

**Immunhistochemische Untersuchung zum Auftreten von
Komponenten des Insulin-like-Growth-Factor-Systems bei
synovialer Chondromatose des Kiefergelenks**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Dr. med. Christian Timm Wilms
aus Düsseldorf
2017

Angefertigt mit der Genehmigung
Der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Werner Götz
2. Gutachter: PD Dr. med. Andreas Schröck

Tag der Mündlichen Prüfung: 09. Mai 2017

Aus der Poliklinik für Kieferorthopädie
des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. med. dent. A. Jäger

Für Carla, Oscar und Lara.
Und die, die da noch kommen.

Inhaltsverzeichnis

1	DEUTSCHE ZUSAMMENFASSUNG	6
1.1	Einleitung	6
1.1.1	Die synoviale Chondromatose	6
1.1.2	Das IGF-System	8
1.2	Material und Methoden	10
1.3	Ergebnisse	12
1.4	Diskussion	16
1.5	Zusammenfassung	22
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	24
2	VERÖFFENTLICHUNG	31
	Introduction	31
	Material and Methods	32
	Results	32
	Discussion	33
	Conclusion	34
	References	34
3	DANKSAGUNG	36
4	LEBENS LAUF	37

1 Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

1.1.1 Die synoviale Chondromatose

Bei der synovialen Chondromatose (SC) handelt es sich um eine von der Synovia ausgehende gutartige Erkrankung, bei der es zur Metaplasie der Synovia zu Knorpelgewebe kommt, das sich zu Knorpelkörpern formiert, die wiederum in den Gelenkspalt des betroffenen Gelenks abgegeben werden. In erster Linie sind große Gelenke wie das Knie-, das Hüft- oder das Ellbogengelenk betroffen (O'Connell et al. 2017). Obwohl schon seit dem 16. Jahrhundert bekannt, stellten die Abhandlungen Georg Axhausens über die SC von 1933 eine erste wissenschaftlichen Einordnung in die Erkrankungen des Kiefergelenks dar (Axhausen 1933). Er beschrieb die SC als eine metaplastische Chondrogenese ausgehend von den synovialen Membranen. Eine histomorphologische Untersuchung wurde erst 1959 durch Jaffé veröffentlicht (Jaffé 1959). In den Arbeiten von Milgram 1977 und Blankenstijn et al. 1985 wurde die SC klassifiziert und drei Phasen der Entwicklung der Erkrankung beschrieben: In der initialen Phase I kommt es zu einer chondroiden Metaplasie der Synovia des betroffenen Gelenks ohne freie Gelenkkörper. In Phase II führt diese Metaplasie zur Exkorporation von Gelenkkörpern in den Gelenkspalt. Histologisch ist weiterhin eine aktive Metaplasie mit proliferierenden Chondrozyten samt synovialer Überkleidung der Körper zu erkennen. In der dritten Phase sind Proliferation und aktive Metaplasie der Chondrozyten zum Stillstand gekommen (Milgram 1977, Blankenstijn et al. 1985). Eine Kalzifizierung der Gelenkkörper als mögliche Phase IV wird Reichelt- oder Henderson-Jones-Syndrom genannt (Miyamoto et al. 2000). Apte und Athanasou als auch Yoshida et al. merkten in ihren Untersuchungen an, dass der Ursprung der SC eher in einer reaktiv veränderten Synovia bzw. reaktiv verändertem Knorpelgewebe als in normalem, unverändertem Gewebe liegt (Apte und Athanasou 1992, Yoshida et al. 2013). Eine maligne Transformation ist bislang nicht berichtet worden, kann aber nicht ausgeschlossen werden und bleibt unklar, insbesondere da bereits Chondrosarkome als transformierte SC fehlinterpretiert wurden (Ronald et al.

1978, Perry et al. 1988). Es wird zwischen einer primären und einer sekundären SC unterschieden. Die primäre SC ist hierbei idiopathisch, während der sekundären zugeschrieben wird, durch Parafunktionen (Bruxismus), (Mikro-) Traumata oder degenerative Kiefergelenkerkrankungen wie Arthrosis deformans hervorgerufen zu werden (Norman et al. 1988, Zha et al. 2009). Betroffene Patienten präsentieren Symptome, die typisch für die meisten Erkrankungen des Kiefergelenks sind. Zu nennen sind hierbei Schmerzen, Schwellung, Einschränkungen der Unterkieferbeweglichkeit bis hin zu einer Kieferklemme und Krepitationen (von Lindern et al. 2002, Shah et al. 2011). Zudem tritt die Erkrankung mit einem Verhältnis von 7 : 3 häufiger bei Frauen als bei Männern auf. Das rechte Kiefergelenk ist geringgradig häufiger betroffen (rechts : links = 1,25 : 1). Allerdings wurden auch bilaterale Fälle berichtet, sie bilden aber die Ausnahme (Keogh et al. 2002, Peng et al. 2009). Die Angaben über die Anzahl von Fällen der SC, über die in der Literatur berichtet wurde, differiert zwischen 154 und 242, ebenso die Nomenklatur. Die Bezeichnungen synoviale Chondrometaplasie, Osteochondromatose und synoviale Chondrose werden synonym zu dem Begriff synoviale Chondromatose genutzt. Bei der erwähnten Literatur handelt es sich zumeist um case reports, die über klinische Symptome, radiologische Befunde oder die chirurgische Therapie berichten oder reviews, die sich den gleichen Themen widmen (von Lindern et al. 2002, Guarda-Nardini et al. 2010, Chen et al. 2011, Shah et al. 2011, Cai et al. 2012). Aufgrund der unspezifischen Symptome liegt zwischen erstem Auftreten von Symptomen und der Diagnose der SC ein Zeitraum von einer Woche bis zu 36 Jahren. In etwa der Hälfte der Fälle sind es mehr als 24 Monate. Dies wird auch dadurch hervorgerufen, dass konventionelle Röntgendiagnostik die Gelenkkörper nicht darzustellen vermag, da sie erst in Phase IV verkalken und somit sichtbar werden. Das Gros der diagnostizierten und therapierten Patienten befindet sich aber in Phase II oder III der Erkrankung. Die Therapie der SC ist chirurgisch. Durch eine Arthrotomie wird unter Sicht der gesamte Gelenkraum ausgeräumt und sämtliche Synovia samt Diskus entfernt, um ein Rezidiv zu vermeiden (Demeulemeester et al. 1988, McCain und de la Rúa 1989, Sembronio et al. 2008, Guarda-Nardini et al. 2010, Cai et al. 2012). Die Entfernung des Discus articularis ist aber umstritten (Holmlund et al. 2003).

1.1.2 Das IGF-System

Das IGF-System besteht aus den zwei Peptiden IGF-I und -II, zwei spezifischen Rezeptoren IGF-IR und IGF-IIR, sechs Bindungsproteinen (IGFBP-1 bis -6) und einem Glykoprotein, das „acid-labile subunit“ (ALS) genannt wird (Reinecke und Collet 1998, Yakar et al. 2000). Untersuchungen zu IGF-I zeigten, dass 75% hepatisch synthetisiert werden und durch das Growth Hormone (GH) reguliert werden, während die Produktion der übrigen 25% auf die verschiedenen Gewebe im Körper entfällt. In einer Studie konnte auch nachgewiesen werden, dass das hepatische IGF-I zwar quantitativ überwiegt und eine negative Rückkopplung mit dem GH aufweist sowie sowohl den Kohlenhydrat- als auch Lipidstoffwechsel beeinflusst, aber das peripher synthetisierte bei weitem mehr zum Körper- und Organwachstum beiträgt (Ohlsson et al. 2000). Die Schlussfolgerungen wurden als die dual somatomedin hypothesis bezeichnet. IGF-II ist nach bisherigem Stand GH-unabhängig und kann auch ein defizitäres IGF-I Angebot nicht kompensieren (Moerth et al. 2007). Weitere Arbeiten bestätigten diese Ergebnisse (Liu et al. 2000, Yakar et al. 2000). IGF-I und -II sind essentiell für fetales und postnatales Wachstum und beeinflussen beinahe jeden physiologischen Ablauf in jedem Organ bzw. Gewebe des Körpers (D'Ercole et al. 1986, Han et al. 1988, Camacho-Hubner et al. 1991, Camacho-Hubner und Savage 2001, Le Roith et al. 2001). IGF-II werden zumeist Funktionen in der embryonalen und fetalen Entwicklung zugesprochen (O'Dell und Day 1998, Sonksen 2001, Dupont et al. 2003). Im Blut werden das Gros der IGFs in einem Komplex bestehend aus IGF-I oder -II und IGFBP-3 sowie ALS vorgefunden (Furlanetto 1980, Baxter 1990). IGF-I bindet mit sehr hoher Affinität an den IGF-IR. Die Affinität von IGF-II zu IGF-IR liegt etwa um den Faktor drei darunter und die von Insulin für diesen Rezeptor liegt um den Faktor 100 darunter (Werner et al. 1994, Jones und Clemmons 1995). Der IGF-IIR wiederum bindet IGF-II mit 500-fach erhöhter Affinität als IGF-I, Insulin wird nicht gebunden. Möglicherweise besteht eine Aufgabe des IGF-IIR darin, die Konzentration von und damit das Angebot an IGF-II gering zu halten (O'Dell und Day 1998).

Die Hauptaufgabe der sechs Bindungsproteine liegt darin, die Halbwertszeit der IGFs zu verlängern und die IGFs zu den Zielzellen zu transportieren und dort ihre biologische Aktivität zu modulieren. Zusätzlich inhibieren oder promovieren die IGFBPs die Wirkung von IGF-I und -II und speichern sie in der Extrazellulärmatrix. Außerdem werden den IGFBPs IGF-unabhängige Funktionen zugesprochen. Hierzu wurden diverse Untersuchungen durchgeführt (Clemmons et al. 1993, Clemmons et al. 1995, Jones und Clemmons 1995, Rajaram et al. 1997, Reinecke und Collet 1998, Butt et al. 1999, Miyakoshi et al. 2001, Dupont et al. 2003). So zeigt IGFBP-5 alleine z. B. Proliferations-fördernde Wirkung und erhöht die Aktivität der alkalischen Phosphatase. Ebenso als erwiesen gilt, dass IGFBP-1 und -3 je nach Umgebung sowohl hemmend als auch stimulierend wirken können. Darum werden sie auch als „bipotential regulators“ bezeichnet. Die BPs-2 und -4 zeigten bislang nur inhibitorische Funktionen, bei -5 und -6 ist noch keine abschließende Beurteilung gefällt worden (Clemmons et al. 1993, Clemmons et al. 1995, Clemmons 1998, Reinecke und Collet 1998, Conover 2008). Allerdings ist die Frage nach sämtlichen Funktionen der IGFBPs ebenso wenig abschließend geklärt wie die Frage nach der Notwendigkeit für sechs verschiedene Bindungsproteine (Conover 2008).

Die Bedeutung der IGFs, ihrer Rezeptoren und Bindungsproteine auf den Stoffwechsel und die Differenzierung von gesundem und geschädigtem Knorpelgewebe sind Gegenstand einer Vielzahl von Untersuchungen gewesen (Fortier et al. 2002, Fortier et al. 2011, Tang und Wang 2015). So konnte nachgewiesen werden, dass IGF-I mesenchymale Stammzellen derart beeinflussen, dass sie die Synthese von Proteoglykanen und Prokollagen-II induzieren. Diese werden als Marker für Chondrogenese angesehen. Das bedeutet, dass unter IGF-I-Einfluss mesenchymale Stammzellen sich zu Chondroblasten/-zyten differenzieren (Worster et al. 2001). Longobardi et al. kamen zu ähnlichen Ergebnissen und zeigten, dass sich aus Knochenmark gewonnene mesenchymale Stammzellen unter IGF-I Einfluss zu Chondrozyten differenzieren. Der Nachweis dafür gelang über die Synthese der knorpeltypischen Marker Sox-9 und Kollagen Typ-II (Longobardi et al. 2006). Zudem führt die Inkubation von gesundem, normalen Knorpel mit IGF-I zu einer Fülle an anabolen Effekten, während die katabolen reduziert werden

(Schalkwijk et al. 1989, Tyler 1989, Sah et al. 1994). Außerdem wird angenommen, dass IGF-I für den Erhalt der Integrität von Knorpel notwendig ist und sein Fehlen zur Entwicklung von Knorpeldefekten führt (Ekenstedt et al. 2006). Es konnte sogar gezeigt werden, dass IGF-I eine Reparatur von Knorpelschäden bewirkt und die Synovia vor chronischer Entzündung schützt (Fortier et al. 2002, Goodrich et al. 2007). Es wurde jedoch auch nachgewiesen, dass mit höherem Alter und in Fällen von degenerativen Gelenkerkrankungen (Arthrose) die Chondrozyten des betroffenen, erkrankten Knorpelgewebes eine geringere Fähigkeit besitzen, auf die stimulierenden Effekte des IGF-I mit Matrixproteinsynthese zu antworten (Schalkwijk et al. 1989, Dore et al. 1994, Martin et al. 1997, Loeser et al. 2000, Loeser et al. 2002, Fortier und Miller 2006, Boehm et al. 2007, Loeser et al. 2014).

Wie beschrieben besitzt das IGF-System Einfluss auf das prä- und postnatale Wachstum sowohl des Menschen als auch anderer Spezies. Auch im Hinblick auf das Gewebe Knorpel und seinen Stoffwechsel, seine Reifung und Veränderung während physiologischer aber auch aphysiologischer Belastung und auch Schädigung wird dem IGF-System eine grosse Bedeutung zugeschrieben. Vor diesem Hintergrund stellt sich bezüglich der Ätiologie der synovialen Chondromatose die Frage nach einer Beteiligung des IGF-Systems, denn die Ursache der SC ist ungeklärt. Klar ist aber, dass das Ursprungsgewebe dieser Erkrankung das Knorpelgewebe samt seiner bedeckenden Synovia ist.

Darum wird in dieser Arbeit durch immunhistochemische Untersuchungen an humanen Präparaten der SC der Frage nachgegangen, ob eine Beteiligung der IGF-I und -II mit ihren Bindungsproteinen IGFBP-1 bis -6 an der Pathogenese der synovialen Chondromatose des Kiefergelenks möglich erscheint.

1.2 Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden 23 Präparate von 16 Patienten verwendet. Diese Präparate wurden im Rahmen der operativen Therapie der SC durch die Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie des Universitätsklinikums Bonn (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. R. H. Reich) in den Jahren 1996 bis 2013 gewonnen.

<u>Fall</u>	<u>Patienten ID</u>	<u>Geschlecht</u>	<u>Geburtsdatum</u>
1	TM	♀	22.08.1969
2	MI	♀	18.09.1944
3	NA	♂	16.07.1930
4	SA	♂	25.01.1938
5	RK	♂	02.05.1936
6	SG	♀	23.06.1949
7	JJ	♂	08.12.1929
8	MS	♀	13.01.1953
9	KV	♀	14.04.1947
10	TC	♀	20.08.1954
11	TP	♀	17.12.1974
12	FU	♀	21.06.1951
13	DI	♀	27.02.1944
14	KM	♀	27.11.1966
15	HM	♀	02.07.1966
16	BH	♂	03.01.1958

Tabelle 1: Übersicht über die untersuchten Fälle

Die operative Therapie bestand in einer vollständigen Synovektomie und Diskektomie mit Ausräumung der freien Knorpelkörper. Die Diagnose wurde im Rahmen der Routinediagnostik durch das Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn gesichert (Direktor: Prof. Dr. med. G. Kristiansen). Durch das Institut für Pathologie wurden sämtliche Präparate freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Als Kontrollpräparat wurde ein exzidiertes Diskus einer Patientin verwendet, der aufgrund einer schmerzhaften anterioren Diskusverlagerung mit Reposition entfernt werden musste. Die Fixierung, Entkalkung und Einbettung erfolgten im Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn.

Die Schnitte wurden mit einem Rotationsmikrotom HM 3559 der Firma Microm International GmbH hergestellt. Es wurden Schnittserien von 25 Schnitten angefertigt in einer Dicke von 4,5 bis 6,5 µm. Als Übersichtsfärbung wurde Hämatoxylin-Eosin (HE) gewählt. Als histochemische Färbungen diente die PAS-Färbung (periodic acid Schiff reaction) und die Alcianblaufärbung.

Ausgewählte Schnitte wurden mit der Immunoperoxidase-Methode gefärbt. In dem hier gewählten indirekten Verfahren wird ein primärer Antikörper an das zu

detektierende Antigen im Präparat gebunden und in einem zweiten Schritt ein sekundärer Antikörper, der Peroxidase konjugiert ist, an den primären Antikörper gebunden. Um diese Bindung sichtbar zu machen, wird sie durch DAB (3,3'-Diaminobenzidin) gefärbt.

Die Spezifität der verwendeten Antikörper ist sowohl durch die Herstellerangaben als auch durch frühere Studien belegt (Götz et al. 2001, Götz et al. 2005, Götz et al. 2006)

Um zu zeigen, dass es sich bei den dargestellten Reaktionen um spezifische immunhistochemische Reaktionen handelt, wurden als Positivkontrollen Präparate verwendet, an denen diese Reaktionen bereits wissenschaftlich dokumentiert wurden. Dies waren Schnittpräparate kondylärer Hyperplasien und Kiefergelenke von Ratten. Als Negativkontrollen dienten Präparate, denen während der immunhistochemischen Behandlung entweder der Primär- oder der Sekundärantikörper nicht zugegeben wurde. Um unspezifische Farbreaktionen ausschließen zu können, wurden aber alle Schnitte gleichwohl mit DAB gefärbt.

Die Schnittpräparate wurden unter einem Lichtmikroskop Axioskop 2 der Fa. Zeiss, Jena, Deutschland, betrachtet und ausgewertet. Die digitale Speicherung erfolgte mit einer integrierten Kamera. Die Auswertung wurde semiquantitativ durchgeführt und jedem Schnitt die Wertung - = negativ, (+) = schwach positiv, + = positiv, ++ = stark positiv und +++ = sehr stark positiv zugeordnet und in tabellarischer Form zusammengefasst. Entsprechend dem Aufbau der Gewebe wurde differenziert für die Synovia, die Fibro- bzw. Chondrozyten und das bindegewebige Stroma bzw. die chondroide Matrix die immunhistochemische Anfärbung ausgewertet.

1.3 Ergebnisse

Das mittlere Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Operation betrug 54 Jahre (27 bis 68 Jahre). Fünf Patienten waren männlichen und elf weiblichen Geschlechts. Laut den vorliegenden Operationsberichten wurden in allen Fällen freie Gelenkkörper entfernt. Somit befanden sich alle Fälle zumindest in Stadium II oder III nach Milgram. Zwölf Präparate bestanden aus freien Gelenkkörpern mit Synovia und chondroider Matrix. Elf Präparate zeigten Diskusgewebe mit bedeckender Synovia,

Bindegewebe und teilweise auch freien Gelenkkörpern. Da zusätzlich überwiegend eine mehrschichtige Synovia in den Übersichtsfärbungen zu erkennen war, kann davon ausgegangen werden, dass in diesen Fällen Stadium II mit einer aktiven Proliferation vorlag. Allerdings konnte in keinem Präparat ein Gelenkkörper entdeckt werden, der sich noch in der Synovia befand. In den Schnitten der Übersichtsfärbung zeigte sich ein mehrschichtiger Aufbau der Präparate. Unter einer bedeckenden synovialen Membran lag Bindegewebe mit Fibrozyten. Darunter schlossen sich in Präparaten aus freien Knorpelkörpern Chondrome an, die aus Knorpelzellaggregaten bestanden, die von einer chondroiden Matrix umgeben waren.

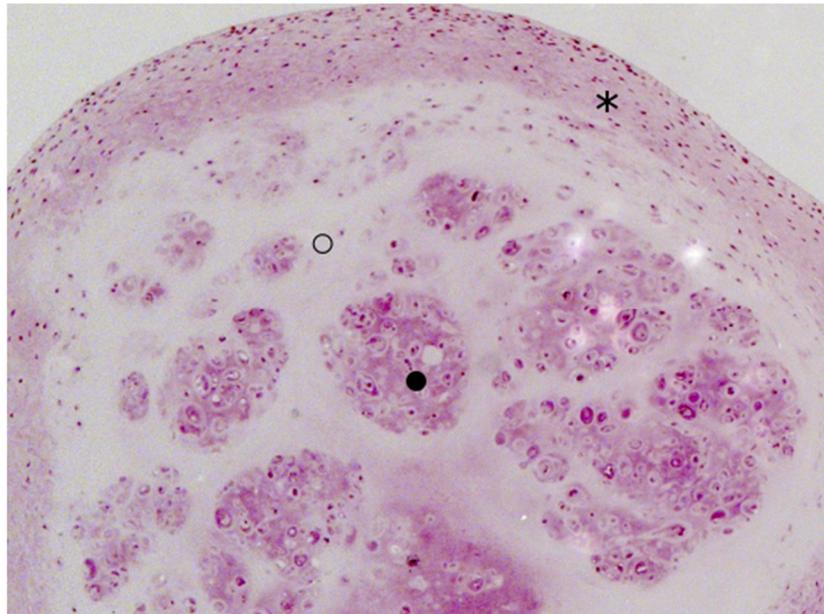


Abbildung 1: Ein freier Gelenkkörper mit Synovia (*), chondroider Matrix (○) und Chondromen (●).
HE-Färbung (Vergrößerung x 10).

In den Diskuspräparaten schloss sich an das subsynoviale Bindegewebe das stromareiche und zellarme Gewebe des Diskus an.

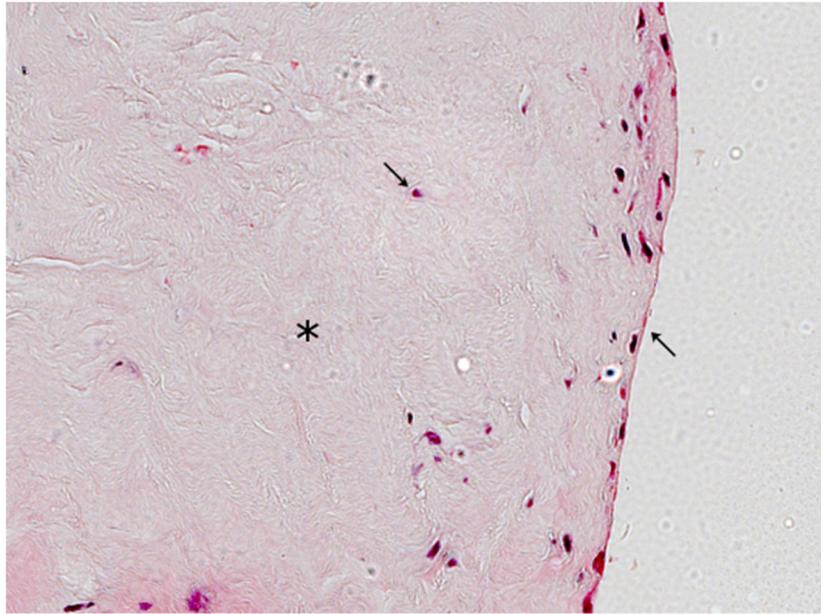


Abbildung 2: Diskusgewebe mit Bindegewebe (*), Fibrozyten (∨) und Synovia (↖).
HE-Färbung (Vergrößerung x 40).

Die mikroskopische Auswertung ergab, dass bis auf vier alle Präparate eine Anfärbung sowohl für IGF-I und IGF-II als auch die sechs Bindungsproteine zeigten. Lediglich drei Präparate zeigten keine Anfärbung für ein ($n = 3$) oder zwei ($n = 1$) der IGFs oder IGFBPs. Im Detail sind dies Fall 1 für IGFBP-6, Fall 4 für IGFBP-2, Fall 10 für IGFBP-4, Fall 16 für IGF-I und -II. Alle diese vier Präparate gehören zu den Resektionspräparaten bestehend aus Diskusgewebe.

Zusammengefasst ist zu erkennen, dass in den immunhistochemischen Färbungen zwischen den Resektionspräparaten mit Diskusgewebe und freien Gelenkkörpern unterschieden werden muss. So konnten IGFBP-4 und -5 im Bereich der Chondrozyten stark positiv (++) angefärbt werden. Zudem wurden IGF-I und IGFBP-5 stark positiv (++) in der Synovia der Präparate bestehend aus freien Knorpelkörpern angefärbt.

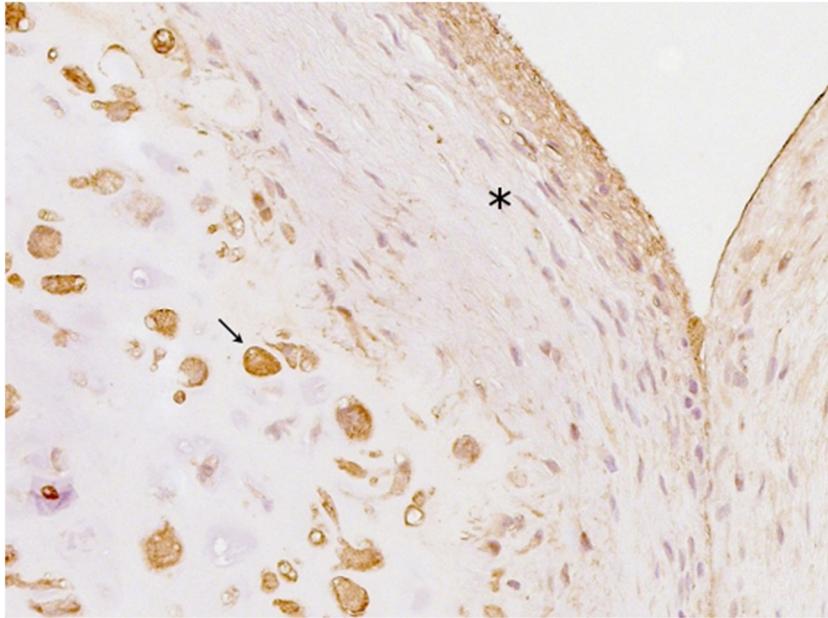


Abbildung 3: Stark positive Anfärbung (++) für IGFBP-5 der Synovia mit darunter liegender chondroider Matrix (*) und der Chondrozyten (v) in einem freien Gelenkkörper. Vergrößerung x 40.

Alle weiteren Komponenten des IGF-Systems wurden in diesen Präparaten nur schwach positiv ((+)) oder positiv (+), in wenigen Fällen auch negativ (-) angefärbt.

Präparate mit freien Gelenkkörpern	IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3	IGFBP-4	IGFBP-5	IGFBP-6
Chondrozyten	+	+	(+)	+	+	++	++	+
Synovia	++	+	(+)	+	+	+	++	+
chondroide Matrix	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+	(+)

Tabelle 2: Übersicht über das Färbeverhalten aller Fälle mit freien Knorpelkörpern

In den Diskuspräparaten lag IGFBP-5 hoch konzentriert in der Synovia und im Bindegewebe vor. Die sonstigen IGFs und IGFBPs waren in allen anderen Präparaten und dargestellten Geweben semiquantitativ nur schwach positiv, positiv oder vereinzelt negativ nachzuweisen. Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die Auswertung:

Präparate mit Diskusgewebe	IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3	IGFBP-4	IGFBP-5	IGFBP-6
Fibrozyten	+	+	+	+	+	+	+	+
Synovia	+	+	+	+	(+)	+	++	+
Bindegewebe	(+)	(+)	-	-	(+)	(+)	++	+

Tabelle 3: Übersicht über das Färbeverhalten aller Fälle mit Diskusgewebe

Das Kontrollpräparat zeigte den gleichen Aufbau wie die anderen Diskuspräparate. Hier wurden an den Fibrozyten IGF-I, -II und die Bindungsproteine 3 bis 5 und in der Synovia IGF-I und -II und IGFBP-2, -3 und -5 stark positiv (++) nachgewiesen. IGFBP-5 wurde auch im Bindegewebe stark positiv angefärbt.

Die Positivkontrolle zeigte erwartungsgemäß eine positive Anfärbung für alle Komponenten des IGF-Systems, die Negativkontrolle keine Anfärbung.

1.4 Diskussion

Die Bedeutung des IGF/IGFBP-Systems für die Erkrankungen des Kiefergelenks wurde bislang nur wenig untersucht. 2007 zeigten Götz et al. eine mögliche Beteiligung an der Genese der kondylären Hyperplasie des Kiefergelenks. Sie nutzten einen gesunden humanen Kondylus als Kontrolle und wiesen nach, dass die Komponenten des IGF-Systems in erkrankten Kondylen stärker nachweisbar sind als in dem gesunden Präparat. Degenerativ veränderte Anteile des Kontrollpräparates zeigten jedoch auch eine vermehrte Anfärbung für die untersuchten IGFs und IGFBPs sowie von IGF-IR und -IIR (Götz et al. 2007). Korrelierend dazu zeigten sich auch in den vorliegenden Untersuchungen keine erheblichen Unterschiede zwischen den von SC betroffenen Gelenken und dem Kontrollpräparat einer schmerzhaften anterioren Diskusverlagerung mit Reposition. Die IGFs und ihre Bindungsproteine sind in den Fibro- und Chondrozyten und der Synovia der SC Präparate nachzuweisen. Das macht es wahrscheinlich, dass die

Wachstumsfaktoren zusammen mit ihren Bindungsproteinen die Metaplasie der Synovia zu Knorpelkörpern beeinflussen, wenn nicht sogar fördern. Wie von Milgram postuliert, formen sich freie Gelenkkörper zuerst in der metaplastischen Synovia und werden dann in den Gelenkspalt abgestoßen (Milgram 1977). Da aber auch im subsynovialen Bindegewebe und an den Fibrozyten IGFs und IGFBPs nachzuweisen sind, könnte die SC ihren Ursprung möglicherweise nicht ausschließlich von metaplastischer Synovia nehmen. Allerdings färben sich die chondroide Matrix und das Bindegewebe schwächer an als die Synovia und die Fibro- und Chondrozyten, was auf eine geringere Bedeutung dieser Gewebe für die Genese hinweisen dürfte. Dass der Nachweis der untersuchten Wachstumsfaktoren auch in exkorporierten Knorpelkörpern gelingt, ist auf die persistierende Proliferation und Metaplasie der Knorpelkörper zurückzuführen, die erst in Stadium III sistieren.

IGF-II ist hinsichtlich pränatalen Wachstums von Bedeutung (O'Dell und Day 1998, Sonksen 2001). Nichtsdestotrotz liegt in dieser Studie kein Unterschied in den immunhistochemischen Färbungen zwischen IGF-I und -II vor, obwohl es sich um adulte Präparate handelt. Lediglich die Synovia der freien Gelenkkörper lässt sich stark positiv für IGF-I anfärben, sonst lassen sich IGF-I und -II nur positiv anfärben. Es ist zusätzlich zu beobachten, dass IGFBP-5 vermehrt in der Synovia und dem Bindegewebe von Diskuspräparaten und vermehrt in der Synovia und den Chondrozyten von freien Knorpelkörpern nachzuweisen ist. Es ist bekannt, dass IGFBP-5 und -6 eine bis um den Faktor 100 höhere Affinität zu IGF-II als zu IGF-I besitzen (Clemmons et al. 1993, Reinecke und Collet 1998, Bach 1999). Hierdurch könnten die Konzentrationen von IGF-I und -II erhöht und durch ihre Präsentation an den spezifischen Rezeptoren (IGF-IR und -IIR) ihre Wirkung verstärkt werden. Dies würde mit den Ergebnissen mehrerer Studien übereinstimmen, die die Funktionen und Wirkungen der IGFBPs untersuchten (Matsumoto et al. 2000, Kiepe et al. 2001, Conover 2008). Diese Ergebnisse werden auch durch die Untersuchungen von Hajjar et al. gestützt. Sie wiesen nach, dass IGF-II das Wachstum des Kiefergelenks von Ratten postnatal positiv fördert (Hajjar et al. 2003). Weiterhin konnte 2004 gezeigt werden, dass IGF-II zu einer Steigerung der DNA Synthese und der Produktion von knorpelspezifischen Glykosaminoglykanen in den Kiefergelenken von Pferden führt (Davenport-Goodall et al. 2004). Hinzu kommt, dass IGFBP-5 die

Wachstums-stimulierenden Effekte von IGF-I triggert (Andress und Birnbaum 1992, Jones und Clemmons 1995). Dies könnte zusätzlich zur Genese der SC beitragen.

Bislang existieren nur wenige immunhistochemische Untersuchungen, die sich mit der SC befassen. Dennoch sind weder die genaue Pathophysiologie noch die Ätiologie der SC geklärt. Allgemein wird zwischen einer primären SC ohne bekannte Ursache und einer sekundären SC auf dem Boden einer degenerativen Kiefergelenkerkrankung, Mikro- (Bruxismus) oder Makrotraumata unterschieden (von Lindern et al. 2002, Zha et al. 2009). Allerdings widersprechen die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse als auch anderer Studien der These einer primären SC. So berichten Chen et al. über einen Fall, in dem die SC nachgewiesenermaßen im unteren Gelenkspalt ihren Ursprung nahm (Chen et al. 2011). Während die Synovia des diskomandibulären Gelenkanteils eindeutige Anzeichen einer chronischen Synovitis und degenerativer Veränderungen zeigte, stellte sich der diskotemporale Gelenkanteil unauffällig dar. In dem Fallbericht von Zha wird über einen Patienten berichtet, bei dem es 15 Jahre nach einem Schlag auf das Kiefergelenk zu einer SC des Kiefergelenks der betroffenen Seite gekommen war (Zha et al. 2009). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen diese Befunde. So können in allen Fällen die Komponenten des IGF-Systems nachgewiesen werden, was eine Beteiligung an der Entstehung dieser Erkrankung wahrscheinlich macht. Allerdings können auch im Kontrollpräparat bestehend aus dem Diskus einer Patientin, die an einer schmerzhaften anterioren Diskusverlagerung mit Reposition litt, sämtliche IGFs und ihre Bindungsproteine nachgewiesen werden. Gestützt wird dies auch durch die Ergebnisse von Götz et al. zur Beteiligung des IGF-Systems an der Ätiologie der kondylären Hyperplasie. Sie zeigten ebenfalls, dass in degenerativ veränderten Anteilen eines sonst gesunden Kondylus, der als Kontrolle diente, die Komponenten des IGF Systems vermehrt nachgewiesen werden konnten als in den gesunden Anteilen (Götz et al. 2007). Für eine Entstehung der SC aus veränderter Synovia sprechen auch die Ergebnisse von Apte und Athanasou, die Gewebe von Fällen der SC und adulten sowie fetalen Knorpels für Ki-67, einem Proliferationsmarker, LCA (leucocyte common antigene = CD-45) und CD-68 (Makrophagen assoziiertes Antigen) immunhistochemisch untersuchten (Apte und Athanasou 1992). Sie schlossen aus ihren Ergebnissen,

dass einerseits aufgrund des geringen Nachweises von Ki-67 es sich bei der SC nicht um eine durch Proliferation, sondern durch Metaplasie verursachte Erkrankung handelt. Andererseits schlussfolgerten sie, dass der Nachweis von eben LCA und CD-68 für eine Entstehung der SC aus reaktiv veränderter Synovia spricht. Dies geht konkordant mit der Arbeit von Helmy et al.. Sie setzten artifiziell Diskusperforationen in den Kiefergelenken von Makaken. Hierdurch gelang es ihnen, Veränderungen in der Synovia hervorzurufen, die mit denen der SC übereinstimmten (Helmy et al. 1989). Die Frage, ob die SC auf dem Boden degenerativer Veränderungen von Knorpel entsteht, können aber wohl nur weitere Untersuchungen sowohl gesunder Gewebsanteile von Kiefergelenken als auch durch zum Beispiel degenerativ veränderte Kiefergelenke im Vergleich zu Präparaten der SC bringen.

Milgram und später Blankenstijn postulierten, dass sich die SC durch Metaplasie der Synovia der betroffenen Gelenke entwickelt (Milgram 1977, Blankenstijn et al. 1985). Allerdings berichteten Mikami et al., dass sowohl in der Gelenkflüssigkeit als auch in Gewebsfragmenten betroffener Kiefergelenke Aggrecan, ein knorpelspezifisches Protein, Kollagen Typ-II, ein Strukturprotein hyalinen Knorpels, und die BMPs-2 und -4 (Bone Morphogenetic Proteins) nachweisbar sind (Mikami et al. 2012). Sie zogen aus ihren Ergebnissen den Schluss, dass die SC dadurch hervorgerufen wird, dass sich synoviale Anteile durch Traumata lösen und im Gelenkspalt zu liegen kommen. Hier führen BMP-2 und -4 zu einer Differenzierung zu Knorpelgewebe, die wiederum Aggrecan und Kollagen Typ-II synthetisieren. Allerdings zeigten die Arbeiten von Apte und Athanasou und Yoshida et al., dass aufgrund des fehlenden oder nur geringen Nachweises von Ki-67, einem Marker für die Proliferationsaktivität von Gewebe, es sich bei der SC um eine Krankheit auf dem Boden einer metaplastischen Umwandlung von einem Gewebe zu einem anderen handelt (Apte und Athanasou 1992, Yoshida et al. 2013). Zusätzlich zeigten Sato et al. in ihrer Studie zur SC, dass sich unter unauffällig erscheinender Synovia Knorpelformationen befinden, die in den Gelenkspalt exkorporiert werden (Sato et al. 2002). In der vorliegenden Arbeit konnte dazu kein Nachweis erbracht werden.

Aufgrund des durchweg positiven Nachweises von IGF-I und -II sowie der Bindungsproteine -1 bis -6 in den in der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastischen Gesichtschirurgie des Universitätsklinikums Bonn gewonnenen Präparaten der SC kann von einer Beteiligung des IGF Systems an der Entstehung dieser Erkrankung ausgegangen werden. Bisher durchgeführte immunhistochemische Untersuchungen zur Ätiologie der SC sind rar. So wird die Beteiligung der Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) Fibroblast Growth Factor Receptor-1 (FGFR-1) Achse in der Arbeit von Sato aus dem Jahr 2002 diskutiert und als wahrscheinlich angenommen (Sato et al. 2002). Allerdings wurden für diese Untersuchung lediglich zwei Fälle der SC untersucht. In diesen konnten FGF-2 und FGFR-1 in den operativ gewonnenen Präparaten nachgewiesen und somit vermutet werden, dass die beteiligten Chondrozyten FGF-2 synthetisieren, dieses an den FGFR-1 andockt und über eine auto- oder parakrine Wirkung die Entstehung der SC fördert. Tojyo berichtete 2004 über den Nachweis des Fibroblast Growth Factor Receptor-3 (FGFR-3) in fünf Fällen primärer SC, der aber nicht in einem Fall sekundärer SC oder in Gewebe aus Kiefergelenken mit internal derangement Erkrankung oder gesundem Diskus- bzw. Synoviagewebe gelang (Tojyo et al. 2004). Daraus wurde gefolgert, dass FGFR-3 wegen seines Potentials in der anabolen Beeinflussung des Knorpelwachstums aus mesenchymalen Stammzellen an der Induktion der SC beteiligt ist. Diese Ergebnisse werden gestützt durch die Untersuchung von Robinson et al., die ebenfalls die mögliche Beteiligung des FGFR-3 und seines spezifischen Liganden FGF-9 an der SC als Thema hatten (Robinson et al. 2000). Vor dem Hintergrund, dass FGFR-3 ein Marker für mesenchymale Knorpelvorläuferzellen ist, wiesen sie in Zellkulturen sowohl den FGFR-3 als auch den FGF-9 in der Gelenkflüssigkeit der betroffenen Gelenke nach. Daraus folgerten sie, dass die erhöhten Level des FGF-9 die FGFR-3-positiven Stammzellen rekrutieren und eine Entstehung der SC begünstigen. In einer jüngeren Arbeit aus dem Jahr 2013 zeigten Wake et al., dass in der Synovialflüssigkeit von zehn von SC betroffenen Gelenken die Konzentrationen von Aggrecan, Interleukin-6 (IL-6) und dem Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF-A) im Vergleich zu gesunden Gelenken erhöht waren (Wake et al. 2013). Zudem exprimierten die Synoviozyten der betroffenen Gelenke ebenfalls den VEGF-A, weshalb diesen Faktoren eine wesentliche Rolle in der

Pathologie der SC zugeschrieben wurde. Allen genannten Untersuchungen liegen in der Regel geringere Fallzahlen zu Grunde als der vorliegenden Arbeit. Um eine reproduzierbare und verlässliche Aussage über die jeweilige Beteiligung der verschiedenen untersuchten Wachstumsfaktoren oder Entzündungsmediatoren an der Entstehung der SC geben zu können, wären höhere Fallzahlen wünschenswert.

In den Arbeiten von Götz et al. zur Ursache der humanen kondylären Hyperplasie und der Beteiligung des IGF Systems an degenerativen Veränderungen von Kiefergelenken im Tiermodell wurde festgestellt, dass die Bindungsproteine durch die ihnen eigene inhibitorische Funktion eine anabole Wirkung der IGF-I und -II supprimieren (Götz et al. 2005, Götz et al. 2007). Dies widerspricht in Teilen den in dieser Arbeit gefundenen Ergebnissen. IGFBP-4 und -5 können stark positiv nachgewiesen werden, ebenso wie IGF-I. Vor dem Hintergrund, dass IGF-I stimulierend auf das Knorpelwachstum wirkt, IGFBP-5 eigene stimulierende, vor allem Proliferations-fördernde Wirkung besitzt und die Wirkung von IGF-I und -II verstärkt, kann behauptet werden, dass in dieser Konstellation die Beteiligung des IGF-System an der Entstehung der SC als wahrscheinlich angesehen werden kann. Selbstverständlich sind die bio- und molekularchemischen Abläufe hoch kompliziert und gerade im Hinblick auf das IGF System bei weitem noch nicht verstanden. Dennoch sollten die hier beschriebenen Ergebnisse vertieft werden und gerade vor der kontroversen Diskussion über die verschiedenen Aspekte der SC hinsichtlich der Frage nach Entstehungsort (oberer versus unterer Gelenkspalt), Entstehungsgewebe (gesunde versus reaktiv veränderter Synovia), Entstehung durch Metaplasie oder Proliferation synovialer Zellen im Gelenkbinnenraum und auch der Frage nach den beteiligten Wachstumsmediatoren in differenzierten Studien nachgegangen werden.

Letztlich besteht über die Frage der Therapie Einigkeit. Diese ist chirurgisch und beinhaltet die Synovektomie samt Diskektomie und Entfernung aller Gelenkkörper. Eine Arthroplastik wird im Falle von Erosionen des Caput mandibulae ebenfalls durchgeführt. Die Entfernung der gesamten Synovia dient dabei zur Rezidivprophylaxe, da sie als Ursprungsort für diese Erkrankung gilt. Nicht chirurgische Ansätze wurden ebenso beschrieben. So züchteten Ikebe et al.

Chondrozyten aus gewonnenen Präparaten der SC an und konnten durch Zugabe von IL-1 die Synthese chondroider Matrix inhibieren (Ikebe et al. 1998). Und Robinson et al. schlagen in ihrer Arbeit die Hemmung der FGF-9 Synthese vor, um die über den FGFR-3 vermittelte Differenzierung mesenchymaler Stammzellen zu Chondrozyten zu hemmen (Robinson et al. 2000). Allerdings wären diese Therapieoptionen nur bei einer bereits immanenten und diagnostizierten SC einsetzbar. Ob hierdurch die chirurgische Entfernung der freien Gelenkkörper entfielen, bleibt anzuzweifeln. Das gleiche gilt für einen therapeutischen Ansatz über das IGF-System. Einerseits könnte eine Intervention über eine lokale Suppression einzelner oder aller Faktoren des IGF-Systems, wenn sie denn möglich wäre, vermutlich die freien Gelenkkörper nicht beseitigen. Andererseits liegen keine Daten vor, durch welche definitiv festgestellt werden könnte, welche Patienten eine SC entwickeln, die erfolgreich präventiv therapiert werden könnte. Somit bleibt die Chirurgie weiterhin Therapie der Wahl.

1.5 Zusammenfassung

Die SC ist eine gutartige Erkrankung der großen Gelenke, deren Ursache bislang ungeklärt ist. Sie kann auch das Kiefergelenk betreffen. Pathogenetisch kommt es zur metaplastischen Bildung von Knorpelzellformationen in der Synovia, die in den Gelenkspalt des betroffenen Gelenks abgegeben werden und nach Sistieren der Metaplasie und Proliferation im Endstadium verkalken können. Die Erkrankung verursacht Schmerzen, Schwellung, Okklusionsstörungen und Krepitation. Es wird davon ausgegangen, dass sie von der Synovia und dem Gelenkknorpel ausgeht. Ziel dieser Arbeit war es, eine mögliche Beteiligung der Insulin-like-growth-factors (IGF-I/-II) und ihrer Bindungsproteine (IGFBP-1 bis -6) an der Entstehung der SC zu untersuchen. Dazu wurden 23 humane Resektionspräparate, die im Rahmen der chirurgischen Therapie der SC gewonnen wurden, immunhistochemisch gefärbt und mikroskopisch untersucht. Die Färbung wurde semiquantitativ bewertet. In der Auswertung zeigte sich, dass besonders die Chondro- und Fibrozyten und die Synovia betroffener Gelenke positiv bis stark positiv für beinahe alle untersuchten IGFs und IGFBPs anfärbten. Die darunter liegenden Gewebe bestehend aus Bindegewebe und chondroider Matrix wurden auch angefärbt, jedoch in geringerem

Maße. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, dass das IGF-System zur Pathogenese der SC beitragen könnte. Insbesondere IGF-I und -II und das ihre Wirkung verstärkende Bindungsprotein-5 scheinen dabei eine mögliche Rolle zu spielen.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Andress DL und Birnbaum RS. Human osteoblast-derived insulin-like growth factor (IGF) binding protein-5 stimulates osteoblast mitogenesis and potentiates IGF action. *J Biol Chem* 1992; 267(31): 22467-22472

Apte SS und Athanasou NA. An immunohistological study of cartilage and synovium in primary synovial chondromatosis. *J Pathol* 1992; 166(3): 277-281

Axhausen G. Pathologie und Therapie des Kiefergelenks. *Fortschr Zahnheilk* 1933; 9: 171

Bach LA. The insulin-like growth factor system: basic and clinical aspects. *Aust N Z J Med* 1999; 29(3): 355-361

Baxter RC. Circulating levels and molecular distribution of the acid-labile (alpha) subunit of the high molecular weight insulin-like growth factor-binding protein complex. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70(5): 1347-1353

Blankestijn J, Panders AK, Vermey A, Scherpbier AJ. Synovial chondromatosis of the temporo-mandibular joint. Report of three cases and a review of the literature. *Cancer* 1985; 55(2): 479-485

Boehm AK, Seth M, Mayr KG, Fortier LA. Hsp90 mediates insulin-like growth factor 1 and interleukin-1beta signaling in an age-dependent manner in equine articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2007; 56(7): 2335-2343

Butt AJ, Firth SM, Baxter RC. The IGF axis and programmed cell death. *Immunol Cell Biol* 1999; 77(3): 256-262

Cai XY, Yang C, Chen MJ, Jiang B, Zhou Q, Jin JM, Yun B, Chen ZZ. Arthroscopic management for synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: a retrospective review of 33 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2012; 70(9): 2106-2113

Camacho-Hubner C, Clemmons DR, D'Ercole AJ. Regulation of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins in transgenic mice with altered expression of growth hormone and IGF-I. *Endocrinology* 1991; 129(3): 1201-1206

Camacho-Hubner C und Savage, M. Insulin-like growth factor -I deficiency. *Horm Res* 2001; 55 Suppl 1: 17-20

Chen MJ, Yang C, Zhang XH, Qiu YT. Synovial chondromatosis originally arising in the lower compartment of temporomandibular joint: a case report and literature review. *J Craniomaxillofac Surg* 2011; 39(6): 459-462

Clemmons DR. Role of insulin-like growth factor binding proteins in controlling IGF actions. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 140(1-2): 19-24

Clemmons DR, Busby WH, Arai T, Nam TJ, Clarke JB, Jones JI, Ankrapp DK. Role of insulin-like growth factor binding proteins in the control of IGF actions. *Prog Growth Factor Res* 1995; 6(2-4): 357-366

Clemmons DR, Jones JI, Busby WH, Wright G. Role of insulin-like growth factor binding proteins in modifying IGF actions. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 692: 10-21

Conover CA. Insulin-like growth factor-binding proteins and bone metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294(1): E10-14

D'Ercole AJ, Hill DJ, Strain AJ, Underwood LE. Tissue and plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor I concentrations in the human fetus during the first half of gestation. *Pediatr Res* 1986; 20(3): 253-255

Davenport-Goodall CL., Boston RC, Richardson DW. Effects of insulin-like growth factor-II on the mitogenic and metabolic activities of equine articular cartilage with and without interleukin 1-beta. *Am J Vet Res* 2004; 65(2): 238-244

Demeulemeester LJ, Bossuyt M, Casselman J, Deschepper C, Ectors N, Van Damme B. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1988; 17(3): 181-182

Dore S, Pelletier JP, DiBattista JA, Tardif G, Brazeau P, Martel-Pelletier J. Human osteoarthritic chondrocytes possess an increased number of insulin-like growth factor 1 binding sites but are unresponsive to its stimulation. Possible role of IGF-1-binding proteins. *Arthritis Rheum* 1994; 37(2): 253-263

Dupont J, Pierre A, Froment P, Moreau C. The insulin-like growth factor axis in cell cycle progression. *Horm Metab Res* 2003; 35(11-12): 740-750

Ekenstedt KJ, Sonntag WE, Loeser RF, Lindgren BR, Carlson CS. Effects of chronic growth hormone and insulin-like growth factor 1 deficiency on osteoarthritis severity in rat knee joints. *Arthritis Rheum* 2006; 54(12): 3850-3858

Fortier LA, Barker JU, Strauss EJ, McCarrel TM, Cole BJ. The role of growth factors in cartilage repair. *Clin Orthop Relat Res* 2011; 469(10): 2706-2715

Fortier LA und Miller BJ. Signaling through the small G-protein Cdc42 is involved in insulin-like growth factor-I resistance in aging articular chondrocytes. *J Orthop Res* 2006; 24(8): 1765-1772

Fortier LA, Mohammed HO, Lust G, Nixon AJ. Insulin-like growth factor-I enhances cell-based repair of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br* 2002; 84(2): 276-288

Furlanetto RW. The somatomedin C binding protein: evidence for a heterologous subunit structure. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51(1): 12-19

Goodrich LR, Hidaka C, Robbins PD, Evans CH, Nixon AJ. Genetic modification of chondrocytes with insulin-like growth factor-1 enhances cartilage healing in an equine model. *J Bone Joint Surg Br* 2007; 89(5): 672-685

Götz W, Duhr S, Jager A. Distribution of components of the insulin-like growth factor system in the temporomandibular joint of the aging mouse. *Growth Dev Aging* 2005; 69(2): 67-79

Götz W, Heinen M, Lossdorfer S, Jager A. Immunohistochemical localization of components of the insulin-like growth factor system in human permanent teeth. *Arch Oral Biol* 2006; 51(5): 387-395

Götz W, Kruger U, Ragotzki S, Lossdorfer S, Jager A. Immunohistochemical localization of components of the insulin-like growth factor-system in human deciduous teeth. *Connect Tissue Res* 2001; 42(4): 291-302

Götz W, Lehmann TS, Appel TR, Rath-Deschner B, Dettmeyer R, Luder HU, Reich RH, Jager A. Distribution of insulin-like growth factors in condylar hyperplasia. *Ann Anat* 2007; 189(4): 347-349

Guarda-Nardini L, Piccotti F, Ferronato G, Manfredini D. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: a case description with systematic literature review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; 39(8): 745-755

Hajjar D, Santos MF, Kimura ET. Propulsive appliance stimulates the synthesis of insulin-like growth factors I and II in the mandibular condylar cartilage of young rats. *Arch Oral Biol* 2003; 48(9): 635-642

Han VK, Lund PK, Lee DC, D'Ercole AJ. Expression of somatomedin/insulin-like growth factor messenger ribonucleic acids in the human fetus: identification, characterization, and tissue distribution. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66(2): 422-429

Helmy ES, Bays RA, Sharawy MM. Synovial chondromatosis associated with experimental osteoarthritis in adult monkeys. *J Oral Maxillofac Surg* 1989; 47(8): 823-827

Holmlund AB, Eriksson L, Reinholt FP. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32(2): 143-147

Ikebe T, Nakayama E, Shinohara M, Takeuchi H, Takenoshita Y. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: the effect of interleukin-1 on loose-body-derived cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85(5): 526-531

Jaffé HL. Jaffé, Henry L.: Tumors and tumorous conditions of the bones and joints. Philadelphia, Pa. Lea & Febiger. 1958. *Cancer* 1959; 12(1): 210-210

Jones JI und Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16(1): 3-34

Keogh CF, Torreggiani WC, Munk PL. Bilateral synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *Clin Radiol* 2002; 57(9): 862

Kiepe D, Andress DL, Mohan S, Standker L, Ulinski T, Himmele R, Mehls O, Tonshoff B. Intact IGF-binding protein-4 and -5 and their respective fragments isolated from chronic renal failure serum differentially modulate IGF-I actions in cultured growth plate chondrocytes. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12(11): 2400-2410

Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 2001; 22(1): 53-74

Liu JL, Yakar S, LeRoith D. Conditional knockout of mouse insulin-like growth factor-1 gene using the Cre/loxP system. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223(4): 344-351

Loeser RF, Carlson CS, Del Carlo M, Cole A. Detection of nitrotyrosine in aging and osteoarthritic cartilage: Correlation of oxidative damage with the presence of interleukin-1beta and with chondrocyte resistance to insulin-like growth factor 1. *Arthritis Rheum* 2002; 46(9): 2349-2357

Loeser RF, Gandhi U, Long DL, Yin W, Chubinskaya S. Aging and oxidative stress reduce the response of human articular chondrocytes to insulin-like growth factor 1 and osteogenic protein 1. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66(8): 2201-2209

Loeser RF, Shanker G, Carlson CS, Gardin JF, Shelton BJ, Sonntag WE. Reduction in the chondrocyte response to insulin-like growth factor 1 in aging and osteoarthritis: studies in a non-human primate model of naturally occurring disease. *Arthritis Rheum* 2000; 43(9): 2110-2120

Longobardi L, O'Rear L, Aakula S, Johnstone B, Shimer K, Chytil A, Horton WA, Moses HL, Spagnoli A. Effect of IGF-I in the chondrogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells in the presence or absence of TGF-beta signaling. *J Bone Miner Res* 2006; 21(4): 626-636

Martin JA, Ellerbroek SM, Buckwalter JA. Age-related decline in chondrocyte response to insulin-like growth factor-I: the role of growth factor binding proteins. *J Orthop Res* 1997; 15(4): 491-498

Matsumoto T, Tsurumoto T, Goldring MB, Shindo H. Differential effects of IGF-binding proteins, IGFBP-3 and IGFBP-5, on IGF-I action and binding to cell membranes of immortalized human chondrocytes. *J Endocrinol* 2000; 166(1): 29-37

McCain JP und de la Rua H. Arthroscopic observation and treatment of synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. Report of a case and review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1989; 18(4): 233-236

Mikami T, Aomura T, Ohira A, Kumagai A, Hoshi H, Takeda Y. Three case reports of synovial chondromatosis of temporomandibular joint: histopathologic analyses of minute cartilaginous loose bodies from joint lavage fluid and comparison with phase II and III cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2012; 70(9): 2099-2105

Milgram JW. Synovial osteochondromatosis: a histopathological study of thirty cases. *J Bone Joint Surg Am* 1977; 59(6): 792-801

Miyakoshi N, Richman C, Kasukawa Y, Linkhart TA, Baylink DJ, Mohan S. Evidence that IGF-binding protein-5 functions as a growth factor. *J Clin Invest* 2001; 107(1): 73-81

Miyamoto H, Sakashita H, Wilson DF, Goss AN. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *Br J of Oral Maxillofac Surg* 2000; 38(3): 205-208

Moerth C, Schneider MR, Renner-Mueller I, Blutke A, Elmlinger MW, Erben RG, Camacho-Hubner C, Hoeflich A, Wolf E. Postnatally elevated levels of insulin-like growth factor (IGF)-II fail to rescue the dwarfism of IGF-I-deficient mice except kidney weight. *Endocrinology* 2007; 148(1): 441-451

Norman JE, Stevenson AR, Painter DM, Sykes DG, Feain LA. Synovial osteochondromatosis of the temporomandibular joint. An historical review with presentation of 3 cases. *J Craniomaxillofac Surg* 1988; 16(5): 212-220

O'Connell L, Memon AR, Foran P, Leen E, Kenny PJ. Synovial chondroma in Hoffa's fat pad: Case report and literature review of a rare disorder. *Int J Surg Case Rep* 2017; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijscr.2017.01.005>

O'Dell SD und Day IN. Insulin-like growth factor II (IGF-II). *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30(7): 767-771

Ohlsson C, Sjogren K, Jansson JO, Isaksson OG. The relative importance of endocrine versus autocrine/paracrine insulin-like growth factor-I in the regulation of body growth. *Pediatr Nephrol* 2000; 14(7): 541-543

Peng LW, Yan DM, Wang YG, Li YD. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: a case report with bilateral occurrence. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67(4): 893-895

Perry BE, McQueen DA, Lin JJ. Synovial chondromatosis with malignant degeneration to chondrosarcoma. Report of a case. *J Bone Joint Surg Am* 1988; 70(8): 1259-1261

Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev* 1997; 18(6): 801-831

Reinecke M und Collet C. The phylogeny of the insulin-like growth factors. *Int Rev Cytol* 1998; 183: 1-94

Robinson D, Hasharoni A, Evron Z, Segal M, Nevo Z. Synovial chondromatosis: the possible role of FGF 9 and FGF receptor 3 in its pathology. *Int J Exp Pathol* 2000; 81(3): 183-189

Ronald JB, Keller EE, Weiland LH. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *J Oral Surg* 1978; 36(1): 13-19

Sah RL, Chen AC, Grodzinsky AJ, Trippel SB. Differential effects of bFGF and IGF-I on matrix metabolism in calf and adult bovine cartilage explants. *Arch Biochem Biophys* 1994; 308(1): 137-147

Sato J, Segami N, Suzuki T, Yoshitake Y, Nishikawa K. The expression of fibroblast growth factor-2 and fibroblast growth factor receptor-1 in chondrocytes in synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. report of two cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31(5): 532-536

Schalkwijk J, Joosten LA, van den Berg WB, van de Putte LB. Chondrocyte nonresponsiveness to insulin-like growth factor 1 in experimental arthritis. *Arthritis Rheum* 1989; 32(7): 894-900

Sembronio S, Albiero Am, Toro C, Robiony M, Politi M. Arthroscopy with open surgery for treatment of synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2008; 46(7): 582-584

Shah SB, Ramanojam S, Gadre PK, Gadre KS. Synovial chondromatosis of temporomandibular joint: journey through 25 decades and a case report. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; 69(11): 2795-2814

Sonksen P. Reflections from a 40 year journey with growth hormone and IGF-I. *Growth Horm IGF Res* 2001; 11(6): 329-335

Tang Y und Wang B. Gene- and stem cell-based therapeutics for cartilage regeneration and repair. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6: 78

Tojyo I, Yamaguti A, Ozaki H, Yoshida H, Fujita S. The expression of fibroblast growth factor receptor-3 in synovial osteochondromatosis of the temporomandibular joint. *Arch Oral Biol* 2004; 49(7): 591-594

Tyler JA. Insulin-like growth factor 1 can decrease degradation and promote synthesis of proteoglycan in cartilage exposed to cytokines. *Biochem J* 1989; 260(2): 543-548

von Lindern JJ, Theuerkauf I, Niederhagen B, Berge S, Appel T, Reich RH. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: clinical, diagnostic, and

histomorphologic findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94(1): 31-38

Wake M, Hamada Y, Kumagai K, Tanaka N, Ikeda Y, Nakatani Y, Suzuki R, Fukui N. Up-regulation of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor-A in the synovial fluid of temporomandibular joints affected by synovial chondromatosis. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2013; 51(2): 164-169

Werner H, Adamo M, Roberts, Jr. CT, LeRoith D. Molecular and cellular aspects of insulin-like growth factor action. *Vitam Horm* 1994; 48: 1-58

Worster AA, Brower-Toland BD, Fortier LA, Bent SJ, Williams J, Nixon AJ. Chondrocytic differentiation of mesenchymal stem cells sequentially exposed to transforming growth factor-beta1 in monolayer and insulin-like growth factor-I in a three-dimensional matrix. *J Orthop Res* 2001; 19(4): 738-749

Yakar S, Liu JL, Le Roith D. The growth hormone/insulin-like growth factor-I system: implications for organ growth and development. *Pediatr Nephrol* 2000; 14(7): 544-549

Yoshida H, Tsuji K, Oshiro N, Wato M, Morita S. Preliminary report of Ki-67 reactivity in synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: an immunohistochemical study. *J Craniomaxillofac Surg* 2013; 41(6): 473-475

Zha W, Zhao YF, Liu Y, Jiang L. A case of synovial chondromatosis of the temporomandibular joint secondary to preauricular trauma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009; 38(11): 1212-1215

2 Veröffentlichung

Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery 45 (2017) 198–202



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery

journal homepage: www.jcmfs.com



Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: Immunohistochemical examinations regarding the role of insulin-like growth factors and their binding proteins in the etiology of this disease



Christian T. Wilms*, Nils Heim, Marcus Teschke, Rudolf R. Reich, Werner Götz

Department of Oral and Maxillofacial and Plastic Surgery (Head: Prof. Dr. Dr. R.H. Reich), University of Bonn, Welschnonnenstraße 17, 53111 Bonn, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Paper received 25 October 2016
Accepted 7 December 2016
Available online 14 December 2016

Keywords:

Insulin-like growth factor (IGF)
Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)
Synovial chondromatosis
Temporomandibular joint

ABSTRACT

Synovial chondromatosis (SC) is a benign disease of the joints without a known cause. It sometimes affects the temporomandibular joint (TMJ) and is accompanied by pain, swelling, malocclusion, and crepitation. It has been divided into three stages by Milgram and is supposed to originate from the synovia and cartilage of a joint (Milgram, 1977b). The aim of this study was to examine an involvement of the insulin-like growth factors (IGF-I/-II) and their binding proteins (IGFBP-1 to -6) in the etiology of this disease. Therefore 23 specimen of SC from 16 patients were immunohistochemically stained and microscopically examined. Staining was assessed semiquantitatively: negative (–), weakly positive ((+)), moderately positive (+), strongly positive (++) and very strongly positive (+++). It could be seen that especially the chondro- and fibrocytes and the synovia showed positive staining for almost all IGFs and IGFBPs. The underlying tissue, consisting of connective tissue or chondroid matrix, was stained as well but more weakly so. We conclude that the IGF/IGFBP system seems to contribute to the pathogenesis of SC, especially IGF-I and -II, and their effects enhancing binding protein 5.

© 2016 European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Insulin-like growth factors I and II (IGF-I/-II) and their six binding proteins (IGFBP-1 to -6) are known to be important in the physiology, development, and longitudinal pre- and postnatal growth of bone and cartilage, but also in its pathology in mammals (D'Ercole, 1996; van Buul-Offers, 1996; Schmidt et al., 2006). Both IGF-I and -II are regulated by association with their binding proteins 1–6, whose affinity for IGF-I and -II is modulated by proteolytic enzymes that cleave them at specific sites (Fowlkes, 1997; Rajaram et al., 1997; Clemmons, 1998). They can have either enhancing or inhibiting effects, depending on their localization. When close to the IGF receptors they seem to increase the impact of IGFs on tissue, whereas when distant from the receptors they seem to inhibit their function and even are supposed to have IGF-independent effects (Jones et al., 1993; Jones and Clemmons, 1995; Conover et al., 2000;

Kiepe et al., 2001, 2002; Schneider et al., 2002). However, so far their exact meaning and function in the complex IGF–IGFBP system is not understood (Conover, 2008).

IGF-I and -II have anabolic effects on proteoglycan synthesis and proliferation of mesenchymal tissues such as bone and cartilage (van Buul-Offers et al., 1994; Salmon and Burkhalter, 1997). They strengthen cartilage by enhancing the production of cartilage oligomeric matrix protein (COMP), which binds to type II and type IX collagen, thus forming bridges between collagen fibrils (Tian and Stogiannidis, 2006). Further anabolic effects have been described and consist of the synthesis of proteoglycan (PG), which protects cartilage from degradation (Schalkwijk et al., 1989; Tyler, 1989; Sah et al., 1994). The potential for chondrogenic differentiation induced by IGF-I, especially in combination with transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) has been shown by Longobardi and Worster (Worster et al., 2001; Longobardi et al., 2006). In animal studies, decreased levels of IGF-I led to the development of cartilaginous lesions in rats (Ekenstedt et al., 2006), and, in contrast, the ability of IGF-I to promote protection of the synovial membrane from chronic non-bacterial inflammation and repair of cartilaginous defects has

* Corresponding author. Fax: +49 228 287 14443.
E-mail address: christian.wilms@ukb.uni-bonn.de (C.T. Wilms).

been shown (Fortier et al., 2002; Goodrich et al., 2007). In the degenerative joint disease known as osteoarthritis (OA), IGF-I seems to stimulate the synthesis of matrix proteins but shows no influence on the degradation of them (Morales, 2008). Furthermore, IGF-I is supposed to play a major role in the etiology of the condylar hyperplasia (CH) and the mechanical transduction and osteoarthritis of the temporomandibular joint (TMJ) (Gotz et al., 2005, 2007).

Synovial chondromatosis (SC) of the TMJ is a very rare disease that presents with pain, swelling, malocclusion, crepitation, and sometimes locked bite due to free cartilaginous bodies within the joint compartment (von Lindern et al., 2002; Holmlund et al., 2003). It was first described by Ambroise Paré in 1558 (Gibaldi, 1980), and its appearance in the TMJ was detected by Georg Axhausen in 1933 (Axhausen, 1933). According to Milgram, SC originates from metaplastic activity in the subsynovial cartilage rather than being a neoplastic disease (Milgram, 1977a, 1977b). A malignant transformation of this benign disease has not yet been reported but remains unclear, especially since chondrosarcomas have been mistaken as transformed SC (Ronald et al., 1978; Perry et al., 1988). Systematic literature reviews differ significantly in the numbers of reported cases of SC in the TMJ; so far only between 154 and 242 cases with involvement of the TMJ have been described, most of them case reports (no large studies) dealing only with clinical symptoms, imaging, and surgical therapy of SC (von Lindern et al., 2002; Guarda-Nardini et al., 2010; Chen et al., 2011; Shah et al., 2011).

The cartilaginous nodules of SC lose their proliferative activity while developing from stage I within the cartilage to stage III as free joint bodies and seem to rise from reactive rather than normal synovial and cartilage tissue (Apte and Athanasou, 1992; Yoshida et al., 2013). The few immunohistochemical studies available suggest that the binding of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) to the fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR-1) and the binding of FGF-9 to FGFR-3 might contribute to the development of SC as well as the transforming growth factor- β (TGF- β) and tenascin, an extracellular glycoprotein abundant in the matrix of developing embryos (Robinson et al., 2000; Sato et al., 2002; Fujita et al., 2004; Tojyo et al., 2004). So far, however, the role of IGFs and their IGFs in the pathogenesis of SC has not been examined.

2. Material and Methods

We obtained 23 specimens from 16 patients (11 female and 5 male) with a mean age of 54 years (range 36–71 years) at the time of operation. The surgery had taken place during the years of 1996–2013 at the Department of Oral and Maxillofacial and Plastic Surgery of the University Hospital of Bonn, Germany. All patients underwent open joint surgery via arthrotomy in which the free joint bodies and the synovial lining of the joint including the disc were removed. The diagnosis of SC was confirmed by the Institute of Pathology of the University Hospital Bonn.

The specimens were immediately fixed in 10% formalin solution, then dehydrated in a suspension of ascending ethanol content and embedded in paraffin. Slices 5 μ m in thickness were cut and deparaffinized in Xylol and rehydrated in graded ethanol suspension, followed by staining with hematoxylin and eosin (HE) and periodic acid–Schiff reaction (PAS) and Alcian Blue for light microscopy. For the immunohistochemistry, the endogenous peroxidase was inhibited through a mixture of methanol and hydrogen peroxide. The immunohistochemical study was carried out using anti-human primary antibodies for insulin-like growth factor (IGF) I and II (Upstate Biotechnology, NY, USA) and their six binding proteins (IGFBP) 1–6 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; WuXi Biosciences, San Diego, CA, USA). These sections were incubated with peroxidase

dextran polymer (Envision, DAKO, Germany) and the staining visualized through 3'3'-diaminobenzidine (DAB, DAKO, Germany).

The staining was assessed semiquantitatively as follows: negative (–), weakly positive (+), moderately positive +, strongly positive (++) and very strongly positive (+++).

For negative controls, the primary antibody was replaced by aqua dest. For positive controls, sections of a condylar hyperplasia were used. Additionally, sections of a disc of the TMJ obtained from a patient with painful anterior disc displacement (ADD) were treated the same as the SC specimens and examined as a reversal test.

3. Results

Twelve specimens consisted of free joint bodies solely with synovia and chondroid matrix (Fig. 1), whereas 11 specimens showed disc tissue with adherent synovia, connecting tissue, and partially joint bodies (Fig. 2). The mean age at the time of operation was 54 years (range 68–27 years). Five patients were male and 11 were female.

The results of the staining were very heterogeneous. Four specimens consisting of disc tissue showed no staining at all for one

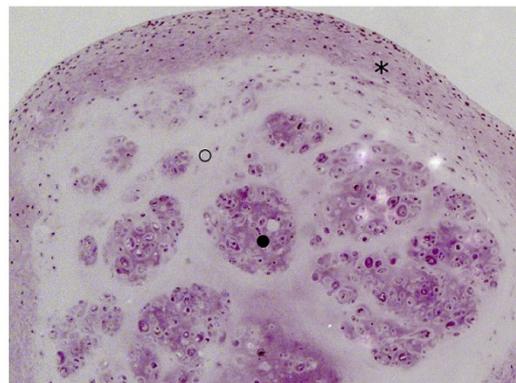


Fig. 1. Loose body with synovia (*), chondroid matrix (O), and clusters of chondrocytes (●). Hematoxylin–eosin stain (magnification $\times 10$).

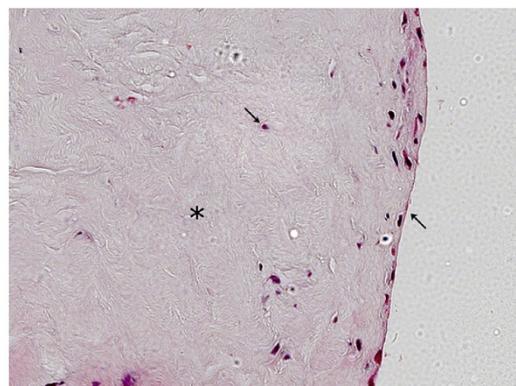


Fig. 2. Typical disc tissue with connective tissue (*), fibrocytes (<), and synovia (<). Hematoxylin–eosin stain (magnification $\times 40$).

($n = 3$) or two ($n = 1$) of the IGFs or the IGFs, neither in the chondro- or fibrocytes, nor in the connective tissue/chondroid matrix or the synovia (Fig. 3). However, none of the specimens was negative for all tested IGFs and IGFs. Regardless of whether the specimens consisted of loose bodies or disc, some specimens showed partially negative staining in cells, synovia, or connective tissue/chondroid matrix for particular IGFs or IGFs. Overall, the staining of the connective tissue/chondroid matrix seems to be weaker than the staining of the chondro-/fibrocytes or the synovia. IGF-4 and -5 seemed to have high affinity with the chondro- as well as to the fibrocytes. The synovia of specimens consisting of disc were stained strongly by IGF-5 and -6 (Fig. 4), in specimens consisting of loose bodies only by IGF-5 (Figs. 5 and 6). Among IGFs, no. 5 seemed to have the highest affinity with connective tissue of disc specimens, with no correlate in the loose bodies specimens (Table 1). The results of the staining of the reversal test with a disc obtained from a patient with painful anterior disc displacement (ADD) showed positive results for all IGFs and IGFs. In these specimens, the synovia as well as the subsynovial tissue contains the examined markers also, but with lower concentration in the subsynovial tissue.

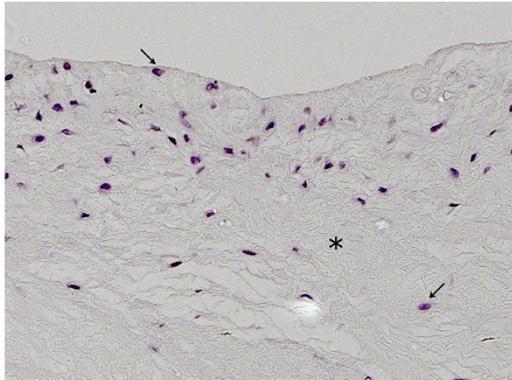


Fig. 3. Disc tissue without staining for IGF-II (-). ✓ depicts synovia with underlying fibrocytes, * = connective tissue; ✓ = a fibrocyte (magnification $\times 40$).

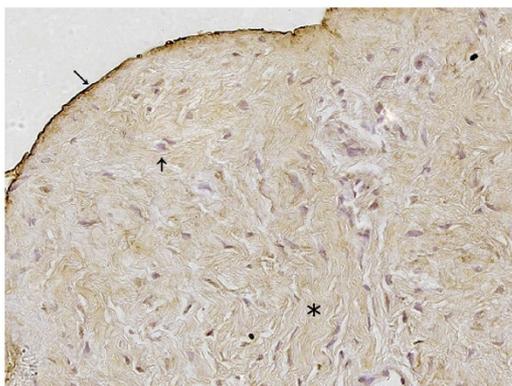


Fig. 4. Strongly positive staining (++) for synovia (✓) and connective tissue (*) in disc tissue. Negative (-) staining in fibrocytes (†). Magnification $\times 40$.

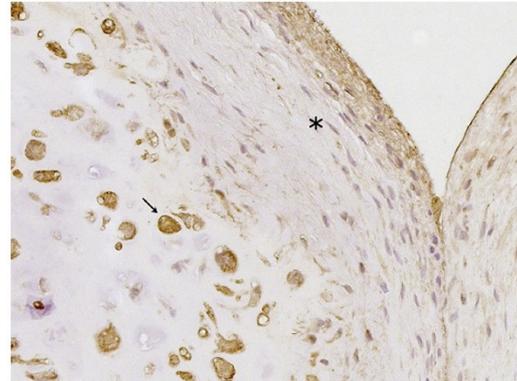


Fig. 5. Strongly positive staining (++) for IGF-5 of synovia with chondroid matrix beneath (*) and chondrocytes (✓) in a loose body. Magnification $\times 40$.

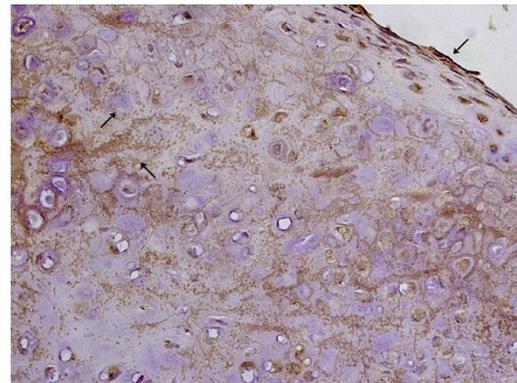


Fig. 6. Strongly positive staining (++) for IGF-5 of synovia with fibrocytes (✓) and extracellular granules of chondroid matrix (✓) in a loose body. Negative staining for chondrocytes (†). Magnification $\times 40$.

4. Discussion

So far, only a few immunohistological studies have dealt with SC. The involvement of the FGF-2/FGFR-1 axis might play a role in its development, as reported by Sato et al., (2002). In addition, TGF- β and tenascin might contribute (Fujita et al., 2004). In 2004 Tojyo et al. reported the prevalence of FGFR-3 in joints with primary SC but not in healthy joints or joints affected by internal derangement (Tojyo et al., 2004). Concerning the IGF/IGFBP system, its role in different diseases of the TMJ has rarely been examined. In 2007 Goetz et al. showed its potential contribution in the condylar hyperplasia and reported a subclassification according to the age of the patient. Using a healthy condyle as a reversal test, they were able to show that staining of the hyperplastic condyles was stronger than in the healthy specimen. However, degenerative parts of the healthy condyle showed higher concentrations of IGFs and IGFs also (Gotz et al., 2007). Correlating to this in the reversal test in this study, there seems to be no difference between the SC joints and the ADD joints. In this examination, an affinity of the IGF/IGFBP system with the fibro- and chondrocytes and the synovia of the

Table 1
Semiquantitative results of staining in all specimens and in specimens with disc tissue or loose bodies.

All specimens	IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3	IGFBP-4	IGFBP-5	IGFBP-6
Chondro-/fibrocytes	+	+	+	+	+	++	++	+
Synovia	+	+	(+)	+	+	+	++	+
Connective tissue/chondroid matrix	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+	(+)
Specimens with disc tissue	IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3	IGFBP-4	IGFBP-5	IGFBP-6
Fibrocytes	+	+	+	+	+	+	+	+
Synovia	+	+	+	+	(+)	+	++	+
Connective tissue	(+)	(+)	-	-	(+)	(+)	++	+
Specimens with loose bodies	IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3	IGFBP-4	IGFBP-5	IGFBP-6
Chondrocytes	+	+	(+)	+	+	++	++	+
Synovia	++	+	(+)	+	+	+	++	+
Chondroid matrix	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+	(+)

Abbreviations: IGF = insulin-like growth factor; IGFBP = insulin-like growth factor binding protein.

affected joints can be seen. This makes it highly probable that the IGF/IGFBP system promotes the proliferation and metaplasia of the cells of the synovia and the underlying tissue of the joints. By this process, as stated by Milgram, loose cartilaginous bodies are formed first within the synovia and the cartilage and then discharged into the joint cavity (Milgram, 1977a). Since there is also a staining of the tissue beneath the synovia and the cells within this tissue, the disease might not only originate from the synovia but from all layers of joint tissue. However, weaker staining of the chondroid matrix and connective tissue in comparison to the synovia and cells implicates the minor meaning of the connective tissue/chondroid matrix in the etiology of SC. The persistence of IGFs and IGFBPs in even the loose bodies can be due to the ongoing proliferation and metaplasia of the free bodies, which only ceases in stage III.

IGF-II is said to be of importance in prenatal development and growth (O'Dell and Day, 1998; Sonksen, 2001). Nevertheless, in this study there is no difference in the immunohistochemically staining between IGF-I and -II, but a higher prevalence of IGFBP-5 and -6 in the synovia of disc specimens and a higher prevalence of IGFBP-5 in the synovia of loose bodies can be observed. It is known that IGFBP-5 and -6 have an up to 100 times higher affinity with IGF-II than with IGF-I (Clemmons et al., 1993; Reinecke and Collet, 1998; Bach, 1999). Through this, the concentration of both IGF-I and IGF-II could be increased, and by presenting it to IGF receptors its effects could be enhanced, which is in accordance with several studies examining the functions and effects of the IGFBPs (Matsumoto et al., 2000; Kiepe et al., 2001; Conover, 2008). This would also suit the results of studies in which it was demonstrated that IGF-II promotes the growth of the TMJ in rats postnatally (Hajjar et al., 2003) and increases the synthesis of DNA and glycosaminoglycan in the TMJ of horses (Davenport-Goodall et al., 2004). In addition, IGFBP-5 is known to boost the stimulating effects of IGF-I, which might be conducive to the genesis of SC (Andress and Birnbaum, 1992; Jones and Clemmons, 1995).

5. Conclusion

It seems very likely that IGFs and their binding proteins (BPs) contribute to the pathogenesis of the synovial chondromatosis. In all examined specimens, with very few and almost single exceptions, IGF- I and -II and their binding proteins (IGFBP-1 to -6) can be detected. There was no obvious difference between synovia, chondrocytes, and fibrocytes, but rather between these cells/tissues and the connective tissue and chondroid matrix. Since no high condylectomy was performed during the operative treatment of SC, the presence of the IGFs and the IGFBPs in the subsynovial bone

remains unclear, although it can be expected that they will not differ from their covering tissues. However, further examinations will be needed concerning these matters. Since degenerative parts of healthy condyles and a joint with ADD show positive staining for IGFs and IGFBPs, too, their involvement in various diseases of the TMJ can be assumed. Due to the rare prevalence of SC so far, no long-term studies have been carried out. Based on these premises, future cases of this disease ought to be screened for IGFs and their binding proteins as well, as other cases of TMJ disorders, in order to assess the meaning of the IGF system in these pathologies. However, treatment of SC still remains surgical, namely, removing the loose bodies and excision of all synovial tissue via arthroscopy to prevent recurrence.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest with regard to this work.

Acknowledgments

We sincerely thank Mrs. Inka Bay for her support in the immunohistochemical staining of the specimens. We also thank Mr. Oscar Carl A. Wilms for assisting in the proofreading of this article.

References

- Andress DL, Birnbaum RS: Human osteoblast-derived insulin-like growth factor (IGF) binding protein-5 stimulates osteoblast mitogenesis and potentiates IGF action. *J Biol Chem* 267(31): 22467–22472, 1992
- Apte SS, Athanasou NA: An immunohistological study of cartilage and synovium in primary synovial chondromatosis. *J Pathol* 166(3): 277–281, 1992
- Axhausen G: Pathologie und Therapie des Kiefergelenks. *Fortschr Zahnheilk* 9: 171, 1933
- Bach LA: The insulin-like growth factor system: basic and clinical aspects. *Aust N Z J Med* 29(3): 355–361, 1999
- Chen MJ, Yang C, Zhang XH, Qiu YT: Synovial chondromatosis originally arising in the lower compartment of temporomandibular joint: a case report and literature review. *J Craniomaxillofac Surg* 39(6): 459–462, 2011
- Clemmons DR: Role of insulin-like growth factor binding proteins in controlling IGF actions. *Mol Cell Endocrinol* 140(1–2): 19–24, 1998
- Clemmons DR, Jones JL, Busby WH, Wright G: Role of insulin-like growth factor binding proteins in modifying IGF actions. *Ann N Y Acad Sci* 692: 10–21, 1993
- Conover CA: Insulin-like growth factor-binding proteins and bone metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294(1): E10–E14, 2008
- Conover CA, Bale LK, Durham SK, Powell DR: Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 potentiation of IGF action is mediated through the phosphatidylinositol-3-kinase pathway and is associated with alteration in protein kinase B/AKT sensitivity. *Endocrinology* 141(9): 3098–3103, 2000
- D'Ercole AJ: Insulin-like growth factors and their receptors in growth. *Endocrinol Metab Clin North Am* 25(3): 573–590, 1996
- Davenport-Goodall CL, Boston RC, Richardson DW: Effects of insulin-like growth factor-II on the mitogenic and metabolic activities of equine articular cartilage with and without interleukin 1-beta. *Am J Vet Res* 65(2): 238–244, 2004

- Ekenstedt KJ, Sonntag WE, Loeser RF, Lindgren BR, Carlson CS: Effects of chronic growth hormone and insulin-like growth factor 1 deficiency on osteoarthritis severity in rat knee joints. *Arthritis Rheum* 54(12): 3850–3858, **2006**
- Fortier LA, Mohammed HO, Lust G, Nixon AJ: Insulin-like growth factor-I enhances cell-based repair of articular cartilage. *J Bone Jt Surg Br* 84(2): 276–288, **2002**
- Fowlkes JL: Insulinlike growth factor-binding protein proteolysis an emerging paradigm in insulinlike growth factor physiology. *Trends Endocrinol Metab* 8(8): 299–306, **1997**
- Fujita S, Yoshida H, Tojyo I, Wada T, Murakami K, Iizuka T: Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: clinical and immunohistopathological considerations. *Br J Oral Maxillofac Surg* 42(3): 259–260, **2004**
- Ginaldi S: Computed tomography feature of synovial osteochondromatosis. *Skelet Radiol* 5(4): 219–222, **1980**
- Goodrich LR, Hidaka C, Robbins PD, Evans CH, Nixon AJ: Genetic modification of chondrocytes with insulin-like growth factor-1 enhances cartilage healing in an equine model. *J Bone Jt Surg Br* 89(5): 672–685, **2007**
- Gotz W, Dühr S, Jäger A: Distribution of components of the insulin-like growth factor system in the temporomandibular joint of the aging mouse. *Growth Dev Aging* 69(2): 67–79, **2005**
- Gotz W, Lehmann TS, Appel TR, Rath-Deschner B, Dettmeyer R, Luder HU, et al: Distribution of insulin-like growth factors in condylar hyperplasia. *Ann Anat* 189(4): 347–349, **2007**
- Guarda-Nardini L, Piccotti F, Ferronato G, Manfredini D: Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: a case description with systematic literature review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 39(8): 745–755, **2010**
- Hajjar D, Santos MF, Kimura ET: Propulsive appliance stimulates the synthesis of insulin-like growth factors I and II in the mandibular condylar cartilage of young rats. *Arch Oral Biol* 48(9): 635–642, **2003**
- Holmlund AB, Eriksson L, Reinholdt FP: Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg* 32(2): 143–147, **2003**
- Jones JL, Clemmons DR: Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16(1): 3–34, **1995**
- Jones JL, Gockerman A, Busby Jr WH, Camacho-Hubner C, Clemmons DR: Extracellular matrix contains insulin-like growth factor binding protein-5: potentiation of the effects of IGF-I. *J Cell Biol* 121(3): 679–687, **1993**
- Kiepe D, Andress DL, Mohan S, Standker L, Ulinski T, Himmele R, et al: Intact IGF-binding protein-4 and -5 and their respective fragments isolated from chronic renal failure serum differentially modulate IGF-I actions in cultured growth plate chondrocytes. *J Am Soc Nephrol* 12(11): 2400–2410, **2001**
- Kiepe D, Ulinski T, Powell DR, Durham SK, Mehls O, Tonshoff B: Differential effects of insulin-like growth factor binding proteins-1, -2, -3, and -6 on cultured growth plate chondrocytes. *Kidney Int* 62(5): 1591–1600, **2002**
- Longobardi L, O'Rear L, Aakula S, Johnstone B, Shimer K, Chytil A, et al: Effect of IGF-I in the chondrogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells in the presence or absence of TGF-beta signaling. *J Bone Miner Res* 21(4): 626–636, **2006**
- Matsumoto T, Tsurumoto T, Goldring MB, Shindo H: Differential effects of IGF-binding proteins, IGFBP-3 and IGFBP-5, on IGF-I action and binding to cell membranes of immortalized human chondrocytes. *J Endocrinol* 166(1): 29–37, **2000**
- Milgram JW: The classification of loose bodies in human joints. *Clin Orthop Relat Res* 124: 282–291, **1977a**
- Milgram JW: Synovial osteochondromatosis: a histopathological study of thirty cases. *J Bone Jt Surg Am* 59(6): 792–801, **1977b**
- Morales TI: The quantitative and functional relation between insulin-like growth factor-I (IGF) and IGF-binding proteins during human osteoarthritis. *J Orthop Res* 26(4): 465–474, **2008**
- O'Dell SD, Day IN: Insulin-like growth factor II (IGF-II). *Int J Biochem Cell Biol* 30(7): 767–771, **1998**
- Perry BE, McQueen DA, Lin JJ: Synovial chondromatosis with malignant degeneration to chondrosarcoma. Report of a case. *J Bone Jt Surg Am* 70(8): 1259–1261, **1988**
- Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S: Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev* 18(6): 801–831, **1997**
- Reinecke M, Collet C: The phylogeny of the insulin-like growth factors. *Int Rev Cytol* 183: 1–94, **1998**
- Robinson D, Hasharoni A, Evron Z, Segal M, Nevo Z: Synovial chondromatosis: the possible role of FGF 9 and FGF receptor 3 in its pathology. *Int J Exp Pathol* 81(3): 183–189, **2000**
- Ronald JB, Keller EE, Weiland LH: Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. *J Oral Surg* 36(1): 13–19, **1978**
- Sah RL, Chen AC, Grodzinsky AJ, Trippel SB: Differential effects of bFGF and IGF-I on matrix metabolism in calf and adult bovine cartilage explants. *Arch Biochem Biophys* 308(1): 137–147, **1994**
- Salmon Jr WD, Burkhalter VJ: Stimulation of sulfate and thymidine incorporation into hypophysectomized rat cartilage by growth hormone and insulin-like growth factor-I in vitro: the somatomedin hypothesis revisited. *J Lab Clin Med* 129(4): 430–438, **1997**
- Sato J, Segami N, Suzuki T, Yoshitake Y, Nishikawa K: The expression of fibroblast growth factor-2 and fibroblast growth factor receptor-1 in chondrocytes in synovial chondromatosis of the temporomandibular joint. report of two cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31(5): 532–536, **2002**
- Schalkwijk J, Joosten LA, van den Berg WB, van de Putte LB: Chondrocyte non-responsiveness to insulin-like growth factor I in experimental arthritis. *Arthritis Rheum* 32(7): 894–900, **1989**
- Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE: A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. *Osteoarthritis Cartilage* 14(5): 403–412, **2006**
- Schneider MR, Wolf E, Hoefflich A, Lahm H: IGF-binding protein-5: flexible player in the IGF system and effector on its own. *J Endocrinol* 172(3): 423–440, **2002**
- Shah SB, Ramanojam S, Gadre PK, Gadre KS: Synovial chondromatosis of temporomandibular joint: journey through 25 decades and a case report. *J Oral Maxillofac Surg* 69(11): 2795–2814, **2011**
- Sonksen P: Reflections from a 40 year journey with growth hormone and IGF-I. *Growth Horm IGF Res* 11(6): 329–335, **2001**
- Tian H, Stogiannidis I: Up-regulation of cartilage oligomeric matrix protein gene expression by insulin-like growth factor-I revealed by real time reverse transcription-polymerase chain reaction. *Acta Biochim Biophys Sinica* 38(10): 677–682, **2006**
- Tojyo I, Yamaguti A, Ozaki H, Yoshida H, Fujita S: The expression of fibroblast growth factor receptor-3 in synovial osteochondromatosis of the temporomandibular joint. *Arch Oral Biol* 49(7): 591–594, **2004**
- Tyler JA: Insulin-like growth factor 1 can decrease degradation and promote synthesis of proteoglycan in cartilage exposed to cytokines. *Biochem J* 260(2): 543–548, **1989**
- van Buul-Offers SC: Insulin-like growth factor II in the cycle of life. *Biomed Rev* 5: 65–71, **1996**
- van Buul-Offers SC, Reijnen-Gresnigt MG, Hoogerbrugge CM, Bloemen RJ, Kuper CF, Van den Brande JL: Recombinant insulin-like growth factor-II inhibits the growth-stimulating effect of growth hormone on the liver of Snell dwarf mice. *Endocrinology* 135(3): 977–985, **1994**
- von Lindern JJ, Theuerkauf I, Niederhagen B, Berge S, Appel T, Reich RH: Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: clinical, diagnostic, and histomorphologic findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94(1): 31–38, **2002**
- Worster AA, Brower-Toland BD, Fortier LA, Bent SJ, Williams J, Nixon AJ: Chondrocytic differentiation of mesenchymal stem cells sequentially exposed to transforming growth factor-beta1 in monolayer and insulin-like growth factor-I in a three-dimensional matrix. *J Orthop Res* 19(4): 738–749, **2001**
- Yoshida H, Tsuji K, Oshiro N, Wato M, Morita S: Preliminary report of Ki-67 reactivity in synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: an immunohistochemical study. *J Craniomaxillofac Surg* 41(6): 473–475, **2013**

3 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Werner Götz für die Überlassung dieses Themas und die wissenschaftliche Expertise, mit der er mich unterstützte. Die freie Hand, die er mir bei der Bearbeitung ließ, hat sicherlich zum Gelingen der Untersuchung als auch der Veröffentlichung beigetragen.

Dem Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn (Direktor: Prof. Dr. med. Glen Kristiansen) danke ich für die freundliche Überlassung der Präparate.

Frau Inka Bay gilt mein Dank dafür, dass sie mich in die labortechnischen Arbeiten eingeführt und mich jeden Berg medizinisch-technischer Komplikationen heil erklimmen und wieder von ihm herabsteigen lassen hat. Sie ist die gute Seele sicherlich nicht nur meiner Dissertation.

Meiner Frau Carla gilt in jeder nur denkbaren Hinsicht mein Dank. Sie ist mein Rückhalt und täglicher Ansporn zugleich.

4 Lebenslauf

Name: Christian Timm Wilms

Geburtsort: Düsseldorf

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung: 1988 – 1997
Gymnasium Hermann-Josef-Kolleg,
Steinfeld/Eifel
Abitur

Universitätsstudien: 1998 – 2004
Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität zu Düsseldorf
Staatsexamen am 11.11.2004
2005 – 2008
Studium der Zahnmedizin an der Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg
Staatsexamen am 29.09.2008

Famulaturen: 09/2001 – 10/2001
Internistische Hausarztpraxis Dr. med. Cornel Baum, Neuss
08/2002 – 10/2002
Internistische Notaufnahme und Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie des Groote Schuur Hospital, Kapstadt, Südafrika
02/2004 – 04/2004
Chirurgische Praxis Dr. med. Jochen Erbe Halle a. d. Saale

Praktisches Jahr: 10/2003 – 10/2004
1. Terial:
Allgemein- und Viszeralchirurgie (Prof. Dr. med. P. Goretzki), Unfallchirurgie (Dr. med. H. Hermichen), Lukas Krankenhaus Neuss

2. Tertial:

Innere Medizin (Dr. med. C. Hess), Bezirksspital
Affoltern am Albis, Kanton Zürich, Schweiz

3. Tertial:

Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde (Prof. Dr.
med. H.-J. Schultz-Coulon), Lukas Krankenhaus
Neuss

Approbationen:

Medizinische Approbation erteilt durch die
Bezirksregierung Düsseldorf am 08.
Dezember 2004

Zahnmedizinische Approbation erteilt
durch die Bezirksregierung Stuttgart am
11. Dezember 2008

Klinische Tätigkeit:

08/2007 – 10/2007

Assistenzarzt in der Klinik für Allgemein- und
Viszeralchirurgie (Prof. Dr. med. J. Schmidt)
des Lutherkrankenhauses Essen

10/2008 – 11/2013

Assistenzarzt in der Klinik und Poliklinik für
Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie
(Prof. Dr. med. Dr. med. dent. R.H. Reich) des
Universitätsklinikums Bonn

11/2013

Facharzt für Mund-, Kiefer- und Gesichts-
chirurgie

09/2014 – 03/2016

Funktionsoberarzt in der Klinik und Poliklinik
für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichts-
chirurgie (Prof. Dr. med. Dr. med. dent. R.H.
Reich) des Universitätsklinikums Bonn

11/2015

Zusatzbezeichnung Plastische Operationen

Seit 04/2016

Oberarzt in der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie (Prof. Dr. med. Dr. med. dent. R.H. Reich) des Universitätsklinikums Bonn

Promotion:

Promotion zum Dr. med. an der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität zu Düsseldorf am 21.12.2007

Veröffentlichungen:

Wilms CT, Schober P, Kalb R, Loer SA

Partial liquid ventilation: effects of closed breathing systems, heat-and-moisture-exchangers and sodalime absorbers on perfluorocarbon evaporation.

Eur J Anaesthesiol 2006; 23 (1): 31-35

Wilms CT, Heim N, Teschke M, Reich RH, Götz W

Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: Immunohistochemical examinations regarding the role of insulin-like growth factors and their binding proteins in the etiology of this disease.

J Cranio Maxill Surg 2017; 45: 198-202