

力量训练改善去卵巢模型大鼠骨损伤的作用机制

杨梦晓¹, 付常喜²

<https://doi.org/10.12307/2024.342>

投稿日期: 2023-05-10

采用日期: 2023-06-05

修回日期: 2023-06-21

在线日期: 2023-07-08

中图分类号:

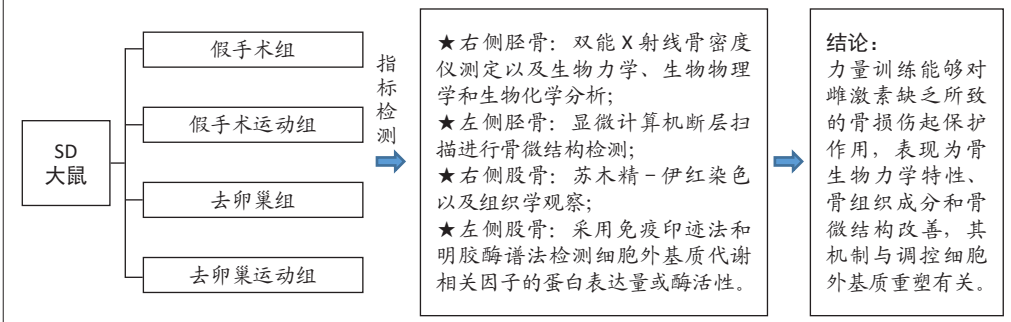
R459.9; R318; G804.5

文章编号:

2095-4344(2024)20-03150-07

文献标识码: B

文章快速阅读: 力量训练对去卵巢大鼠骨形态学、材料学和生物力学的作用及机制



主题释义:

绝经后骨质疏松: 是一种与衰老有关的常见病, 发生在绝经后妇女, 由于雌激素缺乏导致骨量减少及骨组织结构变化, 使骨脆性增加、易于骨折。由骨折引起的疼痛、骨骼变形和相关合并症严重影响绝经后妇女的身心健康和睡眠质量, 甚至缩短寿命。

力量训练: 又称为抗阻训练, 是一种通过对抗外界阻力进行的主动运动, 主要用于发展肌肉力量, 广泛用于各种原因所致的肌肉萎缩。此外, 力量训练能够有效改善骨密度, 因此是骨质疏松患者的最佳运动方式。

摘要

背景: 绝经后骨质疏松导致骨折风险明显增加, 严重影响患者生活质量。运动疗法是骨质疏松患者重要的非药物手段和防治策略, 其中力量训练是最佳方式, 然而其具体生物学机制尚未确定。

目的: 探讨力量训练对去卵巢大鼠骨形态学、材料学和生物力学的影响, 探讨细胞外基质重塑在其中的作用机制。

方法: 48只雌性SD大鼠依据随机数字表法分为假手术组、假手术运动组、去卵巢组和去卵巢运动组。去卵巢组和去卵巢运动组采用双侧卵巢摘除术建立绝经动物模型, 假手术组和假手术运动组进行假手术。术后4周, 假手术运动组和去卵巢运动组进行12周尾部负重爬梯训练, 假手术组和去卵巢组在鼠笼内安静饲养。最后一次训练后分离双侧股骨和胫骨, 右侧胫骨用于双能X射线骨密度仪测定以及生物力学、生物物理学和生物化学分析, 左侧胫骨用显微计算机断层扫描进行骨微结构检测, 右侧股骨行苏木精-伊红染色以及组织学观察, 左侧股骨采用免疫印迹法和明胶酶谱法检测细胞外基质代谢相关因子的蛋白表达量或酶活性。

结果与结论: ①与假手术组比较, 去卵巢组最大载荷和刚度下降($P < 0.05$), 骨密度、骨矿密度、骨无机质含量、骨钙含量降低($P < 0.05$), 骨水含量升高($P < 0.05$), 骨小梁体积分数、骨小梁连接密度、骨小梁数量降低($P < 0.05$), 骨小梁分离度、结构模型指数升高($P < 0.05$), 骨组织脂肪细胞数量和横截面积增加($P < 0.05$), 基质金属蛋白酶2活性下降($P < 0.05$), 金属蛋白酶组织抑制物1和骨保护素蛋白表达升高($P < 0.05$)。②与去卵巢组比较, 去卵巢运动组最大载荷、刚度、断裂载荷和弹性升高($P < 0.05$), 骨密度、骨矿含量、骨矿密度、骨无机质含量、骨钙含量增加($P < 0.05$), 骨水含量下降($P < 0.05$), 骨小梁分离度、骨髓面积下降($P < 0.05$), 骨小梁厚度、皮质骨体积分数、皮质骨面积分数、皮质骨厚度、皮质骨孔隙度增加($P < 0.05$), 骨组织脂肪细胞数量和横截面积减少($P < 0.05$), 基质金属蛋白酶2活性升高($P < 0.05$), 金属蛋白酶组织抑制物1、Runt相关转录因子2、骨保护素蛋白表达下降($P < 0.05$)。结果表明, 力量训练能够对雌激素缺乏所致的骨损伤起保护作用, 表现为骨生物力学特性、骨组织成分和骨微结构改善, 其机制与调控细胞外基质重塑有关。

关键词: 力量训练; 去卵巢; 绝经; 骨质疏松; 生物力学; 细胞外基质

Mechanism by which strength training improves bone injury in ovariectomized rats

Yang Mengxiao¹, Fu Changxi²

¹School of Physical Education, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China; ²Department of Physical Education, Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221008, Jiangsu Province, China

Yang Mengxiao, Master, Assistant, School of Physical Education, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Fu Changxi, PhD candidate, Associate professor, Department of Physical Education, Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221008, Jiangsu Province, China

Abstract

BACKGROUND: Postmenopausal osteoporosis significantly increases the risk of fracture, which seriously affects the quality of life of patients. Exercise therapy is an important non-drug means and prevention and treatment strategy for patients with osteoporosis, in which strength training is the best mode, but its specific

¹ 中国矿业大学体育学院, 江苏省徐州市 221116; ² 徐州工程学院体育学院, 江苏省徐州市 221008

作者简介: 杨梦晓, 女, 1997年生, 山东省济南市人, 汉族, 2021年中国矿业大学体育学院毕业, 硕士, 助教, 主要从事运动与健康方面的研究。

通讯作者: 付常喜, 在读博士, 副教授, 徐州工程学院体育学院, 江苏省徐州市 221008

<https://orcid.org/0009-0002-9208-184X>(杨梦晓)

基金资助: 江苏省社会科学基金项目(22TYD001), 项目负责人: 付常喜

引用本文: 杨梦晓, 付常喜. 力量训练改善去卵巢模型大鼠骨损伤的作用机制[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(20):3150-3156.



biological mechanism has not been determined.

OBJECTIVE: To investigate the effects of strength training on bone morphology, materials and biomechanics in ovariectomized rats and to explore the mechanism of extracellular matrix remodeling.

METHODS: Forty-eight female Sprague-Dawley rats were divided into sham operation group, sham operation exercise group, ovariectomized group and ovariectomized exercise group according to the random number table method. The menopausal animal model was established by bilateral ovariectomy in the ovariectomized group and ovariectomized exercise group, while sham operation was performed in the sham operation group and sham operation exercise group. Four weeks after operation, the sham operation exercise group and the ovariectomized exercise group underwent 12-week tail weight-bearing ladder training, and the sham operation group and the ovariectomized group were raised quietly in the cage. The bilateral femur and tibia were separated after training. The right tibia was used for dual-energy X-ray densitometry and biomechanical, biophysical and biochemical analyses, the left tibia was detected using micro-computed tomography for bone microstructural examination, the right femur was subjected to hematoxylin-eosin staining for histological observation, and the left femur was used for western blot and gelatin zymography detection of protein expression and enzyme activity of extracellular matrix metabolism-related factors, respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the sham operation group, the maximal load and stiffness decreased ($P < 0.05$), bone density, bone mineral density, bone inorganic matter content, bone calcium content decreased ($P < 0.05$), bone water content increased ($P < 0.05$), trabecular bone volume fraction, trabecular connectivity density, and trabecular number decreased ($P < 0.05$), trabecular separation, structural model index increased ($P < 0.05$), bone adipocyte number and cross-sectional area increased ($P < 0.05$), matrix metalloproteinase-2 activity decreased ($P < 0.05$), and protein expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and osteoprotegerin increased ($P < 0.05$) in the ovariectomized group. Compared with the ovariectomized group, the maximal load, stiffness, fracture load and resilience increased ($P < 0.05$), bone mineral density, bone mineral content, bone mineral density, bone inorganic matter content, and bone calcium content increased ($P < 0.05$), bone water content decreased ($P < 0.05$), trabecular separation and bone marrow area decreased ($P < 0.05$), trabecular bone thickness, cortical bone volume fraction, cortical bone area fraction, cortical bone thickness, and cortical bone porosity increased ($P < 0.05$), bone adipocyte number and cross-sectional area reduced ($P < 0.05$), matrix metalloproteinase-2 activity increased ($P < 0.05$), and protein expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1, Runt-related transcription factor 2 and osteoprotegerin decreased ($P < 0.05$) in the ovariectomized exercise group. To conclude, strength training can protect against bone injury caused by estrogen deficiency, which is characterized by improvement of bone biomechanical properties, bone tissue composition and bone microstructure, and its mechanism is related to the regulation of extracellular matrix remodeling.

Key words: strength training; ovariectomy; menopause; osteoporosis; biomechanics; extracellular matrix

Funding: the Social Science Foundation of Jiangsu Province, No. 22TYD001 (to FCX)

How to cite this article: YANG MX, FU CX. Mechanism by which strength training improves bone injury in ovariectomized rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(20):3150-3156.

0 引言 Introduction

绝经后骨质疏松已成为严重的公共卫生问题，由于骨微结构破坏、骨脆性增加，骨折风险明显升高^[1]。据报道，发生髌部骨折后 1 年内，20% 患者可能死于各种并发症，约 50% 患者致残^[2]，严重影响患者生活质量并给社会带来沉重的经济负担。雌激素能够抑制破骨细胞分化、减少成骨细胞和骨细胞凋亡，对骨代谢以及细胞外基质重塑具有重要调节作用^[3]。绝经后骨质疏松症的显著特征是骨细胞外基质重塑失衡，骨吸收速率超过骨形成，从而导致骨微观结构退化以及脆性增加^[1]。因此，改善细胞外基质重塑可能是防治骨质疏松的重要策略和靶位^[4]。

基质金属蛋白酶是一类结构上高度同源的锌依赖性内肽酶家族，能够降解细胞外基质组分；此外，基质金属蛋白酶激活后，其蛋白水解活性还受金属蛋白酶组织抑制物的负反馈调节，两者相互作用，共同维持骨细胞外基质代谢稳态^[5]。基质金属蛋白酶参与细胞分化、迁移、凋亡以及多种组织发育、修复的生理过程^[5]。研究发现，基质金属蛋白酶 2、基质金属蛋白酶 13、金属蛋白酶组织抑制物 1、Runt 相关转录因子 2、骨保护素在骨细胞外基质重塑和骨量调节中起重要作用^[6-7]。基质金属蛋白酶 2 能够将变性的胶原进一步裂解，破坏软骨基质；基质金属蛋白酶 13 可直接降解软骨基质中的胶原，破坏骨架结构，参与骨质疏松的病理过程；Runt 相关转录因子 2 促进成骨细胞分化并参与骨基质蛋白合成；骨保护素是破骨细胞分化因子的诱导受体，通过与破骨细胞分化因子结合减少破骨细胞产生^[6-7]。

目前骨质疏松症治疗的基本思路是防止骨量流失和 / 或促进骨形成^[8]。运动康复疗法作为骨质疏松患者的非药物手段和防治策略，能够促进骨形成、抑制骨吸收并减少骨折风险，减轻疼痛、改善平衡和活动能力并提高生活质量^[9]，因

此是患者临床治疗的重要补充。临床研究证实，负重运动尤其是力量训练能够改善绝经后女性骨密度和骨代谢，增强肌肉力量，提高生活质量^[10-12]。动物实验进一步发现，力量训练可诱导间充质干细胞向成骨细胞分化^[13]。然而骨细胞外基质对机械刺激的适应及机制鲜有关注。该研究以去卵巢大鼠为实验模型，观察力量训练对模型动物骨形态学、材料学和生物力学的影响，并探讨细胞外基质重塑在其中的作用机制。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验，组间比较采用双因素方差分析，多重比较使用 LSD 检验。

1.2 时间及地点 实验于 2022 年 5-12 月在中国矿业大学体育学院运动生理实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 6 周龄雌性 SD 大鼠 48 只，SPF 级，体质量 (170.25 ± 5.32) g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，许可证号：SCXK(京)2018-0027。分笼饲养(4 只/笼)于 (22 ± 2) °C、相对湿度 (60 ± 5)% 的环境中，自由进食水。大鼠适应环境 1 周后开始正式实验。实验方案经中国矿业大学实验动物福利伦理委员会批准 (伦理编号：CUMT-2022-03-008)。

1.3.2 实验试剂和仪器 戊巴比妥钠 (江苏恒瑞医药股份有限公司)；骨生化试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司)；苏木精-伊红染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司)；基质金属蛋白酶 13 一抗 (1 : 2 000, 英国 Abcam 公司)；金属蛋白酶组织抑制物 1 一抗 (1 : 1 000, 英国 Abcam 公司)；I 型胶原蛋白一抗 (1 : 1 000, 美国 Santa cruz 公司)；Runt 相关转录因子 2 一抗 (1 : 500, 美国 Santa cruz 公司)；骨保护素一抗 (1 : 2 000, 美国 Santa cruz 公司)；内参蛋白甘油醛-3-

磷酸脱氢酶一抗(1:2 000, 美国 Santa cruz 公司);二抗(1:5 000, 武汉博士德生物工程有限公司);低温冰箱(美国 Thermo 公司);双能 X 射线骨密度仪(XR-36 型, 美国 Norland 公司);万能材料试验机(CTM 3367, 美国 INSTRON 公司);小动物活体 Micro-CT 系统(SkyScan 1176 型, 德国 Bruker 公司);切片器(RM 2016 型, 德国徕卡公司);倒置相差显微镜(IX 71 型, 日本奥林巴斯公司);凝胶成像系统(Chemidoc XRS, 美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 分组与动物模型制作 将大鼠依据随机数字表法分为假手术组、假手术运动组、去卵巢组和去卵巢运动组, 每组 12 只。参照 WANG 等^[14]的研究, 去卵巢组和去卵巢运动组采用双侧卵巢摘除术建立绝经(雌激素缺乏)动物模型, 方法如下: 1% 戊巴比妥钠(0.06 g/kg)腹腔麻醉大鼠并备皮, 自腰椎沿背部正中线左/右侧旁开 2.0–3.0 cm 向下做纵行切口, 进入腹腔钝性剥离脂肪组织, 暴露子宫和卵巢, 用手术线在子宫与卵巢之间结扎后摘除卵巢, 随后缓慢将子宫放回腹腔, 逐层缝合。假手术组和假手术运动组仅切除卵巢周围的脂肪组织, 其他操作同上。术后连续 3 d, 所有大鼠均给予青霉素 2 万 U/(kg·d)肌注, 以防止感染。术后恢复 4 周, 恢复期内每日进行阴道脱落细胞涂片检查, 若连续 5 d 无动情周期证明绝经造模成功。4 周后各组给予以下干预: 假手术运动组和去卵巢运动组进行 12 周力量训练, 假手术组和去卵巢组在鼠笼内安静饲养。48 只大鼠在饲养、模型制作以及干预过程中, 由于造模失败、拒绝训练以及意外死亡等原因, 共剔除大鼠 7 只, 因此最终样本量为 41 只, 分别为: 假手术组 12 只、假手术运动组 11 只、去卵巢组 10 只和去卵巢运动组 8 只。

1.4.2 大鼠运动方案 参照 LEE 等^[15]和付鹏宇等^[16]建立的方法以及前期预实验制定运动方案, 即假手术运动组和去卵巢运动组大鼠进行为期 12 周(3 次/周, 周一、周三和周五)的尾部递增负重爬梯训练。采用食物诱惑法先进行 2 周适应性爬梯训练(爬梯高 1 m, 爬格间距 2 cm, 与地面呈 85° 夹角, 顶端放置一 20 cm×20 cm×20 cm 休息平台), 以不负重起始, 负荷每天递增体质量的 10%, 逐渐增加至体质量的 50%。大鼠从爬梯底部爬到顶部为 1 次训练, 控制每次攀爬时间在 10 s 内完成, 每组训练 5 次, 共完成 3 组, 次间间歇 30 s, 组间间歇 2 min(于爬梯顶端平台休息)。正式训练从 50% 体质量开始递增负重, 每次增加 10%, 直至增加至体质量的 130%(负重通过调节大鼠尾部悬挂的离心管中钢珠数量来调整), 而后保持该负重, 直至训练结束, 见图 1。

1.4.3 组织取材 末次训练结束后 72 h(避免急性运动的影响), 大鼠禁食过夜后 1% 戊巴比妥钠(0.06 g/kg)腹腔麻醉并断头处死, 分离双侧股骨和胫骨。取右侧胫骨, 储存于 -20 °C 生理盐水中, 用于双能 X 射线骨密度仪测定以及生物力学、生物物理学和生物化学分析; 取左侧胫骨(前期处理与右侧胫骨相同)用于显微计算机断层扫描分析。取右侧股骨置于体

积分数 10% 甲醛溶液中浸泡 24 h, 转移至 4%EDTA 中脱钙 3 周后进行苏木精-伊红染色以及组织学观察; 取左侧股骨置于液氮中并转移至 -80 °C 低温冰箱储存, 用于分子生物学检测(蛋白表达以及酶谱分析)。

1.5 主要观察指标

1.5.1 骨量检测(右侧胫骨) 利用双能 X 射线骨密度仪检测大鼠右侧胫骨骨量参数。先将胫骨置于装满 37 °C 蒸馏水的容器中, 室温下进行扫描。扫描时采用 Hi-res、small animal 模式, 扫描速度 60 mm/s, 分辨率 1.0 mm×1.0 mm。对每个扫描图像定义为覆盖全骨、骨干中段、近端和远端的感兴趣区, 获取骨矿密度、骨矿含量和骨面积。连续测量 5 次取均值。

1.5.2 骨生物力学检测(右侧胫骨) 骨密度检测后, 通过三点弯曲实验检测右侧胫骨生物力学参数(结构和材料特性)。从容器中取出右侧胫骨称量湿质量, 随后置于干燥器中 24 h, 取出测量干质量。将胫骨用浸透生理盐水的无菌纱布包裹。于冠状面上将胫骨前面向上置于万能材料试验机 2 个滚轴上, 使骨骼中轴处承受向下的垂直载荷, 以 5 mm/min 加载速度、支点跨距 20 mm 施加压力直至骨骼断裂。根据“位移-载荷”曲线获取以下参数: 最大载荷、刚度、断裂载荷、弹性和韧性。

1.5.3 骨生物物理学检测(右侧胫骨) 生物力学检测后, 将右侧胫骨在马弗炉(800 °C)中灰化 24 h 获得灰分, 测量灰分质量。利用阿基米德原理和以下公式获取骨骼生物物理学参数: 骨体积(cm^3)=(骨湿质量-骨干质量)÷水密度; 骨密度(g/cm^3)=骨湿质量÷骨体积; 骨矿密度(g/cm^3)=骨灰分质量÷骨体积; 骨有机质含量(%)=(骨干质量-骨灰分质量)÷骨体积×100%; 骨无机质含量(%)=骨灰分质量÷骨体积×100%; 骨水含量(%)=(骨湿质量-骨干质量)÷骨湿质量×100%。

1.5.4 骨生化检测(右侧胫骨) 在右侧胫骨生物物理学检测后的骨灰分中加入 2 mol/L 盐酸溶液 10 mL 煮沸溶解, 冷却至室温后, 采用乙二胺四乙酸法检测骨钙含量, 利用钼黄分光光度法检测骨磷含量。试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.5.5 骨微结构检测(左侧胫骨) 取左侧胫骨, 体积分数 75% 乙醇固定 1 周, 生理盐水浸泡过夜后利用显微计算机断层扫描(小动物活体 Micro-CT 系统, SkyScan 1176, 德国 Bruker 公司)检测骨微结构。扫描仪的基本参数为: 电压 55 kV, 电流 200 μA , 总旋转角 360°, 旋转角增量 0.4°, 小梁区分辨率为 10.5 μm , 皮质区分辨率为 21 μm 。扫描后, 使用 Scanco 软件对图像进行三维重建并获取下列参数: 骨小梁体积分数、骨小梁连接密度、骨小梁数量、骨小梁分离度、骨小梁厚度、结构模型指数、皮质骨体积分数、皮质骨面积分数、皮质骨厚度、皮质骨孔隙度和骨髓面积。

1.5.6 骨组织形态学检测(右侧股骨) 取右侧股骨的股骨头和股骨颈部分, 梯度乙醇脱水, 石蜡包埋, 制作 5 μm 厚组织切片后苏木精-伊红染色。倒置相差显微镜下观察其组织学变化, 利用图像分析软件(Image Pro Plus 6.0, 美国)对脂

肪细胞进行计数 (每 mm^2 骨髓面积内的脂肪细胞数量) 并计算脂肪细胞横截面积 (与骨髓面积的比值)。

1.5.7 蛋白表达量检测 (左侧股骨) 取左侧股骨, 组织匀浆后取上清, BCA 法测定总蛋白浓度。利用免疫印迹法检测以下蛋白表达量: 基质金属蛋白酶 13 (1 : 2 000), 金属蛋白酶组织抑制物 1 (1 : 1 000), I 型胶原蛋白 (1 : 1 000), Runt 相关转录因子 2 (1 : 500) 和骨保护素 (1 : 2 000)。

取 20 μg 蛋白样品在垂直电泳仪上经 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶分离后, 转移至聚偏氟乙烯膜上。用 5% 牛血清白蛋白封闭, 兔抗鼠一抗 4°C 孵育过夜, 二抗 (辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG, 1 : 5 000) 室温孵育 1 h。充分洗涤后, 使用 ECL 发光成像, X 射线胶片压片曝光, 利用凝胶成像系统拍摄并扫描各条带吸光度值。选取甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (1 : 2 000) 为内参蛋白, 以各组与假手术组的倍数作为目的蛋白相对表达量。

1.5.8 明胶酶谱分析 (左侧股骨) 参照刘芃等^[17]的研究, 利用明胶酶谱法分析左侧股骨基质金属蛋白酶 2 活性。组织匀浆后 4°C 、12 000 $\times g$ 离心 20 min 取上清, BCA 法检测总蛋白浓度。取 20 μg 蛋白样品在含 1 mg/mL 明胶的 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶中电泳。用 2.5% Triton X-100 洗涤凝胶 2 次, 考马斯亮蓝染色 1.5 h, 脱色液 (乙酸: 甲醇: 水 = 1 : 4 : 5) 脱色。凝胶成像系统拍照, 图像分析软件 (Image Pro Plus 6.0, 美国) 半定量分析各条带吸光度值。计算各组与假手术组的比值作为基质金属蛋白酶 2 相对活性。

1.6 统计学分析 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 20.0 进行数据统计分析。各参数 4 组间比较时先进行正态性检验和方差齐性检验, 满足正态分布和方差齐性后采用双因素方差分析, 多重比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。文章统计学方法已经通过中国矿业大学生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 力量训练对去卵巢大鼠骨生物力学的影响 与假手术组比较, 假手术运动组骨韧性增加 ($P < 0.05$), 去卵巢组最大载荷和刚度下降 ($P < 0.05$)。与去卵巢组比较, 去卵巢运动组最大载荷、刚度、断裂载荷和弹性均升高 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.2 力量训练对去卵巢大鼠骨骼成分 (生物物理学和生物化学) 的影响 与假手术组比较, 假手术运动组骨磷含量增加 ($P < 0.05$); 去卵巢组骨矿密度 (面积密度)、骨密度、骨矿密度 (体积密度)、骨无机质含量、骨钙含量下降 ($P < 0.05$), 骨水含量升高 ($P < 0.05$); 去卵巢运动组骨有机质含量和骨磷含量增加 ($P < 0.05$)。与去卵巢组比较, 去卵巢运动组骨矿密度 (面积密度)、骨矿含量、骨密度、骨矿密度 (体积密度)、骨无机质含量、骨钙含量升高 ($P < 0.05$), 骨水含量下降 ($P < 0.05$)。各组骨面积和骨体积比较无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3。

2.3 力量训练对去卵巢大鼠骨微结构的影响 与假手术组比较, 去卵巢组骨小梁体积分数、骨小梁连接密度、骨小梁数量下降 ($P < 0.05$), 骨小梁分离度、结构模型指数升高 ($P < 0.05$);

去卵巢运动组骨小梁体积分数、骨小梁连接密度、骨小梁数量、骨髓面积下降 ($P < 0.05$), 骨小梁分离度、骨小梁厚度、结构模型指数、皮质骨体积分数、皮质骨面积分数、皮质骨厚度升高 ($P < 0.05$)。与去卵巢组比较, 去卵巢运动组骨小梁分离度、骨髓面积下降 ($P < 0.05$), 骨小梁厚度、皮质骨体积分数、皮质骨面积分数、皮质骨厚度、皮质骨孔隙度增加 ($P < 0.05$), 见图 4。

2.4 力量训练对去卵巢大鼠骨组织形态学的影响 骨组织苏木精-伊红染色显示: 假手术组和假手术运动组骨小梁排列紧密、厚度均匀; 去卵巢组骨细胞缺失, 脂肪细胞 (箭头所示) 明显增加, 骨小梁间隙较大, 排列紊乱; 去卵巢运动组骨细胞数增多, 脂肪细胞显著减少, 排列较紧密, 骨小梁厚度增加, 见图 5。

与假手术组比较, 去卵巢组和去卵巢运动组骨脂肪细胞数量和横截面积均增加 ($P < 0.05$)。与去卵巢组比较, 去卵巢运动组骨脂肪细胞数量和横截面积减少 ($P < 0.05$), 见图 6。

2.5 力量训练对去卵巢大鼠细胞外基质重塑相关因子的影响 与假手术组比较, 假手术运动组基质金属蛋白酶 2 活性和 Runt 相关转录因子 2 蛋白表达增加 ($P < 0.05$); 去卵巢组基质金属蛋白酶 2 活性和基质金属蛋白酶 13 蛋白表达下降 ($P < 0.05$), 金属蛋白酶组织抑制物 1、Runt 相关转录因子 2 和骨保护素蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 去卵巢运动组基质金属蛋白酶 2 活性升高 ($P < 0.05$), 基质金属蛋白酶 13 蛋白表达量下降 ($P < 0.05$)。与去卵巢组比较, 去卵巢运动组基质金属蛋白酶 2 活性升高 ($P < 0.05$), 金属蛋白酶组织抑制物 1、Runt 相关转录因子 2、骨保护素蛋白表达下降 ($P < 0.05$), 见图 7。

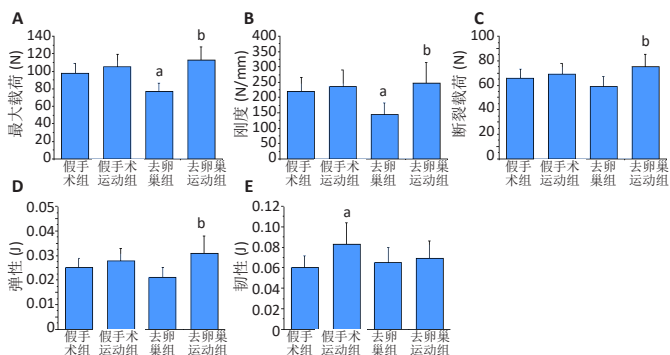
3 讨论 Discussion

3.1 力量训练对去卵巢大鼠骨损伤的疗效 雌激素缺乏造成骨损伤, 其生物力学性能随之发生改变^[18]。该研究结果显示, 雌激素缺乏并未改变断裂载荷, 然而最大载荷和刚度下降, 提示骨骼抵抗外力的能力降低, 这在之前的多项研究中同样得到印证^[18-20]。有研究指出, 骨折的发生不完全取决于骨密度和骨强度, 细胞外基质中的胶原成分可通过产生微损伤分散压力, 从而提高抗骨折能力^[21]。尽管去卵巢组断裂载荷较假手术组无显著性变化, 但由于最大载荷下降, 因此可能存在微观结构异常如骨小梁变细、断裂等。与去卵巢组比较, 去卵巢运动组骨弹性增加。由于骨弹性与其吸收应力和抵御损伤的能力呈正相关^[22], 提示力量训练改善去卵巢大鼠骨重塑进程并提高抗骨折能力, 去卵巢运动组断裂载荷明显升高也证实了这一推断。此外, 假手术运动组较假手术组骨韧性增加, 表明该组大鼠骨骼质量更佳, 这是因为韧性提高预示发生骨折前可吸收的能量更多^[23]。上述结果提示, 力量训练对健康和损伤骨骼均具有有益作用。

有机质 (胶原蛋白) 和无机质 (矿物质) 之间的动态平衡对于维持骨微观结构具有重要作用, 因此两者稳态失衡可造成微损伤, 进而破坏骨的生物力学功能^[4]。该研究去卵巢



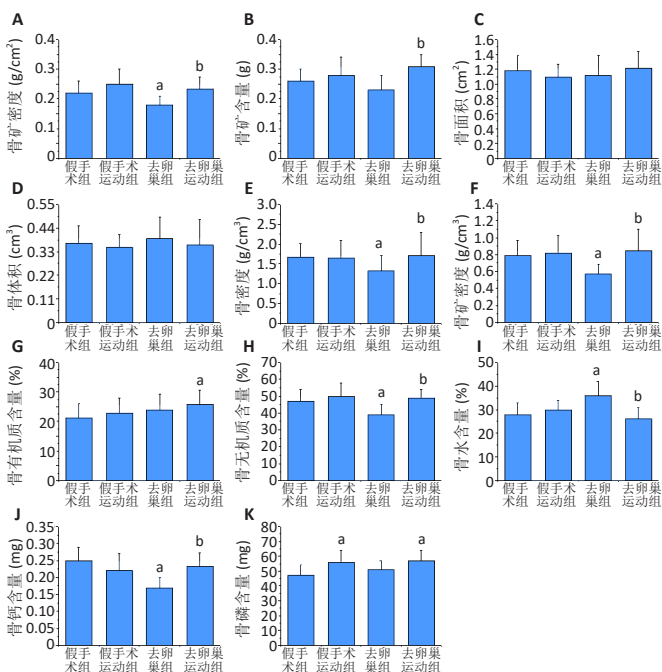
图1 | 尾部递增负重爬梯训练
Figure 1 | Tail incremental weight-bearing ladder training



图注：图A为最大载荷；B为刚度；C为断裂载荷；D为弹性；E为韧性；与假手术组比较，^a $P < 0.05$ ；与去卵巢组比较，^b $P < 0.05$

图2 | 力量训练对去卵巢大鼠骨生物力学的影响

Figure 2 | Effect of strength training on bone biomechanics in ovariectomized rats

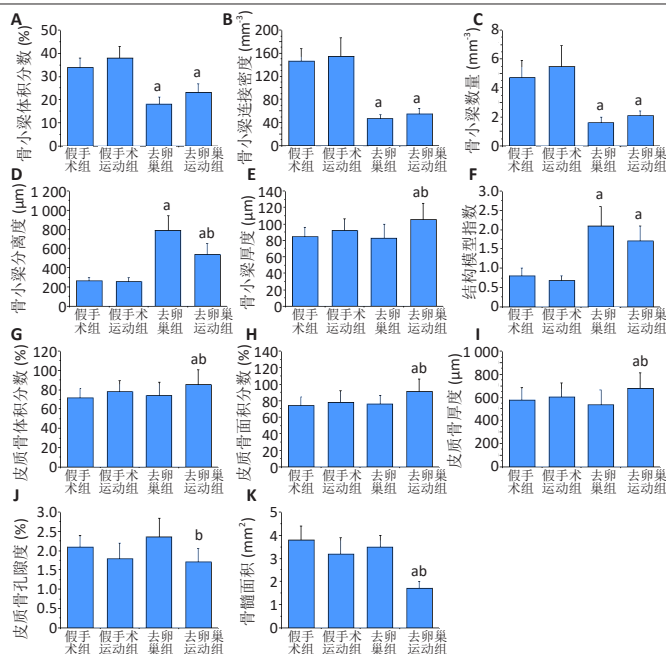


图注：图A为骨矿密度（面积密度， g/cm^2 ）；B为骨矿含量；C为骨面积；D为骨体积；E为骨密度；F为骨矿密度（体积密度， g/cm^3 ）；G为骨有机质含量；H为骨无机质含量；I为骨水含量；J为骨钙含量；K为骨磷含量。与假手术组比较，^a $P < 0.05$ ；与去卵巢组比较，^b $P < 0.05$

图3 | 力量训练对去卵巢大鼠骨骼成分的影响

Figure 3 | Effect of strength training on bone composition in ovariectomized rats

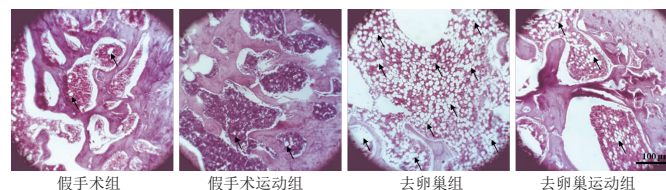
组骨密度、骨无机质含量、骨钙含量下降，提示雌激素缺乏引起骨强度下降、骨脆性增加。此外，骨中的水分亦可对骨力学特征产生影响^[24]。在该研究中，去卵巢组含水量增加，与JU等^[25]的结果一致，骨组织内水分增加与骨矿化减少有关。经过运动干预后，骨矿含量、骨密度、骨无机质和有机



图注：图A为骨小梁体积分数；B为骨小梁连接密度；C为骨小梁数量；D为骨小梁分离度；E为骨小梁厚度；F为结构模型指数；G为皮质骨体积分数；H为皮质骨面积分数；I为皮质骨厚度；J为皮质骨孔隙度；K为骨髓面积。与假手术组比较，^a $P < 0.05$ ；与去卵巢组比较，^b $P < 0.05$

图4 | 力量训练对去卵巢大鼠骨微结构的影响

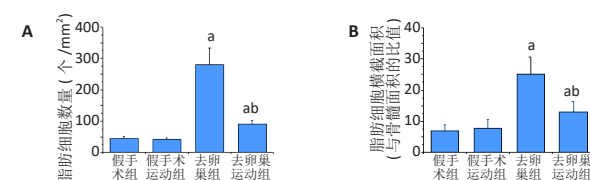
Figure 4 | Effect of strength training on bone microstructure in ovariectomized rats



图注：箭头所示为脂肪细胞

图5 | 各组大鼠骨组织形态学观察（苏木精-伊红染色，×400）

Figure 5 | Morphological observation of rat bone tissue (hematoxylin-eosin staining, ×400)



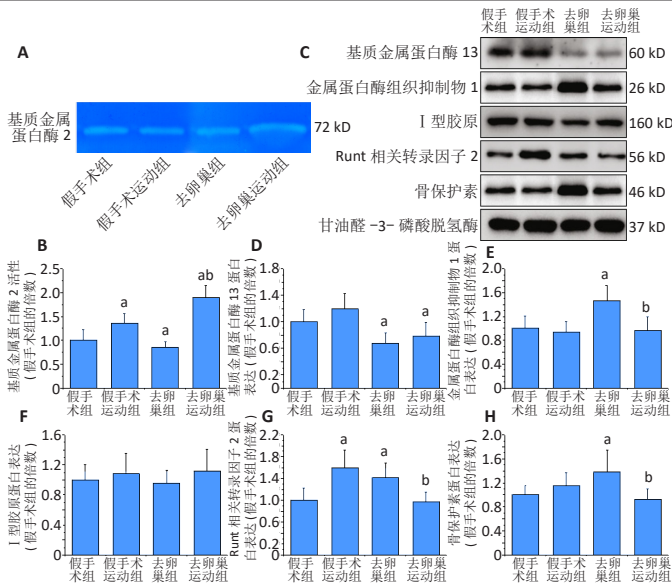
图注：图A为脂肪细胞数量；B为脂肪细胞横截面积。与假手术组比较，^a $P < 0.05$ ；与去卵巢组比较，^b $P < 0.05$

图6 | 力量训练对去卵巢大鼠脂肪细胞数量和脂肪细胞横截面积的影响

Figure 6 | Effect of strength training on bone adipocyte numbers and cross-sectional area in ovariectomized rats

质含量升高，骨水含量下降，提示骨骼成分（生物物理学和生物化学）得到改善。在该研究中，卵巢切除术后恢复4周，这一阶段雌激素水平急剧下降并已对骨骼造成不良影响^[26]。因此，结合该研究结果推测，力量训练不仅能够阻止而且可逆转去卵巢大鼠骨质疏松性增加，表明该运动方式对绝经后骨质疏松具有预防和治疗作用。

骨微观结构损伤（尤其是骨小梁，表现为骨小梁变细、数量减少）是骨质疏松骨折的重要原因，这在此研究显微计算机断层扫描结果中得到进一步印证。与去卵巢组比



图注：图A为基质金属蛋白酶2明胶酶谱电泳图；B为基质金属蛋白酶2活性；C为免疫印迹蛋白电泳图；D为基质金属蛋白酶13蛋白表达；E为金属蛋白酶组织抑制物1蛋白表达；F为I型胶原蛋白表达；G为Runx2相关转录因子2蛋白表达；H为骨保护素蛋白表达。与假手术组比较，^a $P < 0.05$ ；与去卵巢组比较，^b $P < 0.05$

图7 | 力量训练对去卵巢大鼠细胞外基质重塑相关因子的影响

Figure 7 | Effect of strength training on factors related to extracellular matrix remodeling in ovariectomized rats

较，去卵巢运动组骨小梁分离度和骨小梁厚度明显改善，与MEAKIN等^[27]让老年雌性小鼠进行跑台运动以及TANG等^[28]让肥胖大鼠进行力量训练的研究结果类似。此外，去卵巢运动组骨皮质各参数均较去卵巢组改善，提示力量训练能够对雌激素缺乏诱导的骨脆性增加起延缓作用。

研究发现，骨髓脂肪组织积聚与骨质疏松症的发生发展有关。骨髓脂肪组织产生的细胞因子、脂肪因子、类固醇和游离脂肪酸可影响成骨过程，同时骨密度与骨髓脂肪组织之间呈反向关联^[29-30]。已证实，机械负荷能够调控骨髓中的脂肪含量^[29]，然而骨髓脂肪与骨脆性以及运动的关系则鲜有关。该研究发现，去卵巢组动物脂肪细胞数量和横截面积显著增加，这与HUANG等^[30]的研究结果一致。经过12周运动后，去卵巢运动组骨髓脂肪细胞数量和横截面积较去卵巢组显著下降，提示力量训练改善雌激素缺乏诱导的骨髓脂肪堆积，进而促进骨形成并改善骨脆性。

3.2 力量训练对去卵巢大鼠骨细胞外基质代谢的影响 骨细胞外基质代谢紊乱在雌激素诱导的骨损伤中扮演关键角色，多种因子参与了这一过程^[5-7]。基质金属蛋白酶2由成骨细胞、成纤维细胞和巨噬细胞等分泌，能够促进成骨分化，因此对维持骨量具有关键作用，其活性下降与胶原结构破坏以及骨量丢失有关^[6]。SHIGUEMOTO等^[31]发现，去卵巢大鼠胫骨基质金属蛋白酶2活性显著下调，而力量训练后基质金属蛋白酶2活性明显升高。该研究训练方案与SHIGUEMOTO等^[31]的研究稍有不同（倾斜梯 vs. 垂直梯），但研究结果基本一致，提示力量训练可通过上调基质金属蛋白酶2活性改善骨细胞外基质重塑。

成骨细胞还可产生基质金属蛋白酶13，后者对维持骨骼质量同样重要^[7]。基质金属蛋白酶13缺失将导致骨韧性下降以及脆性增加^[32]。JEMTLAND等^[33]通过筛选骨质疏松候选基因发现，与健康对照组比较，骨质疏松患者基质金属蛋白酶13表达水平降低。该研究同样证实，去卵巢组大鼠股骨基质金属蛋白酶13蛋白表达量下调，进而导致骨脆性增加。金属蛋白酶组织抑制物1是多种基质金属蛋白酶的天然抑制剂，其表达上调具有抑制雌激素缺乏引起的骨吸收、防止肌腱和肌肉降解以及调节脂肪组织代谢等作用^[34]。然而一项体外研究发现，金属蛋白酶组织抑制物1能够刺激破骨细胞的骨吸收活性，这一效应可能与基质金属蛋白酶受抑无关^[35]。该研究结果显示，去卵巢组金属蛋白酶组织抑制物1蛋白表达上调。作者推测，基质金属蛋白酶13表达下调与金属蛋白酶组织抑制物1表达上调共同作用，进一步促进雌激素缺乏大鼠的骨吸收进程。DE FARIAS JUNIOR等^[36]发现，增龄伴随基质金属蛋白酶13和金属蛋白酶组织抑制物1基因表达下降，表明衰老诱导骨细胞外基质代谢紊乱并导致其病理性重塑；经过力量训练后，基质金属蛋白酶13和金属蛋白酶组织抑制物1表达量未发生改变。然而在该研究中，与去卵巢组比较，去卵巢运动组金属蛋白酶组织抑制物1表达下调，而基质金属蛋白酶13则无显著性变化，这一结果在证实基质金属蛋白酶13与金属蛋白酶组织抑制物1之间并无关联的同时也说明力量训练可能通过抑制金属蛋白酶组织抑制物1表达调控骨组织重塑，进而改善骨健康水平。

I型胶原是骨组织主要有机成分，其质和量的任何病理变化均可导致骨骼疾病的发生。胶原的质决定了骨小梁微结构的稳定性，胶原的量决定了骨小梁的密度^[4]。尽管去卵巢运动组骨有机质含量增多，但I型胶原蛋白表达量却无改变，提示力量训练并未提高胶原含量，有机质百分比增加可能源自非胶原基质如糖胺多糖、蛋白多糖等^[37]。

Runx2相关转录因子2是调控成骨细胞分化和成骨作用的转录因子^[38]。在成骨细胞分化过程中，Runx2相关转录因子2调节多种细胞外基质蛋白相关基因的表达^[39]。此外，在人成骨样MG63细胞中，基质金属蛋白酶13基因过表达可造成Runx2相关转录因子2表达下调，提示两者呈负相关^[40]。该研究结果间接证实了这一点，即去卵巢组基质金属蛋白酶13表达降低而Runx2相关转录因子2表达上调。然而，生物物理学和显微计算机断层扫描显示，Runx2相关转录因子2表达上调并未伴随骨形成增加，这一结果进一步提示基质金属蛋白酶13下调在骨重塑中起破坏作用。假手术运动组Runx2相关转录因子2表达上调，这可能是力量训练改善骨健康的重要机制^[41]。GHARIBI等^[42]同样发现，给予人类间充质干细胞施加脉动压力后，Runx2相关转录因子2表达上调，表明机械载荷能够激活与成骨细胞增殖和分化的相关基因。有趣的是，与去卵巢组比较，去卵巢运动组Runx2相关转录因子2表达却出现下调，推测骨结构与生物力学改善并非训练诱导成骨细胞分化造成的，可能与机械应力刺激成熟骨细胞进而

促进骨生成有关^[43]。

骨保护素又称为破骨细胞抑制因子，通过与破骨细胞分化因子结合抑制骨吸收^[44]。该研究中去卵巢组骨保护素表达上调，这可能是一种适应性反应，雌激素缺乏造成骨吸收与骨形成失衡，机体试图通过增加骨保护素在一定程度上抑制骨吸收。去卵巢运动组骨保护素表达下降，这似乎与骨保护素的作用相悖，可能的解释是力量训练并非直接作用于骨保护素，而是通过改善骨吸收与骨形成平衡，进而反馈性下调骨保护素表达。然而在王强等^[45]的研究中，去卵巢大鼠进行11周跑台训练（有氧运动）后骨保护素表达上调。不同研究结果存在差异可能与运动方式（力量训练 vs. 有氧运动）有关。

结论：力量训练能够对雌激素缺乏所致的骨损伤起保护作用，表现为骨生物力学特性、骨组织成分和骨微结构改善，其机制与调控细胞外基质代谢（即上调基质金属蛋白酶2活性，下调金属蛋白酶组织抑制物1、Runt相关转录因子2和骨保护素表达量）有关。

作者贡献：杨梦晓负责实验设计、实验实施和论文撰写，付常喜负责实验数据分析处理，杨梦晓、付常喜负责指标检测，付常喜负责数据和文章的校对。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] MINAKOVIĆ I, ZVEKIĆ-SVORCAN J, JANKOVIĆ T, et al. Early menopause and risk of fractures-a preventable gap. *Iran J Public Health*. 2023;52(3):534-541.

[2] HÄNDEL MN, CARDOSO I, VON BÜLOW C, et al. Fracture risk reduction and safety by osteoporosis treatment compared with placebo or active comparator in postmenopausal women: systematic review, network meta-analysis, and meta-regression analysis of randomised clinical trials. *BMJ*. 2023;381:e068033.

[3] XU X, LI X, LIANG Y, et al. Estrogen Modulates Cartilage and subchondral bone remodeling in an ovariectomized rat model of postmenopausal osteoarthritis. *Med Sci Monit*. 2019;25:3146-3153.

[4] JOUSHEGHAN SS, SAJJADI MM, JOUSHEGHAN SS, et al. Extracellular vesicles as novel approaches for the treatment of osteoarthritis: a narrative review on potential mechanisms. *J Mol Histol*. 2021;52(5):879-891.

[5] KOU L, JIANG X, LIN X, et al. Matrix Metalloproteinase inspired therapeutic strategies for bone diseases. *Curr Pharm Biotechnol*. 2021;22(4):451-467.

[6] DE FIGUEIREDO F, AZEVEDO JP, LARA MG, et al. Recombinant human MMP-2 associated with monolein improves bone repair. *Bratisl Lek Listy*. 2020;121(8):571-579.

[7] GUIMARAES-STABILI MR, DE MEDEIROS MC, ROSSI D, et al. Silencing matrix metalloproteinase-13 (Mmp-13) reduces inflammatory bone resorption associated with LPS-induced periodontal disease in vivo. *Clin Oral Investig*. 2021;25(5):3161-3172.

[8] GRAHAM S, ARCHER DF, SIMON JA, et al. Review of menopausal hormone therapy with estradiol and progesterone versus other estrogens and progestins. *Gynecol Endocrinol*. 2022;38(11):891-910.

[9] YONG EL, LOGAN S. Menopausal osteoporosis: screening, prevention and treatment. *Singapore Med J*. 2021;62(4):159-166.

[10] DING R, ZHANG N, WANG Q, et al. Alterations of the subchondral bone in osteoarthritis: complying with Wolff's Law. *Curr Rheumatol Rev*. 2022;18(3):178-185.

[11] SANCHEZ-TRIGO H, RITTWEGGER J, SANUDO B. Effects of non-supervised exercise interventions on bone mineral density in adult women: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2022;33(7):1415-1427.

[12] SÁ K, DA SILVA GR, MARTINS UK, et al. Resistance training for postmenopausal women: systematic review and meta-analysis. *Menopause*. 2023;30(1):108-116.

[13] YUAN Y, CHEN X, ZHANG L, et al. The roles of exercise in bone remodeling and in prevention and treatment of osteoporosis. *Prog Biophys Mol Biol*. 2016;122(2):122-130.

[14] WANG Z, DUAN R, JIN Y, et al. Effects of ferric ammonium citrate on iron accumulation, bone turnover and bone density in ovariectomized rat models with osteoporosis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2022;68(8):163-166.

[15] LEE S, KIM K, LAMBRECHT NJ, et al. Interaction of resistance training, electroacupuncture and Huang Qi supplementation on skeletal muscle function and GLUT4 protein concentration in rats. *Acupunct Med*. 2016;34(5):380-385.

[16] 付鹏宇, 于晶晶, 龚丽景. 叉头框蛋白 O1 介导的自噬途径在抗阻训练缓解低氧诱导大鼠肌萎缩中的作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(9):1667-1676.

[17] 刘芃, 马刚, 何瑞波, 等. 有氧运动干预慢性肾功能衰竭模型大鼠的肾脏纤维化 [J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(20):3209-3215.

[18] GENG Q, GAO H, YANG R, et al. Pyrroloquinoline quinone prevents estrogen deficiency-induced osteoporosis by inhibiting oxidative stress and osteocyte senescence. *Int J Biol Sci*. 2019;15(1):58-68.

[19] 郑鹏骥, 陆杨, 张象, 等. 吡咯喹啉酮通过降低氧化应激和 RANKL/OPG 比率减少去卵巢大鼠骨量流失研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(10):1431-1435.

[20] 杨芳芳, 惠慧荣, 高玉海, 等. 丹参酮 II A 对去卵巢大鼠骨密度及骨形态计量学的影响 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2018, 11(2):166-171.

[21] UNAL M, CREECY A, NYMAN JS. The role of matrix composition in the mechanical behavior of bone. *Curr Osteoporos Rep*. 2018;16(3):205-215.

[22] ZHANG N, MAGLAND JF, RAJAPAKSE CS, et al. Assessment of trabecular bone yield and post-yield behavior from high-resolution MRI-based nonlinear finite element analysis at the distal radius of premenopausal and postmenopausal women susceptible to osteoporosis. *Acad Radiol*. 2013;20(12):1584-1591.

[23] WESCOTT DJ. Postmortem change in bone biomechanical properties: Loss of plasticity. *Forensic Sci Int*. 2019;300:164-169.

[24] SALAS-RAMIREZ M, LASSMANN M, TRAN-GIA J. Quantification of the volume fraction of fat, water and bone mineral in spongiosa for red marrow dosimetry in molecular radiotherapy by using a dual-energy (SPECT)/CT. *Z Med Phys*. 2022;32(4):428-437.

[25] JU YI, SONE T, OHNARU K, et al. Effect of swimming exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in ovariectomized rats. *J Appl Physiol (1985)*. 2015; 119(9):990-997.

[26] DIAZ BRINTON R. Minireview: translational animal models of human menopause: challenges and emerging opportunities. *Endocrinology*. 2012;153(8):3571-3578.

[27] MEAKIN LB, UDEH C, GALEA GL, et al. Exercise does not enhance aged bone's impaired response to artificial loading in C57BL/6 mice. *Bone*. 2015;81:47-52.

[28] TANG L, GAO X, YANG X, et al. Ladder-climbing training prevents bone loss and microarchitecture deterioration in diet-induced obese rats. *Calcif Tissue Int*. 2016;98(1): 85-93.

[29] LITTLE-LETSINGER SE, PAGNOTTI GM, MCGRATH C, et al. Exercise and diet: uncovering prospective mediators of skeletal fragility in bone and marrow adipose tissue. *Curr Osteoporos Rep*. 2020;18(6):774-789.

[30] HUANG X, CHEN W, GU C, et al. Melatonin suppresses bone marrow adiposity in ovariectomized rats by rescuing the imbalance between osteogenesis and adipogenesis through SIRT1 activation. *J Orthop Translat*. 2023;38:84-97.

[31] SHIGUEMOTO GE, PRESTES J, LEITE RD, et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. *Scand J Med Sci Sports*. 2012;22(5):607-617.

[32] TANG SY, HERBER RP, HO SP, et al. Matrix metalloproteinase-13 is required for osteocytic perilacunar remodeling and maintains bone fracture resistance. *J Bone Miner Res*. 2012;27(9):1936-1950.

[33] JEMTLAND R, HOLDEN M, REPPE S, et al. Molecular disease map of bone characterizing the postmenopausal osteoporosis phenotype. *J Bone Miner Res*. 2011;26(8):1793-1801.

[34] SCHILTZ C, MARTY C, DE VERNEJOUL MC, et al. Inhibition of osteoblastic metalloproteinases in mice prevents bone loss induced by oestrogen deficiency. *J Cell Biochem*. 2008;104(5):1803-1817.

[35] SOBUE T, HAKEDA Y, KOBAYASHI Y, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 directly stimulate the bone-resorbing activity of isolated mature osteoclasts. *J Bone Miner Res*. 2001;16(12):2205-2214.

[36] DE FARIAS JUNIOR GC, DE SOUSA NETO IV, GUZZONI V, et al. Remodeling process in bone of aged rats in response to resistance training. *Life Sci*. 2020;256:118-129.

[37] GAMSJAEGER S, BROZEK W, RECKER R, et al. Transmenopausal changes in trabecular bone quality. *J Bone Miner Res*. 2014;29(3):608-617.

[38] RUIZ P, HANDAN BA, DE MOURA C, et al. Protective effect of grape or apple juices in bone tissue of rats exposed to cadmium: role of RUNX-2 and RANK/L expression. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018;25(16):15785-15792.

[39] ORTH M, SHENAR AK, SCHEUER C, et al. VEGF-loaded mineral-coated microparticles improve bone repair and are associated with increased expression of epo and RUNX-2 in murine non-unions. *J Orthop Res*. 2019;37(4):821-831.

[40] HAYAMI T, KAPILA YL, KAPILA S. Divergent upstream osteogenic events contribute to the differential modulation of MG63 cell osteoblast differentiation by MMP-1 (collagenase-1) and MMP-13 (collagenase-3). *Matrix Biol*. 2011;30(4):281-289.

[41] 刘晨涛, 张娟娟, 苗华, 等. 负重爬梯运动调节去卵巢大鼠 OPG/Ikka/Runx2 基因表达以及对股骨结构和生物力学的影响 [J]. *中国运动医学杂志*, 2019, 38(4):296-304.

[42] GHARIBI B, CAMA G, CAPURRO M, et al. Gene expression responses to mechanical stimulation of mesenchymal stem cells seeded on calcium phosphate cement. *Tissue Eng Part A*. 2013;19(21-22):2426-2438.

[43] KLEIN-NULEND J, BACABAC RG, BAKKER AD. Mechanical loading and how it affects bone cells: the role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton. *Eur Cell Mater*. 2012;24:278-291.

[44] ROCHETTE L, MELOUX A, RIGAL E, et al. The Role of osteoprotegerin in vascular calcification and bone metabolism: the basis for developing new therapeutics. *Calcif Tissue Int*. 2019;105(3):239-251.

[45] 王强, 杨民, 王剑. 跑台运动对去卵巢大鼠骨组织中 OPG、RANKL 和 RUNX2 mRNA 表达的影响 [J]. *中国骨伤*, 2013, 26(11):940-943.

(责任编辑: LCH, MZH, ZN, WL)