

# DXA 测量活体大鼠骨的精密性及骨丢失的检测

陆泽元 廖二元 伍贤平 伍汉文 周智广 邓小戈

**【摘要】** 目的 了解 QDR-4500A 型双能 X 射线吸收法 (DXA) 测量活体大鼠的精密性和探测去卵巢后大鼠骨丢失的能力。方法 测量 15 只体重为 202~311 g 的 SD 大鼠全身、股骨及腰椎的骨密度 (BMD), 每只大鼠测量 3 次, 可得变异系数 (CV), 15 只大鼠 CV 的平均值为该指标的批内 CV。结果 ①全身、股骨、腰椎 BMD 的批内 CV 分别为 0.71%、2.02% 和 2.44%, 全身 BMD 的批内 CV 显著低于股骨和腰椎 ( $P < 0.05$ ); ②全身 BMD 的批间 CV 为 0.99%, 股骨整体为 2.81%, 腰椎总体 ( $L_3 \sim L_6$ ) 为 3.42%; ③术后 4 周去卵巢组全身、股骨、腰椎 BMD 与假手术组比较无显著性变化, 而股骨远侧干骺端 BMD 低于假手术组 ( $P < 0.05$ ); ④去卵巢后 14 周腰椎总体 ( $L_4 \sim L_6$ ) 的 BMD 低于假手术组 ( $P < 0.05$ )。结论 QDR-4500A 型 DXA 测量大鼠全身、股骨和腰椎 BMD 有较好的精密性, 全身优于局部骨骼; 其精密性能满足检出去卵巢后骨丢失。

**【关键词】** 双能 X 射线吸收法; 精密性; 骨丢失; 去卵巢大鼠; 骨密度

Dual-energy X-ray absorptiometry of rats: precision and measurement of bone loss *in vivo* LU Zeyuan, LIAO Eryuan, WU Xianping, et al. Institute of Metabolism and Endocrinology, The Second Affiliated Hospital, Hunan Medical University, Changsha 410011, China

**【Abstract】** **Objective** To investigate the precision of dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) in rats *in vivo* and assess the ability of the technique to detect bone loss in ovariectomized rats. **Methods** Bone mineral density (BMD) of whole body, lumbar spine and femur of 15 SD rats (mean weight  $253 \pm 32$ g) were studied by DXA (QDR-4500A). The reproducibility was determined by making three measurements on each anesthetized rat. **Results** ①The coefficients of variation (CV) of BMD for whole body, at femur and at lumbar spine were 0.71%, 2.02% and 2.44%, respectively. The CV of BMD for whole body was significantly lower than that at femur and at lumbar spine ( $P < 0.05$ ). ②The long-term precision of measurement in rat cadavers over a 20 day period was 0.99% for whole body BMD, 2.81% for femur, and 3.42% for lumbar spine ( $L_3 \sim L_6$ ). ③There were no significant differences for the BMD of whole body, femur and lumbar spine at 4 weeks post-surgery between OVX rats and sham controls, but the BMD of distal femoral metaphysis was significantly lower in ovariectomized rats than that in sham-operated controls ( $P < 0.05$ ). ④The BMD of the lumbar spines ( $L_4 \sim L_6$ ) in rats was significantly lower at 14 weeks post-operation than that in sham controls ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** ①The BMD of whole body, femur and lumbar spine can all be obtained with excellent precision using QDR-4500A DXA. The precision of whole body BMD was superior to that of local BMD. ②The DXA technique has the precision necessary to detect non-invasively the bone loss post-ovariectomy.

**【Key words】** Dual energy X-ray absorptiometry; Precision; Bone loss; Ovariectomized rats; Bone mineral density

双能 X 射线吸收法 (DXA) 配有小动物测量软件后可测量大鼠骨密度 (BMD), 据报道<sup>[1-3]</sup> DXA 测量大鼠 BMD 是精密和准确的。去卵巢大鼠活体测定既可纵向观察也可横向比较 BMD 的变化, 在骨质疏松动物研究中有重要意义。本研究应用先进的

QDR-4500A 型 DXA 测量大鼠活体全身参数指标、局部骨骼 BMD 的变异系数 (CV), 了解该测量技术的精密性和是否能检出去卵巢后的骨丢失。

## 材料和方法

1. 全身参数测量: QDR-4500A 型 DXA (Hologic 公司, 美国) 及所附的小动物测量软件可测定大鼠全身骨面积 (Area)、骨矿含量 (BMC)、骨密度 (BMD)、

作者单位: 410011 长沙, 湖南医科大学第二附属医院代谢内分泌研究所

第一作者现在深圳市福田医院内分泌科

体重(BW)、瘦组织量(LTM)和脂肪组织量(FTM)。该仪器测量人体腰椎体模长期(2年)CV在0.28%~0.36%之间。测量大鼠前需用人体腰椎体模校正BMC测定和小动物阶梯模型校正体重及体成分测定。用3.0%(W/V)的戊巴比妥钠(0.1 ml/100 g体重)腹腔注射麻醉后的大鼠取俯卧式行全身扫描,扫描宽度18 cm,扫描长度根据鼠长调整,扫描速度为4.8 s/cm。

2. 腰椎和股骨的BMD测量:对腰椎和股骨行高清晰度扫描,扫描宽度为5 cm,长度可任意调整,扫描速度为31.1 s/cm。股骨扫描取俯卧位,其兴趣区的确定<sup>[1]</sup>采用近侧1/4为近侧干骺端(R<sub>1</sub>),中间2/4代表股骨干(R<sub>2</sub>),远侧1/4为远侧干骺端(R<sub>3</sub>)。腰椎扫描大鼠取仰卧位,对第3至第6腰椎(L<sub>3</sub>~L<sub>6</sub>)总体和单个腰椎分别进行分析。

3. 精密性:测量的精密性用CV表示,15只SD大鼠体重在202~311 g之间(购自湖南医科大学实验动物学部),用于批内精密性研究,对麻醉后的大鼠全身和局部骨骼分别连续扫描3次,每次扫描重新摆位,进行相同的图像分析,3次扫描可求得CV,15只大鼠的CV平均值即为该指标的批内精密性。1只体重为247 g的雌性SD大鼠和1只体重为297 g的雄性SD大鼠麻醉后用塑料袋包裹,并存放于-20℃冰箱中,每天扫描一次,连续20 d,2只大鼠的CV平均值即为批间精密性。

4. 骨丢失检测:试验①14只3月龄雌性SD大鼠(购自湖南医科大学实验动物学部);试验②20只3月龄雌性SD大鼠(购自中国科学院上海实验动物中心)。大鼠在本院动物实验室适应2周后,分别随机分为两组,麻醉后行全身扫描,切除双侧卵巢(OVX组)和假性去卵巢(Sham)组,任意进食本院动物实验室自产的全价颗粒饲料(1.53%钙和0.90%磷)和自来水。试验1于4周后测量大鼠全身参数指标、腰椎和股骨BMD。试验2于14周后测量大鼠腰椎(仅测量L<sub>4</sub>~L<sub>6</sub>)BMD。

5. 统计学处理:用SPSS6.0版软件行统计分析,数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较用独立样本t检验,前后比较用配对t检验,多组均数比较用单因素方差分析(组间用S-N-K比较)。

## 结 果

1. 全身参数指标、股骨和腰椎BMD的批内精密性(见表1):FTM的CV显著高于其余全身各参数

指标( $P < 0.05$ )。股骨远侧干骺端的CV显著大于其整体( $P < 0.05$ )。而各个腰椎及其与腰椎总体之间的CV差异均无显著性。股骨整体和腰椎总体BMD的CV显著大于全身BMD( $P < 0.05$ )。

表1 全身参数指标、股骨、腰椎BMD批内CV

| 指标*                                    | CV(%)                    | 95%CI       |
|--|--------------------------|-------------|
| 大鼠全身                                   |                          |             |
| Area(cm <sup>2</sup> )                 | 1.34 ± 0.48              | 1.10 ~ 1.58 |
| BMC(g)                                 | 1.13 ± 0.65              | 0.81 ~ 1.46 |
| BMD(g/cm <sup>2</sup> )                | 0.71 ± 0.44              | 0.47 ~ 0.94 |
| BW(g)                                  | 0.66 ± 0.31              | 0.49 ~ 0.82 |
| LTM(g)                                 | 0.14 ± 0.09              | 0.09 ~ 0.19 |
| FTM(g)                                 | 5.42 ± 2.37 <sup>*</sup> | 4.15 ~ 6.68 |
| 股骨整体BMD(g/cm <sup>2</sup> )            | 2.02 ± 1.00 <sup>△</sup> | 1.47 ~ 2.57 |
| R <sub>1</sub> BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | 2.54 ± 1.22              | 1.86 ~ 3.22 |
| R <sub>2</sub> BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | 1.88 ± 0.87              | 1.40 ~ 2.36 |
| R <sub>3</sub> BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | 3.23 ± 1.13 <sup>△</sup> | 2.61 ~ 3.85 |
| 腰椎总体BMD(g/cm <sup>2</sup> )            | 2.44 ± 1.43 <sup>△</sup> | 1.65 ~ 3.23 |
| L <sub>3</sub> BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | 3.34 ± 1.95              | 2.26 ~ 4.43 |
| L <sub>4</sub> BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | 2.84 ± 2.26              | 1.59 ~ 4.09 |
| L <sub>5</sub> BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | 3.11 ± 1.17              | 2.17 ~ 4.06 |
| L <sub>6</sub> BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | 3.49 ± 2.02              | 2.36 ~ 4.61 |

注:与全身各参数指标比,\* $P < 0.05$ ;与股骨整体BMI比,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;与全身BMD比,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;<sup>\*</sup>受试大鼠n=15;CI为可信区间

2. 全身参数指标及股骨、腰椎BMD的批间精密性:用于批间CV测量的雌性大鼠全身BMD平均为0.1511 g/cm<sup>2</sup>,雄性大鼠全身BMD平均为0.1305 g/cm<sup>2</sup>。全身同Area、BMC和BMD的批间CV分别为1.93%、1.94%、0.99%。股骨整体BMD批间CV为2.81%。腰椎总体(L<sub>3</sub>~L<sub>6</sub>)BMD批间CV为3.42%。

3. 去卵巢后大鼠全身参数指标的变化(见表2):术前(0周)两组大鼠Area、BMC、BMD、BW、LTM和FTM之间比较差异均无显著性。术后4周OVX组Area、BMC、BW、LTM和FTM均显著高于Sham组( $P < 0.05 \sim 0.01$ ),而BMD无显著性变化。

4. 骨丢失的检测(见表3和表4):试验1于术后4周OVX组股骨远侧干骺端的BMD显著低于Sham组( $P < 0.05$ ),而股骨整体、近侧干骺端、股骨干在两组间差异均无显著性;术后4周OVX组腰椎总体(L<sub>3</sub>~L<sub>6</sub>)和单个腰椎BMD与Sham组比较无显著差异(数据未显示)。试验2于术后14周OVX组

腰椎总体(L<sub>4</sub> ~ L<sub>6</sub>)、第5腰椎、第6腰椎的BMD均显著低于 Sham 组(P < 0.05 ~ 0.01), 而第4腰椎在两组间差异无显著性。

表2 试验1全身各参数去卵巢后及随增龄变化

| 组别    | n | Area(cm <sup>2</sup> )          | BMC(g)                        | BMD(g/cm <sup>2</sup> ) | BW(g)                         | LTM(g)                        | FTM(g)                     |
|-------|---|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 0周    |   |                                 |                               |                         |                               |                               |                            |
| Sham组 | 7 | 46.9736 ± 2.9822                | 6.8187 ± 0.7979               | 0.1448 ± 0.0092         | 210.4 ± 12.4                  | 177.3 ± 10.5                  | 26.3 ± 5.2                 |
| OVX组  | 7 | 48.4980 ± 3.1613                | 7.0365 ± 0.8036               | 0.1448 ± 0.0098         | 215.1 ± 14.2                  | 182.4 ± 13.1                  | 25.6 ± 5.0                 |
| 4周    |   |                                 |                               |                         |                               |                               |                            |
| Sham组 | 7 | 51.7939 ± 2.4836                | 7.5702 ± 0.5161 <sup>▲</sup>  | 0.1462 ± 0.0074         | 225.8 ± 14.1 <sup>▲▲</sup>    | 194.4 ± 13.3 <sup>▲▲</sup>    | 23.9 ± 4.0                 |
| OVX组  | 7 | 57.3755 ± 2.8250 <sup>***</sup> | 8.2836 ± 0.4838 <sup>*▲</sup> | 0.1445 ± 0.0080         | 278.0 ± 22.5 <sup>***▲▲</sup> | 239.4 ± 16.8 <sup>***▲▲</sup> | 31.6 ± 4.4 <sup>***▲</sup> |

注:与Sham组比,\* P < 0.05, \*\* P < 0.01;与0周比,▲ P < 0.05, ▲▲ P < 0.01

表3 试验1大鼠术后4周活体股骨及兴趣区BMD比较(g/cm<sup>2</sup>)

| 组别    | 大鼠(只) | 股骨整体            | 近侧干骺端(R <sub>1</sub> ) | 股骨干(R <sub>2</sub> ) | 远侧干骺端(R <sub>3</sub> )       |
|-------|-------|-----------------|------------------------|----------------------|------------------------------|
| OVX组  | 7     | 0.2110 ± 0.0122 | 0.2049 ± 0.0133        | 0.2003 ± 0.0111      | 0.2231 ± 0.0140 <sup>*</sup> |
| Sham组 | 7     | 0.2216 ± 0.0096 | 0.2154 ± 0.0141        | 0.2000 ± 0.0092      | 0.2442 ± 0.0097              |

注:与Sham组比,\* P < 0.05

表4 试验2大鼠术后14周活体腰椎BMD比较(g/cm<sup>2</sup>)

| 组别    | 大鼠(只) | 腰椎总体(L <sub>4</sub> ~ L <sub>6</sub> ) | 第4腰椎(L <sub>4</sub> ) | 第5腰椎(L <sub>5</sub> )        | 第6腰椎(L <sub>6</sub> )         |
|-------|-------|--|-----------------------|------------------------------|-------------------------------|
| OVX组  | 10    | 0.1792 ± 0.0108 <sup>*</sup>           | 0.1781 ± 0.0123       | 0.1758 ± 0.0117 <sup>*</sup> | 0.1778 ± 0.0115 <sup>**</sup> |
| Sham组 | 10    | 0.1991 ± 0.0093                        | 0.1871 ± 0.0082       | 0.1865 ± 0.0104              | 0.1929 ± 0.0098               |

注:与Sham组比,\* P < 0.05, \*\* P < 0.01

### 讨 论

骨骼是代谢惰性的组织,监测骨量变化必需有高精密性的仪器,特别是在低骨密度的小动物。影响DXA活体测量大鼠的精密性主要因素有:①仪器测定性能;②被测标本的摆放:DXA测量是将三维结构的标本转变成二维投影图像,摆位的细微差异可导致骨Area变化,从而影响BMD测定;③图像分析:计算机图像分析背景区大小和骨骼在背景区的位置亦影响BMD值。本研究在摆位和图像分析操作时统一规则,尽量减少人为操作误差。结果表明全身BMD的精密性高于股骨整体和腰椎总体,而股骨整体高于其远侧干骺端均有显著性意义。

Kalu<sup>[4]</sup>于1991年建议采用2种大鼠骨质疏松模型,即3月龄(生长期)和12月龄(老年期)去卵巢的大鼠模型,国内多采用前者。3月龄雌性SD大鼠及术后3~4月其体重多在190~350g之间。用于本研究精密度测定的大鼠体重在上述范围内。全身BMD的CV为0.71%,与文献报道<sup>[2,5]</sup>的0.66%和0.8%非常接近,全身BMC的CV(1.12%)略高于

BMD的CV,说明通过投影面积矫正后的BMD精密度有所提高,但差异无显著性,此结果与Mitalak等<sup>[2]</sup>报道一致;OVX组在去卵巢后4周全身BMD较Sham组平均降低1.16%,但未达到统计学意义。活体股骨整体BMD的CV为2.02%,与Gouveia等<sup>[6]</sup>报道相似;术后4周OVX组股骨BMD较Sham组降低4.78%,仍未有统计学意义。股骨远侧干骺端BMD测量的CV为3.23%,其精密度差于股骨整体,但该兴趣区松质骨含量较多,去卵巢4周后BMD平均降低8.64%,有统计学意义(P < 0.05),与Griffin等<sup>[1]</sup>的结果一致,表明该兴趣区是去卵巢后骨丢失的敏感区。全身BMD测量的精密度高,但骨丢失少,检出去卵巢后骨丢失的敏感性低;而股骨远侧干骺端BMD测量的CV是全身的4~5倍,尽管检出去卵巢后骨丢失的敏感性由于其精密度差而降低了,但该兴趣区骨丢失较多,BMD降低仍有统计学意义。因此,在骨丢失较多的兴趣区提高BMD测量的精密度,对提高检出骨丢失的敏感性有重要的意义。

单个腰椎的CV较腰椎总体要大,但差异无显

(下转第229页)