

## 专题介绍

## 小鼠动物实验方法系列专题(八)

小鼠是生命科学研究和医学研究的重要模式生物。随着小鼠基因组测序计划的完成,国际上明显加速了在这方面研究的投入和部署。从2005年起,美国、欧盟、加拿大等批准了一系列重大科学计划,开展基因工程小鼠的大规模研制,这些项目包括美国国立卫生院的小鼠基因剔除计划(KOMP, <http://www.nih.gov/science/models/mouse/knockout>)、欧盟第七框架的欧洲小鼠条件性剔除计划(EuCOMM, <http://www.eucomm.org>)和加拿大的北美小鼠条件性剔除计划(NorCOMM, <http://norcomm.phenogenomics.ca/index.htm>)等。中国也在2006年由科技部立项、上海南方模式生物研究中心牵头启动了中国的条件性基因敲除计划,该计划支持了国内几十个高校和研究所150种条件性基因敲除小鼠模型的建立。随着这些研究计划的快速进展,大量基因工程小鼠模型成为科学界的共同资源,这将对功能基因组和人类疾病治疗的机制以及新药的研发产生重大而深远的影响。为帮助读者能更好地利用这些小鼠资源开展研究,我们以专栏形式陆续刊登介绍小鼠动物实验技术的文章,也欢迎读者能够踊跃投稿,把自己手头正在做的小鼠动物实验技术方法和心得体会介绍给大家,一起来分享实验过程中的得失和快乐。

## 显微CT在骨微结构研究中的应用

王维刚<sup>1,2</sup> 刘震泽<sup>2</sup> 李俊<sup>3</sup> 严惠敏<sup>3\*</sup><sup>1</sup>同济大学化学系,上海 200092; <sup>2</sup>同济大学生命科学与技术学院,上海 200092;<sup>3</sup>上海南方模式生物研究中心,上海 201203)

**摘要** 该文对*OPG*基因敲除小鼠进行micro-CT扫描,进行全身骨骼三维重建,并分析股骨结构。结果发现*OPG*基因敲除纯合子小鼠全身骨骼出现弥漫性蜂窝状低密度影。*OPG*基因敲除小鼠的骨密度、骨结构模型指数、骨小梁厚度、骨体积分数、骨表面积与体积比、连接密度以及皮质骨厚度等指标均明显小于同窝野生型小鼠,而两基因型小鼠在骨小梁数目、骨小梁分离度及各项异性度等方面无明显差异。以上数据结果表明,*OPG*基因敲除导致小鼠出现骨质疏松。应用micro-CT可以对小鼠骨进行无创微结构分析,较体视学方法具有一定的优势。

**关键词** 显微CT; 骨微结构; 骨质疏松; 骨保护素; 基因敲除小鼠

随着世界人口结构老龄化的加剧,骨质疏松已成为严重威胁人类健康的流行病,患者数量逐渐增加。据文献<sup>[1]</sup>报道,美国有4 400万人有骨质疏松症,此外尚有3 400万人有骨量减少(骨质疏松前期症状)。随着我国生活水平的提高及人口平均寿命的增长,我国老龄人口也随之增加。据报道<sup>[2]</sup>,我国现有骨质疏松症患者9 000万,占总人口的7.1%。骨质疏松易导致骨折及并发症,给个人及社会带来沉重的经济负担。因而骨质疏松的研究及治疗药物的开发具有重要意义。

骨重建的失衡是骨质疏松症发生的重要原因<sup>[3]</sup>。

骨重建指的是破骨细胞和成骨细胞之间的对立统一的细胞活动。骨保护素(osteoprotegerin, OPG),又称为破骨细胞生成抑制因子(osteoclastogenesis inhibitory factor, OCIF),不仅抑制破骨细胞生成,还抑制破骨细胞的骨吸收功能,是一个对破骨细胞分化成熟具有重要调节作用的细胞因子。文献<sup>[4-6]</sup>报道,

收稿日期: 2011-08-03 接受日期: 2011-10-17

国家高技术研究发展计划(No.2008AA02Z126)和上海市科委项目(No.10140901400)资助项目

\*通讯作者。Tel: 021-50793648-82011, E-mail: yanhuimin123@hotmail.com

*OPG*基因敲除之后,小鼠出现严重的骨质疏松。在药物开发时,需要用到相关疾病动物模型,而*OPG*基因敲除小鼠由于可以稳定地出现骨质疏松症状,成为良好的模式生物。

以往的骨结构研究主要采取的是体视学(Stereology)研究方法,简而言之,是将骨组织切片得到扫描图像,建立数学模型,计算得到骨的各项指标<sup>[7]</sup>。计算机X射线断层扫描(computed tomography, CT)是医学影像学的常用工具,但由于其分辨率有限,无法研究骨微结构。随着技术的进步,人们发明了显微CT(micro-CT)。该技术的应用,不仅可以在活体上研究骨的微结构,较传统体视学方法,得到的数据更丰富,能够进行骨骼图像的三维重建,而且可以通过建立微有限元模型(micro-finite element models)使研究骨小梁的弹性成为可能<sup>[8]</sup>。micro-CT可以定量分析骨的各项参数,可以精细到骨缺损处及骨板<sup>[9]</sup>。由于其在骨分析中的优势,该技术被广泛应用于骨质疏松与骨关节炎的药物开发及临床前研究<sup>[10]</sup>。本文使用micro-CT对*OPG*基因敲除小鼠骨结构进行初步的分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和仪器

戊巴比妥钠购自Sigma公司,使用时配成0.8%浓度;micro-CT(eXplore Locus)购自GE Healthcare公司。

### 1.2 实验动物

*OPG*基因敲除纯合子(homozygote, Homo)及其同窝野生型(wild type, Wt)小鼠各6只,雄性,年龄10周,体重23~28 g,实验动物由上海南方模式生物研究中心提供。小鼠饲养在恒温(21~22 °C)房间,每隔12 h光暗循环。实验选取的时间段为9:00~12:00,每日小鼠自由进食标准鼠粮及饮水。

### 1.3 实验步骤

实验小鼠麻醉后,使用micro-CT对其进行全身扫描、骨骼三维重建以及各骨密度指标分析,具体步骤及参数如下:(1)0.8%戊巴比妥钠溶液按0.001 mL/kg体重剂量腹腔注射麻醉小鼠;(2)小鼠麻醉后,将其平放于micro-CT扫描床上,固定,进行全身扫描,参数设置:80 kV peaks, 450  $\mu$ A, 0.045 mm effective pixel size, 扫描总时间60 min。扫描结束后影像按0.0449 voxels $\times$ 0.0449 voxels $\times$ 0.0449 voxels(45  $\mu$ m分辨率)进行图像重建;(3)图像重建后选择股骨,在各断层图像放大后,股骨的断层影像与周围软组织具有很

大的灰度值差异,分界清晰,在扫描各层面逐层手工勾选股骨的感兴趣区域(the regions of interest, ROI),股骨ROI是根据其解剖学标志来确定的,本文使用从近端的股骨头、股骨颈、股骨体到远端的外侧髁、内侧髁。使用GEHC micro view 2.2软件进行三维重建、骨密度、骨小梁及皮质骨分析。需要注意的是皮质骨和松质骨的分界是根据其影像来确定的,皮质骨的影像表现为致密的、无孔洞的表层;松质骨影像表现为疏松的、有孔洞和骨小梁的内层骨组织,分析时其分界是以手工方法勾选的;(4)扫描结束后,小鼠置热板复温,待苏醒后放回笼内。

### 1.4 实验数据的统计分析

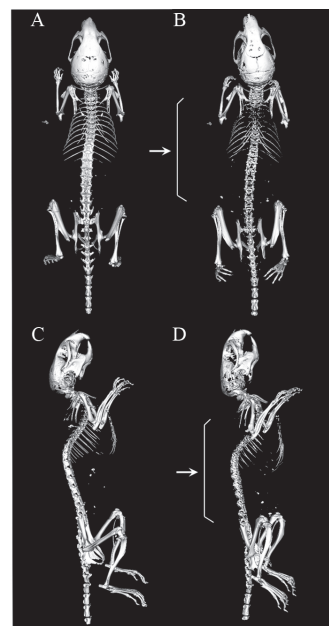
用Origin 8.0软件(Origin Lab公司)进行统计分析,使用One way ANOVA方法统计,并作图。数据表示为means $\pm$ SEM。

## 2 结果

使用micro-CT对小鼠进行全身扫描并三维重建,以股骨为例对骨结构的各项参数进行分析。

### 2.1 全身骨骼三维重建

在同一CT阈值(1 000)时,小鼠全身骨骼三维图像(图1)与Wt小鼠(图1A和图1C)相比, Homo小鼠(图



A: Wt正视图; B: Homo正视图; C: Wt侧视图; D: Homo侧视图; 白色箭头所示为Homo鼠脊椎骨弥散分布的“蜂窝”状低密度影。

A: front view of Wt; B: front view of Homo; C: side view of Wt; D: side view of Homo. White arrow indicates the widespread honeycomb shaped low density areas in the vertebra.

图1 小鼠全身骨骼三维重建

Fig.1 Reconstruction of the three-dimension mouse skeleton

1B和图1D)全身骨骼的CT扫描灰度较低, 颅骨、脊柱等骨组织布满“蜂窝”状低密度影。

## 2.2 股骨骨密度相关参数测量

小鼠全身骨骼三维重建后, 在断层图像上逐层勾选股骨ROI, 从近端的股骨头、股骨颈、股骨体到



1: 股骨头; 2: 股骨颈; 3: 股骨干; 4: 内侧髁; 5: 外侧髁。  
1: caput ossis femoris; 2: colum ossis femoris; 3: corpus ossis femoris; 4: Condylus medialis; 5: Condylus lateralis.

图2 股骨的三维重建

Fig.2 3D restrucrion of mice femur

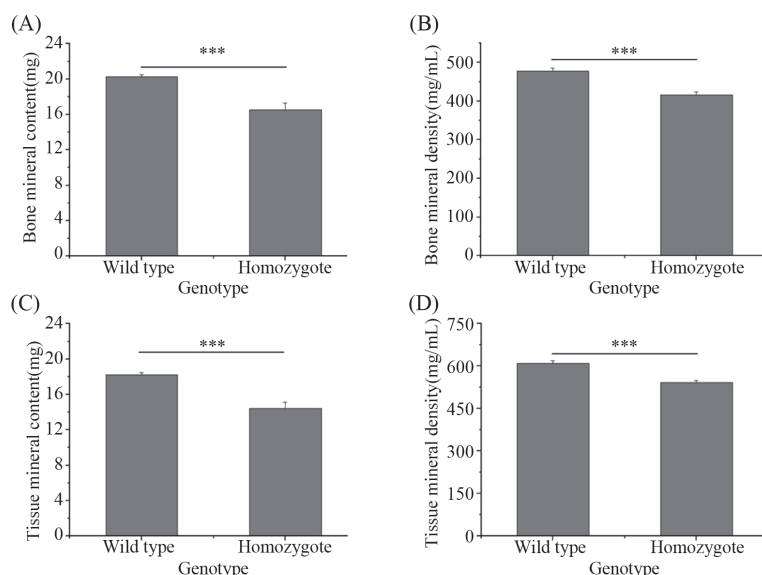
远端的外侧髁、内侧髁(图2), 对小鼠股骨骨密度参数进行测量, 包括: 骨矿物质含量(bone mineral content, BMC)、骨密度(bone mineral density, BMD)、组织矿物质含量(tissue mineral content, TMC)和组织骨密度(tissue mineral density, TMD), 结果显示*OPG*基因敲除小鼠所有指标均明显小于同窝野生型小鼠( $P<0.001$ )(图3A~图3D)。

## 2.3 股骨结构模型指数测量

测量实验小鼠股骨的结构模型指数(structure model index, SMI), 结果显示, Homo鼠的SMI为( $4.083\pm0.301$ ), 显著小于Wt鼠( $5.366\pm0.187$ )( $P<0.01$ )(图4A)。

## 2.4 股骨骨小梁参数

三维模型直接测量骨小梁参数发现, 三维校准骨小梁厚度(calibration of trabecular thickness 3D, Calib.Tb.Th.3D) Homo鼠为( $0.252\pm0.010$ ) mm, 而Wt为( $0.319\pm0.006$ ) mm, Homo显著小于Wt鼠(图4B,  $P<0.001$ ); 三维校准骨小梁分离度(calibration of trabecular separation 3D, Calib.Tb.Sp.3D) Homo鼠为( $0.375\pm0.013$ ) mm, 而Wt为( $0.369\pm0.004$ ) mm, 两者无显著性差异(图4C,  $P>0.05$ )。



A: 骨矿物质含量; B: 骨密度; C: 组织矿物含量; D: 组织骨密度。

A: bone mineral content, BMC; B: bone mineral density, BMD; C: tissue mineral content, TMC; D: tissue mineral density, TMD.

图3 小鼠股骨骨密度指标

Fig.3 Index for mice femur mineral density

## 2.5 股骨体视学测量

骨体积分数(bone volume/tissue volume, BV/TV)测量发现, Homo鼠为( $0.667\pm0.012$ )/mm, 而Wt鼠

为( $0.704\pm0.005$ )/mm, 显著大于Homo鼠( $P<0.01$ )(图5A); 骨表面积与体积比值(bone surface/bone volume, BS/BV)Homo鼠为( $6.316\pm0.163$ )/mm, 显著小于Wt

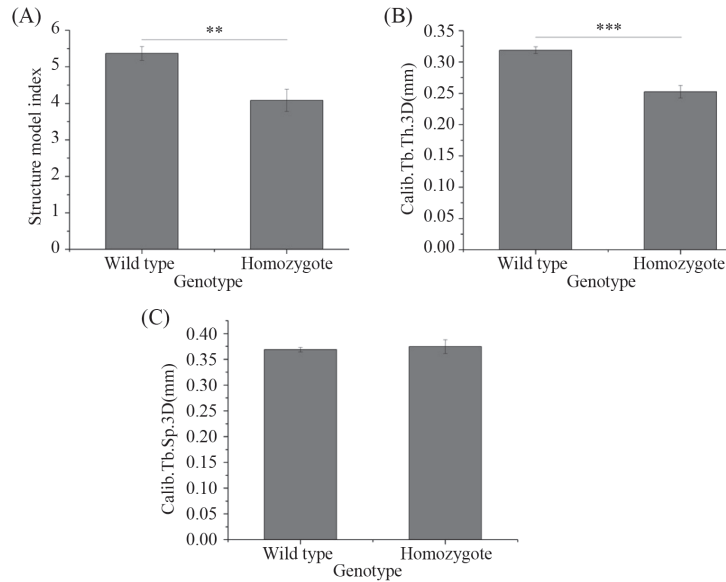
鼠( $5.847 \pm 0.049$ )/mm ( $P < 0.05$ )(图5B); 连接密度(connectivity density)Homo鼠为( $0.503 \pm 0.139$ )/mm<sup>3</sup>, 而Wt鼠为( $1.588 \pm 0.157$ )/mm<sup>3</sup>, 显著大于Homo鼠( $P < 0.001$ )(图5C); 二维体视学计算得到骨小梁数目(trabecular number, Tb.N) Homo鼠为( $2.102 \pm 0.024$ )/mm, 显著小于Wt鼠( $2.057 \pm 0.018$ )/mm ( $P < 0.05$ )(图5D)。

## 2.6 股骨各向异性(anisotropy)

各向异性度(degree of anisotropy, DOA), HOMO鼠为 $1.187 \pm 0.035$ , 而Wt鼠为 $1.165 \pm 0.027$ , 两者无显著性差异(图6A,  $P > 0.05$ )。

## 2.7 股骨皮质骨厚度

皮质骨厚度(cortical bone thickness), HOMO鼠

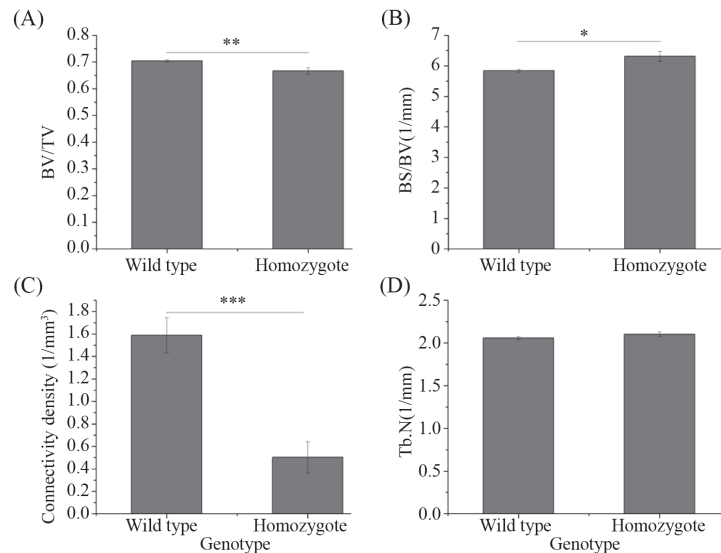


A: 结构模型指数; B: 三维校准骨小梁厚度; C: 三维校准骨小梁分离度。

A: structure model index; B: calibration of trabecular thickness 3D; C: calibration of trabecular separation 3D.

图4 小鼠股骨的结构模型指数及骨小梁结构测量

Fig.4 Mice femur structure model index and trabecular bone structure measurements



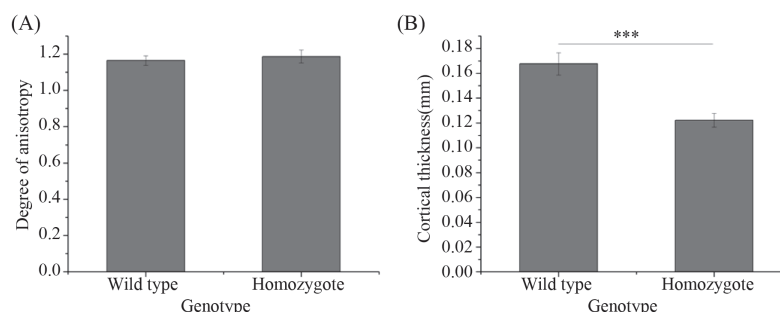
A: 骨体积分数; B: 骨表面积与体积比值; C: 连接密度; D: 骨小梁数目。数据表示为均值±标准误,  $n=6$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

A: bone volume/tissue volume; B: bone surface/bone volume; C: connectivity density; D: trabecular number. Data expressed as means±SEM,  $n=6$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图5 体视学参数

Fig.5 Parameters of stereology





A: 各向异性度; B: 皮质骨厚度。数据表示为均数 $\pm$ 标准误,  $n=6$ ,  $**P<0.01$ 。

A: degree of anisotropy; B: cortical bone thickness. Data expressed as means $\pm$ SEM,  $n=6$ ,  $**P<0.01$ .

图6 各向异性度与皮质骨厚度

Fig.6 Degree of Anisotropy and cortical bone thickness

为 $(0.122\pm0.005)$  mm, 而Wt鼠为 $(0.167\pm0.009)$  mm, Homo显著小于Wt( $P<0.001$ )(图6B)。

### 3 讨论

骨的研究分为“量”、“质”两个方向<sup>[11]</sup>, 分别包括数量、容积、微结构、骨基质矿化等多个方面。骨质疏松症是以骨量减少、骨的微结构退化为特征的, 致使骨的脆性增加以及易导致骨折的一种全身性疾病<sup>[12]</sup>。因此, 骨质疏松的诊断主要集中在骨量与骨的微结构两个方面。以往测量骨密度的方法是用骨密度仪(双能X线或超声型)<sup>[13]</sup>。而既往研究微结构的方法是对骨组织切片进行二维体视学观察<sup>[7]</sup>。二维体视学方法指以骨组织逐层切片获得其二维图像, 再通过体视学原理, 建模, 计算获得的骨量参数。但是这些方法多需要破坏标本的完整性, 无法同时检测骨的力学性能; 而骨质、量的各项目参数是通过数学建模软件估算(二维方法)而来, 准确性不高。普通CT由于分辨率所限, 无法研究骨的微结构; micro-CT发明之后, 同时解决了以上问题, 在实验动物或者小型标本的骨结构分析上具有一定的优势, 可以一次扫描同时测量骨密度及骨微结构, 在三维重建模型上得到的骨结构数据更精确。传统体视学方法研究只能提供某个切面的二维图像, 而micro-CT可以直接显示三维结构图。micro-CT还可以在三维结构中直接测量各种数据, 而体视学方法必须以平板模型为基础进行模拟计算, 显然micro-CT的数据更为精准; 另外, 类似SMI、DOA等指标只有micro-CT可以提供。根据实验动物使用的替代(replacement)、减少(reduction)和优化(refinement)(“3R”原则)<sup>[14]</sup>, 实验中需尽量减少实验动物的使用, 无疑micro-CT在

骨研究中的应用符合这一要求。

在骨质疏松治疗药物研发中需要用到骨质疏松动物模型。一般是用卵巢切除的雌性动物模拟女性绝经后骨质疏松来建立动物模型<sup>[15]</sup>, 该方法需要以手术方法建模, 步骤繁琐, 难以开展大批量研究, 且动物手术后至出现骨质疏松时间较长。手术建模动物具有个体差异, 导致实验结果差异很大。为了避免上述不利因素, 本文选择OPG基因敲除小鼠作为骨质疏松动物模型。OPG是一种能调节骨吸收的分泌型糖蛋白, 属于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体超家族成员, 有抑制破骨细胞分化和增加骨密度的功能<sup>[16]</sup>。在骨中, 核因子 $\kappa$ B受体活化因子配基(ligand of receptor activator of NF $\kappa$ B, RANKL)由成骨/基质细胞表达, 它和位于破骨前体细胞表面的受体(receptor activator of NF $\kappa$ B, RANK)结合, 促进破骨细胞的分化成熟。OPG能够阻断RANKL和RANK的相互结合, 从而抑制破骨细胞的成熟及其功能<sup>[17]</sup>。OPG基因敲除导致骨质疏松的原理是破坏了骨重建的平衡, 符合人类骨质疏松发病机制。OPG基因敲除之后, 小鼠出现了全身弥漫性骨质疏松<sup>[5]</sup>。

micro-CT全身骨骼扫描三维重建发现Homo鼠全身骨骼多处“蜂窝”状低密度影, 在颅骨和脊柱尤为明显(图1), 说明Homo鼠出现弥漫性骨质缺损。股骨颈是骨质疏松导致病理性骨折的高发部位<sup>[18]</sup>, 因此本文以股骨为例使用micro-CT分析了骨结构的各项指标。在扫描结果重建时, 需逐层勾选含有股骨的扫描层面的ROI。实验以羟基磷灰石为参照物, 分析了小鼠骨密度相关参数, 包括BMC、BMD、TMC和TMD四个指标, 主要从“量”的层面上比较股骨的

矿物质组成, 结果显示: Homo小鼠的BMC、BMD、TMC和TMD四个指标均明显小于Wt对照, 这说明OPG基因敲除后, 小鼠在骨质成分上出现了缺陷。SMI测量结果, Homo鼠显著小于Wt对照( $P<0.01$ )(图2B)。SMI<sup>[19]</sup>是检测骨小梁属于“板状”(plate-like)或“杆状”(rod-like)的程度, 这一指标是micro-CT特有的三维指标, 使用传统二维方法(体视学)无法得到这一指标。板状骨小梁和杆状骨小梁的SMI标准值分别为0和3, 发生骨质疏松时, 骨小梁从板状向杆状转变。SMI表示的是结构的曲率, 正的SMI就代表表面是凸的, 负的SMI就意味着表面是凹的, 有时在实验中会得到负值。SMI对骨质疏松的诊断意义不大。研究发现, 即使BMD增加, 也不能减少骨折发生率<sup>[20]</sup>, 故要求研究者必须测量骨微结构。三维校准骨小梁厚度发现Homo鼠小于Wt鼠, 而三维校准骨小梁分离度两者之间无显著性差异, 而骨小梁数量上两者也无明显差异。骨小梁在骨质疏松发病过程中最为敏感, 最能反映骨丢失情况, Homo鼠的骨小梁厚度明显减少, 提示骨质疏松。BV/TV(图3A)和BS/BV, Homo鼠均显著低于Wt鼠, 说明Homo鼠出现骨丢失。而骨小梁连接密度Homo鼠也显著低于Wt, 提示骨小梁病变。各项异性是松质骨的一个重要的微结构特征, 是比较骨小梁排列和承重的重要指标, 只有通过三维的方法得到。它以感兴趣区域(the regions of interest, ROI)内部拟合椭圆体的方式直观显示骨小梁的方向性。DOA是目标区域内部椭圆体长径与短径的比值。比值为1时, 提示目标区域为球体。骨质疏松初期DOA会增加, 随着症状加重, DOA减小。Homo与Wt无显著差异。而皮质骨研究发现, Homo鼠的皮质骨厚度显著小于Wt鼠( $P<0.001$ ), 说明OPG基因敲除后影响了皮质骨厚度, 这也与OPG能够增加皮质骨厚度的功能相对应<sup>[21]</sup>。从micro-CT结果来看, Homo鼠股骨出现明显的骨质疏松症状。

综上, micro-CT是无损分析骨结构的方法, 对骨质疏松症的研究有重要的意义。

### 参考文献 (References)

- Dempster DW. Osteoporosis and the burden of osteoporosis-related fractures. *Am J Manag Care* 2011; 17(6 Suppl): S164-9.
- 蒋 晔, 郝 福, 蒋 懿, 李艳荣, 丁翔宇. 预防和治疗骨质疏松症药物的研究进展. *临床荟萃* 2005; 20(20): 1319-21.
- Szulc P, Seeman E. Thinking inside and outside the envelopes of bone: Dedicated to PDD. *Osteoporos Int* 2009; 20 (8): 1281-8.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, *et al.* Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89(2): 309-19.
- Xu YH, Qiao JO, Li X H, Yan LZ, Wang L, XU GJ, *et al.* High-bone-turnover osteoporosis and aortic calcification in opg knock-out mice. *Prog Biochem Biophys* 2007; 34(3): 260-6.
- Yan MZ, Xu Y, Gong YX, Liu JM, Lu SY, Huang L, *et al.* Raloxifene inhibits bone loss and improves bone strength through an Opg-independent mechanism. *Endocrine* 2010; 37(1): 55-61.
- Wang X, Zauel RR, Rao DS, Fyhrie DP. Cancellous bone lamellae strongly affect microcrack propagation and apparent mechanical properties: Separation of patients with osteoporotic fracture from normal controls using a 2D nonlinear finite element method (biomechanical stereology). *Bone* 2008; 42(6): 1184-92.
- Pistoia W, van Rietbergen B, Laib A, Rueggsegger P. High-resolution three-dimensional-pQCT images can be an adequate basis for *in vivo* microFE analysis of bone. *J Biomech Eng* 2001; 123(2): 176-83.
- Gielkens PFM, Schortinghuis J, de Jong JR, Huysmans MCD-NJM, Leeuwen MBMv, Raghoobar GM, *et al.* A comparison of micro-CT, microradiography and histomorphometry in bone research. *Arch Oral Biol* 2008; 53(6): 558-66.
- Holdsworth DW, Thornton MM. Micro-CT in small animal and specimen imaging. *Trends Biotechnol* 2002; 20(8): S34-S39.
- Rubin C, Turner AS, Müller R, Mittra E, McLeod K, Lin W, *et al.* Quantity and quality of trabecular bone in the femur are enhanced by a strongly anabolic, noninvasive mechanical intervention. *J Bone Miner Res* 2002; 17(2): 349-57.
- Kastner M, Straus SE. Clinical decision support tools for osteoporosis disease management: A systematic review of randomized controlled trials. *J Gen Intern Med* 2008; 23(12): 2095-105.
- Deng FY, Lei SF, Li MX, Jiang C, Dvornyk V, Deng HW. Genetic determination and correlation of body mass index and bone mineral density at the spine and hip in Chinese Han ethnicity. *Osteoporos Int* 2006; 17(1): 119-24.
- Flecknell P. Replacement, reduction and refinement. *Altex* 2002; 19(2): 73-8.
- Brouwers JE, van Rietbergen B, Huiskes R, Ito K. Effects of PTH treatment on tibial bone of ovariectomized rats assessed by *in vivo* micro-CT. *Osteoporos Int* 2009; 20(11): 1823-35.
- Zhang T, Yu H, Gong W, Zhang L, Jia T, Wooley PH, *et al.* The effect of osteoprotegerin gene modification on wear debris-induced osteolysis in a murine model of knee prosthesis failure. *Biomaterials* 2009; 30(30): 6102-8.
- Paternoster L, Ohlsson C, Sayers A, Vandenput L, Lorentzon M, Evans DM, *et al.* OPG and RANK polymorphisms are both associated with cortical bone mineral density: Findings from a metaanalysis of the Avon longitudinal study of parents and children and gothenburg osteoporosis and obesity determinants cohorts. *J Clin Endocr Metab* 2010; 95(8): 3940-8.

- 18 Blain H, Chavassieux P, Portero-Muzy N, Bonnel F, Canovas F, Chammas M, *et al.* Cortical and trabecular bone distribution in the femoral neck in osteoporosis and osteoarthritis. *Bone* 2008; 43(5): 862-8.
- 19 Chiba K, Ito M, Osaki M, Uetani M, Shindo H. *In vivo* structural analysis of subchondral trabecular bone in osteoarthritis of the hip using multi-detector row CT. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19(2): 180-5.
- 20 Meunier PJ. Anabolic agents for treating postmenopausal osteoporosis. *Joint Bone Spine* 2001; 68(6): 576-81.
- 21 Ominsky M, Kostenuik P, Cranmer P, Smith S, Atkinson J. The RANKL inhibitor OPG-Fc increases cortical and trabecular bone mass in young gonad-intact cynomolgus monkeys. *Osteoporosis Int* 2007; 18(8): 1073-82.

## The Use of Micro-CT in the Study of Bone Microarchitecture

Wang Weigang<sup>1,2</sup>, Liu Zhenze<sup>2</sup>, Li Jun<sup>3</sup>, Yan Huimin<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Chemistry, Tongji University, Shanghai 200092, China; <sup>2</sup>School of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China; <sup>3</sup>Shanghai Research Center for Model Organisms, Shanghai 201203, China)

**Abstract** *OPG* knockout mice were scanned by micro-CT. The reconstruction of the three-dimension mouse skeleton showed the widespread honeycomb shaped low density areas in *OPG* knockout mice. And we found that *OPG* knockout mice with lower level of BMD, SMI, Calibration of trabecular thickness, BV/TV, BS/BV, connectivity density and cortical bone thickness in comparison to wild-type littermates. But there was no any significant differences in the trabecular number, trabecular separation or DOA in both genotypes. The deletion of *OPG* in mice leads to osteoporosis. Micro-CT can be used to study bone architecture noninvasively in mice with some advantage over stereological measures.

**Key words** micro-CT; bone microarchitecture; osteoporosis; osteoprotegerin; knockout mouse

Received: August 3, 2011 Accepted: October 17, 2011

This work was supported by the National High-Tech Research and Development Program of China (No.2008AA02Z126) and Program of Science and Technology Commission Foundation of Shanghai (No.10140901400)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-50793648-82011, E-mail: yanhuimin123@hotmail.com