

## • 基础研究 •

# 激素诱发股骨头坏死动物模型的形态及影像学观察

常巍<sup>1</sup>, 程少华<sup>2</sup>, 宋跃明<sup>1</sup>

(1. 四川大学华西医院骨科, 四川 成都 610041; 2. 鄖阳医学院附属湖北省十堰市太和医院骨科)

**【摘要】** 目的: 使用大剂量激素建立兔激素性股骨头坏死模型。方法: 成年日本大耳白兔 32只, 随机分为模型组 (16只) 与对照组 (16只)。模型组每周 2次肌肉注射醋酸泼尼松龙 10 mg/kg 对照组每周 2次肌肉注射生理盐水, 每只 2 ml 共 6周。观察实验后第 2、4、6周两组动物股骨头光镜及透射电镜组织病理学变化。结果: 模型组股骨头骨质疏松, 光镜下空骨陷窝数增多, 脂肪细胞数增多, 透射电镜股骨头部分骨细胞体积缩小, 核暗变性, 较多骨细胞已坏死溶解成碎片。结论: 大剂量激素可导致兔股骨头缺血性坏死。

**【关键词】** 股骨头坏死; 激素类; 动物, 试验

## Morphological and imaging observation of animal models of steroid-induced femoral head necrosis

CHANG Wei<sup>1</sup>, CHENG Shaohua, SONG yueming. \* Department of Orthopaedics, the Affiliated West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China

### ABSTRACT Objective To produce animal model of steroid-induced femoral head necrosis Methods

Thirty-two Japanese rabbits were randomly divided into two groups: experiment group and control group. Prednisolone at a dose of 10 mg/kg and saline at a dose of 2 ml per animal were intramuscularly injected to the rabbits in experiment group and control group twice a week in 6 consecutive weeks respectively. Pathological changes of femoral head were observed with light microscope and transmission electron microscope two weeks, four weeks and six weeks after injections respectively. **Results** At the end of 2 weeks and 4 weeks after injections, osteoporosis was found in the femoral head in rabbits of experimental group. Increased numbers of empty bone lacunae and fat cells was observed with light microscope in the experiment group as compared with the control group. In addition, in the experimental group a proportion of osteocytes decreased in volume and nuclei shrank; many osteocytes underwent necrosis and were dissolved into fragments were observed with transmission electron microscope. **Conclusion** A large dose of hormone may cause avascular necrosis of femoral head in rabbits.

**Key words** Femoral head necrosis; Hormones; Animals; laboratory

长期使用或短期大量使用肾上腺皮质激素引起股骨头缺血性坏死 (femoral head necrosis, FHN) 已被确认<sup>[1]</sup>。国内外已有激素性股骨头坏死动物模型的报道, 但建立模型所需时间较长, 不便于该病相关机制的进一步研究, 因此, 我们试图用大剂量激素短期使用诱导早期激素性股骨头坏死动物模型, 并取得成功, 现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 动物分组与模型制作** 健康成年日本大耳白兔 32只 (武汉大学动物实验中心提供), 体重 (2.50 ± 0.25) kg 雌雄不限。随机分为模型组 (n = 16) 及对照组 (n = 16)。模型组

每周 2次臀肌注射醋酸泼尼松龙 (湖北中天爱百颗药业有限公司, 批号 000007), 每次 10 mg/kg 对照组每周 2次臀肌注射生理盐水, 每只 2 ml 连续 6周。所有动物均在同一条件下单笼饲养, 进食普通颗粒饲料。为预防感染, 所有动物每周每只肌肉注射青霉素钠 4 × 10<sup>4</sup> 万单位, 两组动物分别于实验第 2、4、6周末分批用空气栓塞法处死 4只。

## 1.2 观察指标和方法

**1.2.1 一般形态学观察** 包括动物的体重、大小便、精神、毛发光泽度等情况及股骨头的外观。

**1.2.2 X线观察** 分别于第 4、6周末行双侧股骨头摄片, 观察有否透亮区及骨质破坏。

**1.2.3 MRI观察** 分别于第 4、6周末行双侧股骨头摄片, 观察有无软骨及软骨下骨质信号改变。

**1.2.4 组织病理学观察** ①光镜观察: 处死动物后取肝脏一

基金项目: 湖北省教育厅资助课题 (编号: D200524003)

通讯作者: 宋跃明 Tel 028-85422426 E-mail sym\_cd@yahoo.com.cn

\* 四川大学华西医院骨科在读博士

份作常规石蜡包埋切片, HE染色。将股骨头沿正中冠状面劈开, 10% 中性甲醛缓冲液固定, 5% 硝酸脱钙, 系列乙醇脱水, 常规石蜡包埋、切片、HE染色, 光镜观察骨小梁、骨细胞、髓腔脂肪细胞的变化。②电镜观察: 在股骨头软骨下区切取约 2 mm<sup>3</sup> 的骨块, 用 5% 戊二醛、4% 多聚甲醛前固定, 2. 5% 戊二醛、2% 多聚甲醛、5. 5% EDTA脱钙液脱钙后, 修成 1 mm<sup>3</sup> 小块, 1% 锇酸后固定, 常规梯度丙酮脱水, Epon812包埋, 制备半薄切片, 光镜定位于软骨下区后, 再制备超薄切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色, 日立 H- 600透射电镜观察(武汉大学医学院结构生物学实验中心)。

2 结果

2.1 一般形态观察 模型组动物造模 1周后体重下降, 食欲亢进, 逐渐出现精神差、皮毛失去光泽、皮下脂肪减少, 至第 6周时更加明显, 体重平均下降 20%, 而对照组未见异常。两组动物股骨头外观无明显差别, 但模型组动物的股骨头骨质松软, 易于凿取。

2.2 X线观察 第 4、6周末两组动物行双侧股骨头摄片未发现骨质破坏改变。

2.3 MRI观察 第 4、6周末两组动物行双侧股骨头摄片未发现异常信号改变。

2.4 组织病理学观察

2.4.1 光镜观察 对照组动物肝脏和股骨头骨小梁及骨细胞形态结构正常, 造血组织增生活跃, 脂肪细胞大小一致。模型组动物肝脏增大, 质脆, 呈淡黄色; 第 2周已见明显的肝细胞内空泡, 脂肪变; 第 4周更加明显, 但始终未见肝细胞坏死的表现。模型组第 2周时股骨头软骨下骨小梁变细、稀疏, 大面积骨陷窝空虚, 髓腔内造血细胞减少, 肥大脂肪细胞增多; 第 4周时股骨头软骨下骨小梁纤细, 部分骨小梁断裂, 弥漫性骨陷窝空虚, 髓腔内造血细胞明显减少, 血管扩张淤血, 肥大脂肪细胞明显增多(图 1); 第 6周时股骨头软骨下大部分骨小梁断裂, 死骨形成, 髓腔内造血细胞显著减少, 脂肪细胞液化坏死(图 2)。

2.4.2 透射电镜观察 对照组骨细胞无明显变化。模型组股骨头部分骨细胞体积缩小, 核暗变性, 较多骨细胞已坏死溶解成碎片(图 3)。由组织病理学观察结果可知至 6周时本实验模型的建立是成功的。

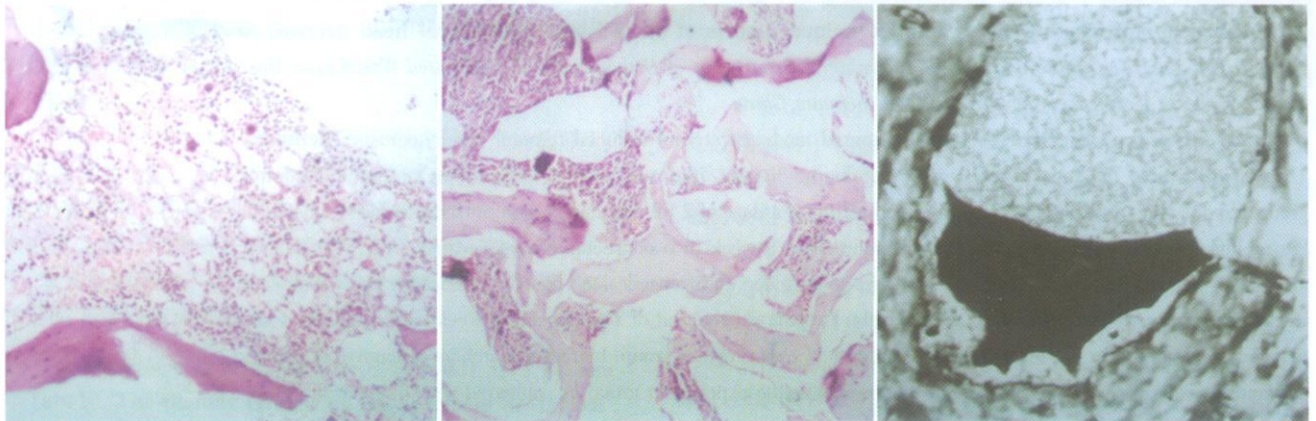


图 1 4周时股骨头软骨下骨小梁纤细、部分骨小梁断裂, 髓腔内造血细胞明显减少, 脂肪细胞明显增多 HE×100 图 2 6周时股骨头软骨下大部分骨小梁断裂, 死骨形成(箭头所指区域), 髓腔内造血细胞显著减少, 脂肪细胞液化坏死 HE×100 图 3 6周股骨头骨细胞体积缩小、核变性 ×8000

Fig 1 At the 4th week, bone trabecula under cartilage of femoral head is thin, part of bone trabecula is disrupted. Hematopoietic cells in cavity medullaris decreased obviously, and fat cells increased obviously. HE×100 Fig 2 At the 6th week, bulk bone trabecula disrupted, dead bone emerged (arrow-pointed area), hematopoietic cells in cavity medullaris decreased markedly, fat cells liquated and dead. HE×100 Fig 3 At the 6th week, bone cell of femoral head deflated and cell nucleus degenerated ×8000

3 讨论

激素诱发股骨头坏死随着激素的广泛应用正呈逐渐增加趋势, 而关于其发病机制学说很多<sup>[2]</sup>, 那么建立激素性股骨头缺血坏死动物模型就为进一步研究其发病机制带来了可比性<sup>[3,4]</sup>。

目前有学者认为激素性股骨头坏死的发生率与原发疾病有密切关系, 但事实上股骨头坏死的患者是否全部都有原发疾病, 这还是个争论中的问题。我们采用每周 2次肌肉注射醋酸泼尼松龙 10 mg/kg, 结果提示单一使用肾上腺皮质激素于 6周时已经成功诱导出早期股骨头坏死动物模型。优点是所用药物价格便宜且诱导出模型所需时间不太长, 更便于用来进行发病机制的研究。同时, 也提示激素的用量、时间、次

数以及动物的个体对激素的耐受性与产生激素性股骨头坏死有很大的相关性, 需要进一步探讨。

参考文献

- Hofmann S, Mazieres B. Osteonecrosis: natural course and conservative therapy. Orthopade. 2000, 29: 403-410.
- 刘万林, 郭文通, 李文琪. 激素性股骨头缺血坏死发病机理及其研究进展. 中国矫形外科杂志, 2000, 7(2): 169-172
- 王坤正, 毛履真, 胡长根, 等. 激素性股骨头缺血坏死发病机制的实验研究. 中华外科杂志, 1994, 32(9): 515-517.
- 吴云刚, 肖鲁伟, 童培建, 等. 介入治疗激素性股骨头坏死血管内皮细胞生长因子表达的实验研究. 中国矫形外科杂志, 2002, 10(11): 1094-1096

(收稿日期: 2005-06-14 本文编辑: 王宏)