

网络出版时间: 2016-8-1 14:07 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160801.1407.042.html>

# 生长因子在牙周炎位点保存中促进骨组织再生的观察

王敬徐 燕杨 洋汪 晨孟明理 王晓静 周永敏

**摘要** 目的 比较富血小板纤维蛋白(PRF)和重组牛碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)两种不同生长因子对骨生成促进能力的差异。方法 将28例因牙周炎松动不能保留患牙而拔除的患者随机分为3组。PRF组是牙槽窝内加入去蛋白牛骨矿物质(Bio-Oss骨粉)和PRF的复合物,bFGF组使用bFGF和Bio-Oss骨粉的复合物,空白组只加入Bio-Oss骨粉。术后6个月进行术区垂直骨吸收量、骨密度平均值、邻牙骨高度变化的临床测量并对PRF和bFGF两组取出的骨标本进行组织观察,用专业图像分析软件IPP6.0对新生骨的量进行定量分析。结果 空白组分别与PRF组、bFGF组的垂直骨吸收量、骨密度平均值、邻牙牙槽骨高度变化量及新生骨百分比进行比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );在bFGF组和PRF组比较中,骨密度平均值及新生骨百分比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),垂直骨吸收量及邻牙牙槽骨高度变化量差异无统计学意义,说明PRF组促进成骨生成的能力高于bFGF组。结论 PRF能更有效地促进骨组织的形成,从而获得更高新生骨的质量,为种植修复提供良好的环境。

**关键词** PRF; bFGF; 牙周炎; 位点保存; 组织学

中图分类号 R 781.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)09-1329-05

种植是目前最为理想的修复方式<sup>[1]</sup>之一,而影响种植手术效果的重要生理因素是术区的骨质量、宽度和高度<sup>[2]</sup>。由于牙周炎引起松动而无法保留的牙齿,多为Ⅲ度松动即牙槽骨吸收占根长的2/3以上,吸收较为严重。因此,在牙齿拔除后,其剩余的骨条件不足以为植入的种植体提供足够的支持,导致不能行种植修复术。为解决这一问题,临床上常采用在拔牙后即刻行位点保存术来最大程度的获得骨量,为种植提供有利条件。此外,已有大量研究<sup>[3-4]</sup>证明位点保存术可最大限度的保留剩余骨的高度和宽度,但仍会有剩余的代替骨材料始终不能

被新生骨所取代,从而影响种植体与新生骨的骨整合<sup>[5]</sup>。为提高术后的成骨率,生长因子就被应用于临床。该研究将对两种不同生长因子对骨形成的促进作用,以期获得最为理想的骨组织,提高种植体的早期稳定性。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 收集2014年6月~2015年9月在安徽省口腔医院就诊的牙周炎、牙齿松动无法保留患牙的患者28例,其中男15例,女13例;年龄25~65( $42.6 \pm 11.4$ )岁,总共拔除28颗牙齿,其中拔除的牙齿包括前后牙,前牙10颗,后牙18颗。所有患者无高血压、糖尿病、精神等系统性疾病;无拔牙禁忌证;否认吸烟或者已经戒烟;无严重习惯性的磨牙症;患者具有良好的依从性;口腔卫生状况良好。

**1.2 材料** 去蛋白牛骨矿物质(Bio-Oss骨粉)(瑞士盖氏制药有限公司);医用胶原蛋白海绵(可即邦,无锡贝迪生物工程有限公司);盐酸米诺环素胶囊(50 mg,惠氏制药有限公司)、重组牛碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)(珠海亿胜生物制药公司);离心机(南京康尔诺医疗器械有限公司);取骨环(上海天中医疗器械有限公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 口腔检查** 对牙周炎患者进行口内检查、拍摄锥形束CT(CBCT)、全口牙周检查后,拟定牙周治疗计划,对不能保留又行种植修复的患牙行拔牙位点保存术。

**1.3.2 牙周基础治疗** 包括:①全口行超声龈上洁治术;②龈下刮治和根面平整术;③口服硝基咪唑类等抗菌药物;④认真教导患者怎样使用牙线、牙间隙刷并指导患者正确刷牙,保持自我口腔的清洁;⑤有咬合创伤时,需行调殆治疗,以达到平衡的咬合关系;⑥炎症控制后,有牙齿松动但能保留者行暂时性的松牙固定术。

**1.3.3 拔牙位点保存术** 包括:①微创拔牙:采用阻滞或局部浸润麻醉,术前让患者用0.12%氯己定含漱1 min,口腔周围皮肤用酒精棉球消毒,铺消毒

2016-05-04 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1408085MKL28)

作者单位:安徽医科大学口腔医学院、安徽医科大学附属口腔医院、安徽省口腔疾病研究中心实验室,合肥 230032

作者简介:王敬,女,硕士研究生;

徐燕,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: 173236344@qq.com

巾 将患牙微创拔除 刮匙搔刮拔牙窝骨壁及根部的炎性组织; ② 拔牙窝内彻底清创: 将米诺环素胶囊捻碎在生理盐水中, 待充分溶解后, 用干棉球蘸取, 后放入每个拔牙窝内 5 min 后用生理盐水冲洗; ③ 植入材料: 富血小板纤维蛋白( platelet - rich fibrin , PRF) 的准备, 采用一次性不抗凝的真空采血管收集患者静脉血 5 ml ,共 2 管 ,立即放入离心机中 ,以 2 700 r/min 离心 12 min ,此外需注意: 对于长期服用抗凝血药如阿司匹林的 患者 ,其静脉血则要离心 20 min 。离心完成后可见采血管中采集的静脉血液分为 3 层: 最上层为棕黄色的淡清液 ,中间层为 PRF 凝胶 ,底层为红细胞层。提取的中间层 PRF 若不能立即使用 ,则需冷藏一段时间 ,但不能超过 2 h ,否则不能使用。将制备完成的 PRF 剪碎后与 Bio-Oss 骨粉混合放入牙槽窝内 ,直至平齐或略高于牙槽突顶 ,另一组是将 bFGF 充分混合后滴到 Bio-Oss 骨粉中 ,充分混合后放入牙槽窝内至平齐或略高于牙槽突顶。空白组只植入 Bio-Oss 骨粉; ④ 伤口关闭: 可即邦胶原膜覆盖植入材料 ,改良水平褥式拉拢对位固定 ,该术区位置放牙周塞治剂; ⑤ 术后医嘱: 术后 24 h 患者于手术区间断使用冰袋 ,减轻术后炎症水肿的反应 ,术后口服抗生素 3 ~ 4 d ,除术区之外的区域正常刷牙 ,使用 0. 12% 氯己定溶液含漱 ,每天 2 ~ 4 次 ,使用至可以正常刷牙 2 周后去除术区的牙周塞治剂并拆线。

### 1.4 术后 6 个月的种植手术

**1.4.1 切口翻瓣** 阻滞或浸润麻醉 ,常规消毒铺巾 ,在种植位点的牙槽突顶作平行弧形切口 ,切开黏膜 ,钝性分离至距牙槽突顶 2 mm 处再切开骨膜 ,翻起黏骨膜瓣 ,显露骨面 ,用快速手机接球钻在术区打一定位孔道 ,然后用  $\Phi$  2. 5 mm 的环形取骨钻在术区取出长 4 mm 的骨组织( 保证取出的骨组织是由植入材料所形成) ,并立即放入 4% 的多聚甲醛中 24 h 。植入种植体 ,安装覆盖螺丝或愈合帽 ,严密缝合 ,关闭创口。取出骨标本的数量是 16 例 ,PRF 组 7 例 ,bFGF 组 9 例。

**1.4.2 医嘱** 与位点保存术后相同( 不用放塞治剂) ,另外服用地塞米松 3 d ,2 周后拆线并告知患者 3 ~ 4 月后进行下一步的修复。

### 1.5 评价指标

**1.5.1 垂直骨吸收量** 术前及术后 6 个月两个时间段的患牙 CBCT 计算( 由同一放射科医师拍摄 ,由同一口腔科医师测量)。测量方法: 术前测出患牙牙槽嵟顶到牙槽窝底的距离(  $h_1$ ) ,术后 6 个月测出

患牙牙槽嵟顶到牙槽窝底的距离(  $h_2$ ) 。垂直骨吸收量为  $h = h_1 - h_2$  ,测量方法见图 1。

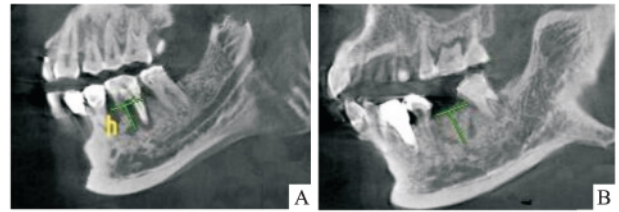


图 1 垂直骨吸收量

A: 术前牙槽嵟顶到牙槽窝底的距离  $h_1$ ; B: 术后牙槽嵟顶到牙槽窝底的距离  $h_2$

**1.5.2 种植术区骨密度值** 根据 CBCT 自带软件对术区进行分析可测量骨密度值。见图 2、3。



图 2 种植术区骨密度测量位点

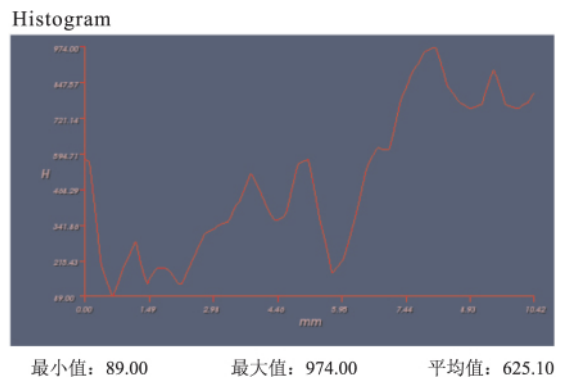


图 3 种植术区骨密度测量值

**1.5.3 邻牙牙槽骨高度的变化** 对比术前及术后 6 个月邻牙釉牙骨质界至近中牙槽嵟的高度。测量方法为: 术前测量出近中牙槽嵟顶至邻牙釉牙骨质界的距离为  $L_1$  ,术后 6 个月测量近中牙槽嵟顶至邻牙釉牙骨质界的距离为  $L_2$  ( 由于最后牙齿拔除后缺少远中牙齿做参照 ,所以只测量近中牙槽嵟) ;骨变化量为  $L_1 - L_2$  。测量方法见图 4。

**1.5.4 新生骨百分比** 显微镜下观察 HE 染色骨

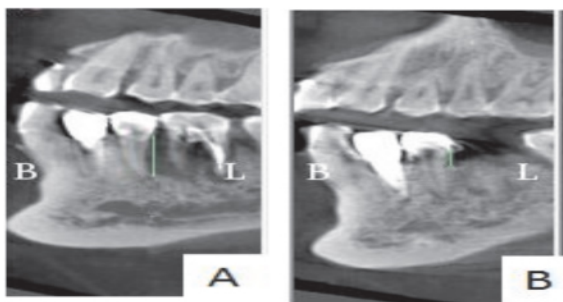


图4 邻牙牙槽骨高度

A: 术前近中牙槽嵴顶至邻牙釉牙骨质界的距离 L1; B: 术后近中牙槽嵴顶至邻牙釉牙骨质界的距离 L2

标本的组织学变化,用专业图像分析软件 IPP6.0 定量分析测出新生骨的百分比。

1.6 统计学处理 使用 SPSS 16.0 软件进行分析,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,计数资料用率或构成比表示。垂直骨吸收量、邻牙牙槽骨高度的变化和术区骨密度值采用独立样本 *t* 检验进行分析;成骨百分比采用 Wilcoxon 秩和检验进行分析。

## 2 结果

2.1 垂直骨吸收量 PRF 和 bFGF 两组骨吸收量明显低于空白组,差异均有统计学意义( PRF:  $t = 4.178$ , bFGF:  $t = 2.729$ ,  $P < 0.05$ ) ,PRF 与 bFGF 组骨吸收量差异无统计学意义(  $t = -1.014$ ,  $P > 0.05$ ) 。见表 1。

2.2 种植术区骨密度数值 PRF 组的骨密度比 bFGF 组的平均值高,两组差异有统计学意义(  $t = -4.451$ ,  $P < 0.05$ ) ,PRF、bFGF 组骨密度分别比空白组高,差异有统计学意义( PRF:  $t = -20.393$ , bFGF:  $t = -4.820$ ,  $P < 0.05$ ) 。见表 1。

2.3 邻牙牙槽骨高度的变化 PRF 与 bFGF 组牙槽骨高度变化比较,比较差异无统计学意义(  $t = -1.147$ ,  $P > 0.05$ ) ;PRF 组、bFGF 组分别与空白组的骨高度变化比较,差异有统计学意义( PRF:  $t =$

$-7.286$ , bFGF:  $t = -5.870$ ,  $P < 0.05$ ) 。见表 1。

2.4 新生骨百分比 3 组均可见新生骨的形成,但是 3 组之间有差异:空白组和 bFGF 组可见剩余骨颗粒被新生骨包绕,新生骨紧密排列,纤维结缔组织疏松的分散在新生骨周围。而 PRF 组可见新生骨大量生成,被纤维结缔组织包绕,没有被吸收的 Bio-Oss 剩余骨粉颗粒被不规则的分散在新生骨周围,纤维结缔组织中依然可见大量的血管生成(图 5)。PRF、bFGF 组新生骨的百分比比空白组高,差异有统计学意义。PRF 组比 bFGF 组新生骨高,差异有统计学意义( PRF 组与 bFGF 组:  $Z = -2.326$ ; PRF 组与空白组:  $Z = -2.739$ ; bFGF 组与空白组:  $Z = -2.739$ ,  $P < 0.05$ ) 。见表 1。

表 1 各指标描述性分析结果(  $\bar{x} \pm s$  )

组别	垂直骨吸收量 (mm)	骨密度平均值 (Hu)	邻牙牙槽骨高度 变化(mm)	新生骨 百分比(%)
空白	0.98 ± 0.20	369.06 ± 35.23	0.52 ± 0.16	24.2 ± 2.2
bFGF	0.72 ± 0.22	597.52 ± 138.87	0.94 ± 0.17	37.6 ± 5.0
PRF	0.63 ± 0.11	854.06 ± 69.35	1.03 ± 0.11	48.3 ± 9.1

## 3 讨论

本研究中 PRF 和 bFGF 两组骨吸收量明显低于空白组,PRF 与 bFGF 两组无明显差异,说明两种生长因子都能够促进骨组织的形成,减少牙槽骨的吸收。但是根据新生骨百分比与骨密度平均值的比较,PRF 在形成骨质量能力方面更有优势。这可能是由于 PRF、bFGF 两者之间的理化性质不同所致。

本研究采用的凝胶状 PRF 是从患者血液中提取,经离心机离心后,加工制备而成,因此,其操作方便,还能防止 Bio-Oss 骨粉分散,不易使骨粉丢失。同时,其是浓缩血小板的产物,包含表皮生长因子(EGF)、转化生长因子-β(TGF-β)、血管内皮生长因子(VEGF)等多种生长因子。而这些生长因子不仅能调节免疫反应和修复软组织,还能激活内源性信号蛋白,促进血管的生成、成骨细胞的分化与增殖

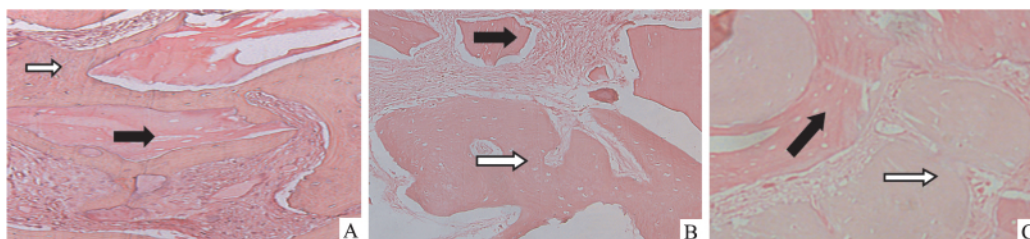


图 5 组织学的观察 HE × 100

A: 空白组; B: PRF 组; C: bFGF 组; ➡ Bio-Oss 颗粒; ⇨ 新生骨

以及胶原蛋白的生成<sup>[6]</sup>;另外,PRF中含有胶原蛋白,这种胶原蛋白具有疏松三维空间结构,诱导周围牙槽骨壁的干细胞分化成骨细胞,并使成骨细胞转移到植骨区,有利于氧气和营养物质的运输,促进骨形成,并且这种特征还有利于所携带生长因子缓慢、持续地释放。

bFGF属于纤维母细胞生长因子家族(FGF)的成员之一,是骨髓间充质的促细胞素,能控制多种细胞类型的增殖和分化<sup>[7]</sup>。bFGF是强有力的血管生成诱导物,bFGF在骨再生过程中不仅能调节成骨与破骨细胞的相互作用而且还能促进血管的形成,进而提高骨形成的效率以及骨钙化的程度<sup>[8]</sup>。本研究使用的是成品的液体生长因子,不易黏附Bio-Oss骨粉,在缝合后骨粉不能完全储存在牙槽窝内,而且bFGF的生物半衰期短,能在代替材料中快速消除,这种特性也会影响骨生成的质量。

本研究显示使用PRF和bFGF可以使邻牙牙槽骨高度增加。因此,说明这两种生长因子不仅能促进骨的形成,还能改善牙周的整体状况。因为骨组织是软组织的基础,随着骨组织的增高,在控制炎症的基础上,牙龈组织可以趋向增长,不仅改善了牙周炎患牙牙龈退缩的状况,同时减小了邻牙的冠根比,有助于邻牙的稳定,整体改善了牙周病的治疗效果。

另外,对于牙周炎患者,临床上应该行较为彻底的炎症控制。首先须行完善的基础治疗,术前预防性地服用抗生素,其次,牙槽窝内有大量粘连的炎性组织,应用刮匙搔刮清除,而本研究在此基础上增加了米诺环素的使用,可以更有效地清除感染。

常规的拔牙方法通常会引起拔牙窝处的骨吸收。为了改善这种情况,本研究采用微创拔牙,避免了牙槽骨的折断、牙槽窝扩大等不良后果,最大程度的保留了硬组织的形态。同时,也防止了术区及邻牙软组织的撕裂,保持了软组织的丰满度。减少术后肿胀、感染等并发症的发生,利于术区创口的愈合<sup>[9]</sup>。

由于不同的生长因子各自的理化性质不同,形成骨的质量和成熟度是不一样的。本研究PRF组在新生骨的量及骨密度上均高于bFGF组,说明PRF在促进新生骨的形成方面有更大的优势,为种植手术提供了一个理想的环境,提高种植的初期稳定性。

## 参考文献

- [1] Levin L, Sadet P, Grossmann Y. A retrospective evaluation of 1,387 single-tooth implants: a 6-year follow-up [J]. *J Periodontol*, 2006, 77(12): 2080-3.
- [2] Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered [J]. *Aust Dent J* 2008, 53(1): 11-21.
- [3] Mardas N, Chadha V, Donos N. Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute or a bovine-derived xenograft: a randomized controlled clinical trial [J]. *Clinical Oral Implants Res* 2010, 21(7): 688-98.
- [4] Cardaropoli D, Tamagnone L, Roffredo A, et al. Socket preservation using bovine bone mineral and collagen membrane: a randomized controlled clinical trial with histologic analysis [J]. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2012, 32(4): 421-30.
- [5] Kotsakis G A, Salama M, Chrepa V, et al. A randomized, blinded, controlled clinical study of particulate anorganic bovine bone mineral and calcium phosphosilicate putty bone substitutes for socket preservation [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2014, 29(1): 141-51.
- [6] Jang E S, Park J W, Kweon H Y, et al. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010, 109(6): 831-6.
- [7] Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, et al. Biological roles of fibroblast growth factor-2 [J]. *Endocr Rev* 1997, 18(1): 26-45.
- [8] Rabie A B, Lu M. Basic fibroblast growth factor up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor during healing of allogeneic bone graft [J]. *Arch Oral Biol* 2004, 49(12): 1025-33.
- [9] 张志霞,周宏志,刘瑶,等.微创拔牙术在下颌阻生智齿拔除中的应用 [J]. *实用口腔医学杂志* 2012, 28(3): 398-400.

## Observation of bone tissue regeneration in the research of growth factor preserved in periodontitis sites

Wang Jing, Xu Yan, Yang Yang, et al

(Stomatologic Hospital of Anhui Medical University Affiliated Stomatological Hospital of Anhui Medical University, Key Lab of Oral Diseases Research of Anhui Province, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To compare the differences of the ability of platelet-rich fibrin (PRF) and basic fibroblast

## 基于 iTRAQ 定量蛋白质组学方法 筛选鼻咽癌放射抗拒相关蛋白

高 劲<sup>1</sup>, 钱立庭<sup>1</sup>, 陶振超<sup>1</sup>, 蒲友光<sup>2</sup>, 周 燕<sup>1</sup>, 杨丽萍<sup>1</sup>, 何 健<sup>1</sup>, 杨 婧<sup>1</sup>, 黄一凡<sup>1</sup>

**摘要** 目的 比较不同放射敏感性鼻咽癌患者血清蛋白质表达差异, 筛选出与鼻咽癌放射抗拒性相关的蛋白质。方法 提取不同放射敏感性鼻咽癌患者血清蛋白, 应用核素标记相对和绝对定量(iTRAQ)技术标记蛋白, 联合液相色谱和串联质谱(LC-MS/MS)分离、分析肽段。采用 Proteome Discoverer 1.4 软件对蛋白进行鉴定和定量分析, 对获得的差异蛋白进行 GO 分析。结果 共鉴定出差异表达的蛋白质 65 个, 其中上调 34 个、下调 31 个, GO 分析显示差异表达的蛋白质主要涉及生物学过程调控、压力应激反应及分解代谢等生物学过程。结论 S100A7、胰岛素样生长因子结合蛋白 2、 $\alpha 1$  抗胰蛋白酶和热休克蛋白等差异表达的蛋白质可能与鼻咽癌放射抗拒性相关。

**关键词** 鼻咽癌; 放射抗拒; 蛋白质组学

**中图分类号** R 739.63

2016-06-02 接收

**基金项目:** 安徽省自然科学基金(编号: 1408085MH189); 安徽省卫生厅医学科研课题(编号: 13ZC009)

**作者单位:** 安徽医科大学附属省立医院<sup>1</sup> 放疗科、<sup>2</sup> 肿瘤表观研究室, 合肥 230001

**作者简介:** 高 劲, 男, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: gj11667@126.com

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)09-1333-05

鼻咽癌是我国常见恶性肿瘤之一, 其主要治疗方法为放射治疗, 辅助以化疗及手术等综合治疗。早期是以单纯放射治疗为主, 而中晚期是以放化综合治疗为主要治疗手段。尽管放射治疗已取得较好的疗效, 然而放射抗拒所致的局部失败和远处转移仍较常见<sup>[1]</sup>。肿瘤细胞放射敏感性差异是导致局部复发率及残留率高的一个重要原因。研究<sup>[2]</sup>表明当人体主要携氧工具-血红蛋白浓度下降时, 血氧含量减少, 鼻咽癌患者表现为放射抗拒, 局部控制率明显降低。准确地评估肿瘤放射敏感性是实行个体化方案治疗至关重要的一步, 也是临床亟待解决的问题。该研究采用同位素相对标记与绝对定量标记技术(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)与二维液相色谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)联用质谱分离鉴定技术, 分析寻找与放射抗拒相关的蛋白, 从而为个体化治疗奠定基础。

growth factor (bFGF) in promoting bone formation. **Methods** 28 cases with periodontitis, whose loose teeth couldn't be retained and then were removed, were randomly divided into three groups. The PRF group was filled with the mixture of deproteinized bovine bone mineral (Bio-Oss) and PRF in the alveolar fossa. The bFGF group was used bFGF and Bio-Oss, and the control group was only added Bio-Oss. The clinical measurements of changes in vertical bone resorption in the surgical area, average value of bone density, bone height of adjacent teeth were done after six months of operation. The bone specimens were taken out from PRF and bFGF groups to be observed. And the professional image analysis software IPP6.0 was used to conduct quantitative analysis of the new bone quantity. **Results** The control group was respectively compared with PRF and bFGF group in the amount of vertical bone resorption, the average bone density, the variation of adjacent alveolar bone height and the percentage of new bone, and they were statistically significant ( $P < 0.05$ ); while the PRF group was compared with bFGF group, they were statistically significant in the average bone density ( $P < 0.05$ ) and the percentage of new bone ( $P < 0.05$ ). However, there was no statistical significance in the amount of vertical bone resorption and the variation of adjacent alveolar bone height. Therefore, the ability of PRF group to promote bone formation was higher than that of bFGF group. **Conclusion** PRF can more effectively promote the formation of bone tissue, which can obtain more new bone, and provide a good environment for implant restoration.

**Key words** PRF; bFGF; periodontitis; site preservation; histologic