

# 磨损微粒引起的成骨细胞内质网应激反应在骨溶解中的作用及机制研究

刘国印,徐院生,蒋文丽,冷楠楠,陈建民  
(东部战区总医院(原八一医院)骨科,江苏 南京 210002)

**【摘要】** 目的:分析内质网应激反应在骨溶解骨组织中成骨细胞凋亡和骨溶解发生发展中的作用,探讨人工关节松动的原因,为人工关节松动的防治提供新的思路 and 理论依据。方法:采用小鼠颅骨建立磨损微粒诱导骨溶解的动物模型,随机分成 4 组,每组 7 只:组 1,空白对照组;组 2,磨损微粒 TiAl6V4 纳米合金粉末(TiNPs)组;组 3,内质网应激反应阳性对照(TiNPs+Tg)组;组 4,内质网应激反应抑制剂(TiNPs+4-PBA)组。通过甲苯胺蓝染色、HE 染色和 ALP 染色观察骨溶解的病理变化;Western Blotting 方法检测骨溶解颅骨组织内质网应激反应标志蛋白的表达变化;TUNEL 和 Caspase-3 免疫组化方法检测骨溶解颅骨组织内成骨细胞的凋亡情况。结果:磨损微粒 TiNPs 能够在体外诱导骨溶解的发生、加重炎症细胞的浸润以及抑制成骨细胞分化成熟,同时磨损微粒还可以上调成骨细胞内质网应激反应标志蛋白以及促进骨溶解骨组织中成骨细胞的凋亡。在磨损微粒 TiNPs 的基础上加入内质网应激的抑制剂(4-PBA)后,骨溶解症状明显缓解,骨侵蚀和炎症浸润显著降低,成骨细胞的分化成熟得到改善,凋亡的成骨细胞急剧减少,内质网应激标志蛋白的表达也逐渐减弱。结论:内质网应激参与骨溶解的形成并在骨溶解的发生发展中发挥重要作用。同时,内质网应激可作为一种新的治疗靶点,为临床逆转或治疗骨溶解和无菌性松动提供新的思路和方法。

**【关键词】** 成骨细胞; 内质网应激反应; 细胞凋亡; 人工关节

中图分类号:R683

DOI:10.12200/j.issn.1003-0034.2020.12.012

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**Role and mechanism of endoplasmic reticulum stress response induced by wear particles in osteolysis** LIU Guo-yin, XU Yuan-sheng, JIANG Wen-li, LENG Nan-nan, and CHEN Jian-min. Department of Orthopaedics, General Hospital of Eastern Theater Command, Nanjing 210002, Jiangsu, China

**ABSTRACT Objective:** To analyze the role of endoplasmic reticulum stress response in the development of osteoblast apoptosis and osteolysis in osteolytic bone tissue, and to explore the causes of artificial joint loosening, so as to provide new ideas and theoretical basis for the prevention and treatment of artificial joint loosening. **Methods:** The animal model of osteolysis induced by wear particles was established by mouse skull, and randomly divided into 4 groups, 7 rats in each group: group 1, blank control group; group 2, wear particles tial6v4 nano alloy powder (TiNPs) group; group 3, endoplasmic reticulum stress response positive control (TiNPs+Tg) group; group 4, endoplasmic reticulum stress response inhibitor (TiNPs+4-PBA) group. The pathological changes of osteolysis were observed by toluidine blue staining, HE staining and ALP staining; the expression of endoplasmic reticulum stress response marker protein was detected by Western Blotting; the apoptosis of osteoblasts in osteolytic skull tissue was detected by TUNEL and Caspase-3 immunohistochemistry. **Results:** Wear particles TiNPs can induce osteolysis in vitro, aggravate the infiltration of inflammatory cells and inhibit the differentiation and maturation of osteoblasts. At the same time, wear particles can also up regulate the markers of endoplasmic reticulum stress response and promote the apoptosis of osteoblasts in osteolytic bone tissue. After adding 4-PBA, an inhibitor of endoplasmic reticulum stress (4-PBA), on the basis of wear particles TiNPs, the symptoms of osteolysis were significantly relieved, bone erosion and inflammatory infiltration were significantly reduced, the differentiation and maturation of osteoblasts were improved, the number of apoptotic osteoblasts decreased sharply, and the expression of endoplasmic reticulum stress marker protein gradually decreased. **Conclusion:** Endoplasmic reticulum stress is involved in the formation of osteolysis and plays an important role in the occurrence and development of osteolysis. At the same time, endoplasmic reticulum stress can be used as a new therapeutic target to provide new ideas and methods for clinical reversal or treatment of osteolysis and aseptic loosening.

**KEYWORDS** Osteoblasts; Endoplasmic reticulum stress; Apoptosis; Joint prosthesis

基金项目:江苏省自然科学基金面上项目(编号: BK20181113);南京市科技计划项目(编号:201803059)

Fund program: Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20181113)

通讯作者:陈建民 E-mail: cjmly@163.com

Corresponding author: CHEN Jian-min E-mail: cjmly@163.com

人工关节置换术自其出现 30 多年来是治疗终末期关节病损有效、可靠、经济的方法,能明显缓解关节疼痛,改善关节功能,提高患者生活质量。然而随着假体植入时间的延长,假体材料磨损及机体对磨损微粒的异常生物学反应导致的假体周围骨溶解,已成为影响人工关节长期稳定性和使用寿命的主要因素<sup>[1-9]</sup>。骨溶解的发生是复杂的网络调控系统,各因素间相互作用,相互交织在错综复杂的信号通路中。内质网作为多种应激过程的共同通路,可通过内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ER stress)与各种凋亡通路相偶联,作为治疗靶点具有独特优越性。虽然对 ER stress 与骨溶解相互关系的机制缺乏足够了解,但通过维持内质网功能或抑制成骨细胞 ER stress,引起成骨细胞凋亡相关基因的变化进而影响骨溶解的行为都无疑是良好的治疗思路<sup>[10-15]</sup>。本研究针对这些可能,设计实验,主要研究磨损微粒诱导的成骨细胞 ER stress 对成骨细胞增殖、分化和凋亡以及对骨溶解的影响,详细了解磨损微粒对成骨细胞的作用以及成骨细胞 ER stress 在骨溶解发生发展中的重要作用,在分子水平上明确骨溶解骨组织中成骨细胞凋亡的机制,寻找有效的治疗靶点,以期对无菌性松动的预防和早期治疗提供新的思路和方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

**1.1.1 TiAl6V4 纳米合金粉末(TiNPs)的处理** 为防止细菌及残留内毒素引发炎症,TiAl6V4 纳米合金粉末(TiNPs)经 70%乙醇中于室温下反复超声清洗 3 次,每次 30 min,每次均将洗涤后的乙醇弃去。将清洗完的颗粒置于 70%乙醇中浸泡 48 h,以无菌磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS, pH 7.2-7.4)洗涤 3 遍后,采用 LAL 试剂盒对样品进行定量检测。根据说明书所述方法操作,以 0.25 EU/ml 为检测标准。结果为阴性后将粉末无菌条件下烘干,于无菌容器中 4 ℃保存备用,使用前配制成 30 mg/ml 的母悬液。如不合格,则重复上述过程,直至达标。

**1.1.2 试剂** 毒胡萝卜素(Thapsigargin, Tg), 4-苯基丁酸(Sodium 4-Phenylbutyrate, 4-PBA), 牛血清白蛋白(BSA)和蛋白酶抑制剂,均购自美国 Sigma 公司。甲苯胺蓝染液,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法,购自南京建成生物有限公司。清洁级 6~8 周龄的 ICR 雌性小鼠,由南京军区比较医学科动物实验中心提供。TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒,购自美国 Roche 公司。Cleaved-Caspase 3 抗体,购自美国 CST 公司。Co-Cr-Mo 纳米合金粉末(TiNPs),由人工关节制造商美国 DePuy 公司(Rayn-

ham, MA, USA)惠赠,TEM 检测其平均粒径 51.7 nm。

### 1.2 动物模型制备与分组方法

本研究中,所有动物实验经过东部战区总医院伦理委员会批准,对实验动物处置符合中华人民共和国科技部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

**1.2.1 小鼠颅骨骨溶解模型的制作** 取清洁级 6~8 周龄的 C57BL/J6 雌性小鼠 28 只(由南京军区比较医学科动物实验中心提供),参考 Dong 等<sup>[16]</sup>的方法建立动物模型,以氯氨酮(70~80 mg/kg)和氟哌利多(5~7 mg/kg)混合腹腔注射麻醉小鼠,麻醉成功后将其俯卧位固定于操作台上。术区备皮后,以 0.5%的碘伏消毒,铺无菌巾单。取小鼠头部前正中矢状切口,上起于双耳连线中点,下止于双眼连线中点,长约 10 mm。切开皮肤,显露 10 mm × 10 mm 大小的骨膜,将刺激物均匀地洒于骨膜上后,连续锁边缝合切口,术后腹腔注射青霉素防止感染。手术由同一名外科医师于 1 d 内完成,实验中所用的所有溶液器械进行高压蒸汽灭菌,手术过程严格按照无菌操作。

**1.2.2 实验分组** 将小鼠随机分成 4 组,每组 7 只,根据预实验结果给药:组 1,空白对照组,只接受 40 μl PBS 的刺激;组 2,磨损微粒 TiNPs 组,只接受 40 μl (30 mg/ml)的 TiNPs 悬液的刺激;组 3,ER stress 阳性对照(TiNPs+Tg)组,接受 40 μl (30 mg/ml)的 TiNPs 悬液+40 μl (106 nmol/L)的 Tg 的刺激;组 4,ER stress 抑制剂(TiNPs+4-PBA)组,给予 40 μl (30 mg/ml)的 TiNPs 悬液,术后即刻及 1、2、3、5 d 分别腹腔注射 300 mg/kg 的 4-PBA。

### 1.3 检测项目与方法

术后 14 d 处死小鼠,取小鼠颅骨组织,将颅骨沿中线修剪成两半。一半保存于预冷的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)中,用于甲苯胺蓝染色;另一半用 4%多聚甲醛固定,用于碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)染色。此外,搜集发生骨溶解的小鼠颅骨样本,以天平称取相同重量的组织,一部分液氮研磨、蛋白裂解后,保存在-80 ℃条件下,用于蛋白质免疫印迹(Western Blotting)检测内质网应激反应标志蛋白的变化;另一部分以 4%多聚甲醛固定 24 h,乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)脱钙 3~4 周,常规石蜡包埋切片用于原位末端标记法(TdT mediated dUTP Nick-End labeling, TUNEL)染色和 Caspase-3 免疫组化。

**1.3.1 骨吸收陷窝的检测** 甲苯胺蓝染色方法检测骨吸收陷窝的变化。将获取的小鼠颅骨样本用 PBS 浸泡于平皿中,直至颅骨表面发白透明。把颅骨

上的残留软组织彻底清除,用 PBS 再次清洗干净。0.25%的胰酶消化颅骨标本 15 min,大量的三蒸水冲洗。将冲洗后的颅骨标本在 0.25 M 的氨水中浸泡过夜,大量的三蒸水冲洗干净后放置于空气中晾干。将晾干后的标本于 0.25%的甲苯胺蓝溶液中浸润 15 min,70%的乙醇分色。把标本置于载玻片上,缓冲甘油封片,显微镜下观察颅骨溶解后产生的陷窝。取随机视野对吸收陷窝的总面积进行积分,计算 7 份样品的平均值。

**1.3.2 炎症浸润的检测** HE 染色方法检测炎症浸润的变化。将切片放在染色夹上,依次脱蜡至水:二甲苯 10 min→无水乙醇 3 min→95%乙醇 3 min→90%乙醇 3 min→80%乙醇 3 min→70%乙醇 3 min→60%乙醇 3 min→50%乙醇 3 min→水 3 min→苏木精染色 3 min→自来水冲洗(约 4~5 遍至水无色)→30%乙醇 3 min→50%乙醇 3 min→60%乙醇 3 min→70%乙醇 3 min(可以停留)→80%乙醇 3 min→90%乙醇 3 min→伊红染色 5 min→95%乙醇 3 min→无水乙醇 3 min→二甲苯 10 min→中性树胶封片→过夜晾干。使用显微镜拍照观察颅骨组织形态和炎症浸润情况,取随机视野对炎症浸润的总面积进行积分,计算 7 份样品的平均值。

**1.3.3 成骨细胞骨形成隧道的检测** ALP 染色方法检测成骨细胞骨形成隧道的变化。将获取的颅骨样本用 PBS 浸泡于平皿中,直至颅骨表面发白透明。把颅骨上的残留软组织彻底清除,用 PBS 再次清洗干净。将基质液放入染色缸中 37 ℃水浴预温 5 min 左右,再将颅骨样本放入基质液染缸中 37 ℃孵育 5 min,不要水洗。立即放入显色液染缸中染色 5 min,水洗 30 s。放入终止液染缸中染色 2 min,水洗 30 s。再放入复染液染缸中染色 1 s(即浸一下复染液立即取出,并立即甩掉),水洗 0.5~1 min。显微镜下观察颅骨组织中骨形成情况。取随机视野对骨形成的总面积进行积分,计算 7 份样品的平均值。

**1.3.4 内质网应激反应蛋白的检测** 采用 Western Blotting 检测骨溶解颅骨组织中内质网应激反应蛋白 IRE1- $\alpha$ , Grp78/Bip, CHOP 的表达。组织上清蛋白样品与 5×SDS 按一定比例(5:1)混合,沸水变性 5 min, 12 000 rpm/min 离心 5 min。用微量进样器上样(组织 120  $\mu$ g),以浓缩胶 70 v,分离胶 70~120 v,电泳 3 h,直至溴酚兰电泳至凝胶底部,停止电泳。电泳后小心取下来电转的凝胶,置于转膜缓冲液中平衡 5~15 min。将聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF)在 100%甲醇中浸泡 1 min 以上,放于转膜液中平衡,将膜和滤纸放入转移缓冲液中浸泡,制备转印夹层,恒流 300 mA 电泳 120 min。将电

泳后的 PVDF 置于 5%的 BSA 室温封闭 2 h。分别使用兔抗小鼠 IRE1- $\alpha$ , Grp78/Bip, GAPDH 和鼠抗小鼠 CHOP 的一抗进行孵育 4 ℃过夜, 1×(磷酸盐缓冲液+吐温-20)(phosphate buffered saline and tween-20, PBST)洗膜 4×每次 10 min,随后使用二抗辣根过氧化物酶(horse-radish peroxidase, HRP)标记的羊抗兔/鼠的二抗室温孵育 1 h, Western Blotting 机器扫描观察结果。

**1.3.5 细胞凋亡的检测** TUNEL 染色检测骨溶解颅骨组织中成骨细胞凋亡的变化。将骨溶解颅骨组织切片放在染色夹上用二甲苯浸洗 5 min×2 次,梯度乙醇水化,4%多聚甲醛固定 15 min, Proteinase K 处理组织 15 min, 4%多聚甲醛 5 min, 100  $\mu$ l 平衡液湿盒平衡 10 min, 100  $\mu$ l TUNEL 反应混合液标记标本, 2×SSC 15 min 终止标记反应。0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15 min 封闭过氧化物酶( Peroxidase, POD), 100  $\mu$ l streptavidin 标记 HRP, 100  $\mu$ l 二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)混合液(50  $\mu$ l DAB+50  $\mu$ l DAB 底物缓冲液+50  $\mu$ l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20×+950  $\mu$ l 三蒸水)10 min 避光显色,苏木素复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明 1 min×2 次,中性树胶封片。加 1 滴 PBS 或甘油在视野下,用光学显微镜观察凋亡细胞(共计 200~500 个细胞)并拍照。可结合凋亡细胞形态特征来综合判断(未染色细胞变小,胞膜完整但出现发泡现象,晚期出现凋亡小体,贴壁细胞出现皱缩、变圆、脱落;而染色细胞呈现染色质浓缩、边缘化,核膜裂解,染色质分割成块状/凋亡小体)。

**1.3.6 凋亡蛋白 Caspase-3 的检测** 免疫组织化学(immunohistochemistry)染色检测骨溶解颅骨组织中凋亡蛋白 Caspase-3 的表达。将骨溶解颅骨组织石蜡切片,常规脱蜡至水。3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 去离子水孵育 10~30 min 灭活内源性过氧化物酶活性,微波抗原修复。血清室温封闭 15~30 min,一抗(抗 Caspase-3)4 ℃过夜。PBS 冲洗后生物素标记的二抗 37 ℃孵育 1 h。标本 PBS 冲洗后滴加链霉亲和素-过氧化物酶(streptavidin-peroxidase, SP), 37 ℃孵育 1 h。PBS 再次冲洗后显色剂显色;PBS 洗 3 次后,水溶性封片剂封片。

#### 1.4 统计学处理

采用 SPASS 12.0 软件进行统计学分析,各组的甲苯胺蓝染色、HE 染色和 ALP 染色分析结果, IRE1- $\alpha$ , Grp78/Bip 和 CHOP 的 Western Blotting 分析结果, TUNEL 染色和 Caspase-3 染色分析结果均采用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用曼-惠特尼 U 检验(Mann-Whitney U test),以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 动物一般情况

各组动物术后送返原笼,麻醉苏醒后常规饲养。各组动物均存活至实验结束,其间动物活动、进食情况基本正常,切口愈合良好,无皮下积液及切口感染等并发症发生。

### 2.2 内质网应激反应介导的骨溶解

小鼠颅骨骨溶解动物模型,是研究磨损微粒诱导骨溶解行之有效并广泛使用的动物模型。颅骨骨片经甲苯胺蓝染色后置于显微镜下观察。如图 1A 所示,在小鼠颅骨植入磨损微粒 TiNPs 后,相对空白对照组,可见大量圆形、椭圆形或梭形的骨吸收陷窝,陷窝深浅不等,着色浓度不一。此外还发现,在磨损微粒 TiNPs 植入的基础上,加入内质网应激的诱导剂 Tg 后,骨吸收的陷窝最密集,骨溶解症状最严重。然而,经内质网应激的抑制剂 4-PBA 的治疗后,陷窝的数量和大小均明显减少,骨溶解症状得到明显改善。统计学分析显示, TiNPs 组以及 TiNPs+Tg 组,相对于空白对照组,差异有统计学意义; TiNPs+4-PBA 组相对于 TiNPs 组差异有统计学意义(表 1)。甲苯胺蓝染色结果说明内质网应激参与骨溶解的形成。

各组小鼠颅骨 HE 染色结果见图 1B,正常小鼠的颅骨结构清晰,黏膜和骨皮质完整,细胞构成大小、形态相同,排列整齐,极向正常,无炎症细胞浸润;而当小鼠颅骨受到磨损微粒 TiNPs 的刺激后,表现出严重的浸润破坏,颅骨结构紊乱,黏膜层严重受损,骨皮质受到破坏,细胞构成大小、形态不一,排列多层,极向消失;髓腔大小不一、排列紊乱,炎症细胞浸润至颅深层甚至穿透颅骨,造成髓腔内成骨细胞丢失。然而,经内质网应激的抑制剂 4-PBA 的治疗后,骨形态完整性得到保持,骨侵蚀和炎症浸润症状明显改善。此外,在磨损微粒 TiNPs 中加入内质网应激的诱导剂 Tg 后,却得到相反的结果。Tg 加入后,骨形态的完好性受到进一步的破坏,骨侵蚀和炎症

表 1 各组给予不同刺激 2 周后小鼠颅骨骨溶解的病理变化 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

Tab.1 Pathological changes of mouse skull osteolysis after 2 weeks of different stimulation in each group ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	鼠数(只)	甲苯胺蓝染色	HE 染色	ALP 染色
空白对照组	7	6.662±1.713	1.291±3.916	72.145±9.838
TiNPs 组	7	58.242±8.414	49.112±7.251	26.105±3.347
TiNPs+4-PBA 组	7	24.155±4.337	9.145±4.158	52.499±6.052
TiNPs+Tg 组	7	86.465±10.681	86.883±9.332	16.506±4.994
F 值		81.442	103.197	45.072
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

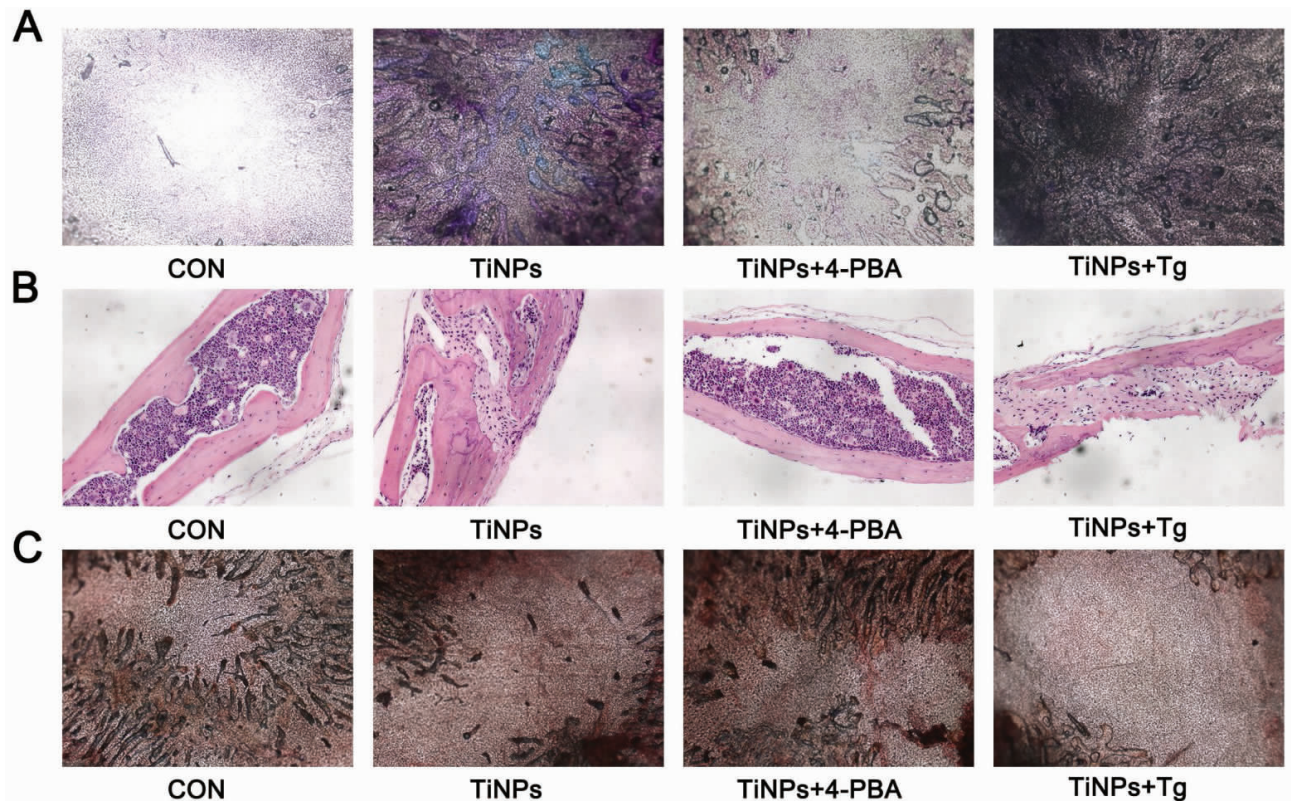


图 1 骨溶解颅骨组织的甲苯胺蓝染色(A),HE 染色(B),ALP 染色(C)结果,×40

Fig.1 Hhstopathologic changes of osteolysis after Toluidine blue staining(A),HE staining(B),Histochemical staining(C),×40

浸润程度也急剧加重。统计分析显示, TiNPs 组以及 TiNPs+Tg 组, 相对于空白对照组, 差异有统计学意义; TiNPs+4-PBA 组相对于 TiNPs 组差异有统计学意义(表 1)。以上结果表明, 内质网应激在骨溶解的发生发展中起着一定的作用。

各组成骨细胞 ALP 染色结果见图 1C。颅骨中成骨细胞的阳性反应呈现红黑色颗粒或块状沉淀, 骨形成隧道呈现深色条带。植入磨损微粒 TiNPs 后, 小鼠颅骨的成骨细胞数量显著减少, 骨形成隧道随着磨损微粒的加入而逐渐降低。应用内质网应激的抑制剂 4-PBA 后, 成骨细胞的数量和骨形成较磨损微粒组明显增加; 而加入内质网应激的诱导剂 Tg 后, 成骨细胞和骨形成受到进一步损伤。统计分析显示, TiNPs 组以及 TiNPs+Tg 组, 相对于空白对照组, 差异有统计学意义; TiNPs+4-PBA 组相对于 TiNPs 组差异有统计学意义(表 1)。

### 2.3 骨溶解颅骨组织中的内质网应激反应

在骨溶解颅骨组织中对内质网应激反应的标志蛋白(Grp 78/Bip, IRE1- $\alpha$ , CHOP)进行检测, 结果见图 2。当受到 TiNPs 的刺激后, 小鼠颅骨的内质网应激反应标志蛋白(GRP78/Bip, IRE1- $\alpha$ , 以及 CHOP)的表达显著升高; 在磨损微粒的基础上应用内质网应激的诱导剂 Tg 后, 内质网应激反应标志蛋白的表达得到进一步的提高。然而, 腹腔注射内质网应激的抑制剂 4-PBA 后, 内质网应激反应标志蛋白的表达较磨损微粒组明显降低。此外, 这些内质网应激反应标志蛋白的变化趋势与上面提到的骨溶解结果一致。统计分析显示, TiNPs 组以及 TiNPs+Tg 组, 相对于空白对照组, 差异有统计学意义; TiNPs+4-PBA 组相对于 TiNPs 组, 差异有统计学意义(表 2)。以上结果说明磨损微粒诱导的内质网应激反应参与了骨溶解的发生。

### 2.4 内质网应激反应介导的骨溶解颅骨内成骨细胞的凋亡

#### 2.4.1 骨溶解颅骨组织中成骨细胞的凋亡 对骨

表 2 各组给予不同刺激 2 周后小鼠颅骨内质网应激反应标志蛋白的变化  
Tab.2 Changes of endoplasmic reticulum stress response markers in mice skull after 2 weeks of different stimulation in each group

组别	鼠数(只)	IRE1- $\alpha$	GRP78/Bip	CHOP
空白对照组	7	1.000±0.304	1.000±0.320	1.000±0.333
TiNPs 组	7	5.627±0.464	4.698±0.513	6.208±0.572
TiNPs+4-PBA 组	7	3.808±0.554	3.339±0.425	3.435±0.373
TiNPs+Tg 组	7	8.015±0.604	6.338±0.625	8.457±0.761
F 值		83.727	43.573	91.855
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

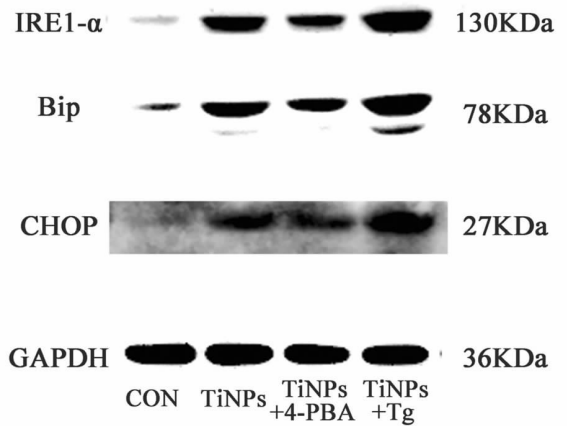


图 2 骨溶解颅骨组织中的内质网应激反应, 各组分别给予不同刺激 PBS (Control), TiNPs, TiNPs+4-PBA, TiNPs+Tg 后小鼠颅骨中内质网应激反应标志蛋白 IRE1- $\alpha$ 、Grp78/Bip 和 CHOP 的 Western Blotting 结果

Fig.2 Western blotting results of IRE1- $\alpha$ , Grp78/Bip and CHOP in mouse skull were obtained after different stimulation of PBS (Control), TiNPs, TiNPs+4-PBA and TiNPs+Tg

溶解骨组织中的成骨细胞凋亡进行检测, TUNEL 染色结果见图 3A。磨损微粒 TiNPs 组的颅骨组织中有明显的成骨细胞凋亡, 可以看到大量的棕黄色颗粒着色, 并有细胞核碎裂等形态学表现。而正常颅骨组织仅发现少量的凋亡成骨细胞。然而, 相对于磨损微粒组, 4-PBA 组的凋亡成骨细胞明显减少, 同时, TiNPs+Tg 组的凋亡细胞持续升高。统计分析显示, TiNPs 组以及 TiNPs+Tg 组, 相对于空白对照组, 差异有统计学意义; TiNPs+4-PBA 组相对于 TiNPs 组, 差异有统计学意义(表 3)。

#### 2.4.2 凋亡蛋白 Caspase-3 在骨溶解颅骨组织中的表达

骨溶解颅骨组织中凋亡蛋白 Caspase-3 的表达结果见图 3B。Caspase-3 在磨损微粒组中高表达, 而在正常颅骨组织中, Caspase-3 表达很低。同样, 与 TUNEL 实验结果一致, 腹腔注射内质网应激的抑制剂 4-PBA 后, Caspase-3 的表达显著降低; 而加用内质网应激的诱导剂 Tg 后, Caspase-3 的表达明显升高。统计分析显示, TiNPs 组以及 TiNPs+Tg 组, 相对于空白对照组, 差异有统计学意义; TiNPs+4-PBA 组相对于 TiNPs 组, 差异有统计学意义(表 3)。

### 3 讨论

由于人口老龄化的进展以及关节假体使用的越来越低龄化, 关节置换的数量不断增多。然而随着假体在体内存留时间的延长, 假体周围骨溶解和无菌性

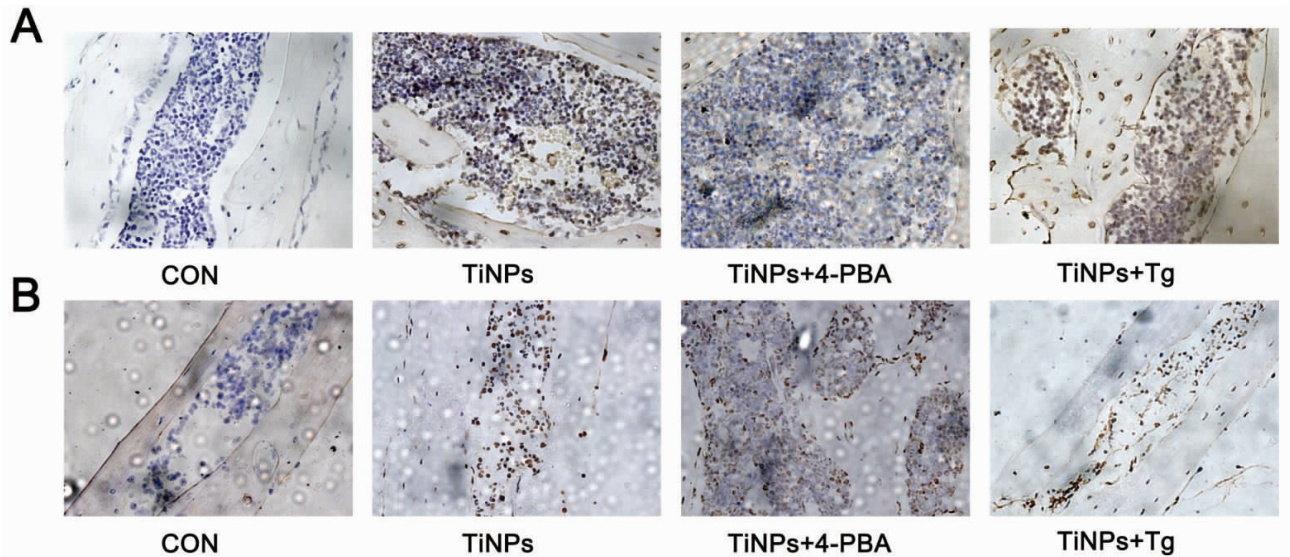


图 3 骨溶解颅骨组织的成骨细胞 TUNEL 染色(A)和 Caspase-3 染色(B)结果,×400

Fig.3 Results of TUNEL (A) and Caspase-3 (B) staining of osteoblasts in osteolytic cranial tissues were × 400

表 3 各组给予不同刺激 2 周后小鼠颅骨内成骨细胞凋亡的变化(±s,%)

Tab.3 Changes of osteoblast apoptosis in mouse skull after 2 weeks of different stimulation in each group(±s,%)

组别	鼠数(只)	TUNEL 染色	Caspase-3 表达
空白对照组	7	1.862±2.927	2.567±2.639
TiNPs 组	7	48.561±4.553	86.434±9.595
TiNPs+4-PBA 组	7	19.995±4.249	28.912±7.892
TiNPs+Tg 组	7	66.878±7.870	96.041±11.801
F 值		91.090	89.401
P 值		<0.05	<0.05

松动严重影响关节置换术后假体的使用寿命,行翻修手术的患者也逐渐增多<sup>[17]</sup>。而且,翻修手术需要的资金和资源远远超过了 I 期置换术,手术风险也较 I 期置换术高。假体松动常发生在假体植入后 10~20 年,除了翻修术目前对于无菌性松动还没有其他好的治疗方法,而翻修术会对患者造成严重的精神和身体损害<sup>[18-20]</sup>。现在普遍认为骨溶解的发生是由于人工关节假体在长期使用过程中,与周围的骨质相互摩擦产生大量的磨损微粒,这些理化性质稳定的磨损微粒与假体周围组织细胞通过一系列生物学反应(如细胞凋亡、炎症和破骨细胞分化等)相互作用,最终导致骨溶解和无菌性松动的发生<sup>[3-9,21-26]</sup>。

### 3.1 纳米磨损颗粒的引入

过去,人们一直以为微米级的磨损颗粒是骨溶解发生的主要制约因素,但是随着透射电镜(transmission electron microscope,TEM)的引入,相继在骨

溶解界膜组织中发现了各种纳米微粒<sup>[27-30]</sup>,包括金属纳米磨损颗粒、陶瓷纳米磨损颗粒以及高分子聚乙烯纳米磨损颗粒。研究表明<sup>[29-30]</sup>,金属对金属假体每年产生大约 1 012~1 014 的磨损微粒,平均粒径为 50 nm。由于纳米级磨损颗粒更容易被假体周围的细胞所吞噬,从而引起一系列细胞生物学效应,因而在骨溶解以及无菌性松动中可能发挥了更为重要的作用。结合前人的研究以及本实验的研究目的,笔者采用了平均粒径为 51.7 nm(粒径范围 5~60 nm)的 TiAl6V4 纳米颗粒(TiNPs)。

### 3.2 成骨细胞在骨溶解中的作用

目前普遍认为,破骨细胞前体细胞(单核巨噬细胞及其衍生细胞)是磨损微粒靶向作用最重要的细胞,以及假体周围骨溶解发生发展过程中的重要细胞<sup>[31-38]</sup>。然而,骨溶解的发生并非仅仅由巨噬细胞引起,而是多种细胞共同参与,通过细胞因子彼此相互联系、相互作用的生物反应过程。近些年来,研究人员将重心逐渐转移到磨损颗粒对成骨细胞影响的研究中,磨损微粒对成骨细胞的作用很有可能是无菌性松动过程中另外一个重要因素<sup>[23,39-40]</sup>。在正常的骨修复过程中,破骨细胞激活并发挥其溶骨作用后,成骨细胞紧随其后对破骨细胞引起的骨吸收进行有序而彻底的修复,从而保证和维持骨吸收和骨形成之间的动态平衡,不会造成骨量的明显丢失。然而,在假体周围骨溶解的病理过程中,假体周围局部的骨吸收破坏并没有获得充分的成骨细胞骨形成修复,相反,却导致成骨细胞活性和数量的降低以及成骨细胞凋亡的增加。因此,骨溶解骨组织中的成骨细胞没有足够的力量去弥补假体周围丢失的骨量,从而

导致了持续的骨丢失和骨缺损,最终导致无菌性松动的发生<sup>[41]</sup>。

### 3.3 内质网应激反应和细胞凋亡

内质网是蛋白质合成和加工的场所,是细胞“最大的工厂”。作为细胞内最主要的  $\text{Ca}^{2+}$  库,内质网还参与许多细胞信号的调节,由此可见内质网在细胞功能的维持中起着不可估量的作用<sup>[27]</sup>。多种生理或病理条件,如蛋白质糖基化的抑制、 $\text{Ca}^{2+}$  的流失以及氧化还原状态的改变等会引起未折叠蛋白或错误折叠蛋白在内质网聚集,损伤内质网的正常生理功能,称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ER stress)<sup>[42-43]</sup>。ER stress 作为细胞重要的防御保护机制,在细胞的功能维持中发挥重要作用。当细胞受到损伤刺激时,内质网通过激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)以恢复细胞功能。但是如果损伤太过严重,内环境稳定不能及时恢复,ER stress 可引起细胞凋亡,信号由促生存向促凋亡转换。这些作用既能为受损细胞提供修复机会,又能最大限度清除过度损伤的细胞,为维护机体的生理平衡和内环境的稳定起到重要作用。正常情况下,位于内质网内的伴侣分子 Grp78/Bip 与 PERK, IRE1 和 ATF6 这 3 种内质网跨膜蛋白结合,阻止 UPR 信号的发生。但是,当严重的损伤刺激导致内质网功能受损加重时,Grp78/Bip 与跨膜蛋白分离并激活 PERK、ATF6 和 IRE1- $\alpha$ ,引起 ER stress 所介导细胞凋亡<sup>[42-44]</sup>。

### 3.4 内质网应激的治疗潜力和未来发展方向

细胞凋亡信号通路是一个复杂的网络调控系统,各因素间相互作用,相互交织在错综复杂的信号通路中,而 ER stress 通过多种途径与细胞内凋亡通路相偶联<sup>[45-47]</sup>。近年来,ER stress 在疾病发生发展过程中的作用已成为研究的热点<sup>[48-51]</sup>。关于 ER stress 的研究增强了对 ER stress 生物学功能的了解,科研人员已经发现 ER stress 与骨溶解的发生有着千丝万缕的联系<sup>[52]</sup>。在假体周围磨损微粒的长期刺激下,细胞损伤太过严重,蓄积在内质网内的压力过大,内质网适应性反应还没来得及及做出调整,就引起成骨细胞的凋亡,导致骨溶解的加重。通过对 ER stress 的调节,可改变下游基因的表达,改变细胞或组织的蛋白合成,进而改变其生物学功能。因此,ER stress 可作为骨溶解治疗的一个新的靶点,为骨溶解的临床诊断和治疗提供一种新的思路。同时,由于内质网所作用的下游目的基因的不同,其发挥的作用也不尽相同,内质网与骨溶解之间复杂的调控和作用关系决定了对该领域的深入研究具有广阔的发展前景。本研究发现,磨损微粒能够在体外诱导骨溶解的

发生并抑制成骨细胞的分化成熟,同时磨损微粒还可以上调成骨细胞 ER stress 标志蛋白以及促进骨组织中成骨细胞的凋亡;加入 ER stress 的抑制剂(4-PBA)后,ER stress 标志蛋白的表达逐渐减弱,骨溶解和炎症浸润症状得到明显改善,成骨细胞的凋亡显著减少,骨形态的完整性和成骨细胞的分化也得到恢复;然而,加入 ER stress 的诱导剂 Tg 后骨溶解和炎症浸润症状明显加重,成骨细胞的凋亡和内质网应激反应显著增加,成骨细胞的分化也随之减少。因此,笔者认为,磨损微粒可以通过 ER stress 诱导成骨细胞凋亡,从而在骨溶解的发生发展中发挥重要作用;而 ER stress 可作为一种新的治疗靶点,为临床逆转或治疗骨溶解和无菌性松动提供一种新的思路。继续深入研究 ER stress 及其基因调控和信号传导途径在细胞凋亡中的作用,有可能真正揭开假体无菌性松动的奥秘,为骨溶解的防治拓展新思路,进而使假体在体内获得长期稳定性成为可能,以避免翻修术给患者带来的痛苦。

#### 参考文献

- [1] Wang Z, Liu N, Zhou G, et al. Expression of XBP1s in fibroblasts is critical for TiAl6 V4 particle-induced RANKL expression and osteolysis[J]. *J Orthop Res*, 2017, 35(4): 752-759.
- [2] Wang Z, Deng Z, Gan J, et al. TiAl6V4 particles promote osteoclast formation via autophagy-mediated downregulation of interferon-beta in osteocytes[J]. *Acta Biomater*, 2017, 48: 489-498.
- [3] Schiffner E, Latz D, Thelen S, et al. Aseptic Loosening after THA and TKA—Do gender, tobacco use and BMI have an impact on implant survival time[J]. *J Orthop*, 2019, 16(3): 269-272.
- [4] Tyson Y, Rolfsen O, Karrholm J, et al. Uncemented or cemented revision stems? Analysis of 2,296 first-time hip revision arthroplasties performed due to aseptic loosening, reported to the Swedish Hip Arthroplasty Register[J]. *Acta Orthop*, 2019, 90(5): 421-426.
- [5] 刘乃澄, 赵建宁. Toll 样受体及炎症小体在无菌性松动发病过程中的作用[J]. *中国骨伤*, 2016, 29(7): 673-676.  
LIU NC, ZHAO JN. Role of Toll-like receptors and inflammasome in aseptic loosening[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2016, 29(7): 673-676. Chinese with abstract in English.
- [6] Deng Z, Wang Z, Jin J, et al. SIRT1 protects osteoblasts against particle-induced inflammatory responses and apoptosis in aseptic prosthesis loosening[J]. *Acta Biomater*, 2017, 49: 541-554.
- [7] 吴连国, 吴风晴, 陈华. Micro-CT 评价唑来膦酸对磨损颗粒诱导假体周围骨溶解模型的抑制作用[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(12): 1107-1112.  
WU LG, WU FQ, CHEN H. Micro-CT evaluating inhibitory effect of zoledronic acid on polyethylene particle-induced periprosthetic osteolysis model [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(12): 1107-1112. Chinese with abstract in English.
- [8] Wang Z, Xue K, Bai M, et al. Probiotics protect mice from CoCr-Mo particles-induced osteolysis[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 5387-5397.
- [9] Dyskova T, Kriegova E, Slobodova Z, et al. Inflammation time-axis in aseptic loosening of total knee arthroplasty: A preliminary study

- [J]. *PLoS One*, 2019, 14(8): e221056.
- [10] Sun W, Meng J, Wang Z, et al. Proanthocyanidins attenuation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in tendon-derived stem cells via upregulating Nrf-2 signaling pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 7529104.
- [11] Sanchez CL, Sims SG, Nowery JD, et al. Endoplasmic reticulum stress differentially modulates the IL-6 family of cytokines in murine astrocytes and macrophages [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 14931.
- [12] Xu D, Yang H, Yang Z, et al. Endoplasmic reticulum stress signaling as a therapeutic target in malignant pleural mesothelioma [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(10): 1502.
- [13] Liu N, Meng J, Wang Z, et al. Autophagy mediated TiAl6V4 particle-induced peri-implant osteolysis by promoting expression of TNF- $\alpha$  [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(1): 133-139.
- [14] Grootjans J, Krupka N, Hosomi S, et al. Epithelial endoplasmic reticulum stress orchestrates a protective IgA response [J]. *Science*, 2019, 363(6430): 993-998.
- [15] Pommier A, Anaparthi N, Memos N, et al. Unresolved endoplasmic reticulum stress engenders immune-resistant, latent pancreatic cancer metastases [J]. *Science*, 2018, 360(6394): eaao4908.
- [16] Dong L, Wang R, Zhu Y A, et al. Antisense oligonucleotide targeting TNF- $\alpha$  can suppress Co-Cr-Mo particle-induced osteolysis [J]. *J Orthop Res*, 2008, 26(8): 1114-1120.
- [17] Memminger M, Banci L, Meoli A. Bilateral total hip replacement in dwarfism with a custom laser-printed trabecular acetabular shell [J]. *Orthopedics*, 2019, 42(5): e477-e479.
- [18] Burn E, Edwards CJ, Murray DW, et al. The effect of rheumatoid arthritis on patient-reported outcomes following knee and hip replacement: evidence from routinely collected data [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2019, 58(6): 1016-1024.
- [19] Kim MK, Ahn SE, Shin E, et al. Comparison of analgesic efficacy of oxycodone and fentanyl after total hip replacement surgery: a randomized controlled trial [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(49): e13385.
- [20] Mouchti S, Whitehouse MR, Sayers A, et al. The association of body mass index with risk of long-term revision and 90-day mortality following primary total hip replacement: findings from the National Joint Registry for England, Wales, Northern Ireland and the Isle of man [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2018, 100(24): 2140-2152.
- [21] Landgraeber S, Samelko L, Mcallister K, et al. CoCrMo alloy vs. UHMWPE particulate implant debris induces sex dependent aseptic osteolysis responses in vivo using a murine model [J]. *Open Orthop J*, 2018, 12: 115-124.
- [22] Estell EG, Silverstein AM, Stefani RM, et al. Cartilage wear particles induce an inflammatory response similar to cytokines in human fibroblast-like synoviocytes [J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(9): 1979-1987.
- [23] Papadimitriou-Olivgeri I, Brown JM, Kilpatrick A, et al. Correction to: Solochrome cyanine: a histological stain for cobalt-chromium wear particles in metal-on-metal periprosthetic tissues [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2019, 30(9): 110.
- [24] Wu C, Liu X, Sun R, et al. Corrigendum: targeting anion exchange of osteoclast, a new strategy for preventing wear particles induced-osteolysis [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1078.
- [25] Hall DJ, Pourzal R, Jacobs JJ, et al. Metal wear particles in hematopoietic marrow of the axial skeleton in patients with prior revision for mechanical failure of a hip or knee arthroplasty [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2019, 107(6): 1930-1936.
- [26] Lovric V, Goldberg MJ, Heuberger PR, et al. Suture wear particles cause a significant inflammatory response in a murine synovial air-pouch model [J]. *J Orthop Surg Res*, 2018, 13(1): 311.
- [27] Zhang YF, Zheng YF, Qin L. A comprehensive biological evaluation of ceramic nanoparticles as wear debris [J]. *Nanomedicine*, 2011, 7(6): 975-982.
- [28] Zhang YF, Zheng YF, Qin L. A comprehensive biological evaluation of ceramic nanoparticles as wear debris [J]. *Nanomedicine*, 2011, 7(6): 975-982.
- [29] Schunck A, Kronz A, Fischer C, et al. Release of zirconia nanoparticles at the metal stem-bone cement interface in implant loosening of total hip replacements [J]. *Acta Biomater*, 2016, 31: 412-424.
- [30] Posada OM, Tate RJ, Grant MH. Toxicity of cobalt-chromium nanoparticles released from a resurfacing hip implant and cobalt ions on primary human lymphocytes in vitro [J]. *J Appl Toxicol*, 2015, 35(6): 614-622.
- [31] Pajarinen J, Lin TH, Nabeshima A, et al. Mesenchymal stem cells in the aseptic loosening of total joint replacements [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(4): 1195-1207.
- [32] Hall DJ, Pourzal R, Jacobs JJ, et al. Metal wear particles in hematopoietic marrow of the axial skeleton in patients with prior revision for mechanical failure of a hip or knee arthroplasty [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2019, 107(6): 1930-1936.
- [33] Fung ES, Unice KM, Paustenbach DJ, et al. Methods for sterilizing clinically relevant wear particles isolated from metal-on-metal hip implants [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2384.
- [34] Xia Z, Ricciardi BF, Liu Z, et al. Nano-analyses of wear particles from metal-on-metal and non-metal-on-metal dual modular neck hip arthroplasty [J]. *Nanomedicine*, 2017, 13(3): 1205-1217.
- [35] Yan Y, Chen H, Feng J, et al. Poor performance of Enduron polyethylene liner in total hip arthroplasty: a minimum ten-year follow up and ultra-morphological analysis of wear particles [J]. *Int Orthop*, 2017, 41(4): 723-730.
- [36] Amanatullah DF, Sucher MG, Bonadurer GR, et al. Metal in total hip arthroplasty: wear particles, biology, and diagnosis [J]. *Orthopedics*, 2016, 39(6): 371-379.
- [37] Madl AK, Liang M, Kovoichich M, et al. Toxicology of wear particles of cobalt-chromium alloy metal-on-metal hip implants Part I: physicochemical properties in patient and simulator studies [J]. *Nanomedicine*, 2015, 11(5): 1201-1215.
- [38] Dutta DK, Potnis PA, Rhodes K, et al. Wear particles derived from metal hip implants induce the generation of multinucleated giant cells in a 3-dimensional peripheral tissue-equivalent model [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e124389.
- [39] Estell EG, Silverstein AM, Stefani RM, et al. Cartilage wear particles induce an inflammatory response similar to cytokines in human fibroblast-like synoviocytes [J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(9): 1979-1987.
- [40] Papadimitriou-Olivgeri I, Brown J M, Kilpatrick A, et al. Solochrome cyanine: a histological stain for cobalt-chromium wear particles in metal-on-metal periprosthetic tissues [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2019, 30(9): 103.



[41] Lochner K, Fritsche A, Jonitz A, et al. The potential role of human osteoblasts for periprosthetic osteolysis following exposure to wear particles[J]. *Int J Mol Med*, 2011, 28(6): 1055-1063.

[42] Sovolyova N, Healy S, Samali A, et al. Stressed to death-mechanisms of ER stress-induced cell death[J]. *Biol Chem*, 2014, 395(1): 1-13.

[43] Hosoi T, Inoue Y, Nakatsu K, et al. TERT attenuated ER stress-induced cell death[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447(2): 378-382.

[44] Omura T, Sasaoka M, Hashimoto G, et al. Oxycam-derived non-steroidal anti-inflammatory drugs suppress 1-methyl-4-phenyl pyridinium-induced cell death via repression of endoplasmic reticulum stress response and mitochondrial dysfunction in SH-SY5Y cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(4): 2963-2969.

[45] Shore GC, Papa FR, Oakes SA. Signaling cell death from the endoplasmic reticulum stress response[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23(2): 143-149.

[46] Cubillos-Ruiz JR, Bettigole SE, Glimcher LH. Tumorigenic and immunosuppressive effects of endoplasmic reticulum stress in cancer[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 692-706.

[47] Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 900-917.

[48] Wang Z, Huang Z, Gan J, et al. The fibroblast expression of RANKL in CoCrMo-particle-induced osteolysis is mediated by ER stress and XBP1s[J]. *Acta Biomater*, 2015, 24: 352-360.

[49] Abo ES, Ghoneim FM, Shabaan DA, et al. Molecular and ultra-structure study of endoplasmic reticulum stress in hepatic steatosis: role of hepatocyte nuclear factor 4alpha and inflammatory mediators[J]. *Histochem Cell Biol*, 2019, 153(1): 49-62.

[50] Huang D, Jiang Y. MKP1 reduces neuroinflammation via inhibiting endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 235(5): 4025-4983.

[51] Hu Y, Chu L, Liu J, et al. Knockdown of CREB3 activates endoplasmic reticulum stress and induces apoptosis in glioblastoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(19): 8156-8168.

[52] Liu G, Liu N, Xu Y, et al. Endoplasmic reticulum stress-mediated inflammatory signaling pathways within the osteolytic periosteum and interface membrane in particle-induced osteolysis[J]. *Cell Tissue Res*, 2016, 363(2): 427-447.

(收稿日期:2020-02-25 本文编辑:连智华)

· 经验交流 ·

# 连续收肌管阻滞镇痛在双膝关节一期置换术后疼痛控制研究

王善正<sup>1</sup>, 王宸<sup>1</sup>, 郭玉冬<sup>1</sup>, 姚娟<sup>2</sup>, 邱丽丽<sup>2</sup>, 黄露欣<sup>2</sup>, 谢珏<sup>2</sup>

(1. 东南大学附属中大医院骨科, 江苏 南京 210009; 2. 东南大学附属中大医院麻醉科, 江苏 南京 210009)

**【摘要】** 目的:探讨连续收肌管阻滞在双膝关节一期置换术后疼痛控制效果。方法:回顾性分析 2018 年 1 月至 2019 年 1 月收治的 24 例行双膝关节一期置换术,且术后行连续收肌管阻滞镇痛患者资料。男 6 例,女 18 例;年龄 60~72(65.05±5.82)岁。患者术后双膝均行连续收肌管阻滞,配合自控镇痛系统。术后 4、6、12、24、36、48 h 行静息状态及被动运动状态视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS);随访患者术后 1 周及 1、3、6 个月膝关节活动度;对患者术后 6 个月膝关节功能进行评分,采用美国特种外科医院(Hospital for Special Surgery, HSS)膝关节评分标准;记录不良反应及并发症。结果:行连续收肌管阻滞患者术后各时点静息状态、被动运动状态 VAS 均分<3 分。患者术后膝关节活动度较好,术后 6 个月 HSS 评分优 20 例,良 2 例,可 1 例,差 1 例。术后仅 4 例出现恶心呕吐,无一例发生心动过缓、深静脉血栓等严重不良反应及并发症。结论:连续收肌管阻滞在双膝关节一期置换术后疼痛控制方面效果显著,且不良反应较少。

**【关键词】** 关节成形术, 置换, 膝; 疼痛; 手术后并发症

中图分类号:R687.4

DOI:10.12200/j.issn.1003-0034.2020.12.013

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**Study on pain control of continuous adductor block analgesia after primary knee replacement** WANG Shan-zheng, WANG Chen, GUO Yu-dong, YAO Juan, QIU Li-li, HUANG Lu-xin, and XIE Jue\*. \*Department of Anesthesiology, Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu, China

通讯作者:谢珏 E-mail:very\_wang@126.com

Corresponding author:XIE Jue E-mail:very\_wang@126.com