

实验研究

增龄及运动负荷对 C57 黑鼠关节软骨影响的组织病理学观察

汪青春* 石印玉 沈培芝 徐宇

(上海中医药大学附属曙光医院,上海 200021)

【摘要】目的 观察年龄增长和运动负荷对骨关节的影响。方法 将 C57 黑鼠 42 只随机分成自然增龄组和运动负荷组,自然增龄组小鼠分别于出生后 6 周、12 周、20 周、28 周处死;负荷组小鼠分别于 6 周、14 周、22 周进行行走训练,于 12 周、20 周、28 周处死,观察两组动物关节软骨组织病理学的变化。结果 负荷组的自发性骨关节炎的发生率及软骨退变严重度,均高于自然增龄组。结论 C57 黑鼠关节软骨随增龄自发 OA 样退变,运动负荷可加速软骨退变进程。

【关键词】 骨关节炎 软骨,关节 病理学

Effect of aging and sports-loading on articular cartilage of C57 black mice—an histopathological study

WANG Qing-chun, SHI Yin-yu, SHEN Pei-zhi, et al. The Affiliated Shuguang Hospital, Shanghai University of TCM (Shanghai, 200021)

【Abstract】 Objective To observe the effects of aging and sports-loading on the articular cartilage of C57 black mice. **Methods** 42 C57 black mice were divided randomly into aging group and sports-loading group. The mice of aging group were sacrificed at 6th, 12th, 20th and 28th weeks. The mice of sports-loading were trained walking at 6th, 14th, 22th weeks and were sacrificed at 12th, 20th and 28th weeks. The histopathological changes of knee articular cartilage in these two groups were compared under light microscope. **Results** The occurrence of osteoarthritis and the severity of cartilage degeneration in sports-loading group were higher than those in aging group. **Conclusion** Spontaneous osteoarthritis developed spontaneously in articular cartilage of C57 black mice by aging, and the process of cartilage degeneration was accelerated by sports-loading.

【Key Words】 Osteoarthritis Cartilage, articular Pathology

C57 黑鼠因其遗传学特征,具有自发骨关节炎(osteoarthritis, OA)的特性,国外将其作为原发性 OA 的动物模型,国内尚未见相关报道。本研究通过组织病理学对比观察 C57 黑鼠关节软骨退变过程及负荷对其的影响,探讨负荷在关节软骨退变过程的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 成年 C57 黑鼠兄妹交配繁育,所得第三代健康雄性黑鼠供实验用,由上海中医药大学动物实验中心提供。

1.2 分组 42 只 C57 黑鼠随机分为两大组:自然增龄组,小鼠在垫以薄片木屑的塑料箱内饲养,自由摄取固体饲料和水,分别于出生后 6W、12W、20W、28W 龄处死;负荷组,饲养条件同上,分别于 6W、14W、22W 龄在电动跑台上进行 1W 的适应性训练后,每天进行一次行走训练(8m/min × 5min),每周 5 次,连续 4W,运动负荷结束,休息 1W 后分别于 12W、

20W、28W 处死。

1.3 组织病理学观察 将小鼠脱颈处死,不打开膝关节囊快速采取膝关节标本,福尔马林固定,石蜡切片,HE 染色,光镜观察膝关节软骨、软骨下骨、骺板、半月板及滑膜的变化^[1]。关节软骨损伤程度依据 Wilhelmi 分类^[2],并按 Mankin Score 法^[3]计算软骨降解程度(OA 积分)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 统计软件包分别进行 *t* 检验和 *q* 检验, α 值取 0.05。

2 结果

2.1 OA 发生率及 OA 积分 级以上变化的出现率 自然增龄组为:6W 时 0%、12W 时 0%、20W 时 16.7%、28W 时 66.7%,负荷组为:12W 时 66.7%、20W 时 83.3%、28W 时 100%。OA 积分两组比较有显著性差异。两组都有随增龄 OA 发生率增高的变化,与自然增龄组相比,运动负荷组 OA

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39570880)

*现在第一军医大学中医系骨伤科(广州 510515)工作

变化提前且严重(见表 1)。

表 1 增龄及负荷对 C57 黑鼠膝关节 OA 发生率、OA 积分的影响

组别	鼠龄	只数	OA 分级					OA 积分	OA 发生率
			0	1	2	3	4		
自然增龄组	6W	4	4	0	0	0	0	0	0%
	12W	6	6	0	0	0	0	0	0%
	20W	6	5	1	0	0	0	0.23 [#]	16.7%
	28W	6	2	3	0	1	0	2.33 [#]	66.7%
运动负荷组	12W	6	2	4	0	0	0	2.0 [*]	66.7%
	20W	6	1	3	1	1	0	5.7 ^{*#}	83.3%
	28W	5 [§]	0	2	0	2	1	8.8 ^{*#}	100.0%

注: §有 1 只小鼠因肺炎死亡未计入。*与自然增龄组相比, t 检验, $p < 0.05$; 组内 q 检验, 与 12W 相比, # $p < 0.05$

2.2 关节软骨与软骨下骨的组织病理学变化

2.2.1 自然增龄组 6W 龄小鼠, 关节软骨的表面光滑, 四层结构清晰; 表层较薄, 软骨细胞呈扁平形, 核浓染呈椭圆形, 长轴与关节表面平行; 移行层软骨细胞较小, 核明显; 放射层软骨细胞纵行排列成柱状; 其下为钙化层, 与软骨下骨相连, 钙化层软骨细胞较少, 软骨全层未见潮标。12W 龄, 关节软骨与软骨下骨结构与 6W 相似, 但在钙化层与放射层之间可见清晰的潮标, HE 染色呈深蓝色, 呈线形平行于软骨表面(见图 1)。20W 龄, 胫骨表面负重中心稍前方之关节软骨不平整, 最表层排列的扁平软骨细胞脱落、消失, 核染色低下。28W 龄, 1 只黑鼠胫骨关节软骨表面糜烂, 裂隙出现, 并深入到放射层, 软骨细胞密度不一, 结构紊乱。

2.2.2 运动负荷组 12W 龄小鼠, 软骨层次清晰, 潮标明显, 位于放射层与钙化层之间, 潮标上下软骨厚度相近, 约为 1:1。胫骨平台后方软骨表面破溃, 软骨下骨向上伸入软骨钙化层, 软骨下骨小梁部分粗化, 面积增大(见图 2); 有的细小, 面积减少。软骨细胞分布不均, 局部区域软骨细胞消失。20W 龄, 胫骨软骨潮标上移, 接近移行层, 潮标上下软骨厚度比为 1:4, 胫骨平台前方软骨失去正常层次, 表面破溃, 软骨细胞丢失, 软骨钙化层向上伸展增厚, 部分区域软骨破损深入钙化层。胫骨后侧软骨细胞有簇集现象, 局部活跃、肥大, 部分区域软骨细胞消失、钙化。软骨下骨小梁面积减少。28W 龄软骨破坏程度较 20W 严重, 其中 1 只鼠胫骨软骨呈 OA 级改变: 软骨裂隙波及软骨下骨。

2.2.3 骺板的组织病理学变化 自然增龄组 6W 龄小鼠, 股骨端矢状面骺板近呈“W”形, 胫骨端骺板近呈“~”形, 由生长带、成熟带、变形带及再塑带四层软骨细胞组成。生长带软骨细胞呈柱状排列, 核较大。成熟带细胞肥大、核小。生长带与下三层层厚比约为 2:1。12W 龄, 骺板厚度减少, 软骨细胞大小不一, 部分肥大, 骺板部分钙化。20W 龄及 28W 龄钙化区域进一步增加(见图 3)。

负荷组与同龄小鼠相比, 各组骺板厚度减小, 骺板细胞层次消失、结构紊乱、钙化提前, 软骨细胞稀少(见图 4)。5 只鼠

中 1 只在软骨边缘由软骨骺板处出现大量透明软骨和纤维软骨的增生块, 团块内可见部分骨化区。

2.2.4 半月板的组织病理学变化 自然增龄组 6W 龄小鼠, 半月板为透明软骨, 半月板前节部出现骨化, 可见骨髓腔。随年龄增大, 12W、20W 龄小鼠骨髓腔进一步扩大, 骨化明显, 半月板后节部未见骨化征象(见图 1)。

负荷组小鼠, 半月板前节骨化较自然组明显, 12W 龄半月板前节骨髓腔扩大, 软骨较薄, 密度加大, 似有表面破溃; 20W 龄, 半月板后节始见骨髓腔, 但未见钙化征。

2.2.5 滑膜的组织病理学变化 自然增龄组各年龄小鼠未见明显滑膜增厚及炎症表现。负荷组, 12W 龄小鼠滑膜稍增厚, 无明显中性粒细胞浸润; 20W 龄, 关节前方滑膜衬里细胞增生, 滑膜增厚, 呈指状突出; 28W 龄, 滑膜衬里细胞增生数层, 滑膜基质增生明显, 其内可见增生、扩张的血管, 无明显炎细胞浸润。

3 讨论

3.1 C57 黑鼠关节 OA 变化的主要特征 C57 黑鼠, 6W 龄时软骨层次清晰, 潮标模糊; 生后 12W, 潮标出现, 位于钙化层与放射层之间, 潮标的出现是软骨发育成熟的标志之一。生后 20W 及 28W, 潮标上移, 上下软骨层厚度比减少。随着鼠龄的增加, 软骨表面糜烂、钙化层增厚、潮标紊乱或上移, 严重时上移至移行层, 甚至消失。OA 严重时, 滑膜轻度增生, 炎细胞浸润不明显。

3.2 负荷对关节软骨的影响 在正常关节中, 关节软骨的营养绝大部分来自关节滑液。传统观点认为, 关节活动对软骨营养传递极其重要。在骨关节炎病理中, 关节生物力学的异常改变是重要机制之一, 关节失稳导致应力分布异常, 负荷或应力降低均会引起软骨滑液泵功能以及软骨表面压力感受器调节异常^[4]。C57 黑鼠因其关节软骨遗传基因的特性, 关节软骨随增龄缓慢地进行性退变^[5]。在软骨细胞功能低下的基础上, 增加应力负荷, 关节软骨退变提前且伴有一定的修复反应, 表现为软骨细胞密度降低和软骨表面的磨损与部分区域的软骨细胞簇集、软骨细胞肥大共存。这与单纯的增龄性模型稍有不同, 与临床 OA 所见更为符合。

(本文图 1~4 见插页 3)

参考文献

[1] 高滨显泓, 山本吉藏. C57 ブラックマウスによる自然発症変性関節症の組織学的研究. 日整会志, 1990, 64(4): 271.

[2] Wilhelm G. Effect of C21 524-Su (Pirprofen) on spontaneous osteoarthritis in the mice. Pharmacology, 1978, 16(5): 268.

[3] Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic hips. J Bone Joint Surg (Am), 1971, 53(3): 523.

[4] 顾延, 戴克戎, 裘世静, 等. 应力降低导致关节软骨退变机理的形态学研究. 中华骨科杂志, 1995, 15(9): 631.

[5] Silberberg M, Silberberg R. Age changes of bones and joints in various strains of mice. Am J Anat, 1941, 68(1): 69.

(收稿: 1998-09-21 修回: 1999-03-08 编辑: 房世源)

增龄及运动负荷对 C57 黑鼠关节软骨影响的组织病理学观察

(正文见 517 页)

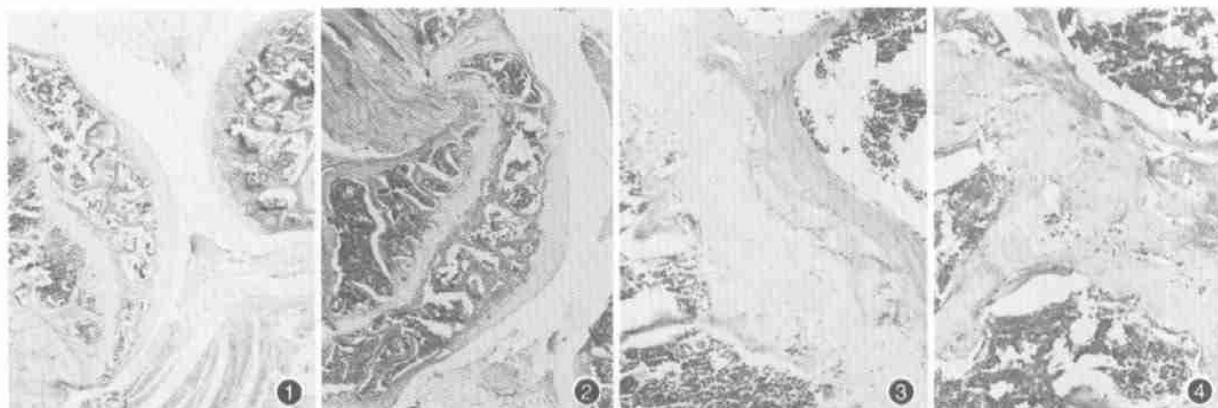


图1 自然增龄组 12W 黑鼠膝关节(HE 染色 $\times 40$)。关节软骨表面平滑, 标识清晰, 结构完整; 前节半月板骨髓腔形成 图2 负荷组 12W 龄黑鼠膝关节(HE 染色 $\times 40$)。胫骨平台前方软骨破损, 表面失去平滑, 标识轻度紊乱, 滑膜增生, 软骨下骨向上增生 图3 自然增龄组 20W 黑鼠胫骨软骨(HE 染色 $\times 100$)。软骨软骨细胞呈四层形态, 部分区域排列轻度紊乱, 软骨细胞减少 图4 负荷组 20W 龄黑鼠胫骨软骨(HE 染色 $\times 100$)。软骨软骨细胞排列明显紊乱, 细胞减少, 钙化明显。

针灸对原发性骨质疏松症影响的实验和临床研究

(正文见 519 页)

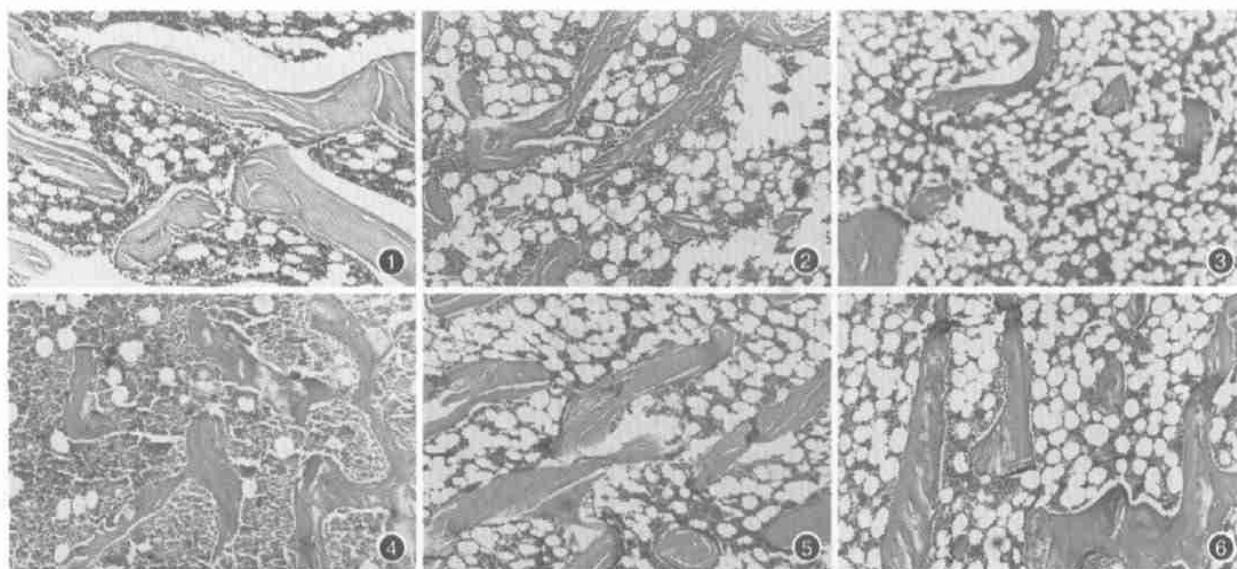


图1 正常对照组骨小梁/髓腔比值为 0.71 HE $\times 100$ 图2 假手术组骨小梁/髓腔比值为 0.67 HE $\times 100$ 图3 模型组骨小梁/髓腔比值为 0.24 HE $\times 100$ 图4 地二醇组骨小梁/髓腔比值为 0.70 HE $\times 100$ 图5 针刺组骨小梁/髓腔比值为 0.60 HE $\times 100$ 图6 艾灸组骨小梁/髓腔比值为 0.73 HE $\times 100$ 。