

临界尺寸骨缺损动物模型的研究进展

何建朋¹, 李博宇¹, 侯林¹, 李红东¹, 刘金山^{2*}

¹内蒙古民族大学临床医学院, 内蒙古 通辽

²内蒙古民族大学附属医院关节与运动医学科, 内蒙古 通辽

收稿日期: 2025年2月7日; 录用日期: 2025年3月1日; 发布日期: 2025年3月7日

摘要

骨质疏松、严重创伤、骨肿瘤及骨感染等导致的临界尺寸骨缺损(critical-size bone defects, CSD)给许多患者造成了严重影响, CSD的修复及后续的临床转归一直是骨科医师面临的重要难题。随着临床新技术的发展及骨组织生物材料的新兴, 各种临床技术与药物及骨组织材料联合治疗CSD的研究层出不穷, 由于伦理要求, 各种技术及其联合在应用于临床之前, 需要进行大量的实验研究, 那么构建与人体相似的、符合伦理的、适宜操作的以及可重复的CSD动物模型就显得尤为重要。为了总结CSD动物模型的研究进展, 本文查阅国内外近年有关动物CSD模型的文献, 从动物种类选择、建模方式以及评价方式等方面进行了综述。动物种类选择上包括小鼠、大鼠、兔、犬、猪和绵羊等; 建模方式因致病原因的不同可分为创伤性骨缺损模型、骨肿瘤性骨缺损模型、感染性骨缺损模型、骨质疏松性骨缺损模型; 评价方式包括大体观察、影像学、组织学检测、生化指标及生物力学等。通过对CSD动物模型研究进展的综述, 为CSD各种治疗方法的研究及新型人工骨替代材料的研发提供更多的依据。

关键词

临界尺寸骨缺损, 动物模型, 评价指标, 影像学

Research Advances in Animal Models of Critical-Size Bone Defects

Jianpang He¹, Boyu Li¹, Lin Hou¹, Hongdong Li¹, Jinshan Liu^{2*}

¹School of Clinical Medicine, Inner Mongolia Minzu University, Tongliao Inner Mongolia

²Department of Joint and Sports Medicine, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Minzu University, Tongliao Inner Mongolia

Received: Feb. 7th, 2025; accepted: Mar. 1st, 2025; published: Mar. 7th, 2025

Abstract

Critical-size bone defects (CSD) caused by osteoporosis, severe trauma, bone tumors and bone

*通讯作者。

文章引用: 何建朋, 李博宇, 侯林, 李红东, 刘金山. 临界尺寸骨缺损动物模型的研究进展[J]. 临床医学进展, 2025, 15(3): 445-453. DOI: 10.12677/acm.2025.153635

infections have caused serious impacts on many patients, and the repair of CSD and the subsequent clinical regression have been an important challenge for orthopedic surgeons. With the development of new clinical techniques and the emergence of bone tissue biomaterials, there are numerous studies on the combination of various clinical techniques with drugs and bone tissue materials for the treatment of CSD. Due to the ethical requirement that a large number of experimental studies need to be carried out on various techniques and their combinations before they can be applied to the clinic, it is particularly important to construct a similar, ethical, operable, and reproducible animal model for CSD that is similar to that of the human body. In order to summarize the research progress of CSD animal models, this paper reviews the literature on animal CSD models in recent years, both at home and abroad, and reviews the aspects of animal species selection, modeling methods and evaluation methods. The selection of animal species includes mice, rats, rabbits, dogs, pigs, sheep, etc. The modeling methods can be divided into traumatic bone defect model, bone tumor bone defect model, infectious bone defect model and osteoporotic bone defect model according to the different causes of the disease; the evaluation methods include gross observation, imaging, histological detection, biochemical indexes and biomechanics. By reviewing the research progress of CSD animal models, we can provide more evidence for the research of various therapeutic methods of CSD and the research and development of new artificial bone substitution materials.

Keywords

Critical-Size Bone Defect, Animal Model, Evaluation Indexes, Radiology

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着社会的发展、人口老龄化、交通运输业的迅猛发展,以及化学原料和食品添加剂的滥用,致使骨质疏松、严重创伤、骨肿瘤、骨感染及先天发育异常等导致的临界骨缺损发病率呈逐年上升趋势,给许多患者造成了严重影响,成了骨科医师面临的重要难题[1]。针对临界骨缺损难以重建的问题,目前主要的治疗方法有自体骨移植技术[2]、Masquelet 诱导膜技术(MIMT) [3]、骨牵引延长技术(Illizarov 技术) [4]、交锁髓内钉联合骨移植技术[5]以及骨组织工程技术[6]等,各有其独特的优势及难以避免的缺点[7],研究者们为了削弱甚至消除这些缺点以及制造新型人工骨替代材料进行了大量的研发。这些研发成果在正式进入临床应用前均需进行动物实验,然而想要顺利地完动物实验,就必须选用或构建合适的 CSD 动物模型。本文拟在已发表的研究上,对已有的动物验证模型进行动物种类选择、建模方式和评价方式的梳理,为 CSD 各种治疗方法的研究及新型人工骨替代材料的研发提供新的思路。

2. CSD 的定义及动物模型的种类选择

临界骨缺损是指由于骨质疏松、外伤、肿瘤、骨感染或先天发育异常而导致的超过人体自身修复能力的骨缺损,又被称为极限骨缺损[8]。目前对临界骨缺损没有一个标准的定义,对人类而言,普遍认同的临界骨缺损概念是大于缺损骨周长 50%的骨缺损[9],对于实验动物来说,临界骨缺损是指在整个实验期间内不能自我修复的动物特定骨骼的最小骨缺损[10],或者在动物的一生内,其骨再生率不到 10%的骨缺损[11]。

选用合适的动物来构建 CSD 模型是进行动物实验的前提,也是实验成功与否的关键。当前在 CSD

研究中所使用的实验动物按照个体的尺寸，可以粗略地划分为小、中、大三类。典型的小型动物主要指啮齿类动物，如小鼠[12]及SD大鼠[3]等。啮齿类动物在生物、基因、行为特征等方面都和人类很相似，而且人类许多的病症都能在小鼠或大鼠中重现[13]。啮齿类动物作为应用范围最广的实验动物模型，具有价格低廉、生长周期短、饲养简便及来源广泛等优点[14]，且其本身具有较强的抗感染能力，便于围手术期管理，所以其在各类研发成果正式进入临床应用前的动物实验研究中有着极其重要的作用。小鼠一般用于人工骨替代材料的生物相容性、骨缺损重建分子机理及短期骨组织再生评估等的初步研究，而以上相关研究因大鼠体形较大所以较小鼠更具优势；但由于啮齿类动物骨容量有限、皮质骨重塑及继发性骨形成过快等限制，致使啮齿类动物在实验应用中有所受限，不适宜做长期骨组织再生的评估；且与人类骨骼系统相比，啮齿类动物骨骼为原始的骨骼系统缺乏固有的哈佛管系统，因此不适宜做哈佛管系统成骨的相关研究[14][15]。兔类是中型动物的代表，其中多用新西兰兔，因其饲养简易、体型适中、取材方便、性格温顺，且具备与人类相似的哈佛氏管，故成为CSD模型最常用的实验动物之一[10][16]。大型动物有犬、猪、绵羊[17]-[19]，这些动物体型较大，骨组织解剖结构及代谢机制与人类高度相似，更易于模仿人体骨缺损愈合的微环境，但实验成本高、骨愈合进程缓慢、观察周期长、进行大量造模难度大，这些缺点限制了大型动物作为CSD动物模型实验的开展。因此，在对动物模型种类进行选择时，研究者要对研究目的、方案可行性、饲养条件及经费情况等多个方面进行综合考量，这样才能选择出最适宜的实验动物。如表1所示。

Table 1. Advantages and disadvantages of CSD modeling in different species of animals
表 1. 不同种类动物 CSD 模型的优缺点

动物种类	代表动物	优点	缺点
小型动物	小鼠、SD 大鼠	在生物、基因、行为特征等方面都和人类相似，价格低廉、生长周期短、饲养简便及来源广泛，且其本身具有较强的抗感染能力便于围手术期管理	骨容量有限、皮质骨重塑及继发性骨形成过快，缺乏固有的哈佛管系统
中型动物	新西兰兔	饲养简易、体型适中、取材方便、性格温顺，且具备与人类相似的哈佛管系统	对周围环境变化敏感、胆小易受惊吓
大型动物	犬、猪、绵羊	骨组织解剖结构及代谢机制与人类高度相似，更易于模仿人体骨缺损愈合的微环境	实验成本高、骨愈合进程缓慢、观察周期长、进行大量造模难度大

3. CSD 动物模型的建模方式

3.1. 创伤性骨缺损模型

创伤性骨缺损模型根据缺损部位的不同，可分为颅骨骨缺损[20][21]、四肢骨骨缺损[22]和下颌骨骨缺损[18]几种模型，其中四肢骨及下颌骨骨缺损根据缺损形状的不同又分为节段性骨缺损和圆形骨缺损[23]。颅骨骨缺损动物模型构建首选小型动物，如小鼠、大鼠。颅骨骨缺损模型建模方式是在保护颅骨深层硬脑膜的前提下，利用低速(≤1500 rpm)无菌环形环钻钻孔并去除切下来的骨板制成圆盘形的骨缺损[21]。颅骨骨缺损模型因其浅层皮肤及深层硬脑膜的支撑，所以不需进行固定，且动物的活动也不会对骨愈合造成影响，这就成就了其在原位骨愈合相关研究中的地位，如各类填充型植骨材料成骨机制或其差异方面的研究[24]。但是颅骨为非负重骨，所以其不适合应用在材料生理力学性能评估相关方面的研究。四肢骨节段性骨缺损模型造模部位主要集中在四肢骨的中段，研究者用钻或锯从预定部位进行截骨，

然后根据术者的不同习惯和实验需要,选择钢板螺钉、髓内针或外固定架等装置固定[25][26];当然也有一些研究者选择先固定然后再进行截骨处理[27]。可用于四肢骨节段性骨缺损模型的动物有大鼠、猪、犬、绵羊等。四肢骨圆形骨缺损模型造模部位主要集中在四肢骨干骺端,常在四肢骨干骺端的一侧用小型电钻穿透皮质骨延伸到下面的松质骨或髓腔形成单皮质圆柱形的骨缺损,骨的连续性一般不会遭到破坏[28],然后根据实验目的不同选择是否进行骨缺损处内植物的填充。用于四肢骨圆形骨缺损模型的动物有大鼠、兔、绵羊等[29]。

下颌骨骨缺损模型构建常用动物有大鼠、兔、犬及猪等,根据实验动物体型的不同,其造模部位也有所不同。小型动物如大鼠下颌骨体部骨质少、薄且牙根多,而下颌角区骨质大小及厚度合适,因此多数小型动物下颌骨缺损部位选用下颌角[30]。中型动物如兔下颌骨体部骨质充足、髓质丰富,而下颌角区骨质少且仅有薄层皮质,因此中型动物下颌骨缺损部位多选用下颌骨体部[18][31]。大型动物犬、猪等下颌骨体积大且骨量丰富,所以其下颌骨缺损模型构建部位下颌骨体部及下颌角均可。建模方式根据缺损形状的不同,其所用工具也有所区别,节段性骨缺损常使用外科锯制备,圆形骨缺损常使用环钻或粗钻头制备。

3.2. 骨肿瘤性骨缺损模型

骨肿瘤性骨缺损多由骨肿瘤本身对骨侵蚀破坏或对骨肿瘤进行治疗过程中手术切除等原因形成骨缺损。免疫缺陷裸鼠常用于骨肿瘤性骨缺损模型的制备,骨肿瘤因原发部位的不同有原发性与继发性之分,其骨缺损模型的制备也有所区别。原发性骨肿瘤骨缺损模型的建模方式有细胞悬液直接注射法和组织块植入法,将所研究肿瘤制备成细胞悬液及肿瘤组织块,细胞悬液用注射器,肿瘤组织用组织包埋法将所研究肿瘤接种至骨髓腔或胫骨平台后制成肿瘤性骨缺损模型。继发性骨肿瘤多因原发性乳腺癌、肺癌及膀胱癌等原发恶性肿瘤远处转移引起,其骨缺损模型制备根据研究目的不同,除将原发乳腺癌、肺癌和膀胱癌肿瘤成分利用细胞悬液直接注射法和组织块植入法外,还要细胞悬液循环注射诱导法,将所研究肿瘤制成的细胞悬液用注射器注入左心室或动静脉中模拟经血行播散转移的继发性骨肿瘤骨缺损模型[32][33]。

3.3. 感染性骨缺损模型

感染性骨缺损是指由细菌、病毒等病原体感染引起的骨骼组织损伤或为治疗感染性骨科疾病(如慢性骨髓炎)手术造成的骨缺损,其模型构建常用动物有小鼠、大鼠、兔及绵羊等,感染病原体以金黄色葡萄球菌最为常见[34]。建模方式模拟临床患者感染是否局限分为局部感染性骨缺损模型和全身感染性骨缺损模型,局部感染性骨缺损模型建模部位多在胫骨及股骨[34],其通过在临界骨缺损模型处直接注入金黄色葡萄球菌悬液或置入含菌内植物来构建感染性骨缺损模型[35];全身感染性骨缺损模型通过模型动物静脉将金黄色葡萄球菌悬液直接注入循环系统中引起骨感染性疾病后再对骨感染部位进行截骨制成感染性临界骨缺损模型[36]。

3.4. 骨质疏松性骨缺损模型

随着社会人口老龄化的加剧,老年人口越来越多,人群骨质疏松发病率居高不下,因骨质疏松发生骨折的老年患者越来越多,在对其进行治疗过程中因骨组织的异常改变造成骨迁延愈合或不愈合伴随骨缺损的患者数量不断增加,是目前骨科医师面临的又一难题。因此,建立合适的骨质疏松性临界骨缺损模型用于临床前研究就变得极为重要。目前,用于建立骨质疏松的动物模型小鼠、大鼠、兔、斑马鱼、绵羊等均可,这些动物同样可用于临界骨缺损模型造模,那么两者建模方式联合理论上便可制成骨质疏松

性临界骨缺损模型。现有相关研究中骨质疏松性临界骨缺损模型建模方式多以手术去卵巢去势法建立骨质疏松骨缺损模型后再对其进行截骨处理[1],除此之外还有利用糖皮质激素类注射[37]或灌胃法[38]及维甲酸灌胃法[39]建立骨质疏松骨缺损模型后再对其进行截骨处理建成骨质疏松性临界骨缺损模型。

4. CSD 动物模型的建模评价方式相关研究

4.1. 大体观察

建模术前术后对比实验动物精神状况、自主活动、饮食情况及毛色、体温变化等一般情况,以及术后切口有无红肿、开裂感染甚至窦道等表现。根据实验设计的不同,经过特定时间后对实验动物进行处死取材处理,大体观察骨缺损区修复及纤维组织增生情况,通过骨缺损区修复情况来判定 CSD 动物模型建模是否成功。

4.2. 影像学

各种影像学检查中 X 射线检查(X-ray) [40] [41]应用最为广泛,可显示各种 CSD 造模动物骨骼总体如骨正常形态,缺损区大小,内、外置物固定是否可靠等方面的变化,优点是操作简单、实验成本低;缺点是对骨小梁等微观结构无法辨识。随着影像技术的发展,微计算机断层扫描技术(micro computed tomography, Micro-CT) [42] [43]现已成为评估各类体外小动物模型骨骼形态和微结构的“金标准”。与 X-ray 相比, Micro-CT 不仅分辨率高、成像清晰,还可进行骨密度评估、骨体积计算和三维解剖结构重建。除此两种常用影像学检查外,根据 CSD 病因的不同即建模方式的不同,还有双能 X 射线检查(dual energy X-ray)、小动物正电子发射断层扫描技术(micro positron emission tomography-computed tomography, Micro PET-CT)及 ^{99}Tcm 亚甲基二膦酸盐(^{99}Tcm -Methylenediphosphonate, ^{99}Tcm -MDP)全身骨显像技术等[44]。双能 X 射线[45]检查可以对骨密度进行评估,可用来观察对骨质疏松 CSD 动物模型干预效果的评估。Micro PET-CT 利用造影剂可以对原位肿瘤进行检查, ^{99}Tcm -MDP 全身骨显像技术可以对继发性肿瘤进行检查,这两种影像技术适用于骨肿瘤性 CSD 动物模型干预效果的评估。

4.3. 组织学检测

组织学检测包括多种技术,如病理学、免疫组化、免疫荧光染色、形态学等。将造模骨组织进行石蜡包埋切片后采用不同的染色方式,如苏木精-伊红(HE)染色、亚甲基蓝-酸性品红染色、Von Kossa 染色及 Masson 染色[46]后进行镜下观察。HE 染色可以很好地区分骨组织结构、骨髓腔内细胞及炎性细胞等,适用于众多骨缺损模型的组织结构评估。亚甲基蓝-酸性品红染色可以清晰地显示成骨细胞、细胞基质以及类骨质,适用于区分骨缺损区新生骨质。Von Kossa 染色中的银溶液作用于钙盐沉积区域,钙沉积是新骨生成的标志,所以其适合检测骨缺损区是否有新骨生成及其生成区域。Masson 染色主要用于结缔组织染色,其可以选择性地显示胶原纤维及肌纤维,根据胶原纤维数量的不同,可以区分骨缺损中骨修复时期。病理学检查可以观察原位骨肿瘤形态、继发骨转移灶形态及浸润情况,适用于骨肿瘤性 CSD 动物模型的评估。

4.4. 生化指标

血清骨代谢相关生化指标包含:1) 钙磷代谢调节激素:甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)、降钙素(calcitonin, CT)、维生素 D (vitamin D), 2) 骨吸收指标:血清抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRACP)、血清I型胶原交联 C-末端肽(type I collagen carboxy-terminal peptide, CTX)、尿 CTX、尿I型胶原交联 N-末端肽(type I collagen amino-terminal peptide, NTX), 3) 骨形成指标:碱性磷酸酶(alkaline

phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, OC; bone glaprotein, BGP)、骨特异性碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase, BALP)、血清I型原胶原 C-端前肽(C-terurinal propeptide of type 1 precollagen, PICP)、血清I型原胶原 N-端前肽(N-terminal propeptide of type 1 precollagen, PINP), 同时也测定钙(Calcium, Ca)、磷(Phosphorus, P)、镁(Magnesium, Mg)等元素含量的变化, 从而反映骨代谢变化[47], 有助于评估各种 CSD 动物模型的模拟状态或者针对其治疗的疗效。此外, 针对骨肿瘤性骨缺损模型, 我们还可以检测血清甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、血清前列腺素(prostaglandins, PG)等生化指标的变化。针对感染性骨缺损模型, 我们还可以检测不同时间点血液中白细胞(white blood cell, WBC)、红细胞沉降率(erythrocy sedimentation Rate, ESR)、C-反应蛋白(C-Reactive Protein, CRP)的变化[48], 从而评估感染性骨缺损模型的造模情况及针对其各种治疗方式的抗感染情况。

4.5. 生物力学

除对 CSD 动物模型建模进行评价外, 还对其建模后治疗方式及植入材料进行评价, 其中最具代表性的是生物力学性能评估。骨生物力学评估方法有轴向压缩实验、轴向拔出实验、扭转实验、剪切实验及三点弯曲实验和四点弯曲[45]实验等, 在研究中我们可以根据不同的实验目的及实验条件, 选择合适的评价方法, 系统评估 CSD 不同治疗方式及不同植入材料的骨生物力学性能。

5. 总结与展望

CSD 的修复及后续的临床转归一直是骨科医师面临的重要难题, 临床新技术的发展及骨组织生物材料的新兴是 CSD 治疗中非常有前景的研究, 而合适、标准化的 CSD 动物模型是评价各种治疗方案是否有效的必要条件, 因此构建合适的 CSD 动物模型就极其重要。综上所述, CSD 的动物造模物种选择多样, 理论上大型动物犬、猪、绵羊等更具优势, 一方面大型动物骨组织解剖结构与人类高度相似, 其粗壮坚硬有益于骨缺损造模操作, 另一方面大型动物骨组织代谢机制与人类高度相似, 更易于模仿人体骨缺损愈合的微环境。但实验成本高、骨愈合进程缓慢、观察周期长、进行大量造模难度大, 这些缺点限制了大型动物作为 CSD 动物模型实验的开展。小型动物小鼠、大鼠, 中型动物兔等, 因其价格低廉、生长周期短、饲养简便、抗感染能力强及来源广泛等优点, 在 CSD 的动物模型中常常被选用, 但其缺点也很多, 例如与人类骨骼系统相比, 中小型动物骨容量有限、皮质骨重塑及继发性骨形成快, 啮齿类动物骨骼缺乏固有的哈佛管系统等。总之, 没有哪一种动物模型是完美契合临床的, 研究者在对模型动物种类进行选择时, 要对研究目的、方案可行性、饲养条件及经费情况等多个方面进行综合考量, 并切实进行预实验, 对预实验动物进行多种评价, 这样才能选择出最为合适的实验动物。建模方式因致病原因的不同可大体分为四类, 研究者应根据研究实际需要, 结合各种建模方式的特点进行特定选择; 建模方式不同, 其评价方式也会有所区别, 但影像学评价方式对所有不同建模方式的 CSD 动物模型评价均适用, 且是众多评价方式中最为重要的。

基金项目

内蒙古自治区高等学校科学技术研究项目(NJZY173); 内蒙古自治区直属高校科研创新平台项目(GXKY22083); 内蒙古民族大学科学研究项目(NMDYB1725); 内蒙古民族大学开放课题资助项目(2024FYKF028)。

参考文献

- [1] Bayat, M., Asgari, M., Abdollahifar, M., Moradi, A., Zare, F., Kouhkeheil, R., *et al.* (2024) Photobiomodulation and Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium for the Repair of Experimental Critical-Size Defects. *Lasers in Medical Science*,

- 39, Article No. 158. <https://doi.org/10.1007/s10103-024-04109-9>
- [2] Schmidt, A.H. (2021) Autologous Bone Graft: Is It Still the Gold Standard? *Injury*, **52**, S18-S22. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2021.01.043>
 - [3] Ziroglu, N., Koluman, A., Kaleci, B., Tanriverdi, B., Tanriverdi, G., Kural, A., *et al.* (2024) Modified and Alternative Bone Cements Can Improve the Induced Membrane: Critical Size Bone Defect Model in Rat Femur. *Injury*, **55**, Article ID: 111627. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2024.111627>
 - [4] Dahl, M.T. and Morrison, S. (2021) Segmental Bone Defects and the History of Bone Transport. *Journal of Orthopaedic Trauma*, **35**, S1-S7. <https://doi.org/10.1097/bot.0000000000002124>
 - [5] Viale, G.J., Garabano, G., Pesciallo, C. and Sel, H.D. (2021) Structural Allograft and Induced Membrane Technique for Treatment of 10-cm Segmental Femoral Bone Defect: A Case Report. *JBJS Case Connector*, **11**, e21.00372. <https://doi.org/10.2106/jbjs.cc.21.00372>
 - [6] Valtanen, R.S., Yang, Y.P., Gurtner, G.C., Maloney, W.J. and Lowenberg, D.W. (2021) Synthetic and Bone Tissue Engineering Graft Substitutes: What Is the Future? *Injury*, **52**, S72-S77. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2020.07.040>
 - [7] Migliorini, F., La Padula, G., Torsiello, E., Spiezia, F., Oliva, F. and Maffulli, N. (2021) Strategies for Large Bone Defect Reconstruction after Trauma, Infections or Tumour Excision: A Comprehensive Review of the Literature. *European Journal of Medical Research*, **26**, Article No. 118. <https://doi.org/10.1186/s40001-021-00593-9>
 - [8] Mauffrey, C., Barlow, B.T. and Smith, W. (2015) Management of Segmental Bone Defects. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, **23**, 143-153. <https://doi.org/10.5435/jaaos-d-14-00018>
 - [9] Nauth, A., Schemitsch, E., Norris, B., Nollin, Z. and Watson, J.T. (2018) Critical-Size Bone Defects: Is There a Consensus for Diagnosis and Treatment? *Journal of Orthopaedic Trauma*, **32**, S7-S11. <https://doi.org/10.1097/bot.0000000000001115>
 - [10] Kalaiselvan, E., Maiti, S.K., Shivaramu, S., Banu, S.A., Sharun, K., Mohan, D., *et al.* (2024) Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell-Laden Nanocomposite Scaffolds Enhance Bone Regeneration in Rabbit Critical-Size Segmental Bone Defect Model. *Journal of Functional Biomaterials*, **15**, Article 66. <https://doi.org/10.3390/jfb15030066>
 - [11] Hollinger, J.O. and Kleinschmidt, J.C. (1990) The Critical Size Defect as an Experimental Model to Test Bone Repair Materials. *Journal of Craniofacial Surgery*, **1**, 60-68. <https://doi.org/10.1097/00001665-199001000-00011>
 - [12] Kessler, F., Arnke, K., Eggerschwiler, B., Neldner, Y., Märsmann, S., Gröninger, O., *et al.* (2024) Murine iPSC-Loaded Scaffold Grafts Improve Bone Regeneration in Critical-Size Bone Defects. *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, Article 5555. <https://doi.org/10.3390/ijms25105555>
 - [13] Awadeen, M.A., Al-Belasy, F.A., Ameen, L.E., Helal, M.E. and Grawish, M.E. (2020) Early Therapeutic Effect of Platelet-Rich Fibrin Combined with Allogeneic Bone Marrow-Derived Stem Cells on Rats' Critical-Sized Mandibular Defects. *World Journal of Stem Cells*, **12**, 55-69. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v12.i1.55>
 - [14] 李福兵, 徐永清, 潘兴华, 等. 小鼠胫骨中段 1/3 不同缺损直径单层骨皮质缺损模型比较研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2012, 26(10): 1218-1222.
 - [15] 熊伟, 袁灵梅, 钱国文, 等. 临界骨缺损动物模型评估骨组织工程支架成骨效能的价值[J]. 中国组织工程研究, 27(35): 5714-5720.
 - [16] Entezari, A., Wu, Q., Mirkhalaf, M., Lu, Z., Roohani, I., Li, Q., *et al.* (2024) Unraveling the Influence of Channel Size and Shape in 3D Printed Ceramic Scaffolds on Osteogenesis. *Acta Biomaterialia*, **180**, 115-127. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2024.04.020>
 - [17] Shaul, J.L., Hill, R.S., Bouxsein, M.L., Burr, D.B., Tilton, A.K. and Howe, J.G. (2022) AGN1 Implant Material to Treat Bone Loss: Resorbable Implant Forms Normal Bone with and without Alendronate in a Canine Critical Size Humeral Defect Model. *Bone*, **154**, Article ID: 116246. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116246>
 - [18] Cai, E.Z., Teo, N.M.H., Lee, Z.P., Yeo, J.Y.H., Liu, Y., Ong, Z.X., *et al.* (2023) Straight-Segment Mandibulectomy: A Reproducible Porcine Mandibular Critical-Size Defect Model. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **61**, 53-60. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2022.11.003>
 - [19] Garot, C., Schoffit, S., Monfoulet, C., Machillot, P., Deroy, C., Roques, S., *et al.* (2023) 3D-Printed Osteoinductive Polymeric Scaffolds with Optimized Architecture to Repair a Sheep Metatarsal Critical-size Bone Defect. *Advanced Healthcare Materials*, **12**, e2301692. <https://doi.org/10.1002/adhm.202301692>
 - [20] Huang, Y., Jakus, A.E., Jordan, S.W., Dumanian, Z., Parker, K., Zhao, L., *et al.* (2019) Three-dimensionally Printed Hyperelastic Bone Scaffolds Accelerate Bone Regeneration in Critical-Size Calvarial Bone Defects. *Plastic & Reconstructive Surgery*, **143**, 1397-1407. <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000005530>
 - [21] Moest, T., Schlegel, K.A., Kesting, M., Fenner, M., Lutz, R., Beck, D.M., *et al.* (2019) A New Standardized Critical Size Bone Defect Model in the Pig Forehead for Comparative Testing of Bone Regeneration Materials. *Clinical Oral Investigations*, **24**, 1651-1661. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-03020-w>

- [22] Nau, C., Simon, S., Schaible, A., Seebach, C., Schröder, K., Marzi, I., *et al.* (2018) Influence of the Induced Membrane Filled with Syngeneic Bone and Regenerative Cells on Bone Healing in a Critical Size Defect Model of the Rat's Femur. *Injury*, **49**, 1721-1731. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2018.06.041>
- [23] 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.
- [24] Kim, Y. and Ku, J. (2023) Rat Calvaria Model Mimicking the Intraoral Lesion of Medication-Related Osteonecrosis in the Jaw: A Preliminary Test. *Journal of Clinical Medicine*, **12**, Article 6731. <https://doi.org/10.3390/jcm12216731>
- [25] Saunders, W.B., Dejardin, L.M., Soltys-Niemann, E.V., Kaulfus, C.N., Eichelberger, B.M., Dobson, L.K., *et al.* (2022) Angle-Stable Interlocking Nailing in a Canine Critical-Sized Femoral Defect Model for Bone Regeneration Studies: In Pursuit of the Principle of the 3R's. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **10**, Article 921486. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.921486>
- [26] Finze, R., Laubach, M., Russo Serafini, M., Kneser, U. and Medeiros Savi, F. (2023) Histological and Immunohistochemical Characterization of Osteoimmunological Processes in Scaffold-Guided Bone Regeneration in an Ovine Large Segmental Defect Model. *Biomedicines*, **11**, Article 2781. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11102781>
- [27] Li, S., Zhou, H., Hu, C., Yang, J., Ye, J., Zhou, Y., *et al.* (2021) Total Flavonoids of Rhizoma Drynariae Promotes Differentiation of Osteoblasts and Growth of Bone Graft in Induced Membrane Partly by Activating Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *Frontiers in Pharmacology*, **12**, Article 675470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.675470>
- [28] 徐石庄, 王进, 潘文振, 等. 兔股骨髁间性骨缺损动物模型制备及临界骨缺损值[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(20): 3191-3195.
- [29] Yin, N., Wang, Y., Ding, L., Yuan, J., Du, L., Zhu, Z., *et al.* (2020) Platelet-Rich Plasma Enhances the Repair Capacity of Muscle-Derived Mesenchymal Stem Cells to Large Humeral Bone Defect in Rabbits. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 6771. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63496-5>
- [30] Sargolzaei-Aval, F., Saberi, E.A., Arab, M.R., Sargolzaei, N., Sanchooli, T. and Tavakolinezhad, S. (2019) Octacalcium Phosphate/Gelatin Composite Facilitates Bone Regeneration of Critical-Sized Mandibular Defects in Rats: A Quantitative Study. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, **13**, 258-266. <https://doi.org/10.15171/joddd.2019.040>
- [31] Schlund, M., Depeyre, A., Kotagudda Ranganath, S., Marchandise, P., Ferri, J. and Chai, F. (2022) Rabbit Calvarial and Mandibular Critical-Sized Bone Defects as an Experimental Model for the Evaluation of Craniofacial Bone Tissue Regeneration. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, **123**, 601-609. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2021.12.001>
- [32] McGovern, J.A., Griffin, M. and Huttmacher, D.W. (2018) Animal Models for Bone Tissue Engineering and Modelling Disease. *Disease Models & Mechanisms*, **11**, dmm033084. <https://doi.org/10.1242/dmm.033084>
- [33] 黄玉凡, 李晓青. 胫骨注射和左心室注射乳腺癌细胞小鼠骨定植模型的研究[J]. 天津医科大学学报, 2024, 30(3): 200-204.
- [34] Beagan, M.L.C., Dreyer, C.H., Jensen, L.K., Jensen, H.E., Andersen, T.E., Overgaard, S., *et al.* (2024) The Potential of Sheep in Preclinical Models for Bone Infection Research—A Systematic Review. *Journal of Orthopaedic Translation*, **45**, 120-131. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2024.02.002>
- [35] Zhao, Y., Su, J., Xu, C., Li, Y., Hu, T., Li, Y., *et al.* (2024) Establishment of a Mandible Defect Model in Rabbits Infected with Multiple Bacteria and Bioinformatics Analysis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **12**, Article 1350024. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1350024>
- [36] Dao, A., O'Donohue, A.K., Vasiljevski, E.R., Bobyn, J.D., Little, D.G. and Schindeler, A. (2023) Murine Models of Orthopedic Infection Featuring *Staphylococcus aureus* Biofilm. *Journal of Bone and Joint Infection*, **8**, 81-89. <https://doi.org/10.5194/jbji-8-81-2023>
- [37] Liu, W., Li, G., Li, J. and Chen, W. (2022) Long Noncoding RNA TRG-AS1 Protects against Glucocorticoid-Induced Osteoporosis in a Rat Model by Regulating miR-802-Mediated CAB39/AMPK/SIRT-1/NF- κ B Axis. *Human Cell*, **35**, 1424-1439. <https://doi.org/10.1007/s13577-022-00741-1>
- [38] Eskandarynasab, M., Doustimotlagh, A.H., Takzaree, N., Etemad-Moghadam, S., Alaeddini, M., Dehpour, A.R., *et al.* (2020) Phosphatidylserine Nanoliposomes Inhibit Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: A Potential Combination Therapy with Alendronate. *Life Sciences*, **257**, Article ID: 118033. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118033>
- [39] Cheng, M., Liang, X., Wang, Q., Deng, Y., Zhao, Z. and Liu, X. (2018) Ursolic Acid Prevents Retinoic Acid-Induced Bone Loss in Rats. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, **25**, 210-215. <https://doi.org/10.1007/s11655-018-3050-y>
- [40] Ren, M., Wang, X., Hu, M., Jiang, Y., Xu, D., Xiang, H., *et al.* (2022) Enhanced Bone Formation in Rat Critical-Size Tibia Defect by a Novel Quercetin-Containing Alpha-Calcium Sulphate Hemihydrate/Nano-Hydroxyapatite Composite. *Bio-medicine & Pharmacotherapy*, **146**, Article ID: 112570. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112570>
- [41] Guimarães, J.A.M., Scorza, B.J.B., Machado, J.A.P., Cavalcanti, A.D.S. and Duarte, M.E.L. (2023) Characterization of

- the Masquelet Induced Membrane Technique in a Murine Segmental Bone Defect Model. *Revista Brasileira de Ortopedia*, **58**, e798-e807. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1771490>
- [42] Beitlütum, I., Rayyan, F., Pokhojaev, A., Tal, H. and Sarig, R. (2024) A Novel Micro-CT Analysis for Evaluating the Regenerative Potential of Bone Augmentation Xenografts in Rabbit Calvarias. *Scientific Reports*, **14**, Article No. 4321. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54313-4>
- [43] Alrumaih, S., Alshibani, N., Alssum, L., Alshehri, F.A., AlMayrifi, M.A., AlMayouf, M., *et al.* (2023) The Impact of Resolvin E1 on Bone Regeneration in Critical-Sized Calvarial Defects of Rat Model—A Gene Expression and Micro-CT Analysis. *Journal of Periodontal Research*, **59**, 195-203. <https://doi.org/10.1111/jre.13206>
- [44] 张娜, 刘学芳, 冯素香, 等. 肺癌骨转移动物模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 128-131, 137.
- [45] 周浩伟, 王秉谦, 张宇辰, 等. 基于数据挖掘的骨质疏松症动物模型建立与分析[J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(8): 1042-1050.
- [46] Wang, Y., Zhang, X., Mei, S., Li, Y., Khan, A.A., Guan, S., *et al.* (2023) Determination of Critical-Sized Defect of Mandible in a Rabbit Model: Micro-Computed Tomography, and Histological Evaluation. *Heliyon*, **9**, e18047. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18047>
- [47] Tian, M., Han, Y., Yang, G., Li, J., Shi, C. and Tian, D. (2023) The Role of Lactoferrin in Bone Remodeling: Evaluation of Its Potential in Targeted Delivery and Treatment of Metabolic Bone Diseases and Orthopedic Conditions. *Frontiers in Endocrinology*, **14**, Article 1218148. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1218148>
- [48] 许刚, 何纯青, 张飞, 等. 万古霉素/PLGA/TCP 多孔复合材料修复羊感染性骨缺损[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(24): 3317-3322.