

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.44.021 [http://www.crter.org/crter-2012-qikanquanwen.html]
冯金柱, 王瑞, 赵建宁. 建立股骨头坏死动物模型的最新信息[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(44):8279-8282.

建立股骨头坏死动物模型的最新信息**

冯金柱, 王瑞, 赵建宁

文章亮点: 对近几年来中外学者们建立的种种改良股骨头坏死模型作一个综述, 对以前研究的造模方法, 如糖尿病模型、酸碱法模型、射线照射模型以及手术机械阻断模型等近3年来没有学者进行改良的, 不再加以赘述。

关键词: 股骨头坏死; 动物模型; 机制; 病因; 最新进展

摘要

背景: 在临床骨科研究方面, 为了研究股骨头坏死的病因及发病机制, 从根本上进行治疗, 出现了各种各样的股骨头坏死的动物模型。

目的: 对近几年来学者们建立的各种各样股骨头坏死的改良模型作一个综述, 分析各种模型的优劣, 用来指导临床对股骨头坏死发病机制进行研究或者评价一种新的治疗方法的临床价值。

方法: 以“股骨头坏死; 动物模型”或“femoral head necrosis; animal model”为检索词检索 CNKI 中国知网数据库和 PubMed 数据库中 2005 年 1 月至 2011 年 12 月关于建立股骨头坏死动物模型的相关文献 136 篇, 根据纳入标准选择 20 篇文章进行分析。

结果与结论: 目前采用最多的建模方法是改良激素型, 但是不同的造模方法都有其自己的优缺点, 动物模型的建立方法的选择, 应该与自己实验目的紧紧相连。无论是为了病因及发病机制研究, 还是治疗效果的评价, 建立动物模型的方法都还需要进一步完善。

Latest information of the establishment of an animal model of femoral head necrosis

Feng Jin-zhu, Wang Rui, Zhao Jian-ning

Abstract

BACKGROUND: In clinical orthopedic research, a variety of femoral head necrosis animal models have emerged in order to study the etiology and pathogenesis of femoral head necrosis and give a fundamental treatment.

OBJECTIVE: To give a review to the variety of femoral head necrosis improved model established by scholars in recent years, and to analyze the pros and cons of various models, in order to help to study the osteonecrosis pathogenesis or evaluate the clinical value of a new treatment.

METHODS: The CNKI database and PubMed database (2005-01/2011-12) were used to retrieve the articles on the establishment of femoral head necrosis animal models with the key words of “femoral head necrosis, animal model” in English and Chinese. A total of 136 articles were obtained and finally 16 articles were included to review according to the inclusion criteria.

RESULTS AND CONCLUSION: The improved methods of steroid-induced are most used in modeling approach currently, but different modeling approach has its own advantages and disadvantages. Each method should be closely linked with its experimental purpose. And no matter for the study of the etiology and pathogenesis, or the evaluation of treatment, the methods to establish the animal model still needs further improvement.

Feng JZ, Wang R, Zhao JN. Latest information of the establishment of an animal model of femoral head necrosis. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(44): 8279-8282.

0 引言

成人股骨头坏死按照发生原因可分为创

伤性股骨头坏死以及非创伤性股骨头坏死, 创伤性的股骨头坏死通常见于股骨颈骨折以及髋关节脱位, 其次也可见于髌骨骨折、股骨头骨骺滑移及转子间骨折。非创伤性的股

南京大学医学院
临床学院(解放军
南京军区南京总
医院骨科), 江苏
省南京市
210002

冯金柱★, 男,
1987年生, 汉族,
江苏省淮安市人,
南京大学医学院
临床学院(解放军
南京军区南京总
医院骨科)在读硕
士, 主要从事关节
外科方面的研究。
Huayingzhu@
163.com

通讯作者: 赵建
宁, 教授, 主任医
师, 博士生导师,
解放军南京军区
南京总医院骨科,
江苏省南京市
210002
zhaojianning.020
7@163.com

中图分类号:R318
文献标识码:A
文章编号:2095-4344
(2012)44-08279-04

收稿日期:2012-01-05
修回日期:2012-01-29
(20111114019/D·C)

Clinical College,
Medical School of
Nanjing University
(Department of
Orthopedics, Nanjing
General Hospital of
Nanjing Military
Region of Chinese
PLA), Nanjing
210002, Jiangsu
Province, China

Feng Jin-zhu★,
Studying for master's
degree, Clinical
College, Medical
School of Nanjing
University
(Department of
Orthopedics, Nanjing
General Hospital of
Nanjing Military
Region of Chinese
PLA), Nanjing
210002, Jiangsu
Province, China
Huayingzhu@
163.com

Corresponding
author: Zhao
Jian-ning, Professor,
Chief physician,
Doctoral supervisor,
Clinical College,
Medical School of
Nanjing University
(Department of
Orthopedics, Nanjing
General Hospital of
Nanjing Military
Region of Chinese
PLA), Nanjing
210002, Jiangsu
Province, China
zhaojianing.0207@
163.com

Supported by:
National Natural
Science Foundation of
China,
No.81000792*

Received: 2012-01-05
Accepted: 2012-01-29

骨头坏死相对来说是一种渐进的慢性过程, 病因有激素治疗、酒精中毒、减压病、放射疗法以及放射疗法、动脉硬化等, 也有一些患者找不到明确的致病因素。这类非创伤性股骨头坏死以激素性股骨头坏死为主。所以按照成人股骨头坏死的各种发生原因就可以指导我们建立各种各样的动物模型。本文对近几年来中外学者们建立的种种改良模型作一个综述, 至于以前研究的造模方法, 例如糖尿病模型, 酸碱法模型, 射线照射模型以及手术机械阻断模型等, 由于近 3 年来并没有学者进行改良, 在此就不再加以赘述。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者在 2011 年 12 月进行检索。检索数据库: PubMed 数据库, 网址 <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed>; CNKI 数据库, 网址 <http://epub.cnki.net>。英文资料的检索时间范围为 2005 至 2011 年; 中文资料的检索时间范围为 2005 至 2011 年。英文检索词为“femoral head necrosis; animal model”; 中文检索词为“股骨头坏死; 动物模型”。

1.2 入选标准

纳入标准: ①动物模型。②股骨头坏死病因及发病机制方面的研究。③新型的股骨头坏死治疗方法的研究。

排除标准: ①与此文目的无关。②较陈旧的文献。③相似或重复性研究。

1.3 质量评估 动物实验研究或者包含建模方法研究的原著 136 篇。

2 结果

2.1 纳入文献基本情况 初检得到 136 篇文章, 中文 43 篇, 英文 93 篇。阅读标题和摘要进行初筛, 保留 20 篇做进一步分析。文献[1-6]研究了改良的激素性动物模型的建模方法及优缺点, 文献[7-9]研究了改良酒精性动物模型, 文献[10-11]研究了减压病所致的股骨头坏死动物模型的最新进展, 文献[12-20]研究了创伤性动物模型以及冷冻、加热方法

建立的动物模型的应用前景及研究进展。

2.2 结果描述

2.2.1 适用于发病机制研究的动物模型 这类模型因为主要模拟人类非创伤性股骨头坏死的发病原因, 所以有着各种各样的限制, 比如跟临床发生过程一样, 其造模周期要长, 但是其造模的效果并没有达到 100% 的确切。

激素型以及改良激素型股骨头坏死: 自 1957 年 pietrogramde 报道泼尼松可引起股骨头缺血性坏死以来, 服用激素可致股骨头坏死已经成为共识, 但是其具体的发病机制以及引起股骨头坏死的详细病理机制仍未可知。所以用激素制作股骨头坏死模型可用来对股骨头坏死的发病机制进行研究。

单纯大剂量激素型股骨头坏死: 程田等^[1]通过给鸡经胸肌注射地塞米松 20 mg/kg, 连续 3 d, 4 周后光镜下出现股骨头坏死的病理变化。该模型较以往并没有较大改变, 其特点是选择鸡作为实验动物, 其两条腿承重, 可以产生股骨头塌陷类似于人类的病理变化。大剂量激素刺激虽然可以造出股骨头坏死的模型, 但是其造模周期长, 效果很不稳定, 死亡率较高。

间断使用激素法: 赵哲等^[2]通过给兔臀肌注射醋酸氢化泼尼松龙, 8 mg/kg, 注射 3 周, 停药 3 周, 再继续用药 5 周的方法与连续注射醋酸氢化泼尼松龙, 8 mg/kg, 每周 2 次, 共 8 周 16 次的方法进行类比, 发现其死亡率较单纯大剂量连续使用激素有较大幅度降低, 并且两种方法在兔股骨头病理变化的影响上几乎保持一致。

小剂量内毒素联合激素法: 在临床上很多激素引起的股骨头坏死病例都存在一个共同点, 就是患者本身都存在着不同程度的血管内皮损伤, 导致机体的高凝状态。所以利用内毒素制造血管内皮损伤再联合激素的方法可以用来对激素型股骨头坏死的机制进行研究。王泳等^[3]通过给兔耳缘静脉注射内毒素 20 μg/kg 1 次联合臀肌注射甲基强的松龙 20 mg/kg 3 次的方法成功造出股骨头坏死的模型。本方法采用的内毒素剂量比以前的内毒素联合激素模型有着明显降低, 死亡率较以往有明显改善, 但是造模成功率依然需要进一步的提高。

异种血清联合激素法: 激素致股骨头坏死已经成为临床上非创伤性股骨头坏死的首要因素, 如何精准模拟临床上股骨头坏死, 就是现在造模的最大难题。Saito 等^[4]提出激素和血管炎的共同作用可能导致了股骨头坏死的发生, 在临床上许多应用激素治疗的患者中他们本身就存在了一定的过敏性血管炎, 所以马血清的变态反应作用在造模方面得到了广泛的应用。李传将等^[5]采用给实验组白兔经耳缘静脉按 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每周 4 mg/kg, 连续 8 周。与注射等量生理盐水的对照组相比, 4 周实验组 MRI 显示部分动物可见局部信号改变, 电镜观察个别骨细胞结构模糊不清, 或有大气泡, 8 周时 MRI 可见皮质下出血。电镜观察部分骨细胞核破裂、核溶解, 凋亡细胞大量出现, 骨胶原结构排列紊乱。该方法较 Wen 等^[6]激素联合马血清的方法最主要的区别就是模拟了临床激素用量, 采用小剂量, 多频次的方法, 持续不断的给予甲基强的松龙, 成功造出了造模率高, 具有可重复性的股骨头坏死模型。

酒精型股骨头坏死: 过量饮酒可以引起股骨头坏死, 但具体的发病机制也尚未清楚, 最新研究表明可能间充质干细胞的成骨能力与成脂能力失衡导致了酒精性股骨头坏死的发生^[7]。

王少华等^[8]用马血清致敏联合烈性白酒灌胃的方法处理家兔, 在第 4, 8 周末分批处死动物, 观察股骨头坏死的病理变化, 说明异种血清的致敏反应可能也加强了酒精在股骨头坏死发病机制的作用, 对股骨头坏死起到了加速的作用。但由于其实验周期短, 无法观察到股骨头后续的病理变化。而通过无水乙醇直接注射的方法造成的股骨头坏死的模型虽然造模率较高, 并且造模周期不长, 但是却不能用于其病因及发病机制的研究, 可以用来对股骨头坏死的治疗方法及副作用的评价方面^[9]。

羊减压性股骨头坏死: 减压病的发病机制现在已经非常清楚了, 是因为如果减压太快, 使机体内原本溶于血液中的氮气释放出来, 在血管中形成栓塞。又因为在相同气压之下, 氮气在脂肪组织中的溶解度比水中大 5 倍, 所以氮气又易于聚集在脂肪丰富的组织中。Lehner 等^[10]在 1997 年就已经制作出羊减压病骨坏死的模型, 他反复将羊先放于高压环境中, 然后再置于减压环境中, 2 个月后就出现了骨及骨髓坏死的病理变化。他本来的想法是通过这个实验对减压病

的的机制进行研究, 但是后来这个造模方法也同样用于对预吸氧防治减压病的效果评价^[11]。

2.2.2 适用于对一种治疗方法进行评价的动物模型 这类模型不完全要求贴近人类疾病的发生机制, 所以相对来说限制比较少, 目的是造模周期短, 经济, 造模重复率高, 死亡率低, 病理变化尽可能贴近人类的动物模型。

创伤性股骨头坏死: 创伤性股骨头坏死的病因已经很清楚, 就是股骨头血运的突然中断导致的结果, 由于这个病因启发, 可以采取多种手段来中断股骨头的血液供应。马坤等^[12]通过股动脉 Seldinger 法穿刺插管, 超选一侧股骨头供血动脉行平阳霉素灌注及明胶海绵栓塞处理, 建立股骨头缺血坏死模型, 后 2 周出现早期病理学改变, 术后 4 周 MRI 显示股骨头坏死异常信号, 病理切片出现不同程度骨细胞及骨小梁坏死, 术后 6 周病理切片可见坏死后增生及修复反应。股骨头坏死的动物造模目前采用手术切开, 包括血管结扎、局部化学药物注射等办法破坏股骨头血运的方法较少, 原因是其创伤对动物的局部组织破坏较大, 对机体内稳态也具有一定影响, 效果难具有说服力。

微波加热致股骨头坏死: 彭吾训等^[13]将大白兔分为 4 组, 以微波天线插入兔股骨头, 分别以不同的时间 (10, 20 min) 和温度 (50, 55, 60 °C) 进行股骨头微波灭活, 灭活后即刻、1, 2, 4, 8 和 12 周, 观察兔行为、利用 X 射线、MRI 检测股骨头影像, 并观察股骨头切片的组织坏死及修复情况, 最终成功造出兔股骨头坏死的模型, 并且得出采用 55 °C 10 min 微波活股骨头是制作兔股骨头坏死模型的适宜温度和时间, 且其股骨头变化符合临床病理变化过程。该方法的最大的特点造模周期短, 并且造模精确, 可控性和重复性都较高。由于这种造模方法跟临床上股骨头坏死的发病机制毫无相关性, 故不能用来研究病因及发病机制, 可以作为异体骨或者是间充质干细胞移植治疗股骨头坏死所采用的造模方法^[14]。

液氮冷冻致股骨头坏死: 液氮冷冻引起股骨头坏死的机制可能是先引起血管痉挛、血管内皮细胞受损、血管内凝血、血管通透性增加, 继而发生出血和复温后的缺血再灌注损伤^[15]。该造模方法继 Takaoka 等^[16]首次采用后近些年来也经过了许多改良。V élez 等^[17]采用超低温冷冻探针及血管结扎的方法在羊身上成功造出了股骨头坏死的模型, 病理结果以及 MRI 在 6 周及 12 周一致显示了股骨头坏死的发展过程, 具有一定的客观性及精度。戴双武等^[18]采用不切断圆韧带

以及髋关节不脱位的基础上用液氮棉签快速冷冻兔股骨头, 2周就已经观察到骨细胞坏死以及随后的修复反应。邓冰等^[19]采用液氮针头插入股骨头注射的方法, 也成功造出了股骨头坏死的动物模型。这两种方法的共同优点就是实验不需要切开髋关节囊也不需要人工脱位, 减少了创伤, 并且同微波加热法相似, 造模的周期较短, 在造模的方位以及股骨头坏死的程度都有着很高的可控性, 实验过程中观察到了股骨头坏死自然的修复反应, 可用作对早期股骨头坏死治疗评价的研究。

局部冷热交替造模方法: 由于冷热交替方法在软组织肿瘤微创治疗方面的启发, 范猛等^[20]采取了闭合回路的液氮冷冻损伤和射频加热损伤交替的方法成功建立起了鹌鹑塌陷性股骨头骨坏死动物模型, 并观察到了髋关节骨性关节炎甚至髋关节半脱位的晚期表现。这种造模方法最显著的特点采用了鹌鹑, 这种类似于人类身高和体质量的双足动物, 并高度模拟了股骨头坏死从早期到晚期的病理变化, 这无疑是股骨头坏死动物模型建立方法又一次成功的探索。

3 结论与展望

作为对股骨头坏死进行临床研究的基础, 一种可行经济的, 实用可控甚至可以标准化的动物模型是至关重要的。上述方法代表了近两三年来股骨头坏死动物模型的最新进展, 同时从侧面反映了该如何进行造模方法的选择。不同的造模方法都有其自己的优缺点, 从实验的目的出发, 选择适合的造模方法。无论是病因及发病机制研究, 还是用于治疗效果的评价, 现在的动物模型还需要进一步的完善, 最好能达到全程高度模拟人类股骨头坏死的发病以及病理变化, 这将是未来学者研究的重点及难点。

4 参考文献

[1] 程田, 李月白, 王义生. 短期应用大剂量激素导致鸡股骨头坏死[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(2): 285-287.

[2] 赵哲, 王文波, 李吉友, 等. 间断应用激素法制备兔股骨头缺血性坏死模型[J]. 中国实验动物学报, 2008, 16(4): 270-273.

[3] 泳, 高春锦, 杨晋才, 等. 兔激素性股骨头坏死模型的建立[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(11): 2233-2234.

[4] 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.

[5] 李传将, 王万明, 庄颜峰, 等. 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.

[6] Wen Q, Ma L, Chen YP, et al. A rabbit model of hormone-induced early avascular necrosis of the femoral head. Biomed Environ Sci. 2008;21(5):398-403.

[7] Suh KT, Kim SW, Roh HL, et al. Decreased osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in alcohol-induced osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res. 2005;(431):220-225.

[8] 王少华, 王义生, 李月白. siRNA腺病毒载体预防兔酒精性股骨头坏死的动物实验研究[J]. 中国骨与关节外科, 2010, 3(1): 62-67.

[9] Zhu ZH, Gao YS, Luo SH, et al. An animal model of femoral head osteonecrosis induced by a single injection of absolute alcohol: an experimental study. Med Sci Monit. 2011;17(4): BR97-102.

[10] Lehner CE, Adams WM, Dubielzig RR, et al. Dysbaric osteonecrosis in divers and caisson workers. An animal model. Clin Orthop Relat Res. 1997;(344):320-332.

[11] Sobakin AS, Wilson MA, Lehner CE, et al. Oxygen pre-breathing decreases dysbaric diseases in UW sheep undergoing hyperbaric exposure. Undersea Hyperb Med. 2008;35(1):61-67.

[12] 马坤, 顾建平, 苏浩波, 等. 介入法犬股骨头坏死模型制作[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18(6): 470-473.

[13] 彭吾训, 王蕾, 邓进, 等. 微波加热制作股骨头坏死模型: 最适宜的温度和时间筛选[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(17): 3143-3147.

[14] Li Y, Han R, Geng C, et al. A new osteonecrosis animal model of the femoral head induced by microwave heating and repaired with tissue engineered bone. Int Orthop. 2009;33(2): 573-580.

[15] Jones JP Jr. Fat embolism, intravascular coagulation, and osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res. 1993;(292):294-308.

[16] Takaoka K, Yoshioka T, Hosoya T, et al. The repair process in experimentally induced avascular necrosis of the femoral head in dogs. Arch Orthop Trauma Surg. 1981;99(2):109-115.

[17] Vélez R, Soldado F, Hernández A, et al. A new preclinical femoral head osteonecrosis model in sheep. Arch Orthop Trauma Surg. 2011;131(1):5-9.

[18] 戴双武, 丁帅, 李章华, 等. 液氮冷冻法制作兔股骨头坏死模型: 可行, 理想与可信[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(2): 276-279.

[19] 邓冰, 权毅, 潘显明, 等. 液氮注射制作兔股骨头缺血性坏死模型实验研究[J]. 西南国防医药, 2009, 19(3): 264-266.

[20] 范猛, 汪爱媛, 王玉, 等. 局部冷热交替损伤建立鹌鹑股骨头坏死塌陷模型[J]. 中国医学科学院学报, 2011, 33(4): 375-381.

来自本文课题的更多信息—

基金声明: 国家自然科学基金资助项目 (81000792)。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。