

• 综述 •

股骨头坏死动物模型造模方法的研究进展

崔国峰 潘琦 毕郑刚 付春江 袁绍辉 孙佳冰

股骨头坏死 (osteonecrosis of the femoral head, ONFH) 又称股骨头缺血性坏死 (avascular necrosis of the femoral head, AVNFH), 是骨科领域常见且难治的疾病。幼儿的股骨头骨骼尚未发育成熟, 表现与成人不同, 称为 Perthes 病 (Legg-Calve-Perthes disease, LCPD)。国际骨循环学会 (Association Research Circulation Osseous, ARCO) 及美国医师学会 (American Academy of Orthopaedic Surgeons, AAOS) 将 ONFH 定义为: 股骨头血供中断或受损, 引起骨细胞和骨髓成分死亡以及伴随其后的组织修复, 继而导致股骨头结构改变、股骨头塌陷, 引起关节疼痛、关节功能障碍的疾病^[1]。目前治疗 ONFH 的方法包括非手术治疗和手术治疗, 尽管这些方法取得了相当大的进步, 然而目前尚无疗效确切、普遍适用各时期的治疗方法出现。其中原因之一是因为缺乏一种自然病程和疾病的进展能够模拟 ONFH 患者关节塌陷的动物模型来进行深入的研究探索新的治疗方法并系统的比较治疗效果^[2]。

为了深入探索研究 ONFH 的发病机制和有效的治疗新方法, 理想的试验动物模型应该能够方便的、全方位的、可重复的模仿 ONFH 患者骨缺血坏死伴随骨坏死区周围组织的修复过程。此外, 理想的 ONFH 动物模型还应适合用于不同病因的研究, 如创伤, 与血管内凝血有关的疾病, 使用糖皮质激素, 酗酒等^[3]。目前常用的模型动物包括四足动物如鼠、兔、羊、狗、猪和双足动物如鸡和鹌鹑等。本文根据创伤性和非创伤性 ONFH 各自的发病机制, 对已建立的有关 ONFH 的试验动物模型进行归纳总结。

一、创伤性 ONFH 动物模型

创伤性 ONFH 动物模型的造模方法主要有以下三种, 即手术性、物理性和化学性损伤。

1. 手术性损伤: 创伤导致的 ONFH 与股骨头周围的血管损伤及血液循环障碍而导致的骨缺血坏死密切相关^[4]。Gao 等^[5]应用股骨颈骨折的方法 (健侧未做处理, 设为对照组) 建立狗 ONFH 模型, 其结果为 8 只狗都出现 ONFH, 影像学检查显示 5 只狗出现骨折端不愈合, 3 只狗出现畸形愈合, 组织学显示股骨头内含有骨髓细胞碎片, 陷窝细胞和 (或) 细胞核缺损, 脂肪细胞数量增多。Hofstaetter 等^[6]通过切除髋关节囊, 烧灼周围骨膜和股骨颈周围的血管, 同时用可吸收缝线结扎圆韧带建立创伤性 ONFH 成年兔 ONFH 模型, 通过影像学和组织学评估, 造模后 12 个月约 13.3% 出现塌陷。Peled 等^[7]通过股骨头脱位, 切断圆韧带, 切开股骨头颈底部骨膜及反折的关节囊建立创

伤性 ONFH 鼠模型, 发现股骨头变形, 而在组织学上没有发现骨小梁坏死。Hofstaetter 等^[8]通过手术方法使股骨近端骨骺缺血性坏死建立 Perthes 病猪模型, 在造模第 4 周时出现软骨矿化基质显著降低, 软骨下骨坏死区也出现了类似的变化, 在第 8 周时出现中央骨小梁坏死区矿化基质显著降低, 而在第 4 周时没有出现这样的变化。这些模型与 LCPD 的典型改变相似, 将有效地阐明 LCPD 的发病机制, 并且提供有效的防治方法。Wen 等^[9]通过分离环状韧带及附着的所有软组织并在股骨颈基底部切断股骨颈, 用 HGF 转基因的骨髓间充质干细胞移植进行治疗, 用 CT、MRI 和组织学评估, 结果显示造模后 3 d、1、2、3 周, 均出现 ARCO I 或 II 期临床 ONFH 的改变。他们认为 HGF 转基因的骨髓间充质干细胞移植是治疗早期 ONFH 的有效方法。Hang 等^[10]应用类似的造模方法建立狗 ONFH 模型, 12 周后组织学显示出现 ONFH 的表现。

2. 物理性损伤: 冷冻和高温加热等物理方法已越来越多的用于 ONFH 动物模型的建立。Li 等^[11]通过微波加热建立兔 ONFH 模型, 采用 55 °C 加热 10 min 的方法, 通过影像学和组织学进行评估, 结果显示, 在造模后第 4、8 周股骨头内出现低密度和囊性变, 同时伴有骨坏死后的修复, 在第 12 周, 约 69% 出现股骨头塌陷。Velez 等^[12]采用低温和血管结扎的方法建立羊 ONFH 模型, 组织学检查发现, 在第 6 和 12 周出现 ONFH 的晚期表现, 但是影像学检查没有出现塌陷。鹌鹑是一种体型较大的两足动物, 其髋关节的生物力学与人类相似^[13]。Fan 等^[14]交替应用液氮冷冻和射频加热的方法建立鹌鹑 ONFH 模型, 分别于手术后 2、4、8、12、16 周后进行影像学和组织学评估, 研究结果显示, 在手术后第 6 周, 影像学和组织学表现类似人 ONFH 的表现。

3. 化学性损伤: Manggold 等^[15]通过在股骨头中心直接注射纯酒精建立羊 ONFH 模型, 在注射酒精期间 10 只动物中有 1 只因大面积的肺栓塞而死亡, 另一只在 6 周后发生头下型骨折, 12 周后出现骨坏死, 他们认为乙醇作为一种有毒物质具有浓度依赖性。Zhu 等^[16]向股骨头中心缓慢 (0.5 ml/min) 注射 10 ml 无水酒精 (>99.7%, v/v) 建立羊 ONFH 模型, 其中实验组共 12 只 (24 个股骨头), 分别在造模后第 4、8、12、25 周用 X 线片、MRI 和组织学进行评估, 其中 X 线片结果显示, 在第 4 周, 对 12 只 (24 个股骨头) 观察发现 20 个股骨头出现轻度囊性变, 在第 8 周, 对 9 只 (18 个股骨头) 观察发现 17 个股骨头局部骨矿物质密度增加, 在第 12 周, 对 6 只 (12 个股骨头) 观察发现 12 个股骨头出现骨小梁密度不均匀, 其中 8 个股骨头外形出现轻微变形, 在第 25 周, 对 3 只 (6 个股骨头) 观察发现 4 个股骨头出现关节间隙变窄, 股骨头塌陷, 组织学显示骨小梁破坏, 骨髓坏死, 微循环重建不足。

二、非创伤性 ONFH 动物模型

非创伤性 ONFH 动物模型可分为激素性、酒精性、减压性和其他 ONFH 动物模型等。其中激素性 ONFH 模型中又包括单纯激素性、激素联合异体血清性、激素联合脂多糖 (LPS) 性和激素联合手术性 ONFH 模型。

(一) 激素性 ONFH 模型

1. 单纯激素性 ONFH 模型: 激素是 ONFH 发展过程中的一个重要的危险因素^[17]。Powell 等^[18]认为不同种类和不同剂量的糖皮质激素应用, ONFH 的发生率不同, 多数情况下, 长期、大剂量、全身应用糖皮质激素易患 ONFH, 尤其是合并高脂血症和结缔组织性疾病时, 更易出现 ONFH。许多学者通过肌肉注射甲泼尼松龙 (MPS) 建立兔 ONFH 模型。Iwakiri 等^[19]通过一次性肌注 MPS 20 mg/kg 建立兔 ONFH 模型, 3 周后 ONFH 的发生率为 83%。Kuribayashi 等^[20]用同样的方法造模, 4 周后 ONFH 的发生率为 70%, 但有 20% 的兔在注射 MPS 后死亡。Takao 等^[21]也使用了同样的造模方法, 在造模后的第 1、3、6 和 9 周没有发生 ONFH, 只发现股骨近端干骺端的骨髓坏死。Wang 等^[22]通过 MPS 4 mg/kg 肌注建立兔 ONFH 模型, 组织学显示股骨骨髓造血细胞的坏死, 骨细胞核浓缩。Han 等^[23]通过每天皮下注射 MPS 21 mg/kg 建立兔 ONFH 模型, 4 周后, ONFH 的发生率为 80%。Yang 等^[24]通过持续 (饮水中加入 4 mg/L 地塞米松 1 周, 之后加入 2 mg/L 直至 12 周) 或间断 (饮水中加入 4 mg/L 地塞米松 1 周, 从第 2 至第 12 周, 每周的前 3.5 d 饮水中不加地塞米松, 后 3.5 d 加入 4 mg/L 地塞米松) 两种方法口服地塞米松建立鼠 ONFH 模型, 给药 12 周后结果显示, 间断给药的 ONFH 发生率为 8%, 明显低于持续给药的发生率 (45%)。Motomura 等^[25]通过右臀中肌肌注一次不同剂量 (1、5、20、40 mg/kg) 醋酸甲强的松龙 (MPSL) 建立兔 ONFH 模型, 注射后 4 周观察到 ONFH 发生率分别为 0%、42%、70%、96%, 结果显示激素剂量与 ONFH 的发生率有一定相关性。Chen 等^[26]应用地塞米松建立兔模型, 具体造模方法为: 7.5 mg/kg 臀中肌肌肉注射, 每间隔 1 周注射一次, 共注射 2 次, 分别在造模后第 4、8、16 周通过影像学和组织学进行评估, 结果显示, 在造模后第 8 周, 影像学显示呈低信号密度不均表现, 在第 16 周出现典型的“线样征”改变。

2. 激素联合异体血清性 ONFH 模型: Bekler 等^[27]将 30 只 Sprague-Dawley 大鼠分为三组, A 组腹腔内注射无菌人血清 (10 ml/kg) 两次 (间隔两周), 两周后每天给予甲基强的松龙 (40 mg/kg) 连续使用 3 d; B 组每天给予甲基强的松龙 (40 mg/kg) 连续使用 3 d; C 组给予生理盐水作为对照。组织学显示, A 组出现小动脉血管壁平滑肌坏死和血管壁中膜变形, 骨髓减少并缺血坏死; B 组主要发现骨髓细胞分化, 没有出现骨小梁的缺血坏死。Wen 等^[28]通过静脉内注射马血清 (首剂 10 ml/kg, 第二次剂量为 5 ml/kg, 间隔 2 d) 两次, 2 周后每周腹腔内注射 7.5 mg/kg 醋酸强的松龙两次, 共两周, 建立兔早期 ON 模型, 在最后一次激素注射后 5 周 CT 显示低密度改变, MRI 显示骨髓水肿, 点状高信号影, 组织切片显示骨小梁稀疏, 陷窝细胞增加, 脂肪细胞肥大。由于他们在发表的文章中没有

提供 ONFH 的发病率, 我们不能将这种模型与单独应用马血清或激素诱导的模型相比较, 此外, 我们也无法确认这种联合诱导 ONFH 的造模方法是否优于其他单独应用激素诱导或激素相关性诱导 ONFH 的动物模型。

3. 激素联合 LPS 性 ONFH 模型: Ma 等^[29]应用脂多糖联合激素建立兔模型, 将实验动物随机分为四组: A 组: 脂多糖注射两次; B 组: 联合应用脂多糖和甲基强的松龙; C 组: 甲基强的松龙注射三次; D 组: 对照组。通过影像学和组织学评估, 结果显示, 在 A 和 D 组无骨坏死发生, B 组骨坏死的发生率为 88.9%, 明显高于 C 组 (22.2%), 他们认为, 甲基强的松龙联合脂多糖诱导 ONFH 的发生率显著高于单独应用激素或单独应用脂多糖且可出现 ONFH 的典型表现。Qin 等^[30]通过低剂量 (10 μg/kg) LPS 静脉注射一次, 24 h 后大剂量 (20 mg/kg) MPS 肌内注射 3 次 (间隔 24 h) 建立兔 ONFH 模型, 6 周后 ONFH 的发生率为 93%, 有 29% 发生在近端骨骺, 并且在试验期间没有出现动物死亡。由于这种模型的高发病率和无死亡率, 可用于评估治疗措施的有效性, 从而用于激素相关性 ONFH 的预防。Wu 等^[31]通过低剂量 (10 μg/kg) LPS 静脉注射两次, 间隔 24 h 后大剂量 (20 mg/kg) MPS 肌内注射 3 次建立兔模型, 发病率为 90%, 死亡率为 6.2%。Guan 等^[32]通过注射 LPS (40 μg/kg) 两次 (间隔 24 h), 之后立即注射盐酸强的松龙 (20 mg/kg) 一次建立兔 ONFH 模型, 3 周后 ONFH 的发生率为 36.2%。Okazaki 等^[33]通过 2 mg/kg LPS 静脉注射 (第 0 和 1 天) 和 20 mg/kg MPS 肌注 (第 3、4、5 天) 建立大鼠 ONFH 模型, 在最后一次 MPS 注射后的第 1、2、3 和 4 周 ONFH 的发生率分别为 33%、33%、67% 和 33%。Yang 等^[34]通过联合应用 LPS 和 MPS 建立兔模型, 静脉注射 10 μg/kg LPS 一次后, 每隔 24 h, 连续三次肌肉注射 20 mg/kg MPS, 注射 LPS 前后收集血液样本进行检测, 6 周后进行 MRI 检测, 同时从股骨头抽取骨髓进行干细胞活性的检测, 取双侧股骨头进行组织病理学检测, 结果显示, 造模成功率为 88.9%, 组织学显示, 病变主要发生在干骺端, 坏死骨周围出现微血管纤维血栓形成和血管外骨髓脂肪细胞体积增加。Zhang 等^[35]通过静脉注射一次脂多糖 10 g/kg 体重, 24 h 后肌肉注射 3 次甲基强的松龙 20 mg/kg 体重建立兔 ONFH 模型, 在造模后第 4 周, 16 只中 13 只出现 ONFH, 在造模后第 6 周, 16 只中 15 只出现 ONFH。

4. 激素联合手术性 ONFH 动物模型: Kuroda 等^[36]通过单次肌肉注射甲基强的松龙 40 mg/kg 联合电凝股骨干骺端的主要血管建立兔 ONFH 模型, 造模后 4 周, 所有动物开始出现 ONFH, 8 周后出现典型的 ONFH 表现。在 12 周, 5 只动物中有 2 只出现股骨头塌陷, 手术后 24 周, 所有动物出现骨性关节炎的改变。但是, 通过 micro-CT 评价塌陷的程度, 仅仅只有软骨下骨缺损, 而没有典型塌陷的改变。

(二) 酒精性 ONFH 模型

饮酒是除激素应用之外 ONFH 发展过程中的又一个重要的危险因素^[37]。长期饮酒后, 骨细胞内出现大量脂肪物质沉积, 酒精诱导骨髓间充质干细胞成脂分化增强, 而成骨作用降低, 导致骨细胞缺血、缺氧, 修复坏死骨的成骨细胞数量减少, 最

终导致股骨头坏死、塌陷^[38]。此外,乙醇在体内代谢过程中产生的毒性作用使自由基生成增多,通过影响细胞膜的通透性导致血管内皮细胞损伤,小动脉发生纤维变性和粥样硬化,导致股骨头局部缺血^[39]。Wang等^[40]通过胃内灌注20 ml/kg体重的烈酒(含46%的乙醇)并肌肉注射10 ml/kg生理盐水建立小鼠ONFH模型,在4、6、8、10月股骨头中出现陷窝细胞的比率分别为(11.2±3.2)%、(13.5±1.6)%、(15.8±3.4)%、(19.5±4.1)%。尽管只出现早期ON的特征,但是与ONFH患者的病因相同。该模型将有助于阐明人类酒精相关性ONFH的发病机制及评价不同的治疗方案。Shin等^[41]通过饮用2 ml·kg⁻¹·d⁻¹米酒建立兔子模型,1年后股骨头内发现脂肪细胞增大,骨内压升高。

(三) 减压性 ONFH 模型

Lehner等^[42]通过使成年绵羊接触相当于2.6~2.9标准大气压的空气2个月建立减压性ONFH模型,7个月后组织学显示有骨细胞的凋亡和骨髓脂肪的纤维化。Sobakin等^[43]报道将羊暴露于2.79个标准大气压下24 h,然后以每分钟下降0.91个标准大气压的速度直至常压状态,影像学检查显示桡骨、胫骨、股骨、肱骨近端和远端均有骨坏死。Flagg等^[44]通过使猪暴露于2.7个标准大气压22 h,然后迅速减压至常压建立模型,造模成功率为80%。这种动物模型有利于研究减压性ON的发病机制、诊断和治疗。

(四) 其他 ONFH 模型

Irisa等^[45]通过单一低剂量(10 μg/kg)LPS静脉注射建立兔模型,4周后造模成功率为77%。组织学显示小动脉和微动脉内出现血栓。Tsuji等^[46]每间隔3周静脉注射10 ml/kg马血清2次建立兔模型,1周后ONFH的发生率为84%,3周后为64%。Shabat等^[47]通过每天应用250 mg 2-丁氧基乙醇(BE)每公斤体重连续4 d建立大鼠模型,24 d后,组织学显示8只中有1只动物出现ONFH。Gao等^[48]通过关节周围注射血管内皮生长因子(VEGF)2抗体建立ONFH大鼠模型,其中A组50 μg/ml, B组25 μg/ml, C组12.5 μg/ml,注射后2周,通过组织学和影像学发现,三组中出现ONFH的比例分别为90%、60%和20%。他们认为,通过注射VEGF2抗体,抑制局部血管再生,是建立ONFH模型的新的有效的方法。

尽管国内外学者致力于应用不同的方法和不同的动物建立ONFH模型,无论是通过创伤性或非创伤性方法,都不能建立理想的ONFH动物模型,都有各自的优势,但也都存在不足之处。创伤性模型的优势在于坏死区位于股骨头,并且有利于ONFH的分期,不足之处在于不能根据不同的病因进行造模;非创伤性模型的优势在于与ONFH患者的病因学相似,可根据不同的病因进行造模,但不足之处在于仅出现ONFH的早期表现,并且坏死区域大多数位于干骺端,而不是集中在股骨头^[49]。与其他方法单独应用相比,激素联合LPS不仅能显著提高动物模型的成功率,且与人ONFH的病理特征相似,是较为常用的造模方法^[29]。与其他动物相比,雄性家兔不仅具有酒精耐受力强、不易死亡、操作方便、价格低廉等优点,且其酒精性股骨头坏死的病理变化与人类更相似,更适合用于制作酒精性股骨头坏死的模型^[50];猪更容易出现手术性股骨近端骨髓缺血性坏

死,并且很快出现骺软骨、软骨下及中央骨小梁基质矿化显著降低的改变,与LCPD的典型改变相似^[8],将有效地阐明LCPD的发病机制,并且提供有效的防治方法;两足鸚鵡具有与人相似的体型和髋关节,是较为理想的ONFH模型动物^[13]。总之,建立一种理想的动物模型有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会骨科分会显微修复学组及中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组. 成人股骨头坏死诊疗标准专家共识(2012年版)[J/CD]. 中华关节外科杂志: 电子版, 2012, 6: 479-484.
- [2] Troy KL, Brown TD, Conzemius MG. Contact stress distributions on the femoral head of the emu (*dromaius novaehollandiae*). *J Biomech*, 2009, 42: 2495-2500.
- [3] Zeng YR, He S, Feng WJ. Vascularised greater trochanter bone graft, combined free iliac flap and impaction bone grafting for osteonecrosis of the femoral head. *Int Orthop*, 2013, 37: 391-398.
- [4] Malizos KN, Karantanas AH, Varitimidis SE, et al. Osteonecrosis of the femoral head: etiology, imaging and treatment. *Eur J Radiol*, 2007, 63: 16-28.
- [5] Gao YS, Guo SC, Ding H, et al. Caspase-3 may be employed as an early predictor for fracture-induced osteonecrosis of the femoral head in a canine model. *Mol Med Rep*, 2012, 6: 611-614.
- [6] Hofstaetter JG, Wang J, Yan J, et al. The effects of alendronate in the treatment of experimental osteonecrosis of the hip in adult rabbits. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17: 362-370.
- [7] Peled E, Bejar J, Zinman C, et al. Prevention of distortion of vascular deprivation-induced osteonecrosis of the rat femoral head by treatment with alendronate. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2009, 129: 275-279.
- [8] Hofstaetter JG, Roschger P, Klaushofer K, et al. Increased matrix mineralization in the immature femoral head following ischemic osteonecrosis. *Bone*, 2010, 46: 379-385.
- [9] Wen Q, Jin D, Zhou CY, et al. HGF-transgenic MSCs can improve the effects of tissue self-repair in a rabbit model of traumatic osteonecrosis of the femoral head. *PLoS One*, 2012, 7: e37503.
- [10] Hang D, Wang Q, Guo C, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with VEGF165 transgenic bone marrow mesenchymal stem cells in mongrel dogs. *Cells Tissues Organs*, 2012, 195: 495-506.
- [11] 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: 573-580.
- [12] Vélez R, Soldado F, Hernández A, et al. A new preclinical femoral head osteonecrosis model in sheep. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2011, 131: 5-9.
- [13] Troy KL, Lundberg HJ, Conzemius MG, et al. Habitual hip joint activity level of the penned emu (*dromaius novaehollandiae*). *Iowa Orthop J*, 2007, 27: 17-23.
- [14] Fan M, Peng J, Wang A, et al. Emu model of full-range femoral head osteonecrosis induced focally by an alternating freezing and heating insult. *J Int Med Res*, 2011, 39: 187-198.
- [15] Manggold J, Sergi C, Becker K, et al. A new animal model of femoral head necrosis induced by intraosseous injection of ethanol. *Lab Anim*, 2002, 36: 173-180.
- [16] 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: BR97-102.
- [17] Wang XS, Zhuang QY, Weng XS, et al. Etiological and clinical analysis of osteonecrosis of the femoral head in Chinese patients. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126: 290-295.
- [18] Powell C, Chang C, Naguwa SM, et al. Steroid induced osteonecrosis: An

- analysis of steroid dosing risk. *Autoimmun Rev*, 2010, 9: 721-743.
- [19] Iwakiri K, Oda Y, Kaneshiro Y, et al. Effect of simvastatin on steroid induced osteonecrosis evidenced by the serum lipid level and hepatic cytochrome p4503a in a rabbit model. *J Orthop Sci*, 2008, 13: 463-468.
- [20] Kuribayashi M, Fujioka M, Takahashi KA, et al. Vitamin e prevents steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Acta Orthop*, 2010, 81: 154-160.
- [21] Takao M, Sugano N, Nishii T, et al. Different magnetic resonance imaging features in two types of nontraumatic rabbit osteonecrosis models. *Magn Reson Imaging*, 2009, 27: 233-239.
- [22] Wang L, Wang N, Li M, et al. To investigate the role of the nervous system of bone in steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Osteoporos Int*, 2010, 21: 2057-2066.
- [23] Zhang X, Liu Y, Ren K, et al. secondary total hip arthroplasty for osteonecrosis of femoral head after failed internal fixation of femoral neck fracture. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2010, 24: 257-261.
- [24] Yang L, Boyd K, Kaste SC, et al. A mouse model for glucocorticoid-induced osteonecrosis: effect of a steroid holiday. *J Orthop Res*, 2009, 27: 169-175.
- [25] Motomura G, Yamamoto T, Irisa T, et al. Dose effects of corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits. *J Rheumatol*, 2008, 35: 2395-2399.
- [26] Chen XC, Weng J, Chen XQ, et al. Relationships among magnetic resonance imaging, histological findings, and IGF-I in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rabbits. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2008, 9: 739-746.
- [27] Bekler H, Uygur AM, Gökçe A, et al. The effect of steroid use on the pathogenesis of avascular necrosis of the femoral head: an animal model. *Acta Orthop Traumatol Turc*, 2007, 41: 58-63.
- [28] 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: 398-403.
- [29] Ma H, Zeng B, Li X, et al. Experimental study on avascular necrosis of femoral head induced by methylprednisolone combined with lipopolysaccharide in rabbits. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2008, 22: 265-270.
- [30] Qin L, Zhang G, Sheng H, et al. Multiple bioimaging modalities in evaluation of an experimental osteonecrosis induced by a combination of lipopolysaccharide and methylprednisolone. *Bone*, 2006, 39: 863-871.
- [31] Wu X, Yang S, Duan D, et al. Experimental osteonecrosis induced by a combination of low-dose lipopolysaccharide and high-dose methylprednisolone in rabbits. *Joint Bone Spine*, 2008, 75: 573-578.
- [32] Guan XY, Han D. Role of hypercoagulability in steroid-induced femoral head necrosis in rabbits. *J Orthop Sci*, 2010, 15: 365-370.
- [33] 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: 227-232.
- [34] Yang J, Wang L, Xu Y, et al. An experimental osteonecrosis of femoral head induced by a combination of a single low-dose lipopolysaccharide and methylprednisone. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2008, 22: 271-275.
- [35] Zhang G, Sheng H, He YX, et al. Continuous occurrence of both insufficient neovascularization and elevated vascular permeability in rabbit proximal femur during inadequate repair of steroid-associated osteonecrotic lesions. *Arthritis Rheumatism*, 2009, 60: 2966-2977.
- [36] Kuroda Y, Akiyama H, Kawanabe K, et al. Treatment of experimental osteonecrosis of the hip in adult rabbits with a single local injection of recombinant human fgf-2 microspheres. *J Bone Miner Metab*, 2010, 28: 608-616.
- [37] Lee MS, Hsieh PH, Shih CH, et al. Non-traumatic osteonecrosis of the femoral head - from clinical to bench. *Chang Gung Med J*, 2010, 33: 351-360.
- [38] Shapiro F, Connolly S, Zurakowski D, et al. Femoral head deformation and repair following induction of ischemic necrosis: a histologic and magnetic resonance imaging study in the piglet. *J Bone Joint Surg Am*, 2009, 91: 2903-2914.
- [39] Meye C, Schumann J, Wagner A, et al. Effects of Homocysteine on the levels of caveolin-1 and eNOS in caveolae of human coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2007, 190: 256-263.
- [40] Wang Y, Yin L, Li Y, et al. Preventive effects of puerarin on alcohol-induced osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*, 2008, 466: 1059-1067.
- [41] Shih CH, Yang WE, Lee ZL, et al. Effect of long-term alcohol ingestion on the femoral head of rabbit. *Formos Med Assoc*, 1991, 90: 443-447.
- [42] 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.
- [43] 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: 61-67.
- [44] Flagg SY, Regis DP, Petersen K, et al. Interrupted oxygen pre-breathing and decompression outcomes in swine. *Aviat Space Environ Med*, 2013, 84: 12-16.
- [45] Irisa T, Yamamoto T, Miyanishi K, et al. Osteonecrosis induced by a single administration of low-dose lipopolysaccharide in rabbits. *Bone*, 2001, 28: 641-649.
- [46] Tsuji T, Sugano N, Sakai T, et al. Evaluation of femoral perfusion in a non-traumatic rabbit osteonecrosis model with t2*-weighted dynamic mri. *J Orthop Re*, 2003, 21: 341-351.
- [47] Shabat S, Nyska A, Long PH, et al. Osteonecrosis in a chemically induced rat model of human hemolytic disorders associated with thrombosis - a new model for avascular necrosis of bone. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74: 220-228.
- [48] Gao YS, Wang HF, Ding H, et al. A novel rat model of osteonecrosis of the femoral head induced by periarticular injection of vascular endothelial growth factor receptor 2 antibody. *J Surg Res*, 2013, pii: S0022-4804 00070-X.
- [49] Fan M, Peng J, Qin L. Experimental animal models of osteonecrosis. *Rheumatol Int*, 2011, 31: 983-994.
- [50] 王大伟, 史宝明, 张爽. 构建酒精性股骨头坏死动物模型的理论依据及造模方法. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14: 9413-9416.

(收稿日期: 2013-07-22)

(本文编辑: 张岚)