

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.02.0144

论著

力学刺激通过 PI3K/Akt 通路促进骨质疏松小鼠的脂解和骨生成

吴秋, 李心乐, 张平

(天津医科大学基础医学院人体解剖与组织胚胎学系, 天津 300070)

摘要 目的:探究力学刺激对骨质疏松小鼠脂解和成骨的调节作用。方法:45只雌性C57BL/6小鼠,使用随机数字表法分为假手术组、造模组和力学刺激组,每组15只。在小鼠卵巢去势造模2周后,进行为期2周的膝关节力学刺激(1 N, 5 Hz, 6 min/d)治疗,治疗结束后处死动物。通过HE染色和MacNeal's染色观察股骨的组织病理改变;油红O染色检测成脂分化;ALP染色检测成骨细胞分化;茜素红S染色检测成骨细胞矿化;细胞免疫荧光和Western印迹检测相关蛋白的表达变化。结果:HE染色和油红O染色结果显示,与造模组相比,力学刺激组抑制骨质疏松小鼠脂肪细胞的数量、周长和面积增多($t=4.544, 13.042, 6.243$, 均 $P<0.01$)并抑制成脂分化($t=11.283, P<0.001$);HE染色和MacNeal's染色结果显示,与造模组相比,力学刺激组促进骨质疏松小鼠骨生成($t=-7.104, -9.701$, 均 $P<0.01$);ALP染色和茜素红S染色结果显示,与造模组相比,力学刺激组促进骨质疏松小鼠成骨细胞分化和矿化($t=-2.807, P<0.05$);细胞免疫荧光结果显示,与造模组相比,力学刺激组促进骨质疏松小鼠PI3K/Akt磷酸化和RUNX2表达($t=-4.715, -2.423, -3.873$, 均 $P<0.05$);Western印迹分析结果表明,与造模组相比,力学刺激组促进PI3K/Akt通路磷酸化($t=-7.751, -6.048$, 均 $P<0.01$),使脂解相关蛋白p-HSL、ATGL和成骨相关蛋白RUNX2、ALP的表达升高($t=-1.677, -7.59, -14.702, -4.504$, 均 $P<0.05$)。结论:力学刺激通过促进PI3K/Akt磷酸化改善骨质疏松小鼠脂解功能和骨生成,有效缓解由卵巢去势引起的脂肪增多和骨量降低。

关键词 力学刺激;脂解;脂肪细胞;成骨细胞;骨形成

中图分类号 R684.3

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)02-0144-08

Mechanical stimulation promotes lipolysis and osteogenesis in osteoporosis mice via the PI3K/Akt pathway

WU Qiu, LI Xinle, ZHANG Ping

(Department of Anatomy and Histology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** To explore the effect of mechanical stimulation on lipolysis and osteogenesis in osteoporosis mice. **Methods:** Forty-five female C57BL/6 mice were stochastically separated into sham operation group, modeling group and mechanical stimulation group using random number table method, with 15 mice in each group. After 2 weeks of ovarian castration modeling, knee joint mechanical stimulation (1 N, 5 Hz, 6 min/d) was performed for 2 weeks, and the animals were euthanized after treatment. The histopathologic changes of femur were observed by HE staining and MacNeal's staining. Lipid differentiation was detected by oil red O staining. Osteoblast differentiation was detected by ALP staining. Mineralization of osteoblasts was detected by alizarin red S staining. The level of relative protein was detected by cellular immunofluorescence and Western blotting. **Results:** The results of HE staining and oil red O staining showed that compared with the modeling group, the mechanical stimulation group inhibited the increase of adipocyte quantity, perimeter and area ($t=4.544, 13.042, 6.243$, all $P<0.01$) and inhibit lipid differentiation ($t=11.283, P<0.001$) in osteoporosis mice. The results of HE staining and MacNeal's staining showed that compared with the model group, the mechanical stimulation group promoted bone formation in osteoporosis mice ($t=-7.104, -9.701$, both $P<0.01$). ALP staining and alizarin red S staining showed that mechanical stimulation promoted the differentiation and mineralization of osteoblasts in mice with osteoporosis, compared with the modeling group ($t=-2.807, P<0.05$). Cellular immunofluorescence results showed that compared with the modeling group, the mechanical stimulation group promoted PI3K/Akt phosphorylation and RUNX2 expression in osteoporosis mice ($t=-4.715, t=-2.423, -3.873$, all $P<0.05$). Western blotting analysis showed that compared with the modeling group, the mechanical stimulation group promoted the phosphorylation of PI3K/Akt pathway ($t=-7.751, -6.048$, both $P<0.01$), and increased the expression of lipolysis related proteins p-HSL, ATGL and osteogenic related proteins RUNX2, ALP ($t=-1.677, -7.59, -14.702, -4.504$, all $P<0.01$). **Conclusion:** Mechanical stimulation improves the lipolysis function and osteogenesis in osteoporosis mice by promoting the phosphorylation of PI3K/Akt, and effectively alleviates the increase of adiposity and low bone mass caused by ovariectomy.

Key words mechanical stimulation; lipolysis; adipocytes; osteoblasts; bone formation

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81772405)

作者简介 吴秋(1999-),女,硕士在读,研究方向:力学刺激调控骨质疏松脂解的机制研究;通信作者:张平, E-mail: pizhang2008@163.com。

骨质疏松是一种无症状的骨骼疾病,特征是骨量减少和骨微结构退化,随后骨脆性和骨折的风险增加^[1]。绝经后骨质疏松主要发生在绝经后妇女,雌激素缺乏可导致骨髓来源脂肪细胞增加^[2]。细胞脂解是中脂质甘油三酯水解释放脂肪酸,以产生能量的一种简单的过程,发生在细胞质或溶酶体中^[3-4]。研究表明,骨质疏松患者骨髓中的脂肪组织增加^[5],更有研究表明,肥胖者骨折的风险更高,从长远来看,过量脂肪组织的存在可能会增加骨骼的脆性^[6]。由此得知,调节骨质疏松患者的脂解功能,对于骨质疏松的治疗有着关键意义。

力学刺激是一种轻度的非侵入性物理治疗,在一定程度上模拟人体的主动运动,以一定的刺激频率对滑膜关节进行力学刺激,例如肘关节和膝关节等^[7-8]。在骨骼中,力学刺激调节骨形成和吸收之间的平衡^[9]。磷脂酰肌醇 3 激酶/丝氨酸/苏氨酸激酶 (PI3K/Akt) 是最重要的细胞内途径之一,参与细胞存活、凋亡、增殖、蛋白质合成和其他过程的调控^[10]。笔者的前期研究表明,力学刺激通过调控 PI3K/Akt 信号通路参与骨质疏松的红系分化,调节血管生成^[11]。同时发现,力学刺激可以影响绝经后骨质疏松骨重建,并且对骨质疏松状态下的关节炎也有明显的改善作用^[12-13]。然而,力学刺激对骨质疏松发病机制中脂解作用的影响,仍需进一步探索。本实验采用卵巢去势方式建立骨质疏松小鼠模型,探讨力学刺激是否可以改善骨质疏松小鼠的脂解、促进骨生成,为骨质疏松治疗提供新的见解。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 使用 45 只成年 SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠 [购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,生产许可证号:SCXK(京)2017-0005,动物批号:No.1112511911002451]。小鼠的饲养环境为:26℃室温,60%湿度。在明暗循环 12 h 中,小鼠自由获取水和食物。严格按照天津医科大学实验动物管理规定来饲养及管理小鼠,且获得天津医科大学伦理委员会的批准[SCXK(津)2019-0004]。

1.1.2 主要试剂 HE、MacNeal's 染色剂、 β -肌动蛋白(β -actin)购自美国 Sigma 公司;激素敏感性脂肪酶(HSL)、磷酸化激素敏感脂肪酶(p-HSL)、Runt 相关转录因子 2(RUNX2)购自美国 Cell Signaling 公司;脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)、碱性磷酸酶(ALP)购自中国 Proteintech 公司。

1.1.3 主要仪器 石蜡切片机购自德国 Leica 公司;光学显微镜购自日本 OLYMPUS 公司;液氮储存

罐购自美国 MVE47/11-6sq 公司;超净工作台购自苏州净化设备有限公司;二氧化碳细胞培养箱购自美国 Thermo 公司;电控恒温水浴箱购自中国宁波新芝生物科技公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 把 45 只 C57BL/6 小鼠随机分成假手术组、造模组和力学刺激组,每组 15 只。在卵巢去势造模 2 周后,进行为期 2 周的膝关节力学刺激治疗,治疗结束后处死动物。

1.2.2 力学刺激 造模 2 周后,对力学刺激组小鼠进行面罩麻醉。把小鼠调整为仰卧位,将膝关节置于力学刺激仪上进行力学刺激(1 N, 5 Hz, 6 min/d),共刺激 2 周(图 1)。假手术组和造模组小鼠麻醉后也置于力学刺激仪上,但不接受力学刺激。



图 1 小鼠力学刺激示意图

Fig.1 Diagram of mechanical stimulation in mice

1.2.3 组织学分析

1.2.3.1 组织处理 治疗结束后,处死小鼠。去除小鼠后肢的皮肤、肌肉及结缔组织,分离保存股骨。股骨在 10%中性甲醛水溶液中固定 3 d,之后进行 3 周的 14% EDTA 脱钙。脱钙后,用石蜡包埋股骨,制作厚度为 5 μ m 的冠状切片。

1.2.3.2 HE 染色 HE 染色后,用中性胶封闭股骨组织切片,光学显微镜下观察股骨变化。在 40 倍显微镜下,在股骨远端生长板下收集和分析每个切片的数据。采用 Olympus CCD DP73 软件对相关数据进行测量。

1.2.3.3 MacNeal's 染色 MacNeal's 染色后,用中性胶封闭股骨组织切片,光学显微镜下观察成骨细胞数目。在股骨远端生长板下方区域(与 HE 染色测量区域一致)收集和分析每个切片的数据。采用 Olympus CCD DP73 软件对相关数据进行测量。

1.2.4 细胞学实验

1.2.4.1 油红 O 染色 将骨髓来源细胞在 6 孔板(2×10^6 细胞/孔)上培养 2 d,直到在显微镜下出现脂滴。用油红 O 染色的中性脂泡定量检测成脂分化。

显微镜下检测脂滴,用100%异丙醇溶解染料,在490 nm波长处测定吸光度,定量脂滴数量。

1.2.4.2 ALP染色 将骨髓来源细胞在6孔板(2×10^6 细胞/孔)上培养2周后,清洗细胞并用Kit#85L2-1KT试剂盒进行染色。在显微镜下,随机选取6个400倍视野,计算视野内ALP阳性细胞的百分比。

1.2.4.3 茜素红S染色 骨髓来源细胞接种在6孔板,数量为 2×10^6 细胞/孔,每2 d换1次矿化培养基。培养3周后,清洗贴壁细胞并染色30 min。将染色液吸净,用扫描仪记录染色情况。

1.2.4.4 细胞免疫荧光 将细胞置于p-PI3K、p-Akt、RUNX2一抗(1:500)中,在4℃条件下孵育过夜,之后室温条件下使用荧光二抗(1:500)孵育1 h,最后室温条件下DAPI染色液染核并封片。在荧光显微镜下观察细胞并拍摄照片进行分析。

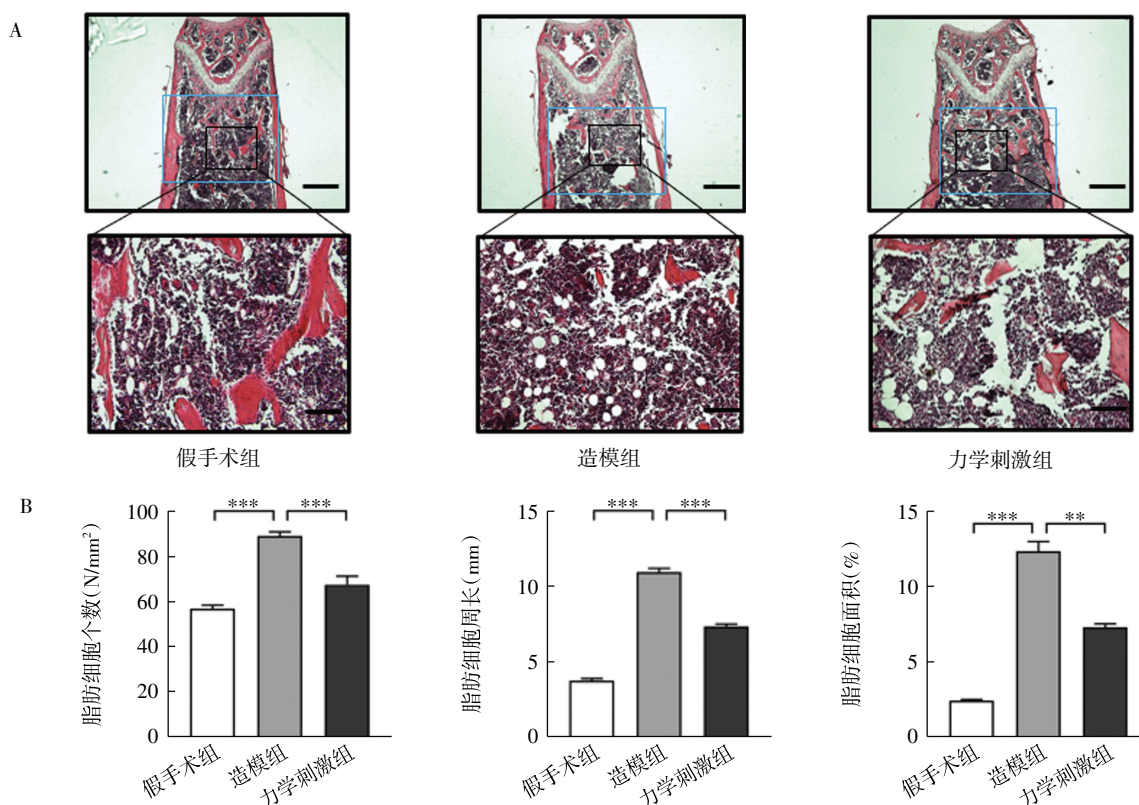
1.2.5 Western印迹 将股骨放在研钵中,加入液氮反复研磨,之后进行RIPA裂解反应,离心后提取蛋白。4℃条件下,一抗孵育过夜(p-PI3K:1:1 000;p-Akt:1:1 000;p-HSL:1:1 000;ATGL:1:1 000;RUNX2:

1:1 000;ALP:1:2 000; β actin:1:10 000),室温条件下,二抗孵育(1:20 000)90 min。利用化学发光凝胶成像系统曝光条带并拍摄照片,采用Image J进行相关蛋白定量。

1.3 统计学处理 采用SPSS25.0软件分析实验数据,Graphpad Prism7软件制作统计图表,正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示。多组均数比较采用单因素方差分析(ANOVA),两组比较采用最小显著性差异法(LSD-*t*检验)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 力学刺激抑制脂肪增多 HE染色显示,与假手术组相比,造模组股骨远端出现大量白色空洞脂肪细胞,而力学刺激组中仅出现少量的空洞脂肪细胞。定量后发现,与假手术组相比,造模组的脂肪细胞数目、周长和面积均显著增加($t = -11.126, -14.798, -14.688$,均 $P < 0.001$)。经过膝关节力学刺激治疗后,与造模组比,力学刺激组脂肪细胞数目、周长和面积均明显减少($t = 4.544, 13.042, 6.243$, $P < 0.001, P < 0.001, P < 0.01$),见图2。



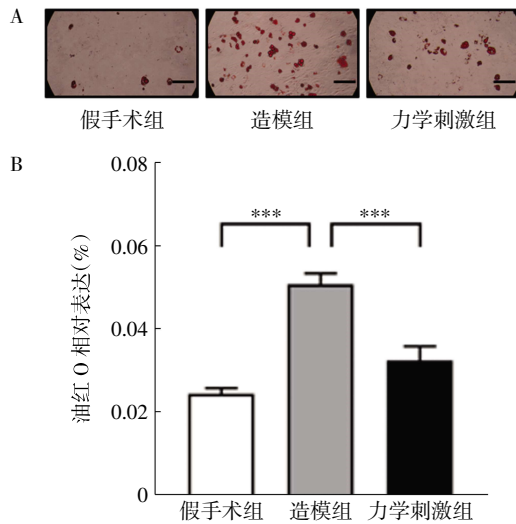
注:A:假手术组、造模组、力学刺激组股骨远端的HE染色图;B:假手术组、造模组、力学刺激组HE染色中脂肪细胞数目、周长和面积的统计学分析;*** $P < 0.001$;** $P < 0.01$;

图2 各组股骨远端的HE染色形态学检查(100×,200×)

Fig.2 HE staining was used for morphological examination of distal femur in each group(100×,200×)

2.2 力学刺激抑制成脂细胞分化 分离各组小鼠的骨髓来源细胞,油红O染色检测力学刺激对小鼠成脂分化的影响。结果表明,与假手术组相比,造模组显

示成脂分化和脂滴形成增加($t = -15.046, P < 0.001$)。经过膝关节力学刺激治疗后,与造模组相比,力学刺激组显著抑制脂滴形成($t = 11.283, P < 0.001$),见图3。

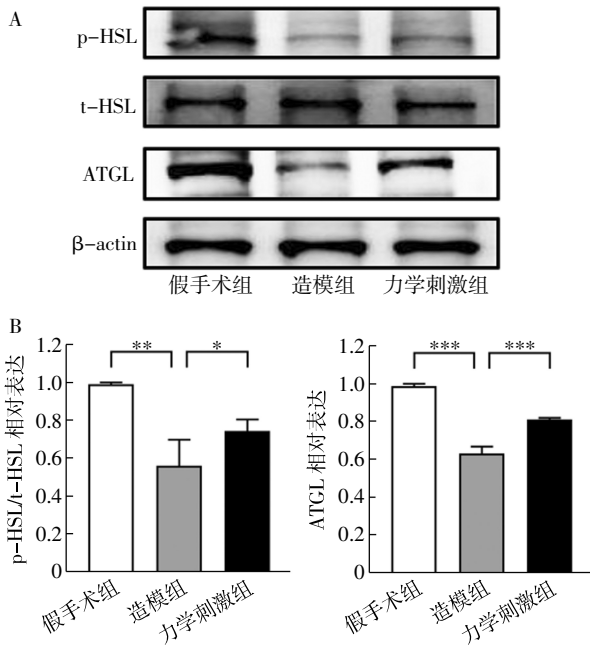


注:A:假手术组、造模组、力学刺激组油红 O 染色图;B:假手术组、造模组、力学刺激组油红 O 统计学分析;*** $P<0.001$

图3 各组小鼠油红 O 染色(100×)

Fig.3 Oil red O staining in each group(100×)

2.3 力学刺激促进脂解 与假手术组相比,造模组 p-HSL 和 ATGL 蛋白水平降低($t=5.056, 13.459, P<0.01, P<0.001$);与造模组相比,力学刺激组 p-HSL 和 ATGL 蛋白水平升高($t=-1.677, -7.597, P<0.05, P<0.001$),见图 4。



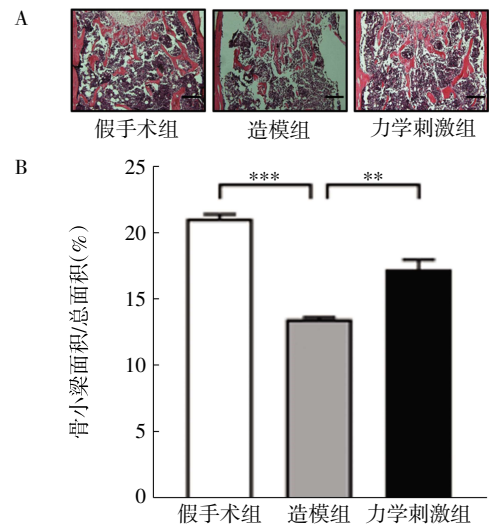
注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 p-HSL 和 ATGL 的 Western 印迹图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 p-HSL 和 ATGL 的 Western 印迹统计学分析; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图4 Western 印迹检测各组 p-HSL 和 ATGL 表达水平

Fig.4 Western blotting was used to detect the expression of p-HSL and ATGL in each group

2.4 力学刺激促进骨生成 HE 染色显示,与假手术组小鼠相比,造模组骨小梁的面积和总面积的比

值显著降低($t=10.127, P<0.001$)。经过力学刺激治疗后,与造模组相比,骨小梁面积分数增加($t=-7.104, P<0.01$),见图 5。

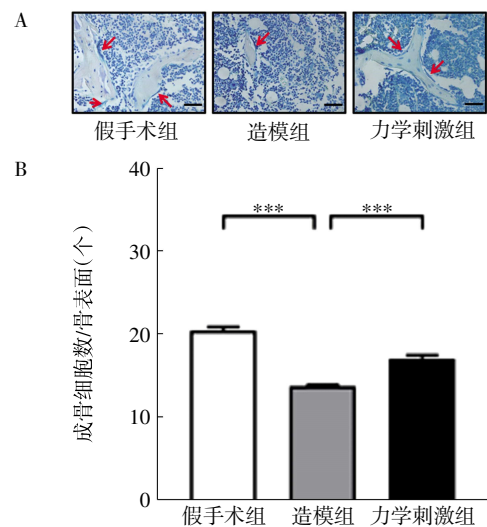


注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 HE 染色图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 HE 染色中骨小梁面积分数的统计学分析; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图5 各组股骨远端的 HE 染色形态学检查(100×)

Fig.5 HE staining was used for morphological examination of distal femur in each group(100×)

MacNeal's 组织学染色结果显示,假手术组小鼠骨髓腔中成骨细胞为淡蓝色,呈立方型柱状分布在骨小梁边缘;造模组中成骨细胞数目明显减少($t=12.67, P<0.001$),与造模组相比,力学刺激组成骨细胞数目增多($t=-9.701, P<0.001$),形态较规则,见图 6。

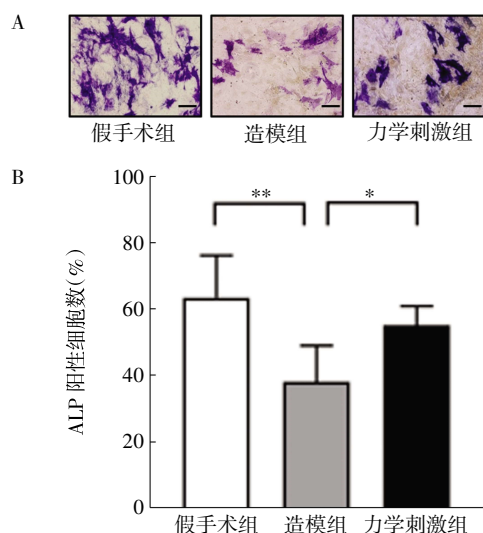


注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 MacNeal's 染色图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 MacNeal's 染色中成骨细胞的统计学分析;箭头所指为成骨细胞;*** $P<0.001$

图6 MacNeal's 染色观察各组小鼠股骨成骨细胞变化(400×)

Fig.6 The changes of osteoblasts in femur was detected by MacNeal's staining in each group(400×)

2.5 力学刺激促进成骨细胞分化和矿化 分离各组小鼠的骨髓来源细胞,ALP 染色检测力学刺激对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响。结果显示,与假手术组小鼠相比,造模组 ALP 阳性细胞数显著降低($t=6.287, P<0.01$)。经过力学刺激治疗后,与造模组相比,ALP 阳性细胞数增加($t=-2.807, P<0.05$),见图 7。



注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 ALP 染色图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 ALP 染色统计学分析; * $P<0.05$; ** $P<0.01$

图 7 ALP 染色分析各组细胞成骨分化(400×)

Fig.7 Osteogenic differentiation of cells in each group was analyzed by ALP staining(400×)

采用茜素红 S 染色观察力学刺激对骨髓间充质干细胞矿化能力的影响,结果显示,与假手术组相比,造模组矿化结节数量减少,与造模组相比,力学刺激组矿化结节数量显著增加,见图 8。

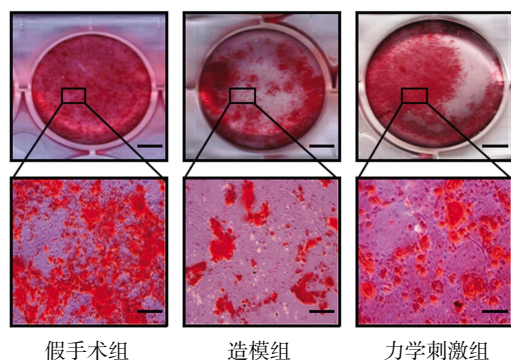
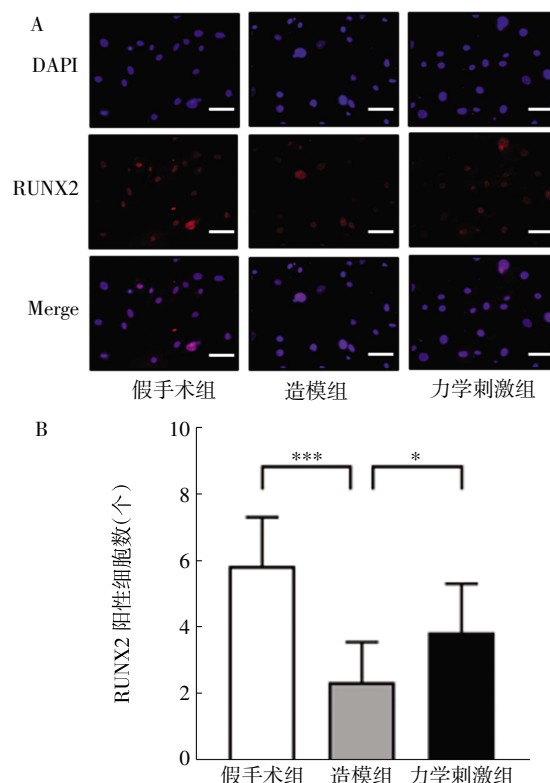


图 8 茜素红 S 染色检测各组细胞成骨矿化能力(400×)

Fig.8 Alizarin red S staining was used to detect bone mineralization ability of cells in each group(400×)

2.6 力学刺激促进成骨蛋白 RUNX2 和 ALP 表达 分离各组小鼠的骨髓来源细胞,通过细胞免疫荧光检测骨髓间充质干细胞中成骨蛋白 RUNX2 表达,与假手术组相比造模组 RUNX2 表达减少($t=4.568$,

$P<0.001$),与造模组相比,力学刺激组 RUNX2 表达显著增加($t=-3.873, P<0.05$),见图 9。



注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 RUNX2 免疫荧光图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 RUNX2 免疫荧光统计学分析; * $P<0.05$; *** $P<0.001$

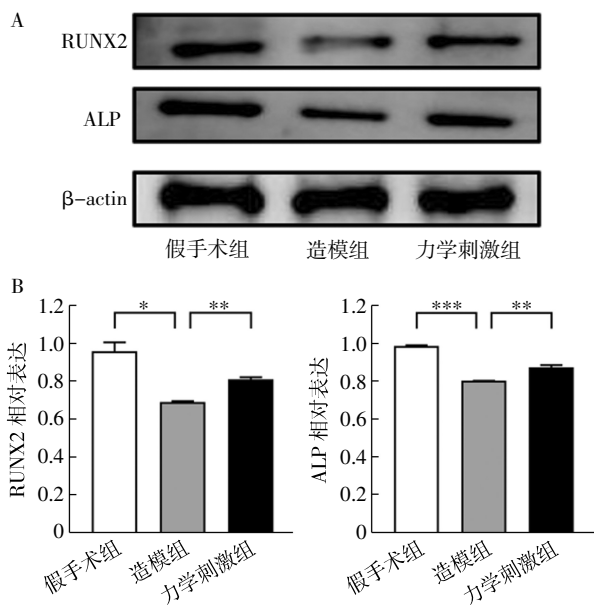
图 9 免疫荧光检测各组 RUNX2 表达水平

Fig.9 The expression of RUNX2 was detected by immunofluorescence in each group

使用 Western 印迹技术检测成骨相关蛋白 RUNX2 和 ALP 的表达。结果显示,与假手术组相比,造模组 RUNX2 和 ALP 蛋白水平降低($t=9.12, 11.638, P<0.05, P<0.001$),与造模组相比,力学刺激组 RUNX2 和 ALP 蛋白水平升高($t=-14.702, -4.504$,均 $P<0.01$),见图 10。

2.7 力学刺激促进 PI3K 和 Akt 磷酸化 分离各组小鼠的骨髓来源细胞,通过细胞免疫荧光检测骨髓间充质干细胞中 p-PI3K、p-Akt 表达,结果表明造模组 p-PI3K、p-Akt 表达减少($t=8.4341, P<0.001, P<0.001$),与造模组相比,力学刺激组 p-PI3K、p-Akt 表达显著提高($t=-4.715, -2.423, P<0.05, P<0.01$),见图 11、12。

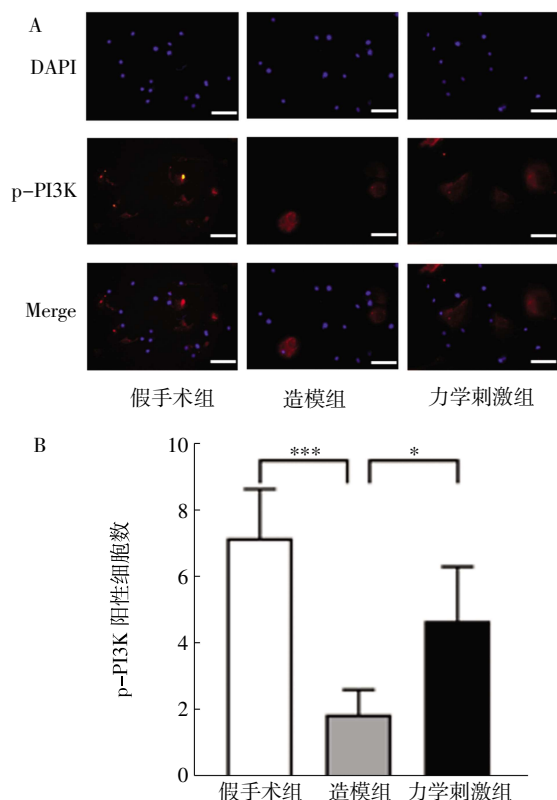
使用 Western 印迹技术检测 p-PI3K 和 p-Akt 的表达。结果显示,与假手术组相比,造模组 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平降低($t=10.338, 14.762$,均 $P<0.001$),与造模组相比,力学刺激组 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白水平升高($t=-7.751, -6.048, P<0.01, P<0.001$),见图 13。



注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 RUNX2 和 ALP 的 Western 印迹图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 RUNX2 和 ALP 的 Western 印迹统计学分析;* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图 10 Western 印迹检测各组 RUNX2 和 ALP 表达水平

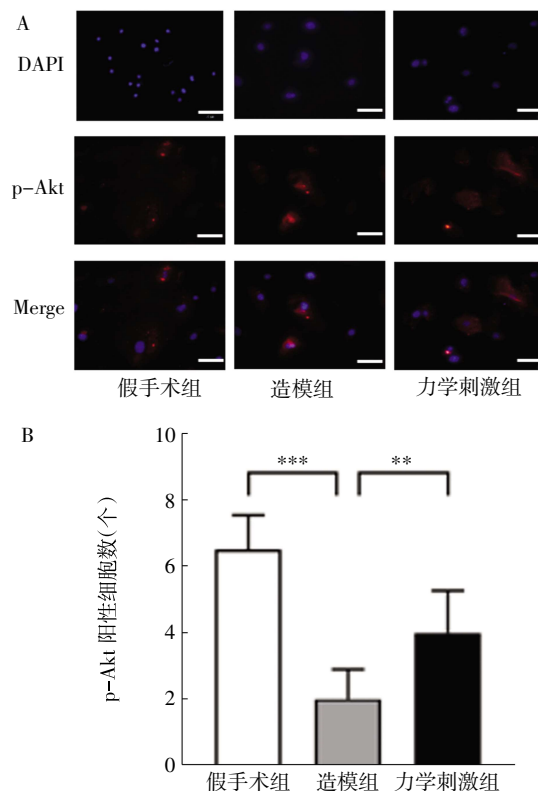
Fig.10 Western blotting was used to detect the expression of RUNX2 and ALP in each group



注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 p-PI3K 免疫荧光图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 p-PI3K 免疫荧光统计学分析;* $P<0.05$; *** $P<0.001$

图 11 免疫荧光检测各组 p-PI3K 表达水平

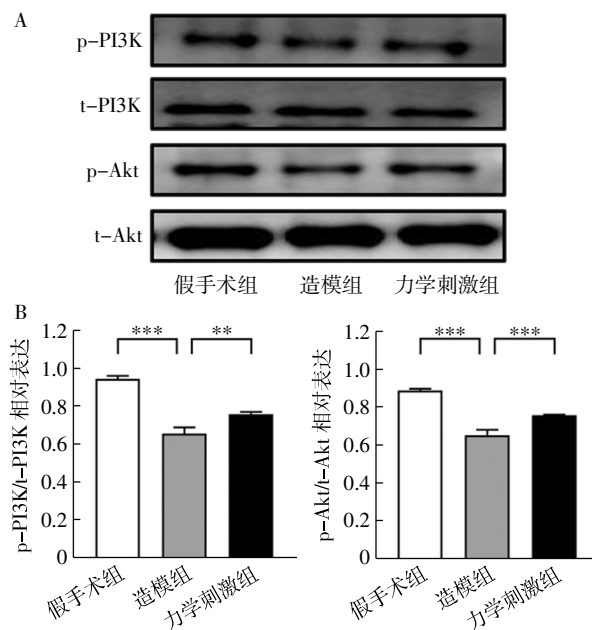
Fig.11 The expression levels of p-PI3K was detected by immunofluorescence in each group



注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 p-Akt 免疫荧光图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 p-Akt 免疫荧光统计学分析;** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图 12 免疫荧光检测各组 p-Akt 表达水平

Fig.12 The expression levels of p-Akt was detected by immunofluorescence in each group



注:A:假手术组、造模组、力学刺激组 p-PI3K 和 p-Akt 的 Western 印迹图;B:假手术组、造模组、力学刺激组 p-PI3K 和 p-Akt 的 Western 印迹统计学分析;** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图 13 Western 印迹检测各组 p-PI3K 和 p-Akt 表达水平

Fig.13 Western blotting was used to detect the expression of p-PI3K and p-Akt in each group

3 讨论

骨质疏松是一种以骨量损失和正常骨骼微结构紊乱为特征的疾病,特征是骨吸收导致骨量低、微结构受损和结构恶化,从而增加骨折的可能性^[14-15]。这些脆性骨折使受影响者的生活质量急剧下降。传统的抗骨质疏松药物可有效治疗和预防骨质疏松,但它们与各种不良反应有关。因此,需要寻找一种不良反应小且无创的治疗手段来治疗骨质疏松。

在食物供应期间,多余的营养物质以甘油三酯的形式储存在白色脂肪组织中,而在能量需求期间,甘油三酯被脂肪酶水解,将非酯化的脂肪酸释放到血液中,这一过程称为脂解^[16]。脂肪分解是一个高度受控和动态的脂质和能量稳态的细胞过程,在脂解过程中,脂肪酶包括脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)、激素敏感脂肪酶(HSL)和甘油单酯脂肪酶(MGL)依次起作用,以催化甘油三酯分子中的3个脂肪酸部分的释放,HSL对甘油二酯和胆固醇酯表现出最高的水解酶活性,ATGL则对甘油三酯具有特异性^[17-18]。骨质疏松时脂肪细胞增加,力学刺激通过促进脂解,可能引起骨量的改变。力学刺激是一种刺激频率低、刺激强度小,作用于膝关节等滑膜关节的温和机械刺激,可以用于骨质疏松^[19]的治疗。本实验使用去除双侧卵巢骨质疏松小鼠模型,聚焦于骨质疏松的脂解过程,研究骨质疏松中脂解以及成脂分化的变化,探究力学刺激对骨质疏松小鼠脂解和成脂分化的影响。本实验研究结果显示力学刺激通过抑制骨质疏松小鼠股骨远端组织中脂肪细胞个数、周长及面积增多,抑制骨髓来源细胞的脂滴形成,并促进脂解相关蛋白p-HSL和ATGL的表达,表明力学刺激促进骨质疏松小鼠的脂解作用并抑制成脂分化。

PI3K/Akt通路是控制许多细胞过程的最重要途径之一,包括细胞分裂、自噬、存活和分化^[20]。它在脂解和骨稳态中起关键作用,促进骨形成,对于脂肪生成的调节也很重要^[22-23]。有报道称,通过靶向PI3K/Akt通路,可以缓解脂质积累^[24]。前期研究表明,关节力学刺激可以通过PI3K/Akt和红系分化促进骨质疏松的血管形成^[11]。本实验研究发现,力学刺激增加了骨质疏松小鼠股骨组织和骨髓来源细胞的p-PI3K和p-Akt的表达,促进PI3K/Akt信号通路磷酸化。另外,力学刺激促进骨质疏松小鼠股骨组织中的骨小梁面积分数和成骨细胞及成骨相关蛋白RUNX2和ALP的表达,同时使骨髓来源细胞的成骨细胞分化和矿化明显升高,表明力学刺激促进骨质疏松中的骨生成。

综上所述,力学刺激通过促进PI3K/Akt磷酸化改善骨质疏松小鼠脂解功能,能有效缓解由卵巢去势引起的脂肪增多和骨量降低。总之,本研究重点探讨力学刺激与骨质疏松小鼠的脂解和成脂分化的关系,验证力学刺激作为一种物理治疗手段,可以改善骨质疏松小鼠脂解功能和骨生成,为治疗骨质疏松引起的肥胖提供了新的可能。

参考文献:

- [1] LIU X, LI F, DONG Z, et al. Metal-polyDNA nanoparticles reconstruct osteoporotic microenvironment for enhanced osteoporosis treatment[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(31): EADF3329.
- [2] KO S H, JUNG Y. Energy metabolism changes and dysregulated lipid metabolism in postmenopausal women[J]. *Nutrients*, 2021, 13(12): 4556.
- [3] GRABNER G F, XIE H, SCHWEIGER M, et al. Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores[J]. *Nat Metab*, 2021, 3(11): 1445-1465.
- [4] CHEN S, HUANG X. Cytosolic lipolysis in non-adipose tissues: energy provision and beyond[J]. *FEBS J*, 2022, 289(23): 7385-7398.
- [5] OUYANG Z, KANG D, LI K, et al. DEPTOR exacerbates bone-fat imbalance in osteoporosis by transcriptionally modulating BMSC differentiation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 151: 113164.
- [6] RINONAPOLI G, PACE V, RUGGIERO C, et al. Obesity and bone: a complex relationship[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13662.
- [7] ZHANG P, YOKOTA H. Elbow loading promotes longitudinal bone growth of the ulna and the humerus[J]. *J Bone Miner*, 2012, 30(1): 31-39.
- [8] ZHANG P, SUN Q, TURNER CH, et al. Knee loading accelerates bone healing in mice[J]. *J Bone Miner*, 2007, 22(12): 1979-1987.
- [9] CARINA V, DELLA BELLA E, COSTA V, et al. Bone's response to mechanical loading in aging and osteoporosis: molecular mechanisms[J]. *Calcif Tissue Int*, 2020, 107(4): 301-318.
- [10] WANG J, WAN D, WAN G, et al. Catalpol induces cell activity to promote axonal regeneration via the PI3K/AKT/mTOR pathway *in vivo* and *in vitro* stroke model[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(23): 756.
- [11] ABDURAHMAN A, LI X, LI J, et al. Loading-driven PI3K/Akt signaling and erythropoiesis enhanced angiogenesis and osteogenesis in a postmenopausal osteoporosis mouse model[J]. *Bone*, 2022, 157: 116346.
- [12] LI X, LIU D, LI J, et al. Wnt3a involved in the mechanical loading on improvement of bone remodeling and angiogenesis in a postmenopausal osteoporosis mouse model[J]. *FASEB J*, 2019, 33(8): 8913-8924.
- [13] ZHENG W, DING B, LI X, et al. Knee loading repairs osteoporotic osteoarthritis by relieving abnormal remodeling of subchondral bone via Wnt/ β -catenin signaling[J]. *FASEB J*, 2020, 34(2): 3399-3412.
- [14] MUÑOZ M, ROBINSON K, SHIBLI-RAHHAL A. Bone health and osteoporosis prevention and treatment[J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2020, 63(4): 770-787.
- [15] WU D, CLINE-SMITH A, SHASHKOVA E, et al. T-cell mediated inflammation in postmenopausal osteoporosis[J]. *Front Immunol*,

- 2021, 12: 687551.
- [16] ZHAO X, AMEVOR F K, CUI Z, et al. Steatosis in metabolic diseases: a focus on lipolysis and lipophagy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 160: 114311.
- [17] SCHOTT M B, WELLER S G, SCHULZE R J, et al. Lipid droplet size directs lipolysis and lipophagy catabolism in hepatocytes [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218(10): 3320–3335.
- [18] CHO C H, PATEL S, RAJBHANDARI P. Adipose tissue lipid metabolism: lipolysis[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2023, 83: 102114.
- [19] WANG X, LI X, LI J, et al. Mechanical loading stimulates bone angiogenesis through enhancing type H vessel formation and down-regulating exosomal miR-214-3p from bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *FASEB J*, 2021, 35(1): e21150.
- [20] JAFARI M, GHADAMI E, DADKHAH T, et al. PI3k/AKT signaling pathway: erythropoiesis and beyond[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(3): 2373–2385.
- [21] LI M, GAO S, KANG M, et al. Quercitrin alleviates lipid metabolism disorder in polycystic ovary syndrome—insulin resistance by upregulating PM20D1 in the PI3K/Akt pathway[J]. *Phytomedicine*, 2023, 117: 154908.
- [22] MA Y, RAN D, ZHAO H, et al. Cadmium exposure triggers osteoporosis in duck via P2X7/PI3K/AKT-mediated osteoblast and osteoclast differentiation[J]. *Sci Total Environ*, 2021, 750: 141638.
- [23] XIAO H, SUN X, LIN Z, et al. Gentiopicroside targets PAQR3 to activate the PI3K/AKT signaling pathway and ameliorate disordered glucose and lipid metabolism[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(6): 2887–2904.
- [24] CUI Z, JIN N, AMEVOR F K, et al. Dietary supplementation of salsidroside alleviates liver lipid metabolism disorder and inflammatory response to promote hepatocyte regeneration via PI3K/AKT/Gsk3- β pathway[J]. *Poult Sci*, 2022, 101(9): 102034.
- (2023-10-11 收稿)

+++++

(上接第 109 页)

- a potential novel antitumor compound [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1254236.
- [11] SOMATILAKA B N, SADEK A, MCKAY R M, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumor: models, biology, and translation[J]. *Oncogene*, 2022, 41(17): 2405–2421.
- [12] BROSSEA J P, LIAO C P, WANG Y, et al. Nf1 heterozygosity fosters de novo tumorigenesis but impairs malignant transformation[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5014.
- [13] GU H, MAO X, DU M. Metabolism, absorption, and anti-cancer effects of sulforaphane: an update[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62(13): 3437–3452.
- [14] SING K B, KIM S H, HAHM E R, et al. Prostate cancer chemoprevention by sulforaphane in a preclinical mouse model is associated with inhibition of fatty acid metabolism[J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39(6): 826–837.
- [15] PATEL A V, JOHANSSON G, COLBERT M C, et al. Fatty acid synthase is a metabolic oncogene targetable in malignant peripheral nerve sheath tumors[J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(12): 1599–1608.
- [16] SUPPIAH S, MANSOURI S, MAMATJAN Y, et al. Multiplatform molecular profiling uncovers two subgroups of malignant peripheral nerve sheath tumors with distinct therapeutic vulnerabilities[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2696.
- [17] WATSON A L, RAHRMANN E P, MORIARITY B S, et al. Canonical wnt β -catenin signaling drives human schwann cell[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3: 674–689.
- [18] PALOMO-IRIGOYEN M, PÉREZ-ANDRÉS E, IRUARRIZAGA-LEJARRETA M, et al. Hurler/Elavl1 drives malignant peripheral nerve sheath tumor growth and metastasis[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(7): 3848–3864.
- [19] BURNETT J P, LIM G, LI Y, et al. Sulforaphane enhances the anti-cancer activity of taxanes against triple negative breast cancer by killing cancer stem cells[J]. *Cancer Lett*, 2017, 394: 52–64.
- [20] BERNKOPF D B, DAUM G, BRÜCKNER M, et al. Sulforaphane inhibits growth and blocks wnt/ β -catenin signaling of colorectal cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2018, 9: 33892–33994.
- [21] VERGARA DSE, GUERRA F, PRIORE P, et al. Beta-catenin knockdown affects mitochondrial biogenesis and lipid metabolism in breast cancer cells[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 544.
- [22] YAO Y, SUN S, WANG J, et al. Canonical wnt signaling remodels lipid metabolism in zebrafish hepatocytes following ras oncogenic insult[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(19): 5548–5560.
- [23] ZHENG S, LIN J, PANG Z, et al. Aberrant cholesterol metabolism and wnt/ β -catenin signaling coalesce via frizzled5 in supporting cancer growth[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(28): e2200750.
- (2023-10-23 收稿)