

# 正畸牙齿移动刺激信息传导通路的 动物实验研究

冯雪 王凌 林珠 段银钟

**摘要** 目的:研究丘脑腹后内侧核(VPM)是否接受来自三叉神经脊束核尾侧亚核(Vc)传入的牙齿移动性刺激信息,从而探讨牙齿移动引起的伤害性刺激信息在中枢神经系统内的感觉传导通路。方法:用微量注射器将2%荧光金(FG)注入大鼠VPM 4~6 d后,进行对侧的实验性牙齿移动2 h,用FOS蛋白免疫组化方法观察Vc内神经元对c-fos的表达以及是否存在FG与FOS双重阳性的神经元。结果:FOS阳性神经元密集分布于同侧Vc浅层,呈带状,背外侧居多;FG逆行标记的神经元主要见于对侧三叉神经感觉核簇的脊束核及感觉主核,Vc的全长均有FG标记细胞,主要分布于层、-层交界处。在Vc各层内均有FG与FOS的双标记细胞,约占Vc内FG逆行标记细胞总数的5%。结论:牙齿移动性刺激信息在Vc内中继,Vc向VPM有投射神经元,VPM可能是牙齿移动性刺激信息由Vc上行传递的一个中继站。

**关键词** 丘脑腹后内侧核 三叉神经脊束核尾侧亚核 牙齿移动 荧光金 FOS蛋白

## A Study of Sensory Pathway in Central Nervous System of Experimental Tooth Movement in Rats

Feng Xue, Lin Zhu, Duan Yinzong

Department of Orthodontics, Qindu Stomatological College

Wang Ling

Institute of Neuroscience, the Fourth Military Medical University

### Abstract

**Objective:** To investigate whether ventral posteromedial thalamus nucleus (VPM) receive the stimulation from experimental tooth movement in rats through the conduction of spinal trigeminal caudal nucleus (Vc), thus to study the central sensory pathway of tooth movement. **Methods:** 2% fluorogold (FG) was injected into rat's VPM using microinjector through retrograde tracing technique. After 4~6 days, the experimental tooth movement was conducted in contra-side against FG injection. 2 hours later, animals were sacrificed and FOS protein immunocytochemical reaction was conducted. The sections were observed under Olympus fluorescence microscope. **Results:** FOS immunocytochemical-positive neurons were densely distributed in epilateral superficial layer of Vc, being belt-like with more in dorsolateral 2 hours after experimental tooth movement; FG-labeled neurons were found in Vc and principle trigeminal nucleus complex, especially within the whole length of Vc, with more in layer and the junction of layers and . There were both FOS immunocytochemically positive and FG-labeled neurons, approximately 5% of the whole FG-labeled neurons. **Conclusion:** As a special oro-facial stimulation, there are corresponding parts in the central nervous system according to tooth movement. The stimulating message intergrated in Vc and Vc has projective neurons to VPM, and VPM might be a relay station of the stimulating message of experimental tooth movement in rats.

**Key words:** ventral posteromedial thalamus nucleus spinal trigeminal caudal nucleus tooth movement fluorogold FOS protein

信号传递至高位中枢<sup>1</sup>。一般认为丘脑腹后内侧核(VPM)是接受来自Vc传入信息的高位中枢,并投射到大脑皮层的感觉区<sup>2,3</sup>。为了进一步证实牙齿移动引起的伤害性刺激在中枢的感觉传导通路,本文利用荧光逆行追踪方法对此进行研究。

### 1 材料和方法

雄性SD大鼠(体重180~250g)8只,动物在安静环境中饲养48h以上。分为VPM注射组(6只)和对照组(2只)。

实验组大鼠以戊巴比妥钠(40mg/kg体重)腹腔注射麻醉,麻醉后将之固定在脑定位仪上,按Toyotoc图谱定位RZ=3.3,用微量注射器将2%荧光金(FG,用0.9%NaCl液配制)1μl注入左侧丘脑腹后内侧核区。动物在安静环境中存活4~6d后,将不锈钢螺簧拉于大鼠右侧第一磨牙与切牙之间,力值约40g。2h后,再次腹腔注射1%戊巴比妥钠(60mg/kg体重)深度麻醉,灌流,固定,取材,冰冻连续切片,片厚30μm。将切片移放入含0.3%Triton X-100的0.01mol/L PBS内30min;入FOS一抗(1:1000,北京中山生物技术公司)<sup>4</sup>,孵育48h;入链卵白素结合的Texas Red(TR,北京中山生物技术公司)<sup>4</sup>,孵育12h;以上几个步骤之间均以0.01mol/L PBS漂洗3次,每次10min。所有步骤均在避光的湿盒内进行;切片经0.01mol/L PBS充分漂洗后裱于载玻片上,用1:1甘油和PBS混合液封片;Olympus荧光显微镜观察、照相。波长360nm的紫外激发光用于观察FG发出的黄色荧光;波长550nm的绿色激发光用于观察TR发出的红色荧光。

对照组2只大鼠单纯注射FG,余处理过程同实验组。取接受刺激动物的部分切片用0.01mol/L PBS分别代替一、二抗,余反应同上。

### 2 结 果

TR标记的FOS阳性神经元形态多为圆形,密集地分布于同侧Vc浅层,呈带状,背外侧居多。Vc-层亦有少量FOS阳性神经元分布(图1)。

FG逆行标记的神经元主要见于对侧三叉神经感觉核簇的脊束核及感觉主核,Vc的全长均有FG标记细胞,主要分布于-层、-层交界处。-层零散分布。细胞形态为圆形、椭圆形、梭形,其长轴多与核浅层外缘平行(图2)。在Vc各层内均有FG与FOS的双标记细胞,约占Vc内FG逆行标记细胞总数的5%左右(图3)。

对照组用PBS代替FOS抗体及二抗,结果均为阴性。



图1 TR标记的FOS阳性神经元在Vc内的分布 ×20



图2 FG逆行标记神经元在Vc浅层内的分布 ×20



图3 FG与TR双标记神经元在Vc层分布 ×20

### 3 讨 论

原癌基因c-fos属于立即早期基因,即当外界信号引起细胞核内某些基因激活时,可以在数十分钟内作出反应,其表达的核磷蛋白(FOS)被认为是在外界刺激与转录耦联的信息转导过程中起着核内第三信使的作用。因而,FOS表达可作为中枢神经系统对伤害性刺激反应的标志,可用以判断不同刺激所涉及的细胞或脑区,追踪此刺激信号的通路。形态学上可通过原位杂交或免疫组化技术显示其基因或蛋白<sup>4</sup>。

以往的研究发现传导口面部伤害性刺激信息的初级传入纤维主要终止于Vc的-、-层<sup>5,6</sup>。Vc浅层内存在伤害性感受神经元。口面部的感觉传入特别是伤害性传入信息可兴奋这些神经元。本

文利用螺簧加力牵拉大鼠一侧磨牙,这种疼痛不适诱导神经元表达 FOS,主要位于 Vc 背外侧部的浅层。此区是痛觉感受神经元的分布区和三叉神经初级传入的终止部位。由于伤害性损伤引起的刺激持续性地作用于大鼠,所以,Vc 浅层内大量 FOS 阳性神经元的分布可能反映对特定外周感受野起反应的痛感受神经元空间区域的分布特征。当然,并非所有 Vc 内的神经元均属于痛感受神经元,动物的情绪、内脏反应等也可引起 FOS 阳性神经元表达<sup>7</sup>。Vc 浅层 FOS 阳性神经元的出现可能是该区痛感受神经元对伤害性刺激信息作出的先期应答,从而诱导迅速合成镇痛因子以适度缓解疼痛。

口面部伤害性刺激信息传入到大脑皮层的通路包括一系列的中继核团,第一级神经元是三叉神经节内的双极神经元;第二级神经元是三叉神经感觉核簇,特别是 Vc;第三级神经元在丘脑的腹后区<sup>8</sup>。丘脑是皮层下中枢,经 Vc 中继的口面部痛觉传入信息投射至 VPM<sup>9</sup>。FOS 与 FG 双标记神经元的出现证实 Vc 浅层(尤其是 层和 层交界处)内的部分痛觉神经元作为投射神经元发出轴突上行直接终止于对侧 VPM。这与以往的解剖学研究结果一致,即 Vc 内的投射神经元主要位于 层、层交界处。但接受口周严重的伤害性刺激并把这种刺激信号投射到丘脑的双标记神经元数量并不多。由此可以推论,部分 FOS 阳性神经元可能由非直接痛刺激因素诱导;大量的 FOS 阳性神经元也可能是投射到中枢的其它核区的神经元。Vc 背外侧部内的单标记神经元可能是接受其他部位如牙髓等感觉传入并向丘脑投射的神经元。

本实验结果提示 VPM 可能是正畸牙齿移动传入信息在中枢内转导的上位中枢,信息由 VPM 传

入大脑皮层进行整合,使机体作出相应的反应。从而推测大鼠正畸牙齿移动性刺激信息的传导通路可能是:矫治力 牙周膜内神经末梢 三叉神经上、下颌支 三叉神经节 三叉神经感觉核簇 (Vcx) VPM 或其它上位中枢 大脑皮层感觉区。

### 参考文献

- 1 Dong WK, Chudler EH, Kawakami Y, et al. Tooth pulp-evoked potentials in the trigeminal brainstem nuclear complex. *Brain Res*, 1990, 529(2):131~142
- 2 Burton H, Craig AD. Distribution of trigeminothalamic projection cells in cat and monkey. *Brain Res*, 1979, 161(3):511~521
- 3 Hu JW. Response properties of nociceptive and non-nociceptive neurons in the rat's trigeminal subnucleus caudalis related to cutaneous and deep craniofacial afferent stimulation and modulation by diffuse noxious inhibitory controls. *Pain*, 1990, 41(1):331~345
- 4 Kato J, Wakisaka M, Jabata M, et al. Induction of FOS protein in the rat trigeminal nucleus complex during an experimental tooth movement. *Archs Oral Biol*, 1994, 39(8):723~726
- 5 Wakisaka S, Sasaki Y, Ichikawa H, et al. Increase in c-fos-like immunoreactivity in the trigeminal nucleus complex after dental treatment. *Proc Finn Dent Soc*, 1992, 88(suppl):551~555
- 6 Hamba M, Muro M, Hirajdo T, et al. Expression of c-fos-like protein in the rat brain after injection of IL-1 into the gingiva. *Brain Res Bull*, 1994, 34(1):61~68
- 7 Bullitt E. Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *J Comp Neurol*, 1990, 296(4):517~530
- 8 Yokota T. *Advances in Pain Research and Therapy*. New York: Raven Press, 1985:211~232
- 9 Craig AD, Burton H. Spinal and medullary lamina projection to nucleus submedialis medial thalamus: a possible pain center. *J Neurophysiol*, 1981, 45(2):443~466

(1998-10-30 收稿,2000-03-31 修回)

### 口内颌骨牵引成骨技术学习班通知

由中华口腔医学会口腔颌面外科专业委员会正颌外科学组主办的2000年国家继续教育培训项目(项目编号2000-08-02-010)口内颌骨牵引成骨技术学习班将于2000年9月21日~9月24日在北京举办。学习班将邀请国际上著名颌面外科专家以及国内有关专家系统讲授颌骨牵引成骨技术的基础理论以及在牙颌面畸形矫治、颌骨重建、牙槽嵴升高、牙弓扩展等临床领域中的应用,并展示国内外有关厂家的口内颌骨牵引器。学习班将授予国家一类继续教育学分15分。凡愿参加该学习班者,请与北京医科大学口腔医学院正颌外科中心李自力联系(邮编100081,电话010-62179977转2296)。

中华口腔医学会口腔颌面专业委员会正颌外科学组