

骨形态计量学目前应用专家共识

陈璐 张豪 杨国柱 陆幸研 金小冬 卢丽 李青南*

广东药学院生命科学与生物制药学院 骨代谢研究室 广州 510006

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014) 09-1031-09

摘要: 1960 年,美国骨整形外科医生 Harold Frost 提出一种定量研究骨微结构和骨量的技术——骨组织形态计量学(BHMT),其采用不脱钙硬包埋法和活体荧光标记法进行骨组织标本制作,更好地保留了骨组织微细结构。50 多年来的实践证实 BHMT 是目前评价骨转换与骨矿化最常用和有效的实验手段,至今仍是骨代谢和矿化评价的金标准。目前国际上有两套常用的标准骨组织形态计量学方法:一是 Harold Frost 与美国犹他大学医学院放射生物系 Webster S. S. Jee 教授及 Sun Valley Hard Tissue Workshops 一起发展并提出的 BHMT 标准命名法,下文简称 Dr. Frost and Jee 教授团队命名法。二是在美国医生 A. Michael Parfitt 于 1980 年提出的一套强调骨组织微结构研究重要性的体视学测量方法基础上,由美国骨矿研究协会(ASBMR)综合提出的标准命名法(1987 年第一版和 2012 年第二版)。上述两种系统命名法均使用广泛,每套系统的指标都很多且各有侧重,使用时可按具体实验需要选择最为适用的系统。本文将讨论 2 种方法的异同点及其在 BHMT 研究中的应用。

关键词: 骨组织形态计量学; 标准命名法; 骨代谢; 骨矿化

Expert consensus about the current application of bone histomorphometry

CHEN Jun, ZHANG Hao, YANG Guozhu, LU Xingyan, JIN Xiaodong, LU Li, LI Qingnan

Laboratory for Bone Metabolism Research, School of Life Science and Biopharmaceutics, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Corresponding author: LI Qingnan, Email: qingnanli@sina.com

Abstract: As a quantitative research technique of bone microstructure and bone mass, bone histomorphometry (BHMT) has been proposed by Harold Frost, an American orthopedic surgeon, in 1960. For better preservation of bone microstructure, undecalcified embedding and fluorescent labeling in vivo are used to make bone tissue samples for BHMT. More than fifty-year application has proved that BHMT is not only the most common and effective method used for the evaluation of bone turnover and bone mineralization, but also the golden standard for the evaluation of bone metabolism and mineralization. There are two common bone histomorphometry methods. One is proposed by Harold Frost and Webster S. S. Jee, a professor from the Department of Radiation Biology, the Medical College of Utah University, and Sun Valley Hard Tissue Workshops (abbreviated as BHMT nomenclature system). Another method is developed by the American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR), based on a set of stereological techniques for bone microarchitecture measurement, which was created by Dr. Parfitt in 1980. Both nomenclature systems have their own parameters and focus, and are widely used. It needs to choose the most appropriate system according to the particular circumstances. In this paper, we discuss the similarities and differences between the two bone histomorphometry methods, and introduce their main application.

Key words: Bone histomorphometry; Standard nomenclature; Bone metabolism; Bone mineralization

1 骨组织形态计量学简介

体视学(stereology)的概念诞生于 1961 年,是指借助计算机及数据处理系统、显微镜及显微成像系统,将物体的二维平面经过成像及计算机分析处理得到三维形态,以进行准确定量及形态结构分析的

方法。其理论立足于 Cavalieri 原理和 Delesse 原理: Cavalieri 原理是指物体等距做数个切面,各切面的面积之和($\sum a$)与切面之间距离(d)的乘积,即可求得物体的绝对体积,用公式表示为: $V = \sum a \cdot d$; Delesse 原理用以求得面积分数(面积密度 A_A)和体积分数(体积密度 V_V),用公式表示为 $AA = \sum A / \sum AO = V_V$ ($\sum A$ 为切面内特征物面积之和, $\sum A_0$ 为切

* 通讯作者: 李青南, Email: qingnanli@sina.com

面内参照面积之和)^[1]。体式学研究采用这些严格的数学方法,能根据比实际组织维数小的截面(投影图)所获得的信息,定量地描述实际组织。

目前,体式学已广泛应用于生物医学、材料科学、图像科学、冶金学、建筑学、工业、农业等领域。自 1961 年国际体视学成立和 1981 年国内首次图像会议后,生物体视学得到普及,其采用体视学原理和方法定量地描述生物组织的形态结构,并根据组织结构的特点研究适应于组织的体视学测量理论和方法。生物体式学具备两项特征:①测量对象为生物组织;②测量在有一定厚度的样品上进行。我们研究的骨组织形态计量学(bone histomorphometry)即为生物体视学的一个特殊分支^[2]。

骨组织形态计量学简称骨计量学,属于体视学、生物医学组织形态计量学中的一个特殊分支,是将计算机、显示器和数字图像处理等有机结合起来的一门综合性分析技术,其在二维的硬组织切片图像上,利用体视学方法,推导出反映骨重建、骨结构的三维参数,对组织化学的有色反应产物和放射自显影的银颗粒等方面均可进行定位和定量,是目前骨质疏松动物实验和临床研究中的重要科研手段^[3]。自 1988 年中国体视学学会和中国生物医学体视学会正式成立以来,生物体视学方法开始在国内得到推广和应用。国内骨科研究中骨组织形态计量学的应用已有大约 20 年,目前应用最多的是对代谢性骨病的研究。

骨组织形态计量学的测定对象为不脱钙且带有荧光标记的骨标本,即经活体标记荧光的骨标本只脱水,不进行脱钙,经甲基丙烯酸甲酯包埋,于切片制片后进行形态学定量测定,可同时检测静态参数和动态参数。与测定脱钙骨标本相比,不脱钙骨标本能更好地保持骨组织的完整性,得到更为全面的静态参数信息:通过定性定量方法计算所得的骨体积密度、骨小梁表面积、皮质骨厚、骨小梁间距、骨小梁厚度等值来反映形态学观察到的骨组织结构改变,同时还能对类骨质进行分析,得出平均类骨质体积、平均类骨质表面、平均类骨质宽、成骨细胞活跃表面、破骨细胞活跃表面和平均骨壁厚等指标,即静态参数在松质骨体现为骨量和骨结构的变化,在皮质骨体现为骨量和骨髓腔的变化。此外,利用四环素、钙黄绿素能与骨特异结合并沉积在骨矿化前沿的特性,采用活体四环素、钙黄绿素双标记法,可将时间因素以荧光标记在骨重建过程中,从而动态地观察骨组织的变化,得到动态参数信息^[4]:通过观

测骨组织内两次标记的荧光线条距离,单、双标四环素荧光骨矿化前沿的标记率等动态变化,进而求得如骨矿化沉积率、矿化延迟时间、骨重建单位时间和纠正矿化沉积率等骨动力学指标,反映出骨形成的信息,动态和静态参数的结合可反映骨转换和骨重建的变化。

骨组织形态计量学将揭示骨生理病理的机能改变与组织定量学研究有机结合,是评价骨转换与骨结构的有效手段,与 BMD 测量相比,其指标敏感性更高,能直观、形象地对皮质骨和松质骨进行定量分析。其通过对骨重建和骨量、骨结构变化的探讨,在评价药物作用环节——抑制骨吸收或(和)促进骨形成功能中具有重要意义。美国 FDA 要求对具有全新结构的抗骨质疏松药物的药效学研究中,必须提供骨形态计量学研究参数的资料^[5]。

2 骨组织形态计量学参数

目前,国际上有两套常用的标准骨组织形态计量学术语命名法^[6]:一是美国骨整形外科医生 Harold Frost(骨代谢、质量和结构研究的前驱之一)1960 年提出的将 BHMT 作为一种骨组织研究技术的基础上,由他和美国犹他大学医学院放射生物系 Webster S. S. Jee 教授及 Sun Valley Hard Tissue Workshops 一起发展并提出的一种 BHMT 标准命名法,下文简称 Dr. Frost and Jee 教授团队命名法^[7]。二是在另一位美国医生 A. Michael Parfitt 于 1980 年提出的一套强调骨组织微结构研究重要性的体视学测量方法基础上,由美国骨矿研究协会(American Society for Bone and Mineral Research, ASBMR)综合提出的标准命名法,旨在综合世界各地研究人员的方法,建立共同的术语,促进技术的科学化^[8,9]。(又分为 1987 年第一版和 2012 年第二版)。

这两套常用的标准骨组织形态计量学术语命名法在临床骨活检和动物实验都在广泛使用,但在测量参数的设计上,二者的侧重点各有不同:Frost 和犹他大学团队提出的标准命名法主要针对临床前研究,对象为实验动物,可以获得非常明确的特定部位的松质骨、皮质骨,因此,对皮质骨各项参数定义得更全面。而 ASBMR 标准命名法主要针对临床骨活检样品的研究,因骨活检取样所得大部分是松质骨,因此对松质骨研究更细致、各项参数定义得更全面。现将两套命名法中常用的皮质骨和松质骨测量参数的英文名称、符号及单位进行对比,详见表 1-8(具体参数引自文献 6-9,并给出了相应中文翻译)。

表 1 松质骨测量参数(静态参数)对比表

Table 1 Comparison of measurement parameters (static parameter) of the cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|----------------------|--------|-----------------|-------------|-----------------------------------|--------|-----------------|-----------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 中文名称 | 英文名称 | 3D 符号 | 2D 符号 | 单位 |
| 骨组织面积 | Total tissue area | T. Ar | mm ² | 骨组织体积 | Bone volume ^a | BV | B. Ar | mm ² |
| 骨小梁面积 | Trabecular area | Tb. Ar | mm ² | 骨组织表面积 | Bone surface ^b | BS | B. Pm | mm |
| 骨小梁周长 | Trabecular perimeter | Tb. Pm | mm | 骨组织分界面 | Bone interface ^c | BI | B. Bd | mm |
| 暂无查到相对应参数 | | | | 骨小梁直径 | Trabecular diameter ^d | Tb. Dm | —— ^k | |
| 暂无查到相对应参数 | | | | 骨小梁厚度 | Trabecular thickness ^e | Tb. Th | Tb. Wi | mcm |

注: a 在 2D 中代表面积; b 在 2D 中表示边界; c 假设骨小梁是薄板; (54) = 2(BS/BV); d 假设骨小梁是圆柱状; (58) = 4(BS/BV); e 在 2D 中代表周长。

表 2 松质骨测量参数(动态参数)对比表

Table 2 Comparison of measurement parameters (dynamic parameter) of the cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|--------------------------|-----------|-----|-------------|-------------------------------------|-------|--------|------------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 中文名称 | 英文名称 | 3D 符号 | 2D 符号 | 单位 |
| 单荧光周长 | Single labeled perimeter | sL. Pm | mm | 单标记周长 | Single-labeled surface ^f | sLS | sL. Pm | mm |
| 双荧光周长 | Double labeled perimeter | dL. Pm | mm | 双标记周长 | Double-labeled surface ^f | dLS | dL. Pm | mm |
| 双荧光间距 | Interlabeled width | Ir. L. Wi | μm | 标记厚度 | Label thickness | L. Th | L. Wi | mcm |
| 成骨细胞数量 | Osteoblast number | Ob. No. | No. | 成骨细胞数量 | Osteoblast number | —— | N. Ob | /mm |
| 成骨细胞周长 | Osteoblast surface | Ob. S | mm | 成骨细胞周长 | Osteoblast surface | Ob. S | Ob. Pm | mm |
| 破骨细胞数量 | Osteoclast number | Oc. No. | No. | 破骨细胞数量 | Osteoclast number | —— | N. Oc | /mm ² |
| 破骨细胞周长 | Osteoclast surface | Oc. S | mm | 破骨细胞周长 | Osteoclast surface | Oc. S | Oc. Pm | mm |
| 骨小梁宽度 | Trabecular wall width | W. Wi | mm | 壁厚度 | Wall thickness | W. Th | W. Wi | mcm |
| 骨吸收周长 | Eroded perimeter | Er. Pm | mm | 骨吸收周长 | Eroded surface | ES | E. Pm | mm |
| 类骨质周长 | Osteoid perimeter | OS | mm | 类骨质周长 | Osteoid surface | OS | O. Pm | mm |

续表 2 松质骨测量参数(动态参数)对比表

Table 2 Comparison of measurement parameters (dynamic parameter) of cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|---------------|-------|-----------------|-------------|-----------------------------------|-------|--------|-----------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 中文名称 | 英文名称 | 3D 符号 | 2D 符号 | 单位 |
| 类骨质宽度 | Osteoid width | O. Wi | μm | 类骨质宽度 | Osteoid thickness | O. Th | O. Wi | mcm |
| 类骨质面积 | Osteoid area | O. Ar | mm ² | 类骨质体积 | Osteoid volume | OV | O. Ar | mm ² |
| 暂无查到相对应参数 | | | | 矿化体积 | Mineralized volume | Md. V | Md. Ar | mm ² |
| | | | | 空隙体积 | Void volume | Vd. V | Vd. Ar | mm ² |
| | | | | 纤维化体积 | Fibrosis volume | Fb. v | Fb. Ar | mm ² |
| | | | | 管道体积 | Canal volume ^g | Ca. V | Ca. Ar | mm ² |
| | | | | 细胞体积 | Cell volume ^{g h} | Ce. V | Ce. Ar | mm ² |
| | | | | 细胞核体积 | Nuclear volume ^{f h} | Nc. V | Nc. Ar | mm ² |
| | | | | 细胞质体积 | Cytoplasmic volume ^{g i} | Cy. V | Cy. Ar | mm ² |
| | | | | 静止周长 | Quiescent surface ^j | QS | Q. Pm | mm |
| | | | | | | | | |

续表 2 松质骨测量参数(动态参数)对比表

Table 2 Comparison of measurement parameters (dynamic parameter) of cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|------|----|----|-------------|----------------------------------|--------|-----------------|-----|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 中文名称 | 英文名称 | 3D 符号 | 2D 符号 | 单位 |
| 暂无查到相对应参数 | | | | 矿化周长 | Mineralized surface ^k | Md. S | Md. Pm | mm |
| | | | | 矿化宽度 | Mineralized thickness | Md. Th | Md. Wi | mcm |
| | | | | 间隙厚度 | Interstitial thickness | It. Th | It. Wi | mcm |
| | | | | 反转面 | Reversal surface ^l | Rv. S | Rv. Pm | |
| | | | | 骨吸收深度 | Erosion depth | E. De | —— ^k | |
| | | | | 细胞核高度 | Nuclear height ^m | Nc. Ht | —— ^k | |
| | | | | 细胞高度 | Cell height ^h | Ce. ht | —— ^k | |
| | | | | 管道半径 | Canal radius | Ca. Rd | —— ^k | |
| | | | | 骨细胞数量 | Osteocyte number | —— | N. Ot | |
| | | | | 脂肪细胞数量 | Adipocyte number | —— | N. Ad | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

续表 2 松质骨测量参数(动态参数) 对比表

Table 2 Comparison of measurement parameters (dynamic parameter) of cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|------|----|----|-------------|-----------------------------|-------|-------|----|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 中文名称 | 英文名称 | 3D 符号 | 2D 符号 | 单位 |
| 暂无查到相对应参数 | | | | 细胞核数量 | Nuclear number ⁱ | — | N. Nc | |
| | | | | 管道数量 | Canal number | — | N. Ca | |
| | | | | 接缝数量 | Seam number | — | N. Sm | |
| | | | | 接缝数量 | Seam number | — | N. Sm | |
| | | | | 骨吸收数量 | Erosion number | — | NE | |
| | | | | 横剖面数量 | Profile number | — | N. Pf | |

注: f 可选择的术语: 单(或双) 标记界面(sLl, dLl) ; g 在组织聚集和个体结构可能混淆, 详见 ASBMR2012 版内容; h 如果需要, 需详细说明细胞类型, 比如 Oc. V 或者 Oc. Ar; i 如果需要, 可通过细胞类型限制, 比如 Oc. Nc. V; j BS-(OS + ES) ; k ES + QS; l ES-OC. S; m 在 2D 中没有特定的术语; n 除了矿化周长外, 不管是 3D 还是 2D, 名称和简写是相同的。

表 1、2 所列为常用的松质骨测量参数, 这些二维参数通常不直接应用于测量结果描述, 而需要通过相应的公式进行计算得到三维参数后, 再用于分析骨量、骨结构、骨形成和骨吸收等。

表 3 松质骨计算参数(静态参数) 对比表

Table 3 Comparison of calculation parameters (static parameter) of the cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|-------------------------|----------|------|------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------|------|------------------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 骨小梁面积百分数 | Percent Trabecular area | % Tb. Ar | % | Tb. Ar/T. Ar × 100 | 无面积对应参数, 但可以 BV/TV 计算骨小梁体积百分数 | | | | |
| 骨小梁厚度 | Trabecular thick | Tb. Th | μm | $(2000/1.199) \times (BV/BS)$ | 骨小梁宽度 | Trabecular width | Tb. Wi | μm | $(BV/TV)/Tb. N$ |
| 骨小梁数量 | Trabecular number | Tb. N | n/mm | $(1.199/2) \times (BS/TV)$ | 骨小梁数量 | Trabecular number | Tb. N | n/mm | $(BV/TV)/Tb. Th^p$ |
| 骨小梁分离度 | Trabecular separation | Tb. Sp | μm | $(2000/1.199) \times (TV - BV)/BS$ | 骨小梁分离度 | Trabecular separation | Tb. Sp | μm | $(1/Tb. N) - Tb. Th^p$ |

注: p 采用平行板模型, 可在 ASBMR2012 版文中找到棒状模型相关计算方法

表 3 中: ①骨小梁面积(或体积) 百分数反映骨量的多少, 是评价骨量变化最重要的指标。②骨小梁宽度反映骨小梁形态结构, 解释骨量的变化, 在骨小梁数量一定的情况下, 其宽度越厚, 骨量越多。③骨小梁数量(Tb. N) : 反映骨小梁形态结构, 解释骨量的变化, 在骨小梁宽度一定的情况下, 其数量越

多, 骨量越多。④骨小梁分离度(Tb. Sp) : 骨小梁之间的平均距离, 反映骨小梁形态结构, 分离度越大, 骨小梁之间的距离就越大, 骨就越疏松。这些参数是反映骨量和骨结构变化的重要指标, 通常情况下, 这些指标出现变化时, 才对动态参数进行进一步的测定和分析。

表 4 松质骨计算参数(动态参数) 对比表

Table 4 Comparison of calculation parameters (dynamic parameter) of the cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|--------------------------------------|-----------|------|-------------------------------------|---|-----------------------------------|-----|-------|----------------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 荧光周长百分数 | Percent labeled perimeter | | % | $(dL. Pm + sL. Pm/2)/BS \times 100$ | 骨矿化周长 | Mineralizing surface ^q | MS | % | $(dLS + sLS/2)/BS^r$ |
| 矿化沉积率 | Mineral apposition rate | MAR | μm/d | Ir. L. Wi/interval | 矿化沉积率 | Mineral apposition rate | MAR | mcm/d | Ir. Th/Ir. L. t |
| 矿化延迟时间 | Mineral Lag Time | MLT | day | O. Wi/MAR | 矿化延迟时间 | Mineralization lag time | Mlt | D | O. Th/Aj. AR |
| 类骨质周长百分数 | Percent osteoid perimeter | % O. Pm | % | O. Pm/Tb. Pm × 100 | | | | | |
| 成骨细胞贴壁周长百分数 | Percent osteoblast surface perimeter | Ob. S. Pm | % | Ob. S. Pm/Tb. Pm × 100 | 暂未查到相对应参数, 但可通过表 2 中的相关测量参数, 根据参数定义, 计算公式, 推导对应计算参数 | | | | |
| 单位骨表面周长成骨细胞数 | Osteoblast number per mm | Ob. N/mm | n/mm | Ob. N/Tb. Pm | | | | | |

Table 4 Comparison of calculation parameters (dynamic parameter) of cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|---|--------------|----------------|---|--|--|----|-----|-------------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 破骨细胞贴壁 周长百分数 | Percent osteoclast surface perimeter | Oc. S. Pm | % | Oc. S. Pm/ Tb. Pm × 100 | 暂未查到相对应参数, 但可通过表 2 中的相关测量参数, 根据参数定义, 计算公式, 推导对应计算参数 | | | | |
| 单位骨表面 破骨细胞数 | Osteoclast number per mm | Oc. N/mm | N/mm | Oc. N/Tb. Pm | | | | | |
| 骨形成率 (新骨年形成率) | Bone formation rate | BFR/TV | % / y | (dL. Pm + sL. Pm /) × MAR/1000 / TV × 365 × 100 | 矿化形成率 | Mineral formation rate ^q | | MFR | MAR* (MS/BS) |
| 骨形成率 (骨转换率) | Bone formation rate | BFR/BV | % / y | (dL. Pm + sL. Pm /) × MAR/1000 / BV × 365 × 100 | 骨形成率 | Bone formation rate ^q | | BFR | same ^t |
| 骨形成率 (骨表面新骨 形成率) | Bone formation rate | BFR/BS | μm/ d × 100 | (dL. Pm + sL. Pm /) × MAR/1000 / BS × 100 | | 暂无查到相对应参数 | | | |

Table 4 Comparison of calculation parameters (dynamic parameter) of cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|------------------------------|----------|------|---------------------------------|-------------|-------------------|-------|----|------------------------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 纵向生长率 | longitudinal Growth Rate | L. G. R | μm/d | O. Wi/MAR | 暂无查到相对应参数 | | | | |
| 骨吸收周长短百分数 | Percent eroded perimeter | % E. Pm | % | E. Pm/Tb. Pm × 100 | | | | | |
| 静止骨表面周长 | Quiescent perimeter | Q. Pm | mm | Tb. Pm-O. Pm-Er. Pm | | | | | |
| 骨重建周长 | Remodeling perimeter | Rm. Pm | mm | Er. Pm + O. Pm | | | | | |
| 骨重建周长 | Percent remodeling perimeter | % Rm. Pm | % | (Er. Pm + O. Pm) /Tb. Pm × 100 | | | | | |
| 骨形成期 | Formation period | Fp | day | W. Wi/MAR | 骨形成期 | Formation period | FP | | W. Th/Aj. AR |
| 骨吸收期 | Resorption period | RP | day | FP × Er. Pm/O. Pm | 骨吸收期 | Resorption period | Rs. P | | FP* (Oc. S/OS) ^a |

Table 4 Comparison of calculation parameters (dynamic parameter) of cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|----------------------|--------|----------|---------------------------------|-------------|-----------------------------------|--------|-----|-----------------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 静止期 | Quiescent period | QP | day | $FP \times Q. Pm / O. Pm$ | 静止期 | Quiescent period | Qp | | $FP^* (QS/OS)$ |
| 骨再建期 | Remodeling period | Rm. P | day | $EP + RP$ | 骨重建期 | Remodeling period ^v | Rm. P | | $FP^* (ES + OS) / OS$ |
| 激活频率 | Activation frequency | Act. F | cycle/Yr | $1 / (Rm. P + Q. P) \times 365$ | 激活频率 | Activation frequency ^w | Ac. f | N/y | $(1 / Tt. P)$ |
| 暂无查到相对应参数 | | | | | 完整周期 | Total period ^x | Tt. P | | $FP^* (BS/OS)$ |
| | | | | | 骨吸收率 | Bone resorption rate ^q | BRs. R | | 详见 ASBMR 2012 版 |
| 矿化延迟时间 | Mineral lag time | Mlt | Day | $O. Wi / MAR$ | 矿化延迟时间 | Mineralization lag time | Mlt | | $O. Th / Aj. AR$ |
| | | | | | 类骨质成熟时间 | Osteoid maturation time | Omt | | $O. Th / MAR^u$ |

Table 4 Comparison of calculation parameters (dynamic parameter) of cancellous bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|----------|----|----|----------|---------------------------|-------------------|-------|--------------------------|--|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | |
| | | | | 骨逆转期 | Reversal period | Rv. P | | FP * (ES - Oc. S) / OS | |
| | 暂无查到对应参数 | | | 多细胞单位生命期 | BMU life span | Sg(or σ) | | 详见 ASBMR 2012 版 | |
| | | | | 校对沉积率 | Adjusted apposition rate* | Aj. AR | mcm/d | MAR* (MS/OS) | |

通过观测骨组织内两次标记的荧光线条距离, 纠正矿化沉积率等骨动力学指标, 进而反映出骨表面成骨细胞/破骨细胞数量、活性及骨形成/骨吸收的活跃程度、骨转化的情况等动态信息。

表 5 皮质骨测量参数(静态参数)对比表

Table 5 Comparison of measurement parameters (static parameter) of the cortical bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|-----------------------------|--------------|-----------------|-------------|---------------------|--------|--------|-----------------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 中文名称 | 英文名称 | 3D 符号 | 2D 符号 | 单位 |
| 骨组织总面积 | Total tissue area | T. Ar | mm ² | 暂无查到相对应参数 | | | | |
| 骨髓腔面积 | Marrow area | Ma. Ar | mm ² | 骨髓腔体积 | Marrow volume | Ma. V | Ma. Ar | mm ² |
| 骨外膜面周长 | Periosteal perimeter | P-Pm | mm | 暂无查到相对应参数 | | | | |
| 骨内膜面周长 | Endocortical perimeter | E-Pm | mm | | | | | |
| 最小皮质骨厚度 | Minimum cortical width | Mini. Ct. Wi | mm | 皮质厚度 | Cortical thicknessy | Ct. Th | Ct. Wi | mcm |
| 皮质类孔的面积 | Porosity area | IC-Po. Ar | mm ² | | | | | |
| 皮质类孔的周长 | Porosity perimeter | IC-Po. Pm | mm | | | | | |
| 骨髓腔内骨小梁面积 | Marrow Trabecular area | Ma. Tb. Ar | mm ² | 暂无查到对应参数 | | | | |
| 骨髓腔内骨小梁周长 | Marrow Trabecular perimeter | Ma. Tb. Pm | mm | | | | | |

表 6 皮质骨测量参数(动态参数)对比表

Table 6 Comparison of measurement parameters (dynamic parameter) of the cortical bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | |
|---------------------------|----------|------------------------------|-------------|------|--------------|----|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 中文名称 | 英文名称 | 单位 |
| 中文名称 | 英文名称 | 3D 符号 | 2D 符号 | 中文名称 | 英文名称 | 单位 |
| 骨外膜面 | 单标记周长 | Signal labeled perimeter | P-sL. Pm | mm | 与松质骨参数相同,可借用 | |
| | 双标记周长 | Double labeled perimeter | P-sdL. Pm | mm | | |
| | 双标记间距 | Interlabeled width | P-In. L. Wi | μm | | |
| 骨内膜面 | 单标记周长 | Signal labeled perimeter | E-sL. Pm | mm | 与松质骨参数相同,可借用 | |
| | 双标记周长 | Double labeled perimeter | E-sdL. Pm | mm | | |
| | 双标记间距 | Interlabeled width | E-In. L. Wi | μm | | |
| | 类骨质周长 | Osteoid perimeter | E-O. Pm | mm | | |
| | 类骨质宽度 | Osteoid width | E-O. Wi | mm | | |
| | 破骨细胞数量 | Osteoclast number | Oc. N | No. | | |
| | 破骨细胞贴壁周长 | Osreoclast surface perimeter | Oc. S | mm | | |
| | 骨吸收周长 | Eroded perimeter | Er. Pm | mm | | |

表 5、6 所列为常用的皮质骨测量参数,与松质骨测量参数类似,这些二维参数也需要通过相应的公式进行计算得到三维参数后,再用于对测量结果(骨量/骨结构)的描述中。

表 7 皮质骨计算参数(静态参数)对比表

Table 7 Comparison of calculation parameters (static parameter) of the cortical bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | | |
|---------------------------|----------------------------|-------------|-----------------|-----------------------|-----------|------|----|----|------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 皮质面积 | Cortical area | Ct. Ar | mm ² | T. Ar-Ma. Ar | | | | | |
| 皮质面积百分数 | Percent cortical area | % Ct. Ar | % | Ct. Ar/T. Ar × 100 | | | | | |
| 净皮质面积 | Cortical bone area | Ct. B. Ar | mm ² | Ct. Ar-IC. Po. Ar | | | | | |
| 净皮质面积百分数 | Percent cortical bone area | % Ct. B. Ar | % | Ct. B. Ar/T. Ar × 100 | 暂无查到相对应参数 | | | | |
| 骨髓腔面积百分数 | Percent marrow area | % Ma. Ar | % | Ma. Ar/T. Ar × 100 | | | | | |
| 骨髓间隙面积 | Marrow space area | Ma. S. Ar | mm ² | Ma. Ar-Ma. Tb. Ar | | | | | |
| 骨髓间隙面积百分数 | percent marrow space area | % Ma. S. Ar | % | Ma. S. Ar/T. Ar × 100 | | | | | |

表 8 皮质骨计算参数(动态参数) 对比表

Table 8 Comparison of calculation parameters (dynamic parameter) of the cortical bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------|--|---------------|------|----|----|------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 标记周长百分数 | Percent labeled perimeter | % P-L. Pm | % | $(P-dL. Pm + P-sL. Pm/2) / P. Pm \times 100$ | 与松质骨参数相同 ,可借用 | | | | |
| 骨外膜面 | 骨矿化沉积率 | Mineral apposition rate | P-MAR | $\mu m/d$ | | | | | |
| 骨形成率 | Bone formation rate | P-BFR/BS | $\mu m/d \times 100$ | $P-L. Pm \times P-MAR / P. Pm \times 100$ | | | | | |
| 标记周长百分数 | Percent labeled perimeter | % E-L. Pm | % | $(E-dL. Pm + E-sL. Pm/2) / E-Pm \times 100$ | 与松质骨参数相同 ,可借用 | | | | |
| 骨内膜面 | 骨矿化沉积率 | Mineral apposition rate | E-MAR | $\mu m/d$ | | | | | |
| 骨形成率 | Bone formation rate | E-BFR/BS | $\mu m/d \times 100$ | $E-L. Pm \times E-MAR / E-Pm \times 100$ | | | | | |
| 类骨质周长百分数 | Percent osteoid perimeter | E - % O. Pm | % | $O. Pm / E-Pm \times 100$ | | | | | |

续表 8 皮质骨计算参数(动态参数) 对比表

Table 8 Comparison of calculation parameters (dynamic parameter) of cortical bone

| Dr. Frost and Jee 教授团队命名法 | | | | | ASBMR 系统命名法 | | | | |
|---------------------------|--------------------------------------|-----------|------|---------------------------------|---------------|------|----|----|------|
| 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 | 中文名称 | 英文名称 | 符号 | 单位 | 计算公式 |
| 骨吸收周长百分数 | Percent eroded perimeter | % Er. Pm | % | $Er. Pm / E-Pm \times 100$ | 与松质骨参数相同 ,可借用 | | | | |
| 每毫米破骨细胞数 | Osteoclast number per mm | Oc. N/mm | N/mm | $Oc. No / Tb. Pm$ | | | | | |
| 破骨细胞贴壁周长 | Percent Osteoclast surface perimeter | Oc. S. Pm | % | $Oc. S. Pm / Tb. Pm \times 100$ | | | | | |
| 骨矿化延迟时间 | Mineralization Lag Time | E-MLT | d | $E-O. Wi / E-MAR$ | | | | | |

3 ASBMR 标准命名法两个版本的区别

3.1 87 版对是否引用体视学的一些概念尚有争论 而 12 版中已明确不引用体视学的概念。

3.2 12 版中 增加了一些内容

3.2.1 样品测量区域的标准描述中 指出: ①活检取样时需要标记区分内外皮层(例如 ,用墨水或棉线) 但目前很少这样做 通常根据外皮层比内皮质附有更多纤维和肌肉组织来区分判断。②无论是髌骨和长骨 都需要注意位于皮质骨和松质骨组织之间的过渡区域 (Tr. Z) 的几何和拓扑特征。因为目前无法界定其边界 图 2 和图 3(详见 ASBMR 2012 版原图) 中未标示出此区域。通常采用基于阈值的算法 即使用高分辨率外周定量(pQCT) 图像来解决这个问题。这种方法可能可以用于髌骨活检样本 但尚未通过试验证实。

3.2.2 参数的标准格式中: 对各个参数之间的公式变换关系中 增加了变量“OV”, 并在公式中增加了 OV 的表述。

3.2.3 Table 1(详见 ASBMR2012 版原表) 中的专业词汇 增加了 3 个: Ad Adipocyte; N Number of sampling units; y Year。同时删除了旧版中的一个词

汇: Ot Osteocyt(e) (ic)

3.2.4 Table 3(详见 ASBMR2012 版原表) 中 , Distance 的参数增加了 erosion depth ,Number 的参数增加了 adipocyte number ,同时去掉了 Node number 和 terminus number。

3.2.5 在结构类指标部分 指出: ①在指定维度下 ,长度和时间通常简称为 L、T,但是在骨形态计量学词典中 它们还有其它意思。②骨小梁数量这个术语有点模棱两可 ,其测量方式多样。根据 ASBMR 的定义 ,骨小梁数量会随着雌激素的缺乏而降低 ,然而随着定义的改变 ,可能得出它反而上升的结论。

3.2.6 矿化表面指标部分 指出: 个别荧光长度的变化依赖于所使用的荧光标记物。Parfitt and colleagues 证实: 无论使用顺序如何 ,去甲金霉素的标记长度都明显长于土霉素。在计算 MS/BS 和 BFR ,尤其是采用四重荧光标记评价骨活检样本的骨纵向生长率变化时要注意这个问题。

3.2.7 矿化时间指标部分 指出: ①将软骨病的判断定义为 O. Th > 12. 5mcm 和 MLT > 100 天。②一些易于应用于嵌入式活检标本的技术 ,如 X 射线显微照相术、后向散射电子成像技术、傅里叶变换红外光谱技术等都能检测次级矿化时间 ,其与静态和动

态的骨形成指标有关。

3.2.8 骨重建周期的时长及其划分部分 指出: 用 $FP(a+)$ 指标可以区分类骨质表面和矿化表面, 例如在骨形成的末端存在很薄的类骨质, 而此时 MAR 太低以至于不能检测到独立荧光, 或四环素沉积不够而难以观测。

3.2.9 激活间隔和频率部分 去掉了 87 版中对单位的一些描述。

3.2.10 增加了对低骨重建率时的动态参数评价的内容 具体如下:

早期使用上述方法, 多用于评价基于四环素标记的促进骨形成情况, 当时很少在人的髂嵴骨组织活检中遇到低骨重建率的情况, 除非是处于特殊疾病期。然而, 随着抗骨吸收药物的出现和广泛应用, 现在骨组织活检中频繁遇到转换率非常低, 在松质骨或皮质骨中没有荧光标记或只存在单荧光的现象。缺少荧光标记的原因可能是四环素没有被摄取或没有有效的吸收。这种情况有时可以通过检查其他组织间隔的荧光来消除, 即皮质内侧或外侧。如果缺少荧光能够真实的代表低转换率, 那么这种假设就能被骨形成的静态参较低数值支持, 比如类骨质周长或成骨细胞的数量。减少四环素的摄取会给测定和解释这种情况带来难题, 因此需要建立统一的方法。在某些情况下, 比如在一些充足的样本中, 没有荧光标记, 此时我们推荐 MAR 作为缺失值, 这些在治疗组样本的数量可以在文章结果部分展开详尽的讨论。这种情况下, 可以适当的将 MS/BS 标记为零, 且这些样本在 MS/BS 进行组内均值。在骨活检中, 只存在单荧光或很少量的双荧光时, 计算所得的 MAR 是可靠的, MS/BS 通常采用这种方式来计算。MAR 可以被记录为一个缺失值或者一个有选择的最低值。这两种值都是凭着经验来确定的 (0.3mcm/d 或 0.1mcm/d), 在第一种情况下 MAR 最低可测量的平均值基础上得到的, 第二种情况下是以最小测量值而得到。在实验室中得到的 MAR 最低测量值在分析中也能够用得到。

另外, 如果在其他骨活检的表面存在双荧光, 比如皮质骨, 测量的 MAR 值是可以采用的或者说可以采用 MAR 的平均值。使用以上方法中的任何一种, 如果在三维空间表示 MAR, 则应该采用合适的校正系数。当仅存在单荧光时, 给 MAR 赋值的益处是有很多样本可以用来计算 MAR 的组内均值, 并且可以通过它得到很多参数, 比如: BFR, 但是要注意的是 MAR 的组内均值和得到的参数可能会有

正偏差, 然而除去这些样本将会有不利的影响。因此, 最主要的建议是, 在所有的文章中应明确说明一组中双标记组中样品数量、只有单标记样品的数量和无标记样品的数目和单标记样品的处理方法。另外一种选择是采用两种方法来呈现结果。一些作者已经采用扩大搜索范围的协议, 在骨组织中寻找荧光标记。虽然要求陈述在治疗组中有标签的活检数量所占的比例, 但这并没有更改数据资料, 而且额外获得的信息可能也不成比例。如果在充足的样本区域荧光太低或者不存在, 那么很可能在剩余的样本中荧光也很低或不存在。对于皮质骨和松质骨单荧光或双荧光的存在或不存在应该分别描述。上述对于 MAR 估算和报告的建议也可以在特殊的条件下应用, 比如只注射了四环素。

4 小结

以不脱钙骨切片为研究对象, 行骨组织形态计量学分析, 不仅能从形态学上揭示骨组织的生理病理机能改变, 还可通过与组织定量学研究有机结合, 直观、形象地对皮质骨和松质骨进行定量分析。骨组织形态计量学测量指标多样且敏感性高、不仅能提供与骨密度仪 BMD 测定和 Micro-CT 测定类似的静态实验结果, 更能通过测定各项动态参数、从多指标角度探讨成骨细胞的骨形成功能水平, 如成骨细胞的数量、活性以及分泌类骨质; 还可通过矿化沉积率和矿化延迟时间来分析骨骼矿化、软化或硬化的情况, 这些细胞水平的测定结果能反映骨组织发生静态变化的相关机制, 为临床治疗和评价药物作用提供更为明确的实验和理论依据。因此, 这些动态实验结果是骨密度仪 BMD 测定和 Micro-CT 测定无法比拟的。

综上所述, 骨组织形态计量学是目前评价骨转换与骨矿化最常用、有效的实验手段。目前 Dr. Frost and Jee 教授团队命名法和美国骨科研究协会 (ASBMR) 提出的标准命名法都在广泛使用, 每套系统的指标都很多且各有侧重, 使用时可按具体实验需要选择最为适用的系统。

【参考文献】

- [1] 申洪, 沈盅英. 实用生物体视学技术[M]. 中山大学出版社, 1991: 1-5.
Shen H, Shen ZY. Practical technology of biological stereology [M]. Sun Yat-sen University Press, 1991: 1-5.

(下转第 1054 页)

- [53] Jin-Yu Shao, Gang Xu, Peng Guo. Quantifying cell adhesion strength with micropipette manipulation principle and application. *Front Biosci* 2004 9: 2183-2191.
- [54] Bustamante C, Smith SB, Liphardt J, et al. Single-molecule studies of DNA mechanics. *Curr Opin Struct Biol* 2000, 10(3): 279-285.
- [55] Manosas M, Wen JD, Li PT, et al. Force unfolding kinetics of RNA using optical tweezers. II. Modeling experiments. *Biophys J*, 2007 92(9): 3010-3021.
- [56] Isralewitz B, Gao M, Schulten K. Steered molecular dynamics and mechanical functions of proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2001, 11(2): 224-230.
- [57] Lugade V, Lin V, Chou LS. Center of mass and base of support interaction during gait. *Gait Posture* 2011 33(3): 406-411.
- [58] Park MS, Chung CY, Lee SH, et al. Effects of distal hamstring lengthening on sagittal motion in patients with diplegia: hamstring length and its clinical use. *Gait Posture* 2009 30(4): 487-491.
- [59] Lord SE, Halligan PW, Wade DT. Visual gait analysis: the development of a clinical assessment and scale. *Clin Rehabil*, 1998 12(2): 107-119.
- [60] Melis EH, Torres-Moreno R, Barbeau H, et al. Analysis of assisted-gait characteristics in persons with incomplete spinal cord injury. *Spinal Cord* 1999 37(6): 430-439.
- [61] 孙嘉利, 唐丹, 钟世镇. 三维步态分析的研究与应用. *中国组织工程研究与临床康复* 2007 5: 944-948.
Sun JL, Tang D, Zhong SZ. Research and application of three-dimensional gait analysis. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2007, 5: 944-948. (in Chinese)
- [62] Bereket S. Effects of anthropometric parameters and stride frequency on estimation of energy cost of walking. *J Sports Med Phys Fitness* 2005 45(2): 152-161.
- [63] IJzerman MJ, Baardman G, Hermens HJ, et al. The influence of the reciprocal cable linkage in the advanced reciprocating gait orthosis on paraplegic gait performance. *Prosthet Orthot Int*, 1997 21(1): 52-61.
- [64] 郑淑玲. 微机控制液压万能试验机在拉伸实验中的应用. *中国教育技术装备* 2007 5: 29-30.
Zheng SL. Application of Electro-hydraulic Servo Universal Tester Controlled by Computer in Tensile Test. *China Educational Technique & Equipment*, 2007, 5: 29-30. (in Chinese)
- [65] 昌学年, 姚毅, 闫玲. 位移传感器的发展及研究. *计量与测试技术* 2009 9: 42-44.
Chang XN, Yao Y, Yan L. Development and Investigation of Displacement Sensor. *Metrology & Measurement Technique*, 2009, 9: 42-44. (in Chinese)
- [66] Lanyon LE, Hampson WG, Goodship AE, et al. Bone deformation recorded in vivo from strain gauges attached to the human tibial shaft. *Acta Orthop Scand* 1975 46(2): 256-268.
- [67] Szivek JA, Roberto RF, Margolis DS. In vivo strain measurements from hardware and lamina during spine fusion. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005 75(2): 243-250.
- [68] 孟殿怀, 许光旭, 朱奕, 等. 三维步态分析评定腓肠肌长度的初步研究. *中国康复医学杂志* 2012 3: 231-234.
Meng DH, Xu GX, Zhu Y, et al. Pilot study of 3-D gait analysis for measurement of gastrocnemius length. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2012, 3: 231-234. (in Chinese).

(收稿日期: 2014-02-18)

(上接第 1038 页)

- [2] 申洪. 体视学在生物医学研究中的进展与展望[J]. *中国体视学与图像分析*, 1996(3): 107-111.
Shen H. Progress and prospects in stereology of biomedical research[J]. *Chinese Journal of Stereology and Image Analysis*, 1996(3): 107-111.
- [3] 刘忠厚. 骨矿与临床[M]. 中国科学技术出版社, 北京: 2006, 959.
Liu ZH. Bone mineral and clinical[M]. China Science and Technology Press, 2006: 959.
- [4] Vincent A, Fitzpatrick LA. Soy isoflavones: are they useful in menopause? [J]. *Mayo Clin Proc*, 2000, 75(11): 1174-1184.
- [5] FDA CDER Guidance. Preclinical and clinical evaluation of agents used in the prevention or treatment of postmenopausal osteoporosis.
- [6] Vidal B, Pinto A, Galvão MJ, et al. Bone histomorphometry revisited. *Acta Reumatol Port*. 2012, 37(4): 294-300.
- [7] Jee WS, Harold M, Frost MD, D Sc. (hon) - One man's association [J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2006, 6(2): 113-121
- [8] Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, et al. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee[J]. *J Bone Miner Res*, 1987, 2(6): 595-610
- [9] David WD, Juliet EC, Marc KD, et al. Standardized Nomenclature, Symbols, and Units for Bone Histomorphometry: A 2012 Update of the Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(1): 2-17

(收稿日期: 2014-05-22)