

胰岛素样生长因子在牙周组织工程中作用的研究进展

黄波¹ 王俊娟² 许华燕²

(1 四川大学华西口腔医学院 四川 610000 2 四川大学华西基础与法医学院 四川 610000 ;)

摘要 :牙周膜细胞作为牙周组织工程中的重要种子细胞,在一定因素的诱导下,能够分化形成牙周组织的各种细胞,比如成纤维细胞、成骨细胞等。这些细胞能够分泌纤维蛋白、骨钙素等,进而钙化形成骨组织等与牙周组织相似或者相同的成分。胰岛素样生长因子作为重要的细胞因子,很多研究表明它在细胞迁移、增殖、分化、促进分泌等方面发挥作用,所以胰岛素样生长因子一直受到研究者的青睐。本文将对胰岛素样生长因子在牙周组织工程中的种子细胞的不同作用的研究进展进行综述,同时对牙周组织工程中的未来进行展望。

关键词 胰岛素样生长因子;牙周组织工程;进展

中图分类号:R78 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)21-4183-03

Development of Insulin-like Growth Factors' Effect in Periodontal Tissue Engineering

HUANG Bo¹, WANG Jun-juan², XU Hua-yan²

(1 West China school of stomatology Sichuan University, 610000, Chengdu, China;

2 West China school of basic and forensic Sichuan University, 610000, Chengdu, China)

ABSTRACT: Periodontal ligament cells important seed cells in periodontal tissue engineering. In certain factors, they differentiate into periodontal tissue cells, such as fibroblasts and osteoblast. These cells can secrete fibrin, osteocalcin and so on, then through calcification they can form the composition similar to bone tissue or the same with periodontal tissue. Insulin-like growth factor is an important cytokines, and many studies show that it plays an important role in cell migration, proliferation, differentiation, and promoting the secretion, so insulin-like growth factor has been paid attention researchers. This paper is to review the development of insulin-like growth factors' effect in periodontal tissue engineering, and to make prospects for the periodontal tissue engineering.

Key words: Insulin-like growth factor; Cisplatin; Periodontal tissue engineering; Process

Chinese Library Classification: R78 **Document code**: A

Article ID: 1673-6273(2012)21-4183-03

前言

据第三次全国口腔健康流行病学调查,我国 65 岁以上老人牙周病的发病率已达 85.9%,也就是说每 10 个老人中就有至少 8 个人患牙周病。而牙体缺失的最常见原因也恰是牙周疾病导致的牙周组织缺失,此次调查结果也显示,65 岁以上老人失牙率高达 86.1%。这些都严重影响了人们的生活质量,如何才能通过治疗恢复或者再生牙周组织是口腔学者一直以来奋斗的目标,但是始终未能有实质性突破。牙周组织工程为学者提供了一个很好的研究平台。而牙周细胞又是许多学者选来作为牙周组织工程的种子细胞。

1 牙周膜细胞

牙周膜细胞(periodontal ligament cell, PDL)是具有多分化潜能的多能细胞,主要包括成纤维细胞、成骨细胞、成牙骨质细胞以及间充质细胞等多种细胞成分,能再牙周环境中进行迁移、增殖、分化等活动,能在牙根、牙龈等部位与结合上皮、牙龈

上皮等组织附着,分化形成具有牙周结构的组织,在牙周组织再生中发挥着积极重要的作用^[1,2]。

2 胰岛素样生长因子

胰岛素样生长因子分为 IGF-I 和 IGF-II,分别由定位于 12q23 的基因和定位于 11p15.5 的基因编码,由主要肝脏合成,通过内分泌、自分泌和旁分泌的方式进入血液循环系统,到达靶细胞后,他们分别与 IGF-IR 和 IGF-IIR 结合,然后通过丝裂原活性蛋白激酶(Ras/MAPK)和磷脂酰肌醇 3 激酶(P I3K/Akt)通路转导信号^[3-5]。进而作用于细胞,促进其迁移、增殖、分化等行为。体外培养细胞证明它通过促进 DNA 复制和细胞增大而促进细胞增殖,还能诱导体外培养细胞分化^[6]。近年来的研究发现,IGFs 对牙周膜成纤维细胞、成牙本质细胞、成骨细胞等细胞有促进增殖、分化、胶原和基质的合成,增强 ALP 的活性等作用,因此其在牙周组织再生的研究中越来越受到人们的重视。

3 胰岛素样生长因子对牙周膜细胞的作用

3.1 胰岛素样生长因子对成纤维细胞的作用

IGF 对成纤维细胞的作用主要体现在对成纤维细胞增殖和分泌的影响。在哺乳动物中,细胞周期由 G1 期进入 S 期存

作者简介:黄波,男,本科 E-mail: 250805217@qq.com

(收稿日期:2011-11-23 接受日期:2011-12-20)

在一个特殊的 G1/S 限制点。只有当细胞越过这个限制点才能进入 S 期,进而增殖,否则细胞将处于停滞状态。Lovschall 等的研究表明,胰岛素样生长因子在成纤维细胞增值分裂的 G1 期向 S 期转变的过程中必不可缺^[7,8],张绍昆等进一步研究显示,IGF-1 作用于鼠成纤维细胞 NIH3T3 后,导致细胞内限制点蛋白合成迅速增加。当细胞内限制点蛋白浓度迅速增加达到某一阈值,细胞就通过限制点进入 S 期。因此 IGF-1 起到了促进成纤维细胞 NIH3T3 的分裂、增殖的作用^[9]。章锦才等研究发现 IGF 能够促进牙周膜细胞合成蛋白和胶原纤维,其机理是 IGF 通过促进牙周膜细胞糖的分解而导致乳酸的蓄积,进而导致乳酸的浓度升高而降低了 NAD⁺ 的水平,由于 NAD⁺ 是 PADPR 合成的底物,NAD⁺ 水平下降则 PADPR 合成减少,同时 IGF1 还能通过降低 PADPR 合成酶的活性减少 PADPR 合成,而 PADPR 合成减少,可激活胶原基因的表达,致使胶原合成增加^[10]。不仅如此,李玲等对 rhIGF-1 微球对牙周膜成纤维细胞作用的实验研究发现 IGF 还能增加非胶原蛋白纤维粘连蛋白(Fn)和碱性磷酸酶(ALP)的合成增加。刚开始空白对照组和 rhIGF-1-GMs 组牙周膜成纤维细胞 ALP 活性和合成 Fn 无显著性差异,但是第三天开始就出现了明显的差异:实验组的 ALP 的活性明显增强,Fn 量也随之增多。由此可见 IGF 可增强牙周膜成纤维细胞的 ALP 活性和促进 Fn 的合成^[11]。

3.2 胰岛素样生长因子对成骨细胞的作用

体外研究表明 IGF 在促进成骨细胞迁移、分化、增殖等方面有着十分重要的作用,能有效的增加成骨细胞数目,增加骨胶原形成,并最终促进骨基质形成。Mathonnet 等通过应用 IGF-I 治疗研究表明,IGF-I 可以抑制成骨细胞凋亡,使其有丝分裂时间从 48 小时降至 24 小时,能够刺激成骨细胞 DNA 和 RNA 的合成^[12]。Hock JM 等将一定浓度的 IGF-1 加入胎鼠颅骨培养液中,24h 后发现,骨前细胞增加了 8 倍,成骨细胞数量增加了 4 倍多,骨膜成纤维细胞数量增加了 2 倍多^[13]。而国内实验发现不同浓度的 IGF-1 对成骨细胞有丝分裂均有增多,同时细胞培养的密度均增加,但是分布不均匀,王敏等采用第三代成骨细胞,将细胞浓度为 3000 个/mL 的成骨细胞悬液,分别加入实验组 IGF 浓度为 0.1,1,10ng/mL,对照组不加 IGF,进行培养,结果发现传代细胞形态基本一致,细胞在培养液中开始呈圆形,2h 后细胞贴壁,4-6h 后,大部分细胞贴壁,形态以多角形为主。24h 后,细胞完全贴壁。第 2-3 天,细胞增殖明显,核分裂相多见,以三角形、短梭形为主。4-5 天,细胞长满瓶壁。通过 MTT 方法测定的 OD 值描绘细胞生长曲线,证明 IGF-1 在 0.1-10ng/ml 浓度范围内呈浓度依赖性增长^[14]。而 IGF-2 又名骨骼生长因子,它不仅能够促进成骨细胞增殖,同时还能够促进并诱导成骨细胞合成 I 型胶原及骨胶原,加速新骨的形成。李彦等进一步研究结果显示,向 hPDLcs 加入 IGF-1 后 ALP 的活性都表现为显著增强的趋势,提示可以促进 hPDLcs 的成骨向分化,因为 ALP 作为一种膜结合蛋白,是牙周膜细胞中成骨细胞亚群的标志性蛋白,其 ALP 越高,表明细胞增殖越多^[15]。所以 IGF 是骨生成的强刺激因子,能促进成骨细胞的骨形成作用,但是它还可促进破骨细胞的骨吸收作用。Nakao K 等研究发现 SGF (即 IGF-2) 可上调破骨前体细胞周围微环境中的 CXC 趋化配体 7(CXCL7)和间质源性因子 1(SDF1)的表达,增

强了破骨细胞的增殖与分化,促使骨吸收,有利于骨骼改造^[16]。

3.3 胰岛素样生长因子诱导间充质细胞向成牙本质细胞分化作用

间充质细胞是牙周膜中新生细胞的来源,扮演干细胞的角色,能够分化为成牙本质细胞等细胞,而成牙本质细胞是能够形成牙本质得细胞,在牙周组织工程有着十分特殊地位^[17]。张光东等在实验中证实了 IGF 能够诱导间充质细胞在形态学和免疫学上向成牙本质细胞样细胞分化^[18]。谢家敏等通过《定向诱导人类牙乳头间充质细胞向成牙本质细胞分化》进一步研究证明,IGF 能够诱导人类牙乳头间充质细胞在细胞形态学、碱性磷酸酶活性、细胞免疫化学、人牙本质涎磷蛋白 mRNA 的表达上均具有成牙本质细胞的特性,细胞形态学上,加入 IGF 培养细胞呈现单一胞浆突起,胞核位于突起的一侧,一些单极细胞呈现平行排列,形态上出现成牙本质样细胞改变,而空白对照组则未见胞浆突起;在碱性磷酸酶活性上,加入 IGF 培养细胞上清液中碱性磷酸酶活性均明显,和空白对照组相比有统计学意义($P < 0.01$)。细胞免疫化学上,加入 IGF 培养的部分细胞抗牙本质涎磷蛋白染色,细胞胞浆呈阳性着色,胞核无着色,见细胞呈单一胞浆突起,一些细胞的突起很长。空白对照组细胞未见阳性着色。人牙本质涎磷蛋白 mRNA 的表达上,加入 IGF 细胞经反转录-聚合酶链反应后获得约 599 bp 的特异性片段,表明两组细胞在 mRNA 水平表达特异性牙本质涎磷蛋白。空白组未见表达,由此证明 IGF 能够诱导人类牙乳头间充质细胞向成牙本质细胞分化^[19]。

4 结论

综上所述,可以确定胰岛素样生长因子在牙组织工程中有十分重要的作用,主要表现在 IGFs 可以促进各种牙周膜细胞增殖,诱导牙周膜间充质细胞分化成为成纤维细胞、成骨细胞、成牙本质细胞等功能细胞,同时还能够促进这些细胞分泌胶原和合成细胞基质的,增强 ALP 的活性等,进而钙化,促进颌骨成骨与骨骼的形成与改建。这些作用对于解决牙周组织工程中如何诱导细胞定向分化,牙周组织成分的形成都是十分有帮助的。同时随着近来不断对胰岛素样生长因子的深入研究,还发现 IGF-1 还可以直接或间接刺激内皮细胞增殖,促进内皮细胞增值和移行,促进血管形成和增生,这有利于牙周组织再生^[20]。

5 展望

牙周组织工程的核心目的是实现牙周组织再生,进而替代由于病变、意外损伤等原因造成牙齿缺失、牙周组织缺损等,从而改善和提高人们的生活质量。目前对于处理这些问题,主要通过修补或者种植牙的方法来恢复牙的功能和面部美观,由于生物相容性、安全性、费用等问题,这些方法的应用又很大的局限性,并且其效果与天然牙无法相比。牙周组织工程能解决这些问题,但如何合理的诱导种子细胞分化,成为众多研究者公关注点。随着胰岛素样生长因子研究的深入,其在牙周组织工程中的作用得到众多研究证实,特别是在促进牙周膜细胞增殖、分化、迁移等方面的作用。可以想象,通过努力,未来是能够攻破难关,实现牙周组织再生的。

参考文献(References)

- [1] Pitaru S, Naraynan SA, Kotev-Emeth S, Liu HW, Savion N. The effect of age on the expression of mineralized tissue progenitors in the periodontium--the effect of bFGF [J]. Journal of Periodontal Research, 1997,32:179-182
- [2] Piche JE, Carnes DL Jr, Graves DT. Initial characterization of cells derived from human periodontia [J]. Journal of Dental Research, 1989, 68(5):761-767
- [3] Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations[J]. Endocr Rev, 1989, 10(1): 68-91
- [4] O'Mahoney, J.V., and T.E. Adams. Nucleotide sequence of an ovine insulin-like growth factor II cDNA. [J]. Nucl. Acids Res, 1989, 17: 5392
- [5] Pearsall AE, Kahn RC. Differential roles of the insulin and insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptors in response to insulin and IGF-I [J]. J Biol Chem, 2004, 279 (36) : 38016-38024
- [6] J.K. Heath, AG Smith. Growth factors in embryogenesis [J]. Br Med Bull, 1989,45(2):319-336
- [7] Hulleman E, Boonsa J. Regulation of G1 phase progression by growth factors and the extracellular matrix [J]. Cell Mol Life Sci, 2001,58(1):80-93
- [8] Lovschall H, Fejerskov O, Flyvbjerg A. Pulp-capping with recombinant human insulin-like growth factor-I (rhIGF-I) in rat molars [J]. Adv Dent Res, 2001,(15):108-112
- [9] Zhang Shao-kun, Tan Yan. Effects of human insulin-like growth factor I gene transfection on proliferation of NIH3T3 fibroblasts Journal of Jilin University [J]. Medicine Edition, 2006 Vol. 32:210-213
- [10] Zhang Jincai, Zamir M Hussain. Insulin-like growth factor I regulates collagen synthesis of periodontal ligament cells by a mechanism involving inhibition of poly(ADP-ribose) synthesis[J]. Chin Stomatol, 1998, 33(1): 10-12
- [11] Li Lin, Yang Lu. Experimental study of the effects of rhIGF-I-GMs on human periodontal ligament cells[J]. China Medical Herald, 2009, 6(29):14-16
- [12] Mathonnet M, Comte I, Lalloue F. Insulin-like growth factor-I induce survival of axotomized olfactory neurons in the chick[J]. Neuroscience Letters, 2001,308(2):67-70
- [13] Hock JM, Centrella M, Canalis E. Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication[J]. Endocrinology, 1988, 122(1): 254-260
- [14] Wang Min. Experimental Study of Effect Insulin-like Growth Factor I on the Growth of Osteoblasts [J]. Orthop J Chin, 2004,12 (3,4): 236-238
- [15] 李彦. 三维培养模型中胰岛素样生长因子 - 对人牙周膜细胞增殖及碱性磷酸酶活性的影响. [J] 华西口腔医学杂志 2011, 29(3): 229-230
- Li Yan. The effect of insulin-like growth factor- on the proliferation and alkaline phosphatase activity of human periodontal ligament cells under three-dimensional culture system [J]. West China Journal of Stomatology, 2011, 29(3): 229-230
- [16] Nakao K, Aoyama M, Fukuoka H, et al. IGF2 modulates the microenvironment for osteoclastogenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 378(3): 462-466
- [17] Obara N, Suzuki Y, Takeda M. Gene expression of beta-catenin is up-regulated in inner dental epithelium and enamel knots during molar tooth morphogenesis in the mouse [J]. Cell Tissue Res, 2006, 325 (1):197-201
- [18] Zhang Dong-guang, Jin Yan. Differentiation of rat ectomesenchymal cells to odontoblast-like cells by insulin-like growth factor I [J]. Chin J Conserv Dent, 2003, 13(2): 66-69
- [19] Min Jiaxie, Wei Dongtian. Induced differentiation of human dental papilla mesenchymal cells into odontoblasts [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2007,12(27):5261-5265
- [20] Qiao M, Shapiro P, Kumar R, et al. Insulin like growth factor I regulates endogenous RUNX2 activity in endothelial cells through a phosphatidylinositol 3 kinase/ERK dependent and Akt independent signaling pathway[J]. J Biol Chem, 2004, 279(41):42709-42718
- (上接第 4192 页)
- [22] Catón J, Luder HU, Zoupa M, et al. Enamel-free teeth: Tbx1 deletion affects amelogenesis in rodent incisors [J]. Dev Biol, 2009, 15,328(2):493-505
- [23] Mitsiadis TA, Regaudiat L, Gridley T, et al. Role of the Notch signalling pathway in tooth morphogenesis [J]. Arch Oral Biol, 2005, 50 (2):137-140
- [24] Stephanopoulos G, Garefalaki ME, Lyroutdia K, et al. Genes and related proteins involved in amelogenesis imperfecta [J]. Dent Res, 2005, 84(12):1117-1126
- [25] Wright JT. The molecular etiologies and associated phenotypes of amelogenesis imperfecta. Am J Med Genet A, 2006, 140 (23): 2547-2555
- [26] Papagerakis P, Lin HK, Lee KY, et al. Premature stop codon in MMP20 causing amelogenesis imperfecta[J]. Dent Res, 2008,87(1): 56-59
- [27] Lee SK, Seymen F, Kang HY, et al. MMP20 hemopexin domain mutation in amelogenesis imperfecta[J]. Dent Res, 2010,89(1):46-50
- [28] Lee SK, Seymen F, Lee KE, et al. Novel WDR72 mutation and cytoplasmic localization[J]. Dent Res, 2010,89(12):1378-1382
- [29] El-Sayed W, Parry DA, Shore RC, et al. Mutations in the beta propeller WDR72 cause autosomal-recessive hypomaturation amelogenesis imperfecta. Am J Hum Genet, 2009,85(5):699-705