

改良激素性股骨头坏死动物模型的建立与评价*

李传将¹, 王万明², 庄颜峰², 李政², 李杰²

Establishment and evaluation of a modified animal model of steroid-induced avascular necrosis of femoral head

Li Chuan-jiang¹, Wang Wan-ming², Zhuang Yan-feng², Li Zheng², Li Jie²

Abstract

BACKGROUND: So far, the pathogenesis of steroid-induced avascular necrosis of femoral head was still unclear; furthermore, the valid animal model was lack, and the developments of different treatments were based on the animal models, which could simulate the natural pathogenesis course.

OBJECTIVE: To explore the feasibility of setting up animal models of steroid-induced avascular necrosis of femoral head by combining low-dosage methylprednisolone (MPS) with equine serum (ES).

METHODS: Twenty healthy Japanese white rabbits were randomly divided into experimental group and control group. Experimental group was intravenously injected with ES, and another injection of ES was performed two weeks later. MPS was intramuscularly injected at 24 hours after the first ES injection, once a week for 8 weeks in total. Control group was injected with the same dose of saline. Hematologic studies were performed before the first ES injection, 2, 4, and 8 weeks after MPS injection. Meanwhile, other examinations were carried out including magnetic resonance imaging (MRI), hematoxylin-eosin staining, and transmission electron microscope at 4 and 8 weeks after MPS injection, respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with control group, triacylglycerol and cholesterol levels were significantly increased in the experimental group after 2, 4, and 8 weeks ($P < 0.05$), but partial thromboplastin time was significantly decreased ($P < 0.05$). MRI in the experimental group after 4 weeks demonstrated that local signals were changed in some animals and subcortical hemorrhage was observed after 8 weeks. Compared with control group, necrotic bone marrow cell debris was located surrounding bone marrow in the experimental group after 4 and 8 weeks, and blank bone lacuna rate was gradually increased ($P < 0.01$). Structure of some osteocyte was unclear in the experimental group after 4 weeks, and large vacuoles were observed. After 8 weeks, part of osteocyte had caryorrhexis and caryolysis, apoptotic cells appeared abundantly, and the structure of bone collagen was confused. Combination of ES and steroid significantly increased incidence of osteonecrosis in rabbits and contributed to set up animal models of steroid-induced avascular necrosis of femoral head.

¹ Second Department of Orthopaedics, Ningde Municipal Hospital, Ningde 352100, Fujian Province, China; ² Second Department of Orthopaedics, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Area Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Li Chuan-jiang★, Master, Physician, Second Department of Orthopaedics, Ningde Municipal Hospital, Ningde 352100, Fujian Province, China Lichuanjiang06@163.com

Li CJ, Wang WM, Zhuang YF, Li Z, Li J. Establishment and evaluation of a modified animal model of steroid-induced avascular necrosis of femoral head. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(24): 4393-4397. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 在股骨头坏死发病机制的研究中, 目前仍缺乏有效的动物模型, 各种股骨头坏死治疗新方法的发展需要能够模拟人股骨头坏死自然病程动物模型的基础实验。

目的: 通过联合应用马血清和低剂量甲基强的松龙建立激素性兔股骨头缺血性坏死动物模型。

方法: 20只健康日本大耳白兔随机分成2组。实验组动物注入马血清, 间隔2周后, 再次注入马血清, 第1次注射马血清后24h肌肉注射甲基强的松龙, 每隔1周注射1次, 共8周。对照组动物单纯注射同等量的生理盐水。于第1次注射马血清前、注射甲基强的松龙后2, 4, 8周行血液学检查。并分别于注射甲基强的松龙后4, 8周行MRI检查、苏木精-伊红染色和电镜观察股骨头缺血坏死情况。

结果与结论: 与对照组比较, 2, 4, 8周实验组三酰甘油、胆固醇均明显上升($P < 0.05$); 激活部分凝血活酶时间则明显下降($P < 0.05$)。4周实验组MRI显示部分动物可见局部信号改变, 8周时可见皮质下出血; 对照组比较, 4, 8周实验组骨髓周围有坏死的骨髓细胞碎片存在, 空骨陷窝率逐渐增加($P < 0.01$); 4周时实验组个别骨细胞结构模糊不清, 或有大空泡; 8周时部分骨细胞核破裂、核溶解, 凋亡细胞大量出现, 骨胶原结构排列紊乱。结果证实联合运用激素和马血清明显提高股骨头缺血性坏死的发生率, 能够较好地建立激素性兔股骨头缺血性坏死动物模型。

关键词: 激素; 股骨头坏死; 动物模型; 骨组织工程; 兔

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.24.006

Correspondence to: Wang Wan-ming, Chief physician, Professor, Second Department of Orthopaedics, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Area Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China Wangwm93@126.com

Received: 2010-01-09 Accepted: 2010-03-04

李传将, 王万明, 庄颜峰, 李政, 李杰. 改良激素性股骨头坏死动物模型的建立与评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(24):4393-4397. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

自Pietrogrand和Mastomarine^[1]于1957年首次报道1例因大剂量使用糖皮质激素引起股骨头坏死以来, 激素性股骨头坏死占非创伤性股骨头坏死的首位, 但其发病机制尚未完全明了^[2-3]。

国内外专家也提出了许多学说, 比如脂肪代谢紊乱学说^[4]、血管内凝血学说^[5]、静脉淤滞学说^[6]、骨内高压学说以及骨质疏松学说等^[7-8]。但到目前为止其具体的发病机制仍不明朗, 并且缺乏有效的动物模型用于研究, 为此, 建立与股骨头坏死病程相似的动物模型显得尤为重要。

¹ 宁德市医院骨二科, 福建省宁德市 352100; ² 解放军南京军区福州总医院骨二科, 福建省福州市 350025

李传将★, 男, 1979年生, 江西省南昌市人, 汉族, 福建医科大学毕业, 硕士, 医师, 主要从事骨与关节损伤方面的研究。
Lichuahjiang06@163.com

通讯作者: 王万明, 主任医师, 教授, 解放军南京军区福州总医院骨二科, 福建省福州市 350025

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)24-04393-05

收稿日期: 2010-01-09
修回日期: 2010-03-04
(2001009022/W·H)

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 2008-06/09在解放军南京军区福州总医院比较医学科、病理科及实验科完成。

材料: 成年日本大耳白兔20只, 雌雄各半, 体质量(2.0±0.2) kg, 由解放军南京军区福州总医院比较医学科提供(合格证号: CXK*(苏)2007.0008)。实验过程中对动物处置符合2006年科学技术部发布的关于善待实验动物的指导性意见^[9]。

主要试剂:

主要试剂	来源
马血清	HyClone, 美国
甲基强的松龙	Pfizer, 美国
速眠新	军事医学科学院
进口脱钙液	北京中杉金桥
体积分数为4%的甲醛、PBS、苏木精-伊红染液	本院病理科提供
30 g/L 戊二醛-15 g/L 多聚甲醛固定液, 1%鞣酸-15 g/L 亚铁氰化钾固定液, 环氧树脂, 醋酸铀、柠檬酸铅染色剂	福建医科大学电镜中心提供

实验方法:

实验分组: 20只白兔随机被分成实验组14只, 对照组6只。

动物模型的建立: 实验组经兔耳缘静脉按10 mL/kg注射马血清, 间隔2周后, 按5 mL/kg剂量连续2 d注射马血清各1次, 并于首次注射马血清后24 h臀中肌注射甲基强的松龙4 mg/(kg·周), 连续8周。对照组注射等量生理盐水。所有动物臀部肌注射庆大霉素8万U/周, 连续8周。两组动物分别在第4周、第8周注射甲基强的松龙和生理盐水后1周处死, 处死之前行影像学检查及抽血行血液学检查, 实验组每次处死6只, 对照组每次处死3只进行组织学检查。

指标检测:

一般形态学观察: 包括动物的体质量、尿便、精神、毛发光泽度等情况及股骨头的外观。

血液学检查: 分别于注射马血清前、第2, 4, 8周抽血检测三酰甘油、总胆固醇和激活部分凝血活酶时间变化。

MRI检查: 分别于第4, 8周按照分组全麻后应用E-SCAN MRI检查, 采用相同的扫描序列行T1WI和T2WI加权像扫描, 并加用脂肪抑制成像, 层厚、层距均为2 mm。

标本取材后组织病理及电镜检查: 处死动物,

取出股骨头, 部分标本放入体积分数为4%的甲醛溶液中, 固定24 h后于脱钙液4℃下脱钙5 d左右, 以针刺透为度。冠状位切开标本, 石蜡包埋、切片行苏木精-伊红染色, 光镜下观察。部分标本在股骨头软骨下区切取约1 mm×1 mm×1 mm的标本, 电镜前固定48 h, 电镜观察。

主要观察指标: 骨髓坏死、骨小梁坏死、核破碎、核溶解、细胞凋亡表现。

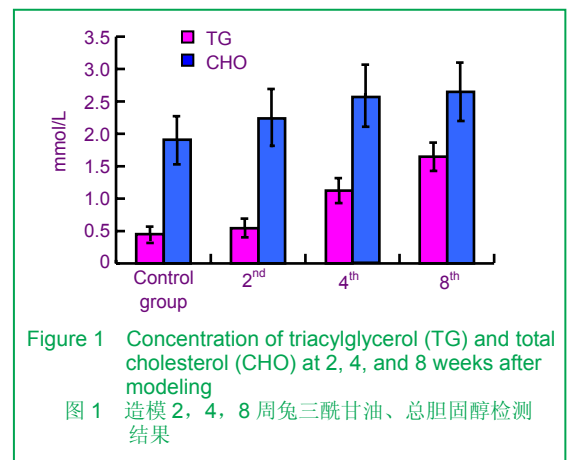
设计、实施、评估者: 由第一、第四作者负责实施, 第二、三、五作者指导完成, 均经过培训。

统计学分析: 由第一作者采用SPSS 13.0统计软件包进行两样本之间t检验分析, MRI结果采用符号秩和检验, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 一般形态学观察结果 实验组: 首次注射马血清后精神渐萎靡, 毛发失去光泽、食欲减退, 体质量下降, 第2, 3次注射马血清后上述症状加重, 至第6周较对照组体质量下降10%左右, 其中有2只, 在第3次注射马血清后10 min内死亡。6周后实验组症状好转, 体质量渐恢复, 所有存活动物无皮肤溃烂、感染。对照组: 正常饮食, 体质量渐增, 无死亡。

2.2 兔血液学检查结果 三酰甘油及总胆固醇浓度在第2, 4, 8周呈现渐增趋势, 第2周与对照组相比, 无显著性意义; 第4, 8周与对照组相比差异均有显著性意义($P < 0.01$), 见图1。



激活部分凝血活酶时间出现逐渐降低趋势, 与对照组相比, 差异均有显著性意义($P < 0.01$), 见表1。提示血液流变学存在异常指标, 动物高脂血症和血栓前高凝血状态。

表 1 两组各时间点激活部分凝血活酶时间
Table 1 Partial thromboplastin time in two groups at various time points (x±s, n=6, s)

Group	2 nd wk	4 th wk	8 th wk
Experimental	25.10±0.36 ^a	17.87±0.47 ^a	17.10±0.51 ^a
Control	39.22±0.33	39.16±0.17	38.68±0.26

^aP < 0.01, vs. control group

2.3 MRI检查结果 根据Mitshell等^[10]股骨头坏死MRI分级分为A, B, C, D4级。正常股骨头、干骺端T1WI呈高信号影, T2WI为中高信号, 无异常信号影(图2a, b)。MRI早期A级出现局灶性信号不均表现, 在T1WI像为高信号, T2WI呈中高混杂信号(图2c); 早期B级在脂肪抑制像上, 病灶的周缘在T1WI、T2WI和脂肪抑制上均呈高信号, 表明有皮下出血表现(图2d); 当病灶中心液化坏死, 为不均匀的长T1、长T2信号为C级; 或者完全纤维化则为D级晚期表现, 各组均未见到C, D级MRI表现。

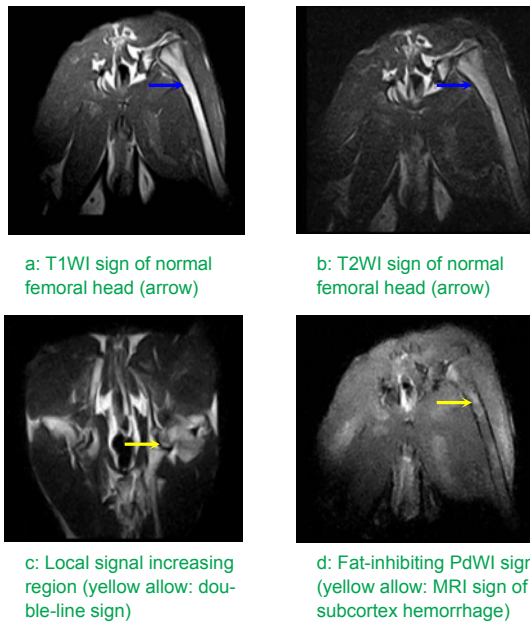


Figure 2 MRI examination of femoral head in the two groups
图2 两组兔股骨头MRI检查结果

对4, 8周组与对照组相比较, 用Wilcoxon符号秩和检验差异均有显著性意义(P < 0.05), 见表2。

表 2 坏死组织 MRI 信号特征
Table 2 MRI signal characteristics of necrotic tissue (n=6)

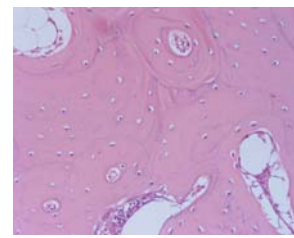
Grade	4 th wk group ^a	8 th wk group ^a	Control group
A	2	2	0
B	0	2	0
C	0	0	0
D	0	0	0
Normal	4	2	6

^aP < 0.01, vs. control group

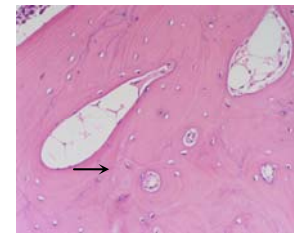
2.4 病理学检查结果

股骨头标本大体观察: 2周时实验组、对照组大体观无明显改变, 股骨头形态正常; 4周时实验组、对照组股骨头形态正常、无塌陷, 关节囊滑膜无增生, 无明显关节腔内积液, 实验组股骨头关节面软骨色泽较同期对照组稍灰暗, 股骨头密度不均一, 骨质酥脆, 针头易扎进皮质; 8周时实验组股骨头关节面软骨无光泽、灰暗、骨质硬度下降、脆性增加, 易折断、凿取。对照组股骨头在各时间点未见明显改变。

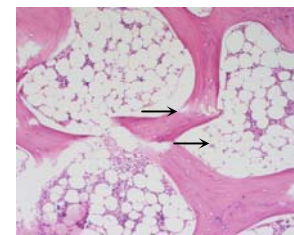
光镜下观察: 见图3。



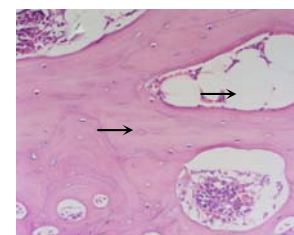
a: Normal trabeculae of bone was even in density, and hematopoietic cells were rich



b: Bone trabecula (black arrow) was sparse, and empty bone lacuna rate increased



c: Bone trabeculae (black arrows) were thinner, and fat tissues and cells were increased



d: Bone trabeculae were vanished and fat cells(allows) were fused

Figure 3 Histological observation of femoral head in the two groups (Hematoxylin-eosin staining, ×100)
图3 两组兔股骨头组织学观察(苏木精-伊红染色, ×100)

对照组股骨头苏木精-伊红染色, 骨膜光滑, 软骨细胞排列整齐; 骨小梁结构完整, 排列规则, 骨小梁中的骨细胞清晰可见, 核大居中, 空骨陷窝少见; 造血细胞丰富, 脂肪细胞数量适中, 形态正常。

实验组2周靠近股骨颈的松质骨和软骨下区即出现骨坏死表现, 空骨陷窝数增加, 骨细胞胞液中充满脂滴, 骨细胞核被挤向边缘, 骨髓造血组织减少, 大量脂肪细胞堆积, 体积增大。4周时骨小梁开始萎缩、变细, 骨细胞核边聚、固缩, 空骨陷窝数量明显增加, 成骨细胞数量明显减少, 造血组织几乎消失, 坏死骨髓内脂肪细胞增多, 体积增大。8周时骨小梁进一步退变、变细甚至出现断裂, 骨细胞核固缩溶解、消失, 核周空晕变大, 空骨陷窝数量超过50%, 成骨细胞几乎完全消失, 骨髓区被脂肪组织和增大的脂肪细胞占据, 有的融合成泡状。各期均可见有营养小动脉血管壁结构不清, 有的可见红色血栓形成, 血管数量明显减少, 骨髓腔内有广泛的新旧出血区。

股骨头软骨下区空骨陷窝率及脂肪细胞直径计数: 实验组第2, 4, 8周时的空骨陷窝率及脂肪细胞直径与对照组相同时间点比较, 差异具有显著性意义。按Matsui骨坏死组织学诊断标准, 实验组在8周时发生典型的股骨头缺血坏死, 属于II级, 股骨头坏死发生率为83.3% (10/12)。见表3。

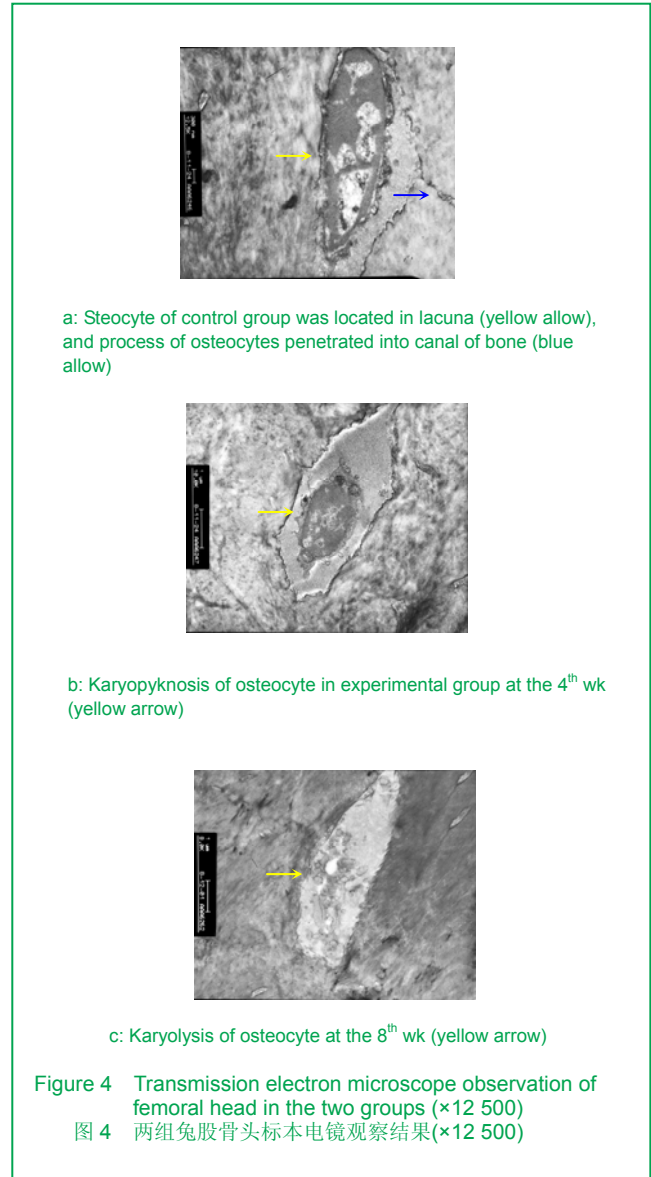
表3 实验组与对照组空骨陷窝率及髓腔脂肪细胞直径
Table 3 Both empty bone lacuna rate and adipocyte diameter in experimental group and control group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Time (wk)	Empty bone lacuna (%)		Adipocyte diameter (μm)	
	Experimental ^b	Control	Experimental ^b	Control
2 nd	30.40±5.67	11.56±7.86	37.66±11.13	22.29±4.83
4 th	38.20±7.43	13.36±9.08	46.71±10.12	24.70±3.51
8 th	55.21±9.45 ^c	14.54±5.76	49.75±8.62 ^c	26.55±5.80 ^c

^b $P < 0.01$, vs. control group; ^c $P < 0.01$, vs. the 2nd group

透射电镜观察结果: 对照组切片平面内可见梭形成骨细胞, 胞浆丰富, 富含粗面内质网, 嵴结构清晰, 基质中散在有骨细胞, 核大、核仁可见、骨陷窝明显, 周边部有胶原纤维。骨细胞伸出的突起通过周边裂隙伸入骨小管内, 骨陷窝内骨细胞分泌的胶原纤维致密排列。

实验组4周时骨细胞体积明显增大, 核呈扭曲状态, 胞质内线粒体嵴断裂, 粗面内质网明显减少, 骨陷窝变小, 胶原纤维几乎完全消失。成骨细胞核固缩, 线粒体空泡变性, 成凋亡细胞的改变。骨基质走行紊乱成团块状凝聚。8周时骨细胞崩解坏死, 胞核呈碎块状, 核膜不连续甚至消失, 细胞器消失, 胞浆内有大量溶酶体, 及分泌颗粒, 凋亡细胞大量出现, 骨胶原结构排列紊乱, 同时伴有骨髓内出血。另外可见到血管壁完整性破坏, 层次不清, 内皮细胞变性坏死。见图4。



3 讨论

股骨头坏死动物模型分为: 创伤性和非创伤性模型。前者虽然造模相对容易, 但可重复性低, 难以标准化^[11-12]。

早期常单纯使用激素来建立动物模型^[4, 7, 13-15], 虽然观察到了脂肪栓子的存在、脂肪细胞体积的增大^[13]、骨髓压力的增高和成骨细胞的脂肪变^[4, 16], 但并没有出现典型的股骨头坏死。Saito等^[14]认为, 激素和血管炎的共同结果是股骨头坏死的最可能的原因, 国内外其他学者也提出了相似的看法。在临床实践中, 肾病综合征患者、感染性休克、妊娠并发症、恶性肿瘤、系统性红斑狼疮等疾病时应用激素较多, 容易出现股骨头坏死。在这些疾病中, 有一个共同的特征, 即在应用激素前就已经存在过敏性血管炎。因此作者结合了Matsui等^[17]和Kabata等^[16]两者的造模方法, 激素用量贴近临床维持治

疗剂量, 结果, 4周后模型中73%出现股骨头坏死, 但随着坏死修复的进行, 8周后只有67%出现股骨头坏死, 复习文献, 此造模方法未见报道。

在Matsui等^[17]模型中, 未提及动物的死亡率, Kabata等^[16]模型中动物死亡率为40%(8/20)。通过预实验发现, 连续2次大剂量注射马血清(10 mL/kg)会导致动物的高死亡率67%(4/6)。因此, 本实验对第2次马血清注射剂量和次数做了调整, 采用小量(5 mL/kg)连续2 d注射的方法, 使实验动物死亡率显著降低14%(2/14), 造模后进行评价, 明显提高了股骨头坏死的发生率83%(10/12), 表明通过第2次小量多次(5 mL/kg)连续2 d注射马血清的方法, 既保证了造模的效率, 又使动物的死亡率显著降低。

MRI技术是目前用于股骨头缺血性坏死早期诊断的指标^[18], 本实验MRI检查结果根据Mitchell等^[10]的标准出现了A级和B级的改变, 属于股骨头坏死的早期变化, 于T1WI均表现为骨髓内异常信号影, 本实验可见局灶性T1WI信号增高区及脂肪抑制后出现皮质下出血改变, 但并没有出现股骨头塌陷变化, MRI显示阳性率为50%(6/12); 另外病理进一步检查髓内出血及坏死主要在干骺端及骨干, 与人类股骨头坏死部位存在一定差异, 与文献报道一致^[17], 4周可以检测出骨髓坏死的病理改变, 而骨小梁的坏死在第8周时更为多见, 空骨陷窝率可达到50%以上, 因此, 股骨头坏死可能是从骨髓坏死进展到骨小梁坏死的一个过程, 本实验MRI的结果也说明了同样的问题, 4周没有出现II级改变, 只出现2例A级改变, 8周开始出现了皮质下出血的变化, 有2例呈A级改变, 有33.3%(2/6)的标本出现了B级改变, 说明股骨头虽然是早期病变^[19], 但处于进展期, MRI与病理诊断符合率为60%(6/10)。另外, 标本中未见到关节积液的表现, 文献报道股骨头坏死合并关节积液发生率可达60%~100%^[20-21], 积液量与病程进展一致, 可能与本实验观察时间过短有关, 随病程进展, 将有可能发现积液的表现。本实验结果显示模型组的病理改变与影像学改变具有一致性, 且被文献报道所证实。此动物模型具有以下特点: ①模拟临床激素用量, 对阐明激素长期小剂量应用导致股骨头坏死发病机制奠定基础。②首次采用马血清联合少量激素长期肌注建立激素性股骨头坏死模型。并通过血液学、影像学、病理学方法加以检测, 证实造模成功率高(83.3%)。③缩短了整个实验周期, 提高了实验效率, 降低了科研费用(激素总量为Matsui方法的1/4, 动物死亡率为Kabata方法的1/3)。④本实验

可重复性好、经济可行, 周期短。⑤为进一步防治股骨头坏死提供了可靠的动物模型支持。

4 参考文献

- Pietto-grand V, Mastromarino R. Osteopatia prolungata trattamento cortisonico. Ortop Traum Appar Mar. 1957;25: 791-810.
- Wang KZ, Wang CS, Wu YG, et al. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2006; 86(29):2024-2027. 王坤正, 王春生, 武永刚, 等. 激素性股坏死血管变化的实验研究[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(29):2024-2027.
- Drescher W, Birnger MH, Weigert K, et al. Methylprednisolone Enhances contraction of porcine femoral head epiphyseal arteries. Clin Orthop Relat Res. 2004;423:112-117.
- Jones JP Jr. Intravascular Coagulation and Osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res. 1992;(277):41-53.
- Kawai K, Tamaki A, Hirohata K. Steroid-induced accumulation of lipid in the osteocytes of the rabbit femoral head. A histochemical and electron microscopic study. J Bone Joint Surg Am. 1985;67: 755-763.
- Nishimura T, Matsumoto T, Nishino M, et al. Histopathologic study of veins in steroid treated rabbits. Clin Orthop Relat Res. 1997; (334): 37-42.
- Wang GJ, Lennox DW, Reger SI, et al. Cortisone-induced intrafemoral head pressure change and its response to a drilling decompression method. Clin Orthop Relat Res. 1981;(159): 274-278.
- Arlot J. Nontraumatic avascular necrosis of the femoral head past present and future. Clin Orthop Relat Res. 1992;(277):12-21.
- The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30. 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.
- Mitchell DG, Rao VM, Dalinka MK. Femoral Head Avascular Necrosis: Correlation of MR Imaging, Radiographic staging. Radionuclide Imaging and Clinical findings. Radiology. 1987; 162: 709-715.
- Levin D, Norman D, Zinman C, et al. Osteoarthritis-like disorder in rats with vascular deprivation-induced necrosis of the femoral head. Clin Orthop. 1999;195(9):637-647.
- Nishino M, Matsumoto T, Nakamura T, et al. Pathological and hemodynamic study in a new model of femoral head necrosis following traumatic dislocation. Clin Orthop. 1997;166(5): 259-262.
- Cruess RL, Ross D, Crawshaw E. The etiology of steroid-induced avascular necrosis of bone. A laboratory and clinical study. Clin Orthop Relat Res. 1975;(113):178-183.
- Saito S, Ohzono K, Ono K. Early arteriopathy and postulated pathogenesis of osteonecrosis of the femoral head. The intracapsular arterioles. Clin Orthop Relat Res. 1992;(277):98-110.
- Spencer JD, Brookes M. Avascular necrosis and the blood supply of the femoral head. Clin Orthop Relat Res. 1988;(235):127-140.
- Kabata T, Kubo T, Matsumoto T, et al. Onset of steroid-induced osteonecrosis in rabbits and its relationship to hyperlipaemia and increased free fatty acids. Rheumatology (Oxford). 2005; 44(10): 1233-1237.
- Matsui M, Saito S, Ohzono K, et al. Experimental steroid-induced osteonecrosis in adult rabbits with hypersensitivity vasculitis. Clin Orthop Relat Res. 1992;(277):61-72.
- Fink B, Degenhardt S, Paselk C, et al. ECT early detection of avascular necrosis of the femoral head following renal transplantation. Arch Orthop Trauma Surg. 1997;116(3):151-156.
- Wei Q, Yang XF, Liu L, et al. Zhongguo Guzhi Shusong Zazhi. 1999; 5:26-28. 魏青, 杨杏芳, 刘力, 等. 激素性股骨头坏死动物模型的建立和评价[J]. 中国骨质疏松杂志, 1999;5:26-28.
- Chan WP, Liu YJ, Huang GS, et al. MRI of joint fluid in femoral head osteonecrosis. Skeletal Radiol. 2002;31(11):624-630.
- Yoshida T, Kanayama Y, Okamura M, et al. Long-term observation of avascular necrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus: an MRI study. Clin Exp Rheumatol. 2002;20(4): 525-553.