法医病理学 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003670

人类与非人类物种肋骨骨质参数与微观力学参数差异研究

吴文鑫[1]，邱　兴[2]，夏　冰[1]，肖朝伦[3]，丁林会[4]，李　曼[5]，汪家文[1]

（1.贵州医科大学法医学院，贵阳　550004；2.大连大学附属中山医院骨科，大连　116001；
3.贵州医科大学基础医学院人体解剖学教学实验中心，贵阳　550004；4.贵州中医药大学大学城医院，贵阳　550004；
5.遵义医科大学医学与科技学院，遵义　564600）

【摘　要】目的：检测不同物种肋骨骨质参数与微观力学参数并分析其差异，探索利用肋骨上述参数鉴别不同物种的可行性。**方法：**提取人、猪、牛、羊、猴的左侧第四肋骨起始于肋软骨外约 1 cm、长 1 cm 肋骨，利用 Micro-CT 检测上述物种肋骨的皮质骨厚度、骨密度（bone mineral density，BMD）、骨小梁数量（trabecular number，Tb.N）、骨小梁厚度（trabecular thickness，Tb.Th）、组织体积（tissue volume，TV）、组织表面积（tissue surface，TS）、骨体积（bone volume，BV）、骨表面积（bone surface，BS）、BV/TV、BS/BV、BS/TV、骨小梁分离度（trabecular separation，Tb.SP）等骨质参数，利用纳米压痕技术检测经煮沸后的肋骨与新鲜肋骨骨皮质的压痕硬度（indentation hardness，HIT）、压缩模量（elastic modulus，EIT）并分析上述参数在不同物种间的差异。**结果：**骨质参数检测中，TV、TS、BS/TV、BS/BV、Tb.SP、Tb.N 6个参数能将人肋骨样本与猪、牛、羊、猴完全区分开来，而 BV 参数人肋骨样本只有与牛（P=0.001）、羊（P=0.001）差异有统计学意义；BS 参数人类样本只与牛肋骨样本差异无统计学意义（P=0.304）；BV/TV 参数人肋骨样本只与牛（P=0.025）、猴样本（P=0.002）差异有统计学意义；Tb.Th 参数人只与牛（P=0.001）、猴样本（P=0.003）差异有统计学意义；BMD 参数只有人肋骨样本与猪有统计学意义（P=0.006）；肋骨骨皮质厚度除人与牛肋骨骨皮质差异无统计学意义外（P=0.579），与其余物种差异均有统计学意义。力学性能检测方面，煮沸组人肋骨 HIT 和 EIT 与猴肋骨（P=0.001）、与牛肋骨 HIT 差异具有统计学意义（P=0.001）外，与其余物种差异不具有统计学意义；新鲜组人肋骨除 HIT、EIT 与牛肋骨样本（P=0.999、P=0.997）以及与猴肋骨本的 HIT（P=0.092）差异无统计学意义以外，与其余样本差异均有统计学意义样。**结论：**利用 Micro-CT 骨质参数检测及纳米压痕力学性能检测均可鉴别人、猪、猴、牛、羊不同物种新鲜肋骨，对煮沸肋骨纳米压痕力学性能检测仅可区分人与其他动物肋骨。人与牛肋骨骨皮质厚度差异不明显，与猪、猴、羊的肋骨骨皮质厚度差异明显。

【关键词】法医人类学；生物力学；种属鉴定；纳米压痕；Micro-CT

【中图分类号】R89　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2024-06-24

Study on the difference of bone parameters and micromechanical parameters of ribs between human and non-human species

Wu Wenxin[1], Qiu Xing[2], Xia Bing[1], Xiao Chaollun[3], Ding Linhui[4], Li Man[5], Wang Jiawen[1]

(1. School of Forensic Medicine, Guizhou Medical University; 2. Department of Orthopedics, Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University; 3. Human Anatomy Teaching and Experimental Center, college of Basic Medical Science, Guizhou Medical University; 4. University Town Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine; 5. School of Medicine and Science and Technology, Zunyi Medical University)

【Abstract】*Objective*: To measure and compare the bone parameters and micromechanical parameters of ribs from different species, and to investigate the feasibility of these parameters in identifying different species. ***Methods*:** The left fourth rib of humans, pigs, cattle, sheep, and monkeys was extracted, starting from about 1 cm outside the costal cartilage, with a length of 1 cm, and Micro-CT was used to measure the bone parameters of the ribs, including cortical bone thickness, bone mineral density (BMD), trabecular number (Tb.N), trabecular thickness (Tb.Th), tissue volume (TV), tissue surface (TS), bone volume (BV), bone surface (BS), BV/TV ratio, BS/BV ratio, BS/TV ratio, and trabecular separation (Tb.SP). The nano-indentation technique was used to measure the indentation hardness (HIT) and elastic modulus (EIT) of the cortex of boiled ribs and fresh ribs, and these parameters were compared between

作者介绍：吴文鑫，Email：wwwxzj210723@outlook.com，研究方向：法医学。

通信作者：汪家文，Email：wjwwfs@126.com。

基金项目：贵州省科技支撑资助项目（编号：黔科合[2022]一般280）。

优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241226.1541.008（2024-12-27）

different species. ***Results***: Among the bone parameters, the six parameters of TV, TS, BS/TV rate, BS/BV ratio, Tb.SP, and Tb.N could completely distinguish the human rib samples from the rib samples of pigs, cattle, sheep, and monkeys, whereas there was a significant difference in BV between the human rib samples and the rib samples of cattle (P=0.001) and sheep (P=0.001). There was a significant difference in BS between the human rib samples and the cattle rib samples (P=0.304), and there was a significant difference in BV/TV ratio between the human rib samples and the rib samples of cattle (P=0.025) and monkeys (P=0.002). There was a significant difference in Tb.Th between the human rib samples and the rib samples of cattle (P=0.001) and monkeys (P=0.003), and there was a significant difference in BMD between the human rib samples and the pig rib samples (P=0.006). There was a significant difference in cortical bone thickness between the human rib samples and the rib samples from all the other species except the cattle (P=0.579). As for mechanical properties, there were significant differences in HIT and EIT between the human rib samples and the monkey rib samples in the boiled group (P=0.001), and there was a significant difference in HIT between the human rib samples and the cattle rib samples (P=0.001), but with no significant differences between the human rib samples and the rib samples from the other species; in the fresh group, there were no significant differences in HIT and EIT between the human rib samples and the cattle rib samples (P=0.999 and 0.997), and there was also no significant difference in HIT between the human rib samples and the monkey rib samples (P=0.092); however, there were significant differences between the human rib samples and the rib samples from the other species. ***Conclusion***: The Micro-CT bone parameter testing and the nano-indentation mechanical performance testing can distinguish the fresh ribs of different species such as humans, pigs, monkeys, cattle, and sheep, and the nano-indentation mechanical performance testing of boiled ribs can only distinguish human ribs from the ribs of other animals. There is no significant difference in rib cortical thickness between humans and cattle, but there is a significant difference in rib cortical thickness between human ribs and the ribs from pigs, monkeys, and sheep.

【Key words】forensic anthropology; biomechanics; species identification; nano-indentation; Micro-CT

骨骼的坚固性使得其即使在恶劣的环境中也能够长时间保存[1]，因此法医工作者在鉴定实践中常用骨骼来进行人类残骸个体识别。通过肉眼观察骨骼的形态学差异以及显微镜下观察骨骼的微观结构形态学差异来鉴别骨骼种属的技术已经较为成熟，但是骨骼如果被破坏（如腐败、高温、破碎、腐蚀等），其识别特征常不明显[2-3]。此外，由于野外骨骼降解等因素导致骨骼残缺不全、不同物种之间骨骼的局部相似性以及同一物种骨骼的多样性，为骨骼的物种识别带来了较大的挑战[4]。

几十年来，研究者们已经开发了许多方法用于骨骼的种属鉴定，如组织化学法、X 射线衍射分析法、DNA 分析法、傅里叶变换红外光谱法（fourier transform infrared spectroscopy，FT-IR）及拉曼光谱法等[2,5-11]。其中，DNA 分析法是区别样本种属来源较为准确及常用的方法[2]。由于骨骼中骨矿物质过度矿化和相对于软组织而言细胞数量较少，有时候提取骨骼 DNA 仍然具有较大挑战性，检材的局限性可影响后续的遗传分析。尤其在实际检案中，在只有已被严重破坏的骨骼碎片作为检材时，这些片段可能已经只剩下很少或完全降解的 DNA。若得到错误的 DNA 分型，会将人类骨骼遗骸误认为是非人类或将非人类骨骼误认为是人类，给案件定性及侦破带来干扰[12]。基于以上检测方法的困难及局限性，亟须一些新的手段和方法进行骨骼种属鉴定。

显微 CT（Micro-CT）与临床 CT 一样，都是通过 X 射线显示骨骼的成像方法。区别在于 Micro-CT 以更小的视野结合高分辨率探测器，能够获得骨骼微纳观级别成像，可以更加高效、准确地分析骨皮质及骨松质的结构，比如 BMD、Tb.N、Tb.SP、Tb.Th 等[13-14]。Micro-CT 基于其快速且无损检测骨质参数的优点，在骨骼研究方面是一种重要的检测手段[15-16]。

纳米压痕技术作为一种测试材料微观力学性能的技术，可用于检测生物材料的塑性和弹性性能，如压痕弹性模量（EIT，GPa）、压痕硬度（HIT，MPa）等。纳米压痕法可以精确地测量与压痕深度相关的多个材料特征参数，如压痕硬度及弹性模量。当压头按预定的加载曲线压入被测物，达到设定的最大力值时停止压入，然后以可控的方式进行卸载。在加载和卸载过程中记录压入深度，通过施加的载荷、压头的形状和压痕深度就可以计算出各

种性能参数[17-18]。

因此基于Micro-CT和纳米压痕技术在骨骼检测上的优势，本研究拟检测人、猪、牛、羊、猴5种物种肋骨的骨质参数及生物力学参数，探讨利用以上2种检测法进行骨骼种属鉴定的可行性，为法医实践中遇到的复杂来源骨骼鉴定提供新方法和新思路。

1 材料与方法

1.1 样本准备

人肋骨样本来源于贵州医科大学解剖实验室所接收的捐赠样本。猕猴肋骨标本由合作单位中国科学院昆明动物研究所提供（伦理审查编号IACUC-PE-2023-07-002），其余动物肋骨由贵州医科大学实验动物中心提供。物种样本纳入标准：人类样本：死因与骨骼不相关；非人类样本：物种来源一致；避免因年龄带来的骨骼发育误差，所有物种年龄均限定于：人类样本成年阶段：18～60周岁，男性；猪、牛、羊、猴骨样本：均为性成熟期，性别为雄性（伦理审查编号2100880）。物种样本排除标准：人类样本：CT扫描排除肋骨损伤、肋骨疾病、高腐尸体、骨质疏松等；非人类样本：肋骨损伤、肋骨疾病、物种来源不一致。本研究经贵州医科大学伦理委员会批准（伦理审查编号2021伦审第66号）。

人、猪、牛、羊、猴肋骨组织用蘸有生理盐水的湿纱布包裹，放置于-20 ℃冰箱中冷冻保存，标本制备时常温解冻。

1.2 Micro-CT检测

取人、猪、牛、羊、猕猴第四肋骨，于近肋软骨约1 cm处用手工锯横向截取长1 cm的肋骨组织样本，仔细剔除肋骨周围附着软组织。Micro-CT检测总样本量25个，每组纳入统计量5个。利用Micro-CT对上述人与动物肋骨进行扫描。扫描参数设置为射线管电流159 μA，扫描分辨率54.6 μm，曝光时间600 ms，扫描角度180°。扫描前利用标准体进行标定以获得骨密度校准值。取骨骼内扫描区域大小100层为感兴趣体积区域（volume of interesting，VOI），再次选取骨骼的感兴趣区域（region of interesting，ROI）设定灰度阈值后，手动描绘骨小梁和骨皮质区域，测量并计算骨密度、骨小梁厚度、骨小梁数量、骨体积分数等参数[19]。每组单个物种的Micro-CT扫描为无损检测，肋骨扫描完成后继续于-20 ℃下保持冷冻以备后续进行力学实验。

1.3 肋骨骨皮质厚度检测

为了比较人肋骨骨皮质厚度与其余物种是否存在差异，利用智能化图像计算法检测不同物种的肋骨平均骨皮质厚度。将Micro-CT输出的二维图像利用Image-Pro Plus6.0（IPP）软件手动描绘不同物种肋骨骨皮质外缘T1、内缘T2，测量并计算T1-T2的平均厚度CT1，测量平均厚度选取方法按照时钟的12个方向测量，总样本量60个，每组纳入统计量12个，软件描边尽可能细致不留空白以猴肋骨为例（图1）。

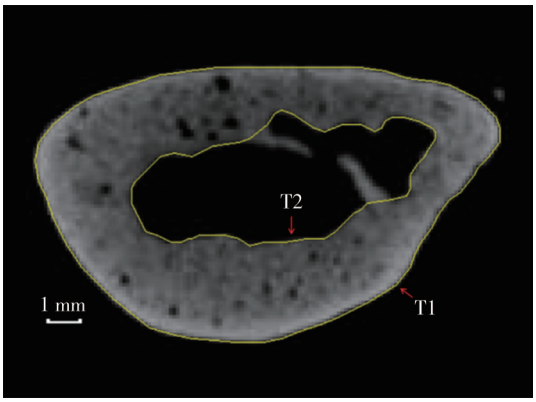


图1 肋骨骨皮质厚度测量图示（猴）

1.4 纳米压痕检测

分组：每个物种共收集9根肋骨（左侧第四肋），将各物种肋骨随机分为煮沸组与新鲜组，煮沸组与新鲜组各截取1 cm长肋骨，各9个样本用于纳米压痕检测。样本总统计量90个，每组纳入统计量45个，每个物种样本纳入统计量9个。①煮沸组：模拟实际案例中将骨骼煮沸以破坏遗骸的处理方法，将Micro-CT扫描后的各肋骨样本用高压锅分别煮沸2 h，相对压力达到80 kPa，每组设置的压力值一致。冷却后-20 ℃保存备用。②新鲜组：将各物种新鲜的第四肋骨仔细剔除肋骨周围附着软组织，-20℃保存备用。

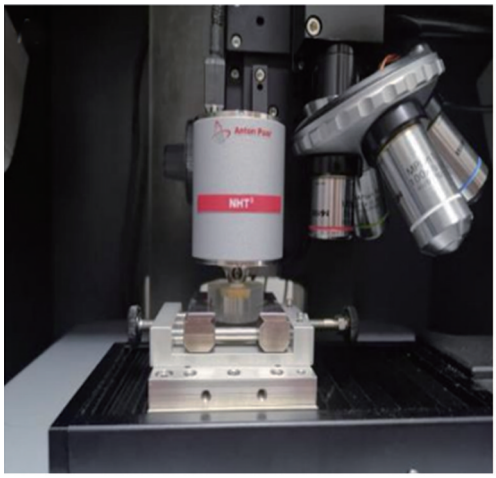
样本制备：将环氧树脂与增韧固化剂按100∶40的质量比均匀混合，倒入内径为30 mm的圆柱形软硅胶模具中。将上述2种处理方法得到的样本置于制备好的凝胶中，样本检测面朝下，在室温条件下降温直至样本完全被固化。依次使用低目到高目金相砂纸（目数分别为800、1 200、1 500、2 000、4 000）在金相样品抛光机（MPD-1）上以500 r/min的转速进行研磨抛光，直至样品表面无明显划痕。将所制备样本置于NHT3纳米压痕测试仪上，按所设定实验压入位置使用三棱锥压头进行物力学检测（图2A）。

参数设置：最大力N=20 mN，加载速度V=40 mN/min，保载时间T=10 s，卸载速度V=40 mN/min，每个样打9个纳米压痕点，点间距离为40 μm（图2B）。试验过程中，计算机检测软件自动输出载荷和接触面积，计算压缩压痕硬度和弹性模量。本研究采用Oliver WC和Pharr GM[20]提出的方法获取弹性模量（假设v=0.3泊松比）。

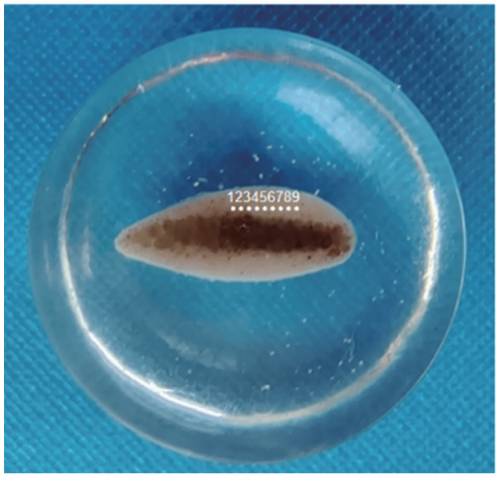
1.5 统计学方法

所有统计计算均采用IBM SPSS statistics 26统计软件进行。使用Shapiro-Wilk检验评估数据分布的正态性，对服从正态分布者，以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）描述，采用单因素分析检验比较组间差异，利用最小显著差异法（Least Significant-Difference，LSD）进行两两比较；若不服从正态分布，以中位数（上下四分位数）即[$M_d(P_{25},P_{75})$]表示，采用非参数秩和检验

（Wilcoxon检验）比较组内和组间差异。检验标准α=0.05。



A. 实景图



B. 选点点位图

图2　肋骨纳米压痕测量图示

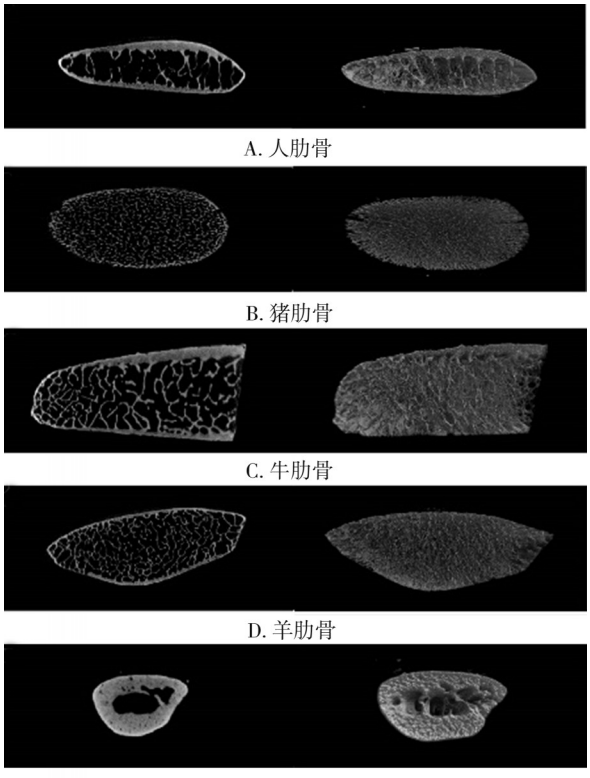
2　结　果

2.1　Micro-CT检测

利用Micro-CT扫描了人、猪、牛、羊、猕猴肋骨，检测分析了BMD、Tb.N、Tb.Th等骨质参数，结果显示人样本与其余不同物种肋骨形态及骨质参数差异明显（图3、4）。各物种肋骨矢状面Micro-CT扫描如图3所示，牛肋骨样本因过宽不符合Micro-CT扫描条件，利用手工锯将其一分为二进行扫描。根据矢状面扫描及三维重建结构来看，猪与羊肋骨样本骨皮质较人与牛肋骨样本薄但骨小梁数量更密集，骨小梁分离度以及厚度更小；猴肋骨样本骨皮质最厚。

BMD表示骨组织矿物质含量的密度，其数值越大，代表骨骼压痕硬度越高[21]；TV、TS、BV、BS表示ROI中骨量的多少；BS/BV指单位骨体积的骨面积大小，与BS/TV及BV/TV均可以反映骨组织骨量的多少；骨皮质相较于骨小梁承受更多的力，其内在性质及孔隙度的变化影响骨骼强度；骨小梁是骨皮质在骨骼内部的延续，作为皮质骨和髓腔的连接，骨小梁在骨髓腔内呈现出疏松多孔的结构，类似于海绵状，其内填充骨髓，有研究表明，骨小梁的排列与应力相关，其连接而成的多孔网架结构，按应力曲线规律性排列，具有非均匀的各向异性，这种排列能增加骨强度[22-23]。Tb.N、Tb.Sp、Tb.Th均为评价骨小梁空间形态结构的重要指标，当发生骨组织合成小于骨组织吸收时，Tb.N、Tb.Th数值减小、Tb.Sp数值增加，提示可能存在骨质疏松，反之亦然[24]。本研究中Micro-CT骨质参数人类样本与猪样本无法用BV、BV/TV、Tb.Th 3个参数进行区分（P>0.05）；人类样本与牛样本无法用BS、BMD 2个参数进行鉴别（P>0.05）；人类样本与羊样本无法用BV/TV、BMD、Tb.Th 2个参数进行区分（P>0.05）；人类样本与猴样本无法用BV、BMD 2个参数进行区分（P>0.05）。剩余TV、TS、BS/TV、BS/BV、Tb.Sp、Tb.N 6个参数均可将人类样本与猪、牛、羊、猴样本区分（P<0.05）（图4）。

研究中测量了不同物种肋骨骨皮质平均厚度CT1，人肋骨骨皮质除了与牛肋骨骨皮质没有统计学差异外（P>0.05），与其余物种差异均有统计学意义（P<0.01）（图5）。



A. 人肋骨

B. 猪肋骨

C. 牛肋骨

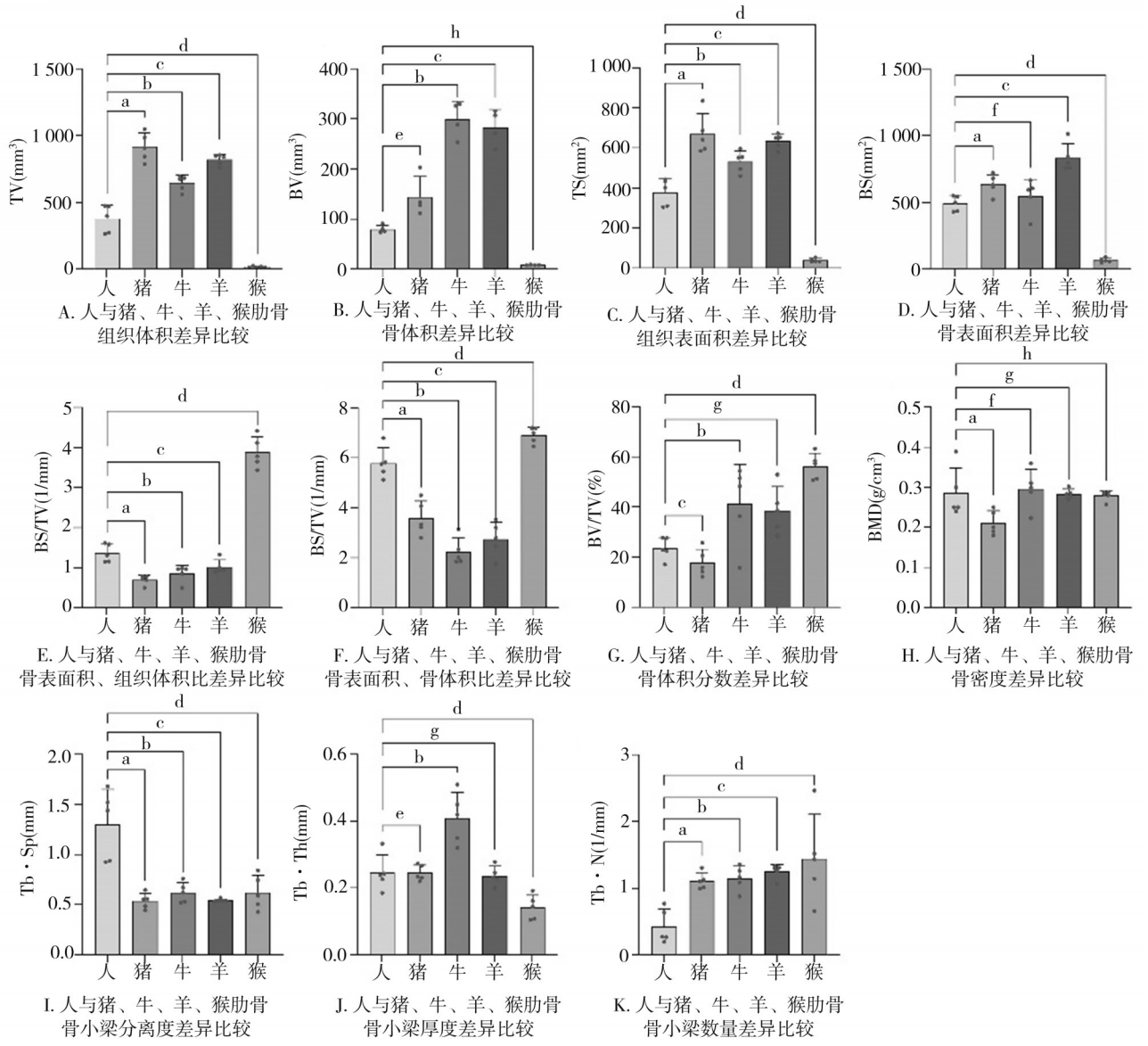
D. 羊肋骨

E. 猴肋骨

图3　肋骨扫描矢状面（左）及其三维重建图（右）

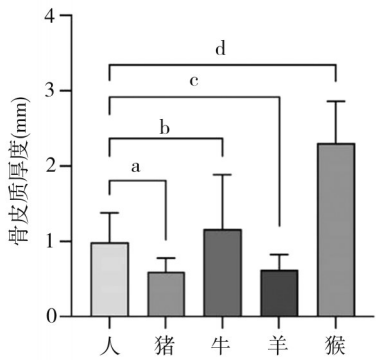
2.2　纳米压痕测试

煮沸组与新鲜组中人肋骨样本与猪、牛、羊、猴肋骨的HIT、EIT差异如图6所示。非人类物种肋骨间数据HIT和EIT两两差异如表1、2所示。图6中煮沸组与新鲜组各物种HIT与EIT差异明显：煮沸组中平均HIT最高的样本是人，最低的是牛；平均EIT最高的是猴，最低的是人肋骨；新鲜组中



注：a代表猪与人比较，$P<0.05$；b代表牛与人比较，$P<0.05$；c代表羊与人比较，$P<0.05$；d代表猴与人比较，$P<0.05$；e代表猪与人比较，$P>0.05$；f代表牛与人比较，$P>0.05$；g代表羊与人比较，$P>0.05$；h代表猴与人比较，$P>0.05$

图4　人与猪、牛、羊、猴肋骨骨质参数差异比较统计图



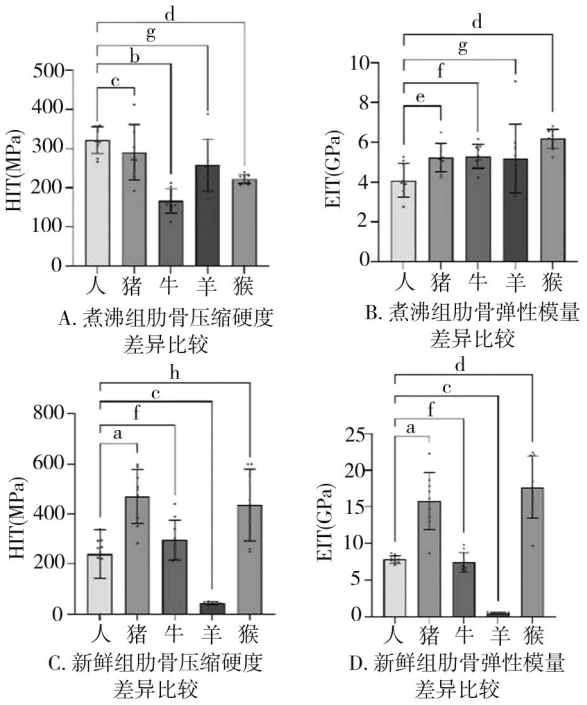
注：a，猪与人比较，$P<0.05$；b，牛与人比较，$P>0.05$；c，羊与人比较，$P<0.05$；d，猴与人比较，$P<0.05$

图5　人与猪、牛、羊、猴肋骨骨皮质厚度比较差异统计图

HIT最高的样本是猪，最低的是羊；平均EIT最高的是猴，最低的是羊。

煮沸组：人类样本与其余物种间HIT和EIT统计分析如图6A及B所示，HIT参数人类肋骨样本与牛、猕猴肋骨样本差异有统计学意义（$P<0.05$），与猪、羊肋骨样本差异无统计学意义（$P>0.05$）；EIT参数人肋骨样本只与猴肋骨样本差异有统计学意义（$P<0.05$），与其余物种肋骨样本差异无统计学意义（$P>0.05$）。

新鲜组：在新鲜组样本中，各物种间HIT和EIT统计分析见图6C及D所示，在HIT与EIT参数中人肋骨样本除与牛肋骨样本差异无统计学意义（$P>0.05$）以及HIT人肋骨样本与猴肋骨样本差异无统计学意义（$P>0.05$）外，与其余样本差异均有统计学意义（$P<0.05$）。



注：a代表猪与人比较，$P<0.05$；b代表牛与人比较，$P<0.05$；c代表羊与人比较，$P<0.05$；d代表猴与人比较，$P<0.05$；e代表猪与人比较，$P>0.05$；f代表牛与人比较，$P>0.05$；g代表羊与人比较，$P>0.05$；h代表猴与人比较，$P>0.05$

图6　人与其余物种肋骨纳米压痕HIT及EIT单因素方差分析统计图

表1　煮沸组中非人类肋骨HIT及EIT差异性两两比较

分组	比较组	HIT（MPa）		EIT（GPa）	
		MD	*P* 值	MD	*P* 值
	牛	124.05[a]	0.005	−0.07	0.842
猪	羊	32.60	0.981	0.52	0.153
	猴	68.12	0.184	−0.95[b]	0.010
牛	羊	−91.45[c]	0.029	0.59	0.106
	猴	−55.92[d]	0.005	−0.88[e]	0.016
羊	猴	35.53	0.796	−1.47[f]	<0.001

注：a，猪与牛的HIT比较，$P<0.05$；b，猪与猴的EIT比较，$P<0.05$；c，牛与羊的HIT比较，$P<0.05$；d，牛与猴的HIT比较，$P<0.05$；e，牛与猴的EIT比较，$P<0.05$；f，羊与猴的HIT比较，$P<0.05$

表2　新鲜组中非人类肋骨HIT及EIT差异性两两比较

分组	组	HIT（MPa）		EIT（GPa）	
		MD	*P* 值	MD	*P* 值
猪	牛	174.06[a]	0.015	8.32[b]	0.001
	羊	427.37[c]	<0.001	15.25[d]	<0.001
	猴	34.18	1.000	−1.90	0.983
牛	羊	253.31[e]	<0.001	6.93[f]	<0.001
	猴	−139.88	0.219	−10.23[g]	<0.001
羊	猴	−393.19[h]	<0.001	−17.15[i]	<0.001

注：a，猪与牛的HIT比较，$P<0.05$；b，猪与牛的EIT比较，$P<0.05$；c，猪与羊的HIT比较，$P<0.05$；d，猪与羊的EIT比较，$P<0.05$；e，牛与羊的HIT比较，$P<0.05$；f，牛与羊的EIT比较，$P<0.05$；g，牛与猴的EIT比较，$P<0.05$；h，羊与猴的HIT比较，$P<0.05$；i，羊与猴的EIT比较，$P<0.05$

如表1、2所示，煮沸组和新鲜组2组间HIT与EIT参数的非人类物种之间的多重比较，煮沸组中猪肋骨样本HIT与牛肋骨样本差异有统计学意义（$P=0.005$）；与猴肋骨样本EIT差异有统计学意义（$P=0.010$）。牛肋骨样本除与猪样本EIT差异无统计学差异外（$P=0.842$），与羊肋骨样本EIT差异无统计学意义（$P=0.106$）。羊肋骨样本只与牛肋骨样本的HIT（$P=0.029$）和猴肋骨样本的EIT差异有统计学意义（$P<0.001$）。而在新鲜组中，只有猴肋骨样本和猪肋骨样本2个指标差异无统计学意义（HIT $P=0.100$；EIT $P=0.983$）以及与牛肋骨样本HIT（$P=0.219$）外，其余非人类物种间差异均有统计学意义。

3　讨　论

骨骼主要由有机物、无机矿物质和水组成，有机物主要由构成基质结构的I型胶原蛋白组成，无机矿物质主要由钙、磷离子为主，其存在形式主要为羟基磷灰石结晶，呈细针状，与胶原纤维长轴紧密结合[11]。这3种成分结合在一起，形成了骨骼独特的化学、材料和机械特性。随着肋骨作为胸廓的组成成分之一，既有保护心脏、肺脏、肝脏等器官的功能，也对呼吸起着支持的作用。且单一个体肋骨数量较多、不同物种间肋骨的形态相似度较高，肉眼区分有时难度较大，因此本研究选用肋骨作为研究对象。研究中所选择的猪、牛、羊3个物种是在生活中最常见的牲畜，作为重要的营养价值和经济价值来源，全世界饲养超过数十亿头，这也导致其骨骼处理时会造成混乱；猕猴作为灵长目动物，因其与人类极为相像的生理特性，在骨骼种属鉴定时也会带来困难。本研究所选择的物种经常在法医人类学鉴定中遇到并进行过专业分析[25-26]。家牛动物的祖先早在大约8 000年前被驯化后就作为农业生产、交通运输等重要来源，因其强壮高大的体型可使其体重达几百公斤。山羊种在肉用价值、奶制品以及纺织业中也占有重要角色。猪科动物由野猪驯化培育而来，中国作为饲养家猪最多的国家，其肉用价值超过其他牲畜，因此疾病防控成为重中之重。在优胜劣汰的自然法则和人类对其品种的选育下，牛、羊、猪逐渐成为日常生活常见的品种。目前人们关于牛、羊、猪的研究多着重于经济价值、品种培育、疾病防控等方面，研究骨骼进行种属鉴定的少见报道，尤其是骨骼微观骨质参数和力学性

能方面的差异研究。各物种的遗传表征、形态特征、生活习性、栖息环境、分布范围等各不相同，这也可能是导致了物种间骨骼微观骨质参数和力学性能差异的原因。

利用肉眼观察、组织学检查、DNA检测、免疫学检测及蛋白质组学等方法进行骨骼种属鉴定均存在一定的局限性，当骨组织发生腐败、降解、高温或是腐蚀后，会对骨骼的形态结构、理化性质等造成明显损害，导致检测结果存在误差，影响鉴定结论[27]。随着科技的进步，医学影像学及生物力学技术方法发展迅速。医学影像学中Micro-CT已得到了广泛使用，生物力学研究已深入到纳米级水平。上述方法能否应用于骨骼种属鉴定，目前少见相关文献报道。本研究检测不同物种肋骨的骨质参数、骨骼压痕硬度和压缩模量，探索利用上述2种方法进行骨骼种属鉴定的可行性，为骨骼种属鉴定提供新思路。

本研究发现，人、猪、猴、牛、羊不同物种的TV、TS、BV、BS、BS/TV、BS/BV、BV/TV、BMD、Tb.N、Tb.SP等骨质参数存在明显差异，人、猪、猴、牛、羊新鲜肋骨样本的HIT和EIT差异多具有统计学意义，上述发现为利用影像学及生物力学方法进行骨骼种属鉴定提供了实验参考依据。本研究同时发现，不同物种的煮沸组肋骨HIT及EIT差异多不明显，可能与高温对肋骨的力学结构或其组成成分造成影响，使不同物种肋骨的力学性能差异趋于一致有关。肋骨骨皮质厚度方面，除人与牛肋骨骨皮质厚度差异不明显外，与猪、羊、猴差异均具有统计学意义，提示肋骨骨皮质厚度也是较好的骨骼种属鉴定指标。

骨组织的组织矿物质含量与矿化程度与物种、生活习性、解剖部位、年龄、生长状态等息息相关，利用Micro-CT可以快速无损地检测骨质含量，测量时可通过筛选骨质参数达到较明显区分人类样本与其余物种的目的。纳米压痕在纳观级别检测骨质的压痕硬度及弹性模量，分析煮沸组中各样本之间数据较多无统计学意义，其原因可能与高温加热导致骨骼的物理性质发生不可逆性的改变有关[28]，有研究表明，随着温度的不断增高，当温度到达50 ℃时，骨细胞发生坏死，到达70 ℃时，骨组织内的蛋白质和酶发生降解，若在相同温度持续1 min时会对骨细胞结构及物理性质产生损伤[29-30]。而在新鲜组中，数据有统计学意义，因此纳米压痕可以较快检测出未经处理的新鲜骨骼是否来源于同一物种，比如实际案件中在特殊案发现场（屠宰场、肉贩摊、冷运车）内发现大量骨骼时，可以利用纳米力学的方法。但是针对发现的骨骼具体属于哪个物种，不得而知，这也是本实验的不足之处，后续可加大样本量进行大量计算，运用统计学的方法建立力学判别模型以供物种来源鉴定[4]。

然而，实际案例中的情况往往错综复杂，任何形式的外界因素都可能致骨骼的物理性质发生改变，针对各种方式处理后的骨骼样本进行种属鉴定难度较大。本研究结果有望为复杂条件下的骨骼种属鉴定提供新的思路。

4 结 语

利用Micro-CT骨质参数检测及纳米压痕力学性能参数检测均可鉴别人、猪、猴、牛、羊不同物种新鲜肋骨；对煮沸肋骨纳米压痕力学性能参数检测仅可区分人与其他动物肋骨。人肋骨虽与牛肋骨骨皮质厚度差异不明显，但与猪、猴、羊的肋骨骨皮质厚度差异明显。总之，本研究比较了人与4种非人类物种的肋骨微观骨质参数和纳米级力学性能参数的差异，探讨了利用以上2种检测方法进行物种种属鉴定的可行性及局限性，增加了微观水平不同物种骨骼鉴定的新方法及新思路。

参 考 文 献

[1] Delannoy Y, Colard T, Le Garff E, et al. Effects of the environment on bone mass: a human taphonomic study[J]. Leg Med, 2016, 20: 61-67.

[2] Grela M, Jakubczak A, Kowalczyk M, et al. Effectiveness of various methods of DNA isolation from bones and teeth of animals exposed to high temperature[J]. J Forensic Leg Med, 2021, 78: 102131.

[3] MacKinnon G. Forensic anthropology current methods and practice [J]. J Forensic Leg Med, 2014, 27: 87-88.

[4] Garvin HM, Dunn R, Sholts SB, et al. Forensic tools for species identification of skeletal remains: metrics, statistics, and OsteoID[J]. Biology, 2021, 11(1): 25.

[5] Chen XY, Lu LX, Xiong XH, et al. Development of a real-time PCR assay for the identification and quantification of bovine ingredient in processed meat products[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 2052.

[6] Keenan KE, Mears CS, Skedros JG. Utility of osteon circularity for

determining species and interpreting load history in Primates and nonprimates[J]. Am J Phys Anthropol, 2017, 162(4): 657-681.

[7] Bailly M, Féasson L, Pereira B, et al. Two new reliable immunohistochemical methods for simultaneous identification of capillaries, the three types of fibers and basal lamina in human skeletal muscle[J]. Histochem Cell Biol, 2020, 154(3): 327-337.

[8] Sohrabi H, Cannizzo FT, Pregel P, et al. Tissue and species identification in minced meat and meat products from Italian commercial markets by DNA microarray and histological approach[J]. Vet Ital, 2020, 56(2): 77-85.

[9] Stan E, Muresan CO, Daescu E, et al. A review of histological techniques for differentiating human bone from animal bone[J]. Methods Protoc, 2024, 7(4): 51.

[10] Taniguchi K, Miyaguchi H. COL1A2 barcoding: bone species identification via shotgun proteomics[J]. J Proteome Res, 2024, 23(1): 377-385.

[11] Wang Q, Li W, Liu RN, et al. Human and non-human bone identification using FTIR spectroscopy[J]. Int J Legal Med, 2019, 133(1): 269-276.

[12] Zhang JS, Li XB, Li LL, et al. Y-STR analysis of highly degraded DNA from skeletal remains over 70 years old[J]. Forensic Sci Res, 2024, 9(2): owae020.

[13] Akhter MP, Recker RR. High resolution imaging in bone tissue research-review[J]. Bone, 2021, 143: 115620.

[14] Kim Y, Brodt MD, Tang SY, et al. MicroCT for scanning and analysis of mouse bones[J]. Methods Mol Biol, 2021, 2230: 169-198.

[15] 郑仁建，张一弓，邵华英，等. Micro-CT重建时分析区域变化对颅顶骨骨量参数的影响[J]. 重庆医科大学学报，2017，42(9)：1077-1081.

Zheng RJ, Zhang YG, Shao HY, et al. Influence of analysis region on parameters of mouse calvarial during micro-CT reconstruction[J]. J Chongqing Med Univ, 2017, 42(9): 1077-1081.

[16] Feng T, Ge YX, Xie YJ, et al. Detection of collagen by multi-wavelength photoacoustic analysis as a biomarker for bone health assessment[J]. Photoacoustics, 2021, 24: 100296.

[17] Remache D, Semaan M, Rossi JM, et al. Application of the *Johnson*-Cook plasticity model in the finite element simulations of the nanoindentation of the cortical bone[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2020, 101: 103426.

[18] Wang JW, Yu K, Li M, et al. Application of nanoindentation technology in testing the mechanical properties of skull materials[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 8717.

[19] 张玉凤，王 璐，辜向东，等. Mimics与Micro-CT内置软件测量小鼠颅骨缺损骨再生的对比研究[J]. 重庆医科大学学报，2015，40(2)：186-190.

Zhang YF, Wang L, Gu XD, et al. Evaluation on bone regeneration in mouse calvarial defect model using Mimics vs. Micro-CT scanner's built-in software[J]. J Chongqing Med Univ, 2015, 40(2): 186-190.

[20] Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments[J]. J Mater Res, 1992, 7(6): 1564-1583.

[21] Farlay D, Bala Y, Rizzo S, et al. Bone remodeling and bone matrix quality before and after menopause in healthy women[J]. Bone, 2019, 128: 115030.

[22] 张凌云，王 玲，刘有军，等. 基于显微磁共振成像和有限元分析的股骨近端微观力学行为研究[J]. 北京生物医学工程，2020，6(2)：111-116.

Zhang LY, Wang L, Liu YJ, et al. Study on micromechanical behavior of the proximal femur based on micro-magnetic resonance imaging and finite element analysis[J]. Beijing Biomed Eng, 2020, 6(2): 111-116.

[23] 张馨元，丁晓红，段朋云. 基于骨骼材料分布特征的髋关节有限元模型建立及其应力分析[J]. 北京生物医学工程，2020，39(5)：462-469.

Zhang XY, Ding XH, Duan PY. Hip joint finite element modeling and its stress analysis based on the distribution characteristics of bone materials[J]. Beijing Biomed Eng, 2020, 39(5): 462-469.

[24] Zhang FZ, Xie JL, Wang GL, et al. Anti-osteoporosis activity of Sanguinarine in preosteoblast MC3T3-E1 cells and an ovariectomized rat model[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(6): 4626-4633.

[25] France DL. Comparative Bone Identification[M]. Boca Raton: CRC Press, 2021.

[26] Pokines J. Identification of nonhuman remains received in a medical examiner setting. J Forensic Identif. 2015;65(3):223-246.

[27] Hasap L, Chotigeat W, Pradutkanchana J, et al. A novel, 4-h DNA extraction method for STR typing of casework bone samples[J]. Int J Legal Med, 2020, 134(2): 461-471.

[28] Lavanya K, Chandran SV, Balagangadharan K, et al. Temperature- and pH-responsive chitosan-based injectable hydrogels for bone tissue engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2020, 111: 110862.

[29] Eriksson AR, Albrektsson T, Albrektsson B. Heat caused by drilling cortical bone. Temperature measured *in vivo* in patients and animals [J]. Acta Orthop Scand, 1984, 55(6): 629-631.

[30] Yan J, Clifton KB, Mecholsky JJ Jr, et al. Effect of temperature on the fracture toughness of compact bone[J]. J Biomech, 2007, 40(7): 1641-1645.

（责任编辑：周一青）