

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.12.003

• 基础研究 •

骨硬化蛋白在雌激素缺乏大鼠牙槽骨改建过程中的表达

郭颖¹, 王红¹, 车双江¹, 宓努², 杨晓喻³

1. 深圳大学总医院口腔科, 广东 深圳(518000); 2. 深圳华侨城医院口腔科, 广东 深圳(518000); 3. 南方医科大学口腔医院种植中心, 广东 广州(510280)

【摘要】目的 探讨雌激素缺乏状态下,骨硬化蛋白(sclerostin)在大鼠牙槽骨区域中的表达与分布,为研究 sclerostin 与牙槽骨改建活跃性的组织学关联性提供依据。**方法** 选取8周龄雌性 Wistar 大鼠32只,16只进行卵巢摘除手术(ovariectomized),OVX组,16只进行假性手术(sham-operated),Sham组。分别在手术后1、2、3、4周处死并取出下颌骨进行包埋。选取下颌第一磨牙近远中方向切片,进行抗酒石酸磷酸酶(TRAP)染色、sclerostin 免疫染色、多重免疫染色、RANKL和TRAP双重染色、镀银多重染色。**结果** 随着术后时间增加,OVX各组TRAP阳性破骨细胞数量在下颌第一磨牙牙槽间隔区域明显增加,各组间差异有统计学意义($P < 0.05$);OVX 2w组,OVX 3w组,OVX 4w组比对应时间点Sham组有更多量的TRAP阳性破骨细胞分布且差异有统计学意义($P < 0.05$)。Sclerostin免疫染色显示OVX组下颌第一磨牙近牙周膜区域阳性骨细胞比例逐渐减少,OVX 3w组、OVX 4w组与OVX 1w组和OVX 2w组间的差异均有统计学意义($P < 0.05$);同组下颌第一磨牙近牙周膜区域与牙槽间隔中心区域相比较,OVX 3w组和OVX 4w组在近牙周膜区域sclerostin阳性表达比例低于牙槽间隔中心区域,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。多重染色结果显示,OVX 4w组较Sham 4w组中成熟的破骨细胞数量更多,破骨细胞周围均可见成骨细胞分布,而sclerostin阳性骨细胞在OVX 4w组更少。在OVX 4w组近牙周膜区域sclerostin/TRAP/镀银染色显示sclerostin阳性骨细胞周围骨小管多见平行整齐排列;而sclerostin阴性骨细胞周围骨小管多见不规则杂乱排列。**结论** Sclerostin蛋白参与雌激素缺乏大鼠牙槽骨改建过程。

【关键词】 骨改建; 骨硬化蛋白; 牙槽骨; 雌激素缺乏; 骨细胞; 破骨细胞; 成骨细胞; 牙周膜细胞

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2020)12-0768-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID)

【引用著录格式】 郭颖,王红,车双江,等.骨硬化蛋白在雌激素缺乏大鼠牙槽骨改建过程中的表达[J].口腔疾病防治,2020,28(12):768-775.

Expression of sclerostin in alveolar bone remodeling of ovariectomized rats GUO Ying¹, WANG Hong¹, CHE Shuangjiang¹, MI Nu², YANG Xiaoyu³. 1. Department of Stomatology, Shenzhen University General Hospital, Shenzhen 518000, China; 2. Department of Stomatology, Shenzhen OCT Hospital, Shenzhen 518054, China; 3. Center of Oral Implantology, Stomatological Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, China

Corresponding author: YANG xiaoyu, Email: twindocor@sina.com, Tel: 86-20-84408890

【Abstract】 Objective To investigate the expression and distribution of sclerostin in the alveolar bone of rat in the absence of estrogen, and to provide evidence for the analysis of the histological correlation between sclerostin and alveolar bone remodeling in rats. **Methods** The experimental subjects of this study were 32 8-week-old female Wistar rats. Among them, 16 rats were ovariectomized (OVX), and 16 rats were subjected to a sham operation (Sham). These rats were sacrificed 1, 2, 3, and 4 weeks after the operation, and the mandibles were removed and embedded. The mesial and distal sections of the rat's mandibular first molars were selected and stained with anti-tartrate phosphatase (TRAP),

【收稿日期】 2020-08-17; **【修回日期】** 2020-09-17

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81773964);南方医科大学口腔医院科研培育计划项目(PY2017032)

【作者简介】 郭颖,主治医师,博士,Email:910342549@qq.com

【通信作者】 杨晓喻,主任医师,博士,Email:twindocor@sina.com, Tel:86-20-84408890

sclerostin immunostaining, multiple immunostainings, RANKL and TRAP double staining, and silver-plated multiple staining. **Results** As the postoperative time in rats increased, the TRAP-positive osteoclasts counts in the OVX group in the interalveolar septum of mandibular first molar increased significantly, and statistical difference was noted between the groups ($P < 0.05$). The OVX 2w, 3w, and 4w groups exhibited more TRAP-positive osteoclasts compared with the Sham group at the corresponding time point, and the results were statistically different ($P < 0.05$). Sclerostin immunostaining revealed that the proportion of positive bone cells in the mesial side of the periodontal ligament area of mandibular first molar in the OVX group gradually decreased. Statistical differences were noted between the OVX 3w group and the OVX 4w group as well as the OVX 1w group and the OVX 2w group ($P < 0.05$). In the comparison between the area near the periodontal ligament and the central area of the alveolar bone septum of the mandibular first molar in the same group, the positive expression ratio of sclerostin in the OVX 3w and OVX 4w groups in the area near the periodontal ligament was reduced compared with that in the central area of the alveolar bone septum. The results were statistically significant ($P < 0.05$). A larger number of osteoblasts was noted around the osteoclasts in the OVX 4w group compared with the Sham 4w group based on ALP/TRAP/sclerostin multiple staining, whereas less sclerostin-positive osteoblasts were noted in the OVX 4w group. Sclerostin/TRAP/silver plating staining showed that the bone tubules around the sclerostin positive bone cells mostly exhibited a parallel and neat arrangement, and the bone tubules around sclerostin negative bone cells were more irregular and disorderly arranged in the OVX 4w group. **Conclusion** Sclerostin protein is involved in alveolar bone remodeling in estrogen-deficient rats.

【Key words】 bone remodeling; sclerostin; alveolar bone; estrogen-deficiency; bone cells; osteoclasts; osteoblasts; periodontal cells

J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(12): 768-775.

骨硬化蛋白(sclerostin)是骨细胞特异性分泌的含有胱氨酸结的糖蛋白,由SOST基因编码,其发现源于Van Buchem病(弥漫性骨皮质增生症)的研究,该疾病患者的SOST基因突变导致sclerostin不能表达或功能缺陷,造成患者过度的骨形成,出现巨头畸形和下颌骨增大等临床症状^[1-2]。研究表明,在四肢骨中sclerostin可以通过骨细胞突触形成的骨小管网络,作用于成骨细胞从而抑制骨形成,而其抗体可以促进骨形成^[3]。绝经后女性全身骨质疏松发展迅速,与体内雌激素缺乏有关。牙槽骨是围绕在牙根周围、支持牙齿的组织,是身体骨质密度较低的骨组织,较容易发生骨质疏松,在口腔中多表现为牙槽骨吸收,牙齿松动甚至脱落^[4]。因牙槽骨受到的咀嚼压力和牙齿生理性移位作用,在雌激素缺乏状态下骨细胞可能具有不同于其他部位(例如四肢骨)骨组织的生理表现,有研究表明卵巢摘除大鼠模型下颌骨出现明显的骨吸收,同时骨小梁的结构变化也不同于四肢骨^[5]。大鼠下颌磨牙存在生理性远中移位,牙槽间隔近牙周膜区域受压迫出现生理性牙槽骨改建。尽管牙槽骨中的骨细胞可能感受到生理性压力并影响骨代谢,但由于这种生理性压力很难被检测到,所以这方面的研究少有报道。本实验采用摘除大鼠卵巢,构建骨质疏松大鼠模型加速这种生理性牙槽骨改

建,通过组织学和免疫组织化学染色,观察雌激素缺乏状态下sclerostin在牙槽骨中的表达,探讨雌激素与牙槽骨改建之间的关联性。

1 材料和方法

1.1 实验动物和主要试剂

选取由深圳大学医学部实验动物中心提供的8周龄雌性Wistar大鼠32只,本实验所有实验流程均遵守深圳大学动物实验的指导方针,本实验得到深圳大学医学部实验动物伦理委员会批注。

sclerostin抗体(安迪生物,美国),羊抗兔IgG-HRP(安迪生物,美国),ALP抗体(Jackson Immuno Research Laboratories,美国),鼠抗兔IgG-HRP(Jackson Immuno Research Laboratories,美国),兔抗鼠核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator for nuclear factor- κ B ligand, RANKL)抗体(Oriental Yeast Co,日本),大鼠抗小鼠IgG-HRP(Zymed laboratories Inc,美国),DAB试剂盒(Abcam,英国),萘酚AS-BI磷酸盐(Naphthol AS-BI phosphate)(西格玛,美国),酒石酸钠(Sodium Tararic)(Sigma,美国),固蓝RR盐(fast blue RR salt)(Sigma,美国),PBS(博世德公司,武汉),Tris-HCl(鼎国公司,北京),组织蛋白银溶液(Protargol-S)(Sigma,美国)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 将32只大鼠随机分成假手术(sham-operated) Sham组和卵巢摘除(ovariectomized) OVX组, Sham组16只, OVX组16只。用2%戊巴比妥钠按照50 mg/kg腹腔麻醉, 在背部腰椎正中做2 cm皮肤切口, 钝性分离腰椎双侧肌层进入腹腔, 完整切除双侧卵巢, 止血, 逐层缝合, 标记为OVX组。以相同方法切开入路进入腹腔, 仅切除少量脂肪组织, 止血, 缝合, 标记为Sham组。

1.2.2 标本制备 术后1、2、3、4周使用心脏灌注法处死大鼠: 腹腔注射4%水合氯醛(0.01 mL/g)麻醉, 切开右心耳, 在左心室心尖向心内缓慢推注生理盐水, 至流出液体清亮, 再推注4%多聚甲醛溶液至大鼠变僵硬。取大鼠下颌骨, 4%多聚甲醛溶液4℃固定。12 h后取出, 10%中性EDTA溶液中室温脱钙2个月, 进行脱水、透明、浸透、包埋, 按平行于下颌第一磨牙近远中向连续切片, 切片厚度为2 μm。

1.2.3 TRAP染色 使用30 mL PBS缓冲液稀释2.5 g 萘酚 AS-BI 磷酸盐, 18 mg 酒石酸钠配制孵育液调整pH值5.0, 脱蜡切片滴入孵育液37℃孵育15 min, 蒸馏水洗3 min, 苏木素复染30 s, 水洗10 min反蓝, 封片。

1.2.4 免疫组织化学染色 sclerostin染色: 切片脱蜡后, PBS冲洗3次, 每次3 min。过氧化氢酶阻断剂室温孵育30 min后, 滴加1:500比例的sclerostin抗体, 4℃避光过夜孵育。次日, PBS冲洗, IgG-HRP抗体室温孵育15 min。最后加入DBA显色液。

ALP/TRAP/sclerostin免疫多重染色: sclerostin单独免疫染色(步骤同上)后, 再滴加1:200的ALP抗体, 4℃避光孵育2 h, 再加入1:100 IgG-HRP耦联抗体在室温中孵育1 h, 最后滴入由2.5 mg 萘酚 AS-BI 磷酸盐, 18 mg 固蓝RR盐和30 mL 0.1M Tris-HCl配制的混合溶液, 室温下孵育30 min, 使ALP显色。最后进行TRAP染色。

RANKL/TRAP免疫染色: 将组织切片脱蜡后, PBS冲洗3次, 每次3 min。过氧化氢酶阻断剂室温孵育30 min后, 1:100比例RANKL抗体, 4℃避光过夜孵育。次日, PBS冲洗, 加入IgG-HRP耦联抗体, 室温孵育15 min。最后加入DBA显色液。之后进行按照TRAP流程染色。

Sclerostin/TRAP/镀银染色: 将脱蜡组织切片放入1.5%组织蛋白银溶液(pH 7.4)在37℃温箱放置40 h, 用蒸馏水冲洗, 再放入含有0.2%对苯二酚,

0.2%柠檬酸, 0.7%硝酸银混合溶液中5 min 固色, 再放入含有2.5%无水硫酸钠, 0.5%溴化钾, 2.5%二氨基酚混合溶液中5 min, 最后放入含有1%氯化金和2%草酸二氨酚钠中直至显出黑色。再依次进行按照上述过程进行sclerostin免疫染色和TRAP染色。

1.3 图像分析

在每张切片第一磨牙牙槽骨间隔区域(近中牙根与牙槽间隔中线至根尖区域), 使用Image Pro Plus6.2图像分析软件测量TRAP阳性破骨细胞数量; 选取近牙周膜区域和牙槽间隔中心区域选取长200 μm、宽120 μm的两个研究区域, 使用Image Pro Plus6.2图像分析软件测量sclerostin阳性骨细胞计数和总骨细胞计数, 并分析sclerostin阳性骨细胞在每个计量区域的比例, 均由同一研究者测量所有Sham组和OVX组的数据并重复3次后取平均值。

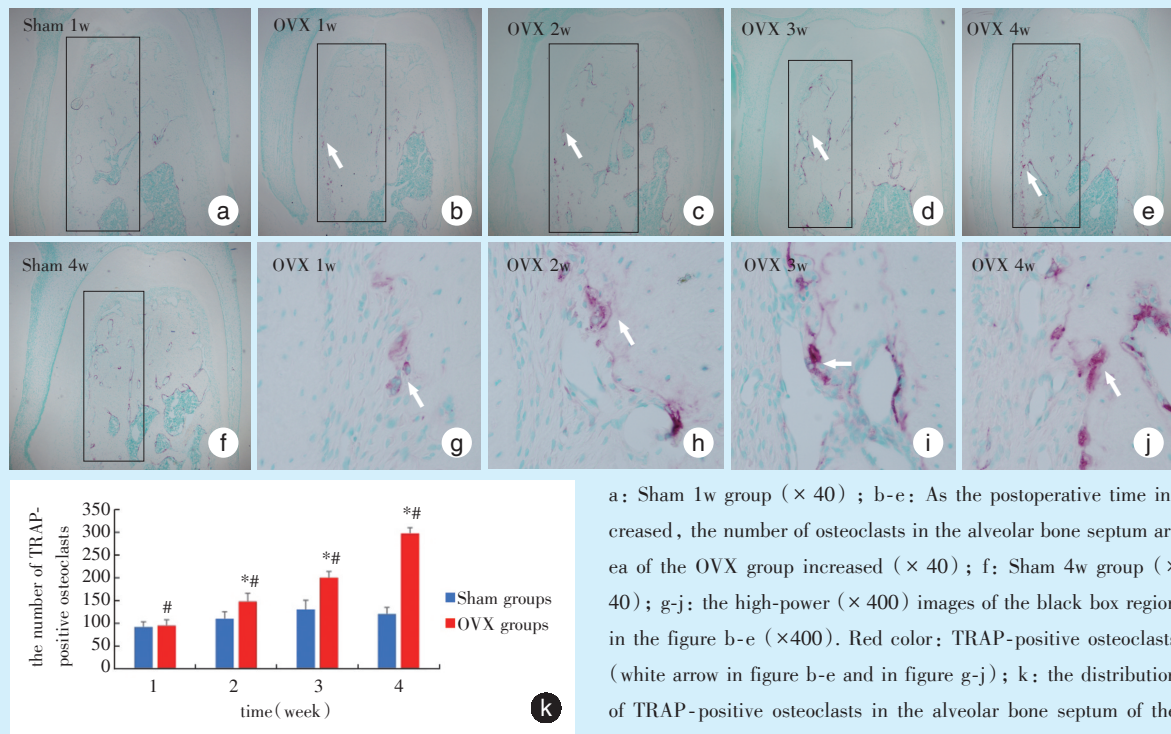
1.4 统计学分析

采用SPSS19.0软件进行数据分析。不同组别测量破骨细胞数量以及sclerostin阳性骨细胞计数和总骨细胞计数比例。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析以及Tukey's检验进行组间比较; 方差不齐采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TRAP阳性破骨细胞在牙槽间隔区域分布情况

OVX组术后1周近牙周膜区域和牙槽间隔中心区域中少见破骨细胞; 随着术后时间增加, OVX组近牙周膜区域和牙槽间隔中心区域逐渐出现明显的多核、胞浆红染的破骨细胞, OVX 1w组(94.9 ± 13.1)与Sham 1w组(92.1 ± 11.4)牙槽间隔区域TRAP阳性破骨细胞数量差异无统计学意义($P = 0.10$), 而OVX 2w组(147.8 ± 18.2)和Sham 2w组(110.3 ± 15.4)、OVX 3w组(200.3 ± 13.8)和Sham 3w组(130.4 ± 20.4)、OVX 4w组(297.3 ± 12.9)和Sham 4w组(120.5 ± 14.5)间TRAP阳性破骨细胞数量差异均有统计学意义($P < 0.05$), 同时Sham各组间TRAP阳性破骨细胞数量差异无统计学意义($P = 0.3$)。OVX 4w组的破骨细胞数量最多, 并出现明显骨吸收陷窝, 且OVX各组间TRAP阳性破骨细胞数量差异有统计学意义($P = 0.006$) (图1)。



vs. Sham groups, $P < 0.05$; #: comparison between OVX groups, $P < 0.05$; OVX: ovariectomized

Figure 1 The distribution of TRAP-positive osteoclasts in the alveolar bone septum of the mandibular first molar of rats in each group after sham operation and ovariectomy

图1 假手术和卵巢摘除术后各组大鼠下颌第一磨牙牙槽间隔区域TRAP阳性破骨细胞分布

2.2 Sclerostin阳性骨细胞在牙槽间隔区域分布情况

随着术后时间延长, Sham组近牙周膜区域sclerostin阳性表达未见明显变化: Sham 1w组($76.3\% \pm 8.6\%$), Sham 2w组($77.1\% \pm 7.3\%$), Sham 3w组($76.9\% \pm 4.9\%$), Sham 4w组($77.6\% \pm 4.7\%$)。

随着术后时间延长, OVX组近牙周膜区域sclerostin阳性表达逐渐降低, 虽然OVX 1w组($75.1\% \pm 6.4\%$)和OVX 2w组($65.1\% \pm 5.8\%$)、OVX 3w组($43.2\% \pm 7.4\%$)与OVX 4w组($37.6\% \pm 6.0\%$)阳性表达比例差异无统计学意义($P > 0.05$), 但相较于OVX 1w组和OVX 2w组, OVX 3w组、OVX 4w组阳性表达比例明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(图2)。

在牙槽间隔中心区域OVX各组OVX 1w组($77.6\% \pm 9.3\%$), OVX 2w组($73.8\% \pm 7.9\%$), OVX 3w组($76.6\% \pm 9.8\%$), OVX 4w组($77.9\% \pm 8.9\%$)与Sham各组Sham 1w($75.5\% \pm 7.6\%$), Sham 2w($74.5\% \pm 6.9\%$), Sham 3w($78.3\% \pm 5.8\%$), Sham 4w($79.1\% \pm 5.4\%$)均可见大量sclerostin阳性表达; Sham各组间、OVX各组间及术后同周Sham组和

OVX组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

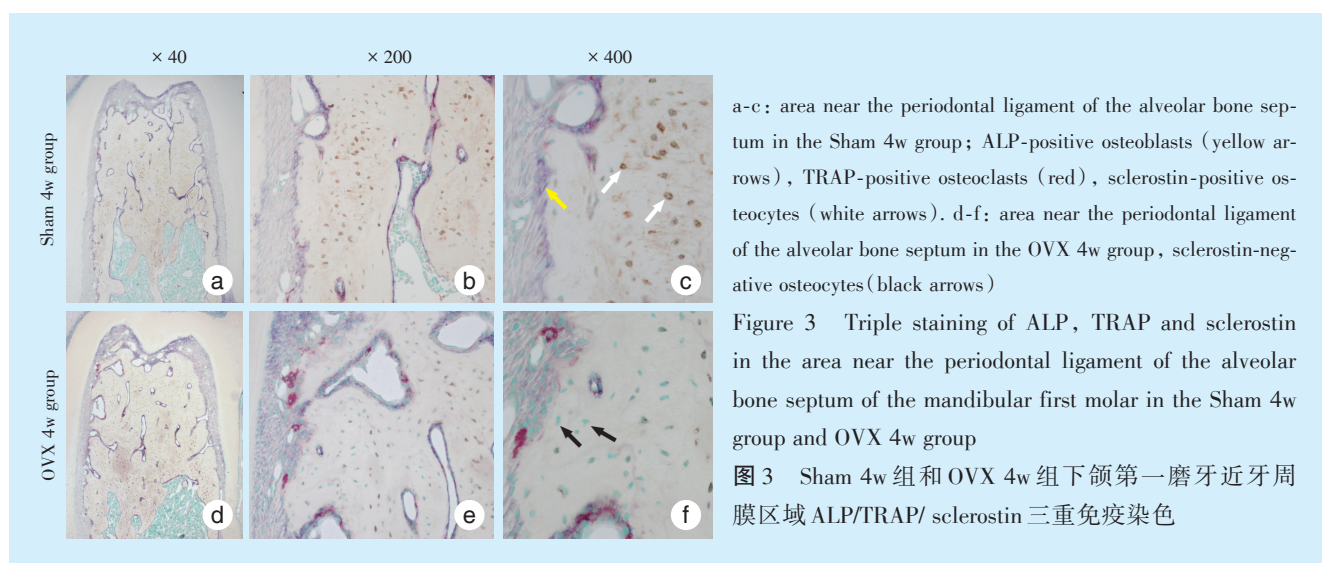
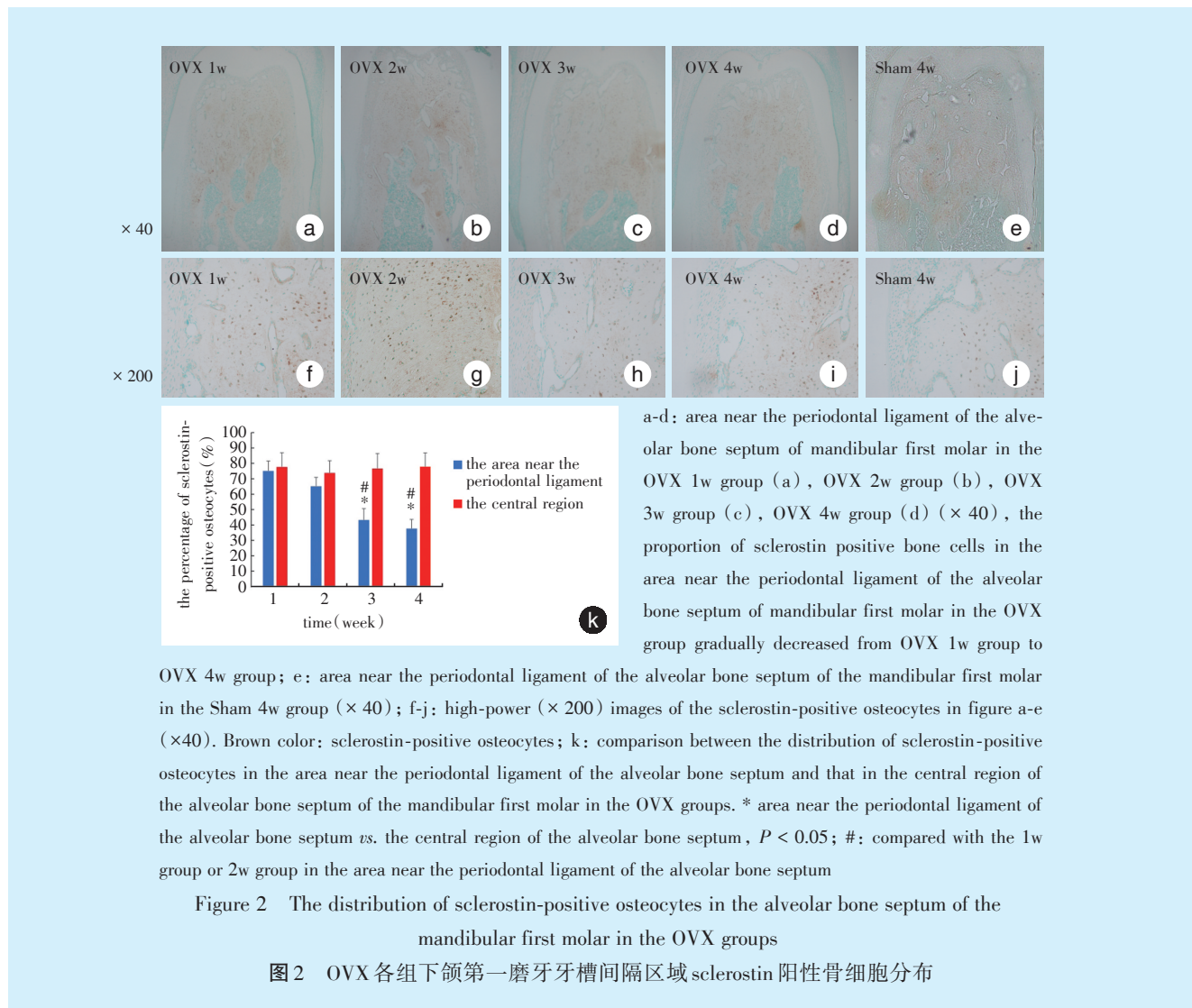
在同组近牙周膜区域与牙槽间隔中心区域相比观察中, Sham各组差异无统计学意义($P > 0.05$); 而OVX 3w组和OVX 4w组, 近牙周膜区域sclerostin阳性表达比例均低于牙槽间隔中心区域, 且差异有统计学意义($P < 0.05$); OVX 1w组、OVX 2w组近牙周膜区域与牙槽间隔中心区域差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 近牙周膜区域ALP/TRAP/sclerostin免疫染色分布情况

在Sham 4w组近牙周膜区域可观察到TRAP阳性(红色)破骨细胞周围有ALP阳性(蓝色)成骨细胞表达, 并且有大量sclerostin阳性(褐色)骨细胞表达。OVX 4w组较Sham 4w组中成熟的破骨细胞数量更多, 破骨细胞周围均可见成骨细胞分布, 而sclerostin阳性骨细胞在OVX 4w组更少(图3)。

2.4 近牙周膜区域RANKL/TRAP免疫染色

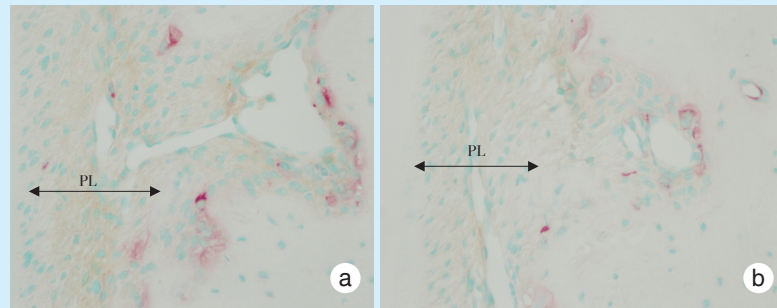
OVX 4w组近牙周膜区域可见大量RANKL阳性标记(褐色)成骨细胞、前成骨细胞和红色深染的破骨细胞, 而且强阳性RANKL标记几乎均围绕



在TRAP红色深染的破骨细胞周围;Sham 4w组较OVX 4w组少见RANKL阳性标记细胞和仅见少量破骨细胞(图4)。

2.5 近牙周膜区域牙槽骨骨小管分布情况

在Sclerostin/TRAP/镀银三重染色中可以观察到近牙周膜区域Sham 4w组和OVX 4w组 sclerostin



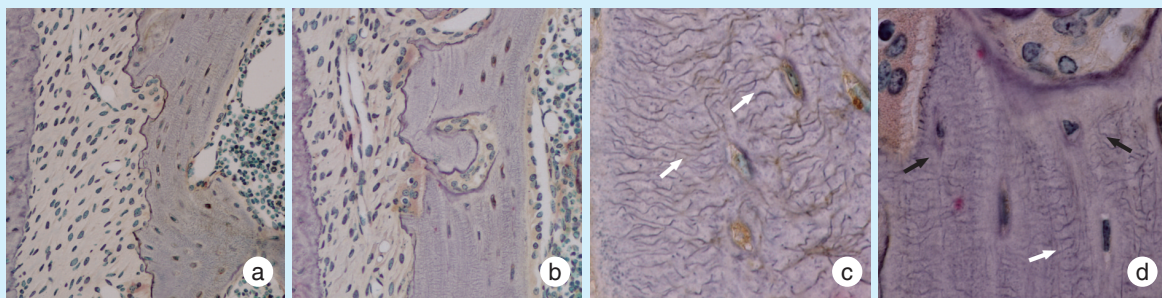
a: in the OVX 4w group, numerous RANKL positive markers (brown) and TRAP-positive osteoclasts (red) were observed in the area near the periodontal ligament of the alveolar bone septum, and the strongly stained RANKL positive markers surrounded TRAP-positive osteoclasts (red) ($\times 200$); b: RANKL-positive markers and only a few osteoclasts were observed in Sham 4w group compared with OVX 4w group, ($\times 200$); PL: periodontal ligament

Figure 4 The distribution of osteoblasts, preosteoblasts and osteoclasts in the area near the periodontal ligament of the alveolar bone septum of the mandibular first molar in the Sham 4w group and in the OVX 4w group by RANKL/TRAP staining

图4 RANKL/TRAP染色显示Sham 4w组和OVX 4w组下颌第一磨牙近牙周膜区域成骨细胞、前成骨细胞、破骨细胞分布

阳性骨细胞周围见规则骨小管。同时,Sham 4w组和OVX 4w组围绕在破骨细胞周围的sclerostin阴

性骨细胞见不规则骨小管(图5)。



a: the Sham 4w group ($\times 100$); b: the OVX 4w group ($\times 100$); c: the Sham 4w group ($\times 400$); d: the OVX 4w group ($\times 400$); regular bone tubules (white arrow) were observed around sclerostin positive osteocytes in the Sham 4w group (c) and the OVX 4w group (d). Sclerostin-negative osteocytes surrounding osteoclasts in the OVX 4w group (d) revealed irregular bone tubules (black arrows). TRAP-positive osteoclasts (red); sclerostin-positive osteocytes (brown); silver staining of the osteocytic lacunar-canalicular system (black)

Figure 5 Distribution of the bone tubules in the area near the periodontal ligament of the alveolar bone septum of the mandibular first molar in the Sham 4w and the OVX 4w group by sclerostin/ TRAP/silver staining

图5 Sclerostin/TRAP/镀银染色显示Sham 4w组和OVX 4w组下颌第一磨牙近牙周膜区域牙槽骨骨小管分布

3 讨论

牙周炎是发生在牙周组织的慢性炎症,是我国成年人失牙的主要原因^[6-7],其中牙周炎与女性绝经期的关系近年来受到学者们的关注^[4]。研究证明,女性绝经期性腺功能减退,激素水平显著下降,是引起牙槽骨吸收和牙齿脱落的主要原因之一^[8]。牙周膜细胞具有多分化潜能,在机械刺激、激素水平变化等作用下可以分化为成骨细胞、成牙骨质细胞等,来维持牙周组织的代谢和平衡,参

与牙槽骨改建^[9-10]。Sclerostin是骨细胞特异性分泌的含有胱氨酸结的糖蛋白,可以通过骨细胞突触形成的骨小管网络作用于成骨细胞从而抑制骨形成,在口腔成牙骨质细胞、成牙本质细胞、牙周组织和牙槽骨细胞中都有存在^[11]。雌激素缺乏骨质疏松症是以骨量下降、骨微细结构破坏为特点的骨骼疾病,骨密度较疏松的牙槽骨部位容易受到影响^[12]。

目前,“去势大鼠”是FDA和WHO推荐的研究

雌激素水平下降形成骨质疏松症的模型^[13],此类模型优势在于:大鼠饲养方便,价廉,去势术简便,高存活率,高成功率,易重复,易再现,周期短(15 d),适用广泛,术后表现与人类雌激素缺乏骨质疏松症后的骨代谢、骨微结构变化相似,因而最常选择该法。研究证实,雌性Wistar大鼠经手术切除双侧卵巢后,骨吸收远高于骨形成,骨量丢失较严重^[14]。

研究报道^[15],骨质疏松症模型评价指标包括:骨密度测定、X线吸收法、定量CT测定、骨计量学观察、生化学指标、骨生物力学指标等。骨计量学是骨组织形态计量学的简称,主要研究对象是二维骨组织切片显微图像,以生理学和骨组织学为依据,通过分析并处理显微图像,获得骨组织结构的计量参数。该方法的优势在于:①利用其较高的分辨率,是唯一一种能够观察骨组织细胞的方法;②骨吸收和形成参数和免疫标记法能科学有效地反映骨计量学变化。本研究建立了卵巢摘除后雌激素缺乏大鼠模型,并利用骨组织形态计量学的方法进行研究。结果显示,在近牙周膜区域OVX组 sclerostin 阳性表达随时间延长显著减少,推测雌激素缺乏状态会抑制牙槽骨细胞分泌 sclerostin。近年发现,雌激素具有促进成骨细胞增殖矿化的作用,包括抑制成骨细胞凋亡,减弱氧化应激反应,降低 sclerostin 活性等^[16]。Li 等^[17]的研究也显示在卵巢摘除大鼠的牙槽骨中 sclerostin 分泌受到抑制,本实验与其结果一致。然而,本实验结果还显示,在牙槽间隔中心区域OVX各组牙槽骨细胞 sclerostin 阳性表达无明显差异。雌激素缺乏使 sclerostin 分泌减少的假设,并不能完全解释本实验中仅在近牙周膜区域发现 sclerostin 分泌减少,而在牙槽间隔中心区域牙槽骨细胞分泌 sclerostin 无明显减少这一现象。

另外,关于大鼠去势后骨质变化的研究报道,切除卵巢后 14 d 胫骨近心端骨量丢失最明显,30 d 时股骨颈骨量丢失最多,60 d 时腰椎椎骨骨量丢失达到高峰^[18]。本实验结果显示,随着时间延长OVX组在牙槽间隔近牙周膜区域逐渐出现大量TRAP阳性破骨细胞,而Sham组虽然也有TRAP阳性破骨细胞出现但无明显增量变化。Khosla 等^[16]利用去卵巢大鼠的骨髓细胞进行培养,发现破骨细胞明显增多,证明雌激素缺失可增加破骨细胞活性及数目。OVX组与Sham组比较,在近牙周膜区域破骨细胞数量更多,而在牙周膜中RANKL的含量也明显增加。有研究表明牙周膜细胞具有多

向分化能力,由此分化而来的前成骨细胞和成骨细胞表达RANKL,可以诱导成熟破骨细胞的分化和增殖^[19]。在大鼠摘除卵巢后四肢骨区域破骨细胞增多,骨吸收明显增加,出现骨质疏松症的临床表现^[20]。推测在大鼠牙槽间隔近牙周膜区域内,加速进行的骨改建同样影响了牙槽骨细胞分泌 sclerostin 的能力。

同时,在OVX组中牙槽间隔近牙周膜区域发现明显的骨改建线,表明在雌激素缺乏时大鼠牙槽间隔近牙周膜区域骨吸收和骨重建同时存在。本实验观察到OVX 3w组、OVX 4w组近牙周膜区域破骨细胞及成骨细胞周围星网状骨细胞陷窝系统分布比较复杂多变,而在牙槽间隔中心区域大量 sclerostin 阳性骨细胞星网状分布比较规则,这也可能是近牙周膜区域和牙槽间隔中心区域 sclerostin 阳性表达差异的原因之一。复杂多变的星网状骨细胞系统会刺激骨细胞减少 sclerostin 的分泌。在活跃的牙槽骨改建中,牙槽骨细胞通过感知星网状系统呈现的不同几何分布,来探知压力的方向和强度,以此为依据及时识别各种细胞间信号,并且通过分泌 sclerostin 来调控自身成骨潜能,参与牙槽骨改建^[21-22]。

本实验初步探究了雌激素缺乏大鼠牙槽骨改建活性与牙槽骨细胞分泌 sclerostin 的相互作用关系。目前临床上对于牙槽骨细胞促进骨改建的研究较少,期待在调控牙槽骨改建,增加牙槽骨量方面能有所应用,为治疗牙周炎、提高种植骨量、正畸牙移动等治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Balemans W, Hul WV. Human genetics of SOST[J]. *Musculoskeletal Neuronal Interact*, 2006, 6(4): 355-356.
- [2] Van Lierop AH, Hamdy NA, van Egmond ME, et al. Van Buchem disease: clinical, biochemical, and densitometric features of patients and disease carriers[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(4): 848-854.
- [3] Ma YL, Hamang M, Lucchesi J, et al. Time course of disassociation of bone formation signals with bone mass and bone strength in sclerostin antibody treated ovariectomized rats[J]. *Bone*, 2017, 97: 20-28.
- [4] 张力木, 林晓萍. C反应蛋白介导的牙周炎与全身系统性疾病相关机制研究进展[J]. *口腔疾病防治*, 2020, 28(3): 184-188.
Zhang LM, Lin XP. Research progress on the mechanism of C-reactive protein mediated periodontitis and systemic diseases[J]. *J Prev Treat Stomatol Dis*, 2020, 28(3): 184-188.
- [5] 林晓萍, 韩亚琨. B细胞骨免疫在牙周炎中的作用[J]. *口腔疾病防治*, 2020, 28(4): 205-213.

- Lin XP, Han YK. The role of B cell osteoimmunity in periodontitis[J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(4): 205-213.
- [6] Richa, Yashoda R, Puranik MP, et al. Association between osteoporosis and periodontal disease among postmenopausal Indian women[J]. J Investig Clin Dent, 2017, 8(3): e12223.
- [7] Lee DJ, Wu L, Shimono M, et al. Differential mechanism of periodontitis progression in postmenopause[J]. Front Physio, 2018, 14(9): 1098-1099.
- [8] Kolte R, Kolte AP, Potey AM, et al. Risk assessment of osteoporosis in pre- and postmenopausal periodontally healthy and chronic periodontitis women with digital panoramic radiographs[J]. J Indian Soc Periodontol, 2017, 21(6): 461-465.
- [9] 张华菁, 张丁. 力与炎症因子作用下牙周膜细胞对牙槽骨代谢的影响及其分子机制[J]. 中国医学科学院学报, 2017, 39(3): 432-437.
- Zhang HJ, Zhang D. Effects of periodontal ligament cells on alveolar bone metabolism under the action of force and inflammatory factors and its molecular mechanisms[J]. Acta Academiae Med Sinicae, 2017, 39(3): 432-437.
- [10] Hadaya D, Gkouveris I, Soundla A, et al. Clinically relevant doses of sclerostin antibody do not induce osteonecrosis of the jaw (ONJ) in rats with experimental periodontitis[J]. J Bone Miner Res, 2019, 34(1): 171-181.
- [11] 陈一文, 高尚, 许彤彤, 等. 大鼠正畸牙移动过程中牙周膜骨硬化蛋白的表达[J]. 华西口腔医学杂志, 2016, 34(3): 239-243.
- Chen YW, Gao S, Xu TT, et al. Sclerostin expression in periodontal ligaments during movement of orthodontic teeth in rats[J]. West Chin J Stomatol, 2016, 34(3): 239-243.
- [12] 许闫严, 张克良, 魏忠民, 等. 雌激素对去势骨质疏松症大鼠骨密度和骨代谢影响的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(6): 776-780.
- Xu YY, Zhang KL, Wei ZM, et al. Experimental study of the effect of estrogen on bone mineral density and bone metabolism in osteoporotic rats[J]. Chin J Osteoporos, 2018, 24(6): 776-780.
- [13] 王振恒, 赵建宁, 王瑞. 骨质疏松动物模型研究进展. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(7): 656-662.
- Wang ZH, Zhao JN, Wang R. Research progress in osteoporotic models[J]. Chin J Osteoporos, 2012, 18(7): 656-662.
- [14] 张悦, 李运峰. 骨质疏松症动物模型研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(1): 152-156.
- Zhang Y, Li YF. The research process in osteoporosis animal modeling[J]. Chin J Osteoporos, 2020, 26(1): 152-156.
- [15] Mo WQ, Li SL, Chen WH. Research progress of evaluation methods for animal models of osteoporosis[J]. Med Rev, 2016, 22(7): 1330-1332.
- [16] Khosla S, Oursler MJ, Monroe G. Estrogen and the skeleton[J]. Trends Endocrinol Metab, 2012, 23(11): 576-581.
- [17] Li D, Zhou W, Cao M, et al. Periostin-modified bone marrow mesenchymal stem cells from osteoporotic rats promote alveolar bone regeneration[J]. Mol Histol, 2019, 50(6): 493-502.
- [18] Li M, Shen Y, Wronski TJ. Time course of femoral neck osteopenia in ovariectomized rats[J]. Bone, 1997, 20(1): 55-61.
- [19] Odagaki N, Ishihara Y, Wang Z, et al. Role of osteocyte-PDL crosstalk in tooth movement via SOST sclerostin[J]. J Dent Res, 2018, 97(12): 1374-1382.
- [20] Hoffmann DB, Komrakova M, Pflug S, et al. Evaluation of ostarine as a selective androgen receptor modulator in a rat model of postmenopausal osteoporosis[J]. Bone Miner Metab, 2019, 37(2): 243-255.
- [21] Masuki H, Li M, Hasegawa T, et al. Immunolocalization of DMP1 and sclerostin in the epiphyseal trabecule and diaphyseal cortical bone of osteoprotegerin deficient mice[J]. Biomed Res, 2010, 31(5): 307-318.
- [22] Zhang CY, Xu SY, Zhang SF, et al. Ageing characteristics of bone indicated by transcriptomic and exosomal proteomic analysis of cortical bone cells[J]. Orthop Surg Res, 2019, 14: 129.

(编辑 张琳, 刘楚峰)



官网



公众号