

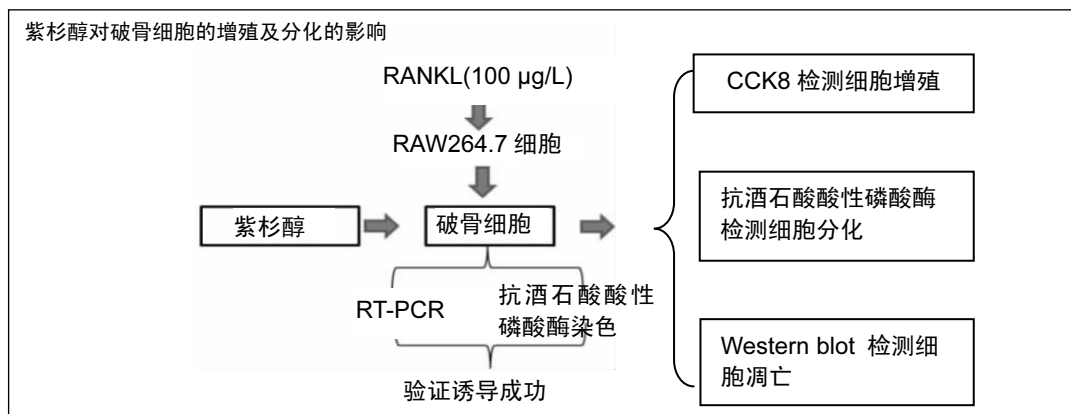
紫杉醇对根尖周炎破骨细胞增殖及分化的影响

吴慧¹, 姜龙², 李晓杰³, 季秋实², 许诺² (¹海南医学院第一附属医院口腔科, 海南省海口市 570102; ²大连医科大学中山学院, 辽宁省大连市 116000; ³大连医科大学口腔医学院, 辽宁省大连市 116044)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1101

ORCID: 0000-0002-5099-3878(吴慧)

文章快速阅读:



吴慧, 女, 1985 年生, 海南省海口市人, 汉族, 2011 年大连医科大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事口腔医学的研究。

通讯作者: 许诺, 硕士, 讲师, 大连医科大学中山学院, 辽宁省大连市 116000

文献标识码: A

稿件接受: 2018-11-05



文题释义:

紫杉醇: 主要是由红豆杉科植物中提取的一类产物。大量的研究表明紫杉醇广泛应用于恶性肿瘤的治疗。但是国内外对于紫杉醇治疗根尖周炎骨破坏的研究较少。

破骨细胞: 为多核细胞, 由于破骨细胞本身生存周期较短, 目前对于破骨细胞的培养主要采用破骨前体细胞, 在体外对其进行诱导后形成成熟的破骨细胞。

摘要

背景: 研究表明紫杉醇可以治疗骨转移肿瘤, 说明紫杉醇对于治疗骨破坏疾病有一定的疗效, 但是目前国内对于紫杉醇治疗骨破坏相关疾病的研究很少, 关于紫杉醇调节破骨细胞形成和功能的机制仍然不明确。

目的: 观察紫杉醇对根尖周炎破骨细胞增殖及分化的影响。

方法: 体外培养 RAW264.7 细胞 24 h 后换 RANKL 诱导液培养, 通过 Real-time PCR 及抗酒石酸性磷酸酶鉴定破骨细胞诱导成功。CCK8 检测不同浓度(1, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ mol/L)的紫杉醇作用后破骨细胞增殖情况, 筛选紫杉醇作用于破骨细胞最佳浓度; 以未加入紫杉醇的破骨细胞为对照组; 采用 Real time-PCR 和 Western blot 检测紫杉醇对破骨细胞凋亡的影响。

结果与结论: ①紫杉醇 10⁻⁴ mol/L 时, 破骨细胞增殖能力开始降低(P < 0.05), 表明 10⁻⁴ mol/L 紫杉醇为作用于 RAW264.7 细胞的最佳浓度; ②加入 10⁻⁴ mol/L 紫杉醇 0, 24 和 48 h, 破骨细胞增殖均显著低于未加入紫杉醇对照组(P < 0.05); 破骨细胞抗酒石酸性磷酸酶 A 值的增殖均显著低于未加入紫杉醇对照组(P < 0.05); ③Real time-PCR 检测结果显示, 加入 10⁻⁴ mol/L 紫杉醇抗酒石酸性磷酸酶 mRNA 表达明显低于未加紫杉醇的对照组(P < 0.05), Caspase3 和 PARP1 的蛋白表达明显高于未加紫杉醇的对照组; ④结果说明, 紫杉醇抑制破骨细胞的增殖及分化, 并且可以促进破骨细胞的凋亡。

关键词:

破骨细胞; 根尖周炎; RAW264.7 细胞; 紫杉醇; 细胞凋亡; 骨转移瘤; 破骨细胞凋亡; 破骨细胞增殖

主题词:

根尖周炎; 破骨细胞; 紫杉醇类; 组织工程

中图分类号: R446

基金资助:

辽宁省科学技术计划项目面上项目(201600752), 项目负责人: 李晓杰

Wu Hui, Master, Attending physician, Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China

Corresponding author: Xu Nuo, Master, Lecturer, Zhongshan College of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Effect of paclitaxel on proliferation and differentiation of osteoclasts in periapical periodontitis

Wu Hui¹, Jiang Long², Li Xiaojie³, Ji Qiushi², Xu Nuo² (¹Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; ²Zhongshan College of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China; ³Stomatology College of Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Paclitaxel has been shown to treat bone metastases, suggesting that it has certain effect on

osteolysis diseases. However, there are few studies on paclitaxel for osteolysis diseases, and the mechanism of paclitaxel regulating osteoclast formation and function remains unclear.

OBJECTIVE: To investigate the effect of paclitaxel on the proliferation and differentiation of osteoclasts in periapical periodontitis.

METHODS: RAW264.7 cells were cultured *in vitro* for 24 hours and RANKL was added to identify osteoclasts by real-time PCR and tartrate-resistant acid phosphatase. Different concentrations ($1, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$ mol/L) of paclitaxel were used to treat osteoclasts, and the optimal concentration of osteoclasts was selected by cell counting kit-8 assay. The osteoclasts without paclitaxel were used as controls. The effect of paclitaxel on osteoclast apoptosis was detected by real-time PCR and western blot assay.

RESULTS AND CONCLUSION: The osteoclasts induced by 10^{-4} mol/L paclitaxel showed the weakest proliferation ability ($P < 0.05$), suggesting that 10^{-4} mol/L was the optimal concentration. After cultured by 10^{-4} mol/L paclitaxel for 0, 24 and 48 hours, the proliferation of osteoclasts was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The absorbance value of tartrate-resistant acid phosphatase of the osteoclasts cultured by 10^{-4} mol/L paclitaxel was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). Real-time PCR results revealed that mRNA expression level of tartrate-resistant acid phosphatase of the osteoclasts cultured by 10^{-4} mol/L paclitaxel was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The protein expression levels of Caspase3 and PARP1 of the osteoclasts cultured by 10^{-4} mol/L paclitaxel were significantly higher than those in the control group. In summary, paclitaxel can inhibit the proliferation and differentiation of osteoclasts, and activate apoptosis of osteoclasts.

Subject headings: Periapical Periodontitis; Osteoclasts; Taxoids; Tissue Engineering

Funding: the Scientific and Technological Program of Liaoning Province (General Program), No. 201600752 (to LXJ)

0 引言 Introduction

根尖周炎是牙髓和根尖区域发生局部炎症的机体应激反应, 其主要的病理表现是根尖部位破骨细胞的增殖亢进, 造成了破骨细胞的生成量远远大于成骨细胞的生成量, 进而造成了根尖周骨组织的丧失^[1-3]。病理性骨破坏包括肿瘤转移至骨以及炎症诱发的骨病^[4-6]。破骨细胞是终末分化的多核细胞, 负责矿化骨的生理和病理退化^[7-10]。因此, 开发针对破骨细胞分化和骨吸收的药剂对于治疗病理性破骨细胞介导的骨病至关重要^[11]。紫杉醇来源于紫杉树的树皮^[11-13], 其可以选择性地结合微管蛋白^[14], 随后稳定微管, 从而抑制细胞分裂^[15-18]。目前紫杉醇是临床上一种新型广谱高效抗癌活性药物^[19-22], 观察指出紫杉醇可以治疗骨组织的病变, 但其作用的潜在机制仍有待确定^[23-24]。此次研究检测紫杉醇对于破骨细胞的增殖及分化的影响, 以便为其治疗根尖周炎提供理论依据。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 细胞学实验。

1.2 时间及地点 于2017年3月至2018年5月在海南医学院第一附属医院完成。

1.3 材料 SYBR® Premix ExTaqM II (TaKaRa); 紫杉醇(上海生工); 胎牛血清(Gibco); ALP试剂盒(碧云天); 抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)检测试剂盒(北京雷根生物技术); 抗酒石酸酸性磷酸酶染色试剂盒(Sigma); RAW264.7细胞(上海斯信生物科技有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞培养 RAW264.7细胞以 1×10^5 /孔密度接种在T25培养瓶中, 选择DMEM培养基, 体积分数10%胎牛血清5 mL培养细胞, 定期更换培养液。

1.4.2 细胞诱导 RAW264.7以 5×10^5 /孔密度接种于六孔板内, 24 h后换100 mg/L质量浓度的RANKL诱导液, 每2 d换1次诱导液, 每日用倒置相差显微镜观察细胞形态。通过Real-time PCR及抗酒石酸酸性磷酸酶鉴定破骨细胞诱导成功。

1.4.3 CCK8细胞增殖试验 CCK8检测不同浓度($1, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$ mol/L)的紫杉醇作用于破骨细胞。细胞以 2×10^3 /孔接种于96孔板, 参照CCK8试剂盒使用说明进行操作, 酶标仪测定吸光度值, 筛选紫杉醇作用于破骨细胞最佳浓度。取紫杉醇最佳浓度作用于破骨细胞0, 24和48 h, 以0 mol/L紫杉醇为对照组, CCK8检测破骨细胞的增殖情况。

1.4.4 抗酒石酸酸性磷酸酶染色 六孔板弃掉培养液, PBS 1 mL/孔清洗, 37 °C条件下40 g/L多聚甲醛1 mL/孔置于孵箱内25 min, PBS 1 mL/孔清洗, 抗酒石酸酸性磷酸酶染色试剂盒配液2 mL/孔于37 °C孵箱1 h。DDW清洗3次, 500 μ L/孔苏木复染2 min, PBS 1 mL/孔清洗, 37 °C孵箱中1 h(避光); 自然风干后镜下观察。参照抗酒石酸酸性磷酸酶试剂盒使用说明进行操作。

1.4.5 抗酒石酸酸性磷酸酶检测 取 $>1 \times 10^6$ 的细胞数量, PBS匀浆, 离心取上清, -20 °C冻存。直接加40 μ L待测样品。轻轻混匀, 37 °C孵育30 min。采用0 mol/L及 10^{-4} mol/L紫杉醇分别作用于破骨细胞0, 24和48 h后, 用酶标仪测吸光值, 通过破骨细胞标志性因子抗酒石酸酸性磷酸酶检测破骨细胞的分化情况。

1.4.6 Western blot检测 细胞蛋白质提取, 静置1 h; 配制反应液。对蛋白进行定量分析; HRP-ECL发光法检测紫杉醇最佳浓度(10^{-4} mol/L)作用于破骨细胞后破骨细胞凋亡标志因子Caspase3和PARP1的蛋白水平, 以0 mol/L紫杉醇为对照组。

1.4.7 Real time-PCR检测 加Trizol提取并纯化RNA, 反转录合成cDNA。抗酒石酸酸性磷酸酶F: 3-GGG TCA CTG CCT ACC TGT GT-5, 抗酒石酸酸性磷酸酶R: 3-TCAT TTC TTT GGG GCT TAT CTC-5; GAPDH F: 3-AAA TGG TGA AGG TCG GTG TG-5, GAPDH R: 3-TGA AGG GGT CGT TGA TGG-5。

检测紫杉醇最佳浓度(10^{-4} mol/L)作用破骨细胞后破骨细胞标志性因子抗酒石酸酸性磷酸酶mRNA表达, 以0 mol/L紫杉醇为对照组。

1.5 主要观察指标 ①破骨细胞的形态及抗酒石酸性磷酸酶染色情况;②筛选紫杉醇作用于破骨细胞最佳浓度;③紫杉醇作用于破骨细胞后的增殖、分化及凋亡结果。

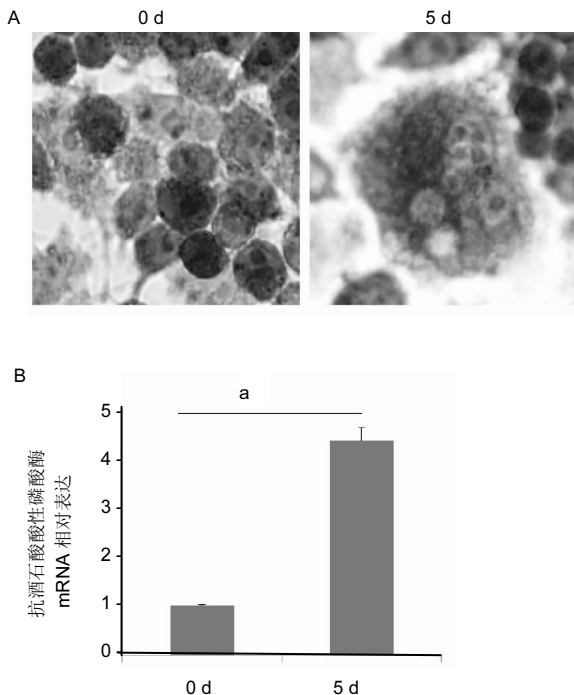
1.6 统计学分析 采用SPSS 13中单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 破骨细胞诱导鉴定

2.1.1 抗酒石酸性磷酸酶染色 未诱导的RAW264.7细胞呈类圆形,多为单核;诱导5 d可见有伪足伸长,多核巨噬细胞数目增多,细胞质内空泡增多,细胞形态多样,呈不规则形。抗酒石酸性磷酸酶结果显示加入RANKL诱导液5 d后,RAW264.7诱导成功,见图1A。

2.1.2 Real time-PCR检测抗酒石酸性磷酸酶基因表达结果显示破骨细胞中抗酒石酸性磷酸酶的mRNA水平诱导5 d组大于诱导0 d组($P < 0.05$),差异有显著性意义。结果显示加入RANKL诱导液5 d后,RAW264.7诱导成功,见图1B。



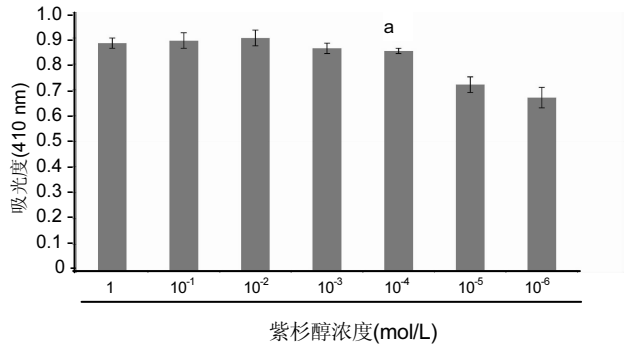
图注:图A为抗酒石酸性磷酸酶染色($\times 200$),诱导0 d的RAW264.7细胞大多为单核细胞,诱导5 d后可见较多阳性多核细胞;B为Real-PCR检测抗酒石酸性磷酸酶基因表达,结果显示诱导5 d组的破骨细胞中抗酒石酸性磷酸酶的mRNA水平大于诱导0 d组($P < 0.05$)。

图1 RAW264.7细胞诱导成为破骨细胞的鉴定

Figure 1 Identification of osteoclasts induced from RAW264.7 cells

2.2 筛选紫杉醇作用于破骨细胞的最佳浓度 CCK8实验检测加入不同浓度紫杉醇($1, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$ mol/L)后破骨细胞增殖情况。结果显示,在紫杉醇 10^{-4} mol/L时,破骨细胞增殖能力开始降低($P < 0.05$),

10^{-5} mol/L紫杉醇对RAW264.7细胞具有细胞毒性,因此 10^{-4} mol/L紫杉醇为作用于RAW264.7细胞的最佳浓度,见图2。

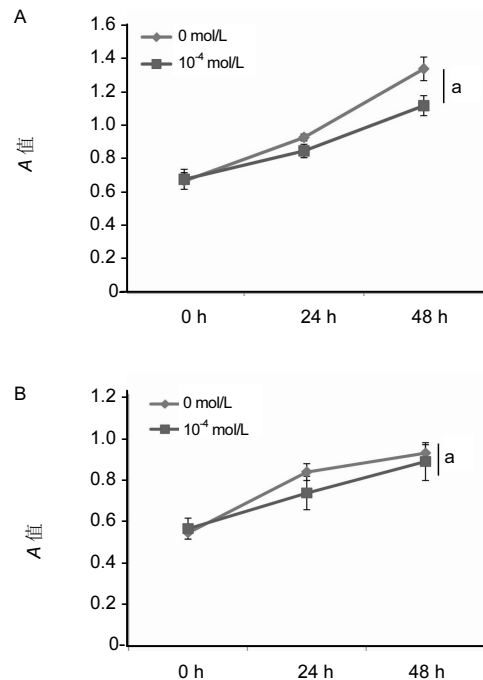


图注:加入紫杉醇 10^{-4} mol/L时,破骨细胞增殖能力开始降低($P < 0.05$)。

图2 CCK8实验筛选出最佳紫杉醇作用于破骨细胞浓度

Figure 2 Optimal concentration of paclitaxel inhibiting osteoclast proliferation detected by cell counting kit-8 assay

2.3 紫杉醇抑制破骨细胞的增殖及分化能力 结果显示加,入 10^{-4} mol/L紫杉醇的破骨细胞在0, 24和48 h的增殖情况均显著低于0 mol/L紫杉醇组($P < 0.05$)。表明紫杉醇可以抑制破骨细胞的增殖能力,见图3A。加入 10^{-4} mol/L紫杉醇的破骨细胞在0, 24和48 h抗酒石酸性磷酸酶的A值增殖情况均显著低于未加入紫杉醇组($P < 0.05$)。表明紫杉醇可以抑制破骨细胞的分化能力,见图3B及表1, 2。



图注:图A为紫杉醇抑制破骨细胞的增殖能力($P < 0.05$);B为紫杉醇抑制破骨细胞的分化能力($P < 0.05$)。

图3 紫杉醇对破骨细胞的增殖及分化的影响

Figure 3 Effect of paclitaxel on the proliferation and differentiation of osteoclasts

表 1 紫杉醇作用细胞的不同时间的分光光度值 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$, 1/trans)
Table 1 Absorbance value of osteoclasts cultured with paclitaxel at different time points

组别	0 h	24 h	48 h	P 值
0 mol/L 组	0.67±0.05	0.93±0.03	1.34±0.07	0
10 ⁻⁴ mol/L 组	0.68±0.06	0.85±0.04	1.12±0.06	0

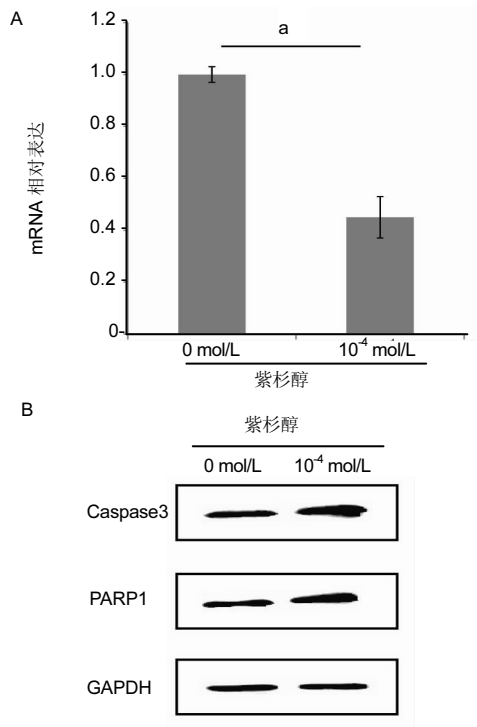
表注: 两组间比较, $P < 0.05$ 。

表 2 紫杉醇作用细胞不同时间的抗酒石酸酸性磷酸酶的分光光度值 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$, 1/trans)
Table 2 Absorbance value of tartrate-resistant acid phosphatase of osteoclasts cultured with paclitaxel at different time points

组别	0 h	24 h	48 h	P 值
0 mol/L 组	0.54±0.03	0.83±0.04	0.92±0.04	0.01
10 ⁻⁴ mol/L 组	0.56±0.05	0.73±0.08	0.88±0.09	0.01

表注: 两组间比较, $P < 0.05$ 。

2.4 紫杉醇对破骨细胞凋亡的影响 Real time-PCR检测结果显示, 加入10⁻⁴ mol/L紫杉醇的破骨细胞中破骨细胞标志性因子抗酒石酸酸性磷酸酶的mRNA表达明显低于未加紫杉醇的对照组($P < 0.05$), 说明紫杉醇可以抑制破骨细胞的骨破坏能力, 见图4A; Western-blot检测结果显示, 加入10⁻⁴ mol/L紫杉醇的破骨细胞中细胞凋亡标志因子Caspase3和PARP1的蛋白表达明显高于未加紫杉醇的对照组, 说明紫杉醇可以促进破骨细胞的凋亡, 见图4B。



图注: 图 A 为紫杉醇抑制抗酒石酸酸性磷酸酶 mRNA 表达($P < 0.05$); B 为紫杉醇增加 Caspase3 和 PARP1 的蛋白表达。
图 4 Western-blot 检测紫杉醇对破骨细胞凋亡的影响
Figure 4 Effect of paclitaxel on osteoclast apoptosis detected by western blot assay

3 讨论 Discussion

根尖周炎是一种以根尖部骨组织破坏为主要临床症状之一的炎症反应疾病。根尖周炎中的炎症灶内破骨细胞大量增殖, 成骨细胞减少, 导致骨动态平衡失调, 根尖部骨吸收^[25-28], 由于其骨组织的丧失, 会导致患牙的最终丧失。病理性骨破坏(骨质溶解)是根尖周炎的标志病理症状^[4, 29]。但是临床上仍没有一个有效的药物治疗根尖周炎出现的骨组织缺损。目前临床国内外都在需求一种治疗根尖周炎骨缺损的有效药物。

紫杉醇经常用于治疗恶性肿瘤, 研究表明紫杉醇对骨病变有益^[30-31], 然而, 紫杉醇调节破骨细胞形成和功能的机制仍然不明确。所以为了探求紫杉醇治疗根尖周炎的可行性, 采用不同浓度紫杉醇作用于破骨细胞, 筛选其作用于破骨细胞的最佳浓度。之后将10⁻⁴ mol/L紫杉醇作用于破骨细胞0, 24和48 h后检测破骨细胞的增殖及分化情况, 结果显示, 紫杉醇可以抑制破骨细胞的增殖及分化能力。为了进一步研究紫杉醇对破骨细胞的抑制作用是否是通过凋亡途径实现的, 作者又选取了10⁻⁴ mol/L紫杉醇进行Western-blot检测。结果显示加入10⁻⁴ mol/L紫杉醇的破骨细胞中细胞凋亡标志因子Caspase3和PARP1的蛋白水平明显高于对照组, 结果表明紫杉醇可以促进破骨细胞的凋亡。其原因可能为紫杉醇可以导致细胞的G2/M阻滞和OCL微核化, 导致破骨细胞有丝分裂停滞, 促使破骨细胞凋亡^[7, 32]。同时, 通过Real-time PCR实验发现紫杉醇可以抑制破骨细胞标志因子抗酒石酸酸性磷酸酶的表达, 说明紫杉醇可以抑制破骨细胞发挥骨破坏的功能。学者研究表明紫杉醇在小鼠颅骨模型中降低了脂多糖诱导的骨溶解。还有学者指出紫杉醇诱导破骨细胞前体细胞的有丝分裂停滞。此外, 荧光素酶报道基因测定和蛋白质印迹分析表明, 紫杉醇可以抑制破骨细胞RANKL的激活, 进入阻止破骨细胞的形成。

总的来说, 紫杉醇可以抑制破骨细胞形成和功能。研究表明紫杉醇直接调节破骨细胞的形成和分化, 但是紫杉醇对破骨细胞形成及分化的抑制作用的确切机制还有待进一步深入研究。

作者贡献: 第一作者设计实验, 全体作者参与实验, 第一作者成文, 通讯作者审核。

经费支持: 该文章接受了“辽宁省科学技术计划项目面上项目(201800752)”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: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守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: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

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4.0”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] Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, et al. IL-27 Modulates Chemokine Production in TNF- α -Stimulated Human Oral Epithelial Cells. *Cell Physiol Biochem*. 2017;43(3):1198-1206.
- [2] Hosokawa Y, Hosokawa I, Shindo S, et al. IL-4 Modulates CCL11 and CCL20 Productions from IL-1 β -Stimulated Human Periodontal Ligament Cells. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(1):153-159.
- [3] Imai H, Fujita T, Kajiya M, et al. Mobilization of TLR4 Into Lipid Rafts by Aggregatibacter Actinomycetemcomitans in Gingival Epithelial Cells. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(5):1777-1786.
- [4] Hans S, Mali AM. Estimation and comparison of osteopontin levels in plasma in subjects with healthy periodontium and generalized chronic periodontitis and its assessment after scaling and root planing. *J Indian Soc Periodontol*. 2012;16(3):354-357.
- [5] Rittling SR, Zetterberg C, Yagiz K, et al. Protective role of osteopontin in endodontic infection. *Immunology*. 2010;129(1):105-114.
- [6] Salinas-Muñoz M, Garrido-Flores M, Baeza M, et al. Bone resorptive activity in symptomatic and asymptomatic apical lesions of endodontic origin. *Clin Oral Investig*. 2017;21(8):2613-2618.
- [7] Persoon IF, Özok AR. Definitions and Epidemiology of Endodontic Infections. *Current Oral Health Reports* 2017; 4:278-285.
- [8] Azuma MM, Samuel RO, Gomes-Filho JE, et al. The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review. *Int Endod J*. 2014;47(7):615-621.
- [9] Kalatzis-Sousa NG, Spin-Neto R, Wenzel A, et al. Use of micro-computed tomography for the assessment of periapical lesions in small rodents: a systematic review. *Int Endod J*. 2017;50(4):352-366.
- [10] Larsen T, Fiehn N. Dental biofilm infections - an update. *APMIS*. 2017;125(4):376-384.
- [11] Lu S, Zhang J, Zhou Z, et al. Synergistic inhibitory activity of zoledronic acid and paclitaxel on bone metastasis in nude mice. *Oncol Rep*. 2008;20(3):581-587.
- [12] Ang ES, Pavlos NJ, Chim SM, et al. Paclitaxel inhibits osteoclast formation and bone resorption via influencing mitotic cell cycle arrest and RANKL-induced activation of NF- κ B and ERK. *J Cell Biochem*. 2012;113(3):946-955.
- [13] Zheng X, Li Z, Chen L, et al. Self-Assembly of Porphyrin-Paclitaxel Conjugates Into Nanomedicines: Enhanced Cytotoxicity due to Endosomal Escape. *Chem Asian J*. 2016; 11(12):1780-1784.
- [14] Kundranda M, Niu J. Albumin-bound paclitaxel in solid tumors: clinical development and future directions. *Drug Des Devel Ther*. 2015;9:3767-3777.
- [15] Drobecq H, Boll E, Sénéchal M, et al. A Central Cysteine Residue Is Essential for the Thermal Stability and Function of SUMO-1 Protein and SUMO-1 Peptide-Protein Conjugates. *Bioconjug Chem*. 2016;27(6):1540-1546.
- [16] Huang Y, Liang W, Yang Y, et al. Phase I/II dose-finding study of nanoparticle albumin-bound paclitaxel (nab-Paclitaxel) plus Cisplatin as Treatment for Metastatic Nasopharyngeal Carcinoma. *BMC Cancer*. 2016;16:464.
- [17] Hurria A, Blanchard MS, Synold TW, et al. Age-Related Changes in Nanoparticle Albumin-Bound Paclitaxel Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Influence of Chronological Versus Functional Age. *The Oncologist* 2015; 20:37-44.
- [18] Kendra KL, Plummer R, Salgia R, et al. A Multicenter Phase I Study of Pazopanib in Combination with Paclitaxel in First-Line Treatment of Patients with Advanced Solid Tumors. *Mol Cancer Ther*. 2015;14(2):461-469.
- [19] Oudin MJ, Barbier L, Schäfer C, et al. MENA Confers Resistance to Paclitaxel in Triple-Negative Breast Cancer. *Mol Cancer Ther*. 2017;16(1):143-155.
- [20] Rezazadeh M, Emami J, Hasanzadeh F, et al. In vivo pharmacokinetics, biodistribution and anti-tumor effect of paclitaxel-loaded targeted chitosan-based polymeric micelle. *Drug Deliv*. 2016;23(5):1707-1717.
- [21] Rugo HS, Barry WT, Moreno-Aspitia A, et al. Randomized Phase III Trial of Paclitaxel Once Per Week Compared With Nanoparticle Albumin-Bound Nab-Paclitaxel Once Per Week or Ixabepilone With Bevacizumab As First-Line Chemotherapy for Locally Recurrent or Metastatic Breast Cancer: CALGB 40502/NCCTG N063H (Alliance). *J Clin Oncol*. 2015;33(21):2361-2369.
- [22] Tamura K, Inoue K, Masuda N, et al. Randomized phase II study of nab-paclitaxel as first-line chemotherapy in patients with HER2-negative metastatic breast cancer. *Cancer Sci*. 2017;108(5):987-994.
- [23] Villaruz LC, Socinski MA. Is there a role of nab-paclitaxel in the treatment of advanced non-small cell lung cancer? The data suggest yes. *Eur J Cancer*. 2016;56:162-171.
- [24] Yang M, Yu T, Wang Y, et al. Vaginal Delivery of Paclitaxel via Nanoparticles with Non-Mucoadhesive Surfaces Suppresses Cervical Tumor Growth. *Adv Healthc Mater*. 2014;3(7):1044-1052.
- [25] Sanchez-Torres A, Sanchez-Garcés M, Gay-Escoda C. Materials and prognostic factors of bone regeneration in periapical surgery: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014;19(4):e419-25.
- [26] Qu C, Meng H, Han J. Implant periapical lesion - a review and a case report with histological evaluation. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25(9):1099-1104.
- [27] Petersson A, Axelsson S, Davidson T, et al. Radiological diagnosis of periapical bone tissue lesions in endodontics: a systematic review. *Int Endod J*. 2012;45(9):783-801.
- [28] Zoellner H. Dental Infection and Vascular Disease. *Semin Thromb Hemost*. 2011;37(3):181-192.
- [29] Maeda H, Wada N, Nakamuta H, et al. Human periapical granulation tissue contains osteogenic cells. *Cell Tissue Res*. 2004;315(2):203-208.
- [30] Yilmaz E, Watkins SC, Gold MS. Paclitaxel-induced increase in mitochondrial volume mediates dysregulation of intracellular Ca²⁺ in putative nociceptive glabrous skin neurons from the rat. *Cell Calcium*. 2017;62:16-28.
- [31] Yuan Y, Zhang Y, Shi L, et al. Clinical Research on Albumin-Bound Paclitaxel-Based Chemotherapy for Advanced Esophageal Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(12):4993-4996.
- [32] Zhang H, Li Y, de Carvalho-Barbosa M, et al. Dorsal Root Ganglion Infiltration by Macrophages Contributes to Paclitaxel Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *J Pain*. 2016; 17(7):775-786.