·综述·

# 蝾螈颌骨再生的生物学研究进展

王琰[1,2]综述 陈希哲[1]审校
(1.昆明医科大学附属口腔医院口腔颌面外科 昆明 650031;
2.西安交通大学附属口腔医院口腔颌面外科 西安 710004)

**[摘要]** 再生是生物界普遍存在的生命现象。本文将从蝾螈再生的形态组织学、细胞生物学和分子生物学研究基础等几个方面，对蝾螈颌骨再生生物学研究进展进行综述，为哺乳动物的再生能力研究提供借鉴。

**[关键词]** 再生； 蝾螈； 颌骨
**[中图分类号]** Q 10+3 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2013.02.012

**A review of biological research on mandibular regeneration of newt** *Wang Yan*[1,2], *Chen Xizhe*[1]. (1. *Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The Affiliated Stomatological Hospital, Kunming Medical University, Kunming* 650031, *China*; 2. *Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The Affiliated Stomatological Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an* 710004, *China*)

**[Abstract]** The regeneration are commonly existing animal life phenomenon. Based on the international academic circles to newt limb regenerative form histology, cell biology and molecular biology research foundation, newt jaw bone regenerative biology of literature review on the study of mammals, regeneration ability of research, and even on human reproductive medicine research provides beneficial inspirations.

**[Key words]** regeneration; newt; jaw bone

再生生物学是再生医学的基础[1-2]，其目的在于认知机体损伤后的信号分子及其转导途径，从而探索组织损伤后发生重新再生或是纤维替代的根本原因。蝾螈属两栖纲有尾目蝾螈科动物，其成年个体不但可再生出完整的尾和肢体，还可再生脊髓、上下颌骨、晶状体、视网膜等多种组织，被确定为脊椎动物再生研究的理想模型。本文将对蝾螈颌骨再生中的组织形态学、比较生物学及再生生物学机制等作一综述。

## 1 形态组织学研究

颌骨再生和肢体再生一样，其受伤后，首先由顶帽下方的未分化间质细胞在某些信号分子作用下迅速去分化形成生长带——芽基，这些未分化间质细胞是由各种不同的活性受限的祖细胞构成的一个集合体，每种祖细胞都保留着关于其组织来源的一个记忆，各种细胞独立再生，经过增殖阶段，芽基细胞加快分裂和生长，最后细胞开始转分化构成软骨组织。在颌骨再生过程中，残端软骨的再生起着重要作用，尤其是在上颌骨再生的过程中。芽基细胞在残端聚集后，围绕着鼻软骨的边缘，软骨开始生长。芽基细胞的来源一直是蝾螈再生研究的关键问题。有研究[3]认为，蝾螈肢体再生是通过纤维原细胞，肌肉、骨骼和神经系统中的非神经细胞(雪旺细胞)去分化到它们早期的干细胞形态，这些干细胞再增殖，形成一团未分化的细胞，即芽基。芽基细胞的增殖和再分化受成纤维生长因子(fibroblast growth factor, FGF)-2[4]、神经胶质生长因子2[5]、神经递素P物质[6]和转铁蛋白[7]的调节。从组织学角度来看，芽基表现出未分化细胞的特征：自我更新和多向分化潜能及无限增殖能力，所以人们一直都认为芽基细胞类似于多能干细胞，具有向多种组织细胞分化的能力；但是在颌骨再生过程中，不同组织细胞所发挥的作用仍不明了。

蝾螈颌骨再生的组织学研究[8]表明，颌骨切断部的表面被伤口的上皮细胞覆盖直至术后7 d，术后14 d形成芽基，28 d软骨开始再生，56 d新骨

**[收稿日期]** 2012-09-28； **[修回日期]** 2012-12-11
**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(30870352,30560164)；云南省应用基础研究基金资助项目(2006C0043M)
**[作者简介]** 王琰(1977—)，男，陕西人，主治医师，硕士
**[通讯作者]** 陈希哲，Tel：0871-5364768

开始形成，最后再生骨在颌骨的中心融合。除了骨质结构之外，颌骨的软组织如上皮、腺体和肌肉都能高效再生。颌骨再生不是发育过程的简单重现，而是随着个体年龄不同再生出不同类型的牙齿，这可能是由于不同年龄个体的体内激素环境不同，直接或间接影响了牙齿的形成。

不论是上颌骨还是下颌骨，缺失部分的再生能力取决于截断的水平。有研究表明，当在眼和嗅器的末梢截断上颌骨，使上颌骨、前颌骨、鼻骨完全脱离，可以削弱上颌骨的再生能力。再生组织是否忠实于原来组织与截断的水平相关，截断水平越靠近颌骨关节，下颌骨的再生越不完全。成体蝾螈的下颌骨及牙板以相同的方式切除后还可以多次再生，尽管再生的组织性表现相似，但再次再生要快于首次再生。其中广泛的肌纤维及骨细胞去分化快速形成再生胚芽起到关键的作用，二次再生中新分化的组织似乎具有更强的再生能力。在二次再生中，骨及软骨的生长没有极性，向前后方向生长，而牙板上皮的生长却始终具有极性，只能由后向前再生。

## 2 比较生物学研究

既往研究[9]观察到，颌骨内牙板上皮存在与否也将直接影响到蝾螈再生颌骨内牙齿的有无。截除蝾螈幼体1/2到1/4的下颌骨后，由于远近残端内均含有牙板上皮，牙板上皮自前、后方向长入缺损区；而截除1/4到1/2的成体蝾螈下颌骨，同时去除远中残端的牙板上皮，结果发现近中端残留牙板上皮只能在再生区堆积，最终形成1/2到1/4再生下颌骨无牙；将成体及幼体蝾螈下颌骨远中、近中残端内的牙板上皮去除，则导致再生下颌骨无牙。两栖类动物的下颌骨保留有一个软骨结构，称为麦克尔软骨，在哺乳动物进化的过程中这块软骨消失了。人们猜测，正是由于介导下颌骨发育的麦克尔软骨从幼体到成体都存在，这是蝾螈下颌骨能够再生的原因；但Kurosaka等[10]通过比较生物学研究了赤腹蝾螈和西非爪蛙下颌骨再生的差异，驳斥了这种假设；因为除了有尾目两栖类蝾螈，无尾目两栖类如西非爪蛙，虽然也终生存在麦克尔软骨，但其下颌骨缺损后并不能再生。进一步研究后发现，切断下颌骨后，赤腹蝾螈下颌骨断端立即表达肌球蛋白重链（myosin heavy chain，MHC）mRNA，增殖的细胞都表达Pax7（paired box 7），虽然西非爪蛙也出现了细胞的增殖，但是不表达Pax7。说明赤腹蝾螈颌骨再生能力优于西非爪蛙，可能是由于颌骨断端表达肌球蛋白重链以及Pax7阳性细胞的作用。

## 3 蝾螈再生分子机制研究

相对于肢体和晶状体再生研究，蝾螈的颌骨再生研究进展很慢。分子生物学技术的突飞猛进为颌骨再生的研究提供了新的平台。对再生过程中的颌骨进行形态学分析后发现，颌骨截除2~3周后，颌骨芽基表面的上皮变厚，同肢体再生一样。但是蝾螈角蛋白在肢体芽基上皮表达增高，而对颌骨芽基再生相关角蛋白NvKⅡ表达情况的研究表明，NvKⅡ在颌骨受伤的上皮不表达，也许是间叶细胞控制着颌骨和肢体受伤上皮的不同表型。国内研究表明，成体滇蓝尾蝾螈下颌骨再生方式为割处再生，再生过程中都有增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen，PCNA）和视黄酸受体（retinoic acid receptor，RAR）α的阳性表达，视黄酸（retinoic acid，RA）对诱导再生下颌骨芽基细胞向软骨细胞的增殖分化起重要作用。

对蝾螈颌骨再生的分子生物学的研究才刚刚起步，但是近几年肢体和晶状体再生的分子生物学研究取得了一些重大进展，也许能给颌骨再生的研究带来一些启示。

Kragl等[11]将绿色荧光蛋白基因转入蝾螈体内进行追踪，发现肢体再生过程中细胞不是多能的，而是保留有自身组织或胚胎起源的记忆，说明芽基是多种祖细胞池，除了表皮以外，其他组织来源的细胞都只能分化成自身的组织。表皮可以分化成软骨，但是不能分化成肌肉和神经膜细胞。软骨细胞只分化为软骨，不分化为肌肉。肌肉细胞和神经膜也有严格的组织限制性，分别只分化为肌肉和神经膜细胞。研究还发现，近远生长是由芽基细胞的组织特异性决定的，软骨细胞具有近远生长的特质，而神经膜细胞没有。

蝾螈肢体的再生具有神经依赖性，并且再生是沿着神经和血供方向由近心端向截断面生长[12]。有趣的是，芽基再次形成的肢体末梢正是失去的那部分。如在腕部截断肢体，芽基只再生爪子，而在肩部截断肢体，芽基再生的是整个肢体。Kumar等[13]发现细胞表面蛋白PROD1，具有“位置记忆”功能，能使蝾螈断肢得到正确的再生。而其他成年脊椎动物不能断肢再生可能与缺乏*Prod*1基因有关[14]。Kumar等[15]还发现了一个在肢

体神经表达的因子——蝾螈前梯度蛋白(newt anterior gradient，nAG)，nAG蛋白和非洲爪蟾分泌的爪蟾前梯度蛋白(xenopus anterior gradient，XAG)2同源，是蝾螈肢体再生神经依赖的分子基础。Kumar等用酵母双杂交实验筛选，证实了nAG蛋白是PROD1的分泌性配体，是蝾螈神经来源的芽基细胞的有丝分裂原。nAG蛋白在未损伤的肢体低表达。在蝾螈肢体再生的早期去分化阶段，nAG蛋白在末梢神经鞘的神经膜细胞被检测到，在蝾螈肢体再生的晚期以及早期出芽阶段，nAG蛋白在再生上皮的腺细胞表达。将nAG蛋白的DNA电转入损伤肢体早期的芽基，在去神经的条件下可以诱导表皮腺表达nAG蛋白。在芽基细胞聚集的早期，如果神经被破坏，蝾螈肢体就不能再生。nAG蛋白可以拯救破坏了神经的芽基细胞，使其完成肢体再生，但是再生肢体的神经和肌肉发育的不完全。

成纤维生长因子(fibroblast growth factor，FGF)可以诱导虹膜背侧色素细胞再生成晶状体，晶状体摘除术后的蝾螈外源给予FGF4甚至可以生成双晶状体。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein，BMP)通路在晶状体的再生中也有着非常重要的作用。在信号转导通路中，转录因子发挥了非常重要的作用，Pax6(paired box 6)和Six3(sine oculis homeobox 3)是两个和晶状体发育及再生有着非常密切关系的两个转录因子。Six3联合视黄酸能诱导晶状体的再生，而Pax6在蝾螈晶状体再生的早期可以促进虹膜色素上皮细胞的增殖。在晶状体发育过程中发挥作用的信号转导通路很多，它们诱导晶状体再生的整体机制还不十分清楚，是否都在再生过程中发挥作用还有待进一步的研究。

现在，上下颌骨再生的研究仍面临很多挑战：失去部分的再生是如何忠实的保持原来样子的？再生的范围有多大？再生的祖细胞的来源是什么？再生的分子机制是什么？是否存在某个器官再生的特异分子？一旦再生的关键程序被揭示，正确的开关被打开，脊椎动物乃至高等级哺乳动物或许也可以实现完全的机体再生。

## 4 参考文献

[1] Weaver CV, Garry DJ. Regenerative biology: A historical perspective and modern applications[J]. Regen Med, 2008, 3(1):63-82.

[2] Stocum DL. Regenerative biology and medicine[M]. San Diego and New York: Elsevier Academic Press, 2007: 1-18.

[3] Odelberg SJ. Cellular plasticity in vertebrate regeneration [J]. Anat Rec B New Anat, 2005, 287(1):25-35.

[4] Mullen LM, Bryant SV, Torok MA, et al. Nerve dependency of regeneration: The role of distal-less and FGF signaling in amphibian limb regeneration[J]. Development, 1996, 122(11):3487-3497.

[5] Wang L, Marchionni MA, Tassava RA. Cloning and neuronal expression of a type Ⅲ newt neuregulin and rescue of denervated, nerve-dependent newt limb blastemas by rhGGF2[J]. J Neurobiol, 2000, 43(2):150-158.

[6] Globus M, Alles P. A search for immunoreactive substance P and other neural peptides in the limb regenerate of the newt Notophthalmus viridescens[J]. J Exp Zool, 1990, 254(2):165-176.

[7] Mescher AL, Connell E, Hsu C, et al. Transferrin is necessary and sufficient for the neural effect on growth in amphibian limb regeneration blastemas[J]. Dev Growth Differ, 1997, 39(6):677-684.

[8] Ghosh S, Thorogood P, Ferretti P. Regenerative capability of upper and lower jaws in the newt[J]. Int J Dev Biol, 1994, 38(3):479-490.

[9] Ferretti P. Re-examining jaw regeneration in urodeles: What have we learnt[J]. Int J Dev Biol, 1996, 40(4): 807-811.

[10] Kurosaka H, Takano-Yamamoto T, Yamashiro T, et al. Comparison of molecular and cellular events during lower jaw regeneration of newt(Cynops pyrrhogaster) and West African clawed frog(Xenopus tropicalis)[J]. Dev Dyn, 2008, 237(2):354-365.

[11] Kragl M, Knapp D, Nacu E, et al. Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration[J]. Nature, 2009, 460(7251):60-65.

[12] Han M, Yang X, Taylor G, et al. Limb regeneration in higher vertebrates: Developing a roadmap[J]. Anat Rec B New Anat, 2005, 287(1):14-24.

[13] Kumar A, Gates PB, Brockes JP. Positional identity of adult stem cells in salamander limb regeneration[J]. C R Biol, 2007, 330(6/7):485-490.

[14] Garza-Garcia A, Harris R, Esposito D, et al. Solution structure and phylogenetics of Prod1, a member of the three-finger protein superfamily implicated in salamander limb regeneration[J]. PLoS One, 2009, 4(9):e7123.

[15] Kumar A, Godwin JW, Gates PB, et al. Molecular basis for the nerve dependence of limb regeneration in an adult vertebrate[J]. Science, 2007, 318(5851):772-777.

[16] Del Rio-Tsonis K, Jung JC, Chiu IM, et al. Conservation of fibroblast growth factor function in lens regeneration[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, 94(25):13701-13706.

(本文编辑 张玉楠)