

肠道微生物与骨质疏松相关性的研究进展

魏晋鹏¹, 常峰^{*2}

1 山西医科大学第五临床医学院, 山西 太原 030012

2 山西省人民医院骨科, 山西 太原 030012

魏晋鹏, 常峰. 肠道微生物与骨质疏松相关性的研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 729-741.

WEI Jinpeng, CHANG Feng. Advances in the relationship between gut microbiota and osteoporosis[J]. Microbiology China, 2023, 50(2): 729-741.

摘要: 随着人口老龄化问题的加剧, 骨质疏松症的高发生率降低了人们的生活质量。越来越多的证据表明, 肠道微生物群与骨代谢联系密切, 肠道微生物群稳态的破坏会导致宿主的病理生理反应, 从而引起骨质疏松。通过研究两者之间的相互作用, 或许能为骨质疏松症的预防及相关诊疗提供有价值的帮助。本文就目前肠道微生物与骨质疏松症相关机制和主要治疗的研究现状作一综述。

关键词: 骨质疏松症; 肠道菌群; 骨免疫学; 骨微生物学; 治疗

Advances in the relationship between gut microbiota and osteoporosis

WEI Jinpeng¹, CHANG Feng^{*2}

1 The Fifth Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, Shanxi, China

2 Department of Orthopedics, Shanxi Provincial People's Hospital, Taiyuan 030012, Shanxi, China

Abstract: The high incidence of osteoporosis in the aging population reduces the quality of life. There is growing evidence that the gut microbiota is closely linked to bone metabolism. Gut microbiota disorder will lead to pathophysiological responses in the host, which can cause osteoporosis. The research on the interactions between gut microbiota and osteoporosis may contribute to the management of osteoporosis-related conditions. This paper reviews the advances in the interactions between gut microbiota and osteoporosis and the relevant therapies.

Keywords: osteoporosis; gut microbiota; Osteoimmunology; Osteomicrobiology; treatment

资助项目: 山西省卫生健康委科研计划(2018029, 2019019)

This work was supported by the Scientific Research Project of Shanxi Provincial Health Commission (2018029, 2019019).

*Corresponding author. E-mail: cfmedmail@163.com

Received: 2022-05-22; Accepted: 2022-06-29; Published online: 2022-07-13

1 骨质疏松症

人体成骨细胞和破骨细胞之间的相互作用是维持骨量平衡的关键。骨质疏松症(osteoporosis, OP)是因破骨细胞功能上调引起骨组织微结构的破坏和骨量减少的一种慢性疾病。大约有10%的人口和超过30%的50岁以上绝经后妇女患有OP^[1]。OP的发生不仅取决于遗传因素、骨量的峰值和流失速度,人体自身的环境因素包括饮食、锻炼、个人习惯、老化等也在其中发挥着较明显的作用^[2]。女性患者因雌激素的缺乏和绝经后内分泌的改变打破了成骨细胞和破骨细胞的平衡,更易引起骨质疏松和骨折的发生^[3]。因OP及其导致的复杂性骨折严重影响了患者的生活质量,同时在全球范围内造成了庞大的医疗和经济负担^[4]。目前,针对OP的干预与管理包括改变生活方式、补充必需营养、药物干预和手术治疗。老年病人常因日常生活中不慎摔倒或弯腰拾物时发生腰椎和四肢的骨折前来就诊,但术后因OP所引起并发症的发生和再手术情况并不罕见。因此,早期预防及药物干预对于OP患者生活质量的提升具有重要意义。实际上,大多数骨质疏松患者并未接受系统性的治疗,补充钙剂和维生素D是临床上常用的干预方式,但并未起到很好的治疗效果。目前,相关治疗的药物,如双磷酸盐、雌激素受体调节剂、降钙素、甲状旁腺激素等虽有一定的疗效,但患者的低依从性和长期服用产生副作用仍是限制其使用的关键因素^[5]。

2 肠道微生物概况

存在于人体的万亿个微生物中,绝大多数是由存在于肠道中的千余种肠道微生物(gut microbiota, GM)组成^[6]。这些自出生就存在的微生物群包括原核生物(细菌和古生物)、真核生物

(真菌、肠道原生动物和寄生蠕虫)、病毒和噬菌体等在消化系统中构建了最庞大、最重要、最具多样性的微生态系统^[7]。在这个生态系统中,宿主为GM提供了生存空间,而GM促进了碳水化合物和氨基酸的代谢。GM将这些物质转化为短链脂肪酸、细菌素和抗菌肽,为宿主提供能量的同时,也为肠道微生物的生长和繁殖提供营养,从而维持胃肠道环境与人体各大系统之间的动态平衡^[8-9]。GM因其组成及结构的多样性和特异性,在维持人体健康、促进防御反应和调节宿主免疫中发挥着至关重要的作用。然而,不良饮食的习惯、医疗中抗生素的滥用、生活环境的改变对GM产生的负面影响会导致多器官的功能失调^[10]。这与一系列的慢性代谢性疾病(如OP、糖尿病、心脏病、帕金森病等)的发生和发展有着密不可分的联系。已有相关研究表明,通过调节GM的生物丰度可以调控疾病的发生、发展^[11]。因而肠道微生物区系作为一个潜在的新靶点,可能为代谢性疾病的治疗提供新的方案。

3 骨免疫学

从“骨免疫学”概念被提出开始,就有越来越多的研究表明骨与免疫系统之间有着复杂的相互调控机制。除了与骨代谢相关的免疫细胞外,由其所诱导分化所产生的子细胞、细胞因子也影响着骨代谢^[12]。其中,特别是由T细胞分化而来的核因子- κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、干扰素 γ (interferon gamma, IFN- γ)等在OP的发病机制中发挥关键作用。

核因子- κ B受体活化因子(receptor activator of nuclear factor kappa-B, RANK)-RANKL-骨保护素(osteoprotegerin, OPG)是调节骨平衡的重

要通路之一。RANKL 与表达于破骨前体细胞表面的 RANK 结合, 通过核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 途径、蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB, 也称 Akt) 途径等促进破骨细胞的分化和发育, 而 OPG 竞争性抑制 RANK-RANKL 的结合, 从而抑制破骨细胞的分化^[13]。生理状态下 RANKL-OPG 的比值保持动态平衡, 当比值增加时表现为骨吸收, 反之则表现为骨形成; TNF- α 和 IFN- γ 也可以通过影响此通路对骨平衡进行调节^[14]。TNF- α 可促进破骨细胞的活化和活性, 从而促进 RANKL 的表达; 同时, TNF- α 上调了基质细胞和成骨细胞中细胞因子的形成, 抑制 OPG 的分泌, 最终促进了骨吸收^[14]。不同于 TNF- α 的直接作用, IFN- γ 主要作用于 RANK-RANKL 通路的多个位点; 通过上调肿瘤坏死因子受体相关分子 6 (TNF receptor associated factor 6, TRAF6) 的降解或降低活化 T 细胞核因子 1 (nuclear factor of activated T-cells 1, NFATC1) 的表达, 在破骨细胞分化早期抑制破骨细胞的表达; 在破骨细胞分化后期, IFN- γ 也可上调 NFATC1 的表达影响通路, 从而促进单核破骨细胞的融合^[15]。

T 细胞的活化在 OP 的发展中发挥着重要的作用, 活化的 T 细胞作用于成骨细胞和骨髓间质细胞, 进而调节骨代谢。CD4⁺ T 细胞的子细胞如调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)、Th17 等在体内也有着不同作用。Treg 细胞分泌的转化生长因子 β 1 可以抑制 T 细胞活化, 减少 TNF- α 和 IFN- γ 的生成, 降低破骨细胞的活性^[16], 而在炎性环境下 Tregs 的功能将被抑制^[17]。Th17 细胞因炎症反应分泌大量的 IL-17 和 IL-2, 从而使免疫细胞在局部集聚, 同时产生的 RANKL 和 TNF- α 促进破骨细胞的活化, 增加了骨的吸收与溶解^[18-19]。此外, T 细胞可以通过细胞间相

互作用来影响骨平衡。T 细胞表达的细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4) 可以中断 CD80/86 与 CD28 复合物的形成, 而 CD80 和 CD86 在破骨细胞上均有表达^[20]。

正如前文所说, 成骨细胞和破骨细胞的动态平衡是维持骨代谢的必要条件, 而女性因绝经后雌激素下降引起稳态失稳所导致的绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP) 更为常见。当雌激素与破骨细胞表面的受体结合后能抑制其分化和降低 RANKL 的表达, 而与成骨细胞表面受体结合后能促进成骨细胞分化、破骨细胞凋亡并增加 OPG 的表达^[21]。当雌激素下降时, T 细胞将变得更加活跃, 导致 RANKL/OPG 的比值增加导致 PMOP^[21]。此外, 雌激素降低还可以通过抑制 Wnt 信号通路^[22]、3A/Nrp-1 信号通路^[23]及激活 GDF11-FTO-PPAR γ 信号通路^[24]来影响骨代谢而导致 PMOP。另外, 雌激素缺乏也可导致 CD40/CD40L 系统中 CD40L 的表达上调, CD40/CD40L 系统可提高巨噬细胞的活化、分化及 B 淋巴细胞免疫记忆的维持, 最终导致巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)、TNF- α 和 RANKL 的表达增加, 导致 PMOP^[25]。

4 骨微生物学

近年来, 微生物-肠道-骨轴在骨骼健康领域引起了越来越多的关注。骨微生物学的提出, 让人们更加好奇 GM 在 OP 的发展中发挥怎样的作用^[26]。一篇有关汉族老年人 OP 的研究表明^[27], 在 OP 患者肠道中, 拟杆菌门、拟杆菌属和艾森伯吉氏杆菌属的绝对和相对丰度均较高, 梭状芽胞杆菌、嗜酸杆菌、乳杆菌和埃格氏菌属的绝对丰度增加, 副杆菌属和叶黄杆菌属的相对丰度增加, 而雷氏杆菌属的相对丰度

降低。这为肠道微生物区系在骨质疏松发病机制中的潜在作用提供了流行病学证据,可以通过调控肠道内菌属的丰度来对人体骨量进行调节。这也为 OP 的治疗开拓了一片新的领域,肠道微生物的相关研究也因其巨大的潜力开始成为研究的热点。这些研究表明 GM 与 OP 之间有着密不可分的关系。下面我们结合最新的文献报道简述 GM 是如何通过不同的物质、通路或代谢产物去影响骨代谢。

4.1 肠道屏障的完整性

正常的肠道屏障功能在有害物隔离、营养吸收、免疫保护等方面具有重要作用,肠屏障受损是 OP 的发病机制之一。由闭合蛋白(claudin)、咬合蛋白(occludin)和带状闭合蛋白-1(zona occluden-1, ZO-1)等跨膜蛋白组成的紧密连接结构构成了肠屏障功能中最重要的部分^[28]。当把老年大鼠的 GM 定殖于 3 月龄的大鼠体内时肠道通透性增加,也表明 GM 可以通过改变这些紧密结构蛋白的表达和分布,从而改变肠道屏障功能^[29]。肠道屏障的损害能使微生物或潜在抗原转移至上皮黏膜下层,激活免疫细胞启动异常的肠道和全身免疫反应,继而引起骨量的丢失^[30]。除病理变化导致的功能紊乱外,性激素的丢失等这类生理变化也可以破坏屏障功能,从而导致循环中的内毒素和 CD4⁺ T 细胞的增加,这被认为是 PMOP 的重要机制^[30]。此外,针对 GM 治疗 OP 的相关物质如益生菌、益生元的潜在机制,维生素 D、维生素 B、维生素 K 等的吸收都离不开肠道屏障功能的完整性,而这些物质在骨平衡中均发挥着重要的生理作用^[31]。因此,GM 失调、肠道屏障功能减弱和免疫系统反应性增强,导致肠道有害物质经肠道屏障进入机体生成大量促破骨细胞生成因子,最终导致破骨细胞的激活和骨吸收。

4.2 代谢产物

4.2.1 短链脂肪酸

短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFA)一直是肠-骨轴所研究的热点。被摄入的膳食纤维在肠道被 GM 发酵成 SCFA (如乙酸盐、醋酸盐和丙酸盐),降低了肠道的 pH 值,从而导致钙吸收增加^[32]。同时,SCFA 被认为是肠道上皮细胞的能源供给者,这可能会稳定肠道健康和肠道屏障功能^[33]。SCFA 对免疫功能的调节及与免疫因子之间的相互作用对于骨平衡的影响至关重要。SCFA 作用于膜蛋白(如 GPR109A、GPR43、SLC5A8 和 GPR41)不仅可以促进 Treg 细胞的发育,还可以抑制 Th17 细胞的产生,从而减少炎症细胞因子(IL-6、IL-17 和 IL-23)表达,维持免疫平衡^[34-35]。除此之外,SCFA 还可以通过降低组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDAC)的活性抑制骨髓细胞分化为破骨细胞,从而直接影响破骨细胞和成骨细胞的形成^[36]。SCFA 还可以通过与 G 蛋白偶联受体和游离脂肪酸 G 蛋白结合从而抑制破骨细胞发育^[37]。另一方面,SCFA 还可以通过调节 OPG 和 Wnt 信号通路而调节骨的形成^[38]。

4.2.2 氧化三甲胺

三甲胺(trimethylamine)是胆碱、L-肉碱和磷脂酰胆碱在 GM 参与下产生的气体。通常可以在 OP 和 PMOP 患者中观察到氧化三甲胺(trimethylamine-N-oxide, TMAO)的水平显著升高。已有研究表明,TMAO 通过激活 NF- κ B 信号通路,不仅促进骨髓间充质干细胞脂肪生成,抑制成骨细胞的作用,也增加了活性氧的释放和炎细胞因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)的产生,促进破骨细胞的活化,最终增加发生 OP 和骨折的风险^[39]。

4.2.3 脂多糖

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)表现为双

向调节, 当存在 RANKL 刺激时, 激活 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)和生长转化因子, 引起 IL-1、TNF、COX-2 等炎性介质的增加, 促进破骨细胞的生成; 而缺少 RANKL 刺激时, 前破骨细胞分化形成吞噬细胞, 抑制破骨细胞生成^[40]。此外, 肠道屏障通过紧密连接调节的通透性, 肠黏膜屏障功能障碍会引起 LPS 水平升高, 进而增加膜通透性, 从而使更多的 LPS 进入循环, 导致骨代谢的障碍^[41]。

4.2.4 色氨酸代谢物

GM 分解色氨酸产生的代谢物如犬尿氨酸(kynurenine, KYN)和血清素可以作为生态失调的生物标志物, 同时也与骨代谢密切相关^[42]。KYN 经芳烃受体途径所产生的化合物抑制成骨细胞的分化并经 RANKL 途径诱导破骨细胞生成^[43]。

4.3 免疫反应

4.3.1 T 细胞和 B 细胞

2012 年就有研究指出^[44], 无菌喂养的小鼠因其具有不成熟的黏膜免疫系统而改变了免疫细胞的表达, 其血液及次级淋巴组织中循环的 CD4⁺ T 细胞减少, 骨髓中 CD4⁺ T 细胞的低表达抑制了破骨细胞生成, 从而导致骨吸收减少; 然而当无菌喂养的小鼠恢复常规化喂养时, 其骨量和骨髓中 CD4⁺ T 细胞的含量则恢复正常。这是首次提出 GM 可以通过炎症反应因子改变骨中免疫状态进而影响骨代谢的报道。那么 GM 是如何通过影响免疫反应进而影响骨代谢呢?

Th17 细胞被认为在 OP 发病中具有重要作用, 其在小肠的固有层中含量丰富, 而且分段丝状细菌(segmented filamentous bacteria, SFB)可以诱导产生 Th17 细胞和之后的炎症反应已被研究报道^[45]。SFB 促进抗菌蛋白 RegIIIg 表达的增加, 肠道树突状细胞对 SFB 抗原的 MHCII 依赖性抗原呈递均诱发 Th17 极化^[46]。

此外, 黏附在人回肠黏膜的梭菌属、瘤胃球菌属、韦荣氏菌属、丁酸单胞菌属和普氏菌属等细菌均与 Th17 细胞的活化有关^[47]。信号转导及转录激活蛋白-3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)是 STAT 蛋白家族成员, 是一种与自身免疫发病机制相关的多功能转录因子, 脆弱拟杆菌可产生脆弱拟杆菌毒素, 通过两面神激酶(janus kinase, JAK)-STAT3 信号通路激活人肠道内 Th17 细胞的募集^[48]。

Treg 细胞通过 CTLA-4/CD80/86 通路激活 NF- κ B 诱导的激酶和吡咯 2,3-双加氧酶, 随后通过细胞间接触引发破骨细胞前体细胞凋亡。目前, 已发现包括梭状芽孢杆菌、拟杆菌属、双歧杆菌、乳酸杆菌和螺杆菌在内的几种细菌促进了 Treg 细胞的分化及生成^[49]。

B 细胞被认为是 RANKL 和 OPG 的来源, 是骨稳态的重要调节剂, B 细胞的发育也受到肠道微生物群的调节^[50]。B 淋巴细胞可以经磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol3-kinase, PI3-K)-Akt-雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)这一经典信号通路调控 RANKL/OPG 的比值, 而 GM 可抑制 mTOR 转录因子的激活, 导致比值的增加^[51]。

4.3.2 Wnt/ β -catenin 通路

Wnt/ β -catenin 是一个高度保守的信号通路, 调控成骨细胞的分化及凋亡, 在 OP 的发展中发挥重要的作用。Wnt/ β -catenin 通路可被脆弱拟杆菌等细菌调节, 产生 TNF 类炎症细胞因子减少骨吸收^[52]。当 Wnt 与成骨细胞表面上的受体结合时, 细胞内 β -catenin 趋于稳定, 当与 T 细胞因子(T cell factor, TCF)结合后, 激活了成骨细胞中 OPG 的转录表达, 减少了骨吸收^[53]。因此, 当 GM 失调引起 OPG 下降时, RANKL/OPG 的比率上升引起破骨细胞数量的增加和 β -catenin 的吸收, 导致 Wnt 通路稳态的

破坏, 从而影响骨平衡。

4.3.3 核苷酸结合寡聚化结构域 1 和 2

核苷酸结合寡聚化结构域 1 和 2 (nucleotide-binding oligomerization domain 1 and 2, NOD1 and NOD2) 是抗细菌免疫的关键模式识别受体, 通过识别细菌胞壁成分肽聚糖, 介导免疫应答信号途径活化而发挥重要作用, 对于炎症性肠病的诊断和治疗具有重要意义^[54]。GM 与骨骼之间可通过 NOD1 和 NOD2 蛋白受体与 TLR5 天然免疫信号通路相互作用, TLR5 被认为是 RANKL 表达和破骨细胞形成的激活剂, 在缺乏 NOD1 或 NOD2 的无菌小鼠内未表现出骨量的增加或 TNF- α 和 RANKL 表达的降低, 表明 NOD1、NOD2 和 TLR5 通路在 GM-骨相互作用中发挥重要作用^[55-56]。

4.4 内分泌因素

4.4.1 胰岛素样生长因子

GM 可以通过影响胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 的水平来调节骨的生成。IGF-1 是一种通过内分泌、旁分泌和自分泌参与骨重塑的重要调节因子, 其通过 PI3K-Akt-mTOR 途径诱导内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 的高表达, 不仅可以促进软骨的形成和轴向骨的生长, 而且影响成骨细胞和破骨细胞的发育^[57]。当我们在无菌喂养鼠中定期增加肝源性 IGF-1 时, 短期表现为骨的丢失, 而经 8 个月后表现为骨的形成, 骨量增加^[58]。当给抗生素治疗的小鼠补充 GM 的代谢产物 SCFA 时, 可以将 IGF-1 和骨量恢复到正常小鼠的水平, 可见无菌小鼠 GM 的恢复是通过 SCFA 的产生诱导循环中 IGF-1 的水平, 从而对骨代谢产生影响^[59]。

4.4.2 性激素

GM 是性激素降低导致骨丢失所必需的。雌激素是女性最重要的激素之一, 当其主要分

泌器官卵巢的功能减退后, 便可以出现与之相关的 PMOP; 而在男性体内, 雄激素则主要是通过外周转换为雌激素从而调节骨平衡的^[60-61]。雌激素可以通过多种方式参与对骨代谢的调控^[62]: (1) 直接影响细胞因子如 RANKL、IL-1、TNF- α 的合成; (2) 通过调控 miR-133 的表达调控间充质干细胞的成骨分化; (3) 作为自由基存在, 通过直接抗氧化作用抑制氧化应激水平。在与 GM 的相互作用中雌激素表现得非常特殊, 研究发现^[50], 在无菌小鼠中, 雌激素的缺乏并未增加破骨细胞的活化和骨的吸收。这表明在雌激素缺乏所引起的骨吸收中, GM 发挥了核心作用。此外, 雌激素的缺乏也会导致肠道屏障的紧密蛋白表达减少, 从而增加肠道的通透性, 并诱导与 OP 相关的细胞因子 RANKL 等的生成产生慢性炎症, 增加骨的吸收^[30]。总之, 任何可以恢复肠道通透性的治疗方法都将为防止性激素耗竭引起的骨丢失提供一种有前途的治疗方法。

4.4.3 5-羟色胺

5-羟色胺 (5-hydroxy tryptamine, 5-HT) 作为单胺类神经递质, 在成骨细胞和破骨细胞中均存在其受体。绝大部分 5-HT 由肠嗜铬细胞生成, GM 也可以利用食物中色氨酸生成 5-HT^[63]。内源性的 5-HT 在脑-肠-骨轴中发挥着重要的作用, 可以通过激活下丘脑腹内侧核神经元上的 5-HT_{2C} 受体调节肾上腺素分泌来诱导骨的形成, 促进成骨细胞增值的同时抑制破骨细胞生成^[64]。5-HT 与前成骨细胞和成骨细胞上的 5-T_{H1B} 受体结合可以抑制 cAMP 的产生和蛋白激酶 A 介导的 cAMP 磷酸化, 使得细胞周期蛋白基因表达减少, 抑制成骨细胞的增殖^[65]。GM 可以促进 5-HT 在肠内皮细胞中的合成, 生成肠源性的 5-HT, 通过调节 Wnt/ β -catenin 信号对骨平衡进行调节^[66]。

4.4.4 甲状旁腺激素

甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)是一种重要的促钙激素,不同程度的刺激对骨代谢的调节是具有差异的。研究发现,间断性的PTH可以促进成骨细胞分化,协调骨前体细胞的招募,促进骨形成;相反地,持续性的PTH通过OPG-RANKL-RANK通道诱导单核细胞趋化蛋白-1(可增加破骨前体细胞的吸引力)的表达而促进骨吸收^[67]。然而,持续性的PTH仅在含SFB的小鼠中诱导特异性的Th17细胞增殖和骨丢失,但在无菌喂养小鼠中则无相关反应,这表明PTH在某些肠道微生物群的帮助下诱导Th17细胞从肠道向骨髓的运输是骨丢失所必需的途径^[45]。特立帕肽作为一种合成的多肽激素,具有PTH生物活性的N-末端区域,可以对骨吸收和骨形成进行调节,其与双磷酸盐(阿仑膦酸钠)的对比已被证实特立帕肽具有更好的生物学疗效^[68]。

4.4.5 胆汁酸

GM与胆汁酸的相互作用在骨代谢中起重要作用,其中,次级胆汁酸(lithocholic acid, LCA)作为维生素D受体的配体,可影响酶细胞色素P45024A亚家族多肽1(cytochrome P450 family 24 subfamily A polypeptide 1, CYP24A1)中的启动子反应元件调节CYP24A1,从而影响维生素D的活性,而维生素D参与调节骨蛋白基因的编码、骨钙素和RANKL的激活^[69]。某些次级胆汁酸可以通过激活G蛋白偶联胆汁酸受体提高胰高血糖素样-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)的生成,促进降钙素分泌^[70]。此外,胆汁酸代谢的产物可调控Th17细胞和Treg细胞的分化^[19]。可见GM可通过胆汁酸代谢参与免疫反应影响骨代谢。

4.5 其他

4.5.1 母乳寡糖

母乳寡糖(human milk oligosaccharides,

HMOs)是由5种单糖构成的非共轭聚糖。肠道中的部分有益菌拟杆菌、双歧杆菌可通过特定的糖苷酶来消化和利用HMOs^[71]。在大多数营养不良的儿童中,母乳HMOs的含量均处于较低的水平,用这些儿童的粪便定植于无菌小鼠体内时,将会导致身体生长迟缓;用HMOs喂养小鼠会导致与微生物群相关的骨量增加,并改变肌肉和肝脏的新陈代谢,这表明其利用营养的能力更强^[72]。

4.5.2 微RNA

微RNA(micro-RNA, miRNA)是参与基因表达调控的非编码RNA分子,GM可能通过影响宿主的miRNA来影响OP的发展。已有相关报道存在miRNA影响与OP中成骨细胞分化相关的转录物,如miRNA-194^[73]和miRNA-433-3p^[74]。尽管并无直接的证据表明其相关性,但GM可以反馈性地影响宿主的miRNA,从而抑制成骨细胞的发育,对OP的治疗造成障碍^[75]。

5 肠道微生物干预治疗

目前,OP的干预基本是从个人饮食习惯、饮食改变、药物干预和手术治疗并发症开展的。目前,双磷酸盐、地诺单抗、非甾体抗炎药等已规范化地用于OP的治疗,但因其长期服用导致的副作用和对于胃肠道的影响依然是限制其疗效的关键。我院开展的相关手术治疗OP合并腰椎和四肢骨折的手术疗效已被证实,但术后随访期间患者出现骨水泥渗漏、增强椎体再塌陷和继发邻近椎体骨折并不罕见,而且因生物力学的改变可能会加剧相邻椎体塌陷的发生^[76-77]。因此,早期的预防及干预治疗缓解OP的发展是至关重要的,而因GM与OP之间相互作用使GM可以成为治疗OP的潜在靶点引起了学者们的广泛研究。

5.1 益生菌、益生元

益生菌和益生元可促进有益微生物的生长并促进 GM 活性的增加。益生菌和益生元在健康和病理状态下均对骨骼健康存在潜在益处,包括调节肠道的 pH 值、抗菌肽的分泌及调节宿主免疫系统增强屏障功能^[78]。当摄入量足够时不仅可增加青春期女生全身骨密度和较少绝经后妇女的骨质流失,还可以促进骨折的愈合^[79]。在动物实验中,益生菌补充剂增加了鸡胫骨的骨量,这与研究指出的益生菌可抑制骨髓 CD4⁺ T 细胞的增加从而降低 TNF- α 、IL-1 和 OPG 的表达是一致的^[80]。包括乳果糖、低聚果糖、低聚半乳糖和菊粉在内的这类低聚糖,目前被认为是最有前途的骨骼健康益生元。总而言之,益生菌和益生元对于骨的免疫状态是有益的,通过影响 GM 成分来影响免疫状态从而治疗 OP 是可取的。然而,益生菌、益生元中调节肠道微生物群-骨免疫相互作用的信号分子、生物靶点和反应途径仍需要进一步研究。随着宏基因组测序、基因芯片分析等技术的发展,相信未来通过 GM 调节骨代谢、预防 OP 和减少并发症等问题将得到解决。

5.2 粪菌移植

粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)是将正常人粪便中具有功能性的微生物转移到患者的胃肠道内,对 GM 进行重建以治疗肠道和肠道外疾病。其实,在中国古代就有使用粪便悬液治疗食物中毒、伤寒等重大疾病的历史。随着技术的高速发展,越来越多的医生开始使用 FMT 治疗相关疾病。先前的动物实验已经表明,通过移植 GM 至无菌或者耗竭小鼠的体内时,可以使骨量及免疫因子水平恢复正常,这是通过代谢产物和免疫调节来实现的^[44]。当然,移植后所产生的异体肠菌所引起的不良反应和上、下消化道不同给药途径所导致的低

依从性仍需改善及考虑。长期且有效的粪菌移植治疗或许能从根本上改善患者 GM 的多样性,成为治疗 OP 的有效方式。

6 总结与展望

综上所述,GM 与 OP 的关系复杂,GM 可通过肠道功能屏障、代谢产物、免疫机制、内分泌激素及脑-肠轴等影响骨代谢,提示 GM 为 OP 的防治提供了新思路和新靶点。骨微生物学的提出弥合了骨生理学、胃肠病学、免疫学和微生物学之间的差距。益生菌、FMT 等针对 GM 的相关治疗已被证明可以改善骨质流失的骨量。然而,考虑到患者不同的 GM 组成及其在骨骼健康中明显和独特的重要性,未来的骨质疏松症治疗方法必须采取特殊的个性化方法。目前,对脑-肠-骨轴的理解仍然存在不小的差距,这使其具有挑战性,需要更多的研究来探索以明确治疗界限。

REFERENCES

- [1] YU F, XIA WB. The epidemiology of osteoporosis, associated fragility fractures, and management gap in China[J]. Archives of Osteoporosis, 2019, 14(1): 32.
- [2] LOCANTORE P, del GATTO V, GELLI S, PARAGLIOLA RM, PONTECORVI A. The interplay between immune system and microbiota in osteoporosis[J]. Mediators of Inflammation, 2020, 2020: 1-8.
- [3] HE JQ, XU SB, ZHANG BZ, XIAO CX, CHEN ZR, SI FY, FU JF, LIN XM, ZHENG GH, YU GC, CHEN J. Gut microbiota and metabolite alterations associated with reduced bone mineral density or bone metabolic indexes in postmenopausal osteoporosis[J]. Aging, 2020, 12(9): 8583-8604.
- [4] GENG QH, GAO HY, YANG RL, GUO KJ, MIAO DS. Pyrroloquinoline quinone prevents estrogen deficiency-induced osteoporosis by inhibiting oxidative stress and osteocyte senescence[J]. International Journal of Biological Sciences, 2019, 15(1): 58-68.

- [5] KHOSLA S, HOFBAUER LC. Osteoporosis treatment: recent developments and ongoing challenges[J]. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2017, 5(11): 898-907.
- [6] RIZZOLI R. Nutritional influence on bone: role of gut microbiota[J]. *Aging Clinical and Experimental Research*, 2019, 31(6): 743-751.
- [7] SEBASTIÁN DOMINGO JJ, SÁNCHEZ SÁNCHEZ C. From the intestinal flora to the microbiome[J]. *Revista Espanola De Enfermedades Digestivas: Organo Oficial De La Sociedad Espanola De Patologia Digestiva*, 2018, 110(1): 51-56.
- [8] IACOB S, IACOB DG, LUMINOS LM. Intestinal microbiota as a host defense mechanism to infectious threats[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 9: 3328.
- [9] GAO B, DUAN Y, LANG S, BARUPAL D, WU TC, VALDIVIEZ L, ROBERTS B, CHOY YY, SHEN T, BYRAM G, ZHANG Y, FAN SL, WANCEWICZ B, SHAO Y, VERVIER K, WANG YH, ZHOU RR, JIANG L, NATH S, LOOMBA R, et al. Functional microbiomics reveals alterations of the gut microbiome and host Co-metabolism in patients with alcoholic hepatitis[J]. *Hepatology Communications*, 2020, 4(8): 1168-1182.
- [10] FAVA F, RIZZETTO L, TUOHY KM. Gut microbiota and health: connecting actors across the metabolic system[J]. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 2019, 78(2): 177-188.
- [11] TANABE K, NAKAMURA S, MORIYAMA-HASHIGUCHI M, KITAJIMA M, EJIMA H, IMORI C, OKU T. Dietary fructooligosaccharide and glucomannan alter gut microbiota and improve bone metabolism in senescence-accelerated mouse[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(3): 867-874.
- [12] KE K, CHEN THP, ARRA M, MBALAVIELE G, SWARNKAR G, ABU-AMER Y. Attenuation of NF- κ B in intestinal epithelial cells is sufficient to mitigate the bone loss comorbidity of experimental mouse colitis[J]. *Journal of Bone and Mineral Research: the Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2019, 34(10): 1880-1893.
- [13] ROCHETTE L, MELOUX A, RIGAL E, ZELLER M, COTTIN Y, VERGELY C. The role of osteoprotegerin and its ligands in vascular function[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(3): 705.
- [14] LECHNER J, RUDI T, von BAEHR V. Osteoimmunology of tumor necrosis factor- α , IL-6, and RANTES/CCL5: a review of known and poorly understood inflammatory patterns in osteonecrosis[J]. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 2018, 10: 251-262.
- [15] TANG MJ, TIAN L, LUO GJ, YU XI. Interferon-gamma-mediated osteoimmunology[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1508.
- [16] DAR HY, PAL S, SHUKLA P, MISHRA PK, TOMAR GB, CHATTOPADHYAY N, SRIVASTAVA RK. *Bacillus clausii* inhibits bone loss by skewing Treg-Th17 cell equilibrium in postmenopausal osteoporotic mice model[J]. *Nutrition*, 2018, 54: 118-128.
- [17] LI ZY, LIN F, ZHUO CH, DENG GP, CHEN ZJ, YIN SY, GAO ZM, PICCIONI M, TSUN A, CAI SJ, ZHENG SG, ZHANG Y, LI B. PIM1 kinase phosphorylates the human transcription factor FOXP3 at serine 422 to negatively regulate its activity under inflammation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(39): 26872-26881.
- [18] CHEN SX, GUO CQ, WANG R, FENG ZT, LIU Z, WU LS, ZHAO D, ZHENG SY, CHEN FL, ZHANG DD, XU J, ZHU JQ, CHEN XG, LI ZG, WISE CM, LI J, WANG XY. Monocytic MDSCs skew Th17 cells toward a pro-osteoclastogenic phenotype and potentiate bone erosion in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology*, 2021, 60(5): 2409-2420.
- [19] HANG SY, PAIK D, YAO LN, KIM E, TRINATH J, LU JP, HA S, NELSON BN, KELLY SP, WU L, ZHENG Y, LONGMAN RS, RASTINEJAD F, DEVLIN AS, KROUT MR, FISCHBACH MA, LITTMAN DR, HUH JR. Bile acid metabolites control TH17 and Treg cell differentiation[J]. *Nature*, 2019, 576(7785): 143-148.
- [20] BOZEC A, ZAISS MM, KAGWIRIA R, VOLL R, RAUH M, CHEN Z, MUELLER-SCHMUCKER S, KROCZEK RA, HEINZERLING L, MOSER M, MELLOR AL, DAVID JP, SCHETT G. T cell costimulation molecules CD80/86 inhibit osteoclast differentiation by inducing the IDO/tryptophan pathway[J]. *Science Translational Medicine*, 2014, 6(235): 235ra60.
- [21] HADJI P, COLLI E, REGIDOR PA. Bone health in estrogen-free contraception[J]. *Osteoporosis International: a Journal Established as Result of Cooperation Between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 2019, 30(12): 2391-2400.

- [22] MOLAGODA IMN, KARUNARATHNE WAHM, CHOI YH, PARK EK, JEON YJ, LEE BJ, KANG CH, KIM GY. Fermented oyster extract promotes osteoblast differentiation by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway, leading to bone formation[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(11): 711.
- [23] 王国印. Sema3A/Nrp1 信号轴在慢性牙周炎牙周组织中的表达及在牙周骨质破坏中的作用[J]. *解放军预防医学杂志*, 2018, 36(5): 650-653, 668.
WANG GY. Expression of Sema3A/Nrp1 signal axis in periodontal tissues of chronic periodontitis and its role in periodontal bone destruction[J]. *Journal of Preventive Medicine of Chinese PLA*, 2018, 36(5): 650-653, 668 (in Chinese).
- [24] MURUGANANDAN S, IONESCU AM, SINAL CJ. At the crossroads of the adipocyte and osteoclast differentiation programs: future therapeutic perspectives[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(7): 2277.
- [25] ROBINSON JW, LI JY, WALKER LD, TYAGI AM, REOTT MA, YU MC, ADAMS J, WEITZMANN MN, PACIFICI R. T cell-expressed CD40L potentiates the bone anabolic activity of intermittent PTH treatment[J]. *Journal of Bone and Mineral Research: the Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2015, 30(4): 695-705.
- [26] OHLSSON C, SJÖGREN K. Effects of the gut microbiota on bone mass[J]. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2015, 26(2): 69-74.
- [27] WEI MH, LI C, DAI Y, ZHOU HL, CUI Y, ZENG Y, HUANG Q, WANG Q. High-throughput absolute quantification sequencing revealed osteoporosis-related gut microbiota alterations in Han Chinese elderly[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 630372.
- [28] SUGITA K, KABASHIMA K. Tight junctions in the development of asthma, chronic rhinosinusitis, atopic dermatitis, eosinophilic esophagitis, and inflammatory bowel diseases[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2020, 107(5): 749-762.
- [29] WANG N, MA SC, FU LJ. Gut microbiota dysbiosis as one cause of osteoporosis by impairing intestinal barrier function[J]. *Calcified Tissue International*, 2022, 110(2): 225-235.
- [30] LI JY, CHASSAING B, TYAGI AM, VACCARO C, LUO T, ADAMS J, DARBY TM, WEITZMANN MN, MULLE JG, GEWIRTZ AT, JONES RM, PACIFICI R. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2016, 126(6): 2049-2063.
- [31] JONES ML, MARTONI CJ, PRAKASH S. Oral supplementation with probiotic *L. reuteri* NCIMB 30242 increases mean circulating 25-hydroxyvitamin D: a post hoc analysis of a randomized controlled trial[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2013, 98(7): 2944-2951.
- [32] WEAVER CM. Diet, gut microbiome, and bone health[J]. *Current Osteoporosis Reports*, 2015, 13(2): 125-130.
- [33] DONOHOE DR, GARGE N, ZHANG XX, SUN W, O'CONNELL TM, BUNGER MK, BULTMAN SJ. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon[J]. *Cell Metabolism*, 2011, 13(5): 517-526.
- [34] ASARAT M, APOSTOLOPOULOS V, VASILJEVIC T, DONKOR O. Short-chain fatty acids regulate cytokines and Th17/treg cells in human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*[J]. *Immunological Investigations*, 2016, 45(3): 205-222.
- [35] LUU M, PAUTZ S, KOHL V, SINGH R, ROMERO R, LUCAS S, HOFMANN J, RAIFER H, VACHHARAJANI N, CARRASCOSA LC, LAMP B, NIST A, STIEWE T, SHAUL Y, ADHIKARY T, ZAISS MM, LAUTH M, STEINHOFF U, VISEKRUNA A. The short-chain fatty acid pentanoate suppresses autoimmunity by modulating the metabolic-epigenetic crosstalk in lymphocytes[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 760.
- [36] KIM DS, KWON JE, LEE SH, KIM EK, RYU JG, JUNG KA, CHOI JW, PARK MJ, MOON YM, PARK SH, CHO ML, KWOK SK. Attenuation of rheumatoid inflammation by sodium butyrate through reciprocal targeting of HDAC2 in osteoclasts and HDAC8 in T cells[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1525.
- [37] MONTALVANY-ANTONUCCI CC, DUFFLES LF, de ARRUDA JAA, ZICKER MC, de OLIVEIRA S, MACARI S, GARLET GP, MADEIRA MFM, FUKADA SY, ANDRADE I Jr, TEIXEIRA MM, MACKAY C, VIEIRA AT, VINOLO MA, SILVA TA. Short-chain fatty acids and FFAR2 as suppressors of bone resorption[J]. *Bone*, 2019, 125: 112-121.
- [38] TYAGI AM, YU MC, DARBY TM, VACCARO C, LI

- JY, OWENS JA, HSU E, ADAMS J, WEITZMANN MN, JONES RM, PACIFICI R. The microbial metabolite butyrate stimulates bone formation via T regulatory cell-mediated regulation of WNT10B expression[J]. *Immunity*, 2018, 49(6): 1116-1131.e7.
- [39] LIN H, LIU TF, LI X, GAO X, WU TR, LI P. The role of gut microbiota metabolite trimethylamine N-oxide in functional impairment of bone marrow mesenchymal stem cells in osteoporosis disease[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2020, 8(16): 1009.
- [40] VILLA CR, WARD WE, COMELLI EM. Gut microbiota-bone axis[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(8): 1664-1672.
- [41] HORTON F, WRIGHT J, SMITH L, HINTON PJ, ROBERTSON MD. Increased intestinal permeability to oral chromium (51 Cr)-EDTA in human Type 2 diabetes[J]. *Diabetic Medicine: a Journal of the British Diabetic Association*, 2014, 31(5): 559-563.
- [42] ANAYA JM, BOLLAG WB, HAMRICK MW, ISALES CM. The role of tryptophan metabolites in musculoskeletal stem cell aging[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(18): 6670.
- [43] MICHALOWSKA M, ZNORKO B, KAMINSKI T, OKSZTULSKA-KOLANEK E, PAWLAK D. New insights into tryptophan and its metabolites in the regulation of bone metabolism[J]. *Journal of Physiology and Pharmacology: an Official Journal of the Polish Physiological Society*, 2015, 66(6): 779-791.
- [44] SJÖGREN K, ENGDAHL C, HENNING P, LERNER UH, TREMAROLI V, LAGERQUIST MK, BÄCKHED F, OHLSSON C. The gut microbiota regulates bone mass in mice[J]. *Journal of Bone and Mineral Research: the Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2012, 27(6): 1357-1367.
- [45] YU MC, MALIK TYAGI A, LI JY, ADAMS J, DENNING TL, WEITZMANN MN, JONES RM, PACIFICI R. PTH induces bone loss via microbial-dependent expansion of intestinal TNF+ T cells and Th17 cells[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 468.
- [46] SCHNUPF P, GABORIAU-ROUTHIAU V, SANSONETTI PJ, CERF-BENSUSSAN N. Segmented filamentous bacteria, Th17 inducers and helpers in a hostile world[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 35: 100-109.
- [47] CHEN B, YE DY, LUO LL, LIU WR, PENG KR, SHU XL, GU WZ, WANG XJ, XIANG C, JIANG MZ. Adhesive bacteria in the terminal ileum of children correlates with increasing Th17 cell activation[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 588560.
- [48] DURANT L, WATFORD WT, RAMOS HL, LAURENCE A, VAHEDI G, WEI L, TAKAHASHI H, SUN HW, KANNO Y, POWRIE F, O'SHEA JJ. Diverse targets of the transcription factor STAT3 contribute to T cell pathogenicity and homeostasis[J]. *Immunity*, 2010, 32(5): 605-615.
- [49] SUN S, LUO LJ, LIANG WH, YIN Q, GUO J, RUSH AM, LV ZB, LIANG QM, FISCHBACH MA, SONNENBURG JL, DODD D, DAVIS MM, WANG F. *Bifidobacterium* alters the gut microbiota and modulates the functional metabolism of T regulatory cells in the context of immune checkpoint blockade[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(44): 27509-27515.
- [50] WESEMANN DR. Microbes and B cell development[J]. *Advances in Immunology*, 2015, 125: 155-178.
- [51] TONG XS, GU JH, SONG RL, WANG D, SUN ZQ, SUI C, ZHANG C, LIU XZ, BIAN JC, LIU ZP. Osteoprotegerin inhibit osteoclast differentiation and bone resorption by enhancing autophagy via AMPK/mTOR/p70S6K signaling pathway *in vitro*[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120(2): 1630-1642.
- [52] YANG YH, WANG XM, MOORE DR, LIGHTFOOT SA, HUYCKE MM. TNF- α mediates macrophage-induced bystander effects through Netrin-1[J]. *Cancer Research*, 2012, 72(20): 5219-5229.
- [53] KRAMER I, HALLEUX C, KELLER H, PEGURRI M, GOOI JH, WEBER PB, FENG JQ, BONEWALD LF, KNEISSEL M. Osteocyte Wnt/ β -catenin signaling is required for normal bone homeostasis[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, 30(12): 3071-3085.
- [54] LU Y, ZHENG YP, COYAUD É, ZHANG C, SELVABASKARAN A, YU YY, XU ZZ, WENG XL, CHEN JS, MENG Y, WARNER N, CHENG XW, LIU YY, YAO BP, HU H, XIA Z, MUISE AM, KLIP A, BRUMELL JH, GIRARDIN SE, et al. Palmitoylation of NOD1 and NOD2 is required for bacterial sensing[J]. *Science*, 2019, 366(6464): 460-467.
- [55] KASSEM A, HENNING P, KINDLUND B, LINDHOLM C, LERNER UH. TLR5, a novel mediator of innate immunity-induced osteoclastogenesis and bone

- loss[J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2015, 29(11): 4449-4460.
- [56] OHLSSON C, NIGRO G, BONECA IG, BÄCKHED F, SANSONETTI P, SJÖGREN K. Regulation of bone mass by the gut microbiota is dependent on NOD1 and NOD2 signaling[J]. *Cellular Immunology*, 2017, 317: 55-58.
- [57] YAKAR S, COURTLAND HW, CLEMMONS D. IGF-1 and bone: new discoveries from mouse models[J]. *Journal of Bone and Mineral Research: the Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2010, 25(12): 2543-2552.
- [58] YANO JM, YU K, DONALDSON GP, SHASTRI GG, ANN P, MA L, NAGLER CR, ISMAGILOV RF, MAZMANIAN SK, HSIAO EY. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J]. *Cell*, 2015, 161(2): 264-276.
- [59] YAN J, HERZOG JW, TSANG K, BRENNAN CA, BOWER MA, GARRETT WS, SARTOR BR, ALIPRANTIS AO, CHARLES JF. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(47): E7554-E7563.
- [60] NILSSON S. Estrogen receptors: therapies targeted to receptor subtypes[J]. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2011, 89(1): 44-55.
- [61] CHEN JF, LIN PW, TSAI YR, YANG YC, KANG HY. Androgens and androgen receptor actions on bone health and disease: from androgen deficiency to androgen therapy[J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1318.
- [62] 王嘉蕙, 徐文婷, 汤梦雨, 钱海晴, 王志荣, 王利红. 雌激素代谢相关的绝经后骨质疏松机制及中医药研究进展[J]. *中医药学报*, 2021, 49(10): 98-104.
- WANG JH, XU WT, TANG MY, QIAN HQ, WANG ZR, WANG LH. Mechanism of PMOP related to estrogen metabolism and its treatment advances with TCM[J]. *Acta Chinese Medicine and Pharmacology*, 2021, 49(10): 98-104 (in Chinese).
- [63] LeBLANC JG, CHAIN F, MARTÍN R, BERMÚDEZ-HUMARÁN LG, COURAU S, LANGELLA P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria[J]. *Microbial Cell Factories*, 2017, 16(1): 79.
- [64] WARDEN SJ, ROBLING AG, HANEY EM, TURNER CH, BLIZIOTES MM. The emerging role of serotonin (5-hydroxytryptamine) in the skeleton and its mediation of the skeletal effects of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5)[J]. *Bone*, 2010, 46(1): 4-12.
- [65] SPOHN SN, MAWE GM. Non-conventional features of peripheral serotonin signalling—the gut and beyond[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 14(7): 412-420.
- [66] YADAV VK, RYU JH, SUDA NN, TANAKA KF, GINGRICH JA, SCHÜTZ G, GLORIEUX FH, CHIANG CY, ZAJAC JD, INSOGNA KL, MANN JJ, HEN RE, DUCY P, KARSENTY G. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum[J]. *Cell*, 2008, 135(5): 825-837.
- [67] WEIN MN, KRONENBERG HM. Regulation of bone remodeling by parathyroid hormone[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2018, 8(8): a031237.
- [68] GOU PG, ZHAO ZH, ZHOU JM, REN LH, WANG XY, MU YF, WANG YG, CHANG F, XUE Y. Vertebral collapse prevented following teriparatide treatment in postmenopausal Kümmell's disease patients with severe osteoporosis[J]. *Orthopaedic Surgery*, 2021, 13(2): 506-516.
- [69] KITAZAWA R, MORI K, YAMAGUCHI A, KONDO T, KITAZAWA S. Modulation of mouse *RANKL* gene expression by Runx2 and vitamin D3[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2008, 105(5): 1289-1297.
- [70] DANFORD CJ, TRIVEDI HD, PAPAMICHAEL K, TAPPER EB, BONDER A. Osteoporosis in primary biliary cholangitis[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2018, 24(31): 3513-3520.
- [71] MOOSSAVI S, MILIKU K, SEPEHRI S, KHAFIPOUR E, AZAD MB. The prebiotic and probiotic properties of human milk: implications for infant immune development and pediatric asthma[J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2018, 6: 197.
- [72] CHARBONNEAU MR, O'DONNELL D, BLANTON LV, TOTTEN SM, DAVIS JCC, BARRATT MJ, CHENG JY, GURUGE J, TALCOTT M, BAIN JR, MUEHLBAUER MJ, ILKAYEVA O, WU C, STRUCKMEYER T, BARILE D, MANGANI C, JORGENSEN J, FAN YM, MALETA K, DEWEY KG, et al. Sialylated milk oligosaccharides promote microbiota-dependent growth in models of infant

- undernutrition[J]. *Cell*, 2016, 164(5): 859-871.
- [73] LI J, HE XJ, WEI WZ, ZHOU XB. MicroRNA-194 promotes osteoblast differentiation via downregulating STAT1[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 460(2): 482-488.
- [74] TANG XL, LIN JT, WANG GH, LU JL. MicroRNA-433-3p promotes osteoblast differentiation through targeting DKK1 expression[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179860.
- [75] LI MH, CHEN WD, WANG YD. The roles of the gut microbiota-miRNA interaction in the host pathophysiology[J]. *Molecular Medicine (Cambridge, Mass)*, 2020, 26(1): 101.
- [76] 苟鹏国, 常峰. 小剂量骨水泥经皮椎体后凸成形术联合体位复位治疗骨质疏松性椎体压缩骨折[J]. *中国药物与临床*, 2016, 16(3): 395-397.
- GOU PG, CHANG F. Percutaneous kyphoplasty with low-dose bone cement combined with postural reduction for osteoporotic vertebral compression fracture[J]. *Chinese Remedies & Clinics*, 2016, 16(3): 395-397 (in Chinese).
- [77] 杨广令, 陆明, 周威力, 常峰, 林永绥. 改良单侧与双侧穿刺 PVP 治疗骨质疏松性椎体压缩骨折的疗效比较[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2020, 35(11): 1170-1172.
- YANG GL, LU M, ZHOU WL, CHANG F, LIN YS. Comparison of therapeutic effects of modified unilateral and bilateral PVP puncture on osteoporotic vertebral compression fractures[J]. *Chinese Journal of Bone and Joint Injury*, 2020, 35(11): 1170-1172 (in Chinese).
- [78] COLLINS FL, RIOS-ARCE ND, SCHEPPER JD, PARAMESWARAN N, McCABE LR. The potential of probiotics as a therapy for osteoporosis[J]. *Microbiology Spectrum*, 2017, 5(4): 10.1128/microbiolspec.BAD-10.1128/microbiolspec0015-2016.
- [79] LIU JH, YUE T, LUO ZW, CAO J, YAN ZQ, JIN L, WAN TF, SHUAI CJ, WANG ZG, ZHOU Y, XU R, XIE H. *Akkermansia muciniphila* promotes type H vessel formation and bone fracture healing by reducing gut permeability and inflammation[J]. *Disease Models & Mechanisms*, 2020, 13(11): dmm043620.
- [80] MCCABE LR, IRWIN R, SCHAEFER L, BRITTON RA. Probiotic use decreases intestinal inflammation and increases bone density in healthy male but not female mice[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2013, 228(8): 1793-1798.