

咀嚼压力增强对大鼠牙槽骨白细胞介素-1 α 表达的影响

袁林¹, 袁伟东², 袁云凤³ (第一军医大学珠江医院¹ 口腔科袁肾内科袁广东 广州 510282; 华西医科大学口腔医学院 袁四川 成都 610041)

摘要目的 检测大鼠牙槽骨成骨细胞中 IL-1 α 在正常及增强咀嚼压力状态下的动态表达袁探讨 IL-1 α 在牙槽骨改建中的分子机制遥方法 采用 H-E 染色和免疫组化的方法袁观察牙周形态变化以及牙槽骨成骨细胞中 IL-1 α 蛋白表达遥结果 生理限度内咀嚼压力增强时袁形态学显示大鼠牙周膜增宽袁牙槽骨新骨形成袁免疫组化观察到成骨细胞中 IL-1 α 表达较正常咀嚼压力时明显增强遥结论 咀嚼压力增强促使牙周组织产生 IL-1 α 明显增多袁诱发了破骨功能袁同时袁还激活了成骨功能遥提示 IL-1 α 在咀嚼压力影响牙槽骨改建的过程中起着重要的调节作用遥

关键词咀嚼压力; 白细胞介素-1 α ; 牙槽骨改建; 免疫组化

中图分类号 R33-33 文献标识码 A 文章编号 000-2588(2001)04-0276-03

袁林¹, 袁伟东², 袁云凤³ (第一军医大学珠江医院¹ 口腔科袁肾内科袁广东 广州 510282; 华西医科大学口腔医学院 袁四川 成都 610041)

YUAN Lin¹, ZHOU Wei-dong², ZHAO Yun-feng³

(Department of Stomatology¹, Department of Nephrology², Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; ³Department of Prosthodontics³, Stomatological College, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract Objective To explore the molecular mechanism of alveolar bone remodeling by studying the dynamic changes of IL-1 α expression in rat alveolar bone osteoblasts. Methods A rat model of increased bite force of the back teeth were established, and the expression of IL-1 α in the alveolar bone osteoblasts were determined by HE staining and immunohistochemistry. Observation of the changes in the histological morphology of the periodontium was conducted microscopically. Rats with normal bite force served as control. Results The increase of bite force (within the physiological limit) induced the widening of the periodontal ligament and the osteogenesis in the alveolar bone. Significant enhancement of IL-1 α expression was observed in the osteoblasts of rats with increased bite force, in comparison with that in the rats with normal bite force. Conclusion Increased bite force causes higher expression levels of IL-1 α in the alveolar bone osteoblasts, initiating the destruction process of the bone but simultaneously the activation of the ossification, suggesting that IL-1 α plays an important role in the regulation of periodontium remodeling in response to changes in the bite force.

Key words bite force; interleukin-1 α ; alveolar bone remodeling; immunohistochemistry

白细胞介素-1 α (IL-1 α) 是一种具有多种生物学活性的细胞因子袁在炎症和免疫反应中发挥重要的调节作用遥同时袁 IL-1 作为一种破骨细胞活化因子 (RANKL) 而引起口腔学者们的关注袁 E 致力于研究它刺激骨吸收的作用是否与口腔的牙槽骨改建有关遥

大量体外实验证实袁它能引起细胞的生物力学反应及结构的改变袁牙槽骨的改建与此密切相关遥但目前国内尚未见咀嚼压力改变对牙槽骨 IL-1 α 表达变化的影响及牙槽骨改建的体内实验报道遥本实验观察了咀嚼压力增强后袁大鼠牙周组织中 IL-1 α 表达的动态变化袁初步探讨了 IL-1 α 在咀嚼压力增强作用下影响大鼠牙槽骨改建的分子机制遥

1 材料和方法

收稿日期 000-10-18

作者简介 袁林 1966 年袁女袁 1989 年毕业于华西医科大学口腔医学院袁讲师袁电话 020-84312070袁 e-mail: gz.yuanlin@fmmu.edu.cn 袁

1.1 动物模型的建立和组织标本的制备

选用 80 只 10 周龄成年雄性 Wistar 大鼠袁随机等量地分为对照组袁正常咀嚼压力袁和实验组遥实验组拔除 B 区所有磨牙遥这样袁实验组动物的 D 区磨牙因丧失对颌牙导致咀嚼压力丧失袁而 C 区磨牙功能代偿性增强导致咀嚼压力增强遥两组动物分别在实验后 6 h, 1 d, 2 d, 3 d, 1 周, 2 周, 4 周各处死 5 只大鼠袁采用 40g/L 多聚甲醛心内灌注的方式行内固定遥取出动物下颌相应骨段袁保留磨牙区袁置于 40g/L 多聚甲醛中巩固固定 6 h 遥将标本移至 EDTA 中脱钙 2 周遥梯度乙醇脱水袁石蜡包埋遥

1.2 实验方法

1.2.1 组织形态学观察 取相应切片进行 HE 染色袁在光学显微镜下观察牙周形态变化袁并用显微标尺对牙周膜宽度进行测量遥每个标本选第一磨牙牙根为观察对象袁近远中侧牙周膜根中 1/3 区各取 3 处进行测量袁取平均值遥

1.2.2 免疫组化 IL-1 单抗克隆抗体美国 SantaCruz 公司 96 孔板 ABC 试剂盒美国 Vector 公司常规免疫组化染色 AB 显色 已知有 IL-1 表达的应激大鼠脾组织作阳性对照 以封闭血清代替一抗作阴性对照

1.3 图像分析

每个标本均选第一磨牙牙根为观察对象 采用 MIAS-2000 型图像分析仪测量实验组和对照组各时间点牙周膜染色强度

1.4 统计学处理

结果用 t 检验进行统计学分析

2 结果

2.1 组织形态学

对照组大鼠牙槽骨骨壁较平 表面衬以连续排列的扁平成骨细胞 实验组 2 周时牙槽骨骨壁凹凸不平 有活跃的骨吸收陷窝 其内可见破骨细胞 同时可见交替出现的骨形成区 成骨细胞胞核较大 3 周时牙槽骨骨壁较平 骨形成区更加明显 破骨细胞数量大大增加 破骨细胞明显减少

2.2 免疫组化

对照组大鼠牙周膜成纤维细胞和牙槽骨成骨细胞能稳定表达 IL-1 其免疫阳性信号位于胞质内 且表达强弱在各时间点无明显变化 实验组牙周膜表达 IL-1 阳性强度均明显高于对照组 且表达有一定的时间规律 1 d 后出现较明显的变化 随后阳性染色强度逐渐增大 2 周达高峰 然后逐渐减小 3 周时基本恢复正常 实验组 1 周时观察到成骨细胞以及牙槽骨松质骨髓腔间质中均明显表达 IL-1 3 周时最强 4 周时明显减弱

表 1 对照组和实验组不同时间牙周膜 IL-1 免疫组化染色灰度差值

Time	Group	
	Control	Test
6 h	10.5917	10.9589
1 d	10.3203	13.7162*
2 d	10.1384	19.1043**
3 d	10.7462	26.4058**
1 w	11.3261	32.6967**
2 w	11.0523	38.0029**
3 w	10.8270	26.6417**
4 w	10.5497	13.6492*

*0.01 < P < 0.05, ** P < 0.01 与 control group 比较

3 讨论

IL-1 是一种多功能的细胞因子 在体内可由多种组织细胞产生 1983 年 Gowen 首先报道 IL-1 作为一种骨吸收刺激因子 在体外能促进骨的吸收 大量

体内和体外研究均证实了它在骨吸收中的作用

本实验发现 正常咀嚼力状态下 大鼠牙槽骨成骨细胞能稳定表达 IL-1 咀嚼压力增强时 破骨细胞表达 IL-1 较对照组明显增强 周时成骨细胞表达 IL-1 明显增强 2 周达最大 随后逐渐减小 提示咀嚼压力的增强诱导了成骨细胞产生 IL-1 明显增加 同时咀嚼压力增强后 周时牙周膜宽度明显增加 牙槽骨骨壁凹凸不平 有活跃的骨吸收陷窝 其内可见破骨细胞 同时可见交替出现的骨形成区 破骨细胞胞核较大 周时牙槽骨骨壁较平 骨形成区更加明显 破骨细胞数量大大减少

力在骨改建过程起着重要的作用 大量研究表明 适宜的机械力是维持正常骨改建所必需的 力的作用过大或无力的作用 均会引起骨量的明显减少 力作用于成骨细胞能产生 IL-1 和 PGE2 IL-1 又可作用于成骨细胞使其产生 PGE2 IL-6 和 TNF- α 而 PGE2 IL-6 和 TNF- α 对骨吸收均有重要作用 IL-1 能促进骨髓细胞形成破骨细胞 还可诱导成熟的破骨细胞活化以及促进破骨细胞前体的分化成熟 研究认为 IL-1 在 IL-1 调节牙槽骨的改建过程中 其机械信号转化为细胞的生化信号的可能途径是 1) 磷酸肌醇途径 2) cAMP 途径 3) 作为第二信使的 Ca²⁺ 途径

综上所述 由于牙周组织的特殊结构 牙周膜和牙槽骨密切相连 在咀嚼压力的作用下 牙周膜将力传递至牙槽骨上 咀嚼压力除直接对牙槽骨的成骨细胞产生作用影响牙槽骨的改建外 还能促进牙槽骨中的成骨细胞和牙周膜中的成纤维细胞产生明显增多的 IL-1 IL-1 通过自分泌和旁分泌的方式 与成骨细胞 破骨细胞间产生复杂的相互作用 首先激活破骨过程 同时还促进成骨过程的增强 参与牙槽骨的代谢 影响牙槽骨的改建

参考文献:

啗 暂 Hasegawa S, Sato S, Saito S. Mechanical stretching increases the number of cultured bone cells synthesizing DNA and alter their pattern of protein synthesis. *Calcif Tissue Int*, 1985, 37: 431-6.

啗 暂 袁 林, 赵云凤, 周伟东. 咬合力与大鼠牙周组织改建关系研究中动物模型的建立. *实用口腔医学杂志*, 2000, 16: 99-201

啗 暂 Gowen M, Wood DD, Ihrie EJ. An interleukin-1-like factor stimulates bone resorption. *Nature*, 1983, 306: 378-80.

啗 暂 Globus PK, Bikle DD, Morey-Holton E. Effect of stimulated weightlessness on bone mineral metabolism. *Endocrinology*, 1984, 114: 2264-70.

啗 暂 Saito M, Shigeru S, Peter W. Interleukin 1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 1991, 99: 226-40.

响暂Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH. IL-6 is produced by osteoblasts and induce bone resorption. *响暂Immunol*, 1990, 145: 3297-303.

响暂Ngan PW, Crock B, Varghose J. *响暂* Immunohistochemical assessment of the effect of chemical and mechanical stimulation on AMP and prostaglandin E levels in human gingival fibroblast. *圣世响暂Arch Oral Biol*, 1988, 33: 163-74.

响暂Stroh H, Irvine RF, Berridge MJ. *响暂* release of Ca^{2+} from an nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1, 4, 5-trisphosphate. *响暂Nature*, 1983, 306: 67-8.

响暂Sandy JR, Farndale RW. Second messengers: regulators of mechanically-induced tissue remodeling. *响暂Euro J Orthod*, 1993, 13: 271-8.

责任编辑 段咏慧 冤

脑灰质异位症 6 例报告

徐忠平 袁惠芳 袁振华 渊第一军医大学珠江医院神经内科袁广东 广州 510282 冤

关键词 脑灰质异位 癫痫 核磁共振

中图分类号 院742 文献标识码 院 文章编号 院000-2588 渊001 冤4-0278-01

脑灰质异位渊eteropic gray matter 冤HGM 冤是神经元移行异常的一种遥本文报告我院 1990~2000 年经 MRI 确诊的 6 例 HGM 遥

1 临床资料

1.1 一般资料

本组男女各 3 例袁年龄 18~30 岁遥门诊 2 例袁住院 4 例袁其中手术 1 例遥 例均有难控制癫痫袁发病年龄 14~28 岁遥癫痫发作类型包括强直-阵挛发作 4 例袁精神发作 1 例袁单纯部分性感觉性发作 1 例遥 例智能发育迟滞袁 例智能发育正常袁 例无记载遥 2 例有局灶运动功能损害袁 例正常袁 例无记载遥 3 例 EEG 异常袁 例正常袁 例无资料遥

1.2 MRI 检查

本组 MRI 显示异位板型 2 例袁结节型加板型 2 例袁结节型加带型 1 例袁带型 1 例遥 T_1 和 T_2 呈现稍长信号袁与脑皮质类似遥向脑室内生长者袁呈现类似脑回的起伏遥脑室变形遥无占位效应袁增强扫描病灶无强化遥伴发胼胝体发育不良 2 例袁脑裂畸形 2 例袁巨脑回畸形 1 例遥

1.3 手术治疗

手术患者 1 例袁男袁0 岁袁频繁强直-阵挛发作 16 年袁右侧轻偏瘫袁无病理征袁智能障碍遥MRI 示左顶叶片状灰质异位伴脑裂畸形遥术前视频 EEG 可见 3 耀 Hz 中波幅慢波活动遥术中见中央沟旁外侧裂较宽大袁缘上回上部脑沟宽深袁有较粗大动静脉穿入遥术前皮层电极 EEG 广泛棘波发放袁异常脑裂附近最重遥行海马深部电极检测袁有明显棘波放电遥手术吸除部分异位灰质袁术后皮层电极 EEG 较术前棘波放电明显减少遥病理报告:异位灰质的皮质组织结构存在袁神经细胞变性袁固缩袁胶质细胞增生袁胶质小节形成遥术后癫痫发作时程缩短袁发作频率无明显减少遥

2 讨论

在胚胎发育 3~5 个月时袁脑室表面的生发基质内的神经

母细胞袁沿着放射状的神经胶质向外移行遥此时袁有缺血袁感染等不良因素袁导致移行过程异常遥包括移行未发生袁移行中途停止和移行完成但灰质分布结构异常遥神经母细胞在移行中途停止袁在室管膜和软膜之间任何位置形成异位灰质袁均为 HGM 遥

HGM 的病变形态在 MRI 影像中显示清楚袁分为 3 型: 1. 结节型: 呈团块状袁位于室管膜下; 2. 板型: 呈大片状袁位于白质内; 3. 带型: 在室管膜和皮质之间延伸遥病灶可为单发或多发袁常合并巨脑回袁小脑回袁脑裂畸形和胼胝体发育不良等遥程度与移行异常发生的早晚有关袁发生早袁则严重袁合并其他畸形袁癫痫发生时间早袁症状重袁控制困难; 发生晚袁则较轻袁并其他畸形少袁癫痫发生晚袁症状轻遥遥琼香等^{渊1)}报告 12 例 HGM 发病年龄为 1 个月~9 岁袁其中 11 例合并脑发育畸形遥本组癫痫发病年龄 14~28 岁袁合并脑发育畸形 5 例袁各有不同遥

HGM 的基本临床特征包括渊1) 频繁癫痫发作; (2) 精神发育迟滞; (3) 运动系统受损遥但上述临床表现不具有特异性袁诊断主要依靠影像学遥MRI 的 T_1 尧 T_2 和质子加权项袁信号强度均与皮质类似袁再辅以增强扫描袁可以排除结节性硬化尧室管膜下肿瘤等遥新生儿脑内可见异位神经元袁但其很快即退化或完成移行袁在生后数月内消失袁并非真正的 HGM 遥遥 IGM 与癫痫的关系已受到重视袁尚无证据表明 HGM 是癫痫发作的直接原因遥因为癫痫的病因复杂多样袁而 HGM 患者可以长期潜伏而不发病袁病因研究困难遥

HGM 患者的治疗袁要以药物控制癫痫发作袁疗效肯定遥对单发尧局灶性患者可以考虑手术遥本组手术患者袁符合上述条件袁但手术疗效并不理想袁不能说明手术吸除的异位灰质病灶就是致病灶遥病理结果显示异位灰质内的神经细胞变性袁固缩遥孔圣钢等^{渊2)}报道异位灰质神经元镜检与正常灰质并无差异袁与本例结果不同遥

参考文献

响暂王国瑾, 盛绍文. 神经元移行异常. *响暂中华神经精神科杂志*, 1993, 26: 74-5.

响暂翟琼香, 黄 彪, 李增清, 等. 脑灰质异位症与难治性癫痫. *响暂中国神经精神疾病杂志*, 1998, 24: 39-41.

响暂Barkovich AJ, Chuang SH, Norman D. MR of neuronal migration anomalies. *响暂AJR Roentgenol*, 1988, 150(1): 79-87.

响暂孔圣刚, 孔祥泉, 童萼堂, 等. 脑灰质异位症的临床表现与磁共振成像. *响暂中华神经科杂志*, 1996, 29: 3-5.

收稿日期 院000-08-16

作者简介 徐忠平 渊964 冤男袁 袁987 年毕业于第二军医大学袁主治医师 电话 院20-85143744