

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.37.022 [http://www.crter.org]

李瑞琦, 张国平, 李宜炯, 李亚丽, 任立中, 张宇宸, 王伟, 高宏阳, 吕亚军. 激素性股骨头坏死模型: 不同构建技术分析[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(37):6676-6681.

激素性股骨头坏死模型: 不同构建技术分析*

李瑞琦, 张国平, 李宜炯, 李亚丽, 任立中, 张宇宸, 王伟, 高宏阳, 吕亚军 (河北医科大学第一医院骨科, 河北省石家庄市 050031)

文章亮点:

1 此问题的已知信息: 激素性股骨头坏死造模的研究中, 常用的方法有单纯激素诱导法、异体血清加激素诱导法和内毒素加激素诱导法。

2 文章增加的新信息: 文章使用 X 射线片、双能 X 射线骨密度测量仪进行检测以及组织学切片 3 种检测来评价股骨头缺血性坏死, 3 种方法可以互相弥补。

3 临床应用的意义: 激素联合脂多糖诱导激素性股骨头坏死动物模型的方法因骨坏死率高、并发症少等优点而被广泛应用。文章采用地塞米松联合脂多糖能够诱导兔激素性股骨头坏死模型, 方法简单、快速, 值得推广应用。

关键词:

组织构建; 组织构建学术探讨; 动物模型; 激素性股骨头坏死; 致死原因; 内毒素脂多糖; 地塞米松; 骨密度; 骨坏死; 病理学

主题词:

股骨头坏死; 地塞米松; 骨密度; 骨坏死; 模型, 动物

李瑞琦★, 男, 1966 年生, 山西省岚县人, 汉族, 2002 年山西医科大学毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事股骨头坏死的研究。
li_ruiqi2008@126.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2013)37-06676-06

收稿日期: 2013-04-10
修回日期: 2013-05-13
(201304094/LYL · C)

摘要

背景: 良好的股骨头坏死动物模型的建立, 有助于研究股骨头坏死的发病机制, 为股骨头坏死的预防和治疗提供理论依据。

目的: 研究内毒素脂多糖联合地塞米松注射液诱导兔股骨头坏死的实验效果。

方法: 新西兰大白兔 36 只随机分为模型组 21 只和对照组 15 只。模型组连续 2 d 每日经耳缘静脉注射内毒素脂多糖 10 μg/kg, 再连续 3 d, 每日肌肉注射地塞米松注射液 25 mg/kg; 对照组注射同等剂量的生理盐水。

结果与结论: 模型组 4 周后 X 射线显示兔关节间隙增宽, 密度增大, 关节软骨下骨密度增高, 股骨头变平, 骨小梁模糊, 软骨下骨与骨松质界限不清, 在股骨头内出现斑块状高密度区域, 股骨颈变短粗。双能量 X 射线骨密度测量仪进行股骨头局部骨密度测量, 兔股骨头骨密度检测发现模型组股骨头骨密度、骨矿物质含量均显著低于对照组 ($P < 0.05$)。组织学切片见模型组骨细胞陷窝空疏, 脂肪细胞增多, 部分血管栓塞, 其中存活动物的骨坏死率和骨陷窝率均明显高于对照组。证实地塞米松联合脂多糖可有效建立激素性股骨头坏死模型。

Model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head: Analysis of different construction techniques

Li Rui-qi, Zhang Guo-ping, Li Yi-jiong, Li Ya-li, Ren Li-zhong, Zhang Yu-chen, Wang Wei, Gao Hong-yang, Lü Ya-jun (Department of Orthopedics, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: To construct a normal animal model of femoral head necrosis contributes to the research of the pathogenesis of femoral head necrosis, which can provide theoretical basis for the prevention and treatment of femoral head necrosis.

OBJECTIVE: To research the experimental effect of lipopolysaccharide combined with dexamethasone injection in the induction of rabbit femoral head necrosis.

METHODS: Thirty-six New Zealand white rabbits were randomly divided into model group ($n=21$) and control group ($n=15$). The rabbits in the model group were injected with 10 μg/kg lipopolysaccharide daily and continuous for 2 days, and then injected with 25 mg/kg dexamethasone daily for 3 days continuously. The rabbits in the control group were injected with the normal saline at the same volume.

RESULTS AND CONCLUSION: After 4 weeks, the X-ray film of the rabbit in the model group showed the joint gaps were widened, the density was increased, the articular subchondral bone mineral density was increased, the femoral head was flat, trabecular bone was fuzzy, the boundaries between subchondral bone and cancellous bone was unclear, and the patchy high-density areas were observed in the femoral head with shortened femoral neck. The bone mineral density of partial femoral head was measured with dual-energy X-ray absorptiometry, and found that the bone mineral density of femoral head and the bone mineral content of the model group were

Li Rui-qi★, Master, Associate chief physician, Department of Orthopedics, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China
li_ruiqi2008@126.com

Received: 2013-04-10
Accepted: 2013-05-13

significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$). Histological section observation showed that the bone cell lacuna was empty and shallow, fat cells were increased and vascular thrombosis was observed, meanwhile, the osteonecrosis rate and lacunae rate of the survival animals were significantly higher than those in the control group. Dexamethasone combined with lipopolysaccharide can effectively construct the model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head.

Subject headings: femoral head necrosis; dexamethasone; bone density; osteonecrosis; models, animal

Li RQ, Zhang GP, Li YJ, Li YL, Ren LZ, Zhang YC, Wang W, Gao HY, Lü YJ. Model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head: Analysis of different construction techniques. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(37):6676-6681.

0 引言 Introduction

随着临床上激素的广泛应用, 激素性股骨头坏死 (steroid induced avascular necrosis of the femoral head, SANFH) 的发病率在中国逐年上升^[1]。该病具有预后差、致残率高等临床特点, 给患者和社会带来了巨大的经济和精神压力, 严重影响患者的生活质量。为探索治疗方法, 需建立一种方便可靠、成功率高、病死率低的激素性股骨头坏死动物模型。良好的股骨头坏死动物模型的建立, 有助于研究股骨头坏死的发病机制, 为股骨头坏死的预防和治疗提供理论依据。有研究表明激素联合内毒素脂多糖共同促进脂肪代谢紊乱、血液高凝血低纤溶状态和成骨细胞凋亡^[2], 两者协同作用并共同促进骨坏死发生, 并降低各自单独应用时出现的不良反应。文章研究旨在探讨内毒素脂多糖联合地塞米松注射液诱导建立兔股骨头坏死模型的实验效果。

1 内毒素脂多糖联合地塞米松诱导的激素性股骨头坏死模型 Model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head induced by lipopolysaccharide combined with dexamethasone

1.1 材料

主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
内毒素脂多糖	美国 Sigma 公司
地塞米松注射液	郑州卓峰制药有限公司
DELPHI-A 双能 X 射线骨密度测量仪	美国 Hologic 公司
FCR5000 计算机 X 射线摄像系统	日本富士公司
光学显微镜, 自动图像信号采集与分析系统	日本 Olympus 公司

实验动物: 选用24周龄以上的健康新西兰大白兔36只, 清洁级, 雌雄不限, 体质量(2.5±0.3) kg。实验动物由河北医科大学第一医院动物实验室提供, 单笼饲养, 喂养饲料为标准颗粒饲料, 自由饮水。实验动物的饲养条件, 温度(22±2) °C, 湿度

50%–70%, 通风良好, 阳光充足。实验过程中对动物处置符合科学技术部2006年《关于善待实验动物的指导性意见》的要求^[3]。

1.2 方法 适应性饲养1周, 确定健康无疾病, 除去有咳嗽、腹泻及后肢有畸形的兔, 精确称质量, 随机分为模型组21只和对照组15只。模型组为内毒素脂多糖联合地塞米松注射液注射组, 连续2 d每日经耳缘静脉注射内毒素脂多糖10 μg/kg, 再连续3 d, 每日臀部肌肉注射地塞米松注射液(25 mg/kg); 对照组为空白对照组, 注射同等剂量的生理盐水。所有动物从第1天用药开始, 连续7 d庆大霉素注射液 8×10^4 U/只灌胃。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 一般观察 观察动物的精神状态, 毛发、采食、尿便、体质量及活动状况。股骨头标本的大体观察, 观察股骨头的外形及关节软骨面的颜色、光滑度。

1.3.2 X射线观察 模型组和对照组在实验兔末次注射地塞米松之后4周经耳缘静脉注射体积分数3%戊巴比妥钠12 mg/kg, 麻醉成功后, 将大白兔俯卧位放置, 固定四肢, 做X射线摄影检查。摄影取股骨头正位, 摄影条件为电压 42 kV, 电流 500 mA, 距离 1 m, 曝光时间0.08 s。观察股骨头外形、密度及骨小梁变化。

1.3.3 骨矿含量及骨密度 模型组和对照组在实验兔末次注射地塞米松之后4周, 经耳缘静脉注射空气处死模型组及对照组动物, 取双侧股骨标本, 采用美国Hologic公司生产的双能X射线骨密度测量仪进行检测。选择小动物测量模式进行骨密度值的校准。将实验股骨标本置于检测台上, 由远端向近端扫描。待扫描完成后, 在扫描图像上选取股骨头颈部作为感兴趣区。选定区域后机器自动计算出该区域的骨密度值。

1.3.4 组织病理学观察 取模型组和对照组实验动物的股骨头颈标本, 用体积分数为10%的甲醛缓冲液固定3 d, 乙醇从低到高体积分数梯度脱水。然后标本浸蜡、包埋, 作5 μm冠状面切片。苏木精-伊红染色, 光镜观察。自动图像信号采集与分析系统中进行骨组织形态观察, 记录骨坏死发生率及空骨陷窝百分率。骨坏死的定义为骨小梁内出现弥漫性的空陷窝或

核皱缩, 伴有周围骨髓细胞的坏死^[4]。骨坏死发生率=任何一侧股骨头出现骨坏死灶的动物数/组内动物总数 $\times 100\%$; 随机取10个高倍镜视野($\times 400$), 每个视野内计算空骨陷窝百分率=空骨陷窝数/总骨陷窝数 $\times 100\%$ 。

1.4 统计学分析 应用SPSS13.0软件对数据结果进行 χ^2 检验及t检验。实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

1.5 一般观察结果 模型组兔从实验第2天开始出现精神萎靡、毛发混乱、脱毛、采食减少, 部分兔出现腹泻; 1周后采食渐增, 精神状态渐恢复, 但体质量和皮下脂肪显著减少; 至4周末模型组可观察到大部分兔出现站立困难、跛行等现象; 因拒食、呕吐、咳嗽、发热、腹泻死亡3只。对照组兔未出现精神萎靡、毛发混乱、脱毛、采食减少、体质量减轻、腹泻等症, 无死亡兔。模型组兔实验第4周时的标本股骨头外形略显椭圆, 关节软骨呈轻度剥脱; 对照组兔4周时的股骨头外形均圆、光滑。

1.6 X射线观察结果 两组实验兔末次注射地塞米松后4周X射线片, 见图1和图2。



注: 髋关节间隙成一均匀弧形, 股骨头呈球形, 密度均一, 有的可见骨骺线, 关节面光滑圆润, 在头和颈可见骨小梁向负重面放射状排列。

图1 对照组实验兔末次注射地塞米松后4周X射线表现



注: 关节间隙增宽, 密度增大, 关节软骨下骨密度增高, 股骨头变平, 骨小梁模糊, 软骨下骨与骨松质界限不清, 在股骨头内出现斑块状高密度区域, 股骨颈变短粗。

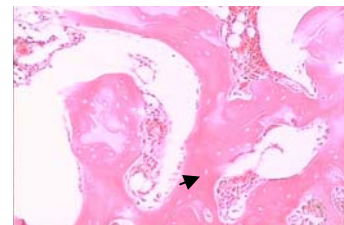
图2 激素性股骨头坏死模型实验兔末次注射地塞米松后4周X射线表现

1.7 骨矿含量及骨密度结果 两组存活动物双能X射线骨密度测量仪进行检测, 见表1。

组别	n	骨密度 (g/cm ²)	骨矿含量 (g)
模型组	18	0.317 4 \pm 0.060 0	0.213 1 \pm 0.010 2
对照组	15	0.346 8 \pm 0.080 0	0.295 4 \pm 0.016 7

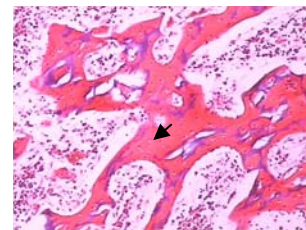
注: 模型组骨矿物质含量、骨密度均显著低于对照组($P < 0.05$)。

1.8 组织病理学观察结果 实验兔末次注射地塞米松之后4周时模型组兔股骨头的软骨层变薄, 部分可见软骨面剥脱, 软骨下骨小梁明显变细而且稀疏, 结构紊乱, 部分骨小梁断裂不连续, 陷窝内骨细胞明显减少, 骨细胞陷窝中, 有广泛的脂质沉积, 脂肪细胞体积与数量有明显的增多, 部分融合成泡状, 髓腔内造血细胞明显减少, 软骨下骨微小血管内可见血栓形成, 详见图3。对照组光镜下观察股骨头软骨下骨小梁完整, 排列规则整齐, 骨细胞清晰可见, 核位于中央, 且较大。成骨细胞沿骨小梁成串分布, 有散在的空骨陷窝。骨髓造血细胞丰富, 脂肪细胞相对较少, 见图4。各组实验动物骨坏死率及空骨陷窝率比较, 见表2。



注: 骨陷窝变得空虚、无深染的细胞核(箭头示)。

图3 第4周时激素性股骨头坏死模型兔组织病理学观察(苏木精-伊红染色, $\times 100$)



注: 骨陷窝内可见深染的骨细胞核(箭头示)。

图4 第4周时对照组实验兔组织病理学观察(苏木精-伊红染色, $\times 100$)

表2 两组动物骨坏死率及空骨陷窝率比较 (%)

组别	n	骨坏死率	空骨陷窝率($\bar{x}\pm s$)
模型组	18	88.9(16/18)	32.19 \pm 2.16
对照组	15	0(0/15)	6.45 \pm 1.23

注: 两组比较差异有显著性意义 $P < 0.05$ 。

2 不同方法构建激素性股骨头坏死模型的相关分析 Analyzing the model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head constructed with different methods

2.1 单纯激素诱导激素性股骨头坏死模型 齐振熙等^[5]研究激素性股骨头缺血性坏死动物模型, 选用健康成年新西兰大白兔10只, 雌雄各半, 体质量2.5 kg左右, 随机分为正常对照组与激素造模组, 每组5只, 分笼在相同条件下喂养。激素造模组动物每周2次臀肌注射醋酸氢化泼尼松7.5 mg/kg, 正常对照组动物每只每周2次注射等量生理盐水, 所有动物每周2次肌注青霉素15万U和链霉素150 mg预防感染, 共注射6周。发现正常对照组的组织病理学观察骨小梁排列规则整齐, 致密饱满, 骨细胞清晰可见, 核较大、位于中央, 髓腔增生活跃, 造血细胞丰富。激素造模组骨小梁变细, 间距增大, 结构紊乱; 部分有断裂现象, 多数骨细胞变性坏死, 核偏于一侧, 髓腔内脂肪细胞增多、增大, 骨细胞数量减少。正常对照组空骨陷窝计数为(12.10 \pm 1.60)%, 激素造模组为(21.30 \pm 2.81)%, 两组比较差异有显著性意义($P < 0.001$)。正常对照组肝脏组织病理学变化正常, 肝小叶、肝索、肝窦结构等清晰, 肝细胞无肿胀现象。激素造模组肝细胞内可见大小不等的脂肪空泡, 在苏木精-伊红切片制片过程中脂肪全部被溶解而形成空泡, 胞体肿胀, 胞核被压至一边, 呈气球样变, 肝索结构不清, 肝窦变窄不易辨认。

透射电镜观察结果正常对照组骨组织表面有一层梭形骨细胞覆盖, 胞浆丰富, 富含粗面内质网, 多聚核糖体多, 线粒体发达, 嵴结构清晰, 可见细小颗粒。基质中散在有骨细胞, 陷窝明显, 周边部有胶原纤维。骨细胞细小, 表面有突起, 位于骨小管内, 核异染色质丰富, 核仁可见, 浆少, 有少量线粒体及粗面内质网、溶酶体, 个别骨细胞结构模糊不清, 或有大空泡。激素造模组成骨细胞的粗面内质网上多聚核糖体脱粒、解聚, 线粒体肿胀。骨细胞数量减少, 多发生。退变坏死, 结构模糊不清, 胞核固缩, 异染色质浓聚, 有的骨细胞内有大小不等、多少不一的脂

滴, 或有大泡形成, 胞核被挤向一侧, 少数骨细胞结构形态大致正常。骨髓组织增生减低, 脂肪细胞增多、增大。骨生化检测结果, 见表3。

表3 齐振熙等^[5]研究中两组骨生化指标的比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	钙(ng/g)	氨基己糖(ng/g)	羟脯氨酸(ng/g)	钙/羟脯氨酸	氨基己糖/羟脯氨酸
正常对照组	234.00 \pm 24.50	8.47 \pm 0.68	46.50 \pm 4.75	5.29 \pm 0.70	0.19 \pm 0.01
激素造模组	122.00 \pm 17.30	6.11 \pm 0.77	43.90 \pm 3.43	2.57 \pm 0.62	0.14 \pm 0.01

注: 激素造模组与正常对照组比较, 骨钙盐指标有极显著的降低($P < 0.001$), 达48%; 氨基己糖激素造模组较正常对照组降低极显著($P < 0.001$); 羟脯氨酸激素造模组较正常对照组稍有下降, 但相比差异并不明显($P > 0.05$); 钙/羟脯氨酸激素造模组与正常对照组相比较, 有极为显著的降低($P < 0.001$); 氨基己糖/羟脯氨酸激素造模组与正常对照组相比显著降低($P < 0.001$)。

2.2 异体血清加激素诱导激素性股骨头坏死模型 胡志明等^[6]注射马血清和醋酸泼尼松龙建立兔激素性股骨头坏死模型, 将20只健康新西兰兔随机分成模型组和正常对照组, 每组10只, 模型组注射马血清及醋酸泼尼松龙造模。采用X射片及CT观察股骨头形态变化, 标本行常规组织病理学检查, 并进行动脉墨汁灌注观察。X射片及CT显示造模组两侧股骨头密度不均, 关节面模糊; 墨汁灌注血管造影显示股骨头血管显著减少; 病理组织学观察显示骨小梁骨细胞陷窝空疏, 骨细胞核固缩, 部分血管栓塞, 骨髓腔内造血组织明显减少。马血清、激素诱导的激素性股骨头坏死动物模型病理、影像学改变符合临床典型股骨头坏死的特征, 为进一步研究股骨头坏死发病机制及治疗提供基础。

2.3 内毒素加激素诱导激素性股骨头坏死模型 邢兰坤^[7]通过给予兔小剂量内毒素联合甲强龙诱导早期股骨头缺血性坏死的模型。选用成年新西兰大白兔35只, 分实验组、内毒素组、甲强龙组和对照组。实验组动物于第1和2天行耳缘静脉注射5 μ g/kg脂多糖, 间隔1天后于第4, 5, 6连续3 d臀肌注射20 mg/kg甲强龙; 内毒素组注射内毒素同实验组; 甲强龙组同等剂量生理盐水代替内毒素后甲强龙方法同实验组; 对照组方法同实验组注射同等剂量的生理盐水。所有动物都放于实验室喂养, 观察动物的生活习性和饮食规律, 并于注射前和末次注射后2, 4, 6, 8周时做磁共振检查, 第8周处死做组织学检查和透射电镜观察股骨头病理, 并计算空骨陷窝率; 根据组织学和磁共振检查计算骨坏死率。实验组和内毒素组兔子注射脂多糖后呼吸急促, 精神萎靡, 活动减少, 实验组死亡1只, 内毒素组死亡2只, 3周后体质量明显减轻; 甲强龙和对照组注射后无不适, 3周后体质量略增加。磁

共振显示实验组于在第4周时即出现明显的股骨头坏死表现, T2WI出现不均匀高信号呈现典型的“双线征”; 第8周时T1WI显示股骨头及股骨颈信号减低、不均匀。病理切片显示实验组出现骨小梁稀疏变细, 结构紊乱, 骨髓腔内造血组织明显减少, 脂肪细胞体积增大等表现; 实验组、内毒素组、甲强龙组和对照组空骨陷窝率分别为(44.3±6.9)%, (11.6±3.8)%, (16.3±3.0)%和(6.1±2.2)%, 实验组与内毒素组、甲强龙组和对照组比较差异均有显著性意义。透射电镜观察实验组兔子出现骨细胞核固缩, 形成高密度的斑块, 细胞突起小时, 骨陷窝内的骨小管结构不清, 胶原纤维完全消失, 形成低电子密度区。骨坏死率为实验组88.89%显著高于其他组。5 μg/kg内毒素联合甲强龙既能减低兔子死亡率并能在第8周成功造模。

马焕芝等^[8]通过甲基强的松龙联合内毒素诱导兔股骨头缺血性坏死, 选用健康成年雄性新西兰白兔36只, 体质量3.0~4.0 kg, 根据给药方式不同随机分成大肠杆菌内毒素组、大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组、甲基强的松龙组和对照组。大肠杆菌内毒素组于耳缘静脉注射大肠杆菌内毒素10 μg/kg, 24 h后重复给药1次; 大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组在大肠杆菌内毒素注射完毕后, 立即臀肌注射40 mg/kg甲基强的松龙3次, 每次间隔24 h; 甲基强的松龙组单纯臀肌注射40 mg/kg甲基强的松龙3次, 每次间隔24 h; 对照组相同时间点注射等量生理盐水。透射电镜观察, 大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组和甲基强的松龙组骨细胞和内皮细胞胞浆内均出现脂滴, 大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组骨细胞皱缩, 核膜失去连续性、染色质溶解或固缩, 大肠杆菌内毒素组、大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组血管内皮细胞肿胀, 细胞之间的连接增宽、破坏。大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组骨坏死发生率为88.9%, 显著高于甲基强的松龙组的22.2%($P < 0.05$), 大肠杆菌内毒素组、对照组无骨坏死发生。各组股骨头空骨陷窝率、骨小梁面积百分比和微血管密度, 见表4。

表4 马焕芝等^[8]研究各组股骨头空骨陷窝率、骨小梁面积百分比和微血管密度 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	空骨陷窝率	骨小梁面积百分比	微血管密度
大肠杆菌内毒素组	10	11.8±4.7 ^{ab}	59.2±6.8 ^{ab}	14.3±2.7 ^{ab}
大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组	9	34.4±6.2	40.1±6.0	4.5±2.1
甲基强的松龙组	9	20.0±4.7 ^{ac}	51.5±5.6 ^{ac}	10.2±3.1 ^{ac}
对照组	6	9.3±4.6 ^a	63.2±8.3 ^a	15.4±4.1 ^a

注: 与大肠杆菌内毒素+甲基强的松龙组比较, ^a $P < 0.01$; 与甲基强的松龙组比较, ^b $P < 0.05$; 与对照组比较, ^c $P < 0.05$ 。

3 讨论 Discussion

随着临床上激素的广泛应用, 激素性股骨头坏死的发病率在中国逐年上升^[1]。该病具有预后差、致残率高等临床特点, 给患者和社会带来了巨大的经济和精神压力, 严重影响患者的生活质量。为探索治疗方法, 需建立一种方便可靠、成功率高、病死率低的激素性股骨头坏死动物模型。在兔激素性股骨头坏死造模的研究中, 常用的方法有3种, 单纯激素诱导、异体血清加激素诱导、内毒素加激素诱导。有研究表明, 激素可以通过损伤骨组织细胞引起骨塑形及骨重建的破坏, 造成骨矿物盐的丢失, 导致激素性股骨头坏死的发生和发展^[9-10]。单纯激素和异体血清加激素诱导激素性股骨头坏死发生率并不高, 而且这种模型重复性差, 造模时间较长^[11]。激素联合脂多糖诱导激素性股骨头坏死动物模型的方法因骨坏死率高、并发症少等优点而被广泛应用^[12-13]。

脂多糖是革兰阴性菌细胞壁中的一种重要成分, 它与蛋白质、磷脂等共同构成了革兰阴性菌的细胞外壁。脂多糖致股骨头坏死的机制与血小板增多、高脂血症、血浆纤溶酶原激活剂抑制因子-1增多有关, 脂多糖能直接激活内皮细胞、血小板、单核巨噬细胞, 进一步导致微血管血栓形成^[14-15]。糖皮质激素导致的血液高凝血、高脂质、低纤溶状态, 脂肪细胞代谢紊乱, 血管内皮细胞损伤^[16], 氧化应激及过度凋亡等^[17-18], 均与激素性股骨头坏死密切相关^[19-21]。有研究证实激素联合脂多糖共同促进脂肪代谢紊乱、血液高凝血低纤溶状态和成骨细胞凋亡^[2,8,12], 两者协同作用并共同促进骨坏死发生, 并降低各自单独应用时出现的不良反应。

文章实验采用地塞米松联合脂多糖制备的兔股骨头坏死模型骨坏死率高。文章使用了X射线片、双能X射线骨密度测量仪进行检测以及组织学切片3种检测来评价股骨头缺血性坏死, 3种方法可以互相弥补。X射线片快速安全, 能够大体观察股骨头密度的变化。模型组在实验兔末次注射地塞米松之后4周X射线表现为关节间隙增宽, 密度增大, 关节软骨下骨密度增高, 股骨头变平, 骨小梁模糊, 软骨下骨与骨松质界限不清, 在股骨头内出现斑块状高密度区域, 股骨颈变短粗。双能X射线骨密度测量仪对股骨头缺血坏死的骨密度进行测量, 其方法简单, 可重复性强, 数据采集通过计算机处理, 能克服人为主观上判断所产生的误差, 准确度较高, 可靠、可信度较强, 有较广阔的发展和应用价值^[22]。模型组骨矿物质含量、骨密度均显著低于对照组($P < 0.05$)。组织学切片观察则是一种最常规观察病理改变的检测手段之一, 股骨

头缺血坏死的确切标志是骨细胞在陷窝中消失^[23]。文章病理报告为模型组骨小梁明显变细、稀疏, 结构紊乱, 部分骨小梁断裂不连续, 陷窝内骨细胞数量明显减少。模型组和对照组的骨坏死率及空骨陷窝率比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。

综上所述, 地塞米松联合脂多糖能够诱导兔激素性股骨头坏死模型, 并且方法简单、快速, 值得推广应用。

作者贡献: 第一作者进行文章构思、实施、评估、资料收集、成文、审校, 第一作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验获得所在单位的伦理委员会批准, 符合伦理学标准。

学术术语: 激素性股骨头缺血性坏死模型-是由于激素服用或注射过量导致股骨头血供障碍, 使部分或全部股骨头出现缺血的病理现象, 通过在实验动物上模拟致病因素, 来间接研究激素股骨头缺血性坏死的疾病本质。

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。

4 参考文献 References

- [1] 王建忠, 武永刚, 王坤正. 激素性股骨头坏死患者骨组织MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白的表达[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2012, 6(1): 59-62.
- [2] Liu Z, Zhang G, Man CW, et al. Establishment of a steroid-induced osteonecrosis animal model in bipedal emus. *Bone*. 2010; 47(3): S447.
- [3] 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. http://www.most.gov.cn/fggw/zfwj/zfwj2006/200609/t20060930_54389.htm
- [4] Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, et al. A high low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol ratio as a potential risk factor for corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology (Oxford)*. 2001; 40(2): 196-201.
- [5] 齐振熙, 曹阳. 激素性股骨头缺血性坏死的动物模型研究[J]. 福建中医学院学报, 2011, 11(4): 20-22.
- [6] 胡志明, 王海彬, 李祖国, 等. 激素性股骨头坏死模型的建立及病理和影像学特征[J]. 广东药学院学报, 2006, 22(2): 181-184.
- [7] 邢兰坤. 内毒素联合甲强龙诱导兔股骨头坏死的实验研究[D]. 黑龙江: 哈尔滨医科大学, 2011: 1-6.
- [8] 马焕芝, 曾炳芳, 李晓林, 等. 甲基强的松龙联合内毒素诱导兔股骨头缺血性坏死的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(3): 265-270.
- [9] 杨卫强, 蒋振刚, 黄昌林. 激素性股骨头坏死模型兔骨组织病理及功能变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(50): 9319-9322.
- [10] 张锐东, 张澜, 毛洪刚, 等. 激素性股骨头坏死模型中凋亡因子的表达[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(7): 1189-1195.
- [11] 朱和玉, 朱兵. 激素性骨坏死动物模型研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(1): 118-121.
- [12] Qin L, Zhang G, Sheng H, et al. Multiple bioimaging modalities in evaluation of an experimental osteonecrosis model induced by a combination of lipopolysaccharide and methylprednisolone. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2008; 22(3): 258-264.
- [13] 周晓成, 胡森锋, 单乐天, 等. 大鼠激素性股骨头坏死模型的行为学评价[J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(12): 1330-1332.
- [14] Okazaki S, Nishitani Y, Nagoya S, et al. Femoral head osteonecrosis can be caused by disruption of the systemic immune response via the toll-like receptor 4 signalling pathway. *Rheumatology (Oxford)*. 2009; 48(3): 227-232.
- [15] 沈晓文. 激素引起股骨头缺血坏死中微循环障碍的实验和临床研究[J]. 介入放射学杂志, 2007, 16(2): 129-131.
- [16] 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.
- [17] Kothapalli R, Aya-ay JP, Bian H, et al. Ischaemic injury to femoral head induces apoptotic and oncotic cell death. *Pathology*. 2007; 39(2): 241-246.
- [18] Takano-Murakami R, Tokunaga K, Kondo N, et al. Glucocorticoid inhibits bone regeneration after osteonecrosis of the femoral head in aged female rats. *Tohoku J Exp Med*. 2009; 217(1): 51-58.
- [19] Youm YS, Lee SY, Lee SH. Apoptosis in the osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Surg*. 2010; 2(4): 250-255.
- [20] Guan XY, Han D. Role of hypercoagulability in steroid-induced femoral head necrosis in rabbits. *J Orthop Sci*. 2010; 15(3): 365-370.
- [21] Feng Y, Yang SH, Xiao BJ, et al. Decreased in the number and function of circulation endothelial progenitor cells in patients with avascular necrosis of the femoral head. *Bone*. 2010; 46(1): 32-40.
- [22] 周斌, 邢海平, 林波, 等. 股骨头缺血坏死骨密度的研究[J]. 中国现代医生, 2008, 46(1): 11-12.
- [23] 胥少汀, 葛宝丰, 徐印坎. 实用骨科学第三版[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005: 1825.