DOI:10.16016/j.2097-0927.202311078

NSAIDs 对钛片表面成骨细胞增殖及功能活性的影响

谢 孟[1],莫安春[2] 610044 成都,四川口腔医院种植修复科[1];610041 成都,口腔疾病研究国家重点实验室,国家口腔疾病临床医学研究中心,四川大学华西口腔医院种植科[2]

[摘要] **目的** 通过建立种植体表面成骨模型,研究新型与传统非甾体类抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)对钛片表面 MG-63 成骨细胞增殖、形态、粘附、活性和成骨相关基因表达的影响。**方法** 将 MG-63 成骨细胞接种至大颗粒喷砂酸蚀(sand-blasted, largegrit, acid-etched,SLA)钛片表面,建立种植体表面与成骨细胞结合的模型。设置一氧化氮供体型氟比洛芬(NO-氟比洛芬)组、氟比洛芬组与无药物对照组。CCK-8 检测细胞增殖能力,扫描电镜观察细胞形态,MTT 检测细胞粘附能力,化学法检测碱性磷酸酶(ALP)活性,茜素红染色观察钙化结节,RT-qPCR 检测各组成骨细胞 ALP、OCN、Runx-2 mRNA 表达情况。**结果** 细胞增殖检测结果显示,不同药物浓度组间的细胞增殖数量有统计学差异($P<0.01$);NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组细胞增殖数量均高于无药物对照组,且 NO-氟比洛芬组高于氟比洛芬组,差异均有统计学意义($P<0.01$)。扫描电镜观察结果显示,NO-氟比洛芬组成骨细胞最先开始复层生长。细胞粘附检测结果显示,NO-氟比洛芬组细胞粘附数量低于氟比洛芬组和无药物对照组($P<0.01$)。ALP 活性检测结果显示,NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组 ALP 活性低于无药物对照组($P<0.01$)。茜素红染色结果显示,NO-氟比洛芬组及氟比洛芬组实验观察期内未观察到典型的红色深染钙化结节。RT-qPCR 分析显示,NO-氟比洛芬组 OCN mRNA 和氟比洛芬组 Runx-2 mRNA 表达量高于无药物对照组,ALP mRNA 表达量低于无药物对照组($P<0.01$)。**结论** NO-氟比洛芬和氟比洛芬均有效促进钛片表面成骨细胞的增殖能力和部分成骨相关基因表达,NO-氟比洛芬的促进效果更为明显。

[关键词] 非甾体类抗炎药;成骨细胞;种植体周围骨整合
[中图法分类号] R322.71; R783.1; R971.1 [文献标志码] A

Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on growth and functional activity of osteoblasts *in vitro*

XIE Meng[1], MO Anchun[2] [1]Department of Implantology and Prosthodontics, Sichuan Hospital of Stomatology, Chengdu, Sichuan Province, 610044; [2]Department of Implantology, State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of new and traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on the proliferation, morphology, adhesion, activity and expression of osteoblast related genes of MG-63 osteoblasts by establishing a osteogenic model of implants. **Methods** MG-63 cells were implanted on sand-blasted, largegrit, acid-etched titanium plates surface (SLA) to establish a model of osseointegration between implant surface and osteoblasts. The experiments included NO-flurbiprofen group, flurbiprofen group and the control group. Cell proliferation was detected by CCK-8 assay, cell morphology was observed by scanning electron microscopy (SEM), cell adhesion was detected by MTT assay, alkaline phosphatase (ALP) activity was detected by chemical method, calcified nodules was observed after Alizarin red staining, and the expression of bone formation related genes ALP, OCN, Runx-2 was detected by RT-qPCR. **Results** CCK-8 assay showed that statistical difference was observed in cell proliferation among

[通信作者] 莫安春,E-mail: moanchun@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

the groups treated with different drug concentrations ($P<0.01$). Cell proliferation was higher in the NO-flurbiprofen group and the flurbiprofen group than the control group, and in the NO-flurbiprofen group than the flurbiprofen group ($P<0.01$). SEM displayed that the cells from the NO-flurbiprofen group grew to multiple lays first. Cell adhesion results showed that the number of cell adhesion was lower in the NO-flurbiprofen group than the flurbiprofen group and the control group ($P<0.01$). ALP activity of drug groups was lower than the control group ($P<0.01$). No typical red deeply stained calcified nodules were observed in neither NO-flurbiprofen group nor flurbiprofen group during the observation period. RT-qPCR indicated that the mRNA expression of OCN in the NO-flurbiprofen group and Runx-2 in the flurbiprofen group was higher than those of the control group, while the mRNA level of ALP was lower than that of the control group ($P<0.01$).

Conclusion Both NO-flurbiprofen and flurbiprofen effectively promote the proliferation of osteoblasts on the surface of titanium plates and the expression of some osteogenic related genes. The promotion effect of NO-flurbiprofen is more significant.

[**Key words**] nonsteroidal anti-inflammatory drugs; osteoblast; osseointegration

Corresponding author: MO Anchun, E-mail: moanchun@163.com

非甾体类抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)常用于缓解与风湿病和骨关节炎相关的慢性疼痛和不适,同时也广泛用于急性手术和创伤后疼痛[1]。在口腔临床治疗中,NSAIDs 常用于减轻种植手术后的疼痛反应[2]。NSAIDs 的临床有效性是通过抑制环氧化酶(COX)活性,阻断前列腺素(PGs)合成,从而发挥解热、镇痛、抗炎等作用[3]。PGs 是骨代谢中的重要炎症介质,对骨组织的合成和分解具有双面效应。关于 NSAIDs 对骨代谢及骨愈合的影响一直存在着争议[4-7],目前仍未达成共识[8]。前瞻性研究显示:在服用 NSAIDs 的研究对象中并未发现骨矿化密度改变或骨丧失的情况出现[9]。也有研究表明,NSAIDS 具有促进成骨细胞生长、抑制破骨细胞形成和活性的作用,可有效减少骨丧失[10-11]。近年来,新型 NSAIDs—— 一氧化氮供体型 NSAIDs(NO-NSAIDs)问世,此类药物既保留了母体非甾类药物的抗炎、镇痛和退热作用,同时具有 NO 介导的胃黏膜和心血管保护作用,从而避免了长期使用 NSAIDs 所导致的不良反应[12],临床应用较为广泛。本实验通过建立种植体表面成骨模型,检测 NO-NSAIDs 和 NSAIDs 作用于成骨细胞后对细胞增殖、形态、粘附、活性及成骨相关基因表达的影响,分析新型和传统 NSAIDs 对种植体表面成骨细胞生长及功能的作用机制,旨在为口腔种植术后 NSAIDs 的合理选择和安全使用、维护种植体周围有利的成骨环境提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验分组

根据培养基中的药物种类不同,设置药物组(NO-氟比洛芬组);氟比洛芬组;无药物对照组。

1.2 实验细胞

人成骨样 MG-63 细胞株,购于四川大学华西口腔医院口腔疾病研究国家重点实验室。

1.3 试剂与仪器

实验试剂:NO-氟比洛芬(实验室合成,纯度为 99%),氟比洛芬(麦卡希,成都),α-MEM 培养基(Hyclone,美国 Sigma 公司),胎牛血清(FBS,美国 Gibco 公司),0.05%胰酶(含 0.02% EDTA)(Hyclone 公司,美国),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天),碱性磷酸酶试剂盒(南京建成生物工程研究所),MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(Amresco,美国),CCK-8 试剂盒(日本东仁),茜素红(Sigma,美国),TRIzol 溶液(Invitrogen 公司,美国),逆转录试剂盒(EU Fermentas 公司,美国),dNTP(Promega 公司,美国),引物合成及探针修饰(上海生工生物工程有限公司)。

实验仪器:荧光相差倒置显微镜(Olympus 公司,日本),扫描电镜(Inspect F, FEI,美国),酶联免疫监测仪(HTS 7000 Plus 多孔板高效分析仪,美国),FTC3000 实时荧光定量基因扩增仪(Funglyn 公司,加拿大)。

1.4 方法

1.4.1 钛片的制备和消毒处理 选择医用二级纯钛用于细胞接种,直径 14/25 mm,厚度 1 mm,经 TiO_2 喷砂及酸蚀处理进行大颗粒喷砂酸蚀(sand-blasted, largegrit, acid-etched,SLA)表面制备,经检测表面粗糙度为 1.80 μm[13],消毒后 SLA 表面朝上放置在 6/24 孔培养板中备用。

1.4.2 MG-63 细胞培养及接种 在 37 ℃、5%CO_2、饱和湿度的培养箱环境中培养 MG-63 细胞,0.25%胰酶-EDTA 消化并收集培养瓶中 MG-63 成骨细胞,接种

至含钛片的6/24孔板内。

1.4.3 药物培养 以氟比洛芬为原料合成NO-氟比洛芬,提纯至纯度99%后消毒备用。2种药物均溶解于二甲基亚砜(DMSO)中作储备溶液,后配制为药物浓度40、80、120、160、200 μmol/L共5个梯度浓度的药物培养基备用。细胞接种至钛片表面12 h或24 h后开始药物培养[14]。

1.4.4 细胞增殖测定 将MG-63成骨细胞以1×10^4/mL接种至含钛片的24孔板内,NO-氟比洛芬组、氟比洛芬组各设置5个培养孔,24 h后分别加入40、80、120、160、200 μmol/L共5种浓度的药物培养基,无药物对照组加入无药物的培养基。培养4、10 d后,各孔内加入含100 μL CCK-8试剂的培养基,3 h后终止培养,酶联免疫检测仪450 nm处测定光密度值[D(450)]。

将MG-63成骨细胞以1×10^4/mL接种至含钛片的24孔板内,24 h后NO-氟比洛芬组、氟比洛芬组分别加入120 μmol/L浓度的药物培养基,无药物对照组加入无药物的培养基。培养1、4、7、10 d后,各孔内加入含100 μL CCK-8试剂的培养基,3 h后终止培养,酶联免疫检测仪450 nm处测定光密度值[D(450)]。

1.4.5 扫描电子显微镜(SEM)观察 将MG-63成骨细胞以1×10^4/mL接种至含钛片的24孔板内,24 h后NO-氟比洛芬组、氟比洛芬组分别加入120 μmol/L浓度的药物培养基,无药物对照组加入无药物的培养基。培养4、7、10 d后,2.5%戊二醛4 ℃下固定。12 h后脱水,扫描电镜下观察各组MG-63成骨细胞在钛片表面的形态、粘附情况,随机选择区域获取图像。

1.4.6 细胞早期粘附实验 将MG-63成骨细胞以5×10^4/mL与NO-氟比洛芬组、氟比洛芬组120 μmol/L浓度的药物培养基混合,无药物对照组与无药物的培养基混合,接种至含钛片的24孔板内。培养12 h后弃培养基,PBS冲洗钛片表面,洗去未粘附细胞,将钛片移至另一空白24孔板内,加入含40 μL MTT工作液的培养基,3.5 h后终止培养,进行MTT活性检测,酶联免疫检测仪570 nm处测定光密度值[D(570)]。

1.4.7 细胞ALP活性测定 将MG-63成骨细胞以2×10^5/mL接种至含钛片的6孔板内,24 h后NO-氟比洛芬组、氟比洛芬组分别加入120 μmol/L浓度的药物培养基,无药物对照组加入无药物的培养基。培养7、10 d后,弃去孔内原培养基,PBS漂洗2次,按照ALP测试盒说明书检测胞内ALP活性,蛋白浓度用BCA法测定,酶联免疫检测仪520 nm处测定光密度值[D(520)]。

1.4.8 茜素红染色 将MG-63成骨细胞以1×10^4/mL接种至含钛片的6孔板内,24 h后NO-氟比洛芬组、氟比洛芬组分别加入120 μmol/L浓度的药物培养基,无药物对照组加入无药物的培养基。培养10、14 d后,弃去培养基,PBS清洗3次后,加入1%茜素红染液(pH=4.2),染色5 min,蒸馏水再次清洗2次后控干,观察记录钛片表面钙化结节。

1.4.9 荧光实时定量PCR检测 将MG-63成骨细胞以1×10^4/mL接种至含钛片的6孔板内,24 h后NO-氟比洛芬组、氟比洛芬组分别加入120 μmol/L浓度的药物培养基,无药物对照组加入无药物的培养基。培养4、7、10 d后,使用TRIzol提取总RNA,采用随机引物利用逆转录酶反转录成cDNA。按照PCR扩增体系及反应条件说明书进行PCR扩增。取逆转录产物cDNA模板5 μL,上游引物及下游引物(10 μmol/L)各1 μL(引物序列由宝生物试剂公司设计合成,引物序列见表1),进行实时荧光定量PCR反应,RT-qPCR数据分析采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法。

1.5 统计学分析

使用SPSS 27.0软件进行统计分析。实验数据以$\bar{x}\pm s$表示。组间差异比较采用单因素方差分析,样本均数间两两比较采用LSD和Tamhane's分析方法,$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

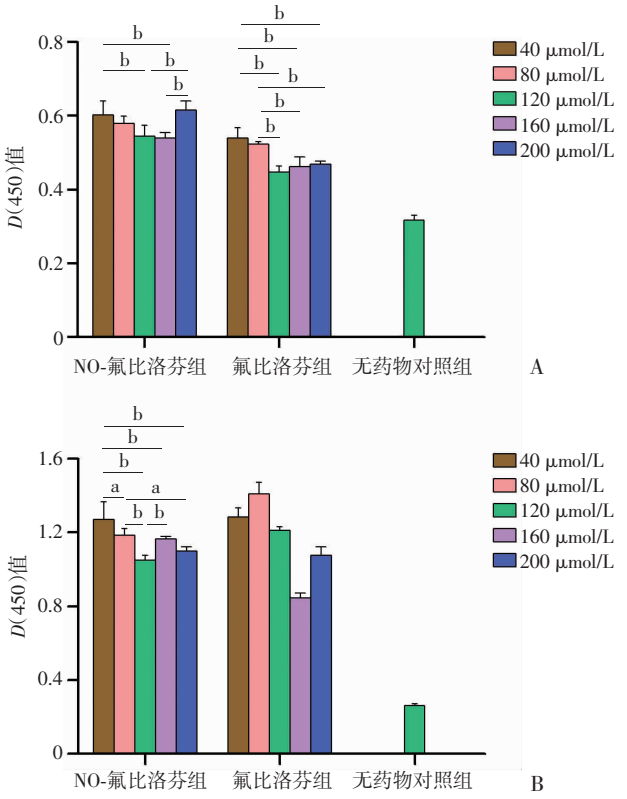
2.1 NSAIDs对MG-63成骨细胞增殖能力的影响

药物作用于MG-63成骨细胞4、10 d后,通过CCK-8检测不同药物浓度组MG-63成骨细胞在钛片表面的增殖情况。结果显示,不同药物浓度组间的细胞增殖能力存在差异(图1):药物作用4 d后,NO-氟比洛芬组中40、200 μmol/L浓度组细胞数量明显高于

表1 内参与目的基因引物序列及PCR产物长度

基因名称	编号	引物序列(5′-3′)	扩增轮廓/bp
GAPDH	NM_008084.2	上游:5′-GACATCAAGAAGGTGGTGAAGC-3′ 下游:5′-GAAGGTGGAAGAGTGGGAGTT-3′	117
Runx-2	NM_009820.4	上游:5′-GCCGGGAATGATGAGAACTA-3′ 下游:5′-GGACCGTCCACTGTCACTTT-3′	200
ALP	NM_007431.2	上游:5′-AACCCAGACACAAGCATTCC-3′ 下游:5′-GCCTTTGAGGTTTTTGGTCA-3′	200
OCN	NM_031368.4	上游:5′-TTGGTGCACACCTAGCAGAC-3′ 下游:5′-ACCTTATTGCCCTCCTGCTT-3′	151

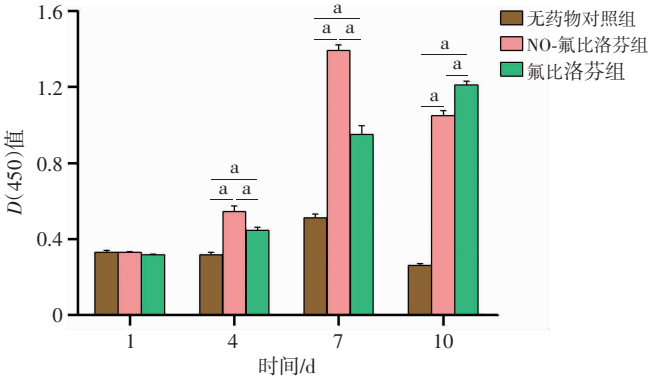
120、160 μmol/L浓度组($P<0.01$);氟比洛芬组中40、80 μmol/L浓度组细胞数量明显高于120、160、200 μmol/L浓度组($P<0.01$)。药物作用10 d后,NO-氟比洛芬组中40 μmol/L浓度组细胞数量明显高于其余各组,80 μmol/L浓度组明显高于120、200 μmol/L浓度组($P<0.01$);氟比洛芬组中细胞数量从高到低依次为80、40、120、200、160 μmol/L浓度组,各组间均有统计学差异($P<0.01$)。



A:4 d;B:10 d;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$

图1　不同浓度药物作用不同时间后各组细胞的增殖能力比较

药物作用于MG-63成骨细胞1、4、7、10 d后,通过CCK-8检测各组MG-63成骨细胞在钛片表面的增殖情况(图2)。结果显示,药物作用1 d后,各组间细胞数量无统计学差异。药物作用4、7 d后,NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组的细胞数量均显著高于无药物对照组,且NO-氟比洛芬组高于氟比洛芬组($P<0.01$)。药物作用10 d后,NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组的细胞数量显著高于无药物对照组,且氟比洛芬组高于NO-氟比洛芬组($P<0.01$)。

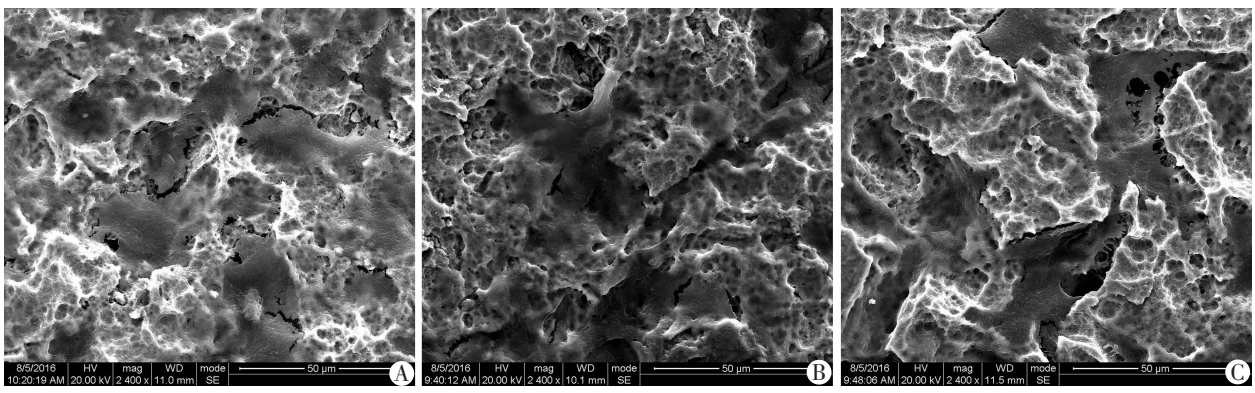


a:$P<0.01$

图2　药物作用不同时间后各组细胞的增殖能力比较

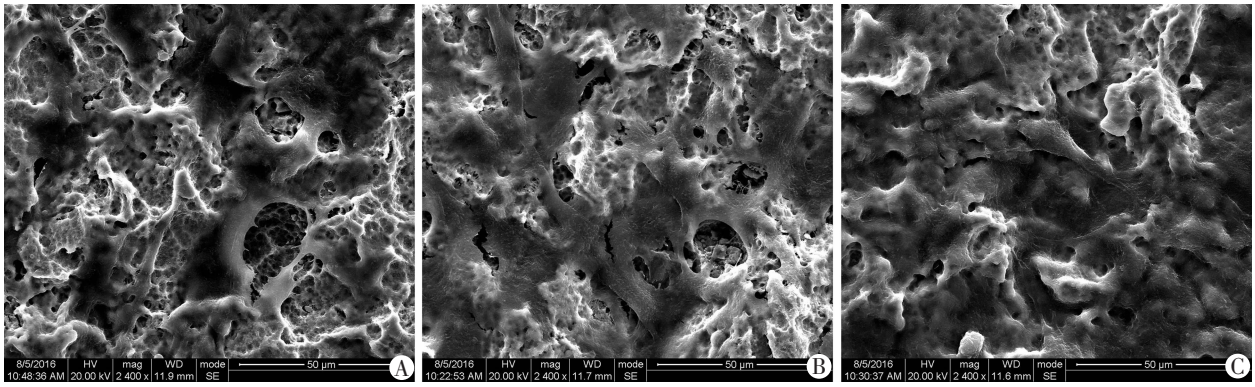
2.2　钛片表面MG-63成骨细胞形态及粘附情况

药物作用于MG-63成骨细胞4、7、10 d后,通过扫描电镜观察MG-63细胞在钛片表面的附着和生长形貌。结果显示,在药物作用4 d后,细胞呈现出典型的成熟状态,牢固附着在钛片表面,伸展良好,细胞表面凸起和伪足较多,3组之间没有显著差异(图3)。在药物作用7 d后,NO-氟比洛芬组细胞呈复层生长,氟比洛芬组细胞以伸展平铺状态生长,而无药物对照组细胞未见复层生长现象(图4)。药物作用10 d后,各组细胞均呈现明显的复层生长现象,细胞伪足减少,表面较为平滑,NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组细胞的伸展平铺面积较无药物对照组更大(图5)。



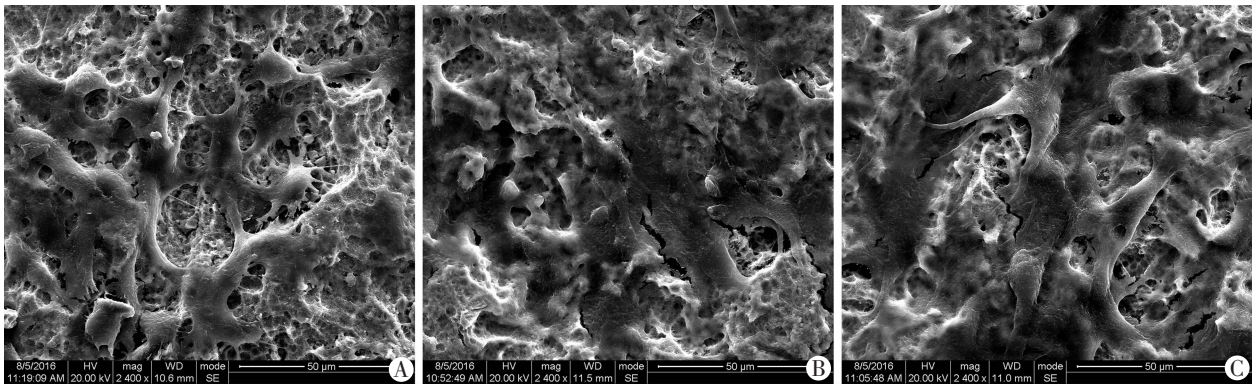
A:无药物对照组;B:NO-氟比洛芬组;C:氟比洛芬组

图3　药物作用4 d后各组细胞在扫描电镜下的形态及粘附情况



A:无药物对照组;B:NO-氟比洛芬组;C:氟比洛芬组

图 4 药物作用 7 d 后各组细胞在扫描电镜下的形态及粘附情况

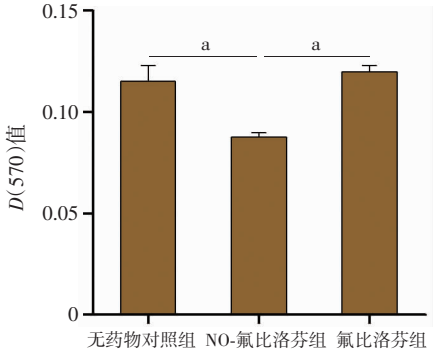


A:无药物对照组;B:NO-氟比洛芬组;C:氟比洛芬组

图 5 药物作用 10 d 后各组细胞在扫描电镜下的形态及粘附情况

2.3 NSAIDs 对 MG-63 成骨细胞早期粘附能力的影响

药物作用于 MG-63 成骨细胞 12 h 后,通过 MTT 法检测各组成骨细胞在钛片表面的粘附情况(图 6)。结果显示,NO-氟比洛芬组附着在钛片表面的 MG-63 细胞数量明显低于氟比洛芬组和无药物对照组($P<0.01$)。说明氟比洛芬对成骨细胞在钛片表面的早期粘附能力无显著影响,而 NO-氟比洛芬有一定抑制作用。

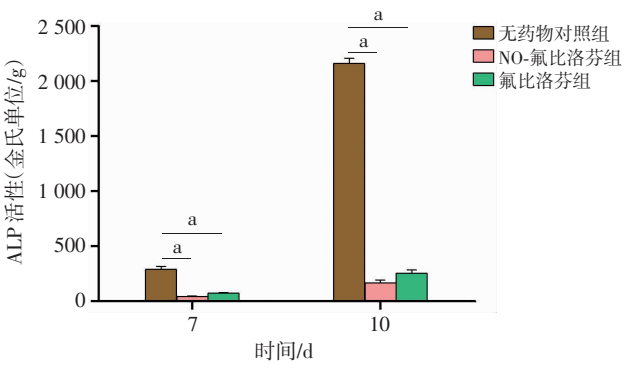


a:$P<0.01$

图 6 药物处理 12 h 后各组细胞在钛片上的粘附细胞数

2.4 NSAIDs 对 MG-63 成骨细胞 ALP 活性的影响

药物作用于 MG-63 成骨细胞 7、10 d 后,通过 ALP 检测试剂盒检测各组 MG-63 成骨细胞的 ALP 活性(图 7)。结果显示,药物作用 7 d 和 10 d 后,NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组 MG-63 细胞的 ALP 活性均明显低于对照组($P<0.01$)。



a:$P<0.01$

图 7 药物作用不同时间后各组细胞的 ALP 活性比较

2.5　钛片表面钙结节茜素红染色

药物作用于 MG-63 成骨细胞 10 d 后,NO-氟比洛芬组及氟比洛芬组均未观察到典型的红色深染钙化结节。药物作用 14 d 后,各组钛片表面可见少量红色钙化结节(图 8)。

2.6　NSAIDs 对 MG-63 成骨细胞成骨相关基因表达的影响

药物作用于 MG-63 成骨细胞 4、7、10 d 后,通过 RT-qPCR 检测成骨相关因子 ALP、OCN 和 Runx-2 的基因表达情况(图 9)。结果表明,药物作用 4 d 后,各组 ALP、Runx-2 基因表达无统计学差异,氟比洛芬组 OCN 基因表达明显低于无药物对照组及 NO-氟比洛芬组($P<0.05$)。药物作用 7 d 后,各组 ALP、OCN、Runx-2 基因表达均无统计学差异。药物作用 10 d 后,无药物组 ALP 基因表达明显高于 NO-氟比洛芬组及氟比洛芬组($P<0.05$);NO-氟比洛芬组 OCN 基因表达明显高于无药物对照组及氟比洛芬组($P<0.01$);Runx-2 基因表达从高到低依次为氟比洛芬组、无药物对照组、NO-氟比洛芬组,各组间均有统计学差异($P<0.01$)。

3　讨论

钛及其合金具有良好的生物相容性,植入骨组织后可形成骨结合,已被广泛应用于口腔种植领域,粗糙的种植体表面可以直接影响成骨细胞的粘附、增殖、活性及局部因子的产生,与光滑表面相比更利于形成骨整合。人 MG-63 细胞系从人骨肉瘤中分离而来,显示出未成熟成骨细胞的特性。本实验将 MG-63 细胞接种于 SLA 钛片表面,建立种植体表面模型,以达到模拟种植体植入后成骨环境的目的[15-16]。

NSAIDs 常用于种植术后早期的疼痛缓解,主要通过阻断 PGs 合成发挥作用。有研究发现,前列腺素 E2(PGE2)可能在钛片表面成骨细胞的增殖和分化中发挥作用,而 NSAIDs 抑制了附着在钛片表面的成骨细胞产生 PGE2[17]。因此本研究设想,NSAIDs 可对种植术后种植体表面成骨细胞的增殖及功能活性产生影响。

成骨细胞的增殖能力是种植体周围骨整合的基础和前提,因此国内外学者都将 NSAIDs 能否促进成骨细胞的增殖作为重要的研究内容之一。本实验细胞增殖检测结果表明,NO-氟比洛芬和氟比洛芬对钛片表面 MG-63 细胞的增殖能力均起到了明显的促进作用,在实验观察期内,NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组成骨细胞增殖旺盛,细胞数量均显著高于无药物对照组。在药物作用后 4、7 d 时间点,NO-氟比洛芬组细胞数量高于氟比洛芬组,推测 NO-氟比洛芬发挥促进成骨细胞增殖的作用效果比氟比洛芬更快、更强,2 种药物的作用效果都具有时间依赖性,与已有的研究报道一

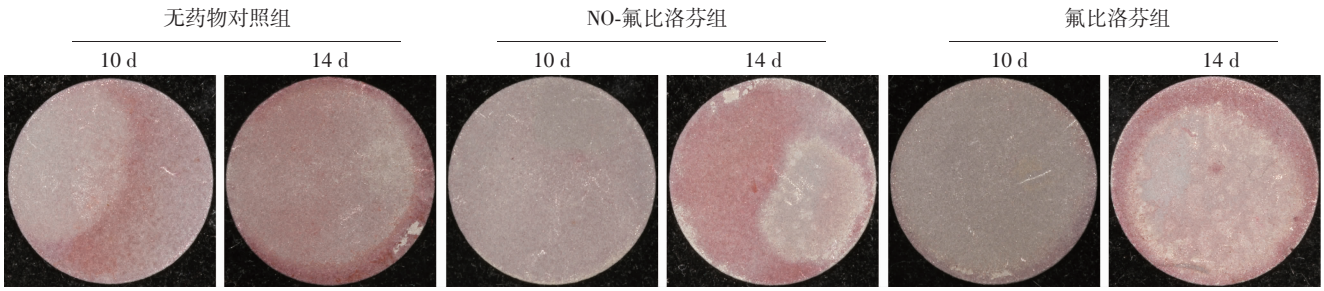
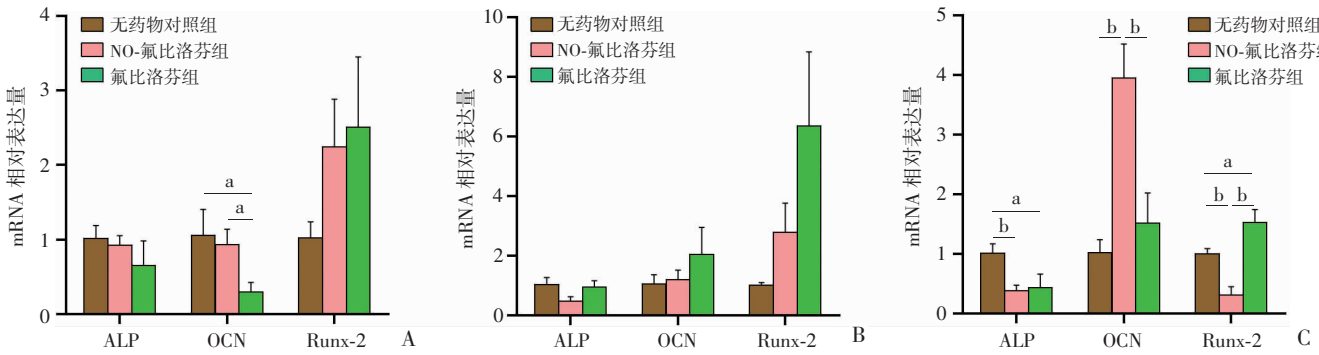


图 8　药物作用 10、14 d 后茜素红染色结果



A:4 d;B:7 d;C:10 d;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$

图 9　药物作用不同时间后各组 ALP、OCN 及 Runx-2 mRNA 表达

致[18-19]。扫描电镜观察结果表明,NO-氟比洛芬组的成骨细胞最先开始复层生长,可良好地附着和铺展于钛片表面,说明 NO-氟比洛芬可加强成骨细胞与钛片表面的相容性和融合度,有利于细胞的增殖,与细胞增殖检测的结果相对应。由于 NSAIDs 的作用效果与使用剂量相关[20],对骨骼的影响也具有剂量依赖性[7],因此本实验进一步对比分析了不同浓度药物对成骨细胞增殖的影响[12, 21]。结果显示,不同浓度药物组之间细胞的增殖能力存在差异,低浓度药物组(40、80 μmol/L)细胞总体表现出更加良好的增殖效果,提示使用低浓度低剂量药物更有利于钛片表面成骨细胞的增殖。

细胞增殖晚期编码胞外基质成熟蛋白的基因开始表达,在分化早期主要是 ALP mRNA 的表达,因此 ALP 是反映成骨细胞早期分化的特异性标志物[19, 22-23]。细胞增殖结果显示,无药物对照组细胞量在 10 d 时开始下降,表明此时对照组成骨细胞进入增殖晚期及分化早期阶段,ALP 大量分泌、活性显著增加。而 NO-氟比洛芬组及氟比洛芬组细胞 10 d 时仍处于增殖旺盛期,RT-PCR 结果显示 ALP mRNA 表达量均低于无药物对照组,与上述 ALP 活性检测结果一致。结合茜素红染色结果推测,NO-氟比洛芬组和氟比洛芬组成骨细胞在本研究观察时间内可能未发生成熟的、完整的成骨分化过程,后续将延长实验观察时间,进一步探究对钛片表面成骨细胞分化过程的影响作用。此外,本实验仍存在一定局限性,后续还需补充研究 NO-氟比洛芬和氟比洛芬与钛片表面的关系特异性。

综上所述,本研究认为 NSAIDs 对钛片表面成骨细胞的增殖具有显著的促进作用,且浓度较低时效果更明显。与传统 NSAIDs(氟比洛芬)相比,新型 NSAIDs(NO-氟比洛芬)对钛片表面成骨细胞的影响效应总体呈现出更快更有利的趋势,且副作用小,提示新型 NSAIDs 可作为口腔种植术后用药的合理选择。

参考文献:

[1] ETIKALA A, TATTAN M, ASKAR H, *et al*. Effects of NSAIDs on periodontal and dental implant therapy [J]. Compend Contin Educ Dent, 2019, 40(2): e1-e9.

[2] ALISSA R, SAKKA S, OLIVER R, *et al*. Influence of ibuprofen on bone healing around dental implants: a randomised double-blind placebo-controlled clinical study [J]. Eur J Oral Implantol, 2009, 2(3): 185-199.

[3] MOORE R A, DERRY S, SIMON L S, *et al*. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, gastroprotection, and benefit-risk [J]. Pain Pract, 2014, 14(4): 378-395. DOI: 10.1111/papr.12100.

[4] SASSI M L, ERIKSEN H, RISTELI L, *et al*. Immunochemical characterization of assay for carboxyterminal telopeptide of human type I collagen: loss of antigenicity by treatment with cathepsin K[J]. Bone, 2000, 26(4): 367-373. DOI: 10.1016/S8756-3282(00)00235-0.

[5] VROUWENVELDER W C, GROOT C G, DE GROOT K. Behaviour of fetal rat osteoblasts cultured *in vitro* on bioactive glass and nonreactive glasses[J]. Biomaterials, 1992, 13(6): 382-392. DOI: 10.1016/0142-9612(92)90044-o.

[6] THOMPSON G J, PULEO D A. Ti-6Al-4V ion solution inhibition of osteogenic cell phenotype as a function of differentiation timecourse *in vitro*[J]. Biomaterials, 1996, 17(20): 1949-1954.

[7] XIE Y, PAN M, GAO Y P, *et al*. Dose-dependent roles of aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs in abnormal bone remodeling and skeletal regeneration[J]. Cell Biosci, 2019, 9(1): 103. DOI: 10.1186/s13578-019-0369-9.

[8] LUO J D, MILLER C, JIRJIS T, *et al*. The effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the osteogenic activity in osseointegration: a systematic review[J]. Int J Implant Dent, 2018, 4(1): 30. DOI: 10.1186/s40729-018-0141-7.

[9] OLIVA A. Biocompatibility studies on glass ionomer cements by primary cultures of human osteoblasts[J]. Biomaterials, 1996, 17(13): 1351-1356. DOI: 10.1016/0142-9612(96)88683-2.

[10] OZAWA S. Evaluation of implant materials (hydroxyapatite, glass-ceramics, titanium) in rat bone marrow stromal cell culture[J]. Biomaterials, 1996, 17(1): 23-29. DOI: 10.1016/0142-9612(96)80751-4.

[11] SOARES A R, NASCENTES C C. Development of a simple method for the determination of lead in lipstick using alkaline solubilization and graphite furnace atomic absorption spectrometry[J]. Talanta, 2013, 105: 272-277. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.09.021.

[12] DE LUNA-BERTOS E, RAMOS-TORRECILLAS J, MANZANO-MORENO F J, *et al*. Effects on growth of human osteoblast-like cells of three nonsteroidal anti-inflammatory drugs: metamizole, dexketoprofen, and ketorolac [J]. Biol Res Nurs, 2015, 17(1): 62-67. DOI: 10.1177/1099800414527155.

[13] LOHMANN C H, SAGUN R, SYLVIA V L, *et al*. Surface roughness modulates the response of MG63 osteoblast-like cells to 1, 25-$(OH)_2$D3 through regulation of phospholipase A2 activity and activation of protein kinase A[J]. J Biomed

Mater Res, 1999, 47(2): 139-151. DOI: 10.1002/(sici)1097-4636(199911)47: 2139: aid-jbm4>3.0.co;2-2.

[14] DÍAZ-RODRÍGUEZ L,GARCÍA-MARTÍNEZ O,MORALES M A, *et al*. Effects of indomethacin, nimesulide, and diclofenac on human MG-63 osteosarcoma cell line[J]. Biol Res Nurs, 2012, 14(1): 98-107. DOI: 10.1177/1099800411398933.

[15] LUO J, MILLER C, SHARMA D. Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the osteogenic activity of osteoprogenitor cells cultured on titanium surfaces[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 2019, 34(4): 828-834. DOI: 10.11607/jomi.7289.

[16] SHER J, MILLER C, SHARMA D. Effect of bisphosphonates on the osteogenic activity of osteoprogenitor cells cultured on titanium surfaces[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 2020, 35(5): 939-947. DOI: 10.11607/jomi.8354.

[17] BOYAN B D, LOHMANN C H, SISK M, *et al*. Both cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mediate osteoblast response to titanium surface roughness[J]. J Biomed Mater Res, 2001, 55(3): 350-359. DOI: 10.1002/1097-4636(20010605)55: 3350: aid-jbm1023>3.0.co;2-m.

[18] CROFTON P M, WADE J C, TAYLOR M R, *et al*. Serum concentrations of carboxyl-terminal propeptide of type Ⅰ procollagen, amino-terminal propeptide of type Ⅲ procollagen, cross-linked carboxyl-terminal telopeptide of type I collagen, and their interrelationships in schoolchildren[J]. Clin Chem, 1997, 43(9): 1577-1581.

[19] HADJICHARALAMBOUS C, ALPANTAKI K, CHATZI-NIKOLAIDOU M. Effects of NSAIDs on pre-osteoblast viability and osteogenic differentiation[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(1): 740. DOI: 10.3892/etm.2021.10172.

[20] MCDAID C, MAUND E, RICE S, *et al*. Paracetamol and selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for the reduction of morphine-related side effects after major surgery: a systematic review[J]. Health Technol Assess, 2010, 14(17): 1-153, iii-iv. DOI: 10.3310/hta14170.

[21] WEI J S, WANG J, GONG Y, *et al*. Effectiveness of combined salmon calcitonin and aspirin therapy for osteoporosis in ovariectomized rats[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(2): 1717-1726. DOI: 10.3892/mmr.2015.3637.

[22] FENG R T, ANDERSON G, XIAO G Z, *et al*. SDX-308, a nonsteroidal anti-inflammatory agent, inhibits NF-κB activity, resulting in strong inhibition of osteoclast formation/activity and multiple myeloma cell growth[J]. Blood, 2007, 109(5): 2130-2138. DOI: 10.1182/blood-2006-07-027458.

[23] ORIMO H, SHIMADA T. The role of tissue-nonspecific alkaline phosphatase in the phosphate-induced activation of alkaline phosphatase and mineralization in SaOS-2 human osteoblast-like cells[J]. Mol Cell Biochem, 2008, 315(1): 51-60. DOI: 10.1007/s11010-008-9788-3.

(收稿:2023-11-16;修回:2023-12-11)

(编辑 张 维)