

·基础研究·

运动对老年大鼠骨质疏松及骨髓间充质干细胞自噬的影响*

廖 阳^{1,2,3,4} 屈萌艰^{1,2,3} 孙光华^{1,2,3} 刘 静^{1,2,3} 杨 璐^{1,2,3} 王金玲^{1,2,3} 周 君^{1,2,3} 黄夏荣^{1,2,3,5}

摘要

目的:观察运动对老年大鼠骨髓间充质干细胞自噬及其骨微结构的影响。

方法:6只6月龄大鼠为青年组,饲养6月后取材;12只27月龄大鼠分为运动组、老年组,运动组大鼠给予运动跑台干预8周。干预结束后,ELISA检测血清骨代谢标志物NTX、PINP、BALP、TRCAP水平;双能X线骨密度仪检测骨密度;骨显微CT检测骨微结构;RT-PCR、Western Blot检测Beclin1、LC3-II、p62 mRNA及蛋白表达情况。

结果:与青年组相比,老年组血清骨形成标志物PINP、BALP水平均降低($P<0.01$),左侧股骨骨密度降低($P<0.01$),左侧胫骨骨小梁数量(Th.N)及骨小梁体积比(BV/TV)指标均降低($P<0.01$),骨髓间充质干细胞自噬体相关mRNA及其蛋白Beclin1、LC3-II、p62表达量均上升($P<0.01$);与老年组相比,运动组血清骨形成标志物PINP、BALP水平均升高($P<0.01$),右侧股骨骨密度(BMD)升高($P<0.01$),右侧胫骨骨小梁数量(Th.N)及骨小梁体积比(BV/TV)指标均升高($P<0.01$),骨髓间充质干细胞自噬体相关mRNA及其蛋白Beclin1、LC3-II表达水平均降低($P<0.01$),p62mRNA及其蛋白表达水平有上升趋势($P>0.05$)。

结论:通过运动提高骨髓间充质干细胞自噬水平,促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化,改善老年大鼠骨量、骨微结构,减轻骨质疏松症。

关键词 运动;骨质疏松;骨髓间充质干细胞;细胞自噬

中图分类号:R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2023)-01-0016-06

Effects of exercise on osteoporosis and bone marrow mesenchymal stem cell autophagy/LIAO Yang, QU Mengjian, SUN Guanghua, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2023, 38(1): 16—21

Abstract

Objective: To observe the effects of exercise on autophagy and bone microstructure of bone marrow mesenchymal stem cells in aged rats.

Method: Six rats aged 6 months were collected after 6 months of feeding. Twelve 27-month-old rats were divided into exercise group and elderly group. The rats in the exercise group were given exercise treadmill intervention for 8 weeks. After intervention, the levels of serum bone metabolism markers NTX, PINP, BALP and TRCAP were detected by ELISA. Bone mineral density was measured by Dual Energy X-ray. Bone Micro-CT was used to detect bone microstructure. The mRNA and protein expressions of Beclin1, LC3-II and p62 were detected by RT-PCR and Western Blot.

Result: Compared with the young group, the serum levels of bone formation markers PINP and BALP were lower in the elderly group ($P<0.01$), bone mineral density decreased in the left femur ($P<0.01$), the number of trabecular bone (Th.N) and the volume ratio of trabecular bone (BV/TV) of the left tibia decreased ($P<$

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2023.01.003

*基金项目:湖南省自然科学基金项目(2021JJ30616);湖南省卫健委项目(202103060198);南华大学校级重点项目(USCKF201902K02);衡阳市科技局项目(hkf201947220)

1 南华大学附属第一医院康复医学中心,湖南省衡阳市,421001;2 南华大学附属第一医院康复医学科;3 南华大学附属第一医院康复医学实验室;4 湖南师范大学体育学院体能与运动康复湖南省重点实验室;5 通讯作者

第一作者简介:廖阳,男,初级治疗师;收稿日期:2022-03-24

0.01), the expressions of autophagosome related mRNA and its proteins Beclin1, LC3-Ⅱ, p62 increased in bone marrow mesenchymal stem cells ($P<0.01$). Compared with the elderly group, the serum levels of bone formation markers PINP and BALP ($P<0.01$), bone mineral density of right femur ($P<0.01$), the number of trabecular bone (Th.N) and the volume ratio of trabecular bone (BV/TV) of the right tibia increased in the exercise group ($P<0.01$), the expression levels of autophagosome related mRNA and its proteins Beclin1 and LC3-Ⅱ were decreased in bone marrow mesenchymal stem cells ($P<0.01$), the expression levels of p62mRNA and protein showed an upward trend ($P>0.05$).

Conclusion: Exercise can improve the autophagy level of bone marrow mesenchymal stem cells, promote the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into osteoblasts, improve bone mass and bone micro-structure of elderly rats, and alleviate osteoporosis.

Author's address The First Affiliated Hospital of University South China, Hengyang, Hunan, 421001

Key word training; osteoporosis; bone marrow mesenchymal stem cells; cell autophagy

随着中国社会人口结构老年化,老年骨质疏松的发病率逐年增加。据2016年研究报告表明,60岁以上的老年人当中,有60%的老年人患有骨质疏松,其中男性患病率为23%,女性患病率为49%^[1]。老年骨质疏松症导致的骨折,不仅造成老年人活动受限、降低生活质量,还会增加其心理压力和社会负担^[2]。骨质疏松是由于成骨细胞和破骨细胞之间的代谢失去平衡所导致的,骨髓间充质干细胞受到各种因素影响,可以向成骨细胞、成脂细胞、软骨细胞分化^[3-4]。运动可以激活多种信号通路,例如:Wnt/ β -catenin通路、MAPK通路、Notch通路和Hedgehog通路等,促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化^[5-8]。细胞自噬是一种高度保守的分解代谢过程,衰老的骨髓间充质干细胞受到氧化应激时,可以促进其自噬细胞,加快向成骨细胞分化^[9]。本文主要观察运动对老年大鼠骨髓间充质干细胞自噬的影响,进一步分析间充质干细胞自噬对骨微结构改变及骨量的变化,为运动防治老年骨质疏松症提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

随机选取6只6月龄雄性SD大鼠作为青年对照组;12只27月龄雄性SD大鼠随机分为老年组和运动组,每组6只。由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号:SCXK(湘)2019-0004。所有实验大鼠饲养于湖南省衡阳市南华大学动物实验部,清洁级,温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度 $55\%\pm 5\%$,光照时间(8:00—20:00),自由摄食及饮水。实验动物的饲养及处理均遵照中华人民共和国科技部2006年颁布

的《关于善待实验动物的指导性意见》,符合伦理学规定。

1.2 主要试剂与仪器

KW-PT小动物跑步机(南京卡尔文生物科技有限公司)、Osteocore3 Digital 2D双能X线骨密度仪、骨显微CT、台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,H1650R)、全自动酶标洗板机(深圳市汇松科技发展有限公司,PW-812)、多功能酶标分析仪(深圳市汇松科技发展有限公司,MB-530)、电热恒温培养箱(北京市永光明医疗仪器有限公司,DHP-500)、荧光定量RCP仪(美国Thermo,SPL0960)。

1.3 运动方案

运动组的大鼠进行为期8周的跑台训练,每周干预5天。第1周前3天进行适应性的跑台训练,强度为:0m/min,坡度为:0 $^{\circ}$,持续时间为5min/d;随后将跑台的强度调节为:10m/min,坡度为:0 $^{\circ}$,持续时间为5min/d。2天之后开始常规的跑台训练。随后2周运动强度为:12—20m/min,坡度为:10 $^{\circ}$,持续10min/d。之后的3周,运动强度为:12—20m/min,坡度为:10 $^{\circ}$,持续时间为40min/d。最后2周的运动强度为:12—20m/min,坡度为:10 $^{\circ}$,持续时间为60min/d。

1.4 血清骨代谢标志物ELISA检测

取大鼠眼眶血放置后于2—8 $^{\circ}\text{C}$ 下,以4000r/min离心15min,取上清液做酶联免疫分析法ELISA,将样本滴入样本孔中,然后加入配比为1:100的辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育60min;洗板机洗板后,加入检测液,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育

15min;最后在450nm波长处测定各孔的OD值。检测血清I型胶原交联氨基末端肽(Type I collagen aminoterminal peptide, NXT)、I型前胶原氨基末端肽(Type I procollagen amino-terminal peptide, PINP)、骨源性碱性磷酸酶(bone specific alkaline phosphatase, BALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRACP)水平。

1.5 骨密度检测

取出存放在-80℃冰箱的大鼠右侧股骨和第5腰椎标本,放置在室温下(20±3)℃解冻。随后放置Osteocore3 Digital 2D双能X线骨密度仪检测骨密度。

1.6 骨显微CT检测

将右侧胫骨放置于4%PFA溶液当中浸润24h,然后存放于乙醇浓度为70%的溶液当中,在4℃冰箱当中保存。每组取6只4%PFA溶液浸泡的右侧胫骨组织,摆放在骨显微CT下扫描,检测大鼠右侧胫骨骨小梁相对体积比(BV/TV,%)、骨小梁厚度(Tb.Th,mm)、骨小梁数量(Tb.N,mm)、骨小梁间距(Tb.Sp,mm)。

1.7 RT-PCR检测

取0.02g左侧股骨组织,在EP管内加入Trizol试剂,提取RNA。通过酶标仪检测RNA纯度和浓度之后,按照反转录试剂盒的要求将RNA反转录为cDNA。检测样本中与骨髓间充质干细胞自噬相关的基因Beclin1、LC3-II、p62。引物信息表如下,见表1。

1.8 Western Blot检测

取0.02g的左侧股骨组织,分离出蛋白30μl,在10%SDS-PAGE溶液中电泳;转印至NC膜,PBST缓冲液冲洗浸泡,室温封存;加入一抗孵育试剂Beclin1多克隆抗体(1μg/ml)、LC3-II多克隆抗体(1:1000)、P62多克隆抗体(1:4000),4℃孵育过夜;加入辣根过氧化物标记酶(HRP)标记的山羊抗鼠抗体

(goat anti-mouse IgG),室温孵育90min,显色3min,凝胶X线成像曝光、显影冲洗、扫描后;采用Quantity One专业灰度分析软件进行分析检测蛋白灰度值与内参β-actin蛋白灰度值之比。

1.9 统计学分析

所有数据以均数±标准差表示,数据结果采用Kruskal-Wallis H检验进行统计。组间两两比较使用Bonferroni校正法。所有的统计学分析使用SPSS 26.0统计软件包。

2 结果

2.1 运动对血清骨代谢标志物的影响

结果显示,与青年组相比,老年组血清骨形成代谢标志物PINP、BALP均下降,血清骨吸收代谢标志物NTX、TRACP均上升,差异具有显著性意义($P<0.01$);与老年组相比,运动组血清骨形成代谢标志物PINP、BALP均上升,血清骨吸收代谢标志物NTX、TRACP均降低,差异具有显著性意义($P<0.01$),见表2。

2.2 各组大鼠骨密度比较

结果显示,与青年组相比,老年组右侧股骨及第5腰椎的骨密度均显著降低,差异具有显著性意义($P<0.01$);与老年组相比,运动组右侧股骨与第5腰椎的骨密度均显著上升,差异具有显著性意义($P<0.01$),见表3。

2.3 骨显微CT扫描及骨组织定量分析的情况

2.3.1 显微CT扫描:右侧胫骨显微CT扫描显示,

表2 各组大鼠血清骨代谢标志物比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	I型胶原交联氨基末端肽(NXT)(pg/ml)	I型前胶原氨基末端肽(PINP)(pg/ml)	骨源性碱性磷酸酶(BALP)(U/L)	抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)(mIU/ml)
青年组	162.65±9.80	12070.42±399.86	21.55±1.26	0.49±0.03
老年组	349.47±15.11 ^①	5029.73±273.83 ^①	9.81±0.47 ^①	1.09±0.06 ^①
运动组	268.32±9.74 ^②	9516.71±410.35 ^②	15.80±0.90 ^②	0.76±0.03 ^②

注:①与青年组相比较 $P<0.01$;②与老年组相比较 $P<0.01$ 。

表3 各组大鼠右侧股骨及第5腰椎骨密度BMD的比较 ($\bar{x}\pm s, n=6, g/cm^2$)

组别	右侧股骨骨密度	第5腰椎骨密度
青年组	0.35±0.02	0.22±0.01
老年组	0.28±0.01 ^①	0.12±0.02 ^①
运动组	0.32±0.01 ^②	0.15±0.01 ^②

注:①与青年组相比较 $P<0.01$;②与老年组相比较 $P<0.01$ 。

表1 RT-PCR引物序列

基因	引物序列	产物长度
Beclin1	上游 GTGGCGGCTCTATTCCATC	106bp
	下游 GACACCCAAGCAAGACCCCA	
LC3-II	上游 AACACAGCCACCTCTCGACC	125bp
	下游 ACACAACCCACACACGGCAG	
P62	上游 GCTCGACCCGTCCTTCACTCA	179bp
	下游 ACACAACCCACACACGGCAG	
β-actin	上游 ACATCCGTAAAGACCTCTATGCC	223bp
	下游 TACTCTGCTTGCTGATCCAC	

青年组大鼠的骨小梁排列结构规则且致密;与青年组相比,老年组大鼠骨小梁结构出现空腔且排列稀疏;与老年组相比,运动组大鼠骨小梁数量相对增多且排列致密,见图1。

2.3.2 骨组织定量分析:与青年组相比,老年组右侧胫骨骨小梁体积与组织体积比(BV/TV)、骨小梁数量(Tb.N)均降低,右侧胫骨骨小梁间距(Tb.Sp)上升,差异具有显著性意义($P<0.01$);与老年组相比,运动组右侧胫骨骨小梁体积与组织体积比(BV/TV)、骨小梁数量(Tb.N)均上升,右侧胫骨骨小梁间距(Tb.Sp)降低,差异具有显著性意义($P<0.01$),见表4。

2.4 各组大鼠骨髓间充质干细胞自噬标志物 Beclin1、LC3- II、p62 蛋白及 mRNA 表达情况

2.4.1 自噬标志物 Beclin1、LC3- II、p62 RT-PCR 结果:与青年组相比,老年组自噬标志物 Beclin1、LC3- II 和 p62 的 mRNA 表达水平均上升,差异具有显著性意义($P<0.01$);与老年组相比,运动组自噬标志物 Beclin1、LC3- II 和 p62 的 mRNA 表达水平均降低,差异具有显著性意义($P<0.01$),见表5。

2.4.2 自噬标志物 Beclin1、LC3- II、p62 Western Blot 结果:与青年组相比,老年组自噬标志物 Beclin1、LC3- II 和 p62 的蛋白表达水平均上升,差异具有显著性意义($P<0.01$);与老年组相比,运动组自噬标志物 Beclin1、LC3- II 的蛋白表达水平均降低,差异具有显著性意义($P<0.01$),运动组 p62 的蛋白表达水平具有降低趋势,但无显著性意义($P>0.05$),见表6,图2。

3 讨论

近十年来我国老年骨质疏松的患病人数逐年上升,形势较为严峻^[10]。预计到2025年,中国老年人

图1 各组大鼠右侧胫骨骨密度骨显微CT比较

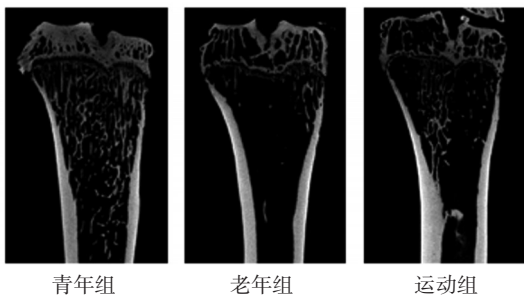


表4 各组大鼠右侧胫骨骨组织定量分析指标比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	骨小梁体积比 (BV/TV) (%)	骨小梁厚度 (Tb.Th) (mm)	骨小梁数目 (Tb.N) (1/mm)	骨小梁间距 (Tb.Sp) (mm)
青年组	23.05±1.76	0.08±0.01	2.79±0.20	0.30±0.03
老年组	9.57±0.68 ^①	0.09±0.01	1.13±0.06 ^①	0.77±0.05 ^①
运动组	18.60±2.33 ^②	0.09±0.01	2.08±0.20 ^②	0.38±0.05 ^②

注:①与青年组相比较 $P<0.01$;②与老年组相比较 $P<0.01$ 。

表5 各组大鼠骨髓间充质干细胞自噬标志物 RT-PCR 结果比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	Beclin1	LC3- II	p62
青年组	1.29±0.49	1.03±0.32	0.91±0.43
老年组	6.11±1.15 ^①	4.40±0.93 ^①	6.13±1.24 ^①
运动组	3.54±1.92 ^②	2.40±0.46 ^②	2.96±0.90 ^②

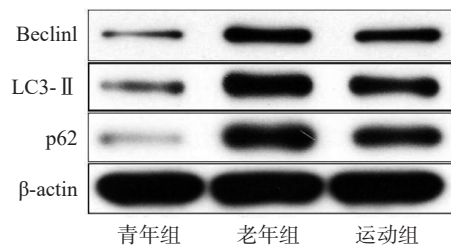
注:①与青年组相比较 $P<0.01$;②与老年组相比较 $P<0.01$ 。

表6 各组大鼠骨髓间充质干细胞自噬标志物 Western Blot 结果比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	Beclin1	LC3- II	p62
青年组	0.13±0.01	0.13±0.03	0.13±0.03
老年组	0.34±0.02 ^①	0.42±0.04 ^①	0.42±0.04 ^①
运动组	0.23±0.01 ^②	0.26±0.03 ^②	0.30±0.05

注:①与青年组相比较 $P<0.01$;②与老年组相比较 $P<0.01$ 。

图2 各组大鼠骨髓间充质干细胞自噬标志物 Western Blot 结果



口数将达到3亿,老年骨质疏松及其继发的骨折将对我国的医疗和经济带来重担^[11]。随着人口老龄化,老年骨质疏松俨然成为影响老年生活质量的一个重要因素^[12-13]。健康教育、良好的生活习惯与多重手段干预,将减少老年骨质疏松的发生^[14-15]。当前,运动对于老年骨质疏松的防治具有重要作用^[16]。运动具有多样性、有效性、经济性,已在老年骨质疏松防治当中,引起广泛关注。但是对于运动如何影响老年骨质疏松的具体机制尚未清楚^[17-18]。本次研究通过构建老年骨质疏松模型,探讨运动对老年大鼠骨髓间充质干细胞自噬的影响及其骨组织微观结构的改变。

老年骨质疏松发生的主要原因是由于各种因素导致骨髓间充质干细胞衰老,引起该细胞向成骨细胞分化能力减弱,最终出现骨形成与骨吸收失衡,引发骨质疏松^[19-20]。骨髓间充质干细胞是一种多功能分化干细胞,可分化为成骨细胞和成脂细胞。目前影响骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞的因素有4种:转录因子(Runx2、Osterix),信号通路(BMP signaling、Wnt/ β -catenin signaling), mRNA 和运动^[21-22];其中运动是通过机械应力作用于骨细胞,激活相应的信号通路,促进骨髓间充质干细胞分化和骨形成,具体机制尚未明确^[5,23]。研究表明,长时间、中等强度的运动,能够促进骨保护素(OPG)分泌增加,OPG与核因子 κ -B配体受体激活剂(RANKL)结合抑制破骨细胞分化成熟,减少骨吸收^[24]。Chen X等^[25]发现中等强度、长时间运动能够抑制骨髓间充质干细胞向成脂细胞分化。

有研究采用17月龄大鼠^[26],也有学者采用20月龄大鼠建立老年骨质疏松模型^[27],本研究使用27月龄大鼠作为研究对象,通过骨显微CT及骨密度检测,视为建模成功。

血清骨代谢标志物ELISA检测是骨髓间充质干细胞的代谢检测的重要方法,骨代谢标志物PINP、BALP是成骨细胞代谢标志物,NTX、TRACP是破骨细胞代谢标志物,也是检测骨吸收和骨形成的敏感性指标^[28-29];该指标是作为预测骨质流失和骨折风险的参考数据^[30]。有研究发现老年骨质疏松导致的髌部骨折发生风险与骨吸收代谢标志物升高呈相关性。参加运动的老年男性,发现其骨吸收代谢标志物降低、骨密度增加^[31-32]。本次实验采用老年大鼠血清样本进行ELISA检测骨代谢标志物PINP、BALP、NTX、TRACP含量。与老年组相比,运动组骨形成血清骨代谢标志物PINP、BALP均上升,骨吸收血清骨代谢标志物NTX、TRACP均降低,该结果提示运动能够促进骨形成,抑制骨吸收。本实验与欧阳辉等研究结果一致^[33-34]。

为了降低老年大鼠的骨质丢失差异性,本次实验选取骨皮质较为丰富的右侧股骨及骨松质较为丰富的第5腰椎作为检测骨密度的样本,分别做骨密度检测。结果显示,与青年组相比,老年组大鼠右侧股骨及第5腰椎骨密度均降低,运动干预后的老年

大鼠右侧股骨及第5腰椎骨密度上升,右侧胫骨骨小梁构造较为致密且空腔减少,表明通过运动能够改善老年大鼠骨质疏松状况并且改变骨的微观构造。前期研究发现,运动干预能够增加骨小梁的数目及骨组织之间的间隙,缓解骨质疏松状况^[35-36]。

细胞自噬是在各种应激条件诱导下的高度保守分解代谢过程,在能量或营养不足的情况下防止细胞损伤,并对各种细胞毒性损伤做出反应^[37]。细胞自噬的过程是由自噬启动、内膜延伸、自噬体成熟及自噬-溶酶体降解构成^[38];在饥饿或者氧化应激、内质网应激状态下,ULK1复合体(Unc-51样激酶1)和由Beclin1与PI3K(磷脂酰肌醇3-磷酸)构成的复合体使得自噬体膜扩张,其中Beclin1将LC3-I(微管相关蛋白轻链1)加工修饰成LC3-II(微管相关蛋白轻链2),形成完整的自噬体。p62蛋白与LC3-II蛋白相互识别,加快自噬-溶酶体形成,降解细胞器^[37]。若自噬细胞过程p62蛋白水平下降,则表示自噬过程顺畅^[39]。骨髓间充质干细胞在生理条件下,面对短时间内氧化应激损伤时,通过细胞自噬可以保护细胞应对损伤;当损伤时间增加后或大量的氧自由基使细胞内的内质网和线粒体受损,细胞的自噬反应长时间激活,细胞内的自噬体过度积累,自噬延伸阶段进一步受阻,使细胞自噬受到抑制^[40-41]。对于老年骨质疏松症患者,由于衰老导致细胞内氧自由基过度积累,致使骨髓间充质干细胞向成脂细胞分化,导致骨质疏松症的产生^[42-43]。运动能够促进抗氧化基因的表达,清除细胞内的氧自由基,缓解骨质疏松症的发展^[44]。本实验老年组大鼠骨髓间充质干细胞Beclin1、LC3-II、p62mRNA及蛋白表达水平,均高于青年组;运动干预后,运动组Beclin1、LC3-II、p62mRNA及蛋白表达水平低于老年组;运动干预后p62mRNA及蛋白表达水平显著降低,表明运动干预后能促进骨髓间充质干细胞氧自由基的清除,使得自噬体-溶酶体有效结合,促进细胞自噬顺利进行,改善骨质疏松症的发展。Ma Y等^[45]研究发现,通过自噬激活剂雷帕霉素促进骨髓间充质干细胞发生自噬,降低活性氧的积累和衰老因子的表达,减缓细胞衰老的发生,促进骨的形成。本实验与Ma Y实验结果相符。

综上所述,运动可能是通过促进骨髓间充质干

细胞自噬的发生,加快骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化,提高骨组织密度,改善骨细胞微结构,减轻骨质疏松症。该研究一定程度上说明运动可以减轻骨质疏松症的发展,但是,不同运动强度及运动方式对骨质疏松症的改善值得进一步探索。

参考文献

- [1] 马远征, 王以朋, 刘强, 等. 中国老年骨质疏松诊疗指南(2018)[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(11): 2557—2575.
- [2] 陈瑛, 许凤琴, 许勤, 等. 老年骨质疏松性骨折患者围术期抑郁发生情况及影响因素[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(1672—2353): 97—101.
- [3] Tobeiha M, Moghadasian MH, Amin N, et al. RANKL/RANK/OPG Pathway: A mechanism involved in exercise-induced bone remodeling[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 6910312.
- [4] Gneccchi M, Melo LG. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells: isolation, expansion, characterization, viral transduction, and production of conditioned medium[J]. Methods Mol Biol, 2009, 482: 281—294.
- [5] Hu L, Yin C, Zhao F, et al. Mesenchymal stem cells: cell fate decision to osteoblast or adipocyte and application in osteoporosis treatment[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(2): 360.
- [6] 吴铭, 张岩. 调控骨髓间充质干细胞成骨分化的 Wnt/ β -catenin 信号通路及相关因素[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(1): 116—122.
- [7] 张一奇, 刘子云, 付勤. Notch 通路在骨疾病领域的研究进展[J]. 解剖科学进展, 2018, 24(4): 411—414.
- [8] Qadir A, Liang S, Wu Z, et al. Senile osteoporosis: the involvement of differentiation and senescence of bone marrow stromal cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(1): 349.
- [9] Guo YF, Su T, Yang M, et al. The role of autophagy in bone homeostasis[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(6): 4152—4173.
- [10] 罗令, 孙晓峰, 皮丕喆, 等. 近 10 年来我国中老年人骨质疏松症患病率的荟萃分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(11): 1415—1420.
- [11] 朱洁云, 高敏, 宋秋韵, 等. 中国老年人骨质疏松症患病率的 Meta 分析[J]. 中国全科医学, 2022, 25(3): 346—353.
- [12] Pinheiro MB, Oliveira J, Bauman A, et al. Evidence on physical activity and osteoporosis prevention for people aged 65+ years: a systematic review to inform the WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour[J]. Int J Behav Nutr Phys Act, 2020, 17(1): 150.
- [13] Zhang YL, Wei X, Xie YM, et al. Evaluation of bone mass and relevance ratio of osteoporosis among middle aged and elderly population in Beijing community[J]. Zhongguo Gu Shang, 2020, 33(10): 916—921.
- [14] 李会川. 健康教育对老年骨质疏松骨折患者认知度和康复效果的影响[J]. 临床心身疾病杂志, 2018(5): 97—101.
- [15] 叶明浩, 张巧, 寿涓. 社区老年骨质疏松的预防及健康教育效果探讨[J]. 山西医药杂志, 2020, 49(15): 2060—2061.
- [16] 王跃滨, 林婷婷. 健康教育用于老年骨质疏松中的护理效果[J]. 吉林医学, 2019, 40(7): 1661—1662.
- [17] 杨津津. 聚焦解决模式联合运动干预对老年骨质疏松性骨折患者应对方式、自我效能的影响[J]. 中外医学研究, 2019, 17(27): 176—178.
- [18] 邹永. 运动防治社区老年骨质疏松研究进展[J]. 现代诊断与治疗, 2019, 30(4): 535—538.
- [19] Hemmatian H, Bakker A D, Klein-Nulend J, et al. Aging, osteocytes, and mechanotransduction[J]. Curr Osteoporosis Rep, 2017, 15(5): 401—411.
- [20] Li CJ, Cheng P, Liang MK, et al. MicroRNA-188 regulates age-related switch between osteoblast and adipocyte differentiation[J]. J Clin Invest, 2015, 125(4): 1509—1522.
- [21] Tong X, Chen X, Zhang S, et al. The effect of exercise on the prevention of osteoporosis and bone angiogenesis[J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 8171897.
- [22] Bottani M, Banfi G, Lombardi G. Perspectives on miRNAs as epigenetic markers in osteoporosis and bone fracture risk: a step forward in personalized diagnosis[J]. Front Genet, 2019, 10: 1044.
- [23] 罗环宇, 任飞龙, 刘苍维, 等. MicroRNA 调控骨髓间充质干细胞成骨和成脂分化的研究进展[J]. 口腔颌面外科杂志, 2020, 30(3): 183—186.
- [24] 朱琛煜, 陈熙, 黄媚, 等. 机械应力下成骨细胞-破骨细胞通讯研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2021, 40(12): 987—993.
- [25] Chen X, Li L, Guo J, et al. Treadmill running exercise prevents senile osteoporosis and upregulates the Wnt signaling pathway in SAMP6 mice[J]. Oncotarget, 2016, 7(44): 71072—71086.
- [26] 于萍, 马紫童, 王瀚, 等. 基于下丘脑-垂体-性腺轴功能研究淫羊藿女贞子配伍对自然衰老骨质疏松大鼠的影响[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(10): 82—87+269.
- [27] 李胜丹, 梁乙然, 刘一涵. 衰老性骨质疏松微环境对颌骨骨髓间充质干细胞生物学功能的影响[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2019, 17(4): 198—203+238.
- [28] 张萌萌, 张秀珍, 邓伟民, 等. 骨代谢生化指标临床应用专家共识(2020)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(6): 781—796.

(下转第 34 页)