VEGF 与 b-FGF 在不同病因缺血性坏死股骨头中的表达及意义

巫 娟,张 峰,郭 莉

(四川省骨科医院病理科,四川 成都 610041)

摘 要:目的 研究 VEGF 和 b-FGF 在不同病因股骨头缺血性坏死中的表达及意义,为临床针对不同病因 ANFH 进行个性化防治提供理论依据。**方法** 选择四川省骨科医院 2015 年 1 月~2018 年 12 月因股骨头缺血性坏死行人工全髋关节置换术的股骨头为标本 30 例设为实验组,并按致病原因分为激素组、酒精组、特发组各 10 例,另选取股骨颈骨折置换的股骨头 10 例做为对照组,分别观察其 VEGF 和 b-FGF 的表达情况。**结果** 各实验组及对照组均可见 VEGF 及 b-FGF 的阳性表达。实验组阳性面积百分比均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),实验组间阳性面积百分比比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 股骨头缺血性坏死中 VEGF 与 bFGF 表达降低,提示细胞因子与股骨头坏死的修复有密切联系,且不同原因 ANFH 其致病机制可能相似。

关键词: 股骨头坏死;血管内皮细胞生长因子;碱性成纤维细胞因子

中图分类号: R684 **文献标识码:** A DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2018.20.022

文章编号: 1006-1959(2018)20-0078-04

Expression and Significance of VEGF and b-FGF in Avascular Necrosis of Femoral Head with Different Etiology

WU Juan,ZHANG Feng,GUO Li

(Department of Pathology,Sichuan Orthopaedic Hospital,Chengdu 610041,Sichuan,China)

Abstract:Objective To study the expression and significance of VEGF and b-FGF in avascular necrosis of femoral head with different etiology,and to provide a theoretical basis for clinical prevention and treatment of different causes of ANFH. **Methods** A total of 30 cases of femoral head with artificial total hip arthroplasty due to avascular necrosis of the femoral head were selected from the experimental group of Sichuan Provincial Orthopaedic Hospital from January 2015 to December 2018.The patients were divided into hormone group,alcohol group and idiopathic group (n=10)according to the causes of the disease,and 10 cases of femoral head replacement for femoral neck fracture were selected as control group.The expression of VEGF and b-FGF were observed separately. **Results** The positive expressions of VEGF and b-FGF were observed in all experimental groups and control groups.The percentage of positive area in the experimental group was lower than that in the control group,the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the percentage of positive area between the experimental groups ($P>0.05$).**Conclusion** The expression of VEGF and bFGF in avascular necrosis of the femoral head is decreased,suggesting that cytokines are closely related to the repair of femoral head necrosis.The pathogenesis of ANFH may be similar for different reasons.

Key words: Femoral head necrosis;Vascular endothelial growth factor;Basic fibroblast factor

股骨头缺血性坏死(avascular necrosis femoral head,ANFH)是由不同病因导致血液供应被中断,引起骨组织变性、坏死,继而股骨头塌陷,最终引起髋关节退行性破坏的一种疾病[1]。常用的治疗方式包括药物治疗、髓内减压、旋转截骨、游离骨移植等,但远期效果均不理想,至晚期多会出现关节面塌陷而需要行人工全髋关节置换术[2],其术后的并发症和远期效果仍难预料。国内外一直致力于 ANFH 的发病机制研究,其中研究比较深入且广泛的是细胞因子。本文选取血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF) 和碱性成纤维细胞因子(basic fibroblast growth factor,bFGF)研究其在不同原因 ANFH 的表达及其意义,为临床针对不同病因股骨头坏死进行个性化防治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集四川省骨科医院 2015 年 1 月~2018 年 12 月因股骨头缺血性坏死行人工全髋关节置换术的股骨头为标本 30 例作为实验组,按照日本厚生省骨坏死研究会(Japanese Investigation Committee, JIC)和 Mont 提出的诊断标准。按致病原因分为激素组、酒精组、特发组各 10 例,另收集新鲜股骨颈骨折行髋关节置换的股骨头标本 10 例做为对照组。激素组男 6 例,女 4 例,年龄 34~70 岁,平均年龄(48.53±3.85)岁;酒精组男 5 例,女 5 例,年龄

作者简介:巫娟(1987.10-),女,四川成都人,本科,住院医师,研究方向:骨关节肿瘤及瘤样病变

40~73 岁,平均年龄(50.32±5.17)岁;特发组男 7 例,女 3 例,年龄 38~69 岁,平均年龄(47.84±4.78)岁;股骨颈骨折组男 6 例,女 4 例,年龄 32~75 岁,平均年龄(51.50±5.69)岁。各组一般资料比较,差异均无统计学意义(P>0.05),有可比性。

1.2 方法 将各实验组股骨头分别自冠状面对半剖开,选取肉眼观坏死区一约 10 mm×10 mm×3 mm 的骨块,对照组分别选取相应部位置于 10%福尔马林溶液固定,10% EDTATris-HCl(pH7.4)缓冲液脱钙,HE 染色,光镜观察。免疫组化染色采用 EnVision 两步法。VEGF(规格:1.5 ml,产品编号:RAB-0157)和 b-FGF(规格:1.5 ml,产品编号:RAB-0305)均购于福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 统计学方法 实验所得数据使用统计软件 SPSS 17.0 进行统计学上分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,先进行方差齐性检验,方差齐者,组间的比较采用单因素方差分析(ANOVA)进行统计分析,两两比较采用 ANOVA 中的 Student Neuman-Keuls 检验。P<0.05 为差异有统计学意义,P<0.01 为统计学意义显著。

2 结果

2.1 巨检 各实验组肉眼观相似,软骨面凹凸不平,与软骨下骨层剥脱,分离,剖面可见明显坏死区,呈浅黄色,油腻感,坏死区多位于股骨头上方负重区。对照组软骨面光滑完整,与其下骨组织紧密连接,整个剖面颜色质地均一,偶伴出血。

2.2 镜检 各实验组镜下病理形态大致相似,软骨细胞排列不整齐,基质变性,软骨下骨小梁稀疏、破碎、可见死骨片(图 1),骨细胞明显减少,较多空骨陷窝,骨小梁周围骨髓脂肪组织坏死,部分坏死区周围可见增生的纤维肉芽组织(图 2)。股骨颈骨折组软骨细胞排列均一,骨小梁完整,周围骨髓组织形态未见异常(图 3)。

2.3 免疫组化 各实验组及对照组均可见 VEGF 及 b-FGF 的阳性表达,阳性部位均定位于胞质。VEGF 主要在血管内皮细胞、纤维细胞及间质细胞中表达(图 4)。B-FGF 主要在纤维细胞、间质细胞、血管内皮细胞、软骨细胞、成骨细胞表达(图 5)。各实验组阳性面积百分比均低于对照组,统计学意义显著(P<0.01),实验组间阳性面积百分比比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表 1。

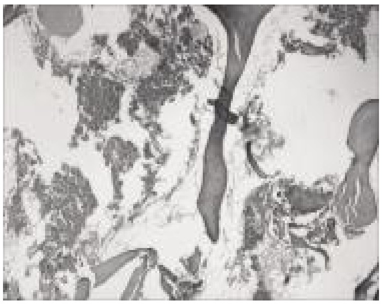

图 1 骨小梁稀疏、破碎、可见死骨片,周围骨髓脂肪组织坏死(HE 染色 ×40)

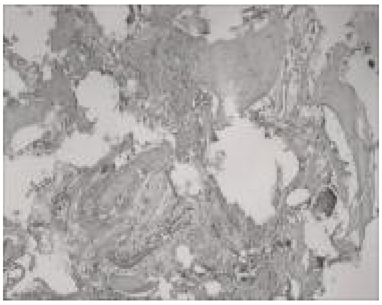

图 2 部分坏死区周围可见增生的纤维肉芽组织(HE 染色 ×40)

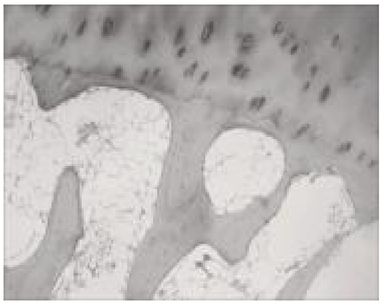

图 3 软骨细胞排列均一,骨小梁完整(HE 染色 ×40)

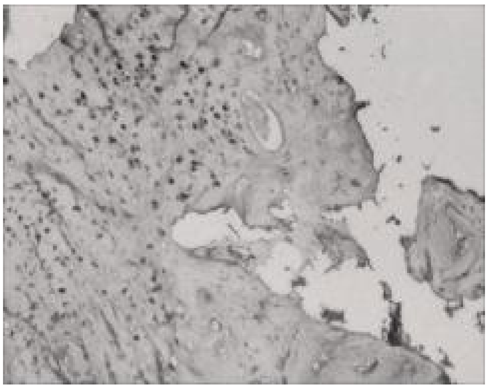

图 4 VEGF 在纤维细胞及间质细胞中表达(免疫组化染色 ×100)

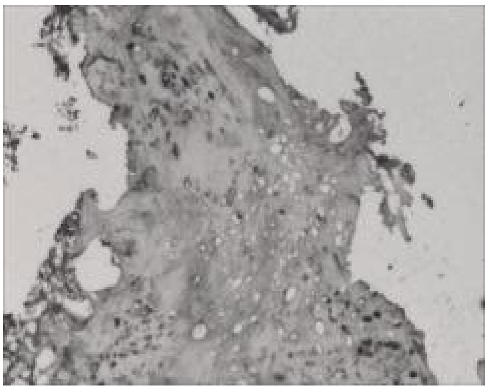

图 5 bFGF 在纤维细胞及间质细胞中表达(免疫组化染色 ×100)

表 1 各组 VEGF 和 b-FGF 的阳性面积百分比($\bar{x}\pm s$)

组别	n	VEGF 阳性面积百分比	b-FGF 阳性面积百分比
股骨颈骨折组	10	21.57±1.25	16.53±1.47
激素组	10	8.39±0.74	7.29±0.73
酒精组	10	8.31±0.72	7.32±0.89
特发组	10	7.93±0.93	7.12±0.91
F		512	199.9
P		0.000	0.000

注:股骨颈骨折组与激素组、酒精组、特发组各组比较,P<0.001;激素组、酒精组、特发组三组间比较,P>0.05

3 讨论

ANFH 的发生与多种因素有关, 例如创伤、激素、酗酒等,但其发病机制至今尚未完全阐明[3],目前现有的临床研究中利用细胞因子促进 ANFH 的修复取得了较好的效果,虽然国内外对于 ANFH 相关的各种细胞因子的研究较多[4],但大多取材于动物实验,而动物实验造模的坏死股骨头其致病因素单一,其结果并不能完全反应人股骨头坏死的情况。本研究通过对细胞因子在人股骨头坏死各个阶段的变化的研究,为预防和治疗该疾病提供了一定的理论基础。

VEGF 是最有效的血管生成因子, 可以刺激血管生成和促进骨形成及其改建。胡志明等[5]建立兔股骨头坏死模型,通过髓芯穿刺将 rhVEGF121 脂质体作用股骨头,发现能够有效刺激血管生成,改善血供。钟刚等[6]将 PBI AST49-mVEGF 基因转染成骨细胞,发现能促进成骨细胞的增值及活性的增强。Kim HK 等[7]研究证实增加 VEGF 的表达有助于骺软骨的修复。由此可见,VEGF 可从多角度多环节促进骨坏死的修复。

b-FGF 是目前已知最强的促细胞生长因子,能促进成骨细胞和软骨细胞的分化、增值,还能刺激微血管的生成。靳松[8]等通过研究 b-FGF 和 b-FGF/BMP 对兔股骨头坏死实验模型修复的影响,结果显示 b-FGF 既可促进成骨细胞增殖,又可促进毛细血管生成和促进成纤维细胞生长,明显快于自身修复作用。 Moursi AM[9]等研究显示 b-FGF 能够促进骨细胞的粘附作用和保持其正常的细胞形态,同时能诱导成骨细胞的增值。b-FGF 能刺激毛细血管内皮细胞迁移和增值从而形成毛细血管芽,使毛细血管长入坏死区,为骨组织提供营养,这对股骨头坏死的修复有重要意义。

股骨头坏死发生后其自身即开始修复,但这种修复极其缓慢导致血管生成和骨形成速度慢于骨小梁吸收速度,因此靠自身不可能完成修复,采取措施促进血管再生及新骨形成,是治疗 ANFH 的关键[10],而此过程需要多种细胞因子参与, 且各种细胞因子的作用有连续性和相关性[4],因此,细胞因子可能需要在一定浓度的其他因子存在的前提下才能充分发挥其生物学效应。

ANFH 的理想治疗时间应在坏死早期阶段[11],目的是阻止骨组织继续坏死,并促进骨再生。本实验通过对不同病因引起坏死的股骨头组织中 VEGF 与 b-FGF 的表达强度进行对比研究,结果发现,无论何种因素所致的股骨头坏死,其 VEGF 与 b-FGF 的表达强度均低于股骨颈骨折组。由此可见,激素、酒精及其他致病因素均可能抑制 VEGF 与 b-FGF 的表达。而细胞因子的表达与血管生成和骨形成有密切联系,若能在股骨头坏死早期去除致病因素,且通过基因转染等技术增加细胞因子的表达浓度, 将有助于股骨头的修复[12]。本实验各组 VEGF 与 b-FGF 的表达未见明显差异, 这与国内外大多数实验结果一致[4,7,8],可以推断各种不同原因 ANFH 其致病机制可能相似,其具体机制还有待进一步研究。

综上所述,应用细胞因子治疗 ANFH 仍具有广阔的前景。虽然这方面的临床应用还很少且存在较多问题[13],例如细胞因子提取数量不足、细胞因子最适宜的浓度及载体以及物种及个体间的差异等,但相信随着对细胞因子研究的不断深入, 将进一步认识其生物学功能和调节机制, 从而有望使其成为临床治疗早期 ANFH 的有效方法之一。

参考文献:

[1]谭桢.成人股骨头缺血性坏死的研究进展[J].中国临床新医学,2012,5(10):982-986.

[2]韩献波,付保恩.保留股骨头手术治疗中年股骨头缺血性坏死患者的临床效果分析[J].河南医学研究,2018,27(1):91-92.

(下转第 85 页)

(上接第 80 页)

[3]中国医师协会骨科医师分会显微修复工作委员会,中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组,中华医学会显微修复学组.成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016)[J].中华骨科杂志,2016,36(15): 945-954.

[4]吴洪亮,段平国,刘德明.细胞因子治疗激素性股骨头坏死的研究进展[J].南昌大学学报(医学版),2011,51(11):84-87,91.

[5]胡志明,王海彬,李祖国,等.血管内皮细胞生长因子促进激素性股骨头坏死修复 [J]. 中国矫形外科杂志,2006,14(15):1179-1181.

[6]钟刚,裴福兴.血管内皮生长因子基因转染促进成骨细胞增值及其功能的实验研究[J].四川大学医学报,2006,37(1):44-47.

[7]Kim HK,Bian H,Randall T,et al.Increased VEGF xpression in the epiphyseal cartilage after ischemic necrosis of the capital femoral piphysis[J].Bone Miner Res,2004,19(12):2041-2048.

[8]靳松,沈靖男,王晋,等.碱性成纤维细胞生长因子和骨形态发生蛋白对股骨头坏死修复过程的研究[J].中华实验外科杂志,2006,23(9):1142-1143.

[9]Moursi AM,Winnard PL,Winnard AV,et al.Fibroblast growth factor-2 induces increased calvarial osteoblast proliferation and cranial suture fusion[J].Cleft Palate Craniofac J,2002,39(5):487-496.

[10]康武林,袁普卫.股骨头缺血性坏死与骨髓间充质干细胞移植研究进展[J].中国矫形外科杂志,2013,21(19):1954-1957.

[11]王本超,陈森,方洪.双侧酒精性股骨头坏死合并肱骨头坏死[J].中国骨与关节损伤杂志,2017, 32(11):1228-1229.

[12]杨帆,朱振中,李广冀.股骨头坏死病理形态学研究进展[J].国际骨科学杂志,2014(5):313-315.

[13]朱蜀云,马素英.马在山主任医师治疗股骨头缺血性坏死的经验总结[J].中国中医急症,2018,27(3):524-527.

收稿日期:2018-7-31;修回日期:2018-8-9
编辑/肖婷婷