备公司,苏州);石蜡组织切片机(Leica,

德国);DME 型光学显微镜(Leica,德国);微量加样器(Eppendorf,德国)。

### 1.3 主要试剂和材料

rhPTH(1~34)(Tocris,英国);苏木精、伊红(南京建成科技有限公司);免疫组化试剂盒、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)试剂盒(贵州省鼎国生物有限公司);RNA 磁珠提取试剂盒(Life Technologies,美国);LightCycler 480 SYBR Green I Master, cDNA transcript kit、Proteinase K(Roche,美国);Rabbit Anti-SOST、Rabbit Anti-BMP-2(武汉博士德生物工程有限公司);微型钛钉钛板(宁波慈北医疗器械有限公司)。荧光定量 PCR(fluorescence quantitative PCR, qPCR)引物甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、SOST、BMP-2 均由南京金斯瑞生物科技有限公司设计及合成(表 1)。

表 1 引物基因序列

| 引物    | 序列(5'-3')                   |
|-------|-----------------------------|
| SOST  | 上游: TGACGCCACGGAAGTTATCC    |
|       | 下游: CTTTGGTCTCGAAGGGGTGG    |
| BMP-2 | 上游: GGGGTGAACGACTGGATTGT    |
|       | 下游: GTCTGCACGATGGCATGCTTAGT |
| GAPDH | 上游: TCTGGCAAAGTGGATGTTGT    |
|       | 下游: GTGGGTGGAATCATACTGGA    |

### 1.4 建立兔上颌前部截骨术及右上颌正畸移动牙动物模型

1.4.1 术中注意事项 因考虑在截骨术后再安装正畸装置的过程中,撑开兔上颌骨时若用力过猛会使上颌骨断端移位,影响实验结果,因此先安装正畸装置后再行上颌骨截骨术。

1.4.2 建立正畸牙移动模型 以 3%戊巴比妥钠溶液 1 mL/kg 经耳缘静脉注射,术中维持良好镇静状态。麻醉生效后,将兔固定于实验动物手术台上,取仰卧位,撑开上颌,以上门齿为整体共同作为右上颌第一磨牙(正畸移动牙)的支抗牙,通过镍铬拉簧(直径 1 mm)连接,调节拉簧拉力约 80 g,牵引右上颌第一磨牙向近中移动(图 1)。



图 1 兔右上颌骨第一磨牙近中正畸移动模型

1.4.3 建立上颌前部截骨术模型 正畸装置安装后将白兔头偏向一侧。术区备皮,并给予手术局部浸润麻醉,常规消毒铺巾,行右侧上颌骨前缘平行于鼻腔下缘切开术,长度约

2.5 cm,钝性分离皮下组织直至显露右上颌骨前体外侧壁,用慢速涡轮机在上颌骨前区切牙至第一磨牙颌骨中部制作一垂直上颌骨下缘的骨折线约 0.5 cm,而后将骨折线转向平行于鼻腔低至上颌骨前缘截断上颌骨前部,用微型钛板固定上颌骨前部及后部的骨折断端,生理盐水冲洗后严密缝合切口。同法行左侧上颌前部截骨术,使骨折断端在鼻腔前方下端相连接(图 2)。为使兔术后正常存活,术中应注意勿损伤及截断鼻中隔。术后 5 日每日给予青霉素 80 万 U 肌内注射预防感染,并每日给予创口换药至创口愈合。

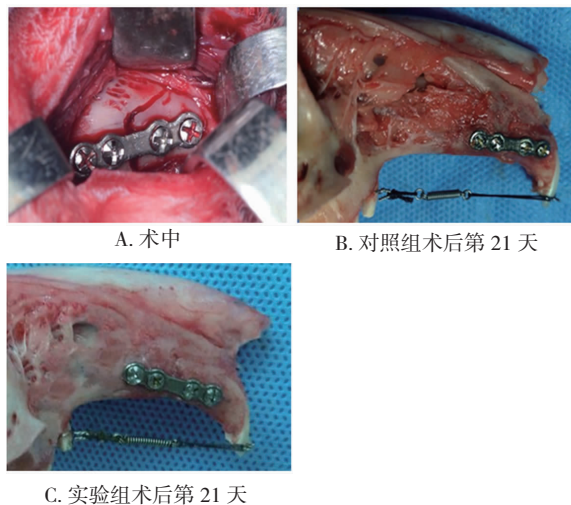


图 2 兔上颌前部截骨术设计

### 1.5 测量右上颌第一磨牙向近中移动距离

各组实验动物在正颌术后正畸牵牙第 5、7、14、21 天麻醉后每个时间段各处死 6 只,完整取出上颌骨,为避免因上颌骨右侧上颌第一磨牙至右侧上颌中切牙之间的距离因术后左侧变长或坚强内固定(rigid internal fixation, RIF)固定不牢靠导致变短,因此游标卡尺测量上颌第一磨牙的远中面牙槽嵴顶与上颌第二磨牙的近中面牙槽嵴顶的距离即为正畸牙的移动距离,连续测量 3 次,取平均值。

### 1.6 标本获取及处理

各组在处死的 6 只实验动物中,截取其中 3 只兔子的右上颌第一磨牙及周围牙周组织,20% 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)脱钙至用大头针针刺无阻力。脱钙完成后,包埋制作成蜡块备用。另 3 只凿取右上颌第一磨牙近中压力侧中上 1/3 牙槽骨,完全浸泡于 RNA later 液,于 4 °C 冰箱放置 24 h 后, -80 °C 冰箱保存备用。

### 1.7 牙周组织形态学观察

通过 HE 染色观察正畸牙近中压力侧牙周组织中上 1/3 区域组织形态学变化。抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)染色观察并计数破骨细胞。用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件计算正畸牙近中压力侧牙周组织中上 1/3 破骨细胞的数目,每张切片选 3 个视野,取其平均值为该切片破骨细胞数目值。

### 1.8 免疫组织化学检测

免疫组织化学检测压力侧牙周组织中上 1/3 的 SOST 和 BMP-2 蛋白表达。每张切片选择 3 个视野,摄像后存于 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统中,计算并比较各组近中压力侧 SOST 和 BMP-2 的蛋白平均光密度值(integral optical density, IOD)。

### 1.9 实时定量 PCR 检测

检测正畸牙近中压力侧牙周组织中上 1/3 的 SOST mRNA 和 BMP-2 mRNA 表达。截取正畸牙近中压力侧牙周组织中上 1/3 处体积约 2 mm × 2 mm × 2 mm 大小的牙槽骨组织,在液氮中磨碎后取约 1 mm<sup>2</sup> 组织,按磁珠法说明书提取总 RNA 约 13 μL,逆转录成 cDNA, -20 °C 保存。取上下游引物各 1 μL, cDNA 模板 1 μL 混合于反应管,添加 5 μL 荧光染料 SYBR Green I Master,加双蒸水补成 10 μL 反应体系。将所有反应管放入热循环仪中(BIO-RAD),设定热循环仪反应条件(95 °C 5 min, 95 °C 10 s, 58 °C 20 s, 72 °C 30 s, 45 个循环)。以对照组为准,采用相对定量 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法检测标本中 SOST mRNA 和 BMP-2 mRNA 相对内参基因的量。

### 1.10 统计学处理

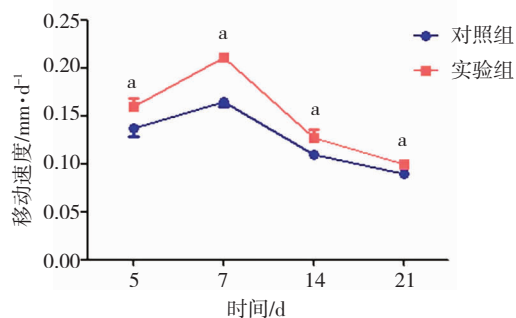
应用 SPSS 21.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料行单因素方差分析,结果用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

本研究成功建模 48 只兔子,所有动物术后当天及第 1 天鼻腔分泌物增加并且不能正常进食饮水,术后第 2 天开始逐渐恢复正常饮食。术后第 3 天术区创口愈合良好,鼻腔分泌物减少,呼吸正常。处死后见上颌前部截骨术区属于正常愈合过程,术后第 21 天各组截骨线均愈合完全。

### 2.1 正畸牙移动速度的比较

术后在正畸牵引的第 5、7、14 和 21 天内实验组右上颌第一磨牙运动速度均明显快于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),并且在第 7 天内达到最快(图 3)。



注:a,实验组与对照组比较, $P<0.05$

图 3 不同时间段牙齿移动速度的比较



## 2.2 HE 染色观察结果

实验组及对照组的正畸牙近中压力侧牙周组织中上 1/3 均存在活跃的骨吸收反应。在牵引第 5 天,实验组及对照组均可见破骨陷窝形成,实验组可见牙槽骨已出现蚕食状骨吸收,且可见类似破骨细胞的多核细胞于破骨陷窝内。在牵引第 7 天,实验组及对照组牙槽骨均明显呈蚕食状吸收,破骨陷窝开始出现融合,而实验组明显可见破骨陷窝内的类似破骨细胞的多核细胞较对照组的。在牵引第 14 天,破骨细胞活性仍然活跃,骨小梁排列紊乱,周围可见少量类似成骨细胞的梭形细胞排列;在牵引第 21 天,破骨细胞及破骨陷窝减少,可见大量类似成骨细胞的梭形细胞排列在新生骨小梁周围(图 4)。

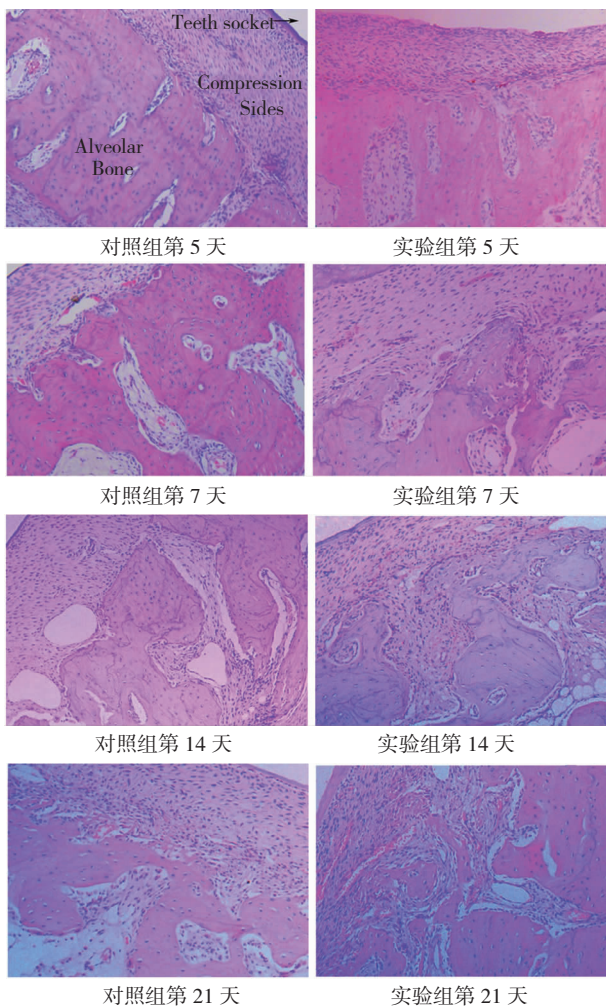
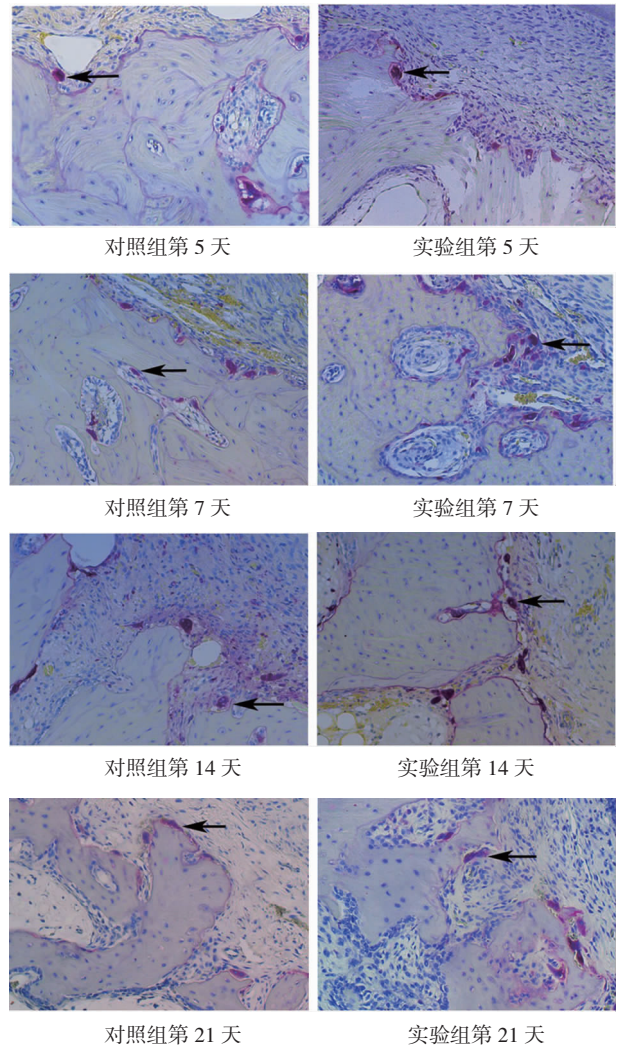


图 4 术后各时期正畸牙压力侧牙周组织的组织形态学观察 (100×)

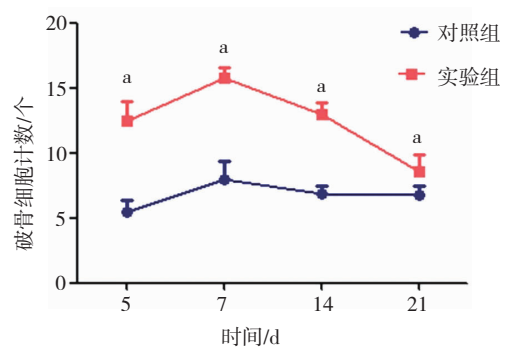
## 2.3 TRAP 染色破骨细胞计数观察结果

实验组及对照组的正畸牙近中压力侧牙周组织中上 1/3 破骨细胞阳性染色定位于胞浆呈红色或深红色颗粒(图 5),且实验组破骨细胞数目明显多于对照组( $P<0.05$ ),2 组同时达到第 7 天达到峰值(图 6)。



注:破骨细胞阳性染色定位于胞浆,呈红色或深红色颗粒,图中黑色箭头标注为所观察到的破骨细胞

图 5 术后各时期正畸牙压力侧牙周组织 TRAP 染色(200×)



注:a,实验组与对照组比较, $P<0.05$

图 6 不同时期各组正畸牙压力侧破骨细胞比较

## 2.4 免疫组化染色观察结果

2.4.1 免疫组化染色显示 SOST 阳性表达定位于牙周组织成骨细胞、骨细胞的胞浆内(图 7)。正畸牙牵引至第 7 天时,压力侧牙槽骨中 SOST 的平均光密度值(optical density, OD)



达到最大。实验组染色强度高于对照组,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),如图 8 所示。

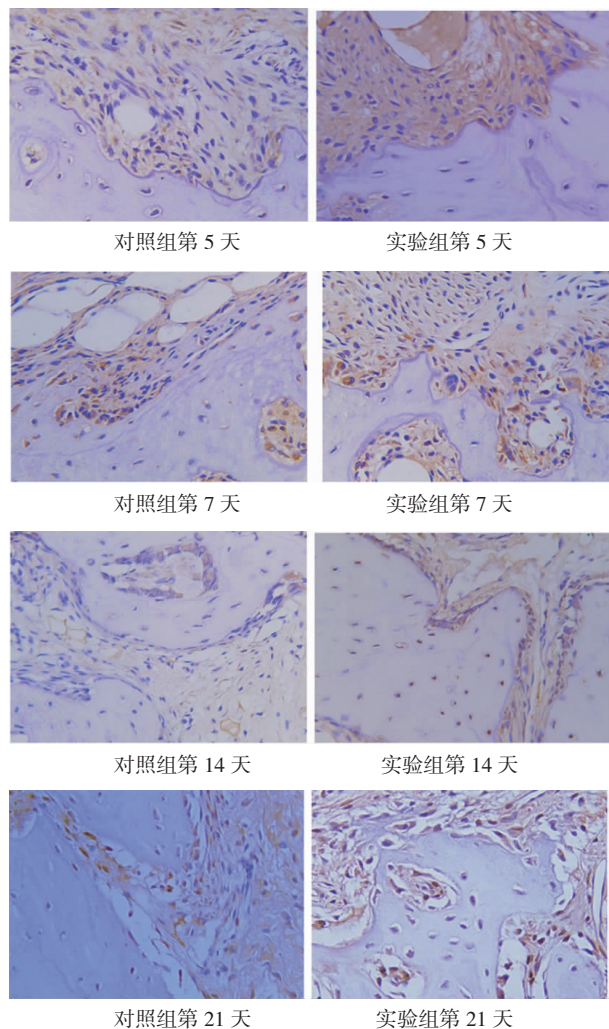
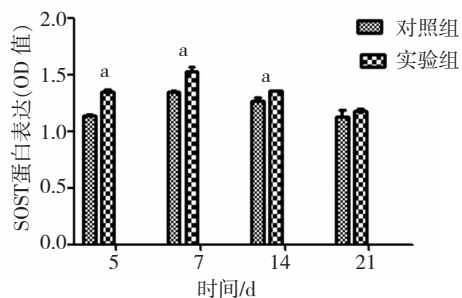


图 7 术后各时期正畸牙压力侧牙周组织的 SOST 蛋白表达 (400×)



注:a,实验组与对照组比较, $P<0.05$

图 8 各组不同时期正畸牙压力侧牙周组织 SOST 蛋白表达的比较

2.4.2 免疫组化染色显示 BMP-2 阳性表达定位于新生骨小梁周围的成骨细胞胞浆内(图 9)。正畸力牵引过程中,实验组不同时间 BMP-2 的染色强度均低于对照组,在第 7 天及第 14 天时差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),如图 10 所示。

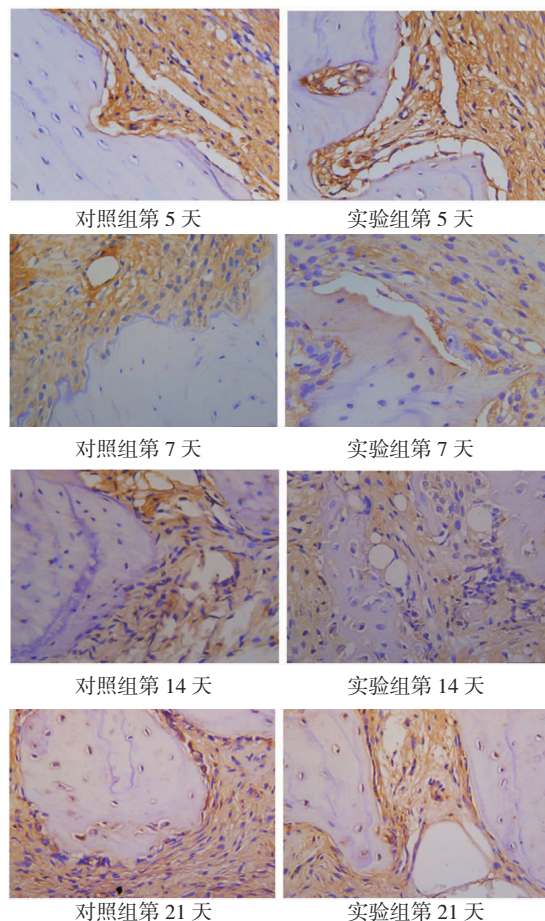
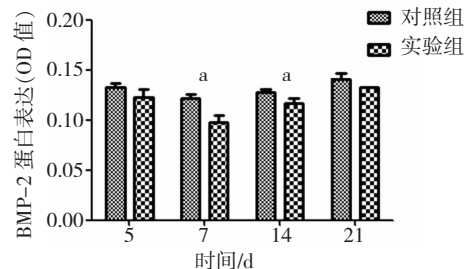


图 9 各组不同时期正畸牙压力侧牙周组织的 BMP-2 蛋白表达 (400×)

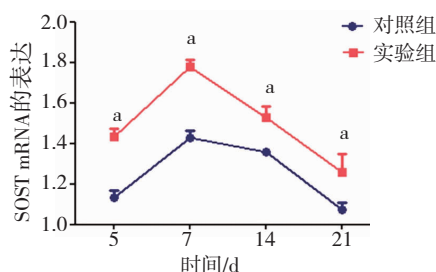


注:a,实验组与对照组比较, $P<0.05$

图 10 各组不同时期正畸牙压力侧牙周组织 BMP-2 蛋白表达的比较

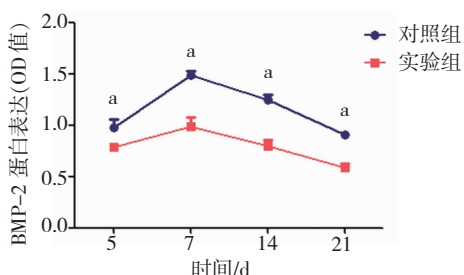
## 2.5 SOST/BMP-2 mRNA 在正畸牙近中压力侧牙槽骨中上 1/3 的表达

qPCR 检测显示 2 组正畸牙近中压力侧牙槽骨组织中的 SOST 和 BMP-2 的 mRNA 表达均在术后牵引持续增加,至第 7 天达最高峰,此后逐渐减少。但实验组 SOST mRNA 的表达高于对照组(图 11),差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。而压力侧 BMP-2 mRNA 的表达结果则相反,实验组 BMP-2 mRNA 表达低于对照组,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )(图 12)。这一结果反映了实验组正畸牙近中压力侧牙周组织中 SOST mRNA 的增加诱导了较活跃的破骨活性,而 BMP-2 mRNA 的下降导致了成骨活性的降低,一定程度上使实验组正畸牙移动速度快于对照组。



注:a,实验组与对照组比较, $P<0.05$

图 11 不同时期各组间正畸牙压力侧牙周组织 SOST mRNA 比较



注:a,实验组与对照组比较, $P<0.05$

图 12 各组不同时期正畸牙压力侧牙周组织的 BMP-2 mRNA 比较

### 3 讨论

缩短正颌-正畸联合治疗的时间,除了促进截骨术区的愈合,还需加速正畸牙的移动速度,减少正畸治疗的时间。正畸牙的移动速度取决于移动牙压力侧牙槽骨重建的速率。骨重建是破骨细胞吸收旧骨质及成骨细胞形成新骨的相互作用过程。同时 rhPTH 是一种对骨改建具有双重调节作用的激素。大量研究表明,PTH 可通过调节各种骨相关因子,如核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)、骨硬化蛋白(SOST)、骨形态蛋白-2(BMP-2)、骨保护蛋白(osteoprotegerin, OPG)、胰岛素样生长因子-1(insulin like growth factor-1, IGF-1)等,激活及协助 RANKL-RANK-OPG 信号通路、巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)信号通路及典型的 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路等,调节成骨细胞、破骨细胞及骨细胞的活性,从而影响骨改建的过程<sup>[7-8]</sup>。

Lossdörfer S 等<sup>[4]</sup>通过研究大鼠正畸牙移动模型发现,PTH 可通过调节 RANKL/OPG 的表达率来促进正畸牙周围骨组织的改建而有利于正畸牙的移动。Li F 等<sup>[9]</sup>则发现 PTH 可增加正畸牙近中压力侧骨组织中的 RANKL 及 IGF-1 的表达,导致破骨活性增加,加速正畸牙移动。本研究发现,实验组上颌前部截骨正颌术后给予 rhPTH,破骨细胞迅速分化、增

殖,并在第 7 天时达到峰值,这与对照组的骨改建趋势一致。但实验组的破骨陷窝明显较对照组多,破骨活性明显增加,骨小梁吸收明显,从而使正畸牙近中压力侧的骨改建速率明显加快。7 d 后,2 组的破骨速率开始减慢,成骨细胞开始活化,但实验组的破骨活性仍高于对照组,进一步使得实验组正畸牙的移动速率加快,说明上颌前部截骨术后给予 rhPTH 可增加破骨细胞的数量,促进骨改建的速率,增加正颌术后正畸牙的移动速率。

近年来在对骨改建的研究过程中,SOST 及 BMP-2 成为影响破骨细胞及成骨细胞活性的重要因素中的研究热点。SOST 主要是由成熟的骨细胞产生的糖蛋白,可与低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(low density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6)黏结,通过阻止典型的 Wnt 信号通路<sup>[10-12]</sup>对 BMP 家族中的多种蛋白具有负调节及强有力的拮抗作用,抑制成骨细胞的骨形成,促进破骨细胞增生,从而对骨量进行负调节。而在成骨细胞中 SOST 的表达受到 BMP-2 的诱导,并且与 RANKL/OPG 表达率有关<sup>[13]</sup>。BMP-2 属于转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )超家族的成员,是诱导成骨细胞分化及骨形成的关键自分泌和旁分泌生长因子。SOST 及 BMP-2 均可调节骨细胞产生 RANKL,诱导破骨细胞活性和骨吸收<sup>[14]</sup>。参与 BMP 介导的 SOST 表达调节也可能依赖经典的 BMP-Smad 信号通路<sup>[15]</sup>,可诱导 Smads 与 SOST 启动子的 CpG 区结合而改变 SOST 的表达<sup>[16]</sup>。本研究发现,在上颌前部截骨术后正畸牙移动的过程中,SOST 及 BMP-2 的表达趋势一致,均在术后正畸牙近中牙周组织中表达逐渐上升,术后第 7 天达到峰值,随后开始减弱。而在术后各时期实验组破骨活性增强的同时,SOST 蛋白及 mRNA 的表达也明显高于对照组,而实验组中利于成骨活性的 BMP-2 蛋白及 mRNA 表达则低于对照组。这进一步证明了 SOST 及 BMP-2 在调节破骨细胞及成骨细胞活性间起到了相互调控的作用,在正畸牙牵引前期破骨活性因子 SOST 的快速增长抑制了成骨活性因子 BMP-2 的表达;在后期骨改建修复平衡的过程中,BMP-2 的表达逐渐恢复增长,SOST 的表达则开始降低。

在 rhPTH 应用于成骨作用的实验中,Saidak Z 等<sup>[17]</sup>发现低剂量 PTH 可增加 Wisp1 及骨钙蛋白的表达,抑制骨细胞分泌 Mef2c 及 SOST,促进成骨细胞形成,从而增加骨形成。Giovannini AF 等<sup>[18]</sup>研究发现间歇应用 PTH 可诱导 BMP-2 表达而抑制 SOST 表达。Takase H 等<sup>[19]</sup>发现 PTH 可通过抑制成骨细胞中的甲羟戊酸激酶及 Rho 相关蛋白激酶的



活性,刺激 BMP-2 mRNA 的表达而刺激骨形成。Kempen DH 等<sup>[20]</sup>发现通过间歇应用 PTH 可以增强 BMP-2 诱导的成骨作用,其可与 LRP6 依赖通路中 LRP6/PTH1R 的内吞作用,增强 BMP-2 的信号表达,从而增强间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)向成骨细胞系的分化<sup>[21]</sup>。这些发现强调 PTH/PTHrR 信号传导在 PTH 对骨细胞的生成及骨合成代谢中起重要作用<sup>[22]</sup>。而 rhPTH 在正颌术后正畸力的作用下,使得正畸牙周围骨组织的骨代谢机制更为复杂。SOST 可能通过增强正畸牙压力侧牙周组织中 RANKL 的表达影响破骨细胞的形成及功能,与 BMP 家族蛋白结合抑制成骨细胞的活性,从而促进移动牙周围的骨重建<sup>[23]</sup>。本研究发现,在应用 rhPTH 的实验组中,术后各时期骨组织中 SOST 及 BMP-2 蛋白及 mRNA 的表达与对照组的比较差异性表达证明了 rhPTH 可能通过增加 SOST 的表达,降低 BMP-2 的表达,诱导破骨细胞增殖及分化,降低成骨活性,从而加速正畸牙近中压力侧骨代谢率。因此, rhPTH 加速正畸牙近中骨组织中的骨代谢机制除了受 RANKL/OPG 调控外,也可能是激活了由 SOST、BMP-2 等介导的 Wnt 或 BMP-Smad 信号通路改变骨代谢率。

综上所述, SOST 及 BMP-2 分别在破骨细胞及成骨细胞活性中起重要作用,并且在 rhPTH 促进正颌术后骨折愈合的同时, rhPTH 在局部可直接或间接调控 SOST 及 BMP-2 的表达,增强了局部正畸牙牙周组织压力侧破骨细胞的活性,抑制成骨细胞形成,加速骨改建过程,从而加速上颌骨截骨术后正畸牙的移动。但 rhPTH 如何进一步缩短正颌-正畸联合治疗的时间,以及其使用的剂量及周期,还需要更多的研究。

## 参 考 文 献

- [1] 陈小燕,唐正龙. 甲状旁腺激素在颌颌面骨再生研究中的应用进展[J]. 中华口腔医学杂志, 2016, 51(6): 379-382.
- [2] 安宁,李耀,唐正龙,等. 不同剂量甲状旁腺激素对下颌支截骨术后骨愈合的影响及其机制研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2018, 53(6): 413-418.
- [3] Campbell EJ, Campbell GM, Hanley DA. The effect of parathyroid hormone and teriparatide on fracture healing[J]. Expert Opin Biol Ther, 2015, 15(1): 119-129.
- [4] Lossdörfer S, Yildiz F, Gotz W, et al. Anabolic effect of intermittent PTH(1-34) on the local microenvironment during the late phase of periodontal repair in a rat model of tooth root resorption[J]. Clin Oral Invest, 2010, 14(1): 89-98.
- [5] Kuchler U, Schwarze UY, Dobsak T, et al. Dental and periodontal phenotype in sclerostin knockout mice[J]. Int J Oral Sci, 2014, 6(2): 70-76.
- [6] Harris SE, Rediske M, Neitzke R, et al. Periodontal biology; stem cells, Bmp2 gene, transcriptional enhancers, and use of sclerostin antibody and pth for treatment of periodontal disease and bone loss[J]. Cell Stem Cells Regen Med, 2017, 3(1): 113-124.
- [7] Murshid SA. The role of osteocytes during experimental orthodontic tooth movement; a review[J]. Arch Oral Biol, 2017, 73: 25-33.
- [8] Compton JT, Lee FY. A review of osteocyte function and the emerging importance of sclerostin[J]. J Bone Joint Surg Am, 2014, 96(19): 1659-1668.
- [9] Li F, Li G, Hu H, et al. Effect of parathyroid hormone on experimental tooth movement in rats[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2013, 144(4): 523-532.
- [10] Delgado-Calle J, Sato AY, Bellido T. Role and mechanism of action of sclerostin in bone[J]. Bone, 2017, 96: 29-37.
- [11] Diao X, Li Z, An B, et al. The microdamage and expression of sclerostin in peri-implant bone under one-time shock force generated by impact[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6508.
- [12] Li C, Wang W, Xie L, et al. Lipoprotein receptor-related protein 6 is required for parathyroid hormone-induced Sost suppression[J]. Ann N Y Acad Sci, 2016, 1364: 62-73.
- [13] Kim RY, Yang HJ, Song YM, et al. Estrogen modulates bone morphogenetic protein-induced sclerostin expression through the wnt signaling pathway[J]. Tissue Eng Part A, 2015, 21(13-14): 2076-2088.
- [14] Itoh K, Udagawa N, Katagiri T, et al. Bone morphogenetic protein 2 stimulates osteoclast differentiation and survival supported by receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand[J]. Endocrinology, 2001, 142(8): 3656-3662.
- [15] Delgado-Calle J, Arozamena J, Pérez-López J, et al. Role of BMPs in the regulation of sclerostin as revealed by an epigenetic modifier of human bone cells[J]. Mol Cell Endocrinol, 2013, 369(1-2): 27-34.
- [16] Papathanasiou I, Kostopoulou F, Malizos KN, et al. DNA methylation regulates sclerostin (SOST) expression in osteoarthritic chondrocytes by bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) induced changes in Smads binding affinity to the CpG region of SOST promoter[J]. Arthritis Res Ther, 2015, 17: 160.
- [17] Saidak Z, Le Henaff C, Azzi S, et al. Low-dose PTH increases osteoblast activity via decreased Mef2c/Sost in senescent osteopenic mice[J]. J Endocrinol, 2014, 223(1): 25-33.
- [18] Giovanini AF, Gohringer I, Tavella R, et al. Intermittent administration of PTH induces the expression of osteocalcin and BMP-2 on choroid plexus cells associated with suppression of sclerostin, TGF- $\beta$ -1, and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase[J]. Endocrine, 2018, 59(3): 685-689.
- [19] Takase H, Yano S, Yamaguchi T, et al. Parathyroid hormone up-regulates BMP-2 mRNA expression through mevalonate kinase and Rho kinase inhibition in osteoblastic MC3T3-E1 cells[J]. Horm Metab Res, 2009, 41(12): 861-865.
- [20] Kempen DH, Lu L, Hefferan TE, et al. Enhanced bone morphogenetic protein-2-induced ectopic and orthotopic bone formation by intermittent parathyroid hormone (1-34) administration[J]. Tissue Eng Part A, 2010, 16(12): 3769-3777.
- [21] Yu B, Zhao X, Yang C, et al. Parathyroid hormone induces differentiation of mesenchymal stromal/stem cells by enhancing bone morphogenetic protein signaling[J]. J Bone Miner Res, 2012, 27(9): 2001-2014.
- [22] Li JY, Walker LD, Tyagi AM, et al. The sclerostin-independent bone anabolic activity of intermittent PTH treatment is mediated by T-cell-produced Wnt10b[J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(1): 43-54.
- [23] Shu R, Bai D, Sheu T, et al. Sclerostin promotes bone remodeling in the process of tooth movement[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0167312.

(责任编辑:张辉洁)