

谢程欣,王维,余城墙,等. 酒精性股骨头坏死动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(7): 139-144.
Xie CX, Wang W, Yu CQ, et al. Research progress in animal models of alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(7): 139-144.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.07.020

酒精性股骨头坏死动物模型的研究进展

谢程欣¹,王 维¹,余城墙¹,安 杨²,金 鑫²,尹 东^{2*}

(1.广西中医药大学研究生院,南宁 530200; 2.广西壮族自治区人民医院骨科,南宁 530021)

【摘要】 股骨头坏死是骨科常见的进行性疾病,最终会导致股骨头塌陷。长期过量饮酒是股骨头坏死的主要危险因素之一,目前,酒精性因素成为导致中国男性股骨头坏死最常见的病因。酒精性股骨头坏死的具体发病机制尚未完全阐明,缺乏理想的动物模型阻碍了成功预防和治疗的发展。本文对酒精性股骨头坏死的发病机制、动物模型构建和防治措施的研究进展进行综述,以期对酒精性股骨头坏死的基础研究和临床治疗提供参考。

【关键词】 股骨头坏死; 酒精; 动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 07-0144-06

Research progress in animal models of alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head

XIE Chengxin¹, WANG Wei¹, YU Chengqiang¹, AN Yang², JIN Xin², YIN Dong^{2*}

(1. Faculty of Graduate Studies, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China.

2. Department of Orthopedics, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021)

【Abstract】 Osteonecrosis of the femoral head is a progressive disease that is commonly encountered in orthopedics, which will eventually lead to collapse of the femoral head. Long-term, excessive alcohol intake is recognized as one of the leading risk factors for osteonecrosis of the femoral head. At present, alcohol consumption is the most common cause of osteonecrosis of the femoral head in Chinese men. However, the detailed pathogenesis mechanism of alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head has not been fully clarified, and progress towards developing successful approaches to prevention and treatment is hampered by the lack of an ideal animal model. In this paper, we review the pathogenesis and prevention of alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head and discuss approaches to constructing relevant animal models to provide a reference for basic research and for the clinical treatment of alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head

【Keywords】 osteonecrosis of the femoral head; alcohol; animal models

股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)是一种骨科常见的进行性疾病,最终会导致股骨头塌陷。该病发病率及致残率较高,给患者家属和整个社会带来了不可估量的劳动力和经济损

失。据估计,全球 ONFH 患者总数高达 2000 多万个^[1]。在中国,非创伤性 ONFH 数量约为 500 万~750 万例,并且每年新增病例 10~20 万例^[1-2]。保守治疗时,大多数受影响的髋关节(>80%)在最初

【基金项目】 广西研究生教育创新计划资助项目(YCSW2020188)。

【作者简介】 谢程欣(1995—),男,硕士研究生。主要从事骨与关节、创伤疾病的研究。E-mail: 547853868@qq.com

【通信作者】 尹东,男,博士,主任医师,教授,硕士生导师。主要从事骨与关节、创伤疾病研究。E-mail: tangin2002@163.com

诊断的 4 年内进展为股骨头塌陷和关节炎,最终将接受全髋关节置换术^[3]。

长期过量饮酒被认为是非创伤性 ONFH 的主要危险因素之一。据报道,日本非创伤性 ONFH 的病因构成酒精性占 31%^[4];中国和韩国所有 ONFH 的病因构成中酒精性分别占 30.68%^[1] 和 32.4%^[5];并且,在中国男性患者中,酒精性是最常见的病因(40.4%)^[1]。随着酒精消费的不断增长,寻找预防和治疗酒精性股骨头坏死(alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head, AIONFH)的有效方法至关重要。然而,AIONFH 的具体发病机制尚未完全阐明,缺乏理想的动物模型阻碍了成功预防和治疗的进展。因此,建立一个可靠地模拟人类疾病各个阶段的 AIONFH 动物模型是非常必要的。本文基于动物实验,对 AIONFH 的发病机制、动物模型构建和防治措施的最新进展进行综述。

1 发病机制

AIONFH 的发病机制很多,但还没有共识的确切机制。骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)的成骨/成脂分化受损被认为是导致 AIONFH 的主要因素。脂肪细胞的异常增殖和骨细胞内脂肪的积聚可导致股骨头的骨内压力升高和血液循环障碍,最终导致股骨头坏死^[6]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 是一种在脂肪形成中起重要作用的转录因子。研究表明,酒精可以上调 BMSCs 中 PPAR γ 基因的表达,促进 BMSCs 的成脂分化并抑制其增殖及成骨分化^[6-7]。Wnt/ β -catenin 信号通路是引导 BMSCs 向成骨细胞分化的重要因素。据报道,Wnt/ β -catenin 信号下调和糖原合成酶激酶-3- β (glycogen synthase kinase-3- β , GSK3 β)去磷酸化与酒精对大鼠骨重建的抑制有关^[8]。Chen 等^[9-11]的研究表明乙醇通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路和蛋白激酶 B(Akt)/GSK3 β / β -catenin 通路抑制 BMSCs 成骨分化。此外,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路的激活也可导致 BMSCs 成骨分化受损^[12-13]。Liu 等^[12]报道,大量慢性饮酒激活磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/Akt/mTOR 通路上调 PPAR γ 并下调成骨相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)的表达,导致小鼠骨量减少。Jie 等^[14]发现

酒精增强 BMSCs 中脂肪特异基因-422 的表达。相反,Cui 等^[15]发现乙醇处理的小鼠克隆 BMSCs 中,脂肪特异基因-422 和 PPAR γ 的表达均无显著增加。

AIONFH 模型的建立与血管环境有关。据报道,酒精处理后的动物血清脂质过氧化物升高,超氧化物歧化酶活性降低,导致小动脉变性和硬化,最终诱发股骨头缺血坏死^[16]。细胞膜微粒通过介导血管炎症、促进凝血及血管内皮损伤、抑制血管舒缩等途径,诱发股骨头微血管损伤^[17]。杨云等^[17]在长期白酒灌胃的 Wistar 大鼠中观察到细胞膜微粒 CD31、CD54 的含量明显升高。

乙醇及其代谢物的直接毒性作用会导致脂肪肝和其他酒精性肝损伤,有助于 ONFH 的发生。多数研究在动物中观察到高胆固醇血症和脂肪肝变性^[7,16,18-19]。Okazaki 等^[20-21]的研究发现,激素诱导和酒精诱导的 ONFH 大鼠均存在肝损伤的表现。这些变化导致血液循环中脂肪类物质增多,易聚集成脂肪球,导致股骨头软骨下区栓塞。另外,高脂血症还会增加血液中的游离脂肪酸,导致前列腺素增加,从而破坏小血管壁,产生血管炎。此外,Okazaki 等^[21]报道,皮质类固醇可通过 Toll 样受体 4 信号通路干扰全身免疫反应诱导 ONFH。然而,他们没有发现 Toll 样受体 4 与大鼠 AIONFH 的发生之间存在任何关系^[20]。总之,AIONFH 是多种因素共同作用的结果,其潜在的发病机制尚待挖掘。

2 动物模型

目前用于 AIONFH 造模的实验动物有大鼠、小鼠、兔、羊、犬、鹌鹑等,造模方法主要包括三种:①含酒精饮食;②酒精灌胃;③股骨头局部注射乙醇。

2.1 大鼠

大鼠是一种传统的实验动物,具有与人类相似的生理和代谢特性。其股骨头大小适中,便于影像学 and 病理学研究,是目前最常用的 AIONFH 动物模型。早在 1984 年,Solomon 等^[22]就在随意饮酒 40 周的大鼠中观察到骨质疏松和 ONFH。由于大鼠无呕吐反射,国内学者通常采用酒精灌胃的方式,更准确地控制酒精摄入量。最近,Yang 等^[13]的研究对大鼠进行 6 周的酒精喂养,起初浓度为 5% 并每周增加 5%,最后一周稳定在 30%。这种逐步增加酒精喂养浓度的方式比灌胃法更简便、也更符合人 AIONFH 发病的饮酒过程。Lieber 饮食^[23]是建立

AIONFH 大鼠模型最常用的方法^[8-11,13,20],其优势在于它可以高效地吸收乙醇。Okazaki 等^[20]饲喂雄性 Wistar 大鼠含 5%乙醇的 Lieber-DeCarli 液体饲料长达 24 周,结果显示 4 周时 6/12 的大鼠发生 AIONFH。随后,其同事 Shimizu 等^[24]采用相同的饲喂方案,4 周后雄性大鼠有 7/20 发生 AIONFH,然而不会引起雌性大鼠 AIONFH。该方案^[20,24]建模的大鼠最快可在 7 天内开始发病,但 24 周时未出现股骨头塌陷。杨云等^[25]对 Wistar 大鼠进行白酒 10 mL/(kg·d)灌胃 6 个月,并采取高笼喂养加强负重对双后肢的影响,使其更接近人类生物力学作用。结果显示,AIONFH 造模成功率高达 89.48%,大鼠死亡率为 10%,但仍未观察到股骨头结构塌陷。可见,无论是低浓度酒精饲喂还是高浓度灌胃造模,都只能模拟 AIONFH 的早期阶段。Okazaki 等^[26]的另一项研究表明,负重对类固醇诱导 ONFH 的发生没有影响。大鼠 ONFH 的早期发展和塌陷形成是独立的,与人类髋关节的生理应力差异是导致股骨头结局不同的因素之一。

2.2 小鼠

小鼠容易饲养且繁殖迅速,拥有与人类相似的骨骼系统。然而,小鼠股骨头较小,限制了其模型的实用性^[27]。Wang 等^[7]对昆明小鼠进行长期灌胃乙醇浓度为 46%的白酒,6 个月后观察到小鼠股骨头软骨下区骨髓坏死,脂肪细胞肥大增生,骨小梁稀疏,造血功能减弱,空骨细胞陷窝数较对照组明显增加($P < 0.05$)。Liu 等^[12]给予雌性 C3H/HeJ 小鼠饮用不同浓度(5%~30%)的乙醇,连续 4 周诱导骨量减少。尽管在小鼠体内诱导 AIONFH 是可行的,但仍需进一步的研究对比,寻找一种小鼠耐受性好,造模成功率高,经济性更强的造模方案。

2.3 兔

兔子易获取,饲养成本低,易于繁殖,是激素性 ONFH 最常用的动物模型^[27],也被广泛用于 AIONFH 的造模研究。1991 年 Shih 等^[18]用米酒 2 g/(kg·d)喂养新西兰白兔长达 1 年,发现血清胆固醇水平,髓内压和股骨头脂肪细胞体积均高于对照组。兔子 AIONFH 造模最常采用酒精灌胃法,王义生^[16,19]等给予家兔灌胃浓度为 45%烈性酒 1~6 个月,观察到股骨头髓内脂肪细胞增生肥大,骨小梁变细稀疏,面积分数降低,空骨陷窝百分比在 2 个月后开始增加($P < 0.05$),并随时间延长增加更明显。莫坚^[28]等报道,采用灌胃法造模的动物因不进食、

腹泻、腹胀等原因,死亡率较高(8/20)。此外,Liu 等^[29]采用股骨头注射无水乙醇的方法,建立日本大耳白兔 AIONFH 模型。但是,仍缺乏客观数据支持这种方案在兔子模型中运用的可行性。

2.4 羊

绵羊是一种出色的 ONFH 动物模型,其股骨头大小、髋关节和血管解剖结构与人类相似,适用于对人体手术的评估。国内外学者最常采用局部注射乙醇的方法诱导绵羊 AIONFH,2001 年 Simank^[30]及其同事 Manggold 等^[31]在 X 射线透视下注射 8 mL 无水乙醇(1 mL/min)于单侧股骨头中央上部,组织病理学及影像学均可见股骨头坏死表现。然而,股骨头宏观结构、循环和关节软骨完整,均未出现股骨头结构塌陷。一方面,解剖结构完整的股骨头存在正常的骨修复作用。另一方面,乙醇的毒性作用仅限于高浓度的区域,并且持续时间短暂。因此,该模型只能模拟人类 AIONFH 的早期病理变化。随后,Yilmaz 等^[32],Feitosa 等^[33]及 Zhu 等^[34]同样采用局部注射法诱导 AIONFH。在 Zhu 等^[34]的研究中,影像学检查发现 12 周时股骨头外形略有改变,25 周时股骨头局部塌陷伴关节间隙狭窄,组织学表现为髓腔内大量红细胞及骨小梁坏死,空骨陷窝率(最高>60%)明显高于 Simank 等^[30-31]的结果。主要原因可能在于 Zhu 等^[34]进行了双侧股骨头造模,从而增强了负重的效果。此外,乙醇注射量及动物存在品种、体重和性别等差异,也会影响研究结果。毫无疑问,负重是导致股骨头坏死及结构塌陷过程中不可忽视的因素。

2.5 犬

与绵羊相比,犬科动物容易饲养,而且在夏天不容易生病。乙醇注射和冷冻损伤是诱发大型哺乳动物 ONFH 最常用的方法,但冷冻损伤所致病理变化不同于人类 ONFH 的发展^[35]。Wang 等^[35-36]利用 3D 打印技术设计了一种新的导航模板,以防止在注射过程中乙醇泄漏,研究发现注射 3 周后,犬股骨头出现坏死,空骨陷窝增多,造血细胞减少等表现,并在 6 周和 9 周时加重。尽管影像学及组织学变化表现与人类 ONFH 相似,但未观察到股骨头塌陷。鉴于犬髋关节的力学环境与人体不同,李鸿帅等^[37]建立了三足负重 AIONFH 模型:用克氏针固定 Beagle 犬的一侧前肢,将酒精直接注射至股骨头内,影像学及组织学上均表现逐步进展的关节面塌陷。持续的生理应力阻碍骨修复反应,进一步降低

骨小梁的力学强度,是导致股骨头塌陷的重要因素^[37]。

2.6 鸸鹋

鸸鹋是一种来自澳洲的大型鸟类,善跑但不会飞(类似鸵鸟),具有一定危险性。由于鸸鹋的体型、重量和生物力学特性与人类相似,与此相关的 ONFH 造模研究已逐渐开展^[38-39]。2014 年范猛等^[40]采用股骨头内局部注射乙醇的方法建立 AIONFH 模型,部分动物股骨头软骨下骨折及局部骨吸收,但均未发现股骨头塌陷^[40]。同样,王琰^[41]的研究中股骨头内表现为不同程度的骨坏死,但也没有观察到股骨头塌陷。在随后的研究中,范猛等^[42]通过对比两种造模方法对股骨头骨显微结构的影响差异,发现冷热交替法建立的 ONFH 模型具有较高的塌陷率。冷热交替法建立的模型在组织学上表现为破坏性修复,而乙醇注射法建立的模型则表现为重建性修复^[40,42]。可见,修复方式对于坏死股骨头最终是否塌陷具有关键性的影响。此外,小型双足动物也被用于 AIONFH 的研究。据报道,在马血清致敏条件下,采用灌胃法建立的鸡 AIONFH 模型具有造模周期短、成功率高(87.5%)等特点^[43]。

2.7 造模方案的比较

根据当前研究所示,小型哺乳动物造模最常采用酒精饮食法和灌胃法,大型动物造模常采用局部注射法。相比之下,酒精饮食法具有操作简便、死亡率低等优点,也更真实地模拟了人饮酒致病的过程。灌胃法通常需要每天给予高浓度乙醇(>45%)的烈酒^[7,16,19,25,28],虽然造模成功率较高,但动物死亡的风险也更大。局部注射法造模时间短,成功率高,但与临床 AIONFH 的病因差别较大。股骨颈骨折和乙醇渗漏是注射法的主要并发症^[30-31,35],乙醇的泄漏会降低剂量的准确性,还可能损害周围的软组织^[35]。通过提高术者的技巧及熟练度,以及运用导航模板等新技术,将会使造模成功率进一步提升。

目前,仅 Zhu 等^[34]及李鸿帅等^[37]的研究显示坏死股骨头出现塌陷的进展。然而,无论是四足哺乳动物还是大型双足动物,均无法进展到股骨头塌陷的末期。实验侧患肢会保护性限制负重,使患肢未能产生正常的生理应力,故较难模拟股骨头坏死末期的塌陷过程^[44]。高笼喂养^[25,45]及三足模型^[37]的建立为今后的造模方案提供了新思路。然而,仅在进食时突出生物力学作用,与人类在日常生活中

行走及跑跳等运动时所承受的生理应力相去甚远。此外,动物通常被关在笼内或狭窄空间里,其活动量受限,导致股骨头承受生理应力的强度和时间的不够充分。双足动物的双下肢负重特性更接近人类,但均为非哺乳动物。相比之下,四足哺乳动物与人类亲缘性更强,但其造模方案还需进一步改进,创造双足负重模型是今后研究的方向。

3 防治措施

股骨头坏死作为一种顽固性疾病,通常会导致髋关节的破坏,患者最终需要接受全髋关节置换术。因此,寻找一种非手术治疗方法来推迟或减少全髋关节置换术的需要,以促进股骨头坏死在塌陷前的修复,具有重要的意义。

乙醇对 BMSCs 的增殖及成骨分化具有明显的抑制作用,恢复降低的成骨活性可以延缓 ONFH 的进展。据报道,miR-548 D-5p 通过直接靶向和下调 PPAR γ ,抑制地塞米松诱导的 BMSCs 成脂分化^[46]。同样,袁相伟^[47]的研究表明 miR-548 D-5p 也可以有效阻断酒精诱导 PPAR γ mRNA 的表达。宋石^[48]发现 miR-27a 不仅靶向下调 PPAR γ 基因的表达,还能通过上调 Runx2 基因表达促进 BMSCs 成骨分化。据报道,新型 Akt 激活剂 SC-79 通过激活 Akt/GSK3 β / β -catenin 信号通路,拮抗乙醇对 Akt-Ser473 磷酸化的抑制作用,预防 AIONFH 的发展^[9]。哌啶菊酯- α 能够抑制 p53 激活和 GSK3 β 去磷酸化,拮抗乙醇对 BMSCs 的作用^[11]。Wnt 通路是骨治疗领域中的一个新靶点。Chen 等^[8]证实抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸能够阻断乙醇对 Wnt 信号分子 β -catenin 蛋白表达的抑制作用及 GSK3 β 去磷酸化,抑制脂肪生成。因此,N-乙酰半胱氨酸和其他膳食抗氧化剂可能有助于防止 AIONFH 的进展。

近年来,研究发现中草药防治 AIONFH 具有独特作用。Chen 等^[10]发现虫草素能重新激活 Wnt/ β -catenin 通路,降低乙醇对 BMSCs 的抑制作用。麝香不仅具有促进 BMSCs 成骨分化和血管生成、舒张的能力,还能抑制白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的表达,通过抑制炎症过程阻止 AIONFH 的进展^[49]。祛痰逐瘀方通过特异性上调 miR-628/Pten/Runx2 的表达,促进坏死骨的修复^[50]。葛根素能够防止脂肪肝、高脂血症、毛细血管壁损伤和高凝状态的发生,还能减少酒精诱导的 PPAR γ mRNA 的表达,从而减少骨髓的脂肪化并维持细胞的成骨

分化^[7]。

细胞自噬对成骨细胞具有保护作用,提高细胞自噬水平成为防治 AIONFH 的重要靶点。细胞自噬的调控主要涉及经典的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,陶振宇等^[51]发现雷帕霉素通过抑制 mTOR 增强了细胞自噬水平,实验组股骨头大体形态良好,软骨下坏死带明显少于对照组。Liu 等^[12]和 Yang 等^[13]的研究也表明,雷帕霉素和甜菜碱通过阻断 mTOR 通路预防 AIONFH 的发生。

股骨头坏死的临床本质是微循环损伤,重建坏死区的血管是骨修复的出发点。血管内皮生长因子是诱导血管生成、促进坏死骨修复的重要因子^[29]。Liu 等^[29]的研究证实血管内皮生长因子腺病毒转导可促进股骨头坏死区的血运重建和骨形成,减少骨吸收,避免坏死股骨头的机械功能降低。

4 结语

股骨头坏死的发病率和致残率较高,随着酒精消费增加,防治 AIONFH 的重要性日益突出。从分子层面上揭示 AIONFH 的发病机制,并寻找新的治疗靶点是目前 ONFH 的研究热点。为了提高 AIONFH 动物模型与人类的相关性,进一步了解疾病的发病机制,并使新的治疗方法能够得到评估。建立能够模拟人类 AIONFH 各个阶段病理改变的动物模型,仍然是未来研究的方向。

参考文献:

[1] Cui L, Zhuang Q, Lin J, et al. Multicentric epidemiologic study on six thousand three hundred and ninety five cases of femoral head osteonecrosis in China [J]. *Int Orthop*, 2016, 40(2): 267-276.

[2] Liu T, Chen W. Research progress of epidemiology about nontraumatic osteonecrosis of the femoral head [J]. *Med Recapitulate*, 2009, 15(17): 2637-2639.

[3] Mont MA, Carbone JJ, Fairbank AC. Core decompression versus nonoperative management for osteonecrosis of the hip [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1996(324): 169-178.

[4] Fukushima W, Fujioka M, Kubo T, et al. Nationwide epidemiologic survey of idiopathic osteonecrosis of the femoral head [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2010, 468(10): 2715-2724.

[5] Kang JS, Park S, Song JH, et al. Prevalence of osteonecrosis of the femoral head: a nationwide epidemiologic analysis in Korea [J]. *J Arthroplasty*, 2009, 24(8): 1178-1183.

[6] Li J, Wang Y, Li Y, et al. The effect of combined regulation of the expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and calcitonin gene-related peptide on alcohol-induced adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells

[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 392(1-2): 39-48.

[7] Wang Y, Yin L, Li Y, et al. Preventive effects of puerarin on alcohol-induced osteonecrosis [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2008, 466(5): 1059-1067.

[8] Chen JR, Lazarenko OP, Shankar K, et al. A role for ethanol - induced oxidative stress in controlling lineage commitment of mesenchymal stromal cells through inhibition of Wnt/ β - catenin signaling [J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(5): 1117-1127.

[9] Chen YX, Tao SC, Xu ZL, et al. Novel Akt activator SC-79 is a potential treatment for alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 31065-31078.

[10] Chen YX, Zhu DY, Xu ZL, et al. The protective effect of cordycepin on alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(6): 2391-2403.

[11] Chen YX, Zhu DY, Yin JH, et al. The protective effect of PFTalpha on alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 100691-100707.

[12] Liu Y, Kou X, Chen C, et al. Chronic high dose alcohol induces osteopenia via activation of mTOR signaling in bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells*, 2016, 34(8): 2157-2168.

[13] Yang Q, Yin W, Chen Y, et al. Betaine alleviates alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head via mTOR signaling pathway regulation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120: 109486.

[14] Jie L, Yuebai L, Wang Y. Alcohol-induced regulation of adipogenic and osteogenic genes expression of marrow stromal cells [J]. *J Orthop*, 2001, 23(8): 48-50.

[15] Cui Q, Wang Y, Saleh KJ, et al. Alcohol-induced adipogenesis in a cloned bone-marrow stem cell [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88A: 148-154.

[16] Wang Y, Li Y, Mao K, et al. Alcohol-induced adipogenesis in bone and marrow: a possible mechanism for osteonecrosis [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2003(410): 213-224.

[17] 杨云, 范海燕, 黄健, 等. 细胞膜微粒 CD31、CD54 与酒精性股骨头缺血性坏死的关系: 随机对照实验方案 [J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(44): 6667-6672.

[18] Shih CH, Yang WE, Lee ZL, et al. Effect of long-term alcohol ingestion on the femoral head of rabbit [J]. *J Formos Med Assoc*, 1991, 90(5): 443-447.

[19] 王义生, 毛克亚, 李月白. 酒精性股骨头缺血性坏死发病机理的实验研究 [J]. *中华骨科杂志*, 1998, (4): 40-42.

[20] Okazaki S, Nagoya S, Tateda K, et al. Experimental rat model for alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *International Journal of Experimental Pathology*, 2013, 94(5): 312-319.

[21] 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 [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2009, 48(3): 227-232.

[22] Solomon L, Schnitzler H, Sefitel H, et al. Alcoholic

- osteonecrosis: An attempted experimental model in the adult rat [J]. *Othop Clin North Am*, 1984, 24: 238-242.
- [23] Lieber CS, DeCarli LM. The feeding of alcohol in liquid diets: two decades of applications and 1982 update [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1982, 6(4): 523-531.
- [24] Shimizu J, Okazaki S, Nagoya S, et al. Susceptibility of males, but not females to developing femoral head osteonecrosis in response to alcohol consumption [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0165490.
- [25] 杨云, 范海燕, 黄健, 等. 酒精性股骨头缺血坏死大鼠模型的制备 [J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(27): 3977-3983.
- [26] Okazaki S, Nagoya S, Tateda K, et al. Weight bearing does not contribute to the development of osteonecrosis of the femoral head [J]. *Int J Exp Pathol*, 2012, 93(6): 458-462.
- [27] Xu J, Gong H, Lu S, et al. Animal models of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head-a comprehensive research review up to 2018 [J]. *Int Orthop*, 2018, 42(7): 1729-1737.
- [28] 莫坚, 卢培根, 贾永龙, 等. 兔酒精性股骨头缺血性坏死模型构建及超微结构观察 [J]. *广西医学*, 2014, 36(12): 1685-1687.
- [29] Liu YG, Zhou Y, Hu X, et al. Effect of vascular endothelial growth factor 121 adenovirus transduction in rabbit model of femur head necrosis [J]. *J Trauma*, 2011, 70(6): 1519-1523.
- [30] Simank HG, Manggold J, Sebald W, et al. Bone morphogenetic protein-2 and growth and differentiation factor-5 enhance the healing of necrotic bone in a sheep model [J]. *Growth Factors*, 2001, 19(4): 247-257.
- [31] Manggold J, Sergi C, Becker K, et al. A new animal model of femoral head necrosis induced by intraosseous injection of ethanol [J]. *Lab Anim*, 2002, 36(2): 173-180.
- [32] Yilmaz C, Golpinar A, Yilmaz N, et al. Comparison of bony healing and cartilage degeneration following strut grafting and trapdoor procedures in an ovine model [J]. *Orthopedics*, 2008, 31(7): 656.
- [33] Feitosa ML, Fadel L, Beltrao-Braga PC, et al. Successful transplant of mesenchymal stem cells in induced osteonecrosis of the ovine femoral head: preliminary results [J]. *Acta Cir Bras*, 2010, 25(5): 416-422.
- [34] 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 [J]. *Med Sci Monit*, 2011, 17(4): BR97-BR102.
- [35] Wang C, Wang J, Zhang Y, et al. A canine model of femoral head osteonecrosis induced by an ethanol injection navigated by a novel template [J]. *Int J Med Sci*, 2013, 10(11): 1451-1458.
- [36] 王财儒, 张志, 郭征, 等. 局部无水酒精注射诱导家犬股骨头坏死的实验研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2012, 20(3): 263-266.
- [37] 李鸿帅, 张长青, 曾炳芳. 酒精灭活性股骨头坏死犬模型中松质骨骨矿密度和三维结构的变化 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2008, 22(3): 281-289.
- [38] Zheng LZ, Liu Z, Lei M, et al. Steroid-associated hip joint collapse in bipedal emu [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76797.
- [39] 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]. *J Int Med Res*, 2011, 39(1): 187-198.
- [40] 范猛, 姜文学, 汪爱媛, 等. 局部注射无水乙醇建立鹌鹑股骨头坏死模型观察 [J]. *中国医学科学院学报*, 2014, 36(4): 357-362.
- [41] 王琰. 鹌鹑股骨头骨坏死标本微观结构改变特征及机制研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2016.
- [42] 范猛, 姜文学, 汪爱媛, 等. 鹌鹑股骨头坏死两种修复方式骨显微结构变化的比较 [J]. *中国医学科学院学报*, 2016, 38(1): 16-21.
- [43] 窦浚峰. 马血清致敏条件下鸡酒精性股骨头坏死动物模型的制作与观察 [D]. 郑州: 郑州大学, 2009.
- [44] 葛颖杰, 蔡森鑫, 李林鹏, 等. 股骨头坏死动物模型的特点 [J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(35): 5690-5696.
- [45] 齐振熙, 喻灿明. 酒精性股骨头缺血坏死的动物模型研究 [J]. *福建中医学院学报*, 2005, 15(2): 35-36, 44.
- [46] Sun J, Wang Y, Li Y, et al. Downregulation of PPAR gamma by mir-548D-5p suppresses the adipogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells and enhances their osteogenic potential [J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 168.
- [47] 袁相伟. mir-548D-5p 靶向调控 PPAR γ 基因表达对酒精诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化的影响 [D]. 郑州: 郑州大学, 2015.
- [48] 宋石. mir-27a 通过靶向调控 PPAR γ 对酒精诱导大鼠 BMSC 分化的影响 [D]. 郑州: 郑州大学, 2015.
- [49] Guo YJ, Luo SH, Tang MJ, et al. Muscone exerts protective roles on alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 825-832.
- [50] 洪郭驹, 魏秋实, 韩晓蕊, 等. 祛痰逐瘀方经 mir-628/Pten/Runx2 调控酒精性股骨头坏死骨稳态代谢机制研究 [J]. *广东医学*, 2019, 40(2): 185-190.
- [51] 陶振宇, 张月雷, 陈华, 等. 细胞自噬在酒精性股骨头坏死中的作用及相关机制研究 [J]. *中医正骨*, 2018, 30(10): 4-11.

[收稿日期]2020-01-14