

· 论著 ·

# 下颌功能性前伸后髁突部 RANKL、MMP-2、MMP-9 及 VEGF 水平变化的实验研究

崔佳<sup>1</sup>, 刘学聪<sup>1</sup>, 刘昕<sup>2</sup>, 赵利霞<sup>3</sup>, 张力元<sup>1</sup>, 盛海莹<sup>4</sup>, 左艳萍<sup>3</sup>

1. 河北医科大学附属河北省儿童医院口腔科, 河北 石家庄 050031; 2. 河北医科大学第四医院口腔科, 河北 石家庄 050011;  
3. 河北医科大学第一医院口腔正畸科, 河北 石家庄 050031; 4. 北京市通州区新华医院口腔科, 北京 101100

**摘要:** 目的 研究功能性矫正器引导大鼠下颌功能性前伸后髁突部核因子-κB 受体活化因子配基(RANKL)、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9、血管内皮生长因子(VEGF)的水平变化。方法 选择健康 SD 大鼠 20 只, 分为实验组和对照组, 每组 10 只, 对实验组大鼠进行下颌功能性前伸模型建造, 正常对照组大鼠不做处理, 自然生长。将两组大鼠于 3、5、7 d 时分别处死, 选取髁突及周围 3 mm 组织作为实验标本, 对两组大鼠 3、5、7 d 的组织标本进行检测:(1)酶联免疫吸附法检测 RANKL 的水平, 测量牙间距离;(2)行 HE 染色光镜下观察组织学图像;(3)免疫组化染色光镜下观察 MMP-2、MMP-9、VEGF 蛋白的表达情况;(4)Western blot 法检测 MMP-2、MMP-9、VEGF 蛋白相对表达量。**结果** 实验组大鼠 5、7 d 时 RANKL 水平明显低于对照组( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 且实验组大鼠 5、7 d 时的牙间距离明显大于对照组( $P$  均  $< 0.01$ )。实验组大鼠 5、7 d 组织标本可见髁突软骨层结构紊乱、细胞排序散乱且发生软骨部分脱落, 软骨厚度相比对照组大鼠普遍增加。免疫组化染色结果显示, 实验组大鼠髁突部 3、5 d 时的 MMP-2 及 3 d 时的 MMP-9、VEGF 蛋白表达与对照组相比差异无统计学意义; 7 d 时的 MMP-2 和 5、7 d 时的 MMP-9、VEGF 蛋白表达明显低于对照组。Western blot 结果显示, 实验组大鼠髁突部 3、5 d 时 MMP-2 和 3 d 时 MMP-9、VEGF 表达水平与对照组相比差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ ); 5 d 时 MMP-2 及 5、7 d 时 MMP-9、VEGF 表达水平显著低于对照组( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论** RANKL、MMP-2、MMP-9 和 VEGF 在下颌功能前伸后可能参与髁突部的骨重建和骨形成过程, 对其水平的检测或可为髁突部的骨重建提供重要的参考价值。

**关键词:** 功能性矫正器; 下颌功能性前伸; 髁突部; 基质金属蛋白酶; 血管内皮生长因子; 核因子-κB 受体活化因子配基

中图分类号: R 782.6 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2019)04-0433-06

## **Changes of RANKL, MMP-2, MMP-9 and VEGF levels in condylar process following functional mandibular protrusion: an experimental study in vitro for rats**

CUI Jia\*, LIU Xue-cong, LIU Xin, ZHAO Li-xia, ZHANG Li-yuan, SHENG Hai-ying, ZUO Yan-ping

\* Department of Stomatology, Hebei Provincial Children's Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050031, China

**Abstract: Objective** To study the changes of receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL), matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in condylar process after functional mandibular protrusion guided by functional orthodontic appliance in rats. **Methods** Twenty healthy SD rats were selected and were divided into experimental group and control group ( $n = 10$  each). The functional mandibular protrusion models were built in rats of experimental group. The rats in control group grew naturally without treatment. The rats in two groups were killed at 3-, 5-, 7-day of feeding, respectively. The tissues of condylar process and the tissues of 3 mm around it were served as experimental specimens. Selecting the tissue specimens of 3-, 5-, 7-day for detection: (1) RANKL was detected by enzyme-linked immunosorbent assay; interdental distance was measured; (2) histological image was observed under light microscope after HE staining; (3) expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF proteins were detected by immunohistochemical staining method and observed under light microscope; (4) relative expression levels of MMP-2, MMP-9 and VEGF proteins were detected by Western blot method. **Results** At 5- and 7-day, RANKL level in experimental group was significantly lower than that in control group ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), and the interdental distance in experimental

group was significantly greater than that in control group (all  $P < 0.01$ ). Histological image showed that the structure of condylar cartilage layer was disordered, and the cell sorting was scattered with partial exfoliation of cartilage, and the cartilage thickness increased generally in the tissue specimen of experimental group at 5- and 7-day compared with control group. Immunohistochemical staining showed that there were no significant differences in the expression levels of MMP-2 protein at 3- and 5-day, MMP-9 and VEGF proteins at 3-day in condylar process between two groups, while the expression levels of MMP-2 protein at 7-day and MMP-9 and VEGF proteins at 5- and 7-day in condylar process in experimental group were significantly lower than those in control group. Western blot showed that there were no significant differences in the relative expression levels of MMP-2 protein at 3- and 5-day, MMP-9 and VEGF proteins in condylar process at 3-day between two groups (all  $P > 0.05$ ), while the expression levels of MMP-2 protein at 5-day, MMP-9 and VEGF proteins at 5- and 7-day in condylar process in experimental group were significantly lower than those in control group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion** RANKL, MMP-2, MMP-9 and VEGF may be involved in the process of bone remodeling and bone formation of condylar process after mandibular functional protrusion, and detection of their level may provide important reference value for condylar bone reconstruction.

**Key words:** Functional orthodontic appliance; Functional mandibular protrusion; Condylar process; Matrix metalloproteinases; Vascular endothelial growth factor; Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand

**Foundation program:** Key Science and Technology Research Program of Hebei Province (20160712)

髁突内骨组织的改建生长与髁突表面的软骨层有非常密切的关联,骨生长的长期作用主要是依赖软骨进行生成。有研究认为在下颌功能前伸后由于下颌位置发生改变,同时也会导致下颌髁突的增生和生长<sup>[1]</sup>。核因子- $\kappa$ B受体活化因子配基(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)、基质金属蛋白酶(matrix metalloprotein, MMP)-2、MMP-9及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是骨形成和骨改建过程中比较常规的检测指标,能够发挥各自不同的功能来参与骨改建的过程<sup>[2-3]</sup>。本研究对下颌功能性前伸后大鼠进行实验,旨在探讨RANKL、MMP-2、MMP-9及VEGF在功能性矫正器引导大鼠下颌前伸后髁突部的表达及其意义。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 研究动物:选择健康SD大鼠20只,由河北医科大学实验动物中心提供。先使用基础饲料饲养1周,分为对照组和模型实验组,每组10只。对照组大鼠的年龄10~11( $10.4 \pm 0.5$ )周龄;体重219~248( $234.5 \pm 6.9$ )g。模型实验组大鼠的年龄10~11( $10.4 \pm 0.6$ )周龄;体重215~250( $233.8 \pm 7.3$ )g。两组大鼠均在温度为26℃,室内湿度35%~40%的同一实验室饲养,实验室定时进行紫外线照射消毒。本研究所做实验均获得我院伦理委员会批准。主要试剂与仪器:兔抗大鼠MMP-2抗体(由根生化科技有限公司提供);小鼠抗大鼠MMP-9、VEGF抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司);RANKL ELISA试剂盒(购于上海国药集团化学试剂有限公司);磷酸盐缓冲液(PBS)、二甲苯、多聚甲醛(购于上海国药

集团化学试剂有限公司);苏木素-伊红(HE)、乙醇溶液、蛋白酶修复液、山羊血清(购于北京中杉金桥生物技术有限公司);高倍光学显微镜(购于天津微仪光学仪器有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 下颌功能性前伸模型建造** 对模型实验组大鼠佩戴固定的前伸下颌矫正器,采用固定式上颌斜面导板制作功能矫正器,主要包括三部分:斜面导板、上切牙冠套和口外橡皮圈牵引钩。上颌切牙冠套和斜面导板均是白合金片制成,厚度为0.22mm,斜面导板与上颌平面的角度为300°。冠套和口外橡皮圈牵引钩是主要的固定部位。切牙冠套采用玻璃离子粘固,橡皮圈牵引钩形成固定臂,主要依靠橡皮圈越过大鼠鼻上颌复合体,加固矫正器。大鼠闭口,下切牙会咬住上颌斜面导板,引导下颌向前伸。10%0.3ml/100g水合氯醛将大鼠麻醉,采用医用蜡片制作大鼠上颌的个别托盘,藻酸盐印模,灌注完成超硬石膏。在石膏上制作大鼠上颌切牙的冠套、橡皮圈和斜面导板。将矫正器两侧固位臂的斜面导板点焊相连,佩戴时斜面导板与上颌殆平面成30°角,斜向舌侧。佩戴时在大鼠切牙上使用玻璃离子粘固切牙冠套,橡皮圈越过上颌的鼻上颌复合体,两侧橡皮圈牵引钩连接,矫正器将固定在大鼠的鼻上颌复合体,大鼠下颌被导向前伸呈现前牙舒适度的前伸状态,下颌功能性前伸大鼠模型建造完毕。

**1.2.2 实验设计** 实验组大鼠需要24 h配戴矫正器,并观察大鼠配戴情况,如果发生矫正器掉落,要及时调整,重新消毒后进行粘接。对照组大鼠不做处理,自然生长。所有大鼠均自由饮水,供给足量软食。

软食主要是由干燥鼠粮改良制作,加水浸泡混合后搅拌均匀,成为糊状。

**1.2.3 标本采集** 将两组大鼠于 3、5、7 d 时分别断头处死,3 d 和 5 d 各处死 3 只,7 d 处死 4 只。下颌骨分离,髁突部分游离后剪取,清理表面的软组织,使用 4% 多聚甲醛固定 24 h。加入 10% 的 EDTA 进行脱钙软化处理,脱钙 3 次,时间为 2 周。之后采用 PBS,选取髁突及周围 3 mm 直径组织为实验组织标本,90% 乙醇和 95% 乙醇消毒 30 min。采用二甲苯透明标本,55 ℃ 脱蜡,时间为 30 min,进行两次。包埋时与蜡块底面保持平行。

**1.2.4 RANKL 水平测定和牙间距离测量** 对两组大鼠 3、5、7 d 实验组织标本的 RANKL 水平和牙间距进行观察检测。RANKL 采用 ELISA 法检测,将待测的标本和酶标物严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤进行,采用 50 mM 碳酸盐包被缓冲液将抗原进行溶解,浓度为 10~20 μg/ml,在 96 孔酶标板中加入 100 μl/孔,4 ℃ 过夜保存。第二天舍弃包被液,采用 PBST 洗涤 3 次,每孔中加入 1% 的 150 μl BSA,在 37 ℃ 环境中封闭 1 h。之后采用 PBST 洗涤 3 次,在每孔中加入 100 μl 不同倍比稀释度的血清,加入对照样品,37 ℃ 孵育 2 h。采用 PBST 洗涤 5 次,加入 100 μl,稀释后的辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗,37 ℃ 孵育 1 h。PBST 洗涤 5 次之后,使用显色剂显色 20 min 后,在酶标仪上读取 A405 值。使用刻度尺对两组大鼠各时间段的牙间距进行测量,记录数据并进行比较。

**1.2.5 HE 染色处理** 对两组大鼠 3、5、7 d 的样本进行染色处理,使用二甲苯进行常规脱蜡处理 2 次,每次 5 min,然后在梯度酒精下水化处理 3 min,自来水冲洗 1 次;使用苏木素染色 5 min,自来水冲洗 1 次;使用浓度为 1% 的盐酸乙醇分化处理 30 s,在 0.2% 氨水中返蓝处理 2 min,自来水冲洗 1 次;在浓度 0.5% 伊红染色 10 min,自来水冲洗 1 次;使用乙醇梯度进行脱水处理,最后用中性树胶进行封片。

**1.2.6 免疫组化染色检测 MMP-2、MMP-9、VEGF 蛋白的表达** 将两组大鼠 3、5、7 d 的标本石蜡切片放在二甲苯中脱蜡处理 10 min,采用梯度酒精脱水,切片在弱碱性的缓冲液中进行微波加热,修复抗原,通过加入过氧化酶阻断溶液,将内源性过氧化酶的活性进行阻断,之后进行血清封闭,加入 MMP-2、MMP-9、VEGF 抗体(滴度 1:100)4 ℃ 的环境下孵育,过夜保存。37 ℃ 复温采用 PBS 缓冲液冲洗;加入适量的山羊血清,在室温环境下封闭 30 min;用滤纸将封闭液吸取,加入一抗,放入湿盒,然后再加入二抗,室温孵

育 1 h,采用 PBS 缓冲液冲洗;经过 DAB 显色处理 10 min,能够在显微镜下观察到棕黄色阳性反应,则采用 PBS 缓冲液冲洗 1 min;使用苏木精复染 3 min,然后用浓度为 1% 的盐酸乙醇分化处理,自来水冲洗 1 min 后,脱水并封片处理。

**1.2.7 图像分析** HE 染色和免疫组化染色处理后的样本使用光学显微镜进行图像分析,采集样本图像,应用多功能真彩色细胞图像分析管理系统对视野内测量指标的表达情况进行检测。

**1.2.8 Western blot 检测 MMP-2、MMP-9、VEGF 蛋白相对表达量** 将采集到的 3、5、7 d 实验组织标本,使用 PBS 缓冲液清洗三遍以上,分离缓冲液,加入 IP 细胞裂解液,进行裂解 35 min,提取总蛋白。通过 SDS-PAGE 凝胶进行电泳,加入适量浓缩的 SDS-PAGE 蛋白缓冲液 15 min;100 V,电泳 10 min,结束之后,将电转膜浸泡在 10% 的牛奶中,在 37 ℃ 环境下的摇床上封闭 1.5 h;与一抗结合,加入 TBST 稀释(按 1:1 000 稀释)一抗,在 4 ℃ 的环境下孵育过夜保存;第二天用 TBST 缓冲液清洗,与二抗结合在室温下孵育 1 h,再次用 TBST 缓冲液反复清洗。最后将其仅在底物溶液中进行显色,采用二喹啉甲酸 (BCA) 法测定蛋白浓度,严格按照 BCA 蛋白定量试剂盒操作说明书进行,分析灰度值,目的蛋白条带灰度值/内参条带灰度值 = 目的蛋白相对表达量。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。符合正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  描述,两组间实施独立样本 t 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 RANKL 水平及牙间距离** 实验组大鼠 3 d 时 RANKL 水平与对照组相比无统计学差异 ( $P > 0.05$ ),5、7 d 时 RANKL 水平明显低于对照组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );实验组大鼠 3 d 时牙间距离与对照组相比无统计学差异 ( $P > 0.05$ ),5、7 d 时牙间距离明显大于对照组 ( $P$  均  $< 0.01$ )。见表 1。

**2.2 组织学观察** 对照组大鼠和实验组 3 d 时大鼠髁突软骨的纤维层、成熟层、增殖层、肥大层以及钙化软骨层细胞相互移行,结构清晰;而实验组大鼠 5、7 d 时组织标本中可见髁突软骨层结构紊乱、细胞排序散乱且发生软骨部分脱落,软骨厚度较对照组和实验组 3 d 时普遍增加。见图 1。

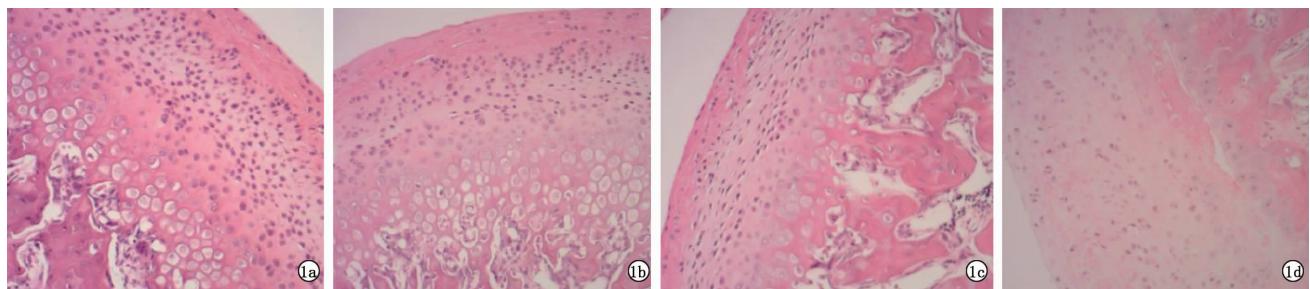
**2.3 免疫组化染色法检测 MMP-2、MMP-9、VEGF 蛋白表达情况** 免疫组化结果显示,(1) MMP-2:图 2 为对照组和实验组 3、5、7 d 时大鼠 MMP-2 表达情

表 1 两组大鼠 RANKL 水平和牙间距离比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	RANKL(ng/L)			牙间距离(mm)		
	3 d(n=3)	5 d(n=3)	7 d(n=4)	3 d(n=3)	5 d(n=3)	7 d(n=4)
对照组	7.26 ± 1.66	7.36 ± 1.58	7.28 ± 1.64	18.53 ± 1.12	18.53 ± 1.14	18.54 ± 1.13
实验组	6.78 ± 1.46	4.33 ± 1.63	2.65 ± 1.26	19.54 ± 1.21	21.56 ± 1.12	23.25 ± 1.26
t 值	0.72	4.22	7.00	1.94	5.99	8.80
P 值	>0.05	<0.05	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01

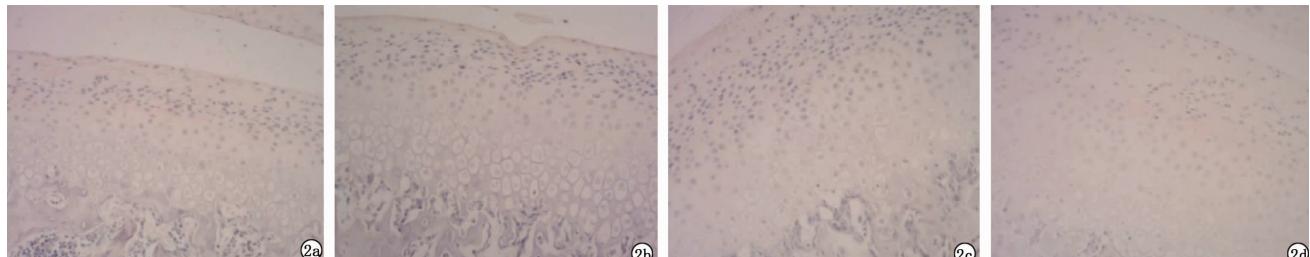
表 2 两组大鼠各时间段 MMP-2、MMP-9、VEGF 蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	MMP-2			MMP-9			VEGF		
	3 d(n=3)	5 d(n=3)	7 d(n=4)	3 d(n=3)	5 d(n=3)	7 d(n=4)	3 d(n=3)	5 d(n=3)	7 d(n=4)
对照组	26.65 ± 7.53	27.22 ± 7.54	26.86 ± 7.48	33.65 ± 8.06	33.86 ± 8.12	33.45 ± 7.98	125.35 ± 18.01	126.45 ± 18.14	124.36 ± 17.66
实验组	23.64 ± 6.53	19.36 ± 6.13	13.23 ± 5.23	30.65 ± 7.03	21.33 ± 6.13	16.32 ± 5.23	113.65 ± 18.31	100.33 ± 16.13	82.75 ± 12.36
t 值	1.03	2.56	4.63	0.83	3.89	5.70	1.33	3.40	6.12
P 值	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	<0.05	<0.01	>0.05	<0.05	<0.01



注:1a:对照组;1b:实验组 3 d;1c:实验组 5 d;1d:实验组 7 d。

图 1 两组大鼠髁突软骨组织学观察(HE, ×100)



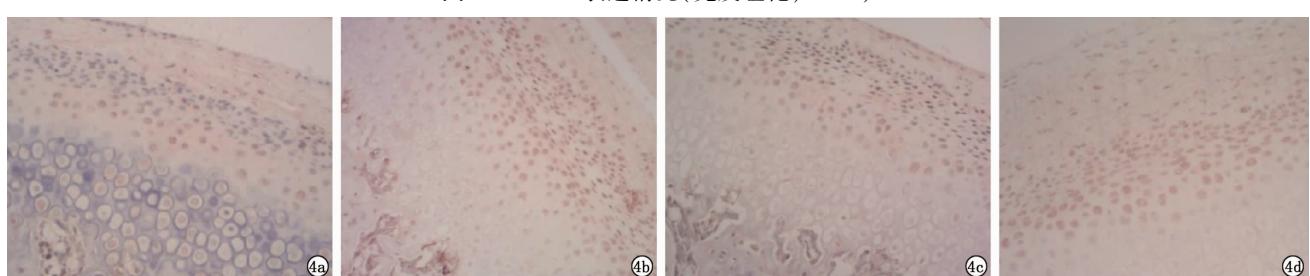
注:2a:对照组;2b:实验组 3 d;2c:实验组 5 d;2d:实验组 7 d。

图 2 MMP-2 表达情况(免疫组化, ×100)



注:3a:对照组;3b:实验组 3 d;3c:实验组 5 d;3d:实验组 7 d。

图 3 MMP-9 表达情况(免疫组化, ×100)



注:4a:对照组;4b:实验组 3 d;4c:实验组 5 d;4d:实验组 7 d。

图 4 VEGF 表达情况(免疫组化, ×100)

况,光镜下可见 MMP-2 主要在髁突软骨的成熟层和肥大层表达,增殖层中有少量表达,表现为胞浆和软骨细胞核呈棕黄色。对照组和实验组 3 d 时大鼠 MMP-2 的表达情况无明显差异,实验组 5、7 d 时大鼠 MMP-2 的表达显著少于对照组。(2) MMP-9:图 3 为对照组和实验组 3、5、7 d 时大鼠 MMP-9 表达情况,光镜下可见 MMP-9 主要在髁突软骨的成熟层和肥大层表达,表现为软骨细胞胞浆和软骨细胞外基质呈棕黄色颗粒。对照组和实验组 3 d 时大鼠 MMP-9 的表达情况无明显差异,实验组 5、7 d 时大鼠 MMP-9 的表达显著少于对照组。(3) VEGF:图 4 为对照组大鼠和实验组 3、5、7 d 时大鼠 VEGF 表达情况,光镜下可见 VEGF 主要在髁突软骨的成熟层和肥大层表达,在增殖层中仅有少量的表达,表现为胞浆和软骨细胞核呈棕黄色。对照组和实验组 3 d 时大鼠 VEGF 的表达情况无明显差异,实验组 5、7 d 时大鼠 VEGF 的表达显著少于对照组。

**2.4 Western blot 检测两组大鼠 MMP-2、MMP-9、VEGF 蛋白相对表达量结果** 如表 2 所示,实验组大鼠髁突部 3、5 d 时的 MMP-2 及 3 d 时的 MMP-9、VEGF 蛋白相对表达量与对照组相比差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ );7 d 时的 MMP-2 和 5、7 d 时的 MMP-9、VEGF 蛋白相对表达量明显低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。

### 3 讨 论

下颌骨髁突是下颌骨部位最为重要的生长区,主要是通过下颌骨髁突的内成骨来完成生长发育的过程<sup>[4]</sup>。机体的骨组织始终都在进行着一个新陈代谢的过程,骨骼的生长则需要在各种因子的调控下来完成,并且完成生物组织的重建。在正常的生理环境下,骨组织始终处于一个合理应力的环境中,使骨组织的形成和吸收状态维持一种动态平衡<sup>[5]</sup>。当应力环境受到改变的时候,动态平衡也将被打破,那么骨组织将会进行骨形态的重建,并且发生骨质和骨量的改变,使骨组织重新在另一个环境下达到动态平衡的效果<sup>[6-7]</sup>。

在下颌骨变化的过程中,髁突部的骨改建是下颌功能性前伸后监测骨形态改变的关键<sup>[8-9]</sup>。有研究显示,在使用功能性矫正器对髁突进行发力时,整个髁突的受力分布是不同的,髁突的后部是主要的应力点。还有学者指出,每个部位受力大小的不同会影响髁突细胞的增殖以及基质分泌与合成的效果。在乳牙列到替牙列期间,机体下颌骨颞下颌关节处的组织结构会随着年龄的增长以及关节功能的改变而发生

变化,促进下颌骨进一步的生长<sup>[10-11]</sup>。当下颌骨的生长量相对减少时,可能是因为关节功能性发生后移,而当髁突的生长增多时,则是由于领骨侧方位移后,双侧的颞下颌关节受到不同的应力作用,致使下颌骨生长量相应减少<sup>[12]</sup>。软骨内成骨是髁突的主要生长骨,依赖于骨形成和骨吸收两种不同过程交替进行,而在其中破骨细胞起到了重要的作用,骨改建活动如无破骨细胞的参与是无法完成的<sup>[13]</sup>。

RANKL 是破骨细胞活化和形成过程中不可缺少的调节因子<sup>[14]</sup>,RANKL 是以Ⅱ型跨膜蛋白的形式存在的,属于肿瘤坏死因子(TNF)配体家族<sup>[15]</sup>,通过发挥自身疏水作用与骨保护素相结合,对破骨细胞的活化和形成进一步调控,或者对破骨细胞的形成起到抑制作用,所以 RANKL 水平会对破骨细胞的形成以及骨改建的完成造成影响<sup>[16-17]</sup>。本研究中,大鼠在实验后 5、7 d 时 RANKL 表达水平明显下降,提示 RANKL 可能参与骨改建的过程,下颌前伸能够破坏破骨细胞的活化和形成。MMP-9 又称Ⅳ型胶原酶,属于 MMPs 超家族中的明胶酶 B,对纤维结合素、蛋白多糖、粘连蛋白以及 I、Ⅱ、Ⅲ型胶原有降解变性能力,且对弹性蛋白、明胶和间质胶原、蛋白聚糖核心蛋白等小分子细胞外基质成分也有降解作用<sup>[18-19]</sup>。骨组织中存在许多 MMP, MMP-9 主要是由破骨细胞分泌合成,所以 MMP-9 的表达水平便可作为鉴定关节组织是否被破坏的重要指标之一。MMP-2 广泛存在于正常结缔组织中,正常的软骨细胞便能分泌合成 MMP-2,MMP-2 在特殊激活剂的作用下能够对 I 型胶原纤维起到直接降解的作用,且有研究表明 MMP-2 还能够直接作为软骨基质对破骨细胞起到促进作用,使软骨细胞依赖生存的细胞外基质降解产生异常<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,实验组大鼠 5、7 d 时 MMP-2 和 MMP-9 的表达水平明显下降,提示 MMP-2 和 MMP-9 可能通过对破骨细胞的影响参与骨重建的过程,下颌前伸会造成 MMP-2 和 MMP-9 水平的下降。VEGF 是一种促进血管生成活性的糖蛋白,也是一种与血管内皮细胞特异性肝素相结合的生长因子,VEGF 最早是在牛的垂体细胞中被发现提取。随着医学技术的发展,对 VEGF 的研究也在不断深入,大量研究发现 VEGF 在单核细胞、软骨细胞、血管内皮细胞以及成纤维细胞等多种细胞中均存在,并对骨组织的重建过程有着重要的调节作用<sup>[21]</sup>。骨形成、重塑以及机体损伤修复的基础是血管形成过程,VEGF 便是促进血管形成的重要细胞因子之一。许多研究发现,在机体的内皮细胞中含有能够合成 VEGF 的物质,且对内皮促细胞产生刺激作用,促进新生血管的

形成,所以,VEGF 可以通过多种机制来形成新血管<sup>[22]</sup>。本研究中,实验组大鼠 5、7 d 时 VEGF 水平降低,提示 VEGF 对骨细胞有重要的调节作用,下颌前伸后会影响 VEGF 表达水平,对新血管的形成起到抑制作用。

综上所述,RANKL、MMP-2、MMP-9 和 VEGF 可能在下颌功能前伸后参与髁突部的骨重建和骨形成过程,对其水平的检测或可为髁突部的骨重建提供重要的参考价值。

## 参考文献

- [1] 何琴,张佐,王春玲,等.下颌前移式矫治器治疗 OSAHS 患者引起髁突表面应力变化的三维有限元研究[J].宁夏医科大学学报,2016,38(1):43–46,50,封2.
- [2] Berner T, Essig H, Schumann P, et al. Closed versus open treatment of mandibular condylar process fractures: a meta-analysis of retrospective and prospective studies[J]. J Craniomaxillofac Surg, 2015, 43(8):1404–1408.
- [3] 秦波,润丹,徐卫华,等.大鼠下颌持续前导后髁突软骨骨形态发生蛋白-2 的表达[J].贵州医科大学学报,2016,41(5):570–572.
- [4] 蔺栋鹏,田海锁,赵天一,等.下颌髁突软骨与股骨头软骨体外生长发育的比较研究[J].实用口腔医学杂志,2015,31(3):369–373.
- [5] 施美霞,高婧,许艳华,等.下颌髁突软骨生长改建基因调控的研究进展[J].医学综述,2018,24(6):1052–1056,1061.
- [6] Chrcanovic BR. Surgical versus non-surgical treatment of mandibular condylar fractures: a meta-analysis[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2015, 44(2):158–179.
- [7] 梁鑫,张波,刘苹,等.FGFR2 功能增强对小鼠下颌骨髁突发育影响[J].遗传,2015,37(6):561–567.
- [8] 张亚梅,雷勇华,邹双双,等.功能性矫治器前伸下颌对颞下颌关节影响的研究进展[J].中华口腔正畸学杂志,2016,23(2):94–97.
- [9] Gredes T, Mack H, Spassov A, et al. Changes in condylar cartilage after anterior mandibular displacement in juvenile pigs[J]. Arch Oral Biol, 2012, 57(6):594–598.
- [10] 汪浩然,左艳萍,闫宝勇,等.牙本质基质蛋白-1 参与下颌功能前伸过程中髁突软骨增殖的实验研究[J].中国实用口腔科杂志,2017,10(9):554–557.
- [11] 张钧,江莉婷,章翊钟,等.下颌骨功能性偏斜对发育期大鼠髁突软骨胶原改建的影响[J].口腔颌面外科杂志,2015,25(1):12–18.
- [12] 辛江波,袁渭,兴辰,等.两种颌后切口入路治疗下颌髁突骨折的比较研究[J].中国美容医学,2015,24(13):35–37.
- [13] 杨帅,李雪,高洁,等.下颌持续前导对成年大鼠髁突软骨骨形态发生蛋白表达及超微结构的影响[J].华西口腔医学杂志,2016,34(6):632–638.
- [14] Xiong J, Piemontese M, Onal M, et al. Osteocytes, not Osteoblasts or Lining Cells, are the Main Source of the RANKL Required for Osteoclast Formation in Remodeling Bone [J]. PLoS One, 2015, 10(9):e0138189.
- [15] 黎彦龙,何明,陈秉雄,等.OPG-RANKL-RANK 信号系统是调节破骨细胞及骨质疏松症的重要途径[J].中国组织工程研究,2015,19(24):3894–3898.
- [16] 潘克清,张朋梅,邓婧,等.OPG/RANK/RANKL 在牙周炎联合血管钙化大鼠牙髓组织中的表达及意义[J].上海口腔医学,2016,25(4):391–395.
- [17] 付颖,董庆文,王稚英,等.富血小板纤维蛋白对下颌骨牵引成骨区 RANKL 表达的影响[J].中国临床解剖学杂志,2016,34(3):322–325,330.
- [18] 姚金丹,韩光红,胡敏,等.IL-17 对破骨细胞中 MMP-9 表达水平的影响及其意义[J].吉林大学学报(医学版),2016,42(3):462–466,后插 1.
- [19] 张帆,余国玺.不同状态人牙髓组织中基质金属蛋白酶的表达水平及临床意义[J].解放军医药杂志,2017,29(7):50–53.
- [20] 刘红,卢军,张真,等.MMP-2 和 TIMP-2 参与大鼠实验性正畸牙齿移动及牙根吸收机制的研究[J].牙体牙髓牙周病学杂志,2017,27(7):382–386.
- [21] 张向凤,邓锋,张翼,等.功能性下颌偏斜青春期模型大鼠髁突软骨中血管内皮细胞生长因子的表达[J].中国组织工程研究,2015,19(20):3141–3146.
- [22] 侯丽雯,焦婷,谢明,等.血管内皮生长因子与牙发生发育的关系[J].国际口腔医学杂志,2016,43(5):605–608.

收稿日期:2018-09-26 修回日期:2018-11-13 编辑:石嘉莹