

# 功能矫形前伸大鼠下颌后 髁突胰岛素样生长因子 I 表达变化的研究

罗颂椒 周 征

**摘要** 采用免疫组织化学技术结合数字图像分析,对功能矫治器前伸大鼠下颌后,髁突软骨中胰岛素样生长因子 I (IGF- I)表达变化的规律进行研究,以探讨功能矫形治疗的分子机制。结果显示:髁突软骨中滑膜层、纤维层和生发层细胞中 IGF- I 阳性最强,在过渡层中较强,成熟层和移行层中较弱,在骨小梁中的成骨细胞也有阳性信号;实验组各层细胞阳性强度高于对照组,并且与功能矫形引起的组织学改变和细胞功能变化一致。表明 IGF- I 在髁突软骨的增生和下颌功能前伸引起的适应性生长改建中可能有重要作用。

**关键词** 功能前伸 胰岛素样生长因子 I 髁突软骨

功能性颌骨矫形治疗是通过功能性矫治器引导下颌骨前伸,改变口颌系统的功能,刺激颌骨发生适应性生长改建,达到矫治骨性畸形的目的。许多研究表明<sup>1,2</sup>,在生长发育高峰期,功能矫形前伸下颌可以促进下颌的生长改建,但在生长发育高峰期后,功能矫形不能引起髁突适应性生长改建。

生长发育高峰是由生长激素、性激素等全身激素发动的。Samon 等<sup>3</sup>提出的生长介素假说认为生长激素本身不能刺激软骨生长,其对软骨生长的刺激作用是通过生长介素 C (即胰岛素样生长因子 I,简称为 IGF- I)介导的。Petrovic 等<sup>4</sup>提出颅面生长的伺服系统理论认为,生长激素-生长介素复合体对髁突等继发性软骨的生长既有直接的,又有间接的作用,而 IGF- I 在结构和作用上与胰岛素和性激素等关系密切<sup>5</sup>。本研究的目的是探讨 IGF- I 在下颌髁突软骨中的含量和分布,以及功能矫形前伸下颌后,在下颌髁突中的含量和分布的变化,从而为进一步研究 IGF- I 对下颌髁突生长改建的作用奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物模型

选用 60 只 5 周龄雄性 SD 大鼠(华西医科大学动物实验中心提供),体重 90 g 左右,随机等量分为对照组和实验组。实验组动物配戴自制的上颌斜面导板式功能矫治器引导下颌前伸,每天白天戴矫治器 12 h,对照组动物不戴。所有动物均定时、定量摄食,自由饮水。两组动物分别在实验后 1d、3d、1 周、2 周、3 周和 4 周各处死 5 只。实验动物断颈

处死,取双侧髁突,置 4℃ 预冷的 4% 多聚甲醛和 2.5% 戊二醛固定液 18~24 h,然后用 4.0~5.0 mol/L 的 EDTA 脱钙,石蜡包埋。髁突组织纵向切片为 6 μm 厚。

### 1.2 免疫组织化学

按 ABC 法常规实验步骤,对组织切片进行 IGF- I 免疫组织化学染色。兔抗 IGF- I 抗体(1:400)由美国 National Hormone and Pituitary Program 提供,生物素化羊抗兔 IgG (1:200)和 ABC 复合物(1:100)均为 Vector 公司产品。

### 1.3 对照

阳性对照:大鼠胫骨近端骺板软骨。阴性对照:用封闭血清(10% 正常羊血清)代替一抗。每次实验均设阳性和阴性对照。阳性标准为细胞形态完整,结构清晰,细胞胞浆为棕黄色,阳性细胞着色水平明显高于背景水平。

### 1.4 图像分析

采用四川联合大学图形图像研究所研制的 M I A S-1000 型图像分析仪,对对照组和实验组各期髁突软骨各层的厚度和染色强度进行测量。每只动物选用 1 张切片放大 200 倍进行分析,每张切片各层随机选择 3 个区域,采用交互方式进行测量,IGF- I 阳性强度用灰度差值表示。每张切片均测量其背景灰度,用以消除切片间的误差。

### 1.5 统计学处理

图像分析结果采用 SPSS 统计软件包,用 Student's *t* 检验进行对照组与实验组的各项指标间的统计学分析。

## 2 结 果

### 实验组和对照组在各阶段髁突软骨中 IGF- I

本研究由国家自然科学基金 39470760 资助  
作者单位:610041 华西医科大学口腔医学院

的分布规律见表 1。

实验组各层细胞阳性强度高于对照组。实验组和对照组髌突软骨中 IGF- I 阳性细胞呈现以下规律: 在滑膜层、纤维层和生发层细胞中最强, 在过渡层中较强, 成熟层和移行层中较弱, 在骨小梁中的成骨细胞也有阳性信号。实验组和对照组髌突软骨

各层细胞 IGF- I 免疫组织化学阳性染色强度表现出一定的时间规律。各种指标在实验后 1 周开始出现显著性变化, 实验后 2 周变化最大, 实验后 4 周变化减小。各层细胞厚度和阳性强度随时间变化规律见图 1~ 4。

表 1 大鼠髌突软骨中各层细胞 IGF- I 阳性强度(灰度差值)变化

实验时间	对照组				实验组			
	滑膜层 纤维层	生发层	过渡层	成熟层 移行层	滑膜层 纤维层	生发层	过渡层	成熟层 移行层
1d	30.40	41.30	26.30	7.95	31.17	43.44	30.51	8.90
3d	31.14	39.20	28.68	8.26*	31.11	43.31	31.11	12.41*
1周	30.23*	38.27*	26.97**	10.65*	35.30*	47.39*	38.59**	14.47*
2周	32.58**	48.18**	30.29**	8.75	46.58**	66.73**	42.92**	7.72
3周	31.35*	41.34*	32.67*	10.43	40.85*	53.61*	40.65*	10.86
4周	34.71	44.75	34.74	13.95	38.07	50.37	40.74	12.90

两组灰度差值比较: \* 0.01 < P < 0.05, \*\* P < 0.01, 无\* P > 0.05

### 3 讨 论

大量的体内和体外实验证明<sup>5-7</sup>, IGF- I 是一种具有多种功能的生长刺激因子。许多组织、细胞在不同的生长发育阶段都有 IGF- I 表达。它不仅作为内分泌因子存在于血液循环中, 而且还能通过自分泌或旁分泌方式, 对局部的组织和细胞发挥作用。许多研究结果表明<sup>6,7</sup>: IGF- I 能使软骨细胞增殖和 DNA 的合成, 并能刺激软骨细胞的生长。外源性 IGF- I 在下颌髌突软骨祖细胞培养中, 以剂量依赖性方式增加细胞的 [<sup>3</sup>H] 和 [<sup>35</sup>S] 的摄入。

IGF- I 增加胶原和细胞外基质的合成, 减少胶原降解, 加快胶原的转换率。同时, 维持蛋白多糖的稳态代谢。正是这种作用, 使培养中的髌突软骨祖细胞合成蛋白多糖, II 型胶原和软骨钙素增加, 在体外重现软骨祖细胞增殖, 组织块增大, 形成软骨和骨的过程。IGF- I 与许多重要的骨代谢物质关系密切<sup>8</sup>。如前列腺素、甲状旁腺素和转化生长因子 β 等都是骨改建过程中的重要因子, 而这些物质都可促进骨细胞合成 IGF- I, 并提示 IGF- I 介导了这些复合物对骨的合成代谢作用。雌二醇不仅能刺激体外成骨细胞中 IGF- I 的基因表达, 而且增加软骨细胞对 [<sup>35</sup>S] 的摄入, 与 IGF- I 在生物学效应上

有协同作用, 使 IGF- I 刺激软骨细胞合成 DNA 和蛋白多糖的能力增强 80% 以上。孕酮和睾酮也可加强 IGF- I 的作用。IGF- I 对软骨细胞的以上作用可能是增加了前成软骨细胞或成软骨细胞的增殖率, 也可能是促进了这些细胞的分化, 产生大量具有功能的软骨细胞, 或两种方式共同作用。

本研究采用免疫组织化学技术结合数字图像分析, 研究了功能矫形前伸大鼠下颌后髌突 IGF- I 表达的变化。结果表明, 实验组大鼠髌突 IGF- I 阳性表达强度大于对照组, 且与髌突各层细胞厚度增加一致。推测在功能矫形前伸大鼠下颌后, IGF- I 对髌突的适应性生长改建可能起重要的作用。IGF- I 分布变化正反映了 IGF- I 对髌突软骨的作用, 并与其组织变化一致<sup>9</sup>。生发层细胞主要由前成软骨细胞组成, 前成软骨细胞的功能在于细胞不断增殖, 形成成软骨细胞, 该层细胞 IGF- I 免疫反应阳性增强, 证实了 IGF- I 对幼稚细胞具有的促增殖作用, 显示出生发层厚度增加。成熟层和移行层细胞是成熟和肥大的软骨细胞, 担负着合成和分泌细胞外基质, 并不断矿化, 完成软骨内成骨的作用。由于 IGF- I 对成熟和肥大的软骨细胞合成细胞外基质的刺激作用较小。所以, 在这两层细胞中, IGF- I 阳性信号较弱。这两层细胞厚度的变化可能

与细胞基质分泌增多有关,但并不排除 IGF- I 通过其他因素的介导而对其产生作用。过渡层是以软骨细胞为主,并向成熟的软骨细胞过渡。因而,其在细胞功能上兼有生发层细胞和成熟层细胞的许多特点,具有较强的免疫原性。即过渡层细胞既有较强增殖能力,又有较强的合成细胞外基质的能力,反映为在过渡层厚度显著增加。滑膜层和纤维层主要是由滑膜细胞和成纤维细胞构成。在本研究中,在实验组中这两层细胞的 IGF- I 阳性强度高于对照组,但组织厚度却无明显变化。这可能与其功能密切相关。滑膜细胞分泌滑液,润滑关节;成纤维细胞合成胶原。二者在颞下颌关节的功能活动中起缓冲外力与润滑关节的作用。正是这些细胞活跃的功能,才防止了前伸下颌后造成对颞下颌关节的病理性损害。

(本文图见中心插页 8)

#### 4 参考文献

- 1 Graber TM, Rakosi T, Petrovic AG. Dentofacial Orthopedics with Functional Appliances. St Louis: The CV Mosby Co, 1985
- 2 罗颂椒主编. 当代实用口腔正畸技术与理论. 北京: 北京

医科大学·中国协和医科大学联合出版社, 1995

- 3 Salmon JWD, Daughaday WH. A homonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. J Lab Clin Med, 1957, 49: 825
- 4 Petrovic AG, Stutzmann J, Oudet C. Control processes in the postnatal growth of the mandibular cartilage. In: McNamara JJA ed. Determinants of the mandibular form and growth, Monograph 4, Craniofacial Growth Series, Ann Arbor: Center for Human Growth and Development, University of Michigan, 1975
- 5 Froesch ER, Schmid C, Schwander J, et al. Actions of insulin-like growth factors. Ann Rev Physiol, 1985, 47: 443
- 6 Hock JM, Centrella M, Canalis E. Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication. Endocrinology, 1988, 122: 254
- 7 Makower AM, Wroblewski JA, Pawlowski A. Effects of IGF- I, EGF and FGF on proteoglycan synthesis by fractionated chondrocytes of rat rib growth plate. Exp Cell Res, 1988, 179: 498
- 8 Itagane Y, Inada H, Fujita K, et al. Interactions between steroid hormones and insulin like growth factor- I in rabbit chondrocytes. Endocrinology, 1991, 128: 1419
- 9 周征, 罗颂椒, 徐国标. 前伸下颌后大鼠髁突软骨生长改建的定量组织学研究. 口腔正畸学杂志, 1998, 5: 77  
(1997- 10- 15 收稿)

## Induction of Insulin-like Growth Factor I Expression to Mandibular Advancement in Growing Rat Condylar Cartilage

Luo Songjiao, Zhou Zheng

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

### Abstract

It was studied effects of functional mandibular advancement on IGF- I peptide of condylar cartilage of 60 5-week-old male rats. Animals were randomly divided into the experimental and control groups, and the mimetic functional appliances were used in experimental group. The rats were killed after 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days. The results showed that the condylar cartilage of growing rats expressed IGF- I the strongest in the germinal layer, medial in the transitional layer, and the least in the matutational layer. IGF- I positive cells and their immunoreactive levels increased after 1 week of functional mandibular advancement, and reached the peak level at 2 weeks. The results suggest IGF- I in mandibular condyle of rat is related to its growth and differentiation activity, and changes of condylar IGF- I after functional protrusion are relevant to the histologic changes and cellular functions which indicate their involvement with active bone growth and remodeling.

**Key words:** mandibular advancement insulin-like growth factor I condylar cartilage