

[文章编号 1000-1182(2005)04-0319-03]

静磁场对牙周炎大鼠牙周膜组织中 骨形成蛋白-2影响的实验研究

仇丽鸿, 秦 科, 钟 鸣, 王兆元

(中国医科大学口腔医院 口腔内科, 辽宁 沈阳 110002)

[摘要] 目的 观察静磁场对实验性牙周炎大鼠牙周膜组织中骨形成蛋白-2(BMP-2)表达的影响。方法 36只大鼠牙周结扎、高糖喂食5周,确定形成牙周炎模型后,分为2组,每组18只。实验组在大鼠双侧颊部皮下组织区埋入表面磁场强度为0.12 T的磁体,实验对照组埋入不充磁的磁体。2组大鼠分别于术后的第2、4、7天处死,切取牙周炎患牙及其周围牙周组织,采用SABC免疫组化方法检测病变区牙周膜组织中BMP-2的变化。同时设正常对照组。结果 静磁场作用后,牙周膜组织中BMP-2表达增多,第4天和第7天时与实验对照组间存在显著性差异($P < 0.05$)。结论 静磁场能够促进牙周炎牙周膜细胞分泌BMP-2,从而参与牙周组织的修复与重建。

[关键词] 静磁场; 骨形成蛋白-2; 牙周炎

[中图分类号] R 781.4 [文献标识码] A

Effect of Static Magnetic Field on Bone Morphogenetic Protein-2 in Periodontal Membrane of Experimental Periodontitis

Rat QIU Li-hong, QIN Ke, ZHONG Ming, WANG Zhao-yuan. (Dept. of Oral Medicine, College of Stomatology, China Medical University, Shenyang 110002, China)

Abstract Objective To evaluate the effect of static magnetic field on expression of bone morphogenetic protein-2(BMP-2) in the periodontal membrane of experimental periodontitis rat. **Methods** Experimental periodontitis of rat was formed by ligaturing the neck of rat teeth and feeding sugar of high concentration. The magnet which the intensity of magnetic field was 0.12 tesla was put into their cheeks. The rats were sacrificed at 2nd day, 4th day and 7th day, respectively. Immuno-histochemical techniques were used to evaluate the change of BMP-2 expression. **Results** BMP-2 was mainly found in the plasma of fibroblast, osteoblast, cementocyte and odontoblast separately. There was not clearly difference between the periodontitis group and the normal group, but BMP-2 in the experimental group treated with static magnetic field was higher than the two groups. **Conclusion** Static magnetic field plays an important role in repairing and remodeling of periodontitis.

Key words static magnetic field; bone morphogenetic protein-2; periodontitis

骨形成蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)是一种具有骨诱导活性的细胞因子,存在于多种组织中,对靶细胞的生长、分化具有调控作用^[1]。已有实验表明BMP-2与牙周炎的病理过程密切相关,在牙周组织的自身修复中发挥一定的作用。静磁场具有促进骨质生长的作用,并已应用于一些疾病的临床治疗。本研究将静磁场引用到牙周炎的治疗中,观察静磁场对牙周炎组织中BMP-2表达的影响,探讨牙周炎磁治疗的生物学基础,为临床牙周炎的治疗提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 磁材料的制备

选用35SH型号的钕铁硼永磁体,加工成2 mm × 3 mm × 8 mm大小,充磁后表面磁场强度为0.12 T。

1.2 实验动物与分组

选取42只健康雌性Wistar大鼠,2月龄,体重220~240 g,由中国医科大学实验动物中心提供。随机分为3组,实验组:18只大鼠,制备牙周炎模型,分别加充磁的磁体作用至第2天、第4天、第7天处死,每组6只大鼠。实验对照组:18只大鼠,制备牙周炎模型,分别加不充磁的磁体作用至第2天、第4天、第7天处死,每组6只大鼠。正常对照组:正常大鼠6只,常规饲养5周处死。

1.3 动物实验

1.3.1 牙周炎动物模型的制备^[2] 846药物腹腔麻醉大鼠,0.25 mm不锈钢丝分别结扎左右上颌第二磨

[收稿日期 2005-01-07; 修回日期 2005-03-16]

[基金项目] 辽宁省教育厅基金资助项目(20122170)

[作者简介] 仇丽鸿(1964-),女,河北人,副教授,博士

[通讯作者] 秦 科, Tel: 024-22891418

牙,常规鼠料及 10 %高糖水喂饲 5 周。

1.3.2 实验性静磁场的形成³ 846 药物腹腔麻醉,0.5 %洗必泰消毒,于牙周炎大鼠头部左右两侧距外耳道前缘 5 mm,下眼睑下缘 2 mm 处切开皮肤,钝性分离,将充磁(表面磁场强度为 0.12 T)和未充磁的钕铁硼永磁体分别埋入实验组和实验对照组大鼠局部的皮下组织中,庆大霉素抗感染,缝合皮肤,继续常规饲养。

1.4 组织标本的制备及 BMP-2 的观察

分别于术后规定的时间,处死大鼠,切取牙周炎患牙及其周围牙周组织,4 %多聚甲醛固定 24 h,ED-TA 脱钙,乙醇系列脱水,石蜡包埋,制成近远中向 5 μm 厚的组织切片。

苏木精 - 伊红染色:苏木精 - 伊红法染色,光镜下观察组织学变化。

免疫组织化学染色:采用 SABC 法观察 BMP-2 的表达。第一抗体工作浓度为 1:100,兔抗鼠 BMP-2 单抗和 SABC 试剂盒为武汉博士德生物有限公司产品。

1.5 图像分析及统计学处理

应用 Metamorph 图像分析仪检测 BMP-2 的表达。在每张免疫组化切片的牙周膜区随机选取 5 个视野,采集图像并进行图像分析,用平均灰度值表示染色强度。采用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 苏木精 - 伊红染色

正常对照组:牙龈上皮完整,牙周膜纤维排列整齐。牙周炎动物模型:上皮下可见多量淋巴细胞浸润,结合上皮向根方延伸(图 1),牙周膜纤维排列紊乱,在牙槽骨表面可见多量破骨细胞。

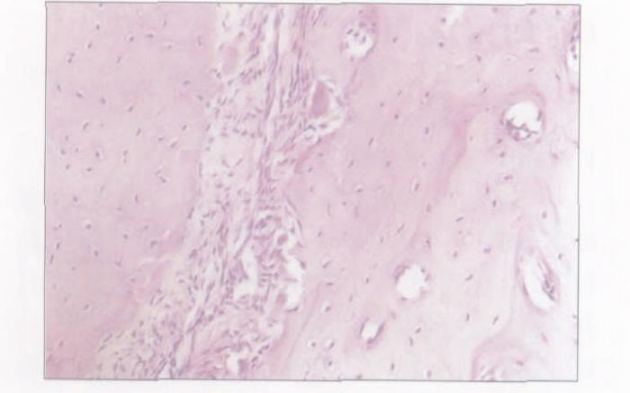


图 1 牙周炎模型显示,牙龈破溃,淋巴细胞浸润,结合上皮向根方延伸 HE ×200
Fig 1 The ulcer of gingiva and the decline of junctional epithelium in the mode of periodontitis HE ×200

2.2 免疫组化染色

BMP-2 阳性着色部位位于细胞浆,呈棕黄色。

在正常对照组中,牙周膜成纤维细胞、成牙骨质细胞、成骨细胞及胶原纤维等均可见 BMP-2 阳性染色(图 2)。实验对照组,BMP-2 染色略增强,但牙周膜纤维明显水肿、牙骨质吸收处 BMP-2 染色减弱(图 3)。与前两组相比,实验组牙周膜成纤维细胞、成牙骨质细胞、成骨细胞及胶原纤维等 BMP-2 染色增加,第 4 天时染色明显(图 4)。Metamorph 图像分析结果见表 1。统计学分析表明,正常对照组与实验对照组间 BMP-2 表达无显著性差异,而第 4 天和第 7 天时实验组与上述两组间有显著性差异($P < 0.05$)。

表 1 实验组牙周膜组织 BMP-2 的表达($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The result of BMP-2 in the periodontal membrane of experimental group($\bar{x} \pm s$)

时间	分组		
	正常对照组	实验对照组	实验组
第 2 天	141.53 ±2.33	156.81 ±1.42	123.82 ±1.22
第 4 天	-	130.65 ±1.42	114.19 ±4.40
第 7 天	-	150.27 ±3.86	120.29 ±2.57

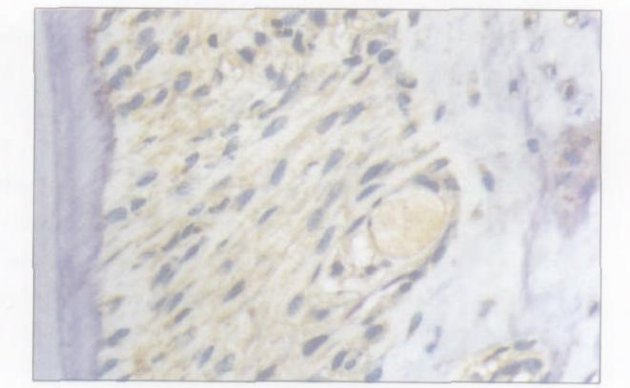


图 2 正常对照组大鼠牙周膜组织中 BMP-2 的表达 SABC ×400
Fig 2 BMP-2 in normal periodontal membrane of rat SABC ×400

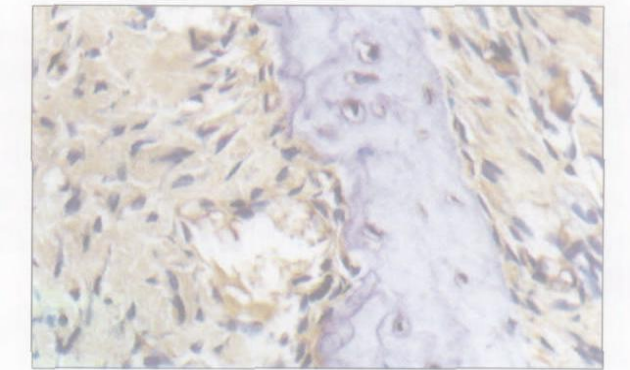


图 3 实验对照组大鼠牙周膜组织中 BMP-2 的表达 SABC ×400
Fig 3 BMP-2 in periodontal membrane of periodontitis rat SABC ×400

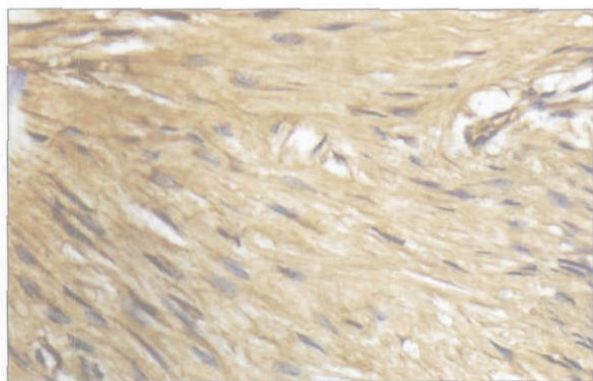


图4 实验组第4天大鼠牙周膜组织中 BMP-2 的表达 SABC
×400

Fig 4 BMP-2 in periodontal membrane of periodontitis rat treated with
static magnetic field 4 days SABC ×400

3 讨论

3.1 BMP-2 在牙周组织中的作用

正常情况下,骨细胞产生一定量的 BMP 作用其相邻的成骨细胞及其自身,调节骨组织的生长。本实验表明在大鼠的牙周膜成纤维细胞、成骨细胞、成牙骨质细胞及胶原纤维等的胞浆中均有 BMP-2 的表达,推测 BMP-2 在调节牙周膜组织的生长、代谢中发挥一定的作用。

BMP-2 在牙周组织中的作用与局部炎症的刺激程度有关。当大鼠牙齿被结扎 5 周时,出现牙龈炎细胞浸润,结合上皮向根方迁移,牙槽骨不同程度吸收,牙周纤维排列紊乱,这些病理改变与文献报道的牙周炎动物模型基本相似²,提示本实验的牙周炎模型建立成功。此时,在牙周炎症因子的刺激下,部分牙周膜细胞 BMP-2 的合成增加,诱导牙周膜间充质细胞分化,促进牙周膜自身的修复,但统计学检测 BMP-2 表达与正常对照组间无显著性差异,这可能与局部刺激因子的严重程度有关。在牙周膜水肿、牙骨质吸收明显处,BMP-2 的表达减弱,推测可能与局部炎症因子作用过强,抑制修复反应有关。王忠东等⁴研究发现,在一定程度的龋源性炎症刺激下,BMP 基因激活并表达;在有弥漫性炎症的牙髓组织中,BMP 表达减弱。BMP-2 作为一种骨诱导因子,存在于牙周组织中,临床上如何促进牙周炎组织中 BMP-2 的增加是值得关注的。

3.2 静磁场对牙周炎组织中 BMP-2 表达的影响

随着生物磁学研究的深入,磁场作为辅助的治疗手段,越来越多地应用于临床一些疾病的治疗中。本研究将外源性静磁场作用于大鼠牙周炎组织,当静磁

场作用至第 4 天时,BMP-2 表达明显,且与实验对照组存在差异,推测 BMP-2 的增加是由于磁场的作用所致,此时 BMP-2 功能活跃,参与牙周膜的修复与重建。Nagai 等⁵利用脉冲电磁场研究其对发育中鸡胚颅盖骨 BMP-2 mRNA 表达的影响,结果发现与对照组相比,培育 15 d 和 17 d 的鸡胚颅盖骨组织 BMP-2 mRNA 的水平分别增加 2.7 倍和 1.6 倍。由此可见,磁场具有调节骨生长因子代谢,促进骨愈合和骨改建的作用。大量研究表明⁶,磁刺激可以增加胞液中游离钙离子的浓度,通过胞内一系列信号传导,将刺激信号传递至核内,促进骨细胞合成、分泌 BMP 等生长因子。同时,磁场具有消除炎症的作用。在磁场的作用下,可以使血管扩张,血流加快,从而促进炎性渗出液的吸收⁷。通过在牙周炎组织局部附加磁场,可以减轻局部的炎细胞浸润,从而增加 BMP-2 的表达,促进牙周组织健康的恢复。

[参考文献]

- 1] Wozney JM. The bone morphogenetic protein family: Multifunctional cellular regulators in the embryo and adult J. Eur J Oral Sci, 1998, 106(1): 106-111.
- 2] 章魁华,于世风主编. 实验口腔病理学 M. 北京:人民卫生出版社, 2002:37-38.
(Zhang KH, Yu SF. Experimental oral pathology M. Beijing: People's Medical Press, 2002:37-38.)
- 3] 常新,秦科,吕永利. 静磁场对大鼠三叉神经节中 SP-mRNA 作用的实验研究 J. 华西口腔医学杂志, 2003, 21(3): 235-237.
(Chang X, Qin K, Lu YL, et al. The Study of effects of static magnetic field on SP-mRNA in trigeminal ganglion in rats J. West China J Stomatology, 2003, 21(3): 235-237.)
- 4] 王忠东,文玲英,金岩,等. 人牙髓组织中骨形成蛋白-3 基因表达的原位分子杂交研究 J. 实用口腔医学杂志, 2000, 16(4): 275-278.
(Wang ZD, Wen LY, Jin Y, et al. Expressing of BMP3 mRNA in human pulp tissue J. J Pract Stomatol, 2000, 16(4): 275-278.)
- 5] Nagai M, Ots M. Pulsing electromagnetic field stimulates mRNA expression of bone morphogenetic protein-2 and -4 J. J Dent Res, 1994, 73(10): 1601-1609.
- 6] Wang Q, Zhang S, Ouyang J, et al. Osteogenesis of electrically stimulated bone cells mediated in part by calcium ions J. Clin Orthop Relat Res, 1998, (348): 259-268.
- 7] 周万松主编. 新编磁疗学 M. 北京:科学出版社, 1995: 141-143.
(Zhou WS. New magnetotherapy M. Beijing: Science Press, 1995: 141-143.)

(本文编辑 汤亚玲)