

## 基础研究 ·

# 18 三体腭裂小鼠颅上颌复合体发育的比较组织形态学研究

蔡志刚 Helmut von Domarus Eveley Engel

**摘要** 目的:研究 18 三体腭裂小鼠实验动物模型的颅上颌复合体组织学发育异常。方法:30 对胎鼠(每对包括 1 只正常胎鼠和 1 只与其体重相近的三体腭裂的胎鼠)的颅上颌复合体分别作序列连续切片(厚度 7  $\mu\text{m}$ ),再从每组序列切片中选择 6 张有特殊结构的特征切片,并借助显微形态学的研究手段对各特征切片中的特殊结构进行比较组织形态学观察研究。结果:该模型虽无原发腭裂却伴有原发腭的发育不足;腭裂组上腭骨性结构及鼻中隔内硬组织(包括鼻中隔软骨、鼻中隔旁软骨及犁骨等)呈现明显的发育障碍;腭裂样本伴有明显的腭咽闭合不全(VIP)鼻囊发育扁平。结论:18 三体腭裂小鼠颅上颌复合体的发育伴有严重的硬组织发育障碍和不足,可能与其常染色体三体密切相关。

**关键词** 18 三体小鼠 腭裂 颅上颌复合体 比较组织形态学

## Comparative Histomorphological Study on the Craniomaxillary Development of the Trisomy-18 with Cleft Palate and Euploid Mice

Cai Zhigang

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Stomatology, Beijing Medical University*

Helmut von Domarus, Eveley Engel

*Hospital of Maxillofacial Surgery, Luebeck Medical University, Germany*

### Abstract

**Objective:** The aim of this study is to compare histological morphology of craniomaxillary complex of Trisomy 18 with cleft palate (Ts + CP) and euploid mouse fetuses to understand whether cleft palate is associated with maldevelopment of the craniomaxillary complex or with hypoplasia of the adjacent tissues. **Methods:** Thirty pairs of Ts + CP and euploid mouse fetuses with about equal body weight were selected, and sixty craniomaxillary complex were precisely orientated in the coronal plane, then serially sectioned with 7  $\mu\text{m}$  thickness through the primary palate, the whole hard palate and the soft palate. Finally six sections were selected for comparative histomorphological study based on anatomical landmarks. **Results:** The trisomy with cleft palate mouse fetuses had significantly developmental hypoplasia in the primary palatal shelves. The palatal shelves, vomer, palatal bone and nasal septal cartilage in cleft samples showed significantly developmental hypoplasia with a relatively wider nasal septum, nasal capsule and a bigger nasal airway volume, nasopharyngeal cavity. **Conclusion:** The hard tissues of the craniomaxillary complex in Ts + CP mouse fetuses, including bone and cartilage show serious maldevelopment or developmental hypoplasia, and these may be closely related to the autosomal trisomic condition.

**Key words:** trisomy-18 mouse cleft palate craniomaxillary complex comparative histomorphology

德国吕贝克医科大学培育出的 18 常染色体三

作者单位:100081 北京医科大学口腔医学院口腔颌面外科  
(蔡志刚),德国吕贝克医科大学颌面外科(Helmut von Domarus, Eveley Engel)

体小鼠有着较高的先天性腭裂发生率,为系统研究三体所致腭裂的颅上颌复合体发育畸形提供了有利条件。本研究的目的是通过对比研究 18 三体腭裂胎鼠和正常胎鼠的颅上颌复合体的组织形态,进一步认识该腭裂模型的形成机制。

### 1 材料和方法

#### 1.1 研究材料

60只 Har-NMRI 母鼠及 11 只具有 Rb(2. 18)6 Rma/Rb(1. 18)Rma 染色体结构的雄鼠被用于该研究,在胚龄 16 及 17 d 共获得 569 只子代活胚。经染色体分析后,从 569 只活胚中选择 30 对胎鼠作为研究对象,其中每对包括 1 只正常(二倍体)胎鼠(euploid)和 1 只与正常胎鼠体重相近的 18 三体腭裂的胎鼠(Ts18 + CP)(体重在由于固定而完全脱水后测定)。30 对胎鼠的选择遵循以下条件每组各选 10 对:组,10 对样本均为胚龄 16 d; 组,10 对样本中,三体小鼠胚龄为 17 d,正常小鼠胚龄为 16 d; 组,10 对样本均为胚龄 17 d。

#### 1.2 方法

1.2.1 组织学切片的制备 所有标本在充分固定、脱水处理后,在立体显微镜下将 60 只鼠胚头自口裂水平解剖,分为颅上颌复合体和舌下颌复合体。将 60 只颅上颌复合体包埋于石蜡,分别作 7μm 厚序列连续冠状切片(n = 25075),再从每组序列切片中选择 6 张有特殊解剖结构的特征切片,并借助显微形态学的研究手段对 30 对样本的各特征切片中的特殊结构进行比较组织形态学观察研究。

1.2.2 特征平面切片的选择及观察内容 根据特殊的解剖标志,通过对每组颅上颌序列冠状切片的连续观察,从颅上颌复合体前部向后部依次确定以下 6 个特征平面:

原发腭与继发腭交界平面 该平面继发腭腭突上皮与原发腭上皮首次出现接触,主要观察比较的解剖结构包括原发腭、鼻囊、鼻中隔复合体(包括鼻中隔软组织、鼻中隔软骨、Jacobson 氏器官、鼻中隔旁软骨)和鼻腔通气道等。

硬腭前平面 该平面确定标准为鼻中隔内犁骨横截面积最大,主要观察比较的解剖结构包括继发腭腭突、鼻囊、犁骨、鼻中隔软组织、鼻中隔软骨和鼻腔通气道等。

鼻腔后平面 该平面鼻腔和咽腔开始分离成两个独立腔隙,主要观察比较的解剖结构包括继发腭腭突、鼻囊、鼻中隔软组织、鼻中隔软骨和咽腔通气道等。

硬腭中平面 该平面以继发腭腭突内上颌骨骨性结构(包括上颌骨的腭突及齿槽突两部分)的横截面面积最大为确定标准,主要观察比较的解剖结构包括继发腭腭突及其内的上颌骨腭突及齿槽突、鼻囊、鼻中隔软骨和咽腔通气道等。

硬腭后平面 该平面以继发腭腭突内腭骨骨性结构(包括腭骨的水平突及锥突两部分)的横截面面积最大为确定标准,主要观察比较的解剖结构包括继发腭腭突及其内的腭骨的水平突及锥突、鼻囊和咽腔通气道等。

软腭平面 该平面确定以蝶骨体与蝶骨眶突翼板开始成角为确定标准,主要观察比较的解剖结构包括继发腭腭突、软腭部和咽腔通气道等。

### 2 结果

所有样本(包括腭裂组和非腭裂组)的双侧腭突在胚龄 16 d 即已完成从垂直向旋转抬高成水平,差别仅在于整倍体非腭裂小鼠的双侧腭突此时在中线部位已完全融合,而腭裂组却在中线处不融合,形成裂隙。并且腭裂裂隙仅累及硬腭和软腭,不侵及原发腭。在原发腭及继发腭交界平面,腭裂组与非腭裂组的鼻中隔上皮和双侧腭突上皮均开始融合。然而,原发腭的形态在腭裂组仍呈现明显的变异,表现在原发腭与鼻中隔连接处有一个明显的缩窄。同时在此平面 Jacobson 氏器官在腭裂组与对照组形态上无明显差异。但鼻中隔旁软骨在腭裂组却呈现发育不足。

在硬腭前平面,18 三体腭裂小鼠的犁骨发育与整倍体相比较也呈现明显的变异,主要表现在其形态不如整倍体的规则,横截面积明显小,有的还在中线处无骨性连接,分成两部分(图 1)。同时发现腭裂组鼻中隔下部向两侧鼻腔膨出,从而使鼻中隔底部在腭裂组明显变宽。

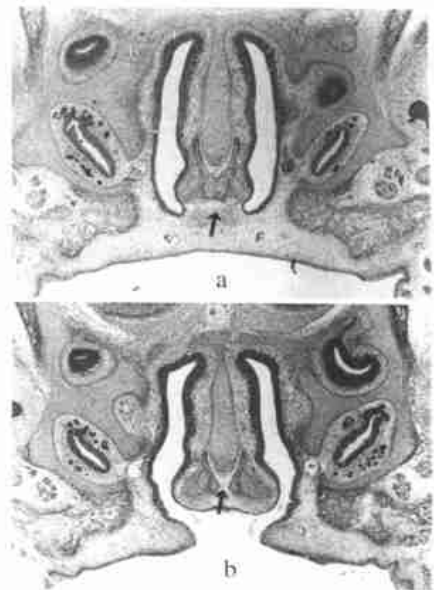


图1 硬腭前平面

a 非腭裂组 b 腭裂组

腭裂小鼠还伴有上颌骨腭突的明显发育不足,有的几乎完全缺如。三体腭裂小鼠伴有明显的双侧腭骨发育障碍,特别是腭骨的水平板呈现严重的发育不足(图 2)。腭裂小鼠整个腭骨的形状和大小在硬腭后平面均呈现明显的变异。

腭裂组咽腔通气道横截面积在硬腭后平面和

软腭平面均明显较非腭裂组大(图 2、3);硬腭区鼻上颌复合体的高度在腭裂组也呈现明显的发育不足,整个鼻囊在以上 4 个平面均呈现明显扁平。在非腭裂组,双侧腭突中线表层上皮已完全消失,双侧腭突的上皮细胞团开始融合,但双侧腭突上皮的融合界仍清晰可见(图 4-a);腭裂组双侧腭突中线上皮层明显变薄(图 4-b 细箭头示),但各自仍连续互不融合,双侧腭突内均可见孤立的卵圆形上皮团(图 4-b 粗箭头示)。

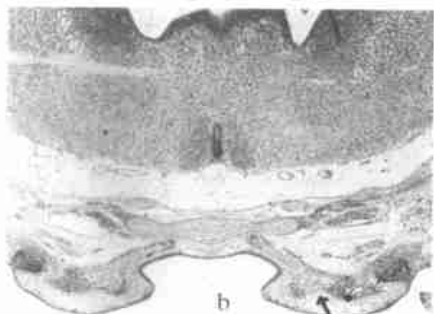
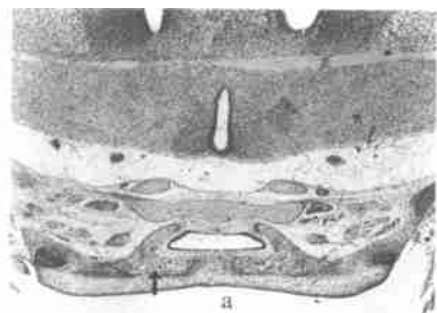


图 2 硬腭后平面  
a 非腭裂组 b 腭裂组

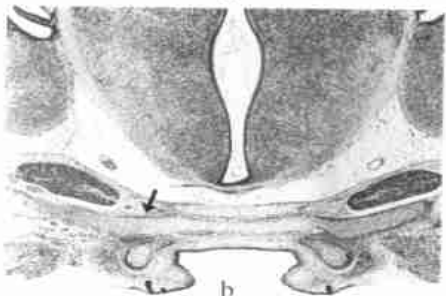
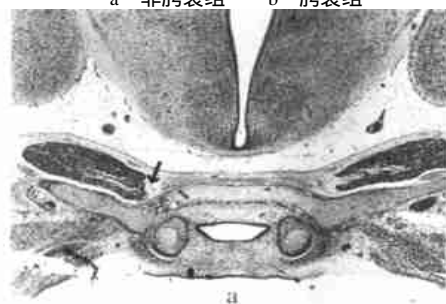


图 3 软腭平面  
a 非腭裂组 b 腭裂组

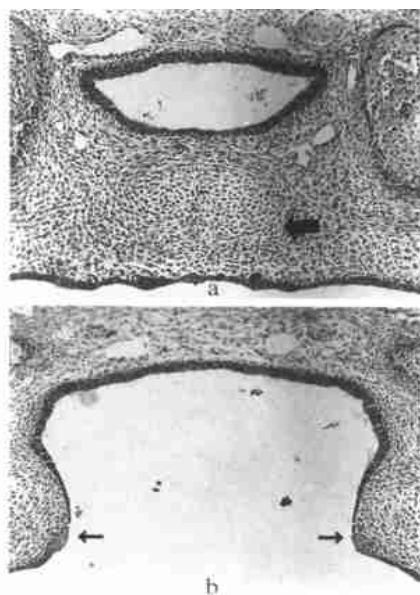


图 4 整倍体及 18 三体腭裂小鼠软腭平面腭突发育的组织形态学表现  
a 整倍体 (Euploid) b 18 三体伴腭裂 (Ts + CP)

### 3 讨 论

自从 Reed 等首先在先天性腭裂研究中使用 A 系小鼠以来,大量关于先天性腭裂敏感性的动物实验已经在诸多不同鼠系展开<sup>1</sup>。关于腭突的形成及继发腭的关闭,不同的学者提出了许多不同的假说<sup>2</sup>,然而这些观点不可能在利用外界致畸因素所获得的腭裂动物模型上得以阐明,因为这种动物模型难以控制外界因素对整个系统的影响。这就意味着这样的动物模型所能提供的实验结果不能完全反映人类在同一发育过程出现的情况。另外,人类常染色体三体疾患,如 Patau 综合征、Edward 综合征和 Wolf-Hirschhorn 综合征等均伴有先天性腭裂,这类疾病的发生机制也有待于进一步研究。所以,进一步了解先天性腭裂的遗传学基础,寻求一个没有任何外界致畸因素参与的先天性腭裂的动物模型是必要的。

德国生物学家 Gopp 等<sup>3,4</sup> 成功培育出常染色体三体 (trisomy, Ts) 小鼠,其过量基因势必导致一系列发育畸形,而体重及身长的发育不足是三体小鼠最常见的发育畸形,其它常见的生长发育畸形则多见于颅颌面或其生长发育较敏感系统。18 三体 (Ts 18) 小鼠具有较高的腭裂发生率, Grützacher<sup>5</sup>、Matthiesen<sup>6</sup> 和 Hamann<sup>7</sup> 等的研究表明,18 三体小鼠先天性腭裂的发生率分别为 55%、

57.7%和60.7%。为更好地了解常染色体三体与先天性腭裂的发病关系提供了可靠的动物模型。其中 Grützacher<sup>5</sup> 1986年率先在该先天性腭裂小鼠实验动物模型上研究了微量元素锌对先天性腭裂发生率的影响;继而 Matthiesen<sup>6</sup> 又用该模型研究了糖皮质激素对先天性腭裂发生率的影响; Hamann<sup>7</sup> 则在该模型上研究了18三体腭裂小鼠颅底骨发育的情况,认为与正常小鼠无明显差异;作者基于以上研究也对该模型的腭周相关组织的生长发育作了组织形态学研究。

本研究结果表明,18三体 NMRI 腭裂小鼠的发病原因可能主要是由于腭突发育不足,因为在该模型中所有腭裂样本的两侧腭突均已旋转至水平位,且发现腭突中线表层上皮虽双侧未融合,但却明显变薄。该腭裂模型上腭骨性结构,包括上颌骨的腭突及腭骨的水平板均呈现明显的发育障碍,从而使两侧腭突不能融合造成腭裂。与以往的研究结果相比较,该模型原发腭虽未裂开,但在冠状切片上也可见明显的缩窄现象,即该模型可能有原发腭的发育不足;在该模型中腭裂样本鼻咽通气道的明显增大符合临床腭裂患者常见的腭咽闭合不全(VIP);鼻囊的发育扁平也符合临床唇腭裂患者的外鼻发育畸形。而该模型鼻中隔的发育规律则与文献报道的结果有所不同,鼻中隔内硬组织(包括鼻中隔软骨、鼻中隔旁软骨及犁骨等)呈现明显的发育不足,而 Jacobson 器官的发育则与正常对照无明显差别,以上结果与 Mooney 等<sup>8</sup> 报道的腭裂样本鼻中隔以增生变化为主的结果不相符合。该模型腭裂样本颅上颌复合体连续切片中,个别特征平

面鼻中隔软组织在接近腭突部有增宽的现象,实际上只是鼻中隔软组织轻度向双侧腭突生长所致。综上所述,18三体腭裂小鼠实验动物模型的颅上颌复合体的发育伴有严重的硬组织(包括骨和软骨)发育障碍和不足,可能与其常染色体的三体有密切的相关关系,从而也是导致其腭裂发生的主要原因。

### 参考文献

- 1 Johnston MC, Bronsky PT. Prenatal craniofacial development: new insights on normal and abnormal mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1995, 6(1): 25 ~ 79
- 2 Greene RM, Pratt RM. Developmental aspects of secondary palate formation. *J Embryol Exp Morph*, 1976, 36(3): 225 ~ 245
- 3 Gopp A, Winking H. Robertsonian translocations: Cytology, meiosis, segregation patterns and biological consequences of heterozygosity. *Symp Zool Soc Lond*, 1981, 47: 141 ~ 181
- 4 Gopp D, Gopp A, Winking H. Trisomy 18 of the mouse embryo. *Mouse News Letter*, 1981, 64(1): 70
- 5 Grützacher M. Beeinflussbarkeit der entstehung von gaumenspalten bei der trisomie 18 der maus durch parenterale zinkapplikation. *Med Diss Luebeck*, 1986
- 6 Matthiesen P. Die gaumenspaltbildung bei der trisomie 18 der maus unter systemischer cortisongabe. *Med Diss Mainz*, 1988
- 7 Hamann D. Untersuchung morphologischer veränderungen der schädelbasis und angrenzender strukturen an mäuseembryonen mit durch trisomie 18 induzierten gaumenspalten. *Med Diss Luebeck*, 1995
- 8 Mooney M, Siegel M, Kimes K, et al. Interior paraseptal cartilage development in normal and cleft lip and palate human fetal specimens. *Cleft Palate-Craniofac J*, 1994, 31(3): 239 ~ 245

(1999-09-29 收稿, 2000-03-22 修回)

### 中华口腔医学会召开牙周病分类研讨会的通知

经中华口腔医学会在京常务理事会讨论并批准,牙周病分类研讨会将于2000年11月16~17日在福州召开。会议由中华口腔医学会牙周病学专业委员会主办,福建医科大学附属口腔医院承办。研讨会的主要内容为:介绍1999年国际牙周病分类研讨会的内容;讨论符合中国国情的牙周病分类法;交流典型病例及讨论。凡需进一步信息及索取报名表者,联系地址如下:福州市杨桥中路246号(福建医科大学附属口腔医院)陈群、闫福华收,邮编:350002, Tel: (0591) 3700838, (0591) 3736426, Fax: (0591) 3700838, E-mail: ccq\_98@163.net fhyan@Pub5.fz.fj.cn

中华口腔医学会牙周病学专业委员会