

骨质疏松动物模型研究进展

王振恒 赵建宁 王瑞

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2012)07-0656-07

摘要: 骨质疏松症(osteoporosis)是一种以骨量减少和骨组织微观结构退化为特征,骨的脆性增加,易发生骨折的全身性骨骼疾病。在骨质疏松症的研究中,根据研究目的,选择合适的动物模型尤为重要。各种动物模型都有其自身的特点和优势,各种造模方法也各有侧重,本文对此做一综述。

关键词: 骨质疏松; 动物模型; 去势法; 大鼠

Research progress in osteoporotic models WANG Zhenheng, ZHAO Jianning, WANG Rui. Department of Orthopedics, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China

Corresponding author: WANG Rui, Email: njwr@163.com

Abstract: Osteoporosis is defined as a systemic disease characterized by loss of bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue with a consequent increase in bone fragility and susceptibility to fracture. According to purpose of one's research to select a suitable animal model is critical. Various kinds of animal models hold their own features and superiorities and the manufactures of animal models place extra emphasis on different aspects. This paper tries to make a review on these.

Key words: osteoporosis; animal model; ovariectomized; rats

骨质疏松症是多因素引起的系统性疾病,老年、遗传、高蛋白饮食^[1]、低钠血症^[2]和内分泌系统疾病等均是可能的病因^[3]。一般根据分为3类:①原发性骨质疏松症,最为多见,可分为两型,Ⅰ型(绝经后骨质疏松症)和Ⅱ型(老年性骨质疏松症);②继发性骨质疏松症;③特发性骨质疏松症。随着社会人口老龄化,骨质疏松性症的发病率及其引起的相关临床疾病呈上升趋势^[4],同时也给社会带来了沉重的经济负担^[5],因此该病日益受到人们的重视。选择和建立理想的实验动物模型是开展骨质疏松症预防和治疗的基础。本文从骨质疏松实验模型动物的选择和模型的制造方法两方面做一综述。

1 模型动物的选择

1.1 理想的动物模型

理想的骨质疏松实验动物模型应该满足以下条件:①再现性好,模型与人类骨质疏松症临床症状和

组织行为尽可能的相似;②重复性好,在一定的条件下,由不同实验人员或同一实验人员在不同时间进行操作,模型能够很好的被重复出来;③动物模型能够反映骨质疏松症时骨代谢,微结构的变化;④与临床的一致性,模型的处理因素尽可能与临床发病病因相一致;⑤实验动物容易获得,价格低廉,造模周期较短;⑥实验动物能满足实验技术要求,便于操作和取材。然而目前常用的实验动物均不尽理想,在实验研究中各有长短。

1.2 常用的骨质疏松模型动物

1.2.1 大鼠

大鼠寿命约2.5~3年^[6],常用于骨质疏松症研究的是SD大鼠^[7,8]和Wistar大鼠^[9,10]。大鼠2.5月龄性成熟,10月龄以后骨骼成熟,12月龄时骨骼的各项指标达到峰值。而实验中,研究人员常选择3或6月龄大鼠^[8,11-13],因为低骨量峰值是人类骨质疏松性骨折的危险因素,而骨骼未成熟大鼠可以很好的模拟这一因素,所以成为研究内分泌、营养和环境对骨质疏松影响的合适模型。大鼠用于绝经后骨质疏松症的研究始于上世纪八十年代中期^[14],切除双侧卵巢(ovariectomized, OVX)的大鼠和绝经后女性骨的丢失有许多相似点:骨吸收超过了骨的形

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(批准号: 81000792);江苏省博士后基金面上项目(批准号:0902062C);中国博士后基金特别资助项目(批准号:201003793)

作者单位: 210002 南京,南京军区南京总医院骨科

通讯作者: 王瑞, Email: njwr@163.com

成^[15];骨内膜骨吸收增强,骨外膜骨形成增多,致使长骨的骨髓腔扩大,但皮质骨丢失不明显;骨量丢失以松质骨为主;以及肠道对钙的吸收减少等^[16]。大鼠对二磷酸盐、雌激素、甲状旁腺激素和降钙素等的反应也与人类相似^[15, 17]。此外,大鼠模型有体积小、饲养方便、繁殖快、价格较低;模型成熟,造模因素单一,重复性良好等优点^[18],使其成为骨质疏松症研究中最常用的模型动物^[18, 19]。但是大鼠缺少真正的板层骨,不能进行人类一样的骨小梁的重塑;皮质骨缺少哈佛氏系统,年轻的大鼠缺少基本的多腔隙单元为基础的重塑能力^[20];骨骺闭合迟;骨重建周期短;去卵巢后不发生脆性骨折;生命周期短,体积小,不能大量采取血样本和多次进行骨组织活检^[18]。

1.2.2 小鼠

小鼠是医学实验中最常用的动物,自然寿命较短,18~30 月龄可用作老年性骨质疏松的模型^[21]。然而骨骼太小、可取血清少、动情期不受下丘脑-垂体轴调节因素的影响^[19],是其作为骨质疏松研究模型的不足。随着基因技术的飞速发展,小鼠基因组结构、组织细胞学特征与人类相近^[22]的优势使其在骨质疏松症研究中的应用也将逐渐增加。研究人员培育出的 SAMP6 小鼠,其衰老加速,骨密度减低,类似老年性骨质疏松症^[11, 23],SAMP6 小鼠具有低峰值骨量和中老年时易发生骨折的特点^[24]。近来,有人对这种小鼠进行了全基因组扫描分析,发现了 3 个与 SAMP6 小鼠骨量相关的位点,其中:13 号染色体上位点编码的 Pbd2 与小鼠成熟前骨骼的发育有关;X 染色体编码的 Pbd3 参与了小鼠成熟后骨量的丢失^[25]。应用转基因小鼠模型转入胰岛素样生长因子结合蛋白,小鼠成骨细胞功能减低,骨小梁的容量和骨量也减少^[26]。国内程少丹等^[22]研究护骨素基因敲除纯合子小鼠骨质疏松发生情况,发现护骨素基因敲除小鼠出现了明显骨质疏松。

1.2.3 家兔

家兔是良好的骨质疏松研究的模型动物。自然寿命 4~6 年,性成熟期为 6 个月左右,性成熟后骨骼即发育成熟,1 年以上达到老年。成熟的家兔体积比鼠大,可以提供更多的骨骼标本,进行反复血液标本采集;但比其他大体积动物小,因而饲养方便、经济适用^[27];与人类相似,性成熟后不久,骺板钙化闭合^[28];骨骼转化率快,重建周期约 70 天^[29],短期内即可观察到骨组织变化;成年兔有完整的哈佛氏系统,比鼠更接近人类^[28]。有研究显示,双侧卵巢

切除的家兔使用糖皮质激素诱导 4 周,骨密度减少 19.5%^[30],而连续使用 8 周,骨密度减低了 36%^[31],足以达到人类骨质疏松症的诊断标准。对于单独使用糖皮质激素诱导多长时间能制造出模型尚有争议,有人单独应用糖皮质激素 4 周,骨密度显著下降^[30],而有人使用 6 周尚未见与对照组有明显差异,直至第 10 周才出现差异^[31]。双侧卵巢切除的新西兰兔低钙(0.07% 的钙)饮食 6 周,骨密度减低以颅骨最为明显,其次是颈椎,但胫骨无显著变化^[32]。家兔松质骨含量少,骨计量检测不便^[18];单独的双侧卵巢切除 10 周并不能引起明显的骨密度减低^[31],可能需要 16 周以上^[33]。

1.2.4 狗

狗主要用作废用性和激素诱导性骨质疏松动物模型^[34, 35]。其优势在于:体型大小适中,饲养管理方便;可以反复取骨活检和采取血液标本,利于长期观察;骨骼可以植入人工装置,模仿人类手术;胃肠系统与人类接近;其骨代谢和骨结构特征,松质骨与皮质骨的比例与人类相似^[36, 37];皮质骨有哈佛氏系统是其突出优点;去睾丸狗有类似人类骨吸收大于骨形成的改变^[38]。但是双侧卵巢切除后不能有效地诱导出骨质疏松症,因而难用作绝经后骨质疏松动物模型。

1.2.5 羊

常用的羊有山羊和绵羊。羊性格温顺,易于饲养;寿命较长(10~15 年),体格适宜,可以长期提供实验所需的骨组织活检标本,大量的血液和尿液标本;可以植入人工假体;高龄绵羊有哈佛氏系统的重建;雌性成年羊自动排卵,且与人类排卵周期相似;髂嵴结构,氟化物在骨的沉积和对骨细胞的毒性反应与人类相似。但是羊也有明显的缺点:食草动物,消化系统与人类不同;骨代谢随季节变化,骨密度冬季最低,春季和夏季高^[39];无自然绝经期;双侧卵巢切除后引起的骨量丢失难以达到人类骨质疏松症的水平^[11, 40]并且只是短暂效应^[20, 40]等。

1.2.6 猪

由于猪的解剖结构、生理和病理生理等方面与人类有很多共同点,因而是生物医学研究中常用的实验动物^[6]。但由于其体积和体重过大^[41],不论从经济还是实际操作方面考虑,均限制了其应用。而经过基因改造的小型猪和微型猪基本克服了这一缺点^[42, 43]。小体积猪是杂食动物,与人类消化系统极为类似,给予同人类饮食相近的食物喂养,利于代谢性疾病的研究;雌激素周期性变化,一个周期约

19.5 天,与人类接近;骨骼结构,骨重建和骨转化与人类类似^[44];骨骼大,可以接受人工装置;可取血液标本量大,可多次取骨组织活检。小型猪的缺点是价格高,来源少;子宫血管易破裂,卵巢子宫切除困难^[45];骨密度易受钙摄入的影响^[46]。

1.2.7 非人类灵长类动物

灵长类是进化树中与人类最近的动物,其用作生物医学研究动物模型的价值极大,优势突出。选择非人类灵长类动物进行实验必须有可靠全面的科学依据,并且有其它低等动物的相关实验为基础。灵长类动物的各组织器官最为接近人类;一些灵长类动物身体保持直立,骨骼的生物力学特性近似人类;雌性动物出现周期性的月经;与年龄相关的体内各种骨代谢及激素水平改变与人类类似;存在随年龄增长的骨丢失。然而,用灵长类动物做实验,动物保护方面限制多;来源有限,价格昂贵;饲养管理困难,实验周期长;可能携带和传播疾病,这些因素均极大的限制了灵长类动物在骨质疏松实验中的应用。

2 动物模型的制作

2.1 去势造模

2.1.1 雌性动物去势造模

手术切除雌性动物双侧卵巢,模拟女性绝经后雌激素水平下降导致的绝经后骨质疏松症。绝经后妇女骨髓间质细胞和淋巴细胞表达 RANKL 增多,当 RANKL 与破骨细胞前体细胞上的 RANK 结合后,可以加速破骨细胞分化^[47]。此外,雌激素减低导致了过早衰老的 CD4⁺CD28null T 细胞的产生,这些细胞分泌 TNF- α ,诱导了活性氧(ROS)的产生^[48],ROS 不但可以减少成骨细胞分化,缩短成骨细胞和骨细胞的存活时间,还为破骨细胞分化,行使功能和存活所需^[49]。1985 年,Matsumoto 就用切除大鼠双侧卵巢的方法研究绝经后骨质疏松^[14]。这一方法成功率高,重复性好,适用范围广,是绝经后骨质疏松症造模的金标准。Cheng 等^[8]研究中药二至丸对破骨细胞的抑制作用时,用 3 月龄雌性 SD 大鼠,采用双侧卵巢切除法造模,术后 26 周,OVX 组较假手术组体重显著增加,血清钙、血清磷水平显著下降,尿钙尿磷水平显著上升,血清碱性磷酸酶 ALP 显著升高,骨密度显著减低。尽管大鼠去势后 14 天近端胫骨干骺端就出现有统计学意义的骨量丢失,股骨颈为 30 天,腰椎椎体为 60 天^[15],但考虑到药物的作用等多方面因素,研究人员造模一般用

12 周左右甚至更长^[8, 50-52]。值得指出的是狗和羊在卵巢切除后仅出现短暂的骨量下降,家兔单独应用此法也不易诱导出骨质疏松,因而都不适合单独用此种造模方法。并且本方法自身存在局限性,如手术创伤引起的应激反应对实验的干扰,卵巢完全切除与临床实际不符等。

2.1.2 雄性动物去势造模

即切除雄性动物睾丸获得,最常用的是雄性成年大鼠^[53]。睾丸切除的大鼠钙的吸收减少,而尿钙增多,血浆离子钙减低^[13];骨代谢转换率升高,骨质疏松主要发生在松质骨,而且补充雄激素治疗后,病变可以逆转^[18]。Mandadi 采用 3 月龄雄性 SD 大鼠,2 个月后即诱导出了骨质疏松模型^[13]。Piedra DL 等^[54]研究药物对雄性大鼠骨质疏松模型的作用时,用 9 月龄大鼠切除睾丸 5 个月后观察发现,股骨和椎骨有显著的骨量丢失,骨的微结构发生退化,11 个月后上述现象更加明显。

2.2 药物致骨质疏松模型

2.2.1 糖皮质激素

由于糖皮质激素在临床应用广泛,其所致的骨质疏松症的发生率仅次于绝经后骨质疏松和老年性骨质疏松,在继发性骨质疏松症中居首位^[55]。糖皮质激素可以增加 RANKL 的表达,下调护骨素(OPG)水平^[47],从而抑制成骨细胞分化、促进骨吸收和局部细胞凋亡,最终导致骨代谢的失衡,骨量丢失,诱发骨质疏松症。狗、羊、猪都可以用此法造模,家兔对糖皮质激素诱导敏感,造模时间短^[30]。应用糖皮质激素时对剂量的选择十分重要,合适的剂量应该既可以有效的引起实验动物的骨量丢失,又不会因为过强的免疫抑制导致动物的死亡。

2.2.2 维甲酸

维甲酸对骨代谢有双向作用,既可以促进骨形成,又可以促进骨吸收,但骨吸收占优势,总的结果是骨量减少。此模型虽然致病因素与临床不同,但在发病症状、组织形态学表现和对雌激素的骨反应上均与人类相似,再加上其造模时间短,获得了较广泛的应用。徐碧莲等^[56]对大鼠用维甲酸 70 mg/Kg/d 连续灌胃给药 28 天,发现骨形成率降低,大鼠腰椎松质骨骨组织总面积和骨小梁面积也减低;应用荧光标记骨膜提示,维甲酸使大鼠皮质骨骨外膜的骨形成减弱而使骨内膜的骨形成增强。

2.3 制动法

包括手术和非手术方法,是制作废用性骨质疏松模型的常用方法,对研究瘫痪、术后长期卧床和航

空人员出现的骨质疏松有重要意义。手术方法包括去神经法、去肌腱法、脊髓切除等。非手术方法则包括悬吊法、绷带捆扎法及螺钉固定等方法。手术法的造模要快于非手术方法。由于松质骨的表面积与体积比的比值较大,制动法造模所发生的骨量丢失在松质骨比在皮质骨更为明显。这一模型可以引起与人类的结构相似的胫骨干骺端远端骨的改变,并且由于此区域骨转换率处于低水平,因此适合研究预防和治疗骨质疏松症的合成代谢药物。

2.4 营养法

营养法是通过控制动物的饮食中的钙磷来控制来造模的方法。羊的瘤胃对钙的吸收十分有效,仅仅通过饮食调整来减少钙的摄入很困难。此外,单独使用此法所需造模时间较长,目前多数研究人员把此法作为一种辅助方法,与去势法、糖皮质激素法或其他方法结合使用^[32, 57-59]。

2.5 基因法

基因技术的发展使得人们有可能通过某个特定基因的沉默或敲除来培育出带有特定遗传特征的小鼠模型。人们培育的 SAMP6 小鼠^[24]及应用转基因小鼠模型转入胰岛素样生长因子结合蛋白^[26]均使小鼠的骨量减低。程少丹等^[22]比较护骨素基因敲除纯合子小鼠与同龄野生型小鼠发现,4 月龄基因敲除小鼠全身骨密度、股骨承受最大负荷、股骨结构刚度、腰椎椎体骨小梁数目、腰椎椎体骨小梁厚度显著下降;腰椎椎体骨小梁分离度增加。

2.6 中枢神经破坏法

可分为手术和非手术两大类。目前非手术药物主要是神经毒剂谷氨酸单钠,它可以选择性损毁大鼠下丘脑弓状核神经元,导致神经内分泌调节功能紊乱,进而诱发骨质疏松症。大鼠出生后第 1、3、5、7 和 9 天皮下注射药物,3 个月后,实验组较对照组骨小梁面积减少 72.2%,骨小梁数减少 62.6%,骨小梁厚度减少 25.1%,骨小梁分离度增加 259.7%,出现典型的骨质疏松^[60]。但此模型要求大鼠出生后给药,与人类多发生在老年的发病时间不同,应用受到一定限制。手术法分为破坏下丘脑-垂体断开术(Hypothalamic-Pituitary Disconnection, HPD)和松果体切除术(Pinealectomy, Px)。下丘脑-垂体断开术可能主要是通过破坏瘦素信号通路导致骨质疏松。Frank 等在羊身上同时施行 HPD 和 OVX,3 个月后,骨形成下降 69%,破骨细胞活性下降 49%,12 个月后,与单独 OVX 相比股骨皮质厚度减少 33%^[61]。可见这一手术同时抑制了破骨细胞和成

骨细胞的活性,并且骨量丢失在松质骨和皮质骨均显著发生。松果体切除术主要通过阻断褪黑激素的作用影响骨代谢。Egermann^[40]等也是以羊为模型,将实验动物分为对照组、OVX 组、Px 组以及 OVX + Px 组。手术前和手术后 6 个月,均行髌骨脊活组织检查。0、3、9、18、30 个月分别行桡骨远端 BMD 检查。6 个月后,松质骨容积 Px 组下降 13.3%,Px + OVX 组下降 21.5%,骨丢失是因为骨小梁分离度增加和厚度降低。组织形态学定量和胶原降解产物测定发现松果体切除术后骨吸收增加。单独的 OVX 仅能引起桡骨远端的短暂骨丢失,术后 6 个月出现反弹;Px 后的骨丢失则不是短暂性的,30 个月后 BMD 仍然减低。实验中 Px 组仅引起了松质骨骨量下降,而对皮质骨无影响;OVX 的效应则相反;联合应用 Px 和 OVX 同时引起了皮质骨和松质骨的改变,这说明两种造模方法有明显的协同效应。

2.7 联合造模法

由于骨质疏松症发病因素的多样性,联合造模法有着很大实际意义及应用价值。联合造模法不仅模拟了骨质疏松发病的多种机制,还具有造模周期较短,造模效果好的优势,因而获得了许多学者的青睐。常用的联合方法包括,去势法联合低钙饮食,糖皮质激素法联合低钙饮食,以及去势法联合糖皮质激素法等。Castaneda 等用双侧卵巢切除的家兔联合使用糖皮质激素诱导 4 周,骨密度减少 19.5%^[30],而 Baofeng 用同样的联合方法,连续使用糖皮质激素 8 周后,骨密度减低了 36%^[31]。国内也有人进行了类似实验^[62],研究者利用成年雌性新西兰白兔进行实验,把实验分成 OVX + 糖皮质激素(GC)组,OVX 组以及假手术组,第一组在行 OVX 手术 2 周后,开始为期 4 周的 1 mg/Kg/d 的甲泼尼龙龙注射,4 周后,第一组的骨密度减低了 26.7%,而此时另外两组的骨密度均未发生明显变化。也人使用三种方法联合在绵羊身上造模,雌性绵羊行双侧卵巢切除,饲以 0.15 ~ 0.18% 的低钙饮食,术后 2 周开始肌肉注射地塞米松,每周一次,22 周后,骨密度减低了 30%^[58]。此法造模周期优势不很明显,可能与激素给予的频率有关。

2.8 快速造模法

2.8.1 可溶性的 RANKL(sRANKL)

有学者通过 sRANKL 在 50 小时内建立了小鼠和大鼠的骨质疏松模型,并且 μ CT 获得的三维图像显示与 OVX 模型无明显差别^[63]。这是目前为止报道的制造骨质疏松动物模型最快的方法。7 周龄雌

性 C57BL/6 小鼠小鼠分别腹腔注射 sRANKL 0.5、1、2 mg/Kg 或者 PBS 液,在 3 天内每 24 小时注射一次,最后一次注射后 90 分钟后收获血样,胫骨和股骨。sRANKL 注射 0.5、1、2 mg/Kg 分别导致股骨近端生长板 1 mm 处 BMD 降低 23%、31% 和 44%。组织形态测定法显示,sRANKL 组与对照组(PBS 组)相比 BV/TV, Tb. Th, 和 Tb. N 分别减少 30%, 10% 和 20%。当 sRANKL 2 mg/Kg 连续 7 天,每 24 小时给予一次,BMD 下降了 47%,这与同剂量仅仅注射 3 次的结果基本一致。说明仅仅延长给药次数并未能显著增加骨质疏松的程度。TRACP 染色和组织形态测定证实,过量的 sRANKL 直接介导了破骨细胞的分化,骨量丢失是由破骨细胞分化增多、活性增高所致,而且 BMD 降低不仅仅是由于刺激了终端分化的破骨细胞前体细胞,可能也激活了预先存在的破骨细胞池。

2.8.2 乙二胺四乙酸二钠盐(EDTA-Na₂)

EDTA-Na₂是常用的金属离子络合物,可以螯合包括钙离子在内的多种金属离子,并且其浓度可以影响螯合速度。利用这一特性配制脱钙液,将骨骼标本浸入,可以使骨骼发生脱钙。程自申等^[64, 65]将新鲜的猪胸腰椎椎体浸入 0.4916% 的 EDTA-Na₂脱钙液中,分别在 0、5、7、9、11、13、15 天行标本的骨密度、生物力学等检查,发现随着脱钙时间延长,骨密度以及椎体压缩强度逐渐减低,脱钙 11 天时,骨密度减低了 38%,达到了临床中、重度骨质疏松症的标准。这一方法简单易行,造模可靠,而且骨密度减低程度可以达到临床标准,这与其它动物模型相比具有显著的优势。但是,由于造模因素与人类骨质疏松症发病机制不同,其研究和利用价值还需要进一步的研究验证。

2.9 特殊类型的动物模型

除了以上骨质疏松症模型外,近年来一些流行病学研究发现了新的骨质疏松症相关因素,如低钠血症,因而出现了研究低钠血症和骨质疏松相关的一些模型。低血钠时,破骨细胞形成增多,骨吸收的活性也上升。这可能是因为血的钠下降减低了钠离子依赖的抗坏血酸转运蛋白活性,导致细胞减少摄取抗坏血酸,细胞内抗坏血酸的减低导致了氧化应激的升高,进而导致骨形成减少和骨吸收的增加^[2]。2010 年,研究人员为了探讨低钠血症与骨质疏松症和骨折之间是否存在直接关系,制造了抗利尿激素分泌异常症(SIADH)大鼠模型,以造成大鼠的低钠血症^[66]。研究者皮下植入渗透的微型真空

泵,以 5ng/h 的速度给予去氨加压素,并用去离子水喂养,诱导出大鼠低钠血症。3 个月后,DXA 显示 BMD 减低 30%, μ CT 分析发现皮质骨厚度和骨小梁数量显著下降,小梁间隙显著增大,组织学分析也证实了以上结果。用细胞标记物标记发现,与对照组相比,破骨细胞显著增加。这一模型对于特定原因引起的骨质疏松模型的制作很有启发意义。

3 结语

综上所述,在研究骨质疏松症时,模型动物和造模方法的选择十分重要。只有在模型和人类骨质疏松症发病机制和组织学变化相似的情况下,实验才有借鉴意义。然而,目前的各种实验动物各有优缺点,各种造模方法也各有侧重,所制作的动物模型往往只能在某些方面如病因、临床症状或病理生理变化表现出疾病的特征。随着研究的深入,人们认识到各种类型的骨质疏松可能都是由多因素引起,而且单因素造模往往不容易达到 WHO 界定的骨质疏松症骨密度降低 25% 的标准,因而很多研究人员现在倾向于多方法联合应用造模。这些模型也许会成为骨质疏松的预防和治疗的有力工具。

【参考文献】

[1] Bawa SH. The role of dietary protein in the pathogenesis of osteoporosis. *Agro Food Idustry Hi-Tech*, 2011, 22S(6):7-10.

[2] Hoorn EJ, Liamis G, Zietse R, et al. Hyponatremia and bone: an emerging relationship. *Nature Reviews Endocrinology*, 2012, 8(1):33-39.

[3] Toumba M, Skordis N. Osteoporosis syndrome in thalassaemia major: an overview. *J Osteoporos*, 2010, 2010:537673.

[4] Gaines RW. The use of pedicle-screw internal fixation for the operative treatment of spinal disorders. *Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume*, 2000, 82A(10):1458-1476.

[5] Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the united states, 2005-2025. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2007, 22(3):465-475.

[6] Gustavo D, Ken W. Osteoporosis research: animal models. *Osteoporosis Research: Animal Models*, 1st Edition. 2011, 3. Springer. DOI:/10.1007/978-0-85729-293-3-1.

[7] Wang Ml Fau Massie J, Massie J Fau Perry A, Perry A Fau Garfin SR, et al. -a rat osteoporotic spine model for the evaluation of bioresorbable bone cements. -*Spine J*. 2007 Jul-Aug; 7(4): 466-74. Epub 2007 Apr 6., 2007(-1529-9430 (Print);-1529-9430 (Linking)).

[8] Cheng M, Wang Q, Fan Y, et al. A traditional chinese herbal preparation, er-zhi-wan, prevent ovariectomy-induced osteoporosis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 138

- (2):279-285.
- [9] Lucinda LMF, Vieira BJ, Oliveira TT, et al. Evidences of osteoporosis improvement in wistar rats treated with ginkgo biloba extract: a histomorphometric study of mandible and femur. *Fitoterapia*, 2010,81(8):982-987.
- [10] Lucinda LMF, Vieira BJ, Salvador PA, et al. Effect of the aqueous extract of ginkgo biloba l., Ginkgoaceae, in induced osteoporosis in wistar rats. *Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 2010,20(3):429-434.
- [11] Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporosis International*, 2005,16:S129-S138.
- [12] Yao W, Hadi T, Jiang YB, et al. Basic fibroblast growth factor improves trabecular bone connectivity and bone strength in the lumbar vertebral body of osteopenic rats. *Osteoporosis International*, 2005,16(12):1939-1947.
- [13] Mandadi K, Ramirez M, Jayaprakasha GK, et al. Citrus bioactive compounds improve bone quality and plasma antioxidant activity in orchidectomized rats. *Phytomedicine*, 2009,16(6-7):513-520.
- [14] Matsumoto T, Ezawa I, Morita K, et al. Effect of vitamin-d metabolites on bone metabolism in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 1985,31S:S61-S65.
- [15] Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, et al. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comparative Medicine*, 2008,58(5):424-430.
- [16] Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral*, 1991,15(3):175-191.
- [17] Leitner MM, Tami AE, Montavon PM, et al. Longitudinal as well as age-matched assessments of bone changes in the mature ovariectomized rat model. *Laboratory Animals*, 2009,43(3):266-271.
- [18] 廖慧娟. 骨质疏松症动物模型. 国外医学(内分泌学分册), 2004(1):60-62.
- [19] 朱彦昭,史晓林,吴建民. 骨质疏松症模型的动物选择. 中国骨质疏松杂志,2006(6):631-634.
- [20] Sigrist IM, Gerhardt C, Alini M, et al. The long-term effects of ovariectomy on bone metabolism in sheep. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 2007,25(1):28-35.
- [21] Chiang S, Liao J, Pan T. Effect of bioactive compounds in lactobacilli-fermented soy skim milk on femoral bone microstructure of aging mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2012,92(2):328-335.
- [22] 程少丹,王拥军,唐德志,等. OPG 基因敲除小鼠骨质疏松情况的研究. 中国骨质疏松杂志,2008(1):16-19.
- [23] Silva MJ, Brodt MD, Uthgenannt BA. Morphological and mechanical properties of caudal vertebrae in the samp6 mouse model of senile osteoporosis. *Bone*, 2004,35(2):425-431.
- [24] Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Journal of Aging and Physical Activity*, 2000,8(3):248.
- [25] Shimizu M, Tsuboyama T. [animal models for bone and joint disease. Genetic analysis of low bmd in samp6 mice]. *Clinical Calcium*, 2011,21(2):209-216.
- [26] Motyl KJ, McCabe LR. Leptin treatment prevents type i diabetic marrow adiposity but not bone loss in mice. *Journal of Cellular Physiology*, 2009,218(2):376-384.
- [27] Stoker NG, Epker BN. Age changes in endosteal bone remodeling and balance in rabbit. *Journal of Dental Research*, 1971,50(6):1570.
- [28] 李冠武,汤光宇,李伟,等. 去势法联合皮质激素快速诱导兔骨质疏松模型. 临床放射学杂志,2011(7):1055-1058.
- [29] Mashiba T, Burr DB, Turner CH, et al. Effects of human parathyroid hormone (1-34), ly333334, on bone mass, remodeling, and mechanical properties of cortical bone during the first remodeling cycle in rabbits. *Bone*, 2001,28(5):538-547.
- [30] Castaneda S, Calvo E, Largo R, et al. Characterization of a new experimental model of osteoporosis in rabbits. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 2008,26(1):53-59.
- [31] Baofeng L, Zhi Y, Bei C, et al. Characterization of a rabbit osteoporosis model induced by ovariectomy and glucocorticoid. *Acta Orthopaedica*, 2010,81(3):396-401.
- [32] Martin-Monge E, Tresguerres IF, Blanco L, et al. Validation of an osteoporotic animal model for dental implant analyses: an in vivo densitometric study in rabbits. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 2011,26(4):725-730.
- [33] Sevil F, Kara ME. The effects of ovariectomy on bone mineral density, geometrical, and biomechanical characteristics in the rabbit femur. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 2010,23(1):31-36.
- [34] Costa LAVS, Lopes BF, Lanis AB, et al. Bone demineralization in the lumbar spine of dogs submitted to prednisone therapy; Trabecular and cortical bone demineralization degree by quantitative computed tomography in dogs treated with prednisone. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics; Ciencia Rural*, 2010,33; 40(6; 12):583-2515.
- [35] Vescovi Sello Costa LA, de Oliveira DC, Gianotti JG, et al. Trabecular and cortical bone demineralization degree by quantitative computed tomography in dogs treated with prednisone. *Ciencia Rural*, 2010,40(12):2515-2520.
- [36] Kimmel DB. The oophorectomized beagle as an experimental-model for estrogen-depletion bone loss in the adult human. *Cells and Materials*, 1991,1:75-84.
- [37] Bagi CM, Berryman E, Moalli MR. Comparative bone anatomy of commonly used laboratory animals: implications for drug discovery. *Comparative Medicine*, 2011,61(1):76-85.
- [38] Fukuda S, Iida H. Effects of orchidectomy on bone metabolism in beagle dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2000,62(1):69-73.
- [39] Arens D, Sigrist I, Alini M, et al. Seasonal changes in bone metabolism in sheep. *Veterinary Journal*, 2007,174(3):585-591.
- [40] Egermann M, Gerhardt C, Barth A, et al. Pinelectomy affects

bone mineral density and structure - an experimental study in sheep. *Bmc Musculoskelet Disord*, 2011,12:271.

[41] Estrada JL, Collins B, York A, et al. Successful cloning of the yucatan minipig using commercial/occidental breeds as oocyte donors and embryo recipients. *Cloning and Stem Cells*, 2008,10 (2):287-296.

[42] Dehoux J, Gianello P. The importance of large animal models in transplantation. *Frontiers in Bioscience*, 2007,12:4864-4880.

[43] Koehn F, Sharifi AR, Malovrh S, et al. Estimation of genetic parameters for body weight of the goettingen minipig with random regression models. *Journal of Animal Science*, 2007,85(10): 2423-2428.

[44] Martiniakova M, Grosskopf B, Omelka R, et al. Differences among species in compact bone tissue microstructure of mammalian skeleton; use of a discriminant function analysis for species identification. *Journal of Forensic Sciences*, 2006,51 (6):1235-1239.

[45] 李素萍. 骨质疏松动物模型的研究现状. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011(20):3767-3770.

[46] Mosekilde L, Weisbrode SE, Safron JA, et al. Evaluation of the skeletal effects of combined mild dietary calcium restriction and ovariectomy in sinclair s-1 minipigs - a pilot-study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1993,8(11):1311-1321.

[47] Dore RK. The rankl pathway and denosumab. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 2011,37(3):433.

[48] Tyagi AM, Srivastava K, Kureel J, et al. Premature t cell senescence in ovx mice is inhibited by repletion of estrogen and medicarpin: a possible mechanism for alleviating bone loss. *Osteoporosis International : A Journal Established as Result of Cooperation Between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 2012,23 (3):1151-1161.

[49] Mazziotti G, Bilezikian J, Canalis E, et al. New understanding and treatments for osteoporosis. *Endocrine*, 2012,41(1):58-69.

[50] 余萍萍,潘晶晶,闫璇,等. 大鼠卵巢去势骨质疏松模型的制作. *滨州医学院学报*, 2010(5).

[51] 杜一飞,周薇娜,胡旭,等. 去势法大鼠骨质疏松症模型建立的探讨. *口腔医学*, 2010(7):399-401.

[52] 吕音,杨玉彬. 绝经后骨质疏松大鼠模型文献回顾及实验初探. *现代医院*, 2010(5):21-22.

[53] Morrow R, Deyhim F, Patil BS, et al. Feeding orange pulp improved bone quality in a rat model of male osteoporosis. *Journal of Medicinal Food*, 2009,12(2):298-303.

[54] De La Piedra C, Quiroga I, Montero M, et al. Daily or monthly ibandronate prevents or restores deteriorations of bone mass, architecture, biomechanical properties and markers of bone turnover in androgen-deficient aged rats. *Aging Male*, 2011,14 (4):220-230.

[55] 崔铁,雷伟,吴子祥,等. 骨质疏松大动物模型的研究进展. *脊柱外科杂志*, 2010,08(5):316-320.

[56] 许碧莲,崔燎,陈文双,等. 维甲酸致大鼠骨质疏松模型探讨及丹参骨宝的预防作用. *中国药理学通报*, 2010(4):539-543.

[57] Omi N, Ezawa I. [animal models for bone and joint disease. Low calcium diet-induced rat model of osteoporosis]. *Clinical Calcium*, 2011,21(2):173-180.

[58] Veigel E, Moore RJ, Zarrinkalam MR, et al. Osteopenia in the maxillofacial area: a study in sheep. *Osteoporosis International*, 2011,22(4):1115-1121.

[59] Dvorak G, Reich KM, Tangl S, et al. Cortical porosity of the mandible in an osteoporotic sheep model. *Clinical Oral Implants Research*, 2011,22(5):500-505.

[60] 刘锡仪,刘浩宇. 大鼠脑源性骨质疏松动物模型. *中国骨质疏松杂志*, 2008,14(3):143-147.

[61] Beil FT, Oheim R, Barvencik F, et al. Low turnover osteoporosis in sheep induced by hypothalamic-pituitary disconnection. *J Orthop Res*, 2012,30(8):1254-1262.

[62] Liu X, Lei W, Wu Z, et al. Effects of glucocorticoid on bmd, micro-architecture and biomechanics of cancellous and cortical bone mass in ovx rabbits. *Med Eng Phys*, 2012,34(1):2-8.

[63] Tomimori Y, Mori K, Koide M, et al. Evaluation of pharmaceuticals with a novel 50-hour animal model of bone loss. *J Bone Miner Res*, 2009,24(7):1194-1205.

[64] 程自申,张智海,刘莉,等. EDTA-Na2 脱钙模拟骨质疏松及打孔对骨密度的变化影响. *中国骨质疏松杂志*, 2011,17 (4):296-299.

[65] 程自申,张智海,刘莉,等. 脱钙模拟椎体骨质疏松体外模型的建立. *中国骨质疏松杂志*, 2011,17(3):208-212.

[66] [66] Verbalis JG, Barsony J, Sugimura Y, et al. Hyponatremia-induced osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2010,25(3):554-563.

(收稿日期:2012-02-21)

作者: 王振恒, 赵建宁, 王瑞, WANG Zhenheng, ZHAO Jianning, WANG Rui
作者单位: 南京军区南京总医院骨科, 南京, 210002
刊名: 中国骨质疏松杂志 
英文刊名: CHINESE JOURNAL OF OSTEOPOROSIS
年, 卷(期): 2012, 18(7)

参考文献(66条)

1. Bawa SH The role of dietary protein in the pathogenesis of osteoporosis 2011(06)
2. Hoorn EJ;Liamis G;Zietse R Hyponatremia and bone:an emerging relationship 2012(01)
3. Toumba M;Skordis N Osteoporosis syndrome in thalassaemia major:an overview 2010
4. Gaines RW The use of pedicle-screw internal fixation for the operative treatment of spinal disorders 2000(10)
5. Burge R;Dawson-Hughes B;Solomon DH Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the united states,2005-2025 2007(03)
6. Gustavo D;Ken W Osteoporosis research:animal models 2011
7. Wang Ml Fau Massie J;Massie J Fau Perry A;Perry A Fau Garfin SR -a rat osteoporotic spine model for the evaluation of bioresorbable bone cements 2007(04)
8. Cheng M;Wang Q;Fan Y A traditional chinese herbal preparation,er-zhi-wan,prevent ovariectomy-induced osteoporosis in rats 2011(02)
9. Lucinda LMF;Vieira BJ;Oliveira TT Evidences of osteoporosis improvement in wistar rats treated with ginkgo biloba extract:a histomorphometric study of mandible and femur 2010(08)
10. Lucinda LMF;Vieira BJ;Salvador PA Effect of the aqueous extract of ginkgo biloba l,Ginkgoaceae,in induced osteoporosis in wistar rats 2010(03)
11. Egermann M;Goldhahn J;Schneider E Animal models for fracture treatment in osteoporosis 2005
12. Yao W;Hadi T;Jiang YB Basic fibroblast growth factor improves trabecular bone connectivity and bone strength in the lumbar vertebral body of osteopenic rats 2005(12)
13. Mandadi K;Ramirez M;Jayaprakasha GK Citrus bioactive compounds improve bone quality and plasma antioxidant activity in orchidectomized rats 2009(6-7)
14. Matsumoto T;Ezawa I;Morita K Effect of vitamin-d metabolites on bone metabolism in a rat model of postmenopausal osteoporosis 1985
15. Lelovas PP;Xanthos TT;Thoma SE The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research 2008(05)
16. Kalu DN The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss 1991(03)
17. Leitner MM;Tami AE;Montavon PM Longitudinal as well as age-matched assessments of bone changes in the mature ovariectomized rat model 2009(03)
18. 廖慧娟 骨质疏松症动物模型 2004(01)
19. 朱彦昭;史晓林;吴建民 骨质疏松症模型的动物选择 2006(06)
20. Sigrist IM;Gerhardt C;Alini M The long-term effects of ovariectomy on bone metabolism in sheep 2007(01)

21. [Chiang S;Liao J;Pan T Effect of bioactive compounds in lactobacilli-fermented soy skim milk on femoral bone microstructure of aging mice 2012\(02\)](#)
22. [程少丹;王拥军;唐德志 OPG基因敲除小鼠骨质疏松情况的研究 2008\(01\)](#)
23. [Silva MJ;Brodthorn MD;Uthgenannt BA Morphological and mechanical properties of caudal vertebrae in the samp6 mouse model of senile osteoporosis 2004\(02\)](#)
24. [Manolagas SC Birth and death of bone cells:basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis 2000\(03\)](#)
25. [Shimizu M;Tsuboyama T animal models for bone and joint disease.Genetic analysis of low bmd in samp6 mice 2011\(02\)](#)
26. [Motyl KJ;McCabe LR Leptin treatment prevents type i diabetic marrow adiposity but not bone loss in mice 2009\(02\)](#)
27. [Stoker NG;Epker BN Age changes in endosteal bone remodeling and balance in rabbit 1971\(06\)](#)
28. [李冠武;汤光宇;李伟 去势法联合皮质激素快速诱导兔骨质疏松模型 2011\(07\)](#)
29. [Mashiba T;Burr DB;Turner CH Effects of human parathyroid hormone \(1-34\), ly333334, on bone mass, remodeling, and mechanical properties of cortical bone during the first remodeling cycle in rabbits 2001\(05\)](#)
30. [Castaneda S;Calvo E;Largo R Characterization of a new experimental model of osteoporosis in rabbits 2008\(01\)](#)
31. [Baofeng L;Zhi Y;Bei C Characterization of a rabbit osteoporosis model induced by ovariectomy and glucocorticoid 2010\(03\)](#)
32. [Martin-Monge E;Tresguerres IF;Blanco L Validation of an osteoporotic animal model for dental implant analyses:an in vivo densitometric study in rabbits 2011\(04\)](#)
33. [Sevil F;Kara ME The effects of ovariectomy on bone mineral density, geometrical, and biomechanical characteristics in the rabbit femur 2010\(01\)](#)
34. [Costa LAVS;Lopes BF;Lanis AB Bone demineralization in the lumbar spine of dogs submitted to prednisone therapy, Trabecular and cortical bone demineralization degree by quantitative computed tomography in dogs treated with prednisone 2010\(6, 12\)](#)
35. [Vescovi Sello Costa LA;de Oliveira DC;Gianotti JG Trabecular and cortical bone demineralization degree by quantitative computed tomography in dogs treated with prednisone 2010\(12\)](#)
36. [Kimmel DB The oophorectomized beagle as an experimental-model for estrogen-depletion bone loss in the adult human 1991](#)
37. [Bagi CM;Berryman E;Moalli MR Comparative bone anatomy of commonly used laboratory animals:implications for drug discovery 2011\(01\)](#)
38. [Fukuda S;Iida H Effects of orchidectomy on bone metabolism in beagle dogs 2000\(01\)](#)
39. [Arens D;Sigrist I;Alini M Seasonal changes in bone metabolism in sheep 2007\(03\)](#)
40. [Egermann M;Gerhardt C;Barth A Pinealectomy affects bone mineral density and structure-an experimental study in sheep 2011](#)
41. [Estrada JL;Collins B;York A Successful cloning of the yucatan minipig using commercial/occidental](#)

[breeds as oocyte donors and embryo recipients](#) 2008(02)

42. [Dehoux J;Gianello P](#) [The importance of large animal models in transplantation](#) 2007

43. [Koehn F;Sharifi AR;Malovrh S](#) [Estimation of genetic parameters for body weight of the goettingen minipig with random regression models](#) 2007(10)

44. [Martiniakova M;Grosskopf B;Omelka R](#) [Differences among species in compact bone tissue microstructure of mammalian skeleton:use of a discriminant function analysis for species identification](#) 2006(06)

45. [李素萍](#) [骨质疏松动物模型的研究现状](#) 2011(20)

46. [Mosekilde L;Weisbrode SE;Safron JA](#) [Evaluation of the skeletal effects of combined mild dietary calcium restriction and ovariectomy in sinclair s-1 minipigs-a pilot-study](#) 1993(11)

47. [Dore RK](#) [The rankl pathway and denosumab](#) 2011(03)

48. [Tyagi AM;Srivastava K;Kureel J](#) [Premature t cell senescence in ovx mice is inhibited by repletion of estrogen and medicarpin:a possible mechanism for alleviating bone loss](#) 2012(03)

49. [Mazziotti G;Bilezikian J;Canalis E](#) [New understanding and treatments for osteoporosis](#) 2012(01)

50. [余萍萍;潘晶晶;闫璇](#) [大鼠卵巢去势骨质疏松模型的制作](#) 2010(05)

51. [杜一飞;周薇娜;胡旭](#) [去势法大鼠骨质疏松症模型建立的探讨](#) 2010(07)

52. [吕音;杨玉彬](#) [绝经后骨质疏松大鼠模型文献回顾及实验初探](#) 2010(05)

53. [Morrow R;Deyhim F;Patil BS](#) [Feeding orange pulp improved bone quality in a rat model of male osteoporosis](#) 2009(02)

54. [De La Piedra C;Quiroga I;Montero M](#) [Daily or monthly ibandronate prevents or restores deteriorations of bone mass,architecture,biomechanical properties and markers of bone turnover in androgen-deficient aged rats](#) 2011(04)

55. [崔轶;雷伟;吴子祥](#) [骨质疏松大动物模型的研究进展](#) 2010(05)

56. [许碧莲;崔燎;陈文双](#) [维甲酸致大鼠骨质疏松模型探讨及丹参骨宝的预防作用](#) 2010(04)

57. [Omi N;Ezawa I](#) [animal models for bone and joint disease.Low calcium diet-induced rat model of osteoporosis](#) 2011(02)

58. [Veigel E;Moore RJ;Zarrinkalam MR](#) [Osteopenia in the maxillofacial area:a study in sheep](#) 2011(04)

59. [Dvorak G;Reich KM;Tangl S](#) [Cortical porosity of the mandible in an osteoporotic sheep model](#) 2011(05)

60. [刘锡仪;刘浩宇](#) [大鼠脑源性骨质疏松动物模型](#) 2008(03)

61. [Beil FT;Oheim R;Barvencik F](#) [Low turnover osteoporosis in sheep induced by hypothalamic-pituitary disconnection](#) 2012(08)

62. [Liu X;Lei W;Wu Z](#) [Effects of glucocorticoid on bmd,micro-architecture and biomechanics of cancellous and cortical bone mass in ovx rabbits](#) 2012(01)

63. [Tomimori Y;Mori K;Koide M](#) [Evaluation of pharmaceuticals with a novel 50-hour animal model of bone loss](#) 2009(07)

64. [程自申;张智海;刘莉](#) [EDTA-Na2脱钙模拟骨质疏松及打孔对骨密度的变化影响](#) 2011(04)

65. [程自申;张智海;刘莉](#) [脱钙模拟椎体骨质疏松体外模型的建立](#) 2011(03)

66. [Verbalis JG;Barsony J;Sugimura Y Hyponatremia-induced osteoporosis](#) 2010(03)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201207018.aspx