

## · 临床研究 ·

## 非创伤性股骨头坏死骨髓水肿与磁共振分期的关系及骨髓水肿发生机制的初步研究

周勇<sup>1</sup>, 徐祖健<sup>2</sup>, 柴天朋<sup>3</sup>, 任菲菲<sup>1</sup>, 杨茂清<sup>1</sup>, 雷孝勇<sup>2</sup>

(1. 四川省成都市双流区中医医院, 四川 成都 610200; 2. 西南医科大学附属中医医院, 四川 泸州 646000; 3. 四川省新津县中医医院, 四川 新津 611400)

**摘要** 目的:初步探讨非创伤性股骨头坏死(non-traumatic osteonecrosis of femoral head, NONFH)骨髓水肿与磁共振分期的关系及骨髓水肿的发生机制。方法:分析40例接受单侧人工髋关节置换术的NONFH患者的术前髋关节磁共振影像,对比不同的股骨头坏死国际骨循环研究会(association research circulation osseous, ARCO)分期时骨髓水肿的发生情况,并根据有无骨髓水肿将40例患者分为2组。将从单侧人工髋关节置换术中取得的40个股骨头沿冠状面自正中用摆锯剖开,在交界区凿取1块约1.0 cm×1.0 cm×0.4 cm的骨块,制成石蜡切片,采用免疫组织化学法测定血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)的表达情况,并做组间对比。结果:①不同ARCO分期骨髓水肿的发生情况。ARCOⅢ期骨髓水肿25例、无骨髓水肿4例,ARCOⅣ期骨髓水肿3例、无骨髓水肿8例,ARCOⅢ期骨髓水肿发生率高于ARCOⅣ期( $\chi^2=10.533, P=0.000$ );ARCOⅢ期轻度骨髓水肿3例、重度骨髓水肿22例,ARCOⅣ期轻度骨髓水肿1例、重度骨髓水肿2例,ARCOⅢ期骨髓水肿严重程度与ARCOⅣ期比较,差异无统计学意义( $P=0.382$ )。②VEGF和BMP-2的表达情况。骨髓水肿组VEGF和BMP-2的阳性面积百分比均高于无骨髓水肿组[(21.04±3.87)%, (15.25±3.36)%,  $t=4.490, P=0.000$ ];(19.04±4.56)%, (13.67±2.77)%,  $t=3.780, P=0.001$ ], VEGF和BMP-2的平均灰度均低于无骨髓水肿组[29.93±4.26, 36.33±2.96,  $t=4.730, P=0.000$ ; 39.43±4.59, 45.50±2.94,  $t=4.210, P=0.001$ ]。结论:NONFH骨髓水肿易发生于ARCOⅢ期,其发生与VEGF和BMP-2的表达有关。骨髓水肿可能是NONFH病变过程中的一种继发反应和局部组织自我修复增强的表现,但仍需今后进一步研究证实。

**关键词** 股骨头坏死;骨髓;水肿;血管内皮生长因子类;骨形态发生蛋白2;免疫组织化学

## A pilot study on relationship between bone marrow edema and magnetic resonance staging and pathogenesis of bone marrow edema in patients with non-traumatic osteonecrosis of femoral head

ZHOU Yong<sup>1</sup>, XU Zujian<sup>2</sup>, CHAI Tianpeng<sup>3</sup>, REN Feifei<sup>1</sup>, YANG Maoqing<sup>1</sup>, LEI Xiaoyong<sup>2</sup>

1. Shuangliu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610200, Sichuan, China

2. The TCM Hospital Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China

3. Xinjin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjin 611400, Sichuan, China

**ABSTRACT Objective:** To explore the relationship between bone marrow edema (BME) and magnetic resonance (MR) staging and the pathogenesis of BME in patients with non-traumatic osteonecrosis of femoral head (NONFH). **Methods:** The preoperative hip magnetic resonance images (MRI) of 40 patients who received unilateral artificial hip replacement for treatment of NONFH were analyzed, and the incidence rate of BME were compared between different clinical stages of femur head necrosis issued by association research circulation osseous (ARCO). The patients were divided into BME group and non-BME group. Forty necrotic femoral heads that achieved via unilateral artificial hip replacements were splitted along the median coronal plane by using swing saw, and a 1.0×1.0×0.4-cm specimen was fetched from the junctional zone of each femoral head and was made into paraffin sections. Then the expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) were detected by using immunohistochemical method and were compared between the 2 groups. **Results:** Twenty-five patients with BME and 4 patients without BME were categorized as ARCO phaseⅢ, while 3 patients with

BME and 8 patients without BME were categorized as ARCO phaseⅣ. The incidence rate of BME was higher in ARCO phaseⅢ compared to ARCO phaseⅣ( $\chi^2=10.533, P=0.000$ ). Mild BME(3) and severe BME(22) were found in ARCO phaseⅢ while mild BME(1) and severe BME(2) were found in ARCO phaseⅣ, and there was no statistical difference in severity of BME between ARCO phaseⅢ and phaseⅣ( $P=0.382$ ). The positive area percentages of VEGF and BMP-2 were higher in BME group compared to non-BME group( $21.04 \pm 3.87$  vs  $15.25 \pm 3.36\%$ ,  $t=4.490, P=0.000$ ;  $19.04 \pm 4.56$  vs  $13.67 \pm 2.77\%$ ,  $t=3.780, P=0.001$ ), and the average gray values of VEGF and BMP-2 were lower in BME group compared to non-BME group( $29.93 \pm 4.26$  vs  $36.33 \pm 2.96$ ,  $t=4.730, P=0.000$ ;  $39.43 \pm 4.59$ ,  $45.50 \pm 2.94$ ,  $t=4.210, P=0.001$ ). **Conclusion:** BME occurs more frequently in ARCO phaseⅢ in patients with NONFH and its occurrence may be related to the expression of VEGF and BMP-2. BME may be a secondary response and manifestations of self-repair enhancement in local tissues in the pathological process of NONFH. However, further study is needed to verify the deduction in the future.

**Key words** femur head necrosis; bone marrow; edema; vascular endothelial growth factors; bone morphogenetic protein 2; immunohistochemistry

股骨头坏死是骨科领域较为常见且难以治愈的一种疾病<sup>[1]</sup>。目前学术界对其病因和发病机制尚未达成共识,有关其病因、病机学说主要包括脂肪代谢紊乱、血管内凝血、骨髓内压力升高、骨质疏松及二次撞击等<sup>[2-3]</sup>。临床上治疗早中期股骨头坏死的方法主要有髓芯减压、病灶减压植骨、网球支架置入、钎棒支撑、介入、药物及各种物理治疗等<sup>[4-8]</sup>,但其疗效不一。人工髋关节置换术的适应证一般是国际骨循环研究会(association research circulation osseous, ARCO)Ⅳ期股骨头坏死。ARCOⅢ期股骨头坏死患者往往是因为疼痛明显才考虑换关节,而骨髓水肿(bone marrow edema, BME)是其疼痛的最主要原因。本研究主要探讨非创伤性股骨头坏死(non-traumatic osteonecrosis of femoral head, NONFH) BME 与磁共振分期的关系及与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)表达的关系,以期为进一步研究 NONFH 的发病机制及今后的临床防治提供新的思路与实验依据。

1 材料与仪器

1.1 实验标本 成人股骨头 40 个,来源于 2011 年 12 月至 2013 年 12 月在西南医科大学附属中医医院接受单侧人工髋关节置换术的 40 例 NONFH 住院患者(所有病例均为作者在西南医科大学附属中医医院读研究生期间收集,实验方案经医院医学伦理委员会审核通过)。男 31 例,女 9 例。年龄 24~74 岁,中位数 50 岁。酒精性坏死 29 例,激素性坏死 3 例,特发性坏死 8 例。按照股骨头坏死的 ARCO 分期<sup>[9]</sup>:Ⅲ期 29 例、Ⅳ期 11 例。病程 14 d 至 24 个月,中位数 6

个月。

1.2 实验试剂 兔抗人 VEGF 抗体、兔抗人 BMP-2 抗体、链霉亲和素-生物素复合物(strept avidin-biotin complex, SABC)免疫组化染色试剂盒、二氨基联苯胺显色试剂盒,均由武汉博士德生物工程公司生产。

1.3 实验仪器 Histocentre 3 石蜡包埋机(Shandon 公司)、PHY-Ⅲ型病理组织冷冻台(常州中威电子仪器厂)、常规切片染色机(Gomini 公司)、Eclipse 高倍光学显微镜(Nikon 公司)、自动数码图像分析仪(北京麦思奇公司)。

2 方法

2.1 磁共振图片分析及实验分组 分析 40 例患者的术前双髋磁共振影像(magnetic resonance imaging, MRI)资料,对比不同 ARCO 分期时 BME 的发生情况,并根据有无 BME 将 40 例患者分为 2 组。2 组患者基线资料比较,组间差异无统计学意义,具有可比性(表 1)。

表 1 2 组 NONFH 患者基线资料比较 例

组别	例数	性别(例)		年龄(岁)	病程(月)
		男	女		
BME 组	28	20	8	48.39 ± 11.70	8.30 ± 4.97
无 BME 组	12	11	1	52.50 ± 13.65	11.33 ± 5.97
检验统计量		$\chi^2=0.983$		$t=0.968$	$t=1.663$
P 值		0.321		0.339	0.105

2.2 股骨头标本的制作 将 2 组患者术中取出的股骨头沿冠状面自正中用摆锯剖开,在交界区(即股骨头标本所见的硬化带周边)凿取 1 块约 1.0 cm × 1.0 cm × 0.4 cm 的骨块并做好标记和分组。将所取骨块置于 30% 盐酸福尔马林液(浓盐酸 30 mL、40% 甲醛 5 mL,加蒸馏水至 100 mL)中脱钙 5~10 d。待

骨组织脱钙完全后(以针刺无阻力为准),流水冲洗 4 h 以上,常规石蜡包埋、切片,切片厚度为 5~6 μm。

**2.3 VEGF 和 BMP-2 表达的免疫组化检测** 按照石蜡切片免疫组织化学 SABC 法操作规程进行,以棕褐色反应产物代表抗原的定位,运用 IMAGE-EX 自动图像分析系统对切片进行观察,以 Image-Pro Plus 5.1 图像分析软件及 Smartscape 2002 生物显微图像分析软件测定整个视野的平均灰度值和阳性染色面积百分比,取它们的算术平均数作为每张切片的平均灰度值和阳性面积百分比。平均灰度值表示单位面积内 VEGF 或 BMP-2 的含量(即表达强度),所得数据与二者的表达强弱成反比;阳性面积百分比表示 VEGF 或 BMP-2 面积分布的大小,所得数据与二者的表达强弱成正比。

**2.4 数据统计分析** 采用 SPSS18.0 统计软件对所得数据进行统计学分析,2 组患者性别、BME 分级的

组间比较采用校正四格表  $\chi^2$  检验,BME 程度的组间比较采用确切概率法,年龄、病程的组间比较和 VEGF、BMP-2 阳性面积百分比及平均灰度的组间比较采用  $t$  检验,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

3 结 果

**3.1 不同 ARCO 分期 BME 的发生情况** 股骨上段无水肿<sup>[10]</sup>(0 级)12 例[图 1(1)],水肿局限于股骨头区(1 级)4 例[图 1(2)]、局限于股骨头及股骨颈(2 级)11 例[图 1(2)]、自股骨头延伸至股骨大转子或小转子(3 级)13 例[图 1(3)];ARCOⅢ期 BME 发生率高于 ARCOⅣ期(表 2)。在参考文献[10]分级的基础上,我们进一步将 BME 分为轻度、重度,1 级 BME 为轻度 4 例,2 级、3 级 BME 为重度 24 例;ARCOⅢ期 BME 严重程度与 ARCOⅣ期比较,差异无统计学意义(表 2)。



图 1 NONFH 骨髓水肿分级 MRI 片

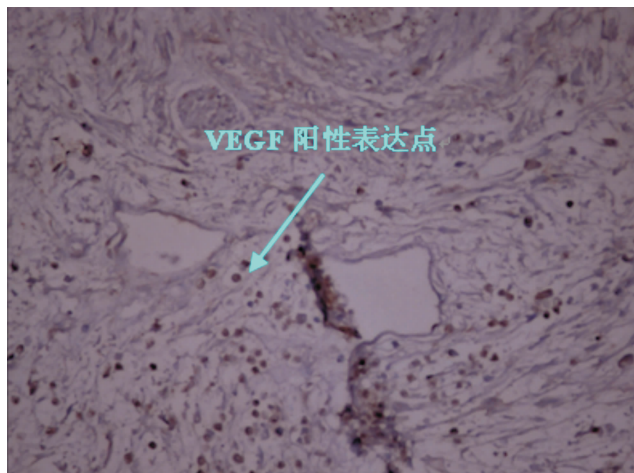
表 2 NONFH 患者不同 ARCO 分期 BME 的发生情况 例

ARCO 分期	例数	BME 分级 <sup>[10]</sup>				按 BME 分级分组		BME 程度	
		0 级	1 级	2 级	3 级	BME 组	无 BME 组	轻度	重度
Ⅲ期	29	4	3	9	13	25	4	3	22
Ⅳ期	11	8	1	2	0	3	8	1	2
$\chi^2$ 值		10.533							
$P$ 值		0.000							

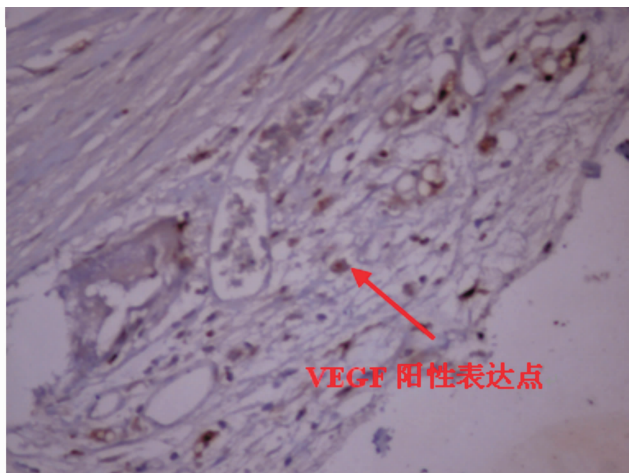
**3.2 VEGF 和 BMP-2 的表达情况** BME 组 VEGF 和 BMP-2 的平均灰度均低于无 BME 组(表和 BMP-2 的阳性面积百分比均高于无 BME 组,3、图 2、图 3)。

表 3 NONFH 标本 VEGF 和 BMP-2 的表达情况  $\bar{x} \pm s$

组别	样本量(个)	VEGF 表达情况		BMP-2 表达情况	
		阳性面积百分比	平均灰度	阳性面积百分比	平均灰度
BME 组	28	(21.04 ± 3.87) %	29.93 ± 4.26	(19.04 ± 4.56) %	39.43 ± 4.59
无 BME 组	12	(15.25 ± 3.36) %	36.33 ± 2.96	(13.67 ± 2.77) %	45.50 ± 2.94
$t$ 值		4.490	4.730	3.780	4.210
$P$ 值		0.000	0.000	0.001	0.001

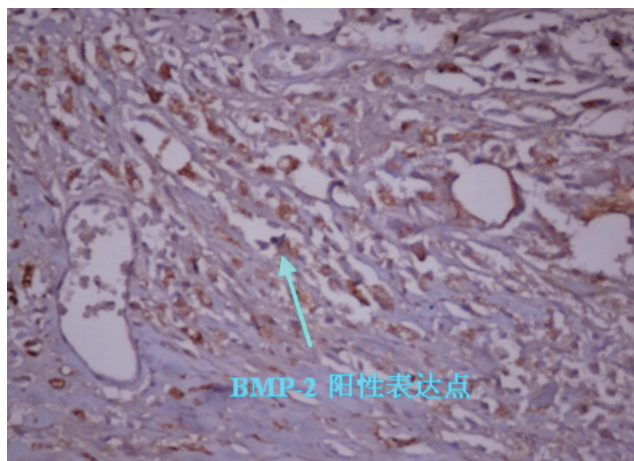


(1)BME组

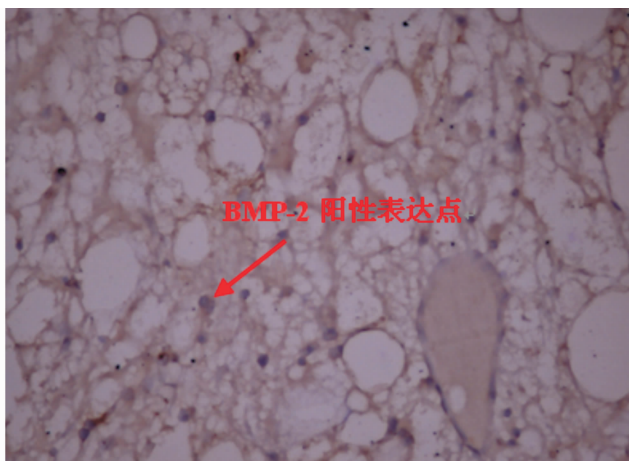


(2)无BME组

图2 NONFH 标本 VEGF 表达情况



(1)BME组



(2)无BME组

图3 NONFH 标本 BMP-2 表达情况

## 4 讨论

BME 是以骨基质水肿、纤维组织增生及炎性细胞浸润为主要病理表现的一种征象,其主要是由于病变组织血管增多、灌注过度、水的外渗作用等造成<sup>[11]</sup>,在骨感染及肿瘤、应力性骨折、一过性骨质疏松等疾病中均可以见到。BME 的组织细胞学变化及其在骨坏死病理机制中的作用目前尚不清楚。Koo 等<sup>[12]</sup>研究认为,BME 并非是由于缺血本身引起,属于缺血继发周围毛细血管扩张导致渗出增加所致。股骨头局部的坏死与修复贯穿于整个病程,然而坏死与修复的作用强度并不一致。股骨头坏死早期,疾病处于发展上升阶段,修复弱于坏死,由此造成坏死加重;而随着坏死加重,人体自身修复作用不断加强,出现修复的高峰期。我们的研究结果显示,ARCO Ⅲ期 BME 发生率明显高于 ARCO Ⅳ期,而在 BME 严重程度方面,暂未发现 ARCO Ⅲ期与 ARCO Ⅳ期之间有差异;BME 组 VEGF 和 BMP-2 的表达强度均高于无

BME 组,这说明 BME 的发生可能与 VEGF 和 BMP-2 的表达有关,由此可推测 BME 可能是 NONFH 过程中的一种继发反应和局部组织自我修复增强的表现,对股骨头坏死预后产生重要的作用。这一结果提示我们,在临床上可以通过药物或手术等方式缩短坏死发展上升的过程,尽快促进修复高峰期的到来并维持修复高峰期,最后使修复与坏死处于稳定的状态。

股骨头坏死发病本质在于血供中断或受损,导致骨细胞凋亡<sup>[13]</sup>。研究发现,VEGF 可显著增加成骨细胞数量,从而促进骨组织及骨样组织形成<sup>[14]</sup>。BMP-2 可通过诱导间充质细胞分化为成骨细胞和成软骨细胞发挥成骨作用,具有促进坏死骨组织和关节软骨修复的作用<sup>[15]</sup>。李敏等<sup>[16]</sup>研究结果表明,BME 与 VEGF 等细胞因子有密切的关系。我们先前的实验研究<sup>[17]</sup>也表明 VEGF 和 BMP-2 在 NONFH 交界区表达强度高于坏死区和正常区,交界区可能是影响股骨头坏死预后的关键区域。因此,进一步研究 VEGF

和 BMP-2 表达与股骨头坏死程度的关联性,具有重要的意义。由于本实验所得结论是基于病理检查,且选择的标本均为中晚期坏死股骨头,临床上能否使用 MRI 检查,以 VEGF、BMP-2 为中介通过 MRI 信号的改变来推测股骨头坏死的病理改变可能是未来研究的方向。

5 参考文献

[1] 中华医学会骨科分会显微修复学组,中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组. 成人股骨头坏死诊疗标准专家共识(2012 年版)[J]. 中华骨科杂志,2012,32(6):606-610.

[2] Mont MA, Etienne G, Ragland PS. Outcome of nonvascularized bone grafting for osteonecrosis of the femoral head[J]. Clin Orthop Relat Res, 2003, (417):84-92.

[3] Fuchs B, Knothe U, Hertel R, et al. Femoral osteotomy and iliac graft vascularization for femoral head osteonecrosis[J]. Clin Orthop Relat Res, 2003, 412(412):84-93.

[4] 张超,姚晨,沈计荣. 微创髓芯减压打压支撑植骨术结合补肾活血汤口服治疗 ARCO II、III 期股骨头坏死的近期疗效观察[J]. 中医正骨, 2016, 28(3):20-23.

[5] 姚运峰,康鹏德,吕浩,等. 钻孔减压植骨和股方肌骨瓣植入治疗早期成人股骨头坏死的疗效比较[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2014, 29(12):1193-1195.

[6] 周勇,丰凡翔,斯光宴,等. 介入联合中药保髋治疗非创伤性股骨头坏死的研究[J]. 泸州医学院学报, 2014, 37(4):407-410.

[7] 何伟,陈镇秋,张庆文. 补肾活血中药治疗股骨头坏死临床研究[J]. 新中医, 2012, 44(4):50-51.

[8] 曹利敏,方琴,顾惠珍,等. 高压氧治疗股骨头坏死的疗效观察[J]. 中国现代医生, 2013, 51(8):141-142.

[9] Gardeniers JW. ARCO intronational stage of osteonecrosis[J]. ARCO Newsletter, 1993, 5:79-82.

[10] 赵培荣,庄奇新,乔瑞华,等. 股骨头缺血坏死骨髓水肿的 MRI 研究[J]. 实用放射学杂志, 2006, 22(7):835-837.

[11] 陈军,瞿玉兴. 骨髓水肿的现代研究[J]. 长春中医药大学学报, 2010, 26(2):255-256.

[12] Koo KH, Ahn IO, Song HR, et al. Increased perfusion of the femoral head in transient bone marrow edema syndrome[J]. Clin Orthop Relat Res, 2002, 402(402):171-175.

[13] Battaglia Parodi M, Iacono P, Verbraak FD, et al. Antivascular endothelial growth factors for inflammatory chorioretinal disorders[J]. Dev Ophthalmol, 2010, 46:84-95.

[14] Hiltunen MO, Ruuskanen M, Huuskonen J, et al. Adenovirus-mediated VEGF-A gene transfer induces bone formation in vivo[J]. FASEB J, 2003, 17(9):1147-1149.

[15] 许心弦,温宏,吕杨训,等. 信号传导及转录激活因子 1 诱导骨髓细胞凋亡在激素性股骨头坏死过程中的作用[J]. 中医正骨, 2014, 26(2):3-7.

[16] 李敏,吴俊华,吴晓惠,等. 伴骨髓水肿的膝骨关节炎与血管内皮因子、缺氧诱导因子 1 $\alpha$  的相关性研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(20):3696-3699.

[17] 周勇,任菲菲,丰凡翔,等. 血管内皮生长因子和骨形态发生蛋白 2 在非创伤性股骨头坏死不同区域的表达[J]. 中医正骨, 2015, 27(8):7-10.

(2016-04-28 收稿 2016-05-24 修回)

《中医正骨》杂志 2014 年重点专栏目录(一)

2014 年第 1 期——骨关节炎专栏

1 膝关节骨性关节炎的分期治疗  
(述评专家:辽宁中医药大学附属医院 侯德才教授)

2 柔肝和化痰中药复方对膝骨关节炎患者关节功能及关节液软骨寡聚基质蛋白浓度的影响

3 增液润节汤和美洛昔康片治疗膝骨关节炎的对比研究

4 中药治疗膝骨关节炎临床疗效和安全性的系统评价

5 小针刀治疗膝骨关节炎的研究进展

6 筋病理理论指导下中医综合疗法治疗膝骨关节炎

参考文献著录格式

[1] 侯德才. 膝关节骨性关节炎的分期治疗[J]. 中医正骨,

2014, 26(1):3-5.

[2] 王学宗,郑昱新,曹月龙,等. 柔肝和化痰中药复方对膝骨关节炎患者关节功能及关节液软骨寡聚基质蛋白浓度的影响[J]. 中医正骨, 2014, 26(1):17-20.

[3] 孙艳,陈立忠,王海燕,等. 增液润节汤和美洛昔康片治疗膝骨关节炎的对比研究[J]. 中医正骨, 2014, 26(1):21-23.

[4] 唐萌芽,翁祝承,邵利芳. 中药治疗膝骨关节炎临床疗效和安全性的系统评价[J]. 中医正骨, 2014, 26(1):43-48.

[5] 吕帅洁,孙奇,杜文喜,等. 小针刀治疗膝骨关节炎的研究进展[J]. 中医正骨, 2014, 26(1):49-51.

[6] 高文香,郝军. 筋病理理论指导下中医综合疗法治疗膝骨关节炎[J]. 中医正骨, 2014, 26(1):60-62.