

表 4 脉冲强磁场对小鼠 H22 肝癌荷瘤鼠 NK 及 LAK 细胞活性的影响(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	NK 细胞活性	LAK 细胞活性
B ₁ 组	15	24.8 ± 2.1 *	23.8 ± 2.7 *
B ₂ 组	15	12.1 ± 2.9	11.9 ± 1.8

注:与 B₂ 组比较, * $P < 0.05$

讨 论

本实验结果证明, AIMF 对小鼠 H22 肝癌组织细胞具有选择性杀伤作用。形态学研究发现, AIMF 治疗后 24 h 就可见到癌细胞空泡性改变, 核固缩、破裂、溶解, 出现坏死。而且随着时间推移, 癌细胞坏死更加明显, 以致出现凝固性或液化性坏死。在治疗后 15 d, 这些坏死瘤组织边缘由肉芽组织生长将其填补, 而不是出现新生瘤组织填补。同时局部可见大量淋巴细胞浸润, 吞噬细胞数量也明显增多。巨噬细胞既是免疫效应细胞又是免疫调节细胞, 活化的巨噬细胞不但能吞噬各种病原体, 杀伤肿瘤细胞, 而且还能向 T 淋巴细胞提呈抗原, 分泌 IL-1 等参与免疫应答的调节。这表明 AIMF 不仅可以抑制癌细胞的生长分裂, 而且可以产生免疫效应, 从而起到杀伤癌细胞抑制肿瘤生长的作用。抑瘤率的研究结果也证实了这一点。

AIMF 治疗可减少肿瘤负荷, 并且具有对荷瘤鼠的免疫调节作用, 本实验的免疫指标检测进一步证实了这一点。AIMF 可提高荷瘤小鼠的淋巴细胞转化

率, 提高 CD₄⁺/CD₈⁺ 的值, 增强脾细胞 NK 细胞活性及 LAK 细胞活性, 对荷瘤小鼠具有明确的免疫增强作用。

因此, 我们认为 AIMF 对肿瘤细胞的杀伤和抑制瘤组织生长的作用可能与下列因素有关: ①直接细胞毒作用; ②影响癌细胞的分化合成; ③减弱肿瘤负荷的免疫抑制, 增强机体免疫功能; ④促成坏死肿瘤组织释放某种物质形成抗原, 刺激免疫反应; ⑤抑制某些肿瘤生长因子的产生。

本实验证实了 AIMF 对荷瘤小鼠具有直接杀伤和免疫功能调节双重效应, 为将来应用于临床肿瘤治疗提供了依据。

参 考 文 献

- 1 胡大为, 张国军, 王群, 等. 脉冲强磁场对小鼠移植性实体瘤的杀伤作用. 中华物理医学与康复杂志, 1999, 21:29-30.
- 2 邹本荣, 姜艳芳, 胡大为, 等. 交变脉冲强磁场对肺癌细胞杀伤作用的实验研究. 中华物理医学与康复杂志, 1998, 20:8-10.
- 3 夏绪刚, 黄兆民. 近十五年国内磁医学研究进展. 中华物理医学与康复杂志, 1995, 17:118-120.
- 4 张恩黑, 钟强荣, 孙振权, 等. 血卜啉衍生物对人食管鳞状细胞癌裸鼠移的放射增敏研究. 癌症杂志, 1992, 11:10-12.
- 5 周道洪, 沈远珊, 赵曼瑞. 测定淋巴细胞转化和鼠白细胞介素 2 活性的新方法-MTT 比色分析法. 中国免疫学杂志, 1986, 2:39-44.

(收稿日期:2004-03-15)

(本文编辑:阮仕衡)

· 研究简报 ·

兔股骨头缺血性坏死模型的血管改变和血液流变学研究

叶建红 宁亚功 李峻辉 王云华 彭仲杰 贺斌 杨举伦 蔡学敏 卫仲艮

股骨头缺血性坏死是临床难治疾病, 近年来呈逐渐上升趋势。引起股骨头缺血性坏死的因素有多种, 激素是引起股骨头坏死较重要的病因之一。我们按照文献[1]的方法, 建立股骨头缺血性坏死动物模型, 并进行组织学、数字减影血管造影(digital subtract angiography, DSA)观察和血液流变学研究, 对糖皮质激素引起的股骨头缺血性坏死的发病机制作一些初步探讨。

材料与方 法

一、实验动物

健康成年 24 周龄以上的纯种新西兰大白兔 14 只, 雌雄不

拘, 体重(2.5 ± 0.2) kg, 由本院实验动物中心提供。标准饲料喂养。将实验动物随机分为 2 组: 对照组 6 只, 模型组 8 只。

二、股骨头缺血性坏死动物模型制作

模型组按照文献[1]的方法, 给兔臀部肌肉注射醋酸泼尼松龙注射液(浙江产, 规格: 125 mg/5 ml/支), 给药量 12.25 mg/kg 体重, 每周 2 次, 共 8 周。经 X 线片和病理切片进行组织学观察, 证实双侧股骨头缺血性坏死造模成功。对照组正常饲养, 未作任何处理。

三、组织学观察

将股骨头沿冠状面剖开, 10% 甲醛固定, 5% 硝酸脱钙, 流水冲洗, 在软骨下 2 ~ 3 mm 处取材, 石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜观察。任选 5 个高倍视野, 计数血管数目, 测量血管口径, 求出平均值。

四、DSA 观察

给实验动物腹腔内注射 3% 戊巴比妥钠(0.5 ml/kg 体重)进行麻醉, 局部切口, 显露股动脉。用 20 号针头穿刺成功后,

基金项目: 云南省自然科学基金青年项目(No. 2002C0025Q)

作者单位: 650032 昆明, 中国人民解放军成都军区昆明总医院中医科, 全军中医内科中心, 国家中医药管理局股骨头坏死专病中心(叶建红、宁亚功、李峻辉、王云华、彭仲杰), 放射科介入室(贺斌), 病理科(杨举伦、蔡学敏、卫仲艮)

注入 76% 泛影葡胺 2~4 ml 进行血管造影,并在 X 线电视上观察患肢股骨头的血供情况;应用 Hydsa-1000 型高分辨率数字减影系统,用优维显 10 ml,以 2 ml/s 的速度注入,并以 10 幅/s 的速度连续摄片。

五、血液流变学观察

造模 8 周后,经兔耳缘静脉取血,采用北京世帝 R80-A 血液流变分析仪和日立 7170A 生化分析仪测定血液流变学与血脂变化。

六、统计学方法

实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行组间 t 检验。

结 果

一、组织学观察

对照组股骨头软骨下骨小梁结构正常,脂肪细胞与造血细胞比例正常。模型组股骨头软骨下区出现典型的骨坏死灶,其内骨陷窝空虚,骨髓出现典型的坏死、溶解和渗出,髓内小血管部分变性、坏死,骨小梁稀疏、断裂,脂肪细胞直径增大,造血细胞减少;股骨头软骨下区血管数目减少,血管直径变小,见表 1。

表 3 模型组与对照组血液流变学及血脂检测结果($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	全血粘度(mPa·s)			血浆粘度(mPa·s)	红细胞聚集指数	甘油三脂(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)
		高切(200 s)	中切(100 s)	低切(10 s)				
对照组	6	3.91 ± 0.38	4.89 ± 0.44	7.53 ± 0.52	1.88 ± 0.24	3.02 ± 0.26	1.19 ± 0.25	1.59 ± 0.31
模型组	8	5.31 ± 0.49*	6.39 ± 0.41*	9.17 ± 0.66*	2.70 ± 0.30*	3.89 ± 0.37	2.13 ± 0.33	2.65 ± 0.33*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

讨 论

激素所致的股骨头坏死为临床常见的一种医源性疾病,发病率居股骨头坏死之首位^[2,3]。长期或间断大量使用激素能引起股骨头缺血性坏死,已逐渐被人们所重视。过去认为激素能抑制成骨细胞的活力,减少蛋白质及粘多糖的合成,使骨基质形成障碍,导致骨质疏松。我们造模后发现,模型组股骨头均出现了骨质疏松,部分软骨下区骨小梁模糊,甚至稀疏、断裂,说明激素所致的骨质疏松与股骨头坏死有直接的关系^[4]。有学者研究后发现,随着激素使用时间的延长,局部小静脉和毛细血管内血流呈泥沙样流动,可见红细胞聚集现象,血液粘度随之升高,并刺激血小板大量生成,凝血功能增强,微循环灌注量下降,导致股骨头缺血性坏死的发生^[5,6]。我们的研究发现,应用糖皮质激素后,股骨头软骨下区血管数目明显减少,血管直径明显变小;此外,短期内大剂量摄入激素引起血液流变学及血脂明显异常,表现为全血粘度、血浆粘度及总胆固醇明显升高,血液呈高凝滞状态,使股骨头血管内凝血且形成血栓,髓内微循环障碍,进而引起组织缺氧、水肿和骨内压升高,从而导致股骨头缺血性坏死。DSA 检查发现,模型组可见部分造影剂显影中断,血管直径变小,而终末小血管数目则明显减少;数据统计显示,模型组股骨头至大粗隆之间血管数变化不明显,而大粗隆以下终末小血管数目(包括分支)则明显减少。

通过对激素引起股骨头坏死的血液流变学检测和局部血管改变的研究,加深了对激素引起股骨头坏死机制的认识,对于指导我们运用中西医结合的方法^[7,8](如内服外敷活血化瘀复方

表 1 2 组的光镜检查结果

组 别	n	血管数	血管直径(μm)
对照组	6	9.15 ± 3.27	11.56 ± 4.38
模型组	8	5.91 ± 1.64*	8.87 ± 2.73*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

二、DSA 检查

DSA 造影显示,模型组见部分造影剂中断,血管直径变小,终末小血管数目减少。按照区域划分来观察股骨头血管数目(或分支)改变情况:A 区为股骨头至大粗隆下缘之间区域,B 区为大粗隆下缘以下区域。分别计数上述两个区域的血管数(或分支)。结果见表 2。

表 2 2 组 DSA 造影股骨头血管计数结果($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	A 区	B 区
对照组	6	3.96 ± 1.12	10.56 ± 2.87
模型组	8	3.18 ± 1.07	6.43 ± 2.25*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

三、血液流变学检查

造模 8 周后,模型组全血粘度、血浆粘度及总胆固醇等指标与对照组之间的差异均有显著性意义($P < 0.05$),详见表 3。

中药、局部电磁波照射、患肢静脉滴注丹参注射液以及介入疗法等)治疗多种疾病(如风湿和类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、强直性脊柱炎等)因应用激素所导致的股骨头坏死,或预防其股骨头塌陷,具有一定的临床意义。

参 考 文 献

- 1 高根德,周林宽,许林微,等. 骨通、安妥明与维生素 C 预防激素性股骨头坏死的对比研究. 中国骨伤, 1992, 5 : 5-6.
- 2 原银栋,金耀清,任继光,等. 成人股骨头无菌性坏死 100 例临床分析. 中华骨科杂志, 1991, 12: 271-277.
- 3 Mont MA, Hungerford DS. Non-traumatic a vascular necrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg(Am), 1995, 77 : 459-474.
- 4 Felson DT, Anderson JJ. Across-study evaluation of association between steroid dose and bolus steroids and a vascular necrosis of bone. Lancet, 1987, 8538: 902-906.
- 5 Cui Q, Wang GJ, Balian G, et al. Steroid-induced adipogenesis in a pluripotential cell line from bone marrow. J Bone Joint Surg, 1997, 79 : 1054-1063.
- 6 王坤正,毛履真,胡长根,等. 激素性股骨头缺血性坏死发病机制的实验研究. 中华外科杂志, 1994, 9: 515-517.
- 7 叶建红,宁亚功. 直腿抬高试验在股骨头坏死患肢功能评价中的应用. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 24: 628-629.
- 8 叶建红,宁亚功,李峻辉,等. 综合疗法治疗股骨头坏死的临床疗效评价. 广西中医学院学报, 2003, 6: 16-18.

(修回日期: 2004-05-14)
(本文编辑: 熊芝兰)