

长骨骨折动物模型的研究进展

姚广源, 董平, 吴昊, 柏梅, 党赢, 王悦, 胡凯

(内蒙古医科大学中医学院, 呼和浩特 010110)

[摘要] 创伤性骨折及应力性骨折为骨科常见疾病, 其愈合过程中的骨转换、骨修复以及促进骨折愈合的相关研究具有广泛的发展前景。基础医学实验常选用动物四肢长骨骨折模型来研究各种干预措施对骨折愈合的作用机制, 而骨折愈合是一个受到多因素影响, 并涉及多分子、多通路的复杂过程。因此, 为了更深入地探究其作用机制、加速成果转化和提高临床疗效, 在实验研究中选择适宜的动物骨折模型制造方法显得尤为重要。基于此, 本文对实验研究中常用作长骨骨折模型的动物种类和造模方法进行文献综述, 归纳出骨缺损法、物理撞击法、力学弯折法、开放截骨法和钻孔法等5种方法, 并对其优缺点及适用范围进行横向对比, 旨在为骨折愈合干预机制研究提供适宜的骨折模型参考。

[关键词] 动物模型; 骨折愈合; 长骨

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)03-0289-08



Research Progress on Animal Models of Long Bone Fractures

YAO Guangyuan, DONG Ping, WU Hao, BAI Mei, DANG Ying, WANG Yue, HU Kai

(School of Traditional Chinese Medicine, Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010110, China)

Correspondence to: DONG Ping (ORCID: 0009-0004-9770-6161), E-mail: 20120009@immu.edu.cn

[ABSTRACT] Traumatic fractures and stress fractures are common orthopedic diseases, and there is great potential in researching bone turnover, repair, and promotion of fracture healing. Basic medical experiments often use animal models of long bone fractures in limbs to study the mechanisms of various interventions on fracture healing. Fracture healing is a complex process influenced by multiple factors and involves multiple molecules and pathways. Therefore, to explore the mechanisms more deeply, accelerate the translation of results, and improve the clinical efficacy, it is particularly important to choose the appropriate animal fracture modeling methods in experimental research. Based on this, this paper conducts a literature review of animal species and modeling methods commonly used for long bone fracture models in experimental research. It summarizes five methods: bone defect method, physical impact method, mechanical bending method, open osteotomy method, and drilling method. A side-by-side comparison of their advantages, disadvantages, and scope of application is made, aiming to provide suitable fracture models for studying the mechanisms of fracture healing interventions.

[Key words] Experimental animal model; Fracture healing; Long bone

创伤性及应力性骨折等是骨科常见疾病, 愈合过程复杂且漫长, 故骨折愈合过程中的骨转换、骨修复以及促进骨折愈合的相关研究有着广阔的发展前景^[1]。骨折实验动物模型已经被广泛地应用于临床前

研究, 用来阐明骨折生理病理过程中的特征, 以及探索可以改变生物学及生物力学的特殊方法。

近年来, 国内外学者对长骨骨折模型进行了诸多探索。早期闭合性骨折模型是通过简单暴力弯折的方

[基金项目] 内蒙古自治区高等学校科学研究项目“基于TGF- β /BMPs信号通路探讨李氏接骨散对家兔骨折愈合的影响”(NJZY20135); 内蒙古医科大学科技创新团队计划“骨与关节疾病中医药防治科技创新团队”(YKD2022TD033); 内蒙古自治区直属高校研究生卓越人才项目计划“基于TGF- β /Smad信号通路探讨李氏接骨散对大鼠骨折愈合的影响”(YKD2023ZY001)

[第一作者] 姚广源(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治骨关节疾病机制研究。E-mail: 823275038@qq.com

[通信作者] 董平(1983—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师。研究方向: 中医药防治骨关节疾病机制研究。E-mail: 20120009@immu.edu.cn。ORCID: 0009-0004-9770-6161

式产生,随后应用了将断头台式诱导装置^[2]作为模型制作工具的物理撞击方法,此后经改良的三点弯曲骨折装置在该领域有着较大的应用空间,有望成为闭合性骨折模型的优化选择^[3]。目前闭合性骨折模型大多数都基于物理撞击法。而开放性骨折模型的建立需要通过手术暴露骨干,使用线锯、钢锯、骨钳等工具进行切割或钳断后,再使用克氏针进行内固定、缝合。考虑到创伤过大对骨折愈合的影响,在此基础上又有钻孔法^[4]和改良钻孔法^[5]等造模方法,这些方法的目的是尽可能地减少骨折端周围血运和软组织损伤。此外,使用钢锯或骨钳在不完全离断骨干的基础上制作一定大小的缺口是骨缺损模型的一种制作方法。

为了更好地探究骨折愈合的作用机制,适应体外实验向体内实验的转变需求,研究者需要通过合适的实验动物骨折模型,更深入地研究各种干预措施对骨折愈合的生理病理机制以及愈合速度的影响,从而探究如何提高骨折愈合的质量。然而在基础研究过程中,实验动物模型的选择具有一定的主观性^[6]。为了保证临床前研究的精确可靠,选择具有特征性的、建立了对照组数据的,并且能够被重复实验的动物模型尤为必要。因此,本文对实验研究中常用作长骨骨折模型的动物种类和造模方法进行文献综述,并对其优缺点及适用范围进行横向对比,旨在为干预骨折愈合的机制研究提供适宜的骨折模型参考。

1 常用的长骨骨折模型动物种类

不同动物间骨折愈合机制和愈合率存在差异。啮齿类动物(大鼠、小鼠)具有饲养方便、成本低廉、生长周期快、骨再生周期短,以及成活率和愈合率高等特点。相比之下,兔、犬和非人灵长类动物因骨折愈合涉及更多的延迟愈合组织,需要更长的愈合时间。小鼠还因具有详尽的遗传背景、能进行基因编辑和敲除等特点而被日渐关注。据统计,过去10年内骨折愈合模型中使用率最高的几种动物包括大鼠(53.5%)、小鼠(22.8%)、家兔(8.7%)、犬(6.5%)和猴(1.6%)等^[7]。因此,下文以这几种实验动物为主进行对比描述。

1.1 大鼠小鼠

大鼠具有基因图谱详尽、可复制人类诸多遗传疾病、便于饲养、成本低廉等优点。此外,成年大鼠生命力旺盛、体格顽强,较少出现死亡和骨折不愈合的情况。以上优势都表明,大鼠适宜作为模型动物用于

短期的骨折实验研究。目前国内外广泛使用的长骨骨折大鼠模型在性别上有仅雄性及雌雄各半两种。研究表明,雌激素缺乏会导致骨质疏松^[8],进而影响骨折的愈合。因此,为控制单一变量,仅使用雄性大鼠作为骨折研究模型可能更为适宜。此外,SD大鼠的骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)密度与年龄呈负相关,老年大鼠的MSC数量和功能改变会延缓骨折愈合^[9]。

小鼠的特性与大鼠相似,但因其个体较小,在动物饲养与造模成本上较大鼠更为经济,同时成年小鼠的抗感染力、修复能力和耐手术能力都很强,利于骨折模型研究的开展。此外,小鼠的基因组序列已经清楚,便于遗传修饰,故而能在基因水平上开展骨折愈合机制的研究^[10]。小鼠的年龄、性别及种群不同都会影响骨折的生物愈合机制研究。例如,C57BL/6小鼠较DBA/2、C3H小鼠具有更快的骨愈合速度以及更高的愈合后生物力学强度^[11],该现象支持特定遗传因素可调节骨再生的假说。随着年龄增加,小鼠MSC及血管再生相关因子的数量减少对骨折愈合有不利影响^[9]。在性别方面,雄性小鼠长骨骨髓中含有的间叶干细胞数量相对更多,可更好地促进骨折愈合。在体质方面,6~8周龄体质量超过20 g、股骨直径为2~2.5 mm的小鼠可作为很好的骨折模型。但小鼠具有手术精确度要求高、难以标准化等缺点^[12]。因此,为控制单一变量,在运用大鼠、小鼠作为模型动物时,需要考虑其品种、品系、年龄、性别和体质量等因素。

1.2 兔

家兔是骨折愈合研究领域最常用的动物模型之一。与大鼠小鼠相比,兔具有体型更大、生命周期更长、长骨更粗壮的特点,故而更便于模型制作及实验操作。家兔骨折的愈合机制比大鼠小鼠更加接近人类,其具备与人类相似的中央管(又称哈弗斯管),且使用家兔进行实验的成本在可接受范围内^[13]。国内所选家兔品种以新西兰白兔和日本大耳兔居多,其中新西兰白兔由于骨骼成熟时间短、方便饲养和处理、抗病能力强,是目前世界上肌肉骨骼系统研究中使用最为广泛的实验兔品种^[14]。

1.3 犬

比格犬是犬类相关实验的标准实验动物,具有遗传稳定、体型较小、性格温顺和繁殖力强等特点^[15]。犬的骨骼结构与人类相似,长骨都是由初级血管纵骨结合不规则或密集的骨单元(又称哈弗斯系统)组

成^[16]。李静等^[17]运用骨钻制作出比格犬下颌骨缺损模型,研究微渠多孔羟基磷灰石对犬下颌骨缺损后与牙种植体骨结合的修复情况。此外,犬类骨骼的物理成分和骨折断裂强度与人类骨骼最相似^[18],因此犬类骨折模型具有高度的适用性。

1.4 猴

中国非人灵长类动物分布广泛,其中以猕猴属居多,这也是国内作为实验动物使用最频繁的非人灵长类动物,包括恒河猴和食蟹猴。非人灵长类(如恒河猴和食蟹猴)的基因组和脑部结构与人类高度相似,因此用非人灵长类动物制作疾病模型更加近似临床患者,在高级认知功能、社会交往行为和肢体精细运动功能评估等方面具有独特优势^[19]。Farris等^[20]运用非人灵长类恒河猴作为研究骨骼相关变化的模型,并认为这些变化可以转化为人类的预期反应。但是需要说明,与普遍的看法相反,非人灵长类动物的骨骼结构与人类并不相似,因为其长骨是由无血管骨和不规则的骨单元组成^[16]。从这个角度看,使用非人灵长类动物作为骨折愈合机制研究模型,似乎并非最适合的选择。

1.5 羊

目前基于实验动物羊的骨折愈合相关研究包括:贾鹏等^[21]研究可吸收锁钉鞘在骨折愈合后期对带锁髓内钉应力遮挡的预防作用时,将波尔山羊麻醉后,运用线锯制作了山羊的右侧股骨干骨折模型;杨卫强等^[22]采用骨锯将30只12~16月龄的山羊右侧股骨中段截断,制成山羊右侧股骨干骨折模型。相比小动物(大鼠、小鼠、家兔),山羊的骨再生机制更加接近于人类^[13]。同时,与其他大型或非人灵长类动物相比,山羊具有数量多和成本低的优势。

1.6 斑马鱼

斑马鱼是脊椎动物,它们的骨骼在生理学上与哺乳动物有很高的相似性。另外,斑马鱼具有超强的繁殖能力,而且与人类疾病基因有较高的相似性^[23]。在遗传学研究方面,斑马鱼具有遗传可操作性的优势。有学者通过使用钝性梭刀挤压斑马鱼尾鳍,制作骨折模型^[24],进而研究中华跌打丸在促进骨折愈合中的作用机制。此外,斑马鱼在药物筛选和新药开发研究方面有应用前景,其与其他临床前模型系统相比更具优势^[23]。

综上,一般而言,动物体型越大,与人类骨骼的愈合机制就越相近,并且粗大的骨骼有利于模型制作

方法上的多种选择和具体操作。但大型动物在饲养难度、实验成本和存活情况等方面并不占优势,样本数量难以保障。此外,动物越大,自我恢复能力就越弱,这往往会导致较长的实验周期^[25]。根据3Rs原则^[26],研究者需要考虑具体实验的现实条件和需求以及研究的深度和广度等问题,从而选择不同的实验动物。

2 长骨骨折模型的制作方法

骨折模型的制作主要包含两个过程:一是破坏骨骼连续性,造成骨折;二是固定骨骼,为后续治疗铺垫。下面总结常见的骨折动物模型建立方法及其优缺点(表1)。

2.1 骨缺损法

骨缺损法是指运用钢锯、线锯或骨钳对较为粗壮的长骨,在不完全离断骨干的前提下,制作一定大小的骨缺口。骨缺损属于开放性骨折的一种,可不作固定。大鼠股骨骨缺损模型的建立方法:将大鼠麻醉后,沿股骨外侧纵行切割皮肤肌肉,充分暴露股骨后,用摆锯截除中段股骨(5 mm),再用电钻从股骨头钻入克氏针(1.2 cm),行内固定并包扎缝合^[27]。家兔桡骨骨缺损模型的建立方法:将家兔麻醉后,充分暴露桡骨,然后用钢锯或线锯截取15 mm中段桡骨,填充药物后缝合切口^[28]。

骨缺损模型提供了一种可以系统地将测试药物直接输送到缺损部位的方法,是研究药物和组织工程治疗对骨折愈合影响机制的最佳选择,但与临床以及传统定义的骨折有一定的差别。骨缺损模型的制作有临界骨缺损(critical size defect, CSD)的要求。CSD是指实验动物在自然情况下难以自行愈合的最小骨缺损尺寸。例如,新西兰白兔长骨的CSD值为:桡骨干15 mm,尺骨干16 mm,肱骨干7 mm,股骨干15 mm,胫骨干10 mm^[14]。同时为了便于操作,骨缺损模型所用动物需要具有较粗的长骨。因此,制作骨缺损模型时适合用家兔、大鼠等体型相对较大的高等动物,小鼠由于长骨体积较小而不常见于骨缺损模型。

2.2 物理撞击法

物理撞击法是指动物麻醉后,通常以克氏针内固定,用骨刀、断头台式^[2]的诱导支架或力学试验机等工具,暴力撞击长骨骨干的造模方法。大鼠右侧胫骨骨折模型的建立方法:将大鼠麻醉后,再将其右侧胫骨外展内旋固定好,用2.5 kg砝码于15 cm高处砸落,暴露股骨髁间凹后,插入注射针扩髓,置入克氏针至

表1 建立骨折动物模型的常见方法及其优缺点

Table 1 Common methods of establishing fracture animal models and their advantages and disadvantages

方法 Methods	优点 Advantages	缺点 Disadvantages	使用范围 Range of application	参考文献 References
骨缺损法 Bone defect method	过程直观,控量精准,无需固定,成模稳定,成模率高,骨痂量大	难度大,易感染,忽略了软骨内成骨,与临床和传统骨折病机有差别	骨折中晚期愈合机制研究;对骨痂量有一定需求的研究;内服药物干预类研究;填充式药物和组织工程治疗研究	[27-28, 38-40]
物理撞击法 Physical impact method	操作简便,损伤较小,切合临床骨折致病机制	可控性差(易形成粉碎性骨折和骨折位移),成模率低	骨折早中期愈合机制研究;对骨痂量需求不高的研究;经皮接触类研究	[29-31, 41-42]
力学弯折法 Mechanical bending method	操作简便,参数可控,适用性广,损伤较小	难度大,可控性差(易形成粉碎性骨折和骨折位移)	骨折早中期愈合机制研究;对骨痂量需求不高的研究	[32-33, 3, 43]
开放截骨法 Open osteotomy method	过程直观,成模稳定,成模率高,骨痂量大,可控性强(切面光整)	难度大,易感染,损伤强,难愈合	骨折中晚期愈合机制研究;对骨痂量有一定需求的研究;内服药物干预类研究	[34-35, 44-46]
钻孔法 Drill method	过程直观,成模稳定,成模率高,损伤较小	难度大,易感染,骨痂量少	骨折中晚期愈合机制研究;骨折愈合的代谢活动研究;骨愈合药物的临床前安全性研究	[36, 5, 47-49]

股骨大粗隆外缝合^[29]。大鼠股骨中段骨折的建立方法:将大鼠麻醉后,放置在骨折模型制作支架上,于股骨处用注射器(20 mL)扩髓插入克氏针(1 mm),再以骨刀撞断股骨中段后成模^[30]。大鼠左侧胫骨骨折模型的建立方法:将大鼠麻醉后,固定其左后肢于万能力学实验机压缩实验的底座铁凹槽中,用顿刀以10 cm/s的速度垂直撞击胫骨,之后插入1 mm克氏针固定^[31]。

物理撞击法操作简便,可用于制作闭合性骨折模型,对周围血运及软组织影响较小,且比较符合临床中骨折的致病机制。但成模类型不太可控,容易造成粉碎性骨折、手术区外骨折和内固定位移等情况,其成模率相比开放截骨要低。因此,这种方法比较适用于骨折愈合早中期的机制研究,贴合临床骨折成因和对骨痂形成量需求不高以及需要外治干预类的研究。

2.3 力学弯折法

力学弯折法指动物麻醉后,在预骨折部位先行扩髓或髓内固定,然后以三点弯曲钳或弯曲装置,折断骨干的方法。这种方法在精确度和重复性上要优于物理撞击法,本质上还是属于暴力所造成的骨折,既可以制作闭合性骨折模型,也可以在手术条件下制作开放性骨折模型。大鼠股骨中段骨折模型的建立方法:待大鼠麻醉后,通过顿性解剖打开股骨肌和腓绳肌之间的平面,暴露股骨,再用三点弯曲装置折断股骨中段,之后用克氏针(1.0 mm)髓内固定^[32]。小鼠右侧股骨干骨折模型的建立方法:在麻醉后,于髌旁外侧

入路显露右膝,采用钝性分离使髌骨内侧脱位以暴露单侧股骨干,屈曲膝关节,于髌间沟中央钻孔(0.5 mm)后,将克氏针(0.5 mm)置入,行内固定,与骨干中点用C形工具横向折断^[33]。家兔左侧胫骨骨折模型的建立方法:将家兔麻醉后,于左侧胫骨内打入克氏针固定,后将左侧小腿固定于改良三点应力装置卡槽,用刀头以恒定速度(5 mm/min)下降,听到断骨音后立即回抬以防产生多余碎骨^[3]。

与传统断头台式的诱导支架相比,这种参数式的力学器械能稳定地调控冲击的力度和速度,并能针对不同体质量的大鼠进行成模个体化的量裁,使得模型复制具备稳定特性。因其便于操作和掌握,力学弯折法已广泛运用于大鼠小鼠和家兔的骨折模型制作。但在实际运用中,还存在因小鼠的骨骼尺寸过小而难以固定、装置本身的制作不够精密或频繁使用后磨损失精密,以及小程度的粉碎性骨折和骨折位移等问题,还有待解决。

2.4 开放截骨法

开放截骨法指将动物麻醉后,在外科手术环境下运用线锯、钢锯、骨锯等工具造成不连续性骨折或骨缺损的方法。大鼠右侧股骨干骨折模型的建立方法:将大鼠麻醉后,于右下肢股骨前上1/2处作纵行切口(1.5 cm),钝性分离肌肉、筋膜,充分暴露股骨干后锯断骨干,最后用2枚克氏针(1.0 mm)穿髓腔内固定并缝合^[34]。小鼠右侧股骨骨折模型的建立方法:将小鼠麻醉后,分离出股骨,用Gigli锯(0.66 mm)在骨干

中部进行横向截骨, 并使用外固定器稳定截骨^[35]。

该类方法成模过程直观, 可控制骨折成角、力线方向和骨折类型(切面光整), 成模稳定, 成模率高, 且产生的骨痂量多。但亦存在诸多缺点, 如操作难度大、有术中感染死亡的风险、对周围软组织和血运的破坏较大、容易造成骨不愈等。因此, 该方法更适用于研究骨折中晚期的愈合机制, 尤其是以内服药物干预的有骨痂需求量的研究。

2.5 钻孔法

钻孔法指动物麻醉后, 在外科手术环境下以低速电钻、牙科电钻、动力钻等工具进行钻孔, 用以制作骨折模型的方法。近年来, 在普通钻孔法的基础上, 又有改良钻孔法。大鼠双侧胫骨骨折模型的建立方法: 将大鼠麻醉后, 充分暴露双侧胫骨, 于胫骨近端前内侧表面生长板下, 用钻头(1.2 mm)进行钻孔(4 mm)后缝合, 制成骨折模型^[36]。转孔法经改良后可进一步降低周围血运和软组织的损伤。由改良钻孔法制成大鼠胫骨骨折模型的建立方法: 将大鼠麻醉后, 在外科手术环境下, 于胫骨结节上2 mm处, 沿胫骨脊做纵向切口(切口大小1.5 cm); 充分显露胫骨后, 用低速电钻(钻头0.3 mm)于胫骨结节下2 mm处, 由胫骨外骨面向髓腔沿横截面钻3个等间距的孔(孔间距2 mm), 可钻达髓腔但不破坏内侧骨外皮质; 最后缝合切口, 制成此模型^[5]。

这种钻孔的方法在稳定制作骨折模型的同时, 尽可能少地破坏骨折周围软组织和血运情况^[37], 减少了骨折畸形和骨折不愈合的发生, 是制作开放性骨折和骨缺损模型较为理想的方法。但其造成骨缺损量比锯开法少, 对骨痂的留取或有影响。该法适用于研究骨折中晚期的愈合机制, 同时也被用于研究疾病状态下骨折愈合的代谢活动, 以及骨愈合药物的临床前安全性研究。

3 开放性与闭合性骨折模型的对比

通过骨缺损法、开放截骨法和钻孔法所制成的骨折模型属于开放性骨折, 而通过物理撞击法和力学弯折法可制作出闭合性骨折模型。在外科手术环境下所形成的开放性骨折模型, 具有直观性和可控性的特点, 其在重复率、成模率和所产生的骨痂量方面要优于闭合性骨折模型^[50], 可保证实验对象的同质性和均一性, 但其耗时长, 操作难度大, 并伴随动物术中可能感染死亡的风险。同时由于对周围软组织和血运的破坏, 开放性骨折模型近中期愈合滞后明显, 容易形成

骨折不愈合的现象^[51]。相比之下, 闭合性骨折模型操作更为简便, 对周围软组织和血管影响较小, 不暴露骨折损伤部位, 更符合临床骨折致病机制, 因此其适用于各种经皮接触的外治或内外疗法的研究。但闭合性骨折模型容易出现粉碎性骨折、手术区外骨折和内固定位移^[50]等情况, 其成模稳定性较差, 且成模概率也较开放截骨法低。

4 髓内固定和外固定的对比

在骨折固定方面, 髓内固定是指将克氏钉等固定材料直接打入动物骨髓腔中进行固定, 其固定过程简单, 出血量小, 造成感染的风险相对外固定要少, 对动物的活动不会造成太大的影响, 并可提供较好的骨折端抗位移能力; 缺点是对骨髓内组织的损伤较大, 且无法提供相应的抗旋转扭力。在此基础上, 改良的带螺纹式的髓内针在一定程度上可以防止骨折断端的旋转位移^[52], 但其仍然对髓腔内组织具有一定破坏性, 从而影响骨折愈合。外固定等框架模式相比髓内固定结构更加稳定, 可提供的抗旋转扭力较大, 不会对骨髓腔内组织造成较大破坏; 缺点是固定过程较复杂, 造模时间较长, 出血量大, 很可能导致实验动物死亡。此外, 外固定造模类似给实验动物带上了一副枷锁, 外固定装置的质量越大, 对动物的影响也越大。同时, 外固定用的钢针是直接将骨组织与外界连接, 在动物饲养的过程中, 易造成动物骨组织内部感染。因此, 在实际操作中不难发现, 克氏针髓内固定仍是制作实验动物骨折模型时较为理想的固定方式。

5 总结与展望

从实验动物物种选择的角度分析, 具体选择不仅要考虑品种、性别、年龄、遗传背景和体重等因素, 还需要依循实验动物3Rs原则进行合理的实验优化。从动物模型制造方法的角度分析, 闭合性骨折模型制作简便, 损伤较小, 并且符合临床骨折病理特点, 适合骨折早中期愈合机制的研究; 开放性骨折模型制作复杂, 过程直观, 成功率高, 骨痂量大, 适用于骨折愈合中晚期的研究。从实验模型固定方式的角度分析, 相比髓内固定术, 外固定更加稳定, 对髓腔内组织损伤较小, 但其制作复杂, 且动物术后活动不便, 存在因感染导致死亡的风险。现有的动物模型无法同时兼顾骨折愈合机制的类人性和实验开展的经济性, 必须在两者之间有所取舍, 开发和完善诸如斑马鱼等更加

具有经济价值的动物模型将成为各类骨折基础研究的新趋势。在此基础上, 我们能对骨折愈合的干预机制进行更深入的研究, 未来用于模型制作的工具也将更加简便和精确, 模型制作的过程对骨折愈合的影响也更小, 并将骨折动物模型作用于更多方面的研究。

综上所述, 基础研究者可以根据实验条件、需求以及研究的层次有的放矢地选择动物种类、模型制作方法以及固定手段。总之, 笔者通过对常用几种动物类型以及长骨骨折造模方法进行横向对比, 为长骨骨折动物模型制作及其愈合机制相关研究提供参考, 从而有助于实现骨折研究成果的临床转化, 将在实验动物中确有效的好方法应用于人类临床实践, 以此提高临床骨折愈合的疗效。

[作者贡献 Author Contribution]

姚广源撰写和修改文稿;
董平指导论文, 核定文稿, 是基金获取者;
吴昊参与论文框架构思;
柏梅、党赢、王悦和胡凯负责文献收集, 参与文稿修改。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] HIXON K R, MILLER A N. Animal models of impaired long bone healing and tissue engineering- and cell-based in vivo interventions[J]. *J Orthop Res*, 2022, 40(4): 767-778. DOI: 10.1002/jor.25277.
- [2] HANDOOL K O, IBRAHIM S M, KAKA U, et al. Optimization of a closed rat tibial fracture model[J]. *J Exp Orthop*, 2018, 5:13. DOI: 10.1186/s40634-018-0128-6.
- [3] 张伟, 梁欢, 黄致超, 等. 闭合性胫骨骨折兔模型的建立与评估[J]. *中国骨伤*, 2023, 36(7):662-668. DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2023.07.013.
ZHANG W, LIANG H, HUANG Z C, et al. Establishment and evaluation of rabbit model of closed tibial fracture[J]. *China J Orthop Traumatol*, 2023, 36(7): 662-668. DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2023.07.013.
- [4] 刘明, 刘杨, 张永萍, 等. 新仙灵骨葆胶囊对大鼠骨折愈合的影响研究[J]. *中国药房*, 2018, 29(9):1201-1204. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.09.12.
LIU M, LIU Y, ZHANG Y P, et al. Study on the effects of new xianling gubao capsule on fracture healing in rats[J]. *China Pharm*, 2018, 29(9): 1201-1204. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.09.12.
- [5] 罗清龙, 唐良华, 熊屹, 等. 苗药九仙罗汉接骨汤促进SD大鼠胫骨骨折愈合中TGF- β 1动态表达[J]. *贵州医药*, 2019, 43(4):526-529. DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2019.04.006.
LUO Q L, TANG L H, XIONG Y, et al. Miao Nationality's Medicine Jiuxianluohanjiegu Decoction promotes the dynamic expression of TGF- β 1 in the healing of tibial fracture from SD rats[J]. *Guizhou Med J*, 2019, 43(4):526-529. DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2019.04.006.
- [6] 侯雪峰, 高玉海, 柏鑫, 等. 大鼠股骨线性骨折模型建立方法的比较与优化改良[J]. *实验动物科学*, 2023, 40(5):65-70. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2023.05.012.
HOU X F, GAO Y H, BAI X, et al. Comparison and improvement of methods for establishing linear fracture model of femur in rats[J]. *Lab Anim Sci*, 2023, 40(5): 65-70. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2023.05.012.
- [7] GAO H, HUANG J M, WEI Q, et al. Advances in animal models for studying bone fracture healing[J]. *Bioengineering*, 2023, 10(2):201. DOI: 10.3390/bioengineering10020201.
- [8] WANG Y, MA S G, SHI Y J, et al. Type 2 diabetes mellitus combined with estrogen deficiency delays fracture healing in rats[J]. *Minerva Med*, 2021, 112(5): 664-666. DOI: 10.23736/S0026-4806.20.06481-2.
- [9] HOLSTEIN J H, MATTHYS R, HISTING T, et al. Development of a stable closed femoral fracture model in mice[J]. *J Surg Res*, 2009, 153(1):71-75. DOI: 10.1016/j.jss.2008.02.042.
- [10] LV F, CAI X L, JI L N. An update on animal models of osteogenesis imperfecta[J]. *Calcif Tissue Int*, 2022, 111(4):345-366. DOI: 10.1007/s00223-022-00998-6.
- [11] MANIGRASSO M B, O'CONNOR J P. Comparison of fracture healing among different inbred mouse strains[J]. *Calcif Tissue Int*, 2008, 82(6): 465-474. DOI: 10.1007/s00223-008-9144-3.
- [12] GUNDERSON Z J, CAMPBELL Z R, MCKINLEY T O, et al. A comprehensive review of mouse diaphyseal femur fracture models[J]. *Injury*, 2020, 51(7): 1439-1447. DOI: 10.1016/j.injury.2020.04.011.
- [13] 周世博, 关键斌, 俞兴, 等. 股骨骨缺损动物模型制备现状及特点[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(4): 633-638. DOI: 10.12307/2023.862.
ZHOU S B, GUAN J B, YU X, et al. Animal models of femoral bone defects: preparation status and characteristics[J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2024, 28(4):633-638. DOI: 10.12307/2023.862.
- [14] 艾子政, 董谢平. 新西兰兔骨缺损模型的文献综述[J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29(20): 1863-1867. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.20.09.
AI Z Z, DONG X P. A review on bone defect models in New Zealand rabbits[J]. *Orthop J China*, 2021, 29(20): 1863-1867. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.20.09.
- [15] 潘治军, 潘静心, 杨振邦, 等. 二次损伤炎症启动犬萎缩性骨不连模型骨痂生长的组织病理学分析[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2019, 34(10): 1041-1045. DOI: 10.7531/j.issn.1672-9935.2019.10.011.
PAN Z J, PAN J X, YANG Z B, et al. Histopathological analysis of callus growth in canine atrophic nonunion model induced by secondary injury inflammation[J]. *Chin J Bone Jt Inj*, 2019, 34(10):1041-1045. DOI: 10.7531/j.issn.1672-9935.2019.10.011.
- [16] BRITS D, STEYN M, L'ABBÉ E N. A histomorphological analysis of human and non-human femora[J]. *Int J Leg Med*, 2014, 128(2):369-377. DOI: 10.1007/s00414-013-0854-3.
- [17] 李静, 陈争晖, 凯迪丽娅·亚力坤, 等. 微渠多孔羟基磷灰石支架修

- 复犬下颌骨大面积缺损后与种植体的骨结合[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(12):1920-1926. DOI: 10.12307/2023.023.
- LI J, CHEN Z H, Kaidiliya Yalikun, et al. Osseointegration of micro-grooved patterns of porous hydroxyapatite scaffolds with implants after repairing large-area canine mandibular defects[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2023, 27(12):1920-1926. DOI: 10.12307/2023.023.
- [18] JIN B Y, ZHANG C J, ZHONG Z Y, et al. A novel degradable PCL/PLLA strapping band for internal fixation of fracture[J]. J Mater Sci Mater Med, 2023, 34(11): 57. DOI: 10.1007/s10856-023-06759-7.
- [19] 肖浦豪, 张波, 陈永昌. 基因编辑猴模型及其在基因治疗研究中的应用前景[J]. 生命科学, 2020, 32(7):669-675. DOI: 10.13376/j.cbbs/2020084.
- XIAO P H, ZHANG B, CHEN Y C. Gene editing monkey model and its application prospect in gene therapy research[J]. Chin Bull Life Sci, 2020, 32(7): 669-675. DOI: 10.13376/j.cbbs/2020084.
- [20] FARRIS M, MCTYRE E R, OKOUKONI C, et al. Cortical thinning and structural bone changes in non-human Primates after single-fraction whole-chest irradiation[J]. Radiat Res, 2018, 190(1):63-71. DOI: 10.1667/RR15007.1.
- [21] 贾鹏, 卢锋成, 赵志辉, 等. 可吸收锁钉鞘预防带锁髓内钉应力遮挡的动物实验研究[J]. 新乡医学院学报, 2020, 37(2):120-124. DOI: 10.7683/xxyxyxb.2020.02.005.
- JIA P, LU F C, ZHAO Z H, et al. Experimental study of absorbable nail sheath preventing stress shielding with interlocking intramedullary nail[J]. J Xinxiang Med Univ, 2020, 37(2):120-124. DOI: 10.7683/xxyxyxb.2020.02.005.
- [22] 杨卫强, 丁童, 杨卫可, 等. 组合式可变应力接骨板内固定干预山羊股骨骨折断端的骨组织细胞功能及骨密度变化[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(6):890-894. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2393.
- YANG W Q, DING T, YANG W K, et al. Combined variable stress plate internal fixation affects changes of bone histiocyte function and bone mineral density at the fractured end of goat femur[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2021, 25(6):890-894. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2393.
- [23] BERGEN D J M, KAGUE E, HAMMOND C L. Zebrafish as an emerging model for osteoporosis: a primary testing platform for screening new osteo-active compounds[J]. Front Endocrinol, 2019, 10:6. DOI: 10.3389/fendo.2019.00006.
- [24] 陈章美. 中华跌打丸促进骨折愈合作用及机制研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2021. DOI: 10.27879/d.cnki.ggxzy.2021.000305.
- CHENG Z M. Study on the effect and mechanism of Zhonghua dieda pill on promoting fracture healing[D]. Nanning: Chinese Master's Theses Full-text Database, 2021. DOI: 10.27879/d.cnki.ggxzy.2021.000305.
- [25] 王岩, 马剑雄, 董本超, 等. 创伤性股骨头坏死动物模型的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2022, 28(5):749-752. DOI: 10.3969/j.issn.1007-6948.2022.00.031.
- WANG Y, MA J X, DONG B C, et al. Research progress of animal model of traumatic femoral head necrosis[J]. Chin J Surg Integr Tradit West Med, 2022, 28(5): 749-752. DOI: 10.3969/j.issn.1007-6948.2022.00.031.
- [26] ANUP A, DIETERICH S, OREFFO R O C, et al. Embracing ethical research: implementing the 3R principles into fracture healing research for sustainable scientific progress[J]. J Orthop Res, 2024, 42(3):568-577. DOI: 10.1002/jor.25741.
- [27] 吕利军, 彭伟, 李闯兵, 等. 髓内固定构建大鼠股骨骨不连模型[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(26):4189-4193. DOI: 10.12307/2024.435.
- LYU L J, PENG W, LI C B, et al. Establishment of a rat femoral nonunion model by intramedullary fixation[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2024, 28(26):4189-4193. DOI: 10.12307/2024.435.
- [28] 魏彬, 黄景辉, 马腾, 等. 不同剂量 rhBMP2 修复兔桡骨骨缺损的比较[J]. 中国矫形外科杂志, 2023, 31(11):1018-1023. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.11.11.
- WEI B, HUANG J H, MA T, et al. Comparison of different doses of rhBMP2 used for repairing radial bone defect in rabbit[J]. Orthop J China, 2023, 31(11):1018-1023. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.11.11.
- [29] 卢蒙恩, 崔莽莽, 郭晓霞, 等. 艾司氯胺酮对大鼠骨折后骨生长相关因子的影响[J]. 河北医药, 2023, 45(18):2770-2773. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2023.18.010.
- LU M E, CUI Q Q, GUO X X, et al. Effect of esketamine on bone growth-related factors after fracturing in rats[J]. Hebei Med J, 2023, 45(18):2770-2773. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2023.18.010.
- [30] 吴东明, 李木英, 陈桂鹏, 等. 湛江驳骨消在骨折模型鼠骨折愈合过程中的作用研究[J]. 中国医药科学, 2020, 10(17):39-42, 59. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0616.2020.17.012.
- WU D M, LI M Y, CHEN G P, et al. A study of the effect of Zhanjiang Boguxiao in the fracture healing process of fracture model rats[J]. China Med Pharm, 2020, 10(17):39-42, 59. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0616.2020.17.012.
- [31] 郭晓光, 张磊, 关钛元, 等. 少阳生骨方修复胫骨骨折模型大鼠转化生长因子 β 1的表达[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(20):3178-3183. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0236.
- GUO X G, ZHANG L, GUAN T Y, et al. Shaoyang Shengguformula for fracture healing in rat models and the expression change of transforming growth factor beta 1 after repair[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2018, 22(20):3178-3183. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0236.
- [32] 唐晓旭, 张志乾, 李福琴, 等. ADAM10 在骨髓间充质干细胞成骨分化及胫骨骨折愈合中的作用及可能机制[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(10): 23-31. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.004.
- TANG X X, ZHANG Z Q, LI F Q, et al. Role and possible mechanism of ADAM10 in osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells and tibial fracture union[J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(10):23-31. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.004.
- [33] ZHOU Q K, LUO D Q, LI T, et al. Bone fracture in a rat femoral fracture model is associated with the activation of autophagy[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(5): 1675-1680. DOI: 10.3892/etm.2015.2752.
- [34] 王钟庆, 熊贤梅, 张严, 等. 三七总皂苷上调浓缩生长因子释放促

- 进大鼠骨折愈合[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(11):1678-1683. DOI: 10.12307/2024.272.
- WANG Z Q, XIONG X M, ZHANG Y, et al. *Panax notoginseng* saponin promotes fracture healing by upregulating concentrated growth factors in rats[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2024, 28(11):1678-1683. DOI: 10.12307/2024.272.
- [35] STARLINGER J, SARAHRUDI K, KECHT M, et al. The influence of M-CSF on fracture healing in a mouse model[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):22326. DOI: 10.1038/s41598-021-01673-w.
- [36] BERNHARDSSON M, ASPENBERG P. Osteoblast precursors and inflammatory cells arrive simultaneously to sites of a trabecular-bone injury[J]. Acta Orthop, 2018, 89(4): 457-461. DOI: 10.1080/17453674.2018.1481682.
- [37] 刘玉召, 罗清龙, 程志刚, 等. SD大鼠两种胫骨骨折模型构建的差异[J]. 贵阳中医学院学报, 2017, 39(5):19-22. DOI: 10.16588/j.cnki.issn1002-1108.2017.05.006.
- LIU Y Z, LUO Q L, CHENG Z G, et al. The difference in constructing tibial defect models with two methods in SD rats[J]. J Guiyang Univ Chin Med, 2017, 39(5):19-22. DOI: 10.16588/j.cnki.issn1002-1108.2017.05.006.
- [38] ZHOU L, HU C J, CHEN Y J, et al. Investigations of silk fiber/calcium phosphate cement biocomposite for radial bone defect repair in rabbits[J]. J Orthop Surg Res, 2017, 12(1):32. DOI: 10.1186/s13018-017-0529-8.
- [39] SATO Y, TAGAMI T, AKIMOTO T, et al. Development and validation of a novel overhead method for anteroposterior radiographs of fractured rat femurs[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 5536. DOI: 10.1038/s41598-024-56238-4.
- [40] HAMADA S, YU M R, SHIWAKU Y, et al. Octacalcium phosphate/gelatin composite (OCP/gel) enhances bone repair in a critical-sized transcortical femoral defect rat model[J]. Clin Orthop Relat Res, 2022, 480(10):2043-2055. DOI: 10.1097/CORR.0000000000002257.
- [41] GIACOMO A D, MORGAN E F, GERSTENFELD L C. Generation of Closed Transverse Fractures in Small Animals[M]//HILTON M J. Methods in molecular biology (Clifton, N. J.) Berlin: Springer, 2021: 63-73. DOI: 10.1007/978-1-0716-1028-2_4.
- [42] LI Z Z, GU Y T, LIN Z W, et al. Cordycepin promotes osteogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and accelerates fracture healing via hypoxia in a rat model of closed femur fracture[J]. Biomedicine Pharmacother, 2020, 125:109991. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.109991.
- [43] HU Y P, LIAN Q Q, CAO F Y, et al. Estrogen deficiency impedes fracture healing despite eliminating the excessive absorption of the posterior callus in a semi-fixed distal tibial fracture mouse model[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2023, 24(1):803. DOI: 10.1186/s12891-023-06929-2.
- [44] KNOTTS T, MEASE K, SANGAMESWARAN L, et al. Pharmacokinetics and local tissue response to local instillation of vocacapsaicin, a novel capsaicin prodrug, in rat and rabbit osteotomy models[J]. J Orthop Res, 2022, 40(10): 2281-2293. DOI: 10.1002/jor.25271.
- [45] ARYAL A, PAGAKU P K, DEY D, et al. Protocol for developing a femur osteotomy model in wistar albino rats[J]. JoVE, 2022 (186): e63712. DOI: 10.3791/63712.
- [46] MENENDI U, NUSRAN G, KAYMAZ B, et al. The effects of carbogen and hyperbaric oxygen treatment on fracture healing in rats[J]. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg, 2022, 28(4): 411-417. DOI: 10.14744/tjtes.2021.02575.
- [47] 姚玉英, 张宏, 范雅丽, 等. 局部微电流刺激对兔胫骨缺损部位降钙素基因相关肽表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(4):20-23.
- YAO Y Y, ZHANG H, FAN Y L, et al. Effect of local microcurrent stimulation on the expression of calcitonin gene-related peptide in tibial defect of rabbits[J]. Chin J Tradit Med Traumatol Orthop, 2021, 29(4):20-23.
- [48] LI Z J, Helms J A. Drill hole models to investigate bone repair [M/OL]// VAN WIJNEN A J, GANSHINA M S. Osteoporosis and osteoarthritis. Methods in molecular biology 2221 (Springer Protocols). 2nd ed. New York: Humana Press, 2021: 193-204. https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-0989-7_12.
- [49] ROBERTS J L, KINTER C W, DRISSI H. Generation and experimental outcomes of closed femoral fracture in mice[M/OL]// VAN WIJNEN A J, GANSHINA M S. Osteoporosis and osteoarthritis. Methods in molecular biology 2221 (Springer Protocols). 2nd ed. New York: Humana Press, 2021: 205-222. https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-0989-7_13.
- [50] 米萌, 周力, 金红婷, 等. 髓内固定的小鼠胫骨开放骨折模型与股骨闭合骨折模型的比较研究[J]. 北京生物医学工程, 2017, 36(4): 383-389, 439. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3208.2017.04.010.
- MI M, ZHOU L, JIN H T, et al. Comparative study between open tibial fracture mouse model and closed femoral fracture mouse model with intramedullary fixation[J]. Beijing Biomed Eng, 2017, 36(4):383-389, 439. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3208.2017.04.010.
- [51] 余昶, 董启榕, 周晓中. 大鼠股骨开放截骨模型与闭合骨折模型制作的比较[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(46): 9071-9075. DOI: 10.3321/j.issn:1673-8225.2008.46.020.
- SHE C, DONG Q R, ZHOU X Z. Comparison of open osteotomy model and closed fracture model in the rat femur [J]. J Clin Rehabil Tissue Eng Res, 2008, 12(46):9071-9075. DOI: 10.3321/j.issn:1673-8225.2008.46.020.
- [52] QU X H, YANG H T, JIA B, et al. Zinc alloy-based bone internal fixation screw with antibacterial and anti-osteolytic properties[J]. Bioact Mater, 2021, 6(12): 4607-4624. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.05.023.
- (收稿日期: 2023-12-18 修回日期: 2024-04-10)
(本文编辑: 翟玉凤, 张俊彦, 丁宇菁, 王艳)
- [引用本文]**
姚广源, 董平, 吴昊, 等. 长骨骨折动物模型的研究进展[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(3): 289-296. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.183.
- YAO G Y, DONG P, WU H, et al. Research progress on animal models of long bone fractures[J]. Lab Anim Comp Med, 2024, 44 (3): 289-296. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.183.