

· 基础研究 ·

旋转磁场治疗激素性股骨头坏死

潘晓华 肖德明 张小云 张宇

【摘要】 目的 观察旋转磁场对激素性股骨头坏死相关致病环节的抑制作用,探讨其治疗股骨头坏死的机理。**方法** 制备新西兰兔股骨头坏死动物模型,予旋转磁场(由钕铁硼永磁体为磁源的恒定磁场以 8 Hz 频率旋转、在其上方 20 cm 形成直径 60 cm 的半球形磁场、表面强度在 0.32 ~ 0.60 T 之间)处理 4 周(处理 1 个月组)和 8 周(处理 2 个月组),通过 X 线片和组织切片观察股骨头内部结构变化,检测其血液黏稠度、胆固醇、甘油三脂以及髋关节腔压力等指标的变化,和相应的假处理 1 个月组、假处理 2 个月组和空白对照组进行统计学分析比较。**结果** 经旋转磁场处理后,动物模型的股骨头 X 线片和组织切片均显示其骨小梁形态结构显著改善,同时血液黏稠度、胆固醇、甘油三脂和髋关节腔压力下降均具显著统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 旋转磁场可以针对股骨头坏死的主要环节,如高脂血症、血液黏稠度增加、关节腔压力增高等多方面发挥调节作用,有效治疗激素性股骨头坏死。

【关键词】 旋转磁场; 激素性股骨头坏死; 血液黏度

An experimental study of the effects of a rotating magnetic field on steroid-induced necrosis of the femoral head PAN Xiao-hua*, XIAO De-ming, ZHANG Xiao-Yun, ZHANG Yu. * Department of Orthopedics, Shenzhen People's Hospital, The Medical College of Jinan University. Shenzhen 518020, China

【Abstract】 Objective To study any inhibitory effect of a rotating magnetic field (RMF) on steroid-induced necrosis of the femoral head (SINFH), and to investigate its therapeutic mechanism. **Methods** SINFH rabbit models were established and exposed to a hemispherical magnetic field 60 cm in diameter and 20 cm above the magnet with an average intensity of 0.32 ~ 0.60 T, generated by neodymium iron boron permanent magnet rotating at 8 Hz. After four weeks (1 m group) or eight weeks (2 m group) exposure, the internal structure of the femoral head was observed using X-rays and by pathological examination. Blood viscosity (BV) was measured, along with the concentrations of serum cholesterol (SC) and triglyceride (T), and the pressure in the coxa articular cavity (PCAC). **Results** Compared with the control groups, regeneration of the necrotic femoral head was observed to be remarkably improved in the two experimental groups. BV, the concentrations of serum cholesterol and triglyceride, and pressure in the coxa articular cavity were significantly decreased after the RMF treatment. **Conclusion** RMF therapy is a promising treatment for steroid-induced necrosis. It can help to regulate BV, PCAC and the concentrations of SC and T.

【Key words】 Rotating magnetic fields; Steroid-induced necrosis of the femoral head; Blood viscosity

激素性股骨头坏死是一种严重的致残性疾病,早期诊断及治疗比较困难,被称为“不死的癌症”,其主要的致病机理有血液黏稠度增加、骨髓细胞脂肪化、关节腔压力增高造成股骨头微循环障碍、营养供应中断,这些均可导致股骨头缺血性坏死^[1-3]。目前国内、外均缺乏有效的疗法。磁疗在我国已有千年历史,具有镇静安神、消炎止痛、活血化瘀、强筋补骨的作用,临床运用较为广泛。鉴于最近国内有医院采用本课题组提供的旋转磁场试验性治疗激素性股骨头坏死患者取得满

意疗效,本课题组尝试解释这种治疗的机制,力图开辟股骨头坏死治疗的新途径。

材料和方法

一、仪器

旋转磁场治疗装置 HMF-6000 型(深圳大学生命科学学院研制,中国专利号 2L93118017.1,美国发明号 5.667.469);由钕铁硼永磁体为磁源产生的恒定磁场以 8 ~ 10 Hz 频率旋转,在磁体上方 20 cm² 内形成一个半球形、直径 60 cm 旋转磁场,实验动物全身置于旋转磁场中心(图 1),磁场表面不同位置磁场强度在 0.32 ~ 0.60 T 之间(用 CT3 型高斯计测定);无电离辐射,安全性达标。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 50177018)

作者单位:518020 深圳,暨南大学医学院附属第二临床医学院,深圳市人民医院骨科(潘晓华、肖德明);深圳大学生命科学学院(张小云、张宇)

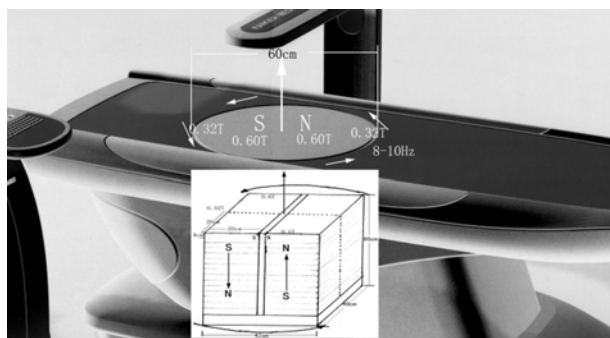


图 1 旋转磁场示意图

二、动物模型的制作、分组与处理

1. 动物模型的制作与分组:由深圳市人民医院 SPF 级动物实验室提供 24 周龄健康纯种新西兰兔 60 只,雌雄各半,体重 (2.5 ± 0.2) kg,随机选取 52 只予臀肌注射醋酸泼尼松龙注射液 12.25 mg/kg 体重每周 2 次,青霉素 4 万 U/kg 体重每周 1 次,连续注射 8 周,至第 9 周死亡 9 只、合并严重感染 4 只,将剩下的 39 只动物固定于板上行 X 线平片检测(以骨盆为中心)证实两侧股骨头骨小梁结构稀疏、断裂变细以及有散在低密度区,符合股骨头缺血性坏死模型,剔除其中出现间歇性血便及慢性衰竭者 7 只后,所余 32 只随机分为处理 1 个月组、处理 2 个月组、假处理 1 个月组和假处理 2 个月组,每组 8 只,之前剩余 8 只新西兰兔设为空白对照组。

2. 动物模型的处理:处理 1 个月组的动物固定于板上,每日上午全身置于旋转磁场中心上方作用 2 h,连续治疗 1 个月,动物骨盆位置磁场强度为 $0.4 \sim 0.5 \text{ T}$;处理 2 个月组处理方法同处理 1 个月组,连续治疗 2 个月;假处理 1 个月组和假处理 2 个月以同法固定于磁场上方,每日 2 h,但未启动旋转磁场,假作用时间分别 1 个月和 2 个月。

在实验第 1 个月末,将处理 1 个月组、假处理 1 个月组和空白对照组中 4 只新西兰兔俯卧固定于木板,予麻醉下行 X 线平片检测、测量两髋侧关节腔压力及血液流变学指标后,处死动物取其两侧股骨头行组织学观察;在实验第 2 个月末,以同法检测处理 2 个月组、假处理 2 个月组和空白对照组剩余 4 只新西兰兔。

三、检测方法及指标

1. X 线平片检测:两侧股骨头密度及骨小梁结构变化。

2. 血液流变学和血脂测定:经兔耳缘静脉取血,采用北京世帝 R80-A 血液流变分析仪和迅达 XD-811 全自动多功能生化分析仪测定血浆黏稠度、甘油三脂、总胆固醇。

3. 关节腔压力测定:用 7 号针头穿入关节腔后,直接与脑压计(HaKo MV20B)连接,测得两侧关节腔内

的压力,取其均值。

4. 组织学观察:采用髋关节前外侧切口,取股骨头观察其外形、软骨有无塌陷,其后将股骨头沿冠状面剖开,以甲酸 10 ml、硝酸 3 ml、盐酸 5 ml、冰醋酸 2 ml、甲醛 10 ml、蒸馏水 70 ml 配制的脱钙液处理 3 d 后,流水冲洗、常规石蜡包埋切片后 HE 染色,在光镜下观察。

四、对重要非试验因素干扰的控制

动物实验处理前、后均处于安静温暖避强光的环境;各组动物实验处理、检测均安排在同一时间,由同一组工作人员完成,所接受的抓取、饲养环境或麻醉等外部刺激均相同;X 线片检测以及组织学观察分别由 3 位不知分组情况的骨科、病理科医生评判结果。

五、统计学分析

数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 SPSS 10.0 版统计软件,进行单因素方差分析(one-way ANOVA); $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、X 线片显示

空白组骨小梁完整、密度均匀,假处理 2 个月组股骨头内骨小梁变细、数量减少、变稀疏,散在断裂形成低密度区,假处理 2 个月组较假处理 1 个月组明显,显示病情在发展。处理 1 个月组骨小梁数量较假处理 1 个月组增加,密度略高,低密度区减少;处理 2 个月组好转更加明显,其骨小梁数量和密度显著优于假处理 2 个月组、也较假处理 1 个月组为佳,低密度区消失,但比较空白对照组其骨小梁数量略少、结构较稀疏(图 2)。

二、组织学观察

空白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,空骨陷窝率低;所有处理组及假处理组股骨头、颈间的松质骨区域均出现典型骨坏死灶,骨陷窝空虚或骨细胞核固缩、骨小梁松散、骨髓基质溶解、脂肪细胞直径增大,软骨下小血管部分内皮细胞变性并存在脂栓和纤维蛋白血栓。假处理 2 个月组小血管腔中发现脂肪包绕较小的纤维蛋白栓子形成较大混合性栓子,其骨小梁稀疏、断裂明显,脂肪细胞数量增多、直径增大;处理 2 个月组骨小梁结构趋于正常,骨小梁变粗、数量增加,骨陷窝空虚灶减少,脂肪细胞直径减小,与处理 1 个月组比较点状新生毛细血管及髓内小血管再生明显(图 2)。

三、髋关节腔压力测定结果

假处理 1 个月组和假处理 2 个月组与空白对照组比较, $P < 0.01$,显示未经磁场处理者髋关节腔压力异常,假处理 1 个月组比假处理 2 个月组更明显($P < 0.01$),表明股骨头坏死早期髋关节腔压力升高差异

有统计学意义;处理 1 个月组和处理 2 个月组与空白对照组比较, $P>0.05$,显示经磁场处理后髌关节腔压力下降至正常范围,其中处理 2 个月组较处理 1 个月组的关节腔压力下降更明显($P<0.01$),显示处理时间长者效果较佳;处理 1 个月组和处理 2 个月组与相应的假处理 1 个月组和假处理 2 个月组比较, $P<0.01$,显示经磁场处理后压力下降效果差异均有统计学意义(表 1)。

四、血液流变学及血脂结果

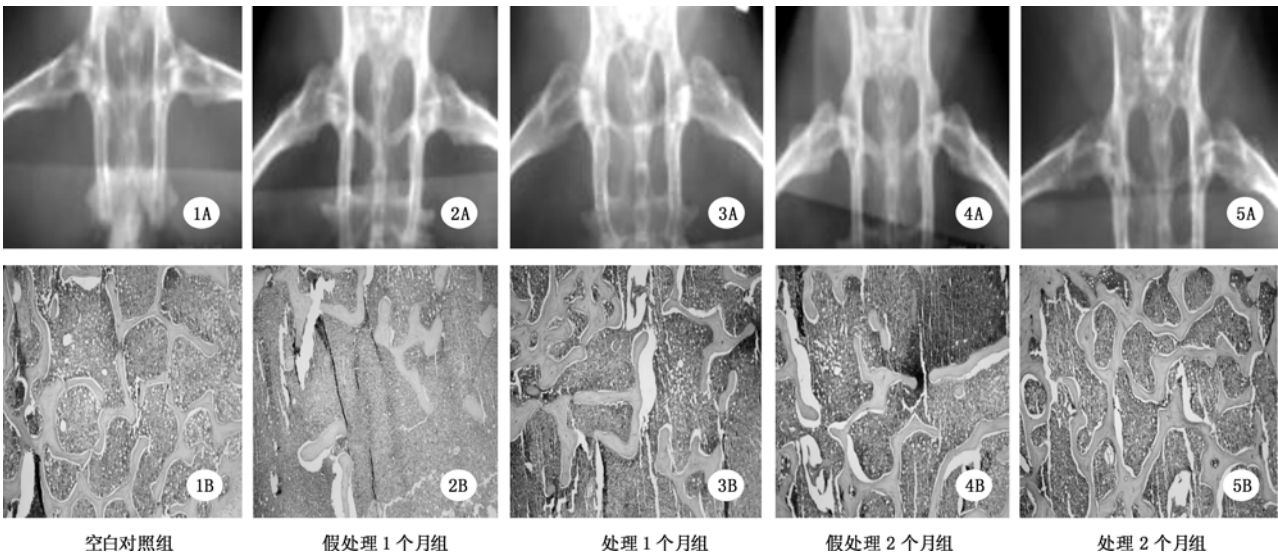
5 组新西兰兔血液流变学及血脂检测结果见表 1。

讨 论

据报道,给新西兰兔每周注射 2 次激素(7.5 mg/kg 体重),至第 4 周发现实验组股骨头软骨下区骨小梁内部分骨细胞核固缩、胞核较小、染色深,空缺骨陷窝数增多^[4],为了确保股骨头坏死动物模型制作成功,我们采用每周注射 2 次较大剂量醋酸泼尼松龙(12.25 mg/kg 体重),至实验第 9 周动物死亡率和并发症发生率为 20%,此时股骨头组织学切片以及 X 线片上出现典型的骨坏死表现:股骨头及股骨颈之间软骨下松质骨组织的小血管内出现明显脂栓和纤维

蛋白血栓,部分管腔内脂肪包绕较小的纤维蛋白栓子形成混合栓子进而阻塞管腔,空缺骨陷窝明显,胶原减少;X 线片显示软骨下区骨小梁稀疏,假处理 2 个月组比假处理 1 个月组骨小梁断裂现象更明显,说明激素性股骨头坏死造模成功、且病变呈进行性发展^[5],与临床上所见到的 II 期、III 期病变相似。由于人类双下肢承重特点,故 X 线片上在发病中期即出现股骨头塌陷,而四肢着地的动物模型则以股骨头骨质疏松表现为主。有研究证实激素使用时间延长,四肢行走动物股骨头坏死晚期也会出现塌陷^[6]。本研究未出现股骨头塌陷,缘于控制实验激素的使用时间,避免动物死亡率过高后影响后续的分组和实验观察。

以往研究认为股骨头坏死与高脂血症、血液流变学改变及关节囊内压增高有关,本实验中假处理 1 个月组各指标均显著高于空白对照组($P<0.01$),证实激素造成蛋白质及黏多糖的合成减少、骨基质形成障碍,引起血液流变特性恶化及高脂血症^[7],脂肪淤积于髓内血管腔内、形成脂肪栓子甚至混合栓子附在终末血管壁上,导致血管闭塞、酸性代谢物质局部积聚、血管通透性增加、血浆外渗,引起关节囊内压和骨内压升高(骨内间室综合征),同时骨髓细胞的脂肪化抑



注:图 1A~5A 为各组 X 线片图;图 1B~5B 为各组组织切片图

图 2 股骨头 X 线片和组织切片观察

表 1 各组髌关节腔压力、血液流变学及血脂检测结果($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	髌关节腔压力(kPa)	血浆黏稠度(mPa·s)	甘油三酯(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)
空白对照组	8	0.074±0.034	1.67±0.25	1.19±0.25	1.58±0.24
处理 1 个月组	8	0.081±0.037 [#]	1.58±0.37 [#]	1.04±0.51 [#]	1.50±0.28 [#]
假处理 1 个月组	8	0.235±0.042 [*]	2.90±0.33 [*]	2.24±0.29 [*]	2.62±0.21 [*]
处理 2 个月组	8	0.072±0.029 [△]	1.41±0.25 [△]	1.06±0.28 [△]	1.53±0.21 [△]
假处理 2 个月组	8	0.140±0.048 ^{*#}	1.71±0.41 [#]	1.68±0.43 [#]	2.01±0.15 ^{**}

注:与空白对照组比较,^{*} $P<0.01$;与假处理 1 个月组比较,[#] $P<0.01$;与假处理 2 个月组比较,[△] $P<0.01$

制了成骨倾向,从而加剧了骨内或滑膜缺血,最终导致股骨头坏死^[8]。假处理 2 个月组大部分指标无好转,提示骨坏死自身修复很困难。

本实验结果显示磁场不仅能够有效改善血液黏稠度以及高脂血症、阻止形成血栓和脂肪栓,点状新生毛细血管的出现显示磁场还能够刺激血管内皮增殖和分化、促进血管的生长和修复,股骨头坏死区域再血管化有利排除代谢产物、降低骨内压以及关节内压从而激活成骨、破骨细胞及成骨生长因子的活性,从多环节促进血管内皮和骨祖细胞向成骨细胞、软骨细胞分化,所以虽然处理 2 个月组和处理 1 个月组关节内压相近,但是 X 线片表现和组织学观察比后者好转更为明显。探索性临床试验结果也显示磁疗患者的股骨头周围软组织水肿最先缓解,进而很快疼痛感减退、坏死骨质的开始逐步修复,这可能是旋转磁场试验性治疗的主要机理。

磁场以其独特的安全性和穿透力,对人体骨组织产生特殊生物效应,其中以旋转磁场效果较好,对骨折、椎体融合、骨缺损以及骨质疏松等具有治疗作用^[9-11],这是激素性股骨头坏死患者尝试进行旋转磁场治疗的依据。我们对比多种性质和强度不同的磁场对生物体的影响后认为,以铽铁硼永磁体产生的恒定磁场为磁源的旋转磁场效应最佳^[12,15]。我们以目前获得专利并成型生产的仪器进行动物实验时维持磁场的强度和方式不变,观察时间和旋转频率这两项影响因素:由于磁场旋转能够产生磁力线切割运动刺激生物体内电流形成及影响带电粒子的运动,使单位时间的磁能量增加,而磁生物效应是和磁能量成正比,因此当本实验磁场以频率 8 ~ 10 Hz 旋转令磁通量增大后,处理 1 个月组和 2 个月组骨坏死实现令人鼓舞的修复效应,以处理 2 个月组更佳;目前我们所能够做到允许患者直接进入的旋转磁场强度为 0.4 ~ 1.0 T,其安全性已经获得认可^[13]。

旋转磁场对细胞的增殖和分化所起的作用是多方面的,骨髓基质细胞能够分化为成骨细胞、脂肪细胞、成纤维细胞及软骨细胞等多种细胞^[14],其不同分化阶段对磁场敏感性也有差别,经本实验我们推断同一条件的旋转磁场既能促进骨髓基质细胞向成骨细胞分化,同时又能抑制骨髓基质细胞成脂倾向,此矛盾就如同同一强度磁场对肿瘤细胞和正常培养细胞的生长抑制作用会出现显著差别一样^[15];近期研究表明旋转磁场能够影响转录 RNA 结合蛋白和翻译调控肿瘤蛋白,进而促进细胞增殖和分化^[16]。尽管旋转磁场在促进骨髓基质细胞成骨分化的同时还可抑制脂肪化的具体机

制及疗效与磁场处理因素之间的关联有待继续探索,但我们认为旋转磁场以适当的强度和频率能够刺激及维持骨髓基质细胞旺盛的增殖分化能力、避免成脂分化。

总之,旋转磁场能够降低血液黏稠度、改善高脂血症和关节囊内压、阻止或延缓股骨头坏死的发生和发展,促进血管再生和骨修复,有望成为激素性股骨头坏死的治疗新方法,值得进一步探索。

参 考 文 献

- 1 Miyanishi K, Yamamoto T, Irita T, et al. Effects of different corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology*, 2005, 44: 332-336.
- 2 Drescher W, Bunge MH, Weigert K, et al. Methylprednisolone enhances contraction of porcine femoral head epiphyseal arteries. *Clin Orthop Relat Res*, 2004, 423: 112-117.
- 3 Horiuchi H, Hashikura Y, Hira K, et al. Osteonecrosis of the femoral head in Japanese adults after liver transplantation: a preliminary report. *J Orthop Sci*, 2004, 9: 119-121.
- 4 贺西京, 毛履真, 王坤正, 等. 肾上腺皮质激素引起股骨头缺血坏死机制的实验研究. *中华骨科杂志*, 1992, 12: 440-442.
- 5 叶建红, 宁亚功, 李峻辉, 等. 兔股骨头缺血性坏死模型的血管改变和血液流变学研究. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26: 602-603.
- 6 Assouline-Dayan Y, Chang C, Greenspan A, et al. Pathogenesis and natural history of osteonecrosis. *Semin Arthritis Rheum*, 2002, 32: 94-124.
- 7 Tang S, Chan TM, Lui SL, et al. Risk factors for avascular bone necrosis after renal transplantation. *Transplant Proc*, 2000, 32: 1873-1875.
- 8 Burgener FA, Meyers SP, Tan RK, et al. Differentiation diagnosis in magnetic resonance imaging. New York: Thieme Stuttgart, 2002. 360-362.
- 9 Kotani H, Kawaguchi T, Shimoaka T, et al. Strong static magnetic field stimulates bone formation to a definite orientation in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res*, 2002, 17: 1814-1821.
- 10 张宇, 张小云. 旋转磁场对去卵巢大鼠骨钙含量及其相关因子的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26: 524-526.
- 11 张晓军, 张建保, 文峻, 等. 极低频电磁场对成骨细胞增殖与分化的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28: 79-81.
- 12 张小云, 罗振国, 何晓阳, 等. 从分子水平探索旋转恒定磁场对机体作用之机理. *中国科学 C 辑*, 2001, 31: 275-282.
- 13 Kangarlou A, Baudendistel KT, Heverhagen JT, et al. Clinical high-and ultrahigh-field MR and its interaction with biological systems. *Radiology*, 2004, 44: 19-30.
- 14 Heike T, Nakahata T. Stem cell plasticity in the hematopoietic system. *Int J Hematol*, 2004, 79: 7-14.
- 15 张小云, 张维德, 卢丽. 磁场的细胞效应研究. *基础医学与临床*, 1994, 14: 15-19.
- 16 李汉, 曾群力, 翁瑜, 等. 极低频磁场对人乳腺癌细胞蛋白质表达谱的影响. *中国科学 C 辑*, 2005, 35: 50-58.

(修回日期: 2006-09-29)

(本文编辑: 阮仕衡)