

犬面中份缝牵引成骨过程中骨形成蛋白-2 的表达

金增强¹, 刘昌发², 马 骁¹, 柳春明^{1*}

(1. 解放军总医院口腔科, 北京 100853; 2. 郑州铁路职业技术学院, 郑州 450052)

[摘要] **目的:** 研究骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)-2 在犬面中份缝牵引成骨过程中的表达, 探讨缝牵引成骨的机制。 **方法:** 18 只 12 周龄杂种犬随机分为牵引成骨组 12 只和正常对照组 6 只, 在牵引 5、10、15 d, 固定 10、20 d, 去固定 1 个月分别处死实验犬 2 只和对照犬 1 只, 免疫组化法观察 BMP-2 在各骨缝的表达情况。 **结果:** 牵引期和固定期, BMP-2 在实验犬各骨缝边缘大量增殖的未成熟成骨细胞、间充质细胞以及新生骨基质中呈阳性表达, 对照犬也有少量表达。随着机械应力牵引, BMP-2 在各骨缝表达量逐渐上升, 在牵引 15 d 阳性表达最强, 以后逐渐下降, 到去固定 1 个月时表达水平接近正常。 **结论:** 机械牵张力刺激可以导致内源性 BMP-2 产生, BMP-2 可能在缝牵引新骨生成过程中扮演重要的角色。

[关键词] 骨形成蛋白 2; 面中份; 缝牵引成骨术; 免疫组织化学

[中图分类号] R 681.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)12-1356-05

Expression of bone morphogenetic protein-2 during midfacial sutural distraction osteogenesis in dogs

JIN Zeng-qiang¹, LIU Chang-fa², MA Xiao¹, LIU Chun-ming^{1*} (1. Department of Stomatology, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China; 2. Zhengzhou Railway Occupational and Technological Institute, Zhengzhou 450052)

[ABSTRACT] **Objective:** To study the expression of bone morphogenetic protein (BMP)-2 during midfacial sutural distraction osteogenesis in dogs and to probe the mechanism of sutural distraction osteogenesis. **Methods:** Eighteen mongrel dogs (12-week old) were randomly divided into distraction osteogenesis group ($n=12$) and the control group ($n=6$). Rigid external distractor was used for sutural distraction of the midfacial skeleton in the experimental animals. Two experimental and one control dogs were sacrificed at defined time points (on the 5th, 10th and 15th day of distraction, the 10th and 20th day of fixation, and 30th day after completion of fixation). The expression of BMP-2 was observed by means of immunohistochemistry. **Results:** During the period of distraction and fixation, positive staining of BMP-2 was found in the proliferated preosteoblasts, the mesenchymal cells and the newly formed bone matrix at the sutural margin of the experimental dogs; weak expression was also noticed in the control dogs. Compared with that in the control group, the expression of BMP-2 in the experimental group increased and reached the peak on the 15th of distraction, then gradually decreased. the expression of BMP-2 nearly restored to the normal level 1 month after the removal of the distractor. **Conclusion:** The mechanical strain can lead to the generation of endogenous BMP-2, which may play an important role in the new bone formation.

[KEY WORDS] bone morphogenetic protein-2; midface; suture distraction osteogenesis; immunohistochemistry

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(12):1364-1368]

缝牵引成骨术(sutural distraction osteogenesis, SDO)是用外力牵引正在生长中的骨缝诱导缝区新骨形成,同时改变骨骼位置的生物过程。目前临床已经开始应用 SDO 技术来矫正颅颌面发育畸形,如面中份发育不全、腭裂、颅缝早闭等疾病,但 SDO 的成骨机制仍未清楚。近年来,大量的研究已证实多种生长因子与缝成骨作用密切相关,其中包括骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)-2、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 以及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)。本实验在结合临床治疗面中份发育不全的基础上,观察犬的牵引期、固定期以及去固定期 BMP-2 在多个

骨缝中表达水平的变化,拟探讨上颌骨改建的作用机制,为合理选用促进上颌骨生长,缩短临床矫治时间的方法提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 动物分组与模型建立 选取 12 周龄健康杂种犬 18 只(由解放军总医院动物实验室提供),牙列整齐无缺牙,体质量 2.5~2.7 kg。实验组 12 只,随机分为牵引 5、10、15 d,固定 10、20 d 与去固定 1 个月 6 组,每组各 2 只,用外牵引装置进行前牵引,后 3

[基金项目] 北京市自然科学基金(7072075). Supported by National Science Foundation of Beijing(7072075).

[作者简介] 金增强,博士,主治医师. E-mail: Liuchm@yahoo.com

组均牵引满 15 d。对照组 6 只, 未配戴牵引器。所有动物均以标准犬饲料进行喂养。外置前牵引装置(图 1)由首钢集团华禹铸造厂精密仪器加工车间与本课题组共同研制, 材料为铝合金, 由牵引架与可调性垂直牵引杆两部分组成。实验犬面部用克氏针穿过双侧上颌骨与鼻腔, 弹力橡皮筋(由解放军总医院口腔正畸科提供)连接克氏针与牵引杆, 对面部进行持续前牵引(图 2)。



图 1 外置牵引器

Fig 1 Rigid external distractor



图 2 犬面中份缝牵引模型

Fig 2 Model of midfacial sutural distraction in dogs

1.2 手术方法 实验组犬术晨禁食、禁水, 肌注速眠新 0.10~0.15 mg/kg(解放军军事科学医学院动物所提供)进行全麻。0.15% 普鲁卡因加 1:100 000 肾上腺素双侧眶下区行局部浸润麻醉, 距眶下缘 1 cm 处切开眶下皮肤, 暴露眶下区与上颌骨鼻腔侧骨面。用手摇骨钻将克氏针经切口、鼻腔穿透双侧上颌骨后, 钳除多余的克氏针部分(双侧骨外各留 3 cm), 克氏针平面要求与地面平行, 垂直面距眶前壁距离基本相同(距离约 1.0 cm), 伤口清洗后给予缝合。用碘酊消毒犬头部两侧皮肤, 固定螺钉穿过皮肤及皮下组织, 将牵引架固定在犬头部两侧的枕骨、颞骨、额骨, 使牵引架与水平面成 45°; 调节牵引架前端牵引杆的位置, 保持牵引方向与腭平面相平; 弹性橡皮筋连接牵引杆与克氏针进行牵引(图 2), 测力器测量其力值为 800 g。牵引完毕后,

去除弹性橡皮筋, 改用金属结扎丝连接牵引杆与克氏针进行固定。牵引前磨除犬下颌乳尖牙牙冠并进行根管治疗, 调磨已萌出的下颌磨牙, 以减少牵引时的牙合干扰。术后常规肌注抗生素 3 d(青霉素 15~30 mg/kg), 术后每日局部乙醇消毒。

1.3 标本获取与处理 牵引 5、10、15 d, 固定 10、20 d, 去固定 1 个月分别处死实验犬 2 只与对照犬 1 只, 取颅面部并去除皮肤与软组织, 放入 10% 甲醛溶液中固定 24 h, 移入 10% EDTA 溶液中脱钙, 每 3 d 更换 1 次脱钙液, 2 周左右待骨皮质变软后, 取双侧腭横缝、额颌缝、颧颌缝、颧颞缝、翼上颌缝、冠状缝组织放入脱钙液中继续脱钙, 待到针尖可轻易刺穿骨皮质, 则中止脱钙。组织盒盛装标本, 自来水 24 h 漂洗, 梯度乙醇脱水, 氯仿透明, 逐级浸蜡, 常规石蜡包埋, 尽量使骨缝外表面平行并紧贴石蜡底面。做 3 μ m 厚连续切片, 摊片后 60℃ 烤箱中烤片 4~6 h, 二甲苯充分脱蜡, 梯度乙醇脱水。

1.4 BMP-2 免疫组织化学染色 BMP-2 多克隆抗体(一抗), SP 试剂盒, DAB 显色试剂盒均购自武汉博士德生物制品有限公司。按说明书进行操作, 一抗稀释度为 1:100, 苏木精复染, 盐酸乙醇分化, 氨水反蓝, 梯度乙醇脱水, 中性树脂胶封片, 晾干。实验用 PBS 代替一抗做为阴性对照, 以棕色颗粒代表阳性信号。

1.5 图像分析 采用 HPIAS1000 高清晰度彩色病理图文报告分析系统进行图像分析, 在切片图像输入时保持各参数不变, 在处理图像中保持处理技术与参数一致, 每侧骨缝组织切取 5 张切片, 每张切片随机选 3 个视野, 测定每个视野中阳性染色细胞的灰度值, 同时每张切片均测量其背景灰度及阴性细胞灰度, 用以消除切片间的误差。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计学软件包对数据进行方差分析比较, 如果组间差异有显著性, 再进行最小显著差法的两两比较检验。

2 结果

2.1 大体观察 所有动物均能良好耐受手术及牵引过程, 进食良好, 体质量无下降, 术后伤口无感染, 无明显并发症, 动物未出现死亡。犬面中份骨在牵引结束时可见骨骼明显前移, 下切牙咬在上切牙腭侧黏膜上, 形成重度覆盖。

2.2 免疫组化检测结果 BMP-2 在实验犬各骨缝的阳性表达除去固定 1 个月时与对照组无显著差异外, 其余各期各骨缝 BMP-2 的阳性表达均高于对照犬($P < 0.01$)。各骨缝 BMP-2 的表达时相基本相

同;随着牵引时间的延长,BMP-2 的表达水平逐渐上升,牵引 15 d 时达到高峰,呈强阳性表达。固定期其表达逐渐下降,去固定 1 个月时基本消失(表 1)。比较各骨缝 BMP-2 的表达强度变化发现:受牵引后腭横缝、翼上颌缝中 BMP-2 的表达上升最为明显,在牵引 15 d 时高于其他骨缝中 BMP-2 的表达;颧颞缝与冠状缝中 BMP-2 在牵引 15 d 的表达较以

上两缝弱;额颌缝、颧颌缝的表达在牵引期表达最弱。在牵引期 BMP-2 在各骨缝的表达强度为:腭横缝>翼上颌缝>颧颞缝>冠状缝>额颌缝>颧颌缝($P<0.05$)。在固定期 BMP-2 在各骨缝的表达强度为:颧颌缝>额颌缝>冠状缝>颧颞缝>腭横缝>翼上颌缝($P<0.05$)。

表 1 2 组犬各骨缝 BMP-2 阳性细胞灰度值
Tab 1 Gray level of BMP-2 positive cells in sutures of dogs in 2 groups

Group	n	Palatal suture	Pterygomaxillary suture	Frontomaxillary suture	Zygomatico-maxillary suture	Zygomatico-temporal suture	Coronal suture
($\bar{x} \pm s$)							
Distraction 5 d							
Experimental	60	121.27±7.07	129.46±10.89	149.89±9.992	152.70±5.47	133.85±7.96	137.27±7.08
Control	30	204.02±6.28	197.61±11.07	18.57±7.42	189.90±9.79	214.60±6.61	209.01±4.45
Distraction 10 d							
Experimental	60	106.55±6.80	113.99±6.76	131.27±11.39	145.64±7.08	116.90±8.25	118.96±11.78
Control	30	193.48±3.24	184.15±6.53	207.48±3.67	178.65±4.57	195.88±5.19	206.15±6.33
Distraction 15 d							
Experimental	60	97.68±9.53	98.41±5.33	115.25±4.89	129.44±8.97	100.13±5.01	105.28±7.60
Control	30	186.43±7.47	183.98±8.28	205.72±7.25	174.77±3.87	190.69±5.33	193.28±6.50
Consolidation 10 d							
Experimental	60	136.49±2.79	138.92±5.32	131.87±5.10	120.39±9.77	146.56±10.09	140.04±7.77
Control	30	172.18±4.14	180.80±11.49	197.65±4.23	171.03±7.35	186.00±5.76	183.65±7.60
Consolidation 20 d							
Experimental	60	159.83±5.01	160.26±8.99	142.17±8.21	139.95±2.96	156.78±7.16	150.88±6.60
Control	30	169.87±6.52	179.88±3.83	192.23±1.68	167.64±5.39	177.37±5.41	172.30±6.57
Completion of consolidation one month							
Experimental	60	162.64±3.71	175.02±3.79	170.88±3.40	160.17±6.22	160.92±3.86	160.35±5.54
Control	30	166.76±7.92	175.23±4.02	173.24±6.70	162.45±5.97	163.54±4.36	166.80±4.15

Expression of BMP-2 in suture was significantly higher in the experimental group than in the control group at all time points except for one month after fixation($P<0.01$). Meanwhile, significant difference was observed in BMP-2 expression between different time points($P<0.05$)

BMP-2 在实验犬各骨缝各期的表达以腭横缝为例进行说明。

阴性对照组骨缝细胞内未见呈棕色颗粒的 BMP-2 的表达(图 3A)。

牵引 5 d,骨缝边缘可见增生的、体积变大的成骨样细胞,骨缝牵开区可见增生活跃的间充质细胞、成纤维细胞;胶原纤维沿牵引力的方向排列,少量纤维组织水肿、空泡样变性;血管数量增多,明显扩张;BMP-2 在部分成骨样细胞、成纤维细胞、间充质细胞内呈弱阳性表达(图 3B)。

牵引 10 d,靠近骨缝边缘的部分胶原纤维束受应力的牵拉发生部分断裂,成骨样细胞、成纤维细胞、间充质细胞体积变大,阳性表达强度较牵引 5 d 时有所增强(图 3C)。

牵引 15 d,大量纤维和细胞增生,并可出现大量

的间充质细胞和成骨细胞相互混杂在一起,部分缝边缘地区可见数目不等的破骨细胞,BMP-2 在骨缝边缘增生的成骨样细胞、骨缝成纤维细胞、间充质细胞内均为强阳性表达(图 3D)。

固定 10 d,骨缝内除少量成纤维细胞、间充质细胞未表达 BMP-2,大部分成骨样细胞、成纤维细胞、间充质细胞内均可见 BMP-2 阳性表达;骨缝内有大量新生的血管,成纤维细胞丰富,沿着骨缝缘的骨沉积持续活跃进行,可见密集的成骨细胞和显著的新骨基质形成(图 3E、图 3F)。

固定 20 d,BMP-2 染色较固定 10 d 有所减弱,骨缝边缘有明显的骨改建征象,出现骨息止线,缝纤维密,多数成纤维细胞变成梭形,小血管多(图 3G)。

去固定 1 个月,BMP-2 在骨缝的表达与正常对照组基本一致(图 3H)。

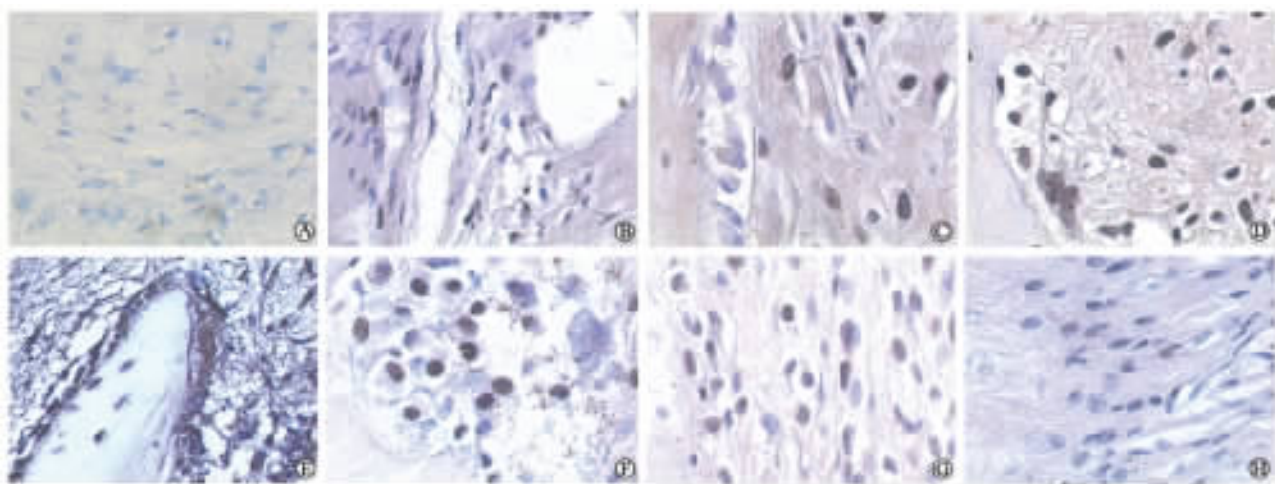


图 3 BMP-2 在实验犬腭横缝的表达

Fig 3 Expression of BMP-2 in palatal suture of dogs (Immunohistochemistry, $\times 400$)

A: The negative control; B: The expression of BMP-2 on the 5th day of distraction; C: The expression of BMP-2 on the 10th day of distraction; D: The expression of BMP-2 on the 15th day of distraction; E: The expression of BMP-2 on trabecular bone on the 10th day of fixation; F: The expression of BMP-2 on the 10th day of consolidation; G: The expression of BMP-2 on the 20th day of fixation; H: The expression of BMP-2 one month after removal of distractor

3 讨论

面中份缝牵引成骨术是利用机械牵引力牵张处于生长发育期的上颌骨骨缝,刺激骨缝成骨,使面中份骨前移,从而矫正青少年的面中部发育不全^[1-2]。该手术主要包括牵引期与固定期两个阶段,其中牵引期是成骨的关键时期,也是细胞将机械力信号转化为生物学信号导致一系列细胞分化和增殖的重要阶段。虽然它的分子生物学机制尚不清楚,但某些骨生长因子可能对这个过程起重要调控作用。

目前认为,骨修复与骨形成的关键是细胞活化和成骨信号的释放,而 BMP 正是使间充质细胞向骨细胞分化的最初的信号分子。BMPs 作为 TGF- β 超家族的成员,具有诱导未分化间充质细胞向软骨细胞和成骨细胞的分化进而形成新骨的能力,在骨修复过程中发挥着重要作用。随着分子生物学的发展和基因工程技术的运用,至今发现其成份不少于 13 种,分别为 BMP-1~13,在其家族中 BMP-2 的诱导成骨作用最为重要^[3-4],所以本实验以 BMP-2 为研究对象,观察其在面中份缝牵引成骨过程中的作用。

在实验中我们发现 BMP-2 在正常生长发育期对照犬的骨缝中有一定的弱表达,说明它对骨缝的正常发育起着很重要的作用。骨缝中处于正常发育期的成骨细胞有产生少量 BMP-2,这些因子可与骨缝中的未分化间充质细胞表面的 BMP-2 受体相结合,刺激间充质细胞分化为软骨与成骨细胞,而这些软骨与成骨细胞又可以分泌 BMP-2 来刺激间充质细胞的分化,这样就形成一个正反馈,大量 BMP-2 在发育期骨

缝中形成,参与到新骨形成与改进过程中,在这个过程中许多生长因子、激素等因素相互作用,防止出现骨缝发育异常。有研究证实,不表达 BMP-2 的间充质细胞不具有分化的能力,但若对这种细胞加入外源性的重组 BMP-2 或将 BMP-2 导入这种细胞后,可促进其分化,诱导膜内成骨与软骨内成骨^[5]。

本实验发现缝牵引成骨与传统的牵引成骨方式有着明显不同之处,传统的牵引成骨是软骨成骨与膜内成骨相结合,而本实验通过观察各骨缝成骨情况,发现在实验犬的整个牵引与固定期各骨缝内均未见软骨细胞和软骨成骨的现象,其成骨方式是典型的膜内成骨,另外发现随着牵引力的增加,除靠近骨缝边缘的成骨细胞大量增生、个体变大成立方形外,骨缝中成纤维细胞也大量增生,其胞质内 BMP-2 强阳性表达,胶原纤维数量增加,故可认为缝牵引成骨除存在膜内成骨外,还存在着纤维化骨的现象,这与 Opperman^[6]与邹敏等^[7]的研究结果基本一致。

许多研究证实应力刺激可以增强 BMP-2 的表达,牵引产生的张应力是促进生长因子表达以及成骨的主要因素。邹淑娟等^[8]使用自行研制的牵张器牵引生长期山羊颅骨冠状缝,发现牵引组在缝牵张结束的第 0 周和第 2 周,骨缝组织内间充质样细胞与成骨细胞中可见 BMP 强阳性表达,位于骨基质中的骨细胞也有少量表达;在缝牵张结束第 4 周, BMP 和表达减弱,阳性信号仍分布于骨缝边缘新生骨小梁周围的成骨细胞中。邹敏等^[7]对兔前颌缝进行牵张发现,随持续牵引时间增长,骨缝中 BMP 表达增加,成骨活动增强,认为牵引力能增加骨生长因子表

达,调节骨的形成。本实验发现:在牵引期,随着牵引时间的延长,BMP-2在各骨缝间充质细胞、成骨细胞内的表达逐渐增强,在牵引末达到最高,在固定期开始逐渐下降,到去固定1个月时降低到弱水平,与正常对照差异无统计意义,这说明骨缝新骨的形成与应力刺激有明显的相关性。在牵引期,当牵张力作用于骨缝组织时,力可传导至骨缝内的成骨细胞,激活成骨细胞产生大量BMP-2的能力,最终导致间充质细胞的分化成骨;在固定期由于牵引力的减弱,BMP-2逐渐减少,骨缝边缘成骨细胞形成大量新生骨质,少数成骨细胞遂被包埋于其中形成骨细胞,所以在固定期可以看到靠近骨缝边缘、骨小梁边缘的骨细胞内有BMP-2的表达。有的学者认为,牵引力不是造成BMP-2高表达的唯一因素,还有其他因素的综合作用。周诺等^[9]研究BMP-2在牵引成骨中的表达,发现在缓慢牵引的过程中牵引区的组织不仅受到牵引力的作用,还产生了微细的创伤如血管结构、基质结构的破坏等,从而促进了牵引区BMP-2的持续高表达,认为牵引成骨不是单一牵引力作用的结果,有可能还涉及到创伤等因素综合作用的结果。本实验发现在缝牵引成骨的牵引期,骨缝内出现了由创伤造成的血管出血、增生,纤维断裂等现象,增生的血管为牵开区大量新骨形成提供营养血管网,同时促进间充质细胞、成纤维细胞、成骨细胞的增殖以及促进胶原纤维的合成,为牵开区形成稳定的基质支架。故可认为面中份缝牵引成骨同样是牵引力与创伤等综合因素的结果。

牵引期与固定期BMP-2在各骨缝中表达的情况有所不同,其中牵引期腭横缝、翼上颌缝、冠状缝、颧颞缝的表达较额颌缝、颧颌缝的表达高,固定期颧颌缝、额颌缝中BMP-2的表达又较其他骨缝表达高。可以认为各骨缝受到牵引后成骨时相有所不同,腭横缝、翼上颌缝、冠状缝、颧颞缝的骨改建要较额颌缝、颧颌缝早。其原因可能是腭横缝与冠状缝是水平骨缝,翼上颌缝与颧颞缝基本是垂直骨缝,它们骨缝的生长方式基本与牵引力的方向一致,故它们对牵引力的敏感性强;而额颌缝、颧颌缝是斜形骨缝,其骨缝生长方式与牵引力的方向有一定角度,另外颧颌缝接触面积又较大,与上面四种骨缝相比对牵引力的敏感性要弱一些;由于各骨缝对牵引力敏感性的不同可能是造成BMP-2在各骨缝中表达不同的原因。

目前,在临床上用缝牵引成骨治疗面中部发育不全过程中存在着治疗时间长、术后容易复发等问题。由本实验可以看出,BMP-2在缝成骨方面起着重要作用,是否可以在缝牵引过程中加入外源性的BMP-2

来加速新骨的形成,从而缩短治疗时间、降低术后复发率,这将是以后一个重要的研究方向。沈庆冉等^[10]利用MSCs的成骨潜能及骨缝牵张期能产生BMP的原理,将MSCs注入牵张开的羊颅骨缝中,发现骨缝周围的成骨能力、新骨生成数量有明显增加,骨小梁更为成熟。据此认为通过局部细胞注射,可加快缝牵张期边缘骨的沉积,促进缝两侧骨质向中间生长,从而缩短牵张和固定时间。周志迎等^[11]将基因重组人骨形成蛋白-2与胶原膜复合后覆盖于受扩张力作用下的顶骨矢状缝上方,可以增强受扩张力作用后顶骨矢状缝组织的成骨作用,在一定程度上降低扩张后的复发率,表明在牵引成骨过程中的固定早期局部应用外源性BMP可促进新骨的生成。

综上所述,在缝牵引成骨矫正面中部发育不全过程中,外部的牵张力与内部的创伤导致上颌复合体各骨缝内BMP-2的表达增强,这反映了BMP-2在上颌骨缝的改建中起着重要作用,研究它在犬牵引过程中各个骨缝中的表达情况,对于临床如何更好地开展这门技术具有重要的指导意义。

[参考文献]

- [1] Liu C, Hou M, Liang L, et al. Sutural distraction osteogenesis (SDO) versus osteotomy distraction osteogenesis (ODO) for midfacial advancement: a new technique and primary clinical report[J]. *Craniofac Surg*, 2005, 16: 537-548.
- [2] Wan D, Aalami O, Wang Z, et al. Differential gene expression between juvenile and adult dura mater: a window into what genes play a role in the regeneration of membranous bone[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 118: 851-861.
- [3] Manolagas S C. Birth and death of bone cells basic regulatory mechanisms and implication for the pathogenesis and treatment of osteoporosis [J]. *Endor Rev*, 2000, 21: 1151-137.
- [4] Rauch F, Lauzier S, Croteau R, et al. Temporal and spatial expression of bone morphogenetic protein-2, -4 and -7 during distraction osteogenesis in rabbits[J]. *Bone*, 2000, 27: 4532-4539.
- [5] 祝为桥, 王兴. 生长因子与牵引成骨研究进展[J]. *口腔颌面外科杂志*, 2003, 13: 235.
- [6] Opperman L A. Cranial suture as intramembranous bone growth sites[J]. *Develop Dynamics*, 2000, 219: 472-485.
- [7] 邹敏, 周洪, 文星. TGF和BMP在兔上颌缝牵张成骨中的表达[J]. *实用口腔医学杂志*, 2006, 22: 357-360.
- [8] 邹淑娟, 周海孝, 陈扬熙, 等. 生长期山羊颅骨缝受牵张力作用后超微结构与免疫组化观察[J]. *实用口腔医学杂志*, 2006, 22: 175-178.
- [9] 周诺, 麦华明, 梁飞新, 等. BMP-2、bFGF在牵引成骨中的表达及意义[J]. *口腔医学研究*, 2004, 20: 465-468.
- [10] 沈庆冉, 邹淑娟, 陈扬熙, 等. 骨髓间充质干细胞移植对山羊颅骨缝牵张成骨的影响[J]. *华西口腔医学杂志*, 2006, 24: 153-155.
- [11] 周志迎, 赖仁发, 肖琚, 等. 基因重组人骨形成蛋白-2胶原膜复合物防止大鼠矢状缝扩张后复发的作用[J]. *广东牙病防治*, 2004, 12: 163-165.

[收稿日期] 2007-05-25

[修回日期] 2007-10-28

[本文编辑] 曹静