

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.50.009 [http://www.crter.org]
钱雅婧, 聂晶, 潘旭, 胡明华, 米丛波. 正畸力作用下大鼠牙周组织白细胞介素6 mRNA的表达[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(50):8672-8677.

正畸力作用下大鼠牙周组织白细胞介素6 mRNA的表达**

钱雅婧¹, 聂晶¹, 潘旭², 胡明华², 米丛波¹ (¹新疆医科大学第一附属医院正畸科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054; ²新疆医科大学口腔医学院正畸教研室, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054)

文章亮点:

在国内外学者实验研究的基础上, 实验通过建立大鼠正畸牙移动模型并应用原位杂交技术, 监测在 0.49 N 正畸力后 1, 3, 5, 7, 10, 14 d 白细胞介素 6 mRNA 在各组大鼠牙周组织内的表达情况, 并在基因水平上探讨白细胞介素 6 在正畸牙移动牙周及骨改建中的作用, 为正畸牙移动的生物学研究提供基础。

关键词:

组织构建; 口腔组织构建; 正畸牙移动; 白细胞介素 6; 原位杂交; SD 大鼠; 破骨细胞; 省级基金

主题词:

牙正畸牵引; 牙周组织; 白细胞介素 6; 破骨细胞; 牙槽骨质丢失

基金资助:

新疆维吾尔自治区高等学校科研计划青年教师科研培育基金项目(XJEDU2010S23)*

摘要

背景: 白细胞介素 6 作为一种重要的细胞因子, 在炎症部位调节了免疫反应并可通过自分泌和旁分泌的方式刺激破骨细胞的形成和骨吸收, 与正畸牙移动骨改建相关。

目的: 观察正畸力对大鼠牙周组织中白细胞介素 6 mRNA 表达的影响。

方法: 建立大鼠正畸牙移动模型并运用原位杂交法观测加力后 1, 3, 5, 7, 10, 14 d 白细胞介素 6 mRNA 在各组大鼠牙周组织内的表达情况。

结果与结论: 正常大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 呈弱阳性表达; 加力组大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 的表达在加力后 3 d 达到高峰, 之后开始下降。实验提示正畸力虽可引起局部牙周组织白细胞介素 6 mRNA 的表达增强, 但具有一定的自限性。白细胞介素 6 作为多功能细胞因子, 在正畸牙移动牙周改建中起重要作用。

钱雅婧★, 女, 1980年生, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人, 汉族, 2008年新疆医科大学毕业, 硕士, 主要从事错颌畸形防治的研究。

yajingqian@126.com

通讯作者: 米丛波, 主任医师, 硕士生导师, 新疆医科大学第一附属医院正畸科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
mi670105@sina.com

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344
(2013)50-08672-06

修回日期: 2013-11-12
(201310113/D - W)

Orthodontic force effects on the expression of periodontal interleukin-6 mRNA in rats

Qian Ya-jing¹, Nie Jing¹, Pan Xu², Hu Ming-hua², Mi Cong-bo¹ (¹Orthodontic Department, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ²Orthodontic Department, Xinjiang Medical University School of Stomatology, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

Abstract

BACKGROUND: As an important cytokine, interleukin-6 regulates immune responses in inflammation sites and has an autocrine/paracrine activity that stimulates osteoclast formation and bone resorption, which is related to bone remodeling during orthodontic tooth movement.

OBJECTIVE: To investigate the effects of orthodontic force on the expression of interleukin-6 mRNA in the periodontal tissue of rats.

METHODS: *In situ* hybridization was performed to measure the expression of interleukin-6 mRNA at 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after the application of orthodontic force on the maxillary first molars of rats.

RESULTS AND CONCLUSION: The expression of interleukin-6 mRNA was observed at a low level in the normal periodontal tissue of rats. After the application of force, the induction of interleukin-6 mRNA was observed to reach a maximum on day 3 and to decline thereafter. The expression of interleukin-6 mRNA can be evoked by orthodontic force but with a certain self-limiting. As a multifunctional cytokine, interleukin-6 plays a very important role in periodontal remodeling during orthodontic tooth movement.

Subject headings: orthodontic extrusion; periodontium; interleukin-6; osteoclasts; alveolar bone loss

Funding: Scientific Research Program of the Higher Education Institution of Xinjiang, No. XJEDU2010S23*

Qian YJ, Nie J, Pan X, Hu MH, Mi CB. Orthodontic force effects on the expression of periodontal interleukin-6 mRNA in rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(50):8672-8677.

Qian Ya-jing★, Master, Orthodontic Department, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
yajingqian@126.com

Corresponding author: Mi Cong-bo, Chief physician, Master's supervisor, Orthodontic Department, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
mi670105@sina.com

Accepted: 2013-11-12

0 引言 Introduction

正畸力诱导的牙周纤维韧带与骨改建是正畸牙移动的基础。正畸牙移动的早期以牙周血管的扩张和血管内白细胞的游走迁移为特征, 并激发靶细胞合成和分泌各种物质, 如前列腺素、生长因子、集落刺激因子和细胞因子等; 而在正畸加力后期则以成纤维细胞、内皮细胞、成骨细胞、牙槽骨髓细胞等的增殖为主^[1]。尽管不同学者对正畸牙移动的实质是一个炎性反应过程仍持有不同观点, 然而上世纪关于结缔组织的重要研究发现, 细胞因子除了调节宿主针对外源性抗原的免疫反应外, 也可由结缔组织细胞, 如成纤维细胞和成骨细胞产生, 参与了正常生理过程和骨改建^[2]。

白细胞介素6作为一种重要的多功能炎性细胞因子, 与牙周改建和骨代谢相关。而在正畸牙移动牙周组织改建过程中, 白细胞介素6是如何参与其中的呢? 因此, 实验拟通过监测白细胞介素6 mRNA在各组大鼠牙周组织中表达水平的变化, 在基因水平上探讨白细胞介素6在正畸牙移动牙周及骨改建中的作用, 为正畸牙移动的生物学研究提供基础。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 完全随机化对照动物实验。

时间及地点: 于2011年7月在新疆医科大学第一附属医院实验动物中心完成。

材料:

实验动物: 健康清洁级雄性10周龄SD大鼠35只, 体重(200±20) g, 由新疆医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(新)2003-0001。实验过程中对动物的处置符合医学伦理学标准。

方法:

实验分组: 将35只SD大鼠随机分为空白对照组($n=5$)和加力组($n=30$), 加力组内按加力时间点的不同, 加力后再随机分1, 3, 5, 7, 10, 14 d组, 每组5只大鼠, 分笼饲养, 适应性喂养1周后开始实验。

大鼠正畸牙移动模型的建立: 采用盐酸氯胺酮100 mg/kg, 安定5 mg, 阿托品0.5 mg混合稀释至10 mL, 按照7.5 mL/kg的剂量, 经腹腔注射麻醉加力组大鼠。各加力组大鼠以上颌切牙为支抗, 使用0.010英寸上海埃蒙迪正畸用镍钛拉簧(力值约0.49 N)拉左侧上颌第一磨牙近中向移动, 建立大鼠正畸牙移动动物模型。每天查看加力装置1次, 发现脱落即刻重新安置。空白对照组大鼠不放置任何加力装置。

标本制备: 全麻下分别在预定时间点以加入0.1% DEPC的40 g/L多聚甲醛经心内灌注处死各组大鼠, 处

置方式符合动物伦理学标准。取实验侧3颗磨牙及周围牙周组织, 40 g/L多聚甲醛(含0.1%DEPC)继续固定24 h后, 置于0.5 mol/L的EDTA中脱钙6周, 梯度乙醇脱水, 石蜡包埋, 沿上颌骨矢状向切片, 片厚5 μm, 裱于多聚赖氨酸玻片上, 分别作苏木精-伊红染色及原位杂交检测。

原位杂交检测白细胞介素6 mRNA: 实验选用特异性编码大鼠白细胞介素6基因的多相寡核苷酸探针及原位杂交试剂盒(武汉博士德生物公司制备)。石蜡切片常规脱蜡至水, 体积分数3%过氧化氢避光浸泡10 min, 蒸馏水冲洗3次, 37 °C胃蛋白酶消化, 原位杂交用PBS洗3次, 蒸馏水洗1次, 后固定, 恒温箱38 °C预杂交2 h, 盖原位杂交专用盖玻片杂交过夜。次日揭除盖玻片, 分别以2*SSC、0.5*SSC和0.2*SSC洗涤, 依次滴加封闭液, 生物素化鼠抗地高辛, SABC及生物素化过氧化物酶, DAB显色, 苏木精复染, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 封固。实验以不加探针为阴性对照, 采用Motic BA400自动显微镜, 观察各组第一磨牙牙周组织内白细胞介素6 mRNA的表达情况并采集图像。

主要观察指标: 观察白细胞介素6 mRNA在各组大鼠牙周组织中的表达, 并使用Image-Pro Plus 5.0分析软件对棕黄色阳性信号的吸光度值进行半定量分析。

统计学分析: 采用SPSS 13.0软件对数据进行成组设计两样本均数比较 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验共35只大鼠均纳入结果分析, 实验过程中无脱失, 纳入大鼠均进入结果分析。

2.2 白细胞介素6 mRNA在各组大鼠牙周组织内的表达分布 正常大鼠牙周组织中白细胞介素6 mRNA呈弱阳性表达, 主要位于牙周膜成纤维细胞胞浆中, 骨组织及其他细胞未见明显阳性表达, 见图1。

加力后1 d, 张力侧牙周膜受牵拉, 牙周间隙增宽并可见血管扩张; 压力侧牙周膜受压, 牙周间隙缩窄。白细胞介素6 mRNA在牙周膜成纤维细胞内的表达明显增强, 血管内皮细胞亦可见白细胞介素6 mRNA的表达。见图2。

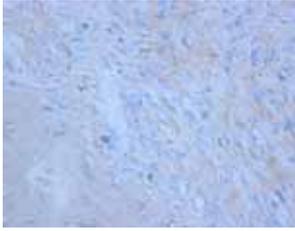
加力3 d后破骨细胞明显增多, 牙槽骨表面可见骨吸收陷窝, 骨改建活跃。牙周膜成纤维细胞及成骨、破骨细胞中均可见白细胞介素6 mRNA的强阳性表达。见图3。

加力5 d后, 白细胞介素6 mRNA表达逐渐减弱, 但在成骨、破骨细胞中仍可见阳性表达。见图4。

加力7 d后, 白细胞介素6 mRNA在牙周膜成纤维细胞及成骨、破骨细胞的表达继续减弱。

加力10 d后, 白细胞介素6 mRNA表达基本恢复至正常水平。见图5。加力后14 d, 骨改建基本完成, 白

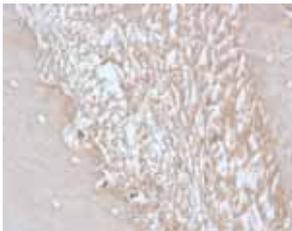
细胞介素6 mRNA仅在牙周膜成纤维细胞中呈弱阳性表达。见图6。



注：牙周组织中白细胞介素 6 mRNA 呈弱阳性表达，骨组织及其他细胞未见明显阳性表达。

图 1 正常大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 的表达(原位杂交, ×400)

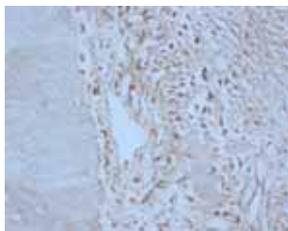
Figure 1 Expression of interleukin-6 mRNA in the normal periodontal tissue of rats (*In situ* hybridization, ×400)



注：白细胞介素 6 mRNA 在牙周膜成纤维细胞内的表达明显增强，并在早期幼稚的破骨细胞内也可见表达。

图 2 给予 0.49 N 正畸拉力后 1 d 时大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 的表达(原位杂交, ×400)

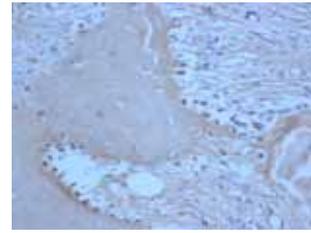
Figure 2 Expression of interleukin-6 mRNA in the periodontal tissue of rats at 1 d under 0.49 N orthodontic force (*In situ* hybridization, ×400)



注：牙周膜成纤维细胞及成骨、破骨细胞中均可见白细胞介素 6 mRNA 的强阳性表达。

图 3 给予 0.49 N 正畸拉力后 3 d 时大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 的表达(原位杂交, ×400)

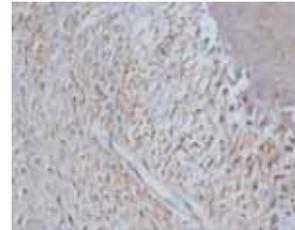
Figure 3 Expression of interleukin-6 mRNA in the periodontal tissue of rats at 3 d under 0.49 N orthodontic force (*In situ* hybridization, ×400)



注：白细胞介素 6 mRNA 表达逐渐减弱，但在成骨、破骨细胞中仍可见阳性表达。

图 4 给予 0.49 N 正畸拉力后 5 d 时大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 的表达(原位杂交, ×400)

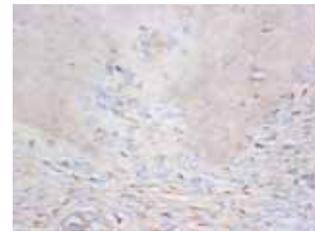
Figure 4 Expression of interleukin-6 mRNA in the periodontal tissue of rats at 5 d under 0.49 N orthodontic force (*In situ* hybridization, ×400)



注：白细胞介素 6 mRNA 表达基本恢复至正常水平。

图 5 给予 0.49 N 正畸拉力后 10 d 时大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 的表达(原位杂交, ×400)

Figure 5 Expression of interleukin-6 mRNA in the periodontal tissue of rats at 10 d under 0.49 N orthodontic force (*In situ* hybridization, ×400)



注：白细胞介素 6 mRNA 仅在牙周膜成纤维细胞中呈弱阳性表达。

图 6 给予 0.49 N 正畸拉力后 14 d 时大鼠牙周组织内白细胞介素 6 mRNA 的表达(原位杂交, ×400)

Figure 6 Expression of interleukin-6 mRNA in the periodontal tissue of rats at 14 d under 0.49 N orthodontic force (*In situ* hybridization, ×400)

2.3 白细胞介素6 mRNA在牙周组织中表达的半定量分析 通过对白细胞介素6 mRNA表达平均吸光度值的半定量分析可见：在正畸加力后1, 3 d, 白细胞介素6

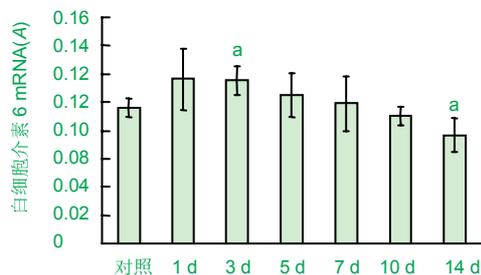
mRNA的表达明显增强,其中加力后3 d其表达量的增强具有显著性意义,加力后1 d表达量的变化虽无显著差异,但仍可见明显的增加。随着加力时间的延长,白细胞介素6 mRNA表达逐渐减少并恢复至正常水平。见表1及图7。

表1 不同加力时间大鼠牙周组织中白细胞介素6 mRNA 的表达

Table 1 Expression of interleukin-6 mRNA in rat's periodontal tissue at different time ($\bar{x}\pm s$)

组别	平均吸光度值
对照组	0.095 9±0.006 5
加力后 1 d	0.116 3±0.021 7
加力后 3 d	0.115 4±0.010 5 ^a
加力后 5 d	0.105 0±0.015 9
加力后 7 d	0.098 9±0.019 1
加力后 10 d	0.090 5±0.006 7
加力后 14 d	0.076 6±0.011 7 ^a

与其他时间比较, ^a $P < 0.05$ 。



与其他时间比较, ^a $P < 0.05$ 。

注:在正畸加力后1, 3 d, 白细胞介素6 mRNA 的表达明显增强,其中加力后3 d 其表达量的增强具有显著性意义,随着加力时间的延长,白细胞介素6 mRNA 表达逐渐减少并恢复至正常水平。

图7 不同加力时间大鼠牙周组织中白细胞介素6 mRNA 表达的平均吸光度值

Figure 7 Optical density of interleukin-6 mRNA in the periodontal tissue at different time

3 讨论 Discussion

正畸力所致的牙齿移动与的牛顿力学不同,其本质是一个生物学过程^[3]。在正畸力的作用下,一系列的细胞和分子事件如信号的产生和转导、细胞骨架重组、基因表达、分化、增殖、特定产物的分泌合成及细胞的凋亡引起了矿化和非矿化牙周组织包括相关血管和神经元的改建。而牙周膜受牵拉后血管分布及血流量的改变

导致了各种关键分子的合成和释放,如神经递质,细胞因子,生长因子,集落刺激因子及花生四烯酸的代谢产物等。这些分子引起了局部无菌性炎症反应的发生,并激发了牙髓及牙周细胞的反应,以形成一个适于组织沉积或吸收的微环境,最终使牙周组织改建,牙齿移动。故有学者认为这种力学反应和炎症反应在正畸牙移动中至关重要^[4-6]。多种炎症性细胞因子,包括促炎因子,如转化生长因子,白细胞介素1, 2, 6, 8等和抗炎因子如白细胞介素4, 10, 13等均参与了正畸牙周组织的改建^[7-11]。

白细胞介素6作为一种重要的多功能促炎细胞因子,可由成纤维细胞、上皮细胞、单核巨噬细胞、成骨细胞、血管内皮细胞、免疫活性细胞等合成,并通过自分泌和旁分泌的方式,参与牙槽骨的吸收和形成,调节牙周组织的改建^[12]。白细胞介素6的生成可受多种因素的调节,如细胞因子类的白细胞介素1、转化生长因子、干扰素等均促进其生成;而丝裂原类物质,如脂多糖、植物血凝素、肿瘤多肽抗原、某些病毒、细菌等,可诱导白细胞介素6基因活化产生白细胞介素6;与信使系统活化有关的物质,如钙离子载体和双丁酰cAMP等,亦可刺激成纤维细胞产生白细胞介素6^[13]。

正常牙周组织中含有微量的白细胞介素6,其具有一定的保护作用^[14]。Balto等^[15]发现,在根尖周炎的小鼠模型中,白细胞介素6基因敲除后的小鼠(白细胞介素6-/-)的炎性牙槽骨吸收程度比野生型小鼠(白细胞介素6+/+)高30%,而且与后者相比,白细胞介素6-/-小鼠的破骨细胞数目及骨吸收细胞因子白细胞介素1的表达水平平均增加,且抗炎因子白细胞介素10表达减少,这说明作为多效应细胞因子的白细胞介素6不但具有促炎作用还有一定的抗炎作用。而在牙周病的发生发展中,白细胞介素6不但能促进炎症细胞的聚集、活化及炎症递质的释放,抑制牙周膜细胞的生长,降低成纤维细胞的附着力,并可作用于成骨细胞表面的受体促进成骨细胞分化产生RANKL,并通过OPG/RANKL/RANK信号通路调节破骨细胞前体的集中、增殖、分化及破骨细胞的形成和活化,促进骨吸收;而活化的破骨细胞又能分泌白细胞介素6、白细胞介素1 β 和肿瘤坏死因子,促进更多的破骨细胞形成。故在牙周病学中,有学者认为白细胞介素6的表达与牙周炎的严重程度正相关,并以白细胞介素6的表达水平作为牙周组织破坏程度的指标^[16]。在咬合力创伤和正畸牙根吸收的实验中也有学者报道白细胞介素6蛋白及mRNA表达的明显增加^[17-19]。

白细胞介素6作为牙周组织改建中重要的调节因子,不仅对牙周膜本身的维持、改建起作用,而且对周围牙槽骨的改建也起着重要的作用。那么,在正畸牙移动牙周组织改建过程中,白细胞介素6的表达又是如何变化的呢?为此,国内外不少学者检测了正畸牙移动过

程中人龈沟液中白细胞介素6的表达, 结果显示, 受力24 h后龈沟液中白细胞介素6的表达有所增加, 受力21 d后基本恢复至基线水平, 但由于检测时间点及力值的差异其表达峰值并不一致^[7, 20-26]。而MacLaine等^[27]学者使用ELISA法检测了正畸患者在正畸治疗2, 4, 6个月加力1周后外周血中C-反应蛋白, 肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素6的表达水平, 结果均未检测到这些炎症因子在外周血中表达的明显升高, 从而消除了人们对正畸可引起全身性免疫反应的担忧, 认为正畸治疗具有免疫安全性。Koyama等^[28]学者对体外培养的成骨细胞加力后, 观察到加力24 h后白细胞介素6及受体在蛋白及基因水平上的表达均明显增加, 但该实验最长的观测时间仅为加力后24 h。

基于此, 作者这次实验通过建立大鼠正畸牙移动模型及原位杂交实验, 在基因水平上观察加力后一个相对完整的牙周改建周期内白细胞介素6 mRNA的表达情况。结果显示, 正畸加力后在牙周膜成纤维细胞及成骨、破骨细胞内均可见白细胞介素6 mRNA的表达, 加力后1 d和3 d, 白细胞介素6 mRNA的表达明显增强, 但随着加力时间的延长而逐渐降低, 至加力后14 d其表达量明显低于正常对照组。统计分析结果显示, 加力后3 d和14 d大鼠牙周组织内白细胞介素6 mRNA的表达与正常对照组相比具有显著性差异。实验中白细胞介素6 mRNA的表达峰值与Alhashimi学者的研究结果一致, 为加力后3 d^[10]; 而在加力后14 d 白细胞介素6 mRNA表达的明显下降则可能与牙周组织中存在一定的负反馈调控相关。在先前的研究中, 本课题组也观察了白细胞介素6在蛋白水平上随加力时间的变化并对其进行了定性描述, 结果显示加力3 d后白细胞介素6在大鼠牙周组织中的表达明显增强, 之后逐渐下降, 其变化趋势与白细胞介素6 mRNA的变化相似^[29]。

白细胞介素6 mRNA在牙周组织内的表达证明, 白细胞介素6作为多功能细胞因子参与了正畸牙移动的牙周改建, 且其表达量与加力时间相关, 由于机体自身存在着一定的负反馈调控, 在正畸牙移动中白细胞介素6不会过度表达而至牙周组织的明显破坏。Chae等学者运用抗氧化剂通过抑制促炎细胞因子白细胞介素1 β , 白细胞介素6, 白细胞介素8, 肿瘤坏死因子 α 的作用, 并没有加速大鼠正畸牙的移动速度, 反而减缓了这一过程^[30]。可见, 正畸牙移动离不开白细胞介素6等细胞因子调控下的这一“炎症”反应过程, 但其调控机制还有待于进一步深入地研究。参与正畸牙移动的细胞因子数目繁多, 其生物功能又具重叠性和多效性, 只有通过大量连续而系统的研究才能真正阐明正畸牙移动的网络调控及生物学改建机制。

作者贡献: 第一作者和通讯作者进行实验设计, 第一、三、

四作者参与实验实施, 第二作者进行实验评估, 第一作者收集资料、成文并对文章负责。

利益冲突: 本文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中华人民共和国科学技术部 2006-09-30 颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

学术术语: 正畸力-所致的牙齿移动与的牛顿力学不同, 其本质是一个生物学过程, 在正畸力的作用下, 一系列的细胞和分子事件如信号的产生和转导、细胞骨架重组、基因表达、分化、增殖、特定产物的合成和分泌与细胞的凋亡, 引起了矿化和非矿化牙周组织包括相关血管和神经元的改建。而牙周膜受牵拉后血管分布及血流量的改变导致了各种关键分子的合成和释放, 如神经递质、细胞因子、生长因子、集落刺激因子及花生四烯酸的代谢产物等。

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 References

- [1] Di Domenico M, D'apuzzo F, Feola A, et al. Cytokines and VEGF induction in orthodontic movement in animal models. J Biomed Biotechnol. 2012;2012:201689.
- [2] Meikle MC. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. Eur J Orthod. 2006;28(3):221-240.
- [3] Masella RS, Chung P. Thinking Beyond the Wire: Emerging Biologic Relationships in Orthodontics and Periodontology. Seminars in Orthodontics. 2008;14(4):290-304.
- [4] Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006;129(4):461-469.
- [5] Krishnan V, Davidovitch Z. On a path to unfolding the biological mechanisms of orthodontic tooth movement. J Dent Res. 2009;88(7):597-608.
- [6] Meeran NA. Cellular response within the periodontal ligament on application of orthodontic forces. J Indian Soc Periodontol. 2013;17(1):16-20.
- [7] Basaran G, Ozer T, Kaya FA, et al. Interleukins 2, 6, and 8 levels in human gingival sulcus during orthodontic treatment. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006;130(1):1-7.
- [8] Yang JH, Li ZC, Kong WD, et al. Effect of orthodontic force on inflammatory periodontal tissue remodeling and expression of IL-6 and IL-8 in rats[J]. Asian Pac J Trop Med. 2013;6(10):757-761.
- [9] 潘旭, 米从波, 刘红, 等. 正畸牙移动过程中牙周组织白细胞介素8的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011(20):3737-3740.
- [10] Alhashimi N, Frithiof L, Brudvik P, et al. Orthodontic tooth movement and de novo synthesis of proinflammatory cytokines. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2001;119(3):307-312.

- [11] d'Apuzzo F, Cappabianca S, Ciavarella D, et al. Biomarkers of periodontal tissue remodeling during orthodontic tooth movement in mice and men: overview and clinical relevance. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:105873.
- [12] 章捍东,刘洪臣. 白细胞介素-6与牙周组织的改建[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志,2005,15(6):354-357.
- [13] 蒲玉梅,高静,吴文蕾,等. IL-6在牙周炎中的作用及其调控因素[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2005,15(3):176-180.
- [14] Okada H,Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(3): 248-266.
- [15] Balto K, Sasaki H, Stashenko P. Interleukin-6 deficiency increases inflammatory bone destruction. *Infect Immun*. 2001;69(2):744-750.
- [16] Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis?. *J Clin Periodontol*. 2011;38 Suppl 11:60-84.
- [17] 韩光丽,贺红,华先明,等. 大鼠牙移动性根吸收组织内组织蛋白酶K及白细胞介素6mRNA的表达[J].中华口腔医学杂志,2004, 39(4):59-62.
- [18] 袁林,赵云凤,周伟东. IL-6表达蛋白与mRNA转录在咬合力影响大鼠牙周组织改建中的变化及意义[J].中华口腔医学杂志,2002, 37(1):54-57.
- [19] 袁林,赵云凤,周伟东. 咬合力丧失影响大鼠牙周组织白细胞介素-6变化的研究[J]. 华西口腔医学杂志,2000,28(6):367-368.
- [20] Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Interleukin (IL)-1 beta, IL-6, tumor necrosis factor-alpha, epidermal growth factor, and beta 2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *J Dent Res*. 1996;75(1):562-567.
- [21] Ren Y, Maltha J C, Van'T H M, et al. Cytokine levels in crevicular fluid are less responsive to orthodontic force in adults than in juveniles. *J Clin Periodontol*. 2002;29(8): 757-762.
- [22] 姚艳丽,冯小平,经先振.正畸加力后牙周疼痛与龈沟液中生物活性物质变化的相关研究[J].上海口腔医学,2003,15(5): 331-333.
- [23] Ren Y, Hazemeijer H, de Haan B, et al. Cytokine profiles in crevicular fluid during orthodontic tooth movement of short and long durations. *J Periodontol*.2007;78(3):453-458.
- [24] Ren Y, Vissink A. Cytokines in crevicular fluid and orthodontic tooth movement. *Eur J Oral Sci*. 2008;116(2):89-97.
- [25] Madureira DF, Taddei SA, Abreu MH, et al. Kinetics of interleukin-6 and chemokine ligands 2 and 3 expression of periodontal tissues during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*.2012;142(4):494-500.
- [26] Grant M, Wilson J, Rock P, et al. Induction of cytokines, MMP9, TIMPs, RANKL and OPG during orthodontic tooth movement. *Eur J Orthod*. 2013;35(5):644-651.
- [27] Maclaine JK, Rabie A, Wong R. Does orthodontic tooth movement cause an elevation in systemic inflammatory markers?. *Eur J Orthod*. 2010;32(4):435-440.
- [28] Koyama Y, Mitsui N, Suzuki N, et al. Effect of compressive force on the expression of inflammatory cytokines and their receptors in osteoblastic Saos-2 cells. *Arch Oral Biol*. 2008; 53(5):488-496.
- [29] 钱雅婧,钟良军,米丛波,等. 正畸力作用下大鼠炎性牙周组织改建及白细胞介素6的表达[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2010,4(5):447-455.
- [30] Chae HS, Park HJ, Hwang HR, et al. The effect of antioxidants on the production of pro-inflammatory cytokines and orthodontic tooth movement. *Mol Cells*. 2011;32(2): 189-196.