

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.28.001 [http://www.crter.org]  
张钧, 江莉婷, 王晋申, 周琦, 高益鸣. 1型糖尿病小鼠下颌骨三维结构及组织形态[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(28):5101-5107.

## 1型糖尿病小鼠下颌骨三维结构及组织形态\*

张钧<sup>1</sup>, 江莉婷<sup>1</sup>, 王晋申<sup>2</sup>, 周琦<sup>2</sup>, 高益鸣<sup>1</sup> (<sup>1</sup>上海交通大学医学院附属瑞金医院口腔科, 上海市 200025; <sup>2</sup>上海市伤骨科研究所, 上海市 200025)

### 文章亮点:

- 1 实验以链脲佐菌素诱导小鼠为1型糖尿病动物模型, 在建模3周后运用显微CT观察糖尿病小鼠下颌骨三维结构, 对其松质骨及皮质骨的骨微结构进行定量分析, 并对脱钙后的下颌骨进行组织学观察, 了解糖尿病小鼠下颌骨骨微结构及病理学的改变。
- 2 结果证实, 链脲佐菌素诱导的1型糖尿病小鼠下颌骨骨微结构发生改变。
- 3 结果发现, 1型糖尿病小鼠下颌骨松质骨骨微结构改变较皮质骨更为显著。

### 关键词:

组织构建; 骨组织构建; 1型糖尿病; 下颌骨骨结构; 松质骨; 皮质骨; 骨微结构; 骨形态计量学; 显微CT; 组织切片; 省级基金

### 摘要

**背景:** 糖尿病是最常见的系统性疾病之一, 常引起颌骨及全身其他骨骼结构的变化, 以及矿物代谢的异常改变。

**目的:** 观察1型糖尿病小鼠下颌骨三维结构以及组织病理学的改变。

**方法:** 将小鼠随机分为对照组和糖尿病组, 糖尿病组按50 mg/kg 剂量连续5 d 腹腔内注射链脲佐菌素建立1型糖尿病小鼠模型, 对照组腹腔注射枸橼酸盐缓冲液。

**结果与结论:** 造模3周后, 运用显微CT技术观察两组小鼠下颌骨三维结构, 对其松质骨及皮质骨骨微结构进行定量分析显示, 与对照组比较, 1型糖尿病小鼠下颌骨感兴趣区域内松质骨骨密度、骨体积分数、骨小梁数量及骨小梁厚度均显著减少( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 结构模型指数明显增大( $P < 0.05$ ); 皮质骨骨密度、皮质骨面积减少( $P < 0.05$ )。苏木精-伊红染色显示, 1型糖尿病小鼠脱钙后下颌骨松质骨骨小梁数量及体积均变小。说明链脲佐菌素诱导的1型糖尿病小鼠下颌骨松质骨及皮质骨三维结构明显改变, 且松质骨骨组织微结构改变更显著。

## Three-dimensional structure and morphology of the mandible in type 1 diabetes mellitus mice

Zhang Jun<sup>1</sup>, Jiang Li-ting<sup>1</sup>, Wang Jin-shen<sup>2</sup>, Zhou Qi<sup>2</sup>, Gao Yi-ming<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Stomatology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; <sup>2</sup>Shanghai Institute of Traumatology and Orthopedics, Shanghai 200025, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** Diabetes mellitus is one of the most common systemic diseases, which often leads to the changes of the jaw and other bone structure, as well as the abnormal changes of mineral metabolism.

**OBJECTIVE:** To observe the three-dimensional structure and histopathological changes of the mandible in type 1 diabetes mellitus mice.

**METHODS:** The mice were randomly divided into control group and diabetes mellitus group. The diabetes mellitus group received intraperitoneal injection of 50 mg/kg streptozotocin for 5 days to establish a type 1 diabetes mellitus model, and the control group received intraperitoneal injection of citrate buffer.

**RESULTS AND CONCLUSION:** At 3 weeks after modeling, the micro-CT technique was used to observe the three-dimensional structure of the mandibles in the two groups. The quantitative analysis on the microstructure of cancellous bone and cortical bone showed that the bone mineral density, bone volume fraction, trabecular number and trabecular thickness of cancellous bone in the interest region in the mandible of type 1 diabetes mellitus mice were significantly decreased when compared with that in the control group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), while the structure model index was increased significantly ( $P < 0.05$ ); the mineral density and area of cortical bone were decreased in the diabetes mellitus group ( $P < 0.05$ ). Hematoxylin-eosin staining showed that the number and volume of mandibular trabeculae of type 1 diabetes mellitus mice were decreased. The results suggest that the three-dimensional structure of the cancellous bone and cortical bone in the streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus mice are changed significantly, and the microstructure change of the cancellous bone is more obvious.

**Key Words:** tissue construction; bone tissue construction; type 1 diabetes mellitus; mandibular bone structure;

张钧, 男, 1973年生, 江苏省苏州市人, 汉族, 1997年上海第二医科大学毕业, 主治医师。

zjz11071@gmail.com

通讯作者: 高益鸣, 博士, 上海交通大学医学院附属瑞金医院口腔科, 上海市 200025

drgaoym@yahoo.com.cn

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2013)28-05101-07

收稿日期: 2013-04-02

修回日期: 2013-05-08

(201302014/WJ-C)

Zhang Jun, Attending physician, Department of Stomatology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China  
zjz11071@gmail.com

Corresponding author: Gao Yi-ming, M.D., Department of Stomatology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China  
drgaoym@yahoo.com.cn

Supported by: Medical Guiding Project of Shanghai Science and Technology Committee, No. 114119a3500\*

Received: 2013-04-02

Accepted: 2013-05-08

cancellous bone; cortical bone; bone microstructure; bone morphometry; micro-CT; histological section; provincial grants-supported paper

Zhang J, Jiang LT, Wang JS, Zhou Q, Gao YM. Three-dimensional structure and morphology of the mandible in type 1 diabetes mellitus mice. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(28):5101-5107.

## 0 引言

1型糖尿病是一种常见的自身免疫性疾病,以T细胞及巨噬细胞介导的胰腺β细胞的破坏为标志,可造成不可逆的胰岛素缺乏<sup>[1]</sup>。各项研究显示,糖尿病常引起骨骼及矿物代谢的异常改变,导致骨量丧失,增加骨折的风险。骨骼代谢标志物的检测提示糖尿病骨丧失多与成骨细胞活性降低,骨形成减少有关<sup>[2]</sup>。

Shyng等<sup>[3]</sup>学者对糖尿病组、胰岛素治疗组以及对对照组3组大鼠的股骨、胫骨研究中发现,严重而未经控制的糖尿病通过抑制骨矿化、吸收和改建,来直接影响骨愈合。研究多集中在胫骨、股骨等全身性骨骼,而对下颌骨改变的研究较少。既往研究表明,糖尿病与牙周疾病患病率、严重程度等相关,Pepelessi等<sup>[4]</sup>和Gomes等<sup>[5]</sup>研究证实糖尿病合并牙周炎较单纯牙周炎而言,引起了更多的牙槽骨丧失。Okamoto等<sup>[6]</sup>学者对佩戴义齿的糖尿病大鼠研究中提到糖尿病状态下,破骨细胞数量的减少以及破骨细胞的退化,会导致骨吸收下降。

糖尿病动物模型的建立有药物诱导,如链脲佐菌素和四氧嘧啶,以及胰腺切除<sup>[7]</sup>。链脲佐菌素的作用机制是对一定种属动物的胰岛β细胞有选择性破坏作用,引起细胞坏死,导致血胰岛素不同程度下降和血糖升高,诱发产生糖尿病<sup>[8]</sup>。Giglio等<sup>[9]</sup>通过该模型研究认为下颌骨骨结构以及动态骨形成的破坏可能与糖尿病相关并发病有关,此后的研究陆续推测糖尿病状态下骨微血管病变,矿物质代谢调节受损,调控骨改建局部因素的改变等因素都可能是其诱因<sup>[10-11]</sup>。然而,糖尿病状态下,下颌骨前牙区、磨牙区松质骨以及皮质骨结构有何改变,具体机制是什么,国内外尚未见报道。

实验以链脲佐菌素诱导小鼠为1型糖尿病动物模型,在建模3周后运用显微CT观察糖尿病小鼠下颌骨三维结构,对其松质骨及皮质骨骨微结构进行定量分析,并对脱钙后的下颌骨进行组织学观察,了解糖尿病小鼠下颌骨骨微结构及病理学的改变。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 实验于2012年8月至2013年1月在上海市内分泌代谢病研究所以及上海伤骨科研究所完成。

### 材料:

**实验动物:** 选用健康8周龄雄性C57小鼠20只,体质量18–22 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,生产许可证号:SCXK(沪)2007-0005。

### 糖尿病小鼠模型建立的主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
链脲佐菌素, 苏木精-伊红染色试剂盒	Sigma, 美国
全自动脱水机 OXIS LX120, 石蜡包埋机 EG1140H, 石蜡切片机 RM2135	Leica, 德国
显微镜及照相系统	ZEISS, 德国
显微 CT	GE Locus SP, 美国

### 实验方法:

**1型糖尿病小鼠模型的建立:** 将8周龄C57小鼠随机分为对照组和糖尿病组,每组各10只。适应性喂养2周后开始实验。糖尿病组小鼠禁食6 h,不禁水,枸橼酸盐稀释链脲佐菌素后按50 mg/kg腹腔注射,连续注射5 d,1次/d。

对照组腹腔注射等体积的枸橼酸盐缓冲液,给予标准饮食,自由饮水。从注射链脲佐菌素开始前测随机血糖,每周2次,3周后测随机血糖>15 mmol/L,诱导1型糖尿病模型成功<sup>[12]</sup>。

**显微CT观察小鼠下颌骨三维结构:** 每组选6只小鼠,麻醉后腹腔注射过量氯胺酮处死,取双侧下颌骨置于40 g/L多聚甲醛固定24 h脱水后,放置样本固定器内,以14 μm层厚进行扫描,扫描参数80 kV, 80 mA。

设定感兴趣区域,用28 μm进行三维重建,获得重建图像后使用系统自带的GEHC Micro View 2.1软件分别对下颌骨感兴趣区内松质骨和皮质骨各项骨微结构参数自动进行定量测算。

选取小鼠第一磨牙牙槽间隔区域松质骨为感兴趣区域,松质骨结构指标包括:①骨密度(bone mineral density, BMD, 单位mg/L)。②骨骼体积/组织体积(bone volume/Total volume, BV/TV)。③骨骼表面积/骨骼体积(bone surface/Bone volume, BS/BV, 单位mm<sup>2</sup>/mm<sup>3</sup>)。④骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th, 单位mm)。⑤骨小梁数量(trabecular number, Tb.N, 单位1/mm)。⑥骨小梁间距(trabecular separation, Tb.Sp, 单位mm)。⑦结构模型指数(structure model index, SMI)。

选取为前牙区骨皮质为皮质骨分析时感兴趣区域:评估骨骼强度,提供结构力学参数,指标包括:①皮质

骨骨密度(cortical bone mineral density, C.BMD, 单位mg/L), ②骨皮质厚度(cortical thickness, Ct.Th, 单位mm), ③内径周长(inner perimeter, In.Pm, 单位mm), ④外径周长(outer perimeter, Ot.Pm, 单位mm), ⑤皮质骨总面积(cortical area, Ct.Ar, 单位mm<sup>2</sup>).

**苏木精-伊红染色观察脱钙后小鼠下颌骨组织形态:** 取糖尿病组及对照组每组各4只小鼠的下颌骨多聚甲醛固定, EDTA脱钙, 常规脱水, 石蜡包埋, 制作5 μm连续切片。石蜡切片脱蜡至水, 苏木精染色5-10 min, 水洗去余色。体积分数1%盐酸乙醇分化数秒, 流水洗10-15 min, 伊红染色1.5 min, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固, 光学显微镜下观察下颌骨组织变化。

**主要观察指标:** 显微CT对小鼠下颌骨扫描指标(每组6只)以及组织病理学切片(每组4只)观察结果。

**统计学分析:** 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 13.0统计学软件对实验数据进行统计学分析, 组间数据差异的比较采用独立样本t检验,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 纳入小鼠共20只, 全部进入结果分析, 无死亡和感染, 无脱落。

**2.2 1型糖尿病小鼠体质量和随机血糖浓度检查结果** 见表1。

表1 糖尿病组与对照组小鼠体质量及血糖浓度变化

Table 1 Changes of mouse body mass and blood glucose between diabetes mellitus group and control group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	体质量(g)	血糖 (mmol/L)
糖尿病组	22.47±0.97	20.80±3.02 <sup>a</sup>
对照组	23.30±1.04	9.03±1.19

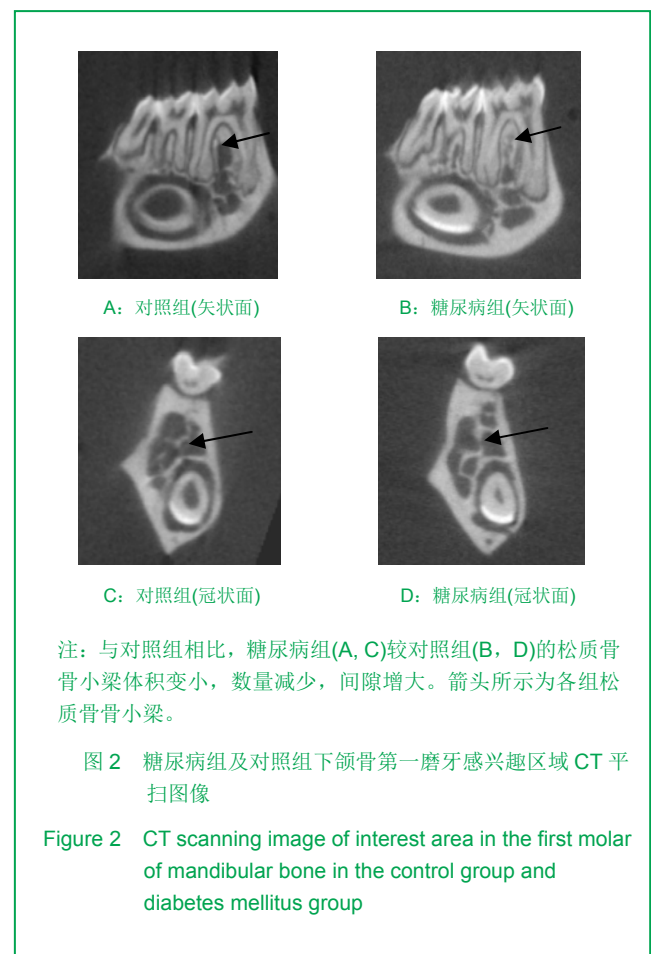
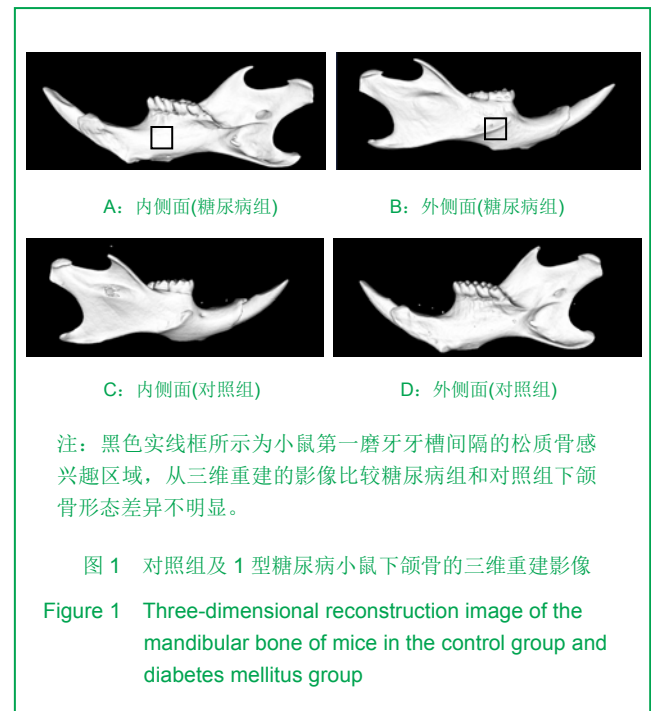
与对照组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ 。

注: 糖尿病组小鼠血糖浓度显著增加。

注射链脲佐菌素3周后, 与对照组相比, 糖尿病组小鼠体质量变化差异无显著性意义, 但血糖浓度显著增加( $P < 0.01$ ), 均大于15 mmol/L, 提示诱导1型糖尿病模型成功。

**2.3 1型糖尿病小鼠下颌骨松质骨显微结构变化** 注射链脲佐菌素3周后, 实验选取小鼠第一磨牙牙槽间隔区域的松质骨为感兴趣区, 如图1中黑色实线框所示, 图2箭头所示糖尿病组较对照组, 骨小梁体积变小, 数量减

少。



注射链脲佐菌素3周, 与对照组比较, 糖尿病组下颌骨感兴趣区域内松质骨骨密度、骨体积分数、骨小梁

数量及骨小梁厚度均显著性减少( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。结构模型指数可反映骨小梁结构的改变, 结构模型指数为0指骨小梁呈平行板状, 3指骨小梁呈杆状改变<sup>[13]</sup>, 糖尿病组结构模型指数高于对照组( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 糖尿病组及对照组小鼠下颌骨松质骨骨密度以及骨微结构指标比较

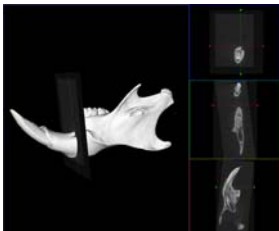
Table 2 Comparison of cancellous bone mineral density and bone microstructure of the mandible in mice of the diabetes mellitus group and the control group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

指标	糖尿病组	对照组
骨密度(mg/L)	1 085.58±31.03 <sup>b</sup>	1 311.38±37.91
结构模型指数	1.62±0.62 <sup>b</sup>	0.40±0.27
骨体积分数(骨骼体积/组织体积)	0.19±0.00 <sup>a</sup>	0.32±0.01
骨骼表面积/骨骼体积(mm <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> )	37.00±6.99	28.31±2.89
骨小梁数量(1/mm)	3.62±0.68 <sup>b</sup>	4.58±0.47
骨小梁间距(mm)	0.15±0.02	0.23±0.04
骨小梁厚度(mm)	0.06±0.01 <sup>b</sup>	0.07±0.01

与对照组相比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

注: 糖尿病组下颌骨感兴趣区域内松质骨骨密度、骨体积分数、骨小梁数量及骨小梁厚度均显著性减少, 结构模型指数增高。

2.4 显微CT测定小鼠下颌骨皮质骨计量学数据 显微CT测定结果显示, 注射链脲佐菌素3周后, 糖尿病组前牙区松质骨含量少, 图3显示颞孔前缘区域几乎没有松质骨, 仅见厚实的皮质骨包绕。



注: 该图为三维重建前 1 型糖尿病大鼠前牙区感兴趣区域后使用系统自带的 GEHC MicroView 2.1 软件分析时的截图, 颞孔前缘区域几乎没有松质骨。右侧纵向 3 张图由上到下表示选取区域冠状位、矢状位及横断面的 CT 影像。

图3 对照组及 1 型糖尿病小鼠下颌骨前牙区感兴趣区域 CT 三维重建及平扫图像

Figure 3 CT reconstruction and scanning images of interest area in the anterior region of mandibular bone of the control group and the diabetes mellitus group

表3数据显示, 与对照组相比, 糖尿病组小鼠下颌骨感兴趣区域内皮质骨骨密度、皮质骨总面积减少( $P < 0.05$ ), 其他参数两组间比较差异无显著性意义。

表3 对照组及 1 型糖尿病小鼠下颌骨皮质骨骨密度、骨微结构比较

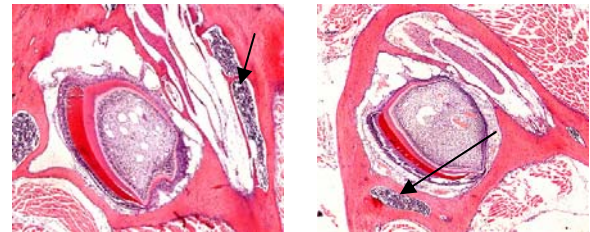
Table 3 Comparison of mandibular cortical bone mineral density and bone microstructure in the mice of the control group and the type 1 diabetes mellitus group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

指标	糖尿病组	对照组
皮质骨骨密度(mg/L)	2 429.47±27.95 <sup>a</sup>	2 476.00±13.97
骨皮质厚度(mm)	0.22±0.02	0.22±0.03
内径周长(mm)	3.78±0.30	3.88±0.51
外径周长(mm)	5.40±0.70	5.75±0.78
皮质骨总面积(mm <sup>2</sup> )	0.57±0.08 <sup>a</sup>	0.65±0.10

与对照组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

注: 糖尿病组小鼠下颌骨感兴趣区域内皮质骨骨密度及皮质骨总面积减少。

2.5 两组小鼠下颌骨松质骨组织形态 见图4。



A: 对照组

B: 糖尿病组

注: 图 A, B 箭头所指为骨小梁, 可见 1 型糖尿病小鼠下颌骨松质骨骨小梁数量减少, 体积变小。

图4 对照组及 1 型糖尿病小鼠下颌骨松质骨组织形态(苏木精-伊红染色, ×100)

Figure 4 Mandibular cancellous bone morphology of the type 1 diabetes mellitus mice (Hematoxylin-eosin staining, ×100)

注射链脲佐菌素3周后, 苏木精-伊红染色可见, 与对照组相比, 糖尿病组下颌骨松质骨骨小梁数量减少, 体积变小。

### 3 讨论

颞下颌关节为全身惟一的联动关节, 以其为力学支点, 下颌骨承受来自咬合以及咀嚼的生理性刺激, 发挥重要的生物学效能。下颌骨松质骨和骨小梁排列成牙合力轨道以及肌力轨道, 骨小梁的粗细, 数目以及排列与力学功能有关<sup>[14-15]</sup>。

1 型糖尿病是一种常见的自身免疫性疾病, 大量研究表明<sup>[16-19]</sup>, 糖尿病常伴随着骨量的丧失, 引起颌骨及

全身其他骨骼结构的变化, 骨密度降低以及增加骨折的风险, 然而糖尿病对于下颌骨改建、吸收相关的报道却知之甚少。

实验选取 8 周龄的 C57 小鼠为研究对象。较全身其他骨骼而言, 下颌骨的骨转换要更迅速, 并能对系统及局部因子作出应答<sup>[20]</sup>, 因此值得文章进一步研究糖尿病状态下的下颌骨结构及功能的改变。机械应力通过调控骨改建来影响骨小梁以及结构。研究表明, 在早期生长发育阶段, 下颌骨骨形成活跃<sup>[21]</sup>, 对糖尿病状态的应答改变显著<sup>[22]</sup>。因此文章分别选择了生长期小鼠前牙及磨牙区进行下颌骨骨微结构分析。

显微 CT 技术为此次实验提供了可靠以及可重复性的保障。骨的“量”和“质”反映了骨小梁的数量, 微结构等修复能力等方面的特征, 虽然同步辐射 X 射线成像技术能提供更高的分辨率, 然而显微 CT 在大多数的研究中应用更多, 因为它具有可重复性, 三维重建展示了样本间比较的连续性, 对于骨形态学, 尤其是为松质骨及皮质骨骨微结构的分析能提供精确完善的数据<sup>[23]</sup>。显微 CT 首次用于骨形态定量分析是在 1988 年, Layton 等<sup>[24]</sup>对骨关节炎的豚鼠模型进行软骨下骨的变化检测。此后, 显微 CT 被广泛用于骨量和骨形态学的各项研究, 包括骨骼生长发育的分析, 骨质疏松、肾性骨病等病理状态动物模型的分析, 以及包括三维血管重建下的骨折愈合分析, 关节软骨形态分析等<sup>[25-27]</sup>。

实验结果发现, 与对照组相比, 糖尿病组下颌骨松质骨及皮质骨的骨矿密度均显著下降, 提示糖尿病组颌骨的强度受到了影响。骨组织矿化的差异与骨质量减少, 骨骼强度下降有关。随着年龄增加以及一些骨吸收抑制剂的治疗会导致骨矿化增加。适当的骨骼矿化在某种程度上是有益的<sup>[28]</sup>, 而在糖尿病等一些全身系统疾病的影响下, 不仅全身性骨骼的矿化发生了影响, 下颌骨等颌面骨骼的强度也发生改变。

Abbassy 和 Watari 等<sup>[29]</sup>研究证实严重、未经控制的糖尿病通过抑制骨矿化、吸收及改建对骨骼结构有直接影响, 并导致颌面骨发育延迟。此后, 他们进一步研究发现在糖尿病大鼠的下颌牙槽骨, 骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁数量均明显减少, 此外, 骨小梁间距增加, 下颌骨的骨“质”受到了破坏, 提示尤其在下颌骨, 血糖水平对骨小梁结构有重要的调控作用。

实验针对糖尿病小鼠下颌骨松质骨及皮质骨进行了骨微结构分析, 结果表明, 糖尿病组小鼠松质骨与皮质骨在骨微结构及病理学表现上存在显著差异: 糖尿病小鼠下颌骨后牙区感兴趣区域内松质骨骨密度、骨体积分数、骨小梁数量及骨小梁厚度均显著性减少, 结构模型指数增大提示骨小梁从正常的板状结构向杆状结构发生了破坏性转变。前牙区感兴趣区域内皮质骨仅见皮质骨骨密度、皮质骨总面积显著减少, 较皮质骨而言,

松质骨骨微结构发生了更明显改变。提示由于松质骨较皮质骨含有较多的骨连蛋白和更少的骨钙素, 当内环境改变时, 松质骨和皮质骨以不同的代谢调节机制发生骨结构及代谢的改变。

虽然多项研究表明了糖尿病对骨量的影响, 但其具体机制尚不清楚, 对下颌骨骨量影响的机制也未见报道。首先, Ogawa 等<sup>[30]</sup>和 Okazaki 等<sup>[31]</sup>学者研究发现由于晚期糖基化终末产物的增加, 减少了成骨细胞特异性转录因子 Osterix 的表达, 从而抑制了成骨细胞矿化, 成骨细胞骨形成减少, 这可能是糖尿病导致骨量减少的机制之一。

此外, 当晚期糖基化终末产物与位于血管内皮细胞、单核吞噬细胞和成纤维细胞的联结位点结合后, 产生细胞高渗状态, 从而引起一系列炎症应答来干预下颌骨牙周破坏的进程<sup>[32]</sup>。

Coe 等<sup>[33]</sup>研究发现股骨长度的减少, 生长板厚度以及 II 型胶原表达的减少均提示糖尿病状态下软骨的形成受损, 影响了骨形成过程。其次, 骨改建通过有活性的成骨细胞以及破骨细胞来维持血钙水平, 从而保持骨骼强度, 这一过程受内源性通路调控<sup>[34]</sup>。一方面, 成骨细胞活性降低。在严重的糖尿病大鼠模型, 可以观察到有活性的成骨细胞转化为骨表面低活性的骨衬细胞, 前成骨细胞增殖能力降低。Botolin 等<sup>[35]</sup>对糖尿病小鼠胫骨成骨细胞及骨形成标志物的研究显示, 在糖尿病组, 骨钙素 mRNA, 血清骨钙素水平以及矿物质沉积速率减少, 提示糖尿病状态可能影响成骨细胞数量及成熟, 从而减少包括颌骨在内的骨形成。另一方面, 破骨细胞的活性并没有增加。大多数有关 1 型糖尿病动物模型研究显示, 破骨细胞的活性没有显著改变或者减少, 常用的检测方法有组织学检查(破骨细胞数目等): 如抗酒石酸酸性磷酸酶染色<sup>[36-38]</sup>, 以及尿液骨基质崩解产物(如脱氧吡啶啉)的检测。

Phan 等<sup>[39]</sup>学者认为破骨细胞活性的减少, 可能继发于成骨细胞成熟的减少, 以及破骨细胞信号通路的减少, 因此糖尿病的骨丧失并不是由于破骨细胞活性增加而引起的, 是继发于成骨细胞活性的降低。Verhaeghe 等<sup>[40]</sup>检测到糖尿病大鼠血浆骨钙素水平降低, 尿脱氧吡啶啉排泄显著降低, 尿脱氧吡啶啉是反映骨吸收活动的客观指标, 由于骨吸收与骨形成均受到影响, 因此骨丧失可能不明显。

综上所述, 链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠下颌骨骨松质和骨皮质的骨微结构均发生了改变, 但是糖尿病引起下颌骨骨结构改变的具体机制还有待进一步研究。

**致谢:**感谢上海市伤骨科研究所同仁和上海市内分泌代谢病研究所石国军博士对糖尿病小鼠模型的建立提供的帮助。

**基金资助:**上海市科委医学引导项目(114119a3500)。

**作者贡献:** 张钧和高益鸣进行实验设计, 实验实施为江莉婷、王晋申、周琦, 实验评估为张钧, 资料收集为江莉婷, 张钧、江莉婷成文, 高益鸣审校, 张钧对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

**学术术语:** 链脲佐菌素是一种氨基葡萄糖-亚硝基脲, 是一种 DNA 烷基化试剂, 能通过葡萄糖转运蛋白 2 独自进入细胞。对胰腺胰岛胰岛素诱发的  $\beta$ -细胞具毒性。链脲佐菌素对葡萄糖转运蛋白 2 阳性神经内分泌肿瘤细胞有毒性作用。链脲佐菌素对一定种属动物的胰岛  $\beta$  细胞有选择性破坏作用, 能诱发许多动物产生糖尿病, 一般采用大鼠和小鼠制造动物模型。国外有学者报道选用雄性大鼠制造模型的成模率明显高于雌性大鼠。

1 型糖尿病与 2 型糖尿病动物模型的制备与链脲佐菌素注射的给药方式有关, 采用小剂量分次给药的方法, 则建立与人类 I 型糖尿病表现相似的大鼠模型; 如采用较大剂量一次性注射的给药方法, 则建立与人类 2 型糖尿病表现相似的大鼠模型, 其原理可能与胰岛的损伤程度有关。

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

#### 4 参考文献

- [1] Motyl K, McCabe LR. Streptozotocin, type I diabetes severity and bone. Biol Proced Online. 2009;11:296-315.
- [2] Motyl KJ, Botolin S, Irwin R, et al. Bone inflammation and altered gene expression with type I diabetes early onset. J Cell Physiol. 2009;218(3):575-583.
- [3] Shyng YC, Devlin H, Sloan P. The effect of streptozotocin-induced experimental diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat. Int J Oral Maxillofac Surg. 2001;30(1):70-74.
- [4] Pepelassi E, Xynogala I, Perrea D, et al. Histometric assessment of the effect of diabetes mellitus on experimentally induced periodontitis in rats. J Int Acad Periodontol. 2012;14(2):35-41.
- [5] Gomes DA, Spolidorio DM, Pepato MT, et al. Effect of induced diabetes mellitus on alveolar bone loss after 30 days of ligature-induced periodontal disease. J Int Acad Periodontol. 2009;11(2):188-192.
- [6] Okamoto M, Sato T, Shirai H, et al. A histomorphometric analysis on bone dynamics in denture supporting tissue under continuous pressure in streptozotocin-induced diabetic rat. J Oral Rehabil. 2001;28(6):553-559.
- [7] Zou C, Wang J, Wang S, et al. Characterizing the induction of diabetes in juvenile cynomolgus monkeys with different doses of streptozotocin. Sci China Life Sci. 2012;55(3):210-218.
- [8] Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, et al. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. In Vivo. 2009;23(2):245-258.
- [9] Giglio MJ, Lama MA. Effect of experimental diabetes on mandible growth in rats. Eur J Oral Sci. 2001;109(3):193-197.
- [10] Duarte VM, Ramos AM, Rezende LA, et al. Osteopenia: a bone disorder associated with diabetes mellitus. J Bone Miner Metab. 2005;23(1):58-68.
- [11] Thrailkill KM, Liu L, Wahl EC, et al. Bone formation is impaired in a model of type 1 diabetes. Diabetes. 2005;54(10):2875-2881.
- [12] Bellenger J, Bellenger S, Bataille A, et al. High pancreatic n-3 fatty acids prevent STZ-induced diabetes in fat-1 mice: inflammatory pathway inhibition. Diabetes. 2011;60(4):1090-1099.
- [13] Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, et al. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. J Bone Miner Res. 2010;25(7):1468-1486.
- [14] Singh M, Detamore MS. Biomechanical properties of the mandibular condylar cartilage and their relevance to the TMJ disc. J Biomech. 2009;42(4):405-417.
- [15] Kuroda S, Tanimoto K, Izawa T, et al. Biomechanical and biochemical characteristics of the mandibular condylar cartilage. Osteoarthritis Cartilage. 2009;17(11):1408-1815.
- [16] Leidig-Bruckner G, Ziegler R. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2001;109 Suppl 2:S493-514.
- [17] Hamann C, Kirschner S, Günther KP, et al. Bone, sweet bone--osteoporotic fractures in diabetes mellitus. Nat Rev Endocrinol. 2012;8(5):297-305.
- [18] Unnanuntana A, Rebolledo BJ, Khair MM, et al. Diseases affecting bone quality: beyond osteoporosis. Clin Orthop Relat Res. 2011;469(8):2194-206.
- [19] DiGirolamo DJ, Clemens TL, Kousteni S. The skeleton as an endocrine organ. Nat Rev Rheumatol. 2012;8(11):674-683.
- [20] Mishima N, Sahara N, Shirakawa M, et al. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat. Arch Oral Biol. 2002;47(12):843-849.
- [21] Kunii R, Yamaguchi M, Aoki Y, et al. Effects of experimental occlusal hypofunction, and its recovery, on mandibular bone mineral density in rats. Eur J Orthod. 2008;30(1):52-56.
- [22] Shimomoto Y, Chung CJ, Iwasaki-Hayashi Y, et al. Effects of

- occlusal stimuli on alveolar/jaw bone formation. *J Dent Res.* 2007;86(1):47-51.
- [23] Verdelis K, Lukashova L, Atti E, et al. MicroCT morphometry analysis of mouse cancellous bone: intra- and inter-system reproducibility. *Bone.* 2011;49(3):580-587.
- [24] Layton MW, Goldstein SA, Goulet RW, et al. Examination of subchondral bone architecture in experimental osteoarthritis by microscopic computed axial tomography. *Arthritis Rheum.* 1988;31(11):1400-1405.
- [25] Nishiyama KK, Campbell GM, Klinck RJ, et al. Reproducibility of bone micro-architecture measurements in rodents by in vivo micro-computed tomography is maximized with three-dimensional image registration. *Bone.* 2010;46(1):155-161.
- [26] Jiang Y, Zhao J, Liao EY, et al. Application of micro-CT assessment of 3-D bone microstructure in preclinical and clinical studies. *J Bone Miner Metab.* 2005;23 Suppl:122-131.
- [27] Umoh JU, Sampaio AV, Welch I, et al. In vivo micro-CT analysis of bone remodeling in a rat calvarial defect model. *Phys Med Biol.* 2009;54(7):2147-2161.
- [28] Benhamou CL. Effects of osteoporosis medications on bone quality. *Joint Bone Spine.* 2007;74(1):39-47.
- [29] Abbassy MA, Watari I, Soma K. Effect of experimental diabetes on craniofacial growth in rats. *Arch Oral Biol.* 2008;53(9):819-825.
- [30] Ogawa N, Yamaguchi T, Yano S, et al. The combination of high glucose and advanced glycation end-products (AGEs) inhibits the mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells through glucose-induced increase in the receptor for AGEs. *Horm Metab Res.* 2007;39(12):871-875.
- [31] Okazaki K, Yamaguchi T, Tanaka K, et al. Advanced glycation end products (AGEs), but not high glucose, inhibit the osteoblastic differentiation of mouse stromal ST2 cells through the suppression of osterix expression, and inhibit cell growth and increasing cell apoptosis. *Calcif Tissue Int.* 2012;91(4):286-296.
- [32] Holzhausen M, Garcia DF, Pepato MT, et al. The influence of short-term diabetes mellitus and insulin therapy on alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res.* 2004;39(3):188-193.
- [33] Coe LM, Zhang J, McCabe LR. Both spontaneous *Ins2(+/-)* and streptozotocin-induced type I diabetes cause bone loss in young mice. *J Cell Physiol.* 2013;228(4):689-695.
- [34] McCabe LR. Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss. *J Cell Biochem.* 2007;102(6):1343-1357.
- [35] Botolin S, McCabe LR. Bone loss and increased bone adiposity in spontaneous and pharmacologically induced diabetic mice. *Endocrinology.* 2007;148(1):198-205.
- [36] Abbassy MA, Watari I, Soma K. The effect of diabetes mellitus on rat mandibular bone formation and microarchitecture. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(4):364-369.
- [37] Gradin P, Hollberg K, Cassidy AI, et al. Transgenic overexpression of tartrate-resistant acid phosphatase is associated with induction of osteoblast gene expression and increased cortical bone mineral content and density. *Cells Tissues Organs.* 2012;196(1):68-81.
- [38] Sheng MH, Wergedal JE, Mohan S, et al. Targeted overexpression of osteoactivin in cells of osteoclastic lineage promotes osteoclastic resorption and bone loss in mice. *PLoS One.* 2012;7(4):e35280.
- [39] Phan TC, Xu J, Zheng MH. Interaction between osteoblast and osteoclast: impact in bone disease. *Histol Histopathol.* 2004;19(4):1325-1344.
- [40] Verhaeghe J, Thomsen JS, van Bree R, et al. Effects of exercise and disuse on bone remodeling, bone mass, and biomechanical competence in spontaneously diabetic female rats. *Bone.* 2000;27(2):249-256.