

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2017.02.004

· 基础研究 ·

# 关节腔内早期注射阿仑膦酸钠对卵巢摘除大鼠髌突软骨下骨的影响

李婷<sup>1</sup>, 陈瞰<sup>1</sup>, 兰玲莉<sup>1</sup>, 任笑春<sup>1</sup>, 应彬彬<sup>2</sup>, 祝颂松<sup>1</sup>

1. 口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学华西口腔医院口腔颌面外科, 四川 成都(610041); 2. 宁波市第一医院口腔科, 浙江 宁波(315000)

**【摘要】** 目的 研究卵巢摘除的雌性大鼠, 关节腔内早期注射阿仑膦酸钠对髌突软骨下骨的影响。方法 将60只雌性SD大鼠随机分成5组: 卵巢切除后使用空白载体治疗组、术后早期注射阿仑膦酸钠治疗组、术后4周(晚期)注射组、假手术后使用空白载体治疗组和正常对照组。利用Micro-CT、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)染色以及实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)来检测髌突软骨下骨的变化。**结果** 早期注射阿仑膦酸钠可以明显改善软骨下骨的微观结构, 与晚期注射组相比, 主要表现在其具有更高的骨体积比( $46.4 \pm 2.5$  vs  $37.5 \pm 2.1$ ;  $P=0.038$ )、骨小梁厚度( $47.3 \pm 1.7$  vs  $34.6 \pm 1.4$ ;  $P=0.029$ )、骨小梁数目( $8.5 \pm 0.6$  vs  $6.2 \pm 0.3$ ;  $P=0.041$ )及更少的骨小梁分离( $30.2 \pm 1.6$  vs  $37.7 \pm 2.6$ ;  $P=0.034$ )。与其他3组比较, 早期注射组大鼠软骨下骨中的TRAP阳性细胞更少( $4.2 \pm 0.2$  vs  $6.8 \pm 0.4$ ;  $P=0.019$ )以及OPG/RANKL比例更高( $0.38 \pm 0.01$  vs  $0.25 \pm 0.03$ ;  $P=0.043$ )。**结论** 关节腔内早期注射阿仑膦酸钠可以有效改变软骨下骨的微观结构, 减轻髌突软骨的病变程度。

**【关键词】** 软骨下骨; 颞下颌关节; 骨质疏松; 卵巢切除; 给药

**【中图分类号】** R782 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2017)02-087-06

**【引用著录格式】** 李婷, 陈瞰, 兰玲莉, 等. 关节腔内早期注射阿仑膦酸钠对卵巢摘除大鼠髌突软骨下骨的影响[J]. 口腔疾病防治, 2017, 25(2): 87-92.

**Effect of early intra-articular injection of alendronate in reducing subchondral bone loss in rat mandibular condyle after ovariectomy** LI Ting<sup>1</sup>, CHEN Kan<sup>1</sup>, LAN Ling-li<sup>1</sup>, REN Xiao-chun<sup>1</sup>, YING Bin-bin<sup>2</sup>, ZHU Song-song<sup>1</sup>.

1. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, West Stomatological Hospital of China, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Stomatology, Ningbo First Hospital, Ningbo 315000, China

Corresponding author: ZHU Song-song, Email: zss\_1977@163.com, Tel: 0086-28-85502334

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of intra-articular injection of alendronate on the mandibular condyle in ovariectomized rats. **Methods** Sixty female rats were randomly divided into five groups: ovariectomy with vehicle treatment alone, early alendronate treatment at ovariectomy, late alendronate treatment at 4 weeks after ovariectomy, sham-operation with vehicle treatment, and the normal control rats. The changes in subchondral bone were evaluated by micro-computed tomography (Micro-CT), tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining and real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Compared with late alendronate treatment, early alendronate treatment improved microstructural properties of the subchondral bone, with higher bone volume ratio ( $46.4 \pm 2.5$  vs  $37.5 \pm 2.1$ ;  $P=0.038$ ), increased trabecular thickness ( $47.3 \pm 1.7$  vs  $34.6 \pm 1.4$ ;  $P=0.029$ ), elevated trabecular number ( $8.5 \pm 0.6$  vs  $6.2 \pm 0.3$ ;  $P=0.041$ ) and lower trabecular separation ( $30.2 \pm 1.6$  vs  $37.7 \pm 2.6$ ;  $P=0.034$ ). Fewer TRAP-positive cells ( $4.2 \pm 0.2$  vs  $6.8 \pm 0.4$ ;  $P=0.019$ ) and a higher OPG/RANKL ratio ( $0.38 \pm 0.01$  vs  $0.25 \pm 0.03$ ;  $P=0.043$ ) in the sub-

**【收稿日期】** 2016-10-18; **【修回日期】** 2016-11-11

**【基金项目】** 浙江省自然科学基金(LY12H14002), 国家自然科学基金(81271170)

**【作者简介】** 李婷, 研究生在读, Email: 337151218@qq.com

**【通讯作者】** 祝颂松, 教授, 博士, Email: zss\_1977@163.com

chondral bone were observed in the animals with early treatment group compared to late treatment or ovariectomy/vehicle treatment group. **Conclusion** Our results suggest the therapeutic potential of intra-articular alendronate injection in the treatment of osteoporosis-associated temporomandibular disorders.

**【Key words】** Subchondral bone; Temporomandibular joint; Osteoporosis; Ovariectomy; Drug delivery

骨质疏松主要是一种以骨量减少及骨组织结构退化为主要特征的系统性疾病<sup>[1]</sup>。对于罹患骨质疏松的患者,其颞下颌关节中髁突软骨下骨的代谢能力会明显下降<sup>[2-3]</sup>。而软骨下骨结构的完整性在维持关节机械稳定性方面发挥着重要作用<sup>[4-6]</sup>。临床资料显示,相较于中老年男性,该年龄段的女性患髁突软骨退化及颞下颌关节紊乱病的机会更多<sup>[7-9]</sup>,这提示绝经后激素水平变化导致的骨质疏松与颞下颌关节紊乱病有一定的相关性。但是,在骨质疏松的进展过程中,如何通过有效的手段来防止髁突软骨及软骨下骨的改变尚缺乏相关研究。阿仑膦酸钠是一种具有防止骨缺失能力的含氮双磷酸盐。既往研究表明,阿仑膦酸钠对于实验性骨关节炎有较好的软骨保护作用<sup>[10-12]</sup>。但有研究表明,全身使用阿仑膦酸钠可能引起腭骨的缺血性坏死<sup>[13]</sup>。最近研究发现,二磷酸盐具有软骨保护和抗炎作用<sup>[14-17]</sup>。因此,本文选择关节内早期注射阿仑膦酸钠,研究其对于髁突软骨下骨的影响,以期为临床治疗由骨质疏松引起的颞下颌关节紊乱病提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物实验和分组

选取60只7月龄雌性SD大鼠随机分为5组:卵巢切除后使用空白载体治疗组( $n=12$ ),卵巢切除后早期注射(卵巢切除术当天)阿仑膦酸钠治疗组( $n=12$ ),卵巢切除后4周注射阿仑膦酸钠治疗组( $n=12$ ),假手术后使用空白载体治疗组( $n=12$ )以及正常对照组( $n=12$ )。动物实验由四川大学动物实验伦理委员会审核通过。

在全麻下手术摘除雌性SD大鼠双侧卵巢<sup>[9]</sup>。在外眦和耳屏之间(颞下颌关节囊的位置),做局部小切口以注射阿仑膦酸钠(Novartis Pharma Stein AG, Switzerland),针头从后上方避开关节盘插入关节下腔<sup>[18]</sup>。选择卵巢摘除术后4周作为早期干预和晚期干预的分界点<sup>[19]</sup>。早期注射组在卵巢摘除当天进行阿仑膦酸钠注射,晚期注射组在卵巢

摘除后4周进行阿仑膦酸钠注射。首次注射之后,连续4周每周注射含0.1 mg阿仑膦酸钠的生理盐水0.02 mL(5 mg/mL)<sup>[20]</sup>。空白载体治疗组注射等量的生理盐水。在术后第10周和第16周分别处死6只动物。

### 1.2 Micro-CT扫描

使用Micro-CT(m-CT 80 Scanner, Scanco Medical, Switzerland)对髁突进行扫描,参数设置如下:电压55 kV,曝光时间500 ms,电流145 mA。将扫描得到的体素边长为18 mm且分辨率为1 024 × 1 024的双值图像进行三维重建以便于定性及定量分析(阈值250~700)。定义两个样本区:①软骨下骨区,即连接软骨的部分;②中心区,位于软骨下区的下方为研究区域,并使用以下参数:骨体积比(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁计数(Tb.N)、骨小梁间隙(Tb.Sp)描述软骨下骨的微观结构。

### 1.3 抗酒石酸酸性磷酸酶染色

大鼠颞下颌关节标本脱钙后行石蜡包埋、切片,每隔5片进行HE染色或抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)(Sigma-Aldrich, USA)染色。同时每个样本选取3个连续切片,对软骨下区进行TRAP染色,进行TRAP阳性细胞计数<sup>[6]</sup>。

### 1.4 实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)

使用Trizol(Invitrogen Life Technologies, USA)分离软骨下骨的总RNA,使用PrimeScript RT Reagent Kit试剂盒(Takara Bio, Japan)进行逆转录,使用oligo(dT)15(Takara Bio, Japan)进行链的合成。引物对如下:5'-GAAGATCAGCCCAGACGAGATT-3'及5'-TGCTCGCTGGTTTGCA-3'用于骨保护蛋白(osteoprotegerin, OPG);5'-AGCGCTTCTCAGGAGTTCCA-3'及5'-GCCGGCCACATCGA-3'用于核因子-κB受体激活物配体(receptor activator of NF-κB ligand, RANKL);5'-TATGACTCTACCCACGGCAAGT-3'及5'-ATACTCAGCACCAGCATCACC-3'用于三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-

3-phosphatedehydrogenase, GAPDH)。使用 GAPDH mRNA 校正基因表达水平。

### 1.5 统计学分析

所有数据应用 SPSS 13.0 统计学软件包进行统计分析,对各个分组及测量数据进行统计学描述,采用单因素方差分析及 Fisher's 最小显著差数法,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Micro-CT 结果

Micro-CT 扫描结果显示,在正常组及假手术组间未观察到明显差异,这意味着生理盐水不会对检测指标产生影响,因此可以排除载体应用和手术应激等潜在实验干扰因素对实验结果的影响。表 1 及图 1 展示了不同组别大鼠髌突微结构在阿仑膦酸钠注射后的改变。与假手术组相比,卵巢切除术后第 10 周的空白组大鼠软骨下骨变化较为明显:骨体积比、骨小梁厚度及骨小梁数目减少,骨小梁间隙增大,并且这种变化趋势在术后第 16 周更加显著。尽管各项指标尚未达到假手术组的正常值,早期关节内注射阿仑膦酸钠组则表现为骨体积比、骨小梁厚度及骨小梁计数增加,骨小梁间隙减小。然而晚期注射阿仑膦酸钠的大鼠与空白组相比,去卵巢术后第 10 周及第 16 周软骨下骨均未观察到明显差异。

### 2.2 抗酒石酸酸性磷酸酶染色结果

在软骨下骨区域中,假手术和正常对照组观察到少量 TRAP 阳性细胞,在卵巢摘除术后第 10 周和第 16 周的动物中 TRAP 阳性细胞数目增加。早期阿仑膦酸钠治疗会显著减少 TRAP 阳性细胞的增加。然而,在卵巢摘除术后,在晚期阿仑膦酸钠治疗组和空白载体治疗组之间并未观测到显著的 TRAP 阳性细胞数目差异。与此同时,在对中间区域 TRAP 阳性细胞数目的观测中,未在卵巢摘除术后的大鼠、早期注射治疗组、晚期注射治疗组与空白载体治疗组间观测到显著差异(图 2 和表 2)。

### 2.3 qRT-PCR 结果

通过表 3 中数据分析,卵巢摘除术后空白载体组和正常空白对照组大鼠相比,所有卵巢摘除后的大鼠软骨下骨的 OPG 和 RANKL mRNA 表达都有所增加。然而,RANKL mRNA 的表达增加要比 OPG mRNA 表达的增加更加明显,这也导致了卵巢摘除术后空白载体组中软骨下骨 OPG/RANKL 比

值的下降。与晚期注射组或是空白载体组相比,早期注射组的 OPG mRNA 表达水平没有显著改变,但 RANKL mRNA 表达水平显著降低,导致该组在软骨下骨中 OPG/RANKL 的比值相对升高,尽管其水平仍然低于正常对照组 OPG/RANKL 水平。在晚期注射组与空白载体组间 OPG 或 RANKL mRNA 的表达水平并没有显著差异。

## 3 讨论

Hayami 等<sup>[11]</sup>研究发现阿仑膦酸钠可通过抑制大鼠膝关节中软骨下骨改建从而有效减缓骨关节炎的进展。之前的研究也发现早期使用阿仑膦酸钠干预可完全阻止卵巢切除手术导致的软骨下骨吸收和软骨表面结构改变<sup>[10]</sup>。然而在本研究中,早期阿仑膦酸钠干预仅对软骨下骨起到了部分保护作用,这意味着关节下骨对全身使用及关节内局部注射阿仑膦酸钠也许具有反应差异性,因此产生了不同的骨改建情况。

实验动物去卵巢后,其软骨下骨的骨量、骨结构及骨改建在阿仑膦酸钠晚期干预组和空白组间未观察到明显差异,说明阿仑膦酸钠的晚期干预对软骨下骨没有保护作用。然而,先前有研究观察卵巢切除术后实验动物胫骨近端,发现使用唑来膦酸晚期干预效果不如早期干预,但其具有骨量维持及结构保护作用<sup>[21]</sup>。之前笔者研究发现去卵巢术后 8 周开始进行阿仑膦酸钠晚期干预可以抑制骨量流失,对软骨下骨有稳定作用<sup>[10]</sup>。综上,对去卵巢术引发的骨量流失、骨质疏松,选择抗骨吸收药品的治疗时机很关键,一般早期干预比晚期干预效果更佳。

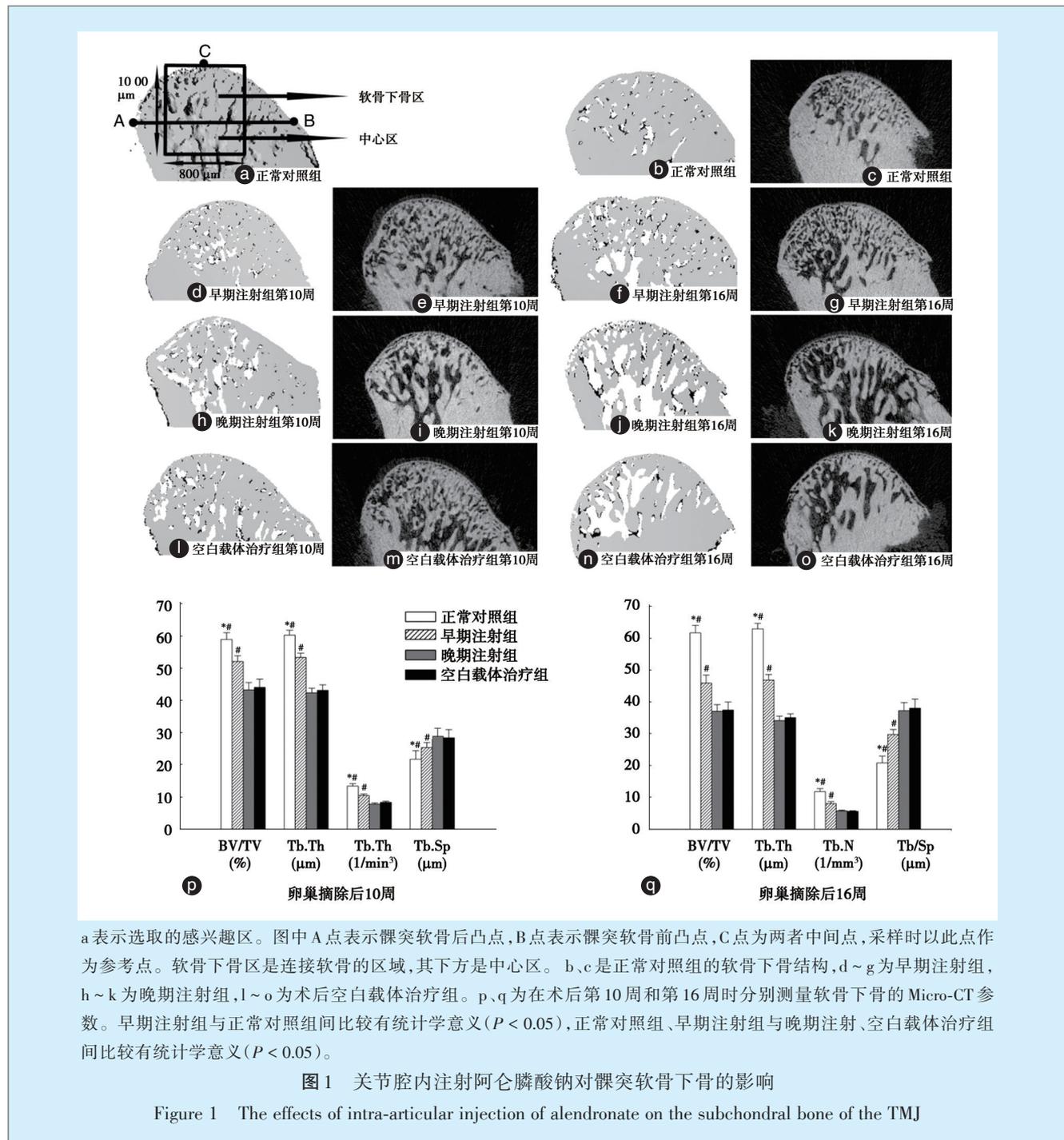
研究还发现阿仑膦酸钠早期治疗会使软骨下骨中 TRAP 染色阳性细胞数目减少,意味着与晚期治疗及空白组相比,早期治疗降低了软骨下骨的骨转换率。众所周知,OPG/RANKL 系统与绝经后骨质疏松及其他代谢类骨疾病有很强相关性<sup>[22-23]</sup>。与其余两组相比,早期治疗组的 OPG/RANKL 基因表达比值明显上升。既往研究发现阿仑膦酸钠可通过调控 OPG/RANKL 系统抑制破骨细胞生成<sup>[10]</sup>。这些研究结果可在一定程度解释阿仑膦酸钠早期干预可以减少动物的 TRAP 染色阳性的细胞数目。此外,本研究显示阿仑膦酸钠早期干预与晚期干预相比,RANKL 表达明显下调但是 OPG 表达未见明显变化,说明阿仑膦酸钠早期

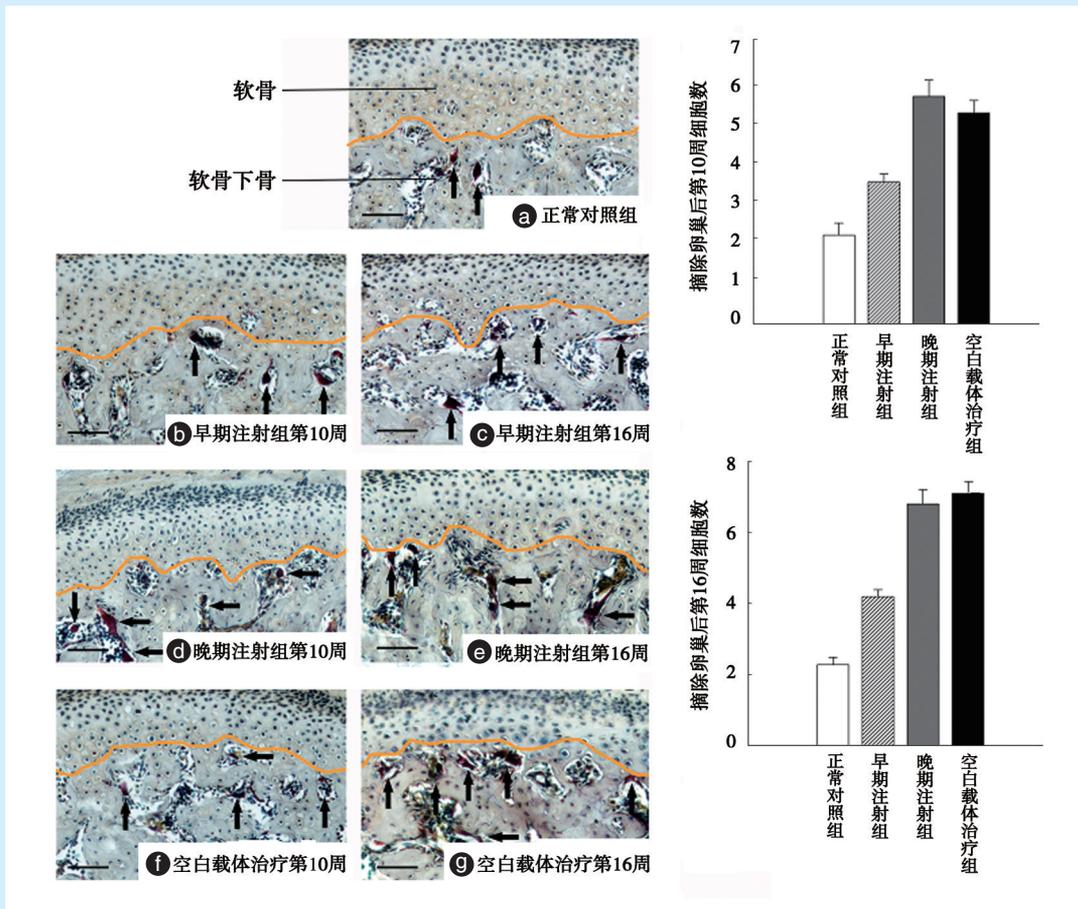
表1 髁突软骨下骨的三维微结构属性

Table 1 Three-dimensional microarchitectural properties of subchondral bone in the mandibular condyle

分组		正常对照组	$P_1$ 值	早期注射组	$P_2$ 值	晚期注射组	$P_3$ 值	术后空白载体组
第10周	BV/TV (%)	59.3 ± 2.1	0.043	52.4 ± 1.8	0.033	43.6 ± 2.3	0.32	44.4 ± 2.6
	Tb/Th (μm)	60.6 ± 1.5	0.039	53.7 ± 1.3	0.031	42.7 ± 1.4	0.27	43.5 ± 1.7
	Tb.N (1/mm <sup>3</sup> )	13.7 ± 0.8	0.021	10.8 ± 0.5	0.025	8.1 ± 0.4	0.15	8.7 ± 0.3
	Tb.Sp (μm)	22.1 ± 2.6	0.042	25.7 ± 1.6	0.043	29.2 ± 2.5	0.26	28.7 ± 2.6
第16周	BV/TV (%)	62.1 ± 2.4	0.021	46.4 ± 2.5	0.038	37.5 ± 2.1	0.45	37.9 ± 2.5
	Tb/Th (μm)	63.4 ± 1.7	0.027	47.3 ± 1.7	0.029	34.6 ± 1.4	0.25	35.5 ± 1.2
	Tb.N (1/mm <sup>3</sup> )	12.3 ± 0.9	0.039	8.5 ± 0.6	0.041	6.2 ± 0.3	0.21	6.1 ± 0.2
	Tb.Sp (μm)	21.3 ± 2.1	0.026	30.2 ± 1.6	0.034	37.7 ± 2.6	0.17	38.5 ± 2.8

注  $P_1$ 值: 正常对照组 vs 早期注射组;  $P_2$ 值: 早期注射组 vs 晚期注射组;  $P_3$ 值: 晚期注射组 vs 术后空白载体组。





软骨与软骨下区以黄色线分割,箭头所指表示TRAP阳性细胞。a表示正常对照组。b、c表示早期注射组。d、e表示晚期注射组。f、g表示空白载体治疗组。在术后第10周和第16周时分别检测每组的TRAP染色阳性细胞数。早期注射组与正常对照组间比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),正常对照组、早期注射组与晚期注射、空白载体治疗组间比较有统计学意义( $P < 0.05$ )。

图2 软骨下骨中TRAP染色阳性细胞数

Figure 2 TRAP-positive cells in the subchondral bone

表2 髌突软骨下骨中TRAP染色阳性细胞数目

Table 2 Number of TRAP-positive cells in the mandibular condyle

时间	正常对照	$P_1$ 值	早期注射组	$P_2$ 值	晚期注射组	$P_3$ 值	术后空白载体组
第10周	2.2 ± 0.3	0.033	3.5 ± 0.2	0.022	5.6 ± 0.4	0.16	5.2 ± 0.3
第16周	2.3 ± 0.2	0.017	4.2 ± 0.2	0.019	6.8 ± 0.4	0.13	7.1 ± 0.3

注  $P_1$ 值: 正常对照组 vs 早期注射组;  $P_2$ 值: 早期注射组 vs 晚期注射组;  $P_3$ 值: 晚期注射组 vs 术后空白载体组。

干预对OPG/RANKL的调控主要是通过下调RANKL实现的。

关节内药物注射是治疗大型关节病的一个常用方法<sup>[24-25]</sup>。现已证实,关节内注射双磷酸盐药物可以改善膝关节炎的患者的症状和功能。关节内

透明质酸被证实可以深入进软骨基质,并且可以有效改变软骨下骨的微观结构。这有可能是因为关节内的阿仑膦酸钠以相近的方式作用于软骨下骨。本实验结果也显示,早期和晚期阿仑膦酸钠治疗都没有影响到软骨下骨下面中心骨区域的骨微结构,这提示关节内阿仑膦酸钠治疗对软骨下骨的作用效果有限。

综上所述,早期阿仑膦酸钠治疗能减少卵巢摘除大鼠的软骨下骨的破坏程度,然而晚期阿仑膦酸钠治疗组没有这样的效果。这些发现提示在临床工作中对于绝经后妇女早期的颞下颌关节病,关节内阿仑膦酸钠可能具有一定的治疗性潜能,而早期干预是影响其是否充分发挥其治疗潜能的一个重要因素。

表3 髌突软骨下骨中OPG与RANKL mRNA表达水平及OPG/RANKL比  
Table 3 OPG and RANKL mRNA expression, as well as the OPG/RANKL ratio, in subchondral bone

分组		正常对照	$P_1$ 值	早期注射组	$P_2$ 值	晚期注射组	$P_3$ 值	术后空白载体组
第10周	OPG	1.0 ± 0.1	0.034	1.23 ± 0.2	0.150	1.3 ± 0.2	0.21	1.32 ± 0.3
	RANKL	1.0 ± 0.1	0.021	3.2 ± 0.3	0.034	5.4 ± 0.2	0.24	5.5 ± 0.3
	Ratio	1.0 ± 0.1	0.026	0.38 ± 0.02	0.042	0.24 ± 0.03	0.42	0.24 ± 0.02
第16周	OPG	1.0 ± 0.1	0.027	1.3 ± 0.1	0.160	1.4 ± 0.1	0.14	1.32 ± 0.1
	RANKL	1.0 ± 0.1	0.018	3.4 ± 0.2	0.035	5.7 ± 0.3	0.36	5.8 ± 0.2
	Ratio	1.0 ± 0.1	0.027	0.38 ± 0.01	0.043	0.25 ± 0.03	0.18	0.23 ± 0.04

注  $P_1$ 值: 正常对照组 vs 早期注射组;  $P_2$ 值: 早期注射组 vs 晚期注射组;  $P_3$ 值: 晚期注射组 vs 术后空白载体组。OPG: 骨保护蛋白; RANKL: 核因子- $\kappa$ B受体激活物配体。

参考文献

[1] Lerner UH. Bone remodeling in post-meno-pausal osteoporosis[J]. J Dent Res, 2006, 85(11): 584-595.

[2] Zhang J, Jiao K, Zhang M, et al. Occlusal effects on longitudinal bone alterations of the temporomandibular joint[J]. J Dent Res, 2013, 92(3): 253-259.

[3] Tanaka M, Ejiri S, Nakajima M, et al. Region-specific bone mass changes in rat mandibular condyle following ovariectomy[J]. J Dent Res, 2000, 79(11): 1907-1913.

[4] Embree M, Ono M, Kilts T, et al. Role of subchondral bone during early-stage experimental TMJ osteoarthritis[J]. J Dent Res, 2011, 90(11): 1331-1338.

[5] Zhu S, Hu J, Zou S, et al. Biomechanical properties of the condyle created by osteodistraction[J]. J Dent Res, 2008, 87(5): 490-494.

[6] Burr DB, Gallant MA. Bone remodelling in osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2012, 8(11): 665-673.

[7] Hiltunen K, Schmidt-Kaunisaho K, Nevalainen J, et al. Prevalence of signs of temporomandibular disorders among elderly inhabitants of Helsinki, Finland[J]. Acta Odontol Scand, 1995, 53(1): 20-23.

[8] Nordstrom G, Eriksson S. Longitudinal changes in craniomandibular dysfunction in an elderly population in northern Sweden[J]. Acta Odontol Scand, 1994, 52(5): 271-279.

[9] 李雪雪, 张东林, 汪萌芽. 前伸头位和颞下颌关节紊乱病的关系[J]. 口腔疾病防治, 2016, 24(2): 118-121.

[10] Zhu S, Chen K, Lan Y, et al. Alendronate protects against articular cartilage erosion by inhibiting subchondral bone loss in ovariectomized rats[J]. Bone, 2013, 53(2): 340-349.

[11] Hayami T, Pickarski M, Wesolowski GA, et al. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model[J]. Arthritis Rheum, 2004, 50(4): 1193-1206.

[12] Shirai T, Kobayashi M, Nishitani K, et al. Chondroprotective effect of alendronate in a rabbit model of osteoarthritis[J]. J Orthop Res, 2011, 29(10): 1572-1577.

[13] McClung M, Harris ST, Miller PD, et al. Bisphosphonate therapy for osteoporosis: benefits, risks, and drug holiday[J]. Am J Med, 2013, 126(1): 13-20.

[14] Cocco R, Tofi C, Fioravanti A, et al. Effects of clodronate on synovial fluid levels of some inflammatory mediators, after intra-articular administration to patients with synovitis secondary to knee osteoarthritis[J]. Boll Soc Ital Biol Sper, 1999, 75(11-12): 71-76.

[15] Ceponis A, Waris E, Mönkkönen J, et al. Effects of low-dose, non-cytotoxic, intraarticular liposomal clodronate on development of erosions and proteoglycan loss in established antigen-induced arthritis in rabbits[J]. Arthritis & Rheumatology, 2001, 44(8): 1908-1916.

[16] 江莉婷, 周琦, 魏立, 等. 二磷酸盐对骨质疏松大鼠下颌牙槽骨牙本质基质蛋白1表达的影响[J]. 口腔颌面外科杂志, 2016, 26(2): 88-95.

[17] 杜亚雷, 何保玉, 滕涛. 骨质疏松性椎体压缩骨折PVP或PKP术后邻近椎体再骨折的危险因素研究进展[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(9): 1379-1381.

[18] Suzuki S, Itoh K, Ohyama K. Local administration of IGF-I stimulates the growth of mandibular condyle in mature rats[J]. J Orthod, 2004, 31(2): 138-143.

[19] Tanaka M, Ejiri S, Nakajima M, et al. Changes of cancellous bone mass in rat mandibular condyle following ovariectomy[J]. Bone, 1999, 25(3): 339-347.

[20] Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, et al. 1% alendronate gel as local drug delivery in the treatment of class II furcation defects: arandomized controlled clinical trial[J]. J Periodontol, 2013, 84(3): 307-315.

[21] Brouwers JE, Lambers FM, Gasser JA, et al. Bone degeneration Intra-articular alendronate after ovariectomy 1003 Author's personal copy and recovery after early and late bisphosphonate treatment of ovariectomized Wistar rats assessed by in vivo micro-computed tomography[J]. Calcif Tissue Int, 2008, 82(2): 202-211.

[22] Leibbrandt A, Penninger JM. RANKL/RANK as key factors for osteoclast development and bone loss in arthropathies[J]. Adv Exp Med Biol, 2009, 649(5): 100-113.

[23] Trouvin AP, Goeb V. Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss[J]. Clin Interv Aging, 2010, 19(5): 345-354.

[24] Abramson S. Drug delivery in degenerative joint disease where we are and where to go[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2006, 58(2): 125-127.

[25] Mountziaris PM, Sing DC, Mikos AG, et al. Intra-articular microparticles for drug delivery to the TMJ[J]. J Dent Res, 2010, 89(10): 1039-1044.

(编辑 全春天, 徐平平)