

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.01.004

Micro-CT 评价红霉素和阿仑膦酸钠抑制磨损颗粒诱导小鼠骨溶解的实验研究

崔学生¹, 郭玉娥², 王 军³, 金群华⁴

(1. 宁夏银川市第二人民医院骨科, 银川 750001; 2. 宁夏银川市妇幼保健院妇科, 银川 750001; 3. 第四军医大学骨科研究所, 西安 710032; 4. 宁夏医科大学附属总医院骨三科, 银川 750001)

【摘要】目的:通过建立小鼠体内磨损颗粒颅骨溶解模型,利用显微计算机断层摄影(Micro-computed tomography, Micro-CT)对红霉素和阿仑膦酸钠抑制磨损颗粒诱导小鼠骨溶解进行三维评价,为红霉素阿仑膦酸钠防治人工关节松动提供更多的理论依据。**方法:**40 只 BABL/C 雌性小鼠随机分为 5 组。A 组为空白对照组;B 组为阳性对照组;C 组为阿仑膦酸钠组[0.3 mg/(kg·周)];D 组红霉素 1 组[术后 7 d 腹腔注射红霉素 2 mg/(kg·d)];E 组红霉素 2 组[术后腹腔注射红霉素 2 mg/(kg·d)];2 周后取出颅骨先进行 Micro-CT 扫描,得到颅骨标本计算机三维图像并进行三维计量分析。然后再进行病理学分析。**结果:**B 组的骨密度(Bone mineral density, BMD)较 A 组明显降低,C、D、E 组的 BMD 与 B 组有显著增加。E 组的 BMD 较 C、D 有明显增高,C、D 组间的 BMD 无统计学意义。B 组的骨体积分数(Bone volume fraction, BVF)较 A 组明显降低,C、D、E 组的 BVF 与 B 组有显著增加,E 组间的 BVF 较 C、D 有明显增高,C、D 组间的 BVF 无统计学意义。病理学骨溶解区域破骨细胞数量各组比较结果和 BMD 的结果类似。**结论:**红霉素、阿仑膦酸钠可以抑制磨损颗粒诱发的骨溶解。

【关键词】钛颗粒;关节松动;骨溶解;红霉素;阿仑膦酸钠

【中国图书分类法分类号】R687

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-04-12

An in vivo study of inhibitory effect of erythromycin and alendronate on titanium particle induced osteolysis

CUI Xuesheng¹, GUO Yu'e², WANG Jun³, JIN Qunhua⁴

(1. Department of Orthopedics, the Second People's Hospital of Yinchuan in Ningxia; 2. Department of Gynecologic, the First Yinchuan Women and Children Health Hospital in Ningxia; 3. Institute of Orthopedics, the Fourth Military Medical University; 4. Area Department of Orthopedics, the Third Endemic, the Affiliated Hospital of Ningxia Medical College)

【Abstract】Objective: To use an in vivo titanium particles induced mouse calvarial osteolysis model to investigate the inhibitory effect of erythromycin and alendronate on the osteolysis. **Methods:** Forty female eight-week-old BALB/C mice were randomly divided into 5 groups 8 in each group. Control group (A) received sham operation; titanium particle group (B) received 30 mg titanium particle implantation onto the calvariae; alendronate group (C) received 30 mg titanium particle implantation and alendronate 0.3 mg/(kg·week) by ip injection; one unit of erythromycin group (D) received 30 mg titanium particle implantation and ip injection of EM 2 mg/(kg·d) in the next week; two units of erythromycin group (E) received ip injection of EM 2 mg/(kg·d) on the next day of 30 mg titanium particles implantation; two weeks later mouse calvariae were harvested. The EM and ALN efficacy was evaluated by Micro-CT and histology. **Results:** Micro-CT analysis showed that bone mineral density (BMD) and bone volume percentage (BVF) were significantly higher in the EM, ALN treated group (CDE) compared to the Ti group (B) ($P < 0.05$); BMD and BVF were significantly higher in the Control group (A) compared to the Ti group (B) ($P < 0.05$). Histology analysis had a similar result with BMD. **Conclusion:** Erythromycin and alendronate can effectively inhibit titanium particles induced calvarial osteolysis in vivo.

【Key words】 titanium particle; aseptic loosening; osteolysis; erythromycin; alendronate

作者简介: 崔学生(1969-),男,副主任医师,硕士,
研究方向:骨关节外科。

通信作者: 金群华,男,教授,Email: jinqunhua@sina.com。

基金项目: 国家教育部“春晖计划”合作科研资助项目(编号: Z2008-75008)。

人工关节置换术的应用为成百万的关节疾病患者提供了令人惊喜的疼痛解除和功能改善。随关节设计和制作地改进、手术技术地提高,一些合并症如关节折断、骨折、感染等逐渐减少,而无菌性松动成为主要问题,由于没有预防药物治疗,磨损颗粒诱导骨溶解使得人工关节置换术后 20 年假体无菌性松动率超过 20%,并随着随访时间的延长而越来越明显^[1-3]。松动是一个复杂的过程,有多种因素参与,相互作用,共同导致了此过程的发生发展。无菌性松动的最终病理过程为骨吸收导致假体-骨界面结合丧失。红霉素长期被应用于治疗各种感染性疾病。既往研究表明红霉素可以不依靠其抗菌功能而治疗某些种类的慢性炎症性疾病,这些疾病包括弥漫性全细支气管炎、哮喘、慢性鼻窦炎等。近年来有研究表明红霉素可以抑制 TNF- α 、IL-1、IL-6 等细胞因子的基因表达。阿仑膦酸钠在其他与骨吸收有关的疾病如骨质疏松中取得了很好疗效。将人工关节假体磨屑植入小鼠的颅骨内,观察磨屑对小鼠颅骨的骨吸收情况,从而为红霉素和阿仑膦酸钠抑制磨损颗粒导致假体周围骨溶解、防治人工关节松动提供更多的理论依据。

1 材料与方法

1.1 钛颗粒的检测及制备

实验用磨损颗粒采用钛颗粒, Ti6Al4V 美国 Zimmer 公司提供。用济南润之科技有限公司 Rise-2008 激光粒度分析仪复检,结果显示颗粒直径范围 2.379~10.067 μm , 90% < 5 μm 。将颗粒用 70% 乙醇浸泡 48 h 后去除乙醇,在用无水乙醇浸泡过夜,沉淀 48 h 后去除乙醇,干燥后用电子天平称 30 mg 玻璃纸分装,将颗粒置于 250℃ 恒温箱中 3 h,用凝胶法鲎试剂检测颗粒内毒素小于 0.25 Eu/(mg·ml)。

1.2 实验动物与仪器

实验动物是用 BABL/C 雌性清洁级小鼠, 8~10 周龄,由宁夏医科大学动物实验中心提供。显微计算机断层摄影 (Micro-computed tomography, Micro-CT) 选用美国通用公司 GE Healthcare Locus SP Micro-CT。分析处理软件为 Micview 三维重建处理软件及 ABA 专业骨骼分析软件。电子天平 AL104 (METTLER TOLEDO 梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 电热恒温鼓风干燥 BHG-9070 型 (上海精宏实验设备有限公司); 切片机 (Leica RM2135, 德国); Motic BA400. Motic Camm-1000 数码摄像机系统; 电子显微镜 (OLYMPUS-37XB, 日本); MicROMHS760 全自动染色仪 (德国产); BMJ-3 型包埋机 (常州产); 注射器; 常规手术器械 (手术刀、剪血管钳等); 凝胶法鲎试剂盒; 红霉素 (大连美罗大药厂, 批准文号国药字 HZ1021678); 阿仑膦酸钠标准品 (石家庄制药集团, 批号 108061201, 含量 99.3%); 抗酒石酸酸性磷酸酶染色试剂盒 (TRAP, 387-A 美国 Zimmer 公司提供)。

1.3 实验设计及动物手术

首先参考文献[4]将 BABL/C 雌性小鼠按随机数字表法分成 5 组, 每组 10 只。称量体重并做标记, 平均体重 25.5 g。

实验到最后, 剔除不合格标本及死亡小鼠, 每组有 8 只小鼠。手术时小鼠采用 3% 的水合氯醛以 9 ml/kg 剂量腹腔内注射麻醉。麻醉生效后, 用电推子去除小鼠头顶部毛, 然后用 0.5% 碘伏消毒。经外耳根内侧部连线的中点和眼眶后部连线的中点之间连线作矢状位切口长约 1.5 cm, 暴露额状缝及人字缝间直径约 1 cm 的颅顶骨面积, 注意不要破坏骨膜, 保持骨膜的完整性。将分包消毒好的 30 mg 钛颗粒均匀地放置颅顶骨中缝及两侧的骨外膜上。皮肤用 1 号线间断缝合, 并对整齐缝合皮缘, 防止颗粒外溢。A 组空白对照组接受了手术, 不植入颗粒, 加 5% 葡萄糖注射液腹腔注射。B 组阳性对照组手术植入 30 mg 钛颗粒, 加 5% 葡萄糖注射液腹腔注射。C 组阿仑膦酸钠组手术植入 30 mg 钛颗粒加阿仑膦酸钠 0.3 mg/(kg·周) 腹腔注射。D 组红霉素 1 组手术植入 30 mg 钛颗粒加 5% 葡萄糖注射液腹腔注射, 1 周后腹腔注射红霉素 2 mg/(kg·d)。E 组红霉素 2 组手术植入 30 mg 钛颗粒加术后腹腔注射红霉素 2 mg/(kg·d)。手术完, 待小鼠清醒后送入饲养笼中。动物自由摄取食物和水, 饲养于 12 h 开关灯的清静动物房中。

1.4 标本处理和显微 CT 及组织学分析

术后 2 周, 过量麻醉处死小鼠, 无菌条件下取出颅骨, 注意不要撕裂颅骨缝。去掉颅骨下颅腔内的脑组织, 去掉表面皮肤。用 PBS 液冲洗标本, 拍外观照片后, 将标本置于 10% 的多聚甲醛中固定。Micro-CT 及组织学分析采用盲法评估。

1.4.1 Micro-CT 扫描 扫描前 0.5 h 取出标本晾干多余水分, 轻轻去除颅骨顶表面的黑色钛颗粒及粘在一起组织, 以防扫描时产生伪影。将标本分别置于美国 GE 公司 eXplore Locus SP 型 Micro-CT 测试试管杯中, 每块标本中间用泡沫塑料片间隔, 标本间尽可能平行, 不贴靠杯壁。标本放置稳定后进行扫描。扫描协议为: largetube_14 μm _270 min_ss。扫描参数为: 扫描分辨 14 μm , 旋转角度 210°, 旋转角度增量 0.4°, 电压 80 kV, 电流 80 μA , 曝光时间 2 960 ms, 帧平均数为 4, 像素组合为 1×1。对同一样品扫描获得 500 张不同截面的 2 048×2 048 像素图片, 将所有标本以完整骨组织为兴趣区域 (Region of interest, ROI) 进行三维重建。分割值均为 1 200, 完成图像二值化, ROI Size ($x=4.116\ 0\ \text{mm}$, $y=1.761\ 1\ \text{mm}$, $z=4.417\ 11\ \text{mm}$)。选定 ROI 内骨进行三维可视化呈现, 所选部位尽可能在各标本的相同位置。定量分析使用 Micview V2.1.2 三维重建处理软件和 ABA 专用骨骼分析软件。三维参数的计量: 所检验的样本参数包括: (1) 骨密度 (Bone mineral density, BMD) 以 mg/mm^3 表示。(2) 骨体积分数 (Bone volume fraction, BVF) 即骨骼的体积 (Bone volume, BV) 占总体积 (Total volume, TV) 的比例。

1.4.2 组织学分析 取出在 10% 多聚甲醛中固定的标本, 流水冲洗 0.5 h, 然后在 10% 的 EDTA (pH 7.4) 4℃ 脱钙 2 周。脱钙液每 5 d 更换 1 次。梯度乙醇中脱水, 石蜡包埋。标本蜡块用德国 Leica RM 2135 切片机切片, 连续 3 层切片, 层厚 3.5 μm 。在梯度酒精中脱水, 二甲苯中脱蜡后, 行常规 HE 及抗酒石酸酸性磷酸酶染色 (Tartrate-resistant acid phosphatase,

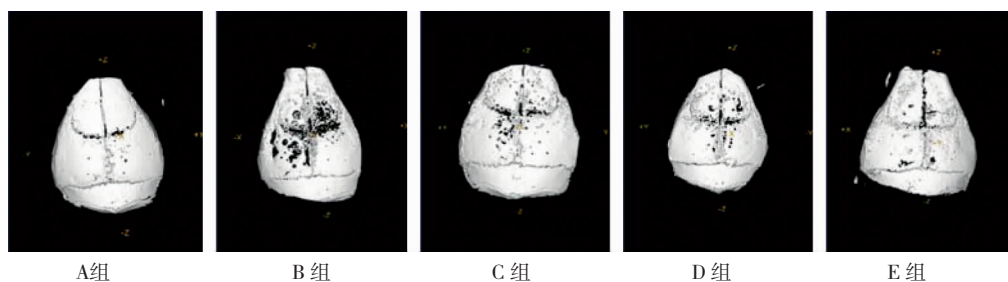


图 1 Micro-CT 大体图像
A组.空白对照组;B组.单纯 30 mg 钛颗粒处理组;C组.0.3 mg/(kg·周)阿仑膦酸钠 +30 mg 钛颗粒;D组.2 mg/(kg·d)红霉素 1+30 mg 钛颗粒加 5%葡萄糖注射液腹腔注射 1 周后腹腔注射红霉素;E组.2 mg/(kg·d)红霉素 2 组 +30 mg 钛颗粒加术后腹腔注射红霉素 2 周

图 1 Micro-CT 大体图像

Fig.1 Aln,Em inhibition of ceridust-induced osteolysis assessed by Micro-CT

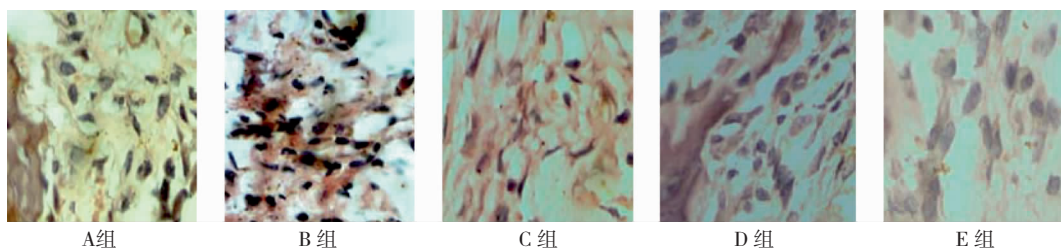


图 2 TRAP (+)破骨细胞数
A组.空白对照组;B组.单纯 30 mg 钛颗粒处理组;C组.0.3 mg/(kg·周)阿仑膦酸钠 +30 mg 钛颗粒;D组.2 mg/(kg·d)红霉素 1+30 mg 钛颗粒加 5%葡萄糖注射液腹腔注射 1 周后腹腔注射红霉素;E组.2 mg/(kg·d)红霉素 2 组 +30 mg 钛颗粒加术后腹腔注射红霉素 2 周

图 2 TRAP (+)破骨细胞数

Fig.2 TRAP (+) osteoclast number

TRAP)。破骨细胞计数:TRAP 是破骨细胞的特异性染色。切片在 TRAP 染色液中 37℃恒温箱中孵育 90 min。双蒸水冲洗后苏木素进行复染 5 min,中性树胶封片。Olympus 电子显微镜 20×、40× 及 100× 条件下观察,100× 条件下摄像计算正中矢状线区域的 TRAP+细胞数量。

1.5 统计分析

结果表示为均数±标准差($\bar{x} \pm s$)。所有数据采用SPSS11.5 统计软件包进行,组间比较用 Homogeneity-of-variance 检验方差齐性后,用单因素方差分析检验,组间的多重比较用最小显著法(LSD 法)检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Micro-CT 大体图像

在 Micro-CT 大体图像中,植入钛颗粒后颅顶骨的骨吸收明显增加,骨吸收低密度区域明显扩大,单纯钛颗粒处理组最为明显,经红霉素、阿仑膦酸钠干预组上述表现减轻,以红霉素 2 mg/(kg·d) 腹腔注射 2 周组骨吸收低密度区域明显减小。见图 1。

2.2 Micro-CT BMD 与 BVF 分数结果

B 组的 BMD、BVF 较 A 组明显降低,差异有统计学意义($P=0.000$)。C、D、E 组的 BMD、BVF 与 B 组有显著增加,差异有统计学意义($P=0.000$)。E 组的 BMD、BVF 较 C、D 组有明显增高($P < 0.05$),C 与 D 间的 BMD、BVF 差异无统计学意义($P=0.429, P=0.067$)。见表 1。

表 1 各组间 BMD、BVF 参数变化比较

Tab.1 Comparison of BMD, BVF of five groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	BMD	BVF
空白对照组(A组)	63.929 ± 0.400 [▲]	0.092 6 ± 0.000 7 [▲]
阳性对照组(B组)	36.867 ± 2.405 [*]	0.053 8 ± 0.002 5 [*]
阿仑膦酸钠组(C组)	52.207 ± 2.013 ^{*▲}	0.074 7 ± 0.002 7 ^{*▲}
红霉素 1 组(D组)	51.167 ± 1.349 ^{*▲}	0.072 2 ± 0.003 9 ^{*▲}
红霉素 2 组(E组)	59.582 ± 0.334 ^{*▲}	0.085 1 ± 0.000 9 ^{*▲}
F	134.163	65.768
P	0.000	0.000

*:空白对照组与其他各组的差异有统计学意义;▲:阳性对照组与其他各组的差异有统计学意义

2.3 破骨细胞染色图

TRAP 阳性破骨细胞数见图 2。

2.4 破骨细胞数分析结果

植入钛颗粒后,在实验区域可诱发破骨细胞的生成,给予阿仑膦酸钠;红霉素治疗后,破骨细胞的生成被有效抑制。阳性对照组的破骨细胞数多于空白对照组($P=0.000$);与阳性对照组相比,阿仑膦酸钠、红霉素 1 组、红霉素 2 组经阿仑膦酸钠、红霉素治疗后,小鼠的破骨细胞生成被抑制了($P < 0.05$)。与空白对照组相比,阿仑膦酸钠、红霉素 1 组、红霉素 2 组实验区域破骨细胞数差别有统计学意义($P < 0.05$)。阿仑膦酸钠组与红霉素 1 组间破骨细胞数差异无统计学意义($P=0.35$)。红霉素 1 组与红霉素 2 组破骨细胞数差异有统计学意义($P=0.045$)。见表 2。

表 2 各组间实验区域破骨细胞数差异比较

Tab.2 Comparision of experimental zone osteoclast number of five groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	破骨细胞个数
空白对照组 (A 组)	$5.0 \pm 1.5^{\Delta}$
阳性对照组 (B 组)	$21.1 \pm 1.5^*$
阿仑膦酸钠组 (C 组)	$11.6 \pm 0.8^{\Delta}$
红霉素 1 组 (D 组)	$10.7 \pm 1.3^{\Delta}$
红霉素 2 组 (E 组)	$8.4 \pm 0.6^{\Delta}$
<i>F</i>	75.513
<i>P</i>	0.000

*:空白对照组与其他各组的差异有统计学意义; Δ :阳性对照组与其他各组的差异有统计学意义

3 讨 论

人工关节部件摩擦生成的磨损颗粒在局部引起的生物学反应被认为是导致假体周围骨溶解和假体松动的主要原因。周围淋巴腔隙转运微粒,因此微粒可被消除至一定程度。然而当微粒的释放量很大时,转运活性失代偿,当微粒进入其他组织中,尤其是进入骨-假体(或水泥)界面,便在此产生异物反应。此过程牵涉到巨噬细胞、成骨细胞、破骨细胞以及成纤维细胞等一系列细胞间复杂的反应过程。巨噬细胞吞噬微粒后释放大量细胞因子和人工关节面的磨损产生微粒并释放到关节腔内,周围组织(如关节囊)不仅贮存微粒,而且可以经血管生长因子(如 TNF、IL-1、IL-6 等),刺激成骨细胞产生 M-CSF、RANKL,诱导破骨细胞在骨-假体(或水泥)界面处分化,激活,引起骨吸收^[5-10]。进行性地骨吸收进一步引起假体松动,骨吸收刚开始时假体并不松动,很长一段时期后才表现出临床可见地松动。微粒不仅可以激活破骨细胞的骨吸收,而且可以直接影响成骨细胞的成骨功能,降低骨-假体界面处成骨细胞的活性可能是微粒导致假体无菌性松动的另一重要机制。Goodman 报告高密度聚乙烯和钛合金微粒均呈剂量依赖性地抑制骨生长,聚乙烯微粒浓度在($10^6 \sim 10^8$)个/ml 时抑制净骨形成,钛合金微粒在 10^9 个/ml 时可抑制净骨形成,而低于 10^8 个/ml 时则无此效应^[11]。微粒对成骨细胞的作用可以间接地通过巨噬细胞吞噬微粒后释放 TNF- α 来抑制骨基质的形成和矿化^[12],也可以直接地作用于成骨细胞。Kaufman 等^[13]通过细胞培养研究 UHMWPE、TiAlV、CoCr 和铝颗粒刺激巨噬细胞分泌各种细胞因子,发现 TiAlV 颗粒刺激作用最强,和对照组相比能引起 5~900 倍细胞因子表达。Wooley 等^[14]通过小鼠皮下气囊膜型,利用超高分子量聚乙烯、聚甲基丙烯酸甲酯、钴铬合金和钛合金等颗粒进行实验,结果表明这些颗粒都能引起假膜组织显著增厚,其中钛合金颗粒的作用最强。既往研究表明,钛颗粒刺激巨噬细胞可以产生大量 TNF- α 、IL-1、IL-6^[15]。实验表明红霉素可以抑制 IL-1、IL-6、TNF- α 等细胞因子的基因表达^[16]。二膦酸盐类是目前研究较多的药物。Nehme 等^[17]经随机对照研究发现,与对

照组相比,口服阿仑膦酸(Alendronate)2 年可明显减少骨水泥型全髋关节置换术后假体周围骨量的丢失。人们认识并研究人工关节无菌性松动的病因已超过 30 年^[18]。临床上验证抗骨质吸收药物治疗数以百万计的绝经后妇女骨质疏松症已过有十多年。但治疗由磨损颗粒诱导的骨溶解疗效却令人失望。最基本的原因是炎症性和非炎症性的骨质流失病理基础不同。双磷酸盐只对非炎症性的骨质流失有效^[19-23]。二膦酸盐进入体内与羟基磷灰石紧密结合,然后在破骨细胞周围释放并进入破骨细胞,抑制胆固醇合成过程中甲羟戊酸合成途径的中间产物焦磷酸法尼酯/焦磷酸中二酯(FPP/GGPP)形成,使细胞内信号传导通路受阻,从而抑制破骨细胞的分化、增殖及成熟,干扰破骨细胞功能,并促进凋亡^[23]。近年来许多临床研究表明阿仑膦酸钠具有防治人工关节置换早期假体无菌性松动作用^[24,25]。这些因子利用诱发破骨细胞的生成,促进假体周围骨溶解吸收,打破正常骨生成和骨吸收之间的平衡。

本实验结果显示,红霉素能够有效地抑制钛颗粒诱发的小鼠颅骨骨溶解吸收,增加新骨生成,增加骨矿含量,增大 BVF。在接受红霉素干预治疗的 2 组小鼠中,BMD、BVF 与阳性对照组有显著增加且随着用药时间延长而增加。阿仑膦酸钠组中 BMD、BVF 与阳性对照组有明显增加,但较红霉素 2 组低,与红霉素 1 组间无明显统计学差异。红霉素能够有效抑制钛颗粒诱发的小鼠颅骨破骨细胞的生成。在接受红霉素干预治疗 2 组小鼠中,小鼠颅骨破骨细胞的个数降低到接近正常空白对照组水平,与单纯植入钛颗粒的阳性对照小鼠相比,体内破骨细胞的生成被明显抑制了。阿仑膦酸钠组与红霉素治疗 1 周组效果相当。Micro-CT 作为一种最新的 CT 成像技术,具有微米量级的空间分辨率,通过完全无损的方法获得复杂结构内部的三维信息。Micro-CT 主要用来评价骨密度及骨结构。可评价骨的微结构改变,从而反映骨的病理状态。与传统的组织学相比,Micro-CT 具有无创性、操作简便等优点。本实验用 Micro-CT 进行评价较组织学能更直接、精确、定量反映小鼠颅骨骨溶解吸收情况。

机体对于磨损颗粒的反应表现为颗粒植入部位明显的骨溶解吸收,BMP、BVF 降低。红霉素和阿仑膦酸钠腹腔注射全身给药后可有效地抑制局部磨损颗粒诱发的骨溶解,促进骨的合成,增加颗粒植入部位的 BMP、BVF,随着用药时间延长而增加。这说明红霉素和阿仑膦酸钠可能用于抑制或治疗人工关节磨损颗粒诱发的骨溶解,防止无菌性松动的发生,从而可以提高关节假体的使用寿命,维持关节置换手术的长期疗效。

参 考 文 献

- [1] Berry D J, Harmsen W S, Cabanela M E, et al. Twenty-five-year survivorship of two thousand consecutive primary charnley total hip replacements: factors affecting survivorship of acetabular and femoral

components[J]. Bone Joint Surg Am, 2002, 84(1):171-177.

[2] Keener J D, Callaghan J J, Goetz D D, et al. Twenty-five-year results after Charnley total hip arthroplasty in patients less than fifty years old: a concise follow-up of a previous report[J]. Bone Joint Surg Am., 2003, 85(6):1066-1072.

[3] Fender D, Harper W M, Gregg P J. Outcome of Charnley total hip replacement across a single health region in England: the results of a serious orthopaedic problem and the greatest limitation of total joint replacement. at five years from a regional hip register [see comments][J]. Bone Joint Surg Br, 1999, 81(2):577-581.

[4] Ryosuke Tsutsumi, Colleen Hock, Bechtold C D, et al. Differential effects of biologic vs bisphosphonate inhibition of wear debris-induced osteolysis assessed by longitudinal micro-CT[J]. J Orthop Res, 2008, 26(10):1340-1346.

[5] Goldring S R, Schiller A L, Roelke M, et al. The synovial-like membrane at the bone-cement interface in loose total hip replacements and its Proposed role in bone lysis[J]. Bone Joint Surg Am, 1983, 65(2):575-584.

[6] Maloney W J, Jasty M, Harris W H, et al. Endosteal erosion in Association with stable uncemented femoral components[J]. Bone Joint Surg Am, 1990, 72(6):1025-1034.

[7] Chiba J, Rubashl H E, Kim K J, et al. The characterization of Cytokines in the interface tissue obtained from failed cementless Total hip arthroplasty with and without femoral osteolysis[J]. Clin Orthop, 1994, 300(2):304-312.

[8] Takei I, Takag I M, Santavirta S, et al. Matrix metalloproteinases And tissue inhibitors of metalloproteinases in joint fluid of the Patients with loose artificial hip joints[J]. Biomed Mater Res, 1999, 45(1):175-183.

[9] 范卫民, 王 青, 陶松年, 等. 人工关节松动病因的研究[J]. 中华骨科杂志, 1998, 9(6):518-521.

Fan W M, Wang Q, Tao S N, et al. Study on etiology of artificial joints loosening[J]. Zhonghua Guke Zazhi, 1998, 9(6):518-521.

[10] Dowd J E, Schwendeman L J, Macaulay W, et al. Aseptic loosening In uncemented total hip arthroplasty in a canine model[J]. Clin Orthop, 1995, 319(1):106-121.

[11] Goodam S, Aspenberg P, Song Y, et al. Inflammatory responses of human primary macrophages to particulate bone coments in vivo[J]. Acta Orthop Scand, 1996, 67(6):599-605.

[12] Goodman S B, Huie P, Song Y, et al. Cellular profile and cytokine production at prosthetic interfaces. Study of tissues retrieved from revised hip and knee replacements[J]. Bone Joint Surg Br, 1998, 80(2):531-539.

[13] Valleala H, Laasonen L, Koivula M K, et al. Two year randomized controlled trial of etidronate in rheumatoid arthritis: changes in serum

aminoterminal telopeptides correlate with radiographic progression of disease[J]. Rheumatol, 2003, 30(3):468-473.

[14] Wooley P H, Morren K, Andary I, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch[J]. Biomaterials, 2002, 517(2):526.

[15] 陈志荣, 张 亮, 吴兴临, 等. 依那西普对磨屑诱导骨溶解影响的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2008, 16(4):285-287.

Cheng Z R, Zhang L, Wu X L, et al. Effects of Etanercept on Tidebris-induced osteolysis in vivo[J]. Zhongguo Jiaoxin Waikexue Zazhi, 2008, 16(4):285-287.

[16] Ren W P, Li X H, Chen B D, et al. Erythromycin inhibits wear debris-induced osteoclastogenesis by modulation of murine macrophage NF- κ B activity[J]. Orthop Res, 2004, 22(1):21-29.

[17] Ianaro A, Ialenti A, Maffia P et al. Anti-inflammatory activity of macrolide antibiotics[J]. Pharmacol Exp Ther, 2000, 292(2):156-163.

[18] Bone H G, Hosking D, Devogelaer J P, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women[J]. N Engl J Med, 2004, 350(12):1189-1199.

[19] Willert H G. Reactions of the articular capsule to wear products of artificial joint prostheses[J]. J Biomed Mater Res, 1977, 11(2):157-164.

[20] Ralston S H, Hacking L, Willocks L, et al. Clinical, biochemical, and radiographic effects of aminohydroxypropylidene bisphosphonate treatment in rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 1989, 48(5):396-399.

[21] Maccagno A, Di Giorgio E, Roldan E J, et al. Double blind radiological assessment of continuous oral pamidronic acid in patients with rheumatoid arthritis[J]. Scand J Rheumatol, 1994, 23(4):211-214.

[22] Eggelmeijer F, Papapoulos S E, van Paassen H C, et al. Increased bone mass with pamidronate treatment in rheumatoid arthritis. Results of a three-year randomized, double-blind trial[J]. Arthritis Rheum, 1996, 39(3):396-402.

[23] Nehme A, Maalouf G, Tricoire J I, et al. Effect of alendronate on periprosthetic bone loss after cemented primary total hip arthroplasty: prospective randomized study[J]. Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot, 2003, 89(7):593-598.

[24] Soininvaara T A, Jurvelin J S, Miettinen H J, et al. Effect of alendronate on periprosthetic bone loss after total knee arthroplasty: a one-year, randomized, controlled trial of 19 patients[J]. Calcif Tissue Int, 2002, 71(6):472-477.

[25] Arabmotlagh M, Rittmeister M, Hennigs T. Alendronate prevents femoral periprosthetic bone loss following total hip arthroplasty: prospective randomized double-blind study[J]. J Orthop Res, 2006, 24(7):1336-1341.

(责任编辑: 冉明会)