

自噬相关信号转导通路在骨代谢中的作用研究进展



李智卓¹, 时利军², 高福强³, 孙 伟³

1. 北京大学中日友好临床医学院骨科 (北京 100029)
2. 北京协和医学院中日友好医院骨科 (北京 100029)
3. 中日友好医院骨坏死与关节保留重建中心 (北京 100029)

【摘要】 自噬是组织衰老退变的有效保护机制, 在细胞增殖、分化和成熟过程中发挥重要作用。参与骨代谢的主要细胞包括成骨细胞和破骨细胞, 它们共同在骨骼发育和维持中起着至关重要的作用。研究发现, 在成骨细胞中主要通过去乙酰化酶 1 及丝裂原激活蛋白激酶 8 /Forkhead box O3 来调节自噬水平的高低, 在破骨细胞中主要通过 Bcl-2 相互作用卷曲蛋白 1、p62/ sequestosome 1、自噬调控的中心分子及缺氧诱导因子 -1 α 来调节自噬水平的高低。本文就骨代谢中自噬相关信号转导通路在成骨细胞和破骨细胞自噬中的作用作一综述。

【关键词】 自噬; 骨代谢; 信号转导通路; 成骨细胞; 破骨细胞

Progress of research into the role of autophagy related signal transduction pathways in bone metabolism

Zhi-Zhuo LI¹, Li-Jun SHI², Fu-Qiang GAO³, Wei SUN³

1. Department of Orthopedics, Peking University China-Japan Friendship School of Clinical Medicine, Beijing 100029, China
2. Department of Orthopedics, Peking Union Medical College, China-Japan Friendship institute of Clinical Medicine, Beijing 100029, China
3. Beijing Key Laboratory of Immune Inflammatory Disease, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Corresponding author: Fu-Qiang GAO, E-mail: gaofuqiangzr@126.com; Wei SUN, E-mail: sun887@163.com

【Abstract】 Autophagy is an effective protective mechanism against tissue degeneration and plays an important role in cell proliferation, differentiation and maturation. The main cells involved in bone metabolism include osteoblasts and osteoclasts, which play an important role in bone development and maintenance. It has been found that the level of autophagy is regulated by Sirtuin1 (SIRT1) and mitogen-activated protein kinase 8 (MAPK8)/

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202011032

基金项目: 国家自然科学基金 (81672236、81871830、81802224); 北京市自然科学基金 (7182146、7174346); 宁夏自然科学基金 (2020AAC03337)

通信作者: 高福强, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: gaofuqiangzr@126.com

孙 伟, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, E-mail: sun887@163.com

Forkhead box O3 (FOXO3) in osteoblasts. In osteoclasts, the level of autophagy is regulated mainly by Bcl-2 interacting coiled-coil protein 1 (Beclin-1), p62/sequestosome 1 (p62/SQSTM1), mammalian target of Rapamycin (mTOR) and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α). The main focus of this article is a discussion of the autophagy related signal transduction pathways in bone metabolism and an analysis of the regulation of autophagy in osteoblasts and osteoclasts.

【Keywords】 Autophagy; Bone Metabolism; Signal Transduction Pathway; Osteoblast; Osteoclast

自噬是一种高度保守细胞分解代谢和能量动态循环过程，在真核细胞增殖、分化和成熟过程中发挥重要作用，它通过回收降解蛋白质、受损的细胞器及致病微生物，为细胞的稳态和生存提供能量和物质基础^[1]。在哺乳动物细胞中，主要的自噬形式包括小自噬、大自噬和分子伴侣介导的自噬三种，最终都将以细胞质物质被运送到溶酶体进行降解和循环而告终^[2]。参与骨代谢的细胞主要包括成骨细胞和破骨细胞，有研究表明自噬在维持成骨细胞及破骨细胞细胞功能和动态平衡方面起着重要作用，因此自噬在骨代谢过程中可能具有重要的调节作用^[3]。本文就自噬在骨代谢中的作用进行综述，旨在探讨自噬在骨代谢中的调控机制。

1 成骨细胞和破骨细胞与骨代谢

骨代谢受多种因素调节，维持稳定的骨代谢需要多种干细胞不断分化成熟，其中成骨细胞和破骨细胞是参与骨代谢的主要细胞，这个过程既需要成骨细胞的钙化、破骨细胞的吞噬，又需要一系列细胞因子的调节。骨骼中不同类型的细胞具有不同的功能，来自骨髓间充质干细胞的成骨细胞是骨形成的主要功能细胞，负责骨基质的合成、分泌和矿化，而来自造血干细胞的破骨细胞是骨分解和吸收的主要功能细胞。在骨代谢中成骨细胞和破骨细胞之间存在着复杂的联系，它们共同在骨骼发育和维持中起着至关重要的作用^[4-5]。

2 细胞自噬概述

细胞自噬是组织衰老退变的有效保护机制。细胞自噬是从真核细胞到哺乳动物高度保守的重要亚细胞事件之一，主要针对长寿蛋白和损伤细

胞器的降解与循环利用。正常的自噬过程对细胞内环境的稳定及细胞生命活动的顺利进行极其重要^[6]。

自噬过程可分为自噬的诱导、自噬小体的形成、融合和分解四个步骤。迄今为止，学者们发现了 30 多种自噬相关基因 (autophagy related gene, ATG)，这些基因编码的蛋白在自噬小体的形成和调控中起着关键作用^[7]。ATG1 的激酶结构域在自噬诱导中起着重要作用^[8]。ATG1 被激活后与 ATG13 相互作用并与 FIP200 结合，形成 ATG1-ATG13-FIP200 复合体，该复合体是自噬过程中自噬调控中心分子 (mammalian target of Rapamycin, mTOR) 信号转导的重要调节因子^[9]。mTOR 是控制细胞自噬的关键蛋白，能感受细胞的多种变化信号，加强或降低自噬的发生水平，是自噬调节的分子开关^[10]。mTOR 通过抑制 ATG1 来抑制自噬的启动。在细胞中，当 mTOR 被激活时，会抑制 ATG1 的表达，进而影响 ATG1-ATG13-FIP200 复合体的形成，从而抑制自噬小体的组装。ATG6 在自噬调控中的作用受 Bcl-2 的调控，Bcl-2 与 ATG6 结合则抑制自噬，Bcl-2 与 ATG6 分离则诱导自噬的进行。微管相关蛋白轻链-3 (microtubule associated protein 1 light chain 3, LC3) 与磷脂酰乙醇胺 (Phosphatidylethanolamine, PE) 结合形成 LC3-PE 复合体，自噬小体在 LC3-PE 和 ATG12-ATG5 的驱动下不断延伸形成，然后自噬小体与溶酶体融合，包封于自噬体内的物质被溶酶体酶降解，并释放进入包浆中，被细胞重新代谢利用^[11]。

3 自噬相关信号转导通路在成骨细胞代谢中的作用

3.1 Sirtuin1

去乙酰化酶 (Sirtuins) 是一类高度保守的蛋白质家族, 是酵母沉默调节因子 2 (Sir2) 在哺乳动物中的同源基因, 在哺乳动物的细胞代谢功能调节方面起着关键作用。Sirtuin 1 (SIRT1) 最初是在筛选沉默子时分离出来的, 是骨代谢的重要调节因子^[11]。Cohen-Kfir 等研究发现, 在雌性小鼠中敲除 SIRT1 基因后, 小鼠的骨量明显下降, 骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化明显减少, 相反骨髓脂肪的生成变多^[11]。Sun 等研究证实, SIRT1 在间充质干细胞中的过表达促进了间充质干细胞的成骨分化, 并延缓了间充质干细胞的衰老。同时发现在颗粒诱导的骨溶解动物模型中, 颗粒物可以降低成骨细胞 SIRT1 的表达, 进而导致炎性细胞因子增高及细胞凋亡。若上调 SIRT1 表达, 成骨细胞则可以通过 p53 信号通路, 显著降低颗粒物诱导的炎性细胞因子水平和成骨细胞的凋亡^[12]。

3.2 MAPK8/FOXO3

FOXO (Forkhead box O) 是一个转录因子家族, 主要由 FOXO1、FOXO3、FOXO4 和 FOXO6 组成, 在细胞氧化应激防御中起着重要作用^[13]。Gómez-Puerto 等研究发现, 在分化过程中, 由于需要更多的能量, 线粒体代谢增加, 活性氧生成随之增加, 导致 FOXO3 被活性氧激活, 进而激活自噬来降低活性氧的水平^[13]。Wei 等研究发现, 氟可抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡和自噬。在氟诱导的成骨细胞凋亡中, 通过丝裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) /c-Jun-氨基端蛋白激酶 (c-Jun N-terminal kinases, JNK) 激活自噬, 对细胞产生保护作用, 进而减少细胞的凋亡^[14]。Wang 等研究发现, 在金属颗粒诱导的骨溶解模型及成骨细胞中, 由于金属颗粒的刺激, 内质网细胞核信号转导 1 (endoplasmic reticulum to nucleus signaling, ERN1) 被激活后通过 MAPK8 介导自噬^[15]。

4 自噬相关信号转导通路在破骨细胞代谢中的作用

4.1 Beclin-1/BECN1

人工关节置换术后产生的磨损颗粒会诱导破骨细胞形成, 导致骨溶解的发生。有研究表明, CD147、白介素 17A (IL-17A) 和肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-

associated factor 6, TRAF6) 等分子参与了破骨细胞自噬的调节^[16]。Su 等研究发现, 磨损颗粒能激活 CD147, 诱导自噬的发生, 并通过增加 Becl-2 相互作用卷曲蛋白 (Becl-2 interacting coiled-coil Protein, Beclin-1) 和核因子受体激活剂- κ B 配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 的水平, 促进破骨细胞的形成^[17]。Xue 等研究发现, 炎性细胞因子 IL-17A 也可通过调节 Beclin-1 活性, 参与自噬的调节, 进而通过 RANKL 诱导破骨细胞的形成^[18]。Arai 等研究发现, TRAF6 作为一种 E3 泛素连接酶, 可介导 Beclin-1 泛素化, 进而通过 RANKL 诱导破骨细胞的生成^[19]。总之, Beclin-1/BECN1 通路在破骨细胞自噬过程中的调节起着重要作用。

4.2 p62/SQSTM1

p62/sequestosome 1 (SQSTM1) 是一类自噬特征性接头蛋白, 在 RANKL 诱导破骨细胞形成过程中起着重要的调节作用。Kim 等研究发现, 山奈酚作为一种黄酮类化合物, 在 RANKL 诱导的小鼠破骨细胞形成过程中, 可通过降解 p62/SQSTM1, 抑制破骨细胞自噬并激活细胞凋亡^[20]。Rea 等研究发现, p62/SQSTM1 通过自噬和泛素-蛋白酶体系统对泛素化的蛋白质周转起主要调节作用, 可能是自噬和细胞凋亡信号之间的分子开关^[21]。

4.3 AMPK/mTOR

mTOR 在破骨细胞分化过程中控制自噬信号通路的传导, 是自噬调节的分子开关。骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 是一种由成骨细胞分泌的糖蛋白, 是骨代谢的关键调节因子。OPG 是 RANKL 的受体, 与 RANKL 的结合力非常高, 可通过阻断 RANKL 与 RANK 之间的相互作用来抑制破骨细胞的分化和骨吸收, 在这一过程中, 自噬由 AMP 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) /mTOR 信号转导通路介导^[22]。Tong 等研究发现, OPG 诱导的结节性硬化症复合体 2 (tuberous sclerosis complex 2, TSC 2) 与 TSC1 结合形成 TSC 复合体, 使小 G 蛋白 Rheb 失活, 降低 mTOR 活性, 进而抑制破骨细胞自噬的发生^[23]。在葡萄糖饥饿、细胞能量耗竭的情况下, AMPK 被激活并使 mTOR 因子 TSC2 发生磷酸化, 进而关闭耗能的 mTOR 信号通路, 诱导自噬的发生^[24]。

4.4 HIF-1 α

在缺氧条件下, 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 在自噬的激活过程中起着重要作用。Zhao 等研究发现, 在缺氧条件下应用 3- 甲基腺嘌呤抑制自噬可显著抑制破骨细胞分化, 提示自噬在缺氧诱导破骨细胞分化过程中具有重要意义, 在细胞缺氧条件下, HIF-1 α 被激活, 进而诱导自噬的发生, 最终上调破骨细胞的生成^[25]。在缺氧条件下, HIF-1 α 除了调节自噬的蛋白质信号通路外, 还调节了参与破骨细胞自噬的 miRNA。破骨细胞分化过程中, HIF-1 α 的上调在转录水平上抑制了 miRNA-20a 的表达, 进而诱导自噬的发生^[26]。

5 结语

成骨细胞和破骨细胞是骨的重要细胞成分。成骨细胞来源于骨髓间充质干细胞, 是成骨细胞系的终末分化状态, 是骨中含量最丰富的细胞类型。破骨细胞来源于造血干细胞, 是唯一具有骨吸收功能的细胞。成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收之间的平衡构成了骨代谢的两个主要过程。自噬水平的高低会显著影响成骨细胞和破骨细胞的功能和活性, 在骨代谢中起着至关重要的作用。有研究表明, 骨代谢紊乱相关疾病如骨质疏松症、骨关节炎、风湿性关节炎和无菌性骨溶解与细胞自噬有着密不可分的联系^[27]。无菌性骨溶解是人工关节置换术后一个晚期并发症, 是关节置换术失败的主要原因。骨溶解是由成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收之间的失衡引起的^[28]。本文主要讨论了在骨代谢中, 一些信号通路对成骨细胞和破骨细胞自噬的调节作用, 可以为骨代谢紊乱疾病的治疗提供新的思路。自噬有可能成为改善骨代谢紊乱疾病的潜在靶点, 但自噬不同阶段的精确调控机制目前尚不清楚, 仍需进一步研究, 以便未来能将其应用于临床。

参考文献

- 1 Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy pathway: cellular and molecular mechanisms[J]. *Autophagy*, 2018, 14(2): 207-215. DOI: [10.1080/15548627.2017.1378838](https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1378838).
- 2 Parzych KR, Kliionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2014, 20(3): 460-473. DOI: [10.1089/ars.2013.5371](https://doi.org/10.1089/ars.2013.5371).
- 3 Wang S, Deng Z, Ma Y, et al. The role of autophagy and mitophagy in bone metabolic disorders[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(14): 2675-2691. DOI: [10.7150/ijbs.46627](https://doi.org/10.7150/ijbs.46627).
- 4 Chen X, Wang Z, Duan N, et al. Osteoblast-osteoclast interactions[J]. *Connective Tissue Research*, 2018, 59(2): 99-107. DOI: [10.1080/03008207.2017.1290085](https://doi.org/10.1080/03008207.2017.1290085).
- 5 Tanaka Y, Nakayamada S, Okada Y. Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2005, 4(3): 325-328. DOI: [10.2174/1568010054022015](https://doi.org/10.2174/1568010054022015).
- 6 Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 728-741. DOI: [10.1016/j.cell.2011.10.026](https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.026).
- 7 Ozeki N, Hase N, Hiyama T, et al. MicroRNA-211 and autophagy-related gene 14 signaling regulate osteoblast-like cell differentiation of human induced pluripotent stem cells[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 352(1): 63-74. DOI: [10.1016/j.yexcr.2017.01.018](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.01.018).
- 8 Scott RC, Juhász G, Neufeld TP. Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death[J]. *Curr Biol*, 2007, 17(1): 1-11. DOI: [10.1016/j.cub.2006.10.053](https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.10.053).
- 9 Jung CH, Jun CB, Ro SH, et al. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7): 1992-2003. DOI: [10.1091/mbc.e08-12-1249](https://doi.org/10.1091/mbc.e08-12-1249).
- 10 Maiese K. Targeting molecules to medicine with mTOR, autophagy and neurodegenerative disorders[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 82(5): 1245-1266. DOI: [10.1111/bcp.12804](https://doi.org/10.1111/bcp.12804).
- 11 Cohen-Kfir E, Artsi H, Levin A, et al. Sirt1 is a regulator of bone mass and a repressor of sost encoding for sclerostin, a bone formation inhibitor[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(12): 4514-4524. DOI: [10.1210/en.2011-1128](https://doi.org/10.1210/en.2011-1128).
- 12 Sun W, Qiao W, Zhou B, et al. Overexpression of Sirt1 in mesenchymal stem cells protects against bone loss in mice by FOXO3a deacetylation and oxidative stress inhibition[J]. *Metabolism*, 2018, 88: 61-71. DOI: [10.1016/j.metabol.2018.06.006](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.06.006).
- 13 Gómez-Puerto MC, Verhagen LP, Braat AK, et al. Activation of autophagy by FOXO3 regulates redox homeostasis during osteogenic differentiation[J]. *Autophagy*, 2016, 12(10): 1804-1816. DOI: [10.1080/15548627.2016.1203484](https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1203484).
- 14 Wei M, Duan D, Liu Y, et al. Autophagy may protect MC3T3-E1 cells from fluoride-induced apoptosis[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2014, 9(6): 2309-2315. DOI: [10.3892/mmr.2014.2309](https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2309).

- 10.3892/mmr.2014.2079.
- 15 Wang Z, Liu N, Liu K, et al. Autophagy mediated CoCrMo particle-induced peri-implant osteolysis by promoting osteoblast apoptosis[J]. *Autophagy*, 2015, 11(12): 2358–2369. DOI: [10.1080/15548627.2015.1106779](https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1106779).
- 16 Goodman SB, Gallo J. Periprosthetic osteolysis: mechanisms, prevention and treatment[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(12): 2091. DOI: [10.3390/jcm8122091](https://doi.org/10.3390/jcm8122091).
- 17 Su B, Li D, Xu J, et al. Wear particles enhance autophagy through up-regulation of CD147 to promote osteoclastogenesis[J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2018, 21(8): 806–812. DOI: [10.22038/ijbms.2018.29347.7093](https://doi.org/10.22038/ijbms.2018.29347.7093).
- 18 Xue Y, Liang Z, Fu X, et al. IL-17A modulates osteoclast precursors' apoptosis through autophagy-TRAF3 signaling during osteoclastogenesis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(4): 1088–1092. DOI: [10.1016/j.bbrc.2018.12.029](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.12.029).
- 19 Arai A, Kim S, Goldshteyn V, et al. Beclin1 modulates bone homeostasis by regulating osteoclast and chondrocyte differentiation[J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(9): 1753–1766. DOI: [10.1002/jbmr.3756](https://doi.org/10.1002/jbmr.3756).
- 20 Kim CJ, Shin SH, Kim BJ, et al. The effects of kaempferol-inhibited autophagy on osteoclast formation[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 125. DOI: [10.3390/ijms19010125](https://doi.org/10.3390/ijms19010125).
- 21 Rea SL, Walsh JP, Layfield R, et al. New insights into the role of sequestosome 1/p62 mutant proteins in the pathogenesis of Paget's disease of bone[J]. *Endocr Rev*, 2013, 34(4): 501–524. DOI: [10.1210/er.2012-1034](https://doi.org/10.1210/er.2012-1034).
- 22 Tong X, Zhang C, Wang D, et al. Suppression of AMP-activated protein kinase reverses osteoprotegerin-induced inhibition of osteoclast differentiation by reducing autophagy[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(1): e12714. DOI: [10.1111/cpr.12714](https://doi.org/10.1111/cpr.12714).
- 23 Tong X, Gu J, Song R, et al. Osteoprotegerin inhibit osteoclast differentiation and bone resorption by enhancing autophagy via AMPK/mTOR/p70S6K signaling pathway in vitro[J]. *J Cell Biochem*, 2018. DOI: [10.1002/jcb.27468](https://doi.org/10.1002/jcb.27468).
- 24 Egan D, Kim J, Shaw RJ, et al. The autophagy initiating kinase ULK1 is regulated via opposing phosphorylation by AMPK and mTOR[J]. *Autophagy*, 2011, 7(6): 643–644. DOI: [10.4161/auto.7.6.15123](https://doi.org/10.4161/auto.7.6.15123).
- 25 Zhao Y, Chen G, Zhang W, et al. Autophagy regulates hypoxia-induced osteoclastogenesis through the HIF-1 α /BNIP3 signaling pathway[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2011, 227(2): 639–648. DOI: [10.1002/jcp.22768](https://doi.org/10.1002/jcp.22768).
- 26 Sun KT, Chen MY, Tu MG, et al. MicroRNA-20a regulates autophagy related protein-ATG16L1 in hypoxia-induced osteoclast differentiation[J]. *Bone*, 2015, 73: 145–153. DOI: [10.1016/j.bone.2014.11.026](https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.11.026).
- 27 Horvai AE, Boyce BF. Metabolic bone diseases[J]. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 2011, 28(1): 13–25. DOI: [10.1053/j.semmp.2011.02.004](https://doi.org/10.1053/j.semmp.2011.02.004).
- 28 Veronesi F, Tschon M, Fini M. Gene expression in osteolysis: review on the identification of altered molecular pathways in preclinical and clinical studies[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 499. DOI: [10.3390/ijms18030499](https://doi.org/10.3390/ijms18030499).

收稿日期: 2020 年 11 月 18 日 修回日期: 2021 年 01 月 15 日
本文编辑: 桂裕亮 李 阳