

阿托伐他汀通过促进牙周成骨抑制大鼠正畸牙移动

宋欣苒,丁思齐,程雨荷,刘小郁,吴婷婷

(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

重点实验室,合肥 230032)

摘要 **目的** 探讨阿托伐他汀(ATV)在体外对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)、牙周韧带干细胞(PDLSCs)和牙髓干细胞(DPSCs)增殖与分化的影响,并通过大鼠正畸牙移动(OTM)模型验证 ATV 对牙周骨形成和牙齿移动的调控作用。**方法** 通过体外实验评估 ATV 对大鼠 BMSCs、PDLSCs 和 DPSCs 的增殖及成骨/成牙本质分化的影响,采用 CCK-8 实验检测三种细胞的增殖情况,碱性磷酸酶(ALP)染色和茜素红染色评估成骨分化能力,Western blot 检测三种细胞成骨相关蛋白 I 型胶原(COL-I)、Runx 相关转录因子 2(Runx2)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)、骨钙素(OCN)和成牙相关蛋白牙本质涎蛋白(DSPP)的表达。建立大鼠 OTM 模型,将大鼠随机分为 ATV 灌胃组和对照组。ATV 灌胃组按照每日 20 mg/kg 的剂量给予 ATV 灌胃,对照组给予等体积溶剂灌胃。分别在第 7、14、21 天通过 Micro-CT 测量牙齿移动距离,HE 染色和 Masson 染色观察牙周组织形态,qRT-PCR 和免疫组化检测张力侧成骨标志物 BMP-2、Runx2、OCN 基因水平和蛋白水平的表达情况。**结果** 10^{-6} mol/L 和 10^{-7} mol/L 的 ATV 显著促进 BMSCs、PDLSCs 和 DPSCs 的增殖及成骨/成牙本质分化,表现为 ALP 活性增强、矿化结节形成及成骨/成牙相关蛋白 COL-I、Runx2、BMP-2、OCN 和 DSPP 表达上调($P<0.001$)。在 OTM 模型中,与对照组相比,ATV 灌胃组牙齿移动距离减少($P<0.05$),第一磨牙张力侧 BMP-2、Runx2 和 OCN 的基因($P<0.001$)和蛋白表达($P<0.05$)增加,牙周组织成骨活性增强。**结论** ATV 通过促进成骨/成牙本质分化增强牙周骨质生成,从而抑制牙齿移动。

关键词 阿托伐他汀;正畸牙移动;牙周组织;骨改建;成骨分化;成牙本质分化

中图分类号 R 783.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)02-0344-11

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.02.022

正畸治疗的核心目标是通过施加机械力实现牙齿的移动,同时促进牙槽骨和牙周组织的动态重建,以达到理想的咬合和美观效果^[1]。然而,牙齿移动的效率不仅取决于机械力的施加,更受到牙周组织生物学反应的显著影响,其中成骨细胞和破骨细胞的动态平衡起着关键作用^[2]。随着全球代谢性疾病负担加重,患有高脂血症的正畸患者日益增多。高脂血症不仅与心血管疾病密切相关,还可能通过诱发全身性炎症和氧化应激,对牙周健康产生负面影响^[3]。这类患者常使用他汀类药物进行降脂治疗。近年来研究^[4]显示,他汀类药物如阿托伐他汀(atorvastatin, ATV)除调节血脂外,还具有多效性药理作用,包括抗炎与影响骨代谢,可能通过促进骨形成和抑制骨吸收参与牙周改建。既往研究^[5-7]多聚焦于辛伐他汀等对破骨细胞的抑制及其对正畸

牙移动(orthodontic tooth movement, OTM)的减缓作用,而 ATV 在成骨分化及牙周组织重塑中的作用尚不明确。因此,该研究旨在探讨 ATV 对大鼠多种干细胞成骨细胞分化和 OTM 的影响和潜在机制,为优化正畸治疗方案提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器 阿托伐他汀钙片(美国辉瑞制药有限公司,货号:1014091);二甲基亚砜(DMSO)、茜素红 S 染色试剂、中性蛋白酶、胶原酶(美国 Sigma-Aldrich 公司,货号:20139、A5533、P6911、C5138); α -MEM 培养基(美国 HyClone 公司,货号:SH30265.01);CCK-8 试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒、4%多聚甲醛(上海碧云天生物技术有限公司,货号:C0038、P0012、P0099);碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)检测试剂盒(北京百优泰生物科技有限公司,货号:AK003);蛋白酶及磷酸酶抑制剂混合物(上海瑞真生物技术有限公司,货号:P0100);PVDF 膜(美国 Millipore 公司,货号:24937799);牛血清白蛋白(bovine serum albumin,

2025-10-20接收

基金项目:安徽省科研编制计划项目(编号:2022AH050734)

作者简介:宋欣苒,女,硕士研究生;

吴婷婷,女,副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:wutingting_focus@163.com

BSA)(德国 BioFroxx 公司,货号:4240GR025);一抗 I 型胶原(collagen type I, COL-I;1:1 000)、Runx 相关转录因子 2(runx-related transcription factor 2, Runx2;1:1 000)、骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2;1:1 000)、 β -肌动蛋白(β -actin;1:5 000)(杭州华安生物有限公司,货号:HA750188、ER1802-78、ER80602、EM21002);一抗骨钙素(osteocalcin, OCN;1:1 000)(英国 Abcam 公司,货号:ab93876);一抗牙本质涎磷蛋白(dentin sialophosphoprotein, DSPP;1:1 000)(美国 Novus Biologicals 公司,货号:NBP1-89449);HRP 标记二抗(杭州华安生物有限公司,货号:HR6001);ECL 化学发光底物试剂盒(上海天能科技有限公司,货号:180-501);TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司,货号:15596026);PrimeScript RT 试剂盒、SYBR Green Premix Ex Taq(日本 TaKaRa 公司,货号:RR036A、RR420A);10% EDTA 脱钙液(北京莱宝科技有限公司,货号:D0021);中性蛋白酶;胶原酶(美国 Sigma-Aldrich 公司,货号:P6911;C5138);成骨诱导培养基(南京赛业生物科技有限公司,货号:HUXMA-90021)。酶标仪(美国 BioTek 仪器有限公司,型号:ELx800);凝胶成像系统(上海天能科技有限公司,型号:Tanon-5200);超净工作台(苏州苏净安泰公司,型号:SW-CJ-1FD);CO₂培养箱、NanoDrop 微量分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号:Heracell 150i、NanoDrop 2000);微量离心机(德国 Eppendorf 公司,型号:5424R);石蜡切片机(德国 Leica 公司,型号:RM2235);实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad Laboratories 公司,型号:CFX96)。

1.2 细胞的分离和培养 使用购自安徽省实验动物中心的 3~4 周龄(体质量约 50~80 g)、SPF 级的雄性 Sprague-Dawley 大鼠进行体外细胞分离。通过组织酶消化法,从大鼠体内分离并培养 3 种细胞:骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)、牙周韧带干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)和牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)。DPSCs 来源于切牙牙髓,BMSCs 来源于大鼠骨髓。将组织切成 1 mm³小块,用中性蛋白酶和胶原酶消化。从切牙根部中 1/3 表面提取牙周韧带,用于 PDLSCs 的分离与培养。细胞在 37 °C、5% CO₂的培养箱中培养,取 P3 代细胞用于实验。

1.3 ATV 溶液的制备 ATV 钙片在室温下溶于

DMSO,溶解度 ≥ 10 mg/mL。当 DMSO 终浓度低于 0.1%时,细胞毒性可忽略。将 2.418 mg ATV 钙片粉末溶于 200 μ L DMSO 过夜,次日加入 α -MEM 培养基至 20 mL,过滤后得到 10⁻⁴ mol/L 的 ATV 储存液。

1.4 细胞分组与培养 根据前期预实验,骨髓干细胞在 10⁶或 10⁷ mol/L ATV 处理下增殖和成骨能力增强。因此,本研究将 BMSCs、PDLSCs 和 DPSCs 分别用 0、10⁻⁶和 10⁻⁷ mol/L ATV 处理,分为对照组(-)、ATV-6 组和 ATV-7 组。细胞染色实验中,加入成骨诱导培养基作为阳性对照(+)组。

1.5 细胞增殖实验 使用 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖。将 3 种细胞以 3 $\times 10^3$ 个/孔的密度接种于 96 孔板中,分别在第 1、4、7 天加入 10 μ L CCK-8 溶液,37 °C 孵育 2 h 后,用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度。

1.6 ALP 和茜素红染色 为研究 ATV 对 BMSCs 和 PDLSCs 成骨分化的影响,用含或不含 ATV 的成骨诱导培养基处理细胞。ALP 染色使用 ALP 检测试剂盒,茜素红染色使用 Sigma 试剂。将细胞以 5 $\times 10^4$ 个/孔的密度接种于 12 孔板中,分别在第 7、14、21 天检测染色效果,并通过 ImageJ 软件分析染色强度。

1.7 Western blot 实验 用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解液提取细胞总蛋白,使用 BCA 试剂盒定量。蛋白经 10% SDS-PAGE 分离后,转至 PVDF 膜,用 5% BSA 封闭 1 h。随后,分别加入以下特异性一抗,4 °C 孵育过夜:COL-I, Runx2, BMP-2, OCN, DSPP,以 β -actin 作为内参。使用 HRP 标记的二抗(1:2 000)室温孵育 1 h。使用 ECL 底物试剂盒显色,凝胶成像系统采集信号。

1.8 大鼠正畸牙移动模型 雄性 Sprague-Dawley 大鼠 12 只(3 月龄;体质量 250~290 g),购自安徽省实验动物中心,饲养于 SPF 级实验室,温度 25 °C,12 h 光照/黑暗循环,自由饮食饮水,动物实验伦理经安徽医科大学实验动物伦理委员会批准(批号:LLSC20221066)。在大鼠左侧上颌骨安装镍钛螺旋弹簧装置,右侧作为对照。正畸持续 21 d,每日检查装置,脱落时当天重置。将造模后的大鼠随机分为两组:ATV 组每日灌胃 20 mg/kg ATV 溶液,ctrl 组灌胃等量生理盐水。ATV 溶液配制基于预实验结果,采用含 10% DMSO 的生理盐水作为溶剂体系(终浓度 5 mg/mL),20 mg/kg 对应人类临床用药等效剂量,且同时具备有效性和安全性。实验过程中每 7 d 称重 1 次。

1.9 qRT-PCR 使用 TRIzol 试剂提取大鼠牙周组织总 RNA,经 NanoDrop 测定浓度及纯度($A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}=1.8\sim2.0$);取 1 μg RNA 通过 PrimeScript RT 试剂盒反转录为 cDNA;采用 SYBR Green Premix Ex Taq 进行扩增,反应体系含 10 $\mu\text{mol/L}$ 引物各 0.4 μL 、cDNA 2 μL 、SYBR Mix 10 μL 、ddH₂O 补至 20 μL ;扩增程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 预变性,95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,共 40 个循环;以 β -actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算基因相对表达量。引物序列如下: BMP-2: (F) 5'-CAGCCACGTCCAGCCATCTT-3'; (R) 5'-TCCCGGTCTCAGGTATCAGCA-3'; Runx2: (F) 5'-CCGCACGACAACCGCACCAT-3'; (R) 5'-CGCTCCGGCCCAAAATCTC-3'; OCN: (F) 5'-CTCTCTCTGCTCACTCTGCTG-3'; (R) 5'-GGAGCTGCTGTGACATCCAT-3'; β -actin: (F) 5'-CCCGCGAGTACAACCTTCTT-3'; (R) 5'-CGTCATCCATGGCGAACT-3'。

1.10 组织学分析 实验结束后,对大鼠实施安乐死。取上颌骨,用 4% 多聚甲醛固定,10% EDTA 脱钙,石蜡包埋后沿矢状面切取 5 μm 切片。分别进行 HE 染色、Masson 染色和免疫组化分析以观察第一磨牙牙周韧带及周围牙槽骨的再生情况:HE 染色经苏木精-伊红染色显示组织基本形态;Masson 染色通过丽春红、酸性品红及苯胺蓝三色法区分胶原纤维;免疫组化分析为经过抗原修复、一抗 BMP-2 (1:200)、Runx2 (1:200) 及 OCN 抗体 (1:200),于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:500),于室温孵育 60 min,最后进行 DAB 显色,标记特定蛋白。

1.11 统计学处理 使用 SPSS (IBM SPSS Statistics 26.0) 进行数据分析,GraphPad Prism 9.0 绘图。数据以均数 \pm 标准差表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间多个时间点比较采用重复测量资料的方差分析。 $P<$

0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ATV 对干细胞增殖的影响 为了探究 ATV 对牙周相关细胞增殖的影响,本研究在大鼠 BMSCs、PDLSCs 和 DPSCs 的培养液中加入适量浓度的 ATV。预实验结果提示 ATV 在 10^{-6} mol/L 和 10^{-7} mol/L 浓度下对骨髓干细胞的增殖和成骨能力具有显著促进作用,因此本研究选择了 0、 10^{-7} mol/L 和 10^{-6} mol/L 3 个浓度进行实验。CCK-8 检测显示,与对照组相比, 10^{-6} mol/L 浓度的 ATV 在第 4 天和第 7 天显著促进了 BMSCs、PDLSCs 和 DPSCs (均 $P<0.01$) 的增殖,而 10^{-7} mol/L 浓度的 ATV 仅在第 7 天显著促进了 BMSCs ($P<0.05$) 和 DPSCs ($P<0.05$) 的增殖 (图 1)。结果表明,ATV 能够有效促进牙周相关细胞的增殖,且 10^{-6} mol/L 的 ATV 具有最佳的促增殖效果。

2.2 ATV 对大鼠 BMSCs、PDLSCs 成骨分化的影响 为了明确 ATV 对成骨分化的影响,本研究对 BMSCs 和 PDLSCs 进行了 ALP 染色和茜素红染色,并设置了成骨诱导培养基作为阳性对照组 (+)。与对照组相比,除了 PDLSCs 中 ATV-7 组第 21 天外,ATV-6 组和 ATV-7 组中 BMSCs (均 $P<0.05$) (图 2A、2C) 和 PDLSCs ($P<0.05$) (图 2B、2E) 的 ALP 活性在成骨分化的各时间均显著增强,并且在第 14 天 ALP 染色最深;而 ATV-7 组在诱导 ALP 活性增强方面与成骨诱导组 (+) 无显著差异 ($P>0.05$),而 BMSCs 中 ATV-6 组在第 14 天以及 PDLSCs 中 ATV-6 组在第 7、14、21 天 ALP 活性显著大于成骨诱导组 (+),说明 ATV-6 组的效果更为显著。茜素红染色显示,与对照组 (-) 相比,除了 ATV-7 组在第 7 天外,ATV-6 组和 ATV-7 组中 BMSCs (均 $P<0.05$) (图 2A、2D) 和 PDLSCs (均 $P<0.001$) (图 2B、2F) 矿化结节的形成显

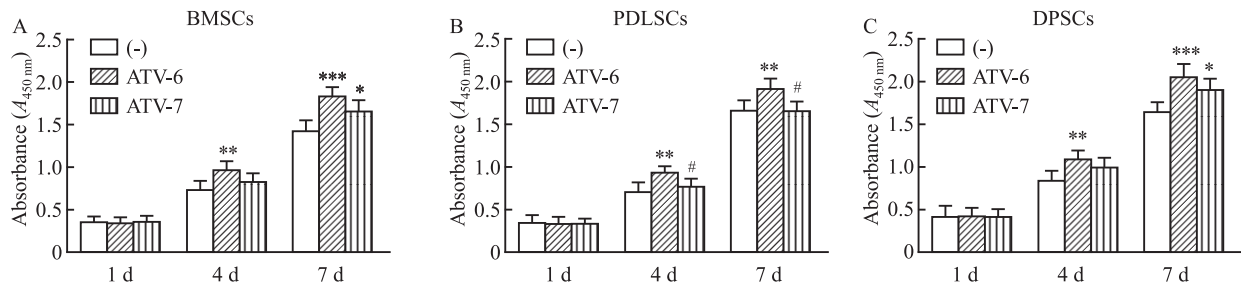


Fig. 1 The effects of ATV on stem cell proliferation

A-C: The proliferation of BMSCs (A), PDLSCs (B) and DPSCs (C) treated with ATV at the concentration of 0, 10^{-6} or 10^{-7} mol/L for 1, 4 and 7 days were detected by CCK-8 assays; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs (-) group; # $P<0.05$ vs ATV-6 group.

著增加,且 ATV-6 组在第 21 天表现出最高的矿化水平。上述结果表明,ATV 能够显著促进 BMSCs 和 PDLSCs 的成骨分化,且 10^{-6} mol/L ATV 的效果总体优于成骨诱导组, 10^{-7} mol/L ATV 的效果总体与成骨诱导组相当。

2.3 ATV 对大鼠 BMSCs、PDLSCs 成骨分化相关蛋白及 DPSCs 成牙本质分化相关蛋白的影响 为了研究 ATV 对成骨和成牙本质分化相关蛋白的影响,本研究对 BMSCs、PDLSCs 和 DPSCs 的相关蛋白进行了 Western blot 分析。与对照组相比,ATV-6 组 BMSCs (图 3A、3B) 和 PDLSCs (图 3C、3D) 中的成骨

分化相关蛋白 COL-I、Runx2、BMP-2 和 OCN 在成骨分化的各个时间表达均显著上调(均 $P<0.05$),而部分时间 ATV-7 组的上调程度显著低于 ATV-6 组。同时,ATV-6 组 DPSCs (图 3E、3F) 分泌的成牙本质分化相关蛋白 DSPP 在各个时间点与对照组相比均显著上调(均 $P<0.001$)。结果表明,ATV 能够显著促进 BMSCs 和 PDLSCs 的成骨分化,而 DPSCs 作为牙髓再生核心细胞,在 ATV 作用下高表达 DSPP,表明其向功能性成牙本质细胞定向分化。

2.4 ATV 对大鼠正畸牙齿移动的影响 为了探究 ATV 对 OTM 的影响,本研究建立了大鼠 OTM 模型

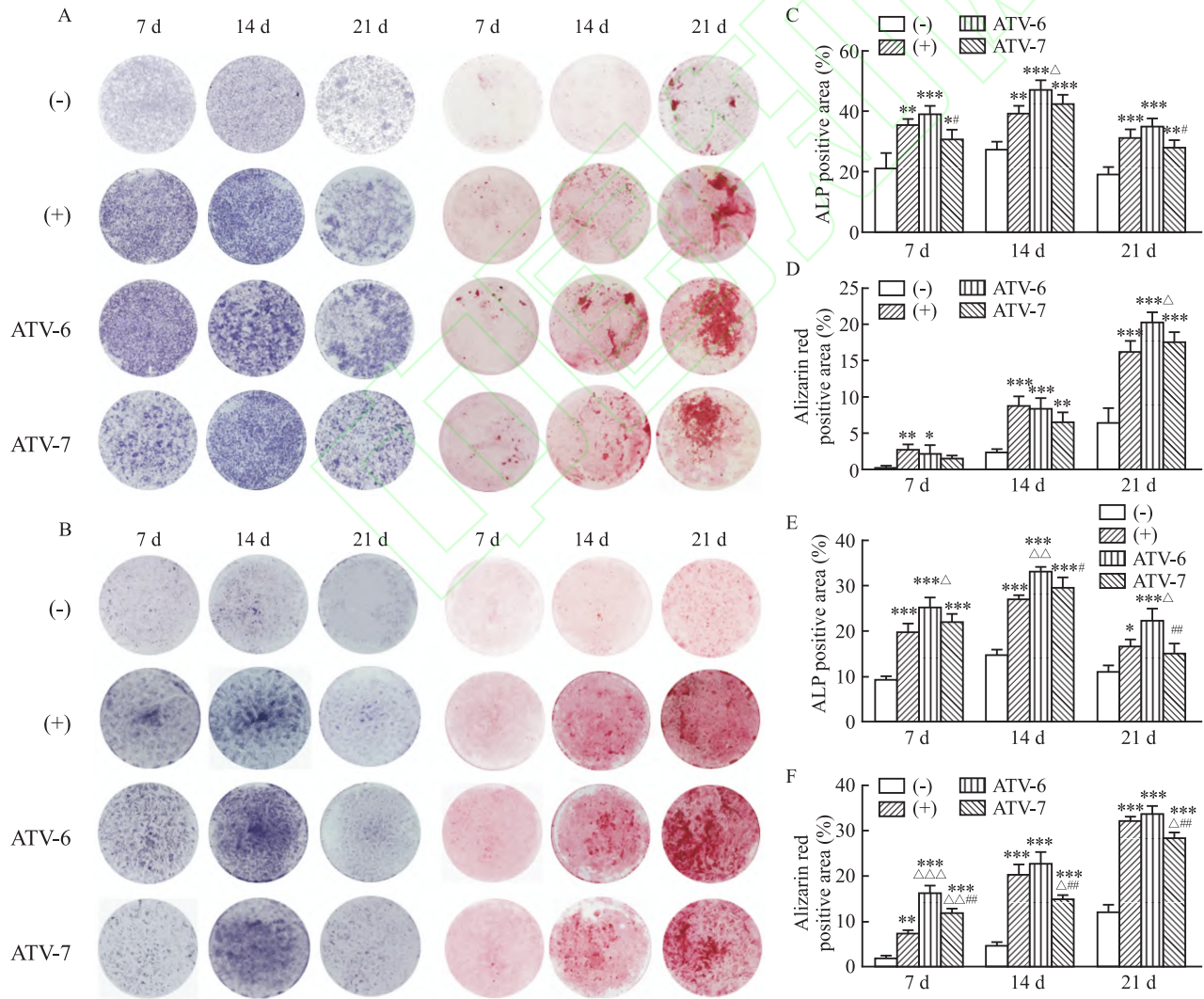


图2 ATV对大鼠 BMSCs、PDLSCs 成骨分化的影响

Fig. 2 The effects of ATV on osteogenic differentiation of BMSCs and PDLSCs in rats

A, B: ALP and alizarin red staining results of BMSCs and PDLSCs from rats in different groups on day 7, day 14, and day 21×50; C, D: Analysis of ALP staining results and alizarin red staining results of BMSCs in different groups on day 7, 14, and 21 of osteogenic differentiation; E, F: Analysis of ALP staining results and alizarin red staining results of PDLSCs in different groups on day 7, 14, and 21 of osteogenic differentiation; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs (-) group; $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ vs (+) group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs ATV-6 group; (-): negative control group; (+): positive control group; ATV-6: 10^{-6} mol/L ATV incubation group; ATV-7: 10^{-7} mol/L ATV culture group.

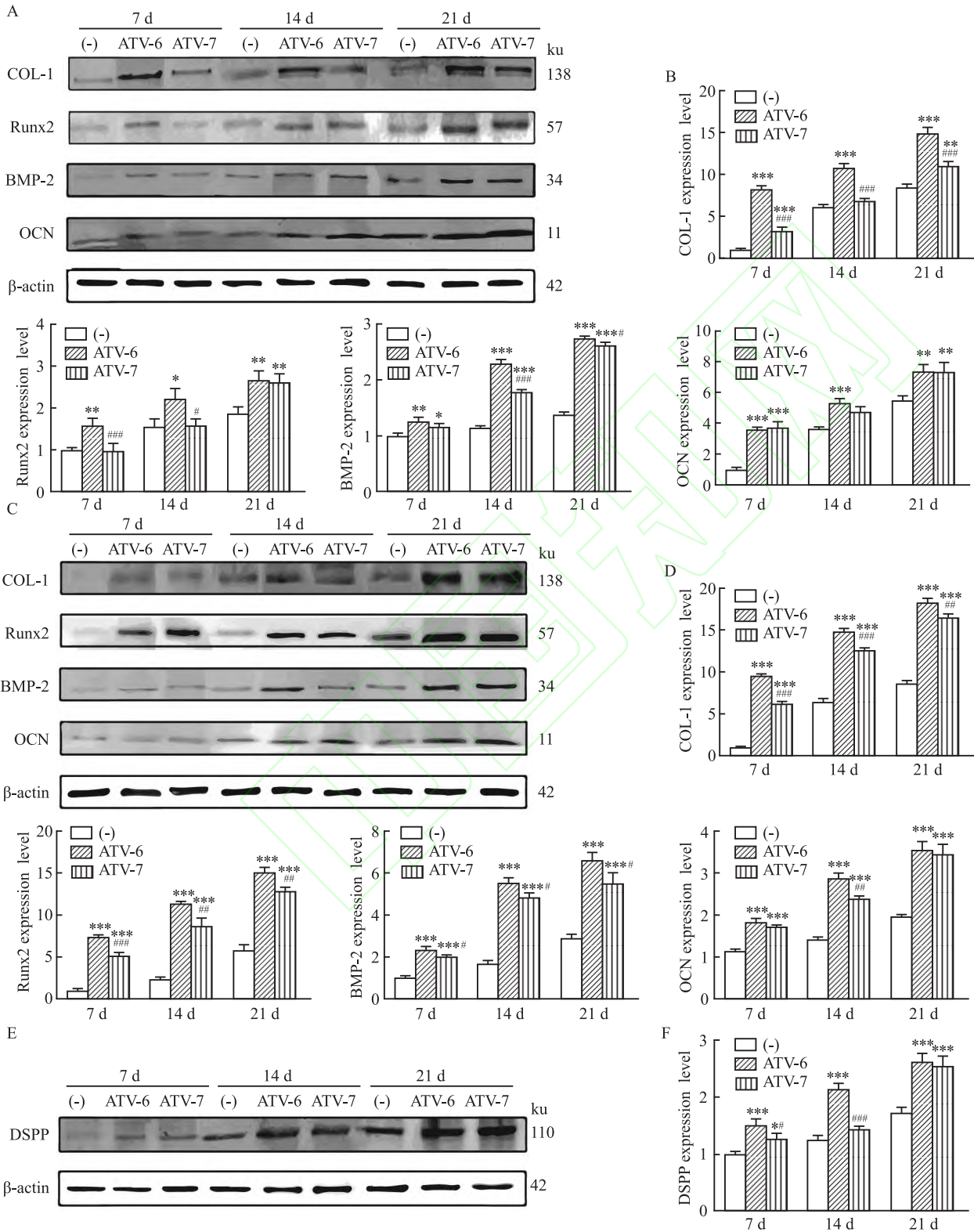


图3 ATV对大鼠BMSCs、PDLSCs成骨分化相关蛋白及DPSCs成牙本质分化相关蛋白的影响

Fig. 3 The effects of ATV on osteogenic differentiation-associated proteins of rat BMSCs and PDLSCs and dental differentiation-associated proteins of DPSCs 138

A, B: The expression of COL- I , Runx2, BMP-2, and OCN proteins in rat BMSCs; C, D: The expression of COL- I , Runx2, BMP-2, and OCN proteins in rat PDLSCs; E, F: The expression of DPSP protein in rat DPSCs; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs (-) group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$ vs ATV-6 group.

(图 4A), 并通过 Micro-CT 测量牙齿移动距离(图 4B)。结果显示, 随着正畸时间的延长, 各组大鼠牙齿移动的距离逐渐增加。与对照组(-)相比, ATV 组的牙齿移动距离在第 14 天($P<0.05$)和第 21 天($P<0.05$)显著减少, 特别是第 21 天, 减少幅度更大(图 4C)。21 天内, 各组大鼠的体质量与治疗前相比均无显著差异($P>0.05$), 说明 OTM 和 ATV 灌胃对大鼠几乎无全身影响(图 4D)。结果表明, ATV 能够有效抑制正畸牙齿移动。

2.5 ATV 对大鼠牙周韧带和牙槽骨的影响 为了明确 ATV 对牙周组织的影响, 本研究对 OTM 21 天大鼠的牙周韧带和牙槽骨进行了 HE 染色和 Masson 染色。HE 结果显示, 在对照组和 ATV 组的非正畸侧, 第一磨牙附近的牙周膜显示出一致的宽度, 并与牙槽骨明显分离(图 5A、5B)。在 OTM+ctrl 组的受压侧, 牙周膜显得狭窄, 局部血管受压, 表明正畸力导致了牙周组织的压缩(图 5C)。相比之下, OTM+ATV 组的第一磨牙两侧牙周膜宽度更加均匀, 压迫侧的牙周膜中致密的纤维束和成纤维细胞排列规则, 牙槽骨表面观察到大量成骨细胞, 细胞呈圆形且细胞质丰富, 血管分布明显增加(图 5D)。此

外, OTM +ATV 组的张力侧牙槽骨显示出伸入牙周膜的指状突起, 表明有新骨形成。

Masson 染色结果显示, 对照组和 ATV 组非正畸侧的牙周胶原纤维笔直、排列规则且几乎相互平行, 牙齿静态地悬浮在牙槽窝中(图 6A、6B)。然而, OTM+ctrl 组正畸侧的牙周胶原纤维排列变得紊乱, 表明正畸力对牙周组织的结构造成了破坏(图 6C)。相比之下, OTM +ATV 组的牙周胶原纤维分布更加均匀, 排列更加致密, 显示出更好的组织修复状态(图 6D)。这说明, ATV 能够显著改善牙周组织的压缩状态, 促进牙周膜和牙槽骨的重建, 并维持胶原纤维的有序排列。

2.6 ATV 对大鼠上颌骨成骨相关基因和蛋白表达的影响 为了研究 ATV 对成骨相关基因表达的影响, 本研究通过 qRT-PCR 检测了 OTM 21 天大鼠上颌骨张力侧成骨标志物的转录组表达情况。结果显示, 与 Ctrl 组相比, ATV 组在第一磨牙张力侧的 *BMP-2*、*Runx2* 和 *OCN*(均 $P<0.001$)的表达均显著增加(图 7A-7C)。

为了研究 ATV 对成骨相关蛋白表达的影响, 通过免疫组化检测了 OTM 21 天大鼠上颌骨张力侧成骨标志物的蛋白表达。结果显示, 与 Ctrl 组相比,

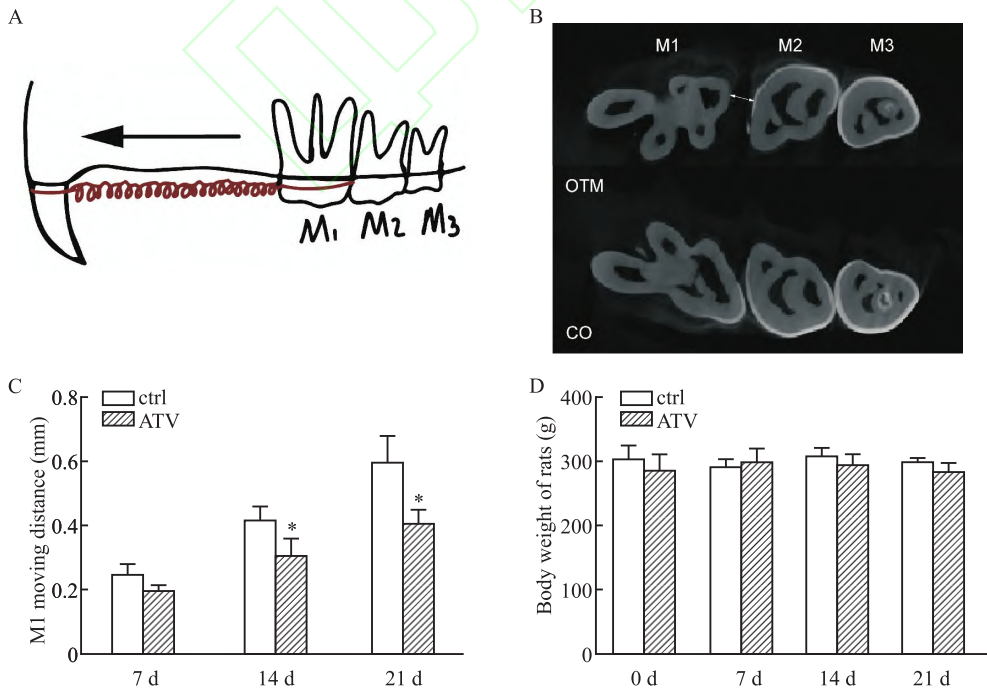


图 4 ATV 对大鼠正畸牙齿移动的影响

Fig. 4 The effects of ATV on orthodontic tooth movement in rats

A: Schematic diagram of rat orthodontic device; B: Sagittal scanning results of the control side and the orthodontic side of rat maxilla by micro-CT; C: Mesial movement distance of the first molars in after 21 days of orthodontics; D: Body weight changes after 21 days of orthodontic treatment; * $P<0.05$ vs ctrl group.

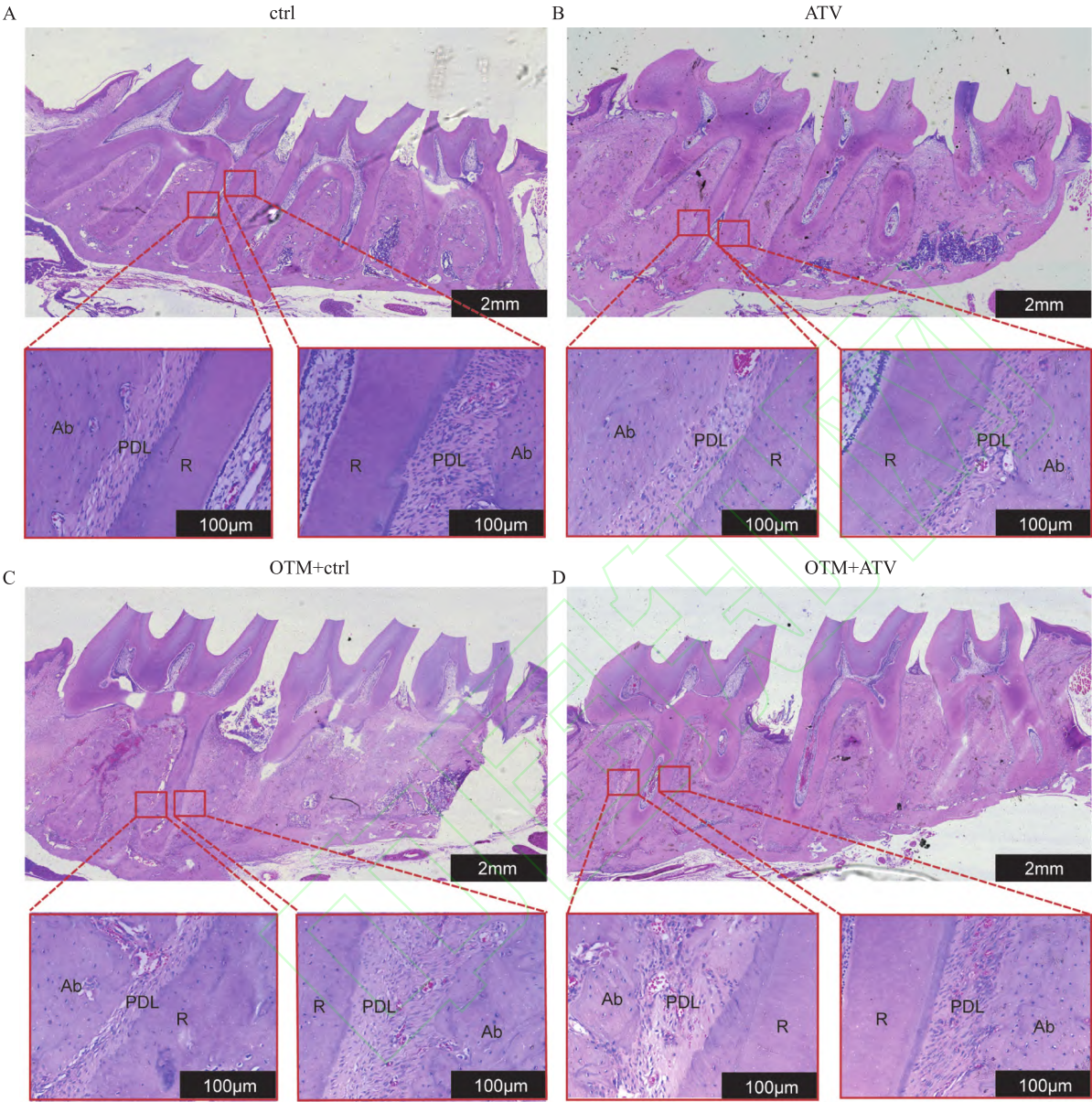


图5 ATV对大鼠牙周韧带和牙槽骨影响的HE染色

Fig. 5 HE staining showed the effects of ATV on the periodontal ligament and alveolar bone in rats

HE staining of sagittal sections of maxillary and molar teeth on both sides ($\times 50$) and localized periodontal HE staining of the proximal and distal mesial roots of the first molar ($\times 200$); A: Non-orthodontic side of the control group; B: Non-orthodontic side of the ATV group; C: Orthodontic side of the control group; D: Orthodontic side of the ATV group; R: Root; PDL: Periodontal ligament; Ab: Alveolar bone.

ATV组在第一磨牙张力侧的BMP-2、Runx2和OCN(均 $P<0.05$)的表达均显著增加(图8A-8C)。结果表明,ATV能够通过上调成骨相关基因和蛋白的表达,促进牙周骨质形成,减少正畸牙移动。

3 讨论

流行病学学数据显示,21岁以上人群约36.7%(7 810万人)需接受降脂治疗,其中55.5%使用他汀类药物^[8]。近年研究发现,他汀类药物除降脂外,还可调控骨代谢。例如,洛伐他汀和辛伐他汀能增

加卵巢切除啮齿动物的骨量^[9],并促进软骨细胞增殖^[10]。鉴于他汀类药物在口腔正畸领域的作用机制尚不明确,本研究以ATV为研究对象,探讨其对正畸牙周组织改建及牙齿移动的影响。

OTM本质是机械力介导的牙槽骨吸收与沉积及牙周膜改建过程,同时伴随牙髓组织的适应性反应。正畸机械刺激可激活DPSCs分化为成牙本质细胞,以维持牙髓稳态^[11]。本研究通过分离培养大鼠牙槽骨BMSCs、PDLSCs及DPSCs,发现ATV能够显著促进三者增殖,并上调BMSCs和PDLSCs中

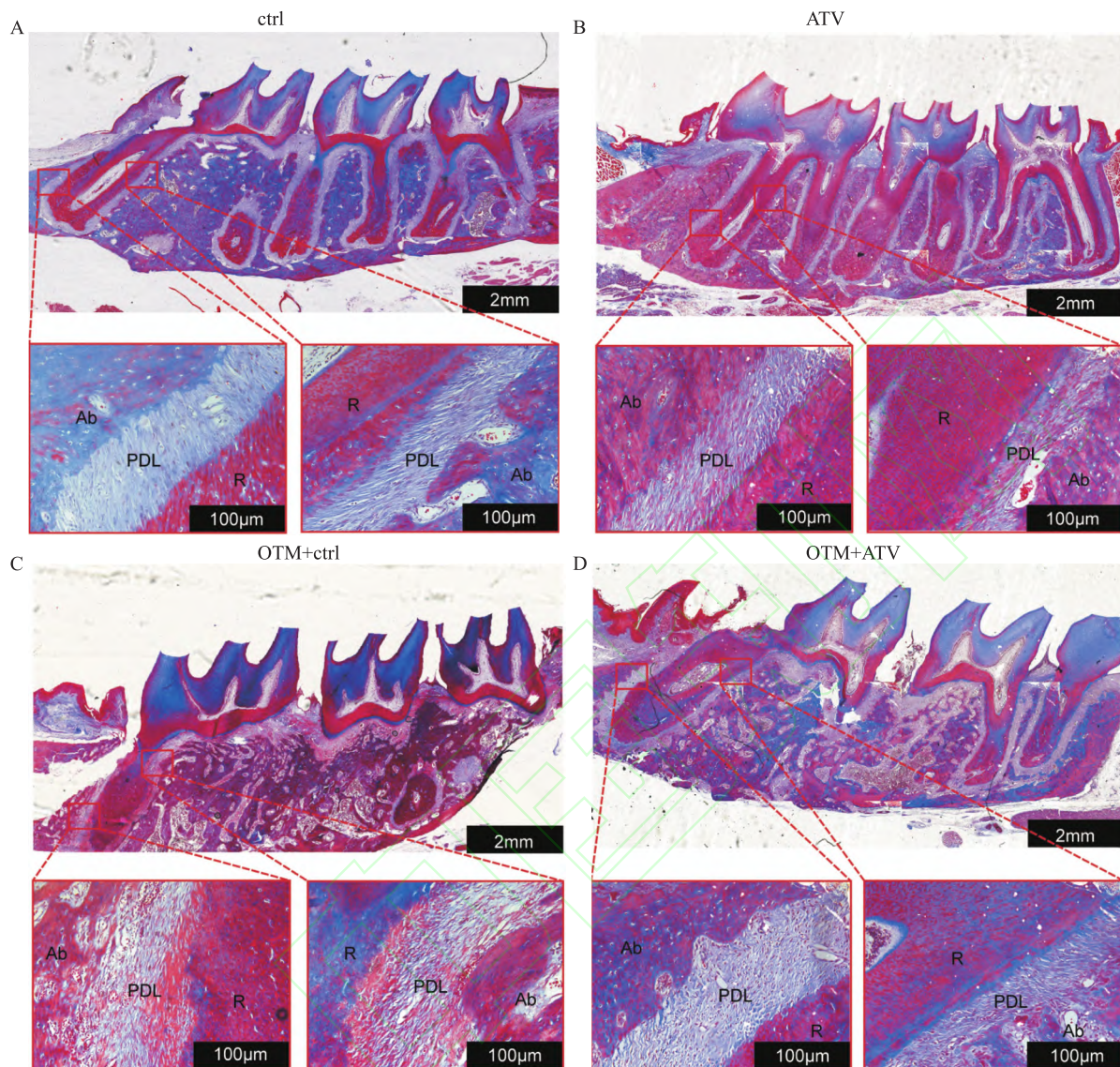


图6 ATV对大鼠牙周韧带和牙槽骨影响的Masson染色

Fig. 6 Masson staining showed the effect of ATV on the periodontal ligament and alveolar bone in rats

Masson staining of sagittal sections of maxillary and molar teeth on both sides ($\times 50$) and localized periodontal Masson staining of the proximal and distal mesial roots of the first molar ($\times 200$); A: Non-orthodontic side of the control group; B: Non-orthodontic side of the ATV group; C: Orthodontic side of the control group; D: Orthodontic side of the ATV group; R: Root; PDL: Periodontal ligament; Ab: Alveolar bone.

COL-I、BMP-2等成骨蛋白,以及DPSCs中牙本质分化相关蛋白的表达。这表明ATV可能通过增强牙槽骨改建能力与牙髓修复潜能,对正畸所致的牙槽骨过度吸收和牙髓损伤产生保护作用。

动物实验证实,局部注射辛伐他汀可减少破骨细胞性骨吸收从而抑制牙齿移动^[12]。与本研究发现一致的是,本研究建立的大鼠21天OTM模型显示,与对照组相比,ATV组(15 mg/kg·d)在第14和21天的牙齿移动距离显著减小,与既往报道^[13]相符。组织学染色进一步显示,ATV组压力侧牙周膜纤维排列更规则致密,牙槽骨表面成骨细胞数量增

多,提示ATV可改善牙周压缩状态并促进组织重建,有利于牙齿稳定。他汀类药物已知可通过BMP-2促进成骨细胞增殖分化^[14];ATV还可经Wnt/5 α 通路促进Runx2表达,在防治激素性股骨头坏死中发挥作用^[15]。本研究证实ATV可上调BMSCs中BMP-2及其下游Runx2的表达,但其具体调控机制仍需深入解析。

随着高脂血症年轻化趋势,长期服用他汀类药物的正畸患者日益增多。本研究证实,ATV通过促进牙周成骨分化显著抑制牙齿移动,这一效应具有双重临床价值:一方面,ATV延缓牙齿移动可能延

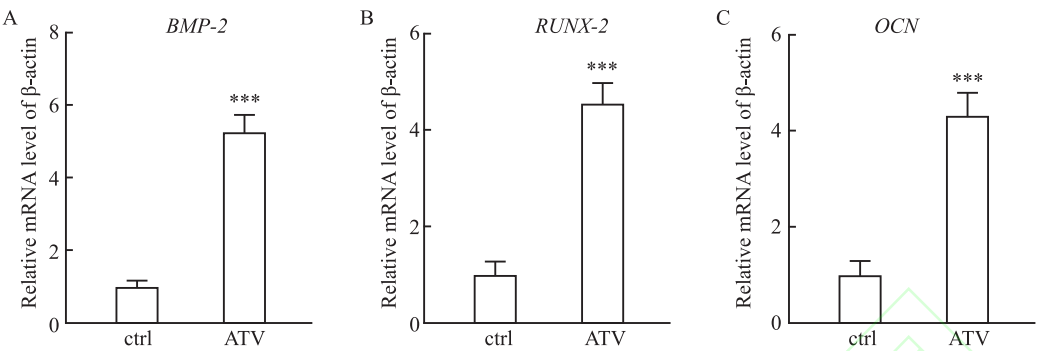


图7 ATV对大鼠上颌骨成骨相关基因表达的影响

Fig. 7 The effects of ATV on the expression of osteogenesis-related genes in rat maxilla

A: Relative mRNA expression of *BMP-2* on the tension side of the rat maxilla; B: Relative mRNA expression of *Runx2* on the tension side of the rat maxilla; C: Relative mRNA expression of *OCN* on the tension side of the rat maxilla; SAL: Normal saline by gavage; ATV: ATV by gavage; *** $P < 0.001$ vs (-) group.

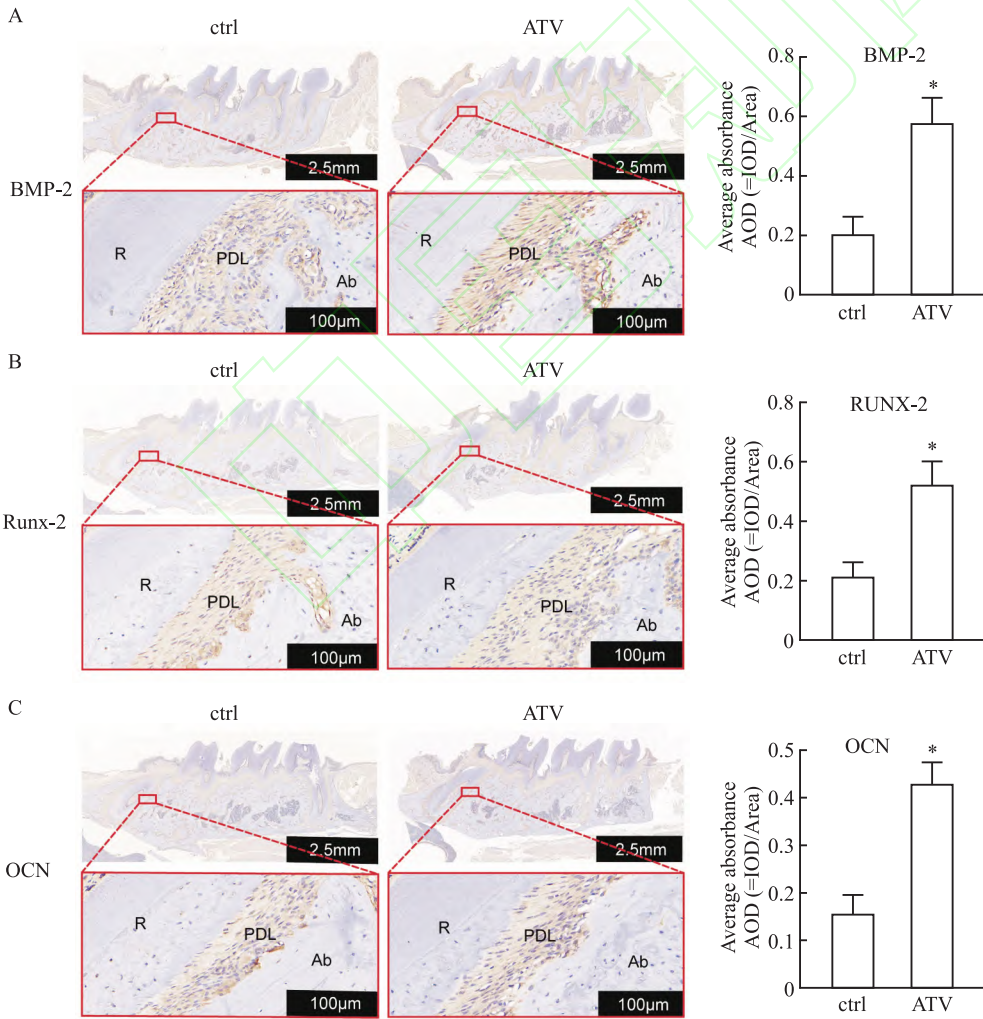


图8 ATV对大鼠上颌骨成骨相关蛋白表达的影响

Fig. 8 The effects of ATV on the expression of osteogenesis-related proteins in rat maxilla

Immunohistochemical staining of sagittally oriented sections of maxillary and molar teeth on both sides ($\times 20$) and localized periodontal immunohistochemical staining of the proximal-middle portion of the first molar ($\times 200$); A: Images and quantitative analysis of *BMP-2* immunohistochemical staining of rat maxillary sections; B: Images and quantitative analysis of *Runx2* immunohistochemical staining of rat maxillary sections; C: Immunohistochemical staining images and quantitative analysis of *OCN* in rat maxillary sections; The observation area: periodontal ligament and alveolar bone in the middle 1/3 region of the mesial root distal side of rat first molars; R: root; PDL: periodontal ligament; Ab: alveolar bone; * $P < 0.05$ vs ctrl group.

长矫治周期,临床医生对长期服药患者需提前评估并告知相关风险,优化矫治方案;另一方面,ATV可减轻牙周膜压缩性损伤、促进张力侧新骨形成,有助于增强治疗中牙齿稳定性并降低复发风险。此外,针对伴牙周炎的正畸患者,ATV的成骨特性或为减少牙槽骨吸收、降低牙齿松动风险提供局部应用前景,但其安全性与有效性尚需进一步临床验证。

需指出的是,骨代谢的动态平衡依赖于成骨细胞与破骨细胞的协同作用。既往研究^[5,13]已充分证实他汀类药物(包括ATV)可通过抑制核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)信号通路或直接干预破骨前体细胞分化,从而降低破骨活性。这表明ATV可能通过双向调控,即既促进成骨又抑制破骨,来共同抑制牙齿移动。由于本研究聚焦于成骨/成牙本质分化机制,未涉及破骨细胞相关检测,未来可结合抗酒石酸酸性磷酸酶/碱性磷酸酶(TRAP/ALP)双荧光染色或单细胞测序^[16]等技术,同步分析ATV对牙周微环境中成骨-破骨细胞互作的分子网络,以全面揭示其对正畸牙移动的调控机制。

参考文献

- [1] Yang P Z, Bai L Y, Zhang H X, et al. Efficacy of a four-curvature auxiliary arch at preventing maxillary central incisor linguoclination during orthodontic treatment: a finite element analysis [J]. *BMC Oral Health*, 2023, 23 (1): 144. doi: 10.1186/s12903-023-02833-2.
- [2] Maulani A, Farmasyanti C A, Sutantyo D. The number of osteoblasts and osteoclasts in hypofunctional teeth during orthodontic tooth movement in rats [J]. *F1000Res*, 2022, 10: 541. doi: 10.12688/f1000research.53728.3.
- [3] Zhang T, Ouyang D, Sun C, et al. Analysis of the effect of glutamyltransferase on hyperlipidemia based on decision tree [J]. *Digit Health*, 2023, 9: 20552076231185441. doi: 10.1177/20552076231185441.
- [4] Sharma P, Singh A, Mallapragada S. Sub-gingival delivery of simvastatin and rosuvastatin for treatment of chronic periodontitis with diabetes mellitus: a randomized controlled clinical-radiographic pilot study [J]. *J Oral Biol Craniofac Res*, 2023, 13 (2): 315-20. doi: 10.1016/j.jobcr.2023.02.012.
- [5] Tahamtan S, Shirban F, Bagherniya M, et al. The effects of statins on dental and oral health: a review of preclinical and clinical studies [J]. *J Transl Med*, 2020, 18 (1): 155. doi: 10.1186/s12967-020-02326-8.
- [6] Kabra S, Thosar N R, Malviya N S. Exploring the synergistic effect of simvastatin in oral health applications: a literature review [J]. *Cureus*, 2023, 15 (8): e44411. doi: 10.7759/cureus.44411.
- [7] Sun H, Meng S, Chen J, et al. Effects of hyperlipidemia on osseointegration of dental implants and its strategies [J]. *J Funct Biomater*, 2023, 14(4): 194. doi: 10.3390/jfb14040194.
- [8] Jackson S L, Park S, Loustalot F, et al. Characteristics of US adults who would be recommended for lifestyle modification without antihypertensive medication to manage blood pressure [J]. *Am J Hypertens*, 2021, 34(4): 348-58. doi: 10.1093/ajh/hpaa173.
- [9] Li H, Gou Y, Tian F, et al. The combined anti-osteoporotic effects of simvastatin and exercise in ovariectomized mice fed a high-fat diet [J]. *Exp Gerontol*, 2022, 164: 111794. doi: 10.1016/j.exger.2022.111794.
- [10] Kuwahara M, Akasaki Y, Goto N, et al. Fluvastatin promotes chondrogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells by inducing bone morphogenetic protein 2 [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2022, 23 (1): 61. doi: 10.1186/s40360-022-00600-7.
- [11] Alattas M H. Pulp changes secondary to orthodontic forces: a review of literature [J]. *Cureus*, 2023, 15 (6): e40573. doi: 10.7759/cureus.40573.
- [12] Alsaeed M A, Al-Ghaban N M H. Chitosan nanoparticle/simvastatin for experimental maxillary bony defect healing: a histological and histomorphometrical study [J]. *Biomimetics (Basel)*, 2023, 8(4): 363. doi: 10.3390/biomimetics8040363.
- [13] Dolci G S, Portela L V, Onofre de Souza D, et al. Atorvastatin-induced osteoclast inhibition reduces orthodontic relapse [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2017, 151 (3): 528-38. doi: 10.1016/j.jado.2016.08.026.
- [14] Chamani S, Liberale L, Mobasheri L, et al. The role of statins in the differentiation and function of bone cells [J]. *Eur J Clin Invest*, 2021, 51(7): e13534. doi: 10.1111/eci.13534.
- [15] Wu J, Chen T, Zhang M, et al. Atorvastatin exerts a preventive effect against steroid-induced necrosis of the femoral head by modulating Wnt5a release [J]. *Arch Toxicol*, 2024, 98 (10): 3365-80. doi: 10.1007/s00204-024-03817-z.
- [16] 何川, 丁洋, 万圣云. 基于单细胞核转录组测序的多发性大动脉炎外周血单个核细胞图谱分析 [J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59 (6): 1068-75. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.06.024.
- [16] He C, Ding Y, Wan S Y. Analysis of peripheral blood mononuclear cells in Takayasu arteritis based on single cell nuclear transcriptome sequencing [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59 (6): 1068-75. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-

1492. 2024. 06. 024.

Atorvastatin inhibits orthodontic tooth movement in rats by promoting periodontal bone formation

Song Xinyi, Ding Siqi, Cheng Yuhe, Liu Xiaoyu, Wu Tingting

(Anhui Medical University School of Stomatology, Anhui Medical University Affiliated Stomatological Hospital, Anhui Provincial Key Laboratory of Oral Disease Research, Hefei, 230032)

Abstract Objective To investigate the effects of atorvastatin (ATV) on the proliferation and differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs), periodontal ligament stem cells (PDLSCs), and dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro*, and to validate the regulatory effect of ATV on periodontal bone formation and tooth movement using a rat orthodontic tooth movement (OTM) model. **Methods** The effects of ATV on the proliferation and osteogenic/odontogenic differentiation of rat BMSCs, PDLSCs, and DPSCs were assessed *in vitro*. CCK-8 assay was used to detect the proliferation of the three types of cells. Alkaline phosphatase (ALP) staining and Alizarin Red staining were employed to evaluate osteogenic differentiation capacity. Western blot was used to detect the expression of osteogenesis-related proteins [Collagen type I (COL-I), Runt-related transcription factor 2 (Runx2), Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), Osteocalcin (OCN)] and the odontogenesis-related protein Dentin sialophosphoprotein (DSPP) in BMSCs, PDLSCs, and DPSCs. An OTM rat model was established, with rats randomly assigned to an ATV gavage group and a control group. The ATV gavage group received daily oral administration of ATV at a dose of 20 mg/kg, while the control group received an equal volume of solvent by gavage. Tooth movement distance was measured *via* Micro-CT on days 7, 14, and 21. Histomorphology of periodontal tissues was observed using Hematoxylin and Eosin (HE) staining and Masson staining. The gene and protein expression levels of osteogenic markers (BMP-2, Runx2, OCN) on the tension side of the first molar were detected by qRT-PCR and immunohistochemistry, respectively. **Results** ATV at concentrations of 10^{-6} mol/L and 10^{-7} mol/L significantly promoted the proliferation and osteogenic/odontogenic differentiation of BMSCs, PDLSCs, and DPSCs, manifested as enhanced ALP activity, increased mineralized nodule formation, and up-regulated expression of osteogenic/odontogenic proteins COL-I, Runx2, BMP-2, OCN, and DSPP ($P < 0.001$). In the OTM model, compared with the control group, the ATV gavage group showed a significant reduction in tooth movement distance ($P < 0.05$), enhanced osteogenic activity in periodontal tissues, and significantly increased gene ($P < 0.001$) and protein ($P < 0.05$) expression of BMP-2, Runx2, and OCN on the tension side of the first molar. **Conclusion** ATV enhances periodontal osteogenesis by promoting osteogenic/dentinogenic differentiation, thus inhibiting tooth movement.

Key words atorvastatin; orthodontic tooth movement; periodontal tissue; bone remodeling; osteogenic differentiation; adult dentin differentiation

Fund program Anhui Provincial Scientific Research Plan Project (No. 2022AH050734)

Corresponding author Wu Tingting, E-mail: wutingting_focus@163.com