

·实验研究 Experimental research·

基质细胞衍生因子-1 介入治疗股骨头坏死的实验研究

孟 巍, 曹海利, 白 彬, 郑尚飞, 徐 伟

【摘要】 目的 探讨基质细胞衍生因子-1(SDF-1)治疗股骨头坏死的机制和疗效。**方法** 选用日本大耳白兔 30 只,制成激素性股骨头坏死模型后,随机分为 3 组。A 组为对照组;B 组为髓芯减压+生理盐水治疗组;C 组为髓芯减压+SDF-1 治疗组。各组动物均于治疗后 8 周处死,处死后分别进行股骨头骨密度测定及组织病理观察。**结果** SDF-1 治疗后 8 周,骨密度明显增高,病理组织学表现血管数目增多,空骨陷窝减少。SDF-1 治疗后显示股骨头修复效果明显。**结论** 髓芯减压 SDF-1 移植治疗股骨头缺血性坏死效果明显,具有较广的临床应用前景。

【关键词】 股骨头坏死,缺血性;基质细胞衍生因子-1;髓芯减压

中图分类号:R681.8 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2009)-04-0294-03

Treatment of femoral head necrosis with transplantation of stromal cell-derived factor-1: an experimental study MENG Wei, CAO Hai-li, BAI Bin, ZHENG Shang-fei, XU Wei. Department of Interventional Radiology, the Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150086, China

【Abstract】 Objective To discuss the therapeutic mechanism and efficacy of stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) in the treatment of femoral head necrosis. **Methods** Experimental models of hydrocortisone-induced femoral head necrosis were established in 30 Japanese rabbits, which were randomly and equally divided into three groups. Group A was regarded as control group, group B received marrow core decompression and saline injection treatment and group C underwent marrow core decompression and SDF-1 transplantation. Eight weeks after the procedure all the survival rabbits ($n = 27$) were sacrificed, and the specimens were sent for the measuring of bone mineral density and for histopathologic examination. **Results** Eight weeks after the treatment, the bone mineral density of rabbits in group C was significantly increased. Pathologically, in SDF-1 treated rabbits the amounts of the blood vessels and osteoblast cells were obviously increased while the empty bone lacunae were markedly decreased. **Conclusion** Transplantation of stromal cell-derived factor-1 together with marrow core decompression is very effective for the treatment of femoral head necrosis and this technique has showed a vast and bright prospect in clinical practice. (J Intervent Radiol, 2009, 18: 294-296)

【Key words】 femoral head necrosis, avascular; stromal cell-derived factor-1; marrow core decompression

股骨头缺血性坏死 (avascular necrosis of the femor head, ANFH) 是临床常见骨病,其病因和发病机制目前尚不完全清楚,且缺乏理想的治疗方法。近年来,大量细胞因子不断被认识及应用,基质细胞衍生因子-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1) 在骨髓造血刺激及血管新生方面的作用已被大量研究所证实。据此,我们通过建立家兔股骨头坏死

模型,应用细胞因子植入技术,同介入相结合,探索 SDF-1 注入治疗 ANFH 的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物模型建立与分组 选用 20 ~ 26 周龄纯种健康雄性日本大耳白兔 40 只,体重 2.5 kg 左右,由我院实验动物中心提供。造模动物每只每周 2 次臀肌注射氢化可的松,7.5 mg/kg,并每周 2 次臀肌注射青霉素 10 万 u。于第 5 ~ 6 周停止注射 2 周,

基金项目:黑龙江省自然科学基金(D200560)

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二院放射介入科

通信作者:白 彬

共进行 10 周。模型建立后取动物 30 只(MR 证实, 图 1)。将实验模型动物随机分为 3 组每组 10 只, 饲养条件相同。A 组: 模型对照组; B 组: 髓芯减压治疗组; C 组: 髓芯减压 + SDF-1 注入组。

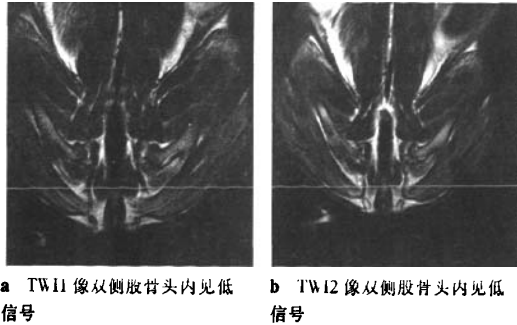


图 1 造模后 MRI 图像

1.1.2 药液制备 将 rhuSDF-1a (由 ProSpec-Tany TechnoGene 公司制造) 配成浓度为 1 ml 蒸馏水中含 rhuSDF-1a 10 μ g 溶液后, 环氧乙烷消毒备用。

1.2 方法

1.2.1 实验方法 将 B、C 组动物固定于 DSA 手术床上, 经耳缘静脉麻醉后, 在兔双侧股骨头区域备皮, 局部消毒铺无菌单, 切开皮肤, 分离皮下组织暴露股骨干, 于大粗隆后用微型电钻转入 5 mm, 改用 20 ml 注射器针头在 DSA 透视下穿刺至股骨头下 1 mm 处, 内置明胶海绵条作为载体。C 组注入已备好的 rhuSDF-1a 溶液 1 ml, B 组注入同等量生理盐水, 所有动物再次用明胶海绵封闭穿刺口, 最后关闭切口逐层缝合。术后每只动物给予青霉素 20 万 u 预防感染。A 组未采取任何处理。B 组死亡 2 只, 其中 1 只术后第 3 天死于局部感染, 另 1 只死于麻醉过量。C 组死亡 1 只, 死于术后出血。8 周后将所有剩余兔处死 (共计 27 只), 进行各种指标观察与检测。

1.2.2 观察指标

1.2.2.1 骨密度 (bone mineral density, BMD) 测定。上述处理后 8 周, 采用兔耳缘静脉注入 20 ml 空气处死动物, 剖取实验侧股骨头, 置于单光子骨密度仪上, 测量位置为冠状面中部, 测 3 次取平均值。

1.2.2.2 组织学观察切取实验侧股骨头, 沿中心冠状面剖开, 用 4% 甲醛液固定, 经脱钙后, 行剖面常规石蜡切片, HE 染色, 光镜观察。在 400 倍显微镜下, 任选 5 个高倍视野计数 50 个骨细胞计数空骨陷窝阳性率; 在软骨下区依次任选 5 个高倍视野, 计数血管数目, 求出平均值。

1.3 统计方法

各项参数均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 13.0 统计

软件进行数据处理, 采用单因素方差分析, 若各组间有差别, 进一步 Dunnett 方法作多个样本间均数两两比较。对两个样本均数的比较, 采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨密度扫描

将股骨头置于单光子骨密度仪上, 测量位置为冠状面中部, 测 3 次取平均值。结果 A、B、C 3 组骨密度值为 (0.3276 ± 0.2950) 、 (0.3793 ± 0.1556) 和 (0.4225 ± 0.9570) g/cm², B、C 组与 A 组比较差异有统计学意义 (P 均 < 0.01), C 组与 B 组间差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 光镜观察

2.2.1 A 组 术后 8 周, 病理上呈典型的骨坏死, 坏死区域位于股骨头近股骨的松质骨内, 交界处有大量间充质细胞增生, 髓腔中充满坏死的组织碎片, 骨小梁坏死、中断, 可见大量空骨陷窝, 残存骨细胞核固缩, 股骨头软骨下毛细血管明显减少。

2.2.2 B 组 骨小梁较稀疏, 排列较规则, 骨细胞部分正常, 毛细血管增多, 较多脂肪细胞, 有较多空骨陷窝。但骨小梁表面新生骨形成, 骨小梁增粗, 坏死断裂处逐渐融合, 空骨陷窝率减少, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2.3 C 组 骨小梁较为饱满, 接近正常, 排列较规则, 骨细胞大部分正常, 造血细胞增多, 虽还有较多脂肪细胞, 但细胞直径接近正常细胞, 空骨陷窝明显减少, 接近正常, 股骨头软骨下血管数目明显增加 (图 2)。与髓芯减压组及空白对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 各组实验动物股骨头光镜结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	空骨陷窝率	毛细血管数
对照组 (A)	28.0 ± 1.5	5.2 ± 2.3
髓芯减压组 (B)	18.0 ± 2.0^a	6.2 ± 1.8^a
SDF-1a 治疗组 (C)	$15.0 \pm 1.7^{a,b}$	$7.8 \pm 1.5^{a,b}$

注: ^a 为各组与对照组比较, ^a $P < 0.01$; ^b 为 SDF-1a 治疗组与髓芯减压组比较, ^b $P < 0.05$;

3 讨论

股骨头一旦坏死不易修复, 原因除其本身结构特殊外, 还与局部血液循环不良及多种骨生长因子缺乏或活性不足有关^[1]。迄今仍无普遍满意的治疗方法治疗成人 ANFH。细胞生长因子能促进骨形成和血管再生, 因此有可能成为改善 ANFH 治疗效果的突破口^[2]。

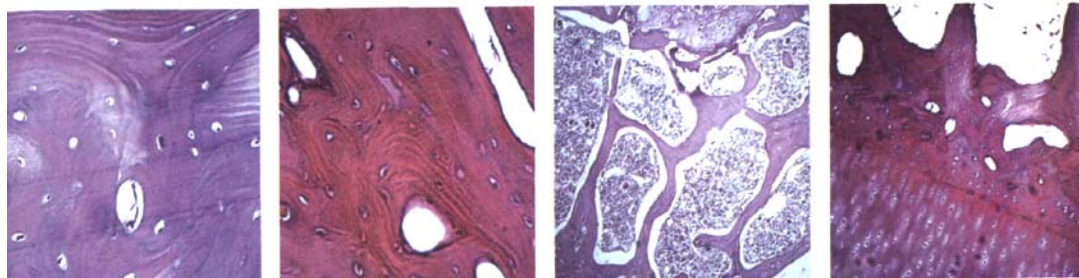


图 2 各组组织学观察
a A 组可见大量空陷窝, 残存骨髓细胞核固缩, 股骨头软骨下毛细管增多 (HE × 400)
b B 组骨陷窝率减少, 毛细管增多 (HE × 400)
c C 组骨小梁未中断, 空陷窝少 (HE × 100)
d C 组毛细管增多 (HE × 100)

图 2 各组组织学观察

SDF-1 是新近发现的一类具有趋化活性的细胞因子, 因其氨基酸序列含有 4 个保守的半胱氨酸及 N 端含有 2 个半胱氨酸, 将其归为趋化因子 CXC 亚家族。SDF-1/CXCR-4 轴能够促进血管生成, 明显增加血管形成量^[36]。SDF-1 还能募集各种祖细胞尤其是骨髓基质干细胞到血管损伤处。因此, 我们采用 SDF-1 因子吸附于明胶海绵中, 充填 AFNH 模型病灶清除区, 观察其在股骨头局部病理环境中的诱导成血管及成骨活性。

本实验组织病理结果显示, SDF-1 治疗组原股骨头坏死区的血管数在治疗后 8 周有明显的新生血管形成, 较单纯减压组和空白对照组的成血管能力强。其作用机制可能为: ①影响缺血损伤骨髓内造血干细胞的生成及其从肝向骨髓的迁移。②促进局部血管形成并募集各种祖细胞尤其是血管内皮祖细胞 (EPC) 到血管损伤处^[7,8]。通过动员自身或者借助外来骨髓多能干细胞, 促进新血管生成。实验中治疗组原股骨头坏死区血管数较其他实验组明显增多, 说明已有大量新生血管。我们推测 SDF-1 参与股骨头坏死区新血管生成、促进缺血区的血运重建, 参与新生内膜形成^[9], 也参与再内皮化过程^[4]。骨密度测量结果显示治疗组股骨头骨密度明显高于单纯减压组, 且组织病理结果空陷窝数 SDF-1 治疗组明显少于单纯减压及空白对照组, 说明 SDF-1 治疗组成骨活动和成骨能力大为增强。这可能与 SDF-1 募集各种祖细胞到损伤处其中包括骨髓多能干细胞, 骨髓多能干细胞具有多向分化潜能, 在特定的理化条件与细胞因子的诱导下, 可定向地向成骨细胞方向分化, 形成骨细胞。

综上, 我们推测 SDF-1 参与股骨头坏死区新血管的生成, 促进缺血区的血运重建, 从而促进股骨头坏死区修复重建。说明髓芯减压加 SDF-1 因子, 对股骨头坏死区有修复作用。为股骨头坏死治疗的

研究提供了新思路。

[参考文献]

- [1] 周强, 石国华, 杨柳, 等. 复合多孔生物材料在股骨头坏死模型中诱导成骨的观察[J]. 中华外科杂志, 2002, 40: 458 - 461.
- [2] Mont MA, Jones SLC, Einhorn TA, et al. Osteonecrosis of the femoral head. Potential treatment with growth and differentiation factors[J]. Clin Orthop, 1998, (355)(suppl): 314 - 325.
- [3] Misra P, Lebeche D, Ly H, et al. Quantitation of CXCR4 expression in myocardial infarction using 99mTc-labeled SDF-1 alpha[J]. J Nucl Med, 2008, 49: 963 - 966.
- [4] Schober A, Knarren S, Lietz M, et al. Crucial role of stromal cell-derived factor-1alpha in neointima formation after vascular injury in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Circulation, 2003, 108: 2491 - 2497.
- [5] Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization [J]. Circulation, 2003, 107: 1322 - 1388.
- [6] Hiasa K, Ishibashi M, Ohtani K, et al. Gene transfer of stromal cell-derived factor-1 alpha enhances ischemic vasculogenesis and angiogenesis via vascular endothelial growth factor/endothelial nitric oxide synthase-related pathway[J]. Circulation, 2004, 109: 2454 - 2461.
- [7] Reddy K, Zhou Z, Jia SF, et al. Stromal cell-derived factor-1 stimulates vasculogenesis and enhances Ewing's sarcoma tumor growth in the absence of vascular endothelial growth factor [J]. Int J Cancer, 2008, 115, 123: 831 - 837.
- [8] Nomura S, Ishii K, Inami N, et al. Alpha 4-integrin-positive microvesicles and SDF-1 in peripheral blood stem cell harvest [J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 41: 1071 - 1072.
- [9] Olive M, Mellad JA, Beltran LE, et al. p21Cip1 modulates arterial wound repair through the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis in mice[J]. J Clin Invest, 2008, 118: 2050 - 2061.

(收稿日期: 2008-11-11)

基质细胞衍生因子-1介入治疗股骨头坏死的实验研究

作者: 孟巍, 曹海利, 白彬, 郑尚飞, 徐伟
作者单位: 哈尔滨医科大学附属第二院放射介入科, 150086
刊名: 介入放射学杂志 ISTIC PKU
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY
年, 卷(期): 2009, 18(4)
被引用次数: 1次

参考文献(9条)

1. 周强, 石国华, 杨柳, 等. 复合多孔生物材料在股骨头坏死模型中诱导成骨的观察[J]. 中华外科杂志, 2002, 40:458-461.
2. Mont MA, Jones SLC, Einhorn TA, et al. Osteonecrosis of the femoral head. Potential treatment with growth and differentiation factors[J]. Clin Orthop, 1998, (355) (suppl):314-325.
3. Misra P, Lebeche D, Ly H, et al. Quantitation of CXCR4 expression in myocardial infarction using ^{99m}Tc-labeled SDF-1α[J]. J Nucl Med, 2008, 49:963-966.
4. Schober A, Knarren S, Lietz M, et al. Crucial role of stromal cell-derived factor-1α in neointima formation after vascular injury in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Circulation, 2003, 108:2491-2497.
5. Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization[J]. Circulation, 2003, 107:1322-1388.
6. Hiasa K, Ishibashi M, Ohtani K, et al. Gene transfer of stromal cell-derived factor-1α enhances ischemic vasculogenesis and angiogenesis via vascular endothelial growth factor/endothelial nitric oxide synthase-related pathway[J]. Circulation, 2004, 109, 2454-2461.
7. Reddy K, Zhou Z, Jia SF, et al. Stromal cell-derived factor-1 stimulates vasculogenesis and enhances Ewing's sarcoma tumor growth in the absence of vascular endothelial growth factor[J]. Int J Cancer, 2008, 15, 123:831-837.
8. Nomura S, Ishii K, Inami N, et al. Alpha 4-integrin-positive microvesicles and SDF-1 in peripheral blood stem cell harvest[J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 41:1071-1072.
9. Olive M, Mellad JA, Beltran LE, et al. p21Cip1 modulates arterial wound repair through the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis in mice[J]. J Clin Invest, 2008, 118:2050-2061.

引证文献(1条)

1. 王树方, 刘培来, 李明, 张元凯, 李德强, 孙向阳, 王星, 李振中. 股骨头缺血性坏死的介入治疗[期刊论文]-新医学 2010(5)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200904015.aspx

授权使用: 中国科学技术大学(zgkxjsdx), 授权号: 12f236ea-4912-4941-9017-9df60175c5da

下载时间: 2010年9月19日