

张通海,王礼宁,胡永康,等. 老年性骨质疏松症动物模型研究现状与进展 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(3): 440-448.

ZHANG T H, WANG L N, HU Y K, et al. Research status and progress in animal models of senile osteoporosis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(3): 440-448.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.03.012

老年性骨质疏松症动物模型研究现状与进展

张通海¹, 王礼宁², 胡永康¹, 马天赐¹, 韩安扬¹, 马勇², 郭杨^{1*}

(1. 南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210029; 2. 南京中医药大学中西医结合学院, 南京 210023)

【摘要】 老年性骨质疏松症作为一项日益严峻的公共健康挑战,其隐蔽性强、患病率高、导致残疾的风险大,对老年群体的日常生活构成了重大影响。构建一个理想的老年性骨质疏松症动物模型,对于深入理解其病理机制至关重要,并且对于开发抗骨质疏松症药物和识别新的治疗靶点具有显著的促进作用。本综述详细梳理了当前广泛使用的老年性骨质疏松症动物模型的构建方法,分析了它们的优势与局限,并探讨了动物模型在评价指标方面的研究进展,为老年性骨质疏松症动物模型的研究提供参考。

【关键词】 老年性骨质疏松症;动物模型;研究进展

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 03-0440-09

Research status and progress in animal models of senile osteoporosis

ZHANG Tonghai¹, WANG Lining², HU Yongkang¹, MA Tianci¹, HAN Anyang¹,
MA Yong², GUO Yang^{1*}

(1. the First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

2. School of Integrative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

Corresponding author: GUO Yang. E-mail: drguoyang@njucm.edu.cn

【Abstract】 Senile osteoporosis is a growing public health challenge with significant impacts on the daily life of the elderly population as a result of its hidden nature, high prevalence, and high risk of disability. Suitable animal models that simulate senile osteoporosis are crucial for understanding its pathological mechanism and to facilitate the development of anti-osteoporosis drugs and identify new therapeutic targets. This review considers the most commonly used method for creating animal models of senile osteoporosis, analyzes their advantages and limitations, and discusses research progress in animal models in terms of evaluation indicators, to provide references for research using animal models of senile osteoporosis.

【Keywords】 senile osteoporosis; animal models; research progress

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家自然科学基金(82074458, 82174411), 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(国中医药人教函[2023]85号), 江苏省科技计划专项资金(基础研究计划自然科学基金)项目(BK20220470, BK20221351), 江苏省高校基础科学(自然科学)研究项目(22KJB360012)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (82074458, 82174411), High-Level Key Traditional Chinese Medicine Discipline Construction Project by the National Administration of Traditional Chinese Medicine (National Administration of Traditional Chinese Medicine Personnel-Education Document [2023]No. 85), Jiangsu Provincial Science and Technology Plan Special Fund Project (Basic Research Program Natural Science Foundation) (BK20220470, BK20221351), Jiangsu Province University Basic Science (Natural Science) Research Project (22KJB360012).

【作者简介】 张通海,男,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治慢性筋骨病。Email: zth010770@163.com

【通信作者】 郭杨,男,博士,副教授,研究方向:中医药防治慢性筋骨病。Email: drguoyang@njucm.edu.cn

老年性骨质疏松症 (senile osteoporosis, SOP) 是人体衰老在骨骼方面的一种特殊表现,以骨矿含量下降和骨微结构破坏为病理特征,对老年人的健康和生活方式造成严重的威胁^[1]。根据相关流行病学调查结果推算,65 岁以上人群骨质疏松症患病率为 32.0%^[2],并且骨质疏松性骨折是骨质疏松症的严重后果,是老年患者致残和致死的主要原因之一。目前我国对骨质疏松症存在知晓率低、诊疗不明确、防治能力不足等缺点^[3]。随着人口老龄化的加快,如何防治 SOP 成为了医学界急需解决的问题。其中动物模型在 SOP 的发生机制探索和治疗药物疗效评价中发挥了至关重要的作用。

目前 SOP 动物模型种类繁多,常见的造模方法有去势造模法、诱导衰老法、基因诱导造模法以及自然衰老造模法等。现有的动物模型在模拟人类老年性骨质疏松症方面取得了进展,但仍存在局限性,如物种差异和病理机制不完全一致;并且同一模型,不同个体的反应也可能存在差异,这使得研究难度增加。理想的 SOP 动物模型应包括以下特点:(1)简便,即较短的造模周期和较简单的造模方法,并且在整个造模过程中具有较强的可控性和可操作性;(2)经济,即造模成本应当合理适中,以便于在研究中批量使用;(3)相似性好,能够有效地反映出 SOP 的发病机制和进展过程^[4]。SOP 发生机制的探索离不开动物模型,同样新药药效的研究也离不开动物模型的构建,高效的造模方法有利于提高造模成功率,进而促进 SOP 机制的探索以及药物疗效的评价。本文旨在系统地回顾和对比当前广泛使用的 SOP 动物模型(具体如表 1 所示),并对其评价标准进行详尽的梳理与分析。以期对 SOP 研究领域动物模型的构建和实验设计提供更全面的参考。

1 常见 SOP 动物模型的建立方法

1.1 自然衰老造模法

衰老是 SOP 的主要危险因素,因此衰老模型广泛应用在 SOP 的研究中。自然衰老模型通常选用一些年龄较大的动物,它们随着年龄的增大会出现骨质疏松的症状以及相关指标的异常,能够模拟出人类随着年龄增长而出现的生理和病理变化。目前,自然衰老 SOP 动物模型常用的动

物为大鼠和小鼠,因其具有较短的生命周期和较高的繁殖率,便于在短期内观察衰老的过程。建模时,在控制环境下饲养大鼠或小鼠至其自然进入老年期,大鼠衰老早期为 21 ~ 26 月龄,衰老晚期为 30 ~ 32 月龄,小鼠 12 ~ 24 月龄为老年期^[5]。MA 等^[6]选取 22 月龄的 SD 大鼠作为自然衰老骨质疏松动物模型,同时选取 6 月龄的 SD 大鼠作为对照组,研究发现 22 月龄大鼠松质骨体积和骨体积分数显著降低,骨小梁 (trabecular bone, TBS) 数量和厚度也表现出下降的趋势。同样,WANG 等^[7]将 21 月龄的 SD 大鼠与 9 月龄的 SD 大鼠作对比,发现 21 月龄的大鼠骨微结构破坏,骨密度 (bone mineral density, BMD) 下降,股骨成骨细胞 (osteoblast, OB) 的分化活性显著。相较于小鼠,大鼠自然衰老后,表现出更好的抗应激能力、免疫能力和学习记忆能力。因此,21 ~ 22 月龄的 SD 大鼠作为自然衰老动物模型更适用于 SOP 的研究。理论上,自然衰老模型更贴近人类老年骨质疏松症的真实情况,并且可以省去给药或者手术的过程。但是自然衰老模型建模时间长、价格昂贵、健康状况差,且老年期动物容易患有其他并发症甚至死亡,导致样本差异比较大,研究困难增大。

1.2 去势造模法

去势衰老 SOP 模型是通过模拟人类或动物性激素水平的变化,观察其对衰老以及骨质疏松的病理过程。通常选用睾丸切除雄性大鼠来模拟 SOP。通过切除大鼠睾丸,诱导睾酮 (testosterone, T) 耗竭建立的 SOP 模型,主要是引起 TBS 破坏^[8]。研究发现睾丸切除后,大鼠 T 缺乏导致骨髓中表达核因子- κ B 受体激活因子配体 (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL) 升高,进而引起的骨代谢失衡,骨质流失^[9]。YEH 等^[10]将雄性 Wistar 大鼠睾丸切除,相较于假手术组,术后 4 周发现去势大鼠 T 水平下降了 57%,骨体积减少,骨孔隙度增加,TBS 数量减少。RYU 等^[11]对 10 周龄的 SD 雄性大鼠行睾丸切除术,在术后第 12 周观察到大鼠腰椎和股骨 BMD 比假手术组明显降低, I 型前胶原氨基末端肽 (type I procollagen amino-terminal peptide, PINP)、骨钙素 (osteocalcin, OCN) 等骨代谢标志物升高,说明睾丸切除大鼠发生的骨质流失与高

表 1 SOP 常见动物建模方法及优缺点

Table 1 Common animal modeling methods for SOP and their advantages and disadvantages

| 模型类型 Model type | 建模方法 Modeling method | 研究领域 Research field | 优点 Advantage | 缺点 Shortcoming |
|--|--|--|--|--|
| 自然衰老模型 Natural aging mode | 将鼠饲养在动物实验室,直至所需的年龄,小鼠 12 ~ 24 月龄为老年期,大鼠 21 ~ 26 月龄为老年期。常选用 21 ~ 22 月龄的 SD 大鼠 Mice were maintained in the animal laboratory until the desired age; mice were aged from 12 ~ 24 months and rats were aged from 21 ~ 26 months. SD rats aged 21 ~ 22 months were often used | 用于研究骨骼自然衰老的过程 To study the process of natural bone aging | 模拟出骨骼自然衰老的过程,更贴近人类老年骨质疏松症的真实情况,可以省去给药或者手术的过程 It simulates the natural aging process of bones, which is closer to the real situation of osteoporosis in elderly people, and can save the process of drug administration or surgery | 健康状况较差,动物死亡率较高,花费较大 Poor health, higher animal mortality and higher costs |
| 去势模型 Castration model | 用手术方法摘除实验雄性动物单侧或双侧睾丸 One or both testicles were surgically removed from experimental male animals | 用于研究老年男性骨质疏松症 To study osteoporosis in elderly men | 模拟老年男性骨质疏松症,操作简单、重复性高、模型稳定 Model is simple, reproducible and stable to simulate osteoporosis in elderly men | 术中可能产生创伤应激反应,可能会影响实验结果 Traumatic stress reaction may occur during the operation, which may affect the experimental results |
| D-半乳糖诱导衰老模型 D-galactose induced aging model | 鼠皮下注射、腹腔注射或口服 D-半乳糖,给药剂量无统一规定,一般剂量范围从 50 ~ 500 mg/(kg·d)不等,连续给药 6 ~ 8 周 D-galactose is administered subcutaneously, intraperitoneally or orally in mice. There is no uniform dosage regulation, and the general dose ranges from 50 ~ 500 mg/(kg·d), and is administered continuously for 6 ~ 8 weeks | 用于研究体内糖代谢紊乱所引起的老年性骨质疏松症 It is used to study senile osteoporosis caused by the disorder of glucose metabolism in body | 造模时间短、可重复性好、易于获得的优点 Advantages of short molding time, good repeatability and easy access | 需每天给药,操作繁琐,与自然衰老鼠在某些指标上仍有一定差异 It needs to be administered every day, the operation is complicated, and there are still some differences in some indicators with natural aging mice |
| SAMP 动物模型 SAMP animal model | 通过 AKR/J 系小鼠近交繁殖培育出的一种模型小鼠 A model mouse developed by inbreeding AKR/J mice | 较好的模拟出老年性骨质疏松症病理过程 Better simulation of senile osteoporosis pathological process | 模型与人类老年性疾病的病理改变相似,遗传信息丰富,造模时间短 Model is similar to the pathological changes of human senile diseases, with rich genetic information and short modeling time | 模型生命周期较短,不利于长期观察研究,价格高昂,存在基因缺陷 Short life cycle of the model is not conducive to long-term observation, high price and genetic defects |
| 基因诱导模型 Gene induced model | 通过基因编辑技术将外源性基因插入动物基因组或对动物自身基因进行突变、敲除、过表达等使动物具有老年性骨质疏松特性 By inserting exogenous genes into animal genome or mutating, knocking out and overexpressing their own genes by gene editing technology, animals can have senile osteoporosis characteristics | 适用于研究基因靶点在老年性骨质疏松症中的影响,在分子层面探究老年性骨质疏松症的机制 It is suitable for studying the effect of gene targets on senile osteoporosis and exploring the mechanism of senile osteoporosis at the molecular level | 可以根据研究的需要进行造模,更好的探究老年性骨质疏松症的机制 Models can be built according to the needs of research to better explore the mechanism of senile osteoporosis | 价格昂贵,技术要求过高,与自然衰老鼠存在指标差异,适用范围相对较窄 Price is expensive, technical requirements are too high, and there are index differences with natural aging mice, and the scope of application is relatively narrow |

骨转化有关。经过多位学者的研究验证,雄性大鼠睾丸切除后,会表现出 TBS 数量减少、骨微结构破坏、TBS 的最大负荷力下降等骨质流失的现

象。因此,睾丸切除大鼠模型更加适用于研究老年男性骨质疏松症的发生机制,并且具有操作简单、重复性高、模型稳定的优势^[12]。但是,由于手

术过程中可能会引起创伤后应激反应,会对实验结果产生一定的影响,因此在造模过程中要严格控制手术流程,以减少实验数据的误差。

1.3 诱导衰老造模法

衰老是一个复杂的生物学过程,它标志着机体在达到成熟阶段后,其组织和器官会随着年龄增长而出现退化性变化。SOP 是骨骼衰老最常见的结果,骨骼衰老的主要特征包括基因组不稳定、端粒损耗、表观遗传改变和蛋白稳态丧失,诱导骨微环境中各种细胞类型的损伤^[13]。诱导衰老模型是目前研究衰老领域应用最广泛的模型,主要包括有 D-半乳糖致衰老模型、快速老化小鼠 (senescence accelerated mouse, SAM) 模型等。

1.3.1 D-半乳糖诱导衰老造模法

D-半乳糖诱导衰老造模法是通过给动物注射 D-半乳糖,在较短时间内观察到类似自然衰老的生理和行为变化。持续高剂量摄入后,D-半乳糖经半乳糖氧化酶催化转化为醛糖和过氧化氢,进而产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS), ROS 的增加引起氧化应激 (oxidative stress, OS)、线粒体功能障碍和炎症^[14],这些过程都与 SOP 相关。OS 是体内氧化与抗氧化作用失衡的结果,是自由基在体内产生的一种负面作用,被认为是引起 SOP 的重要因素。OS 通过增加破骨细胞 (osteoclast, OC) 生成,减少骨祖细胞分化到 OB 谱系,降低成骨细胞活性,以及增加 OB 和骨细胞凋亡,进而引起骨代谢失衡^[15]。WANG 等^[16]对 8 周龄的 C57BL/6J 雄性小鼠用 D-半乳糖连续干预 6 周,用于研究 SOP 与 RANKL/RANK 信号通路的关系。线粒体是细胞内能量转化的场所,衰老线粒体功能下降,会引起骨细胞减少、骨形成能力降低,促进骨质疏松症的发生发展。王可欣等^[17]对 SPF 级 8 周龄雄性 KM 小鼠连续 12 周注射 D-半乳糖,发现小鼠股骨质量下降, TBS 排列稀疏,股骨 BMD 下降,同时研究发现辅酶 Q10 能加速清除 D-半乳糖代谢产生的自由基堆积,降低 OC 的水平,抑制线粒体的过氧化,使线粒体中氧化磷酸化活动得以维持,改善骨微结构的破坏。与正常小鼠相比,D-半乳糖诱导衰老小鼠的免疫功能下降,会引起慢性炎症,促进衰老,研究发现长期注射 D-半乳糖导致的 OS 能够激活核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 炎症信号通

路^[14],NF- κ B 信号转导途径既促进 OC 的形成和激活,又调节 OC 自噬,进而加快骨吸收并引起 SOP^[18]。D-半乳糖动物模型是模拟人体内糖代谢紊乱的过程,可以用于研究糖代谢在 SOP 中的作用。注射 D-半乳糖诱导衰老模型可以采用皮下注射或者腹腔注射,由于肝毒性和 D-半乳糖吸收缓慢的特性,故多采用皮下注射法。有文献报道,在制备 D-半乳糖衰老鼠模型时,给药剂量为 50 ~ 500 mg/(kg·d),连续用药 6 ~ 8 周比较合适^[19]。在实验过程中根据实验需求以及时间的安排,选取合适的注射剂量以及注射周期。D-半乳糖动物模型具有操作简单、可重复性好、易于获得的优点,在操作过程中要注意给药时间准时和注射时无菌操作,避免模型鼠因感染致造模失败。

1.3.2 快速老化动物造模法

SAM 模型具有随着年龄增长出现快速衰老的特征,其中快速老化小鼠 6 系 (senescence accelerated mouse prone 6, SAMP6) 起源于 AKR/J 系小鼠,通过近交繁殖培育而成,寿命远低于普通小鼠,且衰老速度快,常表现出骨骼早衰的病理变化,常被用作研究 SOP。SAMP6 小鼠具有遗传稳定、骨量降低等特点,其骨骼的形态学特征、组织构成及生物力学性能与人类相似,但椎骨区域存在差异^[20]。GONG 等^[21]通过 SAMP6 小鼠模拟 SOP,研究发现通过清除 ROS 抑制 OC 的生成,进而降低了 OC 在 SOP 过程中的作用。骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC) 与骨代谢密切相关。研究发现 SAMP6 小鼠在 3 ~ 4 月龄时, MSC 数量减少,并伴随骨形成下降和骨量减少^[22]。有学者认为甲状旁腺激素 (parathormone, PTH) 的增加和白介素-11 (interleukin-11, IL-11) 的异常减少可能会参与 SAMP6 小鼠骨代谢异常的过程,引起骨质的流失^[20]。相较于其他人为干预的 SOP 动物模型, SAMP6 小鼠模型因其自然衰老的特点,可以更好的模拟 SOP 的发展过程。但是 SAMP6 小鼠模型的生命周期较短,因此研究者在设计实验时要选择合适的时间点去观察和收集数据,以期能够更加全面地观察到类似于人类骨骼衰老的过程。

1.4 基因诱导造模法

基因诱导造模法是通过改变动物模型中的

特定基因来模拟 SOP 的病理状态的方法,包括基因敲除造模法和基因过表达造模法。基因诱导造模法通过敲除或者过表达特定基因,可以精确地研究其在 SOP 中的作用,深入了解 SOP 分子机制。但因其技术难度大、成本较高,模型适用范围相对较窄,在研究过程中应综合多方面因素,选择合适的造模方法来进行 SOP 的研究。

1.4.1 基因敲除造模法

基因敲除技术在建立 SOP 动物模型方面发挥着重要作用。通过敲除特定的基因,可以模拟人类骨质疏松症的病理过程,为研究骨质疏松的发病机理和药物筛选提供重要的实验模型。Ecto-5'-核苷酸酶 (Ecto-5-nucleotidase, CD73) 产生腺苷,腺苷在 OB 激活和骨骼生长过程中起着关键作用,老龄 CD73 敲除小鼠在骨愈合过程中表现出骨再生延迟和骨基质沉积的显著减少,且细胞增殖和碱性磷酸酶活性紊乱,骨代谢平衡失调^[23]。通过敲除老年小鼠 MSC 中的骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 基因,老年小鼠的 BMD 明显降低,同时 OC 表达增加,研究发现通过激活 β -catenin 信号能够转导促进 OPG 的表达,进而减少 OC 的形成和骨吸收^[24]。去乙酰化酶 6 (sirtuin 6, SIRT6) 是骨代谢的重要调节因子,在小鼠和人类模型中骨髓基质细胞和骨相关细胞中表达, SIRT6 基因敲除会引起小鼠早衰特征,包括血液中的 OPG 浓度较低,同时抗酒石酸酸性磷酸酶 5b (tartrate-resistant acid phosphatase 5b, TRAP5b) 浓度升高,进而引起骨丢失和骨吸收,这些特征与 SOP 的发展有关^[25]。在衰老过程中, MSC 随着年龄的增加表现出成骨能力下降。WANG 等^[26] 研究发现组蛋白甲基转移酶 SET 结构域 2 (histone methyltransferase SET-domain-containing 2, SETD2) 介导的 H3 赖氨酸 36 三甲基化 (H3 lysine 36 trimethylation, H3K36 me3) 影响着 MSC 的成骨分化,该团队培养的 SETD2 基因缺陷小鼠表现出了骨形成减少和骨髓脂肪积累增等 SOP 特征。SMAD 特异性 E3 泛素蛋白连接酶 2 (SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 2, SMURF2) 是 OB 和 OC 之间的重要调节因子。XU 等^[27] 培育出 SMURF2 基因缺陷型小鼠,发现小鼠骨量减少, OC 数量增加,骨吸收增强,模拟了 SOP 的表型,其中机制为 SMURF2 改变 SMAD 同源物

3 (mothers against decapentaplegic homolog 3, SMAD3) 泛素化来破坏 SMAD3 和维生素 D 受体之间的相互作用,从而调节 RANKL 表达,破坏了 OB 与 OC 之间的平衡。相较于常规造模方法,基因敲除造模法更加适用于研究特定基因对 SOP 的影响,能够更加深入的探究 SOP 的分子机制。

1.4.2 基因过表达造模法

基因过表达 SOP 模型主要通过增加特定基因的表达来模拟老年性骨质疏松。配对样同源域转录因子 1 (paired-like homeodomain transcription factor 1, PITX1) 在骨骼和关节发育中有其重要性。KARAM 等^[28] 培养出过度表达 PITX1 的转基因小鼠,发现其会出现严重的 SOP 表型,骨量和生物力学强度显著降低,其机制可能是 PITX1 直接调节 MSC 的自我更新,并通过上调 Wnt 信号抑制剂 DKK1、SOST 和 GSK3- β 间接调节 OC 分化。TANAKA 等^[29] 研究发现叉头盒转录因子 F2 (forkhead box protein f2, Foxf2) 是 MSC 分化为 OB 过程中的关键调节因子,培育出的 Foxf2 过表达小鼠,表现出了抑制 MSC 分化为 OB 的特征,使得骨量流失。LI 等^[30] 培育出微小 RNA-188 (microRNA-188, miR-188) 过表达转基因小鼠,证明 miR-188 参与了 MSC 的分化,发现 miR-188 会引起 MSC 倾向于分化为脂肪细胞而不是 OB,使得老年小鼠的脂肪积累,进而引起骨质流失。RINOTAS 等^[31] 培育出了携带人类 RANKL 基因的小鼠,实现了 RANKL 基因过度表达,小鼠表现出了 TBS 缺乏、OC 生成增加等 SOP 的特征。这些研究提供了不同的基因过表达 SOP 动物模型,能够促进 SOP 发生机制的深入研究。

1.5 其他造模方法

γ 射线照射能产生多种自由基,导致生物膜损伤,进而诱导衰老的发生。这些自由基和 OS 反应诱导骨细胞凋亡,影响 OB 和 OC 的功能,导致骨吸收和骨形成的不平衡。 γ 射线诱导衰老模型具有操作简单以及造模时间相对较短的优点,但是 γ 射线有极强的穿透力,对人体有一定的危险,在一般实验室难以获得,使得造模难度增加^[5]。维尔纳综合征 RecQ 解旋酶基因 (werner syndrome RecQ like helicase, WRN) 能够编码一种具有解旋酶和核酸外切酶活性的蛋白,该蛋白在 DNA 复制、转录、修复以及端粒维护等过程中发

挥重要作用,WRN 基因的突变可导致 Werner 综合征。在 Werner 综合征小鼠模型中发现年龄相关性端粒功能障碍是 OB 分化受损的潜在原因之一,MSC 中端粒酶的过度表达增强了骨形成,端粒功能障碍使得骨形成减少,影响成骨分化,进而引起骨质流失^[32]。Werner 综合征小鼠模型平均寿命在 21 个月左右,但是容易合并其他疾病,在研究 SOP 时会受到影响。锌金属肽酶 STE24 (zinc metalloproteinase STE24, ZMPSTE24) 是细胞内加工产生成熟核纤层蛋白 A 的关键酶,ZMPSTE24 基因缺失时,核纤层蛋白前体 A (prolamin A) 不能被正常剪切,导致其在细胞中累积,进而 prolamins A 会引起细胞毒性,诱发衰老^[33]。ZMPSTE24 缺失型小鼠,具有骨质减少,骨转换率低,骨髓脂肪水平高,这是与衰老相关的骨质流失的标志^[34]。ZMPSTE24 缺失型小鼠脂肪组织几乎完全丧失,这为研究脂肪组织代谢与老年性骨质疏松关系提供了独特的视角,但是其寿命短,表型复杂,并且脂肪组织的变化存在性别差异,这虽然有助于研究骨骼衰老过程,但也限制了长期实验和治疗研究的进行。

2 其他 SOP 动物模型

除了常见的大鼠和小鼠模型之外,还有其他种类的动物模型,包括绵羊、斑马鱼等。MAENZ 等^[35]通过培育绵羊 SOP 模型,发现其具有与年龄相关的骨骼结构,随着年龄的增长骨形成减少、骨侵蚀增强。并且绵羊体型大、骨骼结构大,与人类的情况相当,由于绵羊没有生理性更年期,可能更合适作为非绝经老年性骨质减少模型;但是由于造模周期长,价格昂贵,所以应用较少。斑马鱼具有体型小、生长快、寿命短、易于繁殖饲养等特征,是重要的衰老动物模型。CARNOVALI 等^[36]在斑马鱼的鳞片检测到骨老化,其中 OB 在 6 ~ 9 个月时逐渐失活,OC 在 9 个月时被激活,并且在 6 ~ 9 个月的脊柱中检测到骨结构微改变。由于物种差异的原因,斑马鱼的整个寿命与人类没有线性时间线,因此作为 SOP 模型还有待于进一步深入探讨和验证。

3 SOP 动物模型评价指标

SOP 动物模型评价指标主要包括生化代谢

指标检测、BMD 检测、骨组织形态学测定、骨生物力学参数检测等。BMD 检测指标、骨组织形态学测定目前是临床上诊断 SOP 的金标准。在基础研究中,实验动物模型以实验室评价指标和病理形态分析为诊断依据^[12]。动物模型的生化代谢指标异常,BMD 降低,骨微结构破坏,骨生物力学参数下降表示造模成功,为研究老年性骨质疏松症提供更好途径支持。

3.1 生化代谢指标检测

骨代谢指标一般是指骨组织在代谢过程中产生的相关产物和激素,可以从血液或尿液中检测到,能够反应骨代谢水平。主要包括钙磷代谢调节指标、骨形成标志物、骨吸收标志物、激素等。钙是重要的骨矿物质元素,钙丢失和钙减少是引起 BMD 下降、导致骨质疏松的重要因素。OCN、降钙素(calcitonin, C)可以反应体内钙水平的变化,C 参与钙磷代谢调节,降低 OC 的数量和活性,减少骨吸收。PTH 维持机体钙磷平衡和调节骨代谢,可以促进骨吸收和骨转换,动员骨钙入血,血钙升高,引起骨质流失^[37]。I 型胶原交联 C-末端肽(C-terminal telopeptide of type I collagen, CTX)和 PINP 分别为反映骨吸收和骨形成敏感性较高的标志物,具有灵敏度、特异度高的特点,可用于评定患者的骨转换状态,对于骨折预测具有一定的意义^[38]。OCN 作为骨形成标志物,与骨转换相关,参与基质的矿化过程及 OB 的分化^[39]。OPG 主要通过 RANK/RANKL 系统发挥调节骨代谢作用,抑制 OC 分化,促进成熟 OC 的凋亡。CTX 反映 OC 的骨吸收活性,是骨吸收的重要生化标志物^[40]。I 型胶原交联 N-末端肽(N-terminal telopeptide of type I collagen, NTX-1)是尿液中稳定的骨质溶解终产物,被认为是诊断骨吸收破坏特异性更高的指标,晨起和夜间的尿 NTX-1 能很好地反映骨吸收情况^[16]。生长激素、性腺激素可以促进骨的线性生长、骨重建,减少骨吸收,对骨代谢平衡起到调控作用,是检测骨代谢的重要指标。

3.2 BMD 检测

BMD 检测是判断 SOP 动物模型是否造模成功的重要依据,根据不同的模型,检测 BMD 的时间节点是不同的,自然衰老模型鼠在 21 ~ 22 月龄时进行 BMD 检测;SAMP6 小鼠在造模 4 个月

左右开始检测 BMD,之后两周一次;D-半乳糖诱导衰老小鼠通常在皮下注射 D-半乳糖 8 周后进行 BMD 检测^[41]。常用的方法包括双能 X 射线吸收法(dualenergy X-ray absorptiometry, DXA)、定量计算机断层扫描(quantitative computed tomography, QCT)检测、显微 CT(micro computed tomography, Micro CT)检测等。其中 DXA 具有普适性和低辐射的特点,同时能够检测脂肪质量、肌肉质量,具有较高的精准度,故 DXA 为评估 SOP 动物模型的常用方法。

3.3 骨组织形态学测定

骨组织形态学测定主要观察 TBS 数量、厚度、分离度以及皮质骨等参数。Micro CT 不仅能够通过三维图像计算体积 BMD,并且直观的显示骨微结构,进而评价骨组织形态学。对骨组织切片采用不同的染色方法,利用 Micro CT 分析并处理显微图像,可以直观地观察到骨微结构。通过分析 TBS 的数量、TBS 的厚度以及 OB 和 OC 的分布,可以判断造模是否成功。但是骨组织形态学测定的部位相对局限,通常为动物模型的胫骨或股骨,需要结合 BMD 测定综合分析^[42]。

3.4 骨生物力学检测

骨生物力学参数检测通过对模型动物骨骼的断裂载荷、弹性载荷、最大载荷和刚性系数分析,判断是否造模成功。分析骨的生物力学特性,能够反映骨结构形态学特性。常用的骨生物力学检测方法包括骨干三点弯曲实验、轴向压缩实验和旋转实验等。TANG 等^[43]对 SOP 大鼠进行骨干弯曲实验,发现大鼠股骨的最大负荷明显降低,股骨质量下降。但骨生物力学检测局限于骨的局部受力情况,并非骨的整体强度,需要通过多种检测方法结合来评价造模是否成功。

4 总结与展望

综上,目前 SOP 动物模型种类较多,有各自的优缺点,自然衰老模型与临床老年性骨质疏松症最为接近,但是老年动物饲养过程中死亡率较高,容易合并其他疾病,并且日常饲养管理费用较高。睾丸切除小鼠模型可以更好地模拟出老年男性骨质疏松症的病理过程,但是在切除睾丸手术过程中可能会引起创伤应激反应,影响数据的准确性。D-半乳糖致雄性鼠骨质疏松动物模

型能够作为研究老年男性骨质疏松症的重要工具,并且成本低廉、操作简单,但是不同的造模剂量、时间等方面存在差异,且模型的稳定性和可重复性也有待进一步研究和验证。SAMP6 模型可以更好地观察到 SOP 病理表现变化,是目前模拟人老年性骨质疏松症较为理想的模型。基因诱导造模法通过基因编辑技术,可以精确地研究特定基因在 SOP 发生机制中的作用,并且可以用于验证新药物靶点,评估药物的疗效和耐受性;但是操作复杂、技术要求高,并且费用高昂。在实验过程中要根据不同的实验经费、实验设备、实验周期和研究目的选择和构建所需要的模型。

动物模型是研究 SOP 的重要途径工具,能够更加有效的探索 SOP 的发生机制。虽然不同的模型有各自优缺点,且尚未培育出完美的动物模型能够模拟 SOP 的病理过程,但是随着基因技术的发展和研究的深入,更适合的动物模型将不断出现,人们对于 SOP 机制的认识也将更为深入,也将为抗骨质疏松药物的研究以及新的药物靶点的发现提供更好的依据。

参 考 文 献(References)

- [1] 中国老年骨质疏松症诊疗指南工作组,中国老年学和老年医学学会骨质疏松分会,中国医疗保健国际交流促进会骨质疏松病学分会,等.中国老年骨质疏松症诊疗指南(2023)[J].中华骨与关节外科杂志,2023,16(10):865-885.
Work Group of Chinese Guideline for the Diagnosis and Treatment of Senile Osteoporosis, Osteoporosis Society of China Association of Gerontology and Geriatrics, Osteoporosis Society of China International Exchange and Promotive Association for Medical and Health Care, et al. China guideline for diagnosis and treatment of senile osteoporosis (2023)[J]. Chin J Bone Joint Surg, 2023, 16(10): 865-885.
- [2] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会,章振林.原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)[J].中国全科医学,2023,26(14):1671-1691.
Chinese Society of Osteoporosis and Bone Mineral Research, ZHANG Z L. Guidelines for diagnosis and treatment of primary osteoporosis (2022)[J]. Chin Gen Pract, 2023, 26(14): 1671-1691.
- [3] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.中国骨质疏松症流行病学调查及“健康骨骼”专项行动结果发布[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2019,12(4):317-318.

- Chinese Society of Osteoporosis and Bone Mineral Research. Results of China's osteoporosis epidemiological survey and "healthy bones" special campaign released [J]. *Chin J Osteoporos Bone Miner Res*, 2019, 12(4): 317-318.
- [4] 孙凯, 魏戌, 朱立国, 等. 病证结合模式下骨质疏松症实验动物模型的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(9): 1340-1344.
- SUN K, WEI X, ZHU L G, et al. Research progress in experimental osteoporosis animal model under the combination of disease and syndrome [J]. *Chin J Osteoporos*, 2019, 25(9): 1340-1344.
- [5] 孙凯, 蒋伟文. 鼠衰老模型的建模方法概述 [J]. *中华老年口腔医学杂志*, 2017, 15(3): 181-184.
- SUN K, JIANG W W. A review of methods for ageing mouse models [J]. *Chin J Geriatr Dent*, 2017, 15(3): 181-184.
- [6] MA S, QIN J, HAO Y, et al. Association of gut microbiota composition and function with an aged rat model of senile osteoporosis using 16S rRNA and metagenomic sequencing analysis [J]. *Aging*, 2020, 12(11): 10795-10808.
- [7] WANG F, YANG G, LI Y, et al. A peptide from wheat germ abolishes the senile osteoporosis by regulating OPG/RANKL/RANK/TRAF6 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154304.
- [8] DE PAIVA GONÇALVES V, CABRERA-ORTEGA A A, CARVALHO J S, et al. Physiological testosterone replacement effects on male aged rats with orchietomy-induced osteoporosis in advanced stage: a tomographic and biomechanical pilot study [J]. *Aging Male*, 2021, 24(1): 139-147.
- [9] MARTÍN-FERNÁNDEZ M, GARZÓN-MÁRQUEZ F M, DÍAZ-CURIEL M, et al. Comparative study of the effects of osteoprotegerin and testosterone on bone quality in male orchidectomised rats [J]. *Aging Male*, 2020, 23(3): 189-201.
- [10] YEH P S, LEE Y W, CHANG W H, et al. Biomechanical and tomographic differences in the microarchitecture and strength of trabecular and cortical bone in the early stage of male osteoporosis [J]. *PLoS One*, 2019, 14(8): e0219718.
- [11] RYU S J, RYU D S, KIM J Y, et al. Changes in bone metabolism in young castrated male rats [J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(6): 1386-1394.
- [12] 李彦冉, 闫盼盼, 苗艳艳, 等. 骨质疏松动物模型构建进展与应用特点分析 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(7): 928-934.
- LI Y R, YAN P P, MIAO Y Y, et al. Establishment and application of osteoporosis animal models [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(7): 928-934.
- [13] SFEIR J G, DRAKE M T, KHOSLA S, et al. Skeletal aging [J]. *Mayo Clin Proc*, 2022, 97(6): 1194-1208.
- [14] 洪晶, 张娅俐, 闫莎莎, 等. D-半乳糖诱导衰老小鼠模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(3): 136-142.
- HONG J, ZHANG Y L, YAN S S, et al. Research progress of the D-galactose-induced aging mouse model [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(3): 136-142.
- [15] KIMBALL J S, JOHNSON J P, CARLSON D A. Oxidative stress and osteoporosis [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2021, 103(15): 1451-1461.
- [16] WANG S, FENG W, LIU J, et al. Alginate oligosaccharide alleviates senile osteoporosis via the RANKL-RANK pathway in D-galactose-induced C57BL/6J mice [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2022, 99(1): 46-55.
- [17] 王可欣, 陈彩玲, 郑晓艳, 等. 辅酶 Q₁₀ 对 D-半乳糖致雄性小鼠骨微结构和肌原纤维的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2019, 35(11): 1544-1550.
- WANG K X, CHEN C L, ZHENG X Y, et al. Effects of coenzyme Q₁₀ on bone microstructure and myofibril structure induced by D-galactose in male mice [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2019, 35(11): 1544-1550.
- [18] CHEN H, SHEN G, SHANG Q, et al. Plastrum testudinis extract suppresses osteoclast differentiation via the NF-κB signaling pathway and ameliorates senile osteoporosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 276: 114195.
- [19] 吴克芬, 胡予. D-半乳糖致衰老动物模型的建立及评价 [J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2012, 11(1): 74-78.
- WU K F, HU Y. Establishment and evaluation of D-galactose induced aging animal model [J]. *Chin J Mult Organ Dis Elder*, 2012, 11(1): 74-78.
- [20] 马绍勇, 杨梦, 王佳佳, 等. 快速老化 SAMP6 小鼠骨代谢及其分子机制研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(1): 16-19.
- MA S Y, YANG M, WANG J J, et al. Research progress on bone metabolism and molecular mechanisms in accelerated aging SAMP6 mice [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2024, 40(1): 16-19.
- [21] GONG W, LIU M, ZHANG Q, et al. Orcinol glucoside improves senile osteoporosis through attenuating oxidative stress and autophagy of osteoclast via activating Nrf2/Keap1 and mTOR signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5410377.
- [22] SIKORA M, ŚMIESZEK A, MARYCZ K. Bone marrow stromal cells (BMSCs CD45⁻/CD44⁺/CD73⁺/CD90⁺) isolated from osteoporotic mice SAM/P6 as a novel model for osteoporosis investigation [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(14): 6634-6651.
- [23] BRADASCHIA-CORREA V, JOSEPHSON A M, EGOL A J, et al. Ecto-5'-nucleotidase (CD73) regulates bone

- formation and remodeling during intramembranous bone repair in aging mice [J]. *Tissue Cell*, 2017, 49(5): 545–551.
- [24] JIN Z X, LIAO X Y, DA W W, et al. Osthone enhances the bone mass of senile osteoporosis and stimulates the expression of osteoprotegerin by activating β -catenin signaling [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 154.
- [25] ZHANG D M, CUI D X, XU R S, et al. Phenotypic research on senile osteoporosis caused by SIRT6 deficiency [J]. *Int J Oral Sci*, 2016, 8(2): 84–92.
- [26] WANG L, NIU N, LI L, et al. H3K36 trimethylation mediated by SETD2 regulates the fate of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(11): e2006522.
- [27] XU Z, GREENBLATT M B, YAN G, et al. SMURF2 regulates bone homeostasis by disrupting SMAD3 interaction with vitamin D receptor in osteoblasts [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14570.
- [28] KARAM N, LAVOIE J F, ST-JACQUES B, et al. Bone-specific overexpression of PITX1 induces senile osteoporosis in mice through deficient self-renewal of mesenchymal progenitors and Wnt pathway inhibition [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 3544.
- [29] TANAKA T, TAKAHASHI A, KOBAYASHI Y, et al. Foxf2 represses bone formation via Wnt2b/ β -catenin signaling [J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(6): 753–764.
- [30] LI C J, CHENG P, LIANG M K, et al. microRNA-188 regulates age-related switch between osteoblast and adipocyte differentiation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(4): 1509–1522.
- [31] RINOTAS V, NITI A, DACQUIN R, et al. Novel genetic models of osteoporosis by overexpression of human RANKL in transgenic mice [J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(5): 1158–1169.
- [32] PIGNOLO R J, SUDA R K, MCMILLAN E A, et al. Defects in telomere maintenance molecules impair osteoblast differentiation and promote osteoporosis [J]. *Aging Cell*, 2008, 7(1): 23–31.
- [33] 王明, 刘宝华. PML2 过表达促进 *Zmpste24*^{-/-} 早衰小鼠胚胎成纤维细胞衰老 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(6): 972–979.
- WANG M, LIU B H. PML2 overexpression promotes cellular senescence in *Zmpste24*^{-/-} MEFs [J]. *Chin J Cell Biol*, 2020, 42(6): 972–979.
- [34] RIVAS D, LI W, AKTER R, et al. Accelerated features of age-related bone loss in *zmpste24* metalloproteinase-deficient mice [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2009, 64(10): 1015–1024.
- [35] MAENZ S, BRINKMANN O, HASENBEIN I, et al. The old sheep: a convenient and suitable model for senile osteopenia [J]. *J Bone Miner Metab*, 2020, 38(5): 620–630.
- [36] CARNOVALI M, BANFI G, MARIOTTI M. Age-dependent modulation of bone metabolism in zebrafish scales as new model of male osteoporosis in lower vertebrates [J]. *Geroscience*, 2021, 43(2): 927–940.
- [37] 张宁, 王大伟, 郑晨颖, 等. 左归丸联合碳酸钙 D₃ 片治疗肾阴虚型老年性骨质疏松的疗效观察 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(4): 2411–2414.
- ZHANG N, WANG D W, ZHENG C Y, et al. Curative effect observation of the treatment of senile osteoporosis with kidney Yin deficiency in the combination of Caltrate D₃ and Zuogui Pills [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2021, 36(4): 2411–2414.
- [38] 史晓林, 刘康. 老年性骨质疏松症中西医结合诊疗指南 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2024, 30(7): 937–946.
- SHI X L, LIU K. Guideline for diagnosis and treatment of senile osteoporosis with the integrated traditional Chinese and Western medicine [J]. *Chin J Osteoporos*, 2024, 30(7): 937–946.
- [39] PARVEEN B, PARVEEN A, VOHORA D. Biomarkers of osteoporosis: an update [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2019, 19(7): 895–912.
- [40] 边平达, 寿张轩, 李秀央, 等. 高龄男性血清 I 型胶原 C-末端肽交联的独立相关因素 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2018, 11(6): 564–569.
- BIAN P D, SHOU Z X, LI X Y, et al. Independent factors associated with serum C-terminal telopeptide of type I collagen in men aged 80 and over [J]. *Chin J Osteoporos Bone Miner Res*, 2018, 11(6): 564–569.
- [41] WANG S, FENG W, LIU J, et al. Alginate oligosaccharide alleviates senile osteoporosis via the RANKL-RANK pathway in D-galactose-induced C57BL/6J mice [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2022, 99(1): 46–55.
- [42] 郭鱼波, 马如风, 王丽丽, 等. 骨质疏松动物模型及其评价方法的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(9): 1149–1154.
- GUO Y B, MA R F, WANG L L, et al. The research progress in animal osteoporotic models and the evaluating methods [J]. *Chin J Osteoporos*, 2015, 21(9): 1149–1154.
- [43] TANG X F, MA Z T, GAO Y Y, et al. Systemic osteoprotective effects of *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* in senile osteoporosis rats by promoting the osteoblastogenesis and osteoclastogenesis based on MLP-ANN model [J]. *Chin Med*, 2020, 15: 87.