http://www.biomedrxiv.org.cn/article/doi/10.12201/bmr.202611.00035
此预印本（未经同行评审）的作者拥有该文稿的版权，biomedRxiv拥有永久保存权。任何人未经允许不得重复使用。

肿瘤坏死因子受体超家族成员 9 调控老年性骨质疏松骨重塑的研究进展

方志涛[1]　　卢良杰[2*]

1 宁波大学附属李惠利医院脊柱外科，浙江宁波 315040；2 宁波大学附属李惠利医院脊柱外科，浙江宁波 315040

【基金项目】宁波市自然科学基金重点项目（2024J032）

【通信作者】卢良杰，E-mail：2380179@tongji.edu.cn

【摘要】老年性骨质疏松伴有骨髓间充质基质细胞成骨能力减弱和骨髓脂肪增多。围绕这些变化，小鼠研究发现肿瘤坏死因子受体超家族成员 9（4-1BB 或 CD137）活化可经 p38 丝裂原活化蛋白激酶-Dickkopf 相关蛋白 1 信号轴抑制成骨，全身阻断则伴随骨小梁、骨髓脂肪及骨重塑指标改善。本文梳理 4-1BB 受体与配体的信号方向，分析其对成骨、成脂分化和细胞间作用的影响，并结合细胞异质性与衰老研究讨论靶向干预的依据。整体骨表型反映了多类细胞的共同作用，现有实验尚未厘清基质、破骨谱系和免疫细胞各自的贡献。后续研究应在特定细胞中实施干预，通过动态骨重塑评价和停药后随访，明确其细胞来源与持续时间，为选择递送方式提供依据。

【关键词】老年性骨质疏松；肿瘤坏死因子受体超家族成员 9；骨髓间充质基质细胞；成骨分化；脂肪生成；骨重塑

【中图分类号】R681　【文献标识码】A

10.12201/bmr.202611.00035V1

骨质疏松症增加老年人骨折风险，现有防治包括风险评估、非药物管理及抗骨吸收或促骨形成治疗[1]。从细胞层面看，骨稳态既取决于骨髓间充质基质细胞（bone marrow mesenchymal stromal cells，BMSCs）的成骨分化，也受其与造血及免疫细胞相互作用的影响。在这一背景下，4-1BB 逐渐受到关注：该分子亦称 CD137，其规范名称为肿瘤坏死因子受体超家族成员 9（tumor necrosis factor receptor superfamily member 9，TNFRSF9）。在老年小鼠中，阻断 4-1BB 可改善骨丢失[2-3]，同时伴有骨髓脂肪减少[4]。这些发现提示，有必要从细胞分化与骨髓环境的联系出发，分析该受体参与骨重塑的具体环节。

本文讨论 4-1BB 作用于哪些细胞、如何影响分化，以及骨形成和骨吸收变化如何共同构成干预效果，随后分析刺激撤除后的功能恢复与递送方案。文中使用 BMSCs 这一统称；具体骨骼干细胞或祖细胞群仍沿用原研究的分选标准和功能定义。

1　4-1BB 及其配体的信号方向与作用条件

1.1　受体信号与配体反向信号

受体与配体的细胞分布及呈递形式决定信号作用对象。Wan 等[2]在老龄小鼠骨髓中检出基质细胞和树突状细胞表达 4-1BB，而 4-1BB 配体（4-1BB ligand，4-1BBL）主要见于造血干细胞及髓系祖细胞。Jiang 等[5]在其肿瘤相关细胞体系中检测到膜结合型受体和配体，

通信作者：卢良杰，E-mail：2380179@tongji.edu.cn
基金项目：宁波市自然科学基金重点项目（2024J032）

http://www.biomedrxiv.org.cn/article/doi/10.12201/bmr.202611.00035
此预印本（未经同行评审）的作者拥有该文稿的版权，biomedRxiv拥有永久保存权。任何人未经允许不得重复使用。

并在培养上清中检出可溶性配体。膜表面表达量与可溶性浓度应分别评价，固定化融合蛋白、交联重组配体及游离分子不能视为等效刺激。

Shin 等[6]以固定化 4-1BB 与免疫球蛋白 G（immunoglobulin G，IgG）Fc 段融合蛋白（4-1BB-Fc）刺激骨髓巨噬细胞的 4-1BBL，发现干扰素 β 增加，核因子 κB 受体活化因子配体（receptor activator of nuclear factor-κB ligand，RANKL）诱导的破骨细胞形成受抑。该效应在受体缺失细胞中仍存在，支持配体反向信号。Yang 等[7]则发现受体缺失细胞的破骨分化降低，重组受体或配体刺激增强野生型细胞分化。

上述结果在破骨分化方向上存在分歧。Shin 研究以融合蛋白交联配体，侧重反向信号；Yang 研究还比较受体缺失与野生型前体细胞，涉及受体与配体的双向作用。固定化、交联方式、内源性共表达及细胞培养条件均可能影响效应，但尚未经统一体系直接验证。因此，不能将 4-1BB/4-1BBL 概括为单向促破骨或抑破骨作用，也不能把配体反向信号等同于受体阻断。

1.2 抗体功能与细胞背景

Qi 等[8]发现，抗体激动强度与免疫球蛋白 G Fc 段 γ 受体（Fc gamma receptor，FcγR）相互作用共同影响受体活化。骨代谢研究应区分激动型与阻断型抗体，并验证细胞特异性作用。

全身给药可同时影响免疫、基质及破骨谱系细胞，骨效应的细胞归属需由特异性干预明确。

2 4-1BB 调控 BMSCs 成骨与成脂分化的证据

2.1 p38 丝裂原活化蛋白激酶-Dickkopf 相关蛋白 1 信号轴与 BMSCs 成骨分化

Wan 等[2]在 6 月龄和 18 月龄雄性小鼠中发现，老年组骨髓的 4-1BB 受体及配体水平较高。对 BMSCs 施加交联配体刺激后，p38 丝裂原活化蛋白激酶（p38 mitogen-activated protein kinase，p38 MAPK）磷酸化增强，Dickkopf 相关蛋白 1（Dickkopf-related protein 1，DKK1）表达上调，同时伴有 Wnt/β-连环蛋白（β-catenin）信号减弱和成骨分化降低。受体阻断及下游药理干预的结果支持该信号轴参与成骨抑制。年龄组间的差异还与刺激条件有关：未刺激时，体外成骨差异未达统计学显著；配体刺激后，老年组的抑制效应更明显。

配体刺激和药理干预实验为这一成骨抑制机制提供了依据。要明确体内骨表型的细胞来源，需进一步在相应细胞中单独调节 4-1BB。该研究于 2026 年更正了部分茜素红染色代表图[3]，矿化结果应结合更正后的图像解读。

10.12201/bmr.202611.00035V1

http://www.biomedrxiv.org.cn/article/doi/10.12201/bmr.202611.00035
此预印本（未经同行评审）的作者拥有该文稿的版权，biomedRxiv拥有永久保存权。任何人未经允许不得重复使用。

2.2 骨髓脂肪变化与肿瘤抑制蛋白 p53 相关机制

Han 等[4]发现全身阻断 CD137 后，老年小鼠骨髓脂肪减少、骨小梁改善。肿瘤抑制蛋白 p53（tumor protein p53，p53）及经典 Wnt 相关机制主要来自差异表达、通路富集和既有研究，尚缺同一细胞体系中的干预验证。

两项核心老龄动物研究均从 16 月龄开始，给予雄性 C57BL/6 小鼠中和抗体 100 μg/只，每周腹腔注射 1 次，持续 8 周，以 IgG 为对照[2,4]。Wan 侧重腰椎、股骨骨小梁及骨形成和吸收，Han 侧重胫骨骨小梁和股骨骨髓脂肪（表 1）。二者终点互补，但作者团队存在重叠，且均采用全身阻断，尚不足以证明基质细胞特异性机制或停药后持续获益。

成骨增强与脂肪减少并存，不等于同一祖细胞发生分化转换。应结合谱系追踪区分细胞数量、体积与组成变化，并通过干预和补救实验检验 p53 与 p38 MAPK-DKK1 的功能联系。

2.3 骨髓微环境与细胞异质性

Bandyopadhyay 等[9]的人骨髓图谱描述了基质与造血细胞的空间关系，可用于分析两者的相互作用。关于衰老，Du 等[10]在小鼠动脉周围观察到干扰素相关炎症及基质细胞变化，Cenzano 等[11]在人骨髓中发现促纤维化间充质细胞亚群。这些研究揭示了年龄相关的局部环境和细胞组成变化；其与 4-1BB 的因果联系仍待检验。

Ambrosi 等[12]通过人骨骼干细胞分选与功能分析，发现不同部位的细胞组成和功能存在差异，衰老及再生障碍伴有促纤维化偏移。比较 4-1BB 研究时，应结合取材部位与细胞定义，区分受体作用和细胞组成变化。

Liao 等[13]在成年小鼠骨内膜中发现一类同时表达脂联素基因（Adipoq）和成骨转录因子 Osterix（Osx）的细胞。交叉遗传命运示踪显示，这类细胞兼具成骨和成脂分化能力，说明成脂标志阳性细胞仍可保留成骨潜能。对于 4-1BB 干预后观察到的成骨与成脂变化，需要进一步通过谱系追踪判断两者是否源于同一祖细胞群。

3 4-1BB 相关细胞间作用与骨重塑

3.1 BMSCs 相关细胞对破骨分化的调节

除成骨细胞功能外，破骨细胞的分化也决定骨重塑的方向。RANKL 为破骨前体细胞提供分化刺激，骨保护素（osteoprotegerin，OPG）则对这一过程发挥拮抗作用。Lu 等[14]通过诱导型遗传示踪和条件性基因缺失实验，识别出成年小鼠骨髓成脂谱系前体细胞这一重要的 RANKL 来源。去除该细胞来源的 RANKL 后，骨吸收减少，骨小梁骨量增加；皮质骨未出现相同变化。该结果为连接成脂谱系与破骨调节提供了直接依据，提示评价骨髓脂肪时，应区分成熟脂肪细胞积累、前体细胞组成及其分泌功能的变化。

10.12201/bmr.202611.00035V1

http://www.biomedrxiv.org.cn/article/doi/10.12201/bmr.202611.00035
此预印本（未经同行评审）的作者拥有该文稿的版权，biomedRxiv拥有永久保存权。任何人未经允许不得重复使用。

可通过非接触式共培养（Transwell）比较基质细胞受体上调、阻断或缺失后的 RANKL/OPG 变化，并以中和或补救实验检验旁分泌效应；膜配体的接触依赖作用需另设直接接触共培养。

3.2 破骨前体细胞中的直接作用

4-1BB/4-1BBL 可直接参与破骨前体细胞分化[6-7]。Jiang 等[5]在乳腺癌骨转移模型中发现，单核/巨噬细胞 CD137 促进迁移与破骨分化，提示髓系受体也可能影响骨吸收；其在自然衰老骨髓中的贡献仍需验证。

基质与髓系细胞的不同作用可能共同影响整体骨表型。各类研究的主要结果及适用范围见表 1。

表 1 4-1BB 相关骨代谢证据及适用范围

研究与模型	干预及对照	主要终点与结果	解释与边界
Wan 等[2-3]；雄性自然老龄小鼠	16 月龄起，每周腹腔注射中和抗体 100 μg/只，8 周；IgG 对照	腰椎、股骨骨小梁改善；骨形成增加、骨吸收降低；所测皮质骨无改善	细胞实验支持相关信号轴；全身阻断不能定位细胞来源；矿化图已更正
Han 等[4]；雄性自然老龄小鼠	16 月龄起，同剂量和疗程；IgG 对照	胫骨近端骨小梁改善，股骨骨髓脂肪减少	脂肪终点补充 Wan 研究；p53 机制主要为生物信息学推断
Shin 等[6]；骨髓巨噬细胞	固定化 4-1BB-Fc；包括受体缺失细胞	破骨形成受抑，干扰素 β 参与	支持配体反向信号
Yang 等[7]；受体缺失小鼠及来源细胞	基因型比较；重组受体或配体刺激	受体缺失降低破骨分化；刺激增强野生型细胞分化	与 Shin 结果方向不同，需比较刺激条件及双向作用
Jiang 等[5]；乳腺癌骨转移模型	髓系受体调控及 F4/80 靶向递送	迁移、破骨分化及骨/肺转移相关终点	髓系机制与递送参照，非自然老龄骨质疏松直接证据

10.12201/bmr.202611.00035V1

http://www.biomedrxiv.org.cn/article/doi/10.12201/bmr.202611.00035
此预印本（未经同行评审）的作者拥有该文稿的版权，biomedRxiv拥有永久保存权。任何人未经允许不得重复使用。

4 4-1BB 靶向干预与转化研究

4.1 全身阻断的骨效应及评价范围

全身阻断后的变化并不限于骨形成。Wan 等[2]观察到老年小鼠骨小梁和骨形成指标改善、破骨相关指标降低，但所测皮质骨参数没有改善；Han 等[4]还发现骨髓脂肪减少。因此，整体骨获益可能涉及多个环节，并存在骨区室差异，各类细胞的贡献仍待分辨。

评价干预应对应骨量、微结构、动态骨形成、骨髓脂肪和骨吸收结果。骨密度改善不能单独确定骨形成贡献，体外矿化也不能代替骨强度或骨折终点。

4.2 靶向递送的依据与靶细胞选择

Jiang 等[5]将抗 CD137 阻断抗体装载于 F4/80 靶向脂质体，在小鼠乳腺癌模型中观察到骨和肺转移受抑，为单核/巨噬细胞递送提供了依据。用于老年性骨质疏松时，仍需验证其骨髓分布、受体阻断及骨代谢效果。

F4/80 靶向主要针对单核/巨噬细胞；若研究目标是 BMSCs 内信号，则需证实抗体可接触并调节相应受体，将组织富集与骨功能终点对应。

4.3 临床定位与免疫效应

直接骨保护证据目前以小鼠研究为主[2,4]。相较现有抗骨吸收、促骨形成及序贯治疗[1]，4-1BB 研究应明确拟解决的临床缺口，并在人骨髓中验证受体定位、细胞作用及其与骨功能的关系。

由于 4-1BB 参与免疫细胞功能，转化评价需要将骨效应与免疫影响共同考虑。应区分激动型抗体与阻断型抗体的功能和风险，不直接沿用肿瘤免疫研究的剂量、效果或安全性结论[8]。人骨髓中的受体定位、细胞特异性作用及骨功能关联，是连接小鼠结果与人体研究的必要环节。

5 成骨恢复的证据缺口与未来方向

5.1 区分信号抑制与功能恢复

现有研究观察到的成骨改善主要发生于干预期[2,4]。评价其程度时，应区分相较持续刺激组的提高、恢复至同龄未刺激组水平以及接近年轻组水平。评价其持续性则需观察停药后的变化。研究报告应据此明确对照组、观察时点和随访结果。

撤除刺激后继续观察，可判断成骨抑制是否仍依赖持续信号。碱性磷酸酶、成骨基因和矿化对应不同分化阶段，应按时间与信号变化对照，同时检查细胞存活、增殖及群体组成。若信号已回落而成骨仍未恢复，需先排除刺激残留和细胞群变化。表 2 列出可供检验的几种解释。

10.12201/bmr.202611.00035V1

http://www.biomedrxiv.org.cn/article/doi/10.12201/bmr.202611.00035
此预印本（未经同行评审）的作者拥有该文稿的版权，biomedRxiv拥有永久保存权。任何人未经允许不得重复使用。

表 2　刺激撤除后成骨变化的待检验解释

观察表现	可支持的判断	需核查的因素
信号回落，成骨达到同龄未刺激组水平	支持存在依赖持续刺激的可逆性抑制成分	效果持续性、细胞替代及同步环境变化
信号回落，成骨仍低于同龄未刺激组	存在残余成骨不足，尚不能确定其来源	刺激残留、旁分泌作用、存活与细胞群组成
受体充分去除后仍出现相近障碍	提示 4-1BB 非依赖因素可能参与	干预时序、受体去除效率及其他细胞作用

5.2　细胞状态与联合干预的研究依据

细胞衰老网络（Cellular Senescence Network，SenNet）建议结合细胞类型与多类标志判定衰老[15]。Doolittle 等[16]发现髓系与间充质细胞衰老表型和清除后恢复过程不同，提示 p16、p21 变化须结合增殖、损伤、分泌表型与成骨功能解释。

Luo 等[17]通过转录因子 EB（transcription factor EB，TFEB）增强自噬，改善衰老相关表型及中龄雄性小鼠骨代谢；Liu 等[18]将适度机械刺激的作用与染色质调节及叉头框蛋白 O1（forkhead box O1，FOXO1）联系。这些策略与 4-1BB 阻断联合应用的效果尚需直接比较。

Wu 等[19]发现，重复损伤后的基质细胞成骨能力降低，成脂分化倾向增强；调节 Wnt 信号可部分改善成骨。研究将这种损伤相关耗竭与生理性衰老区分开来，为考察持续性成骨障碍提供了参照。对于 4-1BB 刺激撤除后仍存在的功能障碍，应分别检验刺激残留、细胞群替代和内在损伤的影响，再依据直接证据判断其机制与损伤相关耗竭的关系，而非仅比较 Wnt 信号变化。

Farr 等[20]在 60 名绝经后女性中开展 II 期随机试验，发现达沙替尼联合槲皮素未改善 20 周时的骨吸收主要终点，早期骨形成标志物的升高也未维持至 20 周。这项结果提示，短期指标变化与持续获益需要分别评价。该试验针对达沙替尼联合槲皮素，4-1BB 干预的疗效仍需通过其自身研究确定，包括比较早期与延迟阻断、单独阻断与联合干预的效果。

6　结论

老年小鼠研究已将 4-1BB 与骨稳态失衡联系起来。其中，体外实验对 BMSCs 中 p38 MAPK-DKK1 信号轴参与成骨抑制提供了较直接的支持；全身阻断实验还观察到骨髓脂肪和破骨相关指标的变化。不过，这些整体变化尚不能归因于某一种细胞。p53 在其中的作用、基质细胞如何影响其他细胞，以及免疫和破骨谱系各自贡献多少，仍缺乏足够的直接证据。后续可在特定细胞中干预 4-1BB，同时评价成骨、成脂和骨吸收，并在停药后继续观察，以明确骨获益的来源及持续时间。递送方案还需先在自然衰老模型中验证，再结合人体研究评估其适用条件。

10.12201/bmr.202611.00035V1

http://www.biomedrxiv.org.cn/article/doi/10.12201/bmr.202611.00035
此预印本（未经同行评审）的作者拥有该文稿的版权，biomedRxiv拥有永久保存权。任何人未经允许不得重复使用。

参考文献

[1] Hoong CWS, Saul D, Khosla S, et al. Advances in the management of osteoporosis[J]. BMJ, 2025, 390: e081250.
[2] Wan D, Ai S, Ouyang H, et al. Activation of 4-1BB signaling in bone marrow stromal cells triggers bone loss via the p-38 MAPK-DKK1 axis in aged mice[J]. Exp Mol Med, 2021, 53(4): 654-666.
[3] Wan D, Ai S, Ouyang H, et al. Author correction: activation of 4-1BB signaling in bone marrow stromal cells triggers bone loss via the p-38 MAPK-DKK1 axis in aged mice[J]. Exp Mol Med, 2026, 58(10): 3626-3627.
[4] Han J, Wang Y, Zhou H, et al. CD137 regulates bone loss via the p53 Wnt/β-catenin signaling pathways in aged mice[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 922501.
[5] Jiang P, Gao W, Ma T, et al. CD137 promotes bone metastasis of breast cancer by enhancing the migration and osteoclast differentiation of monocytes/macrophages[J]. Theranostics, 2019, 9(10): 2950-2966.
[6] Shin HH, Lee EA, Kim SJ, et al. A signal through 4-1BB ligand inhibits receptor for activation of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL)-induced osteoclastogenesis by increasing interferon (IFN)-beta production[J]. FEBS Lett, 2006, 580(6): 1601-1606.
[7] Yang J, Park OJ, Lee YJ, et al. The 4-1BB ligand and 4-1BB expressed on osteoclast precursors enhance RANKL-induced osteoclastogenesis via bi-directional signaling[J]. Eur J Immunol, 2008, 38(6): 1598-1609.
[8] Qi X, Li F, Wu Y, et al. Optimization of 4-1BB antibody for cancer immunotherapy by balancing agonistic strength with FcγR affinity[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2141.
[9] Bandyopadhyay S, Duffy MP, Ahn KJ, et al. Mapping the cellular biogeography of human bone marrow niches using single-cell transcriptomics and proteomic imaging[J]. Cell, 2024, 187(12): 3120-3140.e29.
[10] Du L, Freitas-Cortez MA, Zhang J, et al. Periarteriolar niches become inflamed in aging bone marrow, remodeling the stromal microenvironment and depleting lymphoid progenitors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2025, 122(11): e2412317122.
[11] Cenzano I, Cócera M, Lopez-Perez AR, et al. Single-cell profiling reveals RAB13+ endothelial cells and profibrotic mesenchymal cells in aged human bone marrow[J]. Aging Cell, 2026, 25(4): e70475.
[12] Ambrosi TH, Taheri S, Chen K, et al. Human skeletal development and regeneration are shaped by functional diversity of stem cells across skeletal sites[J]. Cell Stem Cell, 2025, 32(5): 811-823.e11.
[13] Liao X, Koehnken Sawall J, Seeley R, et al. An adipo-osteoprogenitor population in the endosteal niche contributes to bone and fat formation in adult mouse bone marrow[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2025, 122(47): e2502436122.
[14] Lu J, He Q, Wang H, et al. Bone marrow adipogenic lineage precursors are the major regulator of bone resorption in adult mice[J]. Bone Res, 2025, 13(1): 39.
[15] Suryadevara V, Hudgins AD, Rajesh A, et al. SenNet recommendations for detecting senescent cells in different tissues[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(12): 1001-1023.
[16] Doolittle ML, Froemming MN, Rowsey JL, et al. Aged murine bone marrow myeloid and mesenchymal cells develop unique senescence phenotypes[J]. J Clin Invest, 2026, 136(7): e195772.
[17] Luo Z, Wei W, Qiu D, et al. Rejuvenation of BMSCs senescence by pharmacological enhancement of TFEB-mediated autophagy alleviates aged-related bone loss and extends lifespan in middle aged mice[J]. Bone Res, 2024, 12(1): 45.
[18] Liu X, Ye Y, Li Z, et al. Mechanical rejuvenation of senescent stem cells and aged bone via chromatin remodeling[J]. Nat Commun, 2026, 17(1): 1684.
[19] Wu S, Matsumoto H, Kondo K, et al. Injury-driven stromal exhaustion disrupts intrinsic regenerative capability[J]. Nat Commun, 2026, 17(1): 8259.
[20] Farr JN, Atkinson EJ, Achenbach SJ, et al. Effects of intermittent senolytic therapy on bone metabolism in postmenopausal women: a phase 2 randomized controlled trial[J]. Nat Med, 2024, 30(9): 2605-2612.

10.12201/bmr.202611.00035V1