基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.004080

神经肽Y在骨质疏松骨微损伤修复中的作用

田子扬[1]，李禹宸[1]，叶　炯[1]，陈致介[1]，姚雨青[2]，李展春[1]
（1.上海交通大学医学院附属仁济医院骨科，上海　200127；
2.上海交通大学医学院附属仁济医院浦南分院麻醉科手术室，上海　200127）

【摘　要】**目的：**探讨神经肽Y（neuropeptide Y，NPY）及其Y1受体（Y1 receptor，Y1R）在骨质疏松及骨微损伤修复过程中的作用。**方法：**收集因骨质疏松（osteoporosis，OP）股骨颈骨折（OP组）、髋关节骨关节炎（osteoarthritis，OA）（OA组）行人工髋关节置换术的绝经后女性患者股骨头样本，通过微型计算机断层扫描（micro computed tomography，Micro-CT）扫描、碱性品红染色、免疫组化及生物力学测试，比较2组间骨质疏松骨微结构损伤累积和NPY/Y1R表达差异。建立去卵巢（ovariectomized，OVX）大鼠模型（OVX组），施加疲劳载荷后，腹腔注射Y1R特异性拮抗剂BIBO3304（OVX+BIBO3304组，简称Y1RA组）进行干预，评估其对骨质疏松及骨微损伤的改善作用。**结果：**与OA组相比，OP组骨体积分数（bone volume/total volume，BV/TV）[（21.30 ± 5.11）% vs.（37.52 ± 9.05）%]、连接密度（connectivity density，Conn.D）[（2.45 ± 0.34）mm^{-3} vs.（3.52 ± 0.43）mm^{-3}]、骨小梁数量（trabecular number，Tb.N）[（1.14 ± 0.12）mm^{-1} vs.（1.29 ± 0.06）mm^{-1}]和骨小梁厚度（trabecular thickness，Tb.Th）[（0.19 ± 0.03）mm vs.（0.30 ± 0.07）mm]均明显降低（$P<0.05$）；结构模型指数（structure model index，SMI）[（1.86 ± 0.26）vs.（0.97 ± 0.37）]和骨小梁分离度（trabecular separation，Tb.Sp）[（0.84 ± 0.08）mm vs.（0.68 ± 0.07）mm]均明显升高（$P<0.05$）。OP组弹性模量[（61.26 ± 22.01）GPa vs.（126.58 ± 38.18）GPa]、最大载荷能量[（2.79 ± 0.85）J vs.（4.02 ± 1.43）J]、极限载荷[（1 184.51 ± 296.82）N vs.（2 699.28 ± 941.99）N]和极限应力[（3.98 ± 1.09）MPa vs.（11.09 ± 4.26）MPa]均明显低于OA组（$P<0.05$）。免疫组化显示，OP组的NPY表达[（0.40 ± 0.08）vs.（0.31 ± 0.09）]和Y1R表达[（0.31 ± 0.05）vs.（0.24 ± 0.04）]均明显高于OA组（$P<0.05$）。OVX组微损伤微裂纹密度[（0.36 ± 0.10）个/mm^2 vs.（0.19 ± 0.05）个/mm^2]、长度[（91.49 ± 16.23）μm vs.（73.96 ± 11.01）μm]和表面积密度[（29.45 ± 6.91）μm/mm^2 vs.（15.05 ± 4.55）μm/mm^2]均明显高于Y1RA组（$P<0.05$）。**结论：**NPY/Y1R信号通路在骨质疏松和骨微损伤过程中被异常激活，导致骨修复重建失衡，Y1R拮抗剂可通过阻断该通路改善骨质疏松，促进骨微损伤修复。

【关键词】神经肽Y；骨质疏松；骨微损伤
【中图分类号】R580　　【文献标志码】A

Role of neuropeptide Y in the repair of bone microdamage in osteoporosis

Tian Ziyang[1]，*Li Yuchen*[1]，*Ye Jiong*[1]，*Chen Zhijie*[1]，*Yao Yuqing*[2]，*Li Zhanchun*[1]
（*1.Department of Orthopedics，Renji Hospital，Shanghai Jiao Tong University School of Medicine；*
2.Department of Anesthesiology and Operating Room，Punan Branch of Renji Hospital，
Shanghai Jiao Tong University School of Medicine）

【**Abstract**】***Objective***：To investigate the role of neuropeptide Y（NPY）and its Y1 receptor（Y1R）in the development of osteoporosis and the repair of bone microdamage. ***Methods***：Femoral head samples were collected from postmenopausal female patients who underwent artificial hip arthroplasty due to osteoporotic femoral neck fractures（OP group）or hip osteoarthritis（OA group）. Micro-CT scanning，alkaline fuchsin staining，immunohistochemistry，and biomechanical tests were performed，and the two groups were compared in terms of the accumulation of osteoporotic bone microstructure damage and the expression of NPY/Y1R. An ovariectomized（OVX）rat model was established，and after fatigue load was applied，the Y1R-specific antagonist BIBO3304 was intraperitoneally injected for intervention to evaluate its effect in improving osteoporosis and bone microdamage. ***Results***：Compared with the OA group，the OP group showed significantly decreased bone volume/total volume（BV/TV）[（21.30 ± 5.11）% vs.（37.52 ± 9.05）%]，connectivity density（Conn.D）[（2.45 ± 0.34）mm^{-3} vs.（3.52 ± 0.43）mm^{-3}]，trabecular number（Tb.N）[（1.14 ± 0.12）mm^{-1} vs.（1.29 ± 0.06）mm^{-1}]，and trabecular thickness（Tb.Th）[（0.19 ± 0.03）mm vs.（0.30 ± 0.07）mm]（all $P<0.05$），while the structure model index（SMI）

作者介绍：田子扬，Email：tianzy17836214870@163.com，研究方向：骨质疏松与骨关节炎。
通信作者：李展春，Email：kcb069@163.com。
基金项目：上海市卫生健康委员会临床科研面上资助项目（编号：202340081）；上海市科学技术委员会“科技创新行动计划”实验动物研究领域资助项目（编号：21140904600）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20260327.1714.002（2026-03-30）

[(1.86 ± 0.26) vs. (0.97 ± 0.37)] and trabecular separation (Tb.Sp) [(0.84 ± 0.08) mm vs. (0.68 ± 0.07) mm] were significantly increased (P<0.05). The elastic modulus [(61.26 ± 22.01) GPa vs. (126.58 ± 38.18) GPa], maximum load energy [(2.79 ± 0.85) J vs. (4.02 ± 1.43) J], ultimate load [(1 184.51 ± 296.82) N vs. (2 699.28 ± 941.99) N], and ultimate stress [(3.98 ± 1.09) MPa vs. (11.09 ± 4.26) MPa] in the OP group were significantly lower than those in the OA group (P<0.05). Immunohistochemistry showed that NPY expression [(0.40 ± 0.08) vs. (0.31 ± 0.09)] and Y1R expression [(0.31 ± 0.05) vs. (0.24 ± 0.04)] in the OP group were significantly higher than those in the OA group (P<0.05). The OVX group had significantly higher microdamage microcrack density [(0.36 ± 0.10)/mm^2 vs. (0.19 ± 0.05)/mm^2], length [(91.49 ± 16.23) μm vs. (73.96 ± 11.01) μm], and surface area density [(29.45 ± 6.91) μm/mm^2 vs. (15.05 ± 4.55) μm/mm^2] compared with the Y1RA group (P<0.05). ***Conclusion***: The NPY/Y1R signaling pathway is abnormally activated during the process of osteoporosis and bone micro-injury, leading to an imbalance in bone repair and reconstruction, and Y1R antagonists can improve osteoporosis and promote the repair of bone microdamage by blocking this pathway.

【Key words】neuropeptide Y; osteoporosis; bone microdamage

骨质疏松（osteoporosis，OP）是一种以骨微结构受损、骨量降低为特征的全身性骨骼疾病。全球疾病负担研究（1990 至 2021 年）对 204 个国家地区的统计分析显示，随着人口老龄化进程加速，绝经后女性因骨密度降低导致的死亡人数呈明显上升趋势[1]，其中骨微结构的损伤累积是增龄性骨脆性增加的重要病理基础，最终表现为老年女性骨折易感性的明显升高[2]。如何降低全球老年女性的骨折风险并改善骨局部微结构成为亟待解决的临床问题[3-4]。骨微损伤通常定义为骨基质中形成的微观裂隙或结构缺陷，其尺度多在几微米至几十微米之间。当骨骼质量下降或长期处于超负荷力学状态时，此类显微缺陷易产生并逐渐累积[5-7]。生理状态下，骨骼通过骨重建机制修复微损伤，该过程的正常进行依赖于成骨细胞与破骨细胞协调配合[2,8]。神经肽 Y（neuropeptide Y，NPY）是一种广泛分布于中枢及外周神经系统的神经调节因子，由 36 个氨基酸残基组成，其生物学功能主要通过结合 G 蛋白偶联受体[如 Y1 受体（neuropeptide Y receptor type 1，Y1R）、Y2 受体（neuropeptide Y receptor type 2，Y2R）等]实现[9-11]。在骨骼微环境中，NPY 来源多样：既可由神经末梢分泌，也可由成骨谱系细胞及骨髓间充质干细胞合成。值得注意的是，前期研究表明 Y1R 作为 NPY 的主要外周受体，在成骨细胞表面呈高表达，并参与调控骨形成与骨吸收的平衡[12]。

基于上述研究背景，本研究联合临床样本与去卵巢（ovariectomized，OVX）大鼠模型，探讨 NPY 及 Y1R 拮抗剂（neuropeptide Y1 receptor antagonist，Y1RA）在骨质疏松骨微损伤修复中的作用，并分析其在骨重建过程的可能机制，以期为骨质疏松骨微损修复提供新思路。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 一般资料 本研究选取 2024 年 3 月至 2025 年 3 月于上海交通大学医学院附属仁济医院接受全髋关节置换术患者的股骨头标本作为研究对象。根据术前双能 X 线吸收法及术后病理诊断，将患者分为 2 组：OP 组和骨关节炎（osteoarthritis，OA）组。OP 组纳入 10 例因新鲜股骨颈骨折行手术的绝经后女性患者，年龄 63～82 岁，平均年龄 70.3 岁；OA 组纳入 10 例因终末期髋关节骨关节炎接受手术治疗的患者，其软骨损伤达 Outerbridge 关节软骨损伤分级Ⅲ～Ⅳ级标准，年龄 63～78 岁，平均年龄 68.9 岁。在研究期间，共有 22 例患者符合初步筛选。为均衡组间基线并满足检测要求，本研究采用系统抽样方法，最终为每组匹配了 10 例患者。该样本量符合探索性机制研究需要，并兼顾了临床标本获取的可行性与实验成本。纳入标准：①自然绝经≥5 年；②经双能 X 线吸收法（dual-energy X-ray absorptiometry，DXA）确诊为骨质疏松[符合世界卫生组织（World Health Organization，WHO）诊断标准：腰椎、髋部骨密度 T 值≤-2.5 SD]。③因骨科疾病住院行全髋或半髋关节置换术。排除标准：①合并影响骨代谢的系统性疾病（如甲状腺功能异常、甲状旁腺功能紊乱等）；②近期（6 个月内）使用过影响骨代谢的药物（包括糖皮质激素、抗骨吸收制剂及钙调节激素等）；③合并恶性肿瘤、重要器官功能不全或既往接受放化疗；④存在手术禁忌证或麻醉风险过高；⑤绝经后未确诊骨质疏松（T 值>-2.5 SD）或因其他原因（如创伤性骨折、感染性关节炎、股骨头缺血性坏死非骨质疏松相关股骨头缺血性坏死）行髋关节置换术者。本研究方案经本院伦理委员会批准（批件号：RA-2023-483），所有入选患者均签署知情同意书。

1.1.2 动物 本研究采用无特定病原体（specific pathogen free，SPF）级雌性 Sprague-Dawley（SD）大鼠，共 20 只，12 周龄，体质量 290~310 g，由上海交通大学医学院实验动物中心

提供。所有大鼠均饲养于本院动物实验室SPF级屏障环境，每笼≤5只，温度22~24 ℃，相对湿度维持在（50 ± 5）%，光照/黑暗周期为12 h/12 h，自由摄食饮水。本动物实验方案已获上海交通大学医学院实验动物福利伦理委员会批准（伦理批件编号：RA-2022-014），实验过程严格遵守国家《实验动物护理和使用指南》，并遵循动物实验的“3R”原则（减少、替代、优化）以减轻动物痛苦。

1.2 实验方法

1.2.1 标本处理 髋关节置换术后获取的股骨头标本经摆锯剖开，选取负重区3个部位的骨组织块进行后续检测。其中2个15 mm × 15 mm × 15 mm骨块分别采用4%多聚甲醛和70%乙醇进行固定，用于微型计算机断层扫描（micro computed tomography，Micro-CT）检测和骨微结构观察。另取1个15 mm × 10 mm × 10 mm组织块经多聚甲醛固定后，进行碱性品红染色和免疫组织化学检测。

1.2.2 Micro-CT扫描 扫描前将骨标本从4%多聚甲醛转移至75%乙醇，沿解剖长轴垂直固定于样本固定器内，采用Micro-CT扫描仪进行扫描，扫描分辨率为18 μm。扫描后进行三维重建，定量分析采用Bruker公司配套软件，分析参数包括骨密度（bone mineral density，BMD，g/cm^3）、骨体积分数（bone volume fraction，BV/TV，%）、骨小梁厚度（trabecular thickness，Tb.Th，μm）、骨小梁间隔（trabecular spacing，Tb.Sp，μm）、骨小梁数量（trabecular number，Tb.N，mm^{-1}）、连接密度（connectivity density，Conn.D，mm^{-3}）以及结构模型指数（structure model index，SMI）等。

1.2.3 骨微损伤染色 疲劳载荷实验完成后第3天，采用过量异氟烷麻醉处死大鼠，迅速分离双侧胫骨，去除附着软组织，采用碱性品红染色法标记患者置换术后的小块股骨头组织或荷载加压处理后大鼠双侧胫骨中的微损伤结构。样本剥离软组织后，4%多聚甲醛固定48 h，用骨组织切片机切取骨干段，继而依次置于含1%碱性品红的梯度乙醇溶液（80%、90%、100%）中染色。染色完成后采用聚甲基丙烯酸甲酯包埋，使用硬组织切片机制备100 μm厚度的横断面切片，最后通过激光共聚焦显微镜（激发波长543 nm，60×）观察并采用Image J软件进行骨微损伤（主要以微裂纹为主）定量分析。

1.2.4 NPY与Y1R免疫组化染色 疲劳载荷实验完成后第3天，采用过量异氟烷麻醉处死大鼠，迅速分离双侧胫骨，去除附着软组织，实验流程：①组织切片经二甲苯脱蜡及梯度乙醇水化；②采用免疫染色通透液进行膜通透处理；③高压柠檬酸盐缓冲液进行抗原修复；④3%过氧化氢封闭内源性过氧化物酶，专用封闭液室温封闭30 min；⑤滴加特异性一抗4 ℃过夜孵育；⑥辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记二抗室温孵育1 h；⑦3,3’-二氨基联苯胺（3,3’-diaminobenzidine，DAB）显色液显色，苏木素复染；⑧梯度乙醇脱水透明，中性树胶封片；⑨采用Image Pro Plus软件（5.0.1版）进行平均光密度值（mean optical density，MOD）定量分析。

1.3 大鼠OVX模型构建及取材

采用随机数字表法将大鼠分为2组（每组10只）：①卵巢切除组（ovariectomy，OVX组）；②卵巢切除+Y1R拮抗剂干预组（OVX+BIBO3304组，简称Y1RA组）。OVX模型构建：所有大鼠经腹腔注射3%戊巴比妥钠（40 mg/kg）麻醉后，经腰背部入路逐层切开皮肤、肌肉，暴露双侧卵巢并完整切除，术后逐层缝合切口，常规消毒护理。假手术组（仅用于手术操作对照，不纳入最终实验分组）仅切开腰背部组织后即刻缝合，不切除卵巢。干预处理：OVX造模术后8周，Y1RA组大鼠开始经腹腔注射Y1R特异性拮抗剂BIBO3304（溶剂为生理盐水，浓度0.1 mg/mL），剂量为1 mg/（kg·d），连续注射2周；OVX组大鼠同期腹腔注射等体积生理盐水。2组均连续干预2周，其间每日观察大鼠精神状态、饮食饮水及切口愈合情况。术后10周进行生物力学测试后，采用吸入麻醉后颈椎脱位法处死动物并收取标本进行后续研究。

1.4 力学荷载实验

大鼠经异氟烷吸入麻醉（诱导浓度5%，流量为1 L/min；维持麻醉浓度为2.5%，流量为0.6 L/min）状态下，将其右后肢轴向固定于生物力学加载系统。对右侧胫骨施加轴向循环压缩载荷（预载荷1 N，峰值载荷70 N，加载频率0.2 Hz），每日加载15 000次循环，以左侧胫骨作为自身对照。

1.5 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，2组间比较采用t检验。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 Micro-CT结果提示OP与OA组患者骨微结构差异

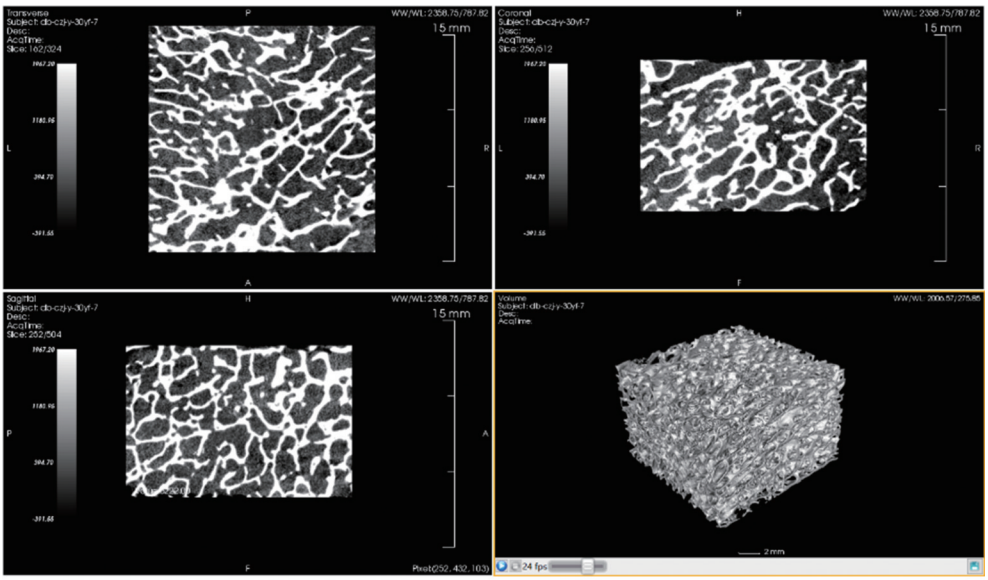
为明确OP的特征性病理改变，本研究首先对OP与OA组患者的骨组织微观形态进行比较。如图1的Micro-CT三维重建图像显示，OP组骨小梁相较于OA组明显下降，结构稀疏。定量分析（表1）表明，OP组的骨体积分数（BV/TV）、连接密度（Conn.D）、骨小梁数量（Tb.N）和骨小梁厚度（Tb.Th）均明显低于OA组，而结构模型指数（SMI）和骨小梁分离度（Tb.Sp）则明显升高。上述结果表明，骨质疏松病变伴随着明显的骨微结构破坏与骨量减少。

2.2 免疫组化和生物力学结果证实骨质疏松组骨微损伤增加

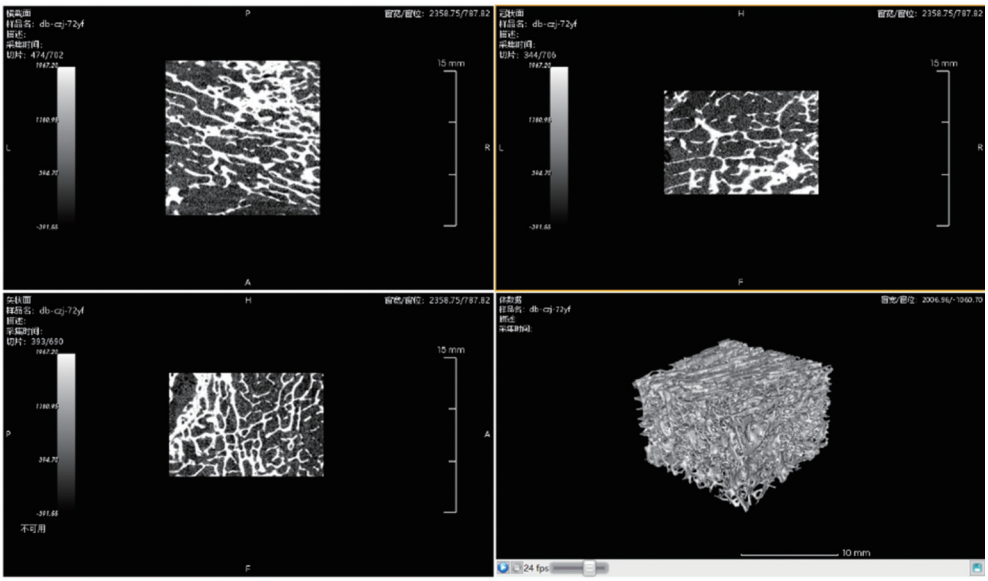
采用碱性品红染色[13]观察骨微损伤，结果显示OP组骨组织中的微损伤数量和长度均明显高于OA组（图2）。在生物力学性能测试方面，OP组的弹性模量、最大载荷能量、极限载荷和极限应力均明显低于OA组（表2）。上述结果表明，骨质疏松的病理改变不仅表现为骨量降低与微观结构退化，还伴随骨微损伤的明显累积及骨骼抗应力生物性能下降。

2.3 NPY/Y1R信号通路在骨质疏松骨组织中激活

既往研究显示，分布于骨骼的感觉神经和交感神经释放的神经肽Y可能参与骨质疏松损伤修复[14-17]，如图3A、3C免疫组化染色对比可知，NPY阳性信号主要定位于骨小梁边



A. OA组骨微结构不同视角的二维切片图像及三维图像



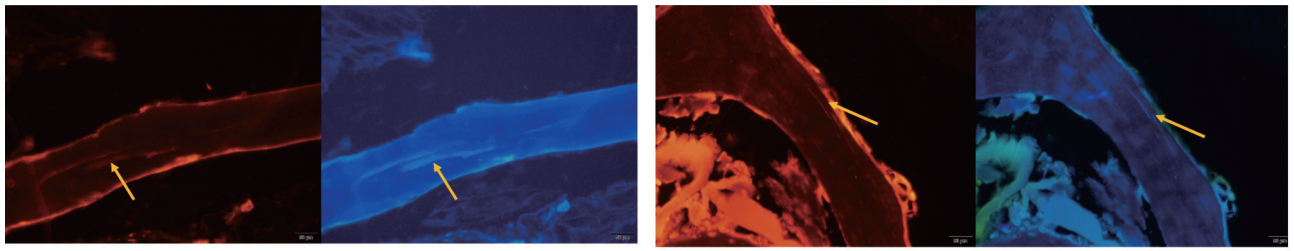
B. OP组骨微结构不同视角的二维切片图像及三维图像

图1　骨组织三维重建结果

表1　OA组和OP组骨微结构参数（$\bar{x} \pm s$，n=10）

骨微结构参数	OA组	OP组	t值	P值
骨体积分数（%）	37.52 ± 9.05	21.30 ± 5.11	4.935	<0.001
骨小梁连接密度（mm^{-3}）	3.52 ± 0.43	2.45 ± 0.34	6.173	<0.001
结构模型指数	0.97 ± 0.37	1.86 ± 0.26	−6.224	<0.001
骨小梁数目（mm^{-1}）	1.29 ± 0.06	1.14 ± 0.12	3.536	0.002
骨小梁厚度（mm）	0.30 ± 0.07	0.19 ± 0.03	4.568	<0.001
骨小梁分离度（mm）	0.68 ± 0.07	0.84 ± 0.08	−4.760	<0.001

缘细胞胞质及骨小梁内部陷窝细胞胞质，Y1R阳性信号则主要定位于骨小梁边缘细胞表面，骨小梁基质均无阳性着色。OP组NPY及其受体Y1R免疫阳性均高于OA组，NPY（OA组：0.31 ± 0.09，OP组：0.40 ± 0.08；t=−2.364，P=0.029）和Y1R（OA组：0.24 ± 0.04，OP组：0.31 ± 0.05；t=−3.457，P=0.003）的半定量分析（平均光密度值MOD）如图3B、D也证实了这一点。以上结果表明，NPY在骨组织中主要定位于成骨细胞胞质及骨细胞胞质，Y1R主要表达于成骨细胞表面。与OA组相比，OP组骨组织中NPY和Y1R的表达水平均明显上调，提示NPY/Y1R信号通路在骨质疏松病理状态下异常激活。



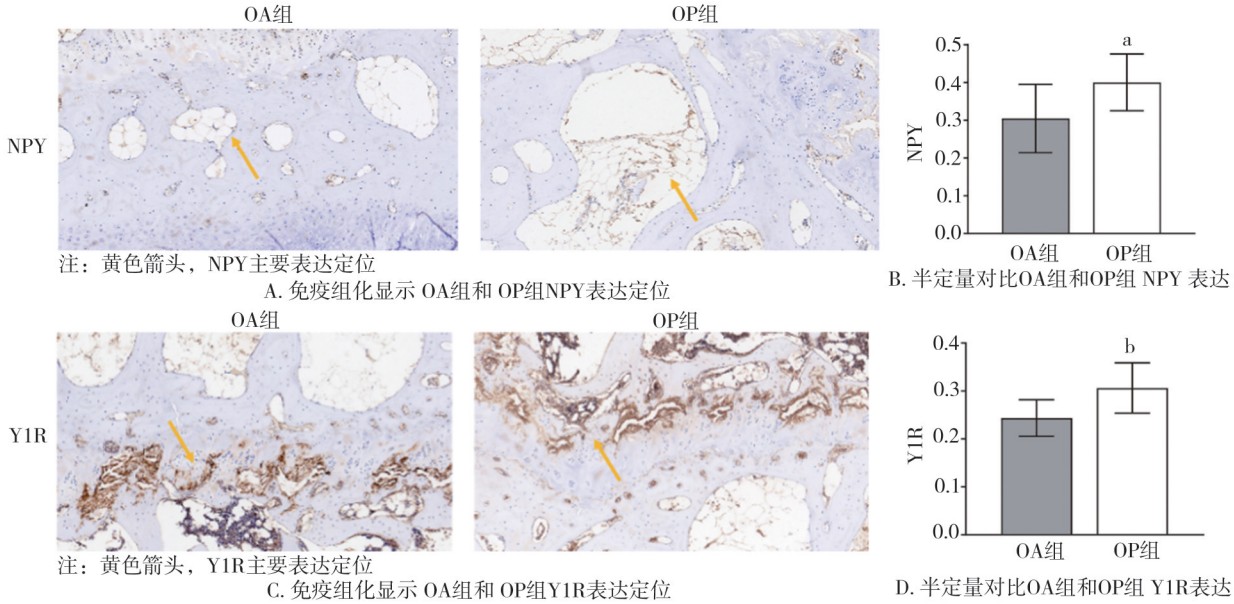
A. OA组骨微损伤碱性品红染色　　B. OP组骨微损伤碱性品红染色

注：黄色箭头，骨微损伤发生位置

图2　骨组织骨微损伤染色结果

表2　OA组和OP组骨生物力学性能参数（$\bar{x}\pm s$，n=10）

骨生物力学性能参数	OA组	OP组	t值	P值
弹性模量（GPa）	126.58 ± 38.18	61.26 ± 22.01	4.690	<0.001
最大载荷能量（J）	4.02 ± 1.43	2.79 ± 0.85	2.340	0.031
极限载荷（N）	2 699.28 ± 941.99	1 184.51 ± 296.82	4.850	0.001
极限应力（MPa）	11.09 ± 4.26	3.98 ± 1.09	5.110	0.001



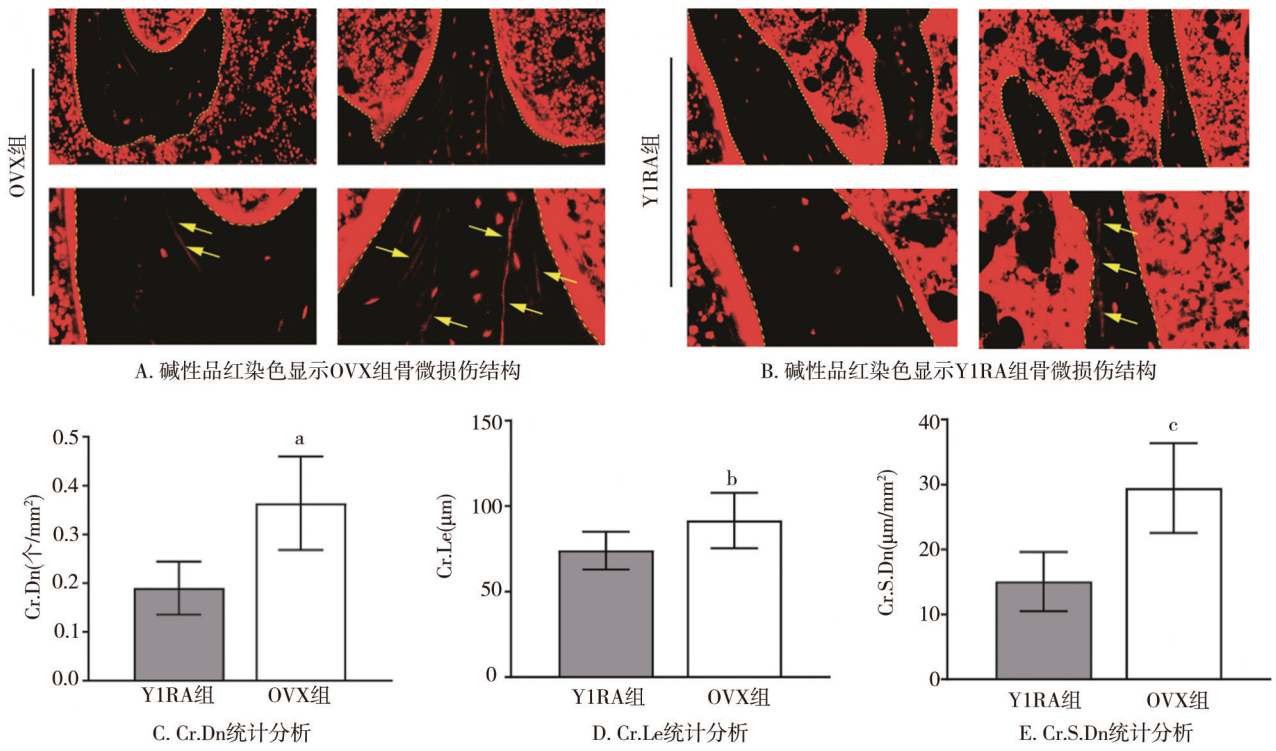
注：a，与OA组比较，P<0.05；b，与OA组比较，P<0.05

图3　OA组与OP组骨组织免疫组化染色结果

2.4　抑制Y1R可改善OVX大鼠的骨质疏松表型并减少骨微损伤产生

为在体内验证NPY/Y1R通路的激活，建立OVX骨质疏松大鼠模型并给予Y1R拮抗剂BIBO3304[18]，在施加标准化疲劳载荷后，行碱性品红染色评估骨微损伤。将20只大鼠随机分为2组（每组10只）：卵巢切除组（OVX组）、卵巢切除+Y1R拮抗剂干预组（Y1RA组）。OVX造模术后8周，Y1RA组大鼠经腹腔注射BIBO3304（浓度0.1 mg/mL，剂量1 mg/(kg·d)，连续干预4周；OVX组同期腹腔注射等体积生理盐水作为对照。术后12周，对2组大鼠右侧胫骨施加轴向循环压缩载荷（预载荷1 N，峰值载荷70 N，加载频率0.2 Hz，每日15 000次循环），左侧胫骨作为自身对照；载荷实验完成后第3天，过量异氟烷麻醉处死大鼠，取双侧胫骨经4%多聚甲醛固定、70%乙醇保存后行组织学检测。

采用碱性品红染色结合激光共聚焦显微镜观察骨微损伤，并通过Image J软件定量分析，结果如图4及表3所示，相同疲劳加载条件下，OVX组胫骨中段微损伤数量更多、长度更长[微裂纹密度（microcrack density，Cr.Dn）：（0.36 ± 0.10）个/mm^2，微裂纹长度（microcrack length，Cr.Le）：（91.49 ± 16.23）μm，微裂纹表面积密度（microcrack surface density，Cr.S.Dn）：（29.45 ± 6.91）μm/mm^2]，而Y1RA组相应指标[Cr.Dn：（0.19 ± 0.05）个/mm^2，Cr.Le：（73.96 ± 11.01）μm，Cr.S.Dn：（15.05 ± 4.55）μm/mm^2]均明显降低，黄色箭头标示骨微损伤。该结果表明给予Y1R拮抗剂治疗后大鼠骨量提高，骨微结构明显改善，增强抵抗外部高应变率的载荷的能力，从而减少骨微损伤的产生。



A. 碱性品红染色显示OVX组骨微损伤结构　B. 碱性品红染色显示Y1RA组骨微损伤结构

C. Cr.Dn统计分析　D. Cr.Le统计分析　E. Cr.S.Dn统计分析

注：碱性品红染色显示骨组织的微损伤结构图像，红色区域代表正常骨组织，黄色箭头指示骨微损伤位置；a，与Y1RA组比较，$P<0.05$；b，与Y1RA组比较，$P<0.05$；c，与Y1RA组比较，$P<0.05$

图4　给予NPY受体抑制剂后OVX组骨组织微损伤染色结果

表3　OVX组和Y1RA组胫骨中段骨微损伤参数比较（$\bar{x}\pm s$，n=10）

骨微损伤参数	OVX组	Y1RA组	t值	P值
皮质骨微裂纹密度（个/mm²）	0.36 ± 0.10	0.19 ± 0.05	4.808	<0.001
皮质骨微裂纹长度（μm）	91.49 ± 16.23	73.96 ± 11.01	2.827	0.011
皮质骨微裂纹表面积密度（μm/mm²）	29.45 ± 6.91	15.05 ± 4.55	5.504	<0.001

3　讨　论

本研究结合临床样本分析与动物模型验证，系统揭示了NPY及其受体Y1R在骨质疏松性骨微损伤修复中的关键作用。主要发现可概括为3个方面：首先临床层面，OP患者较OA患者，不仅存在严重的骨微结构退化和力学性能下降，其骨组织中NPY/Y1R系统的表达也明显上调；其次骨微损伤与OP病理状态存在明确的因果关联性——OP患者骨微结构退化（骨小梁数量减少、连接密度降低、分离度增加）的同时，骨组织中微损伤的数量、长度明显增加，且这种微损伤累积与骨骼生物力学性能（弹性模量、极限载荷等）的下降呈同步趋势，形成“骨微结构破坏→微损伤易感性升高→力学稳定性进一步削弱”的病理连锁反应，二者相互促进、加剧疾病进展；最后，机制层面，抑制Y1R能够有效改善大鼠的骨质疏松表型并增强骨骼对微损伤的修复能力，证实NPY/Y1R通路深度参与骨质疏松与骨微损伤进程。上述结果共同描绘出一条从雌激素缺乏到NPY/Y1R信号激活，最终导致骨微损伤累积与骨质量下降的潜在病理轴。

骨组织作为高度动态的器官，其稳态的维持依赖于骨吸收与骨形成之间的精细平衡，而绝经后雌激素的急剧下降会迅速打破这一平衡，导致骨吸收相对亢进，这被认为是骨质疏松发生的核心环节[19]。本研究中OVX组大鼠在骨小梁数量和连接结构等指标上的恶化，正是这一失衡状态的体现。骨微损伤是骨基质在反复应力下产生的微观损伤[20-22]，本研究免疫组化结果证明骨质疏松参与且进一步抑制了微损伤的正常骨重建。由此可见，骨质疏松与骨微损伤共同构成“骨质量下降—微损伤累积—力学性能恶化”的恶性循环，推动疾病的进展。

在上述病理过程中，NPY作为一种重要的神经内分泌调节因子发挥关键作用[23-24]。与Seldeen KL等[25]聚焦的Y2R不同，本研究旨在阐明外周中更广泛的Y1R在骨质疏松中的作用。骨微损伤主要通过骨重建进行修复，而骨质疏松的核心发病机制在于骨吸收与重建失衡[16]，本团队之前的研究证实了关于NPY及Y1R在腰椎退变中的作用，但尚不清楚其是否参与了骨质疏松骨微损伤的修复[17]。因此，BIBO3304的干预显示抑制Y1R不仅改善了OVX大鼠的骨微结构，还明显降低了在同等机械负荷下骨微损伤的密度与长度。需要明确的是，本研究中OVX大鼠在施加疲劳载荷前接受BIBO3304干预，结果显示Y1R拮抗剂并非直接促进已发生骨微损伤的愈合，而是通过改善骨质疏松状态下的骨质量、提升骨骼力学稳定性，增强骨骼抗损伤能力，从而减少同等载荷下新损伤的产生，其对已发生骨微损伤的直接修复作用仍需后续体外损伤模型进一步验证。以上结果确立了Y1R激活在骨质疏松骨脆性增加的核心地位，其机制可能兼具“抑制骨形成”与“阻碍损伤修复”的双重效应。

Y1R激活是如何介导这些破坏性效应的，结合既往骨微环境调控的研究[26-27]、本文中免疫组化定位信息以及Wang FS等[28]证明微环境中高浓度NPY水平与激素诱导的骨小梁退化相关，本研究推测，绝经后雌激素的下降可能上调了骨微环境中的NPY水平，升高的NPY通过与微环境中成骨细胞表面高表达的Y1R结合，可能直接抑制了成骨细胞的增殖与分化活性，这与BIBO3304干预后骨形成改善的现象相符。此外，这种抑制作用可能干扰了骨重建的启动环节，在生理状态下，骨重建首先由成骨谱系细胞感知并发出信号，招募破骨细胞至特定部位进行修复性骨吸收[29-30]；当成骨细胞功能被NPY/Y1R信号抑制时，微损伤便无法及时清除。正如Zhang QY等[31]发现雌激素的缺乏会进一步造成骨质疏松微环境中的磷脂过氧化，破坏RUNX家族转录因子2（RUNX family transcription factor 2，RUNX2）信号传导并抑制成骨细胞生成，NPY/Y1R通路的下游机制可能也涉及对骨骼微环境中氧化应激水平的调控。这提示，NPY/Y1R通路可能是连接神经、氧化应激与骨代谢失衡的重要桥梁。

此外，本研究仍存在一定的局限性。首先，本研究选用髋关节OA患者作为OP对照组，虽为临床常用对照方式，且通过严格纳入标准排除了OA合并骨质疏松者以控制混杂因素，但OA本身存在软骨下骨重塑异常、微损伤累积等病理改变，其骨代谢状态并非正常生理状态，可能导致OP与OA组的对比结果存在一定偏倚，后续研究可增设健康绝经后女性骨组织作为正常对照组。其次，本研究临床样本为单中心每组10例，虽经统计学分析且组间基线具有可比性，但样本量偏小，后续需开展多中心、大样本的临床研究进一步验证NPY/Y1R通路与骨质疏松骨微损伤的关联，提升研究结果的证据等级。最后Y1R拮抗剂是通过直接影响成骨或破骨细胞，还是通过调节局部神经递质微环境，其具体的作用通路，也有待利用条件性基因敲除小鼠等模型进行深入探索。

综上所述，本研究从“骨神经调控”这一新颖视角出发，揭示了NPY/Y1R信号通路是连接雌激素缺乏与骨质量下降、骨微损伤累积的重要桥梁。这些结果提示，OVX可能通过改变骨小梁的密度、长度与分离度等结构参数，诱发骨微损伤，而Y1R靶向抑制剂干预可在一定程度上改善这些骨结构异常、提升骨骼抗损伤能力，为探究防治绝经后骨质疏松患者局部微骨折的发病机制及潜在治疗策略提供了实验依据。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 田子扬：研究设计、实验实施、数据收集与整理、论文初稿撰写；李禹宸：临床样本处理、Micro-CT扫描及数据分析、图表绘制；叶炯：免疫组化实验操作、结果判读与定量分析；陈致介：动物模型构建、疲劳载荷实验实施、标本取材；姚雨青：生物力学测试、数据统计分析、实验方法优化；李展春：研究思路指导、实验设计审核、论文修改与最终定稿

参 考 文 献

[1] Liang HF, Chen SB, Shi ML, et al. Global epidemiology and burden of osteoporosis among postmenopausal women: insights from the Global Burden of Disease Study 2021[J]. NPJ Aging, 2025, 11(1): 78.

[2] Burr DB, Forwood MR, Fyhrie DP, et al. Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures[J]. J Bone Miner Res, 1997, 12(1): 6-15.

[3] 孙俊辉，蓝朵朵，王 栋，等. 3种方式的坚固内固定髁突头部骨折的生物力学分析[J]. 华西口腔医学杂志，2025，43(1)：126-132.
Sun JH, Lan DD, Wang D, et al. Biomechanical analysis of three kinds of rigid internal fixation methods for condylar head fractures[J]. West China J Stomatol, 2025, 43(1): 126-132.

[4] Harvey N, Dennison E, Cooper C. Osteoporosis: impact on health and economics[J]. Nat Rev Rheumatol, 2010, 6(2): 99-105.

[5] Zeng ZJ, Peng P, Huang CL, et al. More severe microdamage and micromechanical alterations: altered subchondral bone remodeling in

Varus knee osteoarthritis with osteoporosis[J]. Osteoporos Int, 2025, 36(12): 2483-2495.

[6] Muratovic D, Findlay DM, Cicuttini FM, et al. Bone matrix microdamage and vascular changes characterize bone marrow lesions in the subchondral bone of knee osteoarthritis[J]. Bone, 2018, 108: 193-201.

[7] Malekipour F, Hitchens PL, Whitton RC, et al. Effects of *in vivo* fatigue-induced microdamage on local subchondral bone strains[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2022, 136: 105491.

[8] Forwood MR, Vashishth D. Translational aspects of bone quality-vertebral fractures, cortical shell, microdamage and glycation: a tribute to Pierre D. Delmas[J/OL]. Osteoporosis International, 2009, 20(3): 247-253.

[9] Lin ST, Li YZ, Sun XQ, et al. Update on the role of neuropeptide Y and other related factors in breast cancer and osteoporosis[J]. Front Endocrinol, 2021, 12: 705499.

[10] Loh K, Herzog H, Shi YC. Regulation of energy homeostasis by the NPY system[J]. Trends Endocrinol Metab, 2015, 26(3): 125-135.

[11] Diaz-delCastillo M, Woldbye DPD, Heegaard AM. Neuropeptide Y and its involvement in chronic pain[J]. Neuroscience, 2018, 387: 162-169.

[12] 赵家硕，张艳艳，刘 飞，等. 神经肽参与调控神经病理性疼痛机制的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志，2025，52(4)：498-506.
Zhao JS, Zhang YY, Liu F, et al. Research progress on neuropeptide involved in neuropathic pain[J]. Int J Stomatol, 2025, 52(4): 498-506.

[13] Burr DB, Hooser M. Alterations to the en bloc basic fuchsin staining protocol for the demonstration of microdamage produced *in vivo*[J]. Bone, 1995, 17(4): 431-433.

[14] Xie WX, Li F, Han Y, et al. Neuropeptide Y1 receptor antagonist promotes osteoporosis and microdamage repair and enhances osteogenic differentiation of bone marrow stem cells *via* cAMP/PKA/CREB pathway [J]. Aging, 2020, 12(9): 8120-8136.

[15] Xiao J, Yu WF, Wang XR, et al. Correlation between neuropeptide distribution, cancellous bone microstructure and joint pain in postmenopausal women with osteoarthritis and osteoporosis[J]. Neuropeptides, 2016, 56: 97-104.

[16] Ning BH, Londono I, Laporte C, et al. Zoledronate reduces loading-induced microdamage in cortical ulna of ovariectomized rats[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2024, 150: 106350.

[17] 韩 燚，谢玮鑫，肖 洁，等. 神经肽Y和受体在腰椎动静力失衡大鼠模型中表达及对痛阈的影响[J]. 重庆医科大学学报，2019，44(6)：689-695.
Han Y, Xie WX, Xiao J, et al. Expression of neuropeptide Y and its receptors in the rat model of intervertebral disc degeneration induced by unbalanced dynamic and static forces and its correlation with pain threshold[J]. J Chongqing Med Univ, 2019, 44(6): 689-695.

[18] Chen ZJ, Lv MY, Liang J, et al. Neuropeptide Y-mediated gut microbiota alterations aggravate postmenopausal osteoporosis[J]. Adv Sci, 2023, 10(33): 2303015.

[19] 陈长军，王秋入，赵 鑫，等. 骨质疏松症的发病机制及临床药物治疗研究进展[J]. 重庆医科大学学报，2024，49(10)：1031-1038.
Chen CJ, Wang QR, Zhao X, et al. Research advances in the pathogenesis and clinical drug treatment of osteoporosis[J]. J Chongqing Med Univ, 2024, 49(10): 1031-1038.

[20] Wang G, Qu XH, Yu ZF. Changes in the mechanical properties and composition of bone during microdamage repair[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e108324.

[21] Li ZC, Dai LY, Jiang LS, et al. Difference in subchondral cancellous bone between postmenopausal women with hip osteoarthritis and osteoporotic fracture: implication for fatigue microdamage, bone microarchitecture, and biomechanical properties[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(12): 3955-3962.

[22] 吴芷若，黄水金，霍亚南，等. 骨质疏松症患者脆性骨折危险因素分析及骨折风险评估模型的建立[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志，2024，17(4)：308-317.
Wu ZR, Huang SJ, Huo YN, et al. Analysis of risk factors for fragility fractures and establishment of a fracture risk assessment model in patients with osteoporosis[J]. Chin J Osteoporos Bone Miner Res, 2024, 17(4): 308-317.

[23] Lundberg JM, Franco-Cereceda A, Lacroix JS, et al. Neuropeptide Y and sympathetic neurotransmission[J]. Ann N Y Acad Sci, 1990, 611: 166-174.

[24] Baldock PA, Lin S, Zhang L, et al. Neuropeptide Y attenuates stress-induced bone loss through suppression of noradrenaline circuits [J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(10): 2238-2249.

[25] Seldeen KL, Halley PG, Volmar CH, et al. Neuropeptide Y Y2 antagonist treated ovariectomized mice exhibit greater bone mineral density [J]. Neuropeptides, 2018, 67: 45-55.

[26] Yin WC, Li X, Zheng SW, et al. Association of novel inflammatory markers with osteoporosis index in older spine osteoporosis patients: NHANES 1999-2018 cross-sectional study[J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 9128.

[27] 王滋润，梁丽芹，肖成伟，等. Netrin-1增强骨髓间充质干细胞治疗骨质疏松性骨折的作用及机制研究[J]. 重庆医科大学学报，2021，46(3)：284-288.
Wang ZR, Liang LQ, Xiao CW, et al. Role of Netrin-1-enhanced bone marrow mesenchymal stem cells on the treatment of osteoporotic fracture and its mechanism[J]. J Chongqing Med Univ, 2021, 46(3): 284-288.

[28] Wang FS, Lian WS, Weng WT, et al. Neuropeptide Y mediates glucocorticoid-induced osteoporosis and marrow adiposity in mice[J]. Osteoporos Int, 2016, 27(9): 2777-2789.

[29] Wu XN, Wang YQ, Wang H, et al. Neuropeptide Y regulates osteocyte phenotype and function through AHNAK-Smad signalling[J]. J Mol Endocrinol, 2023, 71(2): e230011.

[30] Zhang Y, Chen CY, Liu YW, et al. Neuronal induction of bone-fat imbalance through osteocyte neuropeptide Y[J]. Adv Sci, 2021, 8(24): 2100808.

[31] Zhang QY, Gong HB, Jiang MY, et al. Regulation of enzymatic lipid peroxidation in osteoblasts protects against postmenopausal osteoporosis[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 758.

（收稿：2026-02-06；修回：2026-03-07；录用：2026-03-20）

（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：

田子扬，李禹宸，叶 炯，等. 神经肽Y在骨质疏松骨微损伤修复中的作用[J]. 重庆医科大学学报，2026，51(5)：654-661.