

类似物如聚酰胺-胺型树枝状分子^[9-10]等,在仿生矿化过程中发挥成核模板作用,诱导ACP成核相变,形成与天然牙体硬组织类似的多级结构生物矿物。钙磷复合体包括纳米ACP^[11]等,可在偏酸性的微环境中持续释放仿生再矿化所必需的钙磷离子。釉质仿生矿化的基本思路是寻找可影响羟磷灰石(hydroxyapatite, HA)晶体成核、取向、形成、生长的矿化模板。牙本质生物矿化的过程是在非胶原蛋白(non-collagenous protein, NCP)的调控下,牙本质胶原基质中的纤维间及纤维内分别有矿物质形成的过程^[8]。促进牙本质I型胶原纤维内及纤维间的矿化是牙本质仿生矿化有别于釉质仿生矿化的难点。牙本质仿生矿化涉及2个过程,一是纳米级ACP进入纤维内空间,二是ACP在特定位置发生成核相变^[12]。

自然状态下,牙体硬组织矿化过程受多种蛋白的调控,如釉原蛋白等釉基质蛋白(enamel matrix protein, EMP)、牙本质磷蛋白(dentin phosphoprotein, DPP)等牙本质NCP,这些人体蛋白质来源的多肽可以调控HA晶体成核生长^[1]。这一过程的发生可能与多肽中的酸性基团与钙离子相结合后,诱导新生晶体按照类似HA晶体的结构方向进行排列有关^[1]。这些蛋白中起关键作用的多肽序列在仿生再矿化过程中的主要功能是,作为稳定剂功能类似物^[8],吸附于无定形矿化前驱体表面,稳定其于纳米无定形相,保证其流动性。可调控生物矿化的蛋白来源的多肽与结构完整的蛋白相比可能在未来的临床应用中更具优势。合成多肽纯度更高,保质期更长;合成流程也解决了人体来源的蛋白可能存在的诸多问题。此类多肽的发现及应用为仿生再矿化研究提供了新思路。

2 釉原蛋白来源的多肽

EMP在牙胚发育过程中由上皮根鞘分泌,在釉质的生物矿化过程中起重要作用^[13-14]。釉原蛋白在所有EMP中对矿化作用最为关键,控制釉柱方向及釉柱的伸长^[15]。大量研究^[16-18]已证实,釉原蛋白及其衍生物能够调控晶体生长,促进釉质表面形成针状HA晶体并有序排列成类似天然釉柱的基本结构单元。有多项研究^[16,18-20]不仅证实了釉原蛋白在HA晶体生长中的重要调控作用,也发现了起主要调控作用的氨基酸序列,为体外合成含有这些关键序列的多肽,并用于后续仿生再矿化的

研究提供了可能。

富亮氨酸釉原蛋白多肽(leucine-rich amelogenin peptide, LRAP)是只将釉原蛋白氨基端和羧基端的氨基酸序列剪拼而成的釉原蛋白替代多肽。Le Norcy等^[21]、Shafiei等^[16]、Bagheri等^[22]的研究证实了LRAP在体外能模拟釉原蛋白功效,促进脱矿釉质仿生再矿化,透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)、傅里叶变换红外光谱分析等结果表明LRAP能够模拟釉原蛋白组装成纳米球的链状结构,引导ACP转变为有序排列的磷灰石晶体,调控釉质再矿化。并且发现,磷酸化的LRAP能够稳定ACP颗粒并抑制其向HA转变,而非磷酸化的LRAP可引导ACP转变为有序排列的HA晶体,此现象发生的机制仍有待研究。

釉原蛋白中含大量疏水氨基酸,但其羧基端仍包含约25个氨基酸的亲水末端,这样的双极性结构使其易自组装形成纳米球形超分子结构,该结构有助于釉原蛋白成为釉质再生的有效模板,控制HA晶体生长。釉原蛋白中具有高度重复的谷氨酰胺(Gln)-脯氨酸(Pro)-X序列,该序列就易形成 β 折叠的二级结构,进而自组装成为可诱导HA成核、新生的仿生矿化支架结构^[23]。Lv等^[24]将5个串联排列的Gln-Pro-X序列连接上1个含7个氨基酸的亲水尾部,合成一种模拟釉原蛋白仿生矿化功能的含22个氨基酸的多肽。用此多肽处理制备了釉质龋模型的离体牛牙并经过脱矿-再矿化循环后,显微放射照相(transverse microradiography, TMR)发现,脱矿程度及病变深度与对照组相比,差异均有统计学意义;显微硬度恢复率达到45%,而对照组只有5%;偏光显微镜(polarized light microscopy, PLM)照片也再次证实,此釉原蛋白来源的多肽在体外可促进脱矿釉质再矿化。在体外研究的基础上,Han等^[25]用此多肽处理患有釉质龋的SD大鼠,结果多肽处理组的Keyes龋病评分、定量光激发荧光值均比对照组低,提示此多肽在体内亦可促进脱矿釉质再矿化。

釉原蛋白不仅具双极性结构助其自组装成为更高级的结构,成为釉质再生的有效模板;并且釉原蛋白中的羧基端亲水尾部基团可与钙离子发生交联反应,之后启动HA成核^[23]。Li等^[26]将釉原蛋白羧基端的亲水氨基酸残基序列Thr-Lys-Arg-Glu-Glu-Val-Asp和作为疏水末端的硬脂酸衍生基团C18H35O-连接合成寡肽,以模拟釉原蛋白结构及功能。扫描电子显微镜(scanning electronic

microscopy, SEM)和TEM观察结果都证实了此自组装寡肽具有清晰的螺旋纳米纤维结构,置于含钙磷离子的溶液中后,寡肽纳米纤维上可沉积大量的纳米颗粒,形成玉米棒状结构,能量色散光谱法(energy dispersive spectrometry, EDS)分析表明,这些纳米颗粒富含钙磷,结构上类似ACP。在亚稳定磷酸钙溶液中,此寡肽也能促进经磷酸处理的离体釉质表面HA晶体的沉积。

3 DPP来源的多肽

DPP是牙本质中含量最丰富的非胶原细胞外基质成分,是参与牙本质矿化的重要NCP之一^[27]。带负电荷的DPP可吸引钙离子,在牙体硬组织矿化过程中发挥着关键作用^[28]。DPP中富含丝氨酸(45%~50%)和天冬氨酸(35%~38%),这也是其具有较强酸性的原因之一^[29]。人类DPP中含有数个重复的核苷酸序列:天冬氨酸-丝氨酸-丝氨酸(aspartate-serine-serine, DSS),研究^[30]认为此序列能够促进HA的形成。

早期研究^[31-33]表明,8个串联重复排列的DSS连接而成的多肽序列——8DSS,调节生物矿化过程中矿物质沉积的能力最强,但当时的研究并未验证其促进脱矿牙体硬组织矿物再沉积的能力。近年的研究证实了8DSS于体外促进脱矿釉质及脱矿牙本质再矿化的能力,Hsu等^[34]研究发现,8DSS处理后置于模拟体液环境中的脱矿釉质表面硬度由0.21 GPa恢复至2.20 GPa,弹性模量由22.57 GPa恢复至64.93 GPa;而未经8DSS处理的对照组表面硬度只能恢复至0.69 GPa,弹性模量只能恢复至33.34 GPa。原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)、SEM、TEM结果发现经8DSS处理后的脱矿釉质表面粗糙度下降,形态明显改变,HA晶体成核、生长。Yang等^[35]研究中,TMR检测发现8DSS处理后并经过pH循环处理的脱矿釉质表面脱矿程度及病变深度都有所恢复,PLM检测也证实了8DSS处理后病变釉质表面再矿化层的出现。Liang等^[36]的研究用8DSS处理脱矿后的离体牙本质样本并置于模拟的唾液环境中,纳米压痕发现8DSS处理后,置于模拟体液环境中的脱矿本质表面硬度由0.11 GPa恢复至0.32 GPa,弹性模量由3.80 GPa恢复至11.59 GPa;而未经8DSS处理的对照组表面硬度只能恢复至0.12 GPa,弹性模量只能恢复至3.83 GPa。AFM、SEM结果发现经8DSS处

理后的脱矿本质表面粗糙度下降,牙本质小管内及管间的胶原纤维被大量矿物晶体包裹,EDS检测表明该新生矿物晶体钙、磷元素比值接近HA,证实了8DSS在体外促进脱矿牙本质再矿化的能力。但目前尚缺乏体内研究证据进一步证实8DSS在体内促进脱矿牙体硬组织再矿化的能力。

除8DSS外,其余数个串联重复排列的DSS连接而成的多肽序列也能促进HA形成,其原理和DPP调控牙体硬组织矿化相似,带负电荷的氨基酸基团可大量吸引钙离子,并且多肽序列可稳定ACP,引导新生HA成核、生长。Chung等^[37]通过纳米压痕、AFM、SEM等检测结果验证了由3个串联重复排列的DSS连接而成的多肽序列——3DSS促进脱矿釉质再矿化的能力,釉质表面硬度及弹性模量在经3DSS处理后明显恢复,釉质表面粗糙度下降,并且可见釉柱晶体生长。另有研究^[25]表明,磷酸化的LRAP只能稳定ACP,而非磷酸化的LRAP可进一步引导ACP转变为磷灰石晶体。基于此,Chung和Li^[38]连接非磷酸化的3个DSS而成3NSS,相似的表面检测发现3NSS处理后,釉柱间出现晶粒更小的HA晶体沉积,有利于釉质表面弹性模量的恢复,提示其促进脱矿釉质仿生再矿化的潜力很强,但目前尚缺乏3NSS与3DSS促进再矿化能力的对比研究,非磷酸化的基团相比磷酸化的基团是否促进再矿化能力更强,仍有待于进一步研究证实,其机制也有待于进一步研究解释。

NCP的结构中含有大量的酸性氨基酸,如天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、磷酸化的丝氨酸(S^P)^[39]。DPP作为一种重要的非胶原牙本质蛋白,含有高度重复排列的SSD序列。可以推测聚天冬氨酸可能起到类似天然非胶原酸性蛋白质的作用,吸引钙离子,促进ACP转变为稳定有序排列的HA晶体。Sfeir等^[39]的研究发现,当聚天冬氨酸吸附于胶原纤维时,两者之间发生交互作用,胶原纤维内出现ACP形成,ACP则进一步转变成磷灰石晶体,从而发生胶原纤维的矿化,脱矿后的牙本质主要由I型胶原构成,该研究所证实的聚天冬氨酸诱导的胶原纤维内矿化对于牙本质仿生矿化具有重大意义,提供了新的思路。

4 牙本质基质蛋白1来源的多肽

酸性NCP牙本质基质蛋白1(dentine matrix protein 1, DMP1)可稳定溶液中的钙磷离子而形

成核前体^[40]，成核前体聚集于牙本质胶原纤维内形成ACP纳米颗粒，然后发生晶体取向，在胶原分子间隙形成单磷灰石晶粒^[2]，所以DMP1是调控牙本质生物矿化的重要NCP之一^[41]。

DMP1中羧基端富含酸性氨基酸基团，可吸引钙离子，当处于含磷离子的环境时，磷酸钙矿物晶体在I型胶原纤维之间成核，ACP进一步排列成为稳定的HA，其中的调控机制仍有待进一步研究阐明^[40]。胶原吸附及HA吸附功能是DMP1调控牙本质矿化的要点。Padovano等^[42]将DMP1中有胶原吸附功能的氨基酸序列(-DSESSEEDR-)分别连接2种不同的DMP1中有HA吸附功能的氨基酸序列(-ESQES-、-QESQSEQDS-)而构成2种多肽。SEM、TEM、EDS等结果发现2种多肽都能较强地吸附于I型胶原，调控矿物沉积并且稳定钙磷离子形成的成核前体，促进HA的成核及生长，柱状HA晶体形成。Wang等^[43]将源于DMP1中C端有胶原吸附功能的氨基酸序列-DSPESPSPEEDR-与源于骨唾液酸糖蛋白(bone sialoprotein, BSP)中有吸引钙离子及吸附HA能力的氨基酸序列-EEEEEEEE-相连，构建了一种新的仿生矿化多肽EEEEEEEEEDSPESPSPEEDR。体外实验中SEM、TEM、X射线衍射(X-ray diffraction, XRD)等结果发现该多肽能较强地吸附于I型胶原，吸引钙离子，促进沉淀于胶原纤维的磷灰石前体向HA的转变，促进脱矿牙本质胶原间磷灰石晶体成核及生长。

Cao等^[44]、刘巍等^[45]模拟DMP1的结构设计并合成了一种新的仿生多肽：将DMP1中有胶原吸附功能的氨基酸序列-DSESSEEDR-与釉原蛋白中亲水C端与HA成核矿化密切相关的氨基酸序列-TKR-EEVD-相连而成。SEM、荧光显微镜、XRD、TEM等结果发现此多肽能在体外吸附于牙本质胶原，且在含钙、磷离子的溶液中促进HA晶体成核、生长，促进脱矿牙本质表面晶体沉积。

5 其余来源的多肽

天然骨的形成过程中，HA的矿化受多种蛋白质的调控，包括骨连结蛋白、BSP、骨钙蛋白(osteocalcin, OC)等^[46-47]。OC是骨组织中由成熟骨细胞和成骨细胞分泌的NCP之一^[48]，其重要的生理作用包括：对糖稳态以及骨矿化的调控作用^[49]。OC氨基酸结构的第一螺旋中3个谷氨酸使

其具备钙结合能力，可能与其促进HA形成，诱导矿化相关。另有研究^[50]表明，多肽羧基端的酰胺化可改善多肽的生理功能。基于此两点，Hosseini等^[51]用OC中具有钙结合能力的13个氨基酸序列制成多肽OSC: LEPRREVCCELNPD，并将此多肽羧基端酰胺化成另一多肽OSN，分别置于体外生理浓度的钙磷溶液环境中，TEM等结果发现OSC能促进球状ACP晶体形成，而OSN能促进盘状HA矿物晶体形成、聚集，提示OC来源的多肽用于促进牙体硬组织再矿化的研究前景。

目前研究多局限于体外含钙磷离子的再矿化液环境中，考虑到口腔环境的复杂性，如口腔微生物的存在，微生物代谢产酸导致牙体硬组织暴露在酸性微环境中，实现其仿生再矿化面临巨大的挑战，未来还需要进行大量相关的基础和体内研究支持。另外，目前实验所得的仿生再矿化的牙体硬组织，在矿化程度及矿化颗粒排列的有序性等方面，仍与天然牙体硬组织存在较大差距，为获得更接近自然硬组织的再矿化结构，仿生矿化领域仍需不断开发新的人工仿生材料，为实现微创牙科的临床治疗提供新思路。

6 参考文献

- [1] George A, Veis A. Phosphorylated proteins and control over apatite nucleation, crystal growth, and inhibition[J]. *Chem Rev*, 2008, 108(11): 4670-4693.
- [2] Niu LN, Zhang W, Pashley DH, et al. Biomimetic remineralization of dentin[J]. *Dent Mater*, 2014, 30(1): 77-96.
- [3] Kim YK, Mai S, Mazzoni A, et al. Biomimetic remineralization as a progressive dehydration mechanism of collagen matrices—implications in the aging of resin-dentin bonds[J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(9): 3729-3739.
- [4] Kim J, Arola DD, Gu L, et al. Functional biomimetic analogs help remineralize apatite-depleted demineralized resin-infiltrated dentin via a bottom-up approach[J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(7): 2740-2750.
- [5] Gu LS, Huffman BP, Arola DD, et al. Changes in stiffness of resin-infiltrated demineralized dentin after remineralization by a bottom-up biomimetic approach[J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(4): 1453-1461.
- [6] Tung MS, Eichmiller FC. Amorphous calcium phos-

- phates for tooth mineralization[J]. *Compend Contin Educ Dent*, 2004, 25(9 Suppl 1): 9-13.
- [7] Xu AW, Ma Y, Cölfen H. Biomimetic mineralization [J]. *J Mater Chem*, 2007, 17(5): 415-449.
- [8] Tay FR, Pashley DH. Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(8): 1127-1137.
- [9] Li J, Yang J, Li J, et al. Bioinspired intrafibrillar mineralization of human dentine by PAMAM dendrimer [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(28): 6738-6747.
- [10] Liang K, Yuan H, Li J, et al. Remineralization of demineralized dentin induced by amine-terminated PAMAM dendrimer[J]. *Macromol Mater Eng*, 2015, 300(1): 107-117.
- [11] Zhang L, Weir MD, Chow LC, et al. Novel rechargeable calcium phosphate dental nanocomposite[J]. *Dent Mater*, 2016, 32(2): 285-293.
- [12] Liu Y, Kim YK, Dai L, et al. Hierarchical and non-hierarchical mineralisation of collagen[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(5): 1291-1300.
- [13] Zeichner-David M. Is there more to enamel matrix proteins than biomineralization[J]. *Matrix Biol*, 2001, 20(5/6): 307-316.
- [14] Robinson C, Brookes SJ, Shore RC, et al. The developing enamel matrix: nature and function[J]. *Eur J Oral Sci*, 1998, 106(Suppl 1): 282-291.
- [15] Brookes SJ, Robinson C, Kirkham J, et al. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel[J]. *Arch Oral Biol*, 1995, 40(1): 1-14.
- [16] Shafiei F, Hossein BG, Farajollahi MM, et al. Leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) as a surface primer for biomimetic remineralization of superficial enamel defects: an *in vitro* study[J]. *Scanning*, 2015, 37(3): 179-185.
- [17] Ruan Q, Zhang Y, Yang X, et al. An amelogenin-chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface[J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(7): 7289-7297.
- [18] Fan Y, Sun Z, Moradian-Oldak J. Controlled remineralization of enamel in the presence of amelogenin and fluoride[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(4): 478-483.
- [19] Du C, Falini G, Fermani S, et al. Supramolecular assembly of amelogenin nanospheres into birefringent microribbons[J]. *Science*, 2005, 307(5714): 1450-1454.
- [20] Moradian-Oldak J. Amelogenins: assembly, processing and control of crystal morphology[J]. *Matrix Biol*, 2001, 20(5/6): 293-305.
- [21] Le Norcy E, Kwak SY, Wiedemann-Bidlack FB, et al. Leucine-rich amelogenin peptides regulate mineralization *in vitro*[J]. *J Dent Res*, 2011, 90(9): 1091-1097.
- [22] Bagheri GH, Sadr A, Espigares J, et al. Study on the influence of leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) on the remineralization of enamel defects via micro-focus x-ray computed tomography and nanoindentation[J]. *Biomed Mater*, 2015, 10(3): 035007.
- [23] Kirkham J, Firth A, Vernals D, et al. Self-assembling peptide scaffolds promote enamel remineralization [J]. *J Dent Res*, 2007, 86(5): 426-430.
- [24] Lv X, Yang Y, Han S, et al. Potential of an amelogenin based peptide in promoting remineralization of initial enamel caries[J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(10): 1482-1487.
- [25] Han S, Fan Y, Zhou Z, et al. Promotion of enamel caries remineralization by an amelogenin-derived peptide in a rat model[J]. *Arch Oral Biol*, 2017, 73: 66-71.
- [26] Li QL, Ning TY, Cao Y, et al. A novel self-assembled oligopeptide amphiphile for biomimetic mineralization of enamel[J]. *BMC Biotechnol*, 2014, 14: 32.
- [27] Hao J, Zou B, Narayanan K, et al. Differential expression patterns of the dentin matrix proteins during mineralized tissue formation[J]. *Bone*, 2004, 34(6): 921-932.
- [28] Kuboki Y, Fujisawa R, Aoyama K, et al. Calcium-specific precipitation of dentin phosphoprotein: a new method of purification and the significance for the mechanism of calcification[J]. *J Dent Res*, 1979, 58(9): 1926-1932.
- [29] Stetler-Stevenson WG, Veis A. Bovine dentin phosphoprotein: calcium ion binding properties of a high molecular weight preparation[J]. *Calcif Tissue Int*, 1987, 40(2): 97-102.
- [30] George A, Bannon L, Sabsay B, et al. The carboxyl-terminal domain of phosphoprotein contains unique extended triplet amino acid repeat sequences forming

- ordered carboxyl-phosphate interaction ridges that may be essential in the biomineralization process[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(51): 32869-32873.
- [31] He G, Dahl T, Veis A, et al. Nucleation of apatite crystals *in vitro* by self-assembled dentin matrix protein 1[J]. *Nat Mater*, 2003, 2(8): 552-558.
- [32] Sikes CS, Wheeler AP. Surface reactive peptides and polymers: discovery and commercialization[M]. Washington DC: American Chemical Society Publications, 1991.
- [33] Boanini E, Fini M, Gazzano M, et al. Hydroxyapatite nanocrystals modified with acidic amino acids[J]. *Eur J Inorg Chem*, 2006, 2006(23): 4821-4826.
- [34] Hsu CC, Chung HY, Yang JM, et al. Influence of 8DSS peptide on nano-mechanical behavior of human enamel[J]. *J Dent Res*, 2011, 90(1): 88-92.
- [35] Yang Y, Lv XP, Shi W, et al. 8DSS-promoted remineralization of initial enamel caries *in vitro*[J]. *J Dent Res*, 2014, 93(5): 520-524.
- [36] Liang K, Xiao S, Shi W, et al. 8DSS-promoted remineralization of demineralized dentin *in vitro*[J]. *J Mater Chem B*, 2015, 3(33): 6763-6772.
- [37] Chung HY, Li CC, Hsu CC. Characterization of the effects of 3DSS peptide on remineralized enamel in artificial saliva[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2012, 6: 74-79.
- [38] Chung HY, Li CC. Microstructure and nanomechanical properties of enamel remineralized with asparagine-serine-serine peptide[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2013, 33(2): 969-973.
- [39] Sfeir C, Fang PA, Jayaraman T, et al. Synthesis of bone-like nanocomposites using multiphosphorylated peptides[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(5): 2241-2249.
- [40] Nijhuis AW, Nejadnik MR, Nudelman F, et al. Enzymatic pH control for biomimetic deposition of calcium phosphate coatings[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(2): 931-939.
- [41] Tartax PH, Doulaverakis M, George A, et al. *In vitro* effects of dentin matrix protein-1 on hydroxyapatite formation provide insights into *in vivo* functions[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(18): 18115-18120.
- [42] Padovano JD, Ravindran S, Snee PT, et al. DMP1-derived peptides promote remineralization of human dentin[J]. *J Dent Res*, 2015, 94(4): 608-614.
- [43] Wang Q, Wang XM, Tian LL, et al. *In situ* remineralization of partially demineralized human dentine mediated by a biomimetic non-collagen peptide[J]. *Soft Matter*, 2011, 7(20): 9673-9680.
- [44] Cao Y, Liu W, Ning T, et al. A novel oligopeptide simulating dentine matrix protein 1 for biomimetic mineralization of dentine[J]. *Clin Oral Investig*, 2014, 18(3): 873-881.
- [45] 刘巍, 曹颖, 沈军, 等. 牙本质基质蛋白-1仿生多肽的设计与评价[J]. *华西口腔医学杂志*, 2013, 31(4): 341-344.
- Liu W, Cao Y, Shen J, et al. Design and evaluation of a kind of biomimetic peptides of dentin matrix protein-1[J]. *West Chin J Stomatol*, 2013, 31(4): 341-344.
- [46] Hunter GK, Hauschka PV, Poole AR, et al. Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue proteins[J]. *Biochem J*, 1996, 317(Pt 1): 59-64.
- [47] Young MF, Kerr JM, Ibaraki K, et al. Structure, expression, and regulation of the major noncollagenous matrix proteins of bone[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1992(281): 275-294.
- [48] Ducy P, Desbois C, Boyce B, et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice[J]. *Nature*, 1996, 382(6590): 448-452.
- [49] Lee NK, Sowa H, Hinoi E, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton[J]. *Cell*, 2007, 130(3): 456-469.
- [50] In Y, Minoura K, Tomoo K, et al. Structural function of C-terminal amidation of endomorphin. Conformational comparison of mu-selective endomorphin-2 with its C-terminal free acid, studied by ¹H-NMR spectroscopy, molecular calculation, and X-ray crystallography[J]. *FEBS J*, 2005, 272(19): 5079-5097.
- [51] Hosseini S, Naderi-Manesh H, Mountassif D, et al. C-terminal amidation of an osteocalcin-derived peptide promotes hydroxyapatite crystallization[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(11): 7885-7893.

(本文编辑 张玉楠)