

弱激光对正畸牙移动中牙周组织碱性成纤维细胞生长因子表达的影响

朱宪春 陈远萍 孙新华

摘要 目的:探讨弱激光照射对兔实验性牙齿移动过程中牙周组织碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达的影响。方法:18只大耳白兔按每组3只随机分为实验1、3、5、7、14、21 d组。2%戊巴比妥钠麻醉下于双侧上颌第一磨牙与切牙间拴结不锈钢螺簧,施力80 g。左侧为对照侧,右侧为实验侧,进行弱激光照射。通过免疫组织化学染色进行bFGF半定量分析。结果:经弱激光照射后,照射侧牙周组织中bFGF表达高于对照侧,照射侧张力区、压力区牙周膜中bFGF表达在5、7、14 d时较对照侧有显著性差异;照射侧张力区牙槽骨表面成骨区bFGF的表达在14 d时显著高于对照侧。结论:弱激光照射促进了牙周组织中bFGF的表达,促进了牙周组织的改建。

关键词 弱激光 牙齿移动 碱性成纤维细胞生长因子 免疫组织化学

A Study on Expression of Basic Fibroblast Growth Factors in Periodontal Tissue Following Orthodontic Tooth Movement Associated with Low Power Laser Irradiation

Zhu Xianchun, Chen Yuanping, Sun Xinhua

Department of Orthodontics, School for Stomatology, Jilin University

Abstract

Objective: The purpose of this study was to investigate the effects of low power laser on basic fibroblast growth factors (bFGF) expression in periodontal tissue during tooth movement. **Methods:** 18 white rabbits were randomly divided into 6 groups with 3 rabbits in each group, including groups of 1, 3, 5, 7, 14 and 21 days. Under an anesthesia condition by 2% pentobarbital sodium, the stainless coil springs were fixed between the first maxillary molar and the incisor producing the force of 80 g. The right side of maxilla was considered as the experimental group under the irradiation of low power laser with the left side as the control groups. The expression of bFGF was investigated half-quantitatively through immunohistochemical analysis. **Results:** The expression of bFGF in periodontal tissue with irradiation of low power laser was higher than the control side. There were significant differences among the 5, 7, and 14 day groups. In the tension area of the experimental side, the expression of bFGF in the osteoblastic surface of alveolar bone was characteristically greater than that of the control side. **Conclusion:** The laser of low power promotes the expression of bFGF in the periodontal tissue and alveolar bone remodeling.

Key words: low power laser tooth movement basic fibroblast growth factor immunohistochemistry

牙周组织碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是一种肝素结合蛋白较强的促分裂原,主要作用于起源于中胚层和神经外胚层的组织和细胞,bFGF分布于牙周组织中的成纤维细胞、血管内皮细胞、成骨细胞、未分化间充质

细胞以及细胞外基质中¹。研究发现bFGF可促进牙周组织的细胞增生和胶原合成,本实验应用具有生物刺激效应的弱激光照射正畸移动牙齿,以牙周组织中bFGF的表达作为指标,研究弱激光照射对正畸牙齿移动过程中牙周组织改建的影响。

1 材料和方法

选择体重 1.5 kg ±0.2 kg、雌雄兼有的大耳白兔随机分

本课题为吉林省科委资助项目(编号 970322)
作者单位:130041 吉林大学口腔医学院

为实验 1 d、3 d、5 d、7 d、14 d、21 d 组, 每组 3 只, 共 18 只。2%戊巴比妥钠(2 ml/kg)经耳缘静脉麻醉下, 于双侧上颌切牙与第一磨牙间拴结不锈钢螺簧, 以上颌切牙作为支抗牙, 牵上颌第一磨牙向近中移动, 施以 80 g 力, 右侧为实验侧, 左侧为对照侧。

将实验组动物右侧颊部备皮, 进行 He-Ne 激光和 CO₂ 激光的局部照射, 照射右上颌第一磨牙区域, He-Ne 激光波长为 632.8 nm, 激光功率为 0.02 W, 照射距离 50 cm, 光斑直径为 3 cm, 照射时间为 15 min, 能量密度为 2.5 J/cm²。CO₂ 激光波长 10600 nm, 激光功率为 4 W, 照射距离为 10 cm, 光斑直径为 3 cm, 照射时间为 15 min, 能量密度为 514 J/cm²。除 1 d、3 d 组分别照射 1 次、3 次外, 其余各组连续照射 5 次, 每天 1 次。

按所设计的实验天数处死动物, 将左、右侧上颌骨组织块分别固定于 10%的福尔马林溶液中。修整上颌骨组织块, EDTA 脱钙, 酒精脱水, 石蜡包埋, 制作以上颌第一磨牙为中心的、近远中方向的组织切片, 应用山羊 bFGF 多克隆抗体(北京中山生物技术有限公司)进行免疫组化染色(SP 法)。采用 Norehern Eclipse 公司的图像分析仪测量 bFGF 单位面积的阳性表达, 观察了照射侧、对照侧在张力区牙周膜(PDL)、压力区牙周膜(PDL)、张力区牙槽骨表面成骨区(Ab)bFGF 表达变化, 所得资料进行 Student's t 统计学分析。

2 结 果

照射侧和对照侧张力区牙周膜 bFGF 表达比较见表 1。

表 1 照射侧和对照侧张力区牙周膜 bFGF 表达比较 (象素/单位面积)

Tab 1 Comparison of bFGF expression in tension area of periodontal membrane between irradiation side and control side (pixels/s)

分组	照射侧	对照侧	P 值
1 d	2.50 ±1.18	6.99 ±0.44	<0.01
3 d	9.38 ±1.79	8.19 ±3.03	
5 d	11.39 ±2.27	6.08 ±1.07	<0.05
7 d	19.69 ±3.71	9.45 ±1.16	<0.01
14 d	24.20 ±2.63	13.53 ±1.42	<0.05
21 d	9.84 ±1.06	8.86 ±1.52	

照射侧和对照侧张力区牙槽骨成骨区 bFGF 表达比较见表 2。

照射侧和对照侧的压力区牙周膜 bFGF 表达比较见表 3。

本研究结果为经弱激光照射后, 照射侧牙周组

织中 bFGF 表达高于对照侧, 照射侧张力区、压力区牙周膜中 bFGF 表达在 5、7、14 d 时较对照侧有显著性差异; 照射侧张力区牙槽骨表面成骨区 bFGF 的表达在 14 d 时显著高于对照侧。

表 2 照射侧和对照侧张力区牙槽骨成骨区 bFGF 表达比较 (象素/单位面积)

Tab 2 Comparison of bFGF expression in tension area of osteoblastic surface of alveolar bone between irradiation side and control side (pixels/s)

分组	照射侧	对照侧	P 值
1 d	3.39 ±1.01	7.88 ±1.38	<0.01
3 d	6.28 ±1.40	5.03 ±1.72	
5 d	10.54 ±3.49	5.36 ±1.01	
7 d	10.51 ±3.37	6.17 ±1.26	
14 d	14.52 ±1.92	7.39 ±1.66	<0.01
21 d	5.39 ±1.12	5.59 ±0.62	

表 3 照射侧和对照侧的压力区牙周膜 bFGF 表达比较 (象素/单位面积)

Tab 3 Comparison of bFGF expression in compression area of periodontal membrane between irradiation side and control side (pixels/s)

分组	照射侧	对照侧	P 值
1 d	2.66 ±0.48	3.40 ±1.89	
3 d	4.65 ±1.85	3.37 ±0.53	
5 d	6.70 ±2.15	2.56 ±0.81	<0.05
7 d	12.74 ±2.02	4.73 ±1.31	<0.01
14 d	7.90 ±1.84	3.67 ±1.11	<0.05
21 d	4.58 ±0.10	3.48 ±0.42	

3 讨 论

正畸牙齿移动伴随着牙周组织的改建, 因而加快牙周组织改建, 加速牙齿移动, 成为正畸临床研究的重要课题。为了加速正畸牙齿移动, 人们研究开发了许多辅助手段, 如局部注射药物, 应用直流电、超声波等, 或利用附带磁铁的托槽通过磁力短期内有效地移动牙齿等手段^{2,3}。本实验应用的弱激光具有较强的生物效应, 可以促进胶原合成和酶活性, 提高免疫功能, 促进细胞分裂增殖和血管新生, 弱激光热效应促进机体局部温度升高, 促进血管扩张, 加速血流及促进血管新生⁴, 丰富的血液

循环为牙周组织的改建提供了物质基础。

本实验以 bFGF 作为牙周组织改建指标,因 bFGF 广泛分布于牙周组织细胞和细胞外基质中, bFGF 可促进牙周组织的细胞增生和胶原合成, Takayama 等⁵ 研究表明 bFGF 能诱导牙周组织细胞的增生,且最适浓度为 10 μg/ml; Matsuda 等⁶ 研究发现 bFGF 可促进成纤维细胞和成骨细胞分泌细胞外基质,还可促进血管新生; Krikorian 等⁷ 发现 bFGF 可刺激 Schwanns 细胞增殖; 牙齿移动过程中,在血管和神经周围分布较多的 bFGF; Matsuda 等⁶ 研究了 bFGF 对牙周膜成纤维细胞 DNA 的影响,发现了 bFGF 使 DNA 合成量提高 182%; 成骨细胞亦可分泌 bFGF 至胞外参与细胞增殖,促进成骨细胞和成纤维细胞产生骨基质⁸, 但 Hurley 等⁹ 报道 bFGF 抑制成骨细胞系(C3T3-E 细胞)的形成和 I 型胶原的表达。在牙齿移动过程中伴随着血管变化与成纤维细胞和成骨细胞的增殖和分化,所以牙周组织中 bFGF 也会随之而变化。

牙齿移动经弱激光照射后,1 d 时在实验侧的张力区牙周膜中及张力区牙槽骨成骨区 bFGF 表达较对照侧降低,作者分析弱激光照射促进细胞分泌 bFGF, bFGF 与其受体 bFGFR 结合后启动生物效应,同时竞争抑制了 bFGF 抗体与 bFGF 结合,所以 bFGF 表达相对降低。bFGF 与 bFGFR 结合后启动生物效应,细胞分化增殖,血管新生,同时弱激光的扩血管作用及丰富的血液循环为细胞的增殖分化提供了物质基础,促进了牙周组织的代谢。张力区牙周膜 bFGF 表达在实验侧 5 d、7 d、14 d 时明显高于对照侧,14 d 时达到高峰,但高峰期较对照侧没有提前,分析弱激光照射促进牙周膜细胞合成并分泌 bFGF,使胞浆中 bFGF 和细胞外基质中 bFGF 表达增多, bFGF 和 bFGFR 结合后启动了生物效应,促进了牙周膜的改建。实验侧的张力区成骨区 bFGF 表达仅在 14 d 时较对照侧显著增高,而在 5 d、7 d 时无差异或差异不显著, bFGF 能促进成骨细胞增殖分化,促进前成骨样细胞向成骨细胞的分化; 但 Hurley 等⁹ 报道 bFGF 能够促进牙周膜细胞的增殖分化,而抑制牙周膜细胞向成骨细胞的分化; 作者认为弱激光照射后促进了细胞分裂增殖,牙周膜中

干细胞向前成骨样细胞分化亦增多, bFGF 促进了前成骨样细胞向成骨细胞的分化,同时 bFGF 又抑制牙周膜细胞向成骨细胞分化,实际上 bFGF 抑制了牙周膜干细胞向前成骨样细胞的分化,所以一旦前成骨样细胞增多,那么前成骨样细胞在 bFGF 和弱激光的作用下会转化为成骨细胞,在 14 d 时成骨细胞最多, bFGF 表达达到高峰。

压力区牙周膜 bFGF 的表达类似于张力区牙周膜,弱激光照射促进了细胞增殖和血管新生,因而实验侧在 5、7、14 d 时 bFGF 表达显著高于对照侧。有研究提出成纤维细胞也是积极参与分解透明性变组织的细胞,经弱激光照射后成纤维细胞增多,分化的成纤维细胞协助破骨细胞和巨噬细胞分解细胞残余成份,加速了透明性变组织的消除和破骨活动的进行。

参考文献

- 1 Gao J, Jordan TW, Cutress TW. Immunolocalization of bFGF in human periodontal ligament tissue. *J Periodontol Res*, 1996, 31(4):260~264
- 2 Davidowitch Z, Finkelson MD, Steigman S, et al. Electric current, bone remodeling, and orthodontic tooth movement. *Am J Orthod*, 1980, 77(1):14~47
- 3 陈文静,张世学,隋采莓. 超声波对牙移动影响的透射电镜观察. *中华口腔医学杂志*, 1993, 28(3):103
- 4 赵福运. 实用激光治疗学. 北京:北京医科大学·中国协和医科大学联合出版社, 1997:260
- 5 Takayama S, Murakami S, Miki Y, et al. Effect of bFGF on human periodontal ligament cell. *J Periodontol Res*, 1997, 32(8):667~675
- 6 Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, et al. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol*, 1992, 63(6):515~525
- 7 Krikorian D, Manthorpe M, Varson S. Purified mouse schwann cell: Mitogenic effects of fetal calf serum and fibroblast growth factor. *Dev Neurosci*, 1982, 5(1):77~91
- 8 龚振宇. 骨痂中 bFGF 的免疫组化定位. *实用口腔医学杂志*, 1998, 14(4):265~267
- 9 Hurley MN, Abreu C, Harrison JR, et al. bFGF inhibits type I collagen gene expression in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J Biol Chem*, 1993, 268(8):5588~5593

(2000-07-17 收稿)

(本文编辑 王 晴)