

功能矫形前伸青春期大鼠下颌后翼外肌 MyoD、myogenin 的表达 *

达 雨¹ 杨竹丽² 袁 晓^{2△} 杜衍晓¹ 田 臻¹ 王梦佳¹

(1 青岛大学医学院附属青岛市市立医院 山东 青岛 266021; 2 青岛市市立医院口腔科 山东 青岛 266071)

摘要 目的 探讨 "应力 - 生长 (改建)" 在细胞水平上的体现, 为功能矫形治疗和矫治效果的保持提供新思路 and 实验依据。方法 本实验选用 20 只 4 周龄, 雄性 SD 大鼠随机分为 8 组。其中实验组大鼠经戊巴比妥麻醉后佩戴上颌斜面导板, 对照组未佩戴。依据时间不同又分为四组: 1d, 7d, 14d, 21d。采用 RT-PCR 技术分析各组大鼠翼外肌组织中肌分化相关基因 MyoD、myogenin mRNA 的表达变化。结果 未施加功能矫形力的大鼠翼外肌组织 MyoD 表达伴随其生长发育呈现递减趋势, 实验组在第 7 d 出现表达上调。同时, 力学刺激后实验组动物 myogenin 的表达与对照组相比较在 14 d 组出现明显上调。结论 功能矫形力作用于翼外肌组织可以诱导 MyoD 和 myogenin 的表达上调进而诱导成肌细胞的分化。

关键词 应力介导 成肌细胞 分化 成肌调节因子 翼外肌

中图分类号 Q95-3, R783.5 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 06-1020-05

Expression of MyoD, Myogenin mRNA in Juvenile Rats Lateral Pterygoid after Functional Mandibular Protrusion*

DA Yu¹, YANG Zhu-li², YUAN Xiao^{2△}, DU Yan-xiao¹, TIAN Zhen¹, WANG Meng-jia¹

(1 Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong 266021, China;

2 Department of Stomatology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong 266071, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of "stress - growth (reconstruction)" at the cellular level for provide new ideas and experimental evidence about functional orthopedic treatment and treatment effects remain. **Methods:** Twenty, 28 days old, male Sprague-Dawley (SD) rats were chosen in this research. SD rats are randomly divided into eight groups: control 1 d, 7 d, 14 d, 21 d and experimental 1 d, 7 d, 14 d, 21 d. When rats were anaesthetized by intraperitoneal injections of pentobarbital, the inclined bite plate were put into its mouth. RT-PCR was taken at 1, 7, 14, 21 days after appliance activation. The gene expression of lateral pterygoid MyoD and myogenin mRNA is determined by RT-PCR technology. **Results:** MyoD, myogenin mRNA decreased in all juvenile rats lateral pterygoid. And expression of MyoD in control group reduced, while myogenin enhanced in 7 d. With the removable functional appliance-inclined bite plate rats, both the expressions of MyoD and myogenin enhanced, especially in 7 d. **Conclusions:** Expression of MyoD and myogenin mRNA in juvenile rats lateral pterygoid after functional mandibular protrusion increased.

Key words: Stress-induced; Myoblast; Differentiation; MRFs; Lateral pterygoid

Chinese Library Classification: Q95-3, R783.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)06-1020-05

前言

应力与肌、骨细胞及组织的改建具有密切的联系, 这决定了生物力学在口腔正畸、修复、骨科学中有重要作用^[1]。功能矫治器是基于应力刺激可以直接影响骨骼肌的生长及改建过程, 其能有效的控制面颌肌肉对于牙齿和颌骨所施力的大小、方向和作用时间, 使口面区域的神经肌肉环境有利于牙合发育和颌面生长以纠正错颌畸形的发生、发展, 而被广泛运用于口腔正畸临床治疗。成肌调节因子(myogenic regulatory factors, MRFs)是在骨骼肌胚胎发育过程中的一组重要的转录调节因子, 目前在哺乳动物中发现的 MRFs 家族共有 4 个成员: MyoD、Myf5、myogenin (MyoG)、MRF4 (Myf-6 或 herculin)。其中 MyoD 与 Myf5 主要在干细胞分化为成肌细胞过程中起作用, 而 myo-

genin 与 MRF4 主要在成肌细胞分化为成熟肌纤维过程中起作用。在这两个阶段中 MyoD 与 myogenin 又分别起着主导作用^[2]。

RFs 的氨基酸序列特征是有一个由 70 个残基组成的同源片段、一个富有精氨酸和赖氨酸的碱性区和一个紧邻的螺旋 - 环 - 螺旋 (helix-loop-helix, bHLH) 结构构成的, 碱性区是与 DNA 结合的部位。这些成肌调节因子有一个与 E 蛋白转录因子家族结合形成二聚体所需的 DNA 结合域 bHLH、MRF2E 蛋白异二聚体和 MRF 单体结合到共有的 E 盒序列 CANNTG, 而 CANNTG 存在于骨骼肌成肌特异基因的增强子元件中, 调控着这些成肌分化特异基因的转录活性。这些二聚体的 DNA 结合和转录活性也受到蛋白间相互作用和其它外在环境因素的影响^[3-5]。本研究通过构建青春期 Sprague-Dawley (SD) 大鼠下颌前伸模型, 分析功能矫形治疗对翼外肌 myoD、myogenin mRNA

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30871426, 30770528) 青岛市科技局科技支撑计划 (10-3-3-4-4-nsh)

作者简介 达雨 (1984), 男, 硕士, 在读硕士研究生, 主要研究方向 生物力学

△通讯作者 袁晓, 电话 0532-88905341, E-mail yuanyuanyu@163.com

(收稿日期 2010-12-06 接受日期 2010-12-31)

表达的影响。探讨正畸临床功能矫形治疗中矫形力的作用机理以及面颌肌适应性改建的机理。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 将 20 只体质量为 $90 \pm 5 \text{ g}$ 的 4 周龄健康雄性 SD 大鼠, (青岛市市立医院中心实验室动物中心提供, 动物等级 SPF 级) 分为 4 组。其中, 各组随机选取 3 只大鼠戴用可摘式上颌斜面导板功能矫治器, 按组别分别戴用 1 天、7 天、14 天、21 天。待戴用期满后, 按下述 1.2.2 之方法取材后提取大鼠翼外肌组织总 RNA 并反转录至 cDNA 后进行后续实验。

1.1.2 主要试剂 高纯总 RNA 快速提取试剂盒 (北京百泰克生物技术有限公司) ; BioTeke super RT kit 反转录试剂盒 2X Power Taq PCR MasterMix ; Gold View 核酸染料 (EB 替代型) ; 琼脂糖 (BIOWEST?Regular AGAROSE G-10) ; TaKaRa DL2000 DNA Marker (大连宝生物工程有限公司) ; 其余试剂均为国产分析纯或进口分装。PCR 循环仪 电泳仪 (Bio-Rad) , 凝胶成像

分析系统 (Bio-Rad) 。

1.2 实验方法

1.2.1 构建青春期 Sprague-Dawley (SD) 大鼠前伸下颌模型 SD 大鼠试喂养 3 天后进行试验, 期间对实验组大鼠取上颌模型后制作可摘式上颌斜面导板 12 副。矫治器每天戴用时间为 12 h, 20:00~次日 8:00, 实验组大鼠自由供给饮食, 对照组大鼠限制饮食, 自由饮水, 以确保两组动物体重增加量相当。每日去除矫治器后, 以牙刷清理食物残渣, 置于 2% 的戊二醛溶液中浸泡消毒 12 h。再次戴用前以大量清水洗净残留消毒液。矫治器的设计参照 Petrovic^[6]所使用的矫治器并加以改良。矫治器由塑料底板、斜面导板和口外辅助固位装置三部分构成。斜面导板为 $6 \text{ mm} \times 8 \text{ mm}$ 白合金带环片, 斜面导板与上颌咬合平面呈约 30° 。矫治器戴于大鼠上切牙, 为防止矫治器脱落, 用橡皮圈固位于大鼠鼻上颌复合体。当大鼠闭口进行功能运动时, 下切牙咬在斜面导板上, 下颌被引导前伸 3 mm。口外辅助固位装置为有机玻璃材质制成 ($4 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$) , 用橡皮筋使之与斜面导板部分相连 (图 1) 。

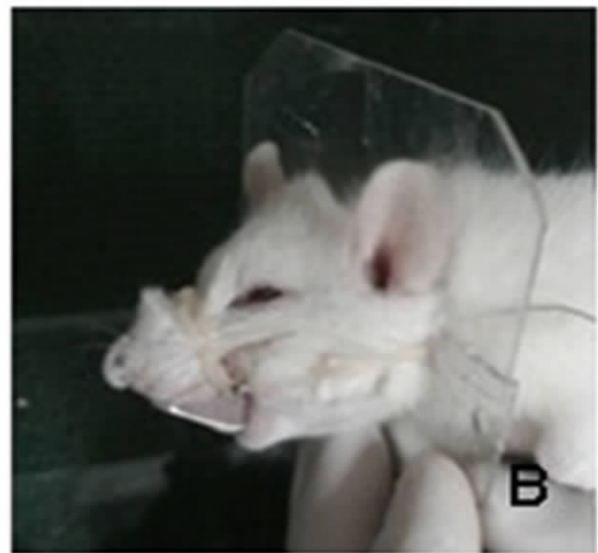
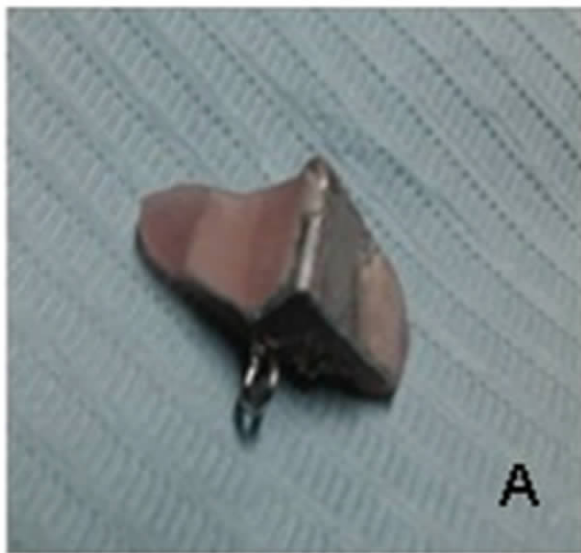


图 1 SD 大鼠下颌前伸模型 A. 可摘式上颌斜面导板功能矫治器 B. 实验组大鼠戊巴比妥麻醉后佩戴上颌斜面导板并用橡皮圈固位于鼻上颌复合体

Fig.1 A. A removable functional appliance B. Sprague-Dawley Rats with the inclined bite plate were anaesthetised by intraperitoneal injections of pentobarbital

1.2.2 大鼠翼外肌组织制备 实验动物先使用戊巴比妥进行腹腔注射待其麻醉后行断颈处死, 使用经高温高压消毒后的手术器械取 SD 大鼠一侧的翼外肌组织。术中取材尽量迅速, 同时避免刺破血管减少血红蛋白对样本的污染。将组织切割成约 25 mg 的小块, 置于无菌无酶的 EP 管内。EP 管标记后立即置于冰盒。按 Biotek 高纯总 RNA 快速提取试剂盒 (离心柱型) 说明书提取组织总 RNA。

1.2.3 RT-PCR ①RNA 提取及纯化 按 Biotek 高纯总 RNA 快速提取试剂盒 (离心柱型) 说明书提取的组织总 RNA, 取 $1 \mu\text{L}$ 上分光光度计测纯度和总量。②逆转录反应 (RT) 按以下组分配置反转录反应液: 括弧内体系加入各成分 [总体积 $14 \mu\text{L}$: Total RNA sample $0.5 \mu\text{g}$, Oligo dT $1 \mu\text{L}$, dNTP Mixture (10 mM

each) $1 \mu\text{L}$, RNase free ddH_2O up to $14 \mu\text{L}$] PCR 仪上进行以下反应 35°C , 5 min。然后置于冰上急冷, 在上述 PCR 管中加入以下反转录反应液 [Total $20 \mu\text{L}$, 上述变性、退火后反应液 $14 \mu\text{L}$ $5 \times$ first-strand Buffer $4 \mu\text{L}$, M-MuLV Reverse Transcriptase (200 U/ μL) $1 \mu\text{L}$, RNase Inhibitor (40 U/ μL) $1 \mu\text{L}$] 并混匀, 按以下条件进行 RT 反应, 30°C 10 min, 42°C 60 min, 95°C 5 min 共一个循环。得到的 cDNA 保存于 4°C 中待用。③聚合酶链反应 (PCR): MyoD、myogenin 和 β -actin 的引物 (表 1) 均由南京金斯瑞生物技术有限公司设计并合成。按括弧内体系 [总体积 $20 \mu\text{L}$ $2 \times$ MasterMix $10 \mu\text{L}$, ddH_2O $7.0 \mu\text{L}$, Primer pairs (F+R) $2.0 \mu\text{L}$, cDNA $1.0 \mu\text{L}$] 加入各样本, 混匀然后按如下的设定上 PCR 仪扩增目的基因 95°C 变性 3 min 共 1 个循环, 然后执行 (95°C 变性

30 s,接着 53℃退火 30 s,最后 72℃延伸 30 s,33 个循环,接着 72℃再延伸 10 min,结束反应,保存于 -20℃待用。将 RT-PCR

终产物在 2%琼脂糖凝胶中电泳,电泳结束后在 Bio-Rad 凝胶自动成像系统中观察并拍照。

表 1 MyoD、myogenin 和 β -actin 引物序列及预期扩增产物长度^[7,9]

Table.1 Sequence of Primers MyoD, myogenin and β -actin

Substance	Primer	Sequence	Expanded product (bp)
MyoD	Forward Primer	5'-GTGCAAGCGCAAGACCACTAA-3'	183 bp
	Reverse Primer	5'-TGCAGACCTTCAATGTAGCGG-3'	
myogenin	Forward Primer	5'-TGGGCGTGTAAGGTGTGTAAGAGG-3'	438 bp
	Reverse Primer	5'-CATATCCTCCACCGTGATGCTG-3'	
β -actin	Forward Primer	5'-GCCCTAGACTTCGAGC-3'	217 bp
	Reverse Primer	5'-CTTTACGGATGTCAACGT-3'	

1.2.4 电泳 取各组的 PCR 终产物 5 μ l 点样于含 2.5 μ l 荧光染料的 2%琼脂糖凝胶加样孔中,同时点样 5 μ l DNA Marker 于 Tris-甘氨酸电泳缓冲液中进行电泳,反应条件为 100 V,45 min。电泳结束后,凝胶置于凝胶成像系统观察并摄像,图像存储于计算机,利用 Quantity one (Bio-Rad)4.6.2 进行计算机图像分析,测定每个条带的灰度值并计算与参照物 β -actin (β 肌动蛋白)的灰度比值将各组的条带与其相应的 β -actin 条带灰度值相比,测量三次取其平均值。

1.3 统计学分析

应用 SPSS17.0 软件经 t 检验及单因素 ANOVA 确定组内、组间差异的统计学意义。上述实验结果用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。

2 结果

RT-PCR 产物经凝胶电泳鉴定,MyoD 条带大小约 183 bp,

myogenin 条带大小约 438 bp, β -actin 条带大小约 217 bp,均与预期大小相符。(图 2)

RT-PCR 检测肌系中晚期分子 MyoD、myogenin 相应的 mRNA 分子基因的表达变化 实验组与对照组之间用独立样本成组 t 检验。本研究结果显示实验组及对照组大鼠翼外肌 MyoD 和 myogenin 的 mRNA 均表达,且在不同的观察时间里 MyoD 和 myogenin 的 mRNA 表达量处于动态变化中。由表 2 所见,在对照组大鼠翼外肌组织 MyoD 表达伴随其生长发育呈现递减趋势。而实验组大鼠,在施加功能矫形力后,MyoD 在第 1 d 组表达下调,但在第 7 d 组的表达明显上调。同时,在 14 d 组 myogenin 的表达也叫对照组明显升高。以上实验结果说明应力在不同时间段可不同程度地调控 MyoD 和 myogenin 的表达。由此可推论 MyoD 和 myogenin 在不同生长发育时间表达不同,且功能矫形力可以调控 MyoD、myogenin 的表达。

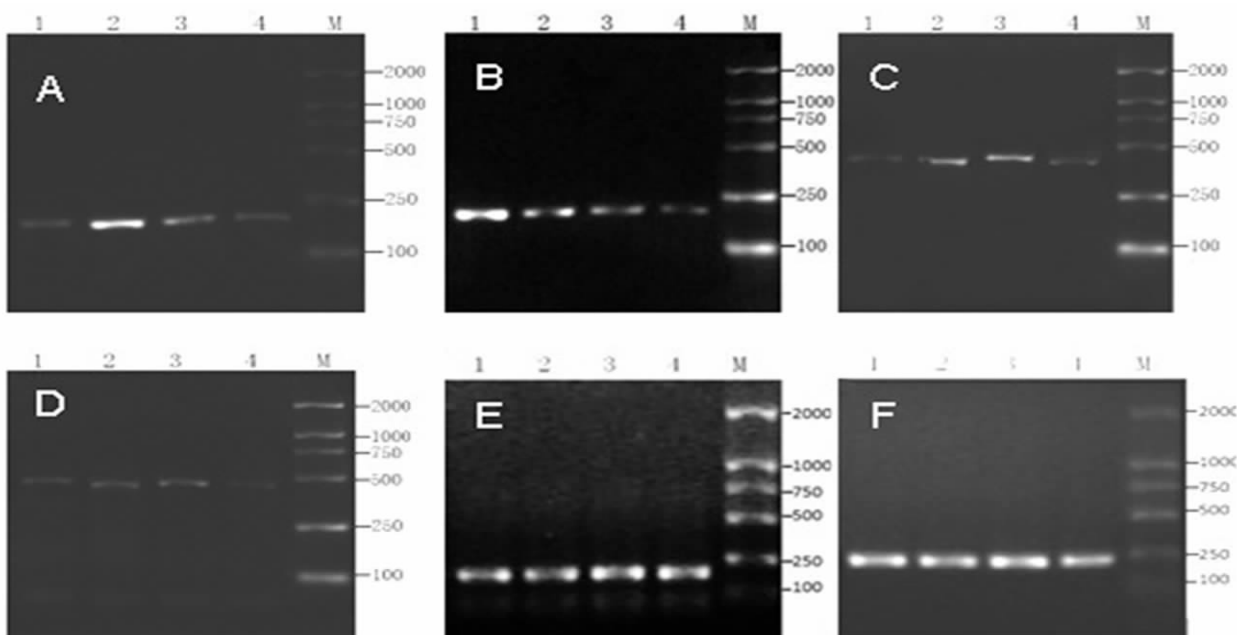


图 2 MyoD、myogenin、 β -actin PCR 产物电泳图 (a. MyoD 实验组 b. MyoD 对照组 c. myogenin 实验组 d. myogenin 对照组 e. β -actin 实验组 f. β -actin 对照组; M: DL-2000 Marker 1~4:组 1~4)

Fig.2 Expression of MyoD, myogenin mRNA in lateral pterygoid by RT-PCR (a.c.e: with functional appliance b.d.f: Control)

表 2 戴用矫治器 1 d、7 d、14 d、21 d 后大鼠翼外肌 MyoD mRNA 的表达变化量

Table 2 The expression of MyoD mRNA in lateral pterygoid

	1 d	7 d	14 d	21 d
Experimental group	0.41± 0.02*	0.86± 0.03**	0.76± 0.03	0.58± 0.01
Control group	0.86± 0.02*	0.75± 0.01**	0.52± 0.01	0.46± 0.01

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 戴用矫治器 1d、7d、14d、21d 后大鼠翼外肌 myogenin mRNA 的表达变化量

Table 3 The expression of myogenin mRNA in lateral pterygoid

	1 d	7 d	14 d	21 d
Experimental group	0.42± 0.02	0.72± 0.01	0.57± 0.02**	0.35± 0.02*
Control group	0.27± 0.03	0.43± 0.02	0.85± 0.03**	0.54± 0.03*

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

肌肉形成是一个多步骤的有序过程,即肌前体细胞(muscle precursor cells)或称成肌细胞(myoblast)停止增殖,然后分化为多核肌管。众所周知,骨骼肌对机械应力的刺激较为敏感^[10]。一系列实验也已经证实了在力的作用下,原先静止的卫星细胞活化,肌分化过程开始从而影响骨骼肌的发育^[11]。转录因子对组织特异性基因的表达起着重要的调控作用,肌细胞的分化受多种因子的调控,其中成肌调节因子(myogenic regulatory factors, MRFs)起着核心作用。成熟肌纤维 MRFs 是在骨骼肌胚胎发育过程中发现的一组重要的转录调节因子,其中 MyoD 与 Myf5 主要在干细胞分化为成肌细胞过程中起作用,而 myogenin 与 MRF4 主要在成肌细胞分化为成熟肌纤维过程中起作用。在这两个阶段中 MyoD 与 myogenin 又分别起着主导作用。本研究结果显示在不同时间 MyoD 和 myogenin 的 mRNA 表达量也随时间而变化。在未施加功能矫形力的大鼠翼外肌组织 MyoD 表达伴随其生长发育出现递减趋势。但对实验组施加功能矫形力后,MyoD 在第 7 d 组的表达明显上调。表 3 所示,对照组 myogenin mRNA 的表达在第 14 天组出现明显上调。由此可推论 MyoD 和 myogenin 在不同生长发育时间表达不同,且功能矫形力可以诱导 MyoD、myogenin 的表达上调。

功能矫形治疗是口腔正畸学中矫治患儿下颌发育不足、后缩畸形的最主要方法。Hiyama 等研究发现^[12],下颌前伸时,肌肉变化早于骨组织。通过功能矫治器引导下颌姿势位前移,改善口颌系统肌群的肌能状况,应用肌收缩能力刺激颌骨发生适应性生长改建,改善颌骨的矢状向关系,从而矫治由于下颌后缩或者下颌发育不足而导致的 II 类错牙合畸形^[13]。颌骨肌属于横纹肌,肌纤维来源于骨骼肌肌母细胞,肌纤维分为三种类型: I 型肌纤维,受到刺激后一般反应较慢,故称作慢缩肌纤维(slow twitch fiber),又称作红肌纤维。I 型肌纤维收缩力较弱,但持续时间较长,其糖代谢以有氧氧化为主,肌纤维间血管丰富,抵抗疲劳能力较强,不易疲劳。II 型肌纤维受到刺激后一般反应较快,故也称为快缩肌纤维(fast twitch fiber),或白肌纤维^[14]。II 型

肌纤维还可以进一步分为 II A、II B、II C 三类^[15]。II B 型纤维较 II A 型肌纤维更易疲劳^[16]。II 型肌纤维收缩力较强,但持续时间较短,其糖代谢以无氧酵解为主,易疲劳。本研究观察的重要指标 MyoD、myogenin 均参与骨骼肌肌母细胞的分化,在骨骼肌纤维的表达中起着相当重要作用。MyoD 在快缩肌纤维中表达相对较高,慢缩肌纤维中水平较低;myogenin 情况正好相反。MyoD 与 myogenin 的相对表达是肌肉表型表达的决定因素,也表现在收缩引起肌肉表型改变的调节。Oudet C 等研究发现前伸大鼠下颌后翼外肌的 I 型纤维(慢缩肌纤维)比例增加,II 型纤维(快缩肌纤维)减少,翼外肌的横断面积增加,收缩张力明显增强^[17]。本实验结果显示在戴用矫治器约两周后,MyoD 的表达出现峰值,可以推测此时大鼠翼外肌组织改建尚不稳定。组织中 II 型(酵解性)纤维仍占多数。当矫治器戴用至第三周时,myogenin 的表达呈现峰值,而 MyoD 的表达明显下调,此时意味着氧化型纤维在组织中占多数。结果表明功能矫形力可以诱导 MyoD、myogenin 的表达上调,进而对翼外肌组织的改建产生影响。牙颌畸形矫治后,面颌肌功能的改建常未完成,只有肌肉的适应性改建完成后,并且与硬组织的形态改建相协调、平衡,才能保持疗效,防止复发^[18]。由此可见,面颌部肌肉组织在牙颌面畸形的发生、发展、矫治和疗效维持中起着重要作用。综上所述 本研究认为作为在成肌过程中起着重要作用的转录因子 MyoD、myogenin 基因其表达能够调控翼外肌组织中的组织构型,进而对翼外肌组织的改建产生影响。为阐明处于生长发育期的骨性 II 类错畸形患者的翼外肌组织改建机制提供参考。

参 考 文 献(References)

- [1] 樊瑜波.生物力学:一门活跃的交叉学科[J].医用生物力学,2003,04(02):193-194
Fan Yu-bo. Biomechanics: An active interdisciplinary[J]. Biomedical Engineering, 2003,04(02):193-194
- [2] 曾缨,王凌云,张成等.骨髓间质干细胞诱导为肌样细胞分化相关基因的表达式[J].中国病理生理杂志,2006,22(9):1665-68
Zeng Ying, Wang Ling-yun, Zhang Cheng, et al. The related gene

- expression in mesenchymal stem cells differentiating into muscle-like cells[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2006,22(9):1665-68
- [3] Yasuyuki O, Concetta GAM, Anthony NI. Skeletal muscle specification by myogenin and Mef2D via the SWI/SNF ATPase Brg1 [J]. The EMBO, 2006,25, 490-501
- [4] Anat Y, Jeny S, Pnina WS, et al. Differential binding of quadruplex structures of muscle-specific genes regulatory sequences by MyoD, MRF4 and myogenin [J]. Nucl. Acids Res, 2008, 36 (12): 3916-25
- [5] Abe S, Rhee S, Iwanuma O, et al. Effect of Mechanical Stretching on Expressions of Muscle Specific Transcription Factors MyoD, Myf-5, Myogenin and MRF4 in Proliferated Myoblasts [J]. Anat Histol Embryol. 2009,38(4):305-10
- [6] Petrovic A. Control processes in the postnatal growth of the condyle cartilage of the mandible. In :Determinants of Mandibular Form and Growth [M]. McNamara JA. Center for Human Growth and Development. Ann Arbor , Michigan, 1975
- [7] Tamaki T, Akatsuka A, Yoshimura S et al. New fiber formation in the interstitial spaces of rat skeletal muscle during postnatal growth [J]. J Histochem Cytochem, 2002,50(8):1097-111
- [8] Asakura A, Komaki M, Rudnicki M. Muscle satellite cells are multipotential stem cells that exhibit myogenic, osteogenic, and adipogenic differentiation[J]. Differentiation, 2001, 68(4-5):245-53
- [9] Lai KW, Wei CL, Tan LK et al. Overexpression of interleukin-13 induces minimal-change-like nephropathy in rats[J]. J Am Soc Nephrol, 2007,18(5):1476-85
- [10] 孙慧玲,周洪,邹敏.功能性矫治器引导大鼠下颌前伸咀嚼肌中 MMPs 表达[J].现代口腔医学杂志,2006, 20(6): 618-620
Sun Hui-ling, Zhou Hong, Zou Min. Expression of matrix metalloproteinases in growing rats masticatory muscle after functional mandibular protrusion[J]. J Modern Somatol, 2006, 20(6): 618-620
- [11] Kook SH, Chung WT, Hwang IH, et al. Cyclic mechanical stretch stimulates the proliferation of C2C12 myoblasts and inhibits their differentiation via prolonged activation of p38 MAPK [J]. Mol Cells, 2008, 25(4):479-86
- [12] Hiyama S, Ono PT, Ishiwata Y, et al. Neuromuscular and skeletal adaptations following mandibular forward positioning induced by the Herbst appliance[J]. Angle Orthod, 2000, 70(6): 442-53
- [13] Du X, Hagg U. Muscular adaptation to gradual advancement of the mandible[J]. Angle Orthod, 2003, 73(5):525-31
- [14] 王瑞绵,成令忠,钟翠平,等.肌组织.现代组织学 [M]. 2003.349-358. 上海科学技术文献出版社.上海
Wang Rui-mian, Cheng Ling-zhong, Zhong Cui-ping, et al. Muscular tissue. Contemporary histology [M]. 2003, 349-358 Shanghai Science and Technology Literature Publishing House, Shanghai
- [15] Tuxen A, Bakke M, Kenrad B. Histochemical characterization of masseter muscle fibers in a biopsy study of normal young woman[J]. Arch Oral Biol, 1992,37:889-895
- [16] Buchthal F, Schmalbruch H. Motor unit of mammalian muscle[J]. Physiol Rev, 1980, 60:90-96
- [17] Oudet C. Relation between facial morphology and activity of masticatory muscles [J]. J Oral Rehabil, 1974, (2):131-47
- [18] 周洪,孙慧玲,邹敏.功能性矫治器引导大鼠下颌前伸后二腹肌中基质金属蛋白酶的表达研究 [J]. 临床口腔医学杂志,2007,23(2): 84-86
Zhou Hong, Sun Hui-ling, Zou Min. Expression of matrix metalloproteinases in growing rats anterior belly of digastric after functional mandibular protrusion department of orthodontics [J]. J Clin Stom, 2007, 23(2):84-86