

正畸矫治对唾液表皮生长因子质量浓度和流量的影响

黄晓红¹, 雷群², 林珊¹

(1. 福建医科大学附属第一医院口腔科 福建 福州 350005;

2. 福建卫生职业技术学院临床医学系口腔医学教研室 福建 福州 350101)

[摘要] 目的 探讨正畸矫治对唾液表皮生长因子(EGF)质量浓度和唾液流量的影响。方法 选取牙列整齐的上颌前突或前牙深覆盖需要拔除上颌第一前磨牙的12名成年正畸患者为试验对象,于其上颌两侧尖牙和第一磨牙上片段弓,对尖牙施加250g远中移动的初始力,收集全部试验对象在粘接矫治器前当天(0d)以及粘接矫治器且加力后3、7、30d的唾液,以酶联免疫吸附测定检测唾液中EGF的质量浓度并测定其唾液流量。试验数据采用SPSS 16.0统计软件包进行分析。结果 试验对象在粘接矫治器前0d和加力后,其唾液中EGF的质量浓度变化差异无统计学意义($P>0.05$);加力后3、7、30d,唾液流量与粘接矫治器前0d相比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 矫治器的机械刺激致机体神经反射性调节,唾液的流速明显增快,但固定矫治器和矫治力不能引起唾液腺细胞分泌更多的EGF。

[关键词] 正畸; 唾液; 表皮生长因子; 唾液流量

[中图分类号] R 783.5 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2010.06.008

The variance of epidermal growth factor contents in saliva in the course of orthodontic treatment
HUANG Xiao-hong¹, LEI Qun², LIN Shan¹. (1. Dept. of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China; 2. Dept. of Stomatology, Clinical Medicine, Fujian Health Professional Technology College, Fuzhou 350101, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the changes of epidermal growth factor(EGF) in saliva and saliva flow rate during orthodontic tooth movement. **Methods** Twelve adult orthodontic patients with maxillary protrusion and anterior increased overjet were selected. The cases were all treated by extracting the maxillary first premolar. A segmental arch technique was fixed between canines and the first molar in upper jaw. The canines were given 250 g initial force for distal movement. The saliva was collected in 0, 3, 7 and 30 d after orthodontic force application was exerted. The levels of EGF were measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and the salivary flow rate was measured. All the data were statistically analyzed using SPSS 16.0. **Results** The levels of EGF in saliva didn't have statistically significant difference in 0, 3, 7 and 30 d during the orthodontic tooth movement($P>0.05$). However, the saliva flow rate detected in 3, 7 and 30 d had significant difference compared to saliva flow rate detected in 0 d($P<0.05$). **Conclusion** Mechanical stimulation of appliances caused the regulation of nervous reflex to increase saliva flow rate, but the appliances and orthodontic force couldn't cause organism regulation to make salivary glands secrete more EGF.

[Key words] orthodontics; saliva; epidermal growth factor; saliva flow rate

表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)对多种细胞有促增殖作用。唾液中的EGF质量浓度可高出其他器官组织分泌的数十至数百倍^[1],其变化受诸多因素的影响。口腔内佩戴的矫治器不断缓和地刺激口腔黏膜,这种刺激对唾液中

EGF质量浓度的影响如何,迄今尚无报道。本研究旨在探讨正畸矫治引起的口腔内环境变化,是否会影响唾液中EGF的质量浓度;患者适应这种慢性的刺激后,其唾液中EGF的质量浓度有何变化,所佩戴的矫治器对唾液流量有何影响。

[收稿日期] 2010-05-26; [修回日期] 2010-07-21

[基金项目] 福建医科大学青年科研基金资助项目(FJGXQ04004)

[作者简介] 黄晓红(1971—),女,福建人,副主任医师,硕士

[通讯作者] 黄晓红, Tel: 0591-87355573

1 材料和方法

1.1 研究对象

选择就诊于福建医科大学附属第一医院口腔

正畸门诊中上颌前突或者前牙深覆盖,需拔除上颌第一前磨牙行固定矫治的正畸患者12人为研究对象。12人中男性5人,女性7人;年龄19~24岁,平均年龄22岁。

纳入标准:上颌后牙无明显旋转、倾斜、颊向错位,不需要排齐即可片段弓拉尖牙向远中;上颌尖牙牙冠完整无早接触和殆创伤,无外伤史,X线根尖片示牙根完整,无根吸收和根尖病变,无牙槽骨丧失,根周膜完整、清晰。于上下颌双侧第一磨牙上带环,上颌双侧尖牙粘接0.56 mm×0.71 mm 国产标准方丝托槽,用0.48 mm×0.64 mm 不锈钢弓丝按牙弓形态弯制双侧尖牙到第一磨牙弓,佩戴矫治器当天用皮链加250 g力牵引尖牙向远中。下颌左侧第二前磨牙至右侧第二前磨牙粘接国产标准方丝弓托槽,0.30 mm 镍钛圆丝排列整齐。试验期间,不采取其他正畸治疗措施。

1.2 唾液样本采集

采用被动流口水法,收集全部试验者在佩戴矫治器前当天(0 d)以及加力后3、7、30 d的唾液。嘱受试者空腹于上午八九点钟时同一房间内端坐,轻微漱口后咽下口腔内的唾液,然后头前倾,微张口将唾液流入干净量筒,收集患者在连续10 min内的流出唾液。

测量唾液流出量并计算唾液的流速后,取1.5 mL 唾液于消毒的Eppendorf离心管,置半径5 cm的离心机10 000 r·min⁻¹离心10 min;取上清液于另一已消毒的Eppendorf离心管,-20℃保存备用。

1.3 试验方法

1.3.1 主要仪器与试剂 1.5 mL Eppendorf离心管,10 mL量筒,INSEPACK血清生化管;高速冷冻离心机,半径5 cm;人EGF酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒:预包被抗人EGF抗体的96孔酶标板,12 mL 10倍标本稀释液,50 mL 20倍浓缩洗涤液,80 ng每瓶重组人EGF冻干标准品2瓶,生物素标志抗人EGF抗体12 mL,12 mL辣根过氧化物酶标志的抗生物素蛋白链菌素,12 mL 四甲基联苯胺(tetramethylbenzidine, TMB)底物工作液,12 mL 终止液;pH7.2磷酸盐缓冲液,水平摇床,酶标仪(美国PE公司)。

1.3.2 检测方法 以双抗体夹心抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物-ELISA法检测EGF的

质量浓度。预先包被的抗体为单克隆抗体,检测相抗体为多克隆抗体,以生物素标志。用抗人EGF单抗包被于酶标板上,标准品和样品中的EGF与单抗结合,加入生物素标志的抗人EGF抗体,反应形成免疫复合物连接于板上,洗涤液彻底洗涤后加入辣根过氧化物酶标志的抗生物素蛋白链菌素与生物素结合;经过洗涤液的彻底洗涤后加入TMB显色,TMB在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,最后加终止液硫酸,在硫酸的作用下蓝色转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的人EGF的质量浓度呈正相关。在450 nm处测出所有样本的光密度值(D),EGF的质量浓度与D值成正比,可通过绘制标准曲线求出标本中的EGF质量浓度。

1.4 统计学分析

采用SPSS 16.0软件行统计学分析,多组均数比较采用方差分析,两两组间比较采用q检验,检验水准为双侧 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

EGF质量浓度的标准曲线见图1。其中,D值为纵坐标,EGF质量浓度为横坐标,两者的直线相关系数为0.997,根据D值测量待测样品的质量浓度值。

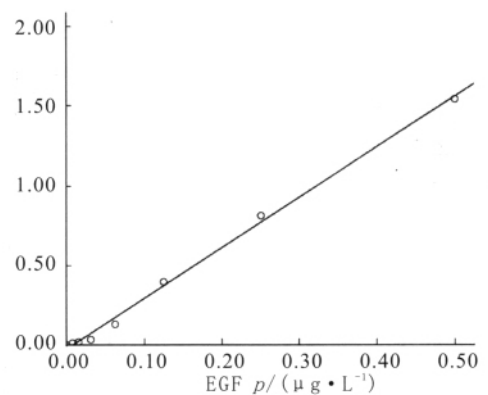


图1 EGF质量浓度的标准曲线图

Fig 1 Standard curve of EGF mass concentration

在受试者,不同时间点唾液中的EGF质量浓度见表1,唾液流量见表2。经统计学检验,受试者的牙齿在加力前0 d以及加力后的3、7、30 d,受试者唾液中的EGF质量浓度变化差异没有统计学意义($P>0.05$)。3、7、30 d的唾液流量与加力前0 d的唾液流量相比较,差异有统计学意义($P<0.05$),显示唾液的流速明显增加;但3、7、30 d的唾液流量两两比较,其差异无统计学意义

($P>0.05$)。

表 1 正畸加力后不同时间点的 EGF 质量浓度

Tab 1 Mass concentration of EGF in after orthodontic force application different days

时间/d	例数	平均 EGF 质量浓度	标准差	质量浓度范围 $\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$
0	12	1.88	0.51	1.19~2.83
3	12	1.95	0.58	0.89~2.75
7	12	1.78	0.31	1.47~2.39
30	12	1.67	0.60	0.85~2.68

表 2 正畸加力后不同时间点的唾液流量

Tab 2 Saliva flow rate of in after orthodontic force application different days $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$

时间/d	例数	平均 EGF 质量浓度	标准差	质量浓度范围
0	12	2.60	0.62	1.60~3.60
3	12	4.06	0.85	2.80~5.20
7	12	4.18	0.73	3.10~5.50
30	12	3.72	0.74	2.70~5.00

3 讨论

大量的研究证实, EGF 在正畸矫治的组织改建中起着重要的作用^[2-3]。Parker 等^[4]在比较 EGF 受体在正常与改建的牙周组织中表达时发现, EGF 受体在改建后的牙周组织中, 其表达明显提高。Uematsu 等^[5]在研究 250 g 力远中牵移人上颌尖牙时发现, 其龈沟液中的 EGF 质量浓度在上颌尖牙受力 24 h 内即显著升高。即机体对正畸机械力产生了反应, 生成的 EGF 参与了正畸组织的改建。高清平等^[6]通过检测正畸力作用下大鼠牙周组织中 EGF 受体 mRNA 的表达与分布后发现, EGF 可能从基因水平参与了正畸牙移动, 促进了组织的修复形成。Wescott 等^[7]在体外应用周期循环的拉伸力作用于所培养的人牙周膜细胞, 模拟正畸矫治力通过牙周膜引起牙槽骨改建的机制, 结果 egf 基因在成骨细胞中的表达受到抑制。

本研究受试者在佩戴口腔正畸矫治器和加力后, 1~7 d 均有疼痛不适, 咬合无力, 部分患者还出现了口腔黏膜溃疡。但在治疗前以及和加力后患者逐渐适应的过程中, 其唾液中 EGF 的质量浓度变化差异无统计学意义, 即固定矫治器和矫治力对口腔黏膜和唾液腺的影响轻微, 尚不能引起机体调节使唾液腺细胞 EGF 分泌增加。即使 EGF 的质量浓度有微量的变化, 但大量唾液的稀释使其在检测中亦可能无法体现。这也从另一方

面说明, 矫治器和矫正治疗对口腔内环境的影响是有限的。

EGF 可趋化聚集各类生长因子于伤口, 进而促进多种上皮和间质生长, 刺激表皮生长与角化, 维持口腔黏膜的稳定性, 在保持上皮的完整性与损害黏膜的愈合中发挥作用^[8]。特别是随着 EGF 质量浓度在唾液中的降低, 口腔上皮表面的黏液厚度受到严重影响, 从而丧失了上皮组织的第一道保护屏障, 故易发生溃疡。Oxford 等^[9]认为在拔除阻生牙或口腔手术后, 唾液中 EGF 的爆发性释放, 可能系口腔外伤后促进创伤愈合的一种自然反应。顾杨等^[10]认为, 口腔溃疡的自愈性可能与溃疡期唾液中 EGF 质量浓度增加和溃疡区 EGFR 表达增加有关。本试验对象佩戴口腔正畸矫治器以及加力后, 口腔黏膜受到轻度的慢性机械性刺激, 部分患者出现口腔黏膜溃疡, 但溃疡又在患者逐渐适应矫治器的过程中快速愈合。由于外伤性溃疡的愈合与黏膜适应外来性刺激有关, 其唾液中 EGF 质量浓度的变化差异无统计学意义, 故口腔黏膜对有害刺激的抵抗不受影响, 组织、细胞自身对周围环境变化发生适应性的反应, 而这种反应是组织、细胞本身的生理特性, 不依赖于外来的神经或体液因素的作用。

延髓是唾液分泌的基本中枢, 唾液分泌完全受神经反射性调节, 包括非条件反射和条件反射。机械的、化学的和温度的刺激, 通过中枢神经引起唾液分泌的属于非条件反射。本试验固定矫治器戴入后 3、7、30 d, 唾液的流速明显增快, 且唾液组间流量差异有统计学意义, 显示正畸固定矫治器可因机械性刺激而引起神经反射性调节, 使唾液分泌增加。这对于口腔适应轻度的外来性机械刺激有一定的积极意义。

综上所述, 正畸固定矫治器和轻度的矫治力等外来性刺激对唾液中 EGF 质量浓度的影响是有限的; 混合唾液的流速明显增快, 是机体的一种适应性变化。

4 参考文献

- [1] Ohashi Y, Motokura M, Kinoshita Y, et al. Presence of epidermal growth factor in human tears[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1989, 30(8):1879-1882.
- [2] 吕 婴, 张 海, 刘晓勇, 等. EGF 对人牙周膜细胞增生与 ALP 活性表达的影响[J]. 首都医科大学学报, 2002, 23(2):171-173.

的可行方向。

4 参考文献

- [1] Piwowarczyk A, Lauer HC, Sorensen JA. Microleakage of various cementing agents for full cast crowns[J]. Dent Mater, 2005, 21(5) :445-453.
- [2] Titley KC, Chernecky R, Rossouw PE, et al. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine[J]. Arch Oral Biol, 1998, 43(4) :305-311.
- [3] Malek S, Darendeliler MA, Rex T, et al. Physical properties of root cementum :Part 2. Effect of different storage methods[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2003, 124(5) :561-570.
- [4] Heintze SD. Crown pull-off test(crown retention test) to evaluate the bonding effectiveness of luting agents[J]. Dent Mater, 2010, 26(3) :193-206.
- [5] Stappert CF, Chitmongkolsuk S, Silva NR, et al. Effect of mouth-motion fatigue and thermal cycling on the marginal accuracy of partial coverage restorations made of various dental materials[J]. Dent Mater, 2008, 24(9) :1248-1257.
- [6] Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations[J]. J Dent, 1999, 27(2) :89-99.
- [7] Blatz MB, Sadan A, Martin J, et al. *In vitro* evaluation of shear bond strengths of resin to densely-sintered high-purity zirconium-oxide ceramic after long-term storage and thermal cycling[J]. J Prosthet Dent, 2004, 91(4) :356-362.
- [8] De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue : Methods and results[J]. J Dent Res, 2005, 84(2) :118-132.
- [9] Ritter AV, Ghaname E, Pimenta LA. Dentin and enamel bond strengths of dual-cure composite luting agents used with dual-cure dental adhesives[J]. J Dent, 2009, 37(1) :59-64.
- [10] Al-Assaf K, Chakmakchi M, Palaghias G, et al. Interfacial characteristics of adhesive luting resins and composites with dentine[J]. Dent Mater, 2007, 23(7) :829-839.
- [11] Matinlinna JP, Lassila LV, Vallittu PK. The effect of five silane coupling agents on the bond strength of a luting cement to a silica-coated titanium[J]. Dent Mater, 2007, 23(9) :1173-1180.
- [12] Romînu M, Lakatos S, Florița Z, et al. Investigation of microleakage at the interface between a Co-Cr based alloy and four polymeric veneering materials[J]. J Prosthet Dent, 2002, 87(6) :620-624.
- [13] Uludag B, Ozturk O, Ozturk AN. Microleakage of ceramic inlays luted with different resin cements and dentin adhesives[J]. J Prosthet Dent, 2009, 102(4) :235-241.
- [14] Milutinović-Nikolić AD, Medić VB, Vuković ZM. Porosity of different dental luting cements[J]. Dent Mater, 2007, 23(6) :674-678.
- [15] De Munck J, Vargas M, Van Landuyt K, et al. Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin[J]. Dent Mater, 2004, 20(10) :963-971.

(本文编辑 王 晴)

(上接第650页)

- [3] Guajardo G, Okamoto Y, Gogen H, S et al. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor in cat paradental tissues during tooth movement[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2000, 118(2) :210-219.
- [4] Parkar MH, Kuru L, Giouzezi M, et al. Expression of growth-factor receptors in normal and regenerating human periodontal cells[J]. Arch Oral Biol, 2001, 46(3) :275-284.
- [5] Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Interleukin(IL)-1 beta, IL-6, tumor necrosis factor-alpha, epidermal growth factor, and beta 2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement[J]. J Dent Res, 1996, 75(1) :562-567.
- [6] 高清平, 郭 峰, 谭 亮, 等. 原位杂交法检测正畸力作用下大鼠牙周组织表皮生长因子-mRNA的表达[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(24) :3001-3003.
- [7] Wescott DC, Pinkerton MN, Gaffey BJ, et al. Osteogenic gene expression by human periodontal ligament cells under cyclic tension[J]. J Dent Res, 2007, 86(12) :1212-1216.
- [8] Epstein JB, Gorsky M, Guglietta A, et al. The correlation between epidermal growth factor levels in saliva and the severity of oral mucositis during oropharyngeal radiation therapy[J]. Cancer, 2000, 89(11) :2258-2265.
- [9] Oxford GE, Jonsson R, Olofsson J, et al. Elevated levels of human salivary epidermal growth factor after oral and juxtaoral surgery[J]. J Oral Maxillofac Surg, 1999, 57(2) :154-158.
- [10] 顾 杨, 张 纲, 林 梅. 复发性阿弗他溃疡患者唾液中表皮生长因子和病损区表皮生长因子受体的定量研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2008, 26(1) :36-39.

(本文编辑 汤亚玲)