

自噬对骨质疏松症骨代谢的影响研究

万永鲜 徐丽丽 卓乃强 阳运康 鲁晓波*

西南医科大学附属医院,四川 泸州 646000

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 04-0552-05

摘要: 自噬的紊乱会引起成骨和破骨平衡失调,从而导致骨质疏松。研究表明自噬在一系列退行性疾病中具有重要性,通过对成骨细胞、破骨细胞以及骨细胞的调控,对维持骨骼强度,预防骨质疏松的发生发挥着至关重要的作用。本文就自噬与骨质疏松之间的关系作一综述,对其在骨质疏松症发病过程中的作用机制进行探讨。

关键词: 骨质疏松;骨代谢;自噬

Research advance on the effect of autophagy on bone metabolism in osteoporosis

WAN Yongxian, XU Lili, ZHUO Naiqiang, YANG Yunkang, LU Xiaobo*

Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

* Corresponding author; LU Xiaobo, Email: luxiaobo1963@126. com

Abstract: The disorder of autophagy can lead to the imbalance of bone and osteoclast, and lead to OP. The result showed that autophagy plays an important role in a series of degenerative diseases. Autophagy plays a crucial role in maintaining bone strength and preventing OP through the regulation of osteoblasts, osteoclasts and bone cells. This article reviewed the relationship between autophagy and OP, to explore the mechanism of autophagy in the pathogenesis of osteoporosis (OP).

Key words: Osteoporosis; Bone metabolism; Autophagy

原发性骨质疏松是一类与年龄密切相关的骨骼系统退行性疾病,在人口老龄化的当今社会,其发病率日益增高。据流行病学调查显示,在 50 岁以上人群中,有 1/3 的女性和 1/6 的男性均罹患骨质疏松症^[1]。骨质疏松症是由多因素导致的骨密度和骨质量下降,骨微结构破坏,造成脆性增加,从而容易发生骨折的全身骨代谢疾病^[2]。骨折是骨质疏松症最常见的并发症,而老年人骨折后容易因为疼痛和功能障碍失去自理能力。由此导致的高致残率和高死亡率,使得骨质疏松症成为一个严重的公共健康问题。因此防治骨质疏松症有着巨大的临床意义和社会价值。

骨质疏松的发病机制较为复杂,通常认为与基因、激素水平、营养饮食以及人们的生活习惯密切相关^[3]。正常成年人往往会在三十岁左右获得“骨峰值”,然后在内外因素的作用下渐渐丢失骨量^[4, 5]。

如缺乏体育锻炼、长期使用类固醇激素治疗、雌激素缺乏、罹患慢性代谢系统疾病,以及衰老本身,将最终导致骨质疏松。揭示骨代谢的调控机制,寻找其作用靶点是有效治疗骨质疏松的关键所在。

近年来越来越多的证据表明,自噬在维持骨代谢平衡方面发挥着重要作用,而自噬水平的改变是导致骨质疏松发病的重要原因^[6, 7]。自噬分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)以及分子伴侣介导自噬(chaperone-mediated autophagy),是一种通过清除受损细胞器、蛋白从而维持细胞稳态的重要生理机制。尽管自噬对骨质疏松症的调控机制尚不明确,但其作为一种人体干预疾病和调控衰老的手段,自噬对骨代谢的影响与作用正在不断被揭示。本文主要对巨自噬(下文以“自噬”指代)在骨代谢中的研究进展探讨如下:

1 骨代谢概述

骨是由多种细胞构成的复杂器官,主要包括负责骨形成的成骨细胞、骨吸收的破骨细胞,以及位于成熟骨组织内的骨细胞^[8]。在正常情况下,破骨细

基金项目:四川省科技厅课题(2014SZ0235);四川省卫计委课题(16PJ550);泸州-西南医大联合课题(2017LZXNYD-J35)

* 通讯作者:鲁晓波,Email: luxiaobo1963@126. com

胞与成骨细胞协同作用,共同维持骨重建与骨吸收平衡。从细胞水平的病理机制而言,成骨和破骨能力间的平衡被破坏,骨吸收占优后导致了骨质流失,最终演化为骨质疏松。成骨细胞源于间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC),骨髓间充质干细胞作为一种多能干细胞,在向成骨分化时需要诱导因子,如骨形态诱导蛋白 (BMP)、转化生长因子- β (TGF- β)、Wnt 分子、胰岛素、甲状旁腺激素等。这些因子通过激活不同的信号通路从而活化不同转录因子,发挥维护成骨细胞功能的作用。目前研究比较明确的是,当细胞高表达 Runx2 和 Osterix 时, MSCs 会更倾向于成骨分化^[9]。更为重要的是成骨细胞可以产生破骨细胞的调控因子,如起正向调控作用的 NF- κ B 配体的受体激活因子 RANKL,和起负向调控作用的骨保护素 (osteoprotegrin, OPG)。而破骨细胞则主要起源于造血细胞源的单核前体细胞,通过融合形成一种直径 20 ~ 100 μ m,含有多个细胞核,胞浆富含细胞器的不规则细胞^[10]。如前所述,成骨细胞分泌的巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, M-CSF) 与受体分子 c-Fms 结合能诱导破骨前体细胞增殖。此外 RANKL 与 NF - κ B 受体活化因子 (RANK) 结合,能激活参与诱导破骨细胞形成的主要转录因子,如活化 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1, NFATc1),该因子与其他转录因子相互作用后,可诱导破骨细胞特异性基因 (抗酒石酸酸性磷酸酶,降钙素受体和组织蛋白酶 K 等) 的表达^[11]。

目前认为主要参与骨合成代谢的信号传导通路有 MAPK 信号传导通路、Notch 信号通路、Wnt/ β -catenin 信号通路、BMPs 信号通路、PPAR - γ 信号通路、TGF - β 信号通路、Hedgehog 信号通路等^[12];而骨吸收代谢则主要受 OPG/RANKL/RANK 信号通路、TNF- α 信号通路、MITF 信号通路、过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路等调控^[13]。由此可见骨骼系统作为一个代谢活跃的器官,受到众多生长因子和信号通路的调节。通过多种细胞因子的相互作用,信号通路正负反馈调控,重新恢复成骨与破骨的平衡,是今后预防和治疗骨质疏松症发生的一个重要思路。

2 自噬概述

巨自噬的一大特征是包含有双层膜结构组成的自噬体 (autophagosome),自噬体中包被胞浆成分,如折叠错误的蛋白,受损的线粒体等,最终与溶酶体融合形成自噬溶酶体 (autophagolysosome),降解其所包裹的内容物,以实现细胞内在环境的更新与能量补充^[14]。所有细胞中均存在一定程度的基础自噬,用于维持细胞稳定的基本功能。而当细胞收到外界应激,或内部营养和能量需求上升时,自噬将被激活^[15]。自噬的激活过程主要分为以下四个部分:① 细胞接受到自噬诱导信号后,在胞浆内形成一个双层的“类脂质体”膜结构,该结构被称为吞噬泡 (phagophore);② Phagophore 不断延伸,在特定信号诱导下将受损蛋白、细胞器等纳入,并形成一個密闭的球状 autophagosome,即自噬体。电镜下自噬体有

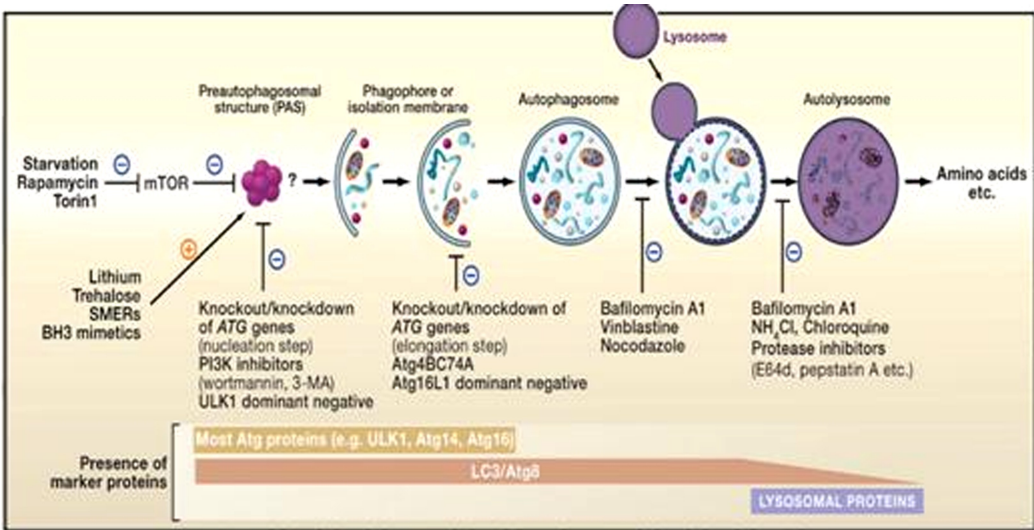


图 1 自噬发生过程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of autophagy process

其特征性结构:一为双层膜,二是内含吞噬的胞浆成分;③ 自噬体形成后,可与细胞内的吞噬泡、吞饮泡和内体融合(但并不一定发生);④ 自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体(autolysosome),自噬体所包含的内容物被溶酶体中的酶降解,其产物(氨基酸、脂肪酸等)又被重新输送到胞浆中,供细胞重新利用、或被排除细胞外。

与自噬相关的信号通路主要有 mTOR 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、ROS 信号通路、NF - κ B 信号通路等^[16]。近年来越来越多研究表明,自噬及其相关信号通路在骨骼系统疾病的发病过程中扮演着重要角色,有望为其治疗提供新的思路。

3 自噬对骨代谢的影响

在一般病理条件下,骨吸收和骨形成平衡被打破是骨质疏松症的根源所在,而自噬在骨代谢相关细胞的退变过程中均起到重要作用^[17]。骨细胞是骨基质中的一种长寿细胞,因此随着年龄增长,骨细胞会比破骨或成骨细胞积累更多的分子水平损害。而自噬可以帮助清除骨细胞内损坏的细胞器、蛋白质大分子等,从而减少衰老对骨细胞功能的负面影响^[18];成骨细胞是促进骨形成的关键细胞,其自噬活性的降低会导致骨形成减少、骨骼质量下降,并最终导致骨质疏松发生^[19];破骨细胞主要参与骨质吸收,与成骨细胞的作用相辅相成,有研究报道^[20]糖皮质激素可以通过自噬诱导破骨细胞产生,而抑制破骨细胞自噬则可以阻止破骨细胞成熟,减弱骨质疏松的程度。由此可见自噬在各个环节均参与了骨的代谢,自噬紊乱导致了成骨和破骨平衡的失调,从而导致了骨质疏松的发生。

3.1 自噬对骨细胞的影响

骨细胞是一种定居在骨的矿物基质中的长寿细胞,其处于一个缺氧的微环境中,因此更容易受到氧化应激的影响。研究表明在这种恶劣的微环境下,自噬激活是保护其生存的一个重要生理机制^[21]。体外的一项模拟体内环境的研究表明,在营养剥夺或低氧状态下,类骨细胞可以提高自噬水平以抵抗凋亡^[22, 23]。此外,在一项钙离子诱导的应激实验中发现,低氧诱导因子(hypoxia-inducing transcription factor, HIF-1)可以作为自噬的调节剂来应对低氧环境。低剂量的糖皮质激素可以引起骨细胞的氧化应激,而被激活的自噬作为一种代偿机制可以起到明显的保护作用^[24]。

3.2 自噬对成骨细胞的影响

当成骨细胞进入骨基质后,转化成骨细胞的过程中自噬发挥着重要作用。在这一转化过程中,成骨细胞在形态上会发生明显改变,同时内在细胞器的大小和数目也会发生变化。已有研究证实成骨细胞向骨细胞转化的过程中,细胞内的自噬水平明显提高^[25]。其潜在的原因在于激活的自噬为细胞提供了更高效的细胞器更新以及额外的营养能量支持,同时胞浆中的肌动蛋白变得更为丰富,以此来适应基质中的低氧微环境。事实上,研究也证实自噬的标记物 LC3 在骨细胞中表达比在成骨细胞中明显提高,意味着自噬水平更高。此外,体外细胞学研究表明通过药物抑制自噬后,成骨细胞内的氧化应激水平会提高,从而诱导细胞发生凋亡;而激活自噬可以明显抑制由氧化应激所引起的凋亡^[26]。同样雌激素可以通过提高自噬从而抑制成骨细胞的凋亡^[27]。

3.3 自噬对破骨细胞的影响

近年来,越来越多的研究证明自噬相关蛋白参与了破骨细胞的分化、形成过程。有证据表明当加入了自噬的一种特异性抑制剂 Bafilomycin 后,破骨细胞介导的骨吸收被明显抑制^[28]。在一项老鼠的动物实验中,人为的将 P62 基因突变后,老鼠表现出与 Paget's 病类似的症状,即过度的骨转化容易发生骨折^[28]。此外,在糖皮质激素作用介导的低氧和氧化应激作用下,在破骨形成的过程中自噬水平始终高表达^[29]。这些结果均提示了自噬作为一种保护性机制可以促进破骨细胞形成,以及维持其在各种应激状态下的生存。

3.4 自噬与骨质疏松关系

最新的一项动物研究表明,在单核细胞中通过氯喹或选择性的敲除自噬相关基因(Atg7),降低自噬后可以抑制破骨细胞形成从而减少骨量丢失^[30]。相对应的,高剂量的糖皮质激素处理可以降低 LC3 阳性的成骨细胞,从而减弱成骨活性。而采用硬化骨蛋白(sclerostin)抗体治疗后,可以通过激活自噬从而减少由糖皮质激素所诱导的骨流失^[31]。由此可见自噬对于骨量的维持非常重要。为了进一步验证其作用,通过敲除大鼠成骨细胞中的 FIP200 基因(介导自噬体形成的关键基因)后发现,这些实验大鼠非常容易罹患骨量减少或骨质疏松。但对于老年大鼠,通过喂饲自噬的激动剂雷帕霉素,可以显著减轻其骨质疏松的症状。

这些研究在动物实验层面均有力地证明了自噬不足与骨质疏松发病之间的关系。但在人体研究而

言,这方面的证据还十分有限。在一项纳入 984 名志愿者的基因芯片扫描研究中发现,自噬相关的调控基因是唯一与桡骨远端骨密度存在统计学意义相关性的指标。这一结果也暗示自噬信号通路在人类骨质疏松发病机制中或许发挥着至关重要的作用^[32]。

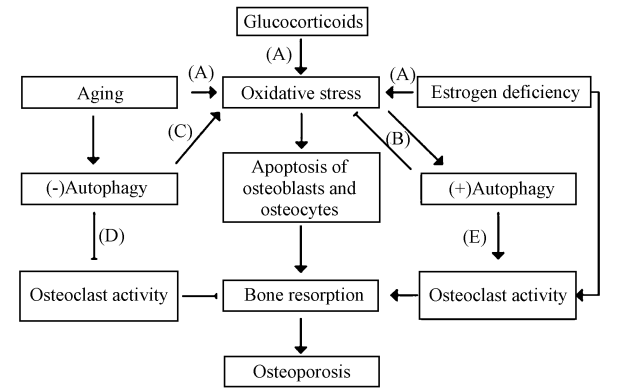


图 2 自噬与骨代谢关系示意图

Fig. 2 The relationship between autophagy and bone metabolism

4 小结

综上所述,在体外与动物实验中已充分证实了自噬与骨代谢之间的关系,即自噬的紊乱会引起成骨和破骨平衡失调,从而导致骨质疏松。在今后的研究中,需要进一步在人体中明确自噬在骨质疏松发病机制中的作用,以期找到新的治疗靶点,为骨质疏松症的治疗提供新的思路。

【 参 考 文 献 】

[1] Sanchez-Riera L, Wilson N, Kamalaraj N, et al. Osteoporosis and fragility fractures. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2010, 24 (6): 793-810.

[2] 原发性骨质疏松症诊治指南 (2011 年). 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2011, 4(1): 2-17.

Guidebooks of diagnosis and treatment in Osteoporsis (2011). Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research, 2011, 4(1): 2-17. (in Chinese)

[3] Klein-Nulend J, RFMV Oers, Bakker AD, et al. Bone cell mechanosensitivity, estrogen deficiency, and osteoporosis. J Biomech, 2015, 48(5): 855-865.

[4] Raisz LG, Seeman E. Causes of age-related bone loss and bone fragility: an alternative view. J Bone Miner Res, 2001, 16(11): 1948-1952.

[5] Demontiero O, Vidal C, Duque G. Aging and bone loss: new insights for the clinician. Ther Adv Musculoskelet Dis, 2012, 4 (2): 61-76.

[6] Shapiro IM, Layfield R, Lotz M, et al. Boning up on autophagy:

the role of autophagy in skeletal biology. Autophagy, 2014, 10 (1): 7-19.

[7] Greenhill C. Bone: Autophagy regulates bone growth in mice. Nat Rev Endocrinol, 2016, 12(1): 667-684.

[8] Nollet M, Santuccidarmanin S, Breuil V, et al. Autophagy in osteoblasts is involved in mineralization and bone homeostasis. Autophagy, 2014, 10(11): 1965-1977.

[9] Sima LE. Extracellular Signals for Guiding Mesenchymal Stem Cells Osteogenic Fate. Curr Stem Cell Res Ther, 2017, 12(2): 139-144.

[10] 云帆, 王瑞, 赵建宁. 破骨细胞的骨吸收机制. 中国骨伤, 2014, 27(6): 529-532.

Yun F, Wang R, Zhao JN. Mechanism of osteoclast in bone resorption. China Journal of Orthopaedics and Traumatology, 2014, 27(6): 529-532. (in Chinese)

[11] Kim JH, Kim N. Regulation of NFATc1 in Osteoclast Differentiation. J Bone Metab, 2014, 21(4): 233-241.

[12] 闫慧明, 郭静, 安燕, 等. 分子信号通路在骨质疏松症发生机制中的研究进展. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22 (10): 1336-1340.

Yan HM, Guo J, An Y, et al. Research progress in molecular signaling pathways on the pathogenesis of osteoporosis. Chin J Osteoporos, 2016, 22(10): 1336-1340. (in Chinese)

[13] 王想福, 孙凤歧, 叶丙霖, 等. 破骨细胞与骨质疏松症的关系研究进展. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(11): 1420-1424.

Wang XF, Sun FQ, Ye BL, et al. Research progress in the relationship between osteoclasts and osteoporosis. Chin J Osteoporos, 2015, 21(11): 1420-1424. (in Chinese)

[14] 冯文之, 陈扬, 俞立. 细胞自噬分子机制的进展. 生命科学, 2015, 27(7): 859-866.

Feng WZ, Chen Y, Yu L. Research progress in cell autophagy of molecular. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2015, (7): 859-866. (in Chinese)

[15] Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). Autophagy, 2016, 12(1): 1-222.

[16] 陈松峰, 邵增务. 自噬相关信号转导通路研究进展. 国际骨科学杂志, 2013, 34(4): 269-271.

Chen SF, Shao ZW. Research progress in signaling pathways of autophagy. Int J Orthop, 2013, 34(4): 269-271. (in Chinese)

[17] Hocking LJ, Whitehouse C, Helfrich MH. Autophagy: a new player in skeletal maintenance? J Bone Miner Res, 2012, 27 (7): 1439-1447.

[18] Jilka RL, O'Brien CA. The Role of Osteocytes in Age-Related Bone Loss. Curr Osteoporos Rep, 2016, 14(1): 16-25.

[19] Dai W, Jiang L, Yuan EL, et al. Prevention of glucocorticoid induced bone changes with beta-ecdysone. Bone, 2015, 74(5): 48-57.

[20] Shi J, Wang L, Zhang H, et al. Glucocorticoids: Dose-related effects on osteoclast formation and function via reactive oxygen species and autophagy. Bone, 2015, 79:222-232.

[21] Manolagas SC, Parfitt AM. What old means to bone. Trends

Endocrinol Metab, 2010, 21(6): 369-374.

[22] Dallas SL, Bonewald LF. Dynamics of the transition from osteoblast to osteocyte. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1192(1): 437-443.

[23] Zahm AM, Bohensky J, Adams CS, et al. Bone cell autophagy is regulated by environmental factors. *Cells Tissues Organs*, 2011, 194(2-4): 274-278.

[24] Yao W, Dai W, Jiang JX, et al. Glucocorticoids and osteocyte autophagy. *Bone*, 2013, 54(2): 279-284.

[25] Saintpastou TC, Gasque P. Bone responses in health and infectious diseases; A focus on osteoblasts. *J Infect*, 2017, 75(4): 281-292.

[26] 杨越华. 自噬在成骨细胞氧化应激中的作用及其与骨质疏松的关系研究. 上海交通大学, 2015.

Yang YH. The role of autophagy in osteoblast oxidative stress and its relationship with osteoporosis. Shanghai jiaotong university, 2015. (in Chinese)

[27] Camuzard O, Santuccidarmanin S, Breuil V, et al. Sex-specific autophagy modulation in osteoblastic lineage; a critical function to counteract bone loss in female. *Oncotarget*, 2016, 7(41): 66416-66428.

[28] Deselm CJ, Miller BC, Zou W, et al. Autophagy proteins regulate the secretory component of osteoclastic bone resorption. *Dev Cell*, 2011, 21(5): 966-974.

[29] Lin NY, Chen CW, Kagwiria R, et al. Inactivation of autophagy ameliorates glucocorticoid-induced and ovariectomy-induced bone loss. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75(6): 1203-1210.

[30] 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 Bone Miner Res*, 2013, 28(11): 2414-2430.

[31] Yao W, Dai W, Jiang L, et al. Sclerostin-antibody treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis maintained bone mass and strength. *Osteoporos Int*, 2016, 27(1): 283-294.

[32] Zhang L, Guo YF, Liu YZ, et al. Pathway-based genome-wide association analysis identified the importance of regulation-of-autophagy pathway for ultradistal radius BMD. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(7): 1572-1580.

(收稿日期: 2017-10-24; 修回日期: 2017-12-03)