

# 胎肾细胞悬液对去卵巢大鼠骨组织形态计量学参数的影响

申艳<sup>1,2</sup> 郑清莲<sup>3△</sup>

**[摘要]** **目的:**观察胎肾细胞悬液对去卵巢大鼠骨组织形态计量学参数的影响,探讨胎肾对大鼠去卵巢所致骨质疏松症的作用。**方法:**48只SD雌性大鼠,随机分为5组,即假手术组、模型组、雌激素组、胎肾活细胞组和胎肾死细胞组。假手术组仅手术切除腹腔少量脂肪,其余各组行去卵巢手术造模。术后12周,假手术组及模型组使用生理盐水干预,雌激素组使用尼尔雌醇混悬液干预,胎肾活细胞组使用胎肾活细胞悬液干预,胎肾死细胞组使用胎肾死细胞悬液干预。各组连续用药干预4周后,取血清行血清雌激素水平检测,取股骨远端1/3做骨病理切片,行骨组织形态计量学观测。**结果:**与假手术组比较,模型组雌激素水平显著降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。骨小梁排列稀疏、无序,骨小梁间隙显著增大,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。骨小梁密度、骨小梁厚度、骨小梁面积百分比均显著降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。与模型组比较,雌激素组、胎肾细胞各组的雌激素水平均显著升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。骨小梁排列较紧密、排列较整齐、交织成网,骨小梁间隙显著缩小,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。骨小梁密度、骨小梁厚度、骨小梁面积百分比均显著增加,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。与雌激素组比较,胎肾细胞各组雌激素水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但胎肾死细胞组骨小梁间隙显著缩小且骨小梁密度显著增加,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。与胎肾活细胞组比较,胎肾死细胞组骨小梁间隙显著缩小、骨小梁密度显著增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论:**胎肾细胞各组对去卵巢大鼠骨量的增加、骨小梁结构及其连接性的改善、血清雌二醇水平的提高有明显作用,说明胎肾有治疗大鼠去卵巢所致骨质疏松症的作用。

**[关键词]** 胎肾细胞悬液;去卵巢大鼠;骨质疏松症;骨组织形态计量学

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2017)12-0004-04

## Effect of Fetal Renal Cell Suspension on Bone Histomorphometry in Ovariectomized Rats

SHEN Yan<sup>1,2</sup> ZHENG Qinglian<sup>3△</sup>

<sup>1</sup>Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300000, China;

<sup>2</sup>Department of Encephalopathy, Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China;

<sup>3</sup>Department of Traditional Chinese Medicine, the First Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710003, China.

**Abstract Objective:** To observe the effect of fetal renal cell suspension (FRCS) on bone histomorphometry parameters in ovariectomized rats, and to investigate the effect of fetal renal on osteoporosis in ovariectomized rats. **Methods:** All 48 female SD rats were randomly divided into five groups, including sham group, model group, estrogen group, fetal renal living cells group (FRLC group) and fetal renal death cell group (FRDC group). In sham group, only a small amount of fat was removed from the abdominal cavity, and all the other groups were underwent ovarian surgery. Twelve weeks after operation, the sham group and model group were treated with physiological saline, and estrogen group was treated with Neal estradiol suspension. The FRLC group was treated with fetal renal living cell suspension, and the FRDC group was treated with fetal

renal dead cell suspension. After continuous intervention for 4 weeks, serum levels of estrogen were detected, and the structure of the 1/3 of the distal femur was observed and detected with pathological image analysis system. **Results:** Compared with sham group, the estrogen level of model group was significantly lower ( $P<0.01$ ), trabecular sparse, disor-

基金项目:陕西省科技研究发展(攻关)计划项目(2004K16-G171)

<sup>1</sup> 天津中医药大学(天津, 300000)

<sup>2</sup> 陕西省中医医院脑病科

<sup>3</sup> 西安交通大学第一附属医院中医科

△通信作者 E-mail: zheng32261@163.com

der, trabecular gap significantly increased ( $P < 0.01$ ); trabecular bone density, trabecular thickness, percentage of trabecular bone area decreased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, in fetal renal cell groups the level of estrogen were significantly increased ( $P < 0.01$ ), trabecular arranged closely and neatly, woven into a net, trabecular gap was significantly reduced ( $P < 0.01$ ); trabecular bone density, trabecular thickness and the percentage of trabecular bone area increased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with estrogen group, the level of estrogen were not significantly difference in fetal renal cell groups ( $P > 0.05$ ), but in FRDC group trabecular gap was significantly reduced and trabecular bone density was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with FRLC group, trabecular bone density in FRDC group increased significantly ( $P < 0.01$ ), and trabecular gap significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The fetal renal cell groups have obvious effect on increasing bone mass, improving trabecular bone structure and connectivity, increasing serum estrogen level of ovariectomized osteoporosis rats. This study suggests that fetal renal cell suspension could effectively treat the osteoporosis induced by ovariectomy in rats.

**Keywords:** fetal renal cell suspension (FRCS); ovariectomized rats; osteoporosis; bone histomorphometry

骨质疏松症是一种因骨微结构退化、骨量丢失, 容易导致骨折的全身性骨病<sup>[1]</sup>, 以骨髓腔间隙变宽、骨小梁变少、骨皮质变薄为主要病理表现<sup>[2,3]</sup>。骨质疏松症及骨质疏松性骨折是老年常见病、多发病, 尤其好发于绝经后女性<sup>[4]</sup>。随着女性绝经后雌激素水平的逐渐下降, 骨质疏松症发生率逐年大幅上升<sup>[5]</sup>。目前骨质疏松症已成为中老年人好发的三大疾病之一<sup>[6]</sup>, 严重影响中老年人的健康和生活质量, 因此寻求有效防治骨质疏松症的药物成为医学界亟待解决的问题。

本研究依据中医“肾主骨”及“以脏补脏”理论, 认为胎肾对骨质疏松症可能具有良好的防治作用, 并且前期实验已经证明, 胎肾对老龄及维甲酸所致大鼠的骨质疏松症均有良好的治疗作用, 并对去卵巢所致骨质疏松大鼠的衰老及骨生物力学指标均有明显的改善作用<sup>[7-10]</sup>。本研究是在前期研究的基础上, 从骨组织形态计量学角度, 进一步探讨胎肾对大鼠去卵巢所致骨质疏松症的作用, 同时进一步充实中医“肾主骨”及“以脏补脏”的理论。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

4 个月龄未交配健康纯种 SD 雌性大鼠 48 只, 体重 290~330 g; 普通级、孕 19~21 d 雌性 SD 大鼠 112 只, 所有实验动物饲养条件一致。

### 1.2 药物

**1.2.1 胎肾活细胞悬液的制备** 处死孕 19~21 d 的 SD 大鼠, 取出胎鼠消毒后, 转移入超净工作台, 然后取出胎肾用生理盐水冲洗 3 遍, 并去除肾蒂及肾包膜, 再用眼科剪将胎肾剪碎, 于 200 目尼龙网上用注射器针芯研磨胎肾, 同时用生理盐水缓慢冲洗, 即可得到胎肾活细胞悬液, 台盼蓝染色确定活细胞数在 85% 以上, 并将混悬液浓度调整为  $2 \times 10^7$  个/mL 备用<sup>[8]</sup>。

**1.2.2 胎肾死细胞悬液的制备** 通过超声粉碎机将胎肾活细胞灭活后得到胎肾死细胞悬液, 具体操作方法如下: 把装有胎肾活细胞悬液的容器放入冰水中, 让

超声粉碎机的探头接近胎肾活细胞悬液的液面, 重复粉碎 4 次, 每次频率为 40 Hz, 时间 30 s, 即可得到胎肾死细胞悬液。

**1.2.3 尼尔雌醇混悬液** 使用生理盐水将尼尔雌醇片溶解后, 配成 0.25 mg/mL 浓度的混悬液。

### 1.3 主要实验仪器及试剂

SCW-BCM 生物超净工作台 (苏州市长春电子仪器厂); 普通光学显微镜 (日本 Olympus 公司); 多功能彩色病理图像分析系统 (西安交通大学第一附属医院病理科); 雌二醇 ( $E_2$ ) 放射免疫试剂盒 (天津九鼎医学生物工程有限公司)。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 分组及造模** 48 只 SD 雌性大鼠, 按体质量排序编号, 按假手术组 8 只, 模型组、雌激素组、胎肾活细胞组及胎肾死细胞组各 10 只, 查阅随机数字表进行随机分组。假手术组仅手术切除腹腔少量脂肪, 其余各组均行去卵巢手术造模。具体手术方法参见文献<sup>[9]</sup>。

**1.4.2 给药方法** 术后 12 周开始药物干预, 假手术组、模型组尾静脉注射生理盐水, 剂量 2 mL/kg, 2 次/周; 雌激素组灌胃尼尔雌醇混悬液, 剂量 1 mg/kg, 1 次/周; 胎肾活细胞组、胎肾死细胞组分别尾静脉注射胎肾活细胞悬液、胎肾死细胞悬液, 剂量 2 mL/kg, 2 次/周。

**1.4.3 标本的采集制作** 持续给药 4 周后, 禁食 24 h, 并用乙醚麻醉后, 于腹主动脉采血 5 mL, 分离血清, 4 °C 冰箱保存血清,  $E_2$  待测。

处死动物, 留取右侧股骨, 剔净软组织, 用咬骨钳取股骨远端 1/3 段, 即刻用 10% 福尔马林溶液固定标本, 固定 1 d 后取出标本, 用强酸脱钙, 脱钙后的标本再进行石蜡包埋, 硬组织切片机切成 5  $\mu$ m 的骨片, 苏木精-伊红染色后做成脱钙骨光镜样品<sup>[11,12]</sup>, 使用显微镜观察骨组织形态, 使用多功能彩色病理图像分析仪测定骨组织形态计量学参数。

### 1.5 观测指标及方法

1) 测定血清  $E_2$  水平: 取大鼠血清用放射免疫法测

定  $E_2$  的水平,具体操作按照放射免疫试剂盒说明书进行。2)观察骨组织形态学变化:使用普通光学显微镜观察骨组织形态。3)测量骨组织形态计量学参数:使用多功能彩色病理图像分析仪,于股骨干骺端生长板下 1~5 mm 范围内的次级松质骨中测量骨小梁面积百分比、骨小梁厚度、骨小梁密度和骨小梁间隙<sup>[13]</sup>。

1.6 统计学方法

所有数据统一用  $\bar{x} \pm s$  表示,数据分析使用 SPSS19.0 统计软件。使用单因素方差分析法进行各组间比较,使用 Student-Newman-Keuls 法进行两两间比较, $P < 0.05$  差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清雌激素( $E_2$ )水平的变化

与假手术组比较,模型组血清  $E_2$  水平显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组比较,雌激素组及胎肾各组血清  $E_2$  水平均显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。但雌激素组与胎肾各组两两比较,血清  $E_2$  水平均差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

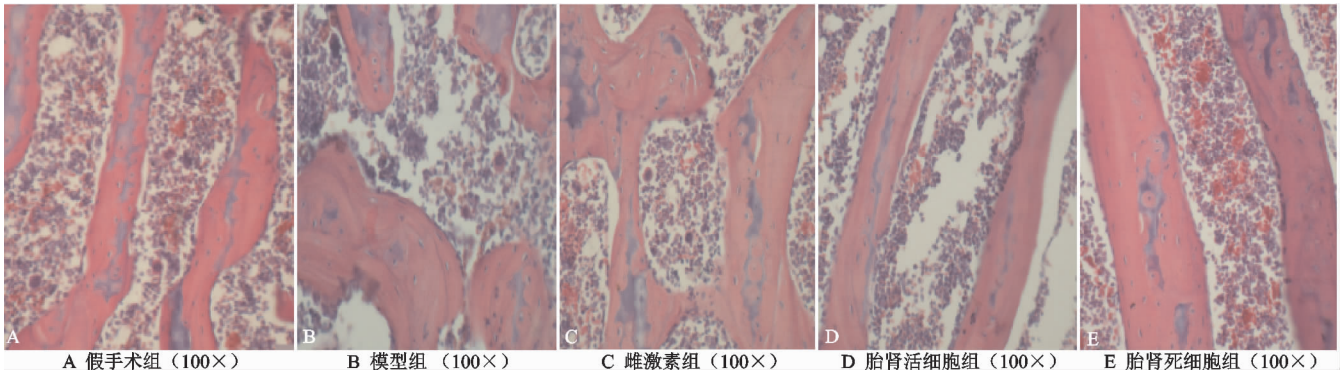


图 1 各组大鼠股骨远端 1/3 骨组织形态学改变苏木精-伊红染色图

2.3 对各组大鼠骨组织形态计量学参数的影响

2.3.1 各组大鼠骨小梁面积百分比、骨小梁厚度的比较

与假手术组比较,模型组的骨小梁面积百分比、骨小梁的厚度均显著减小,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组比较,雌激素组、胎肾各组的骨小梁面积百分比、骨小梁厚度均显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。但雌激素组与胎肾各组两两比较,骨小梁面积百分比、骨小梁厚度差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 各组大鼠骨小梁面积百分比(Tb. Ar)、骨小梁厚度(Tb. Th)的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	Tb. Ar(%)	Tb. Th( $\mu$ m)
假手术组	30.66 $\pm$ 5.38	44.77 $\pm$ 1.25
模型组	17.50 $\pm$ 4.89	31.91 $\pm$ 3.73
雌激素组	27.45 $\pm$ 8.10	41.91 $\pm$ 11.29
胎肾活细胞组	26.78 $\pm$ 7.26	41.91 $\pm$ 11.29
胎肾死细胞组	25.49 $\pm$ 6.46	43.41 $\pm$ 9.70
F	5.30	5.91
P	0.002	0.001

表 1 各组大鼠血清  $E_2$  水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	雌激素水平(pg/mL)
假手术组	8	2.09 $\pm$ 1.08
模型组	10	0.26 $\pm$ 0.23
雌激素组	10	1.39 $\pm$ 0.52
胎肾活细胞组	10	1.16 $\pm$ 0.71
胎肾死细胞组	10	1.20 $\pm$ 0.53
F		7.50
P		0.001

2.2 各组大鼠骨组织形态学的变化

假手术组骨小梁排列紧密、有序且交织成网;模型组骨小梁排列稀疏、无序;雌激素组骨小梁排列较稀疏、稍紊乱,基本交织成网;胎肾各组骨小梁排列较稀疏,但骨小梁增粗且排列有序、交织成网。与假手术组比较,胎肾各组骨小梁排列虽较稀疏、但骨小梁增粗、排列有序;与模型组及雌激素组比较,胎肾各组骨小梁排列较紧密、有序,且骨小梁增粗,其中胎肾死细胞组骨小梁最粗且排列形态最好。各组大鼠股骨远端 1/3 骨组织形态学改变苏木精-伊红染色,见图 1。

2.3.2 各组大鼠骨小梁密度(Tb. N)、骨小梁间隙(Tb. Sp)的比较

与假手术组比较,模型组的骨小梁密度显著减小,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );骨小梁间隙显著增大,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。模型组、雌激素组及胎肾活细胞组两两比较,骨小梁密度及骨小梁的间隙差异无统计学意义( $P > 0.05$ );但胎肾死细胞组与模型组、雌激素组、胎肾活细胞组比较,骨小梁密度显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );且骨小梁间隙显著缩小,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 各组大鼠骨小梁密度(Tb. N)、骨小梁间隙(Tb. Sp)的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	Tb. Sp( $\mu$ m)	Tb. N(mm)
假手术组	67.60 $\pm$ 8.71	3.62 $\pm$ 0.15
模型组	101.35 $\pm$ 10.35	1.29 $\pm$ 0.55
雌激素组	99.21 $\pm$ 23.82	1.40 $\pm$ 0.50
胎肾活细胞组	96.39 $\pm$ 11.14	1.47 $\pm$ 0.68
胎肾死细胞组	83.66 $\pm$ 12.77	2.35 $\pm$ 0.81
F	19.18	38.19
P	0.001	0.001

### 3 讨论

因骨质疏松症大多表现为腰背及四肢疼痛、骨折等症状,中医多将其归于“痹症”“腰疼”“骨痿”等症的范畴,并且认为本病与肾虚密切相关<sup>[14]</sup>。这种认识的理论基础是“肾主骨”,即肾精充足,故骨髓有余,骨有所养,骨坚行便。反之,老年人肾精亏损,故骨髓空虚,骨失所养,则发“痹症”“腰疼”“骨痿”。依据中医“虚则补之”的治疗原则,当用补肾法进行治疗。

“以脏补脏”法基于中医“同气相求”理论的治疗方法,具体指当人体的某一脏器功能发生异常时,可通过使用相应的动物脏器,以达到治疗疾病的目的。此法除了“补”与“治”之功外,尚有引诸药直达病所之意。

现代医学的研究也逐步证明了“以脏补脏”理论的合理性和可行性。动物药的主要成分为蛋白质、氨基酸、多肽类及生物碱等物质,而这些物质是人体生长、发育、免疫调节和新陈代谢不可或缺的物质,加之动物界成员同源性很高,所以动物药具有较高的生物活性,较草本药物更容易被人体吸收,在人体多种疾病的治疗中应用广泛<sup>[15]</sup>。刘凡等<sup>[16]</sup>已实验证明,通过胎肾移植的方法可有效治疗急性肾功能衰竭模型动物,并从胎肾破碎液中提取到了起治疗作用的有效耐热蛋白成分,从而为“以肾补肾”法提供了客观的物质基础。

本研究依据中医“以脏补脏”理论,认为胎肾是很好的补肾药材,它属于动物药即血肉有情之品,除了具有补肾的功效,还能引药直达病所<sup>[17]</sup>,同时较草本药物更容易被人体吸收,从而能更快、更好地发挥补肾功效。且本研究小组前期研究已证明,通过对老龄及维甲酸致骨质疏松大鼠尾静脉注射胎肾细胞悬液,可明显改善实验动物的骨质疏松改变<sup>[7,8]</sup>,进一步为“肾主骨”及“以脏补脏”理论提供了有力的现代医学研究证据,因此本研究选用胎肾作为抗骨质疏松症的药物。

去卵巢大鼠是公认的研究骨质疏松症的经典模型。雌性大鼠切除卵巢后,雌激素水平下降,出现骨转换增加、松质骨骨量减少,骨强度下降,这与绝经后骨质疏松症的特点相似,同时去卵巢大鼠在骨折部位及骨量下降部位上也与人类极其相似<sup>[18]</sup>。另外,去卵巢大鼠与绝经后女性对雌激素替代治疗的反应一致,均不增加骨转换和骨丢失<sup>[19]</sup>,因此本研究选用去卵巢大鼠作为骨质疏松症的研究对象。

骨组织形态计量学是定量研究和观察骨组织结构及形态的一门体视学技术,因为它能对骨小梁的质量、形态、结构进行全面、准确的定量分析,因此被认为是量化分析骨组织微结构的金指标<sup>[20]</sup>。其中骨小梁面积百分比是反映骨量的参数,骨小梁间隙是描述骨结构的参数,而骨小梁密度和骨小梁厚度既是描述骨小梁结构形态的参数,同时也是反映骨量的参数<sup>[21]</sup>。

FDA 把能改善去卵巢大鼠骨组织形态计量学参数作为评价治疗骨质疏松症新药的疗效标准之一<sup>[22]</sup>,所以本研究选择了骨组织形态计量学参数来描述骨小梁的形态结构和骨量的变化,从而客观评价实验药物对骨质疏松症的治疗效果。

本研究结果表明,与假手术组比较,模型组雌激素水平显著下降,骨小梁排列稀疏、无序,骨小梁间隙显著增大,骨小梁厚度、骨小梁密度、骨小梁面积百分比均显著减小,这说明去卵巢能导致大鼠雌激素水平下降,松质骨骨量丢失并伴有骨结构的破坏,本研究大鼠去卵巢所致骨质疏松症的造模是成功的。

与模型组比较,胎肾细胞各组雌激素水平均显著提高,骨小梁排列较紧密、有序,且骨小梁增粗,同时骨小梁面积百分比、骨小梁厚度均显著增加,但仅胎肾死细胞组骨小梁密度显著增加且骨小梁间隙显著缩小。与雌激素组比较,胎肾各组在提高雌激素水平、增加骨小梁面积百分比及骨小梁厚度方面作用相当,但胎肾死细胞组在增加骨小梁密度及缩小骨小梁间隙方面显著优于雌激素组。以上结果说明胎肾细胞各组能显著提高去卵巢大鼠的雌激素水平、显著增加其骨量,明显改善其骨小梁的形态及连接性、稳定骨小梁的结构,从而对骨质疏松症起到治疗作用。且以胎肾死细胞悬液对去卵巢大鼠骨质疏松症的治疗作用显著,说明胎肾起治疗作用的有效物质,可能是某种具有生物活性的蛋白。进一步确定胎肾治疗骨质疏松症的有效生物活性蛋白、进行胎肾毒副作用、最佳有效剂量的研究,将是本研究今后探索的方向。

### 参考文献

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊治指南(2011)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2011, 4(1): 2-17.
- [2] 廖远见. 益肾壮骨汤治疗骨质疏松症临床研究[J]. 河南中医, 2015, 35(6): 1325-1326.
- [3] 张智海, 刘忠厚, 石少辉, 等. 中国大陆地区以-2.5SD 为诊断的骨质疏松症发病率文献回顾性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(1): 1-7.
- [4] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会, 中华医学会骨科学分会骨质疏松学组. 骨质疏松性骨折患者抗骨质疏松治疗与管理专家共识[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2015, 8(3): 189-195.
- [5] 李绪贵, 张琦, 熊昌军. 绝经后骨质疏松症的患病情况及相关危险因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(29): 5047-5049.
- [6] 李鹏, 罗明, 马洪顺. 药物治疗老龄骨质疏松大鼠骨显微结构与骨组织形态学指标的变化[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(14): 3975-3977.

- [7] 郑清莲,李信民,刘俊田,等.胎肾细胞移植对老龄大鼠性激素水平的影响[C]//中医药学术发展论文集,2005:744-746.
- [8] 彭宁,李锐,张维,等.胎肾细胞移植对维甲酸所致大鼠骨质疏松症的实验研究[J].中国骨质疏松杂志,2001,7(4):300-304.
- [9] 霍志刚,郑清莲,李信民,等.胎肾细胞悬液对去卵巢骨质疏松大鼠骨生物力学性能的影响[J].中国骨质疏松杂志,2001,7(4):854-857.
- [10] 彭宇,郑清莲,李信民,等.胎肾细胞悬液对去卵巢大鼠自由基的影响[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2010,30(4):416-418.
- [11] 王艳,周广举,严宗逊,等.川牛膝在去卵巢大鼠体内的骨保护作用[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(8):918-921.
- [12] 郑红星,祁珊珊,曾海涛,等.葛根异黄酮联合 VitD3 对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织构造的影响[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(7):832-836.
- [13] 温鑫鑫,雷伟,王法琪,等.松质骨显微结构参数与表观力学强度关系研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(12):1495-1500.
- [14] 葛继荣,郑洪新,万小明,等.中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2015)[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1023-1028.
- [15] 孟祥才,孙晖,王振月.从生物学角度探讨动物药的特点[J].中药材,2014,37(1):172-176.
- [16] 刘凡,张运涛,郭立安,等.大白兔胎肾细胞内肾生长刺激物质的提取部分纯化及生物学效应测定[J].临床泌尿外科杂志,2002,17(11):619-621.
- [17] 钟伟才,潘颖宜,李文龙,等.孙思邈治疗消渴病的用药规律初探[J].辽宁中医杂志,2012,39(8):1523-1524.
- [18] 王春生,苏峰,宗治国,等.骨质疏松模型建立的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1043-1048.
- [19] Purdie DW. Consequences of long term hormone replacement therapy[J]. Br Med Bull,2000,56(3):809-823.
- [20] 于顺禄,魏学磊,熊光宜,等.骨计量学方法在骨质疏松模型中的定量观察[J].中国体视学与图像分析,2012,17(3):207-214.
- [21] 陈珺,张豪,杨国柱,等.骨形态计量学目前应用专家共识[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(9):1031-1038.
- [22] 李鹏,罗民,马洪顺.药物治疗老龄骨质疏松大鼠骨显微结构与骨组织形态学指标的变化[J].老年医学杂志,2014,34(14):3975-3977.

(收稿日期:2017-06-02)