

DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20210474

• 短篇论著 •

低能量激光调控大鼠正畸保持期骨改建因子的表达

冉宇婷¹, 于文雯², 董晓曦³, 韩开放⁴, 常笑⁴, 张锡忠^{2,4*}

1. 天津市口腔医院儿童口腔科, 天津 300041
2. 天津市口腔医院正畸科, 天津 300041
3. 中国医学科学院生物医学工程研究所激光医学实验室, 天津 300192
4. 南开大学医学院, 天津 300071

[摘要] **目的** 探究低能量激光对大鼠牙齿移动后保持期骨改建因子的影响。**方法** 80只Wistar大鼠随机分为空白对照组和4个模型组(复发组、保持组、保持+激光组、复发+激光组),每组16只。空白对照组不进行主动加力,不施加任何措施。其余4组制作第一磨牙近中移动模型,在21d主动加力结束后拆除口内装置;然后,复发组不安装保持装置,保持组安装保持装置,保持+激光组安装保持装置并隔日照射低能量激光,复发+激光组不施加保持装置但隔日照射低能量激光。在主动加力21d后进入保持期的第2、5、10、15天处死大鼠,提取大鼠第一磨牙周围2mm组织的总RNA,采用qPCR法检测Runt相关转录因子2(*Runx2*)、碱性磷酸酶(*ALP*)、I型胶原蛋白(*COL I*)、活化T细胞核因子(*NFATc*)、组织蛋白酶K(*CTSK*)、基质金属蛋白酶9(*MMP9*)等6个骨改建因子的mRNA表达。**结果** 4个模型组大鼠的6个骨改建因子的mRNA表达均较空白对照组呈升高趋势,在大部分时间点差异有统计学意义($P < 0.05$)。复发组的6个骨改建因子的mRNA表达较保持组呈升高趋势,在各时间点差异均有统计学意义($P < 0.01$)。随着时间延长,保持+激光组6个骨改建因子的mRNA表达较保持组升高,从第5天开始差异均有统计学意义($P < 0.05$),第10天差异最为明显。复发+激光组除*MMP9*外的5个骨改建因子的mRNA表达在大部分时间点均较复发组升高($P < 0.05$)。**结论** 在大鼠第一磨牙的固定保持过程中,低能量激光的干预增加了骨组织改建因子的表达,加速了牙槽骨的改建。

[关键词] 正畸;保持;骨改建因子;低能量激光;复发

[中图分类号] R 783.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-1338(2022)08-0963-06

Low-level laser regulates the expression of bone remodeling factors during orthodontic retention in rats

RAN Yu-ting¹, YU Wen-wen², DONG Xiao-xi³, HAN Kai-fang⁴, CHANG Xiao⁴, ZHANG Xi-zhong^{2,4*}

1. Department of Pediatric Stomatology, Tianjin Stomatological Hospital, Tianjin 300041, China
2. Department of Orthodontics, Tianjin Stomatological Hospital, Tianjin 300041, China
3. Laser Medical Laboratory, Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China
4. School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of low-level laser on periodontal bone remodeling factors during orthodontic retention after tooth movement in rats. **Methods** A total of 80 Wistar rats were randomly divided into blank control group and 4 model groups (relapse group, retention group, retention+laser group, and relapse+laser group), with 16 rats in each group. In the blank control group, no active force was applied and no measures were taken. The first molar mesial movement model was constructed in the other 4 groups, and the intraoral device was removed after 21 d of active force application. The relapse group was equipped without retention device, the retention group was equipped with retention device, the retention+laser group was equipped with retention device and irradiated with low-level laser every other day, and the relapse+laser group was equipped without retention device but irradiated with low-level laser every other day. The rats were sacrificed on the 2nd, 5th, 10th and 15th day of the retention period after 21 d of active force application, and the total RNA of 2-mm tissues around the first molar was extracted. The mRNA expression of bone remodeling factors (Runt-related transcription factor 2 [*Runx2*], alkaline phosphatase [*ALP*], type I collagen [*COL I*], nuclear factor of activated T cell [*NFATc*], cathepsin K [*CTSK*], and matrix metalloproteinase 9 [*MMP9*]) were detected by quantitative polymerase chain

[收稿日期] 2021-05-06 **[接受日期]** 2022-01-06

[基金项目] 天津市卫生健康委员会科技项目(ZC0001),天津市重点培育专科(津卫科教[2018]268号). Supported by Science and Technology Project of Tianjin Health Commission (ZC0001), Tianjin Key Cultivation Specialty (Jinweikejiao[2018]268).

[作者简介] 冉宇婷, 硕士, 住院医师. E-mail: 1056313154@qq.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 022-59080546, E-mail: zhangxizhong9999@hotmail.com

reaction (qPCR). **Results** The mRNA expression of the 6 bone remodeling factors in the 4 model groups was higher than that in the blank control group, and the differences were statistically significant at most time points (all $P < 0.05$); the mRNA expression of the 6 bone remodeling factors in the relapse group was significantly higher than that in the retention group at each time point (all $P < 0.01$). As time went on, the mRNA expression of 6 bone remodeling factors in the retention+laser group was higher than that in the retention group, and the difference was significant from the 5th day (all $P < 0.05$) and peaked on the 10th day. Except for the *MMP9*, the mRNA expression of the other 5 bone remodeling factors in the relapse+laser group was higher than that in the relapse group at most time points (all $P < 0.05$). **Conclusion** In the retention process of the first molar in rats, the low-level laser can increase the expression of bone remodeling factors and accelerate the remodeling of alveolar bone.

[**Key words**] orthodontics; retention; bone remodeling factors; low-level laser; recurrence

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(8): 963-968]

美观、平衡、稳定一直是口腔正畸矫治的三大目标, 诸多学者致力于正畸的美观与平衡, 而稳定目标多在正畸后的保持期中实现, 并常被忽略。正畸患者多为青少年, 保持期的稳定与患者依从性、剩余发育量、正畸牙周围骨改建进程等因素有关, 其中骨改建对保持阶段至关重要。如何在正畸治疗结束后促进骨改建进程、缩短保持期、降低错殆畸形复发率是国内外学者广泛关注的课题。

近年来, 学者们开展了很多关于物理与化学药物干预牙周组织改建的研究, 但化学药物疗法会引起广泛和不良的全身反应, 因而具有良好穿透性与生物安全性的物理激光疗法一直备受关注, 并已广泛应用于口腔医学各个领域。研究表明, 低能量激光 (low-level laser, LLL) 能够加速牙齿移动^[1-2], 加速牙周纤维的改建并增加胶原纤维的沉积^[3], 促进成骨细胞的增殖分化和压力侧破骨细胞的形成^[4-5]。在前期研究中, 我们发现 LLL 可显著缩短大鼠牙齿移动模型保持期的时间, 促进稳定^[6], 但具体的骨改建机制仍不清楚。本研究拟通过建立大鼠牙齿移动后保持模型并进行 LLL 干预, 检测不同时间点骨改建因子的变化, 探究 LLL 对大鼠牙齿移动后保持期骨改建因子的影响, 进一步为临床研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物 选取 80 只 8 周龄雄性健康 Wistar 大鼠, 体重 280~300 g, SPF 级 [北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2019-0010]。

1.2 实验材料 镍钛拉簧 (深圳速航科技发展有限公司); 正畸用弹簧测力计 (杭州新亚齿科材料有限公司); 二极管激光器 (中国医学科学院

物理放射研究所); RaPure 微量组织细胞 RNA 提取试剂盒 (美国 Magen 公司); TaKaRa RR037A 反转录试剂盒 (日本 TaKaRa 公司); TB Green Real Time PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司); Eppendorf 5417c 离心机 (德国 Eppendorf 公司); LightCycler480 实时荧光定量 PCR 仪 (瑞士 Roche 公司)。

1.3 建立大鼠第一磨牙近中移动模型 参照 King 等^[7]的方法建立大鼠第一磨牙近中移动模型, 步骤如下: 用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠, 仰卧位固定, 用直径 0.2 mm 的结扎丝将镍钛拉簧固定于右侧上颌第一磨牙牙颈部, 另一端用直径 0.25 mm 的结扎丝结扎于右侧上颌切牙, 用测力计测量使第一磨牙近中移动的拉力为 0.49 N, 最后用化学固化树脂在右侧上颌切牙上进行固定。主动加力时间为 21 d, 每 7 d 进行一次主动加力, 加力后每天检查加力装置是否脱落, 如有脱落重新安装。

1.4 实验分组与处理 将 80 只 Wistar 大鼠随机分为空白对照组和 4 个第一磨牙近中移动模型组 (复发组、保持组、保持+激光组、复发+激光组), 每组 16 只。(1) 空白对照组: 不进行主动加力, 不施加任何措施。(2) 复发组: 21 d 主动加力结束后拆除口内装置, 不施加保持措施。(3) 保持组: 21 d 主动加力结束后拆除口内装置, 用直径 0.25 mm 的结扎丝于大鼠切牙与第一磨牙间拧成麻花状, 固定第一磨牙的位置作为保持装置。定期检查是否脱落, 发现装置脱落及时安装。(4) 保持+激光组: 21 d 主动加力结束后拆除口内装置, 用直径 0.25 mm 的结扎丝于大鼠切牙与第一磨牙间拧成麻花状, 固定第一磨牙的位置作为保持装置, 并在去除加力装置后的隔日照射 LLL。(5) 复发+激光组: 21 d 主动加力结束后拆除口

内装置,不施加保持措施,并在去除加力装置后的隔日照射LLL。

1.5 激光照射参数与照射方法 应用中国医学科学院生物工程研究所提供的波长808 nm、功率100 mW的二极管激光器进行隔日照射。照射位置为右侧上颌第一磨牙颊侧与腭侧龈缘下平行于牙根中部的

2个位点,照射时间为每个位点7 s,照射光斑直径为2 mm,能量密度为23 J/cm²。

1.6 qPCR检测骨改建因子的表达

1.6.1 引物设计 从美国国立生物技术信息中心数据库查询大鼠的基因序列,由日本TaKaRa公司合成设计引物序列(表1)。

表1 引物序列

基因名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
β -actin	GGCGGCACCACCATGTACCCT	AGGGGCCGGACTCGTCATACT
<i>Runx2</i>	TGTGAAGACCGTTATGGTCAAAGTG	ATGGCCGGGAATGATGAG
<i>ALP</i>	AAATGCCCTGAAACTCCAAA	ATCTCCAGCCGTGTCTCCTC
<i>COL I</i>	AGAATATGTATCACCAGACGCAGAA	GACCACGAGGACCAGAAGGA
<i>NFATc</i>	CATGCAGGAATTGCCGAGAC	CTCCAATGTGCTGAATAGGAGTG
<i>CTSK</i>	TTTGCCGTGGCGTTATACATACA	CGGCTATATGACCACTGCCTTC
<i>MMP9</i>	TGGAAACTCACACGCCAGAAG	AGCCGGAACGTATCTGGA

β -actin: β -肌动蛋白;Runx2: Runt相关转录因子2;ALP:碱性磷酸酶;COL I: I型胶原蛋白;NFATc:活化T细胞核因子;CTSK:组织蛋白酶K;MMP9:基质金属蛋白酶9。

1.6.2 总RNA的提取 主动加力21 d后大鼠进入保持期,在第2、5、10、15天处死大鼠,切取第一磨牙周围2 mm的牙周组织块。将组织放入研钵中,倒入液氮,研磨至均一状,待液氮挥发后转移至1.5 mL EP管中。按RaPure微量组织细胞RNA提取试剂盒的操作步骤进行总RNA提取。用分光光度计测定260 nm和280 nm下的光密度值,判断总体RNA的浓度和纯度。选取浓度和纯度良好的RNA,最终选取的RNA浓度范围为683.55~931.37 ng/ μ L,纯度范围为1.93~2.11,并显示无盐与有机溶剂的残留。

1.6.3 cDNA合成与骨改建因子表达量检测 用TaKaRa RR037A反转录试剂盒将高质量的RNA在70 μ L反应体系的PCR仪上进行cDNA合成。用2 μ L反应产物作为模板在LightCycler 480实时荧光定量PCR仪中进行两步法PCR。PCR反应条件:预变性95 $^{\circ}$ C 30 s;变性95 $^{\circ}$ C 5 s、退火和延伸60 $^{\circ}$ C 1 min,循环40次。以 β -actin为内参基因,采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算骨改建因子Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, *Runx2*)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, *ALP*)、I型胶原蛋白(type I collagen, *COL I*)、活化T细胞核因子(nuclear factor-activated T cell, *NFATc*)、组织蛋白酶K(cathepsin K, *CTSK*)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, *MMP9*)的相对表达量。

1.7 统计学处理 应用SPSS 19.0软件对数据进行统计学分析。本实验为随机样本,骨改建因子的相对表达量数据符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验。检验水准(α)为0.05。

2 结果

qPCR检测结果如图1所示。在保持期的4个检测时间点,4个模型组的骨改建因子*Runx2*、*ALP*的mRNA表达均较空白对照组升高,差异均有统计学意义(P 均<0.05)。

保持组骨改建因子*COL I* mRNA除保持期第10天的表达与空白对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)外,其余时间点*COL I* mRNA的表达均较空白对照组升高,差异均有统计学意义(P 均<0.05);其他模型组*COL I* mRNA在保持期4个检测时间点的表达均较空白对照组升高,差异均有统计学意义(P 均<0.05)。保持组骨改建因子*NFATc* mRNA除保持期第2、10天的表达与空白对照组比较差异无统计学意义(P 均>0.05)外,其余时间点*NFATc* mRNA的表达均较空白对照组升高,差异均有统计学意义(P 均<0.01);其他模型组*NFATc* mRNA在保持期4个检测时间点的表达均较空白对照组升高,差异均有统计学意义(P 均<0.05)。保持组骨改建因子*CTSK* mRNA除保持期第2、5天的表达与空白对照组比较差异无统计学意义(P 均>0.05)外,其余

时间点 *CTSK* mRNA 的表达均较空白对照组升高, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05); 其他模型组 *CTSK* mRNA 在保持期 4 个检测时间点的表达均较空白对照组升高, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05)。保持组和保持+激光组骨改建因子 *MMP9* mRNA 除保持期第 2 天的表达与空

白对照组比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05) 外, 其余时间点这两组 *MMP9* mRNA 的表达均较空白对照组升高, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05); 复发组和复发+激光组在保持期 4 个检测时间点 *MMP9* mRNA 的表达均较空白对照组升高, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05)。

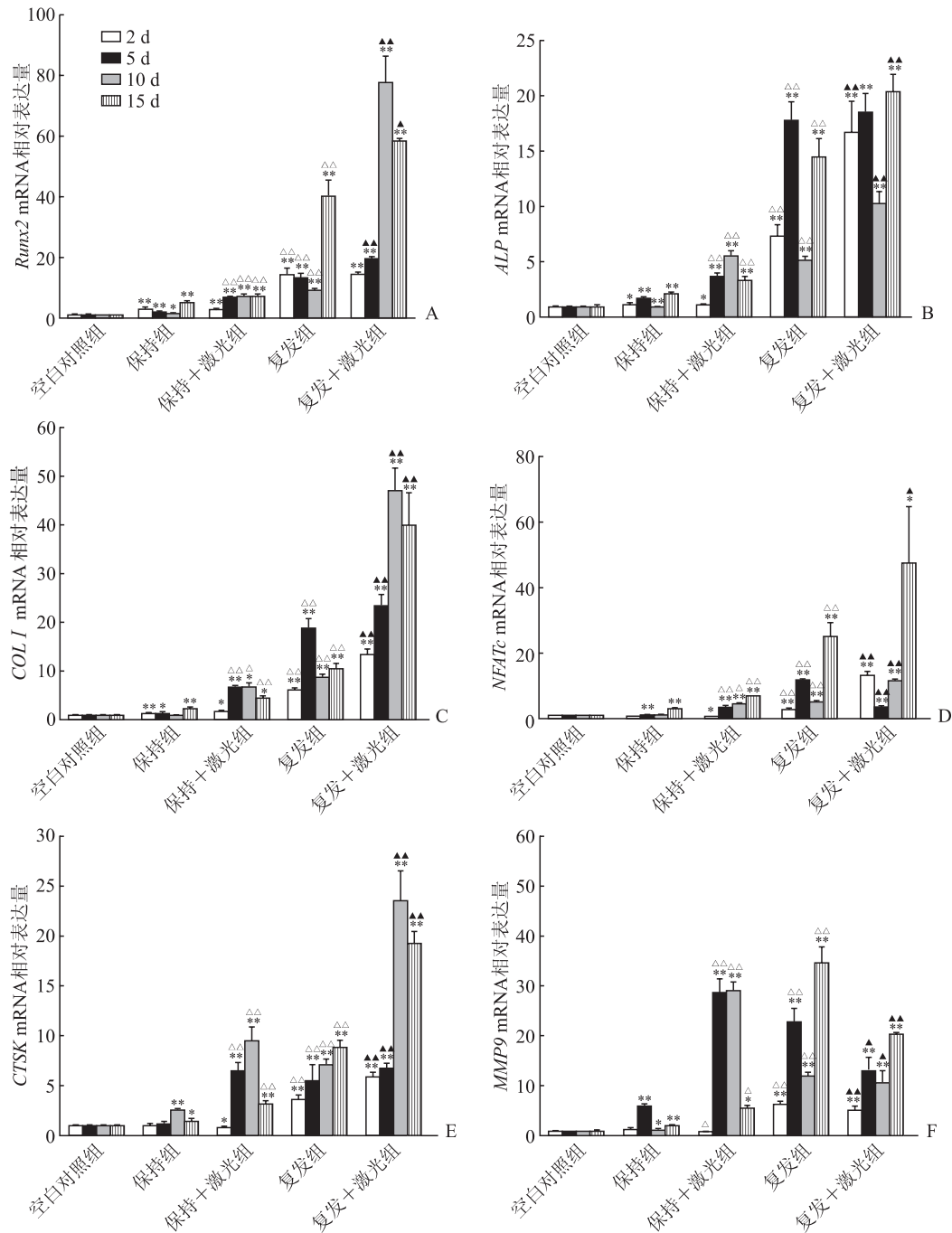


图1 大鼠正畸保持期不同干预措施下不同时间点骨改建因子的表达

A: *Runx2* mRNA 表达; B: *ALP* mRNA 表达; C: *COL I* mRNA 表达; D: *NFATc* mRNA 表达; E: *CTSK* mRNA 表达; F: *MMP9* mRNA 表达. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与空白对照组比较; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 与保持组比较; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ 与复发组比较. $n = 4, \bar{x} \pm s$. Runx2: Runt 相关转录因子 2; ALP: 碱性磷酸酶; COL I: I 型胶原蛋白; NFATc: 活化 T 细胞核因子; CTSK: 组织蛋白酶 K; MMP9: 基质金属蛋白酶 9.

复发组骨改建因子 *Runx2*、*ALP*、*COL I*、*NFATc*、*CTSK*、*MMP9* 的 mRNA 表达较保持组均呈增加趋势 (P 均 < 0.01)。随着时间延长,保持+激光组骨改建因子的 *Runx2*、*ALP*、*COL I*、*NFATc*、*CTSK*、*MMP9* mRNA 表达较保持组升高,从第 5 天开始差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05) 至第 10 天差异最为明显。复发+激光组除 *MMP9* 外的 5 个骨改建因子的 mRNA 表达在保持期的大部分时间点均较复发组升高 (P 均 < 0.05)。

3 讨论

我们前期的研究结果显示 LLL 照射可降低大鼠牙齿移动后的复发率,并缩短保持时间^[6],这种宏观变化的具体分子机制值得进一步探讨。根据前期研究结果中的复发曲线,本研究选取了第 2、5、10、15 天作为时间节点检测大鼠牙槽骨周围骨改建因子的变化情况,探讨 LLL 对于保持期骨改建因子表达的影响。

正畸保持是一个牙周组织改建的生理过程,包括成骨细胞合成骨基质、破骨细胞骨吸收和牙周纤维的改建。本实验选取的成骨因子中, *Runx2* 的表达被认为是成骨细胞活性和骨形成的早期标志物^[8],在成骨细胞成熟和内稳态中起基础作用^[9]。*ALP* 和 *COL I* 都是成骨细胞分化的早期标志物^[10],*ALP* 能促进骨矿物质的形成和矿化^[11],是骨形成的敏感指标;*COL I* 是成骨细胞外基质的基本组成部分^[12],*COL I* 表达量的变化可以反映牙周胶原纤维的变化。

本实验选取的破骨因子中, *CTSK* 是骨吸收过程中的一种主要蛋白酶,在成纤维细胞的胶原降解中起重要作用^[13]。*MMP9* 也是破骨细胞产生的主要蛋白酶之一。*NFATc1* 可调节破骨细胞分化和功能^[14],*NFATc1* 被移位到细胞核后促进其自身及一些特定破骨细胞基因的表达,其中由核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor κ B ligand, RANKL) 诱导的相关基因即包括上述的 *MMP9*、*CTSK* 等。

本实验中复发+激光组与复发组比较和保持+激光组与保持组比较的结果进一步证实 LLL 对于保持与复发牙齿的牙槽骨改建具有双向调控性,在基因水平上都促进了骨改建因子表达量增加,即促进保持过程中牙齿的稳定与复发过程中牙齿的移

动,这与既往研究结果^[15]相似。

LLL 对骨改建因子的促进作用与激光照射次数有关,表现为累积效应,但累积效应不随照射次数无限增长,到达与生物体相关的结构与机能的剂量后随着照射次数的增加不再表现为促进作用。因此本实验分不同的时间节点,发现对于保持期的牙齿在相应的骨改建时间内,主动矫治加力结束后的前 10 d 用 LLL 干预最有效。

本研究结果显示,复发组骨改建因子的相对表达量明显高于保持组。这可能与牙槽骨改建本身的特点和复发牙齿的牙周纤维韧带的力量有关。*Johnston* 等^[16]报道了牙齿移动后牙周组织中仍然存在显著的力。牙周纤维在牙齿移动过程中会伸展和移位,然后随着正畸力的去除与时间的推移有垂直于牙齿表面重新排列的趋势,其中骨组织也会产生对牙周韧带力的反应并重新排列。因此,复发组因牙周韧带纤维牵拉使骨改建因子表达活跃;保持组因固定保持装置降低了牙周纤维的牵拉与牙齿的复发移动倾向,表现为骨改建因子的活跃度较复发组低。

对比复发+激光组与保持+激光组,4 个检测时间点的骨改建因子的相对表达量大部分表现为复发+激光组 $>$ 复发组 $>$ 保持+激光组 $>$ 保持组。但在主动矫治加力结束后的第 10 天,即本实验中保持+激光组骨改建因子表达的高峰期,成骨相关因子 *ALP* 与破骨相关因子 *CTSK* 的基因表达量为保持+激光组 $>$ 复发组,说明虽然固定保持装置会使骨改建活跃度下降,但在 LLL 干预下会使保持期牙齿的骨改建因子表达量一定程度上升,表现为骨改建因子的表达量大于同期的复发组,具体机制还需进一步研究。

此外,复发+激光组骨改建因子 *MMP9* mRNA 的表达量在 4 个时间点均低于复发组。早有学者发现, *MMP9* 是参与破骨细胞侵袭活动的主要基质金属蛋白酶^[17],但 *MMP9* 对侵袭的作用主要是发生在对破骨细胞吸收活动本身没有影响的情况下。因此, *MMP9* 在侵袭而不是吸收的作用中与它在破骨细胞分化过程中的早期表达可能没有明显差异。我们认为本实验中 LLL 对于复发的牙齿仅促进了破骨细胞功能的活跃,并对破骨细胞分化与侵袭有一定影响。

综上所述,我们在既往研究中发现 LLL 可以

促进保持期牙齿的稳定、加速复发牙齿的移动,本实验在基因水平上说明这种作用可能源于对牙槽骨成骨与破骨改建因子的调控作用。成骨与破骨改建因子的活化可能加速了牙槽骨的改建,促进牙槽骨进入稳定期,进而缩短保持时间、促进稳定,最佳时间节点为正畸保持期的前10 d。今后,我们拟进一步采用免疫组织化学染色实验、蛋白质印迹法等验证 LLL 对正畸保持期间骨改建的影响,为临床研究提供依据。

[参考文献]

- [1] ISOLA G, MATARESE M, BRIGUGLIO F, GRASSIA V, PICCIOLO G, FIORILLO L, et al. Effectiveness of low-level laser therapy during tooth movement: a randomized clinical trial[J/OL]. *Materials (Basel)*, 2019, 12: E2187. DOI: 10.3390/ma12132187.
- [2] TÜRKER G, YAVUZ İ, GÖNEN Z B. Which method is more effective for accelerating canine distalization short term, low-level laser therapy or piezocision? A split-mouth study[J]. *J Orofac Orthop*, 2021, 82: 236-245.
- [3] PANSANI T N, BASSO F G, TURRIONI A P S, SOARES D G, HEBLING J, DE SOUZA COSTA C A. Effects of low-level laser therapy and epidermal growth factor on the activities of gingival fibroblasts obtained from young or elderly individuals[J]. *Lasers Med Sci*, 2017, 32: 45-52.
- [4] SON J H, PARK B S, KIM I R, SUNG I Y, CHO Y C, KIM J S, et al. A novel combination treatment to stimulate bone healing and regeneration under hypoxic conditions: photobiomodulation and melatonin[J]. *Lasers Med Sci*, 2017, 32: 533-541.
- [5] 冯洁, 刘怡. 低能量激光治疗在牙周组织愈合中的作用[J]. *中国实用口腔科杂志*, 2020, 13: 10-13.
- [6] 康永歌, 张锡忠, 彭朋, 董晓曦, 曹扬, 冉宇婷, 等. 低能量激光对大鼠牙移动后复发的影响[J]. *口腔医学研究*, 2018, 34: 1104-1107.
- [7] KING G J, KEELING S D, MCCOY E A, WARD T H. Measuring dental drift and orthodontic tooth movement in response to various initial forces in adult rats[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1991, 99: 456-465.
- [8] KOMORI T. Regulation of proliferation, differentiation and functions of osteoblasts by Runx2[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 1694. DOI: 10.3390/ijms20071694.
- [9] QIN X, JIANG Q, KOMORI H, SAKANE C, FUKUYAMA R, MATSUO Y, et al. Runt-related transcription factor-2 (Runx2) is required for bone matrix protein gene expression in committed osteoblasts in mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2021, 36: 2081-2095.
- [10] 陆艳青, 周兴, 李姣, 彭建平, 王传东, 张晓玲. 抗肿瘤药物依托泊苷促进间充质干细胞成骨分化的研究[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2021, 41: 849-857.
- [11] MA X N, MA C X, SHI W G, ZHOU J, MA H P, GAO Y H, et al. Primary cilium is required for the stimulating effect of icaritin on osteogenic differentiation and mineralization of osteoblasts *in vitro*[J]. *J Endocrinol Invest*, 2017, 40: 357-366.
- [12] LI B, HU R Y, SUN L, LUO R, LU K H, TIAN X B. Potential role of andrographolide in the proliferation of osteoblasts mediated by the ERK signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 1335-1344.
- [13] WEI X X, CHU J P, ZOU Y Z, RU N, CUI S X, BAI Y X. Effect of odanacatib on root resorption and alveolar bone metabolism during orthodontic tooth movement[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14: 17972-17981.
- [14] ZHOU F, SHEN Y, LIU B, CHEN X, WAN L, PENG D. Gastrodin inhibits osteoclastogenesis via down-regulating the NFATc1 signaling pathway and stimulates osseointegration *in vitro*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484: 820-826.
- [15] KIM S J, KANG Y G, PARK J H, KIM E C, PARK Y G. Effects of low-intensity laser therapy on periodontal tissue remodeling during relapse and retention of orthodontically moved teeth[J]. *Lasers Med Sci*, 2013, 28: 325-333.
- [16] JOHNSTON C D, LITTLEWOOD S J. Retention in orthodontics[J]. *Br Dent J*, 2015, 218: 119-122.
- [17] DARLIX A, LAMY P J, LOPEZ-CRAPEZ E, BRACCINI A L, FIRMIN N, ROMIEU G, et al. Serum NSE, MMP-9 and HER2 extracellular domain are associated with brain metastases in metastatic breast cancer patients: predictive biomarkers for brain metastases? [J]. *Int J Cancer*, 2016, 139: 2299-2311.

[本文编辑] 商素芳