

大鼠髌突软骨下骨骨微结构生长发育的特征

https://doi.org/10.12307/2022.1027 刘纯¹, 贾莹¹, 杨世榕¹, 丁琪², 杨桦¹, 陈波³

投稿日期: 2021-09-27

采用日期: 2021-11-11

修回日期: 2021-12-10

在线日期: 2021-12-30

中图分类号:

R459.9; R318; R782

文章编号:

2095-4344(2022)32-05162-05

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章特点一

△此次研究设置了0, 3, 5, 7个月4个时间点连续观察髌突骨质生长变化, 观察周期涵盖了生长全周期, 即生长高峰期、平稳期以及衰减期, 有利于全面了解性别及年龄对骨质发育的全周期影响。

实验分组:

SPF级SD大鼠, 雌雄各半, 3周龄, 体重(60±5)g。

结论:

髌突软骨下骨骨质致密, 以板状骨为主。雌性髌突软骨下骨生长发育早于雄性, 并且先于雄性进入生长平台期。

观察指标:

骨体积分数、骨面积密度、骨表面积和骨体积比例、骨小梁厚度、骨小梁分离度、骨小梁数目、骨小梁模式因子、结构模式指数、连通性、骨小梁连接密度、各向异性度、总孔隙率。

文题释义:

髌突软骨下骨: 是髌突骨改建与骨重塑的最终呈现区域, 富含血管与神经, 能够营养软骨, 并且能够感受应力, 在解剖结构上具有更为活跃的改建基础。

骨微结构: 骨质变化多先以骨微结构改变表现出来。骨微结构主要通过成骨和破骨细胞的数量、骨小梁形态结构、骨胶原密度和胶原连接、骨小梁排列结构等的变化导致骨强度和骨量改变。

摘要

背景: 髌突的生长发育是影响整个颞下颌关节健康的一个重要因素。髌突软骨下骨作为髌突骨改建与骨重塑的最终呈现区域, 具有更为活跃的改建基础, 而以往研究并未对髌突软骨下骨及其微观结构进行充分探讨。

目的: 应用Micro CT观察大鼠髌突软骨下骨微结构及生长发育特点。

方法: 24只3周龄SD大鼠雌雄各半, 随机分为0月龄组、3月龄组、5月龄组和7月龄组, 每组6只。麻醉处死后截取右侧下颌髌突, 行Micro CT扫描, 将髌突9宫格划分后, 选取中部前、后段软骨下骨作为兴趣区域, 检测骨微结构参数。

结果与结论: ①雌鼠0-7个月之间多数参数发生了显著生长变化($P < 0.05$); 从3-5个月, 骨面积密度、骨表面积和骨体积比例、骨小梁数目、连通性以及骨小梁连接密度发生了显著变化($P < 0.05$), 部分参数开始稳定; 到7个月, 只有骨体积分数和总孔隙率依然显示显著差异($P < 0.05$); ②雄鼠从0-7个月仅骨小梁模式因子、骨小梁分离度、结构模式指数以及连通性随时间生长变化不明显($P > 0.05$); 从3-5个月多数参数平稳变化($P > 0.05$); 生长至7月龄, 骨面积密度、骨小梁数目、连通性及骨小梁厚度大幅改变($P < 0.05$); ③从3-7个月雌雄大鼠骨形态、骨小梁形态、骨小梁空间结构均发生显著变化, 但雄性变化较雌性波动更大; ④结果说明, 髌突软骨下骨骨质致密, 以板状骨为主; 雌性髌突软骨下骨生长发育早于雄性, 并且先于雄性进入生长平台期。

关键词: 颞下颌关节; 髌突; 髌突软骨下骨; 骨微结构; 微计算机断层扫描技术; 生长发育; 大鼠

Characteristics of the growth, development and microarchitecture of condyle subchondral bone in rats

Liu Chun¹, Jia Ying¹, Yang Shirong¹, Ding Qi², Yang Hua¹, Chen Bo³

¹Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China; ²Department of Orthodontics, School of Stomatology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China; ³Guizhou University of Traditional Chinese Medical, Guiyang 550025, Guizhou Province, China

Liu Chun, Master candidate, Physician, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Corresponding author: Jia Ying, Professor, Master's supervisor, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: The growth and development of the condyle is an important factor affecting the health of the temporomandibular joint. The condyle subchondral bone, as the final presentation area of condylar bone reconstruction and bone remodeling, has a more active basis for remodeling. However, previous studies have not fully explored the subchondral bone of the condyle and its microarchitecture.

OBJECTIVE: To study the microarchitecture, growth and development characteristics of rat condyle subchondral bone by Micro-CT.

METHODS: Twenty-four Sprague-Dawley rats of both sexes, aged 3 weeks, were randomly divided into 0-month group, 3-month group, 5-month group, and 7-month group (6 rats per group). After execution under anesthesia, the right mandibular condyle of each rat was cut out for Micro-CT scans, in which the condyle was divided into nine grids, with the middle anterior and posterior subchondral bone as the regions of interest to detect the bone microstructure parameters.

¹贵州医科大学, 贵州省贵阳市 550004; ²贵州医科大学附属口腔医院正畸科, 贵州省贵阳市 550004; ³贵州中医药大学, 贵州省贵阳市 550025

第一作者: 刘纯, 女, 1991年生, 湖南省湘西州人, 土家族, 贵州医科大学在读硕士, 医师, 主要从事口腔正畸学研究。

通讯作者: 贾莹, 教授, 硕士生导师, 贵州医科大学, 贵州省贵阳市 550004

https://orcid.org/0000-0002-6044-4573 (刘纯)

基金资助: 国家自然科学基金(81860795), 项目负责人: 贾莹; 贵州省科技计划项目(黔科合[2018]2754号), 项目负责人: 贾莹; 贵阳市科技计划项目(筑科合同[2018]1-83号), 项目负责人: 杨桦

引用本文: 刘纯, 贾莹, 杨世榕, 丁琪, 杨桦, 陈波. 大鼠髌突软骨下骨骨微结构生长发育的特征[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(32):5162-5166.



RESULTS AND CONCLUSION: Most parameters of female rats changed significantly at the age from 0 to 7 months ($P < 0.05$). From 3 to 5 months of age, there were significant changes in bone mineral density, bone surface area to bone volume ratio, trabecular number, connectivity, and changes density ($P < 0.05$), and some parameters began to level off. By 7 months, only bone volume fraction and total porosity still showed significant differences ($P < 0.05$). For male rats aged from 0 to 7 months, only trabecular pattern factor, trabecular separation, structural model index, and connectivity changed insignificantly with time ($P > 0.05$). From 3 to 5 months of age, most parameters of male rats changed steadily ($P > 0.05$). For male rats at the age of 7 months, bone mineral density, trabecular number, connectivity, and trabecular thickness changed significantly ($P < 0.05$). From 3 to 7 months of age, there were significant changes in bone morphology, trabecular morphology and spatial structure of trabecular bone in male and female rats, but these changes in males were greater than those in females. The above results explain that the condyle subchondral bone is dense and dominated by the lamellar bone; and the condyle subchondral bone develops earlier and presents with a steady growth earlier in female rats than male rats.

Key words: temporomandibular joint; condyle; condyle subchondral bone; bone microarchitecture; Micro-CT; growth and development; rat

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81860795 (to JY); Guizhou Science and Technology Project, No. qkh [2018]2754 (to JY); Guiyang Science and Technology Project, No. Zhuke contract [2018]1-83 (to YH)

How to cite this article: LIU C, JIA Y, YANG SR, DING Q, YANG H, CHEN B. Characteristics of the growth, development and microarchitecture of condyle subchondral bone in rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2022;26(32):5162-5166.

0 引言 Introduction

髁突是下颌骨运动的直接承担载荷结构，是颞下颌关节的重要生长区，也是出生后下颌骨生长的重要来源，以软骨内成骨方式具有终身改建能力^[1-2]；其骨质构成主要是表面软骨以及软骨下骨，髁突软骨与软骨下骨的生长改建联系紧密，软骨下骨富含血管与神经，能够营养软骨，并且能够感受应力，在解剖结构上具有更为活跃的改建基础^[3-4]。而骨质变化多起始于骨微环境内一系列复杂的生物学反应，并且率先以骨微结构改变表现出来^[5]。早在19世纪50年代，学者们就进行了多例下颌髁突外科手术，为髁突结构研究奠定了基础^[6]。1986年，SUZUKI^[7]应用荧光标记对大鼠髁突生长情况进行研究，结果显示软骨下骨厚度随年龄增长不断增加。而后对髁突生长的研究多停留在组织形态学观察上，直到Micro-CT引入，学者们开始关注髁突微结构在生长变化中的转变过程，但重点在于研究正畸手段干预或外科损伤对下颌髁突结构的影响，并没有对正常生长大鼠性别与年龄相关变化进行详细描述，并且涉及的参数较为局限^[8-10]。

此次研究从骨形态、骨小梁形态、骨小梁空间结构3个方面选取多个参数，更全面地分析探讨髁突软骨下骨微结构特点及生长发育情况，以期在今后髁突软骨下骨的深入研究提供理论依据。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 完全随机设计方法。

1.2 时间及地点 实验于2019年5-12月在贵州医科大学实验动物中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 选取24只3周龄SPF级SD大鼠，雌雄各半，体质量(60±5)g，由贵州医科大学动物实验中心提供，合格证号：SCXK(湘)2019-0014；使用许可证号：SYXK(黔)2018-0001。饲养于温度22-24℃、湿度55%-60%、12h交替明暗照明的环境。雌雄分笼饲养，每笼3只自由饮食、饮水，适应性饲养1周后，开始实验。

1.3.2 实验主要试剂及设备 2%戊巴比妥钠(上海恩化化学技术有限公司)，多聚甲醛溶液(北京兰杰柯科技有限公司)，VENUS® Micro CT(平生医疗科技(昆山)有限公司)，注射器、镊子、金冠剪等由贵州医科大学提供。

1.4 实验方法

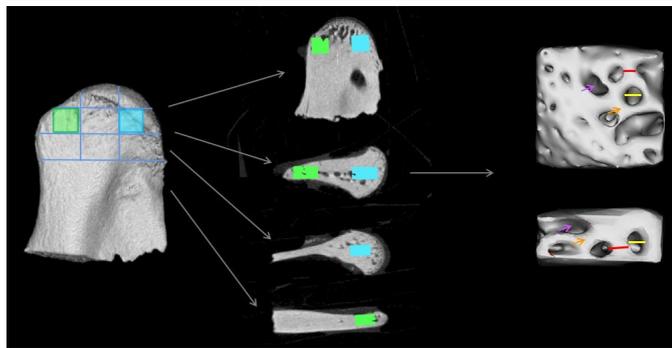
1.4.1 实验分组及模型建立 24只SD大鼠适应性饲养1周以后，按随机数字表法分为4组，即0月龄组、3月龄组、5月龄组和7月龄组，每组6只，雌雄各半。分组当天使用2%戊巴比妥钠(0.2 mL/kg)对0月龄大鼠进行腹腔注射，麻醉后处死，分离出右侧下颌骨，去除表面软组织，从乙状切迹最低处截断，将髁突固定于40 g/L多聚甲醛，用以进行Micro CT扫描。其余分别在饲养3, 5, 7个月后麻醉下处死大鼠，处死方法及样本保存方法同0月龄组。实验造模及方法参照课题组前期实验及相应文献进行^[11-12]。此次动物实验经贵州医科大学实验动物伦理委员会审查通过，IACUC号为2000890。对实验动物使用3R原则给予人道主义关怀。

组织工程实验动物造模过程中的相关问题：

造模目的	探讨大鼠髁突软骨下骨微结构及生长发育特点
研究问题借鉴已有标准	参考文献建立大鼠髁突生长模型 ^[11-12]
准动物模型造模	
模型与所研究疾病的关系	SD大鼠是骨质疏松及相关骨代谢研究的常用实验动物 ^[13-14] 。1月鼠龄相当于人类儿童时期，6月鼠龄相当于人类青春期末期，骨生长进入静止期 ^[15] 。因而此次实验设置0, 3, 5, 7月龄4个时间点连续观察髁突骨质生长变化情况
动物来源及品系	SPF级SD大鼠，雌雄各半，3周龄，体质量(60±5)g，由贵州医科大学动物实验中心提供
动物数量及分组方法	SD大鼠随机分为4组，每组6只，雌雄各半
造模成功评价指标	大鼠生存情况、生长情况良好，骨微结构增龄性变化
造模后实验观察指标	实验观察期内观察大鼠生存状态、饮水量及骨微结构指标
造模后动物处理	按时间分组麻醉下处死大鼠，取右侧髁突备检
伦理委员会批准	此次动物实验经贵州医科大学实验动物伦理委员会审查通过，IACUC号为2000890

1.4.2 Micro-CT扫描成像及髁突骨微结构参数的测量 使用Micro-CT对大鼠髁突进行扫描，扫描参数设定为：电压90 kV，电流0.08 mA，曝光时间400 ms。使用Avatar软件对扫描图像进行三维重建及分析，从Micro-CT扫描图像中，将髁突按九宫格分区后，取中部前、后各1 mm×1 mm×0.5 mm立方体为感兴趣区，见图1，进行3次重复测量后，分别取平均值，获得前、后部软骨下骨骨微结构参数。

主要分析参数：骨体积分数、骨面积密度、骨表面积和骨体积比例、骨小梁分离度、骨小梁厚度、骨小梁数目、骨小



图注: ■: 感兴趣区域 1; ■: 感兴趣区域 2; →: 骨小梁; →: 孔隙; 红色线段: 骨小梁厚度; 黄色线段: 骨小梁间距。调整髌突影像至冠状面、矢状面、横断面均显示面积最大层面, 将髌突软骨下骨区域分为 9 个区, 分别选取分区中部前、后段为 1 mm×1 mm×0.5 mm 的立方体为感兴趣区域, 重复测量 3 次, 得出髌突软骨下骨前、后段骨微结构参数值

图 1 | 大鼠髌突 Micro-CT 扫描感兴趣区选取示意图

Figure 1 | Schematic diagram of regions of interest of the rat condyle identified using Micro-CT scans

梁模式因子、连通性、结构模式指数、骨小梁连接密度、各向异性度、总孔隙率。

1.5 主要观察指标 ①雌鼠髌突软骨下骨生长变化特征; ②雄鼠髌突软骨下骨生长变化特征; ③髌突软骨下骨微结构形态。

1.6 统计学分析 利用 SPSS 26.0 统计软件进行统计分析, 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。符合正态分布, 两组数据的差异比较符合正态分布采用独立样本 *t* 检验; 3 组数据采用单因素方差检验, 方差齐性使用 LSD 检验, 否则用 Tamhane *T2* 检验。不符合正态分布使用非参数检验。检验水准为 $\alpha=0.05$, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用 24 只 SD 大鼠, 分为 4 组, 实验过程无脱失, 24 只大鼠进入结果分析。

2.2 雌鼠髌突软骨下骨生长变化特征 从 0 月龄到 3, 5, 7 月龄雌鼠髌突无论时外部形态还是内部微结构都发生了显著生长变化, 各骨小梁骨微结构参数, 除骨小梁分离度、结构模式指数以及连通性外 ($P > 0.05$), 其余参数变化差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。从 3-5 个月, 骨面积密度、骨表面积和骨体积比例、骨小梁数目、连通性、骨小梁连接密度发生了显著变化 ($P < 0.05$), 但一部分参数已经开始稳定, 大鼠开始进入生长平台期, 平台期从 5 个月一直延续到 7 个月, 只有骨体积分数和总孔隙率依然有显著差异 ($P < 0.05$); 3-7 个月的生长变化虽然没有 0-7 个月涉及的参数全面, 但在骨形态 (骨体积分数、骨面积密度、骨表面积和骨体积比例)、骨小梁形态 (骨小梁厚度、骨小梁数目)、骨小梁空间结构 (连通性、骨小梁连接密度) 3 个方面同样存在显著变化。提示雌性大鼠主要生长阶段在 0-3 个月, 而 3-5 个月之间是生长发育的重要时期, 5 个月之后大鼠的生长发育逐渐平缓, 见表 1。

2.3 雄鼠髌突软骨下骨生长变化特征 雄鼠的生长发育模式与雌鼠相似, 从 0 月龄到 3, 5, 7 月龄各骨小梁骨微结构参数,

表 1 | 雌鼠髌突软骨下骨生长发育特征 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Table 1 | Growth and development characteristics of the condyle subchondral bone in female rats

参数	0 月龄组	3 月龄组	5 月龄组	7 月龄组
骨体积分数	0.69±0.07	0.90±0.02 ^a	0.90±0.01 ^a	0.93±0.01 ^{abc}
骨面积密度	23.65±2.83	8.56±0.43 ^a	7.27±0.05 ^{ab}	6.93±0.19 ^{ab}
骨表面积和骨体积比例 (mm ⁻¹)	34.92±7.25	9.54±0.71 ^a	8.08±0.46 ^{ab}	7.48±0.36 ^{ab}
骨小梁模式因子 (mm ⁻¹)	-34.39±2.53	-11.53±3.44 ^a	-12.24±3.61 ^a	-10.66±1.29 ^a
骨小梁厚度 (mm)	0.10±0.02	0.44±0.04 ^a	0.50±0.03 ^a	0.50±0.03 ^{ab}
骨小梁分离度 (mm)	0.07±0.01	0.07±0.01	0.09±0.01	0.08±0.01
骨小梁数目 (mm ⁻¹)	6.23±0.48	1.96±0.14 ^a	1.70±0.10 ^{ab}	1.72±0.09 ^{ab}
结构模式指数	-1.68±0.93	-1.64±0.46	-1.86±0.70	-2.32±0.11
连通性	3154.33±1350.93	679.83±92.66	203.00±55.00 ^b	159.00±69.35 ^b
骨小梁连接密度 (mm ⁻³)	641.61±236.27	74.56±1.95 ^a	32.15±6.48 ^{ab}	26.85±7.89 ^{ab}
各向异性度	0.65±0.03	0.81±0.03 ^a	0.78±0.04 ^a	0.85±0.11 ^a
总孔隙率	31.33±6.97	10.23±1.05 ^a	9.66±0.90 ^a	7.36±0.60 ^{bc}

表注: 与 0 月龄组相比, ^a $P < 0.05$; 与 3 月龄组相比, ^b $P < 0.05$; 与 5 月龄组相比, ^c $P < 0.05$

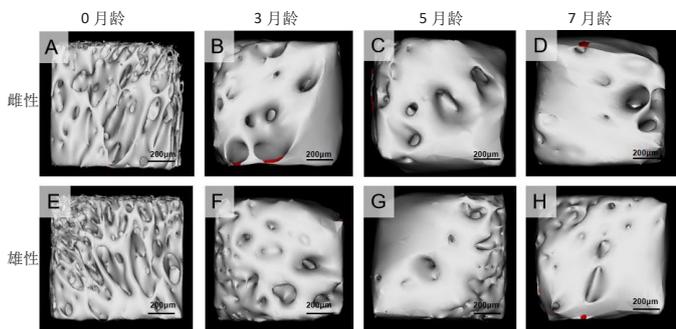
仅骨小梁模式因子、分离度、结构模式指数以及连通性随时间生长变化不显著 ($P > 0.05$)。从 3-5 个月, 进入生长平台期, 多数参数平稳变化 ($P > 0.05$), 继续生长至 7 月龄, 骨表面积和骨体积比例、骨小梁数目、连通性出现了大幅回落而骨小梁厚度却显著增厚 ($P < 0.05$)。与雌鼠一样, 从 3-7 个月的长时间跨度, 骨形态 (骨表面积和骨体积比例)、骨小梁形态 (骨小梁厚度、数目)、骨小梁空间结构 (连通性) 也同样发生显著变化, 但雄性变化较雌性波动更大, 见表 2。

表 2 | 雄鼠髌突软骨下骨生长变化特征 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Table 2 | Growth and development characteristics of the condyle subchondral bone in male rats

参数	0 月龄组	3 月龄组	5 月龄组	7 月龄组
骨体积分数	0.68±0.08	0.87±0.02	0.88±0.02 ^a	0.90±0.05 ^a
骨面积密度	21.84±0.59	8.89±0.47 ^a	8.32±0.78 ^a	7.22±1.04 ^{ab}
骨表面积和骨体积比例 (mm ⁻¹)	32.66±4.65	10.19±0.76 ^a	9.49±1.11 ^a	8.11±1.48 ^a
骨小梁模式因子 (mm ⁻¹)	-28.98±17.04	-9.53±0.65	-7.80±1.77	-9.63±3.41
骨小梁厚度 (mm)	0.10±0.01	0.37±0.06 ^a	0.42±0.05 ^a	0.52±0.07 ^{ab}
骨小梁分离度 (mm)	0.07±0.01	0.08±0.002	0.09±0.01	0.09±0.03
骨小梁数目 (mm ⁻¹)	5.98±0.67	2.17±0.19 ^a	1.99±0.18 ^a	1.65±0.18 ^{ab}
结构模式指数	-1.69±1.60	-0.86±0.782	-0.59±0.89	-0.98±1.51
连通性	3352.33±1909.79	676.83±179.90	359.00±37.47 ^b	278.00±75.44 ^b
骨小梁连接密度 (mm ⁻³)	536.25±177.20	78.75±22.45 ^a	55.50±7.00 ^a	37.80±7.04 ^a
各向异性度	0.64±0.04	0.82±0.04 ^a	0.90±0.01 ^a	0.82±0.14
总孔隙率	32.35±8.45	12.64±1.96	12.18±2.28 ^a	10.52±3.94 ^a

表注: 与 0 月龄组相比, ^a $P < 0.05$; 与 3 月龄组相比, ^b $P < 0.05$

2.4 髌突软骨下骨微结构形态 在生长早期, 即 0 月龄组时大鼠髌突软骨下骨并不具有性别差异 ($P > 0.05$), 此时虽然也是板状骨为主, 骨小梁数量多, 但厚度薄、孔隙多; 生长至 3 个月, 雄性骨小梁分离度发生了明显增长 ($P < 0.05$), 骨小梁的间距加大; 到 5 个月时骨小梁空间结构连通性、骨小梁连接密度、各向异性度降幅雌性高于雄性 ($P < 0.05$), 虽然此时雌鼠骨量、骨小梁厚度仍然高于雄鼠, 孔隙及骨小梁间连通性低于雄鼠, 但骨小梁排列已经不如雄性有序; 7 个月时各参数雌雄达相近水平 ($P > 0.05$), 性别差异消除。大部分参数变化基本按照递增或递减的形式改变; 每个时间周期内, 骨微结构参数变化速率不一致, 雄鼠骤变期相对雌鼠滞后, 见图 2。



图注：图 A-D 为 0, 3, 5, 7 月龄组雌性大鼠；E-H 为 0, 3, 5, 7 月龄组雄性大鼠。在生长早期，髌突软骨下骨以板状骨为主，骨小梁数量多，但厚度薄，孔隙多；随年龄增长，雌、雄鼠骨量均表现显著增长，骨小梁增厚，数量、孔隙率降低，小梁间距增大，3 月龄组与 5 月龄组同期雌鼠生长量更大，但排列不如雄鼠有序；直至 7 月龄雌、雄鼠表现相近

Figure 2 | Microarchitecture morphology of the condyle subchondral bone in rats

3 讨论 Discussion

髌突的生长发育是影响整个颞下颌关节健康的一个重要因素，髌突软骨下骨是髌突骨改建与骨重塑的最终呈现区域^[16]。有学者研究发现，雌性大鼠髌突软骨下骨体积分数以及骨密度均只在 2 月生长期与老年时期存在显著变化，并且当大鼠步入老年期软骨下骨体积和密度趋向增加^[17]。而对新西兰兔的研究中发现，髌突软骨下骨随兔龄增加而增厚变大，骨体积分数、骨小梁厚度在 4-32 周间急剧增长，骨小梁数目 4-12 周反而下降^[18]。以往研究虽然对髌突软骨下骨生长发育周期以及骨微结构进行了一定说明，却未对性别在其中的影响加以剖析，且骨微结构参数选择较为单薄，未全面分析结构参数的变化。此次研究选取 1-7 月龄的 SD 大鼠作为研究对象，模拟髌突生长模式全过程，涵盖生长高峰期、平稳期以及衰减期，以髌突软骨下骨形态、骨小梁形态、骨小梁空间结构等骨微结构为切入点，探讨髌突软骨下骨微结构特点及生长发育情况^[19-20]。

生理状态下骨小梁是板状骨和杆状骨交互存在的海绵状三维结构，排列方向与骨所承受的压力和张力的方向一致，且维持一定小梁数目和厚度，因此能够承载一定的力学刺激^[21-22]。由于髌突一直处于活跃的骨改建中，一些骨小梁可能发生吸收导致断裂，原来规则的海绵状网状结构将变成不规则的孔状结构，使小梁表面呈多孔性表现^[23-24]。此次实验中骨体积分数比例高，结构模式指数与骨小梁模式因子均为负值，提示髌突软骨下骨具有较高的骨质密度，以板状骨为主，可承受较高的负荷而不至形变^[25]。结合此次实验其余结果，骨体积分数、骨小梁厚度等随时间增大，骨量呈增长模式；骨小梁数目结构模式、连通性以及孔隙率等随时间延长呈逆向表达，骨小梁表现有序、致密化生长改变。以上结果说明幼年时期大鼠髌突密度较低，以板状骨小梁为主，骨小梁数量多，体积纤细，交错连通，充满孔隙；成年后，大鼠髌突同样以板状骨小梁为主，但板状骨与杆状骨比例增大，骨小梁之间融合，使骨小梁数量虽然减少，但厚度却显著增加，继而发生了空间

结构的变化，小梁间的连通降低，间距减小，整个骨生长空间被更多骨结构充满，因此孔隙减少，骨质更为紧密^[26-27]。

大鼠生长过程中，雌雄大鼠生长发育特点存在一定相似性^[28]。此次研究结果中无论雌鼠还是雄鼠，在 0-3 个月参数差异均有显著性意义，并且各参数数值变化大，可见大鼠在这一时期经历了一次生长发育快速期；在 5 个月时增幅平缓，直到 7 个月又开始回升，骨结构的变化呈快速-减缓-快速这样一个变化曲线，因此 5 个月相较而言是作为一个平台期来过渡缓和，但由于此次实验未设置其余中间过渡观测时间点，无法确定平台期具体出现时间。通过观察大鼠从 0-3 个月再到 5 个月随时间增长的变化趋势，还发现骨形态与骨小梁形态以及骨小梁空间结构变化并不是以同样的速率生长，而是存在一定差异^[29]。骨空间形态的变化以及骨密度的增大，可能首先表现在骨小梁形态的变化、骨髓腔之间的融合及成骨细胞的分化，使得小梁的厚度增大，继而发生了空间结构的变化，小梁间的连通降低，间距减小，整个骨生长空间被更多骨结构充满，因此孔隙减少；骨小梁的内部结构增殖变化，从而导致了骨体积增加及整体骨表面积的降低^[30-31]。整个生长过程中，骨小梁变化更显著于骨形态的变化。这些生长规律对于雌鼠和雄鼠具有一定共通性，但由于此次实验样本量限制，具体模式需要进一步研究^[32]。

从不同时间周期上来看，雌雄大鼠的生长方式也有一定的区别^[33]。实验中 4 个时间周期雌性大鼠骨形态参数骨体积分数均高于雄性大鼠，骨表面积比低于雄鼠；骨小梁空间结构方面：小梁间连通性、孔隙率一直是雌性大鼠处于低值，雌性的骨小梁排列各向异性度优于雄鼠。但是各个参数出现显著变化的时间周期却不尽相同，3-5 个月间，雌鼠的骨面积密度、骨小梁数目以及连通性等已经出现了一次显著增长；而雄鼠却在 5-7 个月间才观察到这一系列变化，多组数据综合提示，观察期内雌性大鼠的髌突骨质密度比雄性高，生长高峰期早于雄性出现，说明青少年早期雌鼠骨硬化相对偏强，骨量生长趋势更为显著，软骨下骨形成更快，考虑是性激素在髌突的生长与骨代谢中起到重要调节作用^[34-35]。以上结果在其他实验中得到证实，大鼠髌突软骨和软骨下骨的快速发育变化主要发生在 4 个月之前，软骨下骨的形成在雌性大鼠中比在雄性大鼠中更快，因此雌性大鼠的髌突更早出现体积增长^[11]。

在同一时间周期的比较中，0 月组大鼠并无性别差异，到 3 个月仅有骨小梁分离度性别差异有显著性意义，直到 5 个月时骨小梁空间结构上骨小梁的连通性以及排列上，雌性明显优于雄性 ($P < 0.05$)。骨小梁形态参数骨小梁厚度、数目变化同时期比较性别差异虽然无显著性意义，但却与其他参数表现出逆向变化——在 5 个月前雄鼠次于雌鼠，7 个月时出现优化。这说明雌性大鼠的整体生长发育快于雄性，但其快速增长并没有使髌突软骨下骨获得更优良的骨质空间结构，反而雄性大鼠虽然生长缓慢，骨量以及小梁内部排列情况下发展暂时弱于雌性，但其持续增长，依据骨小梁厚度及

数目,在骨小梁形态上筑基,在发育后期获得更佳的骨质性[36-37]。到7个月各参数雌雄达相近水平($P > 0.05$),性别差异消除,推测是由于雄性大鼠进入生长高峰,而雌性大鼠已达平台期,生长发育减缓、导致雌雄间差距减小[38]。

此次研究针对髌突软骨下骨微结构特点及生长发育情况进行了初步探讨,发现髌突软骨下骨骨形态参数指向偏致密化,雌鼠的生长高峰期存在于5个月之前而雄性滞后,并且在整个观察期内,雌鼠的多数参数生长变化均优于雄性,直到7个月才表现相近。由此得出结论,髌突软骨下骨骨质致密,以板状骨为主;雌性髌突软骨下骨生长发育早于雄性,并且先于雄性进入生长平台期。但由于前文提及的诸多局限因素,此次研究尚存许多不足之处,期待将来能够加大样本量、丰富研究方法得出更为深入的实验结果与结论。

作者贡献: 贾莹负责实验设计、审校及基金获取,刘纯文章撰写、数据分析,全体作者负责实验实施。

经费支持: 该文接受了“国家自然科学基金(81860795)、贵州省科技计划项目(黔科合[2018]2754号)及贵阳市科技计划项目(筑科合同[2018]1-83号)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

机构伦理问题: 实验方案经贵州医科大学动物实验伦理委员会批准,批准号为2000890。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

生物统计学声明: 文章统计学方法已经贵州医科大学生物统计学专家审核。

文章版权: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

[1] CHAI Y, JR R. Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Dev Dyn*. 2010; 235(9):2353-2375.

[2] RABIE AB, XIONG H, HAGG U. Forward mandibular positioning enhances condylar adaptation in adult rats. *Eur J Orthod*. 2004;26(4):353-358.

[3] KAYIPMAZ S, AKCAY S, SEZGIN ÖS, et al. Trabecular structural changes in the mandibular condyle caused by degenerative osteoarthritis: a comparative study by cone-beam computed tomography imaging. *Oral Radiol*. 2019;35(1): 51-58.

[4] KOVACS B, VAJDA E, NAGY EE. Regulatory Effects and Interactions of the Wnt and OPG-RANKL-RANK Signaling at the Bone-Cartilage Interface in Osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):4653.

[5] ROSS DS, YRT TH, KING S, et al. Distinct Effects of a High Fat Diet on Bone in Skeletally Mature and Developing Male C57BL/6J Mice. *Nutrients*. 2021; 13(5):1666.

[6] SLEEPER EL. Open reduction of condylar fracture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1952;5(1):4-9.

[7] SUZUKI S. Histomorphometric study on growing condyle of rat. *Bull Tokyo Med Dent Univ*. 1986;33(1):23-34.

[8] ZHANG HY, LIU Q, YANG HX, et al. Early growth response 1 reduction in peripheral blood involving condylar subchondral bone loss. *Oral Dis*. 2019; 25(7):1759-1768.

[9] WANG Z, SA G, WEI Z, et al. Obvious morphologic changes in the mandible and condylar cartilage after triple botulinum toxin injections into the bilateral masseter. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2020;158(4):e43-e52.

[10] THIRUNA AJ, FERRO A, SARDESAI A, et al. Temporomandibular joint anatomy: Ultrasonographic appearances and sexual dimorphism. *Clin Anat*. 2021;34(7):1043-1049

[11] 周星宇. 慢性氟中毒对大鼠正畸牙移动压力侧牙周组织改建及相关骨效应变化[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2020.

[12] JIAO K, DAI J, WANG MQ, et al. Age- and sex-related changes of mandibular condylar cartilage and subchondral bone: a histomorphometric and micro-CT study in rats. *Arch Oral Biol*. 2010;55(2):155-163.

[13] QUINN R. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? *Nutrition*. 2005;21(6):775-777.

[14] 张悦, 李运峰. 骨质疏松症动物模型研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020,26(1):152-156.

[15] 郑振辉. 实用医学实验动物学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2008:222-224.

[16] EMSHOFF R, BERTRAM A, HUPP L, et al. A logistic analysis prediction model of TMJ condylar erosion in patients with TMJ arthralgia. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):374.

[17] CHEN PJ, DUTRA EH, MEHTA S, et al. Age-related changes in the cartilage of the temporomandibular joint. *Gero Sci*. 2020;42(3):995-1004.

[18] HUANG L, ZHANG L, LI H, et al. Growth pattern and physiological characteristics of the temporomandibular joint studied by histological analysis and static mechanical pressure loading testing. *Arch Oral Biol*. 2020; 111:104639.

[19] ROSS DS, YRT TH, KING S, et al. Distinct Effects of a High Fat Diet on Bone in Skeletally Mature and Developing Male C57BL/6J Mice. *Nutrients*. 2021; 13(5):1666.

[20] SENGUPTA P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*. 2013;4(6):624-630.

[21] YU YE, HU YJ, ZHOU B, et al. microarchitecture Determines Apparent-Level Mechanics Despite Tissue-Level Anisotropy and Heterogeneity of Individual Plates and Rods in Normal Human Trabecular Bone. *J Bone Miner Res*. 2021; 36(9):1796-1807.

[22] DING M, OOVERGAARD S. 3-D microarchitectural properties and rod- and plate-like trabecular morphometric properties of femur head cancellous bones in patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and osteoporosis. *J Orthop Translat*. 2021;28:159-168.

[23] ZAIDI M. Skeletal remodeling in health and disease. *Nat Med*. 2007;13(7):791-801.

[24] BARGER-LUX MJ, RECKKER RR. Bone microarchitecture in osteoporosis: transilial biopsy and histomorphometry. *Top Mag Res Imag*. 2002;13(5):297.

[25] 魏占英, 章振林. Micro-CT 在骨代谢研究中骨微结构指标的解读及应用价值[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2018,11(2):96-101.

[26] MACHO GA, ABEL RL, SCHUTKOWSKI H. Age changes in bone microstructure: do they occur uniformly? *Int J Osteoarch*. 2010;15(6):421-430.

[27] 黄林剑, 蔡协艺, 李辉, 等. 兔关节盘、髌突及软骨下骨的年龄相关性改变组织学研究[J]. 口腔颌面外科杂志, 2015,25(1):19-23.

[28] JOO W, SINGH H, AHLES CP, et al. Training-induced Increase in Bone Mineral Density between Growing Male and Female Rats. *Int J Sports Med*. 2015;36(12):992-998.

[29] ZAMLI Z, ROBSON BROWN K, SHARIF M. Subchondral Bone Plate Changes More Rapidly than Trabecular Bone in Osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1496.

[30] 白小帆. 中国男性腰椎松质骨生物学参数随年龄变化的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.

[31] CHEN Y, HU Y, YU YE, ZHANG X, et al. Subchondral Trabecular Rod Loss and Plate Thickening in the Development of Osteoarthritis. *J Bone Miner Res*. 2018;33(2):316-327.

[32] MICHAEL Z, EMELY LB, PETER F, et al. Normal trabecular vertebral bone is formed via rapid transformation of mineralized spicules: A high-resolution 3D ex-vivo murine study. *Acta Bio*. 2019;86:429-440.

[33] WANG L, MCMAHAN CA, BANU J, et al. Rodent model for investigating the effects of estrogen on bone and muscle relationship during growth. *Calcif Tissue Int*. 2003;72(2):151-155.

[34] LEI J, LIU MQ, YAP A, et al. Condylar subchondral formation of cortical bone in adolescents and young adults. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2013;51(1):63-68.

[35] YE T, SUN D, MU T, et al. Differential effects of high-physiological oestrogen on the degeneration of mandibular condylar cartilage and subchondral bone. *Bone*. 2018;111:9-22.

[36] GABEL L, MACDONALD HM, MCKAY HA. Sex Differences and Growth-Related Adaptations in Bone Microarchitecture, Geometry, Density, and Strength From Childhood to Early Adulthood: A Mixed Longitudinal HR-pQCT Study. *J Bone Miner Res*. 2017;32(2):250-263.

[37] STURZNIKEL J, SCHMIDT FN, SCHAFFER HS, et al. Bone microarchitecture of the distal fibula assessed by HR-pQCT. *Bone*. 2021;151:116057.

[38] ANDREOLLO NA, SANTOS E, MR A, et al. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig*. 2012;25:49-51.

(责任编辑: GD, ZN, ZJP)