

蒋玮,曹林忠,邬明峻,等. 激素性股骨头坏死动物模型的建立及评价[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(6): 799-804.
Jiang W, Cao LZ, Wu MJ, et al. Establishment and evaluation of animal models of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(6): 799-804.
Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2019.06.017

激素性股骨头坏死动物模型的建立及评价

蒋玮¹, 曹林忠^{1,2*}, 邬明峻¹, 张琪¹

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学附属医院脊柱外科, 兰州 730020)

【摘要】 由于糖皮质激素的广泛应用,而导致的激素性股骨头坏死的发病率逐年升高,但其发病机制及预防措施仍不明确,为了进行深入研究,从根本上进行治疗,激素性股骨头坏死动物模型的建立将是这些研究成败的关键。本文将造模方案、造模动物以及造模标准的研究进展做一综述。

【关键词】 激素性股骨头坏死;动物模型;评价

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 06-0799-06

Establishment and evaluation of animal models of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head

JIANG Wei¹, CAO Linzhong^{1,2*}, WU Mingjun¹, ZHANG Qi¹

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China. 2. Department of Spinal Surgery, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine University, Lanzhou 730020)

Corresponding author: CAO Linzhong. E-mail: clzh1@163.com

【Abstract】 Owing to the widespread use of glucocorticoids, the incidence of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head has increased year by year, but its pathogenesis and possible preventive measures are still unclear. To carry out in-depth research into its fundamental treatment, the establishment of an animal model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head will be the key to success. This paper reviews the research progress of modeling schemes, modeling animals and modeling standards.

【Keywords】 Steroid-induced avascular necrosis; femoral head; animal model; evaluation

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

1957年由Pietrogramde和Mastomarine第一次提出短时间大剂量可的松会引起股骨头坏死(osteoarthritis of femoral head, ONFH)之后,人们逐渐认识到长期服用糖皮质激素会导致激素性股骨头坏死(steroid-induced avascular necrosis of the femoral head, SANFH)的发生。然而激素在人体内引起ONFH的机制尚不明确,主要有脂肪代谢紊乱、血管内凝血和骨质疏松三种假说^[1]。激素进入人体后会影 响内分泌调节,导致血脂增高,易堵塞

微小血管,进而引起股骨头局部缺血坏死;股骨头坏死患者的血液粘稠度高,在激素的刺激下,容易发生高凝状态及血管内凝血,从而出现股骨头缺血坏死;骨量减少、骨小梁变细、变薄是激素的副作用之一,在外部应力的作用下,股骨头常发生软骨下骨折、局部塌陷导致血液循环障碍,引起股骨头缺血坏死^[2]。

随着研究不断深入,SANFH研究进入细胞、分子及基因领域,主要有激素代谢紊乱、干细胞分化

【基金项目】 国家自然科学基金(81860859)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(81860859).

【作者简介】 蒋玮,男,甘肃中医药大学中医骨伤科学专业在读研究生。

【通信作者】 曹林忠,男,主任医师,硕士生导师,主要从事中医药防治骨伤疾病。Email: clzh1@163.com

和基因多态三种假说。有研究者^[3]发现人体内细胞色素 P4503 A 酶的活性与糖皮质激素清除成正相关,酶活性的降低可导致体内激素作用时间增加,副作用也随之增加,最终导致股骨头坏死。研究发现,糖皮质激素会促进骨髓间充质干细胞向成脂分化、减少成骨分化,导致股骨头坏死。mRNA 作为调节因子,调控细胞的整个生命周期,但它是否参与 SANFH 的发生,当今尚不清楚,吴兴净等^[4]实验研究发现上调的 miR-125 α -3p 和下调的 miR-17-5p 可能参与激素性股骨头坏死的发生,但还有待进一步验证。

然而无论是三种坏死机制假说,还是更进一步的细胞、分子及基因研究,SANFH 动物模型的建立是研究的基础,本文就以“激素性股骨头坏死及造模”为检索词在 CNKI 数据库中,从 2009 年 01 月 01 日至今,共检索出相关文献 190 篇;以“animal model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head”为词条在 PubMed 中共检索到文献 58 篇。按照①股骨头坏死;②激素性;③股骨头坏死病因及机制;④动物模型;⑤造模方案;⑥造模成功标准,符合其中多项或一项为入选标准,排除较陈旧、相似或重复研究的文章,最终选择 37 篇文章进行分析、归纳、总结,将最近 10 年来国内外对造模方案、动物选择及造模成功标准进行简要综述,为 SANFH 动物模型建立提供参考。

1 SANFH 造模方案的选择

激素在动物和人体中有大致相似的作用机制,为了建立与人类 SANFH 病因及发病过程相似的动物模型,总结常用 SANFH 的建模方法有单纯糖皮质激素诱导、异体血清联合激素诱导和脂多糖联合激素诱导。糖皮质激素可使血管胶原纤维和弹性纤维结构和功能障碍,从而导致骨组织小动脉的断裂或栓塞,导致骨细胞缺血和骨髓内高压引起股骨头坏死,糖皮质激素还可抑制干细胞成骨分化,促进向脂肪细胞分化,导致 SANFH 的发生^[5]。然而大部分患者因为血液、免疫系统或其他疾病,使用激素治疗时,出现了股骨头坏死的副作用。所以为了模拟这一发病过程,常使用异体血清制造模型动物的血液和脉管系统炎症,或者使用脂多糖引起微循环障碍,再使用激素干预,最终形成 SANFH。

1.1 糖皮质激素诱导

糖皮质激素的使用是导致 SANFH 的主要原

因。常用的糖皮质激素有醋酸泼尼松龙、地塞米松、甲基强的松龙和甲基氢化泼尼松琥珀酸钠等。不同激素和使用剂量的不同对实验动物有不同的影响。范武等^[6]通过每周 2 次日本大耳兔左侧臀肌注射 10 mg/kg 的醋酸泼尼松龙注,连续 4 周后成功造模。赵振广等^[7]给大鼠每周 2 次腹腔注射地塞米松 10 mg/kg,持续 8 周的方案成功建立 SANFH 的早期模型。Kuribayashi 等^[8]通过肌肉注射甲基强的松龙 20 mg/(kg·d)的方式建立兔 SANFH 模型,4 周后有 70% 的发生 ONFH,然而在肌肉注射甲基强的松龙后,有 20% 的试验动物死亡。王荣田等^[9]用雌鸡来航鸡,每周 2 次胸肌注射甲基氢化泼尼松琥珀酸钠 5.2 mg/(kg·week),预防性注射青霉素 2×10^4 U/kg、链霉素 50 mg/kg,连续 8 周后造模成功。但李兴国等^[10]通过新西兰大白兔双侧臀肌连续 9 周注射地塞米松 2.5 mg/(kg·d),并且连续 1 周臀部肌注 8×10^4 U/d 庆大霉素,未成功造模,且动物死亡率高达 25%。

单纯糖皮质激素诱导 SANFH 模型的方法优点在于制模过程操作简单,所用药物价格便宜,经济负担较轻,但 SANFH 患者常患有多种基础疾病,所以单纯使用激素制模与人类实际发病过程有较大的差异。也有研究者表明^[11]单纯激素不能成功诱导 SANFH 动物模型,这一结论还有待进一步的验证。

1.2 异体血清加激素诱导

为了使建立的模型更有说服力,发病过程与人类相似,常使用异体血清制造模型动物的血液和脉管系统炎症,再加入激素干预进行造模。1992 年, Matsui 等^[12]首次通过兔耳缘静脉注射马血清 10 mL/kg,2 周后再次注射相同剂量,同时连续 3 天腹腔注射 40 mL/(kg·d)的甲基强的松龙,4 周后能在组织切片上观察到骨髓坏死,6~8 周后出现骨坏死,最终 70% 的动物成功制作 SANFH 模型。周正新等^[13]兔耳缘静脉注射马血清 10 mL/kg,第 3 周后,注射剂量为 7.5 mL/kg,第 5 周后,连续 3 天 45 mg/(kg·d)的甲基强的松龙,之后连续 10 周腹腔注射 7.5 mg/(kg·week)的甲基强的松龙,并臀部肌注 4 万单位/只青霉素钠预防感染后成功造模。佟鹏等^[14]通过间隔 12 周兔耳缘静脉注射两次马血清 10 mL/kg 后,连续 6 天,臀肌注射 8 mg/(kg·d)的醋酸泼尼松龙,以 80% 的成功率获得 SANFH 模型。

马血清进入动物体内后,因免疫反应使动物出

现血管炎型超敏反应,导致血管局部免疫复合物的沉积,并在免疫系统等的参与下,引发一系列的反应致组织损伤,进一步使用糖皮质激素引发 SANFH^[15],这一过程很好的模拟了人类疾病的发生发展过程。

1.3 脂多糖联合激素诱导

革兰阴性细菌细胞壁中有一种特殊物质,叫做脂多糖,它能促进血管活性物质如缓激肽、组胺、血管紧张素、白介素-6 等物质释放,导致微循环障碍,在此基础上进行激素的干预,最终导致 ONFH^[16]。李瑞琦等^[17]对兔连续 3 d 肌肉注射青霉素 4×10^5 U 预防感染后,间隔 24 h 耳缘静脉连续两次注射 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 内毒素,第二次注射完毕内毒素后,每间隔 24 h 臀肌注射 20 mg/kg 甲基强的松龙,此后每周 2 次肌肉注射 4×10^5 U 青霉素预防感染,注射期间动物死亡 3/21,4 周后成功建立 SANFH 模型。阮康明等^[18]通过犬耳缘静脉间隔 24 h 连续两次注射 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 内毒素,在第二次注射内毒素的同一天开始,连续注射 2 周,臀肌注射甲基强的(10 mg/kg),间隔 1 周后,再继续注射 2 周,成功获得模型。Zheng 等^[19]对鹌鹑序贯注射内毒素及甲基强的松龙,也成功获得 SANFH 的临床前期研究的模型。于鹏等^[20]对兔间隔 24 h 连续两次静脉注射 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 大肠杆菌内毒素后,间隔 24 h 连续 3 次臀肌注射 20 mg/kg 醋酸泼尼松龙,注射完成后周第四以 28/32 的比率获得 SANFH 动物模型。王泳等^[21]完全按照 Yamamoto 等^[22]的方法制作动物模型,内毒素 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 联合甲基强的松龙 20 mg/kg,实验动物在注射内毒素后 2 d 内死亡率接近 80%,但将内毒素的剂量降低至 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$,动物的死亡率下降至不到 10%,并通过组织形态学检查得出了与高剂量制模方法一致的病理结果。还有研究者^[8]发现内毒素联合激素组比马血清联合激素组稍早出现股骨头坏死。肖春生等^[23]经实验验证了这一观点成立。也有研究者^[24]发现内毒素导致的股骨头组织中肿瘤因子 α 明显增高,提示该方法导致的 ONFH 可能与肿瘤因子密切相关,但还需进一步验证。所以小剂量脂多糖联合激素能成功制造 SANFH 模型,且具有动物模型发病机制与人类相似,成功率高,实验动物死亡率低的优点。

2 模型动物的选择

为了模型动物尽可能的与人类有相似的

SANFH 发生过程,模型动物应有以下特点:①实验动物与人类亲缘。②实验动物尽可能从组织学、生理学模拟人类 SANFH 的整个过程。③生物力学效应与人类相似。④实验动物具有良好的重复性,有明确的制模成功评价标准、价格低廉、饲养方便^[25]。目前造模常用动物是以鸡为代表的双足类动物和以大鼠及兔子为代表的四足类动物^[26]。

2.1 双足类动物

生物力学效应与人类相似的双足类动物,在站立行走时双侧股骨头均受压,一旦出现局部缺血坏死,在集中应力的作用下,病程进展较迅速。且双足类动物大多为禽类,在进食高脂肪饲料或激素刺激后易出现血脂增高和血液粘滞性增高,易形成股骨头缺血坏死。万蓉等^[27]、孔祥英等^[28]通过胸肌注射甲基泼尼松琥珀酸钠后成功获得鸡 SANFH 模型。曲春涛^[29]采用液氮冷冻并射频加热交替法损伤股骨头建立鹌鹑股骨头塌陷模型。但禽类动物与人类亲缘性较远,生理生化方面与哺乳动物有较大的差别。

2.2 四足类动物

四足类动物与人类具有相似的生理生化及基因,常用的四足类动物有大鼠和兔,其次还有犬、绵羊等动物。为了避免物理或化学刺激后产生的疼痛,四足类动物常出现减少患肢负重的保护性行为,减少了生物力学效应在 ONFH 过程中的作用。针对这一问题 Mihara 等^[30]通过强迫四肢动物站立,增加造模成功率。有研究者^[31]在其它条件相同的前提下,仅通过调整饲料高度迫使实验组动物站立取食,并予跑步机跑步 2 h/d 增加运动,结果表明实验组造模成功率提高约 15%。

犬因体型较大,常用于建立创伤性 ONFH 模型。巩建宝等^[32]、谢志涛等^[33]分别使用液氮冷冻法和内毒素联合甲强龙成功建立犬 ONFH 模型。羊长骨内脂肪丰富,适合建立减压性 ONFH 模型,但犬和羊价格昂贵,场地要求高,饲养不便利,不常用于实验研究。相比于犬和羊,大鼠、兔没有上述顾虑,大鼠寿命较短,可以用于早期 ONFH 模型建立,但不利于晚期塌陷模型的建立。兔体型适中,饲养便利,寿命较长,是良好的动物模型的选择对象。

3 造模成功的标准

验证动物模型是否制备成功,是实验顺利进行

的关键步骤。常用的验证方法有影像学评估、病理学验证、实验室检查以及形态学观察等。

3.1 影像学评估

影像学评估是最简便的方法,国际骨循环学会 (Association Research Circulation Osseous, ARCO) 对股骨头坏死的分期:0 期和 I 期 ONFH 动物行髋关节正位 X 线和普通 CT 结果无异常表现,对此赵振广等^[7]研究者已做过相关验证。股骨头 X 线表现为斑片状阴影,硬化及囊肿形成,但股骨头无塌陷,为 II 期;表现为骨性关节面的下方出现新月形透明带,即“新月征”,则为 III 期;表现为股骨头塌陷,关节间隙变窄,囊性变等,为 IV 期。普通 CT 可较 X 线早发现 II 期股骨头坏死。Micro-CT 能检测骨小梁骨微结构的定量指标^[34],能发现 I 期 ONFH 骨小梁变细、变薄甚至断裂,但 Micro-CT 不能显示软组织及股骨头内骨髓、脂肪变化,不能发现 0 期股骨头内骨髓及脂肪变化,且检查费用昂贵不常使用。MRI 可将股骨头外形、关节间隙、关节积液、股骨头内信号均匀程度、骨髓是否水肿以及骨坏死信号等均能显现。T1 WI 上表现为点状、细线状、片状低信号强度,T2 WI 上表现为点状、细线状、片状高信号强,脂肪抑制序列呈现高信号示骨髓水肿,为 0 期 ONFH,张林波等^[35]做过相关验证。还有学者采用血管造影的方法观察股骨头内毛细血管情况,发现造模后股骨头内毛细血管明显减少并迂曲,但无法显示微小动脉状况,且无法判断股骨头坏死处于那一期,使用较少。

3.2 病理学检查

病理学检查是验证造模成功的金标准,动物处死后取股骨头制作病理切片,观察到空骨陷窝数量增加,骨细胞中脂滴充满,细胞核被挤向边缘,骨髓造血组织减少,脂肪细胞堆积骨小梁稀疏、变细变薄,甚至断裂,骨细胞核固缩溶解、消失,成骨细胞消失,脂肪组织和增大的脂肪细胞占据骨髓区,按 ARCO 标准,为 0 期股骨头坏死。李传将等^[36]、陈达等^[37]、李磊等^[38]经实验进行相关验证。虽然病理学检查标本能检测出超早期股骨头坏死,但需处死动物后才能得到切片,若需后续在体实验,将无法逐一进行验证,动物因个体差异将存在实验误差。

3.3 实验室检查及形态学观察

实验室检查发现血液中血清胆固醇和甘油三酯均升高,股骨头内血流动力学测定减慢。但无法

确定股骨头坏死处于那一期。此外动物造模过程中和完成后常出现毛发、饮食、步态以及消瘦状况等形态学改变,动物注射药物后出现精神萎靡、皮毛欠光滑、大便稀、饮食减少、跛行、活动减少等症状,部分实验动物还出现溃疡、脱毛等症状^[39]。

总的来说,早期 SANFH 造模成功主要依靠 MRI 及病理学的验证。

4 展望

人和动物存在较大的差异,动物模型的制备过程应尽可能的模拟与人类发病相似的自然病程和病理过程,但没有一种理想的动物及造模方法可以完全复制。动物模型的制备周期、制模成功率、制模成本均对实验有较大的影响。综上所述,不同的动物在不同的模型建立上有各自的优势,但没有一个完美的动物能建立与人类疾病发生极度相似的模型,根据自己不同的研究目的研究者应选择不同的动物模型及制模方案。综上所述,SANFH 制模方案选择异体血清联合激素或者小剂量、高频率脂多糖联合激素,并给予强迫站立体位,加强运动来可增加制模成功率,给予药物的同时给予胃黏膜保护药物以降低动物死亡率。建立良好的 SANFH 模型是研究 SANFH 的关键,相信随着研究不断地深入,研究方法不断地改进,更好的动物模型将会建立,用以 SANFH 的预防和治疗研究。

参 考 文 献 (References)

- [1] 邓振军,郑志永,徐谦,等. 激素性股骨头坏死发病机制的研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(86): 57-58. Deng ZJ, Zheng ZY, Xu Q, et al. Research progress in the pathogenesis of steroid-induced femoral head necrosis [J]. World Latest Med Inform, 2018, 18(86): 57-58.
- [2] 赵海燕,夏亚一,康鹏德. 股骨头坏死病因与发病机制研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2009, 17(8): 604-607. Zhao HY, Xia YY, Kang DP. Etiology and pathogenesis of osteonecrosis of the femoral head [J]. Orthop J Chin, 2009, 17(8): 604-607.
- [3] 刘文刚. CYP3A 酶在激素性股骨头坏死发病中的作用及健骨方对其影响的实验研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2011. Liu WG. Experimental study on the relationship between activity of hepatic CYP3A and steroid-induced femoral head osteonecrosis and effect of the jiangufang to the hepatic CYP3A activity in a rabbit model [D]. Gangzhou: Gangzhou University of Chinese Medicine, 2011.
- [4] 吴兴净,张永涛,郭雄,等. miR-125a-3p 和 miR-17-5p 在激素性股骨头坏死中的作用 [J]. 西安交通大学学报(医学

- 版), 2015, 36(2): 210-214.
- Wu JX, Zhang YT, Guo X, et al. Effects of miR-125a-3P and miR-17-5p on steroid-induced osteonecrosis [J]. J Xi'an Jiaotong Univ (Med Sci), 2015, 36(2): 210-214.
- [5] 陈雁飞, 吴吉荣. 糖皮质激素致股骨头坏死的病理生理机制研究进展 [J]. 解放军药理学学报, 2017, 33(6): 566-569, 587.
- Chen YY, Wu JR. Advances in pathophysiological mechanisms of glucocorticoid-induced femoral head necrosis [J]. Pharmaceut J Chin People's Liberation Army, 2017, 33(6): 566-569, 587.
- [6] 范武, 于雪峰, 任向楠, 等. 中药骨蚀灵胶囊对早期兔激素性股骨头坏死的干预作用 [J]. 实用医学杂志, 2018, 34(13): 2141-2145.
- Fan W, Yu XF, Ren XN, et al. Intervention research on Chinese medicine Gujingling capsule in treating steroid-associated necrosis of the femoral head in rabbits [J]. J Pract Med, 2018, 34(13): 2141-2145.
- [7] 赵振广, 潘树义, 李航. 大鼠激素性股骨头坏死的 2 种造模方法比较 [J]. 中国药业, 2015, 24(20): 16-18.
- Zhao ZG, Pan SY, Li H. Comparison of 2 rat modelling methods of glucocorticoid-induced avascular necrosis [J]. Chin Pharmaceut, 2015, 24(20): 16-18.
- [8] Kuribayashi M, Fujioka M, Takahashi KA, et al. Vitamin E prevents steroid-induced osteonecrosis in rabbits [J]. Acta Orthop, 2010, 81(1): 154-160.
- [9] 王荣田, 林诗富, 万蓉, 等. 不同治法方药对激素性股骨头坏死鸡血脂、血黏度、凝血及纤溶功能的影响 [J]. 中医正骨, 2013, 25(3): 21-30.
- Wang TR, Lin SF, Wang R, et al. Effects of different therapeutic methods and prescriptions on blood fat, blood viscosity, blood coagulation and fibrinolysis of chickens with steroid-induced necrosis of femoral head [J]. J Tradit Chin Orthope Traumatol, 2013, 25(3): 21-30.
- [10] 李兴国, 赵道洲, 张磊. 三种激素性股骨头坏死造模影像学病理学比较研究 [J]. 西部中医药, 2018, 31(11): 123-127.
- Li XG, Zhao DZ, Zhang L. Comparative study on imaging pathological changes of femoral head necrosis models prepared by three methods [J]. Western J Tradit Chin Med, 2018, 31(11): 123-127.
- [11] Motomura G, Yamamoto T, Irisa T, et al. Dose effects of corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits [J]. J Rheumatol, 2008, 35(12): 2395-2399.
- [12] Matsui M, Saito S, Ohzono K, et al. Experimental steroid-induced osteonecrosis in adult rabbits with hypersensitivity vasculitis [J]. Clin Orthop Relat Res, 1992, 27(7): 61-72.
- [13] 周正新, 李文华, 朱磊, 等. 中药骨痹通消颗粒干预激素性股骨头坏死模型兔的细胞凋亡 [J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(20): 3190-3194.
- Zhou ZX, Li WH, Zhu L, et al. Gubi Tongxiao Granule effects on the cell apoptosis in a rabbit model of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2018, 22(20): 3190-3194.
- [14] 佟鹏, 王洋, 梁瀛. 激素性股骨头缺血性坏死动物模型的建立及综合评估 [J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(32): 5169-5174.
- Tong P, Wang Y, Liang Y. Establishment and comprehensive evaluation of animal models of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2018, 22(32): 5169-5174.
- [15] 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 [J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37503.
- [16] Yuan L, Liu S, Bai X, et al. Oxytocin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in microglial cells and attenuates microglial activation in lipopolysaccharide-treated mice [J]. J Neuroinflamm, 2016, 13(1): 77.
- [17] 李瑞琦, 张国平, 李宜炯, 等. 提高激素性股骨头坏死模型成活率的方法 [J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(50): 8729-8734.
- Li RQ, Zhang GP, Li YJ, et al. A method for elevating survival rate of models of steroid-induced necrosis of femoral head [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2013, 17(50): 8729-8734.
- [18] 阮康明. 激素法与液氮冷冻法建立犬股骨头坏死造模中的应用比较研究 [D]. 福州: 福建医科大学, 2014.
- Ruan KM. The comparative application of hormonal method and liquid nitrogen method in modeling of femoral head necrosis in dogs [D]. Fuzhou: Fujian University of Medicine, 2014.
- [19] Zheng LZ, Liu Z, Lei M, et al. Steroid-associated hip joint collapse in bipedal emus [J]. PLoS One, 2013, 8(10): e76797.
- [20] 于鹏, 纪志华, 贾丙申, 等. 髓芯减压联合富血小板血浆对兔激素性股骨头坏死的疗效及对金属蛋白酶/基质金属蛋白酶组织抑制剂系统的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(2): 53-58.
- Yu P, Ji ZH, Jia BS, et al. Effect of platelet rich plasma combined with core decompression on the repair of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head and the MMP/TIMP in rabbits [J]. Chin J Comp Med, 2018, 28(2): 53-58.
- [21] 王泳, 高春锦, 杨晋才, 等. 兔激素性股骨头坏死模型的建立 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(11): 2233-2234, 2239.
- Wang Y, Gao JH, Yang JC, et al. Establishment of animal model of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head in rabbits [J]. Chin J Pathophysiol, 2009, 25(11): 2233-2234, 2239.
- [22] Yamamoto T, Hirano K, Tsutsui H, et al. Corticosteroid enhances the experimental induction of osteonecrosis in rabbits with Shwartzman reaction [J]. Clin Orthop Relat Res, 1995, 3(16): 235-243.
- [23] 肖春生, 林娜, 林诗富, 等. 不同糖皮质激素诱导鸡股骨头坏死的实验研究 [J]. 中国骨伤, 2010, 23(3): 184-187.
- Xiao CS, Lin N, Lin SF, et al. Experimental study on avascular necrosis of femoral head in chickens induced by different glucocorticoides [J]. Chin J Orthop Traumatol, 2010, 23(3): 184-187.

- [24] Aruwajoye OO, Patel MK, Allen MR, et al. Microcrack density and nanomechanical properties in the subchondral region of the immature piglet femoral head following ischemic osteonecrosis [J]. *Bone*, 2013, 5(22): 632-639.
- [25] 蒋鲁勇, 庞清江. 股骨头坏死动物模型的研究进展 [J]. *现代实用医学*, 2015, 27(10): 1394-1396.
Jiang LY, Pang QJ. Research progress in animal model of femoral head necrosis [J]. *Mod Practic Med*, 2015, 27(10): 1394-1396.
- [26] 张成龙, 尹华, 章建华. 股骨头坏死动物模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2013, 23(3): 58-62.
Zhang CL, Yi H, Zhang JH. Advances in research on animal models of osteonecrosis of femoral head [J]. *Chin J Comp Med*, 2013, 23(3): 58-62.
- [27] 万蓉, 李莉, 孔祥英, 等. 不同治法方药对激素性股骨头坏死鸡股骨头 OPG、RANKL mRNA 表达的影响 [J]. *实验方剂学杂志*, 2011, 17(8): 149-153.
Wang R, Li L, Kong XY, et al. Effects of different prescriptions on the expression of OPG, RANKL and mRNA in femoral head of steroid-induced femoral head necrosis [J]. *Chin J Expe Tradit Med Formulae*, 2011, 17(8): 149-153.
- [28] 孔祥英, 万蓉, 李莉, 等. 不同治法方药对激素性股骨头坏死鸡成骨相关因子的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(5): 614-617.
Kong XY, Wan R, Li L, et al. Effect of different treating principles and formulas on expression of osteogenic factors in steroid-induced osteonecrosis of femoral head of chicken [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2011, 36(5): 614-617.
- [29] 曲春涛. 构建双足类大型鸟类鸸鹋股骨头坏死模型 [J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(5): 611-615.
Qu CT. Establishing a large double-foot bird emu model of femoral head necrosis [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2016, 20(5): 611-615.
- [30] Mihara K, Hirano TJ. Standing is a causative factor in osteonecrosis of the femoral head in growing rats [J]. *J Pediatr Orthop*, 1998, 18(5): 665-669.
- [31] 王继涛, 阮红峰, 付方达, 等. 改良型激素性股骨头坏死小鼠模型的建立与评价 [J]. *中国中医急诊*, 2017, 26(9): 1525-1528.
Wang JT, Ruan HF, Fu FD, et al. Establishment and evaluation of a modified mouse model of steroid induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2017, 26(9): 1525-1528.
- [32] 巩建宝. MRI 引导下氩氦刀靶向冷冻系统建立犬股骨头坏死模型的新方法相关研究 [D]. 济南: 山东大学, 2014.
Gong JB. MRI-guided argon-helium cryoablation targeting cryosystem to establish a new method for canine femoral head necrosis model [D]. Jinan: Shandong University, 2014.
- [33] 谢志涛, 赵德伟, 江磊, 等. 甲强龙联合内毒素诱导犬股骨头坏死的实验研究 [J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2014, 29(6): 570-571.
Xie ZT, Zhao DW, Jiang L, et al. Experimental study of avascular necrosis of femoral head of dogs induced by methylprednisolone and endotoxin [J]. *Chin J Bone Joint Inj*, 2014, 29(6): 570-571.
- [34] Nadia ME, Mohd FK, Ahmad NS. Micro-CT assessments of potential anti-osteoporotic agents [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(13): 1542-1551.
- [35] 张林波, 张桂珍, 杨海山, 等. 激素性股骨头坏死动物模型的建立及影像学评价 [J]. *中国兽医学报*, 2009, 29(3): 331-334.
Zahng LB, Zhang GZ, Yang HS, et al. Establish of animal models of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head and evaluate by radiological methods [J]. *Chin J Vet Sci*, 2009, 29(3): 331-334.
- [36] 李传将, 王万明, 庄颜峰, 等. 改良激素性股骨头坏死动物模型的建立与评价 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(24): 4393-4397.
Li CJ, Wang WM, Zhu YF, et al. Establishment and evaluation of a modified animal model of steroid-induced avascular necrosis of femoral head [J]. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res*, 2010, 14(24): 4393-4397.
- [37] 陈达, 陈晓波, 白显昉, 等. 通络生骨胶囊促进兔激素性股骨头坏死修复的机制研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(3): 351-356.
Chen D, Chen XB, Bai YY, et al. Mechanism of Tongluo Shenggu Capsule on glucocorticoid-induced osteonecrosis of femoral head in rabbits [J]. *Chin J New Drugs Clin Pharm*, 2016, 27(3): 351-356.
- [38] 李磊, 郑怀亮, 寇玉, 等. 髓芯减压联合骨髓间充质干细胞治疗早期股骨头坏死的病理学变化 [J]. *重庆医学*, 2018, 47(27): 3490-3493.
Li L, Zhen HL, Kou Y, et al. Pathologic change of core decompression combined with implantation of bone mesenchymal stem cells in treating early femoral head necrosis [J]. *Chongqing Med J*, 2018, 47(27): 3490-3493.
- [39] 张立岩, 孙新, 田丹, 等. 兔早期激素性股骨头缺血性坏死模型建立及其 MRI 与病理特征研究 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2015, 29(10): 1240-1243.
Zhang LY, Sun X, Tian D, et al. Model establishment, MRI and pathological features of early steroid-induced avascular necrosis of femoral head in rabbit [J]. *Chin J Repair Reconstr Surg*, 2015, 29(10): 1240-1243.