

大鼠下颌髁突软骨中胰岛素样生长因子 I 及其基因的差异性表达

——颅面生长伺服系统理论的直接证据

周 征 罗颂椒

摘要 采用原位杂交和免疫组化技术,对 10 只 7 周龄雄性 SD 大鼠双侧髁突中胰岛素样生长因子 I (IGF- I) 及其 mRNA 表达进行研究。结果发现:生长期大鼠髁突软骨中 IGF- I 及其基因均有表达,但 IGF- I 阳性强度在生发层中最强,而 IGF- I mRNA 在过渡层和成熟层中最强。表明髁突软骨具有局部合成和分泌 IGF- I 的能力,可介导生长激素的指令式作用,其差异性表达建立起局部反应的反馈环路,为生长伺服理论提供了直接证据。

关键词 下颌髁突 胰岛素样生长因子 I 基因表达 伺服系统理论

下颌髁突是下颌骨的生长区¹,具有较强的生长改建能力。研究其生长改建对颅面生长发育,颌骨畸形和颞下颌关节疾病的防治均有重要的意义。70 年代, Petrovic² 根据控制论原理提出的颅面生长伺服系统理论认为,下颌髁突的生长改建不仅受全身激素如生长激素-生长介素复合体 (growth hormone-somatostatin, STH-Sm) 的直接指令式控制,而且受局部反馈因子的作用。研究证明³⁻⁵,在各种生长介素中胰岛素样生长因子 I (IGF- I, 又称生长介素 C), 对软骨生长的影响最为明显,局部 IGF- I 是由于 STH 的刺激局部合成的。本研究采用原位杂交和免疫组化技术对下颌髁突软骨中 IGF- I 的合成、分泌及其作用进行探讨,了解其在髁突软骨的生长改建中的意义,进而验证生长伺服理论。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用 10 只 7 周龄雄性 SD 大鼠,体重 110g 左右,断颈处死,取双侧髁突软骨,制作组织切片⁶。

1.2 免疫组织化学 (IHC)

方法见参考文献⁶。

1.3 原位杂交 (ISH)

用自动合成仪合成并与编码大鼠 IGF- I 的第 10~19 个氨基酸的特定 mRNA 互补的反义探针,其序列为 5'-GTC TCC ACA CAC GAA CTG AAG AGC ATC CAC-3',用 DNA 加尾标记药盒标记。杂交方法见参考文献⁸。

1.4 对照

IHC 和 ISH 的阳性对照均用大鼠胫骨近端骺板软骨;阴性对照: IHC 用封闭血清 (10% 正常羊血清) 代替一抗,

ISH 用 RNase 处理标本后进行杂交; ISH 的空白对照为预杂交液代替杂交液进行杂交,等长寡核苷酸对照为质粒上某一等长非相关基因片段。

2 结 果

在正常生长期大鼠下颌髁突软骨中,各层细胞均有 IGF- I 表达;除移行层外,其余各层细胞 IGF- I mRNA 表达均为阳性。在这些细胞中,IGF- I 及其 mRNA 阳性信号均位于胞浆中 (图 1)。

从髁突软骨各层结构看,IGF- I 及其 mRNA 的表达强度和分布有所不同。IGF- I 阳性强度在滑膜层、纤维层和生发层细胞中最强,过渡层中较强,成熟层中较弱,移行层最弱 (图 2); IGF- I mRNA 在过渡层和成熟层细胞中阳性最强,生发层较强,滑膜层和纤维层较弱 (图 3)。

3 讨 论

本研究证实了下颌髁突软骨中存在 IGF- I 多肽,并首次准确定位下颌髁突软骨细胞中 IGF- I mRNA 的表达。在髁突软骨中存在 IGF- I mRNA,所以髁突软骨细胞可通过 IGF- I mRNA 进行翻译,转录成 IGF- I 多肽,说明髁突软骨在局部也具有合成和分泌 IGF- I 的能力。由于 STH 对软骨的作用是通过 IGF- I 介导的⁷,而对生长板软骨的研究^{5,6}也证实,这些 IGF- I 是由 STH 刺激下局部合成的,这提示髁突软骨局部合成和分泌的

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

IGF- I 可能是全身 STH 对局部组织生长改建命令性控制的中介物质, 因而为生长伺服系统理论提供了实验依据。

实验还发现, IGF- I mRNA 在分化程度较高过渡层和成熟层细胞中阳性最强, 而 IGF- I 在增生功能较强的生发层细胞中阳性最强。IGF- I 及其 mRNA 在髁突中的分布规律的这一差异, 提示在同一组织内, 通过转录合成 IGF- I 的细胞与它所作用的靶细胞是不同的细胞群。过渡层和成熟层细胞主要是成软骨细胞和成熟的软骨细胞, 比生发层的前成软骨细胞更成熟, 分化更完全, 但后者是受外界刺激后增生最显著的部分⁸。所以, 在髁突软骨中, 过渡层和成熟层细胞表达 IGF- I mRNA, 进行 mRNA 转录成多肽(即 IGF- I), 通过自分泌和旁分泌作用, 与生发层和过渡层细胞上的特异性 IGF- I 受体结合, 发挥其促进细胞增殖, 刺激 DNA 合成, 增加胶原和蛋白多糖的合成和分泌等生物学作用⁹。Mao 等¹⁰ 在体外实验中也证实, IGF- I 是通过刺激幼稚的增殖软骨细胞生长而促进髁突软骨生长。

Petrovic 等¹¹ 认为髁突软骨中功能性成软骨细胞发出“负反馈信号”, 影响前成软骨细胞的增殖。因而, 髁突软骨中 IGF- I 从基因表达到合成、分泌的过程, 可能就是“负反馈信号”的传递过程。外界因素如功能矫形力等可通过这一过程影响髁突软骨的生长改建。本研究结果表明, 髁突软骨局部合成和分泌 IGF- I 的能力可能介导了 STH-Sm 的直接的命令式控制作用, 而且 IGF- I 合成、分泌和发挥其生物学作用这一过程建立了局部反应的反馈环路, 为生长伺服系统理论提供了有力证据。

(本文图见中心插页 8)

Differential Expression of IGF- I and its mRNA in Mandibular Condylar Cartilage of Rat—Direct Evidence for Servosystem Theory of Facial Growth

Zhou Zheng, Luo Songjiao

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Abstract

It was studied the expression of IGF- I and its mRNA in the condylar cartilage of 10 7-week-old SD male rats by using in situ hybridization and immunohisto-chemistry technique. The results showed both IGF- I and its gene expressed in growing rat condyle. IGF- I peptide was abundant in germinal zone, and positive reaction of its mRNA was strongest in transitional and maturational zones. These indicate that condylar cartilage has the capability of local production and secretion of IGF- I, mediating the command effect of STH, and differential expression of IGF- I and its mRNA might establish the local feedback loop, which supply a direct evidence for servosystem theory of facial growth.

Key words: mandibular condyle insulin-like growth factor I gene expression servosystem theory

4 参考文献

- 1 Enlow DH. Facial Growth. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1990
- 2 Petrovic AG. Mechanisms and regulation of mandibular condylar growth. Acta Morphol Neerl Scand, 1972, 10: 25
- 3 Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II peptides, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. Endocr Rev, 1989, 10: 68
- 4 Nilsson A, Isgaard J, Lindahl A, et al. Regulation by growth hormone of number of chondrocytes containing Sm-C in rat growth plate. Science, 1986, 253: 571
- 5 Schlechter NL, Russell SM, Spencer EM, et al. Evidence suggesting that the direct growth-promoting effect of growth hormone on cartilage in vivo is mediated by local production of somatomedin. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83: 7932
- 6 周征, 欧国敏, 刘聪, 等. 骨组织地高辛标记寡核苷酸探针原位杂交方法的建立. 华西口腔医学杂志, 1998, 16: 43
- 7 Salmon Jr WD, Daughaday WH. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. J Lab Clin Med, 1957, 49: 825
- 8 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
- 9 Hoch JM, Centrella M, Canalis E. Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication. Endocrinology, 1988, 122: 254
- 10 Mao G, Hochberg Z, Silberman M. Insulin-like growth factor I accelerates proliferation and differentiation of cartilage progenitor cells in cultures of neonatal mandibular condyles. Acta Endocrinol(Copenh), 1993, 128: 56
- 11 Petrovic AG, Stutzmann JJ, Lavergne JM. Mechanism of craniofacial growth and modus operandi of functional appliances: a cell-level and cybernetic approach to orthodontic decision. In: Carlson DS ed. Craniofacial Growth Theory and Orthodontics. Craniofacial Growth Series 23, Center for Human Growth and Development, University of Michigan, 1990: 13~ 74

(1997- 10- 15 收稿)