机制研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001630

单侧咬合创伤建立大鼠颞下颌关节骨关节炎模型的组织病理学观察

何　东[1],李艳华[1],尤　柱[2],张　戎[3],王　菁[3],吴高义[3],朱国雄[3]

（1. 锦州医科大学济南军区总医院研究生培养基地,济南　250031;
2. 山东大学口腔医学院山东省口腔组织再生重点实验室,济南 250012;
3. 中国人民解放军济南军区总医院口腔科,济南　250031）

【摘　要】目的:通过单侧咬合创伤方法建立大鼠颞下颌关节骨关节炎(temporomandibular joint osteoarthritis,TMJ-OA)模型,并观察髁突软骨的组织病理学变化。**方法**:将大鼠随机分为对照组和实验组,再分为 4 个亚组,即 4、8、12、16 周组,每组 6 只大鼠。用树脂将方弓丝粘接于实验组大鼠右侧上颌第一磨牙(牙合)面,垫高约 0.5 mm。称量并记录各组大鼠第 1、2、3、4、8、12、16 周体质量,并于第 4、8、12、16 周分别取材,通过苏木精-伊红及番红 O-固绿染色,检查、分析大鼠颞下颌关节髁突软骨的组织病理学变化,并测量各组大鼠髁突软骨各层厚度变化。**结果**:①在实验早期,咬合创伤对大鼠体质量增长影响较大(t_1=4.757,P_1=0.000;t_2=3.096,P_2=0.003)。②8 周时,实验侧髁突软骨发生较明显组织病理学变化[组织学评分为(8.67 ± 1.37),t=-7.267,P=0.000],纤维层软骨出现水平裂隙,增殖层软骨细胞排列紊乱,呈早期骨关节炎样软骨病损。③咬合创伤对髁突软骨造成的病理损害程度与其作用时间相关,时间越长,病损越重。**结论**:采用单侧咬合创伤方法成功建立了大鼠颞下颌关节骨关节炎模型,且造模 8 周后可观察到早期的骨关节炎样病损表现,此模型可作为研究 TMJ-OA 早期病理机制的理想模型。

【关键词】颞下颌关节;骨关节炎;咬合创伤;动物模型;组织病理学

【中图分类号】R782.6　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2017-10-16

Histopathological evaluation of temporomandibular joint osteoarthritis in rats induced by unilateral occlusal trauma

He Dong[1], Li Yanhua[1], You Zhu[2], Zhang Rong[3], Wang Jing[3], Wu Gaoyi[3], Zhu Guoxiong[3]

*(1. Department of Stomatology, Jinan Military General Hospital of Jinzhou Medical University;
2. Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Tissue Regeneration, School of Stomatology of Shandong University; 3. Department of Stomatology, Jinan Military General Hospital)*

【Abstract】*Objective*: To establish the model of temporomandibular joint osteoarthritis(TMJ-OA) in rats induced by unilateral occlusal trauma, and to evaluate the histopathological changes of the condylar cartilage. ***Methods***: The rats were randomly divided into two groups, the control group and the experimental group, and each group was divided into four subgroups(4, 8, 12 , 16 weeks group, 6 rats in each group). Metal-wire was attached to the right maxillary first molar by rein and the occlusion was elevated by 0.5 mm. The weight was recorded in 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16 weeks after the operation. The rats were sacrificed at 4, 8, 12, 16 weeks after occlusal trauma, respectively. The histopathological changes of condylar cartilage were evaluated by HE and safranin-O fast green staining, and the change of cartilage thickness was measured and analyzed. ***Results***: ①At the early stage of the operation, occlusal trauma had a great influence on the weight(t_1=4.757, P_1=0.000; t_2=3.096, P_2=0.003). ②At the 8th week, the condylar cartilage of the experimental side showed obvious lesion of OA(Mankin score=8.67 ± 1.37, t=-7.267, P=0.000). There were horizontal fissures in fibrous cartilage. The chondrocytes were arranged irregularly in proliferating layer and showed the OA-like lesions. ③The histopathological damage caused by occlusal trauma to condylar cartilage was time-related. ***Conclusion***: Model of TMJ-OA is successfully established in rats by unilateral occlusal trauma and the obvious pathologicalchanges are detected at 8 weeks. This could be a promising model for the study of the pathogenesisof TMJ-OA.

【Key words】temporomandibular joint; osteoarthritis; occlusal trauma; animal model; histopathology

作者介绍:何　东,Email:hedong0910@163.com,
研究方向:颞下颌关节骨关节炎。

通信作者:朱国雄,Email:jnjqzgx@163.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:61471384)。

优先出版:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180409.1311.004.html
(2018-04-09)

骨关节炎(osteoarthritis,OA)作为一种退行性疾病,是由于软骨细胞合成和分解代谢不平衡造成的,其特点是关节软骨细胞外基质成分的逐步退变[1]。颞下颌关节(temporomandibular joint,TMJ)是人体行使功能最复杂的滑膜关节,有文献报道其OA的发生率较高[2]。颞下颌关节骨关节炎(TMJ-OA)的发病机制多样且复杂,它的发病危险因素包括年龄、创伤、关节或肌肉功能紊乱、基因因素和全身系统性疾病等[3-4]。TMJ-OA 不仅给病人经济和精神上带来极大的负担,而且尚无有效治疗手段。目前,研究 TMJ-OA 的学者较多采用外科手术法[5]切除部分关节盘,此方法的优点是省时、符合人体 TMJ-OA 晚期病损表现,但该方法在模拟发病病因上与临床相差甚远。本研究通过单侧咬合创伤建立大鼠早期 TMJ-OA 模型,该动物模型可有效模拟临床患者咬合功能不平衡的发病因素,可作为研究 TMJ-OA 发病机制的理想模型。

1 材料和方法

1.1 材料

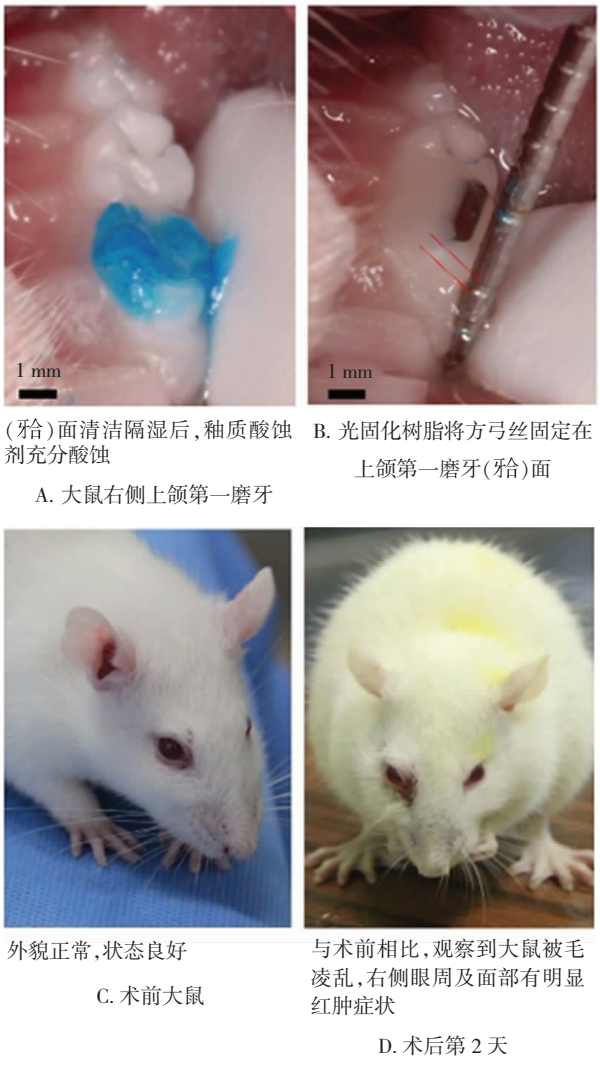
1.1.1 实验动物雄性 8 周龄清洁级 Wistar 大鼠购于山东大学动物实验中心[合格证编号:SCXK(鲁)20090001],经检查,大鼠口颌系统均无明显异常,精神状态良好。于济南军区总医院实验动物中心饲养,普通清洁环境,温度(25 ± 1) ℃,相对湿度(55 ± 15)%,自由活动,给予足量食、水。

1.1.2 实验设备及试剂 石蜡切片机(莱卡公司,德国);BX-50 显微镜(Olympus,日本);显微照相机(Olympus BX-50,日本);番红 O、固绿(索莱宝,北京);4%多聚甲醛(索莱宝,北京);EDTA(上海国药,上海);正畸弓丝(3M,美国);流动树脂(3M,美国);釉质酸蚀剂(Gluma,德国);黏结剂(3M,美国)。

1.2 实验动物分组及造模方法

1.2.1 动物选择与分组 选用 64 只 8 周龄雄性 Wistar 大鼠,牙列完整,无明显口颌系统异常。实验前适应性饲养 1 周。随机将 40 只大鼠按咬合创伤 4、8、12、16 周平均分为 4 组,每个亚组 10 只,分别设立同龄对照组,每组 6 只。

1.2.2 造模方法 本实验经济南军区总医院伦理委员会批准进行,所有动物适应性饲养 1 周后开始造模。用乙醚将大鼠深度麻醉,麻醉时间大约 3 min,待麻醉显效后,将大鼠仰位固定于自制固定装置,固定大鼠门齿,使其保持开口状态(最大张口度不超过 1.5 cm),大鼠右侧上颌磨牙充分干燥、隔湿,常规酸蚀,涂布黏结剂,光固化树脂将正畸方弓丝(长度约为大鼠上颌第一磨牙近远中径)固定于右侧上颌第一磨牙,单侧咬合垫高约 0.5 mm(图 1A、B)。术后待大鼠清醒后,放回笼中,让其自由活动及进食。造模后 1 周内,每天检查大鼠口内正畸弓丝在位情况,脱落即再次粘结,1 周后,每 2 天检查 1 次。对照组大鼠所有操作均与实验组相同,但不进行咬合垫高操作。



(矧)面清洁隔湿后,釉质酸蚀剂充分酸蚀

A. 大鼠右侧上颌第一磨牙

B. 光固化树脂将方弓丝固定在上颌第一磨牙(矧)面

外貌正常,状态良好

C. 术前大鼠

与术前相比,观察到大鼠被毛凌乱,右侧眼周及面部有明显红肿症状

D. 术后第 2 天

图 1 大鼠单侧咬合创伤造模方法

1.2.3 大鼠体质量测量 分别在 1、2、3、4、8、12、16 周称量实验组及对照组大鼠体质量并记录。

1.2.4 X 线检查 完整取下大鼠下颌骨,4%多聚甲醛充分固定后,进行大鼠下颌骨牙齿的 X 线图像拍摄(BLUEX,意大利)。

1.2.5 病理学检查 造模后 4、8、12、16 周分别取材,完整切取大鼠右侧颞下颌关节组织。4%多聚甲醛固定24 h,10%中性 EDTA 脱钙液脱钙 6 周,流水冲净脱钙液,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,连续 5 μm 矢向切片,石蜡切片脱蜡、水化后,分别进行苏木精-伊红和番红 O-固绿染色。应用改良 Mankin 评分评估大鼠 TMJ 软骨病损程度, 具体评分细则见文献报道[6]。

1.2.6 髁突软骨全层及各层软骨厚度测量 分别取每组正中、矢向 HE 染色切片，人为将髁突软骨分为前、中、后三等份，并测量各部分正中厚度，包括软骨全层、纤维层、增殖层和肥大层厚度，于显微镜下（400×）测量并记录软骨厚度。

1.3 数据分析

应用 SPSS 17.0 进行统计学分析，正态计量资料采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，Levene's 检验数据方差齐性，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 实验动物数量分析

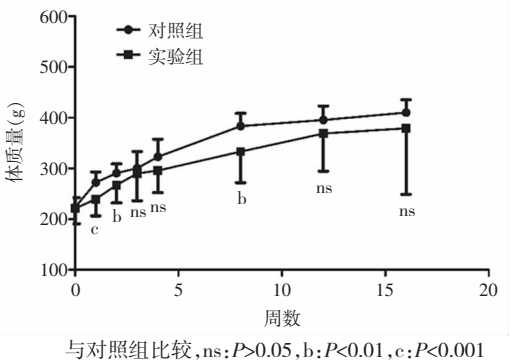
实验组大鼠总计 40 只，实验周期内有 9 只（4 周组 1只，8 周组 2 只，12 周组 2 只，16 周组 4 只）大鼠弓丝反复脱落，将其剔除，实验组每组均随机取 6 只大鼠的数据进行实验分析。

2.2 行为状态观察

术后，大鼠用前、后肢搔抓口内及创伤侧面部组织，范围波及咬合创伤侧口周及眶周组织，次日即可观察到大鼠右侧眼周清洁度差，眼周组织红肿（图 1D）。造模后约 1 周内大鼠活动减少，被毛杂乱，颜色发黄，无光泽（图 1D），精神状态差，眼周及肛周卫生状况差，眼周红肿症状明显。1 周后，大鼠活动逐渐增多，食物及水的摄入逐渐增加，眼周红肿症状逐渐消退。

2.3 体质量变化

在实验期 16 周内（1、2、3、4、8、12、16 周），记录实验组与对照组所有的大鼠体质量。对实验数据进行析因方差分析，结果发现：在不同时间点的体质量差异有统计学意义（F=64.500，P=0.000）；在对照组与实验组之间的体质量差异有统计学意义（F=23.850，P=0.000）；在不同时间点及实验分组之间不存在交互作用（F=1.510，P=0.160）。在 1、2、8 周时，实验组体质量低于对照组，差异有统计学意义（t_1=4.757，P_1=0.000；t_2=3.096，P_2=0.003；t_8=3.218，P_8=0.004），但是在 3、4、12、16 周时，实验组与对照组体质量差异无统计学意义（t_3=1.484，P_3=0.145；t_4=1.790，P_4=0.080；t_{12}=1.175，P_{12}=0.260；t_{16}=0.560，P_{16}=0.593），如图 2 所示。

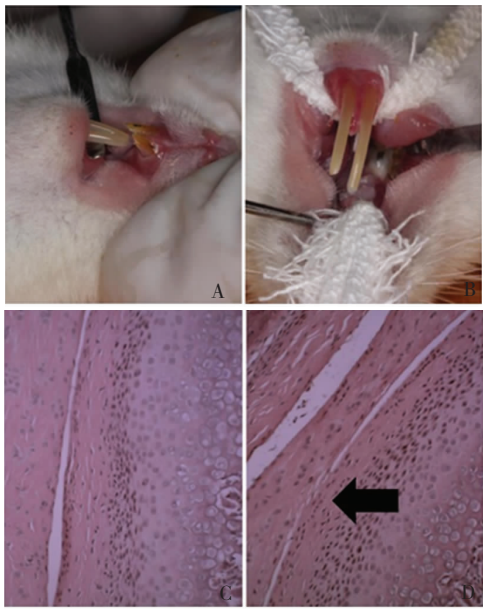


与对照组比较，ns：P>0.05，b：P<0.01，c：P<0.001

图 2 16 周内大鼠的体质量变化（n=6）

2.4 口颌系统异常

咬合增高后，破坏了大鼠的咬合平衡，影响了其正常的口颌功能，有极少数大鼠出现张口受限、关节强直现象，组织切片观察到 1 只创伤 4 周组大鼠关节盘与髁突表面出现粘连（图 3）。

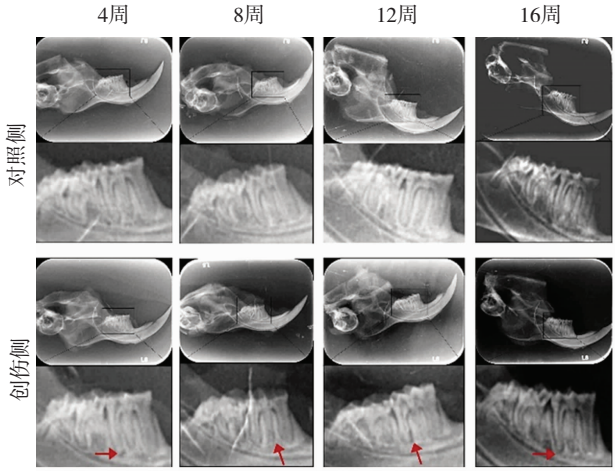


A、B. 实验组大鼠创伤侧关节强直，张口受限，开口度明显不足 1 cm；C. HE 染色可见对照组大鼠关节盘与髁突表面无粘连；D. HE 染色可见实验组大鼠关节盘与髁突表面粘连（黑色箭头所示位置）

图 3 大鼠单侧咬合创伤后张口受限

2.5 X 线片检查

X 线牙片结果显示造模后，创伤侧下颌第一磨牙有明显的创伤症状，表现为牙周膜宽度增加、不均一；根尖出现明显阴影（图 4）。



对照侧 X 线片见牙周膜宽度均一，牙槽骨无明显吸收，根尖无阴影；咬合创伤侧下颌骨 X 线片见牙周膜宽度不一，根尖周有阴影。图示红色箭头示根尖周阴影

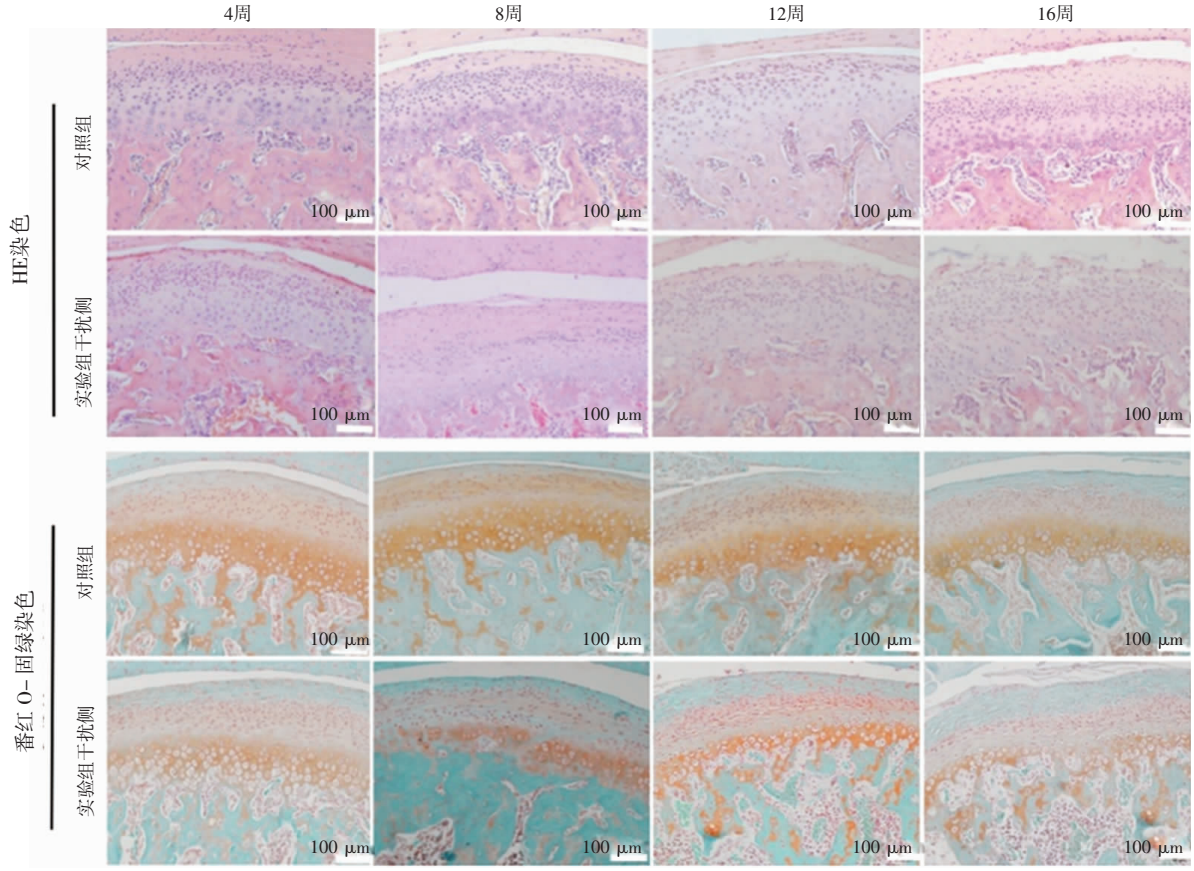
图 4 大鼠下颌骨 X 线片

2.6　组织病理学检查

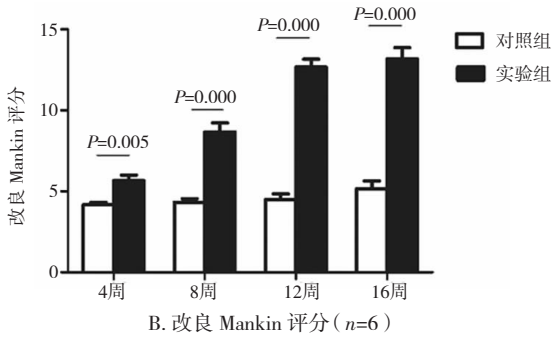
对照组的髁突关节表面平滑、完整，髁突软骨的四层结构层次清晰：从外到内依次为纤维层、增殖层、肥大层和钙化软骨层。番红 O-固绿染色指示蛋白多糖分布均匀，主要着色部位在增殖层和肥大层。

实验组大鼠 TMJ 病损主要表现为软骨组织的退行性病变，且具有明显的时间进展性。实验 4 周组可观察到表层纤维化和非均质的蛋白多糖着色。实验 8 周组可观察到软骨组织的表层不平整，有水平裂隙，肥大层软骨细胞数目减少，开始出现无细胞区，蛋白多糖染色进一步丢失，番红 O 淡染。实验 12 周、16 周组可观察到广泛的纤维层紊乱、破坏，软骨细胞层次紊乱，肥大层软骨细胞数目较前进一步减少，蛋白多糖染色丢失严重，甚至失染（图 5A）。改良 Mankin 评分显示对照组大鼠随时间评分稍有增长（对照组：4 周：4.17 ± 0.41；8 周：4.33 ± 0.52；12 周：4.50 ± 0.84；16 周：5.17 ± 1.17），而实验组随着咬合创伤刺激时间的增长，病损评分明显增加（创伤组：4 周：5.67 ± 0.82；8 周：8.67 ± 1.37；12 周：12.67 ± 1.21；16 周：13.17 ± 1.72）（图 5B）。对组织学评分进行析因设计资料的方差分析，在对照组与实验组中组织学评分差异有统计学意义（F=306.76，P=0.000）；在不同时间点之间的组织学评分差异有统计学意义（F=38.71，P=0.000）；在不同时间点及实验分组之间存在交互作用（F=25.96，P=0.000）。

对照组大鼠软骨各层厚度呈时间退行性变化，咬合创伤刺激后，后部软骨全层厚度增加，呈现增殖性变化；关节表面纤维层厚度均有所增加，呈现明显的表层软骨纤维化；增殖层厚度增加，表现出增强的增殖趋势；后部软骨肥大层表现为增殖性趋势（图 6）。

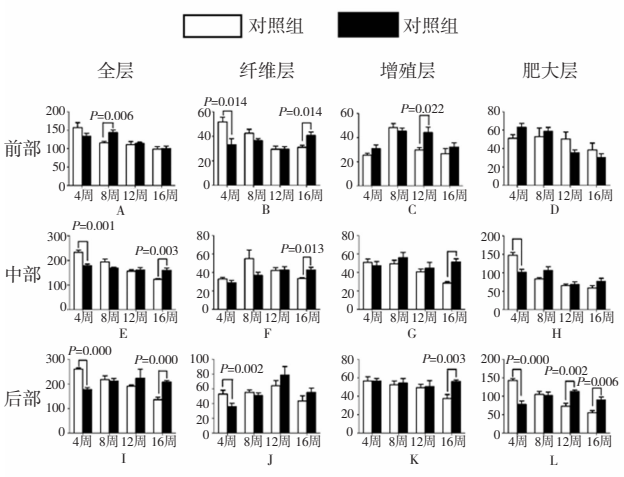


A. 大鼠颞下颌关节 HE 和番红 O- 固绿染色（200 ×）



B. 改良 Mankin 评分（n=6）

图 5　大鼠颞下颌关节组织病理学染色及评分



A、E、I 依次为髁突软骨前、中、后软骨全层厚度；B、F、J 依次为髁突软骨前、中、后纤维层软骨厚度；C、G、K 依次为髁突软骨前、中、后增殖层软骨厚度；D、H、L 依次为髁突软骨前、中、后肥大层软骨厚度

图 6　大鼠髁突各层软骨厚度变化

3　讨　论

在人体所有的大小关节中，TMJ 是唯一受咬合干扰因素影响的关节，所以研究咬合干扰对 TMJ 软骨的作用意义深远而重大。本实验采用单侧咬合创伤的方法造成了大鼠的 TMJ-OA。与其他研究相比[5]，虽然造成的软骨病损程度相对较轻，但是本模型更加符合临床患者颞下颌关节疾病的发病病因。

在造模完成后，发现大鼠短期内口中异物的排斥反应较明显，经常性的搔刮右侧颌面部，导致短期内可观察到大鼠眼周红肿，并可见大鼠的被毛杂乱、泛黄，说明咬合创伤对大鼠造成的颌面部疼痛[7]扰乱了大鼠的正常理毛行为[8]。实验组大鼠体质量增长趋势明显慢于对照组，在 2 周内实验组与对照组大鼠体质量有统计学差异（t_1=4.757，P_1=0.000；t_2=3.096，P_2=0.003），但是实验组大鼠体质量并没有降低，说明大鼠的耐受力很强，有研究[9]发现雄性大鼠对咬合抬高具有较好的适应能力，适应一段时间后可以基本恢复正常状态。所以本动物模型较适合于长期观察咬合不平衡造成的颞下颌关节组织病理学变化。下颌骨 X 线片可见大鼠创伤侧牙周及根尖有损伤，说明大鼠口内的咬合高点真实存在且效果较好[10]。

TMJ 是下颌骨发育的生长中心[2]，在咀嚼、呼吸和言语功能中起着至关重要的作用[11]。TMJ-OA 引发因素较多，Wang 等[12]的研究将 TMJ-OA 的病因总结为炎症因素、过度的机械应力、软骨下骨的非正常改建、软骨细胞凋亡、分解代谢酶、雌激素和基因因素。然而众多因素最终导致的临床病理却类似，致使该疾病的病因研究变得困难。所以，利用可控性的动物实验来实现病因的均质性，减少其他因素的干扰是很有必要的。为了能够更好地研究颞下颌关节病，学者们用不同动物进行研究，例如大鼠[13]、荷兰猪[14-15]、兔[16-19]、山羊[20-21]、小型猪[22]、犬[23]、猴[24]等。荷兰猪作为一种自发性骨关节炎的动物，在研究人类自发性骨关节炎方面有着特别的优势，但其缺点是病程较长[25]。猴的 TMJ 形态和功能与人极为相似，但由于饲养成本和条件等因素限制，一直未能广泛应用。而 Lekkas 通过研究发现大鼠颞下颌关节髁突和关节盘损伤的病理变化与人类较为相似，可以作为较为理想的实验动物来研究颞颌关节系统疾病[26]。

目前，实验诱导动物颞下颌关节骨关节炎模型尚无一个“金标准”，方法主要包括外科手术[27]、关节腔内化学药物注射[28]、关节外诱导[29]、基因敲除[30-32]和咬合干扰[33-35]等，这些方法各有其优缺点[36]，而咬合干扰是 TMJ-OA 所特有的致病因素且临床较为多见，因此，咬合干扰模型较为适用于 TMJ-OA的发病机制研究。造成大鼠咬合干扰的方法主要有以下几种：Yamasaki[24]在猴的下颌磨牙安放金属冠抬高咬合，30 d 后，发现髁突软骨反应性增厚，60 d 时观察到软骨细胞排列紊乱、软骨细胞呈不规则形态等典型的退行性 TMJ-OA 疾病特征，此种方法缺点为实验技术水平要求较高，在猴口内不易操作，且牙体的预备可能会引起猴的牙髓敏感及疼痛；王国伟[35]等采用正畸方法移动大鼠牙齿，造成咬合紊乱，术后第 8 周和 12 周大鼠 TMJ 软骨细胞发生了明显的骨关节炎样病损，但此方法造成的 TMJ-OA 尚且存在一定的争议性：运用正畸的方法移动牙齿，对牙齿的移动量难以定量控制，大鼠有磨牙的习惯，且牙齿处于不断萌发的状态，在牙齿的缓慢移动过程中，早接触点难以避免的会被磨平，这种渐进性的、较轻微的咬合干扰很难造成较为明显的 TMJ 病损，只适于 TMJ-OA 疾病的早期研究；陈霜[37]用结扎丝的方法造成大鼠急性咬合创伤，8 周观察到髁突软骨的退行性病变；另有研究者[7]将大鼠磨牙髓腔内打入桩钉来造成咬合创伤；上述后 2 种方法在造模过程中在不同程度上都对动物口腔组织造成了创伤，且实验操作要求高，而本实验直接将正畸方弓丝固定于大鼠磨牙（𬌗）面，避免了大鼠牙面结扎丝固定高点装置或向大鼠牙髓腔内打入桩钉带来的牙周或牙髓疼痛干扰因素，且操作时间短，不会对大鼠

造成额外的刺激和伤害，对研究单纯咬合创伤造成颞下颌关节病及创伤引起的牙髓、牙周、口颌肌肉、神经系统疾病具有独特的优势。但是本实验也有一定的局限性：第一，由于操作位于大鼠上颌后牙区，整个操作过程中大鼠都处于张口的状态，有研究证明，在麻醉状态下将兔用特殊装置施加力（>2N）使其每日大张嘴 3 h，持续 7 d，兔髁突软骨发生了 OA 样病损，所以本实验操作时严格控制大鼠张嘴程度（<1.5 cm），尽可能减少张嘴对大鼠TMJ 的损伤性影响[29]。第二，在预实验的操作过程中，本研究发现堆塑树脂时易在磨牙颊侧造成悬突，其与大鼠颊侧软组织过度摩擦而易产生创伤，加之食物残渣的堆积，导致大鼠口腔易发生炎症损伤，可能对实验结果造成一定干扰。而后课题组对实验进行改进，减少光固化流动树脂的用量，使安放弓丝后，树脂不会过多地向颊舌侧流动，消除了尖锐树脂边缘对大鼠口腔软组织的刺激损伤。

单侧咬合创伤造成的 TMJ 软骨病损较轻，这是由于 TMJ 关节软骨组织结构的特殊性——表面覆盖一层坚韧的纤维软骨，所以间接的创伤损害，TMJ 软骨通常不会出现垂直开裂，甚至剥脱等严重病损。本研究通过对软骨各层厚度的测量，发现咬合创伤在早期造成了软骨组织的反应性增生；在实验后期，与对照组相比，软骨厚度虽稍有增加，但是通过 HE 染色组织切片观察，发现软骨细胞各层层次紊乱，增殖层出现空白区，软骨数量减少，表明软骨组织此时已经出现了失代偿，番红 O 染色同样证明：咬合创伤后，细胞外蛋白聚糖丢失严重，呈现退行性的变化。本实验 8 周时观察到的软骨病理学改变与临床颞下颌关节病理研究[1,38]所得结果基本相符：髁突表面不平整，软骨出现水平裂隙，软骨细胞数量减少，细胞外基质退变等，是可靠的研究咬合紊乱所致骨关节炎的动物模型。

可靠的动物模型是研究疾病病因及治疗的基础。近年来，很多学者对 TMJ-OA 的病因及治疗进行了探索。有学者[39]向兔 TMJ 关节腔内注射二型胶原酶造成骨关节炎，并移植骨髓间充质干细胞进行治疗，结果表明干细胞治疗有效，该模型的优点是简单快速地造成了较为明显的 OA，但是存在不足：一是没有很好地模拟 TMJ-OA 临床发病因素；二是在注射药物过程中可能会造成关节盘的穿孔或软骨组织的机械损伤。另有学者[40]切除兔 TMJ 关节盘造成 OA，腔内注射重组 TGF-1 因子进行治疗，结果表明软骨的破坏可被缓解，该模型可迅速造成软骨组织的破坏，但是关节盘的损伤是 OA 的结局而不是 OA 的始动因素，与临床病因有一定的差距。目前，在 TMJ-OA 的治疗研究中，学者们普遍运用手术及关节腔内注射药物的方式造成 OA，虽说造成的 OA 组织病理学上与临床相似，但是这些模型仅适用于病损晚期的治疗研究，而对于疾病早期的预防及治疗不适用。

目前，虽然已有学者[41]研究了咬合创伤对动物口颌肌肉、神经以及颞下颌关节的影响，但是关于咬合创伤对大鼠颞下颌关节长期病理变化的研究少有报道。本实验研究了大鼠咬合创伤后 4 周、8 周、12 周及 16 周时 TMJ 的病理状态，较为长期地观察了咬合创伤对大鼠 TMJ 的组织病理学影响，为 TMJ-OA 发病机制的研究以及相关治疗手段的介入时机奠定了研究基础。

参 考 文 献

[1] Dijkgraaf LC, de Bont LG, Boering G, et al. The structure, biochemistry, and metabolism of osteoarthritic cartilage: a review of the literature[J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 1995, 53(10): 1182-1192.

[2] Shen G, Darendeliler MA. The adaptive remodeling of condylar cartilage--a transition from chondrogenesis to osteogenesis[J]. Journal of Dental Research, 2005, 84(8): 691-699.

[3] Ikeda Y, Yonemitsu I, Takei M, et al. Mechanical loading leads to osteoarthritis-like changes in the hypofunctional temporomandibular joint in rats[J]. Archives of Oral Biology, 2014, 59(12): 1368-1376.

[4] Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment[J]. Journal of Dental Research, 2008, 87(4): 296-307.

[5] Meng J, Ma X, Ma D, et al. Microarray analysis of differential gene expression in temporomandibular joint condylar cartilage after experimentally induced osteoarthritis[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2005, 13(12): 1115-1125.

[6] Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data[J]. The Journal of Bone and Joint Surgery American Volume, 1971, 53(3): 523-537.

[7] 刘晓东，王美青，孙 磊，等. 单侧咬合创伤致大鼠咬肌痛觉敏感的行为学研究[J]. 实用口腔医学杂志，2005，21(4)：523-526.

[8] Ro JY, Capra N, Masri R. Development of a behavioral assessment of craniofacial muscle pain in lightly anesthetized rats[J]. Pain, 2003, 104(1-2): 179-185.

[9] Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. Histologic changes in rat masticatory muscles subsequent to experimental increase of the occlusal vertical dimension[J]. The Journal of Prosthetic Dentistry, 1983, 50(5): 725-732.

[10] 静 贾，刘洪臣，黄 湛，等. 建立大鼠咬合创伤动物模型[J]. 中国临床康复，2005，9(18)：90-91.

[11] Scrivani SJ,Keith DA,Kaban LB. Temporomandibular disorders[J]. The New England Journal of Medicine,2008,359(25):2693-2705.

[12] Wang XD,Zhang JN,Gan YH,et al. Current understanding of pathogenesis and treatment of TMJ osteoarthritis[J]. Journal of Dental Research,2015,94(5):666-673.

[13] Kartha S,Zhou T,Granquist EJ,et al. Development of a rat model of mechanically induced tunable pain and associated temporomandibular joint responses[J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery,2016,74(1):54.e1-10.

[14] Wang T,Wen CY,Yan CH,et al. Spatial and temporal changes of subchondral bone proceed to microscopic articular cartilage degeneration in guinea pigs with spontaneous osteoarthritis[J]. Osteoarthritis and Cartilage,2013,21(4):574-581.

[15] Wu M,Lu H,Yu F,et al. Trend of Cadherin-11 expression and its impact on cartilage degradation in the temporomandibular joints of guinea pigs with spontaneous osteoarthritis[J]. Journal of Oral Pathology & Medicine,2015,45(7):534-538.

[16] Kałuzyński K,Trybek G,Smektała T,et al. Effect of methylprednisolone,hyaluronic acid and pioglitazone on histological remodeling of temporomandibular joint cartilage in rabbits affected by drug-induced osteoarthritis[J]. Postepy Higieny Medycyny Doswiadczalnej (Online),2016,70:74-79.

[17] Artuzi FE,Langie R,Abreu MC,et al. Rabbit model for osteoarthrosis of the temporomandibular joint as a basis for assessment of outcomes after intervention[J]. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery,2016,54(5):e33-37.

[18] Guomin W,Songsong Z,Xiumei S,et al. Subchondral bone changes and chondrogenic capacity of progenitor cells from subchondral bone in the collagenase-induced temporomandibular joints osteoarthritis rabbit model[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(9):9782-9789.

[19] Henderson SE,Tudares MA,Tashman S,et al. Decreased temporomandibular joint range of motion in a model of early osteoarthritis in the rabbit[J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery,2015,73(9):1695-1705.

[20] Bifano CA,Hubbard GB,Bifano SL. Preserving the posterior superior synovial recess during allograft TMJ diskal condylar transplantation in the adult goat[J]. Oral Surgery,Oral Medicine,Oral Pathology,Oral Radiology,and Endodontics,1997,84(5):483-487.

[21] 刘桂才,刘彦普,刘 军,等. 多功能生物撞击机致间接性幼年山羊颞下颌关节创伤模型的组织病理学变化[J]. 中国临床康复,2005,9(10):76-77.

[22] Kaduk WM,Koppe T. Metric analysis of the upper space of the temporomandibular joint(TMJ) in pigs(Sus scrofa domestica) for evaluation of the pig as a model for arthroscopic TMJ surgery[J]. Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger,2007,189(4):367-370.

[23] Zhou N,Song SH,Mai HM,et al. The effect of dog bilateral distraction osteogensis in temporomandibular joint[J]. West China Journal of Stomatology,2005,23(1):72-74.

[24] Yamasaki H. An Experimental study on changes of the bilateral temporomandibular joint by the unilateral bite raising[J]. Journal of the Kyushu Dental Society,1979,33:257-280.

[25] Gurkan I,Ranganathan A,Yang X,et al. Modification of osteoarthritis in the guinea pig with pulsed low-intensity ultrasound treatment[J]. Osteoarthritis and Cartilage,2010,18(5):724-733.

[26] Lekkas DC.Experimental degenerative temporomandibular joint disease[J]. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery,1994,23(6 Pt 2):423-424.

[27] Lekkas C,Honee GLJM,Hooff AVD. Effects of experimental defects of the articular disc of the temporomandibular joint in rats[J]. Journal of Oral Rehabilitation,1988,15(2):141-148.

[28] Kitoh Y,Katsuramaki T,Tanaka H,et al. Effect of SL-1010(sodium hyaluronate with high molecular weight) on experimental osteoarthritis induced by intra-articularly applied papain in rabbits[J]. Nihon Yakurigaku Zasshi Folia Pharmacologica Japonica,1992,100(1):67-76.

[29] Fujisawa T,Kuboki T,Kasai T,et al. A repetitive,steady mouth opening induced an osteoarthritis-like lesion in the rabbit temporomandibular joint[J]. Journal of Dental Research,2003,82(9):731-735.

[30] Wadhwa S,Embree MC,Kilts T,et al. Accelerated osteoarthritis in the temporomandibular joint of biglycan/fibromodulin double-deficient mice[J]. Osteoarthritis and Cartilage,2005,13(9):817-827.

[31] Ben S,Williams BO,Frank B,et al. Cartilage-specific deletion of Mig-6 results in osteoarthritis-like disorder with excessive articular chondrocyte proliferation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2014,111(7):2590-2595.

[32] Wang XY,Chen Y,Tang XJ,et al. AMD3100 attenuates matrix metalloprotease-3 and -9 expressions and prevents cartilage degradation in a monosodium iodo-acetate-induced rat model of temporomandibular osteoarthritis[J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery,2016,74(5):927.e1-13.

[33] Henderson SE,Lowe JR,Tudares MA,et al. Temporomandibular joint fibrocartilage degeneration from unilateral dental splints[J]. Archives of Oral Biology,2015,60(1):1-11.

[34] Kuang B,Dai J,Wang QY,et al. Combined degenerative and regenerative remodeling responses of the mandibular condyle to experimentally induced disordered occlusion[J]. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics,2013,143(1):69-76.

[35] Wang GW,Wang MQ,Wang XJ,et al. Changes in the expression of MMP-3,MMP-9,TIMP-1 and aggrecan in the condylar cartilage of rats induced by experimentally created disordered occlusion[J]. Archives of Oral Biology,2010,55(11):887-895.

[36] 杨文英,张文丽,罗应伟. 颞下颌关节骨关节炎动物模型的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志,2015,42(6):677-680.

[37] 陈 霜. 急、慢性咬合干扰致雌性大鼠咀嚼肌痛觉敏感及肌纤维表型转化的研究[D]. 西安:第四军医大学,2008.

[38] 秦霞南,龙 星,李金荣,等. 颞下颌关节骨关节病临床病理研究[J]. 口腔医学研究,2005,21(4):440-442.

[39] 杨兴华,彭 琳,刘云生,等. 骨髓间充质干细胞移植治疗颞下颌关节骨关节病[J]. 中国组织工程研究,2013,17(19):3488-3494.

[40] 满 城,张 碧,马永清,等. 关节腔注射 TGF-1 治疗兔颞下颌关节骨关节炎的实验研究[J]. 临床口腔医学杂志,2009,25(12):714-717.

[41] 赵 晓,刘 迪,孟春秀,等. 咬合创伤大鼠颞下颌关节囊神经中蛋白基因产物 9.5 的表达变化[J]. 口腔颌面修复学杂志,2013,14(2):69-73.

（责任编辑：张辉洁）