

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.09.006

外泌体 miR-338 对骨质疏松大鼠骨代谢水平、骨小梁微结构和骨生物力学的影响 *

张玉婷 侯静雯 张 蕾 朱新华 王 枚 许慧娟 张晓阳[△]

(新疆医科大学第五附属医院老年病科 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的:探讨外泌体 miR-338 对骨质疏松大鼠骨代谢水平、骨小梁微结构和骨生物力学的影响。**方法:**采用健康成年 SPF 级 SD 雄性大鼠进行骨髓间充质干细胞(BMSCs)分离。采用双侧卵巢摘除手术方法构建了骨质疏松大鼠模型。采用 qRT-PCR 法检测 miR-338 的表达水平;检测大鼠的骨密度,骨小梁微结构和骨生物力学指标。**结果:**与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ExoBMSCs、抑制组和过表达组 miR-338 的表达水平明显更高 ($P<0.05$);抑制组的 miR-338 的表达水平低于 OP 模型组、OP+ExoBMSCs 和过表达组 ($P<0.05$);与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ExoBMSCs、抑制组和过表达组 OC、PINP、BALP 的表达水平明显更低 ($P<0.05$);抑制组的 OC、PINP、BALP 的表达水平明显高于 OP 模型组、OP+ExoBMSCs 和过表达组 ($P<0.05$);与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ExoBMSCs、抑制组和过表达组 BV/TV、Th.N、Tb.Th、Conn.D 水平更低,而 Tb.Sp、SMI 明显更高 ($P<0.05$);抑制组组的 BV/TV、Th.N、Tb.Th、Conn.D 水平明显高于 OP 模型组、OP+ExoBMSCs 和过表达组,而 Tb.Sp、SMI 更低 ($P<0.05$);与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ExoBMSCs、抑制组和过表达组 BMD、最大荷载、最大应力、最大位移、刚度水平更低 ($P<0.05$);抑制组的 BMD、最大荷载、最大应力、最大位移、刚度水平高于 OP 模型组、OP+ExoBMSCs 和过表达组 ($P<0.05$)。**结论:**BMSCs 源性的 miR-338 可影响骨质疏松大鼠骨代谢、骨小梁微结构和骨生物力学状态。

关键词:外泌体;miR-338;骨质疏松;大鼠

中图分类号:R-33;R68 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)09-1631-05

Effects of Exosome MiR-338 on Bone Metabolism, Trabecular Microstructure and Bone Biomechanics in Osteoporotic Rats*

ZHANG Yu-ting, HOU Jing-wen, ZHANG Lei, ZHU Xin-hua, WANG Mei, XU Hui-juan, ZHANG Xiao-yang[△]

(Department of Geriatrics, The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of exosome miR-338 on bone metabolism, trabecular microstructure and bone biodynamics in osteoporosis rats. **Methods:** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) were isolated from healthy adult SPF SD male rats. A rat model of osteoporosis was established by bilateral ovariectomy. The expression level of miR-338 was detected by qRT-PCR. Bone mineral density, trabecular microstructure and bone biomechanics were measured. **Results:** Compared with blank control group, the expression level of miR-338 was higher in OP model group, OP+ ExoBMSCs, inhibition group and overexpression group ($P<0.05$). The expression level of miR-338 in inhibition group was lower than that in OP model group, OP+ ExoBMSCs and overexpression group ($P<0.05$). Compared with blank control group, the expression levels of OC, PINP and BALP in OP model group, OP+ ExoBMSCs, inhibition group and overexpression group were lower ($P<0.05$). The expression levels of OC, PINP and BALP in inhibition group were higher than those in OP model group, OP+ ExoBMSCs and overexpression group ($P<0.05$). Compared with blank control group, the levels of BV/TV, Th.N, Tb.Th and Conn. D in OP model group, OP+ ExoBMSCs, inhibition group and overexpression group were lower, Tb.Sp and SMI were higher ($P<0.05$). The levels of BV/TV, Th.N, Tb.Th and Conn.D in inhibition group were higher than those in OP model group, OP+ ExoBMSCs and overexpression group ($P<0.05$), Tb.Sp and SMI were lower ($P<0.05$). Compared with blank control group, the levels of BMD, maximum load, maximum stress, maximum displacement and stiffness in OP model group, OP+ ExoBMSCs, inhibition group and overexpression group were lower ($P<0.05$). The levels of BMD, maximum load, maximum stress, maximum displacement and stiffness in inhibition group were higher than those in OP model group, OP+ ExoBMSCs and overexpression group ($P<0.05$). **Conclusion:** BMSCs-derived miR-338 can affect bone metabolism, trabecular microstructure and bone biomechanical status in osteoporosis rats.

Key words: Exosomes; MiR-338; Osteoporosis; Rat

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01C451)

作者简介:张玉婷(1986-),女,硕士研究生,主治医师,研究方向:骨质疏松、肌少症,E-mail:z77064223@163.com

[△] 通讯作者:张晓阳(1971-),女,硕士研究生,主任医师,研究方向:老年冠心病、老年高血压病、老年糖尿病发病机制及老年综合评估技术的应用,E-mail:z77064223@163.com

(收稿日期:2022-12-12 接受日期:2023-01-10)

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R68 Document code: A

Article ID:1673-7273(2023)09-1631-05

前言

骨质疏松症(Osteoporosis)是一种骨吸收和骨形成之间的平衡被破坏,导致骨吸收增加,从而降低骨密度(Bone mineral density, BMD)的骨骼疾病^[1]。流行病学研究显示^[2],全世界约有2亿人受骨质疏松症的困扰,其中女性发病率明显高于男性,且本病在绝经后女性中发病率显著上升。骨质疏松症的发生致使骨折风险明显升高,严重影响了患者的预后生活质量。现阶段骨质疏松的具体发病机制仍未被完全阐明^[3]。现代医学采取药物治疗的方案可有效延缓骨量流失,但长期服药可增加患者经济负担同时带来诸多并发症,那么进一步明确骨质疏松发病机制迫在眉睫。近来研究证实^[4],骨代谢水平,骨髓微环境和骨生物力学改变是骨质疏松病情发生、发展的核心靶点。骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)已被证实血管再生和骨生成中扮演着尤为重要的角色,而 BMSCs 的组织修复功能很大程度上依赖于其产生的外泌体^[5]。外泌体(Exos)是一种 30~100 nm 的双分子层性囊泡,Exos 内包裹的 miRNA 是其参与调控信息表达的关键^[6]。miR-338 是 miRNAs 家族中的一员,近来被发现在骨质疏松中表达上调,然而 BMSCs 来源的外泌体 miR-338 能否通过改善骨代谢水平、骨髓微环境和骨生物力学进而促进骨质疏松病情转归仍未见系统报道^[7]。基于此背景,本次研究拟通过构建骨质疏松大鼠模型,并通过构建 miR-338 的差异化表达模型,旨在明确外泌体 miR-338 的表达对骨质疏松大鼠骨代谢水平、骨髓微环境和骨生物力学的影响,以期后续骨质疏松靶向干预策略的构建提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 研究对象

健康成年 SPF 级 SD 雄性大鼠 6 只和 40 只雌鼠,SPF 级,体重 220±20 g。所有动物均进行适应性喂养 1 周。

1.2 方法

1.2.1 BMSCs 分离与培养 取 6 只 SD 大鼠采用脊柱脱臼法处死,无菌条件取大鼠的双侧股骨及胫骨骨髓端,并暴露大鼠的骨髓腔,随后使用胎牛血清将骨髓冲出,待吹打成单细胞悬液状时加入等体积的 Percoll 分离液,随后进行低速离心(离心条件为:30 min, 1500 r/min),并将中间细胞层收集于新的离心管中。随后采用 PBS 进行冲洗,冲洗完成后再次进行离心操作,离心条件为 10 min, 1000 r/min。并再次加入 DMEM/F12 完全培养基悬浮细胞,并在标准条件(5%CO₂, 37℃)下进行培养。培养每 3 d 换液 1 次,待细胞融合度达到 85%时进行传代培养。

1.2.2 流式细胞仪检测 BMSCs 表面标志物 采集传代完成细胞,并采用消化处理后进行单细胞悬液制备,悬液制备完成后进行低速离心,离心条件为 1200 r/min, 5 min。并将细胞密度调整至 1×10⁶ 个/mL。取 100 μL 细胞悬液,并加入 CD90-PE、CD44-FITC、CD34-FTTC,冰上避光孵育 30 min,待孵育操作完

成后采用 PBS 进行洗涤,PBS 洗涤操作重复 3 次,随后对细胞进行重悬,并采用流式细胞仪进行检查。

1.2.3 BMSCs 成骨诱导分化 收集第 3 代生长状况良好的 BMSCs 细胞,依据 3.5×10⁴ 个/mL 的细胞密度进行接种,待细胞在 6 孔板中融合度达到 80%时滴入成骨诱导液,总进行 21 d 的诱导,每 3 d 换一次诱导液。21 d 后吸弃培养基,并加入 4% 多聚甲醛固定 30 min,随后采用 PBS 进行洗涤,洗涤操作共进行 3 次,随后加入 1 mL 的茜素红染液孵育 5 min,孵育操作完成后再次进行漂洗,漂洗操作共进行 3 次。

1.2.4 miR-338 慢病毒载体构建 取第 3 代 BMSCs 细胞进行慢病毒载体转染,按照 4.0×10⁴ 个/mL 的细胞密度将细胞接种于 6 孔板中,并将细胞分为空白对照组,miR-338 抑制组和 miR-338 过表达组,待细胞融合度达到 80%后,将对应的最重组慢病毒转染至对应的培养基中,并维持培养 48 h。并采用 qRT-PCR 对转染效率进行检查。

1.2.5 BMSCs 外泌体提取及鉴定 将各组完成转染的培养液上清取出,并参考外泌体提取试剂盒的操作说明进行外泌体的提取操作,首先加入培养液 20% 的体积的外泌体提取试剂,并静置 12 h(4℃),静置完成后再进行 30 min 的离心操作,离心参数为 1500 r/min,离心完成后吸弃上清,并加入 150 μL 重悬沉淀。完成重悬操作后,采集部分样品进行形态检验(检验采用透射电子显微镜观察),完成检查后采用 Western blot 对外泌体特异性蛋白的表达情况进行检测(CD81 和 CD63),随后采用 qRT-PCR 检测外泌体中 miR-338 的表达情况。

1.2.6 建模及干预 将 40 只 SD 雌鼠随机分为组 5 组每组 8 只,空白对照组、OP 模型组、OP+ExoBMSCs、OP+ExoBMSCs+miR-338 抑制(抑制组)和 OP+ExoBMSCs+miR-338 过表达(过表达组)。OP 大鼠模型建立方法:参考双侧卵巢摘除手术方法,构造骨质疏松大鼠模型。将大鼠置于无菌台上,麻醉采用腹腔注射戊巴比妥钠(30 mg/kg),待麻醉生效后并沿着大鼠背部正中线做长约 3 cm 的切口,并沿切口进入大鼠腹腔,暴露双侧卵巢后并切除,彻底止血后进行缝合,术后进行常规抗感染操作,并在 1 周后拆线。若 BMD 峰值减少≥2.5 则代表建模成功。建模成功后分别取对应组的外泌体(750 mg/mL)注射至大鼠右侧股骨处。

1.2.7 qRT-PCR 法 采用 Trizol 法(上海尚宝生物科技有限公司)提取总 RNA,并采用 SYBR Green 荧光染料试剂盒(上海俊晟生物科技有限公司)和 ABI StepOne PCR 仪(上海蓓米尔生物科技有限公司)进行逆转录操作,逆转录条件为:98℃、50℃和 37℃条件下进行逆转录操作,待逆转录为 cDNA 后进行 RT-PCR 扩增,并以 GAPDH 为内参。反应条件为:65℃1 min, 95℃15 s, 95℃10 min。最后参考 2^{-ΔΔCT} 计算 miR-338 的 mRNA 相对表达水平。

1.2.8 骨相关指标检测 (1)骨代谢水平 采用脊柱脱臼法处死大鼠后,取血 2 mL,并置于离心机中,在 3000 r/min, 10 cm 离心半径条件下离心 10 min。离心完成后静置并吸弃上清液。采用 ELISA 法检测骨钙素(Osteocalcin, OC)、I 型前胶原氨基

端前肽(Procollagen type I amino-terminal peptide, PINP)和血清中骨特异性碱性磷酸酶(Bone specific alkaline phosphatase, BALP)的表达水平。

(2)骨密度检测 采用骨密度仪,对所有大鼠的骨密度水平进行检查,骨密度检查操作均由同一人完成。通过骨密度仪分析各组大鼠 BMD 变化。所有操作分析均由同一组人完成。

(3)骨小梁微结构 取各组大鼠右侧股骨远端,并将标本的生长板顶点至皮质部分去掉后进行兴趣区域的划定,并提取 CT 影像资料,随后采用 ABA 软件对结构模型指数(SMI)、骨小梁数量(Tb.N)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、连接密度(Conn.D)、骨小梁厚度(Tb.Th)和相对骨体积(BV/TV)。

(4)骨生物力学 取各组大鼠右侧股骨,采用游标卡尺进行尺度的测量,每次测量均重复 3 次,取平均值,并将标本固定后采用电子万能生物力学材料试验机进行弯曲力学试验,加载速

度 1 mm/min,最大量程 1 000 N,支点跨距 20 mm,并记录载荷-变形曲线。

1.3 统计学方法

本研究所得数据结果采用 SPSS22.0 进行处理和分析,计量资料以(均数±标准差)表示,多组间比较采用单因素方差分析进行检验,两组间比较采用 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠外泌体 miR-338 mRNA 表达情况

与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ ExoBMSCs、抑制组和过表达组 miR-338 的表达水平更高;抑制组的 miR-338 的表达水平低于 OP 模型组、OP+ ExoBMSCs 和过表达组 ($P<0.05$),详情见表 1。

表 1 各组大鼠外泌体 miR-338 mRNA 表达情况(均数±标准差)

Table 1 Rat exomiR-338 mRNA expression in each group (mean± standard deviation)

Groups	n	miR-338 mRNA
Blank control group	8	1.03±0.03
OP model group	8	2.87±0.32 ^a
OP+ExoBMSCs group	8	2.71±0.28
Inhibition group	8	1.62±0.31 ^{ab}
Overexpression group	8	3.52±0.21 ^{abc}
F/P	-	357.54/<0.001

Note: compared with OP model group, ^a $P<0.05$; compared with OP+ExoBMSCs group, ^b $P<0.05$; compared with Inhibition group, ^c $P<0.05$, the same below.

2.2 各组大鼠骨代谢标志物的含量结果比较

与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ExoBMSCs、抑制组和过表达组 OC、PINP、BALP 的表达水平更低;抑制组的 OC、

PINP、BALP 的表达水平高于 OP 模型组、OP+ExoBMSCs 和过表达组 ($P<0.05$),详情见表 2。

表 2 各组大鼠骨代谢标志物的含量结果比较(均数±标准差)

Table 2 Comparison of contents of bone metabolic markers in all rats (mean ± standard deviation)

Groups	n	OC(μg/L)	PINP(μg/L)	BALP(μg/L)
Blank control group	8	18.75±2.61	31.52±7.54	21.32±6.87
OP model group	8	8.54±1.65	17.56±3.54	13.24±2.32
OP+ExoBMSCs group	8	8.61±1.51 ^a	17.32±3.61 ^a	13.18±2.51 ^a
Inhibition group	8	16.21±3.54 ^{ab}	28.12±6.12 ^{ab}	19.32±5.21 ^{ab}
Overexpression group	8	6.54±1.02 ^{abc}	13.54±2.21 ^{abc}	9.54±1.31 ^{abc}
F/P	-	19.54/<0.001	156.43/<0.001	254.12/<0.001

2.3 各组大鼠骨小梁微结构的结果比较

与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ ExoBMSCs、抑制组和过表达组 BV/TV、Th.N、Tb.Th、Conn.D 水平更低,而 Tb.Sp、SMI 更高;抑制组组的 BV/TV、Th.N、Tb.Th、Conn.D 水平高于 OP 模型组、OP+ ExoBMSCs 和过表达组,而 Tb.Sp、SMI 更低 ($P<0.05$),详情见表 3。

2.4 各组大鼠骨生物力学结果比较

与空白对照组相比,OP 模型组、OP+ ExoBMSCs、抑制组和过表达组 BMD、最大荷载、最大应力、最大位移、刚度水平更

低;抑制组组的 BMD、最大荷载、最大应力、最大位移、刚度水平高于 OP 模型组、OP+ ExoBMSCs 和过表达组 ($P<0.05$),详情见表 4。

3 讨论

本次研究通过分离大鼠 BMSCs 细胞并分离出外泌体,进一步通过在外泌体中转染 miR-338 慢病毒载体。随后参考赖鸿辉人^[8]的方法采用双侧卵巢摘除手术方法构建了骨质疏松大鼠模型,结果显示模型组骨密度明显下降,提示模型构建成功。进

表 3 各组大鼠骨小梁微结构的结果比较(均数±标准差)

Table 3 Comparison of trabecular microstructures (mean± standard deviation)

Groups	n	BV/TV(%)	Th.N(cm)	Tb.Th(μ m)	Conn.D(cm^3)	Tb.Sp(cm)	SMI
Blank control group	8	0.46±0.06	6.87±0.18	62.45±9.54	85.45±13.21	0.18±0.09	0.83±0.09
OP model group	8	0.17±0.06	3.07±0.13	27.32±3.54	47.45±9.54	0.68±0.05	1.40±0.06
OP+ExoBMSCs group	8	0.19±0.05 ^a	3.11±0.11 ^a	27.28±3.42 ^a	46.52±8.54 ^a	0.71±0.06 ^a	1.42±0.07 ^a
Inhibition group	8	0.41±0.05 ^{ab}	6.12±0.21 ^{ab}	57.54±8.45 ^{ab}	79.54±3.45 ^{ab}	0.23±0.11 ^{ab}	0.97±0.06 ^{ab}
Overexpression group	8	0.10±0.03 ^{abc}	2.12±0.37 ^{abc}	13.21±3.54 ^{abc}	31.54±6.45 ^{abc}	1.01±0.61 ^{abc}	1.87±0.31 ^{abc}
F/P	-	365.45/<0.001	45.67/<0.001	175.45/<0.001	125.45/<0.001	185.34/<0.001	115.12/<0.001

表 4 各组大鼠骨生物力学结果比较(均数±标准差)

Table 4 Comparison of bone biomechanical results of all group rats (mean± standard deviation)

Groups	n	BMD	Peak load /N	Maximum stress /MPa	Maximum displacement /mm	Rigidity (N/mm)
Blank control group	8	0.23±0.03	163.72±27.25	184.25±15.12	0.91±0.07	221.54±21.21
OP model group	8	0.11±0.02	97.54±11.02	131.12±10.12	0.57±0.03	145.64±11.12
OP+ExoBMSCs group	8	0.13±0.04 ^a	95.45±10.12 ^a	129.54±9.54 ^a	0.61±0.04 ^a	143.45±10.32 ^a
Inhibition group	8	0.19±0.03 ^{ab}	134.56±10.12 ^{ab}	165.57±6.54 ^{ab}	0.81±0.03 ^{ab}	198.45±12.12 ^{ab}
Overexpression group	8	0.07±0.03 ^{abc}	77.65±10.54 ^{abc}	101.12±6.45 ^{abc}	0.41±0.11 ^{abc}	113.12±9.45 ^{abc}
F/P	-	367.54/<0.001	16.54/<0.001	15.464/<0.001	185.54/<0.001	125.45/<0.001

一步通过将携带不同 miR-338 表达水平的外泌体注射至骨质疏松大鼠模型。

骨密度是现阶段临床确诊骨质疏松的关键指标,而骨密度的改变与骨代谢水平密切相关。OC 又称骨 R- 羧基谷氨酸蛋白,主要由成牙质细胞和成骨细胞合成,OC 是成骨细胞分泌的关键蛋白,临床可通过监测 OC 的变化进而评估骨代谢情况^[9,10]。Capozzi 等^[11]研究证实,OC 是骨基质中常见的主要非胶原蛋白,其表达水平可反应骨代谢水平,且在骨质疏松的治疗过程中具有重要的监测意义。Ebtesam 等^[12]研究证实,OC 可调节骨矿化。PINP 为 I 型前胶原细胞外分泌产物是评估骨形成的可靠血清标志物^[13,14]。Gillett 等^[15]研究证实,PINP 为骨质疏松症中骨形成的参考标志物,PINP 具有非常低的昼夜节律和生物变异,不受食物摄入的影响。临床可将 PINP 作为评估骨代谢状况的可靠血清指标^[16]。Garnero 等^[17]研究证实,PINP 作为骨形成和骨吸收的标志物,可反应骨质疏松患者的相关骨代谢状况。BALP 是与骨代谢密切相关的血清标志物,被广泛证实在骨质疏松症患者中表达异常^[18]。Song 等^[19]研究证实,骨碱性磷酸酶(BALP)的表达变化可有效反应骨代谢的变化,临床可将其作为重要的参考指标。Linder 等^[20]报道显示,骨碱性磷酸酶(BALP)可促进细胞外矿化。骨小梁微结构是影响骨折发生风险的关键指标,骨质疏松发生后骨密度降低,随着骨密度水平的进行性降低可导致骨小梁微结构被破坏进而表现为患者临床更高的骨折风险^[21,22]。本次研究结果显示,外泌体 miR-338 抑制组骨小梁微结构破坏明显得到改善,提示 BMSCs 源性的外泌体 miR-338 可有效改善骨质疏松大鼠骨小梁微结构并促进骨密度改善。考虑 BMSCs 细胞在近来研究中被广泛证实参与骨矿化等骨质疏松相关病理机制,而 BMSCs 源性的外泌体作

为 BMSCs 细胞功能表达的重要途径,其中包含的 miR-338 在近来研究中亦受到广泛重视^[23,24]。Lin 等^[25]研究证实,miR-338 在绝经后骨质疏松患者中表达上调,在抑制 miR-338 的表达后骨质疏松病情得到明显的好转,提示 miR-338 可能与骨质疏松的病情密切相关。Maria 等^[26]研究显示,骨质疏松患者经治疗后期 miR-338 的表达明显升高,即 miR-338 的表达水平与骨质疏松病情呈负相关。本次研究结果显示,外泌体 miR-338 抑制组骨生物力学明显优于其他各组,证实 BMSCs 源性的外泌体 miR-338 抑制可有效促进骨质疏松大鼠骨生物力学。考虑骨生物力学性能主要从骨的承载能力、变能力能力和应变等多角度反应骨骼的功能状况,骨质疏松病发后成骨和破骨的动态被打破致使骨代谢状态出现紊乱,而异常水平的骨代谢能力致使骨骼矿化受到影响,进而导致骨小梁微结构被破坏,随着骨小梁微结构破坏的积累致使骨骼的承载能力、变能力能力和应变等多方面性能被破坏,最终表现为患者合并更高的骨折风险,而采用 BMSCs 源性的外泌体 miR-338 干预后可逆转这一病理过程,这项研究为进一步探索骨质疏松的干预策略提供了新思路,亦为后续进一步探索 BMSCs 源性的外泌体在骨质疏松干预中的潜在作用奠定了理论基础^[27-30]。

综上所述,BMSCs 源性的外泌体 miR-338 可改善骨质疏松大鼠骨生物力学、骨髓微环境和骨代谢水平。后续的研究应积极开展临床试验以明确相关靶点的临床价值,并推动新靶点向临床转化进而为骨质疏松患者的早期干预和病情预测评估提供新思路。然而,本次实验仅构建了骨质疏松大鼠在体模型进行了相关研究,今后研究中仍需要进一步开展细胞体外水平研究和临床队列研究进一步探明 BMSCs 源性的外泌体在骨质疏松中的作用及其价值。

参 考 文 献(References)

- [1] Yong EL, Logan S. Menopausal osteoporosis: screening, prevention and treatment[J]. Singapore Med J, 2021, 62(4): 159-166
- [2] 孙菁, 朱媛媛, 郭海英, 等. 基于 AGEs/RAGE/NF- κ B 通路探讨老年性骨质疏松症发病机制 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(6): 919-923
- [3] Bijelic R, Milicevic S, Balaban J. Risk Factors for Osteoporosis in Postmenopausal Women[J]. Med Arch, 2017, 1(1): 25-28
- [4] Camacho PM, Petak SM, Binkley N, et al. American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis-2020 Update [J]. Endocr Pract, 2021, 27(4): 379-380
- [5] Guo Y, Jia X, Cui Y, et al. Sirt3-mediated mitophagy regulates AGEs-induced BMSCs senescence and senile osteoporosis [J]. Redox Biol, 2021, 41(15): 101915
- [6] Zhang Y, Xie Y, Hao Z, et al. Umbilical Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosome-Encapsulated Hydrogels Accelerate Bone Repair by Enhancing Angiogenesis[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2021, 13(16): 18472-18487
- [7] Liu H, Sun Q, Wan C, et al. MicroRNA-338-3p regulates osteogenic differentiation of mouse bone marrow stromal stem cells by targeting Runx2 and Fgf2[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(10): 1494-502
- [8] 赖鸿辉, 刘跃, 李体远, 等. 外源性硫化氢对双侧卵巢摘除骨质疏松模型大鼠骨代谢的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(29): 25-31
- [9] Boyacioglu O, Orenay-Boyacioglu S, Yildirim H, et al. Boron intake, osteocalcin polymorphism and serum level in postmenopausal osteoporosis[J]. J Trace Elem Med Biol, 2018, 48(1): 52-56
- [10] Atalay S, Elci A, Kayadibi H, et al. Diagnostic utility of osteocalcin, undercarboxylated osteocalcin, and alkaline phosphatase for osteoporosis in premenopausal and postmenopausal women [J]. Ann Lab Med, 2012, 32(1): 23-30
- [11] Capozzi A, Scambia G, Migliaccio S, et al. Role of vitamin K2 in bone metabolism: a point of view and a short reappraisal of the literature[J]. Gynecol Endocrinol, 2020, 36(4): 285-288
- [12] Al-Suhaimi EA, Al-Jafary MA. Endocrine roles of vitamin K-dependent- osteocalcin in the relation between bone metabolism and metabolic disorders [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2020, 21(1): 117-125
- [13] Eastell R, Szulc P. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2017, 5(11): 908-923
- [14] Mattia L, Davis S, Mark-Wagstaff C, et al. Utility of PINP to monitor osteoporosis treatment in primary care, the POSE study (PINP and Osteoporosis in Sheffield Evaluation)[J]. Bone, 2022, 158(11): 116347
- [15] Gillett MJ, Vasikaran SD, Inderjeeth CA. The Role of PINP in Diagnosis and Management of Metabolic Bone Disease [J]. Clin Biochem Rev, 2021, 42(1): 3-10
- [16] Szulc P, Naylor K, Hoyle NR, et al. National Bone Health Alliance Bone Turnover Marker Project. Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability[J]. Osteoporos Int, 2017, 28(9): 2541-2556
- [17] Garnero P. New developments in biological markers of bone metabolism in osteoporosis[J]. Bone, 2014, 66(15): 46-55
- [18] Wen Y, Li H, Zhang X, et al. Correlation of Osteoporosis in Patients With Newly Diagnosed Type 2 Diabetes: A Retrospective Study in Chinese Population [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12(5): 531904
- [19] Song YE, Tan H, Liu KJ, et al. Effect of fluoride exposure on bone metabolism indicators ALP, BALP, and BGP[J]. Environ Health Prev Med, 2011, 16(3): 158-63
- [20] Halling Linder C, Ek-Rylander B, et al. Bone Alkaline Phosphatase and Tartrate-Resistant Acid Phosphatase: Potential Co-regulators of Bone Mineralization[J]. Calcif Tissue Int, 2017, 101(1): 92-101
- [21] Li Y, Tseng WJ, de Bakker CMJ, et al. Peak trabecular bone microstructure predicts rate of estrogen-deficiency-induced bone loss in rats[J]. Bone, 2021, 145(14): 115862
- [22] Wang X, Liang T, Zhu Y, et al. Melatonin prevents bone destruction in mice with retinoic acid-induced osteoporosis [J]. Mol Med, 2019, 25(1): 43
- [23] Liu F, Yuan Y, Bai L, et al. LRRc17 controls BMSC senescence via mitophagy and inhibits the therapeutic effect of BMSCs on ovariectomy-induced bone loss[J]. Redox Biol, 2021, 43(2): 101963
- [24] Yang W, Li HY, Wu YF, et al. ac4C acetylation of RUNX2 catalyzed by NAT10 spurs osteogenesis of BMSCs and prevents ovariectomy-induced bone loss[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2021, 26(3): 135-147
- [25] Lin C, Yu S, Jin R, et al. Circulating miR-338 Cluster activities on osteoblast differentiation: Potential Diagnostic and Therapeutic Targets for Postmenopausal Osteoporosis [J]. Theranostics, 2019, 9(13): 3780-3797
- [26] Yavropoulou MP, Anastasilakis AD, Makras P, et al. Serum Profile of microRNAs Linked to Bone Metabolism During Sequential Treatment for Postmenopausal Osteoporosis [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(8): dgaa368
- [27] Yang W, Li HY, Wu YF, et al. ac4C acetylation of RUNX2 catalyzed by NAT10 spurs osteogenesis of BMSCs and prevents ovariectomy-induced bone loss[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2021, 26(5): 135-147
- [28] Yang X, Yang J, Lei P, et al. LncRNA MALAT1 shuttled by bone marrow-derived mesenchymal stem cells-secreted exosomes alleviates osteoporosis through mediating microRNA-34c/SATB2 axis[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(20): 8777-8791
- [29] Xu R, Shen X, Si Y, et al. MicroRNA-31a-5p from aging BMSCs links bone formation and resorption in the aged bone marrow microenvironment[J]. Aging Cell, 2018, 17(4): e12794
- [30] Hu Y, Li X, Zhang Q, et al. Exosome-guided bone targeted delivery of Antagomir-188 as an anabolic therapy for bone loss [J]. Bioact Mater, 2021, 6(9): 2905-2913