

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.09.011 [http://www.crter.org]  
贾婷婷, 张云涛, 刘顺振, 孙鑫, 侯玉东. 阳极氧化种植体植入早期骨组织细胞趋化因子受体4的表达[J].  
中国组织工程研究, 2013, 17(9):1592-1597.

## 阳极氧化种植体植入早期骨组织细胞趋化因子受体4的表达★

贾婷婷<sup>1</sup>, 张云涛<sup>2</sup>, 刘顺振<sup>3</sup>, 孙鑫<sup>3</sup>, 侯玉东<sup>3</sup>

1 山东大学齐鲁医院南山养生谷分院口腔科, 山东省龙口市 265700  
2 滨州医学院附属医院口腔矫形科, 山东省滨州市 256600  
3 滨州医学院, 山东省烟台市 256603

### 文章亮点:

实验结果显示阳极氧化种植体早期种植稳定的实现与诱导机体细胞趋化因子受体4高表达有关, 可采取相应的方法提高种植早期机体细胞趋化因子受体4蛋白表达量, 可促进种植体置入肌体早期种植的稳定。

### 关键词:

骨关节植入物; 骨科植入物; 免疫印迹法; 扫描电镜; 细胞趋化因子受体4; 种植体; 免疫组织化学; 骨关节植入物图片文章

### 缩略语:

细胞趋化因子受体4: chemokin CXC motif receptor 4, CXCR4

### 摘要

**背景:** 与传统种植体相比, 阳极氧化种植体植入早期即可达到种植稳定, 其相关的分子生物学机制并不明确。

**目的:** 分析细胞趋化因子受体4在阳极氧化种植体植入早期表达的意义。

**方法:** 选取4月龄Wistar大鼠40只, 随机分为种植体植入6, 12, 24 h组及空白对照组。将阳极氧化和喷砂两种表面特性的种植体分别植入实验组所有大鼠左右侧胫骨。植入6, 12, 24 h后处死各实验组大鼠, 旋出种植体, 截取种植体周围直径约2 cm骨组织, 对照组截取胫骨近骺端直径约2 cm骨组织。将各实验组一半骨组织制备蛋白样品, 用Western blot免疫印迹分析细胞趋化因子受体4蛋白, 以 $\beta$ -actin作为内参。另一半骨组织进行中性EDTA脱钙、切片, 进行细胞趋化因子受体4蛋白免疫组织化学检测。将24 h组取出的种植体行扫描电镜观察。

**结果与结论:** Western blot结果显示, 种植体植入24 h内, 实验组种植体周围骨组织细胞趋化因子受体4蛋白表达量均高于空白对照组。同一时间点, 阳极氧化种植体周围骨组织细胞趋化因子受体4表达量均高于表面喷砂种植体周围骨组织。免疫组织化学结果支持上述结果。扫描电镜可见, 阳极氧化种植体较喷砂种植体表面黏附较多的间叶样细胞。提示阳极氧化种植体诱导机体骨组织细胞趋化因子受体4高表达, 可能促使种植体达到早期稳定。

## Chemokin CXC motif receptor 4 expression in bone tissue surrounding anode-oxidized implants during early implantation

Jia Ting-ting<sup>1</sup>, Zhang Yun-tao<sup>2</sup>, Liu Shun-zhen<sup>3</sup>, Sun Xin<sup>3</sup>, Hou Yu-dong<sup>3</sup>

1 Department of Stomatology, Nanshan Branch of Qilu Hospital of Shandong University, Longkou 265700, Shandong Province, China

2 Department of Oral Orthopedics, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256600, Shandong Province, China

3 Binzhou Medical College, Yantai 256603, Shandong Province, China

贾婷婷★, 女, 1985年生, 山东省龙口市人, 汉族, 2012年滨州医学院毕业, 硕士, 医师, 主要从事口腔修复研究。  
jiating6@sina.com

通讯作者: 侯玉东, 教授, 硕士生导师, 滨州医学院, 山东省烟台市 256603  
bycgk@126.com

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344  
(2013)09-01592-06

收稿日期: 2012-05-25

修回日期: 2012-07-10

(20111225002/W·C)

Jia Ting-ting★, Master,  
Physician, Department of  
Stomatology, Nanshan Branch  
of Qilu Hospital of Shandong  
University, Longkou 265700,  
Shandong Province, China  
jjatting6@sina.com

Corresponding author: Hou  
Yu-dong, Professor, Master's  
supervisor, Binzhou Medical  
College, Yantai 256603,  
Shandong Province, China  
bycgk@126.com

Received: 2012-05-25  
Accepted: 2012-07-10

## Abstract

**BACKGROUND:** The anode-oxidized implants have shown high implant stability at early period compared to traditional implants. However, the cellular and molecular mechanisms are unknown.

**OBJECTIVE:** To investigate the significance of chemokine CXC motif receptor 4 in bone tissue around anode-oxidized implant during early implantation.

**METHODS:** Forty Wistar rats of 4 months old were selected and randomly divided into 6, 12 and 24 hours implantation groups and blank control group. Rats in experimental groups received anode-oxidized implant in one tibia and sand blast implant in the other one. Rats in the experimental groups were killed at 6, 12 and 24 hours accordingly after implantation, the implants were unscrewed, and the bone tissue around implants was prepared, 2 cm in diameter. For blank control group, proximal epiphysis bone tissue about 2 cm in diameter were prepared. Half bone tissues in the experimental groups were made into protein samples. The expression of chemokine CXC motif receptor 4 was detected by Western blot with  $\beta$ -actin as internal reference. The other half bone tissues were treated with neutral ethylene diamine tetraacetic acid, and then slides were made. The expression of chemokine CXC motif receptor 4 was detected by immunohistochemistry. The implants in the 24 hours implantation group were examined by scanning electron microscope.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The results of Western blot demonstrated that the expression of chemokine CXC motif receptor 4 in rat bone tissue of the experimental groups were significantly higher than that of the blank control group within 24 hours after implantation. At the same time point, the expression of chemokine CXC motif receptor 4 in rat bone tissue around the anode-oxidized implant was higher than that around the sand blast implant. The results of immunohistochemistry were consistent with those of Western blot. The observation results of scanning electron microscope showed that anode-oxidized surface showed more attached mesenchymal-like cells scattered all over the surfaces than the sand blast implant. The anode-oxidized implants can induce higher expression of chemokine CXC motif receptor 4 around bone tissue, and may promote the stability of implant at early time points.

**Key Words:** bone and joint implants; orthopedic implants; Western blot; scanning electron microscopy; chemokine CXC motif receptor 4; implants; immunohistochemistry; photographs-containing paper of bone and joint implants

Jia TT, Zhang YT, Liu SZ, Sun X, Hou YD. Chemokine CXC motif receptor 4 expression in bone tissue surrounding anode-oxidized implants during early implantation. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(9): 1592-1597.

## 0 引言

阳极氧化种植体表面有一层致密的氧化膜,可抑制金属离子释放以及增强金属的抗腐蚀性能,与传统种植体相比,可增加骨结合率,并在早期实现高度种植稳定<sup>[1-2]</sup>。Schupbach等<sup>[3]</sup>将体内取回的种植体用高分辨率显微镜分析,结果显示骨组织和阳极氧化纯钛种植体之间形成紧密锁结。阳极氧化种植体较其他表面特性种植体表现出高度骨结合和去除扭力值<sup>[4]</sup>。然而,其骨结合的分子机制尚不明确。细胞趋化因子受体4(chemokine CXC motif receptor 4, CXCR4)是基质细胞衍生因子1(stromal cell derived factor-1, SDF-1)受体,对干细胞的动员迁移及归巢起重要作用。CXCR4广泛表达在包括单核细胞、淋巴细胞及所有CD34<sup>+</sup>细胞表面,并与基质细胞衍生因子1构成基质细胞衍生因子1/CXCR4生物轴,参与细胞间信息传递及细胞迁移,对干细胞定位到骨受损部位起到了关键作用,但种植体植入早期不同表面特性种植体是否对机体表达CXCR4产生影响?实验将两种不同表面特性的种植体植入大鼠胫骨,探讨种植体植入24 h内,种植体表面特性对种植体周围骨组织CXCR4表达的影响。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 于2010年12月至2011年9月在滨州医学院中心实验室完成。

**材料:**

**动物:** 随机选取4月龄SPF级Wistar大鼠40只,由山东中医药大学提供,动物质量许可证号SC×鲁2006099,雌雄各半,体质量为(200±15) g。

**种植体:** 阳极氧化种植体和喷砂种植体由四川大学国家生物中心提供,长3 mm,直径

1.8 mm, 螺距0.6 mm。阳极氧化种植体是一种电化学氧化处理种植体的方法, 以钛为阳极, 以银、铂、铅等作为阴极, 在适当的电解液中, 施加一定的电压、电流, 经过一段时间后, 钛表面形成一层氧化膜。表面喷砂种植体是使用不同直径的三氧化二铝颗粒喷射种植体表面, 制备出不同表面粗糙度的种植体。

#### 主要试剂和仪器:

#### Main reagents and instruments:

试剂及仪器	来源
兔抗鼠 CXCR4 多克隆抗体、兔抗鼠 $\beta$ -actin 单克隆抗体	武汉博士德 生物技术有限公司
山羊抗兔 IgG(H+L) HRP Western 电泳及转膜仪 Micro Publisher3.3 RTV JSM-840 扫描电镜	北京中杉金桥 美国 bio-rad 公司 日本 OLMPUS 公司 日本 JEOL 公司

#### 实验方法:

**实验分组:** 40只Wistar大鼠随机数表法分为种植体植入6, 12, 24 h组及不植入种植体的空白对照组, 每组10只。

**种植体植入:** 将实验组大鼠采用体积分数3%水合氯醛10 mL/kg腹腔注射麻醉, 常规术区备皮, 3%的碘酒与体积分数75%的乙醇消毒3次, 铺无菌巾, 再用碘酒消毒术区, 切开左侧小腿上段1/2内侧皮肤及皮下组织, 分离肌肉和骨膜, 暴露胫骨近断端内侧, 用牙科台钻在生理盐水中冲洗冷却下制备一直径1.5 mm的孔, 用生理盐水反复冲洗去除碎屑, 随后旋入阳极氧化种植体, 分层缝合, 关闭创口。同样方法, 将喷砂种植体植入大鼠右侧胫骨。空白对照组在大鼠胫骨同一位置制备一相同大小的种植窝中不放置种植体。

**骨组织的获取:** 种植体植入6, 12, 24 h后, 处死动物, 旋出种植体, 并截取种植体周围直径约2 cm骨组织。空白对照组取种植窝周围直径约2 cm骨组织。

**电镜样本的处理:** 将24 h组取出的种植体, 在Eiko公司XD-1型二氧化碳临界点干燥器干燥, 而后置于Eiko公司IB-3型离子镀金仪喷金镀膜。

**骨组织脱钙及切片制备:** 骨组织置于30 g/L戊二醛固定4 h, 置于EDTA-2Na中性脱钙液中, 4 °C冰箱脱钙约6周, 每周换1次脱钙液, 以细针刺入为脱钙终点。组织用流水过夜冲洗, 梯度乙醇脱水, 石蜡包埋, 切片。组织附着于防脱载玻片上, 空气中干燥, 烤箱中70 °C加热3 h。切片置于4 °C冰箱中保存。

**免疫组织化学法检测CXCR4表达:** 烤箱中70 °C加热半

小时, 二甲苯脱蜡后经梯度乙醇水化, 用体积分数3%的过氧化氢溶液抑制内源性过氧化物酶, 进行抗原修复; 切片浸泡在柠檬酸缓冲液(pH 6.0)中微波炉加热修复10 min $\times$ 2次后, 待其自然冷却再用PBS洗涤3次, 正常山羊血清封闭, 加入CXCR4(工作浓度1:100)后, 置4 °C冰箱中过夜。次日PBS充分洗涤5 min $\times$ 3次, 滴加辣根酶标记二抗工作液, 37 °C孵育1 h。PBS冲洗5 min $\times$ 3次, PBS漂洗之后DAB显色, 自来水冲洗后, 苏木精复染、二甲苯透明, 中性树脂封固, 光镜下观察。PBS代替一抗作为阴性对照。使用IMAGE-PRO-PLUS软件, 读取各组平均吸光度值。

**骨组织蛋白样品的制备:** 对骨组织进行称质量, 然后将骨组织转入装有液氮的研钵中, 利用研磨法将骨组织磨成粉末状, 期间需保证液氮不完全挥发, 然后将粉末状骨组织收集到1.5 mL的EP管中。后向EP管中加入蛋白裂解液和PMSF混合物(按每100 mg 骨组织加入200  $\mu$ L裂解液, 裂解液与PMSF比例为100:1), 在冰上裂解骨组织30 min。用加样枪吸取EP管中的裂解液至另一EP管中, 12 000 r/min, 4 °C离心15 min, 取上清即为含有总蛋白的提取液。

**蛋白浓度测定及浓度调整:** 采用BCA法测定提取液中的蛋白浓度, 以BSA作为对照, 酶标仪570 nm波长滤光片读取A值。用PBS调整各组蛋白浓度一致。

**Western blot 免疫印迹分析:** 根据CXCR4的相对分子质量, 配制12%分离胶, 浓缩胶浓度为5%。胶凝后每孔上样约18  $\mu$ g, 依次为预染Marker、阳极氧化种植体植入6 h组、喷砂种植体植入6 h组、阳极氧化种植体植入12 h组、喷砂种植体植入12 h组、阳极氧化种植体植入24 h组、喷砂种植体植入24 h组。电转至0.45  $\mu$ m孔径硝酸纤维素膜, 5%脱脂牛奶封闭非特异性抗原, 加入1:500稀释的兔抗鼠CXCR4多克隆抗体, 室温孵育10 min, 4 °C过夜; 次日, 将膜从冰箱中取出, 室温孵育30 min, 并用含0.1%Tween20的Tris盐酸缓冲液(TBST)洗膜, 加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔IgG(H+L) HRP, 稀释比例1:10 000, 室温孵育40 min, 洗膜后加入增强化学发光底物Ecl Plus试剂, 曝光于X射线胶片上, 曝光时间为1 min; 常规显影, 定影。按传统方法做内参 $\beta$ -actin的Western blot免疫印迹。使用Total Lab Quant读数软件, 读取IA值。

**主要观察指标:** 种植早期阳极氧化和喷砂种植体周围大鼠骨组织CXCR4蛋白表达差异, 扫描电镜观察种植体表面黏附细胞种类、数量。

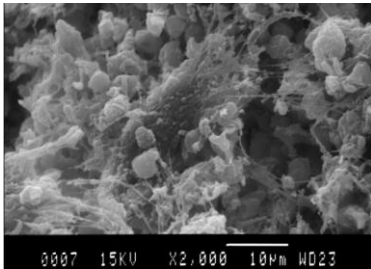
**统计学分析:** 采用SPSS 13.0软件对计量资料进行

析因设计方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 实验选用大鼠 40 只, 分为 4 组, 实验过程无脱失, 全部进入结果分析。

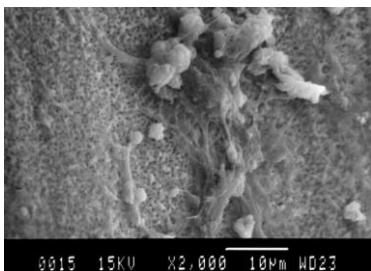
**2.2 种植体扫描电镜结果** 从大鼠体内取出植入 24 h 时种植体扫描电镜结果显示, 喷砂种植体表面黏附大量的纤维组织、红细胞、白细胞及少量的间叶样细胞, 见图 1。阳极氧化种植体, 种植体表面有大量的间叶样细胞、少量的红细胞、白细胞及纤维组织, 见图 2。



注: 种植体表面黏附大量的纤维组织、红细胞、白细胞及少量的间叶样细胞

图 1 喷砂种植体扫描电镜图( $\times 2\,000$ )

Figure 1 Scanning electron microscope observation of sand blast implant ( $\times 2\,000$ )



注: 种植体表面大量的间叶样细胞、少量的红细胞、白细胞及纤维组织

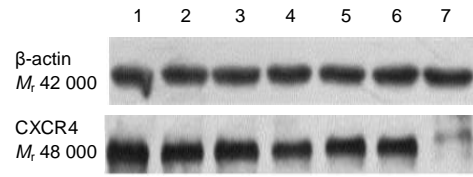
图 2 阳极氧化种植体扫描电镜图( $\times 2\,000$ )

Figure 2 Scanning electron microscope observation of anode-oxidized implant ( $\times 2\,000$ )

**2.3 种植体周围骨组织免疫印迹分析** 各组内参  $\beta$ -actin 的 Western blot 的表达较为一致。种植体植入 24 h 内, 两种不同表面特性种植体周围骨组织 CXCR4 蛋白表达量均高于空白对照组。同一时间点不同表面特性种植体周围骨组织 CXCR4 表达有差异, 见图 3。

**2.4 种植体周围骨组织 CXCR4 免疫组织化学检测** 见

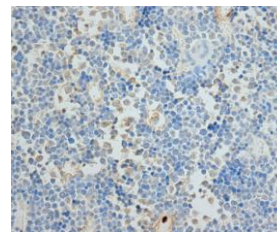
图 4。



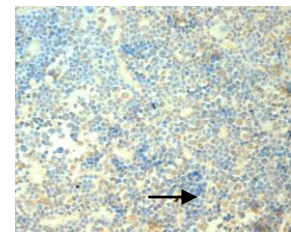
1: 阳极氧化种植体 6 h 组; 2: 表面喷砂种植体 6 h 组; 3: 阳极氧化种植体 12 h 组; 4: 表面喷砂种植体 12 h 组; 5: 阳极氧化种植体 24 h 组; 6: 表面喷砂种植体 24 h 组; 7: 空白对照组。

图 3 各组  $\beta$ -actin 和细胞趋化因子受体 4 western blot 免疫印迹分析结果

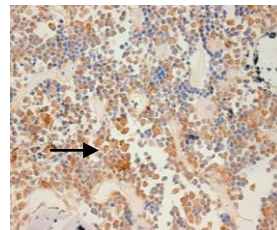
Figure 3 Western Blot analysis of  $\beta$ -actin and chemokine CXC motif receptor 4 of each group



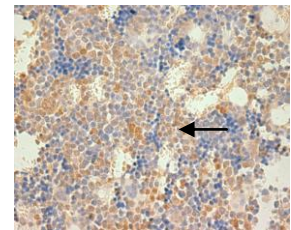
A: 阴性对照(未出现阳性染色)



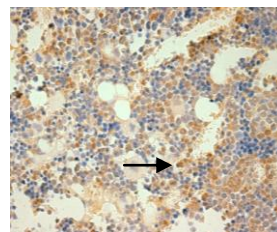
B: 空白对照(箭头指细胞趋化因子受体 4 蛋白)



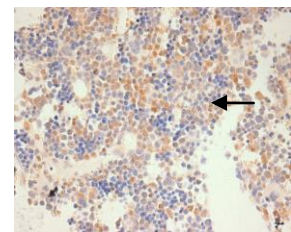
C: 阳极氧化种植体 6 h 组(箭头指细胞趋化因子受体 4 蛋白)



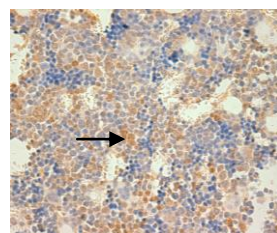
D: 喷砂种植体 6 h 组(箭头指细胞趋化因子受体 4 蛋白)



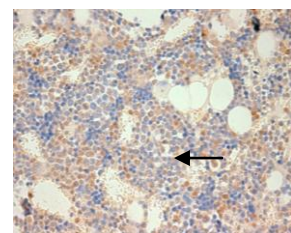
E: 阳极氧化种植体 12 h 组(箭头指细胞趋化因子受体 4 蛋白)



F: 喷砂种植体 12 h 组(箭头指细胞趋化因子受体 4 蛋白)



G: 阳极氧化种植体 24 h 组(箭头指细胞趋化因子受体 4 蛋白)



H: 喷砂种植体 24 h 组(箭头指细胞趋化因子受体 4 蛋白)

图 4 各组细胞趋化因子受体 4 蛋白表达(免疫组织化学,  $\times 400$ )

Figure 4 Expression of chemokine CXC motif receptor 4 in each group (Immunohistochemistry,  $\times 400$ )

CXCR4阳性表达位于细胞浆或胞膜上, 呈棕黄色或淡黄色细颗粒状。阴性对照组未出现阳性染色(图4A)。空白对照组骨组织CXCR4表达(图4B)明显低于各实验组(图C-H), 相同时间点阳极氧化种植体周围骨组织CXCR4表达(图C, E, G)高于喷砂种植体周围骨组织(图D, F, H)。

2.5 种植体周围骨组织CXCR4 Western blot IA值  
空白对照组CXCR4蛋白相对表达量为 $0.286 \pm 0.063$ 。两种不同表面特性的种植体周围骨组织CXCR4表达均高于空白对照组( $P < 0.05$ ); 同一时间点阳极氧化种植体周围骨组织CXCR4/ $\beta$ -actin比值均高于喷砂种植体。析因分析结果显示, 种植体表面特性( $F=71.818$ ,  $P=0.000$ ), 种植体植入时间( $F=32.628$ ,  $P=0.000$ ), 二因素交互效应( $F=7.486$ ,  $P=0.003$ )均对机体CXCR4蛋白表达产生影响。种植体表面特性为主要影响因素, 见表1。

表1 各组种植体周围骨组织细胞趋化因子受体4/ $\beta$ -actin的值

Table 1 The value of chemokine CXC motif receptor 4/ $\beta$ -actin of each experimental group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

组别	6 h	12 h	24 h
阳极氧化种植体	$1.30 \pm 0.02$	$1.11 \pm 0.02$	$0.97 \pm 0.04$
表面喷砂种植体	$1.04 \pm 0.08$	$0.78 \pm 0.12$	$0.89 \pm 0.10$

注: 结果显示种植体表面特性及植入时间均对机体细胞趋化因子受体蛋白4表达产生影响。

2.6 种植体周围骨组织CXCR4免疫组织化学平均吸光度值  
使用IMAGE-PRO-PLUS软件, 读取平均吸光度值, 空白对照组切片平均吸光度为 $0.02537 \pm 0.00843$ 。两种不同表面特性的种植体周围骨组织切片平均吸光度值均高于空白对照组( $P < 0.05$ )。同一时间点阳极氧化种植体周围骨组织平均吸光度值均高于喷砂种植体。析因分析结果显示, 种植体表面特性( $F=120.177$ ,  $P=0.000$ ), 种植体植入时间( $F=122.206$ ,  $P=0.000$ )及二因素交互效应( $F=24.266$ ,  $P=0.000$ )均对机体CXCR4蛋白表达产生影响, 见表2。

表2 各实验组种植体周围骨组织细胞趋化因子4受体免疫组织化学平均吸光度值

Table 2 The value of integral optical density of each experimental group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

组别	6 h	12 h	24 h
阳极氧化种植体	$0.27 \pm 0.013$	$0.22 \pm 0.00$	$0.15 \pm 0.01$
表面喷砂种植体	$0.20 \pm 0.010$	$0.08 \pm 0.02$	$0.12 \pm 0.00$

注: 结果显示种植体表面特性及植入时间均对机体细胞趋化因子受体4蛋白表达产生影响。

### 3 讨论

纯钛种植体暴露在空气中一段时间后, 其表面会形成一层几纳米厚的 $TiO_2$ 氧化膜, 这层氧化钛的薄膜使钛种植体具有良好的生物相容性。但由于此氧化膜较薄, 不能与骨组织直接形成化学键<sup>[5]</sup>, 因而很多学者开始用电化学氧化处理的方法增加外层氧化膜的厚度, 从而促进种植体早期的骨整合和提高长期的存留率, 但其潜在细胞和分子机制尚不明确。

与基质细胞衍生因子1/CXCR4轴系统在受损心肌、脑及皮肤募集祖干细胞的作用及异位骨形成和骨损伤中的作用已被证实<sup>[6-10]</sup>。然而其对种植早期骨组织再生修复的作用尚不明确。CXCR4是7次跨膜G蛋白偶联细胞膜受体, 广泛表达于单核细胞、淋巴细胞以及所有 $CD34^+$ 细胞膜表面。实验发现, 种植体植入24 h内, 相同时间点阳极氧化种植体周围骨组织CXCR4蛋白的相对表达量均高于喷砂种植体周围骨组织。但不能由此断定两种表面特性种植体周围骨组织CXCR4蛋白表达的差别是由于白细胞表达引起的。最近Furze等<sup>[11]</sup>学者发现基质细胞衍生因子1/CXCR4轴参与中性粒细胞的迁移和清除, 从而促进炎症的消散。中性粒细胞只有6.5 h的半衰期<sup>[10]</sup>, 衰老的中性粒细胞CXCR4表达上升<sup>[12]</sup>, 导致其归巢到富集基质细胞衍生因子1的骨髓进而被清除<sup>[13]</sup>。已有研究发现CXCR4特异性配体基质细胞衍生因子1在伤后第1天表达峰值, 与大量骨髓间充质干细胞聚集到受损位点有关<sup>[14]</sup>。Son等<sup>[15]</sup>进一步通过体外实验证明, CXCR4与从损伤部位获得的细胞产生的梯度趋化信号导致的间充质干细胞募集有关。扫描电镜结果支持CXCR4高表达是由于间叶样细胞的富集。

基质细胞衍生因子1/CXCR4轴在众多疾病如肿瘤、心血管、肝脏、HIV的生物学作用研究已逐步深入, 其在种植早期骨再生修复中的作用也越来越受到关注<sup>[16-19]</sup>。依据本实验结果, 阳极氧化种植体早期种植稳定的实现与诱导机体CXCR4高表达有关, 可采取相应的方法提高种植早期机体CXCR4蛋白表达量, 从而促进种植体早期种植稳定。通过采集血标本, 获得动员入循环血中的 $CXCR4^+$ 干细胞<sup>[20]</sup>, 进而利用获得的干细胞可以研究开发出一项新的基于干细胞的骨再生修复的方法。缺氧预处理干细胞使其表面CXCR4表达上调, 或将干细胞表面采用CXCR4基因修饰使CXCR4过表达<sup>[21]</sup>, 来促进



种植早期骨组织修复。

**作者贡献:** 实验设计由第一和第二作者共同完成, 评估者均为第一作者。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

#### 4 参考文献

- [1] Rocci A, Martignoni M, Gottlow J. Immediate loading of Branemark System TiUnite and machined-surface implants in the posterior mandible: A randomized open-ended clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*.2003;5(Suppl 1):57-63.
- [2] Zechner W, Tangl S, Furst G, et al. Osseous healing characteristics of three different implant types. *Clin Oral Implants Res*.2003;14(2):150-157.
- [3] Schupbach P, Glauser R, Rocci A, et al. The human bone-oxidized titanium implant interface: A light microscopic, scanning electron microscopic, back-scatter scanning electron microscopic, and energy-dispersive x-ray study of clinically retrieved dental implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005, 7(Suppl 1):S36-43.
- [4] Sul YT, Johansson C, Albrektsson T. Which surface properties enhance bone response to implants? Comparison of oxidized magnesium, TiUnite, and Osseotite implant surfaces. *Int J Prosthodont*.2006;19(4):319-328.
- [5] Sun Z, Wang D. Xiandai Kouqiang Yixue Zazhi.2001; 24 (2): 152-153.  
孙振,王东.种植体表面改性的现状和发展[J].现代口腔医学杂志, 2001,24 (2):152-153.
- [6] Cheng Z,Liu X,Ou L, et al.Mobilization of mesenchymal stem cells by granulocyte colony-stimulating factor in rats with acute myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2008;22 (5):363-371.
- [7] Wang Y, Deng Y, Zhou GQ.SDF-1alpha/CXCR4-mediated migration of systemically transplanted bone marrow stromal cells towards ischemic brain lesion in a rat model. *Brain Res*. 2008;1195:104-112.
- [8] Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med*.2004;10(8):858-864.
- [9] Otsuru S, Tamai K, Yamazaki T, et al.Circulating bone marrow-derived osteoblast progenitor cells are recruited to the bone-forming site by the CXCR4/stromal cell-derived factor-1 pathway. *Stem Cells*.2008;26(1):223-234.
- [10] Kitaori T, Ito H, Schwarz EM, et al. Stromal cell-derived factor 1/CXCR4 signaling is critical for the recruitment of mesenchymal stem cells to the fracture site during skeletal repair in a mouse model. *Arthritis Rheum*. 2009; 60(3): 813-823.
- [11] Furze RC, Rankin SM. Neutrophil mobilization and clearance in the bone marrow. *Immunology*. 2008;125(3):281-288.
- [12] Coelho PG, Granjeiro JM, Romanos GE, et al. Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. *Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 88 (2):579-96.
- [13] Nagase H, Miyamasu M, Yamaguchi M, et al. Cytokine-mediated regulation of CXCR4 expression in human neutrophils. *Leukoc Biol*.2002;71(4):711-717.
- [14] Ma J, Ge J, Zhang S, et al. Time course of myocardial stromal cell-derived factor 1 expression and beneficial effects of intravenously administered bone marrow stem cells in rats with experimental myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*. 2005;100(3):217-223.
- [15] Son BR, Marquez-Curtis LA, Kucia M, et al. Migration of bone marrow and cord blood mesenchymal stem cells in vitro is regulated by stromal-derived factor-1-CXCR4 and hepatocyte growth factor-c-met axes and involves matrix metalloproteinases. *Stem Cells*. 2006;24(5):1254-1264.
- [16] Gazit Y. Homing and mobilization of hematopoietic stemcells and hematopoietic cancer cells are mirror image processes, utilizing similar signaling pathways and occurring concurrently: circulating cancer cells constitute an ideal target for concurrent treatment with chemotherapy andantilineage-specific antibodies. *Leukemia*.2004;18(1):1-10.
- [17] Hernández-López C, Varas A, Sacedón R, et al. The CXCL12/CXCR4 pair in aged human thymus. *Neuroimmunomodulation*.2010;17(3): 217-220.
- [18] Salvucci O, Bouchard A, Baccarelli A, et al. The role of CXCR4 receptor expression in breast cancer: a large tissue microarray study.*Breast Cancer Res Treat*.2006;97(3): 275-283.
- [19] Wang MH, Huang TZ, Hui Z, et al. Zhongliu Fangzhi Yanjiu. 2008; 35(2):107-109.  
王明华,黄铁柱,惠震,等.趋化因子受体CXCR4在甲状腺癌中的表达[J].肿瘤防治研究,2008,35(2):107-109.
- [20] Otsuru S, Tamai K, Yamazaki T, et al.Circulating bone marrow-derived osteoblast progenitor cells are recruited to the bone-forming site by the CXCR4/stromal cell-derived factor-1 pathway. *Stem Cells*.2008;26(1):223-234.
- [21] Liao XG,Yin M,Li SY,et al.Shengming Kexue. 2010;22 (10): 1069-1073.  
廖新根,殷明,李士勇,等. SDF-1/CXCR4轴在骨再生修复中的研究进展[J].生命科学,2010,22 (10):1069-1073.