

· 综述 ·

# 自发老年性骨质疏松模型 SAMP6 小鼠研究进展\*

段卫华

关键词 SAMP6 小鼠,骨质疏松,研究进展

中图分类号 R285.5

文献标识码 A

文章编号 1673-9043(2012)02-0118-04

快速老化模型小鼠(SAM)是由日本学者通过选择 AKR/J 系小鼠近交繁殖培育的系列快速老化小鼠模型,包括 14 种快速老化的 P 品系和 4 种正常老化的 R 品系。其中 P 品系的 SAMP6 小鼠为自发老年性骨质疏松模型,具有低峰值骨密度,低峰值骨量,全身广泛性骨量减少,骨组织微结构破坏,骨脆性增加等特点<sup>[1]</sup>。

## 1 老年性骨质疏松

### 1.1 骨密度和骨组织形态计量学研究

骨密度是骨质疏松症流行病学调查、临床诊断治疗和检测骨量以及实验研究等的重要指标。骨组织形态计量学通过对骨微结构数量、长度、面积等指标的测量、计算得出动态和静态参数,是研究、诊断骨质疏松最有效的方法。

Chen 等<sup>[2]</sup>采用定量微计算机 X 射线断层扫描仪(Micro-CT)及图像分析软件分别观察了 5 月龄和 12 月龄的 SAMP6 和同龄正常老化对照 SAMR1 模型鼠的第 4 腰椎骨(L<sub>4</sub>)、股骨和胫骨的远端干骺端及中段皮质的骨微结构和骨密度。和同月龄 SAMR1 比较,SAMP6 5 月龄和 12 月龄胫骨近端骨小梁骨量分别减少了 19%和 17%,骨小梁厚度和数目呈同样的变化,同时骨小梁分离度增大了 10%;骨小梁骨密度减少了 9%~10%,股骨远端呈现和胫骨近端相似的变化。SAMP6 椎骨骨小梁骨量大约减少了 40%,骨密度下降了 17%,骨小梁厚度和数目显著低于 R1,同时骨小梁分离度增大。和同月龄 SAMR1 比较,5 月龄和 12 月龄 SAMP6 胫骨中段

皮质骨膜周长分别长 12%和 10%,皮质内周长长 11%,骨髓面积增大 25%~26%;皮质面积和皮质厚度差异无统计学意义;5 月龄和 12 月龄胫骨中段皮质骨密度均下降 3%,但无显著性差异。5 月龄和 12 月龄相比,12 月龄的 SAMR1 和 SAMP6 的骨膜周长和皮质内周长均有增高趋势,骨髓面积显著增加。

股骨中段皮质呈现和胫骨相似的变化。结果表明,和 SAMR1 同月龄模型鼠对照,SAMP6 椎骨和四肢骨均出现低骨量,胫骨和股骨干骺端呈现相似的变化,且椎骨骨小梁骨量减少大于四肢骨,全身骨的骨微结构特性显著不同,这些和人类呈现相似的变化。但是 SAMP6 从 5 月龄至 12 月龄骨量下降很小,并不象其他生理性骨老化随年龄增长骨量减少增加。

Soichiro 等<sup>[3]</sup>采用双能 X 射线吸收测量法检测不同月龄 SAMR1、SAMP6 和 SAM 鼠中骨密度最高的 SAMP2 的头、四肢、脊椎和尾部等 7 个部位的骨密度。SAMR1、SAMP6 和 SAMP2 总骨密度表现出相同的变化趋势,均在 4 月龄骨密度达峰值,骨矿含量和骨面积持续增至 6 或 8 月龄。骨密度峰值 SAMP6 显著低于 SAMP2 和 SAMR1。SAMP6 和 SAMP2 雌性鼠的骨密度均有低于雄性鼠的趋势,但无显著性差异。4 月龄 SAMP6 的头、四肢、脊椎和尾部等 7 个部位的骨密度均低于 SAMP2 且与体型大小无关。实验结果表明,SAMP6 的低骨密度发生在包括股骨在内的全身骨骼。

Chen 等<sup>[4]</sup>对照相应月龄的 SAMR1,分别对 1、2、5 月龄 SAMP6 骨组织形态学,血清钙磷含量和骨密度进行了研究。1 月龄 SAMR1 和 SAMP6 的血清钙磷含量和包括成骨细胞数量,骨形成表面面

\* 基金项目 科技部重大新药创制资助项目(2009ZX09311-002)。

作者单位 300193 天津中医药大学

作者简介 段卫华(1973-),女,博士在读,讲师,主要从事中药理论和中药药理学研究。

积等的骨组织形态学均无差异。2月龄和5月龄SAMP6的骨密度、股骨质量、股骨钙磷含量、骨小梁成骨细胞数目均显著低于SAMR1。2月龄和5月龄SAMP6骨细胞和成骨细胞内可见线粒体肿胀和髓脂质样结构。SAMP6股骨骨内膜表面存在较多的静息表面和较少的形成表面。而破骨细胞数量和形态学未见显著改变。腰椎骨、股骨远端干骺端的骨小梁数量减少,胫骨骨髓中肥大细胞增多。实验结果提示,SAMP6的低骨量是由成骨细胞形成减少和功能损伤引起,骨髓中的肥大细胞在老年性骨质疏松的发病机制中发挥了重要作用。

Kentaro等<sup>[5]</sup>对照SAMR1对6月龄SAMP6鼠下颌骨进行了研究。SAMP6骨皮质较薄,骨量较低,胶原基质组织破坏,胶原含量、胶原纤维直径较SAMR1显著减少。

Ophoff等<sup>[6]</sup>研究发现二氢睾酮和雌二醇对4~8周龄的去势雄性SAMP6鼠和SAMR1鼠的骨膜面积小梁骨具有促进作用,提示青春早期的骨形成不足可造成骨脆性增加。

**1.2 骨生物力学研究** Matthew等<sup>[7]</sup>考察拉力仪和有限元素分析法(FEA)两种方法的实验中,对照SAMR1,对SAMP6胫骨在三点弯曲实验中产生的内骨膜应变峰值时的力的大小进行研究。两种方法结果均显示SAMP6胫骨比SAMR1硬度增加20%~25%,和SAMP6胫骨具有更大的惯性矩和骨皮质模量相一致。因此若使SAMP6产生和SAMR1相同的内骨膜应变峰值需要1.5~1.6倍的力。

Matthew等<sup>[8]</sup>对4月龄SAMP6和SAMR1机械负荷刺激作用进行了研究。连续2周,每周5天对SAMP6和SAMR1右胫骨施以能产生1000 $\mu\epsilon$ 和2000 $\mu\epsilon$ 骨内膜应变的负荷,左胫骨不施加负荷,左右胫骨进行对照。实验结果表明,不论有无负荷胫骨弯曲对碱性磷酸酶和茜素红染色的胫骨骨髓细胞成骨能力均无改变。胫骨弯曲法能激活SAMP6和SAMR1内骨膜骨形成。各组均表现出应变依赖性的骨形成率。机械负荷可以改善SAMP6的低骨形成。

Yutaka等<sup>[9]</sup>对雌、雄SAMP2,SAMP6出生10、20、40d和4月龄小鼠的骨皮质厚度、股骨指数、骨小梁骨量、骨骺生长板厚度、破骨细胞数量及计算机成像分析破骨细胞表面等进行了观察。实验结果表明,随着年龄增长,骨皮质厚度、股骨指数显著增长,骨小梁骨量显著下降。SAMP6较SAMP2骨皮质

厚度、股骨指数、骨小梁骨量均显著下降。SAMP6的每单位骨表面长度的破骨细胞数目和表面平均值均显著高于相应月龄和性别的SAMP2。结果提示,骨吸收活跃是SAMP6的骨量减少的重要原因。

**1.3 SAMP6遗传学研究** Motoyuki等<sup>[10-12]</sup>通过区间作图法识别了SAMP2和SAMP6杂交子二代雄性小鼠位于第11和13号染色体的两个数量性状遗传位点(QTLs)和峰值骨量相关,另一相对SAMP2的低骨量峰值等位基因QTL位于X染色体上,分别命名3个位点为Pbd1,Pbd2和Pbd3。Pbd1与骨几何形状相关,Pbd2与成熟期前骨形成相关,Pbd3与成熟期后的骨丢失相关。Pbd2中的基因编码分泌型卷曲相关蛋白4(Sfrp4),成骨细胞增殖减少是导致SAMP6低骨密度的原因之一。

此外,Histing等<sup>[13]</sup>研究对因骨质疏松导致的骨折和性别之间的关系发现,雌雄SAMP6鼠弯曲强度均低于SAMR1鼠,雌雄鼠血清抗酒石酸酸性磷酸酶5b均升高。SAMP6雌鼠骨痂显著大于雄鼠和SAMR1雌鼠,提示SAMP6雌鼠骨重建延迟。骨痂骨保护蛋白(OPG)高表达、血清骨钙素(OC)和脱氧吡啶啉(DPD)升高提示成骨和破骨细胞活性均升高。

## 2 和衰老相关的其他研究

**2.1 糖脂代谢研究** Kimie等<sup>[14]</sup>发现SAMP6从10~22周龄的体质量,10周龄和25周龄的体质量指数高于同龄的AKR/J小鼠和SAMR1,显示SAMP6具有肥胖症。10周龄SAMP6血糖、甘油三酯、胰岛素和瘦素水平高于同龄SAMR1和AKR/J小鼠。25周龄SAMP6胰高血糖素和脂联素低于SAMR1和AKR/J小鼠。10周龄、25周龄SAMR1和SAMP6总胆固醇高于同龄AKR/J小鼠,SAMP6肝脂质水平高于SAMR1和AKR/J小鼠。实验结果表明SAMP6具肥胖症和高脂血症。

Mirsaidi等<sup>[15]</sup>研究发现和SAMR1相比,SAMP6胫骨骨量和肝组织端粒长度显著下降,而从SAMP6鼠腹股沟分离的脂肪基质细胞的端粒长度未见异常。

**2.2 行为学方面研究** Kimie<sup>[16]</sup>对1、4和8月龄SAMP6采用旷场实验,高架十字迷宫,明暗探索,悬尾实验,石埋藏行为实验等进行了行为学研究。和同龄SAMR1相比,所有年龄组SAMP6旷场实验中表现自发活动增强,减少了高架十字迷宫实验开臂滞留时间,明暗探索明箱滞留时间,石埋藏行为实验的石埋藏时间和悬尾实验不动时间。蛋白印迹分析显

示,1月龄 SAMP6 脑部纹状体、伏核酪氨酸羟化酶和脑干色氨酸羟化酶表达升高。在1月龄后,多巴胺、5-羟色胺升高是 SAMP6 自主活动和情绪性行为改变的原因之一。

Niimi 等<sup>[17]</sup>在实验中发现 SAMP6 表现自发活动增强同时,通过转棒实验发现 SAMP6 存在运动协调不足,为研究其机制,采用高效液相色谱法对 SAMP6 多巴胺及其代谢产物进行了研究。SAMP6 伏核、小脑多巴胺及代谢产物浓度均高于 SAMR1 纹状体多巴胺转运蛋白和受体 D1,伏核多巴胺受体 D3,小脑中多巴胺受体 D1、D3 均增多。实验结果显示,多巴胺浓度增加和纹状体多巴胺受体 D1 高表达可能导致了 SAMP6 自发活动增强,小脑中多巴胺受体 D3 的增多和运动协调受损有关。

Niimi 等<sup>[18]</sup>研究发现,12月龄 SAMP6 的多巴胺受体 D1 敏感性显著低于6月龄鼠。AKR/J, SAMR1 和 SAMP6 小鼠存在与年龄相关的活动减少,且 SAMP6 小鼠出现的这种现象与多巴胺受体 D1 相关。多巴胺受体 D1 与年龄相关的活动异常相关,与动物品系密切相关。

Takahashi 等<sup>[19]</sup>研究发现,八臂迷宫实验显示,和 SAMR1 相比, SAMP6 表现出比 SAMR1 更快的海马依赖的物体定位空间记忆的形成。实验结果表明, SAMP6 的 CaMK 活性增强影响 NR2B/CaMK 信号途径和认知功能。

Liu 等<sup>[20]</sup>利用 Morris 水迷宫对 SAMP6 小鼠4月龄和8月龄认知行为等进行研究,同时采用无偏体视学技术进行海马回 CA1 区神经元计数分析。与同龄 SAMR1 对照,4月龄和8月龄 SAMP6 存在工作记忆损伤,参考记忆未见异常,且海马回 CA1 区神经元计数未见明显差别。实验结果提示, SAMP6 存在部分认知缺陷,结合其骨质疏松研究脑改变是非常重要的。

### 3 以 SAMP6 鼠为动物模型的中医药研究

**3.1 针灸** 张雪竹等<sup>[21-22]</sup>对针刺治疗 SAMP6 小鼠骨质疏松及针刺干预主动脉钙化的机制进行了研究。实验结果显示, SAMP6 小鼠 OPG、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)等骨代谢因子表达异常,针刺可通过促进成骨细胞形成并分泌骨代谢因子来刺激骨形成,降低骨转换率,达到改善骨质疏松的作用。且 SAMP6 鼠主动脉中膜存在轻微钙化现象,通过针刺可改善主动脉结构,并促进局部骨代谢因子 OPG 表达上调, BMP-2 表达下调。SAMP6 鼠发生血管钙化

与 OPG 和 BMP-2 等表达异常有关。针刺可能通过保护血管壁细胞,良性调节主动脉中局部骨代谢因子的表达而抑制钙盐在主动脉的沉积。

刘存志等<sup>[23]</sup>探讨针刺对骨质疏松的防治作用,观察针刺对股骨最大载荷、弹性载荷、最大挠度和弹性挠度等参数的影响。经针刺治疗后,股骨的最大载荷较 SAMP6 对照组显著升高,最大载荷、弹性载荷和最大挠度均明显高于非穴组。针刺在一定程度上能改善 SAMP6 小鼠的骨生物力学特性,是防治骨质疏松症的有效方法之一。

**3.2 中药复方** 张雪竹<sup>[24]</sup>对复方中药黄地散治疗骨质疏松小鼠 SAMP6 主动脉钙化的机制进行了研究。黄地散由黄精、生地等味药组成,具有调补气血、扶本培元的功效。实验结果表明,黄地散可上调性激素水平,提高机体抗氧化能力,降低骨转化率;增加骨有机质含量,提高骨的柔韧性,提高骨抗折能力,增加骨小梁厚度、改善连接性,提高骨形成率,进而提高骨量,增加骨强度,抑制 SAMP6 体内钙盐的异常迁移;且黄地散可调节 OPG、BMP-2 的表达。

## 4 小结

原发性骨质疏松是一种多病因引起,机制复杂的疾病,以骨量减少,骨组织微结构破坏,骨强度下降,骨脆性增加,因而易发骨折为特点的全身性代谢性骨病。随着中国老龄化社会的形成,预计到2050年中国骨质疏松患者(包括骨量减少)将达两亿一千二百万,占总人口的13.2%<sup>[25]</sup>,不仅严重威胁老年人健康水平和生活质量,也给社会和个人带来沉重的经济负担。因此,深入开展原发性骨质疏松的研究具有十分重要的意义。和其他骨质疏松动物模型相比, SAMP6 小鼠具有遗传稳定,骨老化特点与人类老年性骨质疏松相似等优势,是老年性骨质疏松研究较为理想的动物模型。

参考文献:

- [1] Toshio T. Senescence-accelerated mouse (SAM): a biogerontological resource in aging research[J]. *Neurobiology of Aging*, 1999, 20(2): 105-110.
- [2] Chen HY, Zhou XG. Site-specific bone loss in senescence-accelerated mouse (SAMP6): A murine model for senile osteoporosis[J]. *Experimental Gerontology*, 2009, 44(3): 792-798.
- [3] Kasai S, Shimizu M, Matsumura T, et al. Consistency of low bone density across bone sites in SAMP6 laboratory mice[J]. *Bone Miner Metab*, 2004, 22(3): 207-214.
- [4] Chen H, Shoumura S, Emura S. Ultrastructural changes in

- bones of the senescence-accelerated mouse (SAMP6): a murine model for senile osteoporosis[J]. *Histol Histopathol*, 2004, 19(3): 677-685.
- [5] Tokutomi K, Matsuura T, Atsawasuwan P. Characterization of Mandibular Bones in Senile Osteoporotic Mice[J]. *Connective Tissue Research*, 2008, 49(5): 361-366.
- [6] Ophoff J, Venken K, Callewaert F, et al. Sex steroids during bone growth: a comparative study between mouse models for hypogonadal and senile osteoporosis[J]. *Osteoporos Int*, 2009, 20(10):1749-1757.
- [7] Matthew JS, Michaeld DB, Willam J. Finite Element Analysis of the Mouse Tibia: Estimating Endocortical Strain During Three-Point Bending in SAMP6 Osteoporotic Mice[J]. *Hucker The Anatomical Record Part*, 2005, 28(3): 380-390.
- [8] Matthew JS, Michael DB. Mechanical Stimulation of Bone Formation is Normal in the SAMP6 Mouse[J]. *Calcif Tissue Int*. 2008, 82(6): 489-497.
- [9] Okamoto Y, Takahashi K, Toriyama K, et al. Femoral Peak Bone Mass and Osteoclast Number in an Animal Model of Age-Related Spontaneous Osteopenia[J]. *The Anatomical Record*, 2005, 24(2): 21-28.
- [10] Shimizu M, Higuchi K, Bennett B, et al. Identification of peak bone mass QTL in a spontaneously osteoporotic mouse strain[J]. *Mammalian Genome*, 1999, 10(2): 81-87.
- [11] Shimizu M, Higuchi K, Kasai S, et al. Chromosome 13 Locus, Pbd2, Regulates Bone Density in Mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2001, 16(11): 1972-1982
- [12] Shimizu M, Tsuboyama T. Animal models for bone and joint disease. Genetic analysis of low BMD in SAMP6 mice[J]. *Clin Calcium*, 2011, 21(2): 209-216.
- [13] Histing T, Stenger D, Kuntz S, et al. Increased Osteoblast and Osteoclast Activity in Female Senescence-Accelerated, Osteoporotic SAMP6 Mice During Fracture Healing[J]. *J Surg Res*. 2011, 19(11): 125.
- [14] Niimi K, Takahashi E, Itakura C. Adiposity-Related Biochemical Phenotype in Senescence-Accelerated Mouse Prone 6 (SAMP6)[J]. *Comparative Medicine*, 2009, 59(5): 431-436.
- [15] Mirsaidi A, Kleinhans KN, Rimann M, et al. Telomere length, telomerase activity and osteogenic differentiation are maintained in adipose-derived stromal cells from senile osteoporotic SAMP6 mice[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 10(2): 440.
- [16] Niimi K, Takahashi E, Itakura C. Emotional behavior and expression patterns of tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase in senescence-accelerated mouse (SAM) P6 mice[J]. *Behavioural Brain Research*, 2008, (188): 329-336.
- [17] Niimi K, Takahashi E, Itakura C. Analysis of motor function and dopamine systems of SAMP6 mouse[J]. *Physiol Behav*, 2009, 96(3): 464-469.
- [18] Niimi K, Takahashi E, Itakura C, et al. Age dependence of motor activity and sensitivity to dopamine receptor 1 agonist, SKF82958, of inbred AKR/J, BALB/c, C57BL/6J, SAMR1, and SAMP6 strains[J]. *Brain Res*, 2009, 23(12): 175-182.
- [19] Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Enhanced CaMKII activity and spatial cognitive function in SAMP6 mice[J]. *Behav Neurosci*, 2009, 123(3): 527-532.
- [20] Liu CZ, Yu JC, Cheng HY, et al. Spatial memory performance and hippocampal neuron number in osteoporotic SAMP6 mice[J]. *Exp Neurol*, 2006, 201(2): 452-460.
- [21] 张雪竹, 彭应梅, 于建春, 等. 针刺对快速老化骨质疏松小鼠 P6 骨代谢因子 OPG、BMP-2 的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2008, 23(8): 672-675.
- [22] 张雪竹, 彭应梅, 刘存志, 等. SAMP6 鼠主动脉 OPG、BMP-2 表达的意义及针刺影响[J]. *中医药学报*, 2008, 36(1): 13-17.
- [23] 刘存志, 张雪竹, 于建春, 等. 针刺对快速老化骨质疏松模型小鼠 SAMP6 骨生物力学的影响[J]. *中国中医药科技*, 2006, 13(3): 137-139.
- [24] 张雪竹. 黄地散治疗骨质疏松小鼠 SAMP6 主动脉钙化的机制研究[D]. 天津: 天津大学硕士论文集, 2009: 274.
- [25] 赵燕玲, 潘子昂, 王石麟, 等. 中国原发性骨质疏松症流行病学[J]. *中国骨质疏松杂志*, 1998, 4(1): 1-4, 27.

(收稿日期 2012-01-27)