

# 间接性颞下颌关节损伤后的组织化学研究

胡开进 王大章 赵宗林 刘福来

**摘要** 目的: 观察间接性颞下颌关节(TMJ)损伤后局部酸性粘多糖含量的变化, 探讨关节损伤与颞下颌关节骨关节炎(TMJOA)的关系。方法: 用自制撞击装置间接造成羊右侧关节损伤, 左侧关节为对照。伤后 2 h、1、3、6 月取材, 通过组织化学的方法, 观察伤后 TMJ 组织中粘多糖含量的变化。结果: TMJ 伤后早期粘多糖含量增加, 后期粘多糖含量明显减小。结论: TMJ 损伤导致了髁突表面屏障的损伤, 破坏和抑制了软骨的增殖能力, 最终导致 TMJOA。

**关键词** 颞下颌关节 损伤 骨关节炎

间接性颞下颌关节损伤可以导致颞下颌关节骨关节炎(temporomandibular joint osteoarthritis, TMJOA)<sup>1</sup>。Ishimaru 等<sup>2</sup>认为, 引起 TMJOA 的病因有全身和局部两大因素, TMJ 损伤是导致 TMJOA 的主要局部因素。Hohman 等<sup>3</sup>认为, 病变漫长的 TMJOA 主要由急性 TMJ 损伤引起。但目前对 TMJ 损伤后导致 TMJOA 的机理尚不清楚。Murphy 等<sup>4</sup>发现, 骨关节炎(OA)的主要病理变化是关节软骨的破坏, 而病变的开始是软骨基质的降解破坏。Michael 等<sup>5</sup>认为, 软骨基质的丢失首先是从蛋白多糖的丢失开始。本实验拟通过造成羊间接性 TMJ 损伤, 用组织化学的方法, 动态观察 TMJ 间接性损伤后其软骨基质代谢能力的变化过程。对 TMJ 损伤后导致 TMJOA 的机理进行初步探讨。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物的选择及分组

本实验选用四川简阳努比山羊 20 只, 体重 10~12 kg, 年龄 4~6 月, 均属生长期。实验前圈养 1 周, 观察无全身疾患, 无失牙及咬合紊乱, 无关节运动异常者纳入本实验, 山羊均用青饲料及粉末状混合饲料饲养, 并随机分为 A、B、C、D 4 组, 每组 5 只。

### 1.2 实验方法及过程

山羊麻醉后用自制撞击装置, 以 10 m/s 的撞击速度, 撞击能量 10 J 撞击山羊右侧下颌骨角部, 撞击质量 200 g, 直径 3 cm, 被撞击部位可产生 1.41 J/cm<sup>2</sup> 的压强, 撞击方向平行于下颌角-颞下凹中点连线。对侧关节为对照。待动物苏醒后, 送回圈养, 饲养方法同损伤前。

### 1.3 实验标本的制作及观察

A、B、C、D 4 组动物分别于伤后 2 h、30 d、90 d、180 d 颈动脉放血处死, 仔细分离, 切取完整的 TMJ。置于 20% 中

性福尔马林液中固定 2 周后, 常规脱钙、脱脂、脱水、石蜡包埋。经髁突中份作矢状连续切片。切片厚约 5 μm, 用下述 3 种方法做碳水化合物组织化学染色: 过碘酸雪夫氏染色(PAS): 使中性粘多糖呈红色。阿辛蓝/中性红染色法: 阿辛蓝使酸性粘多糖呈蓝色。甲苯胺蓝异染色法: 使酸性粘多糖异染呈红色或紫色。

## 2 结 果

### 2.1 山羊对照侧 TMJ 组织化学观察

关节凹: 由浅至深分为 4 层: 外纤维层、内纤维层、钙化软骨层和板状骨。内纤维层及钙化层中甲苯胺蓝、阿辛蓝染色呈弱阳性, PAS 呈阳性。

关节盘: 由致密结缔组织构成, 其中主要为胶原纤维。PAS 染色呈阳性, 甲苯胺蓝及阿辛蓝染色呈弱阳性。

髁状突: 由浅入深分为 5 层: 纤维层、增殖层、肥大层、钙化软骨层和骨小梁。染色结果显示, 肥大层、钙化层及骨小梁中的软骨和骨细胞 PAS、甲苯胺蓝染色呈阳性, 增殖层、纤维层阿辛蓝、PAS 染色呈阳性。

### 2.2 山羊实验侧 TMJ 组织化学观察

伤后 2 h (A 组): 除关节表面轻微损伤及腔内血肿外, 3 种染色与对照侧相比均未见明显异常(图 1)。

伤后 30 d (B 组): 关节凹表面结构破坏区甲苯

本研究为国家自然科学基金资助项目(编号 39500164)

作者单位: 610041 华西医科大学口腔医学院(胡开进现在第四军医大学口腔医院工作, 王大章), 成都军区总医院口腔科(赵宗林), 陕西省安康市医院口腔科(刘福来)

胺蓝及阿辛蓝染色变浅外,其邻近组织着色变深。关节盘着色深浅不一,盘表面破坏区着色浅,中央区着色深。髌突表面着色浅,其增殖层及肥大层的细胞及基质着色均明显变深,有纵行的淡染的组织间隔将深染的软骨组织成间隔分开。PAS染色未见明显改变(图2)。

伤后90d(C组):关节凹、关节盘、髌状突甲苯胺蓝、阿辛蓝染色均明显变浅,髌状突仅见骨小梁处有着色,表面的软组织均未见着色。PAS着色稍浅(图3)。

伤后180d(D组):关节凹、关节盘、髌突骨质破坏区甲苯胺蓝、阿辛蓝染色均明显变浅,其周围的组织着色稍深。PAS着色较对照侧稍浅(图4)。

### 3 讨 论

TMJOA通常根据病因分为两种类型,由于老年退行性变及其它全身因素引起为原发性TMJOA,而由间接性TMJ损伤等局部因素造成的为继发性TMJOA<sup>3</sup>。Harris<sup>6</sup>对13名下颌骨受到暴力打击的TMJ区行同位素骨扫描发现,其中10人TMJ区核素浓聚,认为这是由于间接造成TMJ损伤后导致TMJ局部生化环境改变及代谢异常所致。Peter等<sup>7</sup>发现:OA病变局部的糖代谢和蛋白与正常关节相比均降低。Michael等<sup>5</sup>认为:软骨基质的丧失是OA的开始,而基质的丧失首先是从蛋白多糖的丢失开始。本实验通过间接造成羊TMJ损伤后组织化学染色显示:伤后1月TMJ破坏区局部染色变浅;而邻近组织,特别是髌突软骨的增殖层和肥大层细胞及基质染色明显变深。3月和6月时,髌下凹、关节盘和髌状突整个关节组织染色均明显变浅。说明在伤后1月时,关节破坏区各种粘多糖减少,特别是酸性粘多糖减少,此区基质合成减少,存在着基质的分解破坏。而邻近组织染色加深,各种粘多糖明显增多,基质合成增加,这是软骨组织对软骨基质破坏分解的一种代偿性反映。是由于损伤刺激了软骨细胞,继发的引起软骨组织对基质的分泌和合成增加来修复软骨破坏区,建立新的结构平衡。伤后3月和6月时,整个髌突软骨层染色阴性,各种粘多糖明显减少。这是由于损伤超过了软骨细胞的代偿能力,使软骨基质持续性丢失,引起整个关节软骨的崩解、耗损,从而导致TMJOA。

Michael等<sup>5</sup>认为,在软骨组织中,或在滑膜、滑液中存在某种成分,在某些因素作用下,能够破坏软骨基质的合成,引起软骨的进行性丧失而导致OA。Ali<sup>8</sup>首先发现:软骨组织中有些酶能够破坏软骨基质的合成,但这些酶只有在酸性环境中才能发生作用,同时发现,在组织中存在这些酶的特异性抑制物,在正常生理环境中,这些酶与其特异性抑制物处于动态平衡状态。Ehrlich<sup>9</sup>从处于酸性环境的人骨标本中(骨折区或踞下的骨)测定发现,在局部导致骨基质分解破坏的主要是胶原酶,并报道人类关节软骨中存在着胶原酶,正常软骨中胶原酶含量很少,OA软骨中含有大量的胶原酶,并且酶的活性与病变程度成正比。现已发现在绝大多数结缔组织细胞中,包括纤维、软骨细胞等均能合成、分泌3种类型的基质金属蛋白酶,它们是胶原酶、明胶酶和基底分解素类,它们都是需 $Zn^{2+}$ 和 $Ca^{2+}$ 的金属酶类,以无活性的前体形式分泌出来,需激活。激活的酶可被抑制物抑制而失活。3种酶的共同作用可以降解细胞外基质中的所有成分<sup>4</sup>。Dean<sup>10</sup>从OA的关节软骨中提取基质金属蛋白酶(MMPs)和酶的抑制物(TMPs)发现:MMPs水平升高,而TMPs与MMPs相比只有中等程度的提高。胡波等<sup>11</sup>用胶原酶成功地诱导出羊的TMJOA,证明了作为MMPs-1的胶原酶在TMJOA发生中的重要作用,也说明了软骨基质破坏是OA的一个重要特征。本实验发现:TMJ损伤后出现软骨基质的进行性丧失。其机理是由于TMJ损伤后,引起关节内软组织撕裂,关节内血肿或积液,有时出现髌突囊内骨折,髌突表面软骨崩解,局部水肿,代谢增加。在局部损伤组织变形、分解过程中会释放出过量二氧化碳,使关节囊内呈酸性环境,局部骨组织破坏会释放出大量的钙等金属离子与MMPs结合。即TMJ的间接性损伤造成了关节内的组织破坏,引起了滑膜增生和酶的大量释放,出现局部炎症,白细胞介素等细胞因子释放,使软骨组织中MMPs释放增加,而TMPs则下降,形成软骨组织的破坏,同时软骨基质的分泌也会增加,但软骨的修复小于软骨的破坏进程,最终导致了TMJOA。

(本文图见中心插页13)

### 4 参考文献

- 1 Laskin DM. Etiology and pathogenesis of internal derangements of the temporomandibular joint. *Oral Maxillofac Surg North Am*, 1995, 25: 217
- 2 Ishimaru JI, Kurita K, Handa Y, et al. Effect of marrow perforation on the sheep temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1992, 21: 239
- 3 Hohmann A, Wilson K, Nems CR. Surgical treatment in temporomandibular joint trauma. *Otolaryngol Clin North Am*, 1983, 16: 549
- 4 Murphy G. Metalloproteinases and tissue damage. *Br J Rheumatol*, 1991, 30(suppl): 25
- 5 Ehrlich MC, Armstrong AN, Treadwell BV, et al. Degradative enzyme systems in cartilage. *Clin Orthop*, 1986, 213: 62
- 6 Harris SA, Rood JP, Testa HJ. Post-traumatic changes of the temporomandibular joint by bone scintigraphy. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1988, 17: 173
- 7 Van der Kraan PM, Vitters EL, Van de Putte LBA. Development of osteoarthritic lesion in mice by "Metabolic" and "Mechanical" alterations in the knee joints. *Am J Pathol*, 1989, 135: 1001
- 8 Ali SY, Evans L, Stainthorpe E. Characterization of cathepsin in cartilage. *Biochem J*, 1967, 105: 459
- 9 Ehrlich MG, Houle PA, Vignani G. Correlation between articular collagenase activity and osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 1978, 21: 761
- 10 Dean DD. Evidence for metalloproteinase and metalloproteinase inhibitor imbalance in human osteoarthritic cartilage. *Clin Invest*, 1989, 84: 678

(1997-09-29 收稿)

## Histochemical Study on the Temporomandibular Joint of Goats Following Indirect Trauma

Hu Kaijin, Wang Dazhang

*Department of Oral Maxillofacial Surgery,*

*College of Stomatology, West China University of Medical Sciences*

Zhao Zonglin

*Chengdu Army General Hospital*

Liu Fulai

*Department of Stomatology, Hospital of Ankang, Shanxi Province*

### Abstract

**Objective:** To study the changes of glycosaminoglycans contents in temporomandibular joint (TMJ) after indirect trauma. **Methods:** Trauma to the TMJ was achieved under an impact to the right mandibular angle of 20 goats with self-made device, the left TMJ was used as a control, then the animals were killed after 2 hours, 1 month, 3 months and 6 months, and glycosaminoglycans contents were studied with histochemical methods. **Results:** Increased glycosaminoglycans contents were observed in TMJ 1 month after trauma and decreased in TMJ 3 months and 6 months after trauma. **Conclusion:** The mechanism of the experimental process is probably that trauma to the TMJ damage its natural barrier, and the proliferating ability of the cartilage cell is destroyed, then TMJ osteoarthritis (TMJOA) will be caused.

**Key words:** temporomandibular joint trauma osteoarthritis

(上接第 343 页)

## Activity Comparison of Plaque Lysozyme of Human in Different Ages

Zhou Xuedong, Sun Yukun, Li Jiyao, et al

*College of Stomatology, West China University of Medical Sciences*

### Abstract

**Objective:** To compare the activity of plaque lysozyme of human in old group and young group. **Methods:** Lysozyme assays were used to determine the concentration of LYZ. **Results:** There was significant difference in the concentration of LYZ in two groups ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** LYZ can be found in dental plaque and age affects the concentration of LYZ.

**Key words:** dental plaque lysozyme age