

· 综述 ·

ER α -AMPK-Sirt1 信号通路在骨质疏松症中的作用姜涛^{1,2} 邵敏^{2*} 陈庆真² 徐绍俊³ 汪钦生² 黄永青^{1,2} 何挺⁴ 曾振明⁵ 欧阳艳菲²

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学第三附属医院, 广东 广州 510240

3. 广州市正骨医院, 广东 广州 510045

4. 广州市荔湾区骨伤科医院, 广东 广州 510140

5. 深圳市宝安区中医院, 广东 深圳 518100

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 08-1166-06

摘要: 近年来, 与骨代谢相关的分子信号通路成为研究的热点。其中 Wnt/ β -catenin 信号通路、RANKL/RANK/OPG 信号通路、NF- κ B 信号通路、PPAR- γ 信号通路、PTH 信号通路、MAPK 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、Hedgehog 信号通路和 Notch 信号通路对骨质疏松症的发病具有重要意义, 但目前尚未有关于 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路的研究报道。雌激素受体 α (ER α) 通过与配体结合、单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 通过磷酸化作用、沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (Sirt1) 通过去乙酰化修饰等共同调控成骨细胞、破骨细胞的功能, 且三者之间存在一定的上下游关系; 研究表明 ER α 能够直接增加 LKB1 启动子的活性, 而 LKB1 是 AMPK 最主要上游蛋白激酶, 活化的 LKB1 能够激活 AMPK; AMPK 可以激活 Sirt1, 而 Sirt1 反过来又可以通过磷酸化作用来激活 AMPK, 二者之间相互作用可参与调控成骨细胞的自噬或凋亡等, 以上均提示了 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路在骨质疏松症发病机制中的重要作用, 因此有必要对 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路进行深入研究, 以便更好地指导临床抗骨质疏松新药物的研发, 为临床实践提供更多可靠的循证医学证据。

关键词: 骨质疏松症; 雌激素受体 α ; 单磷酸腺苷活化蛋白激酶; 沉默信息调节因子 2 相关酶 1

The role of ER α -AMPK-Sirt1 signaling pathway in osteoporosisJIANG Tao^{1,2}, SHAO Min^{2*}, CHEN Qingzhen², XU Shaojun³, WANG Qinshen², HUANG Yongqing^{1,2}, HE Ting⁴, ZENG Zhenming⁵, OUYANG Yanfei²

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405

2. The Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510240

3. Guangzhou Orthopedic Hospital, Guangzhou 510045

4. Guangzhou Liwan Orthopedics Hospital, Guangzhou 510140

5. Traditional Chinese Medicine Hospital of Baoan District in Shenzhen, Shenzhen 518100, China

* Corresponding author: SHAO Min, Email: shaomin98@aliyun.com

Abstract: In recent years, molecular signaling pathways related to bone metabolism has become a hot topic. Studies have revealed that signaling pathways associated with osteoporosis include Wnt/ β -catenin, RANKL/RANK/OPG, NF- κ B, PPAR- γ , PTH, MAPK, PI3K/Akt, Hedgehog and Notch signaling pathways. However, there has been no study concentrated on ER α -AMPK-Sirt1 signaling pathway. Estrogen receptor alpha (ER α), AMP-activated protein kinase (AMPK) and Sirtuin 1 (Sirt1) can regulate the function of osteoblast or osteoclast by ligand binding, phosphorylation and deacetylation, respectively. Studies have indicated that ER α can directly increase the activity of LKB1, while LKB1 is the most important upstream protein kinase of AMPK, as a result, AMPK is activated. In addition, the mutual promotion of AMPK and Sirt1 can also modulate the autophagy or apoptosis of osteoblast; all these suggested that ER α -AMPK-Sirt1 signaling pathway may play an important role in the pathogenesis of osteoporosis. To sum up, it is necessary to start the research of ER α -AMPK-Sirt1 signaling pathway in order to better guide the

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81373654); 广东省自然科学基金项目 (2015A030313351); 广东省科技计划项目 (2014A020221052)

* 通信作者: 邵敏, Email: shaomin98@aliyun.com

development of new drugs and clinical practice.

Key words: osteoporosis; estrogen receptor alpha; AMP-activated protein kinase; Sirtuin 1

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种以低骨量、骨组织的微结构遭到破坏、骨折风险增高为特征的代谢性骨病, OP 初期由于缺乏典型症状而常常被忽视, 直到出现髌部、脊柱、肱骨近端、骨盆、前臂远端的脆性骨折才被证实。近年来, 医学的发展深入到生物分子学、表观遗传学的水平, 学者们对 OP 的发病机制有了更加深入的了解, 对于分子信号通路的研究成为 OP 的研究热点。目前已知的关于 OP 的信号通路研究主要集中于 Wnt/ β -catenin 信号通路、RANKL/RANK/OPG 信号通路、NF- κ B 信号通路、PPAR- γ 信号通路、PTH 信号通路、MAPK 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、Hedgehog 信号通路、Notch 信号通路等。值得注意的是, 各个信号通路并不是孤立存在的, 更常见的是多条通路相互交叉, 共同调节骨代谢。除此之外, 可能存在未知的、潜在的信号通路, 它们同样在 OP 的发病中扮演着重要的角色。本课题组前期的研究^[1-4]通过 CCK8 检测发现牛膝提取物蜕皮甾酮能够促进成骨细胞的增殖以及分化, 与此同时通过 qPCR 发现雌激素受体 α (estrogen receptor alpha, ER α) 的表达显著上调, 而单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 的表达下调; 进一步通过瞬时转染沉默 ER α , 发现 ER α 沉默能够增加 AMPK 的表达, 因此课题组推测在细胞的调控网络中, AMPK 可能是 ER α 调控的下游。此外, AMPK 同时还是沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (sirtuin 1, Sirt1) 主要的上游激酶^[5], Sirt1 的活化对成骨细胞和破骨细胞的功能具有重要的调节作用^[6-8]。综上, 课题组初步推测在 OP 的调控网络中, 可能存在一条潜在的 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路, 因此有必要将本课题组的研究^[1-4]同前人的研究结合起来, 对 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路在 OP 发病机制中的作用进行详细的综述, 为进一步的研究打好理论基础。

1 ER α 、AMPK、Sirt1 简介

1.1 ER α

雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 属于一种甾体类激素超家族核受体, 在细胞膜、细胞质、细胞核中均有表达, 其中核受体为经典受体。雌激素通过与核受体结合形成二聚体作用于雌激素受体反应元件, 刺激靶基因转录, 发挥重要的生理作用。骨组织

表达 ER α 、ER β 两种亚型, ER 与雌激素结合后对成骨细胞或破骨细胞发挥生物学效应, 但是究竟哪一种受体亚型是优势亚型, 目前尚未明确。国外相关研究提示, ER α 激动剂主要通过介导 ER α 对成骨细胞及破骨细胞功能进行调控, 从而达到骨保护效应, ER β 则无相关功能; 也有研究认为雌性小鼠的骨重建需要 ER α 和 ER β 同时参与, 且在一定范围内功能互补; 还有研究认为, 在原代培养的成骨细胞中, ER α 和 ER β 的 mRNA 都存在转录, 但是经过雌激素干预后发现雌激素主要上调 ER α 而不是 ER β 的 mRNA 表达; Hertrampf 等^[9]认为 ER α 在成骨细胞以及破骨细胞的调控上发挥主要作用; Vico 等^[10]通过敲除 ER α 以及 ER β 后证实 ER α 对骨组织的影响更大; Melville 等^[11]通过基因敲除技术发现 ER α 基因敲除的小鼠在 12 周龄、18 周龄时均出现了全身长骨的骨量减少、骨强度降低的现象, 且其成骨细胞的活性显著低于对照组; Nakamura 等^[12]敲除小鼠破骨细胞的 ER α 基因后, 发现其骨量降低而破骨细胞数量增多且伴有骨转换升高, 进一步切除小鼠的卵巢, 发现上述现象并未进一步加重, 而补充雌激素后对于长骨及中轴骨中骨小梁区骨密度的恢复也无明显效果, 因而推测雌激素效应的发挥是通过破骨细胞中的 ER α 实现的。随着医学发展, 越来越多的研究^[1-3]将 ER α 调控与骨质疏松症联系起来, 提出了 ER α 在骨质疏松症发病机理中的新解释。

1.2 AMPK

AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 其主要作用是保持细胞内的能量平衡, AMP/ATP 比率的升高激活 AMPK, 有助于细胞的存活。研究表明^[13-14]AMPK 是一种异源三聚体蛋白, 由 α 、 β 、 γ 三个亚基组成, α 为催化亚基, β 、 γ 作为调节亚基起到维持三聚体的稳定性和作用底物特异性的作用。此外, 每个亚基存在 2~3 种异构体 ($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$; $\beta 1$ 、 $\beta 2$; $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$), 在不同的组织中 AMPK 有不同的亚基组合。细胞实验^[15]表明 AMPK 能够调控骨细胞的分化和功能, 同时通过基因敲除技术敲除小鼠的 AMPK α 或 β 亚基后, 小鼠出现了低骨量表型^[16]; Kim、Kasai 等^[17-18]的研究表明 AMPK $\alpha 1$ 亚基在骨组织、原代成骨细胞、原代破骨细胞中高表达, 而 $\alpha 2$ 亚基在骨组织和骨细胞中的表达水平较低, 甚至在破骨细胞中没有表达; $\beta 1$ 和 $\beta 2$ 亚基在骨细胞中表

达相当; $\gamma 1$ 亚基在骨细胞中高表达, $\gamma 2$ 亚基在成骨细胞中低表达而在破骨细胞中不表达, $\gamma 3$ 亚基只在成骨细胞中表达;Kasai等^[17]的研究显示 AMPK 的活化能抑制成骨分化,而 Kanazawa 等^[19]和 Jang 等^[20]的研究却得到了相反的结果,可见 AMPK 活化对成骨分化的具体作用及相关机制依旧存在争议。Lee 等^[21]的研究显示 AMPK 对核因子 κB 受体活化因子配体 (RANKL) 有负向调控作用;Yamaguchi 等^[22]发现脂联素 (AMPK 激动剂) 能够抑制破骨细胞分化和成熟;Mai 等^[23]发现 AMPK 的激活剂作用于成骨细胞时,可上调骨保护素 (OPG),同时抑制 RANKL 的表达,最终抑制破骨细胞的分化和活性,而这些效应还能够被 AMPK 的抑制剂阻断。这些研究都表明 AMPK 可能在破骨细胞活化和骨吸收中也发挥着重要作用。综上所述,AMPK 在骨组织中的确切作用有待进一步研究。

1.3 Sirt1

Sirt1 是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 依赖的组蛋白脱乙酰酶,是第一个被发现的 Sirtuins 成员。研究证实,小鼠体内 Sirt1 的活化能够对抗一些衰老性的疾病,包括 OP^[24]。Sirt1 可以对 NF- κB 、FOXO、p53 等转录因子进行去乙酰化修饰,进而调控细胞的增殖、分化等。白藜芦醇是 Sirt1 的激动剂,动物实验^[25]表明白藜芦醇可以通过激活 Sirt1 提高大鼠骨量,第四军医大学的研究^[26]也得到了相对一致的结论;Zainabadi 等^[27]的研究发现 Sirt1 能通过上调 RUNX2 和 β -catenin 促进成骨细胞的增殖及分化;同时,Sirt1 是破骨细胞增殖及功能发挥的负向调节蛋白^[7,28],RANKL 可促进破骨前体细胞向破骨细胞分化,但经 Sirt1 的激动剂白藜芦醇预处理后可有效抑制破骨细胞形成;此外,在去势大鼠模型中发现 Sirt1 激动剂 SRT3025 可显著提高大鼠骨量^[6]。目前,Sirt1 的激动剂白藜芦醇已经应用于人体试验,能够明显增加老年肥胖男性的骨量^[29],因此 Sirt1 可以作为骨质疏松症治疗的新靶点。

2 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路上下游的研究进展及与 OP 的关系

2.1 ER α -AMPK 轴

目前,国内外文献关于 ER α -AMPK 轴的报道很少。ER α -AMPK 轴与乳腺癌、子宫内膜癌等疾病的联系相对紧密,而与 OP 的关系尚不明确。研究表明^[3,30-33]在细胞的调控网络中,AMPK 是 ER 调控的下游,但具体调控机制尚不明确,且存在争论。徐琛

莹等^[30]探讨了 ER 诱导结肠癌细胞自噬的机制,将 ER β 质粒转染人结肠癌细胞株 HCT116 (p53 野生型) 和 SW480 (p53 突变型),使 ER β 过表达,通过 Western Blot 和 qPCR 等证明 ER β 过表达使 AMPK 蛋白在 HCT116 和 SW480 结肠癌细胞中分别上调了 1.8 倍和 2.48 倍,而 mTOR 蛋白的水平则分别下调了 29.52% 和 37.89%,因此研究者认为 ER β 表达可激活 AMPK 同时抑制 mTORC1,使 p-AMPK 蛋白表达水平上升,最终诱导结肠癌细胞发生自噬;Yang 等^[31]探讨了金属元素钼对胰岛 β 细胞的毒理作用,结果发现胰岛 β 细胞经钼元素处理后,激活了细胞内的 ER α 、ER β 、AMPK α ,进一步通过 siRNA 沉默 AMPK α 后,发现能够阻滞钼元素诱导的细胞凋亡效应,提示钼元素可能是通过 ER α/β 介导的 AMPK 通路诱发胰岛 β 细胞的凋亡以及功能紊乱;LKB1 由 STK11 基因编码,是 AMPK 最主要的上游激酶,在乳腺癌组织中,ER α 能够以配体独立的方式与 STK11 基因的启动子结合,增加 LKB1 的表达。此外,体外实验证明相对于 ER(-) 的细胞株,ER(+) 的细胞株其 LKB1 的表达水平更高,而有趣的是 MCInnes 等^[32]的研究提示用雌二醇处理 ER(+) 的细胞株后却导致与 ER α 与 STK11 启动子结合减少、LKB1 表达降低,最终导致 AMPK 水平降低;Brown 等^[32]的研究认为在没有其他配体(如雌二醇)存在的情况下,ER α 能够直接增加 LKB1 启动子的活性和 LKB1 的表达,最终上调 AMPK;而 Tulipano 等^[33]的研究,在应用 ER α 拮抗剂处理 GH3 细胞后,并没发现 LKB1 mRNA 及 AMPK 磷酸化相关改变;Daurio 等^[34]的研究表明 ER α 的拮抗剂他莫昔芬能够增加 AMP/ATP 的比率,激活 AMPK;本课题组前期的研究^[2]用不同浓度(低、中、高)的补肾方剂处理 SD 大鼠原代成骨细胞,通过 CCK8 试剂盒和碱性磷酸酶 (ALP) 试剂盒分别检测成骨细胞活性和 ALP 活性,通过 qPCR 和 WB 检测成骨细胞内雌激素受体 ERs (ER α 、ER β 、ERR α)、Collagen I 以及 p-AMPK 表达的差异,结果发现经不同浓度的补肾方剂处理后,浓度为 50 ng/ μ L、100 ng/ μ L 的金匱肾气丸可显著促进原代成骨细胞的增殖、ALP 活性和 Collagen I 表达。此外,金匱肾气丸可显著增加 ER α 的表达、抑制 p-AMPK 的表达,提示金匱肾气丸可能通过 ER α -AMPK 轴改善 OP,但具体机制尚不明确;通过进一步的研究^[3],课题组从中药牛膝中分离出一种活性成分-蜕皮甾酮,通过体外实验证明蜕皮甾酮能够促进原代成骨细胞的增殖以及分

化,同时能够增加 ER α 的表达而抑制 AMPK 的表达。而通过 siRNA 沉默 ER α 后发现 AMPK 的表达有上调的趋势,因此课题组初步认为中药提取物蜕皮甾酮是通过 ER α 介导的 AMPK 信号通路来促进成骨细胞的增殖和分化的。综上所述,ER α -AMPK 轴的调控机制需要进一步的深入研究,并有望成为 OP 的潜在治疗靶点。

2.2 AMPK-Sirt1 轴

AMPK-Sirt1 轴在 2 型糖尿病、肥胖、动脉粥样硬化等糖脂代谢紊乱性疾病中的研究报道较多,近年来其在 OP 发病机制中的作用也逐渐引起了重视。Liao 等^[35]开展研究白藜芦醇(Sirt1 的激动剂)、锻炼或二者联合对骨骼肌衰减症的影响。研究者将 6 月龄的 SD 大鼠作为对照组、24 月龄 SD 大鼠作为年老组,年老组予以锻炼、白藜芦醇[150 mg (kg · day)]、锻炼联合白藜芦醇三种不同的处理,经干预 6 周后检测大鼠腓肠肌肌量、握力、腓肠肌横断面积和组织形态学参数、细胞凋亡情况等,结果发现锻炼、白藜芦醇或二者联合都能够增加年老组大鼠的相对握力和肌量、p-AMPK、Sirt1 的表达,因此认为锻炼和白藜芦醇是通过激活 AMPK/Sirt1 通路发挥保护效应的;Zhang 等^[36]通过建立心肌梗厚动物模型,激活 AMPK 后,应用 qPCR、WB 等技术检测肥厚心肌组织中 Sirt1 mRNA 和蛋白表达的变化。此外,用 siRNA 干扰 Sirt1 表达,进一步探讨 Sirt1 在 AMPK 激活心肌梗厚中的作用。结果发现 AMPK 激活后,心肌组织和心肌细胞中 Sirt1 mRNA 和蛋白表达均增加,因此认为 AMPK 可能通过 Sirt1 预防心肌梗大;此外,研究证实 AMPK、Sirt1 之间能够反馈调控,AMPK 可激活 Sirt1,而 Sirt1 反过来亦可激活 AMPK。Fulco 等^[37]的研究证实 AMPK 被激活后通过上调 NAD⁺/NADH 比例且下调烟酰胺,最终导致 Sirt1 的激活,而 AMPK 的激动剂二甲双胍对 Sirt1 没有直接的激活作用,提示 AMPK 对 Sirt1 的调控作用;反之亦然,Sirt1 过表达可以通过对 LKB1 的去乙酰化修饰来激活其下游的 AMPK,而通过 shRNA 沉默 Sirt1 以后可观察到 LKB1 和 AMPK 激活水平的下降,因此 AMPK 和 Sirt1 可以相互作用,调控骨组织细胞;还原型辅酶 II (NADPH) 在成骨细胞中起递氢体的作用,参与成骨细胞的多项生理功能,而 Sirt1/AMPK 在 NADPH 的代谢中发挥重要作用,其通过 AMPK/ACC 信号通路维持 NADPH 的代谢平衡。近年来,细胞自噬成为生物医学研究的热门。细胞出现自噬体后能够维持细胞存活及内环境的稳

态,有利于细胞在不利环境下的存活。最新的研究表明,AMPK 是自噬的关键调节因子。一方面,AMPK 激活后可以通过磷酸化刺激 UK1 直接引发自噬,另一方面 AMPK 尚可通过抑制 mTORc1 间接诱发自噬,而 Sirt1 可以通过对 LKB1 的去乙酰化修饰来增加 AMPK 的表达进而引发自噬,可见 AMPK/Sirt1 轴的相互作用对成骨细胞的存活及功能有重要意义;除了自噬,成骨细胞凋亡也是骨组织生长、发育的一种重要调节机制。研究表明^[38],AMPK 被抑制后,凋亡的成骨细胞数量会增加,进一步沉默 AMPK α 后,成骨细胞的凋亡效应更加明显,可见 Sirt1/AMPK 激活后可以减少成骨细胞的凋亡。Sirt1 的激活与骨代谢、骨量等密切相关,其通过乙酰化修饰可以促进成骨细胞的增殖及分化。研究发现白藜芦醇激活 Sirt1 后能够促进成骨细胞的分化且减少骨髓脂肪细胞的形成和破骨细胞的数量。Zainabadi 等^[8]为了探究激活 Sirt1 后是否能够提高小鼠骨量,用 SRT1720 (Sirt1 激动剂) 以 100 mg (kg · d) 的剂量饲养 12 月龄的 C57BL/6 J 雄性小鼠,5 个月后发现实验小鼠的骨量明显提高。然后进一步探究 Sirt1 激活剂对去势小鼠的干扰效应,在切除小鼠双侧卵巢后立即予以 100 mg (kg · d) 剂量的 SRT1720 饲养小鼠,维持一个月。一个月后发现与对照组相比,SRT1720 组小鼠骨丢失情况明显缓解,但是增加 SRT1720 剂量后,缓解效应并不会进一步增加,因此 AMPK-Sirt1 可能参与 OP 的发病并产生保护效应。

综上,ER α 、AMPK、Sirt1 与 OP 关系密切,结合前人以及课题组前期研究提示三者之间存在着相互的调控作用及一定的上下游联系,因此有可能存在一条 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路,参与 OP 的发病。

3 总结与展望

随着人口老龄化的加剧,OP 的发病率逐年上升,相关治疗费用已经成为医疗系统的沉重负担。OP 作为一种多病因的慢性代谢性疾病,与多种因素相关。目前有关 OP 信号通路的研究主要集中于 Wnt 信号通路、PTH 信号通路、NF- κ B 信号通路、PPAR- γ 信号通路等,以各信号通路为基础开发的药物反馈良好,但在具有良好应用前景的同时也存在着一定的局限性。各类药物的不良反应一直为临床医师所关注,如双膦酸盐诱发的下颌骨坏死、非典型股骨骨折;高剂量特立帕肽对实验大鼠引发的骨肉瘤事件等。获得更为安全有效的抗 OP 新药,需

要更多的基础研究。截至目前为止,国内外尚未见到关于 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路的文献报道,而课题组前期的研究则从分子生物学的层面上提示该信号通路存在的可能性。因此,有必要将 ER α -AMPK-Sirt1 信号通路 OP 的发病机制联系起来进一步深入研究,以便更好地指导临床抗 OP 新药物的研发,为临床实践提供更多可靠的循证医学证据。

【参 考 文 献】

- [1] 徐绍俊,黄建烽,邵敏,等. 雌激素受体 α 基因甲基化与骨质疏松关系的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23 (3): 388-391.
- [2] 徐绍俊,黄建烽,邵敏,等. 补肾方剂对绝经后骨质疏松症大鼠的影响及其作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 5: 588-593.
- [3] Xu S, Shao M, Wang Q, et al. Ecdysterone Promotes Osteoblast Differentiation Through ER α Mediated AMPK α Signal Inhibition and β -Catenin Signal Activation [J]. Nanoscience & Nanotechnology Letters, 2017, 9: 1419-1426.
- [4] Shao M. Construction of an miRNA-Regulated Pathway Network Reveals Candidate Biomarkers for Postmenopausal Osteoporosis [J]. Comput Math Methods Med, 2017, 2017: 9426280.
- [5] Silvestre MF, Viollet B, Caton PW, et al. The AMPK-SIRT signaling network regulates glucose tolerance under calorie restriction conditions[J]. Life Sci, 2014, 100 (1): 55-60.
- [6] Artsi H, Cohen-Kfir E, Gurt I, et al. The Sirtuin1 activator SRT3025 down-regulates sclerostin and rescues ovariectomy-induced bone loss and biomechanical deterioration in female mice [J]. Endocrinology, 2014, 155(9): 3508-3515.
- [7] Kim HN, Han L, Iyer S, et al. Sirtuin1 Suppresses Osteoclastogenesis by Deacetylating FoxOs[J]. Mol Endocrinol, 2015, 29 (10): 1498-1509.
- [8] Zainabadi K, Liu CJ, Caldwell ALM, et al. SIRT1 is a positive regulator of in vivo bone mass and a therapeutic target for osteoporosis[J]. PLoS One, 2017, 12 (9): e0185236.
- [9] Hertrampf T, Schleipen B, Velders M, et al. Estrogen receptor subtype-specific effects on markers of bone homeostasis[J]. Mol Cell Endocrinol, 2008, 291(1-2): 104-108.
- [10] Vico L, Vanacker JM. Sex hormones and their receptors in bone homeostasis: insights from genetically modified mouse models [J]. Osteoporos Int, 2010, 21(3): 365-372.
- [11] Melville KM, Kelly NH, Khan SA, et al. Female mice lacking estrogen receptor-alpha in osteoblasts have compromised bone mass and strength [J]. J Bone Miner Res, 2014, 29 (2): 370-379.
- [12] Nakamura T, Imai Y, Matsumoto T, et al. Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts[J]. Cell, 2007, 130 (5): 811-823.
- [13] Wang YG, Han XG, Yang Y, et al. Functional differences between AMPK alpha1 and alpha2 subunits in osteogenesis, osteoblast-associated induction of osteoclastogenesis, and adipogenesis[J]. Sci Rep, 2016, 6: 32771.
- [14] Novikova DS, Garabadzhiu AV, Melino G, et al. AMP-activated protein kinase: structure, function, and role in pathological processes[J]. Biochemistry (Mosc), 2015, 80 (2): 127-144.
- [15] Kim EK, Lim S, Park JM, et al. Human mesenchymal stem cell differentiation to the osteogenic or adipogenic lineage is regulated by AMP-activated protein kinase[J]. J Cell Physiol, 2012, 227 (4): 1680-1687.
- [16] Quinn JM, Tam S, Sims NA, et al. Germline deletion of AMP-activated protein kinase beta subunits reduces bone mass without altering osteoclast differentiation or function[J]. Faseb J, 2010, 24 (1): 275-285.
- [17] Kasai T, Bando K, Suzuki H, et al. Osteoblast differentiation is functionally associated with decreased AMP kinase activity[J]. J Cell Physiol, 2009, 221 (3): 740-749.
- [18] Kim JE, Ahn MW, Baek SH, et al. AMPK activator, AICAR, inhibits palmitate-induced apoptosis in osteoblast [J]. Bone, 2008, 43 (2): 394-404.
- [19] Kanazawa I, Yamaguchi T, Yano S, et al. Metformin enhances the differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells via AMP kinase activation as well as eNOS and BMP-2 expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 375 (3): 414-419.
- [20] Jang WC, Kim EJ, Bae IH, et al. Metformin induces osteoblast differentiation via orphan nuclear receptor SHP-mediated transactivation of Runx2[J]. Bone, 2011, 48(4): 885-893.
- [21] Lee YS, Kim YS, Lee SY, et al. AMP kinase acts as a negative regulator of RANKL in the differentiation of osteoclasts [J]. Bone, 2010, 47 (5): 926-937.
- [22] Yamaguchi N, Kukita T, Li YJ, et al. Adiponectin inhibits induction of TNF-alpha/RANKL-stimulated NFATc1 via the AMPK signaling[J]. FEBS Lett, 2008, 582 (3): 451-456.
- [23] Mai QG, Zhang ZM, Xu S, et al. Metformin stimulates osteoprotegerin and reduces RANKL expression in osteoblasts and ovariectomized rats [J]. J Cell Biochem, 2011, 112 (10): 2902-2909.
- [24] Mercken EM, Mitchell SJ, Martin-Montalvo A, et al. SIRT2104 extends survival of male mice on a standard diet and preserves bone and muscle mass[J]. Aging Cell, 2014, 13 (5): 787-796.
- [25] Wang X, Chen L, Peng W. Protective effects of resveratrol on osteoporosis via activation of the SIRT1-NF-kappaB signaling pathway in rats[J]. Exp Ther Med, 2017, 14 (5): 5032-5038.
- [26] Feng J, Liu S, Ma S, et al. Protective effects of resveratrol on postmenopausal osteoporosis: regulation of SIRT1-NF-kappaB signaling pathway[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2014, 46 (12): 1024-1033.
- [27] Zainabadi K, Liu CJ, Guarente L. SIRT1 is a positive regulator of the master osteoblast transcription factor, RUNX2[J]. PLoS One, 2017, 12 (5): e0178520.
- [28] Curt I, Artsi H, Cohen-Kfir E, et al. The Sirt1 Activators SRT2183 and SRT3025 Inhibit RANKL-Induced

- Osteoclastogenesis in Bone Marrow-Derived Macrophages and Down-Regulate Sirt3 in Sirt1 Null Cells[J]. PLoS One, 2015, 10 (7): e0134391.
- [29] Orstrup MJ, Harslof T, Kjaer TN, et al. Resveratrol increases bone mineral density and bone alkaline phosphatase in obese men; a randomized placebo-controlled trial[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99 (12): 4720-4729.
- [30] 徐琛莹, 李微微, 秦溶, 等. 雌激素受体 β 通过调节 AMPK/mTORC1 轴的作用诱导结肠癌细胞自噬[J]. 诊断学理论与实践, 2013, 3: 279-283.
- [31] Yang TY, Yen CC, Lee KI, et al. Molybdenum induces pancreatic beta-cell dysfunction and apoptosis via interdependent of JNK and AMPK activation-regulated mitochondria-dependent and ER stress-triggered pathways[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2016, 294: 54-64.
- [32] Brown KA, McInnes KJ, Takagi K, et al. LKB1 expression is inhibited by estradiol-17 β in MCF-7 cells [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2011, 127 (3-5): 439-443.
- [33] Tulipano G, Faggi L, Cacciamali A, et al. Interplay between the intracellular energy sensor AMP-activated protein kinase (AMPK) and the estrogen receptor activities in regulating rat pituitary tumor cell (GH3) growth in vitro[J]. Pituitary, 2014, 17 (3): 203-209.
- [34] Daurio NA, Tuttle SW, Worth AJ, et al. AMPK Activation and Metabolic Reprogramming by Tamoxifen through Estrogen Receptor-Independent Mechanisms Suggests New Uses for This Therapeutic Modality in Cancer Treatment [J]. Cancer Res, 2016, 76 (11): 3295-3306.
- [35] Liao ZY, Chen JL, Xiao MH, et al. The effect of exercise, resveratrol or their combination on Sarcopenia in aged rats via regulation of AMPK/Sirt1 pathway[J]. Exp Gerontol, 2017, 98: 177-183.
- [36] Dong HW, Zhang LF, Bao SL. AMPK regulates energy metabolism through the SIRT1 signaling pathway to improve myocardial hypertrophy[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22 (9): 2757-2766.
- [37] Fulco M, Cen Y, Zhao P, et al. Glucose restriction inhibits skeletal myoblast differentiation by activating SIRT1 through AMPK-mediated regulation of Nampt[J]. Dev Cell, 2008, 14 (5): 661-673.
- [38] She C, Zhu LQ, Zhen YF, et al. Activation of AMPK protects against hydrogen peroxide-induced osteoblast apoptosis through autophagy induction and NADPH maintenance: new implications for osteonecrosis treatment? [J]. Cell Signal, 2014, 26 (1): 1-8.

(收稿日期: 2018-07-03; 修回日期: 2018-10-16)

(上接第 1165 页)

综上所述, 益肾密骨方加减具有明显的补肾强骨作用, 且具有不良反应发生率低等特点, 可作为临床治疗肾虚型 OP 的有效方药, 值得临床推广应用。

【参 考 文 献】

- [1] 邓昶, 周明旺, 付志斌, 等. 骨质疏松症的中医病因病机及其治疗进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23 (8): 1105-1111.
- [2] Yuan FL, Wu QY, Miao ZN, et al. Osteoclast-derived extracellular vesicles: novel regulators of osteoclastogenesis and osteoclast-osteoblasts communication in bone remodeling [J]. Front Physiol, 2018, 9: 628.
- [3] 王伟, 万雷, 柴爽, 等. 骨质疏松症的中医病因病机和分期治疗[J]. 中医正骨, 2018, 30(2): 29-30.
- [4] 中国人骨质疏松症建议诊断标准(第二稿) [J]. 中国骨质疏松杂志, 2000, 6 (1): 4-6.
- [5] 陈红霞, 李双蕾, 陈文辉. “骨肉不相亲”与骨质疏松症关系的探讨[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(6): 781-785.
- [6] 李跃华, 董元龙. 老年人骨质疏松患病率与肾虚证型关系的调查[J]. 中国中西医结合杂志, 1995, 15(6): 366-367.
- [7] 袁凤来, 叶俊星, 王昊珏, 等. 益肾密骨方对肾虚型骨质疏松症患者骨转换指标 β -CTX 的影响[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4 (91): 17825-17827.
- [8] 谢作棒, 沈皆亮, 郝杰, 等. 骨代谢生化指标对预测绝经后骨质疏松性椎体骨折的临床意义[J]. 创伤外科杂志, 2018, 20(5): 346-349.

(收稿日期: 2018-06-28; 修回日期: 2018-08-01)