

· 基础研究 ·

去势大鼠体内 TAZ 转染对股骨颈骨密度和力学的影响

哈巴西·卡肯, 艾尼瓦尔江·达毛拉, 买买提艾力·塔西买买提, 窦海伟¹, 王利*

(新疆维吾尔自治区人民医院骨科中心关节老年病区, 新疆乌鲁木齐 830001)

摘要: [目的] 研究慢病毒 TAZ 基因转染对去势骨质疏松股骨大鼠骨密度和生物力学特性的影响。[方法] 6 个月龄雌性 SD 大鼠 90 只随机分为两组, 25 只行假手术, 65 只行双侧卵巢切除 (ovariectomy, OVX), 3 周后各 6 只动物检测骨密度和股骨力学特性。其余 OVX 动物再分为 3 组, 于股骨颈钻孔, TAZ 组向髓腔内注射慢病毒 TAZ 制剂, Cherry 组注入慢病毒 Cherry 制剂, 钻孔组不注射任何药物。此外, 原假手术组动物为正常对照。再行股骨颈骨密度和股骨颈骨生物力学检测。[结果] OVX 术后 3 个月, 假手术组大鼠股骨颈骨密度 [(0.217±0.11) g/cm² vs (0.158±0.03) g/cm², $P<0.001$]、股骨颈最大载荷 [(108.6±6.1) N vs (83.3±5.8) N, $P<0.001$] 和刚度 [(338.8±11.1) N/mm vs (226.4±12.9) N/mm, $P<0.001$] 均显著高于 OVX 组。体内转染后第 1、2、3 个月, 四组股骨颈骨密度、股骨最大载荷和刚度均由高至低依次为: 假手术组>TAZ 组>Cherry 组>钻孔组, 整体差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。两两比较, TAZ 组股骨颈骨密度、股骨最大载荷和刚度均显著低于假手术组 ($P<0.05$); 而 TAZ 组骨密度、最大载荷均显著高于 Cherry 组 ($P<0.05$), TAZ 组刚度高于 Cherry 组, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$); Cherry 组与钻孔组之间骨密度、最大载荷和刚度的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。随转染后时间推移, TAZ 组的股骨颈骨密度、股骨最大载荷和刚度均显著增加 ($P<0.05$); Cherry 组股骨颈骨密度显著下降 ($P<0.05$)、而股骨最大载荷和刚度无显著变化 ($P>0.05$); 钻孔组股骨颈骨密度呈沟槽样显著变化 ($P<0.05$), 而股骨最大载荷和刚度均显著减少 ($P<0.05$)。[结论] 慢病毒介导的 TAZ 基因转染至 OVX 后骨质疏松大鼠股骨颈, 可以显著增加骨质疏松大鼠股骨颈的骨密度, 增强股骨颈的骨生物力学强度。

关键词: 骨质疏松, 去势大鼠, 慢病毒, 骨密度, 骨生物力学

中图分类号: R683.42 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2023) 16-1503-06

Effect of TAZ transfection in vivo on bone mineral density and mechanical characteristics of femoral neck in ovariectomized rats // Habaxi · Kaken, Ainiwaerjiang · Damaola, Maimaitiaili · Taximaimaiti, DOU Hai-wei, WANG Li. Department of Joint Surgery, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of lentivirus TAZ gene transfection on bone mineral density (BMD) and biomechanical characteristics of the femur neck in the ovariectomized rats. [Methods] A total of 90 6-month-old female SD rats were randomly divided into two groups, 25 underwent sham operation (SO) and 65 underwent bilateral ovariectomy (OVX). The BMD and femur mechanical properties were tested in 6 animals in each group 3 weeks after OVX, while the remaining OVX animals were furtherly divided into 3 groups. After femoral neck was drilled, the TAZ group was injected with lentivirus TAZ, the Cherry group was injected with lentivirus Cherry, while the drilled group was not injected with any drug. In addition, the remaining animals in the SO group were used as normal controls. The BMD and biomechanics of the femoral neck were assessed again. [Results] The SO group had significantly higher BMD [(0.217±0.11) g/cm² vs (0.158±0.03) g/cm², $P<0.001$], maximum load of the femoral neck [(108.6±6.1) N vs (83.3±5.8) N, $P<0.001$] and stiffness [(338.8±11.1) N/mm vs (226.4±12.9) N/mm, $P<0.001$] than the OVX group 3 weeks after OVX. At 1, 2 and 3 months after in vivo transfection, the BMD, maximum load and stiffness of femoral neck in the four groups were all ranked from high to low as SO group>TAZ>Cherry Group> drilled group, with statistically significant overall differences among them ($P>0.05$). Regarding to pairwise comparison, the TAZ group was significantly lower in terms of BMD, maximum load and stiffness of femoral neck than the SO group ($P<0.05$), while significantly higher in BMD and maximum loading than Cherry group ($P<0.05$) regardless of that the difference was not statistically significant in stiffness between them ($P>0.05$). However, there were no significant differences in BMD, maximum load and stiffness between Cherry group and drilled group ($P<0.05$). As time went after in vivo transfection, the TAZ group got significant increase of BMD, maximum load and stiffness ($P<0.05$), whereas the Cherry group had significant decrease in BMD ($P<0.05$), and no significant changes in maximum load and stiffness of femur ($P>$

DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.16.12

作者简介: 哈巴西·卡肯, 副主任医师, 研究方向: 关节外科, (电话)15299099948, (电子信箱)drkabash@sina.com

* 通信作者: 王利, (电话)15699131406, (电子信箱)961413614@qq.com

0.05). The drilled group was of significant groove-like changes in BMD ($P<0.05$), while significantly decline in the maximum load and stiffness of femur neck ($P<0.05$). [Conclusion] The lentivirus-mediated TAZ gene transfection into OVX rats does significantly increase bone mineral density and enhance bone biomechanical strength.

Key words: osteoporosis, ovariectomized rats, lentivirus, bone density, bone biomechanics

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是以骨脆性增加, 骨折风险增加为特征的全身代谢性骨病^[1]。全球约有 2 亿人患有骨质疏松症^[2], 2016 年中国 60 岁以上患病率为 36%^[3], 骨质疏松性骨折是其最主要的危害^[4], 逐渐成为我国面临的公共卫生问题^[5]。国际上普遍认为机体内成骨作用与破骨作用的失衡是导致骨质疏松最主要原因^[6]。目前, 经批准的治疗骨质疏松的药物主要有双磷酸盐、降钙素、雌激素等, 这些药物可以抑制破骨细胞活性防止骨的流失, 但是不能刺激成骨细胞活性, 不能促进骨形成。同时存在较多副作用, 导致这些药物的接受度与依从性仍不高^[7, 8]。因此, 继续研发不会产生此类副作用、而且会促进成骨的新药仍然是临床的迫切需求。

研究发现, 骨质疏松患者有骨髓中成脂活性增加、集聚现象^[9], 在老年性骨质疏松症患者髓腔中脂肪细胞占据 90% 以上^[10], 脂代谢异常可能会打破破骨细胞与成骨细胞之间的动态平衡, 更易发生骨质疏松^[11]。研究提示, 骨质疏松症患者骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSCs) 以牺牲成骨细胞为代价优先分化为脂肪细胞, 使机体成骨能力减弱并造成的骨丢失, 最终导致骨质疏松的发生^[12]。TAZ (transcriptional co-activator with PDZ-binding motif) 是一种特殊的转录协同刺激因子, 其 WW 结构域, 不仅可以与 MSCs 成骨分化关键转录因子 Runx2 (Runt-related transcription factor 2) 的 PPXY (Pro-Pro-X-Tyr) 基序紧密结合, 激活促进 MSCs 向成骨细胞分化, 还可以与 MSCs 成脂分化过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 结合, 抑制 MSCs 向脂肪细胞分化^[13-16]。Kegelman 等^[17]证实, TAZ 基因的过表达, 可以刺激 MSCs 向成骨细胞分化, 同时阻断 MSCs 向脂肪细胞分化。有报道去卵巢大鼠股骨骨髓细胞成骨转录因子 RUNX2 mRNA 较假手术组增多, 成骨分化能力增强, 原因可能是机体雌激素水平下降致破骨细胞功能亢进, 机体出现成骨细胞分化增强的保护性应激反应^[18]。作者假设慢病毒 TAZ 基因转导可对去势骨质疏松大鼠生物力学及骨密度产生正向影响, 并进行以下体内试验。

1 材料与方法

1.1 实验动物

标准化的无特殊病原体 (specific pathogen-free, SPF) 级 6 个月龄雌性 SD 大鼠 90 只, 体质量 (301.2 ± 27.4) g, 屏障系统内每 4 只一笼封闭饲养, 自由进食饮水, 饲养室温度 22℃~24℃, 湿度 50%~60%, 人工光照交替照明 12 h, 手术前先适应环境 1 周。本实验中对大鼠所有处置均符合《实验动物管理条例》及《实验动物伦理准则》相关要求。

1.2 动物分组与体内处理

1.2.1 卵巢切除术

84 只动物随机分为两组, 其中, 卵巢切除术 (ovariectomy, OVX) 组 60 只, 假手术组 24 只。所有 OVX 组大鼠均行双侧卵巢切除术 (图 1a); 假手术组大鼠仅切除双侧卵巢周围的 1 g 脂肪组织, 保留双侧卵巢。术后 3 个月, 两组各处死 6 只动物, 行骨密度及骨生物力学测试。

1.2.2 体内转染

OVX 术后 3 个月, 将剩余的 OVX 动物再随机分为 3 组, 每组 18 只, 分别为 TAZ 组、Cherry 组和钻孔组, 这三组处理方法如下。

麻醉成功后, 大鼠取俯卧位, 术区备皮消毒铺巾。切开显露股骨近端, 第三转子上极 5 mm 处为进针点, 0.8 mm 细钻头钻向股骨颈, 钻头与股骨干的夹角、前倾角分别为 30°、15°, 钻入深度为 4 mm。经探针探查后, 进行以下操作: (1) TAZ 组, 向髓腔内注射慢病毒 TAZ 制剂 4 μ l, 为慢病毒 (2×10^9 UT/ml) 与 AteloGene (病毒缓释基质) 1:1 混合, 采用 CosmoBio (Japan) 进行制备; (2) Cherry 组, 向髓腔内注射慢病毒 Cherry 制剂 4 μ l, 为慢病毒 Cherry + AteloGene; (3) 钻孔组, 单纯完成上述钻孔, 不注射任何药物。另外, 假手术组的 18 只动物为正常对照组。

于转染干预后第 1、2、3 个月, 每组分别随机抽取 6 只大鼠, 测量体重与骨密度, 然后处死动物, 取股骨标冷冻保存, 以备生物力学检测。

1.3 检测指标

1.3.1 骨密度检测

采用双能量骨密度检测仪 (DEXA, GE Healthcare, USA) 于小实验动物模式测量股骨颈骨密度, 测

量结果以每平方厘米表面积所含矿物质的克数 (g/cm^2) 表示。仪器的校准是按照制造商的建议进行的。每次打开仪器时按照制造商的建议骨密度 ($0.0553 g/cm^2$) 和体脂百分比 (16.7%) 进行仪器校准 (图 1b)。

1.3.2 骨生物力学检测

股骨标本常温下缓慢解冻后, 放置于电液伺服万能试验机 (MTS 858 Mini Bionix II, MTS Systems Corp, USA) 工作台的两个支撑点上, 利用三点弯曲原理, 以 $2 mm/min$ 速度加载股骨标本直至, 记录载荷一位移曲线, 读出最大载荷与最大位移并计算刚度 (图 1c)。

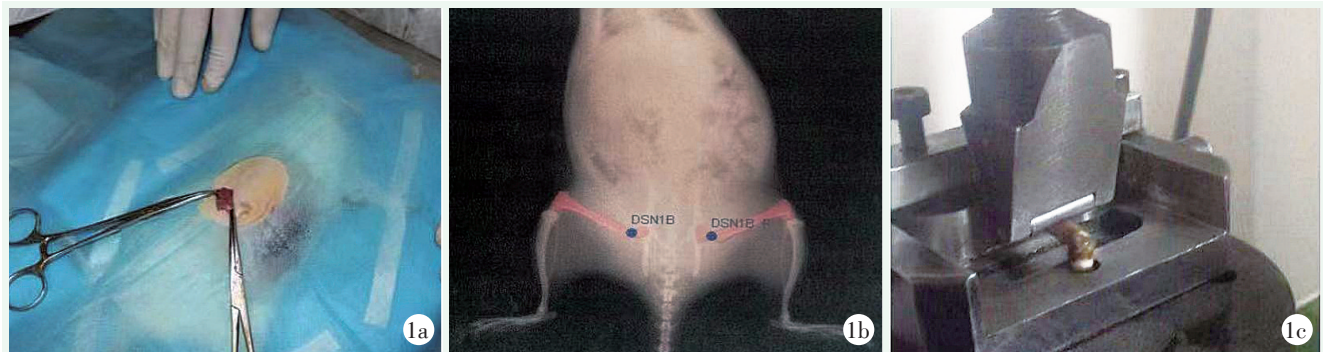


图 1 动物实验处理与检测。1a: 大鼠双侧卵巢切除术; 1b: DEXA 股骨头颈骨密度测量; 1c: MTS 力学测试机三点弯曲试验。
Figure 1. Animal experimental treatment and detection. 1a: Bilateral ovariectomy was performed in rats. 1b: The bone density of the femoral head and neck was measured by DEXA instrument. 1c: The three-point bending test was conducted by MTS machine.

1.4 统计学方法

应用 SPSS 26 For Mac 软件进行统计分析。各组骨密度、最大载荷与刚度采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 先检验方差齐性后, 资料呈正态分布时, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 对组间均数两两比较采用 LSD 检验。资料呈非正态分布时, 采用秩和检验。 $P < 0.05$ 时, 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OVX 后检测结果

OVX 术后检测结果见表 1, OVX 术后 3 个月, OVX 组股骨颈骨密度、最大载荷、刚度均显著低于假手术组 ($P < 0.05$), 这说明大鼠骨质疏松疾病模型已建立成功, 适合进行 TAZ 体内转染研究。

表 1 四组动物 OVX 术后 3 个月检测结果 ($n=6, \bar{x} \pm s$) 与比较

Table 1 Comparison of test results among the four groups of animals 3 months after ovariectomy ($n=6, \bar{x} \pm s$)

指标	假手术组	OVX 组	P 值
骨密度 (g/cm^2)	0.217 ± 0.11	0.158 ± 0.03	< 0.001
最大载荷 (N)	108.6 ± 6.1	83.3 ± 5.8	< 0.001
刚度 (N/mm)	338.8 ± 11.1	226.4 ± 12.9	< 0.001

2.2 体内转染后检测结果

体内转染后检测结果见表 2, 转导后第 1、2、3 个月, 四组股骨颈骨密度、股骨最大载荷和刚度均由高至低依次为: 假手术组 $>$ TAZ 组 $>$ Cherry 组 $>$ 钻孔组, 整体差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。两两比较, TAZ 组股骨颈骨密度、股骨最大载荷和刚度均显著低于假手术组 ($P < 0.05$); 而 TAZ 组骨密度、最大载荷均显著高于 Cherry 组 ($P < 0.05$), TAZ 组刚度高于 Cherry 组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); Cherry 组与钻孔组之间骨密度、最大载荷和刚度的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

随转染后时间推移, 假手术组的股骨颈骨密度显著下降 ($P < 0.05$), 而股骨最大载荷和刚度无显著变化 ($P > 0.05$); TAZ 组的股骨颈骨密度、股骨最大载荷和刚度均显著增加 ($P < 0.05$); Cherry 组股骨颈骨密度显著下降 ($P < 0.05$), 而股骨最大载荷和刚度无显著变化 ($P > 0.05$); 钻孔组股骨颈骨密度呈沟槽显著变化 ($P < 0.05$), 而股骨最大载荷和刚度均显著减少 ($P < 0.05$)。

3 讨论

目前, 骨质疏松症的发病机制尚不完全清楚, 国际上普遍认为任何因素如遗传、环境、生活方式等都是通过抑制成骨、促进破骨, 打破二者的动态平衡最终导致骨质疏松症的发生。成骨作用的效应细胞是成

骨细胞，破骨作用的效应细胞是破骨细胞，二者是由 MSCs 分化而来，MSCs 还可以分化为成脂细胞。由于骨质疏松症患者 MSCs 以牺牲成骨细胞为代价优先分化为脂肪细胞，使机体成骨能力减弱，不足以平衡骨吸收造成的骨丢失，最终导致骨质疏松的发生^[11]。TAZ 与骨骼肌肉组织、肾脏、心脏和肺组织的生长发育有关，TAZ 作为一种转录协同刺激因子，在骨髓间充质干细胞向成脂细胞和成骨细胞分化

中发挥调节。通过激活 Runx2 促进间充质干细胞向成骨细胞分化，同时通过抑制 ppar γ 依赖的基因转录阻断间充质干细胞向脂肪细胞分化，有研究发现，上调 TAZ 基因的表达可以促进成骨细胞的成骨作用^[13-18]。因此，通过调控 TAZ 的表达，理论上可以增加骨量，提高骨强度。这可能会成为一种治疗骨质疏松症和预防骨质疏松性骨折的新策略。

表 2 四组动物体内转染后检测结果 (n=6, $\bar{x} \pm s$) 与比较

Table 1 Comparison of test results among the four groups of animals after transfection in vivo (n=6, $\bar{x} \pm s$)

指标	假手术组	TAZ 组	Cherry 组	钻孔组	P 值
骨密度 (g/cm ²)					
1 个月	0.229±0.003	0.162±0.002	0.158±0.003	0.154±0.002	<0.001
2 个月	0.228±0.002	0.173±0.002	0.151±0.002	0.148±0.005	<0.001
3 个月	0.221±0.004	0.184±0.004	0.148±0.003	0.158±0.004	<0.001
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	
最大载荷 (N)					
1 个月	116.5±3.9	85.4±7.1	78.2±5.2	79.0±5.4	<0.001
2 个月	120.3±3.6	92.6±3.5	76.0±4.9	74.4±4.5	<0.001
3 个月	118.4±3.2	95.8±2.3	74.0±4.8	70.4±5.3	<0.001
P 值	0.216	0.006	0.366	0.034	
刚度 (N/mm)					
1 个月	339.5±12.4	230.0±10.7	192.8±52.4	215.6±11.4	<0.001
2 个月	336.3±9.6	238.6±10.9	212.4±11.3	211.2±10.7	<0.001
3 个月	332.0±14.1	270.0±7.8	200.0±9.8	197.4±7.7	<0.001
P 值	0.575	<0.001	0.564	0.018	

骨密度是指单位体积 (体积密度) 或者是单位面积 (面积密度) 所含的骨量, 骨密度主要反映骨的量^[19], 临床上采用无创活体骨密度测量代替骨强度作为骨质疏松诊断、骨质疏松性骨折风险预测、自然病程检测以及药物干预疗效评价的最佳定量指标^[20, 21]。骨生物力学性能的检测可以综合评价骨量、骨结构和骨强度, 骨生物力学主要反映骨的质与骨密度相比较, 其侧重于评价骨的“质”。本实验选用最大载荷与刚度两个指标, 前者指破坏所需的最大负荷, 反映骨的承载能力, 是骨强度高低的体现, 最大载荷越高, 骨强度越高。骨的刚度是指骨抵抗变形的能力, 反映骨组织结构的稳定性和抗变形性 (脆性)。刚度值越高, 骨的结构越稳定, 脆性越低, 抗骨折性能越高^[22, 23]。

有研究观察到去势组大鼠股骨的骨小梁分离度在术后 8 周最高同时骨小梁数量也最低, 说明股骨骨小梁分离度增加主要是由于骨小梁数目减少, 间隙增

宽, 骨小梁连续性变差^[24]。本研究中 6 个月龄雌性 SD 大鼠在双侧卵巢切除 (OVX) 术后 3 个月, 与假手术组相比, 骨密度减少了 27.2% ($P<0.05$), 最大载荷降低了 23.6% ($P<0.05$), 刚度降低了 33.2% ($P<0.05$), 这证实大鼠骨质疏松模型建立成功, 适合进行 TAZ 在体研究^[25]。本研究依据基因治疗的原理, 借助慢病毒载体的介导作用, 以去端肽胶原为缓释基质, 通过局部注射的方式将 TAZ 基因转导至骨质疏松大鼠股骨颈后, 股骨颈骨密度在 TAZ 注射后第 1、2、3 个月连续增加, 而且后两个月增加幅度更大, 最大载荷在第 2 个月, 刚度在第 3 个月显著提高, 差异均有统计学意义; 因此, 可以认为, TAZ 基因的局部注射转导, 促进了股骨颈局部骨形成, 增加了局部骨量, 增强了局部骨强度, 而且这种成骨作用至少可以持续 3 个月。

目前, 经批准的治疗骨质疏松的药物主要有双磷酸盐、雌激素等, 这些药物可以抑制破骨细胞活性防

止骨的流失,但是不能刺激成骨细胞活性,不能促进骨形成。同时,由于这些抗骨吸收药物存在较多不可忽视的副作用,导致这些药物的接受度与依从性仍不高^[7, 8]。双磷酸盐具有引起下颌骨坏死及不典型股骨骨折等严重副作用,而且药力分散,效果缓慢、缺乏长期有效的研究论证^[26]。雌激素的不正确使用可引起子宫内膜癌、乳腺癌、血栓等严重后果^[27]。因此,继续研发不会产生此类副作用、而且会促进成骨的新药仍然是临床的迫切需求。

综上所述,作者认为对骨质疏松大鼠进行TAZ基因转导,可以显著提高股骨颈骨密度及股骨颈骨生物力学强度,为预防和治疗骨质疏松性骨折的提供一种潜在的思路与方法。本研究的不足之处是未能从组织形态学、细胞分子生物学水平验证TAZ基因的转导对骨髓间充质干细胞成骨与成脂分化的影响。

参考文献

- [1] Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis [J]. *Lancet*, 2019, 393 (10169) : 364–376. DOI: 10.1016/S0140-6736 (18) 32112-3.
- [2] Bhattacharyya S, Pal S, Chattopadhyay N. Targeted inhibition of sclerostin for post-menopausal osteoporosis therapy: A critical assessment of the mechanism of action [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 826: 39–47. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.02.028.
- [3] 贺丽英, 孙蕴, 要文娟, 等. 2010–2016年中国老年人骨质疏松症患病率 Meta 分析 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22 (12) : 1590–1596. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2016.12.019.
He LY, Sun Y, Yao WJ, et al. The prevalence rate of osteoporosis in the elderly in China between 2010 and 2016: A Meta-analysis of single rate [J]. *Chin J Osteoporos*, 2016, 22 (12) : 1590–1596. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2016.12.019.
- [4] Eccles E, Thompson JD, Roddam H. An evaluation of fracture liaison services in the detection and management of osteoporotic fragility fractures: A narrative review [J]. *Radiography (Lond)*, 2018, 24 (4) : 392–395. DOI: 10.1016/j.radi.2018.05.003.
- [5] Si L, Winzenberg TM, Jiang Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010–2050 [J]. *Osteoporos Int*, 2015, 26 (7) : 1929–1937. DOI: 10.1007/s00198-015-3093-2.
- [6] Armas LA, Recker RR. Pathophysiology of osteoporosis: new mechanistic insights [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2012, 41 (3) : 475–486. DOI: 10.1016/j.ecl.2012.04.006.
- [7] Basha G, Cottle AG, Pretheeban T, et al. Lipid nanoparticle-mediated silencing of osteogenic suppressor GNAS leads to osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in vivo [J]. *Mol Ther*, 2022, 30 (9) : 3034–3051. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.06.012.
- [8] Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis treatment: recent developments and ongoing challenges [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5 (11) : 898–907. DOI: 10.1016/S2213-8587 (17) 30188-2.
- [9] Romero-Márquez JM, Varela-López A, Navarro-Hortal MD, et al. Molecular interactions between dietary lipids and bone tissue during aging [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (12) : 6473. DOI: 10.3390/ijms22126473.
- [10] Bethel M, Chitteti BR, Srour EF, et al. The changing balance between osteoblastogenesis and adipogenesis in aging and its impact on hematopoiesis [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2013, 11 (2) : 99–106. DOI: 10.1007/s11914-013-0135-6.
- [11] 梁冬波, 李林青, 唐福宇, 等. 脂肪细胞因子与老年骨密度的相关性 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2019, 27 (12) : 1128–1131. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2019.12.15.
Liang DB, Li LQ, Tang FY, et al. Correlation between adipocytokines and bone density in elderly [J]. *Orthop J Chin*, 2019, 27 (12) : 1128–1131. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2019.12.15.
- [12] Letarouilly JG, Broux O, Clabaut A. New insights into the epigenetics of osteoporosis [J]. *Genomics*, 2019, 111 (4) : 793–798. DOI: 10.1016/j.ygeno.2018.05.001.
- [13] Hong JH, Hwang ES, McManus MT, et al. TAZ, a transcriptional modulator of mesenchymal stem cell differentiation [J]. *Science*, 2005, 309 (5737) : 1074–1078. DOI: 10.1126/science.1110955.
- [14] Yuan Z, Li Q, Luo S, et al. PPAR γ and wnt signaling in adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2016, 11 (3) : 216–225. DOI: 10.2174/1574888x10666150519093429.
- [15] Koo JH, Guan KL. Interplay between YAP/TAZ and metabolism [J]. *Cell Metab*, 2018, 28 (2) : 196–206. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.07.010.
- [16] Letarouilly JG, Broux O, Clabaut A. New insights into the epigenetics of osteoporosis [J]. *Genomics*, 2019, 111 (4) : 793–798. DOI: 10.1016/j.ygeno.2018.05.001.
- [17] Kegelman CD, Collins JM, Nijssure MP, et al. Gone Caving: Roles of the transcriptional regulators YAP and TAZ in skeletal development [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2020, 18 (5) : 526–540. DOI: 10.1007/s11914-020-00605-3.
- [18] 魏劲松, 龚颜, 王键, 等. 去卵巢大鼠骨髓微环境中RUNX2\PPAR γ 基因及OPGRANKL基因蛋白表达变化的实验研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2013, 21 (13) : 1359–1364. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2013.13.18.
Wei JS, Gong Y, Wang J, et al. Changes in RUNX2 \PPAR γ and OPG/RANKL expression in the bone marrow microenvironment from ovariectomized rats [J]. *Orthop J Chin*, 2013, 21 (13) : 1359–1364. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2013.13.18.
- [19] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南 (2017) [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25 (3) : 281–309. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.03.001.
Osteoporosis and bone mineral salt disease branch of Chinese Medical Association. Primary osteoporosis guidelines (2017) [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2019, 25 (3) : 281–309. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.03.001.
- [20] Shanks G, Sharma D, Mishra V. Prevention and treatment of osteoporosis in women [J]. *Obstetr Gynaecol Repr Med*, 2019, 29 (7) : 201–206. DOI: 10.1016/j.ogrm.2019.04.001.

- [21] Bønløkke SE, Rand MS, Haddock B, et al. Baseline bone turnover marker levels can predict change in bone mineral density during antiresorptive treatment in osteoporotic patients: the copenhagen bone turnover marker study [J]. *Osteoporos Int*, 2022, 33 (10) : 2155-2164. DOI: 10.1007/s00198-022-06457-0.
- [22] Al Anouti F, Taha Z, Shamim S, et al. An insight into the paradigms of osteoporosis: From genetics to biomechanics [J]. *Bone Rep*, 2019, 11: 100216. DOI: 10.1016/j.bonr.2019.100216.
- [23] Leali PT, Muresu F, Melis A, et al. Skeletal fragility definition [J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 2011, 8 (2) : 11-3.
- [24] 郭兴满, 马宝荣, 姚倩倩, 等. 卵巢切除对大鼠骨骼结构与力学特征的早期影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (18) : 1683-1687. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.18.12.
Guo XM, Ma BR, Yao QQ, et al. Early effects of ovariectomy on bone structure and mechanical characteristics in female rats [J]. *Orthop J Chin*, 2021, 29 (18) : 1683-1687. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2021.18.12.
- [25] Johnston BD, Ward WE. The ovariectomized rat as a model for studying alveolar bone loss in postmenopausal women [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 635023. DOI: 10.1155/2015/635023.
- [26] Khosla S, Bilezikian JP, Dempster DW, et al. Benefits and risks of bisphosphonate therapy for osteoporosis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97 (7) : 2272-2282. DOI: 10.1210/jc.2012-1027.
- [27] Vigneswaran K, Hamoda H. Hormone replacement therapy - current recommendations [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2022, 81: 8-21. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2021.12.001.

(收稿:2023-04-23 修回:2023-05-23)