

文章编号: 1004-7220(2021)05-0824-05

# 载荷作用下骨细胞分泌因子对成骨细胞和破骨细胞的调节

杨 焯, 韩 标, 郭 勇

(桂林医学院 生物技术学院, 广西高校生物化学与分子生物学重点实验室, 桂林 541199)

**摘要:**骨细胞是骨组织主要的力学感受及转导细胞,它们通过众多突触结构相互连接,形成庞大的骨稳态细胞调控网络,联系着成骨细胞、破骨细胞等骨基质表面细胞。骨细胞通过旁分泌途径影响成骨细胞骨形成和破骨细胞骨吸收来调节骨代谢,维持骨更新。针对骨细胞在受到力学刺激后分泌或释放的一些信号分子或蛋白因子对成骨细胞和破骨细胞生长分化的影响,本文综述近年来关于受力学刺激的骨细胞如何与成骨/破骨细胞进行通讯,为骨细胞生物力学研究提供新思路。

**关键词:**骨细胞; 力学刺激; 成骨细胞; 破骨细胞

**中图分类号:** R 318.01      **文献标志码:** A

**DOI:** 10.16156/j.1004-7220.2021.05.025

## Regulation of Osteoblasts and Osteoclasts by Secretory Factors Derived from Osteocytes under Mechanical Loading

YANG Huan, HAN Biao, GUO Yong

(Guangxi Higher Education Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, College of Biotechnology, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

**Abstract:** Osteocytes are the main mechanical sensory and transductive cells of bone tissues. They connect with each other through many synaptic structures to form a huge regulatory network of bone steady-state cells, which are connected with osteoblasts, osteoclasts and other bone matrix surface cells. Osteocytes regulate bone metabolism and maintain bone regeneration by affecting osteoblast bone formation and osteoclast bone resorption through paracrine pathway. Aiming at the effects of some signal molecules or protein factors secreted or released by osteocytes after mechanical stimulation on the growth and differentiation of osteoblasts and osteoclasts, this paper reviews recent advances in how mechanically stimulated osteocytes communicate with osteoblasts and osteoclasts, so as to provide new ideas for the study of osteocytes biomechanics.

**Key words:** osteocyte; mechanical stimulation; osteoblast; osteoclast

骨细胞是成骨细胞进一步成熟的产物,具有力学传感特性。骨细胞作为机械应力的主要感受器和转导细胞,通过将力学刺激转化为针对效应细胞的化学信号,调节成骨细胞和破骨细胞的数目和活性,进而调控骨代谢和骨重建。

在力学刺激下,骨细胞的分泌因子调节成骨细胞和破骨细胞的增殖分化。骨细胞在脉动流体作用下,其条件培养液抑制成骨细胞的增殖,但促进成骨细胞的分化<sup>[1]</sup>;而骨细胞的条件培养液则促进骨髓间充质干细胞增殖和向成骨细胞分化<sup>[2]</sup>。向

收稿日期:2020-07-16; 修回日期:2020-09-01

基金项目:国家自然科学基金项目(31660261),广西区自然科学基金项目(2018GXNSFAA281357)

通信作者:郭勇,教授,E-mail: guoyong74@163.com

骨细胞施加流体剪切力 (fluid shear shear, FSS) 后, 该细胞条件培养液可上调间充质干细胞的骨桥蛋白和环氧合酶-2。进一步实验表明, 这种条件培养液中的旁分泌因子可促进间充质干细胞和成骨细胞的增殖和分化<sup>[3]</sup>。

经受力学刺激的骨细胞条件培养液抑制了小鼠骨髓细胞的破骨细胞形成<sup>[4]</sup>。当骨细胞与 RAW264.7 破骨细胞前体细胞共培养时, 骨细胞可以支持破骨细胞的形成。但是骨细胞经过力学刺激后, 其释放出的可溶性分泌因子抑制了骨细胞诱导的破骨细胞形成<sup>[5]</sup>。这些研究证实, 力学负荷的骨细胞培养液对成骨细胞及破骨细胞的增殖或分化有促进或抑制作用。

## 1 不同力刺激对骨细胞分泌因子的影响

力学刺激下骨细胞释放出多种分泌因子。1 Pa、2 h FSS 可以促进体外培养的骨细胞分泌蛋白因子或信号分子, 例如骨钙蛋白 (osteocalcin, OCN)、硬骨素 (sclerostin, SOST)、核因子  $\kappa$ B 受体激活物 (receptor activator for nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL) 和骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 等<sup>[6]</sup>。振荡流体流动上调了骨细胞条件培养液中一氧化氮 (nitric oxide, NO)<sup>[7]</sup>、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)<sup>[8]</sup> 和三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP)<sup>[9]</sup> 的释放。在正畸力作用下, 骨细胞表达基质细胞外磷酸糖蛋白 (matrix extracellular phosphoglycoprotein, MEPE)<sup>[10]</sup>。失重条件降低了骨细胞表面连接蛋白-43 (connexin 43, Cx43) 的表达<sup>[11]</sup>; 力学拉伸刺激增加了骨细胞胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor, IGF-1) 的分泌<sup>[12]</sup>, 缺乏力学负荷导致骨细胞中骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 表达上调<sup>[13]</sup>。

本文主要综述骨细胞接受力学刺激后所释放的一些蛋白因子或信号分子例如 PGE2、IGF-1、OPN、SOST、NO、MEPE 对成骨细胞及破骨细胞的调节, 希望能为骨细胞生物力学方面的研究提供新思路。

## 2 分泌因子对成骨细胞的调节

当骨骼被加载时, 由此产生的应变起到驱动力的作用, 导致间质液体流经腔隙-小管网络, 骨细胞

感受到这种液体的流动后, 通过产生刺激成骨细胞的信号分子来做出反应, 并抑制破骨细胞的招募和活动, 从而导致骨量增加。

### 2.1 PGE2 促进成骨细胞增殖分化

PGE2 是环氧合酶诱导花生四烯酸代谢的主要产物, PGE2 信号是由 4 种不同的 G 蛋白受体 (PGE2 receptors 1-4, EP1-EP4) 介导。其中, EP1 参与成骨分化的早期阶段<sup>[14]</sup>, EP3 对细胞没有成骨作用, 但能刺激血管生成, 从而促进骨和牙周再生<sup>[15]</sup>。

体外冲击波 (extracorporeal shock wave, ESW) 可以诱导 PGE2 的产生。Chen 等<sup>[16]</sup> 认为, PGE2 和 Cx43 之间的串扰参与了 ESW 诱导的成骨增强。Ern 等<sup>[17]</sup> 向人骨髓间充质干细胞 (human mesenchymal stem cells, hMSCs) 施加 PGE2 刺激, 结果表明, 不同浓度 PGE2 对 hMSCs 增殖有不同的影响。在第 1 周内, PGE2 刺激诱导的 hMSCs 生长率较高, 且与 PGE2 浓度呈正相关。但随着刺激时间的延长, PGE2 对 hMSC 的刺激作用逐渐减弱, 最终在刺激 3 周时出现抑制作用。Weinreb 等<sup>[18]</sup> 通过对幼年大鼠给予 6 mg/kg PGE2 进行为期 3 周的观察发现, PGE2 能增加长骨的皮质骨和松质骨的骨量, 增加长骨的机械强度和颅骨的骨密度。以上研究结果显示, 不同浓度的 PGE2 对成骨细胞增殖分化具有精确的调节作用。

### 2.2 IGF-1 参与骨形成

IGF-1 是由骨细胞分泌的最丰富的生长因子之一, 参与骨细胞对力学载荷的细胞特异性反应。研究发现, 力学刺激能促进骨细胞中 IGF-1 的表达<sup>[12]</sup>。Reijnders 等<sup>[19]</sup> 用四点弯曲仪对大鼠胫骨骨干进行 6 h 单周期的力学加载, 发现骨细胞 IGF-1 mRNA 合成双倍上调, 在骨干的内侧有板层骨的形成。综上所述, 位于骨细胞中的 IGF-1 参与了力学刺激转化为骨形成的过程。

### 2.3 机械负荷改变 SOST 基因影响骨形成

SOST 是骨细胞特异性分泌的蛋白骨化蛋白的产物, 该蛋白通过抑制 Wnt 信号通路直接减少成骨细胞的增殖和分化, 从而在体外和体内抑制骨形成<sup>[20]</sup>。研究表明, SOST 受到机械力的精确调节, 长期固定的患者出现与骨形成减少相关的高硬化血症, 表明 SOST 表达水平升高并且抑制成骨细胞活性<sup>[21]</sup>; 而接受尺骨负载的小鼠骨细胞 SOST 表达水

平降低,表明力学载荷使骨细胞 SOST 基因表达水平下调,SOST 分泌水平也相应降低,进而促进成骨细胞活性<sup>[22]</sup>。

### 3 分泌因子对破骨细胞的调节

骨细胞在没有力学刺激的情况下释放破骨细胞信号,刺激骨吸收;在力学刺激下,骨细胞产生抑制破骨细胞生成的因子,和/或减少破骨细胞刺激信号的产生<sup>[23]</sup>。研究表明,骨细胞可以通过可溶性因子和细胞间的直接接触来控制骨吸收<sup>[24-25]</sup>。

#### 3.1 信号分子 NO 对破骨细胞活性的双向调节作用

NO 是一种由骨细胞释放的可溶性介质,并介导骨骼对力学负荷的合成代谢反应。Rath 等<sup>[26]</sup>研究表明,骨细胞在 FSS 作用下较成骨细胞分泌更多的 NO。阴健等<sup>[27]</sup>研究发现,对比持续性加载,间歇性压力加载能刺激骨细胞分泌更多的 NO。

NO 在破骨细胞的骨吸收过程中具有双重作用。在成熟的破骨细胞中,NO 既刺激又抑制破骨细胞活性,这种作用与 NO 局部浓度的变化有关。NO 浓度低时,能增强白细胞介素-1 诱导的骨吸收;NO 浓度高时,能抑制破骨细胞形成和活化<sup>[28-29]</sup>。

#### 3.2 MEPE 抑制破骨细胞生成

除 NO 外,力学负荷的骨细胞抑制破骨细胞生成有可溶性因子 MEPE 的参与<sup>[23]</sup>。MEPE 也称为骨细胞因子 45 (osteocyte factor 45, OF45),是一种新型的骨特异性细胞外基质蛋白,在牙和骨中均有表达<sup>[30]</sup>。

接受 FSS 的骨细胞条件培养液可以抑制破骨细胞的形成和功能<sup>[4]</sup>,然而,条件培养液中的哪些分子对破骨细胞的形成和功能有抑制作用尚未得到证明 Kulkarni 等<sup>[23]</sup>向骨细胞施加脉动流体作用力的研究表明,力学负荷下骨细胞抑制破骨细胞生成有 MEPE 的参与,因为力学负荷上调 MEPE 基因表达,富含丝氨酸和天冬氨酸的酸性 MEPE 基序多肽进而上调了 OPG 基因的表达,OPG 是破骨细胞生成的负调控因子。上述结果表明,在力学负荷下,骨细胞产生的可溶性因子向破骨细胞发出信号,以减少骨吸收。

#### 3.3 OPN 刺激破骨细胞生成

OPN 是一种与细胞黏附、迁移密切相关的磷酸

化糖蛋白。研究表明,OPN 同样是一种对力学刺激敏感的蛋白。Bozal 等<sup>[31]</sup>研究发现,不管在 0.16 N 极轻正畸力或 2.26 N 极强正畸力作用下 1 h,都能显著增加大鼠牙槽骨细胞中 OPN 表达量。Ishijima 等<sup>[32]</sup>用尾部悬吊法验证野生型小鼠与敲除 OPN 基因小鼠对骨质丢失的影响,发现 OPN 基因敲除小鼠尾部悬吊不增加破骨细胞,而野生型小鼠的破骨细胞在卸载后增加。与此对应,OPN 基因敲除的小鼠的成骨细胞骨形成指标没有改变,而野生型小鼠的成骨细胞骨形成指标在力学卸载后减少。上述结果提示,OPN 是应力引起骨丢失所必需的分子,它调节成骨细胞和破骨细胞的功能。

### 4 外泌体对成骨细胞和破骨细胞的调节

外泌体(exosomes)是一种由细胞分泌的具有脂质双分子层结构的直径 40~100 nm 的细胞外囊泡(细胞外囊泡主要由外泌体和微囊泡组成),它包含蛋白因子、信使 RNA(messenger RNA, mRNA)、微小 RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码 RNA(long non-coding RNA, LncRNA)等多种物质。外泌体是运输这些信号分子和分泌因子并使这些分子发挥作用的主要媒介,在调节成骨细胞和破骨细胞方面也起重要作用。

研究发现,FSS 等力学载荷可以促进骨细胞分泌外泌体<sup>[33-34]</sup>,这些外泌体含有 SOST、RANKL 和 OPG 等调节成骨细胞和破骨细胞活性的蛋白因子以及 miRNA,例如 miR-218<sup>[35]</sup>。Eichholz 等<sup>[34]</sup>比较在 FSS 作用下和在静态收集的骨细胞条件培养基,发现从动态培养的骨细胞分泌组中分离出来外泌体在引起骨髓间充质干细胞募集和促使其成骨中有着与受力学刺激后骨细胞条件培养基相似的趋势<sup>[3]</sup>。此外,检测这两种条件下骨细胞释放的蛋白质差异性,发现了 34 种差异表达的蛋白质,在表达较多的差异蛋白中发现蛋白 Annexin A5,它与外泌体及血液微粒相关。随后,研究这些差异分泌蛋白的功能富集,发现有与外泌体相关的 4 个富集项:胞外外泌体、胞外区部分、胞外区和膜结合型囊泡。该结果证实了外泌体在力学介导的信号转导中起关键作用。

另外,骨细胞来源的外泌体很有可能介导骨吸收。Solberg 等<sup>[36]</sup>在大鼠骨细胞中发现有包含抗酒

石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)、RANKL和OPG的囊泡产生。Solberg等<sup>[37]</sup>研究认为,TRAP在成骨细胞和骨细胞中的功能涉及酶的调节能力。例如,这些细胞表达的蛋白的磷酸化,从而影响RANKL和OPG。OPG与RANKL比值影响成骨和破骨,适宜的力学刺激提高OPG表达,抑制RANKL表达,促进成骨作用;而过度力学刺激则会抑制OPG表达,提高RANKL表达<sup>[38]</sup>。上述研究结果提示,骨细胞来源的外泌体与破骨细胞发生的调控相关。

## 5 总结与展望

骨骼是一种对力学环境适应良好的组织,通过几种细胞类型(包括破骨细胞、成骨细胞、骨细胞、胞外小泡及其前体)之间的协作,承载着精细调节的骨矿物质代谢的过程,以实现骨的动态平衡,力学刺激在维持骨骼重塑和骨骼完整性方面起着至关重要的作用<sup>[39-40]</sup>。近年来的相关研究表明,骨细胞产生的外泌体是一种新发现的调节骨重建机制。目前已有不少研究表明,力学载荷能够调节蛋白因子的表达,并且在骨细胞分泌的外泌体中发现了一些调节成骨细胞和破骨细胞增殖分化的蛋白因子和miRNA。然而外泌体内含物复杂多样,哪些蛋白因子和信号分子通过外泌体被释放,以及它们如何作用到靶细胞,目前的相关研究并不多。因此,未来的研究可以集中在外泌体上,这一领域最有可能取得突破。

### 参考文献:

- [ 1 ] VEZERIDIS PS, SEMEINS CM, CHEN Q, *et al.* Osteocytes subjected to pulsating fluid flow regulate osteoblast proliferation and differentiation [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 348(3) : 1082-1088.
- [ 2 ] HEINO TJ, HENTUNEN TA, VÄÄNÄNEN HK. Conditioned medium from osteocytes stimulates the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells and their differentiation into osteoblasts [ J ]. *Exp Cell Res*, 2004, 294(2) : 458-468.
- [ 3 ] BRADY RT, O' BRIEN FJ, HOEY DA. Mechanically stimulated bone cells secrete paracrine factors that regulate osteoprogenitor recruitment, proliferation, and differentiation [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 459(1) : 118-123.
- [ 4 ] TAN SD, DE VRIES TJ, KUIJPERS-JAGTMAN AM, *et al.* Osteocytes subjected to fluid flow inhibit osteoclast formation and bone resorption [ J ]. *Bone*, 2007, 41(5) : 745-751.
- [ 5 ] YOU L, TEMIYASATHIT S, LEE P, *et al.* Osteocytes as mechanosensors in the inhibition of bone resorption due to mechanical loading [ J ]. *Bone*, 2008, 42(1) : 172-179.
- [ 6 ] YAN Z, WANG P, WU J, *et al.* Fluid shear stress improves morphology, cytoskeleton architecture, viability, and regulates cytokine expression in a time-dependent manner in MLO-Y4 cells [ J ]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(10) : 1410-1422.
- [ 7 ] XU H, GUAN Y, WU J, *et al.* Polycystin 2 is involved in the nitric oxide production in responding to oscillating fluid shear in MLO-Y4 cells [ J ]. *J Biomech*, 2014, 47(2) : 387-391.
- [ 8 ] CHERIAN PP, SILLER-JACKSON AJ, GU S, *et al.* Mechanical strain opens connexin 43 hemichannels in osteocytes: A novel mechanism for the release of prostaglandin [ J ]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(7) : 3100-3106.
- [ 9 ] GENETOS DC, KEPHART CJ, ZHANG Y, *et al.* Oscillating fluid flow activation of gap junction hemichannels induces ATP release from MLO-Y4 osteocytes [ J ]. *J Cell Physiol*, 2007, 212(1) : 207-214.
- [ 10 ] GLUHAK-HEINRICH J, PAVLIN D, YANG W, *et al.* MEPE expression in osteocytes during orthodontic tooth movement [ J ]. *Arch Oral Biol*, 2007, 52(7) : 684-690.
- [ 11 ] XU H, LIU R, NING D, *et al.* Biological responses of osteocytic connexin 43 hemichannels to simulated microgravity [ J ]. *J Orthop Res*, 2017, 35(6) : 1195-1202.
- [ 12 ] ZENG Q, WANG Y, GAO J, *et al.* miR-29b-3p regulated osteoblast differentiation via regulating IGF-1 secretion of mechanically stimulated osteocytes [ J ]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24(1) : 11.
- [ 13 ] GROSS TS, KING KA, RABAIA NA, *et al.* Upregulation of osteopontin by osteocytes deprived of mechanical loading or oxygen [ J ]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(2) : 250-256.
- [ 14 ] TANG CH, YANG RS, FU WM. Prostaglandin E2 stimulates fibronectin expression through EP1 receptor, phospholipase C, protein kinase Calpha, and c-Src pathway in primary cultured rat osteoblasts [ J ]. *J Biol Chem*, 2005, 280(24) : 22907-22916.
- [ 15 ] KAMOSHITA E, IKEDA Y, FUJITA M, *et al.* Recruitment of a prostaglandin E receptor subtype, EP3-expressing bone marrow cells is crucial in wound-induced angiogenesis [ J ]. *Am J Pathol*, 2006, 169(4) : 1458-1472.
- [ 16 ] CHEN Y, XU J, LIAO H, *et al.* Prostaglandin E2 and Connexin 43 crosstalk in the osteogenesis induced by extracorporeal shockwave [ J ]. *Med Hypotheses*, 2016, 94 : 123-125.
- [ 17 ] ERN C, FRASHERI I, BERGER T, *et al.* Effects of prostaglandin E(2) and D(2) on cell proliferation and osteogenic capacity of human mesenchymal stem cells

- [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2019, 151: 1-7.
- [18] WEINREB M, SUPONITZKY I, KEILA S. Systemic administration of an anabolic dose of PGE<sub>2</sub> in young rats increases the osteogenic capacity of bone marrow [J]. Bone, 1997, 20(6): 521-526.
- [19] REIJNDERS CM, BRAVENBOER N, TROMP AM, *et al.* Effect of mechanical loading on insulin-like growth factor-I gene expression in rat tibia [J]. J Endocrinol, 2007, 192(1): 131-140.
- [20] UDA Y, TEMIYASATHIT S, CASTILLO AB. Osteocyte mechanobiology [J]. Curr Osteoporos Rep, 2017, 15(4): 318-325.
- [21] SPATZ JM, FIELDS EE, YU EW, *et al.* Serum sclerostin increases in healthy adult men during bed rest [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97(9): 1736-1740.
- [22] ROBLING AG, NIZIOLEK PJ, BALDRIDGE LA, *et al.* Mechanical stimulation of bone *In vivo* reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin [J]. J Biol Chem, 2008, 283(9): 5866-5875.
- [23] KULKARNI RN, PLAS A, SEMEINS CM, *et al.* Inhibition of osteoclastogenesis by mechanically loaded osteocytes: Involvement of MEPE [J]. Calcif Tissue Int, 2010, 87(5): 461-468.
- [24] HEINO TJ, HENTUNEN TA, VÄÄNÄNEN HK. Osteocytes inhibit osteoclastic bone resorption through transforming growth factor- $\beta$ : Enhancement by estrogen [J]. J Cell Biochem, 2002, 85(1): 185-197.
- [25] ZHAO S, KATO Y, ZHANG Y, *et al.* MLO-Y4 osteocyte-like cells support osteoclast formation and activation [J]. J Bone Miner Res, 2002, 17(11): 2068-2079.
- [26] RATH AL, BONEWALD LF, LING J, *et al.* Correlation of cell strain in single osteocytes with intracellular calcium, but not intracellular nitric oxide, in response to fluid flow [J]. J Biomech, 2010, 43(8): 1560-1564.
- [27] 阴健, 浩志超, 廖爽, 等. 间歇性加载周期性压力增加骨细胞分泌一氧化氮和前列腺素 E<sub>2</sub> [J]. 生物医学工程学杂志, 2014, 31(3): 619-624.
- [28] BRANDI ML, HUKKANEN M, UMEDA T, *et al.* Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(7): 2954-2958.
- [29] SMITH LM, CUTHBERTSON B, HARVIE J, *et al.* Increased bone resorption in the critically ill: Association with sepsis and increased nitric oxide production [J]. Crit Care Med, 2002, 30(4): 837-840.
- [30] ICER MA, GEZMEN-KARADAGM. The multiple functions and mechanisms of osteopontin [J]. Clin Biochem, 2018, 59: 17-24.
- [31] BOZAL CB, SANCHEZ LM, MANDALUNIS PM, *et al.* Evaluation of apoptosis and osteopontin expression in osteocytes exposed to orthodontic forces of different magnitudes [J]. Acta Odontol Latinoam, 2018, 31(2): 110-116.
- [32] ISHIJIMA M, RITTLING SR, YAMASHITA T, *et al.* Enhancement of osteoclastic bone resorption and suppression of osteoblastic bone formation in response to reduced mechanical stress do not occur in the absence of osteopontin [J]. J Exp Med, 2001, 193(3): 399-404.
- [33] MORRELL AE, BROWN GN, ROBINSON ST, *et al.* Mechanically induced Ca<sup>(2+)</sup> oscillations in osteocytes release extracellular vesicles and enhance bone formation [J]. Bone Res, 2018(1): 72-82.
- [34] EICHHOLZ KF, WOODS I, JOHNSON GP, *et al.* Human bone marrow mesenchymal stem/stromal cell behaviour is coordinated via mechanically activated osteocyte-derived extracellular vesicles [J]. BioRxiv, 2019, doi: 10.1101/730077.
- [35] QIN Y, PENG Y, ZHAO W, *et al.* Myostatin inhibits osteoblastic differentiation by suppressing osteocyte-derived exosomal microRNA-218: A novel mechanism in muscle-bone communication [J]. J Bio Chem, 2017, 292(26): 11021-11033.
- [36] SOLBERG LB, STANG E, BRORSON SH, *et al.* Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) co-localizes with receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) in lysosomal-associated membrane protein 1 (LAMP1)-positive vesicles in rat osteoblasts and osteocytes [J]. Histochem Cell Biol, 2015, 143(2): 195-207.
- [37] SOLBERG LB, BRORSON SH, STORDALEN GA, *et al.* Increased tartrate-resistant Acid phosphatase expression in osteoblasts and osteocytes in experimental osteoporosis in rats [J]. Calcif Tissue Int, 2014, 94(5): 510-521.
- [38] KOBAYASHI Y, HASHIMOTO F, MIYAMOTO H, *et al.* Force-induced osteoclast apoptosis *In vivo* is accompanied by elevation in transforming growth factor beta and osteoprotegerin expression [J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(10): 1924-1934.
- [39] 杜静珂, 于志锋. 机体衰老对骨细胞力学响应的影响 [J]. 医用生物力学, 2019, 34(3): 333-338.
- DU JK, YU ZF. Effects of senescence on mechanical response of osteocyte [J]. J Med Biomech, 2019, 34(3): 333-338.
- [40] CHEN Z, FAN Z, CHAO L, *et al.* Mechanoresponsive MiR-138-5p targets MACF1 to Inhibit Bone Formation [J]. J Med Biomech, 2019, 34(S1): 72-73.