

# 紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植体骨整合的机制研究

冯亚梅<sup>1</sup>, 杨 鹏<sup>2</sup>, 赵海蛟<sup>1</sup>

1. 邯郸市口腔医院修复科 (河北邯郸 056001)

2. 邯郸市口腔医院种植科 (河北邯郸 056001)

**【摘要】目的** 探究紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植体骨整合的影响以及可能的作用机制。**方法** 采用去势法建立骨质疏松大鼠模型,造模成功后进行牙种植体植入。将牙种植体植入成功大鼠随机分为模型组、紫檀芪低(20 mg·kg<sup>-1</sup>)、中(40 mg·kg<sup>-1</sup>)、高(80 mg·kg<sup>-1</sup>)剂量组,每组12只;另取12只不去势大鼠作为假手术组。紫檀芪各剂量组灌胃给药,模型组与假手术组给予等体积生理盐水,1次/d,连续给药12周。采用micro-CT扫描仪进行种植区骨组织分析,亚甲基蓝-酸性品红染色观察种植区骨组织形态变化以及骨愈合情况,采用扭矩测试仪测定种植区骨组织脱位扭矩,免疫组化法检测种植区骨组织中肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )表达,Western blot法检测种植区骨组织中骨形态发生蛋白2(BMP-2)、Runt相关转录因子2(Runx2)蛋白表达。**结果** 与假手术组比较,模型组大鼠种植体与股骨结合不够紧密,结合处骨板较薄,骨小梁间隙大,且数量较少;种植区股骨骨体积分数(BV/TV)、骨小梁数量(Tb.N)和骨结合指数(OI)、种植体骨结合率与松质骨区骨量以及脱位扭矩均显著降低( $P < 0.05$ ),骨小梁间隙(Tb.Sp)显著升高( $P < 0.05$ ),种植区骨组织中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达均显著升高( $P < 0.05$ ),BMP-2、Runx2表达均显著降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,紫檀芪各剂量组大鼠种植体骨结合逐渐紧密,骨小梁数量逐渐增加,间隙变小,骨板增厚;大鼠种植区股骨BV/TV、Tb.N和OI、种植体骨结合率与松质骨区骨量以及脱位扭矩均显著升高( $P < 0.05$ ),Tb.Sp显著降低( $P < 0.05$ ),种植区骨组织中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达均显著降低( $P < 0.05$ ),BMP-2、Runx2表达均显著升高( $P < 0.05$ ),且不同剂量组间上述指标的差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 紫檀芪可通过减轻骨质疏松引起的炎症反应,上调成骨因子BMP-2、Runx2表达,在骨质疏松状态下对牙种植体骨整合具有良好的促进作用。

**【关键词】** 紫檀芪;骨质疏松;牙种植体;骨整合

Study on the mechanism of pterostilbene on osseointegration of dental implants in osteoporotic rats

Ya-Mei FENG<sup>1</sup>, Peng YANG<sup>2</sup>, Hai-Jiao ZHAO<sup>1</sup>

1. Department of Prosthodontics, Handan Stomatological Hospital, Handan 056001, Hebei Province, China

2. Department of Implantology, Handan Stomatological Hospital, Handan 056001, Hebei Province,

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202306008

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20191817)

通信作者: 杨鹏, 硕士, 主治医师, Email: rkmlc84@163.com

China

Corresponding author: Peng YANG, Email: rkmlc84@163.com

**【Abstract】Objective** To explore the effect of pterostilbene on the osseointegration of dental implants in rats with osteoporosis and its possible mechanism. **Methods** A osteoporotic rat model was established by castration, and dental implants were implanted after successful modeling. Rats with successful dental implants were randomly divided into model group, pterostilbene low (20 mg·kg<sup>-1</sup>), medium (40 mg·kg<sup>-1</sup>) and high (80 mg·kg<sup>-1</sup>) doses groups with 12 in each group. Another 12 rats without castration were taken as the sham operation group. All dose groups of pterostilbene were given by gavage, and the model group and sham operation group were given the same volume of normal saline, once a day for 12 weeks. The bone tissue analysis of the implanted area was performed using a micro-CT scanner. Methylene blue-acid fuchsin staining was used to observe the morphological changes and bone healing of the implanted area. A torque tester was used to measure the bone dislocation torque at the implant site. Immunohistochemical method was used to detect the expressions of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in the bone tissue of the implanted area. Western blot method was used to detect the protein expressions of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and runt-related transcription factor 2 (Runx2) in bone tissue of implanted area. **Results** Compared with the sham operation group, the implants in the model group were not tightly integrated with the femur, the bone plate at the joint was thinner, the trabecular bone gap was large, and the number was small; femoral trabecular bone volume ratio (BV/TV), trabecular number (Tb.N) and osseointegrationindex (OI), implant osseointegration rate, bone mass and dislocation torque in cancellous bone area were obviously decreased ( $P<0.05$ ), trabecular separation (Tb.Sp) was obviously increased ( $P<0.05$ ), the expressions of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the bone tissue of the implanted area were obviously increased ( $P<0.05$ ), and the expressions of BMP-2 and Runx2 were obviously decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, the osseointegration of the rat implants in all dose groups of pterostilbene became tighter, the number of trabecular bone gradually increased, the gap became smaller, and the bone plate thickened; femoral BV/TV, Tb.N, OI, implant osseointegration rate, bone mass and dislocation torque in cancellous bone area were obviously increased ( $P<0.05$ ), Tb.Sp was obviously decreased ( $P<0.05$ ), the expressions of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the bone tissue of the implanted area were obviously decreased ( $P<0.05$ ), and the expressions of BMP-2 and Runx2 were obviously increased ( $P<0.05$ ), and there were statistically significant differences in the above indexes among different dose groups ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Pterostilbene can reduce the inflammatory response caused by osteoporosis, up-regulate the expressions of osteogenic factors BMP-2 and Runx2, and has a good promotion effect on the osseointegration of dental implants in the state of osteoporosis.

**【Keywords】** Pterostilbene; Osteoporosis; Dental implants; Osseointegration

骨质疏松 (osteoporosis) 主要病理表现为骨量、骨密度降低以及骨小梁数量减少等, 是一种由于雌激素水平降低引起骨代谢失衡的代谢性骨疾病, 多发于中老年<sup>[1-2]</sup>。研究<sup>[3]</sup>表明, 炎症反应与免疫系统失衡在骨重塑以及骨质疏松发病机

制中起着关键作用。目前修复牙缺失或缺损的主要方法为异齿种植, 且牙种植患者多为中老年群体, 也是骨质疏松的高发人群<sup>[4-5]</sup>。研究<sup>[6]</sup>发现, 骨质疏松患者骨量减少是导致牙种植失败的主要原因。因此, 寻找能够促进骨质疏松状态下牙种

植体骨整合的有效方式,对于提高骨质疏松患者牙种植成功率具有至关重要的作用。中药在增强骨质疏松患者牙种植体骨结合方面疗效显著<sup>[7]</sup>。紫檀芪是一种存在于紫檀植物中的酚类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种生物活性<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>发现,紫檀芪能够诱导成骨细胞分化,但在骨质疏松中的作用尚无相关报道。本研究通过建立雌性大鼠去卵巢骨质疏松模型,探究紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植体骨整合的影响以及可能的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

iNSIGHT VET DXA 型小动物双能 X 射线骨密度仪购自普迈精医科技(北京)有限公司;RZ 型 micro-CT 扫描仪购自上海然哲仪器设备有限公司;Axio Observer 型倒置显微镜购自卡尔蔡司(上海)管理有限公司;OSE-470P 型 TGel 蓝光凝胶成像系统购自天根生化科技(北京)有限公司。

紫檀芪(纯度 $\geq 98\%$ ,规格:20 mg,批号:YT64334)购自北京伊塔生物科技有限公司;亚甲基蓝-酸性品红染色试剂盒(批号:BB-4426)购自贝博-Bestbio 生物公司;BCA 蛋白定量试剂盒(批号:SH-0943)购自北京凯诗源生物科技有限公司;肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )抗体(批号:ab6671)、白细胞介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ )抗体(批号:ab283822)、骨形态发生蛋白2(BMP-2)抗体(批号:ab284387)、Runt 相关转录因子2(Runx2)抗体(批号:ab76956)、HRP 标记山羊抗兔抗体(批号:ab6721)购自 Abcam 公司;ECL 化学发光检测试剂盒(批号:abs920)购自爱必信(上海)生物科技有限公司。

### 1.2 动物

60 只 SPF 级雌性 SD 大鼠,4 月龄,体重 280~300 g,由中国医学科学院医学实验动物研究所提供,动物许可证号:SCXK(京)2019-0011,质量合格证号:3300221342008975。饲养条件为室温 22~25 $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 45%~60%,自由饮水采食。所有程序均经邯郸市口腔医院伦理委员会批准(批件号:2021-0775)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 骨质疏松模型建立

参考文献<sup>[10]</sup>建立骨质疏松大鼠模型:腹腔注

射戊巴比妥钠麻醉大鼠并固定,沿肩胛线于左右两侧肋下打开子宫角,摘除双侧卵巢,缝合并于术后连续注射 3 d 青霉素,预防感染。造模 8 周后,采用骨密度仪测定大鼠骨代谢指标,判断是否建模成功。

#### 1.3.2 牙种植体植入

取建模成功的大鼠,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉并固定,暴露左右两侧股骨远中干骺端,制备种植体植孔(2 mm),将纯钛螺钉旋入植孔,敲打时无松动提示植入成功,冲洗创面,缝合伤口并于术后连续注射 3 d 青霉素,预防感染。

#### 1.3.3 分组给药

将牙种植体植入成功的大鼠按照随机数字表法分为模型组、紫檀芪低、中、高剂量组,每组 12 只;另取 12 只大鼠用同样的方法打开子宫角,仅切除卵巢周围与卵巢大小接近的脂肪,不进行钻孔,作为假手术组。紫檀芪低、中、高剂量组分别灌服紫檀芪 20, 40, 80 mg $\cdot\text{kg}^{-1}$ <sup>[11]</sup>,模型组与假手术组给予等体积生理盐水,1 次/d,连续给药 12 周。

#### 1.3.4 各组大鼠骨代谢指标的观察

收集 6 只大鼠右侧种植区股骨,在甲醛中固定 24 h 后保存于 70% 乙醇中,采用 micro-CT 对种植区股骨进行扫描,分析骨组织,计算骨体积分数(bone volume/tissue volume, BV/TV)、骨小梁间隙(trabecular space, Tb.Sp)、骨小梁数量(trabecular number, Tb.N)以及骨结合指数(osseointegration index, OI)。

#### 1.3.5 各组大鼠种植区周围骨组织形态的观察

收集另外 6 只大鼠右侧种植区股骨,采用甲醛固定后,梯度乙醇脱水,进行非脱钙骨硬组织切片,使用亚甲基蓝-酸性品红染色,中性树脂封片,显微镜下观察骨组织形态变化。

#### 1.3.6 各组大鼠种植体愈合情况的观察

取“1.3.5”项下制备的切片,采用 Image J 8.0 软件分析种植体结合率(种植体与骨接触总长度/种植体在骨内总长度 $\times 100\%$ ),以及松质骨区骨量:找出骨组织种植体两个螺纹最外点并标记,两点连线做一正方形,作为松质骨区,以该区域内矿化骨基质面积占总面积的百分比作为松质骨区骨量。

#### 1.3.7 各组大鼠种植体扭矩的测定

收集大鼠左侧种植区骨组织,修整标本长度

为 15 mm，置入扭矩测试仪，固定扭力扳手，逆时针方向缓慢用力，记录扭矩范围以及种植体松动脱位的最大载荷值，作为种植体脱位扭矩。

### 1.3.8 免疫组化法检测种植区骨组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达

取“1.3.5”项下制备的切片，进行常规脱蜡，柠檬酸修复抗原，3% 过氧化氢封闭，加入 TNF- $\alpha$  (1:100)、IL-1 $\beta$  (1:100) 一抗，4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，加入二抗 (1:200)，室温孵育 2 h，DAB 显色，显微镜下拍照，采用 Image Pro Plus 软件进行分析，计算积分光密度值。

### 1.3.9 Western blot法检测种植区骨组织中 BMP-2、Runx2 蛋白表达

扭矩测定结束后将种植区骨组织研磨后裂解提取总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度。取 30  $\mu$ g 蛋白上样进行 SDS-PAGE 电泳并转膜，5% 脱脂牛奶封闭 2 h，加入 BMP-2 (1:1 000)、Runx2 (1:500) 一抗，4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，加入二抗 (1:2 000)，室温孵育 2 h，ECL 显影，凝胶成像系统分析条带灰度值，以 GAPDH 为内参蛋白，计

算目的蛋白的相对表达量。

## 1.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件对实验所得数据进行统计学分析，计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用 SNK-q 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植区骨代谢指标的影响

与假手术组比较，模型组与紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植区股骨 BV/TV、Tb.N 和 OI 均显著降低 ( $P < 0.05$ )，Tb.Sp 显著升高 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较，紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植区股骨 BV/TV、Tb.N 和 OI 均显著升高 ( $P < 0.05$ )，Tb.Sp 显著降低 ( $P < 0.05$ )，且不同剂量组间上述指标的差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，其中高剂量组变化幅度最大。见图 1、表 1。

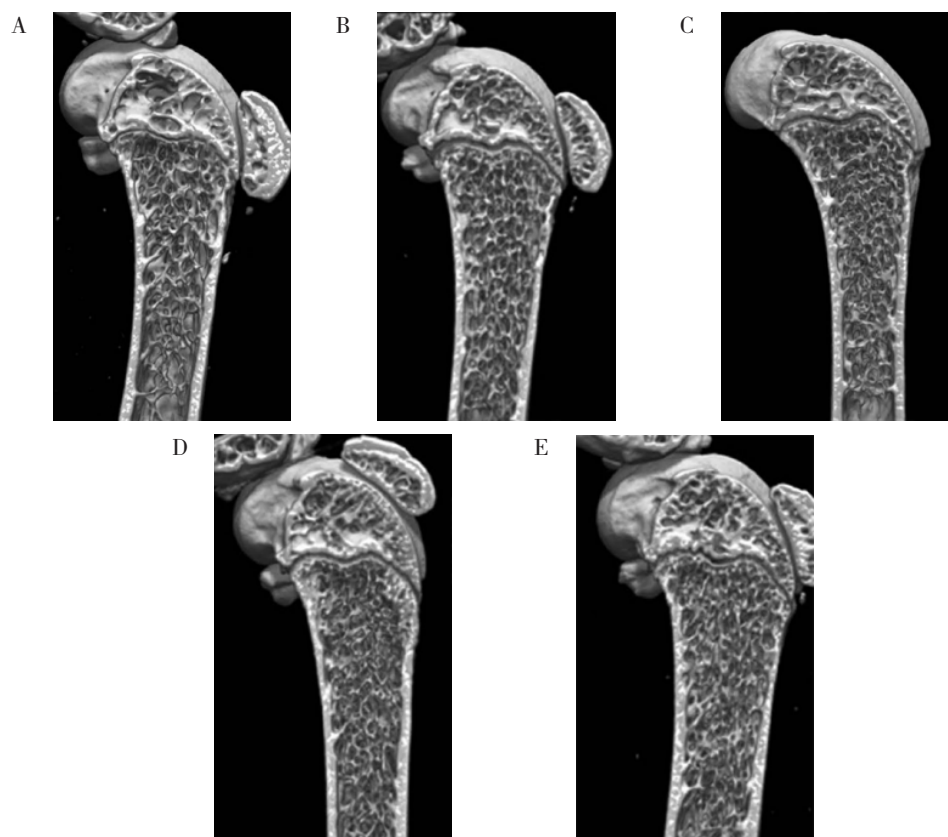


图1 各组大鼠种植区股骨微观图 (micro-CT)

Figure 1. Micrograph of femur in the implant area of rats in each group (micro-CT)

注：A.假手术组；B.模型组；C.紫檀芪低剂量组；D.紫檀芪中剂量组；E.紫檀芪高剂量组



表1 各组大鼠种植区股骨骨代谢指标的比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Table 1. Comparison of femoral bone metabolism indexes in the implant area of rats in each group

组别	BV/TV (%)	Tb.Sp (mm)	Tb.N (mm)	OI (%)
假手术组	75.12 ± 5.84	0.12 ± 0.01	8.43 ± 0.83	73.74 ± 8.42
模型组	19.31 ± 1.16 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.25 <sup>a</sup>	21.34 ± 2.13 <sup>a</sup>
紫檀芪低剂量组	32.49 ± 2.01 <sup>ab</sup>	0.36 ± 0.04 <sup>ab</sup>	3.85 ± 0.32 <sup>ab</sup>	35.68 ± 3.62 <sup>ab</sup>
紫檀芪中剂量组	44.75 ± 4.32 <sup>abc</sup>	0.27 ± 0.03 <sup>abc</sup>	5.16 ± 0.54 <sup>abc</sup>	48.15 ± 5.24 <sup>abc</sup>
紫檀芪高剂量组	63.24 ± 5.97 <sup>abcd</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>abcd</sup>	6.51 ± 0.68 <sup>abcd</sup>	61.32 ± 6.32 <sup>abcd</sup>
<i>F</i>	325.734	218.509	202.209	163.769
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与假手术组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与紫檀芪低剂量组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与紫檀芪中剂量组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

## 2.2 紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植区骨组织形态的影响

亚甲基蓝-酸性品红染色结果显示, 假手术组大鼠种植体与股骨结合紧密, 且结合界面骨板较厚, 骨小梁间隙较小; 模型组大鼠种植体与股骨结合不够紧密, 结合处骨板较薄, 骨小梁间隙大, 且数量较少; 紫檀芪低、中、高剂量组随着紫檀芪剂量的升高, 大鼠种植体骨结合逐渐紧密, 骨小梁数量逐渐增加, 间隙变小, 骨板增厚, 其中高剂量组骨组织形态学改善程度最大。见图 2。

## 2.3 紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植体愈合情况的影响

与假手术组比较, 模型组与紫檀芪低、中、

高剂量组大鼠种植体骨结合率与松质骨区骨量均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植体骨结合率与松质骨区骨量均显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且不同剂量组间上述指标的差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中高剂量组增幅最大。见表 2。

## 2.4 紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植体扭矩的影响

与假手术组比较, 模型组与紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植体脱位扭矩显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植体脱位扭矩显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且不同剂量组间上述指标的差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中高剂量组增幅最大。见表 2。

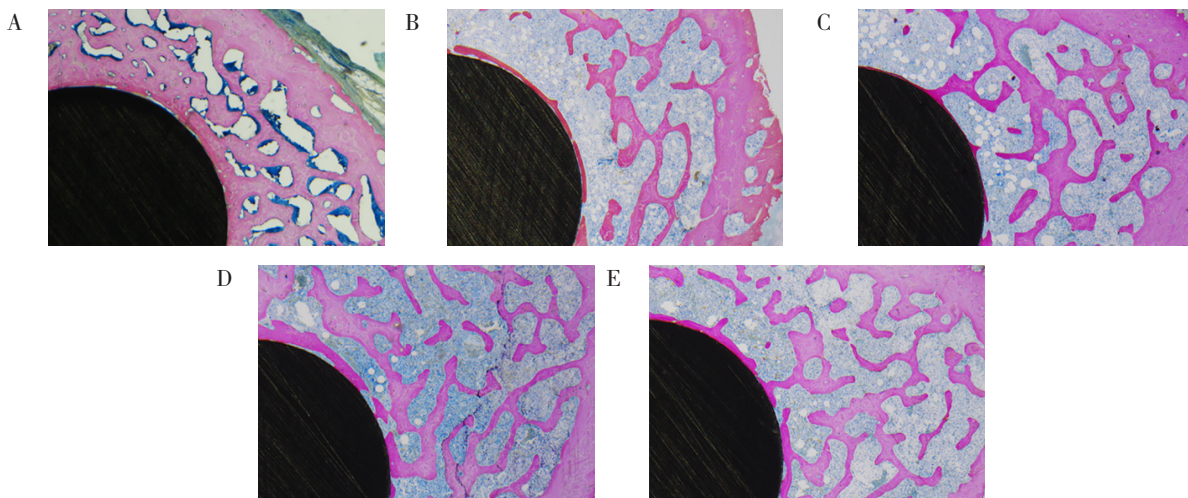


图2 各组大鼠种植区骨组织形态学变化 (亚甲基蓝-酸性品红染色, 200 ×)

Figure 2. Morphological changes of bone tissue in the implant area of rats in each group (methylene blue-acid fuchsin staining, 200 ×)

注: A.假手术组; B.模型组; C.紫檀芪低剂量组; D.紫檀芪中剂量组; E.紫檀芪高剂量组

表2 各组大鼠种植体骨结合率、松质骨区骨量和种植体脱位扭矩的比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2. Comparison of implant bone binding rate, cancellous bone mass and implant dislocation torque of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	骨结合率 (%)	松质骨区骨量 (%)	脱位扭矩 (N·cm)
假手术组	77.24 ± 8.55	26.58 ± 2.63	24.01 ± 2.34
模型组	31.27 ± 3.68 <sup>a</sup>	9.59 ± 1.03 <sup>a</sup>	9.73 ± 1.03 <sup>a</sup>
紫檀芪低剂量组	42.62 ± 4.39 <sup>ab</sup>	13.36 ± 1.31 <sup>ab</sup>	14.52 ± 1.31 <sup>ab</sup>
紫檀芪中剂量组	53.55 ± 6.24 <sup>abc</sup>	17.16 ± 1.49 <sup>abc</sup>	16.75 ± 1.75 <sup>abc</sup>
紫檀芪高剂量组	64.12 ± 6.42 <sup>abcd</sup>	21.77 ± 1.94 <sup>abcd</sup>	19.46 ± 2.11 <sup>abcd</sup>
<i>F</i>	103.878	172.525	108.645
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注：与假手术组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与模型组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05；与紫檀芪低剂量组比较，<sup>c</sup>*P*<0.05；与紫檀芪中剂量组比较，<sup>d</sup>*P*<0.05

### 2.5 紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植区骨组织中炎性因子表达的影响

与假手术组比较，模型组与紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植区骨组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  表达均显著升高 (*P* < 0.05)；与模型组比较，

紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植区骨组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  表达均显著降低 (*P* < 0.05)，且不同剂量组间上述指标的差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)，其中高剂量组降幅最大。见图 3、表 3。

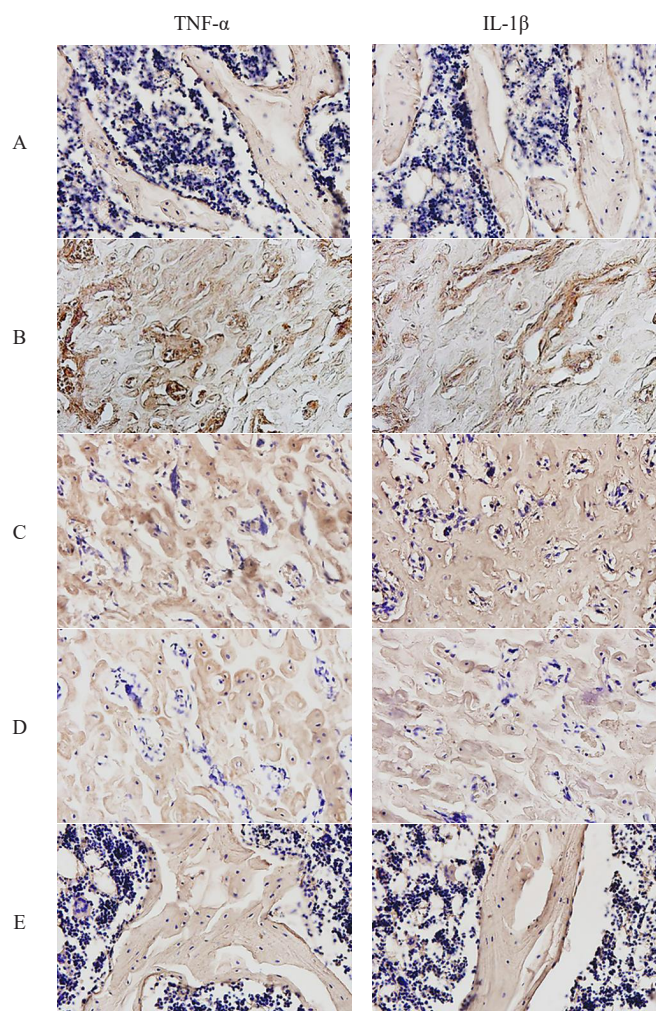


图3 各组大鼠种植区骨组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的表达 (免疫组化, 200 $\times$ )

Figure 3. TNF in bone tissue of rats in each group- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  Expression of (immunohistochemistry, 200 $\times$ )

注：A.假手术组；B.模型组；C.紫檀芪低剂量组；D.紫檀芪中剂量组；E.紫檀芪高剂量组

表3 各组大鼠种植区骨组织中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达的比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )Table 3. TNF in bone tissue of rats in each group-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  Expression comparison ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

组别	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
假手术组	3.02 $\pm$ 0.32	3.39 $\pm$ 0.33
模型组	9.46 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	9.73 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>
紫檀芪低剂量组	7.14 $\pm$ 0.81 <sup>ab</sup>	7.85 $\pm$ 0.72 <sup>ab</sup>
紫檀芪中剂量组	6.01 $\pm$ 0.56 <sup>abc</sup>	5.72 $\pm$ 0.53 <sup>abc</sup>
紫檀芪高剂量组	4.88 $\pm$ 0.52 <sup>abcd</sup>	4.66 $\pm$ 0.35 <sup>abcd</sup>
<i>F</i>	156.041	250.753
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注: 与假手术组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与紫檀芪低剂量组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与紫檀芪中剂量组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

## 2.6 紫檀芪对骨质疏松大鼠牙种植区骨组织中成骨相关蛋白表达的影响

与假手术组比较, 模型组与紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植区骨组织中BMP-2、Runx2表达均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较,

紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植区骨组织中BMP-2、Runx2表达显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且不同剂量组间上述指标的差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中高剂量组增幅最大。见图4、表4。

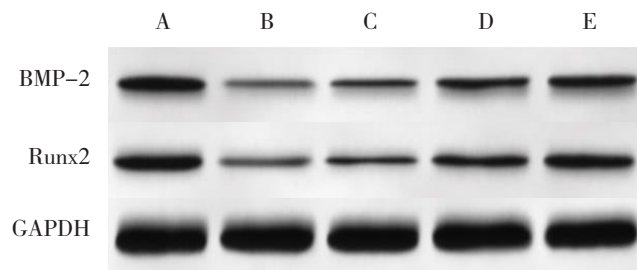


图4 各组大鼠种植区骨组织中BMP-2、Runx2蛋白表达

Figure 4. Expression of BMP-2 and Runx2 protein in bone tissue of rats in each group

注: A为假手术组; B为模型组; C为紫檀芪低剂量组; D为紫檀芪中剂量组; E为紫檀芪高剂量组

表4 各组大鼠种植区骨组织中BMP-2、Runx2蛋白表达的比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )Table 4. Comparison of BMP-2 and Runx2 protein expression in bone tissue of rats in implant area in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

组别	BMP-2	Runx2
假手术组	0.67 $\pm$ 0.07	0.63 $\pm$ 0.06
模型组	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
紫檀芪低剂量组	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.26 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>
紫檀芪中剂量组	0.35 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>	0.37 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>
紫檀芪高剂量组	0.47 $\pm$ 0.05 <sup>abcd</sup>	0.51 $\pm$ 0.04 <sup>abcd</sup>
<i>F</i>	328.500	342.575
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注: 与假手术组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与紫檀芪低剂量组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与紫檀芪中剂量组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

## 3 讨论

牙种植体骨整合即种植体与骨组织结合紧密, 且种植体周围骨组织新生具有支持作用的骨组织是种植牙能够长期使用的关键条件<sup>[12]</sup>。骨质

疏松症主要病理表现为骨量减少、骨密降低以及骨小梁间隙增大<sup>[13-14]</sup>。由于骨密度下降, 骨小梁间隙较大, 易导致牙种植失败, 延长与骨的结合时间, 降低牙种植成功率<sup>[15]</sup>。因此, 寻找提高骨质疏松状态下牙种植骨整合效果的药物, 已成为



临床上骨质疏松患者牙种植修复成功的关键。

骨质疏松发病机制复杂,主要原因是绝经后患者体内雌激素水平降低,引起骨代谢异常,并伴有炎症反应与免疫功能失调<sup>[16-17]</sup>。骨质疏松发生时,钙物质大量丢失并出现全身并发症,导致机体抵抗力下降从而诱发炎症。BMP-2属于转化生长因子 $\beta$ 家族成员,能够参与DNA合成与细胞复制,从而促进间充质细胞定向分化为成骨细胞<sup>[18]</sup>。Runx2是BMP-2下游基因,也是成骨细胞分化的标志<sup>[19]</sup>。本研究采用去势法建立骨质疏松大鼠模型,并进行牙种植体植入,结果显示,模型大鼠种植区骨组织骨代谢指标BV/TV、Tb.N和OI降低,Tb.Sp显著升高,且骨小梁数量减少,间隙增大,炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达升高,BMP-2、Runx2蛋白表达降低,提示骨代谢异常,成骨分化受到抑制,大鼠骨质疏松模型建立成功。另外,模型大鼠种植体骨结合率、松质骨区骨量以及脱位扭矩降低,表明骨质疏松状态下牙种植体骨整合受到影响。目前本研究初步发现,骨质疏松发生时成骨因子BMP-2、Runx2表达下降,但具体是被阻断还是先下降再被上调需要后续研究证实。

目前临床上骨质疏松症的治疗多采用雌激素类药物,但由于其局限性与不良反应,对中药治疗的研究逐渐深入<sup>[20]</sup>。紫檀芪具有抗炎、抗氧化药理活性,可有限减轻多种因素引起的组织器官损伤<sup>[21]</sup>。研究<sup>[22]</sup>发现,紫檀芪在肺组织损伤以及肺纤维化过程中发挥抗炎、抗氧化作用。但目前为止未见紫檀芪在骨质疏松症中的作用研究。本研究结果显示,紫檀芪低、中、高剂量组大鼠种植区骨组织中骨代谢指标BV/TV、Tb.N和OI均显著升高,Tb.Sp降低,且骨小梁数量增加,骨结合紧密,炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达降低,BMP-2、Runx2蛋白表达上调,表明紫檀芪可能通过改善钙丢失、提高骨密度和骨小梁数量来抑制炎症反应,有效改善骨质疏松大鼠骨代谢,促进骨形成,且高剂量的紫檀芪效果更好。另外紫檀芪能显著提高骨质疏松大鼠种植体骨结合率、松质骨区骨量以及脱位扭矩,表明紫檀芪能有效促进骨质疏松大鼠牙种植体整合。

综上所述,紫檀芪可促进骨质疏松状态下牙种植体骨整合的作用,其机制可能与抑制炎症反应发生,上调成骨相关因子BMP-2、Runx2蛋白

表达,从而改善骨代谢,促进骨生成,提高骨结合有关,为提高骨质疏松患者牙种植手术成功率提供新的科学依据,但具体机制还需进一步深入探索。

## 参考文献

- 1 Russell LA. Management of difficult osteoporosis[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2018, 32(6): 835-847. DOI: 10.1016/j.berh.2019.04.002.
- 2 Johnston CB, Dagar M. Osteoporosis in older adults[J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104(5): 873-884. DOI: 10.1016/j.mcna.2020.06.004.
- 3 张寒,王洪海,徐荣林. 参苓白术散合龟鹿二仙汤加减对原发性骨质疏松症脾肾两虚证患者骨代谢及炎症反应的影响[J]. *国际中医中药杂志*, 2021, 43(12): 1204-1208. [Zhang H, Wang HM, Xu RL. Effects of Shenling-Baizhu Powder combined with modified Guilu-Erxian decoction on bone metabolism and inflammation response in osteoporosis patients[J]. *International Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 43(12): 1204-1208.] DOI: 10.3760/ema.j.cn115398-20210728-00245.
- 4 Kang MH, Lee SJ, Lee MH. Bone remodeling effects of Korean Red Ginseng extracts for dental implant applications[J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(6): 823-832. DOI: 10.1016/j.jgr.2020.05.003.
- 5 Tabrizi R, Mousavi F, Ghasemi S, et al. Does osteoporosis increase marginal bone loss around dental implants in the posterior of the maxilla?[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2021, 50(7): 964-968. DOI: 10.1016/j.ijom.2020.12.001.
- 6 Rozema FR. Osteoporosis: risk factor for implants?[J]. *Ned Tijdschr Tandheelkd*, 2020, 127(9): 468-471. DOI: 10.5177/intvt.2020.09.20050.
- 7 Gao F, Yang S. Angelica sinensis extract: a potential drug to enhance osseointegration of dental implants in osteoporosis Patients[J]. *Biomed J Sci Tech Res*, 2019, 23(4): 17587-17591. DOI: 10.26717/BJSTR.2019.23.003933.
- 8 Trepiana J, Krisa S, Portillo MP. Activity of pterostilbene metabolites against liver steatosis in cultured hepatocytes[J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 5444. DOI: 10.3390/molecules25225444.
- 9 Imran Ahamad M, Prakash R, John AA, et al. Induced osteoblast differentiation by amide derivatives of stilbene: the possible osteogenic agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*,



- 2020, 30(11): 127138. DOI: 10.1016/j.bmcl.2020.127138.
- 10 Xu X, Zhang P, Li X, et al. MicroRNA expression profiling in an ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis before and after estrogen treatment[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(8): 4251–4263. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32913502/>.
  - 11 丁润蓉, 孙华磊, 刘亚萍, 等. 紫檀芪对 2 型糖尿病大鼠肾损伤的改善作用 [J]. *郑州大学学报 (医学版)*, 2022, 57(1): 18–22. [Ding RR, Sun HL, Liu YP, et al. Effects of pterostilbene on renal injury in type 2 diabetes mellitus rats[J]. *Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences)*, 2022, 57(1): 18–22.] DOI: 10.13705/j.issn.1671-6825.2021.03.040.
  - 12 Wu Y, Zhang Q, Zhao B, et al. Effect and mechanism of propranolol on promoting osteogenic differentiation and early implant osseointegration[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 48(4):191. DOI: 10.3892/ijmm.2021.5024.
  - 13 Wu Z, Li C, Chen Y, et al. Chrysin protects against titanium particle-induced osteolysis by attenuating osteoclast formation and function by inhibiting NF- $\kappa$ B and MAPK signaling[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 793087. DOI: 10.3389/fphar.2022.793087.
  - 14 吉秋霞, 管义祥, 徐建华. 金天格胶囊联合伊班膦酸钠及碳酸钙对骨质疏松患者的临床观察 [J]. *中国药师*, 2021, 24(6): 1102–1104, 1192. [Ji QX, Guan YX, Xu JH. Clinical observation of jintiange capsules combined with ibandronate sodium and calcium in the treatment of osteoporosis patients[J]. *China Pharmacist*, 2021, 24(6): 1102–1104, 1192.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2021.06.022.
  - 15 Xiao L, Lin J, Chen R, et al. Sustained release of melatonin from GelMA liposomes reduced osteoblast apoptosis and improved implant osseointegration in osteoporosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 6797154. DOI: 10.1155/2020/6797154.
  - 16 牛建锋, 朱海慧, 杨庆宇, 等. 瑞舒伐他汀通过 AMPK/Sirt1/NF- $\kappa$ B 通路改善骨质疏松雌性大鼠骨微结构的研究 [J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(1): 25–32. [Niu JF, Zhu HH, Yang QY, et al. Effects of rosuvastatin on AMPK/Sirt1/NF- $\kappa$ B pathway and bone microstructure in rats with osteoporosis[J]. *Drugs & Clinic*, 2022, 37(1): 25–32.] DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.01.004.
  - 17 Yang Y, Cheng R, Liu J, et al. Linarin protects against cadmium-induced osteoporosis via reducing oxidative stress and inflammation and altering RANK/RANKL/OPG pathway[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2022, 200(8): 3688–3700. DOI: 10.1007/s12011-022-03108-7.
  - 18 Gromolak S, Krawczenko A, Antończyk A, et al. Biological characteristics and osteogenic differentiation of ovine bone marrow derived mesenchymal stem cells stimulated with FGF-2 and BMP-2[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9726–9748. DOI: 10.3390/ijms21249726.
  - 19 Yodthong T, Kedjarune –Leggat U, Smythe C, et al. Enhancing activity of pleurotus sajor-caju (Fr.) sing  $\beta$ -1, 3-glucanopoligosaccharide (Ps-GOS) on proliferation, differentiation, and mineralization of MC3T3-E1 cells through the involvement of BMP-2/Runx2/MAPK/Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 190–206. DOI: 10.3390/biom10020190.
  - 20 Cheng CH, Chen LR, Chen KH. Osteoporosis due to hormone imbalance: an overview of the effects of estrogen deficiency and glucocorticoid overuse on bone turnover[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1376. DOI: 10.3390/ijms23031376.
  - 21 Trepiana J, Krisa S, Portillo MP. Activity of pterostilbene metabolites against liver steatosis in cultured hepatocytes[J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 5444. DOI: 10.3390/molecules25225444.
  - 22 彭艳芳, 张莹雯, 张亚兵, 等. 紫檀芪通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路对肺纤维化大鼠的保护作用 [J]. *武汉大学学报 (医学版)*, 2022, 43(2): 205–209. [Peng YF, Zhang YW, Zhang YB, et al. Protective effect of pterostilbene on pulmonary fibrosis rats through TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Medical Journal of Wuhan University*, 2022, 43(2): 205–209.] DOI: 10.14188/j.1671-8852.2020.0627.

收稿日期: 2022 年 08 月 30 日 修回日期: 2022 年 10 月 26 日  
本文编辑: 钟巧妮 杨燕