



膜上 G 蛋白偶联受体在运动影响骨代谢中的作用*

陈祥和** 刘 波 陆鹏程 仇 啸 周香香 曾炘瑜

(扬州大学体育学院, 扬州 225127)

摘要 膜上 G 蛋白偶联受体 (GPCRs) 是骨细胞感知外部信号刺激的关键跨膜蛋白, 因其在成骨细胞 (OB)、软骨细胞和破骨细胞 (OC) 分化和功能发挥上扮演的关键角色而在骨代谢研究领域备受关注。GPCRs 功能缺失或异常升高后, 骨细胞内环境稳态失衡, 导致 OB、软骨细胞和 OC 分化及代谢紊乱, 骨组织微细结构退化。运动通过促进骨形成并抑制骨吸收来改善骨代谢, 其机制与 GPCRs (如 GPR48、GPR54、GPR30 等) 介导的关键信号途径 (cAMP/PKA/Atf4、JNK/AP-1、ERK1/2 等) 和细胞因子 (T-PINP、Nkx3.2、Sox9 和 Cleaved-caspase-3 等) 调控下游级联反应来影响 OB、软骨细胞和 OC 分化或功能密切相关。本文通过梳理 GPCRs 在运动改善骨代谢中的可能机制, 有助于筛选出膜上敏感 GPCRs 来作为骨代谢疾病药物研发“效应器”以及运动干预中的力学刺激“明星蛋白”, 为骨质疏松的研究和防治提供更多靶点或视角。

关键词 G 蛋白偶联受体, G 蛋白, 运动, 骨形成, 骨吸收
中图分类号 Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0024

G 蛋白偶联受体 (G protein couple receptors, GPCRs) 的 7 次跨膜特征和晶体结构由 2012 年诺贝尔化学奖得主 Robert J. Lefkowitz 和 Brian K. Kobilka 发现^[1]。GPCRs 是含有 7 个跨膜 α 螺旋的膜上受体, 其跨过胞膜磷脂双分子层并响应胞外信号刺激, 进而以 G 蛋白解离 α 亚基作为传导物触发细胞内部反应, 介导正常或紊乱的生理反应^[2]。G 蛋白是膜内胞浆面的外周蛋白, 与鸟嘌呤核苷酸结合并具有 GTP 酶 (GTPase) 活性, 可将 GTP 水解, 生成与膜受体偶联的异源三聚体——GDP^[3]。细胞膜上 GPCRs 可特异地与 G 蛋白 GTPase 区域结合, 并形成 GPCRs、G 蛋白及下游级联信号途径 (包括腺苷酸环化酶、磷脂酶 C、 Ca^{2+} 通道、 K^{+} 通道等) 构成的信号转导途径^[4], 进而参与调控骨代谢、视觉传输、心率失常、癌变等。

骨中成骨细胞 (osteoblast, OB) 和破骨细胞 (osteoclast, OC) 相互影响、调控, 分别主导骨形成代谢 (以下简称骨形成) 和骨吸收代谢 (以下简称骨吸收), 而 GPCRs 可通过影响调控 OB 和/或 OC 的信号途径、细胞因子等进而影响骨代谢^[3, 5]。敲除膜上 G 蛋白偶联受体 48 (G protein couple receptor 48, GPR48)、GPR54 后, 小鼠骨中环磷

酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) /蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) / Atf4、JNK/AP-1 等信号通路被抑制, 导致分化产生的 OB 减少但 OC 却增多^[6]; 而敲除另一受体亚型 GPR40 后, OB 分化及骨形成增强且 OC 分化被抑制, 小鼠骨密度 (bone mineral density, BMD) 增加^[7]。上述研究结果提示, GPCRs 在调控骨形成和/或骨吸收上扮演重要角色。甲状旁腺激素 (parathyroid hormone, PTH) 调控骨形成的分子机制与膜上 G 蛋白及 GPCRs 激活密切相关^[8]。G 蛋白转导 PTH 刺激进而激活靶蛋白 β -arrestin/下游多囊蛋白 1 (polycystin-1, PC-1) /PDZ 结合基序转录共激活因子 (transcriptional co-activator with PDZ binding motif, TAZ) 途径, 以及 Wnt3 和 Wnt7b 信号刺激等来促进骨形成并抑制骨吸收^[9-10]。后续研究关注小 G 蛋白在骨代谢中的调控作用, 但因有研

* 中国博士后科学基金 (2021T140580, 2019M661957), 扬州大学“高端人才支持计划”和扬州大学“青蓝工程”培养对象资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 13665296887, E-mail: huashixh@163.com

收稿日期: 2022-01-15, 接受日期: 2022-02-21

究发现G蛋白介导骨代谢是通过其异源三聚体而非小G蛋白, 所以有关其骨代谢调控作用尚存争议^[3]。这可能与对小G蛋白研究尚不深入且相关研究集中于OB和OC分化有关。受限于G蛋白分子结构单一及亚型数量少, 其调控骨代谢关注度不高, 研究较少。

运动是影响骨代谢的重要手段, 而GPCRs(如GPR48等)作为力学刺激敏感蛋白在此过程中具有关键调控作用。目前, 生命医学领域内有关GPCRs调控骨代谢的研究较多, 但运动通过调控GPCRs进而影响骨代谢的研究较少, 其作用机制及调控网络尚待揭示。基于此, 本文将对GPCRs调控骨代谢及运动通过影响膜上GPCRs进而影响骨代谢的相关研究进行综述并予以展望, 以期为骨质疏松症等骨代谢疾病诊疗提供参考, 并为运动医学领域内骨代谢研究提供一定的理论基础和新研究靶点。

1 GPCRs在骨代谢中的调控作用

1.1 GPCRs在骨形成中的调控作用

GPCRs可与G蛋白结合并调节其活性, 介导cAMP、磷脂酰肌醇等信号途径^[11]。其以单体、异源二聚体或寡聚体形式存在, 刺激转导配体单一激活受体、寡聚复合物中相邻的其他受体来介导下游级联反应^[12-13], 调控阿尔茨海默病、高血压、心血管疾病、帕金森病等, 亦可调控骨代谢^[14-15]。OB膜上GPCRs大量表达, 且其信号支架蛋白GPCRs酶相互作用蛋白2(GPCRs enzyme interaction protein 2, GIT2)可将外部刺激传入胞内调控骨形成代谢^[6, 16]。GPCRs种类多, 以下将详细阐述其对骨形成的介导调控。

1.1.1 GPR40

GPR40属于7次跨膜 α 螺旋结构G蛋白偶联孤儿受体, 亦称游离脂肪酸受体1(free fatty acid receptor 1, FFAR1)^[17], 由碳链长度大于6的中长链饱和及多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)活化^[18]。GPR40不仅分布于胰腺细胞和神经细胞, 也在OB膜上大量表达^[4]。敲除GPR40后, Wnt途径关键因子 β 连环素(β -catenin)磷酸化被抑制, 进而下调Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)表达并作用于Sp7的PST序列区域, 调节Fgfr2和Fgfr3来抑制OB分化及骨形成^[8]。OB和脂肪细胞均由骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem

cells, BMSCs)分化产生, 而关键因子过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ)受GPR40调控, 当GPR40被敲除后会激活PPAR γ 表达进而促进BMSCs向脂肪细胞分化并抑制OB分化^[19]。GPR40不仅调控脂质代谢, 亦介导机体糖代谢。AMP依赖的蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK), 作为介导糖代谢的关键蛋白, 当抑制GPR40后其表达下调, AMP/ATP比率下降导致其对细胞能量代谢脱敏, 内皮型一氧化氮合酶-一氧化氮(endothelial nitric oxide synthesis-nitric oxide, eNOS-NO)途径被抑制后Runx2和锌指结构转录因子(osterix, Osx)去磷酸化不能与骨钙蛋白启动子区的成骨细胞特异性顺式作用元件2(osteoblast-specific cis-acting element 2, OSE2)结合, 抑制骨钙蛋白和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI)调控的OB分化^[20]。并且, GPR40敲除后胰岛素分泌下降, 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor 1, IGF-1)B功能区N端16个氨基酸区与膜上胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R)结合, 通过IGF结合蛋白酪氨酸发出信号激酶受体, 抑制Norrin及其调节的骨祖细胞增殖和向OB分化^[21]。在探究罗格列酮对颅骨OB增殖及分化的影响时, 发现GPR40活化后磷酸化酪氨酸蛋白磷酸酶(Src-homology domain-2 phosphatase1, SHP-1)并抑制糖原合成酶激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β), 磷酸化SHP-1促进激活经典Wnt途径靶基因 β -catenin; GSK-3 β 被抑制后激活 β -catenin, 提高其在核内水平, 促进前成骨细胞向OB分化^[22]。调控OB分化及骨形成的信号途径呈网状结构分布, 而GPR40作为膜上受体, 是众多信号途径的“发起点”, 除可介导众多信号途径外, 对很多关键因子如血清骨钙素N端中分子片段(N-terminal middle molecular fragment of osteocalcin, N-MID)、I型胶原羧基端肽 β 特殊序列(β -C-terminal telopeptide of type I collagen, β -CTX)、T-I型胶原氨基端前肽(T-procollagen type I N-terminal propeptide, T-PINP)、Dickkopf相关蛋白1(Dickkopf-related protein-1, DKK-1)和硬化蛋白(sclerostin, SOST)等也具有重要调节作用, 鉴于目前相关研究较少, 其详细调控机制尚待揭示(图1, 表1)。

1.1.2 GPR48

GPR48 (亦称 LGR4) 属于 A 家族糖蛋白激素受体, 亦称富含亮氨酸的 GPCRs^[23]。以往研究中, GPR48 是未发现其配体的孤儿受体, 而近来发现 Rspodins (Rspo) 家族蛋白中的 Rspo1 与 GPR48 可通过 LGRs 家族胞外 N 端作用并开启经典 Wnt 信号通路, 调控 OB 分化及骨形成^[24], 但对 cAMP 及 Ca²⁺ 途径不显著。提示, GPR48 可能存在其他配体来激活 G 蛋白途径。研究显示, RANKL^{-/-} 小鼠表型与 GPR48^{-/-} 小鼠类似, 那么 GPR48 与 RANKL 可能存在一定关系。后续研究证实, 除核因子 κ B 受体活化因子 (receptor activator for nuclear factor- κ B, RANK) 外, GPR48 (LGR4) 是核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator for nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 的另一膜上受体, 能通过胞外域 (ECD) 与 RANK 竞争性同 RANKL 结合, 活化 GSK-3 β 和 G α q 途径, 抑制核因子激活 T 细胞 1 (nuclear factor activates T cells 1, NFATc1) 表达和活性从而介导 OC 分化及骨吸收; LGR4 (LGR4 CKO) 小鼠显示 OC 过度活化 (包括 OC 数量、表面积和体积增大) 和骨质破坏增加^[25]。这表明, Rspo1 和 RANKL 是 GPR48 配体, 但关于其在骨形成中作用仍需进一步研究。

随着基因敲除技术发展, GPR48 调控骨形成作用引起学者关注, 利用 CRISPR-Cas9 将其在 OB 上特异性敲除后发现, GPR48^{-/-} 小鼠和转录缺失 (保留 5% 转录活性) 小鼠骨组织出现 BMD 和骨组织形态结构退化, 同时骨生长发育被阻滞^[26-27]。分析其分子机制, GPR48 与 G α s 结合后激活 cAMP, 促进 PKA 磷酸化并激活 cAMP 反应单元结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB), 后者是重要核蛋白, 其调节启动子中具有 cAMP 反应单元 (cAMP-response element, CRE) 的基因转录, 影响磷酸二酯酶 (phosphodiesterase 4, PDE4) 和胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 表达促进 OB 分化及骨形成。经典 Wnt 途径是调控 OB 分化的关键途径, GPR48 活化后促进其靶基因 β -catenin 磷酸化, 入核后与 T 细胞因子 (T cell factor, TCF) / 淋巴增强结合因子 (lymphoid enhancer factor, Lef) 形成转录复合体, 调节细胞周期蛋白 D1 (cell cycle protein D1, CyclinD1)、轴抑制因子 2 (axis inhibitor 2, Axin2) 等靶基因表达来调节骨形成^[28]。并且, Rspodins 通过其

Furin 结构域与 GPR48 结合可调控下游 Wnt/平面细胞极化 (planar cell polarity, PCP) 途径^[29]; 而敲除 GPR48 会抑制 Wnt/PCP 途径^[30]。Luo 等^[25] 发现 GPR48 缺失导致骨长度变小, 这与胚胎期骨形成延迟有关, 与软骨成熟和增殖无关; GPR48 通过调节 OB 分化、增殖及骨形成能力来达成这一功能。综上发现, GPR48 调控骨形成由介导的 OB 分化及骨形成能力增强实现, 与软骨细胞无关。但是, 后续在研究 PTHrP、PTH 和 PTH/PTHrP 受体调控软骨发育时, 发现 GPR48 与 PTHrP 作用, 将外部刺激信号传递到胞内引发级联信号反应, 促进原代软骨细胞 3H-TdR 进入 S-G2/M 期, 使得成熟软骨细胞增殖。并且, 二者偶联后亦可激活 Hedgehog 途径, Smo 和 Ptch1 作为该途径关键跨膜蛋白, 通过雌激素受体 (estrogen receptor, ER) / Golgi 分泌途径进行 C 端和 N 端修饰, 形成脂质态的具有高信号活性的信号分子物质, 与 Nkx3.2 和 Sox9 形成自调节环路, 调控软骨分化与增殖。另有研究发现, Hedgehog 途径激活后抑制 OC 分化、融核及骨吸收。这表明, GPR48 促进 OB 分化同时, 也可通过促进软骨细胞分化、增殖来促进骨形成, 同时也会抑制 OC 分化、融核及骨吸收 (图 1, 表 1)。

1.1.3 GPR54

GPR54 是 Kiss1 蛋白受体, 属于 G 蛋白偶联受体视紫红质家族成员^[31]。其包含 1 197 bp 的开放阅读框, 编码 398 个氨基酸残基蛋白^[32]。Kiss1 基因表达蛋白产物 Kisspeptin, 其具有一 C 端区域, 为一个 Arg-Phe-NHs 模体, 由 52 个氨基酸构成, RF-酰胺序列变为 Arg-Tyr-NH₂^[33]。GPR54 具有介导能量代谢、性腺功能、肿瘤转移等生物学功能, 有研究证实, GPR54 在 OB 膜上大量表达。Kisspeptin 通过 GPR54 诱导蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 活化和磷酸酶抑制剂 MCIP-1 表达, 激活 PKC/Runx2 通路关键因子 Runx2, 促进 BMSCs 向 OB 分化^[34], 而 GPR54 表达失活后 β -catenin 去磷酸化, 致使 OB 功能紊乱^[35]。OB 由 BMSCs 分化产生, 敲除 GPR54 后 Runx2、Osx 和 C/EBP β 表达下调并激活 PPAR γ , 抑制成骨细胞前体细胞向成熟 OB 分化, 导致细胞外基质成熟和基质矿化紊乱^[36]。下丘脑-垂体-性腺 (hypothalamus-pituitary-gonad, HPG) 轴不仅调控生殖系统发育和功能发挥, 并且也可通过“脑-骨”串联影响骨代谢。HPG 轴调控睾酮分泌, 下丘脑弓状核

(arcuate nucleus, ARC) 和前腹侧脑室周围核团 (anterior ventral periventricular nucleus, AVPV) 中的 Kisspeptin/GPR54 信号通路, 可以调控下丘脑中促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 的分泌、释放, 影响性腺激素的分泌, GPR54 表达上调促进骨钙素 (osteocalcin, OCN) 分泌^[37]。而 OCN 的活化形式羧化不全骨钙素 (uncarboxylated osteocalcin, ucOCN) 激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K) 后, 上调靶基因蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 表达并促进 OB 对 I 型胶原蛋白、骨桥蛋白等有机质分泌, 促进骨形成。并且, PI3K 激活后 Akt 磷酸化水平升高, OC 中 Bax、Bcl-2、Caspase-3、Cleaved-caspase-3 表达上调, 促进 OC 凋亡, 降低 OC 对骨组织的侵蚀^[38]。上述研究显示, OB 和 OC 均是 GPR54 靶细胞, 通过调控它们分化及功能发挥, 可促进骨吸收 (图 1, 表 1)。

1.1.4 其他

研究发现, 除上述阐述 GPCRs 外, 尚有其他 GPCRs 可调控 OB 分化及骨形成^[39]。与 ER 不同, GPR30 作为新发现的 ER, 其在骨中 OB、OC 等细胞膜上大量表达^[40]。当骨中 GPR30 活化后, 去卵巢大鼠骨转换率提升, BMD 和生物力学性能升高, 骨流失和骨组织形态微细结构退化改善^[41]。在探究补骨脂素改善骨质疏松的研究中, 小鼠骨中 GPR30 被激活^[42]后会活化 ERK1/2 信号途径后并降低 ANP 和 β -MHC 表达, 导致 PSMD11 蛋白快速合成, 进而介导雌激素调控 MC3T3-E1 分化产生的 OB 线粒体自噬水平, 保护 OB 活性^[43]。当利用 GPR30 特异性激动剂 G1 和特异性拮抗剂 G15 来调控 GPR30/GPER1 在全身表达时, 发现介导骨形成关键途径 (cAMP/PKA/CREB、MAPK (p38、JNK) 及 PI3K/Akt) 均被抑制^[44]。这表明, GPR30 与以上途径存在密切级联反应, 但有关 GPR30 介导以上途径进而调控 OB 分化或骨形成的相关研究尚待补充。GPR40 和 GPR120 均是长链不饱和脂肪酸受体, 将其敲除或转录缺失后, 出现脂质代谢紊乱、胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 水平升高、大脑中海马区去甲肾上腺素水平升高等。而雌激素是治疗骨质疏松 (osteoporosis, OP) 的最直接手段, BMSCs 膜上 GPR40 受雌激素影响并调控 OB 分化, 去卵巢大鼠骨中 GPR40 表达被抑制; 将其敲除后, 雌激素改善去卵巢 GPR40^{-/-}小鼠

骨质疏松的作用缺失。这与 GPR40 功能缺失后, Wnt/ β -catenin 途径的关键因子 β -catenin 去磷酸化, 进而抑制 OB 分化及骨形成有关。另外, GPR40 是通过 Wnt/ β -catenin 途径激活雌激素诱导 OB 分化的内源性促进剂, 该研究首次为 GPR40 是通过 Wnt/ β -catenin 途径来正向调节骨形成提供了直接证据^[45]。当用罗格列酮治疗 2 型糖尿病 (type 2 diabetic mellitus, T2DM) 时, 发现罗格列酮抑制 OB 增殖作用仅通过 GPR40 来实现, 一旦 GPR40 功能缺失, 其下游 TLR4/JNK/NF- κ B 途径将被抑制, 那么 GPR40 生物学作用将缺失^[46]。长链多不饱和脂肪酸受体 GPR120 作为近来研究热点, 在探究亚油酸抑制 MC3T3-E1 向 OB 分化及其骨形成能力时, 发现亚油酸抑制 MC3T3-E1 膜上 GPR120 表达, 下调 β -arrestin2 表达导致调控 OB 分化靶基因 TAK1 去磷酸化^[47] (图 1, 表 1)。随着骨形成研究逐渐深入, 相信更多 GPCRs 会被研究发现。

1.2 GPCRs 在骨吸收中的调控作用

OC 主导骨吸收, 而 OC 的 a3 (116 ku) 跨膜亚基质子泵突变导致 OC 分化、融核紊乱和骨吸收异常升高^[31]。膜上受体 GPCRs 介导的信号途径或关键因子调控 OC 分化、融核及骨吸收能力。体外研究中, GPR1 表达上调后促进环氧化酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 与 RANKL 胞外结构域的 TAAT 启动子原件作用, 激活 RANK 及下游 NFATc1 等靶基因, 促进 OC 分化、融核^[48], 上调造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSC) 膜上 GPR1 受体表达后会抑制 chemerin-CMKLR1-PPAR γ 途径, 进而上调其靶基因 adiponectin 并促进其向 OC 分化^[49]。GPR30 作为新型膜雌激素受体, 其调控 OC 分化与骨吸收, 敲除 GPR30 后通过上调 IGF-1 表达促进雌性小鼠骨组织生长发育被显著抑制^[50]。林紫薇^[51]研究发现, 芍药苷的抗骨质疏松作用机制与膜上 GPR30 表达上调后抑制 CTSK、NFATc1、c-Fos、Dc-stamp 等调控的 OC 分化及骨吸收能力密切相关。而作为脂肪酸受体的 GPR40, 当利用 CRISPR-Cas9 技术将其在小鼠 OC 上特异性敲除后, NF- κ B 信号通路中的 κ B 酶抑制剂 (IKK α / β) 被抑制且下调 OC 核内 NFATc1 表达从而抑制 OC 分化及其骨吸收能力^[52]。其分子机制与 GPR40^{-/-}小鼠骨中 NF- κ B 途径及其靶基因 NFATc1 表达上调密切相关, 当 NFATc1 表达上调后促进破骨细胞前体向 OC 分化^[53]。并且, OC 与 OB 之间并非独立存在, 两者之间借 Runx2 来相互影响、调

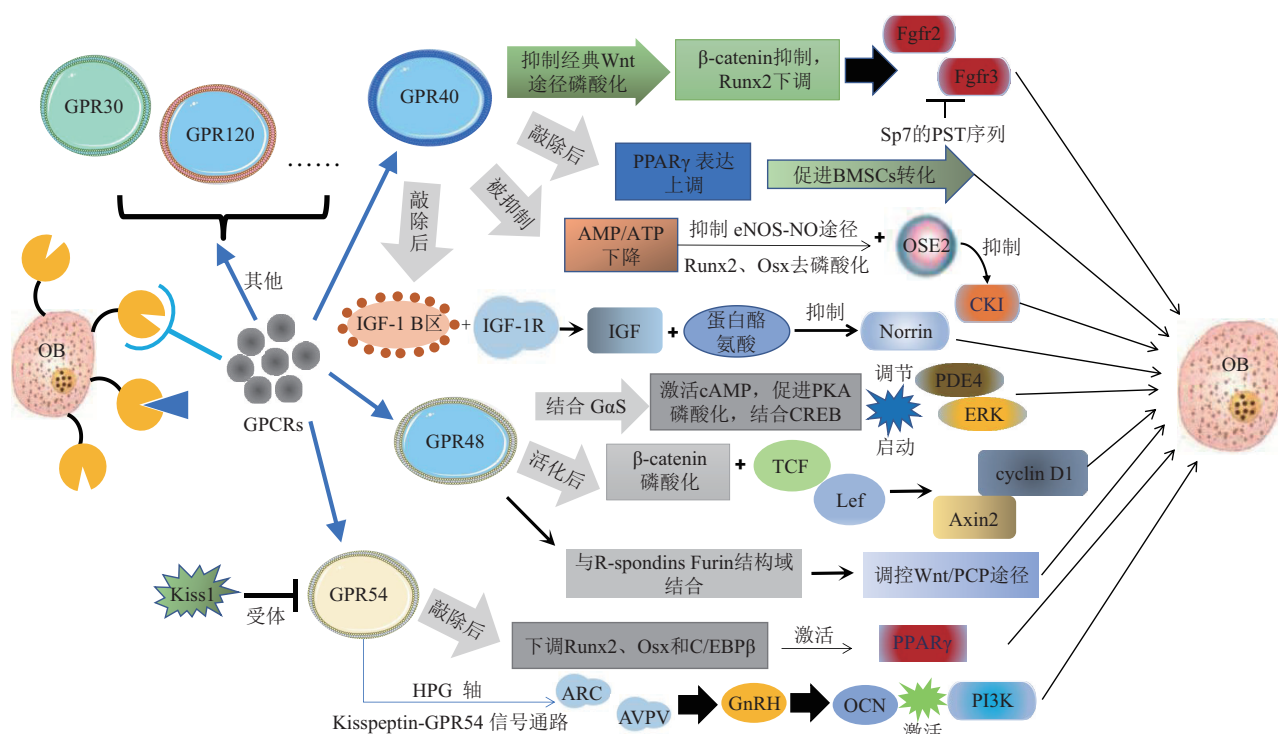


Fig. 1 Schematic diagram of the molecular mechanisms of GPCRs regulating bone formation

图1 GPCRs调控骨形成的分子机制总结示意图

Table 1 Summary of molecular mechanisms of GPCRs regulating bone formation

表1 GPCRs调控骨形成的分子机制汇总表

GPCRs	信号途径	关键分子
GPR40	a. Wnt/β-catenin ^[8] b. PPARγ ^[19] c. AMPK ^[20] d. eNOS-NO ^[20] e. IGF-1 ^[21]	a. Fgfr2、Fgfr3、GSK-3β、SHP-1、β-catenin ^[8] b. AMPK ^[20] c. Runx2、Osx、OSE2 ^[20] d. Norrin ^[20]
GPR48	a. Wnt/β-catenin ^[24] b. cAMP ^[26-27] c. Wnt/PCP ^[29-30] d. Hedgehog	a. R-spondins家族 (Rspo1) ^[24] b. PKA、CREB、CRE、PDE4、ERK ^[26-27] c. cyclinD1、Axin2 ^[29] d. ATF4
GPR54	a. PKC-Runx2 ^[34] b. Wnt/β-catenin ^[35] c. Kisspeptin-GPR54 ^[37]	a. Kisspeptin、PKC、MCIP-1、Runx2 ^[34] b. Runx2、Osx、C/EBPβ、PPARγ ^[36] c. OCN (ucOCN)、PI3K、Akt ^[37-38]
GPR30	a. ERK1/2 ^[43] b. cAMP-PKA-CREB、MAPK (p38, JNK)、PI3K-Akt ^[44]	a. ANP、β-MHC、PSMD11 ^[43] b. G1、G15 ^[44]
GPR120	/	β-arrestin2、TAK1 ^[47]

控。将OB膜上GPR40特异性敲除后，OB分化被抑制的同时Runx2表达下调，进而激活PI3K/Akt途径，上调AP-1、c-myc、c-Src等靶基因表达，促进OC分化^[45]。然而，作为GPCRs另一关键亚型

的GPR48，将其全身敲除后骨生长发育被抑制，后续发现RANKL是其配体，可激活RANK及其介导的Gαq-GSK-3β途径，促进OC分化及融核^[25]（图2，表2）。

GPR54作为GPCRs的关键亚型,其缺失后OC封闭圈染色更亮,肌动蛋白环结构变大^[36]。并且,GPR54介导胞内信号途径(如:磷脂酶C(phospholipase C, PLC)β异构体的活化和磷脂酰肌醇-4,5-双磷酸(phosphatidylinositol-4,5-diphosphate, PIP₂))的水解。而PIP₂被水解成IP3和DAG两个第二信使后,引起下游Ca²⁺动员并作用于花生四烯酸释放,磷酸化ERK1/2和p38MAPK^[32],下调NFATc1表达^[54];而p38MAPK的活化会激活c-Fos途径及关键因子TRAF6表达,促进OC分化^[55]。并且,ERK1/2与p38MAPK之间亦相互作用,p38MAPK抑制剂磷酸化ERK1/2,进而

抑制OC分化、融核^[56]。而Kiss1基因编码的肽类激素Kisspeptin-10(Kp-10)可刺激过表达GPR54CHO细胞张力丝的形成,而此效应被外酶C3负向调控,此刺激效应通过激活小G蛋白Rho亚家族来进行调控。其C端结构域与c-Src SH3结构域相结合后,抑制RANKL蛋白表达和激活Kp-10诱导的c-Src磷酸化,形成RANK/avp3复合物基团来激活Syk-Vav3-Rac1信号通路,调控OC分化和骨吸收^[57](图2,表2)。受限于GPCRs调控骨吸收代谢的相关研究较少,导致其相关分析有限且不深入,但确信GPCRs将是未来生命医学领域的研究靶点和热点。

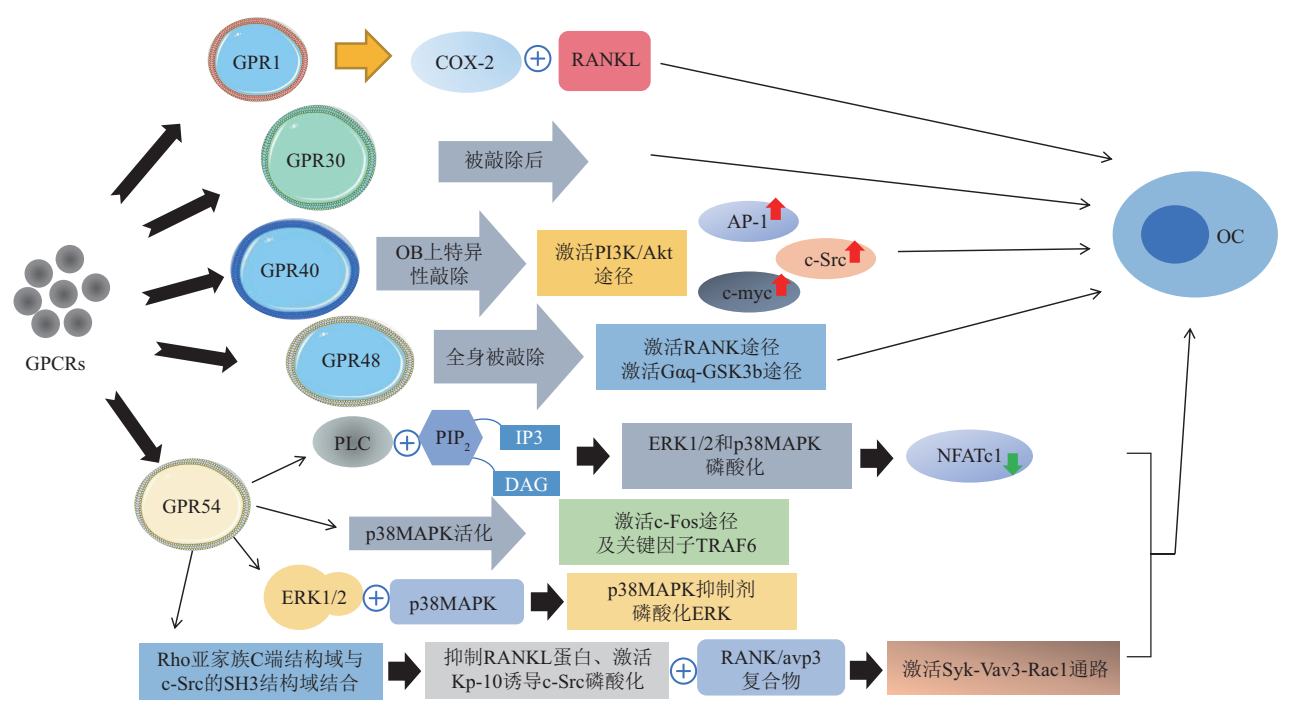


Fig. 2 Schematic diagram of the mechanism of GPCR regulating bone resorption
图2 GPCR调控骨吸收的分子机制总结示意图

Table 2 Summary of molecular mechanisms of GPCRs regulating bone resorption
表2 GPCRs调控骨吸收分子机制汇总表

GPCRs	信号途径	关键分子
GPR1	/	COX-2、RANKL ^[48]
GPR30	/	/
GPR40	a. NF-κB ^[52] b. PI3K/Akt ^[45]	a. IKKα/β、NFATc1 ^[52] b. AP-1、c-myc、c-Src ^[45]
GPR48	a. Gaq-GSK3b ^[25]	a. RANK、RANKL ^[25]
GPR54	a. c-Fos ^[55] b. Syk/Vav3/Rac1 ^[57]	a. p38MAPK、TRAF6 ^[55] b. RANKL、Kp-10、c-Src、RANK/avp3 ^[57]

2 GPCRs在运动影响骨代谢中的作用机制

骨以每年约占总骨量 10% 的速度进行更新, 这种以“吸收-构建”为主要特征的骨动态平衡称为骨重建^[58]。OB 和 OC 的偶联平衡介导骨内环境稳态, 研究证实, 运动训练是改善骨内环境失衡导致代谢紊乱的关键因素。8 周跑台训练使锰超氧化物歧化酶缺乏杂合小鼠骨形成加快, BMD 增加^[59]。对比跑台训练, 震动训练可显著上调大鼠股骨中 OPG 表达从而预防骨质疏松发生^[60]。人体研究亦证实, 16 周瑞士球稳定运动使得慢性腰痛患者 BMD 增加^[61]。综上, 适度运动促进骨形成, 改善骨代谢。

OB 和 OC 膜上 GPCRs 对力学刺激敏感, 可将运动训练对骨产生的力学刺激传入膜内^[62]。有关 GPCRs 调控运动影响骨代谢的相关研究较少, 其中以 GPR48 研究为主。敲除 GPR48 后, 一方面 cAMP/PKA/Atf4 信号通路活性被抑制, 其靶基因 Atf4 表达下调, 导致 OCN、骨涎蛋白和 I 型胶原蛋白等表达下调, 降低骨形成^[63], 另一方面作为 RANKL 受体, GPR48 能通过胞外域 (ECD) 与 RANK 竞争性同 RANKL 结合, 活化 GSK-3 β 和 G α q 途径进而抑制 OC 分化^[64]。在探究运动对 T2DM OC 分化的影响时, 发现下坡跑对 T2DM 小鼠骨产生的直接作用力可激活骨中 GPR48/RANKL 通路, 抑制 RANK 及其下游靶基因胞质活化 T 细胞核因子 c2 (nuclear factor of activated T cells c2, NFATc2) 和组织蛋白酶 K (cathepsin K, CTSK) 表达, 入核后鞘氨醇磷酸酯 (sphingosine 1-phosphate, S1P) 失活, 抑制破骨细胞前体细胞 (osteoclast precursor cells, OCPs) 向 OC 分化及融核, 且其作用效果优于游泳产生的间接作用力^[65]。破骨细胞抑制因子 (osteoclastogenesis inhibitory factor, OPG)/RANKL/RANK 分子轴可借助中枢因子肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TNF receptor associated factor 6, TRAF6) 调节下游 CN/NFAT 和 NF- κ B 途径, 而运动借助 OPG/RANKL/RANK 分子轴和/或其下游 CN/NFAT 和 NF- κ B 途径可抑制 OC 分化及骨吸收^[66]。说明, GPR48 介导下游 CN/NFAT 和 NF- κ B 途径是运动抑制 OC 分化及骨吸收的分子机制。并且, 该研究还对其分子机制网络进行了初探, 认为 TRAF6 介导的 PI3K/Akt、JNK/AP-1、p38MAPK、ERK1/2、LPS、CD40 等是该偶联网络的潜在机制^[67]。GPR48 不仅调控 OC 分

化亦可介导 OB 分化, 并且其作为 7 次跨膜受体可调控 cAMP/PKA、Pitx2、Wnt/ β -catenin 和 BMPs 等信号途径并与其形成分子调控网络, 从而影响 OB 分化及骨形成^[68]。已有研究证实, 运动训练可通过 cAMP/PKA、Wnt/ β -catenin 和 BMPs 等信号途径调控 OB 分化。那么我不禁思考, 运动对细胞产生的力学刺激可能就是以膜上 GPR48 为媒介, 传入膜内来调控以上信号途径及成核结合因子 (core-binding factor α 1, Cbfa1)、PPAR γ 、RANKL、OPG 等关键因子表达, 实现运动促进 OB 分化。另一研究发现, 在运动促进骨形成过程中, GPR48 可通过与 TGF- β /Smads 途径调控 OB 分化。并且, Norrin 作为 GPR48 配体可上调其表达, 磷酸化 BMP-2 的 Ser122 和 Ser132 位点, 使得 Smad1/5/8 激活并与 Smad4 形成磷酸化基团转移入核, 上调靶基因表达来介导运动促进 OB 分化^[69] (图 3)。

GPR30 作为 GPCRs 家族关键成员, 其缺失后小鼠血液中骨吸收生化标志物 CTX 和股骨 BMD 下降^[14]。而 GPR30 可调控骨形成关键蛋白 BMP-6 表达来发挥生物学作用。据此, 当对骨施加运动力学刺激时, 其可通过 GPR30/骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein-6, BMP-6) 途径来磷酸化 Smad2、3、4 并形成磷酸化复合基团, 入核后调控 BMSCs 向 OB 的分化及骨形成 (图 3)。虽然膜上 GPCRs 家族成员较多, 但目前运动医学领域内有关运动通过膜上 GPCRs 介导下游级联信号反应, 进而调控 OB 和/或 OC 分化及骨代谢的相关研究尚待探究, 这也将会是运动医学领域内研究骨细胞内环境稳态或骨代谢平衡分子调控机制的新热点和新靶点。

3 问题与展望

随着有关 GPCRs 生物研究的不断深入, 其在调控 OB 和/或 OC 分化及功能发挥进而影响骨代谢中的关键作用已广为认可。虽已有报道 GPCRs 调控运动影响骨代谢, 但相关研究较少。本研究拓展了 GPCRs 的一个新功能, 即其在运动影响 OB 和/或 OC 分化及功能中的作用机制。国内外体育科学或运动医学领域有关 GPCRs 调控骨代谢的专题研究较少, 仍有很多问题亟待澄清, 例如: a. 还有哪些 GPCRs? 除已证实的 GPR48 外, GPCRs 数量众多, 还有哪些 GPCRs 在运动改善骨代谢中发挥作用, 并且相应的分子调控机制网络仍待揭示。b. 选

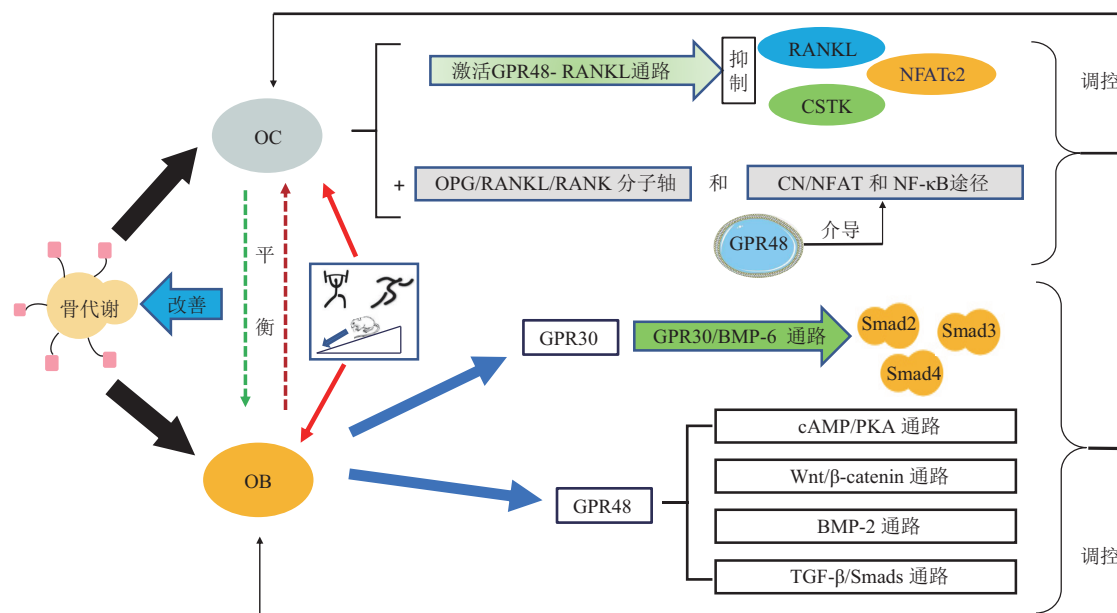


Fig. 3 Schematic diagram of the mechanism of GPCRs in the effect of exercise on bone metabolism

图3 GPCRs在运动影响骨代谢中的作用机制示意图

择何种运动方式及强度? 前人研究已证实运动方式不同对骨代谢产生的效果迥异, GPCRs在此过程中扮演何角色, 且同一运动的强度不同对骨细胞产生的力学刺激差异较大, 所以多大强度可激活GPCRs? c. 是否调控OB与OC之间“crosstalk”? OB与OC之间可借Runx2等关键因子相互交联, 那么GPCRs是否调控此过程且在运动改善骨代谢中是否也具有调控作用呢? 明确以上问题, 将有助于更加充分的熟知运动状态下GPCRs调控骨代谢的分子机制网络, 并为以后体育运动促进骨生长发育以及防治骨质疏松提供理论依据和研究靶点。

参 考 文 献

- [1] Svoboda P. The Nobel Prize for physiology and medicine 1994. Alfred G. Gilman and Martin Rodbell—the role of GTP-binding proteins in signal transfer in the interior of cells. *Cas Lek Cesk*, 1995, **134**(13): 415-417
- [2] Liu Y, Wang X Y, Dong D H, *et al*. Research advances in heterotrimeric G-protein α subunits and uncanonical G-protein coupled receptors in plants. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(16): 8678
- [3] Yang M, Zhang C Y. G protein-coupled receptors as potential targets for nonalcoholic fatty liver disease treatment. *World J Gastroenterol*, 2021, **27**(8): 677-691
- [4] Nishiyama A, Matsuta S, Chaya G, *et al*. Identification of heterotrimeric G protein $\gamma 3$ subunit in rice plasma membrane. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(11): 3591
- [5] Ana A P, Eloi F T, Maria G F, *et al*. Role of Toll-like receptor 4 on osteoblast metabolism and function. *Front Physiol*, 2018, **15**(9): 504-513
- [6] Plotkin L I, Bruzzaniti A. Molecular signaling in bone cells: regulation of cell differentiation and survival. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2019, **116**(6): 237-281
- [7] Suzuki A, Minamide M, Iwaya C, *et al*. Role of metabolism in bone development and homeostasis. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(23): 8992
- [8] Bohinc B N, Gesty P D. Arrestins in bone. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2013, **118**(8): 335-338
- [9] Sutkeviciute I, Vilardaga J P. Structural insights into emergent signaling modes of G protein-coupled receptors. *J Biol Chem*, 2020, **295**(33): 11626-11642
- [10] Lojk J, Marc J. Roles of non-canonical Wnt signalling pathways in bone biology. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(19): 10840
- [11] Sposini S, Frederic G J, Mohammed A A, *et al*. Integration of GPCR signaling and sorting from very early endosomes via opposing APPL1 mechanisms. *Cell Rep*, 2017, **21**(10): 2855-2867
- [12] Hilger D, Kumar K K, Hu H L, *et al*. Structural insights into differences in G protein activation by family A and family B GPCRs. *Science*, 2020, **369**(6503): 3364-3373
- [13] Kostenis E, Pfeil E M, Annala S. Heterotrimeric Gq proteins as therapeutic targets?. *J Biol Chem*, 2020, **295**(16): 5206-5215
- [14] Alhosaini K, Azhar A, Alonazi A, *et al*. GPCRs: the most promiscuous druggable receptor of the mankind. *Saudi Pharm J*, 2021, **29**(6): 539-551
- [15] Luo J, Sun P, Siwko S, *et al*. The role of GPCRs in bone diseases and dysfunctions. *Bone Res*, 2019, **24**(7): 15-19
- [16] Wen Z Q, Liu D, Zhang Y, *et al*. G protein-coupled receptors in osteoarthritis: a novel perspective on pathogenesis and treatment.

- Front Cell Dev Biol, 2021, **27**(9): 758220
- [17] Gatto F, Feelders R, vander Pas R, *et al.* β -Arrestin 1 and 2 and G protein-coupled receptor kinase 2 expression in pituitary adenomas: role in the regulation of response to somatostatin analogue treatment in patients with acromegaly. *Endocrinology*, 2013, **154**(12): 4715-4725
- [18] Chie N, Kishi S, Rina F T, *et al.* Expression of long-chain fatty acid receptor GPR40 is associated with cancer progression in colorectal cancer: a retrospective study. *Oncol Lett*, 2018, **15**(6): 8641-8646
- [19] Yoon D O, Zhao X D, Son D, *et al.* SAR studies of indole-5-propanoic acid derivatives to develop novel GPR40 agonists. *ACS Med Chem Lett*, 2017, **8**(12): 1336-1340
- [20] Santhosh S, Qian Y, Wu M S, *et al.* GPR120 suppresses adipose tissue lipolysis and synergizes with GPR40 in antidiabetic efficacy. *J Lipid Res*, 2017, **58**(8): 1561-1578
- [21] Nishimura Y, Yamakawa D, Uchida K, *et al.* Primary cilia and lipid raft dynamics. *Open Biol*, 2021, **11**(8): 210130
- [22] Alloisio G, Ciaccio C, Fasciglione G F, *et al.* Effects of extracellular osteoanabolic agents on the endogenous response of osteoblastic cells. *Cells*, 2021, **10**(9): 2383-2394
- [23] Shi G X, Zheng X F, Zhu C, *et al.* Evidence of the role of R-Spondin 1 and its receptor Lgr4 in the transmission of mechanical stimuli to biological signals for bone formation. *Int J Mol Sci*, 2017, **18**(3): 564
- [24] Yu H C, Zhang J, Liu X N, *et al.* microRNA-136-5p from bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitates fracture healing by targeting LRP4 to activate the Wnt/ β -catenin pathway. *Bone Joint Res*, 2021, **10**(12): 744-758
- [25] Luo J, Yang Z, Ma Y, *et al.* LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption. *Nat Med*, 2016, **22**(5): 539-546
- [26] Kang Y E, Kim J M, Kim K S, *et al.* Upregulation of RSPO2-GPR48/LGR4 signaling in papillary thyroid carcinoma contributes to tumor progression. *Oncotarget*, 2017, **8**(7): 114980-114994
- [27] Lau W D, Peng W C, Gros P, *et al.* The R-spondin/Lgr5/Rnf43 module: regulator of Wnt signal strength. *Genes Dev*, 2014, **28**(4): 305-316
- [28] Bovbjerg P, Høgh D, Froberg L, *et al.* Effect of PTH treatment on bone healing in insufficiency fractures of the pelvis: a systematic review. *EFORT Open Rev*, 2021, **6**(1): 9-14
- [29] Pichler K, Loreto C, Leonardi R, *et al.* RANKL is downregulated in bone cells by physical activity (treadmill and vibration stimulation training) in rat with glucocorticoid-induced osteoporosis. *Histol Histopathol*, 2013, **28**(9): 1185-1196
- [30] Yoon J S, Lee J H, Kim J S. The effect of swiss ball stabilization exercise on pain and bone mineral density of patients with chronic low back pain. *J Phys Ther Sci*, 2013, **25**(8): 953-956
- [31] Wang T T, Cui X Q, Xie L, *et al.* Kisspeptin receptor GPR54 promotes adipocyte differentiation and fat accumulation in mice. *Front Physiol*, 2018, **12**(9): 209-217
- [32] Zhai L L, Zhao J, Bai Y L, *et al.* Combined effects of obesity and di-(2-ethylhexyl) phthalate on testosterone levels and kisspeptin/GPR54 expression in hypothalamus and testes of male mice. *J Chin Med Assoc*, 2020, **83**(11): 1020-1028
- [33] Wang C H, Qiao C, Wang R C, *et al.* KiSS-1-mediated suppression of the invasive ability of human pancreatic carcinoma cells is not dependent on the level of KiSS-1 receptor GPR54. *Mol Med Rep*, 2016, **13**(1): 123-129
- [34] Huang H J, Xiong Q Q, Wang N, *et al.* Kisspeptin/GPR54 signaling restricts antiviral innate immune response through regulating calcineurin phosphatase activity. *Sci Adv*, 2018, **4**(8): e9784
- [35] Jean-Charles P Y, Kaur S, Shenoy S K. GPCR signaling via β -arrestin-dependent mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2017, **70**(3): 142-158
- [36] Dong F, Call M, Xia Y, *et al.* Role of EGF receptor signaling on morphogenesis of eyelid and meibomian glands. *Exp Eye Res*, 2017, **16**(3): 58-63
- [37] Son H E, Kim K M, Kim E J, *et al.* Kisspeptin-10 (KP-10) stimulates osteoblast differentiation through GPR54-mediated regulation of BMP2 expression and activation. *Sci Rep*, 2018, **17**(8): 2122-2134
- [38] Wang S, Wang H, Liu W, *et al.* Identification of key genes and pathways associated with sex differences in osteoarthritis based on bioinformatics analysis. *Biomed Res Int*, 2019, **23**(6): 348-356
- [39] Pi M, Quarles L D. Multiligand specificity and wide tissue expression of GPRC6A reveals new endocrine networks. *Endocrinology*, 2012, **153**(5): 2062-2069
- [40] Tang H, Zhang Q G, Yang L C, *et al.* GPR30 mediates estrogen rapid signaling and neuroprotection. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, **387**(10): 52-58
- [41] Kang W B, Deng Y T, Wang D S, *et al.* Osteoprotective effects of estrogen membrane receptor GPR30 in ovariectomized rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015, **154**(12): 237-244
- [42] Lodi G, Manfredi M, Mercadante V, *et al.* Interventions for treating oral lichen planus: corticosteroid therapies. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020, **20**(2): 1168-1175
- [43] 孙晓琪. 雌二醇通过 G 蛋白偶联雌激素受体 30 (GPR30)/ERK1/2 信号通路调节 MC3T3-E1 细胞线粒体自噬的分子机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018
- Sun X Q. Effects and Molecular Mechanisms of 17 β -estradiol on Mitophagy in MC3T3-E1 Cells via G Protein-coupled Estrogen Receptor 30 (GPR30) and the ERK1/2 Signaling Pathway[D]. Shenyang: China Medical University, 2018
- [44] 康文博. 雌激素膜受体 GPR30/GPER1 在骨质疏松治疗中的作用与机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2016
- Kang W B. Osteoprotective Effects of Estrogen Membrane Receptor GPR30/GPER1 in Ovariectomized Rats[D]. Shanghai: Second Military Medical University, 2016
- [45] Zhang K, Hu Z M, Qi H X, *et al.* G-protein-coupled receptors mediate ω -3 PUFAs-inhibited colorectal cancer by activating the Hippo pathway. *Oncotarget*, 2016, **7**(36): 58315-58330
- [46] 唐晓露. 罗格列酮通过 PPAR γ 和 GPR40 抑制小鼠颅骨成骨细

- 胞增殖和分化的机制研究//中国生理学会. 中国生理学会第24届全国会员代表大会暨生理学学术大会论文汇编. 北京: 中国生理学会, 2014: 335
- Tang X L. Mechanism of rosiglitazone inhibiting the proliferation and differentiation of mouse calvarial osteoblasts through PPAR γ and GPR40//Chinese Physiological Society. Proceedings of the 24th National Member Congress and Physiological Academic Conference of Chinese Physiological Society. Beijing: Chinese Physiological Society, 2014: 335
- [47] Sundström L, Myhre S, Sundqvist M, *et al.* The acute glucose lowering effect of specific GPR120 activation in mice is mainly driven by glucagon-like peptide 1. *PLoS One*, 2017, **12**(12): e0189060
- [48] Coutant F. Shaping of monocyte-derived dendritic cell development and function by environmental factors in rheumatoid arthritis. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(24): 13670
- [49] 郭耀. 辛伐他汀抑制骨髓间充质干细胞成脂分化的机制研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2020
- Guo Y. Mechanism Research of Simvastatin Inhibiting Adipogenic Differentiation of Bone Mesenchymal Stem Cells[D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2020
- [50] Masuhara M, Tsukahara T, Tomita K, *et al.* A relation between osteoclastogenesis inhibition and membrane-type estrogen receptor GPR30. *Biochem Biophys Res*, 2016, **16**(8): 389-394
- [51] 林紫微. 芍药苷抗骨质疏松效应及其GPR30相关机制探讨[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019
- Lin Z W. Anti-osteoporosis Effect of Paeoniflorin and its GPR30-Related Mechanism[D]. Njing: Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2019
- [52] Ren L R, Wang Z H, Wang H, *et al.* Staphylococcus aureus induces osteoclastogenesis via the NF- κ B signaling pathway. *Med Sci Monit*, 2017, **23**(8): 4579-4590
- [53] Fabien W, Claire P, Laurent L, *et al.* The free fatty acid receptor G protein-coupled receptor 40 (GPR40) protects from bone loss through inhibition of osteoclast differentiation. *J Biol Chem*, 2013, **28**(9): 6542-6551
- [54] Sun X C, Zhang C X, Guo H, *et al.* Pregnenolone inhibits osteoclast differentiation and protects against lipopolysaccharide-induced inflammatory bone destruction and ovariectomy-induced bone loss. *Front Pharmacol*, 2020, **11**(4): 360-368
- [55] Qi B, Cong Q, Li P, *et al.* Ablation of Tak1 in osteoclast progenitor leads to defects in skeletal growth and bone remodeling in mice. *Sci Rep*, 2019, **21**(4): 7158
- [56] Lee K H, Seo I, Choi M H, *et al.* Roles of mitogen-activated protein kinases in osteoclast biology. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(10): 3004
- [57] Son H E, Kim K M, Kim E J, *et al.* Kisspeptin-10 (KP-10) stimulates osteoblast differentiation through GPR54-mediated regulation of BMP2 expression and activation. *Sci Rep*, 2018, **13**(8): 2134-2145
- [58] Allistont, Derynck R. Interfering with bone remodeling. *Nature*, 2002, **36**(12): 686-687
- [59] Baur A, Henkel J, Bloch W, *et al.* Effect of exercise on bone and articular cartilage in heterozygous manganese superoxide dismutase (SOD2) deficient mice. *Free Radic Res*, 2011, **45**(5): 550-558
- [60] Mario G, Stefaan W V, Damien L, *et al.* In silico bone mechanobiology: modeling a multifaceted biological system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Boil Med*, 2016, **8**(6): 485-505
- [61] 罗剑. G蛋白偶联受体GPR48在小鼠骨发育中的功能研究[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2007
- Luo J. Studies on Function of G-protein Coupled Receptors GPR48 in Mice Bone Development[D]. Changsha: Hunan Normal University, 2007
- [62] Bringmann H. G protein regulator 1 (GPR-1) localizes to cortical sites of artificial mechanical indentation in caenorhabditis elegans zygotes. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2012, **69**(10): 819-825
- [63] Jennifer J H, Gerard C B. Dichotomous roles of TGF- β in human cancer. *Biochem Soc Trans*, 2017, **44**(5): 1441-1454
- [64] Jules J, Yang S, Chen W, *et al.* Role of regulators of G protein signaling proteins in bone physiology and pathophysiology. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2015, **133**: 47-75
- [65] 陈祥和, 孙朋, 杨念恩, 等. 运动上调GPR48-RANKL通路影响2型糖尿病小鼠破骨细胞分化. 成都体育学院学报, 2017, **43**(3): 90-95
- Chen X H, Sun P, Yang N E, *et al.* Journal of Chengdu Sport University, 2017, **43**(3): 90-95
- [66] Yu J, Yun H, Shin B J, *et al.* Interaction of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6) and Vav3 in the receptor activator of nuclear factor κ B (RANK) signaling complex enhances osteoclastogenesis. *J Biol Chem*, 2016, **291** (39): 20643-20660
- [67] Wu X H, Zhao K X, Fang X X, *et al.* Inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammatory bone loss by Saikosaponin D is associated with regulation of the RANKL/RANK pathway. *Drug Des Devel Ther*, 2021, **15**(4): 4741-4757
- [68] Rodriguez R, Herber C B, Krause W C, *et al.* Chronic stimulation of arcuate Kiss1 neurons decreases bone mass in female mice. *J Endocr Soc*, 2021, **25**(7): 221-232
- [69] 陈祥和, 杨康, 赵仁清, 等. 运动调控骨代谢的关键膜上受体-G蛋白偶联受体48. 中国骨质疏松杂志, 2018, **24**(8): 1114-1120
- Chen X H, Yang K, Zhao R Q, *et al.* Chinese Journal of Osteoporosis, 2018, **24**(8): 1114-1120

Role of GPCRs in The Effect of Exercise on Bone Metabolism*

CHEN Xiang-He**, LIU Bo, LU Peng-Cheng, QIU Xiao, ZHOU Xiang-Xiang, ZENG Xin-Yu

(College of Physical Education, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract The bone formation metabolism dominated by osteoblasts (OB) has been restrained and the bone resorption metabolism dominated by osteoclasts (OC) is abnormally elevated, leading to bone metabolism disorders. As the key seven-transmembrane proteins that sense external signal stimuli in OBs, chondrocytes and OCs, G protein-coupled receptors (GPCRs) have been widely recognized by bone in their key regulatory roles in the differentiation and function of OBs, chondrocytes and OCs. Thus, those research results have got more attention in metabolism field. Loss of GPCRs function or abnormal increase in the homeostasis of the osteocyte homeostasis leads to the differentiation and dysfunction of OB, chondrocytes and OC, which results in bone loss and degeneration of the microstructure of bone tissue. Studies have shown that exercise is an important way to improve bone metabolism disorders by promoting bone formation and inhibiting bone resorption. The analysis found that the molecular regulation mechanism of this process is related to the key signaling pathways (cAMP/PKA/Atf4, JNK/AP-1, ERK1/2, *etc.*) and cytokines (T-PINP, Nkx3.2, Sox9 and Cleaved-caspase-3, *etc.*) are closely related to the differentiation and function of OB, chondrocytes and OC. Except from the confirmed GPR48, this review tested out the molecular mechanism of GPCRs regulating bone formation and bone resorption and their role in the effect of exercise on bone metabolism. The mechanism of other GPCRs in the improvement of bone metabolism by exercise has yet to be revealed on what kind of exercise mode and intensity can effectively regulate GPCR and improve bone metabolism and so on. The results help to screen out sensitive GPCRs on membranes as “effectors” for drug development of bone metabolic diseases and “star proteins” for mechanical stimulation in exercise intervention and provide more targets or perspectives for the research and prevention of osteoporosis.

Key words G protein coupled receptor, G protein, exercise, bone formation, bone resorption

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0024

* This work was supported by grants from The China Postdoctoral Science Foundation (2021T140580, 2019M661957), Yangzhou University “High-end Talents Support Program”, and Yangzhou University “Qinglan Project” Training Object.

** Corresponding author.

Tel: 86-13665296887, E-mail: huashixh@163.com

Received: January 15, 2022 Accepted: February 21, 2022