

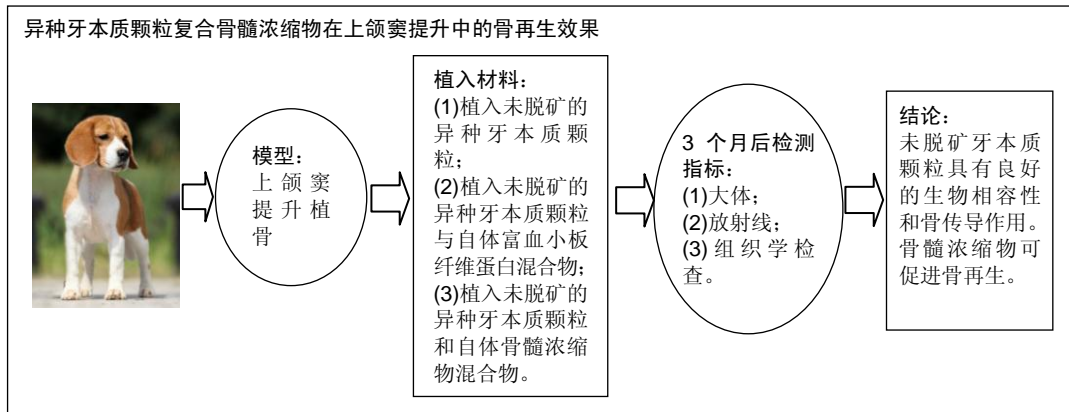
# 异种牙本质颗粒复合骨髓浓缩物在上颌窦提升中的成骨效应

崔婷婷<sup>1</sup>, 邱泽文<sup>2</sup>, 邵阳<sup>3</sup>, 仲维剑<sup>1</sup> (<sup>1</sup>大连医科大学口腔医学院口腔颌面外科, 辽宁省大连市 116023; <sup>2</sup>大连医科大学实验动物中心, 辽宁省大连市 116044; <sup>3</sup>宁波口腔医院口腔颌面外科, 浙江省宁波市 315000)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0947

ORCID: 0000-0002-1581-1573(崔婷婷)

文章快速阅读:



崔婷婷, 女, 1993年生, 辽宁省铁岭市人, 汉族, 大连医科大学口腔医学院在读硕士, 主要从事种植牙和骨再生技术的研究。

通讯作者: 仲维剑, 副教授, 硕士生导师, 大连医科大学口腔医学院口腔颌面外科, 辽宁省大连市 116023

中图分类号: R318

文献标识码: A

稿件接受: 2018-04-02



## 文题释义:

**骨髓浓缩物:** 是将穿刺抽吸出的骨髓, 通过离心、分离后获得富含单核细胞和血小板的浓缩物, 其中含有大量的骨髓干细胞, 能够有效促进骨组织的生成, 而血小板能为间充质干细胞的分化和扩增提供高浓度生长因子。目前, 临床上将自体骨髓浓缩物应用于骨科及相关学科, 能够有效地改善新骨生成的质和量, 同时也缩短了骨再生时间。

**牙本质颗粒:** 是将拔除的牙齿经过清洁、粉碎处理, 制成的由牙本质组成的颗粒状骨移植替代物, 使用前需通过煮沸、脱矿或者冷冻等方法去除其免疫原性, 提高其成骨活性。牙本质基质由 I 型胶原纤维和钙和磷等无机物组成, 与骨骼成分基本一致。作为骨移植材料, 牙本质不仅可为骨再生提供磷和钙, 其中的胶原成分也是成骨细胞生长的载体。此外, 牙本质中含有骨形成蛋白, 通过缓慢释放可促进骨再生重建。

## 摘要

**背景:** 自体骨和自体牙本质均可作为骨移植材料应用于骨缺损的再生重建中, 但异种或异体的牙本质能否作为骨移植替代材料, 仍有待研究。

**目的:** 评价未脱矿异种牙本质颗粒作为骨移植材料的可行性, 同时比较骨髓浓缩物和富血小板纤维蛋白在牙本质颗粒骨再生重建中的作用。

**方法:** 将临床获得的牙齿经过清洁、粉碎、煮沸、脱脂、消毒等步骤制成牙本质颗粒。取 12 只 1 岁龄雄性比格犬, 进行双侧上颌窦提升手术, 随机分 3 组进行窦腔内黏膜下植骨, A 组植入未脱矿的异种牙本质颗粒, B 组植入未脱矿的异种牙本质颗粒与自体富血小板纤维蛋白混合物, C 组植入未脱矿的异种牙本质颗粒和自体骨髓浓缩物混合物。植入后 3 个月取材, 进行植骨区 X 射线检查和组织学观察分析。

**结果与结论:** ①X 射线检查: A 组骨移植区可见密度较高的牙本质颗粒影像, 与邻近正常骨组织界限较明显; B 组、C 组骨移植区可见大量密度较低的阻射影, 与邻近正常骨组织界限不明显; ②组织学观察: A 组骨移植区牙本质颗粒周围有少量多核巨噬细胞, 新骨生成量较少; B 组、C 组骨移植区牙本质颗粒外形呈虫蚀状, 新骨生成的量均较多, 且骨小梁排列较规则; A、B、C 组的新骨生成率分别为(13.61±8.57)%, (32.28±4.85)%和(36.85±9.70)%, B 组、C 组新骨生成率显著高于 A 组( $P < 0.05$ ), B 组与 C 组新骨生成率无差异; ③结果表明: 经过处理的未脱矿异种牙本质颗粒具有良好的骨传导作用, 骨髓浓缩物或富血小板纤维蛋白均能有效促进未脱矿异种牙本质颗粒周围的新骨生成, 骨髓浓缩物的作用略优于富血小板纤维蛋白。

## 关键词:

牙本质颗粒; 骨髓浓缩物; 富血小板纤维蛋白; 骨再生; 上颌窦提升; 生物材料

## 主题词:

牙本质; 骨髓; 血小板; 纤维蛋白; 上颌窦; 骨移植; 动物实验; 组织工程

## 基金资助:

辽宁省自然科学基金(2015010313-301)

Cui Ting-ting, Master candidate, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Stomatology, Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China

Corresponding author: Zhong Wei-jian, Associate professor, Master's supervisor, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Stomatology, Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China

## Osteogenic effects of heterogeneous dentin particles in conjunction with bone marrow concentrate in the maxillary sinus lift

Cui Ting-ting<sup>1</sup>, Qiu Ze-wen<sup>2</sup>, Shao Yang<sup>3</sup>, Zhong Wei-jian<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Stomatology, Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China; <sup>2</sup>Animal Laboratory Center, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China; <sup>3</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Ningbo Dental Hospital, Ningbo 315000, Zhejiang Province, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** Autologous bone and dentin can be used as bone grafting materials for bone regeneration and reconstruction, but it is unclear whether heterogeneous dentin particles can be processed as bone substitutes to facilitate the bone regeneration.

**OBJECTIVE:** To investigate the feasibility of undemineralized heterogeneous dentin particles to be used as bone grafting materials, and to compare the effects of bone marrow concentrate and platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with dentin particles.

**METHODS:** The extracted human teeth were harvested and prepared to be dentin particles for bone grafting through cleaning, crushing, boiling, degreasing and disinfection. Twelve healthy male Beagle dogs, 1 year of age, were selected to create the animal models of bilateral maxillary sinus lift and were then randomly divided into three groups. The maxillary sinus surgery was performed on both sides of each dog. In group A, only implantation of heterogeneous dentine particles was given; in group B, implantation of the mixture of rich platelet fibrin and heterogeneous dentine particles was performed; and in group C, the mixture of bone marrow concentrate and heterogeneous dentine particles was implanted. The specimens from each animal were harvested after 3 months of implantation. Gross observation, X-ray examination and histological analysis were used to evaluate bone regeneration effects.

**RESULTS AND CONCLUSION:** No inflammatory signs were found in the bone grafting areas of each group. X-ray results showed that dentin particles with high density were detected in the bone graft area of group A, with the clear boundary with the adjacent bone tissue. However, lower density and unclear border of the graft area were detected in the groups B and C. Histological observation revealed that there was less new bone formation with a few multinucleated macrophages around the dentin particles in group A, while in groups B and C, dentin particles with worm-eaten shape was visible, and there was more new bone formation with regular trabecular alignment. The new bone formation rates were (13.61±8.57)%, (32.28±4.85)% and (36.85±9.70)% in groups A, B and C, respectively. Significantly higher new bone formation rate was found in groups B and C than group A ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between groups B and C. Experimental findings show that the undemineralized heterogeneous dentin particles possess good biocompatibility and bone conduction capacity. In combination with bone marrow concentrate and platelet-rich fibrin, the new bone formation around the grafted dentin granules can be effectively promoted. Moreover, bone marrow concentrates have a slightly better effect than platelet-rich fibrin.

**Subject headings:** Dentin; Bone Marrow; Blood Platelets; Fibrin; Maxillary Sinus; Bone Transplantation; Animal Experimentation; Tissue Engineering

**Funding:** the Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 2015010313-301

## 0 引言 Introduction

目前, 以生物力学为导向的种植修复缺失牙理念逐渐流行起来。但种植区由于创伤、牙周炎、肿瘤等原因造成骨量不足<sup>[1]</sup>, 很难满足生物力学导向的种植要求。此时, 需要骨移植材料来恢复种植区的骨量。自体骨被认为是黄金标准的移植材料, 具有较高的生物相容性, 避免了移植后的排斥反应<sup>[2]</sup>, 但自体骨来源有限、取骨创伤大, 并且取骨部位可能发生感染、疼痛等并发症, 使患者难以接受<sup>[3]</sup>。传统的骨移植材料包括自体骨、同种异体骨、人工合成骨和异种骨<sup>[4]</sup>。自体骨具有骨传导、骨诱导及骨生成的优点, 其缺点主要有供区损伤、来源有限及移植骨生物力学强度较低<sup>[5]</sup>。异体骨移植存在骨结合过程慢和产生免疫反应的可能性<sup>[6]</sup>。人工合成材料一般只具有骨传导性, 不具有骨诱导及骨生成作用。为解决传统骨移植材料的不足, 新骨移植材料的研究逐渐成为热点<sup>[7-8]</sup>。

将拔掉的智齿或牙周病患牙收集起来并加工成牙本质颗粒, 可用作骨移植材料, 应用于种植区骨量不足的部位。自体牙本质颗粒作为骨移植材料具有良好的骨再生能力, 还能最大限度地减少异物反应, 避免传播疾病<sup>[9]</sup>。但异种牙本质作为骨移植材料的可行性和成骨效果仍有待研究。前期研究发现, 骨髓浓缩物能够显著提高种植体周围骨缺损内早期新生骨的质量<sup>[10]</sup>; 富血小板纤维蛋白单独用于上

颌窦提升种植中可促进新骨生成<sup>[11]</sup>。但骨髓浓缩物和富血小板纤维蛋白没有支架作用, 不能维持空间结构, 关于其对牙本质颗粒骨再生的促进作用有何差异, 还未见报道。实验将具有支架作用的未脱矿异种牙本质颗粒, 分别混合骨髓浓缩物和富血小板纤维蛋白应用于上颌窦提升后的空间内, 来评价未脱矿异种牙本质颗粒作为骨移植材料的可行性, 并比较骨髓浓缩物和富血小板纤维蛋白促进骨再生的能力。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机分组对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年3月至2015年7月在大连医科大学完成。

1.3 材料

**实验动物:** 12只身体健康的1岁龄雄性比格犬, 平均体质量10 kg, 由大连医科大学动物实验中心提供并喂养, 许可证号: SCXK(辽)2014-0002。

**实验试剂及仪器:** 临床上拔除的阻生齿或无功能牙齿(患者已知情并同意将拔除的牙齿用于实验); 鹿醒宁、陆眠宁、青霉素、苏木精-伊红染色试剂、EXAKT300CP切片机(德国EXAKT公司); OLYMPUS SZX16 体式显微镜、OLYMPUS BX43光学显微镜(日本OLYMPUS公司); 离心

机(北京京立有限公司); 常规手术器械(手术刀、持针器、手术刀柄、止血钳、缝合针、纱布等)。

#### 1.4 实验方法

**1.4.1 制备未脱矿牙本质颗粒** 将临床上收集的智齿或无功能牙清洗干净, 去除牙釉质、牙骨质、牙周膜和牙髓等, 只保留健康的牙本质。将其敲碎后放入100℃的开水中煮沸2 h, 冷却后放入异丙醇内脱脂2 h, 流水清洗后粉碎成直径为0.25-0.50 mm的牙本质颗粒, 高温高压消毒备用。

**1.4.2 实验动物分组** 术前拍摄X射线片测量牙槽骨高度, 12只犬进行双侧上颌窦开窗提升, 将12只上颌窦随机分为3组, A组单纯植入未脱矿异种牙本质颗粒, B组植入未脱矿异种牙本质颗粒与富血小板纤维蛋白混合物, C组植入未脱矿异种牙本质颗粒和骨髓浓缩物混合物。

**1.4.3 相关材料的制备** 实验犬肌肉注射0.07-0.1 mL/kg的陆眠宁, 待全麻后肌肉注射青霉素0.08 mL/kg预防感染。

**制备富血小板纤维蛋白:** 取B组犬, 股部备皮、消毒, 切开股部皮肤及纤维结缔组织, 分离、暴露股静脉, 抽取5 mL股静脉血, 迅速将其放入离心机内, 400×g离心9 min, 中间层即为富血小板纤维蛋白。将其剪碎后与未脱矿的异种牙本质颗粒混合备用。

**制备骨髓浓缩物:** 取C组犬, 于实验犬髂前上嵴处垂直刺入骨髓针, 缓慢抽取5 mL骨髓血, 迅速注入含抗凝剂的离心管中摇匀, 400×g离心9 min, 中间褐色层即为骨髓浓缩物, 将其与未脱矿的异种牙本质颗粒混合备用。

**1.4.4 上颌窦提升及植骨手术** 于上颌第一磨牙颊侧前庭沟、牙槽嵴顶及腭侧龈缘处行利多卡因局部浸润麻醉。待局部麻醉起效后, 于上颌第一磨牙腭侧龈缘切开, 翻瓣, 充分暴露术区, 用球钻去除腭部骨板, 制备直径为8 mm的骨窗, 在距窦底黏膜1 mm左右时用冲顶器提升窦底骨板, 保持窦黏膜完整, 提升高度为4 mm, 采用相同方法进行对侧手术, 并按照实验计划植入同等体积(约为1 cm<sup>3</sup>)的充填材料: A组单纯植入未脱矿异种牙本质颗粒, B组植入未脱矿异种牙本质颗粒与富血小板纤维蛋白混合物, C组植入未脱矿的异种牙本质颗粒和骨髓浓缩物的混合物, 严密缝合(图1)。

**1.4.5 术后处理** 术后即刻注射鹿醒宁促进动物复苏。术后1周肌注青霉素以预防感染, 术后10 d拆线, 术后流食2周后正常进食。

**1.5 主要观察指标** 材料植入后3个月处死12只实验犬, 通过大体观察、X射线摄片观察植骨区域骨质改变; 取植骨区组织标本并将其放入体积分数10%中性甲醛溶液中固定, 制作石蜡切片、苏木精-伊红染色观察牙本质颗粒的变化和新骨生成情况, 通过ImagePro 6.0软件对组织学切片进行分析, 计算新骨生成率。

新骨生成率=新生骨面积/骨缺损总面积×100%。

**1.6 统计学分析** 利用SPSS 17.0软件对所得数据进行

统计学分析, 比较3组新骨生成率是否有统计学差异。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 12只实验犬均存活, 没有排斥反应和伤口感染等症状, 全部进入结果分析。

**2.2 大体观察** 3组骨移植区均愈合良好, A组骨移植区的表面凹凸不平, 仍可见牙本质颗粒, 与邻近骨组织的界限较明显; B、C组骨移植区的骨面较A组平整, 与邻近骨组织无明显界限。

**2.3 影像学观察** A组骨移植区可见密度较高的牙本质颗粒影像, 与邻近正常骨组织界限较明显; B组骨移植区可见大量密度较低的阻射影, 与邻近正常骨组织界限不明显; C组骨移植区可见大量密度较低的阻射影, 无法分辨与周围组织界限, 见图2。

**2.4 组织形态学观察** A组骨移植区可见大量牙本质颗粒, 牙本质颗粒周围有少量多核巨噬细胞, 新骨生成量较少(图3a); B组骨移植区可见未脱矿异种牙本质颗粒外形呈虫蚀状, 新骨生成量较A组多且骨小梁排列较规则(图3b); C组骨移植区未脱矿异种牙本质颗粒虫蚀状外形更加明显, 新骨生成量较A组和B组多, 骨小梁排列更为规则(图3c)。

**2.5 新骨生成率** 将每个标本的不同部位进行显微摄片, 利用ImagePro 6.0软件对照片中的新生骨进行标记并计算新骨生成率。利用SPSS17.0软件对所得数据进行单因素方差分析, 比较各组骨移植材料在诱导成骨方面是否有统计学差异。A、B、C组的新骨生成率分别为(13.61±8.57)%、(32.28±4.85)%和(36.85±9.70)%, B组、C组新骨生成率显著高于A组( $P < 0.05$ ), B组与C组新骨生成率无差异( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论 Discussion

临床常见的骨移植材料有自体骨、异种骨和人工合成骨等。尽管自体骨移植仍被认为是骨移植材料的黄金标准<sup>[2]</sup>, 但它有几个缺点: ①需要在供体部位行第2次手术, 术后可能出现疼痛、肿胀、麻木、感染等并发症<sup>[12]</sup>; ②有限的骨供应<sup>[13]</sup>。异体骨来源广泛, 但异体骨的结合过程要比自体骨慢, 其与宿主骨的结合能力也肯定不及自体骨, 异体移植可产生较大的免疫反应, 可能发生排斥反应, 存在交叉感染传播疾病的风险<sup>[14-18]</sup>。人工骨的出现可满足各类骨缺损形态的需求, 但其成骨率有限且价格较高<sup>[19-20]</sup>。因牙本质成分与骨组织相似, 且含骨诱导形成蛋白和生长因子, 逐渐引起人们的重视。此次研究旨在探讨经过处理的未脱矿异种牙本质颗粒作为骨移植替代材料的可行性。

此次研究采用的动物模型是犬上颌窦提升植骨。上颌窦提升可分为上颌窦内提升和上颌窦外提升<sup>[21]</sup>。在临床上, 上颌窦外提升的开窗入路为颊侧<sup>[22]</sup>, 但犬颊侧上颌窦外壁有粗大的眶下神经管走行, 阻碍了颊侧开窗的入路, 所以

此次实验所采用的提升方式为经腭侧开窗外提升。众所周知,组织工程的3要素为种子细胞、支架材料和生长因子微环境。此次实验中支架材料为异种牙本质颗粒,富血小板纤维蛋白和骨髓浓缩物中的血小板会释放出生长因子,如:骨形成蛋白、血管内皮生长因子等,骨髓浓缩物中含有骨髓干细胞和成骨细胞。选取上颌窦作为植骨区,是因为上颌窦提升所提供的空间无菌,并且植骨后愈合过程中不受外力因素干扰。上颌窦腔为骨移植材料生长提供了一个稳定、清洁的微环境。

牙齿在组织学上分为硬体组织和软组织。硬体组织包括牙釉质、牙本质和牙骨质,软组织包括牙髓。牙齿的矿物质包括5种生物磷酸钙:羟基磷灰石、磷酸三钙、磷酸氢钙、非晶磷酸钙和磷酸二钙脱水,当其植入体内时,磷酸钙的5种类型相互作用,能发挥骨重塑功能。成熟牙釉质质量的96%~97%为无机物,其余的为有机物和水。牙骨质质量的45%~50%为无机物。成熟牙本质质量的70%为无机物<sup>[23]</sup>。有文章报道牙本质和骨组织有相似的理化性质,并且具有骨诱导和骨传导能力,其诱导的恢复过程类似于自体骨<sup>[24]</sup>。具备骨诱导能力,是因为牙本质中含有骨形态发生蛋白、血小板衍生生长因子、胰岛素生长因子、转化生长因子、成纤维生长因子等<sup>[25]</sup>。骨形态发生蛋白是诱导间充质干细胞向骨组织细胞分化的生长因子,是骨组织形成过程中极其重要的生长因子。其中骨形态发生蛋白2主要对未分化间充质细胞和骨系细胞起召集和分化作用,而且可使成纤维细胞和成肌细胞逆向分化为骨系细胞<sup>[26]</sup>。骨形态发生蛋白虽然能促新骨形成,但其半衰期较短,不能长时间维持有效浓度,因而减弱了其诱导新骨形成的能力<sup>[27]</sup>。牙本质基质可作为骨形态发生蛋白的缓释系统,使其中所含的骨形态发生蛋白持续缓慢释放,可长时间发挥作用<sup>[28]</sup>。

研究表明,自体牙本质颗粒作为骨移植材料有着良好的生物相容性,其中所含的活性生长因子对未分化间充质干细胞具有良好的骨诱导作用。自体牙本质颗粒不存在免疫排斥反应和感染风险,被患者和医生所认可,但其来源有限,有些患者可能没有智齿或者其他无功能的较健康牙齿,所以自体牙本质颗粒作为骨移植材料有一定的限制。与自体牙相比,异种牙齿来源广泛,可将其他患者的智齿或无功能牙齿制备成牙本质颗粒消毒备用,但是异种牙本质移植过程中,可能存在免疫排斥反应和感染风险,因此制备异种牙本质颗粒的过程必须在保存活性物质的前提下,去除异种牙本质颗粒的免疫原性。目前,常用的去除牙本质颗粒抗原性的方法包括煅烧、冷冻、脱钙、煮沸等<sup>[29]</sup>。此次实验去除异种牙本质颗粒免疫原性的方法是煮沸法,煮沸法可使异种牙本质颗粒中的蛋白变性,从而降低其免疫原性。Moharamzadeh等<sup>[30]</sup>将经煮沸处理的牛牙本质颗粒植入大鼠股骨内,未见明显异物反应,并且会逐渐被破骨细胞吸收,成骨细胞在破骨细胞吸收形成的凹陷内分泌骨基质,进一步矿化形成板层骨。Moharamzadeh

所得到的结论与此次实验结果一致。事实证明经煮沸法处理的异种牙本质颗粒具有良好的生物相容性,不会引起炎症反应。

此次实验结果显示,A、B、C组均有新骨生成,骨小梁之间有较多活跃的骨细胞,这表明异种牙本质颗粒有良好的骨传导性。综上所述,异种牙本质颗粒具有良好的骨传导性和生物相容性,并未引起机体明显免疫排斥反应,具备成为良好骨移植替代材料的潜能,值得进一步深入研究。

富血小板纤维蛋白是继富血小板血浆后的第2代血小板浓缩制品,是一个自体白细胞和富血小板纤维生物材料,其分子结构类似天然血凝块,为组织细胞提供迁移、增殖和分化的场所,可促进软硬组织的修复。在富血小板纤维蛋白中,血小板内的 $\alpha$ -颗粒被凝血酶、胶原等激活后释放多种生长因子,如血管内皮细胞生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、转化生长因子、血小板衍生生长因子、表皮生长因子等<sup>[31]</sup>。这些生长因子不仅促进细胞的分化、血管增生和成骨细胞的增殖,同时还具有抑制破骨细胞的能力。富血小板纤维蛋白的纤维蛋白呈多孔疏松网状结构,使得营养成分及氧气可轻松地弥散至细胞周围,促进骨髓干细胞分化为成骨细胞,沉积骨质,加速成骨过程。经离心法制作的富血小板纤维蛋白中几乎包含了血液中所有的白细胞。白细胞在裂解过程中持续释放生长因子,降低局部免疫反应,提高了宿主的抗感染能力,表明富血小板纤维蛋白对免疫系统有支持作用,能够刺激防御机制,具有调节炎症反应和抗感染能力<sup>[32]</sup>。离心所得的富血小板纤维蛋白为胶冻状,可剪碎后与骨粉混合,方便植骨手术的操作;还可压成膜覆盖于植骨区的表面,充当胶原膜,促进伤口愈合和防止感染。有文献报道,富血小板纤维蛋白能显著提高移植材料的成骨效率<sup>[33]</sup>,在此次研究中也验证了这一观点的准确性。

骨髓是人体的造血组织,位于许多骨骼内。骨髓能制造红细胞、血小板和各种白细胞。血小板有止血作用,白细胞能杀灭与抑制各种病原体,包括细菌、病毒等,某些淋巴细胞能制造抗体,因此骨髓不但是造血器官,还是重要的免疫器官。骨髓是一种特殊的结构,除了含有红细胞和白细胞之外,还存在与生长发育有关的造血干细胞和间充质干细胞。间充质干细胞实际上是一类具有多分化潜能及自我更新的细胞,在体外诱导下可定向分化为骨细胞、软骨细胞、肌细胞、脂肪细胞、肝细胞等。间充质干细胞的成骨作用已得到了国内外专家学者的认可。直接从骨髓腔内抽取的骨髓,干细胞浓度低,每毫升骨髓中有核细胞数目为 $32 \times 10^6$ 个,其中18 000个有核细胞中只有1个是间充质干细胞,所以单纯使用骨髓的成骨作用受到了限制<sup>[34]</sup>。骨髓浓缩物是将骨髓离心离后获得的有核细胞的浓缩物,其中含有大量的骨髓干细胞和生长因子,能够有效促进骨组织的生成<sup>[35]</sup>。此次实验结果显示,C组骨移植区的未脱



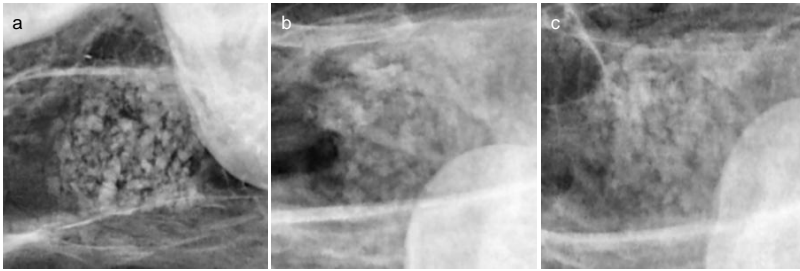


图2 植骨材料植入3个月后各组植骨区影像学检查结果  
Figure 2 Radiological examination of the grafted area after 3 months of implantation

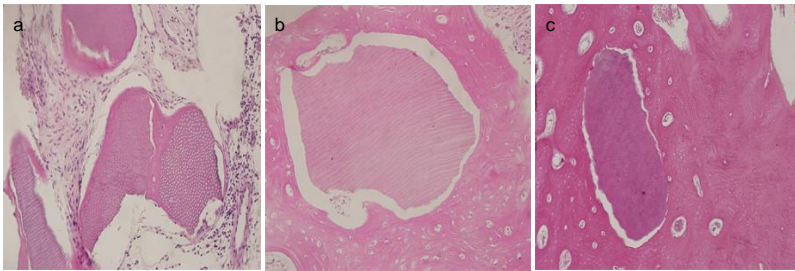


图3 植骨材料植入3个月后各组植骨区牙本质颗粒周围骨再生情况(苏木精-伊红染色)  
Figure 3 Histological observation of the bone regeneration around the dentin particles with hematoxylin-eosin staining after 3 months of implantation

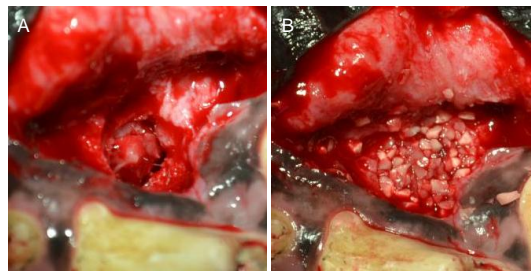


图1 骨缺损模型的制备与骨移植材料的植入  
Figure 1 Preparation of bone defect model and implantation of bone grafting materials  
图注: 图中A为骨缺损模型的制备, B为骨移植材料的植入。

矿异种牙本质颗粒虫蚀状外形更加明显, 新骨生成量较A组和B组多, 骨小梁排列更为规则。说明骨髓浓缩物与支架材料联合应用能促进骨缺损区新骨生成, 且成骨效果较富血小板纤维蛋白好, 与Dallari等<sup>[36-38]</sup>实验结果一致。目前, 骨髓浓缩物已在整形修复外科领域, 如促进脂肪移植成活、皮片和皮瓣移植、改善瘢痕质地、减轻瘢痕增生、治疗骨及软骨疾病中得到了广泛应用, 但骨髓浓缩物移植后, 骨髓细胞在移植区域定向诱导分化为某种特定细胞的问题还需要进一步探究和明确。

通过此次研究发现, 经过处理的未脱矿异种牙本质具有良好的生物相容性, 能诱导其新骨生成, 可作为骨移植替代材料, 但单纯使用未脱矿异种牙本质颗粒, 骨生成缓慢; 骨髓浓缩物和富血小板纤维蛋白均能促进牙本质颗粒的吸收并加速其新骨生成, 骨髓浓缩物的作用略优于富血小板纤维蛋白。虽然异种牙本质颗粒未引起局部的免疫排斥反应和感染, 但其对全身免疫系统和其他器官是否造成不良影响还需要进一步研究。

图注: A组植入未脱矿的异种牙本质颗粒, B组植入未脱矿的异种牙本质颗粒与自体富血小板纤维蛋白混合物, C组植入未脱矿的异种牙本质颗粒和自体骨髓浓缩物混合物。图中a为A组, 可见颗粒状牙本质颗粒; b为B组, 牙本质颗粒模糊; c为C组, 植骨区密度均匀增高, 边界不清。

图注: A组植入未脱矿的异种牙本质颗粒, B组植入未脱矿的异种牙本质颗粒与自体富血小板纤维蛋白混合物, C组植入未脱矿的异种牙本质颗粒和自体骨髓浓缩物混合物。图中a为A组, 新骨生成量较少( $\times 40$ ); b为B组, 牙本质颗粒吸收明显, 新骨生成较多( $\times 100$ ); c为C组, 新骨量多, 骨质致密( $\times 40$ )。

**作者贡献:** 实验设计仲维剑, 实验实施为邱泽文, 邵阳, 崔婷婷, 仲维剑, 实验评估为仲维剑, 资料收集为崔婷婷、仲维剑。崔婷婷成文, 仲维剑审校, 崔婷婷、仲维剑对文章负责。

**经费支持:** 该文章接受了“辽宁省自然科学基金(2015010313-301)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 文章及内容不涉及相关利益冲突。

**伦理问题:** 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。文章的撰写与编辑遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

**文章查重:** 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

**作者声明:** 崔婷婷、仲维剑对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

#### 4 参考文献 References

- [1] Cha HS, Kim JW, Hwang JH, et al. Frequency of bone graft in implant surgery. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2016;38(1):19.
- [2] Andreas S, Frank W, Marcus H, et al. Autonomic bone grafts in oral implantology—is it still a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *Int J Implant Dent.* 2017;46(1):3-23.
- [3] 解邦杰, 刘成龙, 任在上, 等. 不同类型骨移植材料修复牙周牙槽骨缺损的临床研究[J]. *全科口腔医学杂志*, 2016, 3(3):95-96.

- [4] Ashish S, Ibukunolima A, Osama E, et al. Role of bone grafts and bone graft substitutes in isolated subtalar joint arthrodesis. *Acta Orthopédica Brasileira*. 2017;25(5):183-187.
- [5] 黄洪超, 马信龙, 陈晓鹏, 等. 骨科移植物的分类及其研究进展[J]. *中国城乡企业卫生*, 2017, 8(8):27-33.
- [6] Bhatt R. Bone Graft Substitutes. *Hand Clinics*. 2012;4(23):457-468.
- [7] Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. *J Foot Ankle Surg*. 1996;35(5):413-417.
- [8] Van Houwelingen AP, McKee MD. Treatment of osteopenic humeral shaft nonunion with compression plating, humeral cortical allograft struts, and bone grafting. *J Orthop Trauma*. 2005;19(1):36-42.
- [9] Park SM, Um IW. Clinical application of auto-tooth bone graft material. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2012;38(1):2-8.
- [10] 杨颖, 仲维剑, 刘国, 等. 自体骨髓浓缩物修复种植体周围的骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(10):1653-1658.
- [11] 靳夏莹, 那日苏, 郑辉, 等. 评价富血小板纤维蛋白单独用于上颌窦提升种植骨再生的效果[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(26):4149-4154.
- [12] Passarelli MC, Filho JRT, Brizzi FAM, et al. Comparison of Puddu osteotomy with or without autologous bone grafting: a prospective clinical trial. *Rev Bras Ortop*. 2017;52(5):555-560.
- [13] Meloni SM, Jovanovic SA, Urban I, et al. Horizontal Ridge Augmentation using GBR with a Native Collagen Membrane and 1:1 Ratio of Particulated Xenograft and Autologous Bone: A 1-Year Prospective Clinical Study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017;19(1):38-45.
- [14] Fong EL, Wan X, Yang J, et al. A 3D in vitro model of patient-derived prostate cancer xenograft for controlled interrogation of in vivo tumor-stromal interactions. *Biomaterials*. 2016;77:164-172.
- [15] Irinakis T, Dabuleanu V, Aldahlawi S. Complications During Maxillary Sinus Augmentation Associated with Interfering Septa: A New Classification of Septa. *Open Dent J*. 2017;22(11):140-150.
- [16] Ratushny V, Capell BC, Rosenbach M. Presumed serum sickness following thymoglobulin treatment of acute cellular rejection of a cardiac allograft. *Cutis*. 2017;100(3):186-188.
- [17] Andratschke M, Hagedorn H. First results of frontal sinus obliteration with a synthetic, resorbable and osteoconductive bone graft of  $\beta$ -tricalcium phosphate. *J Laryngol Otol*. 2017;131(6):534-540.
- [18] Acharya D, Rajapreyar I. Myocardial perfusion imaging for cardiac allograft vasculopathy assessment: Evidence grows, but questions remain. *J Nucl Cardiol*. 2017. doi: 10.1007/s12350-017-1116-4. [Epub ahead of print]
- [19] Ghate N, Cui H. Mineralized collagen artificial bone repair material products used for fusing the podarthral joints with internal fixation—a case report. *Regen Biomater*. 2017;4(5):295-298.
- [20] Shi Y, Quan R, Xie S, et al. Evaluation of a Novel HA/ZrO<sub>2</sub>-Based Porous Bioceramic Artificial Vertebral Body Combined with a rhBMP-2/Chitosan Slow-Release Hydrogel. *PLoS One*. 2016;11(7):e0157698.
- [21] Aldelaimi T, Khalil A. Maxillary Sinus Augmentation. *J Craniofac Surg*. 2016;27(6):557-559.
- [22] 赖红昌, 史俊宇. 上颌窦提升术[J]. *口腔疾病防治*, 2017, 25(1):8-12.
- [23] Boskey AL. Mineralization of bones and teeth. *Elements*. 2007;3(6):387-393.
- [24] Kabir MA, Murata M, Akazawa T, et al. Evaluation of perforated demineralized dentin scaffold on bone regeneration in critical-size sheep iliac defects. *Clin Oral Implants Res*. 2017;28(11):227-235.
- [25] Li J, Yang J, Zhong X, et al. Demineralized dentin matrix composite collagen material for bone tissue regeneration. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2013;24(13):1519-1528.
- [26] 郁卫东, 秦书俭. 骨形态发生蛋白-2在骨形成过程中的作用机制[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2000, 18(1):82-83.
- [27] Minamide A, Kawakami M, Hashizume H, et al. Evaluation of carriers of bone morphogenetic protein for spinal fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2001;26(8):933-939.
- [28] Ike M, Urist MR. Recycled dentin root matrix for a carrier of recombinant human bone morphogenetic protein. *J Oral Implantol*. 1998;24(3):124-132.
- [29] 申丁, 仲维剑. 牙本质作为骨移植材料的应用研究进展[J]. *口腔医学研究*, 2016, 32(6):656-658.
- [30] Moharamzadeh K, Freeman C, Blackwood K. Processed bovine dentine as a bone substitute. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2008;46(2):110-113.
- [31] Arora S, Kotwal U, Dogra M, et al. Growth Factor Variation in Two Types of Autologous Platelet Biomaterials: PRP Versus PRF. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2017;33(2):288-292.
- [32] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. PRF—a second Generation platelet concentrate. Part two: platelet related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):45-50.
- [33] Cortese A, Pantaleo G, Borri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF) in implant dentistry in combination with new bone regenerative technique in elderly patients. *Int J Surg Case Rep*. 2016;28:52-56.
- [34] Kim SJ, Song DH, Park JW, et al. Effect of Bone Marrow Aspirate Concentrate-Platelet-Rich Plasma on Tendon-Derived Stem Cells and Rotator Cuff Tendon Tear. *Cell Transplant*. 2017;26(5):867-878.
- [35] Moatshe G, Morris E, Cinque ME, et al. Biological treatment of the knee with platelet-rich plasma or bone marrow aspirate concentrates. *Acta Orthop*. 2017;88(6):670-674.
- [36] Dallari D, Fini M, Stagni C, et al. In vitro study on the healing of bone defects treated with bone marrow stromal cells, platelet-rich plasma, and freeze-dried bone allografts, alone and in combination. *J Orthop Res*. 2006;24:877-888.
- [37] Hisatome T, Yasunaga Y, Yanada S, et al. Neovascularization and bone regeneration by implantation of autologous bone marrow mononuclear cells. *Biomaterials*. 2005;26:4550-4556.
- [38] Lee DH, Ryu KJ, Kim JW, et al. Bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich plasma enhanced bone healing in distraction osteogenesis of the tibia. *Clin Orthop Relat Res*. 2014;472(12):3789-3797.