



胡江天, 女, 45岁, 医学硕士, 硕士研究生导师, 副主任医师, 现任昆明医科大学附属口腔医院口腔正畸科副主任, 口腔正畸教研室副主任, 中华口腔医学会第三届颞下颌关节及颌学专业委员会学组委员, 云南省医学会医疗事故鉴定专家, 云南省执业医师资格实践技能考试主考官, 云南省科技厅项目评审专家, 世界正畸联盟(WFO)会员. 主持和参与国家自然科学基金3项, 主持云南省科技厅应用基础研究基金3项、云南省教育厅科研基金2项. 获云南省科技进步奖二等奖1项, 三等奖2项, 获教育部科技成果完成者证书1项, 曾多次获昆明医科大学优秀教师、伯乐奖及红云园丁奖、伍达观教育基金奖.

1993年分配至昆明医学院第一附属医院口腔正畸科工作, 2006年昆明医学院附属口腔医院口腔正畸科工作至今. 先后赴美国哥伦比亚大学牙医学院、美国纽约爱因斯坦大学牙学院、泰国玛希隆大学、香港大学进修学习. 具有丰富的临床正畸矫治实践经验, 熟练掌握自锁矫治技术、种植支抗技术、隐形矫治技术等正畸高新技术, 对青少年疑难错颌畸形诊治及成人骨性错颌畸形正畸正颌联合治疗、成人牙周病正畸牙周联合治疗有深入研究及掌握. 培养口腔正畸专业硕士研究生15人, 培养省内口腔正畸进修医生30余名. 发表学术论文40余篇. 主要研究方向为口腔正畸临床新技术应用及口腔正畸生物力学信号传导机制.

## 机械力作用下细胞骨架及相关信号传导通路应答机制

正畸矫治力作用牙周组织, 可触发多条胞外及胞内信号传导网络, 致人牙周膜成纤维细胞 (human periodontal ligament fibroblast, HPLF) 产生或分泌多种细胞因子, 产生牙周组织有序性修复及改建, 牙齿得以向特定方向移动<sup>[1]</sup>. 已发现的信号通路包括细胞膜离子通道, G蛋白偶联通路, JNK通路等<sup>[2]</sup>. 近年, 机械应力与细胞骨架改建, 细胞骨架与相关细胞信号传导通路等研究受到学者关注.

### 1 机械力学信号与细胞骨架 (cytoskeleton, CSK)

CSK是由微丝、微管、中间丝组成的动态结构, 随着外界刺激不断, 受细胞内外各种信号传导蛋白调控. 重构及解聚. 受到应力刺激后, CSK可发生复杂的形态及生化改变, 引发机械信号向胞内传导.

#### 1.1 细胞骨架肌动蛋白 (Actin)

肌动蛋白是CSK主要结构微丝的组成成分. 微丝骨架不仅参与细胞形态和空间结构的维持, 而且在细胞有丝分裂、分化、分泌、信号转导等生物

活动中发挥作用. 微丝由肌动蛋白线性连接而成. 肌动蛋白由大小两个结构域组成. 小结构域内含有二价阳离子结合位点, 能与 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 结合, 而大结构域内含有核苷酸结合位点, 能与ATP、ADP结合. 肌动蛋白以球状 (G-actin) 和纤维状 (F-actin) 两种形式存在. 机械应力作用下, CSK微丝蛋白发生改建和重排<sup>[3]</sup>.

#### 1.2 纤维肌动蛋白 (F-actin)

纤维肌动蛋白是微丝的主要成分, 参与细胞形态维持及多种细胞功能, 其结构重排、聚合和解聚的动态变化, 在一定程度上反映了细胞的功能状况. 研究发现动态机械拉伸可导致成纤维细胞直接形变. 机械力长时间作用后, 细胞可逐渐适应新的机械环境而引起生物学效应丧失<sup>[4]</sup>. HPLF细胞施加静张力和不同的动态张力可引起体外培养的HPLF细胞形态和F-actin发生有规律的变化. 在细胞投影面积以及细胞平均荧光强度方面均与加力时间呈正比, 微丝随加力时间的延长而逐渐变粗.

#### 1.3 肌动蛋白结合蛋白 (actin binding proteins, ABP)

ABP为胞浆及胞膜上与肌动蛋白发生相互作用

用的蛋白。ABP 通过影响肌动蛋白微丝的伸缩和动力学变化而参与细胞的众多功能<sup>[5]</sup>。微丝末端或侧方邻近细胞膜，其运动变化可使细胞膜呈现特殊形态。有些膜蛋白本身为 ABP，可将微丝连于细胞膜，或通过其他蛋白将肌动蛋白微丝连于细胞膜上，是机械力信号传导胞内信号的主要桥梁。

## 2 CSK 改变而激活的相关信号传导通路

### 2.1 Girdin /AKT 信号传导通路

Girdin (girders of actin filaments) 是新发现的肌动蛋白结合蛋白，在促进细胞的迁移、肿瘤细胞增殖及机械力学应答中有重要作用<sup>[5]</sup>。Girdin 由 1 870 个氨基酸残基构成，又被命名为 Akt 磷酸化增强子 (Akt-phosphorylation enhancer, APE) 等<sup>[6]</sup>。Girdin 序列分成 3 个区域。Girdin 的 CT1 区含有 Akt 磷酸化位点及膜结合域，CT2 区含肌动蛋白结合位点。研究结果显示，Girdin 的 CT1 结构域能够通过磷酸肌醇结合而锚定于细胞膜上，进而固定与之结合的外周肌动蛋白丝束<sup>[6]</sup>。

Girdin 功能主要是参与维持和调节肌动蛋白的骨架结构。Jiang 等<sup>[7]</sup>用小 RNA 干扰技术抑制内源性 Girdin 的表达，发现对照组细胞前缘呈现单一的宽而平的突起，即形态正常的片状伪足，并且 Girdin 与肌动蛋白应力纤维共定位于细胞前缘，而转染 Girdin siRNA 的细胞形态异常，细胞膜呈多极性突起，伪足不能正常伸展，细胞中肌动蛋白束断裂<sup>[8]</sup>。

研究发现 Girdin 家族蛋白参与调控机械应力导致的信号传导通路激活。Giepiee 蛋白与 Girdin 蛋白拥有相同的 CT1 及 CT2 结构域，可与 Akt 及肌动蛋白相结合。机械应力作用内皮细胞及脐静脉内皮细胞后，Giepie 通过调控 PI3K/Akt 信号通路，参与细胞增殖抗凋亡<sup>[9]</sup>。

AKT (protein kinase B, PKB) 是磷脂酰肌醇 3- 激酶 (phosphoinositide3-kinase, PI3K) 下游重要蛋白因子。Akt 由氨基端的 PH 结构域、中间的激酶活性区及羧基端的尾部三部分构成，对生长因子和其他细胞外刺激如机械力等反应所产生的 PH 结构域与磷脂酰肌醇三磷酸 (PIP3) 结合并向细胞质膜移位后，激酶活性区的苏氨酸磷酸化位点和羧基端尾部的丝氨酸磷酸化位点的磷酸化。在机械力等其它因素刺激时，跨膜受体将信息传递到酪氨酸蛋白激酶，接受刺激后酪氨酸蛋白激酶被激活，启动下游信号分子 Akt 的活化<sup>[10]</sup>。Akt 活化后即脱离质膜进入胞质和胞核，进而激活 / 抑制一组细胞

因子<sup>[11]</sup>，引起细胞增殖分化、细胞骨架重组等生物学事件。研究结果显示，机械牵张力作用 PDLF 细胞后，可激活 Akt 信号传导通路，促进 HPLF 细胞增殖，上调 PCNA 表达。

### 2.2 胞外基质 - 整合素系统

整合素 (Integrin) 是由  $\alpha$  和  $\beta$  两个亚单位所组成的跨膜多糖蛋白膜受体，是细胞外基质和细胞内骨架结构联系的重要桥梁<sup>[12]</sup>。整合素每个亚单位均分为胞外区域及胞内区域。胞外区通过识别特定序列的多肽位点与细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 相连，胞内区通过在细胞内的一些肌动蛋白相关蛋白与肌动蛋白的细胞骨架相连接，形成局部粘附斑 (focal adhesion, FA)。

整合素是重要的力学信号受体，为机械力、细胞骨架重组以及生物信号传递的主要关键通路。研究发现，机械力作用于整合素将引起细胞骨架结构的改变，激活相关信号传导通路，调控转录因子活性或其他靶因子活性。CSK 产生的张应力可通过整合素传导到局部粘附斑，对整合素的粘附产生影响<sup>[12]</sup>。粘附于整合素胞内区域的 Talin 蛋白可直接与整合素相粘连，介导了整合素与肌动蛋白细胞骨架之间的粘连，并可作为肌动蛋白、纽带蛋白及局部粘附斑激酶 (focal adhesion protein tyrosine kinase, FAK) 的重要结合位点而介导力学信号传导<sup>[13]</sup>。

### 2.3 TGF $\beta$ /CTGF 通路

GSK 改变也可激活 TGF  $\beta$  /CTGF 信号通路。转化生长因子  $\beta$  1 (transforming growth factor  $\beta$  1, TGF- $\beta$  1) 为具有多向调节的多功能细胞因子。活化的 TG  $\beta$  1 能诱导上皮细胞分化为成纤维细胞，促进纤连蛋白及 I 型、III 型胶原蛋白生成，抑制胶原酶释放，阻滞基质蛋白降解，诱导成纤维及成骨效应<sup>[14]</sup>。外源性 TGF- $\beta$  1 在体内可诱导新骨形成，人重组 TGF- $\beta$  1 可促进牙周膜细胞的 DNA 合成及碱性磷酸酶活性的增加。正畸加力后，其在牙齿移动相对较快的时期，牙周膜内 TGF- $\beta$  1 的表达明显增多<sup>[7]</sup>。正畸加力可激活 TGF- $\beta$  1，刺激牙周膜中未分化间充质细胞形成成骨细胞<sup>[15]</sup>。但也有研究发现，TGF- $\beta$  1 在正畸牙周组织改建中具有双重作用。正畸加力后压力侧，张力侧均可发现其表达增高<sup>[16]</sup>。

结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 是即刻早期基因中的 CCN 家族成员<sup>[17]</sup>。多条细胞信号通路参与调控 CTGF 表达。在 CTGF 启动子的 -157 到 -145 位有一个 TGF- $\beta$  反应元件 (TGF- $\beta$  response element, T $\beta$ RE)，

TGF- $\beta$  1 对 CTGF 基因转录表达有直接调控作用<sup>[17]</sup>.

AKT 信号途径参与应力刺激引起的成骨细胞 CTGF 的表达. PI3K 的特异性信号通路阻断剂 LY294002 则可阻断应力诱导的 MG-63 成骨样细胞 CTGF 表达<sup>[18]</sup>. 研究发现, CTGF 可有效促进 HPLF 细胞增殖, 促进 ALP 及 I 型胶原酶表达; 同时, CTGF 可有效促进大鼠正畸牙移动模型牙周组织改建, 增加 ALP 及 I 型胶原酶表达. 小分子干扰 RNA (siRNA) 封闭 HPLF 细胞中 CTGF 表达后, 可显著抑制由动态牵张力及 TGF- $\beta$  1 诱发的 ALP 及 VEGF 表达上调<sup>[19]</sup>.

### 3 展望

研究正畸矫治力对 PDLF 细胞所产生的 GSK 改变及相关信号传导通路, 对探索正畸牙周组织改建机制, 及通过发现正畸牙周改变中细胞增殖与成骨分化的关键靶点而寻求有效的正畸矫治辅助用药, 缩短正畸疗程, 减少或减轻牙根吸收等并发症的发生, 有重要意义.

#### [参考文献]

- [1] MURRAY C, MEIKLE Y. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt [J]. *European Journal of Orthodontics*, 2006, 28 (16):221 - 240.
- [2] GIANCOTTI FG, RUOSLAHTI E. Integrin signaling [J]. *Science*, 1999, 285(3):1 028 - 1 032.
- [3] DANCUL T E, GAGARIL E, ADAMI R M. Mechanical strain delivers anti-apoptotic and proliferative signals to gingival fibroblasts [J]. *J Dent Res*, 2004, 83 (8):596 - 601.
- [4] JIANG C J, WEEDS A G, KHAN S. F-actin and g-actin binding are uncoupled by mutation of conserved tyrosine residues in maize actin depolymerizing factor (ZmADF) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(18):9 973 - 9 978.
- [5] ENOMOTO A, MURAKAMI H, ASAI N. Akt/PKB regulates actin organization and cell motility via Girdin/APE [J]. *Cell*, 2005, 9(3):389 - 402.
- [6] MIKEL G M, PRADIPTA G, MARILYN G F. GIV is a nonreceptor GEF for Gi with a unique motif that regulates Akt signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(6):3 178 - 3 183.
- [7] JIANG P, ENOMOTO A, JIJIWA M, KATO T. An actin-binding protein Girdin regulates the motility of breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(5):1 310 - 1 318.
- [8] ANAI M, SHOJIMA N, KATAGIRI H L. A novel protein kinase B (PKB)/Akt-binding protein enhances PKB kinase activity and regulates DNA synthesis [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (18):18 525 - 18 535.
- [9] MATSUSHITA E, ASAI N, ENOMOTO A, et al. Protective role of gipie, a girdin family protein, in endoplasmic reticulum stress responses in endothelial cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 285(6):365 - 372.
- [10] ENOMOTO A, PING J, TAKAHASHI M. GIRDIN, a novel actin-binding protein, and its family of proteins possess versatile functions in the akt and wnt signalling pathways [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1 086(6):169 - 184.
- [11] BOLCATO-BELLEMIN A L, ELKAIM R, ABEHSERA A, et al. Expression of mRNA encoding for alpha and beta integrin subunits, MMPs, and TIMPs in stretched human periodontal ligament and gingival fibroblasts [J]. *J Dent Res*, 2000, 79(9):1 712 - 1 716.
- [12] SHYY J Y, CHIEN S. Role of integrins in endothelial mechanosensing of shear stress [J]. *Circ Res*, 2002, 91 (9): 769 - 775.
- [13] MITTAL Y, PAVLOVA Y, GARCIA-MARCOS M, et al. Src homology domain 2-containing protein-tyrosine phosphatase-1 (SHP-1) binds and dephosphorylates G (alpha)-interacting, vesicle-associated protein (GIV)/Girdin and attenuates the GIV-phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt signaling pathway [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(37):32 404 - 32 415.
- [14] BODMER S, STROMMER K, FREI K, et al. Immunosuppression and transforming growth factor- $\beta$  in glioblastoma [J]. *J Immunol*, 1989, 143(8):3 222 - 3 229.
- [15] ALBINO A P, DAVIS B M, NANUS D M. Induction of growth factor RNA expression human malignant melanoma: markers of transformation [J]. *Cancer Res*, 1991, 51 (2): 4 815 - 4 820.
- [16] MURRELL E F, YEN E H, JOHNSON R B. Vascular changes in the periodontal ligament after removal of orthodontic forces [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1996, 110(3):280 - 286.
- [17] BRUNNER A, CHINN J, NEUBAUER M, et al. Identification of a gene family regulated by transforming growth factor  $\beta$  DNA [J]. *Cell Biol*, 1991, 10(3):293 - 300.
- [18] JANA S, MARGOT R, BETTINA K. Up-regulation of connective tissue growth factor in endothelial cells by the microtubule-destabilizing agent combretastatin A-4 [J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(2):180 - 188.
- [19] 胡江天, 李松, 高国杰, 等. 结缔组织生长因子对正畸大鼠牙周组织改建的影响 [J]. *实用口腔医学杂志*, 2010, 26(1):24 - 28.

(2014-05-12 收稿)