

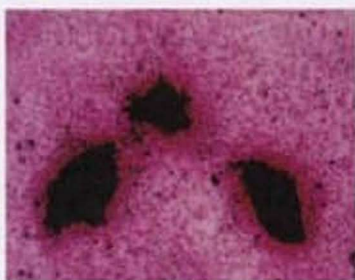
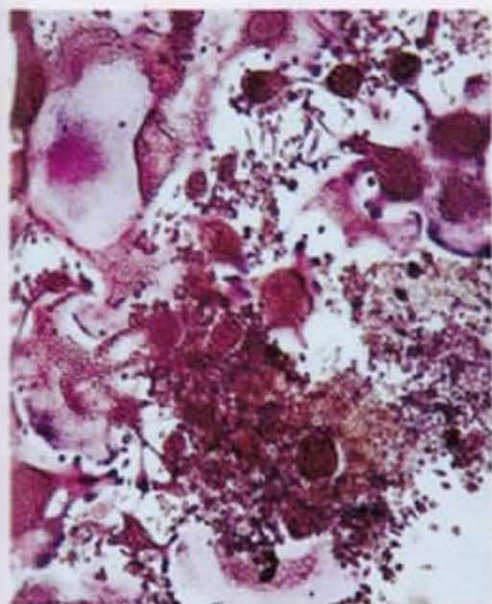


上海市“十三五”重点图书出版规划项目

骨细胞

图谱与体外培养

● 名誉主编 / 王洪复 ● 主编 / 朱国英



THE ATLAS
OF BONE CELLS & CELL CULTURE



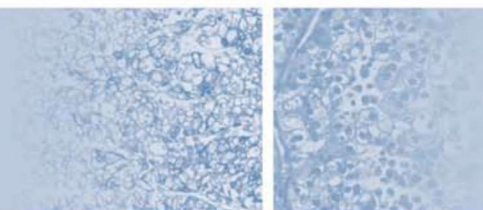
上海科学技术出版社

上海市“十三五”重点图书出版规划项目



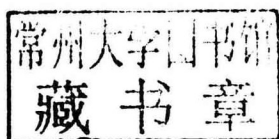
THE ATLAS OF
BONE CELLS &
CELL CULTURE

骨细胞图谱与体外培养



名誉主编
王洪复

主 编
朱国英



上海科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

骨细胞图谱与体外培养 / 朱国英主编. —上海:
上海科学技术出版社, 2018. 1
ISBN 978-7-5478-3759-7

I. ①骨… II. ①朱… III. ①骨细胞-细胞培养-体
外培养-图谱 IV. ①R329. 2-64

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第267140号

本书出版由上海科技专著出版资金资助

骨细胞图谱与体外培养
名誉主编 王洪复 主编 朱国英

上海世纪出版(集团)有限公司 出版、发行
上海科学技术出版社
(上海钦州南路71号 邮政编码200235 www. sstp. cn)

印刷

开本787×1092 1/16 印张20. 25

字数 400千字

2018年1月第1版 2018年1月第1次印刷

ISBN 978-7-5478-3759-7/Q·55

定价: 148. 00元

本书如有缺页、错装或坏损等严重质量问题, 请向工厂联系调换

编 委

(按姓氏笔画顺序排列)

于志锋 于明香 王拥军 王洪复 曲新华 朱国英 汪 纯
张克勤 张 岩 陈军祥 陈 晓 赵东峰 赵 宁 赵辰荷
高艳虹 唐德志 盛 辉 梁 璟 舒 冰

学术秘书

陈 晓 翟江龙

内容提要

本书从生动直观的骨细胞图谱入手,辅以骨细胞培养的最新研究进展,概括了骨细胞培养技术、形态、生物学功能和基因分子调节机制,以及生物力学、电离辐射、增龄衰老等带来的细胞效应、病理改变和相关药效研究的最新进展,直观且系统地展现骨细胞体外分离培养技术、鉴定、功能检测的最新技术与理念。本书分三部分:第一部分为骨细胞图谱,总共200余幅照片,所有照片均为作者实验室或本人制作,部分照片在国内外均属罕见,异常珍贵。第二部分介绍骨细胞体外分离培养技术、鉴定、功能检测技术与方法。第三部分为骨细胞体外培养技术在骨细胞病理学和药效学研究中的应用,概括和研讨了作者的学术认识和论点。

本书内容全面、实用性强,对从事骨代谢基础研究的科研工作者而言,是一本难得的工具书,也是骨质疏松症等代谢性骨病临床诊治医师值得一读的参考书。

主编简介



朱国英，女，1965年3月出生，浙江舟山人，1987年7月毕业于原上海医科大学公共卫生学院，2000年获复旦大学放射医学博士学位。现任复旦大学放射医学研究所研究员，博士生导师，中华医学会放射医学与防护学分会委员、上海市医学会职业病与环境医学专科分会委员、上海市职业病鉴定专家库放射卫生组专家，《中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志》编委，《国际放射医学核医学杂志》通讯编委，*Journal of Radiation Research* 和 *Food and Chemical Toxicology* 等杂志审稿人。曾任中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病学分会委员、上海市医学会骨质疏松专科分会副主任委员等学术职务。

长期致力于骨代谢基础与临床应用研究和教学工作，尤其是在环境因子和电离辐射致骨代谢损伤效应与机制研究、职业照射防护研究等方面有专长。荣获上海市科技进步二等奖、上海市医学科技奖二等奖、中华预防医学会科学技术奖三等奖等学术奖项。主编《电离辐射防护基础与应用》，参编《骨矿与临床》《骨质疏松诊断》《现代毒理学》等学术专著，发表SCI和核心期刊论文50余篇。重视实验室平台建设，已建成在国内具有一定影响力的骨代谢基础研究实验室，尤其是在骨组织细胞培养与生物学效应研究、骨组织形态计量学研究技术等方面居国内领先水平，培养了多名博士和硕士研究生。

序 一

骨细胞(成骨细胞、破骨细胞和骨陷窝细胞)生物学功能对人体骨代谢平衡和骨结构及功能的健康发育至关重要。近半个世纪以来,随着细胞体外培养实验技术和分子生物学实验技术的发展,骨细胞体外培养实验技术也得到迅速发展,并应用于骨细胞生物学的分子机制和骨质疏松症等代谢性骨病的病理机制研究,取得了长足进步。成骨细胞和破骨细胞是一类生物学功能很活跃的细胞,其骨吸收和骨形成功能受全身骨代谢调节激素和局部因子的调节,并通过耦联机制调控,维持骨重建在生理水平。细胞和分子水平上的骨代谢基础研究进展促进了对代谢性骨病病理机制的认识和骨质疏松症防治药物的研究。

复旦大学上海医学院(原上海医科大学)放射医学研究所骨代谢研究室在国内较早开展骨细胞体外培养和生物学功能实验技术研究,在骨细胞形态结构、功能表达,以及骨质疏松症骨细胞病理、防治药效研究等领域取得显著进展。《骨细胞图谱与体外培养》是研究者及其团队多年实验研究的经验和成果积累,是一本难得的工具书。该书编委会由以朱国英研究员为主编的21名作者组成,这是一支活跃在上海市骨代谢学科研究前沿的中青年专家,他们紧随国际骨代谢学科前沿,在细胞、基因分子水平上对骨细胞生物学和骨代谢异常相关疾病的病理机制、诊断和防治开展研究,成果丰硕。该书图谱部分涵盖了成骨细胞、破骨细胞和骨陷窝细胞等较多骨细胞照片,细胞形态与功能相结合,丰富多彩,表达清楚;方法学部分涵盖了细胞诱导培养、共培养、基因分析、力学效应、放射效应等新颖技术。该书还参考国内外文献,论述了骨重建生理调控机制、生物力学效应、放射骨损伤病理机制、增龄衰老骨细胞病理、骨质疏松症中西药防治药效和骨细胞体外培养新技术等诸多方面的应

用和进展,便于读者参考。

本书是一本面貌全新的骨细胞生物学专著,希望这部专著的出版能对我国骨代谢基础研究和代谢性骨病临床诊治起到进一步的推动作用。

陈家纯

上海交通大学医学院附属瑞金医院教授
上海市内分泌研究所名誉所长

2017年7月

序 二



骨细胞体外培养技术的建立对深入研究骨细胞生物学至关重要。本书作者应用建立的培养技术,对培养骨组织细胞(破骨细胞、成骨细胞和骨陷窝细胞)的形态结构、生物学功能进行观察研究和检测,研究骨质疏松症等代谢性骨病的骨细胞病理机制和防治药物的骨细胞药效,并对骨转换调控和基因分子调节机制以及生物力学、电离辐射、增龄衰老等细胞效应进行研究,推动了骨质疏松症等代谢性骨病病理机制和临床防治认识的提高。近20余年来,国内外在骨细胞培养技术、分子病理机制和防治药物等诸多方面的研究取得了明显进展。本书在2001年出版的《骨细胞图谱与骨细胞体外培养技术》基础上,扩充了实验室积累的骨细胞精选照片,引入细胞培养和生物学功能检测的先进技术,使全书面貌一新。作者所在实验室在进行骨细胞体外分离培养实验技术中,操作技术规范,质控严格,具有严谨性和科学性。

本书作者在国内较早建立成骨细胞和破骨细胞体外培养实验技术,并建立培养细胞的鉴定和生物学功能检测方法,收集了在近30年基础研究中积累不同功能状态下的骨组织细胞照片,资料十分珍贵,对推动中国骨矿盐疾病研究,以及在骨质疏松症的临床和基础、药师筛选和药效预估都发挥了引领作用。书中的骨质疏松等代谢性骨病的骨细胞病理机制和防治药物药效及其机制的最新研究进展,概括和研讨了作者的学术认识和论点。本书不仅是骨矿代谢实验室研究工作者的重要读物,而且也是临床医师和医学生从细胞水平认识、学习、了解骨矿代谢疾病的入门参考书,具有广泛的应用性。

我国骨代谢基础研究和骨质疏松症等代谢性骨病临床诊治研究正日益得到重视，本书的出版对推动我国骨代谢基础和临床研究，无疑会起到一定的促进作用，值得基础研究者和临床工作者仔细阅读。



复旦大学附属华东医院主任医师、内科教授
上海市老年医学研究所
复旦大学老年医学中心、老年骨代谢和骨质疏松研究室
2017年8月

前言

我国于1990年前后开始重视骨代谢基础研究，骨细胞体外培养和生物学功能研究是其重要组成部分。原上海医科大学放射医学研究所（现为复旦大学放射医学研究所）于1992年在上海首先建立以骨细胞体外培养实验室为主的骨代谢研究室，先后成功建立了成骨细胞、破骨细胞、骨髓间充质干细胞体外培养和鉴定、功能测定等技术，并应用于骨质疏松症骨细胞病理机制、增龄衰老骨细胞改变和中西药物防治药效学研究之中，对促进我国骨代谢基础研究和骨质疏松症等代谢性骨病临床防治研究起到了积极推动作用。

近20年来，国内外在骨细胞培养和生物学功能及其基因分子生物学机制等研究方面取得了长足进展。为深入推进我国骨代谢基础和代谢性骨病临床防治研究，本书特邀内分泌学、骨代谢基础、骨质疏松症临床专科、老年病学和中医药学等学科前沿专家组成编委会，在2001年出版的《骨细胞图谱与骨细胞体外培养技术》的基础上，参考国内外骨细胞生物学研究进展，进一步扩充了骨细胞培养技术、形态、生物学功能和基因分子调控机制，以及生物力学、电离辐射、增龄衰老等带来的细胞效应、病理改变和相关药效研究新进展，引入先进技术，为读者提供一本内容全面、新颖、技术先进和更为实用的骨代谢基础研究和代谢性骨病临床研究与应用的工具书。

本书分三部分。第一部分为骨细胞图谱，包括成骨细胞、骨陷窝细胞和破骨细胞的活体观察、电镜观察、超微结构、细胞化学染色、功能表达和病理改变等形态照片，共

200余幅。第二部分介绍骨细胞体外分离培养技术(大鼠、人骨标本等),如酶消化法、组织贴块法、诱导培养法、共培养法等,并介绍培养细胞的鉴定和功能测定技术与方法。第三部分为骨细胞体外培养技术在骨细胞病理学和药效学研究中的应用与进展,着重介绍骨质疏松症等代谢性骨病的成骨细胞、破骨细胞的病理机制和有关药物的药效反应,并概括作者的学术认识和论点。书中图谱部分所收录照片是作者所在实验室多年积累所得,其中部分成骨细胞、破骨细胞、骨陷窝细胞及其前体细胞等照片为本书所特有,非常珍贵。本书可供骨细胞生物学、骨代谢相关学科基础研究工作者参考,亦可供骨科、代谢内分泌科、老年病科、骨质疏松症专科和其他代谢性骨病临床医师参考,并可作为相关学科研究生培养参考书。

本书特邀我国著名内分泌学专家、上海市内分泌研究所前所长、上海交通大学医学院附属瑞金医院内分泌科专家陈家伦教授,以及复旦大学附属华东医院老年医学、骨质疏松症专家朱汉民教授为本书作序。特邀复旦大学上海医学院病理形态学专家钟慈声教授和上海交通大学医学院附属第六人民医院内分泌学、骨质疏松症专家章振林教授为本书主审。谨致诚挚感谢!



2017年7月

总 目 录

第 1 篇 骨细胞图谱	001
第 1 章 成骨细胞图谱	002
第 2 章 破骨细胞图谱	032
第 3 章 骨陷窝细胞图谱	072
第 2 篇 骨细胞培养技术	093
第 4 章 成骨细胞体外培养、鉴定与功能检测技术	094
第 5 章 骨陷窝细胞体外培养、鉴定与功能检测技术	115
第 6 章 破骨细胞体外培养、鉴定与功能检测技术	127
第 7 章 细胞共培养技术	158
第 8 章 成骨细胞力学效应研究技术	174
第 3 篇 骨细胞病理学和药效学研究应用与进展	181
第 9 章 骨细胞分化发育与功能的调控机制	182
第 10 章 成骨细胞与破骨细胞的耦联调控进展	190
第 11 章 间充质干细胞成骨分化的调控因子	200

第 12 章	良好血管结构和功能对骨健康起重要作用	208
第 13 章	力学作用的骨细胞效应研究	217
第 14 章	遗传性代谢性骨病的致病基因与分子机制研究	221
第 15 章	骨细胞的药物干预研究进展	228
第 16 章	维生素 D 及其类似物对骨细胞的调控及分子机制研究	235
第 17 章	中医“肾主骨”理论在骨质疏松症防治中的指导价值	244
第 18 章	补肾中药对成骨细胞分化的疗效机制研究	251
第 19 章	补肾中药对破骨细胞的调节作用	258
第 20 章	老年骨质疏松症骨细胞病理与治疗思考	264
第 21 章	降钙素药物的骨细胞药效与在老年骨质疏松症治疗中的应用	272
第 22 章	维生素 D 骨形成促进作用与在老年骨质疏松症治疗中的应用	280
第 23 章	放疗后骨丢失的病理生理及其细胞机制研究	288
第 24 章	骨形态计量学方法与研究进展	295
附 录 专业术语英汉对照		299

骨细胞图谱目录

第1章 成骨细胞图谱

图 1-1	成骨细胞组织切片染色图 (100×)	002
图 1-2	成骨细胞组织切片染色图 (40×)	003
图 1-3	体外培养大鼠成骨细胞 (1 天) 倒置相差显微镜活体观察 (100×)	004
图 1-4	体外培养大鼠成骨细胞 (3 天) 倒置相差显微镜活体观察 (100×)	005
图 1-5	体外培养大鼠成骨细胞 (5 天) 倒置相差显微镜活体观察 (100×)	006
图 1-6	体外培养大鼠成骨细胞 (7 天) 倒置相差显微镜活体观察 (100×)	007
图 1-7	体外培养大鼠成骨细胞 (12 天) 倒置相差显微镜活体观察 (40×)	008
图 1-8	成骨细胞荧光染色图 (盐酸四环素, 100×)	009
图 1-9	成骨细胞碱性磷酸酶组化染色图 (NBT/BCIP, 200×)	010
图 1-10	成骨细胞碱性磷酸酶组化染色图 (钙钴法, 200×)	011
图 1-11	成骨细胞碱性磷酸酶组化染色图 (NBT/BCIP)	012
图 1-12	成骨细胞矿化结节茜素红染色图 (40×)	013
图 1-13	成骨细胞矿化结节四环素染色图 (40×)	014
图 1-14	成骨细胞矿化结节茜素红染色图 (100×)	015
图 1-15	成骨细胞细胞骨架激光共聚焦显微镜图 (200×)	016
图 1-16	成骨细胞基质前体 PAS 染色图 (过碘酸-Schiff 细胞化学染色)	017
图 1-17	成骨细胞扫描电镜图 (2 000×)	018
图 1-18	成骨细胞扫描电镜图 (2 000×)	019
图 1-19	分裂相成骨细胞扫描电镜图 (2 000×)	020

图 1-20	重叠生长成骨细胞扫描电镜图 (2 000×)	021
图 1-21	游离状态成骨细胞透射电镜图 (大鼠, 第 2 继代, 6 000×)	022
图 1-22	游离状态成骨细胞透射电镜图 (大鼠, 第 2 继代, 6 000×)	023
图 1-23	贴壁状态成骨细胞透射电镜图 (大鼠, 第 2 继代, 6 000×)	024
图 1-24	诱导分化成骨细胞透射电镜图 (7 500×)	025
图 1-25	衰老成骨细胞扫描电镜图 (大鼠, 第 25 继代, 1 200×)	026
图 1-26	衰老成骨细胞透射电镜图 (大鼠, 第 25 继代, 40 000×)	027
图 1-27	人成骨细胞透射电镜图 (49 岁, 男性, 4 000×)	028
图 1-28	人成骨细胞透射电镜图 (49 岁, 男性, 5 000×)	029
图 1-29	成骨细胞矿化结节形成过程 (100×)	030
图 1-30	骨髓间充质干细胞 (BMSC) 成骨和成脂向分化过程	031

第 2 章 破骨细胞图谱

图 2-1	破骨细胞组织切片染色图	032
图 2-2	小鼠 RAW 264.7 细胞诱导生成的破骨细胞抗酒石酸酸性磷酸酶染色图 (100×)	033
图 2-3	大鼠骨髓幼单核细胞诱导生成的破骨细胞抗酒石酸酸性磷酸酶染色图 (100×)	034
图 2-4	人外周血单个核细胞诱导生成的破骨细胞抗酒石酸酸性磷酸酶染色图 (100×)	035
图 2-5	体外培养大鼠破骨细胞倒置相差显微镜活体动态观察 (200×)	036
图 2-6	体外培养小鼠破骨细胞倒置相差显微镜活体动态观察	037
图 2-7	破骨细胞 Giemsa 染色图 (200×)	038
图 2-8	破骨细胞 HE 染色图 (200×)	039
图 2-9	破骨细胞甲苯胺蓝染色图 (200×)	040
图 2-10	破骨细胞酸性磷酸酶 (ACP) 染色图 (200×)	041
图 2-11	不同状态破骨细胞抗酒石酸酸性磷酸酶染色图	042
图 2-12	破骨细胞抗酒石酸酸性腺苷三磷酸酶染色图 (200×)	043
图 2-13	小鼠骨髓幼单核细胞诱导培养后不同时期破骨细胞图 (100×)	044
图 2-14	人外周血单个核细胞诱导培养后不同时期破骨细胞图	045
图 2-15	小鼠 RAW 264.7 细胞经 RANKL 诱导培养后不同时期破骨细胞图 (100×)	046
图 2-16	破骨细胞扫描电镜图 (400×)	047
图 2-17	破骨细胞扫描电镜图 (700×)	048

图2-18	破骨细胞扫描电镜图 (1 000×)	049
图2-19	破骨细胞扫描电镜图 (4 000×)	050
图2-20	破骨细胞扫描电镜图 (700×)	051
图2-21	破骨细胞超微结构图 (7 500×)	052
图2-22	破骨细胞超微结构图 (7 500×)	053
图2-23	破骨细胞超微结构图 (2 500×)	054
图2-24	破骨细胞超微结构图 (15 000×)	055
图2-25	破骨细胞微管结构图 (400×)	056
图2-26	破骨细胞F肌动蛋白分布图 (200×)	057
图2-27	破骨细胞F肌动蛋白环结构形成图 (100×)	058
图2-28	破骨细胞降钙素受体免疫组化染色图 (ABC法, 200×)	059
图2-29	破骨细胞骨吸收状态图 (700×)	060
图2-30	破骨细胞骨吸收状态图 (1 500×)	061
图2-31	骨片吸收陷窝图 (500×)	062
图2-32	骨片吸收陷窝图 (1 500×)	063
图2-33	骨片吸收陷窝图 (400×)	064
图2-34	骨片吸收陷窝图 (400×)	065
图2-35	骨片吸收陷窝图	066
图2-36	骨片吸收陷窝图	067
图2-37	骨片吸收陷窝图 (200×)	068
图2-38	破骨细胞凋亡进程图 (吖啶橙染色, 200×)	069
图2-39	凋亡破骨细胞 (TUNEL 染色, 200×)	070
图2-40	破骨细胞核 (DAPI 染色, 100×)	071

第3章 骨陷窝细胞图谱

图3-1	骨陷窝细胞扫描电镜图 (1 200×)	072
图3-2	骨陷窝细胞扫描电镜图 (酸性蚀刻, 400×)	073
图3-3	骨陷窝细胞扫描电镜图 (酸性蚀刻, 1 000×)	074
图3-4	骨陷窝细胞扫描电镜图 (酸性蚀刻, 4 000×)	075
图3-5	骨陷窝细胞扫描电镜图 (酸性蚀刻)	076
图3-6	骨陷窝细胞组织切片染色图 (HE 染色, 200×)	077
图3-7	骨陷窝细胞组织切片图 (E11 免疫组化染色, 400×)	078
图3-8	骨小梁的骨陷窝细胞图 (E11 免疫组化染色, 1 000×)	079