

文章编号:1004-7220(2019)03-0333-06

# 机体衰老对骨细胞力学响应的影响

杜静珂, 于志锋

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 骨科, 上海市骨科内植物重点实验室, 上海 200011)

**摘要:**骨骼是一个动态变化的器官,骨细胞的形态、结构和功能随力学刺激大小、方向、形式的不同而发生变化。适当的力学刺激是维持骨形成和骨吸收动态平衡的关键。随着年龄的增加,骨组织衰老会引起包括骨组织微环境、骨细胞形态、骨细胞内信号通路等在内的一系列变化,使骨骼力学响应能力减弱,进而引起骨质疏松等多种疾病。因此,研究衰老如何影响骨细胞的力学响应具有重要意义。重点讨论机体衰老对骨细胞力学响应的影响。

**关键词:**力学响应;衰老;骨细胞;骨重建

**中图分类号:** R 318.01 **文献标志码:** A

**DOI:** 10.16156/j.1004-7220.2019.03.018

## Effects of Senescence on Mechanical Response of Osteocyte

DU Jingke, YU Zhifeng

(Shanghai Key Laboratory of Orthopaedic Implants, Department of Orthopaedic Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

**Abstract:** Bone is a dynamic organ, and the morphology, structure and function of bone can vary with the size, direction and form of mechanical stimulation. Appropriate mechanical stimulation is the key to maintain the dynamic balance of bone formation and bone resorption. However, with aging, the senescence of bone tissues causes a series of changes, including bone microenvironment, osteocyte morphology, signaling pathways in the osteocyte, etc., which weakens its mechanical response ability and then leads to osteoporosis and other diseases. Therefore, it is of great significance to study how aging affects the mechanical response of osteocyte. This review mainly discusses the influence of aging on mechanical response of the osteocyte.

**Key words:** mechanical response; senescence; osteocyte; bone remodeling

骨组织内的细胞包括成骨细胞、破骨细胞、骨细胞、软骨细胞及其祖细胞、骨髓干细胞。骨细胞是骨中最丰富的细胞类型,占骨骼内细胞总数90%以上<sup>[1]</sup>。骨细胞的一个重要特征是它们能够通过调节成骨细胞和破骨细胞的功能来控制骨重建。当受到外界机械应变等刺激时,骨细胞释放的NO、PGE2和ATP等信号分子会直接影响成骨细胞功能,调节成骨细胞增殖与分化<sup>[2]</sup>。骨细胞还能通过

分泌Wnt信号通路调节因子(硬化蛋白、sfrp1、DKK1)调节成骨细胞的活性。体内外实验均表明,骨细胞可以分泌RANKL促进破骨细胞生成,此外其还可以分泌M-Csf、OPG等信号分子促进或者抑制破骨细胞的生成<sup>[2]</sup>。

骨细胞受到的力学刺激主要包括剪切应力、拉伸应变和压力等<sup>[3]</sup>。骨骼通过骨细胞的机械感觉特性协调对力学刺激产生适应性反应。骨细胞力

收稿日期:2019-04-08;修回日期:2019-05-01

基金项目:国家自然科学基金项目(11572197,11872251)

通信作者:于志锋,副研究员,E-mail:zfyu@outlook.com

学信号转导的早期事件之一是  $\text{Ca}^{2+}$  动员,力学刺激通过骨细胞树突上附着的整合素开放 ATP 释放的通道,ATP 的释放导致  $\text{Ca}^{2+}$  流入到骨细胞树突中<sup>[4]</sup>,而后通过两种不同的转导途径:ATP/P2 嘌呤受体(P2Rs)快速  $\text{Ca}^{2+}$  波和细胞缝隙连接(如CX43)相对缓慢的  $\text{Ca}^{2+}$  波(GJs),将机械刺激转化为生化信号<sup>[5]</sup>,从而调节 PGE2、RANKL、硬化蛋白以及 Wnt 的表达引起骨组织的一系列力学响应<sup>[3]</sup>,因此,骨细胞是骨骼力学响应过程中的关键调节细胞<sup>[6]</sup>。通过骨细胞靶向消融转基因小鼠发现骨脆性增加、成骨功能障碍、骨髓内脂肪组织增生等表型<sup>[7]</sup>。这些转基因小鼠对无负载引起的骨质流失具有抵抗能力,也进一步证实骨细胞的机械力学敏感特性。

## 1 骨细胞力学响应机制

细胞水平上的力学信号传导是通过细胞结构中的构象变化来实现的,例如拉伸激活的离子通道、整合素复合物、初级纤毛、缝隙连接和细胞间黏附<sup>[8]</sup>。构象的变化使离子流入和流出使信号级联激活,从而改变蛋白质的活性和表达<sup>[9]</sup>。其中最重要的是  $\text{Ca}^{2+}$  通道和 G 蛋白,位于细胞膜上的整合素受体感受力学信号后激活 G 蛋白,而后通过影响其下游通路影响骨细胞的表型。

Morrel 等<sup>[10]</sup>研究发现,在流体力作用下,骨细胞内产生胞外  $\text{Ca}^{2+}$  和 ATP 依赖的  $\text{Ca}^{2+}$  震荡引起分泌体的产生和释放,进而促进骨形成。Naruse 等<sup>[11]</sup>对牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)施加拉伸力后发现其增殖能力增加,但向成骨细胞分化能力降低,同时 Akt、ERK、p38 和 MAPK 的磷酸化水平增加。BMP-2 可以刺激成骨细胞黏附、迁移和分化,其可以调节能与骨形态形成蛋白 BMP-2 受体结合的  $\alpha_v\beta_3$  整合素的表达,而  $\alpha_v\beta_3$  整合蛋白在 BMP-2 对成骨细胞功能的影响中起着至关重要的作用<sup>[12]</sup>。研究表明,对细胞核施加力,无论是直接施加还是细胞内传递,力的结果(体内发生)会导致细胞核变形,增加核孔对机械不稳定和低分子质量蛋白质(如 YAP)的通透性,从而引起核内基因表达的改变。这一机制成功地将外力、细胞内机械耦合和细胞核的力学特性与核转运联系起来<sup>[13]</sup>。

骨小管网络(lacunarcanalicular network, LCN)

由骨陷窝和微管组成,主要用于组织液的运动。LCN 为陷窝内的骨细胞提供充足的营养供应、废物处理及信号分子交换,以保证其存活和维持正常功能,其大小和形状会影响间隙附近骨组织的力学性能。因此,LCN 也许会影响腔隙中骨细胞的力学感受功能。在无负载状态下,该骨细胞网络可通过损害成骨细胞功能和增加破骨细胞生成使骨量下降,但在 4 月龄 Bcl2 表达下降的转基因小鼠中不产生该变化<sup>[14]</sup>。骨细胞连接网络的这些功能也解释了许多临床研究表明的运动后骨量增加现象。因为与无负载状态相比,运动时的机械负荷可降低骨细胞硬化蛋白的分泌,进而导致对 wnt 典型信号通路的抑制丧失,从而增加附近成骨细胞的骨形成。同时,骨细胞也减少了对破骨细胞生成的促进作用和对成骨细胞功能的抑制作用。

## 2 衰老引起整体骨代谢改变

随着年龄的增加,骨代谢平衡受损,骨折发生率增高。一般认为,动物和人类松质骨的增龄性丢失,部分原因是成骨细胞无法完全替代被破骨细胞吸收的骨组织,这种情况会导致骨小梁厚度减少,而骨小梁厚度是衡量成骨细胞数量和功能的一个重要指标。大部分皮质骨的丢失发生在 60 岁之后<sup>[15]</sup>,其特征是将破骨细胞和成骨细胞祖细胞运送到皮质骨内部的哈弗氏管(Haversian canals)的管径增加,不断扩大的管腔往往在靠近内皮表面融合形成类松质骨结构<sup>[16]</sup>。体内激素水平的改变也会对骨组织产生影响。雌激素是骨代谢的主要激素调节因子,增龄引起的雌激素缺乏是骨质疏松的主要原因之一。在激素环境中,骨代谢由力学负载调控,推测骨质疏松症中骨细胞的机械转导发生了改变。雌激素的缺失可能会增加骨细胞介导的破骨细胞骨吸收激活,导致骨量和骨结构受损。

骨小梁的正常结构可以解释为由机械敏感的骨细胞控制的连续机械适应过程的结果。Harold Frost 首先提出了“机械调节”理论。在这个理论中,他认为在骨骼中存在一种体内平衡调节机制,即在骨形成和骨吸收发生的上方或下方均存在“阈值”。绝经后骨质疏松症等疾病可能会改变这些“阈值”,导致骨形成不足或在机械载荷强度下过度骨吸收,这通常会使得骨量减少。最近研究表明,雌激素水平

降低引起的骨结构变化会改变大鼠松质骨骨细胞周围的组织液流动<sup>[17]</sup>,这一改变可能会引起腔隙小管表面纳米结构基质-矿物水平变化,可能是影响力学信号向骨细胞的传递原因之一<sup>[18]</sup>。

### 3 衰老对骨细胞对力学响应的影响

#### 3.1 骨细胞衰老的机制

衰老的骨髓细胞和骨细胞是骨髓和骨质中衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 的主要来源, SASP 主要由分泌促炎细胞因子、趋化因子和细胞外基质蛋白组成。骨细胞会随着正常的年龄老化而衰老,并产生强烈的 SASP 信号,这可能对骨微环境中邻近的细胞产生负面影响。SASP 已经被证明最初由 NF- $\kappa$ B 刺激骨细胞产生,并通过自分泌循环维持体内水平, IL-1 $\alpha$  在其中也起部分作用。随着年龄的增长,部分骨细胞衰老过程中产生 SASP 信号,该信号被传递给邻近的骨髓细胞谱系。反过来,这些髓细胞谱系可能变得衰老并且放大这个信号,导致促炎细胞因子和趋化因子的过度产生和分泌,从而造成一个有毒的局部微环境,导致邻近细胞的衰老(例如 B 细胞、T 细胞、成骨细胞祖细胞和成骨细胞)和老年性骨质疏松。尽管衰老组织中衰老细胞的数量相对较低,但使用 INK-ATTAC 转基因小鼠(可通过注射 AP20187 药物清除衰老细胞)模型清除 30% 衰老细胞,对预防组织功能障碍和多种与年龄相关的疾病的发生具有深远的影响<sup>[19-20]</sup>,而移除衰老的破骨细胞却不能改变衰老引起的骨质疏松症<sup>[21]</sup>。随着年龄的增长,由于运动力学负荷减少、内源性糖皮质激素增加、以及活性氧损伤在骨中的积累使骨细胞密度降低<sup>[22]</sup>,使得骨细胞的力学信号转导减少,可能会改变骨吸收和骨形成之间的平衡。

端粒缩短是细胞衰老的一个重要机制。年龄相关的端粒缩短导致细胞复制减少,会导致 DNA 修复能力减弱和受损细胞的积累;对成骨细胞祖细胞而言,这将会引起干细胞数量减少和向成骨细胞分化能力受损<sup>[23]</sup>。其机制为端粒的缩短使 p53 表达增加,增加的 p53 会引起细胞周期阻滞、细胞凋亡、Runx2 表达减少等一系列改变<sup>[7]</sup>。引起衰老的另一重要机制是活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 增加导致的骨细胞的损伤和死亡<sup>[24]</sup>。年龄相关的

ROS 增加和谷胱甘肽还原酶活性降低导致调节细胞衰老的 p53 和 p66<sup>shc</sup> 磷酸化水平增加<sup>[25]</sup>,进而使得小鼠成骨细胞和骨细胞凋亡增加和骨量减少<sup>[26]</sup>。另外,有研究表明,随着机体衰老和炎症的发生, p16<sup>INK4a</sup> 启动子激活的细胞在体内而积累,并表现出衰老的特征。p16<sup>INK4a</sup> 激活的细胞出现增殖减少、SASP 相关转录因子表达增加、衰老相关的半乳糖苷酶 (SA- $\beta$ -gal) 激活等衰老相关表现<sup>[27]</sup>。

自噬是一种以功能失调的细胞质大分子、细胞膜和细胞器为靶点,通过溶酶体降解和循环为主的生理过程,其对长寿细胞的健康和生存能力非常重要<sup>[28]</sup>。有报道称,自噬的减少会加速衰老过程,而刺激自噬则具有强大的抗衰老作用<sup>[29]</sup>。研究表明,骨细胞中也存在自噬作用<sup>[30]</sup>。一方面,自噬在骨细胞受到缺氧或糖皮质激素损伤时,对其生存具有保护作用<sup>[30-31]</sup>;另一方面,抑制骨细胞和成骨细胞的自噬导致骨代谢紊乱<sup>[32]</sup>。骨细胞自噬水平随着年龄的增长而降低,骨细胞自噬的减少与胫骨近端骨密度的下降有关,提示老年骨质疏松症可能与骨细胞自噬随着年龄的增长而降低相关<sup>[33]</sup>。

#### 3.2 衰老骨细胞信号通路的改变

在骨细胞突触中,以整合素为基础的胞膜附着复合物可显著地扩增组织局部应变水平。越来越多的证据表明,在包括骨细胞在内的一系列细胞类型中,胞膜附着的局灶性整合素在功能和结构上与其他认定的包括应力激活的离子通道在内的膜力学传感器相联系,说明整合素在力学信号转导中起重要作用,骨细胞衰老导致其力学响应能力减弱可能与胞膜整合素水平降低有关。Sema3A 是一种在骨细胞中表达的骨保护蛋白,是雌激素调控下骨稳态的关键调控因子,主要通过 sGC-cGMP 信号通路 (soluble guanylate cyclase-cGMP signaling) 发挥抗凋亡作用,随年龄增加或更年期后其表达下降引起骨衰老。Hayashi 等<sup>[34]</sup>研究发现,给卵巢切除术后或 Sema3A 基因敲除的小鼠注射 sGC 激动剂后能减少骨丢失。缝隙链接环蛋白 43 (connexin 43, Cx43) 是控制骨细胞存活的信号通路的重要组成部分,在骨组织的力学响应中扮演重要作。衰老引起的 Cx43 表达减少使 miR21 表达降低,从而使骨细胞凋亡增加<sup>[35-36]</sup>。

RANKL 的最初形式是一种 II 型跨膜蛋白,可

被蛋白酶裂解成可溶性 RANKL (sRANKL)。膜结合形式的 RANKL 在发育和生长的骨骼中形成破骨细胞,但在成熟的骨骼,sRANKL 则对松质骨中破骨细胞形成起着至关重要的作用<sup>[37]</sup>。成骨细胞和骨细胞不仅能够通过分泌 RANKL 调节破骨细胞的生成<sup>[38]</sup>,还能够通过分泌骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 结合 RANKL 负调控破骨细胞,从而抑制骨吸收。IL-6、TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  在骨折早期调节骨重建,例如,IL-6 可以通过促进 RANKL 和 JAK2 促进破骨细胞形成<sup>[39]</sup>。来那度胺 (lenalidomide) 能通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路抑制 RANKL 的产生,从而调控骨细胞的命运和破骨细胞发生<sup>[40]</sup>。衰老引起的骨细胞凋亡增加,使邻近产生 OPG 的骨细胞减少和产生 RANKL 骨细胞增加,进而导致破骨细胞的局部增加使骨吸收增加。另外,最近研究发现,Notch 信号通路可以通过抑制 Wnt 通路以及调节 OPG 和 RANKL 分别影响骨形成和骨吸收过程<sup>[41]</sup>。其主要依赖包埋于基质中的陷窝小管网 (lacuno-canalicular network, LCN) 进行细胞间信号传递。而在破骨细胞中,一些 miRNA 被证明可以调节关键信号分子,例如 Notch、RANKL、RANK、降钙素受体和 RhoA<sup>[42]</sup>。研究表明,在骨形成细胞中,一些 miRNA 可通过促进信号 (如 Runx2、Osx、ATF4、Smad5、ERK、Cx43、LRP6) 或抑制信号 (如 Foxo1、DKK1、PPAR $\gamma$ ) 增强骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 向成骨细胞的分化<sup>[43]</sup>。

随着年龄的增长,内源性糖皮质激素的表达增加,导致 ROS 生成和 FOXO 活性增加<sup>[44]</sup>,这反过来又拮抗 Wnt 信号。由于 Wnt 信号通路是调节骨内稳态的重要途径,Wnt 信号通路的改变可能影响骨完整性。在小鼠中,Wnt3a、Wnt5a、Wnt10b 是控制成骨细胞和脂肪细胞分化的重要配体,其表达随着年龄的增长而显著下降。因此,Wnt 信号的减少可能会导致衰老小鼠骨形成的改变。研究表明,老龄小鼠对力学负载引起的骨形成反应降低可能是由于反复负重后无法维持 Wnt 活性所致,多种力学加载可诱导年轻小鼠的骨细胞产生持续的 Wnt 信号,但老年小鼠则没有<sup>[45]</sup>。Carmeliet 等<sup>[46]</sup> 研究发现,当体内氧含量低于临界值时,脯氨酰羟化酶 2 (prolyl hydroxylase PHD2) 的表达量减少使低氧诱导转录因子 (hypoxia-inducible transcription factor

HIF- $\alpha$ ) 表达增加,这会引起来乙酰化酶 1 (sirtuin 1) 依赖的 SOST 启动子去乙酰化,从而导致硬化蛋白表达降低,进而增强 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的表达。此外,骨细胞中 PHD2 的基因敲除可减轻雌激素缺乏或无负载引起的骨质疏松性骨丢失。Keizer 等<sup>[47]</sup> 研究表明,FOXO4 是衰老细胞生存能力的关键调控因子,在衰老细胞中 FOXO4 与促凋亡因子 p53 形成复合物,抑制 FOXO4 与 p53 结合会导致 p53 核排斥和细胞自发凋亡。

由于基质应变可能是由细胞体直接感受力学信号,故骨细胞形态及其腔隙的差异可能表明骨细胞力学感受性的差异。事实上,骨细胞的力学敏感性似乎受到其形态的强烈影响。骨细胞三维形态的差异可能是导致骨骼在相似外部生理力学刺激作用下产生不同基质应变的原因。然而,骨细胞三维形态的差异也会导致骨细胞对力学信号敏感性的改变,从而使骨细胞的形状成为骨量变化的潜在诱因<sup>[18]</sup>。LCN 是骨骼中骨体积的重要组成部分 (约占 4.2%),由于小管面积分数的下降,老年妇女的 LCN 减少。由于“代谢饥饿”,LCN 表面积的显著减少,可能损害骨细胞合胞体的矿物动员和机械转导功能,从而导致基质的周转增加。相互连接的减少也会阻碍骨细胞的交流,最终阻碍骨的重建<sup>[48]</sup>。

在人类皮质骨中,骨重建会产生圆柱状的结构单元,称为哈弗氏系统 (Haversian systems)。它们由一根由同心骨板包围的中央管组成,包括位于层间的骨细胞腔和最外层的覆盖鞘,通常被称为“粘着线” (cement line, CL)。骨 CL 常被认为是不能渗透的屏障,但最近有研究表明,年轻个体的骨细胞小管常穿透 CL 并锚定在周围的骨中,从而在不同组织年龄的骨段之间建立起沟通,这对于整个骨骼适应应力改变至关重要。而年老个体中骨细胞小管则会闭塞或减少,相邻骨块或间质骨的骨细胞缝隙连接明显减少,导致组织结构单元之间的沟通受损。另外,骨细胞可以溶解其周围的矿物质,但年龄增加引起的骨陷窝闭塞会解除矿化抑制引起周围矿化增加,这将导致 CL 矿化增强<sup>[49]</sup>。

#### 4 总结及展望

衰老会引起骨细胞周围小管、骨细胞支架和细

胞内信号通路等一系列改变,从而导致骨细胞力学响应能力减弱。虽然在理解骨细胞衰老引起力学响应改变的机制方面取得了重要进展,但仍有几个重要问题有待解决:其一是在体外难以完全复制体内的衰老模型;其二,由于骨骼受力方向、大小及形式的复杂性和体内 LCN 的存在,利用体外力学模型难以模拟骨细胞的力学环境,这使得针对衰老骨细胞力学响应的研究困难重重。但近年来外泌体的发现为骨细胞力学响应机制的探索带来新的方向。最后,一个关键问题将是在骨细胞衰老引起的力学响应能力减弱过程中,确定最佳影响靶点,以最大保存骨量和维持骨结构的完整性。这个关键问题的解决将会为衰老引起的骨质疏松等疾病的治疗带来新的曙光。

#### 参考文献:

- [ 1 ] WEI Y, SUN Y. Aging of the bone [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1086: 189-197.
- [ 2 ] DALLAS SL, PRIDEAUX M, BONEWALD LF. The osteocyte: An endocrine cell... and more [J]. *Endocr Rev*, 2013, 34(5): 658-690.
- [ 3 ] IOLASCON G, RESMINI G, TARANTINO U. Mechanobiology of bone [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2013, 25 (Suppl 1): S3-7.
- [ 4 ] LEWIS KJ, FRIKHA-BENAYED D, LOUIE J, *et al.* Osteocyte calcium signals encode strain magnitude and loading frequency *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114 (44): 11775-11780.
- [ 5 ] JING D, BAIK AD, LU XL, *et al.* *In situ* intracellular calcium oscillations in osteocytes in intact mouse long bones under dynamic mechanical loading [J]. *FASEB J*, 2014, 28(4): 1582-1592.
- [ 6 ] NAKASHIMA T, TAKAYANAGI H. New regulation mechanisms of osteoclast differentiation [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011, 1240: E13-18.
- [ 7 ] WANG H, CHEN Q, LEE SH, *Et al.* Impairment of osteoblast differentiation due to proliferation-independent telomere dysfunction in mouse models of accelerated aging [J]. *Aging Cell*, 2012, 11(4): 704-713.
- [ 8 ] ZHANG Y, PAUL EM, SATHYENDRA V, *et al.* Enhanced osteoclastic resorption and responsiveness to mechanical load in gap junction deficient bone [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23516.
- [ 9 ] HOFFMAN BD, GRASHOFF C, SCHWARTZ MA. Dynamic molecular processes mediate cellular mechanotransduction [J]. *Nature*, 2011, 475(7356): 316-23.
- [ 10 ] MORRELL AE, BROWN GN, ROBINSON ST, *et al.* Mechanically induced Ca (2+) oscillations in osteocytes release extracellular vesicles and enhance bone formation [J]. *Bone Res*, 2018, 6: 6.
- [ 11 ] HATA M, NARUSE K, OZAWA S, *et al.* Mechanical stretch increases the proliferation while inhibiting the osteogenic differentiation in dental pulp stem cells [J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(5-6): 625-633.
- [ 12 ] MIYAUCHI A, GOTOH M, KAMIOKA H, *et al.* AlphaVbeta3 integrin ligands enhance volume-sensitive calcium influx in mechanically stretched osteocytes [J]. *J Bone Miner Metab*, 2006, 24(6): 498-504.
- [ 13 ] STRZYZ P. Mechanotransduction: Enforcing protein import [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(12): 713.
- [ 14 ] MORIISHI T, FUKUYAMA R, ITO M, *et al.* Osteocyte network: A negative regulatory system for bone mass augmented by the induction of Rankl in osteoblasts and Sost in osteocytes at unloading [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e40143.
- [ 15 ] NICKS KM, AMIN S, ATKINSON EJ, *et al.* Relationship of age to bone microstructure independent of areal bone mineral density [J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(3): 637-644.
- [ 16 ] JILKA RL, O'BRIEN CA. The role of osteocytes in age-related bone loss [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2016, 14(1): 16-25.
- [ 17 ] CIANI C, SHARMA D, DOTY SB, *et al.* Ovariectomy enhances mechanical load-induced solute transport around osteocytes in rat cancellous bone [J]. *Bone*, 2014, 59: 229-234.
- [ 18 ] KLEIN-NULEND J, OERS RFM, BAKKER AD, *et al.* Bone cell mechanosensitivity, estrogen deficiency, and osteoporosis [J]. *J Biomech*, 2015, 48(5): 855-865.
- [ 19 ] FARR JN, XU M, WEIVODA MM, *et al.* Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice [J]. *Nat Med*, 2017, 23(9): 1072-1079.
- [ 20 ] FARR JN, FRASER DG, WANG H, *et al.* Identification of senescent cells in the bone microenvironment [J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(11): 1920-1929.
- [ 21 ] KIM HN, CHANG J, IYER S, *et al.* Elimination of senescent osteoclast progenitors has no effect on the age-associated loss of bone mass in mice [J]. *Aging Cell*, 2019, doi: 10.1111/acer.12923.
- [ 22 ] CHEN H, SENDA T, KUBO KY. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis [J]. *Med Mol Morphol*, 2015, 48(2): 61-68.
- [ 23 ] MARIE J. Bone cell senescence: Mechanisms and perspectives [J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(6): 1311-1121.

- [24] MANOLAGAS SC, ALMEIDA M. Gone with the Wnts; Beta-catenin, T-cell factor, forkhead box O, and oxidative stress in age-dependent diseases of bone, lipid, and glucose metabolism [J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(11): 2605-2614.
- [25] GAMBINO V, MICHELE G, VENEZIA O, *et al*. Oxidative stress activates a specific p53 transcriptional response that regulates cellular senescence and aging [J]. *Aging Cell*, 2013, 12(3): 435-445.
- [26] ALMEIDA M. Aging mechanisms in bone [J]. *Bonekey Rep*, 2012, doi: 10.1038/bonekey.2012.102.
- [27] LIU JY, SOUROULLAS GP, DIEKMAN BO, *et al*. Cells exhibiting strong p16 (INK4a) promoter activation *in vivo* display features of senescence [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(7): 2603-2611.
- [28] MARTINEZ-LOPEZ N, ATHONVARANGKUL D, SINGH R. Autophagy and aging [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 847: 73-87.
- [29] RAJAWAT YS, HILIOTI Z, BOSSIS I. Aging: Central role for autophagy and the lysosomal degradative system [J]. *Ageing Res Rev*, 2009, 8(3): 199-213.
- [30] ZAHM AM, BOHENSKY J, ADAMS CS, *et al*. Bone cell autophagy is regulated by environmental factors [J]. *Cell Tissue Organ*, 2011, 194(2-4): 274-278.
- [31] JIA J, YAO W, GUAN M, *et al*. Glucocorticoid dose determines osteocyte cell fate [J]. *FASEB J*, 2011, 25(10): 3366-3376.
- [32] LIU F, FANG F, YUAN H, *et al*. Suppression of autophagy by FIP200 deletion leads to osteopenia in mice through the inhibition of osteoblast terminal differentiation [J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(11): 2414-2430.
- [33] CHEN K, YANG YH, JIANG SD, *et al*. Decreased activity of osteocyte autophagy with aging may contribute to the bone loss in senile population [J]. *Histochem Cell Biol*, 2014, 142(3): 285-295.
- [34] HAYASHI M, NAKASHIMA T, YOSHIMURA N, *et al*. Autoregulation of osteocyte Sema3A orchestrates estrogen action and counteracts bone aging [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(3): 627-637.
- [35] KAR R, RIQUELME MA, WERNER S, *et al*. Connexin 43 channels protect osteocytes against oxidative stress-induced cell death [J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(7): 1611-1121.
- [36] DAVIS HM, PACHECO-COSTA R, ATKINSON EG, *et al*. Disruption of the Cx43/miR21 pathway leads to osteocyte apoptosis and increased osteoclastogenesis with aging [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(3): 551-563.
- [37] XIONG J, CAWLEY K, PIEMONTESE M, *et al*. Soluble RANKL contributes to osteoclast formation in adult mice but not ovariectomy-induced bone loss [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2909.
- [38] NAKASHIMA T, HAYASHI M, FUKUNAGA T, *et al*. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression [J]. *Nat Med*, 2011, 17(10): 1231-1234.
- [39] WU Q, ZHOU X, HUANG D, *et al*. IL-6 enhances osteocyte-mediated osteoclastogenesis by promoting JAK2 and RANKL activity *in vitro* [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4): 1360-1369.
- [40] QU X, MEI J, YU Z, *et al*. Lenalidomide regulates osteocytes fate and related osteoclastogenesis via IL-1beta/NF-kappaB/RANKL signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(2): 547-555.
- [41] CANALIS E, SCHILLING L, YEE S, *et al*. Hajdu cheney mouse mutants exhibit osteopenia, increased osteoclastogenesis, and bone resorption [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(4): 1538-1551.
- [42] WIJNEN AJ, PEPPEL J, LEEUWEN J, *et al*. MicroRNA functions in osteogenesis and dysfunctions in osteoporosis [J]. *Curr Osteoporosis Rep*, 2013, 11(2): 72-82.
- [43] ROSE L, ULUDAG H. Realizing the potential of gene-based molecular therapies in bone repair [J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(11): 2245-2262.
- [44] WEINSTEIN RS, WAN C, LIU Q, *et al*. Endogenous glucocorticoids decrease skeletal angiogenesis, vascularity, hydration, and strength in aged mice [J]. *Aging Cell*, 2010, 9(2): 147-161.
- [45] HOLGUIN N, BRODT MD, SILVA MJ, *et al*. Activation of Wnt signaling by mechanical loading is impaired in the bone of old mice [J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(12): 2215-2226.
- [46] STEGEN S, STOCKMANS I, MOERMANS K, *et al*. Osteocytic oxygen sensing controls bone mass through epigenetic regulation of sclerostin [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2557.
- [47] BAAR M, BRANDT RMC, PUTAVET DA, *et al*. Targeted apoptosis of senescent cells restores tissue homeostasis in response to chemotoxicity and aging [J]. *Cell*, 2017, 169(1): 132-147.
- [48] ASHIQUE AM, HART LS, THOMAS CDL, *et al*. Lacunar-canalicular network in femoral cortical bone is reduced in aged women and is predominantly due to a loss of canalicular porosity [J]. *Bone Rep*, 2017, 7: 9-16.
- [49] MILOVANOVIC P, VOM SCHEIDT A, MLETZKO K, *et al*. Bone tissue aging affects mineralization of cement lines [J]. *Bone*, 2018, 110: 187-193.