

糖尿病大鼠骨骼肌内脂素和磷脂酰肌醇 3 激酶的表达*

张 晗,张安星,高 琳[△],阳 琰,廖 鑫,李明泽,杨孟雪

(遵义医学院附属医院内分泌科,贵州遵义 563003)

[摘要] **目的** 观察糖尿病大鼠骨骼肌中内脂素(visfatin)、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)的表达,探讨 visfatin 在糖尿病中的作用及可能机制。**方法** 8 周龄雄性 SD 大鼠 55 只(造模成功 39 只),采用随机数字表法分为 4 组:正常对照组(A 组)10 只,饮食诱导肥胖组(B 组)10 只,血糖未控制糖尿病组(C 组)10 只,血糖控制糖尿病组(D 组)9 只。喂养至 12 周末,测定空腹血糖(FBG)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、游离脂肪酸(FFA)、空腹胰岛素(FINS),计算稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)及胰岛素敏感指数(ISI);RT-PCR 测定骨骼肌组织 visfatin、PI3K mRNA 表达;Western blot 测定骨骼肌组织 visfatin、PI3K 蛋白表达。**结果** C 组 FBG 较 A、B 组明显增高($P<0.01$);D 组 FBG 较 C 组明显降低($P<0.01$)。B 组 TG 较 A 组明显增高($P<0.05$);C 组 TG、TC、LDL-C、FFA 较 A、B 组明显增高($P<0.01$);D 组 TG、TC、FFA 较 A 组明显增高($P<0.05$);D 组 TG 较 A、B 组明显增高($P<0.05$);D 组 TG、TC、LDL-C、FFA 较 C 组明显降低($P<0.01$)。B、C 组较 A 组 FINS、HOMA-IR 明显增高,ISI 明显降低($P<0.01$),C 组较 B 组 FINS、HOMA-IR 明显增高,ISI 明显降低($P<0.01$)。C、D 组 visfatin mRNA 和蛋白表达较 A 组均明显增高($P<0.05$),C 组 visfatin 蛋白较 B 组明显增高($P<0.01$)。C 组 PI3K mRNA 和蛋白表达较 A、B 组均明显降低($P<0.01$),D 组 PI3K mRNA 和蛋白表达较 A 组均明显降低($P<0.05$)。**结论** visfatin 在骨骼肌中的表达水平与骨骼肌糖脂代谢状态有关,可能通过 PI3K 参与骨骼肌糖脂代谢的调节。

[关键词] 1-磷脂酰肌醇 3-激酶;糖尿病;肥胖症;肌,骨骼;内脏脂肪素;SD 大鼠**[中图分类号]** R587.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)14-1889-04**The expression of visfatin and phosphatidylinositol 3-kinase isoforms in skeletal muscle of diabetic rats***Zhang Han, Zhang Anxing, Gao Lin[△], Yang Yan, Liao Xin, Li Mingze, Yang Mengxue

(Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

[Abstract] **Objective** To observe the expression of visfatin and phosphatidylinositol 3-kinase isoforms (PI3K) in skeletal muscle of diabetic rats, and to explore the function and the possible mechanism of visfatin in diabetes mellitus. **Methods** Thirty-nine 8-week-old male SD rats were randomly divided into four groups which were normal control group (group A, $n=10$), diet-induced obesity group (group B, $n=10$), blood glucose not control diabetes group (group C, $n=10$) and blood glucose control diabetes group (group D, $n=9$). After 12 weeks fed, FBG, triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), free fat acid (FFA) and fasting insulin (FINS) were measured. The homeostasis model assessment (HOMA-IR) and insulin sensitivity index (ISI) were calculated. The expression of visfatin and PI3K mRNA in skeletal muscle tissue were detected by RT-PCR, and the expression of visfatin and PI3K protein were determined by Western blot. **Results** FBG of group C was significantly higher than those of group A and B ($P<0.01$); FBG of group D was significantly lower than that of group C ($P<0.01$); TG of group B was significantly higher than that of group A ($P<0.05$). TG, TC, LDL-C, FFA of group C was significantly higher than those of group A and B ($P<0.01$); TG, TC, FFA of group D was significantly higher than those of group A ($P<0.05$); TG of group D was significantly higher than those of group A and B ($P<0.05$); TG, TC, LDL-C, FFA of group D was significantly lower than those of group C ($P<0.01$). Comparing with group A, FINS, HOMA-IR of group B and C were significantly higher and ISI were significantly lower ($P<0.01$); comparing with group B, FINS, HOMA-IR of group C was significantly higher and ISI was significantly lower ($P<0.01$). The expression of visfatin mRNA and protein in skeletal muscle of group C and D were significantly higher than those of group A ($P<0.05$), while visfatin protein of group C was significantly higher than that of group B ($P<0.01$). The expression of PI3K mRNA and protein in skeletal muscle of group C were lower than those of group A and B ($P<0.01$), PI3K mRNA and protein of group D were lower than those of group A ($P<0.05$). **Conclusion** The expression level of visfatin in skeletal muscle is relevant to skeletal muscle glucose and lipid metabolism state. Visfatin might involved in glucose and lipid metabolism regulation through PI3K in skeletal muscle.

[Key words] 1-phosphatidylinositol 3-kinase; diabetes mellitus; obesity; muscle, skeletal; visfatin; SD rats

我国糖尿病患者群数量占据全球的 1/3,极大地加重了社会及家庭的负担,但该病的发病机制至今尚未完全阐明。内脂素(visfatin)主要在内脏脂肪中高表达,在肝脏、骨骼肌等组织

中亦有表达^[1]。visfatin 作为胰岛素抵抗(IR)、糖尿病及其他代谢性疾病的影响因素,已成为近年来研究的热点。众多研究均认为其在糖尿病的发生、发展中具有一定作用,但关于 vis-

fat1n 与肥胖、糖脂代谢、IR 的关系一直存有争议,具体作用机制尚不明确。开展 visfatin 的相关研究对于糖尿病的发病机制、预防及治疗具有重要意义。

骨骼肌作为胰岛素的主要靶器官之一,是机体廓清葡萄糖最主要的组织,能摄取、消耗人体 80%~90% 的葡萄糖^[2],其糖代谢状态与机体 IR 密切相关。磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)是胰岛素信号传导级联反应中关键信息分子,介导胰岛素刺激葡萄糖的转运和摄取。本实验通过建立肥胖大鼠及糖尿病大鼠模型,予胰岛素进行干预使各组大鼠处于不同的血糖水平,观察各组大鼠骨骼肌组织中 visfatin、PI3K 的基因及蛋白表达的变化,以进一步了解 visfatin 在骨骼肌糖脂代谢中的作用、与 PI3K 的关系及作用机制,以期对糖尿病的发病机制及治疗提供新的视点。

1 材料与方 法

1.1 材料 8 周龄健康雄性 SD 大鼠 55 只,体质量(200±20)g,购自第三军医大学大坪医院野战外科研究所动物实验中心,动物许可证号为 SCXK(渝)2007-0005。

1.2 方 法

1.2.1 分组 大鼠适应性喂养 1 周后按照数字随机表法分为 4 组:正常对照组(A 组)10 只,饮食诱导肥胖组(B 组)15 只,血糖未控制糖尿病组(C 组)15 只,血糖控制糖尿病组(D 组)15 只。A 组和 B、C、D 组大鼠分别采用普通饲料和高脂高糖饲料喂养。以空腹体质量大于 A 组平均体质量的 20% 即作为 B 组大鼠造模成功标准,共计成模 10 只。8 周后 C、D 组禁食 12 h 测空腹体质量,按 40 mg/kg 的体质量标准一次性腹腔内注射链脲佐菌素(STZ),A、B 组按 40 mg/kg 的标准腹腔内注射柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(0.1 mmol/L, pH 4.4),以 2 次空腹血糖(FBG)≥16.7 mmol/L 作为 C 组成模标准,共计成模 10 只。D 组大鼠糖尿病成模后予腹部皮下注射低精蛋白锌胰岛素注射液进一步建立 D 组大鼠模型,以 FBG<11.1 mmol/L 作为成模标准,共计成模 9 只。

1.2.2 标本留取 各组大鼠喂养至 12 周末,麻醉状态下腹主动脉取血,用于血脂、胰岛素测定。分离大鼠右后肢股四头肌组织并置于 Trizol 中,后转移保存于-80℃ 冰箱,以备后续逆转录 PCR(RT-PCR)测定 visfatin、PI3K 的基因表达;其余置于液氮罐中,移入-80℃ 冰箱冻存用于 Western blot 测定 visfatin、PI3K 的蛋白表达。

1.2.3 生化指标及胰岛素测定 使用强生稳步倍加型血糖仪及配套试纸测定 FBG。使用 AU2700 型全自动生化检测仪检测血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、酰基辅酶 A 氧化酶比色法测游离脂肪酸(FFA);采用放射免疫法(RIA)测定血清空腹胰岛素(FINS),变异系数小于 5%。稳态模型评估的 IR 指数(HOMA-IR)=FBG×FINS/22.5;胰岛素敏感指数(ISI)=1/(FINS×FBG)。

1.2.4 骨骼肌 visfatin 基因、蛋白测定

1.2.4.1 RT-PCR 法测骨骼肌组织 visfatin、PI3K mRNA 表

达 从-80.0℃ 冰箱中取出含有 1 mL Trizol 液体的骨骼肌(约 50 mg),采用 Trizol 一步法提取总 RNA。按照说明书进行逆转录上述液体混匀后放入 Mastercycler Gradient PCR 仪进行逆转录反应,合成 cDNA 第 1 链。反应分为两个阶段:逆转录反应阶段(37.0℃, 15 min)和逆转录酶失活反应阶段(85.0℃, 5 s),选取 61.6℃ 为各引物退火温度。分别以各组 cDNA 为模板进行扩增,以 β-actin 为内参,引物由 TaKaRa 生物工程公司合成。由 GeneBank 查出相关引物序列。visfatin 正义链 5'-TAC TGT GGC GGG AAT TGC TCT AA-3',反义链 5'-CCA CAG ACA CAG GCA CTG ATG A-3';PI3K 正义链 5'-AGC TCC TGG AAG CCA TTG AGA A-3',反义链 5'-GGA GAT TAC TGC CCT GGC TCC TA-3';β-actin 正义链 5'-GGA GAT TAC TGC CCT GGC TCC TA-3',反义链 5'-GAC TCA TCG TAC TCC TGC TTG CTG-3'。

1.2.4.2 Western blot 法测骨骼肌组织 visfatin、PI3K 蛋白表达 分别提取各组骨骼肌组织,使用预冷磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后剪碎,加入 RIPA 强效裂解液(碧云天生物技术有限公司),超声震碎,裂解 4℃ 匀浆,提取上清液按 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白变性(100℃, 5 min)后上样电泳,转膜,封闭,加入 visfatin 一抗过夜孵育后,加入二抗摇床中孵育 1 h,洗膜,显影。电泳电转使用美国 BIO-RAD 公司电泳系统,visfatin 抗体由美国 Biovision 公司提供。骨骼肌组织 PI3K 及其对应的 β-actin 蛋白检测步骤同上。凝胶成像系统拍照,扫描蛋白条带灰度值并定量分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 组大鼠一般及生化指标比较 B、D 组大鼠内脏脂肪重量/体质量较 A 组明显增高($P<0.01$),C、D 组大鼠内脏脂肪重量/体质量较 B 组明显降低($P<0.01$),D 组大鼠内脏脂肪重量/体质量较 C 组明显增高($P<0.01$);C 组 FBG 较 A、B 组明显增高($P<0.01$),D 组 FBG 较 C 组明显降低($P<0.01$);B 组 TG 较 A 组明显增高($P<0.05$),C 组 TG、TC、LDL-C、FFA 较 A、B 组均明显增高($P<0.01$),D 组 TG 较 B 组明显增高($P<0.05$),D 组 TG、TC、LDL-C、FFA 较 C 组明显降低($P<0.01$)。B、C 组较 A 组 FINS、HOMA-IR 明显增高,ISI 明显降低($P<0.05$),C 组较 B 组 FINS、HOMA-IR 明显增高,ISI 明显降低($P<0.01$),见表 1。

2.2 4 组大鼠骨骼肌 visfatin、PI3K mRNA 和蛋白表达比较 C、D 组 visfatin mRNA 和蛋白表达较 A 组均明显增高($P<0.05$),C 组 visfatin 蛋白较 B 组明显增高($P<0.01$)。C 组 PI3K mRNA 和蛋白表达较 A、B 组均明显降低($P<0.01$),D 组 PI3K mRNA 和蛋白表达较 A 组均明显降低($P<0.05$),见表 2、图 1。

表 1 4 组大鼠一般指标及生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	内脂质量/体质量(%)	FBG(mmol/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
A 组	10	2.08±0.50	4.42±1.06	0.24±0.09	1.12±0.33	0.37±0.13
B 组	10	4.10±0.56 ^b	5.09±0.47	1.12±0.51 ^a	1.58±0.46	0.39±0.19
C 组	10	2.23±0.50 ^d	25.58±3.18 ^{bd}	6.79±2.30 ^{bd}	6.95±3.25 ^{bd}	3.73±1.66 ^{bd}
D 组	9	3.60±1.01 ^{bed}	6.02±1.56 ^e	2.75±1.28 ^{bee}	1.90±0.32 ^{be}	0.52±0.21 ^e

续表 1 4 组大鼠一般指标及生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FFA(mmol/L)	FINS(uIU/L)	HOMA-IR	ISI
A 组	10	375.60±163.55	10.45±2.76	2.04±0.73	0.025±0.009
B 组	10	547.50±102.78	24.11±8.25 ^b	5.43±1.87 ^a	0.009±0.004 ^b
C 组	10	1366.30±506.93 ^{bd}	37.22±7.70 ^{bd}	42.14±9.41 ^{bd}	0.001±0.001 ^{bd}
D 组	9	738.56±268.85 ^{ac}	—	—	—

—:无数据。^a: $P < 0.05$,^b: $P < 0.01$,与 A 组比较;^c: $P < 0.05$,^d: $P < 0.01$,与 B 组比较;^e: $P < 0.01$,与 C 组比较。

表 2 4 组大鼠骨骼肌 visfatin、PI3K mRNA 和蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	visfatin		PI3K	
		mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
A 组	3	41.77±8.23	0.44±0.09	279.88±52.70	0.85±0.13
B 组	3	121.50±48.40	0.50±0.10	232.22±89.44	0.74±0.10
C 组	3	198.48±68.25 ^b	0.79±0.05 ^{bc}	76.67±19.32 ^{bc}	0.46±0.03 ^{bc}
D 组	3	160.01±45.33 ^a	0.59±0.06 ^a	134.58±21.15 ^a	0.57±0.08 ^b

^a: $P < 0.05$,^b: $P < 0.01$,与 A 组比较;^c: $P < 0.01$,与 B 组比较。

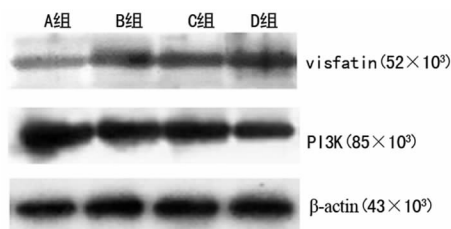


图 1 4 组大鼠骨骼肌组织 visfatin 和 PI3K 蛋白表达比较

3 讨论

近年的研究表明,visfatin 与糖尿病和 IR 关系密切,提示 visfatin 可能通过与胰岛素不同的结合部位和作用方式激活胰岛素受体(InsR),进而激活胰岛素信号转导通路,发挥类胰岛素样作用^[1]。2 型糖尿病(T2DM)的发病基础是骨骼肌、脂肪、肝脏的 IR 和胰岛素 β 细胞功能缺陷,visfatin 在骨骼肌、肝脏、骨髓、胎膜等组织中均有表达。本实验以高脂高糖饮食联合腹腔注射小剂量 STZ 建立糖尿病大鼠模型,实验发现 C、D 两组糖尿病大鼠骨骼肌组织 visfatin mRNA 表达量较 A 组均明显增高,C 组 visfatin 蛋白表达量较 A、B 组均明显增高,可能是由于代偿性的高胰岛素血症未能将血糖维持在正常水平,骨骼肌中 visfatin 表达增加或许是血糖增高的一种代偿,而胰岛素干预治疗后糖脂代谢紊乱得到了明显改善,骨骼肌 visfatin 基因和蛋白表达较 C 组并无明显变化,visfatin 并不随机体糖代谢变化而发生急剧变化,前期研究也验证了这点。Harasim 等^[3]在体外培养比目鱼肌和伸趾长肌两种骨骼肌细胞,用胰岛素、visfatin 及两者联合分别进行孵育,发现 visfatin 仅在伸趾长肌细胞中增加了骨骼肌的葡萄糖转运,且转运作用远低于胰岛素,提示 visfatin 在骨骼肌糖代谢中并不起主要作用,可能 visfatin 在骨骼肌葡萄糖代谢中的作用十分有限,这与本实验的研究一致,毕竟生理状态下血浆中 visfatin 浓度仅为胰岛素浓度的 3%~10%。研究亦显示小鼠血浆 visfatin 在糖负荷前后无明显改变,短暂的血糖改变对其并无影响^[1]。但 Krzysik-Walker 等^[4]对 4 周龄、8 周龄小鸡的研究发现,相对于内脏脂肪组织,骨骼肌 visfatin 表达水平明显增高,且 8 周龄高于 4 周龄,考虑与此时肌肉快速增长有关,进而提示 visfatin 可能作为一种肌肉来源的脂肪因子影响骨骼肌生长代谢及胰岛素敏

感性。骨骼肌 visfatin 的表达和作用可能与物种、骨骼肌种类等因素均有关,关于骨骼肌 visfatin 的产生、作用及作用机制均有待于进一步深入研究。后续试验将进一步观察 visfatin 在 KKAY 小鼠骨骼肌中的表达,对其在骨骼肌的糖脂代谢机制作更进一步的探讨。

研究证实血和骨骼肌中 FFA 异常聚集可导致骨骼肌 IR,肥胖、糖耐量异常,T2DM 患者肌细胞内脂质水平均较健康者增高,且随其水平逐渐增高,机体胰岛素敏感性呈下降趋势^[5]。前期实验中 T2DM 大鼠血浆 visfatin 和血清 FFA 较 A 组均明显增高,且两者呈显著正相关,与本实验结果一致。骨骼肌中 visfatin 表达水平的增高可能是机体对 FFA 异常蓄积所致的骨骼肌 IR 的一种拮抗机制。visfatin 可显著增加前脂肪细胞中 TG 的合成和聚集,并增强过氧化物酶体增生激活受体 γ 激动剂(PPAR- γ)、脂肪酸合成酶、脂联素等脂肪标记物的表达,提示 visfatin 可能通过自分泌或旁分泌作用于脂肪组织^[1,6-7]。本研究发现 visfatin 在 B 组大鼠骨骼肌中的表达较 A 组虽有增高趋势而差异无统计学意义,这与 Kloting 等^[8]的研究结论一致。虽然本实验中骨骼肌 visfatin 表达量在 B 组与 A 组间无明显差异,但这并不能代表机体整体 visfatin 水平与肥胖的关系,可能 visfatin 主要在内脏脂肪中高表达,而骨骼肌中表达较少,其机制需要更深入的研究。

骨骼肌是机体廓清葡萄糖最主要的组织^[3],研究显示 T2DM 大鼠骨骼肌和肝脏组织中 PI3K 基因表达调控有缺陷^[9],肥胖的 T2DM 大鼠骨骼肌中 PI3K 活性降低且 P85 α 亚基表达减少^[10],高脂饮食诱导的 IR 小鼠骨骼肌中 PI3K 基因表达明显降低^[11]。visfatin 的分泌通过 PI3K 和蛋白激酶 B 途径,受胰岛素和葡萄糖的调控,葡萄糖可增加体外培养的人皮下脂肪细胞 visfatin 的表达,添加 PI3K 抑制剂共培养可减弱葡萄糖对 visfatin 表达的促进作用,提示 PI3K 信号通路参与 visfatin 表达调控^[12]。糖尿病 Wistar 大鼠存在 PI3K 蛋白表达缺损,腹腔注射 visfatin 重组蛋白后 PI3K 和 GLUT4 蛋白水平增高^[13]。本实验中与 A、B 组相比较,C 组骨骼肌 visfatin 蛋白表达明显增高,同时 PI3K mRNA 和蛋白表达明显降低,D 组 PI3K mRNA 表达较 A 组降低,visfatin 可能与胰岛素信号调节通路及其糖脂代谢有一定关系。

综上所述,糖尿病大鼠骨骼肌 visfatin 的基因及蛋白表达均明显增高,可能在 IR 及糖尿病的发生、发展中发挥一定的作用。visfatin 可能通过 PI3K 途径参与骨骼肌糖脂代谢的调节,进一步深入研究可能为糖尿病预防和治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics effects of insulin[J]. *Science*, 2005, 307(5708): 426-430.
- [2] 郑妙艳, 常宝成. 肾上腺疾病中的骨骼肌胰岛素抵抗现象[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2011, 31(6): 412-414.
- [3] Harasim E, Chabowski A, Górski J. Lack of downstream insulin-mimetic effects of visfatin/eNAMPT on glucose and fatty acid metabolism in skeletal muscles[J]. *Acta Physiol*, 2011, 202(1): 21-28.
- [4] Krzysik-Walker SM, Ocón-Grove OM, Maddineni SR, et al. Is visfatin an adipokine or myokine? Evidence for greater visfatin expression in skeletal muscle than visceral fat in chickens[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(4): 1543-1550.
- [5] Samuel VT. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2011, 22(2): 60-65.
- [6] Ognjanovic S, Bao S, Yamamoto SY, et al. Genomic organization of the gene coding for human pre-B-cell colony enhancing factor and expression in human fetal membranes[J]. *J Mol Endocrinol*, 2001, 26(2): 107-117.
- [7] Brent J, Kloting N, Kralisch S, et al. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans[J]. *Diabetes*, 2005, 54(10): 2911-2916.
- [8] Kloting N, Kloting I. Visfatin: gene expression in isolated adipocytes and sequence analysis in obese WOKW rats compared with lean control rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 332(4): 1070-1072.
- [9] Amin MM, Asaad GF, Abdel-Salam RM, et al. Novel CoQ10 antidiabetic mechanisms underlie its positive effect: modulation of insulin and adiponectine receptors, tyrosine kinase, PI3K, glucose transporters, sRAGE and visfatin in insulin resistant/diabetic rats [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89169.
- [10] Christ CY, Hunt D, Hancock J, et al. Exercise training improves muscle insulin resistance but not insulin receptor signaling in obese Zucker rats[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92(2): 736-743.
- [11] 袁海瑞, 牛燕媚, 刘效磊, 等. 高脂饮食诱导胰岛素抵抗小鼠骨骼肌胰岛素信号通路相关基因表达的变化[J]. *中国康复医学杂志*, 2011, 26(4): 357-362.
- [12] Haider DG, Schaller G, Kapiotis S, et al. The release of the adipocytokine visfatin is regulated by glucose and insulin[J]. *Diabetologia*, 2006, 49(8): 1909-1914.
- [13] 魏元元, 张绍维, 王巍, 等. 2 型糖尿病大鼠骨骼肌葡萄糖转运蛋白-4 和磷脂酰肌醇-3-激酶与内脂素的关系[J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(12): 5378-5381.
- (收稿日期: 2015-11-15 修回日期: 2016-01-25)
-
- (上接第 1888 页)
- [5] Wang CY, Su MZ, Chang HH, et al. Tension-compression viscoelastic behaviors of the periodontal ligament[J]. *J Formos Med Assoc*, 2012, 111(9): 471-481.
- [6] Aversa R, Apicella D, Perillo L, et al. Non-linear elastic three-dimensional finite element analysis on the effect of endocrown material rigidity on alveolar bone remodeling process[J]. *Dent Mater*, 2009, 25(5): 678-690.
- [7] Park HS, Bae SM, Kyuang HM, et al. Micro-implant anchorage for treatment of skeletal Class I alveolar protrusion[J]. *J Clin Orthod*, 2001, 35(7): 417-422.
- [8] Poberts WE. When planning to use an implant for anchorage, how long do you have to wait to apply force after implant placement [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2002, 121(1): 14A.
- [9] 寻春雷, 曾祥龙, 王兴. 微型自攻钛钉种植体支抗压低切牙的初步应用研究[J]. *口腔正畸学*, 2004, 11(1): 29-31.
- [10] Ashish H, Nikhil H, Vinay PR, et al. Effect of the thread pitch of orthodontic mini-implant on bone stress—a 3d finite element analysis[J]. *J Dent*, 2011, 1(4): 91-96.
- [11] 张菊菊, 段银钟, 霍娜, 等. 3 种不同施力方式远移上颌第一磨牙牙周膜应力的三维有限元分析[J]. *口腔医学研究*, 2006, 22(2): 166-168.
- [12] Viecilli RF, Budiman A, Burstone CJ. Axes of resistance for tooth movement: does the center of resistance exist in 3-dimensional space? [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2013, 143(2): 163-172.
- [13] Xue J, Ye N, Yang X, et al. Finite element analysis of rapid canine retraction through reducing resistance and distraction[J]. *J Appl Oral Sci*, 2014, 22(1): 52-60.
- [14] Solem RC, Marasco R, Guiterrez-Pulido L, et al. Three-dimensional soft-tissue and hard-tissue changes in the treatment of bimaxillary protrusion[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2013, 144(2): 218-228.
- [15] Koyama I, Iino S, Abe Y, et al. Differences between sliding mechanics with implant anchorage and straight-pull headgear and inter-maxillary elastic in adults with bimaxillary protrusion[J]. *Eur J Orthod*, 2011, 33(2): 126-131.
- [16] 卢燕勤, 高雪梅. 直丝弓矫治器滑动法关闭间隙的三维非线性有限元研究[J]. *天津医药*, 2010, 39(6): 461-463.
- (收稿日期: 2015-11-28 修回日期: 2016-01-24)