

# 多尺度分析骨质疏松大鼠骨微结构变化

岑海鹏<sup>1</sup>, 宫赫<sup>1</sup>, 李晨晨<sup>1</sup>, 张莹莹<sup>2</sup>, 张琪<sup>1</sup>, 李喜通<sup>1</sup>

(1. 北京航空航天大学 生物与医学工程学院, 生物力学与力生物学教育部重点实验室, 北京市生物医学工程高精尖创新中心, 北京 100191; 2. 国家康复辅具研究中心, 北京 100176)

**摘要:**目的 多尺度分析骨质疏松大鼠的骨微结构变化。方法 20只5月龄雌性SD大鼠随机选取12只实施双侧去卵巢(ovariectomy, OVX)手术,术后8周形成骨质疏松大鼠模型,另外8只作为假手术(SHAM)对照组。利用Micro-CT和SR-Nano-CT定量分析骨质疏松大鼠在组织尺度下皮质骨和松质骨以及细胞尺度下骨细胞、骨陷窝小管和细胞外基质的微结构变化。结果 组织尺度下,OVX组皮质骨的截面积较SHAM组显著增大( $P < 0.05$ ),皮质骨骨密度和厚度较SHAM组虽有变化,但不显著;OVX组骨小梁的骨密度、体积分数、厚度和骨小梁数量较SHAM组显著降低( $P < 0.01$ ),骨小梁分离度显著增加( $P < 0.01$ )。细胞尺度下,OVX组骨陷窝半轴长较SHAM组没有显著差异,但OVX组骨陷窝厚度和骨小管直径较SHAM组显著增大( $P < 0.05$ );同时,细胞尺度下OVX组皮质骨孔隙率较SHAM组显著增大( $P < 0.05$ )。结论 OVX大鼠骨在组织和细胞尺度出现不同程度的微结构变化。其中,组织尺度主要是松质骨丢失,皮质骨变化不大;细胞尺度骨陷窝小管网络孔隙显著增大,将直接影响皮质骨骨密度和强度。多尺度分析骨质疏松大鼠骨微结构变化对于骨质疏松症的临床诊断及病理分析有潜在的应用价值。

**关键词:** 骨质疏松; 去卵巢大鼠; 皮质骨; 松质骨; 骨细胞; 骨陷窝小管系统

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.03.013

## Multiscale Analysis on Changes in Bone Microstructure of Osteoporotic Rats

CEN Haipeng<sup>1</sup>, GONG He<sup>1</sup>, LI Chenchen<sup>1</sup>, ZHANG Yingying<sup>2</sup>, ZHANG Qi<sup>1</sup>, LI Xitong<sup>1</sup>

(1. Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Key Laboratory for Biomechanics and Mechanobiology of Ministry of Education, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China; 2. National Research Center for Rehabilitation Technical Aids, Beijing 100176, China)

**Abstract: Objective** To study changes in bone microstructure of osteoporotic rats by multiscale analysis. **Methods** A total of twenty 5-month-old female SD rats were randomly divided into two groups, i. e., ovariectomy (OVX) group ( $n = 12$ ) and the SHAM group ( $n = 8$ ), respectively. The rats in OVX group were subjected to bilateral ovariectomy and became osteoporosis models after 8 weeks, while sham operation was performed for the SHAM group. Changes in microstructure of cortical bone and cancellous bone at tissue scale, and osteocyte lacunar-canalicular network (LCN) and extracellular matrix (ECM) at cell scale were quantitatively analyzed using Micro-CT and SR-Nano-CT. **Results** At tissue scale, the cross-sectional area of cortical bone in OVX

group was significantly higher than that in SHAM group ( $P < 0.05$ ), and the bone mineral density (BMD) and thickness of cortical bone were not significantly different from those in SHAM group. The trabecular BMD, bone volume fraction, trabecular thickness and trabecular number in OVX group were significantly decreased in comparison with SHAM group ( $P < 0.01$ ), while the trabecular separation was significantly increased ( $P < 0.01$ ). At cell scale, there was no significant difference in the semiaxes of lacunae between OVX group and SHAM group, but the thickness of lacunae and the diameter of canaliculi in OVX group were significantly increased in comparison with SHAM group ( $P < 0.05$ ). At the same time, the porosity of cortical bone in OVX group was significantly higher than that in SHAM group at cell scale ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The bone microstructure in OVX group varied to different extents at tissue and cell scales. At tissue scale, the cancellous bone loss was severe, while the cortical bone had fewer changes. At cell scale, the porosity of lacunar-canalicular network significantly increased, which directly affected the BMD and strength of cortical bone. Multiscale analysis on changes in bone microstructure of OP rats has potential application values for clinical diagnosis and pathological analysis of osteoporosis.

**Key words:** osteoporosis; ovariectomized rats; cortical bone; cancellous bone; osteocyte; lacunar-canalicular network (LCN)

随着人口老龄化问题的逐年加重,骨质疏松症(osteoporosis, OP)已经成为我国中老年人群的重要健康问题<sup>[1]</sup>。OP是一种代谢性骨疾病,其基本病理特征为骨微结构变化<sup>[2-3]</sup>。探究骨微结构变化特征和规律,对于OP临床诊断及病理分析有重要的临床实用价值。

目前,关于OP骨微结构变化的研究主要针对组织尺度下松质骨和皮质骨。研究表明,OP患者会出现骨小梁丢失、皮质骨变薄、孔隙率增大等结构变化<sup>[3]</sup>。事实上,骨具有复杂的多级结构,包括器官尺度下的完整骨、组织尺度下的皮质骨和松质骨,以及细胞尺度下骨细胞、骨陷窝小管网络(lacunar-canalicular network, LCN)及其细胞外基质(extracellular matrix, ECM)<sup>[4]</sup>。细胞尺度下,骨细胞生活在矿化骨基质中的骨陷窝内,骨细胞之间通过细胞突起相联系,突起所在的空间称骨小管,相邻的骨陷窝借助骨小管彼此通连,形成复杂的LCN<sup>[5]</sup>。其中,骨细胞作为骨的力学感受器,对于维持骨重建平衡至关重要<sup>[6]</sup>。同时,LCN为骨细胞的生长代谢和功能发挥提供了稳定的结构微环境<sup>[7]</sup>。因此,探索OP患者细胞尺度下的骨微结构变化具有重要意义。然而,由于骨细胞镶嵌在矿化基质内不易获取,给骨细胞的成像带来了挑战,目前尚不清楚OP细胞尺度下的骨微结构变化情况。

随着骨成像技术的发展,高分辨率微计算机断层(micro/nano-computed tomography, Micro/Nano-

CT)和同步辐射(synchrotron radiation, SR)CT扫描已被用于骨成像,可以对细胞尺度骨细胞和LCN形态进行定量分析。Dong等<sup>[8]</sup>利用SR-Micro-CT定量分析人体股骨皮质骨骨细胞、骨陷窝的组织形态,包括骨细胞和骨陷窝尺寸、体积和密度。Langer等<sup>[9]</sup>利用SR-Nano-CT获得骨超微三维影像,观察骨细胞、LCN和黏合线形态。这些技术的发展为探索细胞尺度的骨微结构变化提供了新方法。

本文通过对雌性Sprague-Dawley(SD)大鼠实施双侧去卵巢(ovariectomy, OVX)手术建立OP大鼠模型,并分别利用Micro-CT和SR-Nano-CT定量分析OVX大鼠骨骼在组织尺度下皮质骨和松质骨以及细胞尺度下骨细胞、LCN和ECM的微结构变化情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 双侧卵巢切除骨质疏松模型

5月龄SD雌性大鼠20只(北京维通利华实验动物中心提供),体质量( $240 \pm 15$ )g,随机选取12只为OVX组,余下8只为SHAM组。两组大鼠均以2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉( $30 \text{ mg/kg}$ )并实施手术。其中,OVX组实施双侧卵巢切除术,SHAM组以同样方式找到卵巢后不予切除即分层缝合。术后给予常规饲料、自由饮水。术后8周两组大鼠过量麻醉处死,取双侧股骨和胫骨用于分析OVX大鼠骨微结构变化。

## 1.2 Micro-CT 扫描

取大鼠右侧股骨、胫骨,剔除软组织,并用生理盐水清洗。利用 Micro-CT (Skyscan 1076, Skyscan 公司,比利时)对 OVX 和 SHAM 组大鼠股骨、胫骨进行高分辨率扫描,扫描参数为:电压 70 kV;电流 139 mA;滤板 0.5 mm Al;扫描精度 9  $\mu\text{m}$ ;扫描宽度 35 mm,旋转步进角度 0.6°。利用 CTAn 软件 (Skyscan 公司,比利时)定量分析两组大鼠股骨中段皮质骨和胫骨近端松质骨的骨密度和组织形态参数。对于皮质骨,以股骨远端骨骺板为基准,选择距骨骺板 1.2 cm 处股骨骨干皮质骨截面为感兴趣区域 1 (region of interest 1, ROI 1),并测量皮质骨的骨密度 (Ct. BMD, 单位  $\text{g}/\text{cm}^3$ )、厚度 (Ct. Th, 单位  $\mu\text{m}$ ) 和截面面积 (Ct. Ar, 单位  $\text{mm}^2$ );对于松质骨,以胫骨近端骨骺板为基准,向远端选择 3.6 ~ 5.4 mm 区域作为松质骨的 ROI 2,并测量骨小梁的骨密度 (Tb. BMD, 单位  $\text{g}/\text{cm}^3$ )、体积比 (BV/TV, 单位%)、厚度 (Tb. Th, 单位  $\mu\text{m}$ )、数量 (Tb. N, 单位  $\text{mm}^{-1}$ ) 和分离度 (Tb. Sp, 单位  $\mu\text{m}$ )。

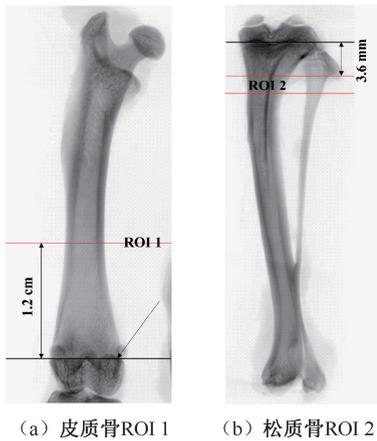


图1 皮质骨和松质骨 ROI 位置

Fig. 1 ROI location of cortical bone and cancellous bone

(a) ROI 1 for cortical bone, (b) ROI 2 for cancellous bone

## 1.3 SR-Nano-CT 扫描

取大鼠左侧股骨中段骨干处皮质骨约 5 mm,并立即置于 4% 多聚甲醛液进行固定处理。固定环境温度 4  $^{\circ}\text{C}$ ,时间持续 24 h。固定后自来水漂洗样本 6 h,然后利用低速金刚石切割机 (SYJ-150,沈阳科晶自动化设备有限公司)切割样本至 300 ~ 400  $\mu\text{m}$ 。对样本进行磨片处理,磨片至厚度为 50  $\mu\text{m}$  左右的切片。切片酒精梯度脱水 (70% -

10 min, 80% - 10 min, 90% - 10 min, 95% - 10 min, 100% - 15 min, 100% - 15 min),脱水后的切片用作扫描样本。利用北京同步辐射装置 4W1A 光束线的 SR-Nano-CT (4W1A,中国科学院高能物理研究所)对 OVX 和 SHAM 组大鼠皮质骨切片进行超高分辨率扫描,获得骨细胞、LCN 和 ECM 影像数据。扫描参数:1 024  $\times$  1 024 像素,像素 64 nm,增量 64 nm。在 Mimics 软件中经过阈值处理、蒙板编辑等步骤建立大鼠骨细胞和 LCN 3D 模型。首先,对 CT 影像进行阈值处理创建骨细胞和 LCN 蒙板。其次,选定 1 个骨细胞作为 ROI,并分别以骨细胞细胞体和骨陷窝为中心对骨细胞和 LCN 蒙板进行区域增长处理,从而保证选定区域的细胞突起和骨小管与 ROI 骨细胞相关联。由于细胞突起直径较小,且细胞突起和骨小管密度差异较小,导致 CT 影像中细胞突起和骨小管的灰度差异较小,不易区分。因此,需要蒙板编辑来分割出完整的细胞突起和骨小管结构。最后,计算骨细胞和 LCN 模型,并作为组织形态分析对象。其中,OVX、SHAM 组分别包含 24、16 个分析对象。基于骨陷窝 3D 模型计算其多义线和中心线,然后确定模型中最大距离的两点以及这两点的中点和中垂面,再确定模型与中垂面的交点中过中点距离最小的两点,并以中点为基点,最大、最小距离 4 个点建立正交平面,在正交平面中利用椭圆测量工具测量模型的半轴长,并将其作为骨陷窝的半轴长 (LC. R, 单位  $\mu\text{m}$ )。沿骨陷窝曲面法向随机截取 6 段骨小管和细胞突起模型,计算模型的多义线,并将它们拟合为圆柱体,对拟合圆柱直径求均值作为骨小管直径 (Ca. Dm, 单位  $\mu\text{m}$ ) 和细胞突起直径 (De. Dm, 单位  $\mu\text{m}$ )。在截取过程中避免骨小管和细胞突起的弯曲位置,且截取的骨小管和细胞突起模型长度远大于其直径。基于 SR-Nano-CT 影像确定扫描视野中骨陷窝数量、LCN 和骨体积,计算骨陷窝密度 (LC. N/TV, 单位  $1/\text{mm}^3$ ) 和皮质骨孔隙率 (Ct. Po, 单位%)。随机测量 6 处骨陷窝和骨细胞间距,且每处测量 3 次,求间距均值作为骨陷窝厚度 (LC. H, 单位  $\mu\text{m}$ )。

## 1.4 统计学方法

所有计算数据采用 GraphPad Prism 9 进行数据分析,并利用独立样本  $t$  检验分析 OVX 和 SHAM 组大鼠组织形态差异, $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 皮质骨和松质骨骨密度和组织形态参数分析

图2为OVX和SHAM组大鼠股骨中段ROI 1处皮质骨和胫骨近端ROI 2处松质骨Micro-CT影像横截面图及骨密度和组织形态参数对比。影像显示:OVX和SHAM组股骨中段外周都为致密的皮质骨,且没有明显的孔隙,OVX组髓腔内没有骨小梁结构,而SHAM组髓腔内有少量骨小梁结构;OVX组ROI 2处骨小梁较SHAM组明显减少。与

SHAM组相比,OVX组皮质骨的骨密度和厚度没有显著变化( $P > 0.05$ ),但其截面积显著增大( $P < 0.05$ );其中,OVX组皮质骨的骨密度较SHAM组下降1.01%,皮质骨的厚度增大4.01%;OVX组皮质骨的截面积较SHAM组增大6.59%。OVX组胫骨近端干骺端骨小梁骨密度和组织形态与SHAM组呈现出显著差异( $P < 0.01$ );其中,OVX组骨小梁的骨密度较SHAM组降低48.78%,骨体积分数减少63.22%,小梁厚度减少16.41%,单位面积骨小梁数量减少55.78%,骨小梁分离度增加90.71%。

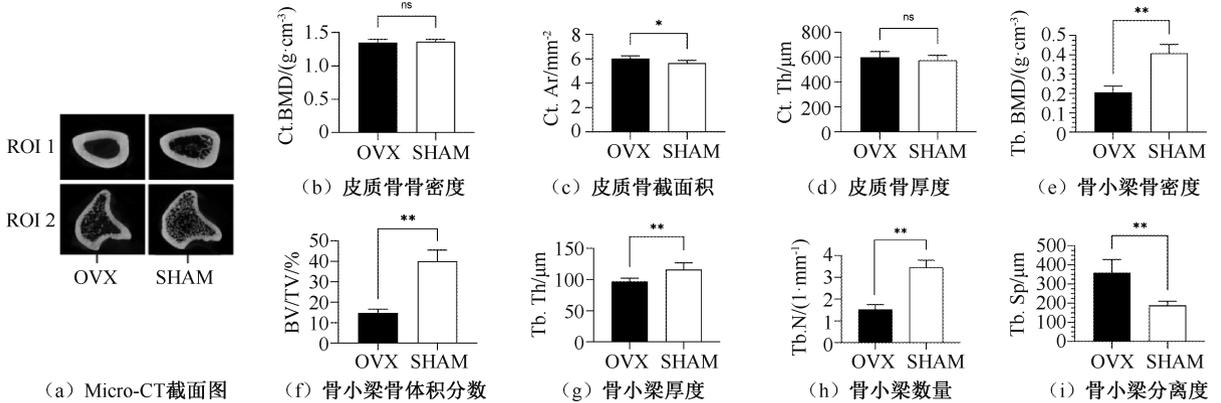


图2 OVX和SHAM组皮质骨和松质骨Micro-CT影像横截面图及骨密度和组织形态参数对比

Fig. 2 Comparisons of the Micro-CT cross-sectional images, bone mineral density (BMD) and morphological parameters of cortical bone and cancellous bone between the OVX and SHAM groups (a) Micro-CT Cross-sectional image, (b) Cortical bone BMD, (c) Cortical bone cross-sectional area, (d) Cortical bone thickness, (e) Trabecular bone BMD, (f) Trabecular bone volume fraction, (g) Trabecular thickness, (h) Trabecular number, (i) Trabecular separation

注: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; ns,  $P > 0.05$ 。

### 2.2 骨细胞、LCN 组织形态参数分析

图3为大鼠股骨中段骨细胞、LCN和ECM的

SR-Nano-CT影像及重构图。结果表明,骨陷窝和骨细胞呈不规则椭球形结构,且尺寸、大小不一;骨小

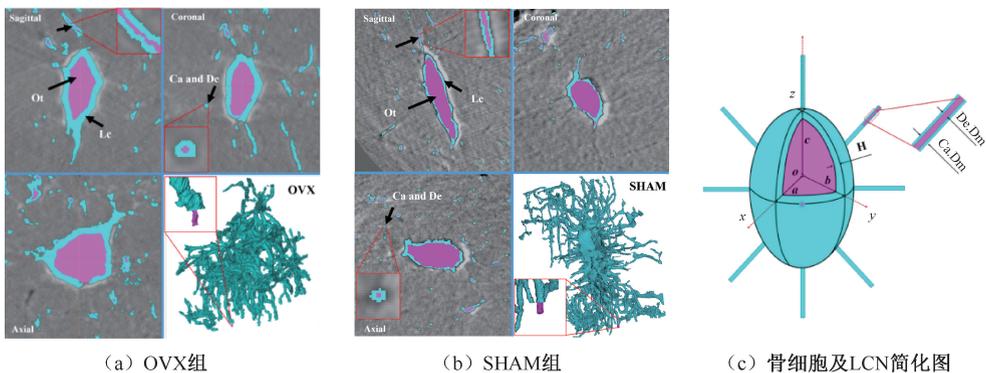


图3 大鼠股骨中段骨细胞、LCN和ECM的SR-Nano-CT影像及重构图

Fig. 3 SR-Nano-CT and reconstruction images of the osteocyte, LCN and ECM in the middle femur of rat (a) OVX group, (b) SHAM group, (c) Schematic diagram of the osteocyte and LCN

注:粉色区域为骨细胞细胞体和细胞突起,蓝色区域为骨陷窝小管网络。骨陷窝小管网络(lacunar-canalicular network, LCN),骨细胞(osteocyte, Ot),骨陷窝(lacuna, Lc),骨小管(canaliculus, Ca),细胞突起(dendrite, De)。

管和细胞突起呈类圆柱形态,且直径大小不一。

对比细胞尺度下 OVX 和 SHAM 组大鼠股骨中段骨细胞和 LCN 组织形态参数,结果表明,与 SHAM 组相比,OVX 组骨陷窝密度下降 12.35%,但两组并没有统计学差异( $P>0.05$ )。尽管骨陷窝形态个体差异较大,OVX 组与 SHAM 组骨陷窝半轴长没有显著

的统计学差异( $P>0.05$ );与 SHAM 组相比,OVX 组骨陷窝厚度显著增大 24.94% ( $P<0.05$ )。与 SHAM 组相比,OVX 组骨小管直径显著增大 40.22% ( $P<0.01$ )。OVX 组细胞突起直径与 SHAM 组没有显著差异( $P>0.05$ )。此外,OVX 组皮质骨孔隙率较 SHAM 组显著增大 23.72% ( $P<0.05$ ),见图 4。

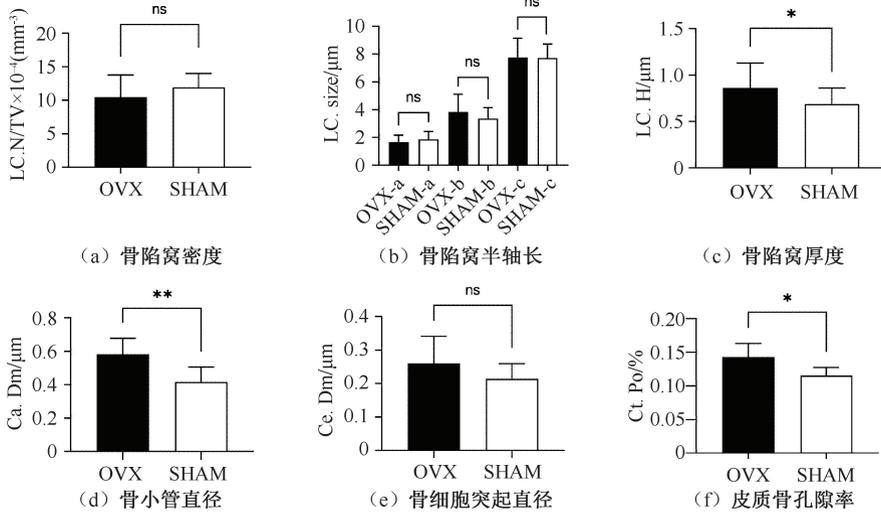


图4 细胞尺度下大鼠股骨中段骨细胞和 LCN 组织形态参数对比

Fig. 4 Comparison of microstructural parameters in the osteocyte and LCN in the middle femur at cell scale (a) Lacunar density, (b) Lacunar semiaxes, (c) Lacunar thickness, (d) Canaliculi diameter, (e) Dendritic processes diameter, (f) Cortical bone porosity

注: \* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ; ns,  $P>0.05$ 。

### 3 讨论

骨微结构的变化特征和规律对于 OP 的临床诊断及病理分析具有重要的临床实用价值。本研究通过 OVX 方法建立了 OP 大鼠模型,并利用 Micro-CT 和 SR-Nano-CT 定量分析了组织和细胞尺度下 OVX 大鼠骨微结构的变化情况。

组织尺度下,OVX 组松质骨较 SHAM 组显著减少,这与文献中报道的组织形态变化一致<sup>[10-11]</sup>。研究表明:大鼠胫骨近端 80% 的骨小梁将在 OVX 手术后 90 d 内缺失<sup>[12]</sup>。OVX 组皮质骨的骨密度略小于 SHAM 组,但其截面积和厚度却大于 SHAM 组,这与文献中 OVX 模型报道的结果相近<sup>[13-14]</sup>。OVX 组皮质骨的骨密度变小可能与其孔隙率增大有关。据文献报道:OVX 组皮质骨截面积有增大的趋势,术后 8 周 OVX 组皮质骨厚度与 SHAM 组呈现出显著差异<sup>[13]</sup>。然而,尽管与文献结果呈现出相同的趋

势,但本文的结果并没有表现出显著性差异。这可能与皮质骨 ROI 的选取有关。文献中的皮质骨 ROI 靠近股骨远端,骨髓腔存在大量的骨小梁,骨小梁与皮质骨连接处不易区分,这可能会影响皮质骨组织形态分析结果。因此,本文选择股骨骨干处作为皮质骨的 ROI。事实上,这些变化与骨重建有密切联系。骨是一种动态器官,它通过不断去除旧骨或受损骨(骨吸收)和随后形成新骨(骨形成)来维持一种稳定状态,这个过程被称为骨重建<sup>[15]</sup>。在正常的骨重建过程中,骨吸收和骨形成之间的平衡受到严格的调控和维持,以确保在每个骨重建周期后骨量和力学强度不会发生重大改变<sup>[16]</sup>。然而,随着年龄的增长,绝经女性体内雌激素水平急速下降打破了骨吸收与骨形成的平衡机制,致使骨量丢失、微结构破坏,最终导致骨质疏松<sup>[17]</sup>。通常,骨重建发生在骨表面,即骨外膜表面、骨内膜表面、哈弗氏管表面和骨小梁表面。尽管松质骨的重量只占到

骨总重量的20%,但其表面积却高达骨总面积的80%<sup>[18]</sup>。因此,组织尺度下OVX大鼠松质骨丢失要比皮质骨严重。

细胞尺度下,OVX组骨细胞和LCN同样出现了微结构变化。本文发现,OVX组骨陷窝半轴长与SHAM组没有显著差异,但是骨陷窝厚度和骨小管直径却显著增大,这意味着OVX组骨细胞变小,同时骨细胞与骨陷窝之间的空隙增大。该结果与基于激光共聚焦显微镜测量的骨细胞和LCN组织形态结果呈现出相同的变化趋势<sup>[19]</sup>;但是基于激光共聚焦显微镜二维影像测量的骨小管直径大于本文结果,LCN孔隙率低于本文结果,基于激光共聚焦显微镜三维影像测量的骨小管体积大于本文结果。本文推测,上述差异与激光共聚焦显微镜的扫描精度有关。激光共聚焦显微镜的有效分辨率(180 nm)与骨小管的直径相近,并不能准确捕捉LCN组织形态。因此,SR-Nano-CT(有效分辨率64 nm)对于LCN组织形态分析更有优势。此外,本文还发现,OVX组骨陷窝密度要小于SHAM组,但并没有统计学差异。该结果与Sharma等<sup>[11]</sup>的研究结果一致,但与Tommasini等<sup>[20]</sup>的研究结果相反。本文推测,上述差异与样本解剖位置有关。Tommasini等<sup>[20]</sup>研究表明,不同解剖位置骨陷窝形态和密度呈现出较大差异,但没有表现出统计学意义。事实上,OVX大鼠骨细胞和LCN形态的变化对骨重建有巨大影响。骨细胞作为力学感受器,能够感受力学刺激,并将力学刺激转换成生化信号来控制破骨细胞和成骨细胞,进而调控骨吸收和骨形成,最终保证骨重建的平衡<sup>[21]</sup>。骨细胞感受和响应力学刺激的能力取决于多种因素,例如骨细胞的形状、细胞突起的数量、LCN的分布等<sup>[22]</sup>。骨细胞可以通过其细胞体直接感知基质应变,同时LCN独特的结构具有应变放大效应,能够局部放大基质应变,强化骨细胞的力学刺激<sup>[23]</sup>。研究表明,LCN孔隙的增大将改变骨细胞营养物质的运输和细胞间质液的流动,同时也破坏骨细胞突起与骨小管壁的连接,损害骨细胞对力学刺激的感知<sup>[24-25]</sup>。可见,OVX大鼠骨细胞和LCN微结构的变化会影响骨重建的平衡,使得骨吸收大于骨形成,致使骨量丢失、微结构破坏,最终导致骨质疏松。

此外,本文发现,细胞尺度下皮质骨存在大量

孔隙结构(LCN和血管),且OVX组皮质骨孔隙率显著增大,这也是OVX大鼠皮质骨骨密度降低的原因。然而,由于Micro-CT扫描精度有限,并不能捕捉到LCN结构。事实上,皮质骨在决定骨骼强度方面起着至关重要的作用,而且人类近80%的非椎体骨折都与皮质骨缺失有关<sup>[26]</sup>。研究表明:高达70%的年龄相关骨缺失是由皮质骨孔隙增大造成<sup>[26]</sup>。80岁老人的皮质骨孔隙率是20岁年轻人的4倍<sup>[26]</sup>,而当皮质骨孔隙率从4%增加到10%时,其骨强度将降低50%<sup>[18]</sup>。尽管皮质骨缺失在绝经期就开始了,但是并不明显<sup>[27]</sup>。这也证明了利用SR-Nano-CT评测细胞尺度下骨微结构变化的必要性。可见,OVX大鼠LCN微结构的变化将直接影响其皮质骨骨密度和强度。

本文还存在一些局限性。尽管SR-Nano-CT扫描精度高,能够清晰地重建骨细胞陷窝小管三维形态,但是扫描视野有限,获得的完整骨细胞陷窝小管系统数较少。骨细胞陷窝小管系统个体形态差异较大,需要大量数据来进行统计学分析。本文OVX和SHAM组统计的骨细胞骨陷窝数分别为24和16,相对较少,后期应该加大分析量。

## 4 结论

本文定量分析了OP大鼠组织和细胞尺度下的骨微结构变化情况。结果表明,去卵巢后大鼠骨在组织和细胞尺度出现了不同程度的微结构变化。其中,组织尺度主要是松质骨的骨丢失,皮质骨变化不大;细胞尺度下LCN显著增大,这将直接影响皮质骨骨密度和强度。

## 参考文献:

- [1] 国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委发布首个中国骨质疏松症流行病学调查结果[J]. 人口文摘, 2018, 18: 55-56.
- [2] 马俊岭, 郭海英, 阳晓东. 骨质疏松症的流行病学概况[J]. 中国全科医学, 2009, 12(9): 1744-1746.
- [3] 范慧洁, 戴如春, 盛志峰, 等. 去卵巢大鼠不同时期皮质骨与松质骨变化的显微CT观察[J]. 中华老年医学杂志, 2008, 27(1): 57-61.
- [4] REZNIKOV N, SHAHAR R, WEINER S. Bone hierarchical structure in three dimensions [J]. Acta Biomater, 2014, 10(9): 3815-3826.
- [5] ROBLING AG, BONEWALD LF. The Osteocyte: New insights [J]. Annu Rev Physiol, 2020, 82: 485-506.

- [ 6 ] TRESGUERRES FGF, TORRES J, LÓPEZ-QUILES J, *et al.* The osteocyte: A multifunctional cell within the bone [J]. *Ann Anat*, 2020, 227: 151422.
- [ 7 ] KOLLMANNBERGER P, KERSCHNITZKI M, REPP F, *et al.* The small world of osteocytes: Connectomics of the lacuno-canalicular network in bone [J]. *New J Phys*, 2017, 19(7): 073019.
- [ 8 ] DONG P, HAUPERT S, HESSE B, *et al.* 3D osteocyte lacunar morphometric properties and distributions in human femoral cortical bone using synchrotron radiation micro-CT images [J]. *Bone*, 2014, 60(3): 172-185.
- [ 9 ] LANGER M, PACUREANU A, SUHONEN H, *et al.* X-ray phase nanotomography resolves the 3D human bone ultrastructure [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e35691.
- [ 10 ] XILING L, CHUNLEI L, WEIJIA WILLIAM L, *et al.* Skeletal site-specific response to ovariectomy in a rat model: Change in bone density and microarchitecture [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2015, 26(4): 392-398.
- [ 11 ] SHARMA D, LARRIERA AI, PALACIO-MANCHENO PE, *et al.* The effects of estrogen deficiency on cortical bone microporosity and mineralization [J]. *Bone*, 2018, 110: 1-10.
- [ 12 ] YOUSEFZADEH N, KASHFI K, JEDDI S, *et al.* ovariectomised rat model of osteoporosis: A practical guid [J]. *Excli J*, 2020, 19: 89-107.
- [ 13 ] SHAH FA, STOICA A, CARDEMIL C, *et al.* Multiscale characterization of cortical bone composition, microstructure, and nanomechanical properties in experimentally induced osteoporosis [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2018, 106(4): 997-1007.
- [ 14 ] 张玉海, 戴如春, 廖二元, 等. 去卵巢对大鼠皮质骨微结构、骨密度及生物力学的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2011, 17(12): 1056-1060.
- [ 15 ] WOLFF J. Das gesetz der transform der knochen [J]. *Deut Med Wochenschr*, 1892(47): 1222-1224.
- [ 16 ] PIVONKA P, PARK A, FORWOOD MR. Functional adaptation of bone: The mechanostat and beyond [M]// PIVONKA P (Ed). *Multiscale mechanobiology of bone remodeling and adaptation*. Udine: Springer International Publishing, 2018: 1-60.
- [ 17 ] 王方, 邹德威, 吴继功, 等. 原发性骨质疏松症的病因学研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2012, 18(7): 675-679.
- [ 18 ] ZEBAZE RM, GHASEM-ZADEH A, BOHTE A, *et al.* Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: A cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2010, 375(9727): 1729-1736.
- [ 19 ] SHARMA D, CIANI C, MARIN PAR, *et al.* Alterations in the osteocyte lacunar-canalicular microenvironment due to estrogen deficiency [J]. *Bone*, 2012, 51(3): 488-497.
- [ 20 ] TOMMASINI SM, TRINWARD A, ACERBO AS, *et al.* Changes in intracortical microporosities induced by pharmaceutical treatment of osteoporosis as detected by high resolution micro-CT [J]. *Bone*, 2012, 50(3): 596-604.
- [ 21 ] 张西正. 骨重建的力学生物学研究[J]. *医用生物力学*, 2016, 31(4): 356-361.
- ZHANG XZ. The research on mechanobiology mechanism of bone remodeling [J]. *J Med Biomech*, 2016, 31(4): 356-361.
- [ 22 ] HEMMATIAN H, BAKKER AD, KLEIN-NULEND J, *et al.* Aging, osteocytes, and mechanotransduction [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15(5): 401-411.
- [ 23 ] HAIPENG C, YAN Y, HAIBO L, *et al.* Multiscale mechanical responses of young and elderly human femurs: A finite element investigation [J]. *Bone*, 2021, 153: 116125.
- [ 24 ] LANYON L, SKERRY T. Postmenopausal osteoporosis as a failure of bone's adaptation to functional loading: A hypothesis [J]. *J Bone Miner Res*, 2001, 16(11): 1937-1947.
- [ 25 ] PLOTKIN LI, MATHOV I, AGUIRRE JI, *et al.* Mechanical stimulation prevents osteocyte apoptosis: Requirement of integrins, Src kinases, and ERKs [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 289(3): 633-643.
- [ 26 ] BALA Y, ZEBAZE R, SEEMAN E. Role of cortical bone in bone fragility [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2015, 27(4): 406-413.
- [ 27 ] KHOSLA S, RIGGS BL, ATKINSON EJ, *et al.* Effects of sex and age on bone microstructure at the ultradistal radius: A population-based noninvasive *in vivo* assessment [J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(1): 124-131.