



电子、语音版

·论著·

人工硬脑膜对颅骨缺损修复的影响

李政堂^{1,2,3,4}, 郭雅鑫⁵, 李焯^{1,2,3,4}, 王勇^{1,2,3,4}, 马玉博⁶, 张中奇^{1,2,3,4}, 张春阳^{1,2,3,4}

1. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014010
2. 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院神经外科, 内蒙古 包头 014010
3. 内蒙古科技大学包头医学院神经外科疾病研究所(转化医学), 内蒙古 包头 014010
4. 内蒙古自治区骨组织再生与损伤修复工程技术中心, 内蒙古 包头 014010
5. 内蒙古鄂尔多斯市中心医院康复科, 内蒙古 鄂尔多斯 017000
6. 秦皇岛市第三医院, 河北 秦皇岛 066001

摘要:目的 通过分析大鼠颅盖骨缺损修复过程中体重的变化,以及骨形态发生蛋白2(BMP2)信号通路的表达变化规律,探索幼龄动物颅骨缺损修复机制。方法 采用10 d幼龄SD大鼠,以大鼠矢状缝为界,在右侧顶骨中心,直径约2 mm做一骨窗,去除骨瓣;空白组不进行任何处理;人工膜组将5 mm正方形人工硬脑膜置于缺损下。分别在第2、4及6周末处死动物并取材。每组6只。测量三组的生理学指标及检测骨缺损处BMP2、白细胞抑制因子1(Smad1)和矮小相关转录因子2(Runx2)的表达情况。结果 两组颅骨缺损面积均发生缩小,空白组在4周时骨缺损修复了造模面积的70%,在6周时修复了造模面积的86%;人工膜组在4周时骨缺损修复了造模面积的20%,在6周时修复了造模面积的36%。第2、4及6周末3个时间周期内(除4周人工膜组BMP2蛋白与空白组无统计学差异外),人工膜组BMP2、Smad1、Runx2这3种蛋白表达量均低于空白组($P < 0.05$)。Real-time PCR结果显示,人工膜组中BMP2、Smad1、Runx2的mRNA相对表达量与空白组相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 BMP2信号通路在幼龄颅骨缺损修复中起重要作用;人工硬脑膜延长正常颅骨缺损进程。

关键词:骨形态发生蛋白2;颅骨;缺损修复;人工硬脑膜

中图分类号:R651.15

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2025.01.003

Effect of artificial dura mater on cranial defect repair

LI Zhengtang^{1,2,3,4}, GUO Yaxin⁵, LI Ye^{1,2,3,4}, WANG Yong^{1,2,3,4}, MA Yubo⁶, ZHANG Zhongqi^{1,2,3,4}, ZHANG Chunyang^{1,2,3,4}

1. Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou, Inner Mongolia 014010, China
2. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou, Inner Mongolia 014010, China
3. Institute of Neurosurgical Diseases (Translational Medicine), Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou, Inner Mongolia 014010, China
4. Inner Mongolia Autonomous Region Bone Tissue Regeneration and Damage Repair Engineering and Technology Centre, Baotou, Inner Mongolia 014010, China
5. Department of Rehabilitation, Ordos Central Hospital, Ordos, Inner Mongolia 017000, China
6. Qinhuangdao Third Hospital, Qinhuangdao, Hebei 066001, China

Corresponding author: ZHANG Chunyang, Email: zhangchunyang-1964@aliyun.com

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of cranial defect repair in young animals by analyzing the changes in body weight and the expression of the bone morphogenetic protein 2 (BMP2) signaling pathway during the repair of cranial skull defects in rats. **Methods** Young Sprague-Dawley rats, aged 10 days, were selected. A bone window with a

基金项目:国家自然科学基金(82160250,81960238);国家临床重点专科建设项目。

收稿日期:2024-06-24;修回日期:2024-11-12

通信作者:张春阳,Email: zhangchunyang-1964@aliyun.com。

diameter of about 2 mm was made in the center of the right parietal bone with the sagittal suture of the rat as the boundary, and the bone flap was removed. The rats in the blank group were not given any treatment, and for those in the artificial dura mater group, a 5 mm square artificial dura mater was placed under the defect. The animals were sacrificed and related samples were collected at the end of weeks 2, 4, and 6. There were 6 rats in each group. The two groups were measured in terms of body weight, physiological indicators, and the expression of BMP2, leukocyte suppressor 1 (Smad1), and Runx-related transcription factor 2 (Runx2) at the site of bone defect. **Results** Both groups had a reduction in the area of cranial bone defect, and the blank group achieved the repair of 70% of the modeled area at week 4 and the repair of 86% of the modeled area at week 6, while the artificial dura mater group achieved the repair of 20% of the modeled area at week 4 and the repair of 36% of the modeled area at week 6. The artificial dura mater group had significantly lower protein expression levels of BMP2, Smad1, and Runx2 than the blank group at the end of weeks 2, 4, and 6 ($P < 0.05$), except for BMP2 protein at the end of week 4. Real-time PCR showed that there were no significant differences in the relative mRNA expression levels of BMP2, Smad1, and Runx2 between the artificial dura mater group and the blank group ($P > 0.05$).

Conclusions The BMP2 signaling pathway plays an important role in cranial defect repair in young animals, and artificial dura mater prolongs the process of normal cranial defect repair.

Keywords: bone morphogenetic protein 2; skull; defect repair; artificial dura mater

硬脑膜是脑表面一层致密的纤维结缔组织,在促进颅骨发育、预防感染、防止脑脊液漏等方面起重要作用^[1]。骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)信号通路通过促进成骨细胞在颅骨缺损处的募集、增殖和分化来促进新骨形成,因此在颅骨缺损修复中发挥重要作用^[2-4]。硬脑膜在颅脑外伤、颅内感染或者颅脑手术中损伤等情况下不能原位缝合,需要进行筋膜移植或人工硬脑膜替代治疗。而在患者头部皮下组织较少的时候,人工硬脑膜则成为不错的替代选择^[5]。但人工硬脑膜因其自身属性可能也会对颅骨缺损修复以及神经发育造成一定影响,本研究拟探寻人工硬脑膜在颅骨缺损修复过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

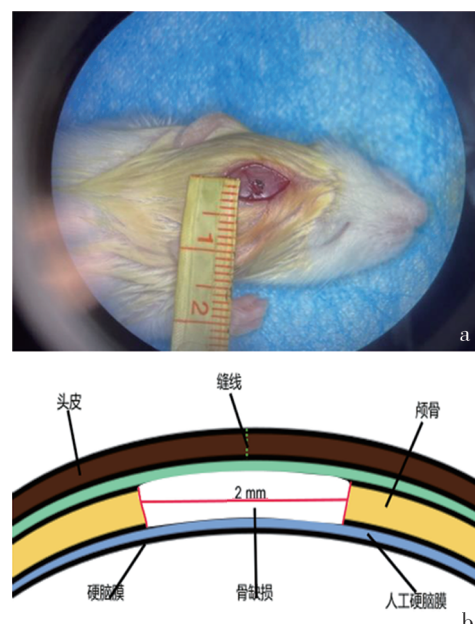
实验所需5对SD大鼠购自斯贝福北京生物技术有限公司,饲养于内蒙古科技大学包头医学院实验动物中心。保持饲养环境温度20~26℃;相对湿度50%~65%;并提供12 h的光循环(早7时~晚19时)。待新生SD大鼠出生后记录出生日期,并在相同条件下饲养。SD大鼠在生理上与人类相似,是研究人类发育的理想模型^[6]。选取体重相近的10 d幼龄SD大鼠36只作为研究对象,将实验对象随机分成对照组、实验组,各18只。进行造模,每只幼龄SD大鼠在术前均观察无明显畸形。

1.2 实验方法

1.2.1 手术方式

每只样本鼠均需在术前称量体重,无明显行为学异常。配置5%的水合氯醛溶液作为麻醉剂,剂量为0.5 mL/100 g进行腹腔注射麻醉,待麻醉满意后予俯卧位于实验台,并予以取暖灯照射维持体温。取顶枕部正中直切口,长约1.5 cm,常

规剃毛消毒后切开,在刀锋显微镜下操作,显微外科器械钝性分离骨膜,暴露颅骨。人工膜组:矢状缝右侧顶骨中心为圆心,直径2 mm做一骨窗,将人工硬脑膜裁剪成5 mm×5 mm大小,置入圆形骨窗下,放在颅骨与硬脑膜之间,未破坏原有硬脑膜(见图1)。空白组:采取相同手术方法,不置入人工硬脑膜,也未破坏原有硬脑膜。术后使用强生可吸收线缝合切口,并放置于保温箱中,待麻醉醒后与母鼠同笼。术后两组大鼠在第2、4和6周龄末,完成生理学指标测量后处死,获得两组术区的颅骨(Skull)样本。



a: 手术缺损大小; b: 为植入物示意图。

图1 手术示意图

1.2.2 生理学指标测量

取材前对两组大鼠进行生理学指标测量,测量前使用10%水合氯醛腹腔注射麻醉后致死,测量2个方面的指标。①颅骨缺损面积大小测量。横径:用游标卡尺测量垂直于矢状缝的直径;纵径:用游标卡尺测量平行于矢状缝的直径,横径和纵径均重复测量3次后取平均值,然后将横径L与纵径L'使用公式 $d=(L+L')/2$,得到骨缺损的平均直径d,使用公式 $S=(d/2)^2$ 计算缺损面积。②缺损边缘骨厚度测量。处死实验动物后,用纱布钝性分离包括颅骨外骨膜在内的软组织,剪下完整的颅盖骨,用测厚仪测量各分组a、b、c、d点的厚度,每个点测量3次取平均值(见图2)。

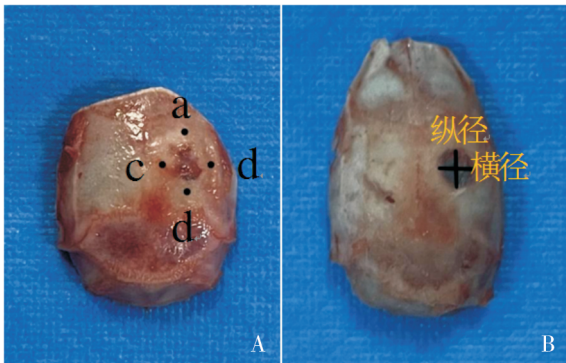


图2 大鼠生理学指标测量示意图
A为缺损边缘a、b、c、d 4点测量骨厚度;B为颅骨缺损面积横径和纵径测量位置。

图2 大鼠生理学指标测量示意图

1.2.3 蛋白质印迹(Western blotting)法检测大鼠颅骨组织中BMP2、白细胞抑制因子1(SMAD family member 1, Smad1)和矮小相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)表达水平

取两组幼龄SD大鼠的颅骨组织,将颅骨标本置于1.5 mL的离心管中,无菌组织剪尽可能剪碎颅骨样本,加入100 μ L细胞裂解液和1 μ L的蛋白酶抑制剂后用振荡仪混匀,采用超声波破碎细胞,释放胞内蛋白,使用超速离心机4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心15 min后取上清,即为蛋白原液,使用BCA试剂盒测量蛋白浓度后,按比例加入抗氧化剂和Loading Buffer制样;将蛋白样本和Maker加入提前制好的聚丙烯酰胺凝胶泳道内,置于电泳中,采用恒流电泳方法浓缩胶19 mA,待Maker逐层分离并接触分离胶时,调整电流为29 mA,可见目的分子量蛋白移动至中线位置附近时停止电泳,取出凝胶置于恒流转膜槽中,电流300 mA时间1 h,使目的蛋白转至PVDF膜上,完成转膜后将PVDF膜置于提前配置好的5%脱脂牛奶中,封闭1 h后按目的蛋白分子量剪膜并孵育对应一抗(BMP2/Smad1/

Runx2)过夜,1 \times TBST缓冲液洗膜后孵育荧光二抗1 h,3次洗膜后使用荧光成像仪观察结果。

1.2.4 实时荧光PCR(Real-time PCR)法检测大鼠颅骨组织中BMP2、Smad1、Runx2表达水平

设计Real-time PCR引物,从基因库网站(NCBI)上查得大鼠BMP2、Smad1、Runx2基因与内参基因 β -actin的基因序列并设计引物,引物序列如表1。

表1 Real-time PCR引物序列

引物	引物序列	长度/bp
BMP2	正向(F): CTCTCTCAATGGACGTGCC	20
	反向(R): CACTAGAAGACAGCGGTCC	20
Smad1	正向(F): GGCTCTCAGCCTATGGACAC	20
	反向(R): ACTGCTTGAACATCTCCTCTATTG	24
Runx2	正向(F): GCGGTGCAAACCTTTCTCCAG	20
	反向(R): AATGACTCGGTTGGTCTCGG	20
β -actin	正向(F): TGACAGGATGCAGAAGGAGA	20
	反向(R): TAGAGCCACCAATCCACACA	20

利用real-time PCR试剂盒以及cDNA试剂盒对两组幼龄大鼠颅骨组织中BMP2、Smad1、Runx2以及内参 β -actin的mRNA进行real-time PCR,具体步骤如下:取每组样本2例混样后进行提取,将颅骨置于1.5 mL离心管中,使用小型无菌剪,剪碎颅骨组织后,按样本量加入1 mL TRzol混匀后在室温放置5 min,使核酸蛋白复合物完全分离;分离后加入0.2 mL氯仿并剧烈振荡15 s后室温放置3 min;使用低温超速离心机4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心15 min。样品分为3层:粉色有机相,中间相和上层无色水相,所需RNA在水相中,将水相转移到新的1.5 mL离心管中并加入等体积异丙醇混匀,室温放置10 min后4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心10 min,去除上清。所需RNA沉淀于离心管底部形成胶状沉淀,加入1 mL的75%乙醇洗涤沉淀后,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心5 min后倒出液体,加入20 μ L RNase-Free ddH₂O溶解RNA,将得到样本中总RNA移入8联管中,每孔加入配置好的cDNA试剂盒溶液,放入Thermal Cycler Block中进行反转录得到cDNA文库;按照real-time PCR试剂盒说明书,依次加相应分组配置的反应液、引物和cDNA于透明半裙边96孔PCR板中,用透明膜覆盖严实,在低温离心机中离心5 min,3 000 r/min。离心完成后放入LightCycler仪器中,参数设置如下:预变性95 $^{\circ}$ C \times 2 min;变性95 $^{\circ}$ C \times 15 s循环40次;退火延伸数据采集60 $^{\circ}$ C \times 15 s循环40次。Real-time PCR反应完成后,记录各样本Cq值,采用 $2^{-\Delta\Delta Cq}$ 方法进行定量分析。

1.2.5 HE染色方法

具体见表2。

表2 HE染色方法

步骤	操作
组织包埋	①乙醇脱水: 组织经不同浓度的乙醇溶液进行逐级脱水75%, 85%, 95%, 100%, 100%, 各级乙醇40 min(注意: 骨性及钙化组织需在脱钙液中浸泡24 h, 待组织软化后再进行乙醇脱水步骤); ②透明: 组织依次浸泡于3个二甲苯中, 每缸各30 min; ③浸蜡: 组织依次浸泡于3个石蜡缸中, 第一缸1 h, 第二缸1.5 h, 第三缸2 h; ④包埋: 将液态的石蜡倒入模具盒中, 再将浸好蜡的组织块平放底部, 注意切面方向朝下放置, 待石蜡凝固后去掉包埋框, 完全冷却变硬后再修整蜡块, 组织外围的石蜡保留适中以便切片
切片制作	将预冷的蜡块固定在石蜡切片机上, 使蜡块的切面与刀口成平行方向, 刀的倾斜度通常15°, 转动轮转推进器, 调节切片厚度为3 μm, 切成厚度均匀的切片。左手持毛笔, 右手旋动切片转机转把, 切片带出来之后, 用毛笔轻轻托起, 再用镊子轻镊蜡片, 以正面放入展片箱中, 其水温40℃左右。待摊平整后捞片
石蜡切片	贴附切片左手持载玻片之一端, 垂直入水去附贴切片, 右手用镊子辅助推动, 附贴至玻片上的2/3处。切片贴附后, 放在空气中稍晾干, 放置60℃烤片机上烤1 h, 再放置烘箱内烘烤2 h
脱蜡至水	依次将石蜡切片放入二甲苯 I 15 min-二甲苯 II 15 min-无水乙醇 I 10 min-无水乙醇 II 10 min-95%酒精10 min-85%酒精10 min梯度脱蜡
HE染色	石蜡切片入苏木素染5~10 min, 自来水漂洗, 1%盐酸酒精分化数秒, 自来水漂洗, 然后碳酸锂饱和水溶液返蓝1 min, 流水冲洗数秒, 放入伊红染液中染色数秒, 流水漂洗
脱水封片	石蜡切片依次放入75%乙醇2 min-85%乙醇2 min-无水乙醇2 min-无水乙醇2 min-二甲苯2 min透明, 将切片从二甲苯拿出来中性树脂胶封片

1.3 统计学方法

使用 GraphPad Prism 统计学软件进行分析, 计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 比较采用配对 *t* 检验, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颅骨缺损面积测量结果

两组颅骨缺损面积较均发生缩小, 空白组在第4周时骨缺损缩小幅度最大为70%, 在第6周时缩小幅度为86%; 人工膜组在第4周时骨缺损缩小幅度为20%, 在第6周时缩小幅度为36%(相较于造模面积)。见表3。

表3 不同时间大鼠颅骨缺损面积测量结果 ($\bar{x} \pm s, n=9, \text{mm}^2$)

时间	空白组	人工膜组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
第2周	3.14	3.14	1.000	0.363
第4周	0.95±0.34	2.51±0.70	4.051	0.010
第6周	0.44±0.439	2.03±0.72	7.363	0.000

2.2 缺损边缘骨厚度测量结果

测量两组不同时间点颅骨缺损边缘4个点的厚度, 人工膜组在2、4和6周的骨缺损边缘厚度与空白组相比, 结果无统计学意义(*P*>0.05)。见表4。

表4 不同时间大鼠颅骨缺损边缘骨厚度测量结果 ($\bar{x} \pm s, n=9, \text{mm}$)

时间	空白组	人工膜组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
第2周	0.10±0.04	0.086±0.02	1.603	0.137
第4周	0.24±0.04	0.21±0.05	1.584	0.141
第6周	0.34±0.04	0.37±0.07	1.044	0.310

2.3 Western blotting 结果

对 BMP2、Smad1、Runx2 这3种蛋白的 Western blotting 结果进行归一化计算后, 3个时间周期内(除4周人工膜组 BMP2 蛋白外), 人工膜组3种蛋白表达量均低于空白组(图3)。见表5。

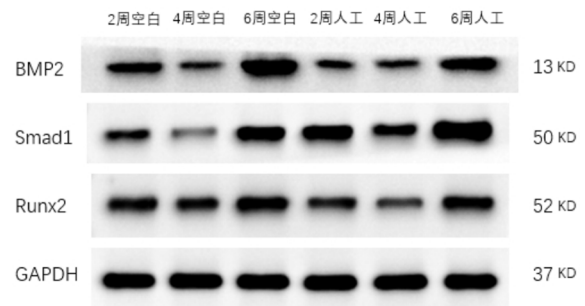


图3 大鼠颅盖骨组织中 BMP2、Smad1、Runx2 蛋白表达情况

表5 不同时间分组大鼠颅骨缺损边缘骨组织 BMP2、Smad1、Runx2 蛋白相对表达量结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	时间	空白组	人工膜组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
BMP2 蛋白	2周	1.000±0.001	0.503±0.048	18.100	0.003
	4周	1.000±0.002	0.918±0.094	1.521	0.268
	6周	1.000±0.001	0.732±0.061	7.556	0.017
Smad1 蛋白	2周	1.000±0.001	0.503±0.048	5.170	0.035
	4周	1.000±0.002	0.918±0.094	36.800	0.000
	6周	1.000±0.001	0.732±0.061	18.870	0.002
Runx2 蛋白	2周	1.000±0.001	0.757±0.009	48.310	0.000
	4周	1.000±0.002	0.680±0.020	27.670	0.001
	6周	1.000±0.001	0.910±0.010	15.930	0.004

2.4 Real-time PCR 结果

人工膜组中 BMP2、Smad1、Runx2 这 3 种蛋白的 mRNA 相对表达量与空白组相比,结果均无统计学意义 ($P>0.05$)(见表 6)。

2.5 HE 染色结果

第 2、4 及 6 周时,空白组缺损大小均小于人工膜组,且人工膜组下方可见大量成骨细胞聚集(图 4)。

表 6 不同时间分组大鼠颅骨缺损边缘骨组织 BMP2、Smad1、Runx2 基因 mRNA 相对表达量结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	时间	空白组	人工膜组	t 值	P 值
BMP2 mRNA	2 周	1.456±1.322	1.827±1.690	0.317	0.773
	4 周	1.517±1.696	1.138±0.271	0.160	0.887
	6 周	1.003±0.100	1.003±0.091	0.014	0.989
Smad1 mRNA	2 周	1.055±0.370	1.033±0.280	0.081	0.940
	4 周	1.029±0.255	0.320±0.022	3.635	0.170
	6 周	1.188±0.767	1.000±0.049	1.140	0.458
Runx2 mRNA	2 周	1.023±0.235	1.028±0.267	0.023	0.982
	4 周	2.830±3.941	1.497±1.511	0.583	0.600
	6 周	1.066±0.444	1.010±0.164	0.207	0.849

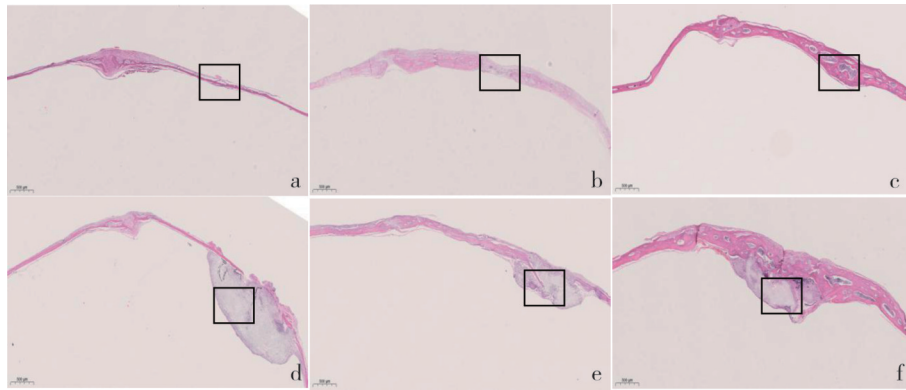


图 4 a、b、c 分别为空白组第 2、4 和 6 周缺损周围 HE 染色; d、e、f 分别为人工膜组第 2、4 和 6 周缺损周围 HE 染色。

图 4 HE 结果

3 讨论

人工硬脑膜是神经外科手术中常见的修补材料。去骨瓣减压术广泛应用于颅脑损伤患者的治疗。通常情况下,患者会因手术或颅脑损伤本身而出现硬脑膜缺损。缺损处可用颞肌贴附或用人工硬脑膜替代物修复^[7]。对于因使用人工硬脑膜而发生术后感染的患者,手术清除感染创面和去除人工硬脑膜材料是控制感染的必要措施。如有脑脊液漏,必须立即行硬脑膜重建术^[8]。对于小儿患者来说,未成熟硬脑膜对颅骨生长发育有重要作用,如按照成人手术方式直接使用人工硬脑膜替代,则可能影响患儿的颅骨缺损修复^[9]。在这种情况下,为了不影响小儿患者的颅骨缺损修复和以后的生长发育,应尽量保留硬脑膜,避免使用人工硬脑膜。

在大鼠与人类的生理年龄对照中,出生 2 周(14 d)的大鼠相当于人类出生 3 个月左右的婴儿的生理状态^[10],此时,硬脑膜未成熟,对颅骨的缺损修复和生长发育有重要作用^[9],因此,选择新生 2 周的大鼠作为本实验的研究对象。

从颅骨缺损面积缩小结果来看,植入人工硬脑膜后,颅骨缺损面积修复速度减慢;根据两组颅骨缺损边缘骨厚度结果不具有统计学差异;因此,笔者推测,植入人工

硬脑膜后,会影响颅骨缺损修复但不会影响颅骨厚度。

BMP2/Smad1/Runx2 信号通路通过促进成骨细胞在颅骨缺损处的募集和增殖来促进骨形成,是成骨细胞分化所必需的,并在颅骨缺损修复中发挥关键作用^[2-4]。本实验结果可知,在正常颅骨缺损修复过程中的 BMP2/Smad1/Runx2 基因表达 mRNA 可能不受人工硬脑膜影响;但相应的 3 种蛋白表达均低于空白组,再结合 HE 染色结果,人工膜组较空白组在骨缺损下方汇集了成骨细胞,笔者推测:人工膜可能阻碍成骨细胞迁移,导致成骨细胞释放的细胞因子未能到达骨缺损处,进而导致人工膜组蛋白表达量低于空白组,人工膜组缺损面积大于同时期空白组。造成人工膜组颅骨缺损修复延长的现象。

参 考 文 献

- [1] 徐蒙蒙, 阳范文, 张雅欣, 等. 人工脑膜研究现状及 3D 打印技术应用前景[J]. 合成材料老化与应用, 2019, 48(1): 93-98.
- [2] DURHAM EL, HOWIE RN, HOUCK R, et al. Involvement of calvarial stem cells in healing: a regional analysis of large cranial defects[J]. Wound Repair Regen, 2018, 26(5): 359-365.
- [3] SHAKIR S, MACISAAC ZM, NARAN S, et al. Transforming growth factor beta 1 augments calvarial defect healing and promotes suture regeneration[J]. Tissue Eng Part A, 2015, 21(5/

- 6): 939-947.
- [4] JAVED A, AFZAL F, BAE JS, et al. Specific residues of RUNX2 are obligatory for formation of BMP2-induced RUNX2-SMAD complex to promote osteoblast differentiation[J]. *Cells Tissues Organs*, 2009, 189(1/4): 133-137.
- [5] 曾多, 肖妮, 叶世阳, 等. 生物型人工硬脑膜用于颅脑损伤硬脑膜修补术中的效果观察[J]. *中国实用医药*, 2020, 15(29): 1-3.
- [6] RYDELL-TÖRMÄNEN K, JOHNSON JR. The applicability of mouse models to the study of human disease[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1940: 3-22.
- [7] SUN HT, WANG HD, DIAO YF, et al. Large retrospective study of artificial dura substitute in patients with traumatic brain injury undergo decompressive craniectomy[J]. *Brain Behav*, 2018, 8(5): e00907.
- [8] NAKANO T, YOSHIKAWA K, KUNIEDA T, et al. Treatment for infection of artificial dura mater using free fascia lata[J]. *J Craniofac Surg*, 2014, 25(4): 1252-1255.
- [9] 曹志威, 邵国, 张春阳. 硬脑膜对颅骨生长发育影响的研究现状[J]. *中华神经外科杂志*, 2022, 38(5): 537-540.
- [10] DUTTA S, SENGUPTA P. Men and mice: relating their ages[J]. *Life Sci*, 2016, 152: 244-248.

责任编辑:王荣兵