



运动通过调节骨自噬途径防治骨质疏松症的作用及可能机制*

代新宇¹⁾ 李 斌²⁾ 靳 丹¹⁾ 衣雪洁^{1,3)} 黄睿奇¹⁾ 高海宁^{1)**}

(¹⁾ 沈阳体育学院运动健康学院, 沈阳 110115; ²⁾ 沈阳体育学院运动训练学院, 沈阳 110115;

³⁾ 沈阳体育学院运动与健康研究中心, 沈阳 110115)

摘要 自噬 (autophagy) 是一种溶酶体降解途径, 可调节多种骨细胞 (包括成骨细胞、骨细胞和破骨细胞) 的增殖、分化和凋亡功能, 深度参与骨重塑过程。近年来, 自噬在骨质疏松症及相关骨代谢疾病进程中所发挥的作用越来越受到重视, 已成为该领域的研究热点。总结已有研究发现, 衰老、氧化应激、雌激素缺乏和糖皮质激素治疗等因素会导致自噬活动异常, 破坏骨重塑平衡, 诱发骨质疏松。运动作为防治骨质疏松症的有效手段, 可提高骨生物力学性能、增加骨密度, 然而目前研究对于运动、骨自噬、骨质疏松之间的关系仍不清晰, 运动通过骨自噬途径改善骨质疏松症可能成为一种新的分子调节机制。基于此, 本文综述了运动防治骨质疏松症过程中骨细胞的自噬变化, 以期揭示自噬在运动改善骨质疏松症中的作用及可能分子机制, 为从自噬角度探寻防治骨质疏松症的临床干预手段提供参考。

关键词 骨质疏松症, 自噬, 运动, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白, 单磷酸腺苷活化蛋白激酶

中图分类号 R681, Q4

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0419

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种以骨量低下、骨组织微结构损坏, 导致脆性增加, 易发生骨折为特征的全身性骨病。随着国内外人口老龄化加剧, OP 患病率急剧增长, 骨质疏松会导致骨重塑失衡, 骨吸收大于骨形成, 骨细胞降解增多, 致使骨量严重丢失。截至2020年底, 估算中国 OP 患病人数约为9 000万^[1], 骨质疏松性骨折成为老年患者致残和致死的主要原因之一, 为此, OP的防治亟待解决。自噬 (autophagy) 有助于清除和更新受损或衰老的细胞器, 以维持细胞的稳态^[2]。研究表明, 自噬会显著影响成骨细胞 (osteoblast, OB)、骨细胞 (osteocyte, OST) 和破骨细胞 (osteoclast, OC) 的功能和活性, 以调节骨代谢^[3-5]。适宜的细胞自噬可通过正向调节骨细胞的增殖与分化, 提高骨组织密度, 改善骨微结构, 反之, 自噬相关基因表达紊乱则会导致 OC 和 OB 功能障碍, 与多种骨病相关。衰老是导致 OP 发病最重要的因素之一, 而自噬相关蛋白的表达在衰老过程中普遍下降^[6]。此外, 氧化应激、雌激素缺乏和糖皮质激素等因素会导致自噬活动异常,

破坏骨重塑平衡^[7]。以上研究结果提示, 自噬在 OP 的发生和发展中起重要作用。适度运动是防治 OP 的有效手段, 可改善骨代谢、提高骨生物力学性能、增加骨密度^[8], 运动通过调节骨自噬途径有望成为一种新的分子调节机制, 为 OP 的防治提供科学基础。然而, 目前相关研究较为鲜见, 且已有的研究在揭示运动通过自噬途径改善 OP 的作用机制方面尚不够深入。为此, 本文梳理并归纳运动防治 OP 过程中骨细胞自噬变化, 以期揭示自噬在运动改善 OP 中的作用及其可能的分子机制, 为未来的防治策略、理论研究方向和靶点提供新的思路。

1 骨质疏松症相关自噬功能障碍

1.1 骨组织细胞中的自噬

自噬是一种溶酶体降解途径, 主要功能为回收

* 国家自然科学基金 (12072202) 和辽宁省教育厅2023年基本科研项目 (JYTMS20231332) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 024-86930551, E-mail: 45208373@qq.com

收稿日期: 2023-11-01, 接受日期: 2024-01-02

不必要的细胞器官和过量的营养物质,并消除代谢废物和细胞内病原体^[9]。细胞自噬的过程由自噬启动、成核、内膜延伸、自噬体成熟及自噬-溶酶体降解构成。自噬始于自噬蛋白复合体Unc-51类自噬激活激酶1(Unc-51-like kinase 1, ULK1)的形成,被激活的ULK1招募第二个关键蛋白质复合体Beclin-1,形成吞噬体的膜片段,随后自噬相关基因编码蛋白(autophagy-related proteins, ATGs)被依次激活,参与吞噬体的扩展延伸,ATG蛋白聚集并形成稳定的复合体,促进微管相关蛋白1A/1B-轻链3(microtubule-associated-protein light-chain-3, LC3I)与磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)结合形成LC3II,融入吞噬体膜,LC3II、ATG蛋白复合体和泛素化结合蛋白SQSTM1(sequestosome 1, p62)相互作用,共同促进自噬体的延伸闭合至成熟。最后,自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体,将细胞内大分子降解为氨基酸、脂类、核苷酸和能量后释放供细胞再利用,同时,这些产物又可发挥负反馈作用重新激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)复合物1(mTORC1),从而逐渐终止自噬过程,避免在营养不足时自噬过度激活^[9-10]。

在正常生理情况下,细胞内通常维持着较低水平的自噬,有助于清除和更新受损或衰老的细胞器,维持细胞的稳态。在衰老、营养缺乏、缺氧、蛋白质折叠错误或聚集、氧化应激等刺激下会诱导自噬活动增强,降解受损的细胞器,供细胞重新回收利用(图1)。

骨组织主要由矿化的骨基质和细胞成分组成,细胞成分包括骨祖细胞、OB、OC和OST,骨组织细胞间的共同作用使骨组织处于破坏与重构的动态平衡状态^[11]。自噬是骨基质矿化和骨吸收所必需的^[4, 12],能显著影响OB、OST和OC的功能和活性。Zahm等^[13]首次报道了人和大鼠的骨细胞在体内发生了自噬,并且自噬活性受环境因素调节,其中氧化应激、缺氧、饥饿、激素变化,甚至微重力环境均可以激活自噬关键蛋白分子^[14-16],mTOR和单磷酸腺苷活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)是自噬通路的关键信号传感器之一。在营养充足的条件下,mTORC1可通过磷酸化ULK1/2和ATG13负调控ULK1,抑制自噬;在饥饿条件下,mTORC1失活,导致ULK1活化,ATG13和FIP200

磷酸化,诱导自噬启动^[17]。单磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)可结合激活AMPK^[18],后者磷酸化TSC1/2复合物,间接抑制mTORC1。另外,AMPK磷酸化后,激活ULK1,进而诱导自噬。研究表明,自噬通过调节OST的分化、增殖等影响骨代谢过程。

自噬与OB的分化和矿化密切相关。在自噬液泡中,研究人员鉴定出了羟基磷灰石晶体,这是一种在人体骨骼中天然存在的矿物质,抑制自噬后阻断了OB内矿物质的运输^[19]。多种自噬相关蛋白可直接影响OB的生物学功能,例如:在体外环境中敲除自噬相关蛋白(Beclin-1、ATG7、ATG5、Fip200)基因导致成骨矿化不足,抑制骨形成,骨量减少。氧化应激与细胞自噬活性呈负相关,研究发现,适度抑制mTOR磷酸化可提高OB的自噬活性,促进其增殖分化^[20]。高氧化应激会通过mTOR途径抑制OB的自噬水平^[21],导致细胞氧化损伤。此外,过氧化氢诱导内质网应激,抑制内质网关键信号分子GRP78或者蛋白激酶R样内质网激酶导致OB自噬受阻,凋亡增加^[22]。雌二醇通过调节自噬来保护OB免受凋亡,这种保护作用可能与其抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生、刺激谷胱甘肽还原酶的活性、上调热休克蛋白和B淋巴细胞瘤2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)的表达有关,部分是通过细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)/mTOR信号轴实现的。相关成骨生长因子骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)、叉头转录基因(Forkhead box O, FoxO)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IFG)等也可通过激活AMPK通路及自噬相关蛋白调节自噬^[23-24]。

此外,自噬也被证实对OC的骨吸收有促进作用。研究发现,自噬蛋白ATG5、ATG7、ATG4B和LC3通过引导溶酶体与质膜融合形成,参与溶酶体内容物向细胞外空间的极化分泌,对OC褶皱缘的形成、OC的分泌功能和骨吸收功能发挥重要作用。在体外糖皮质激素(glucocorticoids, GCs)诱导的高氧化应激条件下,自噬增加,以减少细胞压力,从而保护OC的生成和存活,使用自噬抑制剂(氯喹)可抑制体外OC的生成并减弱骨吸收。自噬还与OC相关的几个主要通路相互作用,进而影响OC的增殖、分化和成熟。在缺氧条件下激活低氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)/

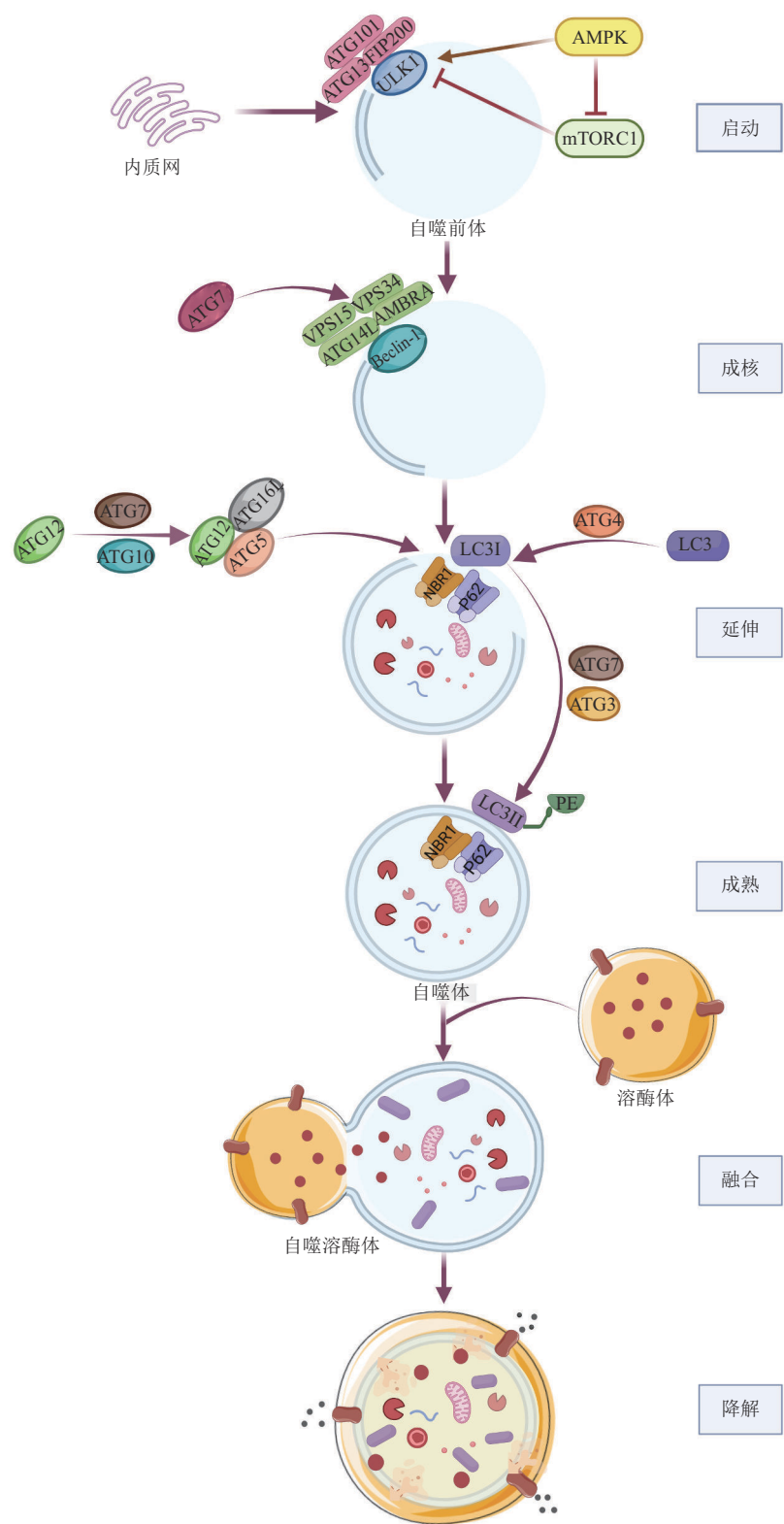


Fig. 1 Molecular mechanisms of autophagy
图1 自噬的分子机制

腺病毒 E1B19kDa 相互作用蛋白 3 (BCL2 and adenovirus E1B 19-kDa-interacting protein 3, BNIP3) 通路可上调 *Beclin-1* 等自噬相关基因的表达, 使 OC 活性提高, 促进骨吸收^[25]; 骨保护素激活的 AMPK/mTOR 信号通路可抑制自噬, 减弱 OC 的活性^[26]; 饥饿条件下, G 蛋白偶联受体激酶相

相互作用蛋白1通过破坏Beclin-1与Bcl-2的结合,促进OC的自噬^[27];自噬也可通过炎症途径介导OC的分化与功能,如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 激活核因子 κ B (nuclear factor

κ B, NF- κ B) 信号,促进OC的生成和骨吸收。这些证据表明,骨组织细胞中的自噬对维持骨骼的动态平衡至关重要(图2)。

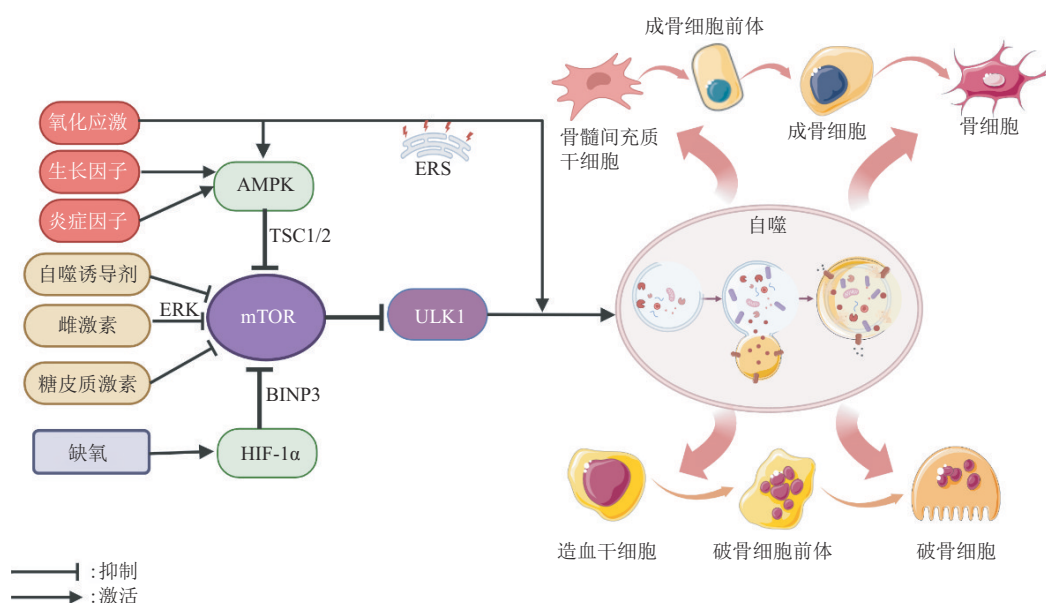


Fig. 2 Autophagy in bone tissue cells
图2 骨组织细胞中的自噬

1.2 自噬通过介导骨组织细胞分化调节骨质疏松症

老年性OP是多种因素共同作用的结果,主要表现为OB活性下降,OC活性增加,促进骨吸收,进而导致骨质流失。一方面,随着年龄增长,骨重建失衡,骨吸收/骨形成比值增高,从而引起进行性骨丢失;另一方面,衰老导致自噬水平普遍下降^[28],激素缺乏导致免疫系统处于低度活化状态,促进炎症反应,诱导自噬相关蛋白参与炎症信号的传递,负向调节骨形成^[29-30];此外,随着年龄增长和相关疾病的发生,糖皮质激素的治疗和氧化应激

也会抑制自噬,促使骨强度下降^[1]。总之,衰老、氧化应激、雌激素缺乏和GCs等因素会导致自噬活动异常,进而破坏骨重塑平衡,出现病理状态,诱发OP(图3)。

1.2.1 自噬介导成骨细胞分化调节骨质疏松症

OB来源于间充质干细胞的单核细胞,主要功能是合成、分泌和矿化骨基质,矿化后的骨基质进一步分化为骨细胞,骨细胞嵌入骨基质中,形成细胞网络,对骨骼重建起调节作用。Liu等^[31]和Nollet等^[32]证明,自噬在OB分化和矿化过程中增加,促进骨形成。

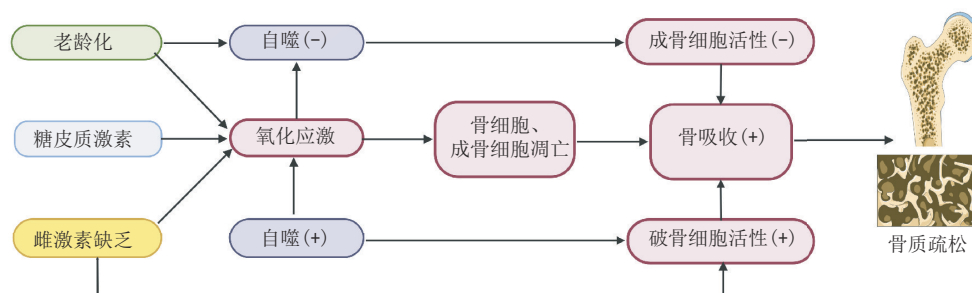


Fig. 3 Autophagy and osteoporosis
图3 自噬与骨质疏松

随着年龄的增长, 氧化应激被认为是骨质疏松中OB成骨受损的关键起始因素。在氧化应激条件下, 氧自由基大量增加, 细胞内的内质网和线粒体受损, 使自噬双层膜延伸阶段受阻, 导致细胞自噬受到抑制^[33], 致使成骨分化减弱, 促使了OP的发生^[34]。Atg7基因编码一种E1类酶, 参与两个泛素类蛋白结合系统, 在自噬体形成过程中发挥积极作用。Onal等^[28]研究表明, 在6月龄小鼠中, 敲除Atg7基因抑制自噬后, 小鼠OB数量减少, 氧化应激水平升高, 表现出与野生型老年小鼠相似的低骨重塑率; 与其类似的研究结果发现, OB特异性缺失Atg5导致OB特异性自噬缺陷, 其表型类似于老年性低骨量, 且自噬缺陷的OB氧化应激水平和NFKB1受体激活剂(TNFSF11/RANKL)分泌增加^[32]。此外, 通过诱导内质网应激途径的早期自噬可减轻OB的氧化损伤以缓解骨质疏松^[35]。氧化应激条件下OB自噬功能受损可能是导致年龄相关的骨质流失的重要因素。

此外, 绝经后中年和老年妇女体内雌激素水平显著下降, 抗氧化能力减弱, 炎症反应增强, 骨骼内ROS过度积累及大量炎症因子表达, 从而抑制OB的增殖、分化和骨基质的矿化, 骨重塑失衡, 导致骨密度减少, 引发骨质疏松。研究表明^[36], 大鼠卵巢切除后, 胫骨近端OB及OST自噬水平增加, 骨量减少, 抗氧化生物标志物(T-AOC、SOD和CAT活性)表达下降。Tang等^[37]发现, 卵巢切除的大鼠术后6周胫骨OB自噬增加, 而给予雌二醇治疗的大鼠自噬水平恢复, 骨量的减少得以缓解。以上提示, 卵巢切除后一段时间内的自噬激活可能是骨量流失条件下对急性炎症和应激的反应机制。因此, 可以通过雌激素调节细胞自噬和氧化应激水平来预防绝经后引起的骨质流失, 但其作用机制还需进一步探索。

GCs诱导的骨质疏松症(GIO)是GCs治疗后常见的临床并发症。GCs可以通过自噬途径调节OB和OST的活性^[38-39], 负向调节骨代谢。但研究发现, 低剂量和适宜的时间作用下, GCs诱导的OB自噬具有积极作用, 高剂量的GCs则会加速OB的凋亡, 损害骨骼健康^[40-41]。因此, GIO条件下的自噬是否对OB有益仍然是一个存在争议的问题, 主要受自噬与凋亡之间的串扰以及GCs剂量两个因素影响。

OB由骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)分化而来, BMSCs的数量随

年龄的增长而下降, 并表现出退行性特征, 包括成骨分化能力降低、成脂分化能力增加、增殖能力降低。研究发现: 老龄小鼠BMSCs的自噬活性明显低于幼龄小鼠^[42], 自噬抑制剂3-MA(III类磷酸酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)抑制剂)降低了幼年小鼠BMSCs的成骨分化和增殖能力, 使其表现出骨质疏松; AMPK通过早期抑制mTOR和晚期激活Akt/mTOR信号通路来控制人BMSCs的成骨分化^[43], 而雷帕霉素(rapamycin, Rap)治疗可增强老年间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSCs)成骨分化能力, 提高骨密度。另外有研究发现, 自噬可保护BMSCs免受氧化应激损伤^[44], 说明自噬参与维持BMSCs的增殖及成骨分化功能并减少细胞凋亡, 通过调节BMSCs的自噬水平可能成为治疗或预防OP的靶点。

1.2.2 自噬介导破骨细胞分化调节骨质疏松症

OC是唯一已知的来源于单核-巨噬细胞谱系前体的骨吸收细胞, 自噬参与调节OC分化成熟的各个阶段, 可促进OC的增殖分化和迁移功能, 并抑制其凋亡。

研究表明, 自噬相关蛋白参与OC分化和功能^[45-46]。核因子 κ B受体活化因子配体(Receptor activator of nuclear factor κ B ligand, RANKL)通过介导人微管相关蛋白轻链3B(MAP1LC3B, LC3B)和p62蛋白使其分别在骨髓源性巨噬细胞和OC形成过程中表达增加, 并且成熟的OC在体内表现出自噬激活^[47], 这表明RANKL可在OC分化过程中诱导自噬。另有研究发现, 与OC功能相关的Rab7蛋白在OC皱褶缘中的存在是由自噬蛋白ATG5介导的。在RANKL作用下, Beclin-1可直接被泛素化并被肿瘤坏死因子受体相关因子6(receptor associated factor 6, TRAF6)激活以诱导自噬, 同时产生一定量的含氧自由基促进这一过程^[48], 而当自噬被抑制后, OC的生成受阻, 这主要是由于肿瘤坏死因子受体相关因子3(tumor necrosis factor receptor associated factor 3, TRAF3)的降解减少导致, TRAF3通过抑制典型和非典型的NF- κ B信号传导阻止OC分化^[49-50]。Deselm等^[46]发现, 抑制自噬或缺乏自噬相关因子(如ATG5、ATG7、ATG4B、LC3)可以导致OC功能障碍, 骨吸收能力降低。此外, 沉默造血细胞前体中的Atg7基因会抑制OC标志物的表达。GCs会诱导OC活性升高, 抑制骨形成, Lin等^[40]发现, 特

异性敲除小鼠的 *Atg7* 基因后, 自噬失活, OC 分化被抑制, 骨吸收减弱, 有效改善了 GCs 和卵巢切除术诱导的 OP, 这些发现同前文表述的一致, 说明高剂量的 GCs 可能会损害骨活性因子, 使其无法保持骨量和骨强度。Rap 可以通过抑制 OC 分化过程中 mTORC1 和 AMPK 信号通路蛋白的表达来增强自噬^[51], 此外, Rap 通过减少 OC 数量, 激活 OST 自噬, 减轻了老年雄性骨质疏松大鼠的骨质流失^[52]。另有研究表明, 二甲双胍能激活 AMPK 并诱导自噬, 还可刺激 OB 的矿化、阻止体外 OC 的分化, 降低 OB 中 RANKL 并刺激骨保护素表达, 抑制卵巢摘除 (ovariectomized, OVX) 大鼠模型的骨质流失。以上结果提示, 自噬在 OC 分化和骨吸收功能的各个环节中发挥着重要作用, 目前研究表明, 自噬相关蛋白对生成 OC 的皱褶边界过程很重要, 其既参与了 OC 溶酶体内容物的极化分泌^[53], 也可促进 OC 前体向 OC 的分化^[54], 说明自噬在 OP 等骨相关疾病中发挥关键作用。

1.2.3 自噬介导骨细胞分化调节骨质疏松症

OST 是 OB 的终末分化状态, 并嵌入矿化骨基质中。OST 也会发生自噬现象, 有研究表明, 与大鼠胫骨细胞表面的 OB 相比, LC3 在 OST 中的表达更高, 此外, 体外研究表明, 分化程度越高的 OST 具有更高的自噬通量^[55]。自噬可以抵抗缺氧或高剂量 GCs 条件下对 OST 造成的损伤, 抑制 OST 的自噬可能会导致骨代谢紊乱, 促使骨质疏松的发生。但低剂量的 GCs 可诱导自噬, 恢复 OST 功能^[39, 42]。Chen 等^[6]发现, 随着年龄的增长, 啮齿类动物 OST 中 LC3II、LC3II/I、Beclin-1 和 Ulk-1 的表达降低, 而 SQSTM1/p62 和细胞凋亡增加, 这表明, OST 自噬功能随着年龄的增长而退化, 这种自噬功能的衰退可能是导致骨质流失的重要原因之一。雌激素缺乏会减少 OST 自噬, 使用雌激素替代药物干预后提高了牙槽突 OST 自噬水平, 并抑制细胞凋亡, OST 活性提高^[56], 促进了骨骼中矿化骨基质的形成, 使骨量增加, 骨骼强度提高, 从而缓解骨质疏松症状。缺氧条件下, 维生素 D 会诱导 OST 发生自噬^[57], 通过清除受损的细胞器和蛋白质, 维持细胞内稳态, 提高 OST 活性, 以减少细胞凋亡。这些结果提示, 自噬在 OST 中具有积极作用, 是维持 OST 活性的重要保护机制, 通过诱导 OST 自噬提高 OST 活性, 调节骨重塑可能是治

疗 OP 的有效策略。

2 运动通过改善自噬功能防治骨质疏松症

在 20 世纪 80 年代科学家首次在运动干预后的动物肝脏和骨骼肌中观察到自噬空泡的数量和大小增加^[58-59], 证明了运动过程中自噬发生了变化。近些年来随着研究的不断深入, 人们逐渐认识到运动诱导的自噬激活对代谢的益处。大量研究表明, 在人类和啮齿类动物的肌肉、肝脏、心脏、胰腺和脂肪等组织中, 运动会引起自噬激活^[60-63]。如前所述, OP 的发生发展与自噬功能相关, 改善自噬活性可能是 OP 的潜在防治策略。运动可改善骨代谢紊乱, 同时刺激细胞自噬水平的提升, 那么骨组织作为力学敏感器官, 则可能通过机械应力刺激影响 OST 的信号通路、激素分泌和氧化应激等过程, 从而调节骨自噬并改善 OP。然而, 这个假设仍需进一步验证。

2.1 运动诱发骨自噬的分子调控机制

运动可引起机体内氧化应激、能量失衡、蛋白质去折叠和细胞内钙离子增加, 进而激活自噬。在骨内, 不同强度的运动会激活 ROS、PI3K、AMP 等信使。这些信使发出下游级联信号, 进而诱导自噬以恢复体内动态平衡。在运动过程中, AMP、PI3K 和 ROS 产生的增加分别激活它们的下游效应器, AMPK、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 和 p38 丝裂原激活蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK), 这些分子反过来导致了自噬途径的激活^[64-66]。AMPK 的激活会抑制 mTOR 活性, 并使 ULK1 在不同的位点上磷酸化, 诱导自噬发生。AMPK 和 p38 上调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活剂 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1-alpha, PGC-1 α) 的活性, 激活细胞核内的转录因子, 使自噬和溶酶体基因增加^[67]。二者共同激活 FoxOs^[68-69], FoxOs 的转录活性控制着包括自噬在内的细胞过程^[70], 可作用于自噬关键蛋白, 同时 FoxOs 蛋白在 OST 中都有表达。运动还可通过 PI3K/Akt 信号通路调节 mTORC1、FoxO1、PGC-1 的表达, 最终在 OST 的分化增殖过程中发挥作用, 调控骨代谢。此外, BMPs 信号通路和长链非编码 RNA 在运动刺激下也对 OST 的增殖分化及自噬进程发挥一定作用 (图 4)。

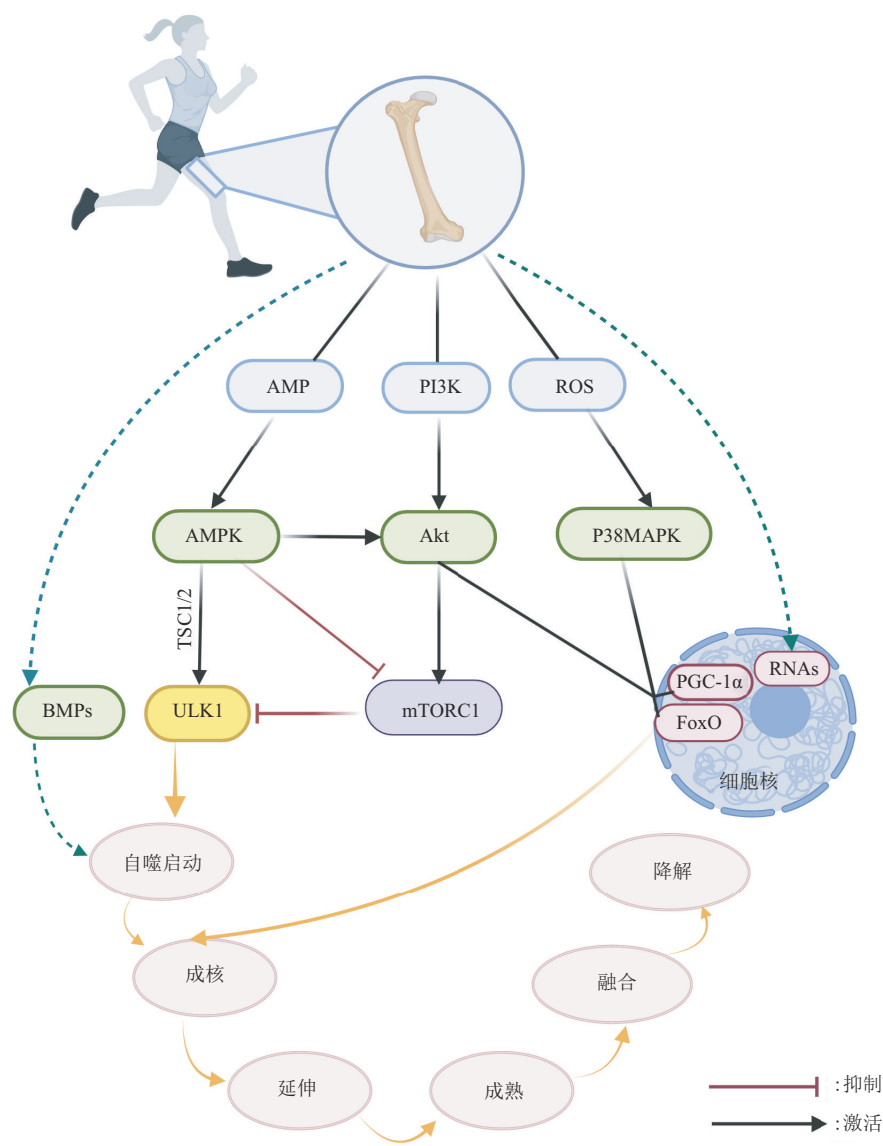


Fig. 4 Exercise-mediated bone-associated autophagic signalling pathways
图4 运动介导的骨自噬相关信号通路

2.2 运动介导的骨自噬相关信号通路

2.2.1 AMPK、AMPK/mTOR信号通路

AMPK 信号通路是自噬的经典信号通路^[71], 作为细胞内能量状态的关键传感器, 对于调节自噬、维持胞内能量稳态、减少氧化应激具有重要意义。通常生理情况下, 细胞内的 AMPK 处于无活性状态, 运动过程中, AMP/ATP 比值升高, 激活 AMPK 信号通路, AMPK 进而磷酸化 TSC2 的 Thr1227 位点或 Ser1345 位点, 促进 TSC2 的活性, 抑制 mTORC1 和激活 ULK1 启动自噬^[18], 促进线粒体 ATP 合成。此外, AMPK 可直接磷酸化 mTOR 的 Thr2246 位点, 失活其所在的复合物, 阻止 Akt

介导的 mTOR Thr2246 位点的磷酸化, 导致蛋白质翻译起始的停止。

线粒体是自噬的直接目标, 线粒体功能障碍可导致内质网应激, 运动可能通过维持线粒体蛋白稳态来减少内质网应激^[43]。蛋白激酶 PINK1 (PTEN induced putative kinase 1) 和 E3 泛素连接酶 Parkin 是通过自噬降解线粒体的工具蛋白质, 也参与泛素-蛋白酶体系统对某些线粒体蛋白的选择性降解, 是经典的线粒体自噬途径。当运动等应激刺激激活 AMPK 后, 活化的 AMPK 可以磷酸化线粒体裂变因子, 触发线粒体裂变, 从而诱导线粒体自噬, 保护细胞的正常功能。在 Zeng 等^[43] 的研究中, 对老

年肌肉减少症大鼠进行12周有氧运动和抗阻运动干预,结果显示,运动激活了大鼠骨骼肌AMPK信号通路,促进PINK1的蛋白质表达,触发了线粒体自噬并促进线粒体的合成,PINK1/Parkin可通过诱导线粒体的有丝分裂作用调节MSCs的成骨分化^[72],且自噬可以通过降解沉积的蛋白质和受损的线粒体来限制ROS的产生,从而发挥抗衰老作用^[73],提示运动可通过增强AMPK介导的线粒体有丝分裂及线粒体自噬,对衰老骨骼肌和骨产生有益影响。对糖尿病骨质疏松大鼠进行为期8周的有氧运动训练后诱导了其体内AMPK含量上升,且活化的AMPK能够通过抑制mTOR来促进MSCs的成骨分化^[74]。但有研究表明,运动通过自噬途径对骨产生的有益影响依赖于运动强度,运动负荷过大会通过AMPK/TSC2/mTOR通路抑制mTOR^[75],进而促进RANKL,刺激OC的生成,造成糖脂代谢紊乱和骨吸收增强。髓核细胞(NPs)由软骨细胞和蛋白多糖黏液样基质构成的弹性胶冻物质组成,其高表达MSCs相关标志物,具有克隆形成及成骨、成脂、成软骨进行三系分化的能力,Zhou等^[76]研究发现,对鸢尾素敲除的12周龄大鼠进行4周的游泳训练后,NP细胞中的LC3II表达增加,AMPK/mTOR信号通路被激活,缓解了细胞的凋亡和衰老,有效促进了骨形成。综上,系统的运动训练通过活化的AMPK介导其下游mTOR和/或ULK1磷酸化,以减轻由衰老引起的OST自噬水平下降,而过度运动又会通过AMPK通路抑制自噬,负向调节骨形成,因此,合理的运动有助于靶向上调AMPK等关键能量开关分子的表达,从而调控OST的分化,防治OP。相关研究发现,AMPK/PGC-1 α 途径主要与耐力运动有关,Akt/mTOR途径主要与力量运动有关,力量和耐力运动相结合时,两种蛋白质(AMPK、mTOR)都可被激活^[77],但大多数关于运动对多种组织中自噬途径影响的研究都采用了耐力运动方案,这为后续在骨组织中细胞自噬的相关研究提供理论参考。

2.2.2 PI3K/mTOR、PI3K/Akt/mTOR信号通路

PI3K/Akt/mTOR是经典自噬信号通路之一,生长因子、胰岛素、能量消耗和低氧等刺激可活化PI3K,进而激活mTORC1,该信号通路可抑制自噬,促进OB的生成,抑制该通路则会诱导自噬并导致细胞开始凋亡。有研究显示,2型糖尿病(T2DM)患者体内骨自噬水平降低,骨形成减弱,引发骨质疏松^[78]。Chen等^[79]研究发现,8周的高

强度间歇运动(HIIT)后T2DM大鼠股骨中LC3II、Beclin-1、Runx2的表达显著提高,PI3K、Akt、mTOR和p62表达降低,下坡跑运动后在大鼠股骨中也检测到类似结果,且效果更为明显,说明高强度间歇运动和下坡跑均能在一定程度上抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路,激活骨自噬,促进小鼠骨形成能力,改善骨形态。12周运动干预(跑步机运动、抗阻运动、跑步机加抗阻运动、自主轮跑)后特别是抗阻运动,通过调节Akt/mTOR和Akt/FoxO3a信号通路,促进Beclin-1和LC3等自噬相关蛋白的表达,从而诱导衰老骨骼肌细胞自噬,抑制了骨骼肌质量的减少^[43],鉴于在肌骨亚单位的调控机制方面,肌骨具有同源性(MSCs),提示运动可能通过PI3K/Akt/mTOR或Akt/mTOR途径对衰老大鼠的骨骼肌和骨骼产生积极影响,缓解衰老引起的骨骼肌萎缩及骨质流失。胰岛素样生长因子(IGF-1)是骨形成调节因子,促进细胞有丝分裂和成骨等过程,IGF-1缺乏可导致骨密度(bone mineral density, BMD)下降,骨折危险性增加,研究发现,急性抗阻运动可增加人体内IGF-1结合蛋白IGFBP3和IGFBP1的水平^[80],而IGF-1可通过激活PI3K/Akt/mTOR通路活化mTOR,引起成骨相关因子蛋白质表达上调^[81]。以上研究结果说明,运动通过上调IGF-1途径促进成骨功能,而这种作用效果可能是通过激活自噬通路PI3K/Akt/mTOR产生的。

2.2.3 骨形态发生蛋白(BMPs)信号通路

BMPs是一种多功能细胞因子,属于转化生长因子(TGF)- β 超家族,对于OB祖细胞的迁移、间充质细胞的增殖、OB的分化和骨重塑等过程发挥重要作用。BMPs信号通路是促合成代谢和抑制肌骨损耗的重要途径,并且自噬和BMP之间存在相互联系,主要是通过细胞信号通路介导^[82-83]。

研究表明,BMPs作为重要的骨诱导因子,可影响mTOR依赖性蛋白合成,防止骨质流失^[84],其中BMP9可上调MSCs中多个自噬相关基因的表达,抑制自噬活性会减弱MSCs中的BMP9成骨信号传导^[85],运动则能够通过激活BMP信号通路提高大鼠生长板软骨细胞的增殖,促使胫骨和股骨增长^[86]。除此之外,渐进式下坡跑步可以通过增强老年大鼠的自噬和BMP信号通路来促进骨形成,刺激中老年大鼠股骨皮质骨形成,并且增加抗氧化酶——超氧化物歧化酶(SODs)、血红素氧合酶1(HO-1)的生成,从而抵抗增龄导致的肌肉萎缩和

骨质流失^[87]。这表明运动通过诱导自噬分子的表达来促进骨骼中BMPs的表达,对骨形成产生积极作用,但需要进一步探讨其作用机制。

2.2.4 自噬关键蛋白Beclin-1信号通路

Beclin-1是酵母ATG6/Vps30的哺乳动物同源物,也是自噬体启动物的核心成分。廖阳等^[88]通过对老年大鼠进行8周的跑台干预训练发现,老年大鼠BMSCs中自噬蛋白p62表达上升,而运动干预后明显降低了p62的mRNA及蛋白质表达水平,改善了BMSCs中的细胞自噬水平。Kim等^[89]研究发现,经过8周的上下坡跑训练,中老年SD大鼠骨骼中自噬水平下降,而上下坡训练增加了其ATG5、LC3II、Beclin-1蛋白表达,降低p62和细胞凋亡标记物caspase-3的表达,中老年大鼠股骨皮质骨形成增加,其中下坡跑训练效果更加显著。Mejias-Pena等^[90]发现,8周的有氧运动训练能够增加健康老年受试者外周血单核细胞中LC3II/I比率、降低p62/SQSTM1蛋白水平并改变自噬调节蛋白(包括Beclin-1、磷酸化的ULK-1、ATG12和ATG16)的表达,改善老年受试者PBMCs自噬活性。朱琛煜^[91]研究发现,8周跑台运动能有效增强衰老骨质疏松小鼠下肢骨中自噬因子Beclin-1、ATG14、LC3在BMSCs中的表达,并促进骨形成,这与上述研究结果一致,说明有氧训练可促进衰老骨骼中自噬相关蛋白的表达,促进成骨分化,改善衰老引起的骨丢失,缓解OP。

2.2.5 自噬与长链非编码RNA

有研究表明,长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)可调控骨自噬,而运动干预能影响骨质疏松小鼠lncRNA的表达^[92]。其中一些lncRNA如RNA-188-3p、心脏自噬抑制因子、RNA Meg3可负向调控下游小分子RNA,通过AMPK、BMPs、成骨特异性转录因子2、Wnt、mTOR通路及其下游相关因子的产生调控细胞自噬进程^[93-96]。八段锦运动可以通过调节lncRNA-mRNA网络,提高血清中与之相关的lncRNA的表达水平^[97]。自主轮转运动可以使缺血/再灌注模型小鼠的lncRNA MALAT1表达上调^[98]。此外,中等强度的跑步运动可能会对小鼠骨骼中的lncRNA产生影响,导致其表达水平上升或下降。以上结果提示,lncRNA的表达能在运动影响下发生变化,作为竞争性内源RNA,抑制下游与之相关的小分子RNA,再由AMPK或BMP信号轴抑制下游mTOR信号通路,启动骨自噬。

综上,有氧运动和抗阻运动均能触发自噬对骨组织细胞的有益反应,经适宜强度的运动干预后,相关通路因子通过线粒体自噬或细胞自噬途径,抑制mTOR的表达,骨组织中自噬相关蛋白Beclin-1、LC3II/I、ATG7、ATG5被活化,诱导自噬发生,提高骨组织自噬水平,进而增强OB在分化过程中的存活率和矿化能力。同时运动有助于降低氧化应激水平,促进骨组织细胞自噬,并提高了MSCs的成骨分化,OB活性高于OC,OST凋亡减少,促进骨形成,改善骨微结构,达到防治OP的目的。

3 总结与展望

衰老过程中由雌激素缺乏、氧化应激增加等引起的细胞自噬变化可能是年龄相关OP发生和发展的主要原因之一,运动干预可能通过机械应力调控自噬通路AMPK、mTOR、PI3K/Akt/mTOR等,促进细胞自噬,提高骨组织中抗氧化因子的表达以及血清中的雌二醇水平,减少炎症反应和细胞凋亡,对衰老细胞和骨形成产生有益影响。不同的运动强度或形式对骨自噬的影响不同,适度合理的运动能够提高自噬水平,进而调节骨代谢,提高骨密度和骨含量,改善骨质疏松,但具体机制有待进一步研究。运动如何通过影响骨自噬,进而防治骨相关疾病将成为未来生物学、运动医学和体育科学领域的研究热点,相信未来的研究将进一步揭示其机制,提供新的理论依据和思路。OP的发生和发展涉及多种成骨和OC通路以及各种激素水平的失调,仅调节自噬活性可能不足以有效地影响骨骼系统的整体重塑配置,如何确定适宜的运动强度的范围、阈值和形式以保证运动诱导的骨自噬是有益的应成为后续的重点研究方向。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊疗指南(2022).中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2022,15(6):573-611
Chinese Society of Osteoporosis and Bone Mineral Research. Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital, 2022, 15(6): 573-611
- [2] Klionsky DJ, Petroni G, Amaravadi RK, *et al.* Autophagy in major human diseases. EMBO J, 2021, 40(19): e108863
- [3] Montaseri A, Giampietri C, Rossi M, *et al.* The role of autophagy in osteoclast differentiation and bone resorption function. Biomolecules, 2020, 10(10): 1398
- [4] Trojani MC, Santucci-Darmanin S, Breuil V, *et al.* Autophagy and bone diseases. Joint Bone Spine, 2022, 89(3): 105301

- [5] Wang J, Zhang Y, Cao J, *et al.* The role of autophagy in bone metabolism and clinical significance. *Autophagy*, 2023, **19**(9): 2409-2427
- [6] Chen K, Yang Y, Jiang S, *et al.* Decreased activity of osteocyte autophagy with aging may contribute to the bone loss in senile population. *Histochem Cell Biol*, 2014, **142**(3): 285-295
- [7] 赵奎, 潘润桑, 蓝奉军, 等. 骨关节炎中自噬与凋亡相互作用的分子机制. *中国组织工程研究*, 2024, **28**(18): 2912-2917
Zhao K, Pan R S, Lan F J, *et al.* *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2024, **28**(18): 2912-2917
- [8] 杨路昕, 郭郡浩, 蔡辉. 运动干预原发性骨质疏松症: 不同运动方式、强度及频率对骨密度的影响. *中国组织工程研究*, 2014, **18**(38): 6200-6204
Yang L X, Guo J H, Cai H. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2014, **18**(38): 6200-6204
- [9] Vargas J N S, Hamasaki M, Kawabata T, *et al.* The mechanisms and roles of selective autophagy in mammals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, **24**(3): 167-185
- [10] Pinto A, Rocha A D D, Marafon B B, *et al.* Impact of different physical exercises on the expression of autophagy markers in mice. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(5): 2635
- [11] 王鑫, 吾布力卡斯木·米吉提, 黄金勇, 等. 肿瘤坏死因子 α 对骨组织细胞的调节. *中国组织工程研究*, 2024, **28**(21): 3400-3406
Wang X, Mijiti W, Huang J Y, *et al.* *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2024, **28**(21): 3400-3406
- [12] Wang S, Deng Z, Ma Y, *et al.* The role of autophagy and mitophagy in bone metabolic disorders. *Int J Biol Sci*, 2020, **16**(14): 2675-2691
- [13] Zahm A M, Bohensky J, Adams C S, *et al.* Bone cell autophagy is regulated by environmental factors. *Cells Tissues Organs*, 2011, **194**(2-4): 274-278
- [14] Yang Y, Zheng X, Li B, *et al.* Increased activity of osteocyte autophagy in ovariectomized rats and its correlation with oxidative stress status and bone loss. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, **451**(1): 86-92
- [15] Zhao Y, Chen G, Zhang W, *et al.* Autophagy regulates hypoxia-induced osteoclastogenesis through the HIF-1 α /BNIP3 signaling pathway. *J Cell Physiol*, 2012, **227**(2): 639-648
- [16] Sambandam Y, Townsend M T, Pierce J J, *et al.* Microgravity control of autophagy modulates osteoclastogenesis. *Bone*, 2014, **61**: 125-131
- [17] Kim Y C, Guan K L. mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation. *J Clin Invest*, 2015, **125**(1): 25-32
- [18] Ge Y, Zhou M, Chen C, *et al.* Role of AMPK mediated pathways in autophagy and aging. *Biochimie*, 2022, **195**: 100-113
- [19] Shanahan C M. Autophagy and matrix vesicles: new partners in vascular calcification. *Kidney Int*, 2013, **83**(6): 984-986
- [20] 李希宁, 翁伟, 沈哲源, 等. mTOR 磷酸化水平对成骨 MC3T3E1 细胞增殖、自噬和分化的作用及其机制. *吉林大学学报(医学版)*, 2021, **47**(3): 575-586
Li X N, Weng W, Shen Z Y, *et al.* *Journal of Jilin University (Medicine Edition)*, 2021, **47**(3): 575-586
- [21] 谢丽华, 郭澜, 陈赛楠, 等. 基于 ERK/mTOR 信号通路探讨六味地黄丸对氧化应激状态下成骨细胞自噬的影响. *中国骨质疏松杂志*, 2023, **29**(1): 1-5
Xie L H, Guo L, Chen S N, *et al.* *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2023, **29**(1): 1-5
- [22] 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[D]. 上海: 上海交通大学, 2015
Yang Y H. *The Role of Autophagy in Oxidative Stress in Osteoblast Cells and Its Relationship With Osteoporosis*[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2015
- [23] 孙茂蕾. 多孔二氧化硅负载 BMP-2 质粒通过自噬促进成骨细胞分化的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2019
Sun M L. *Porous Silica Nanoparticles Loading BMP-2 Plasmid Promote Osteoblast Differentiation Through Autophagy*[D]. Changchun: Jilin University, 2019
- [24] 王宇. 雌二醇介导 SIRT1-FOXO3a 对成骨细胞自噬的作用和机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020
Wang Y. *Effect and Mechanism of Estradiol Mediated SIRT1-FOXO3a on Autophagy in Osteoblasts*[D]. Shenyang: China Medical University, 2020
- [25] Zhao Y, Chen G, Zhang W, *et al.* Autophagy regulates hypoxia-induced osteoclastogenesis through the HIF-1 α /BNIP3 signaling pathway. *J Cell Physiol*, 2012, **227**(2): 639-648
- [26] 全锡帅. AMPK/mTOR/p70S6K 信号通路介导的自噬在骨保护素抑制破骨细胞分化中的作用机制[D]. 扬州: 扬州大学, 2020
Tong X S. *The Mechanism of AMPK/mTOR/p70S6K Signaling Pathway-mediated Autophagy in Osteoprotegerin-induced Inhibition of Osteoclastogenesis*[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020
- [27] Zhao S J, Kong F Q, Cai W, *et al.* GIT1 contributes to autophagy in osteoclast through disruption of the binding of Beclin1 and Bcl2 under starvation condition. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(12): 1195
- [28] Onal M, Piemontese M, Xiong J, *et al.* Suppression of autophagy in osteocytes mimics skeletal aging. *J Biol Chem*, 2013, **288**(24): 17432-17440
- [29] Lin N Y, Beyer C, Giessel A, *et al.* Autophagy regulates TNF α -mediated joint destruction in experimental arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2013, **72**(5): 761-768
- [30] Lin N Y, Stefanica A, Distler J H. Autophagy: a key pathway of TNF-induced inflammatory bone loss. *Autophagy*, 2013, **9**(8): 1253-1255
- [31] Liu F, Fang F, Yuan H B, *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
- [32] Nollet M, Santucci-Darmanin S, Breuil V, *et al.* Autophagy in osteoblasts is involved in mineralization and bone homeostasis. *Autophagy*, 2014, **10**(11): 1965-1977
- [33] 徐丽丽, 胥方元, 万永鲜. 人 BMSCs 自噬水平和成骨分化能力比较. *中国骨质疏松杂志*, 2018, **24**(11): 1446-1450+1463
Xu L L, Xu F Y, Wan Y X. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2018,

- 24(11): 1446-1450+1463
- [34] Chen X, Zhu X, Wei A, *et al.* Nrf2 epigenetic derepression induced by running exercise protects against osteoporosis. *Bone Res*, 2021, **9**(1): 15
- [35] Yang Y, Li B, Zheng X, *et al.* Oxidative damage to osteoblasts can be alleviated by early autophagy through the endoplasmic reticulum stress pathway--implications for the treatment of osteoporosis. *Free Radical Biol Med*, 2014, **77**: 10-20
- [36] Yang Y, Zheng X, Li B, *et al.* Increased activity of osteocyte autophagy in ovariectomized rats and its correlation with oxidative stress status and bone loss. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, **451**(1): 86-92
- [37] Tang N, Zhao H, Zhang H, *et al.* Effect of autophagy gene DRAM on proliferation, cell cycle, apoptosis, and autophagy of osteoblast in osteoporosis rats. *J Cell Physiol*, 2019, **234**(4): 5023-5032
- [38] Jia J J, Yao W, Guan M, *et al.* Glucocorticoid dose determines osteocyte cell fate. *FASEB J*, 2011, **25**(10): 3366-3376
- [39] Yao W, Dai W W, Jiang J X, *et al.* Glucocorticoids and osteocyte autophagy. *Bone*, 2013, **54**(2): 279-284
- [40] Lin N Y, Chen C W, Kagwiria R, *et al.* Inactivation of autophagy ameliorates glucocorticoid-induced and ovariectomy-induced bone loss. *Ann Rheum Dis*, 2016, **75**(6): 1203-1210
- [41] Piemontese M, Onal M, Xiong J, *et al.* Suppression of autophagy in osteocytes does not modify the adverse effects of glucocorticoids on cortical bone. *Bone*, 2015, **75**: 18-26
- [42] Xia X, Kar R, Gluhak-Heinrich J, *et al.* Glucocorticoid-induced autophagy in osteocytes. *J Bone Miner Res*, 2010, **25**(11): 2479-2488
- [43] Zeng Z, Liang J, Wu L, *et al.* Exercise-induced autophagy suppresses sarcopenia through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a signal pathways and AMPK-Mediated mitochondrial quality control. *Front Physiol*, 2020, **11**: 583478
- [44] Song C, Song C, Tong F. Autophagy induction is a survival response against oxidative stress in bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy*, 2014, **16**(10): 1361-1370
- [45] Chung Y H, Jang Y, Choi B, *et al.* Beclin-1 is required for RANKL-induced osteoclast differentiation. *J Cell Physiol*, 2014, **229**(12): 1963-1971
- [46] Deselm C, Miller B C, Zou W, *et al.* Autophagy proteins regulate the secretory component of osteoclastic bone resorption. *Dev Cell*, 2011, **21**(5): 966-974
- [47] Arai A, Kim S, Goldshteyn V, *et al.* Beclin1 modulates bone homeostasis by regulating osteoclast and chondrocyte differentiation. *J Bone Miner Res*, 2019, **34**(9): 1753-1766
- [48] Camuzard O, Santucci-Darmanin S, Carle G F, *et al.* Autophagy, a key process in bone homeostasis. *Med Sci (Paris)*, 2017, **33**(3): 221-224
- [49] Lin N, Beyer C, Giessl A, *et al.* Autophagy regulates TNF α -mediated joint destruction in experimental arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2012, **72**(5): 761-768
- [50] Xiu Y, Xu H, Zhao C, *et al.* Chloroquine reduces osteoclastogenesis in murine osteoporosis by preventing TRAF3 degradation. *J Clin Invest*, 2014, **124**(1): 297-310
- [51] 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 Cell Biochem*, 2019, **120**(2): 1630-1642
- [52] Luo D, Ren H, Li T, *et al.* Rapamycin reduces severity of senile osteoporosis by activating osteocyte autophagy. *Osteoporos Int*, 2016, **27**: 1093-1101
- [53] Deosaran E, Larsen K B, Hua R, *et al.* NBR1 acts as an autophagy receptor for peroxisomes. *J Cell Sci*, 2013, **126**(4): 939-952
- [54] 缪建森, 王向阳, 金海明. 自噬在破骨细胞中的调控作用及机制. *中国骨伤*, 2023, **36**(4): 357-363
- Miao J S, Wang X Y, Jin H M. *China Journal of Orthopaedics and Traumatology*, 2023, **36**(4): 357-363
- [55] Zahm A, Bohensky J, Adams C, *et al.* Bone cell autophagy is regulated by environmental factors. *Cells Tissues Organs*, 2011, **194**(2-4): 274-278
- [56] Florencio-Silva R, Sasso G R S, Sasso-Cerri E, *et al.* Effects of estrogen status in osteocyte autophagy and its relation to osteocyte viability in alveolar process of ovariectomized rats. *Biomed Pharmacother*, 2018, **98**: 406-415
- [57] Kurihara M, Mukudai Y, Watanabe H, *et al.* Autophagy prevents osteocyte cell death under hypoxic conditions. *Cells Tissues Organs*, 2021, **210**(5-6): 326-338
- [58] Salas M, Tuchweber B, Kourounakis P. Liver ultrastructure during acute stress. *Pathol Res Pract*, 1980, **167**(2-4): 217-233
- [59] Salminen A, Vihko V. Autophagic response to strenuous exercise in mouse skeletal muscle fibers. *Virchows Archiv B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 1984, **45**: 97-106
- [60] Jamart C, Benoît N, Raymackers J, *et al.* Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise. *Eur J Appl Physiol*, 2012, **112**: 3173-3177
- [61] Jamart C, Francaux M, Millet G Y, *et al.* Modulation of autophagy and ubiquitin-proteasome pathways during ultra-endurance running. *J Appl Physiol* (1985), 2012, **112**(9): 1529-1537
- [62] Medina D L, Di Paola S, Peluso I, *et al.* Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB. *Nat Cell Biol*, 2015, **17**(3): 288-299
- [63] He C, Rhea Sumpter J, Levine B. Exercise induces autophagy in peripheral tissues and in the brain. *Autophagy*, 2012, **8**(10): 1548-1551
- [64] 凌丽丽, 李桂芳, 王彪, 等. 运动通过 p38MAPK 信号通路影响成长期小鼠骨代谢. *川北医学院学报*, 2021, **36**(5): 557-561
- Ling L L, Li G F, Wang B, *et al.* *Journal of North Sichuan Medical College*, 2021, **36**(5): 557-561
- [65] 潘同斌, 姬梦晶, 叶雷雷, 等. 力竭运动对大鼠骨骼肌肌纤维类型及 AMPK/TSC2/mTOR 的影响. *南京体育学院学报*, 2018, **1**(9): 39-45
- Pan T B, Ji M J, Ye L L, *et al.* *Journal of Nanjing Sports Institute*, 2018, **1**(9): 39-45
- [66] 杨子松, 吴宝磊, 贾森, 等. 牵张力下 mTOR/MMPs 信号通路可

- 促进间充质干细胞-成骨细胞系的迁移. 中国组织工程研究, 2015, **19**(32): 5097-5102
- Yang Z K, Wu B L, Jia S, *et al.* Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2015, **19**(32): 5097-5102
- [67] Ko J, Seo D, Kim T N, *et al.* Aerobic exercise training decreases hepatic asprosin in diabetic rats. J Clin Med, 2019, **8**(5): 666
- [68] Canto C, Gerhart-Hines Z, Feige J N, *et al.* AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. Nature, 2009, **458**(7241): 1056-1060
- [69] Vainshtein A, Hood D A. The regulation of autophagy during exercise in skeletal muscle. J Appl Physiol (1985), 2016, **120**(6): 664-673
- [70] Ioannilli L, Ciccarone F, Ciriolo M. Adipose tissue and FoxO1: bridging physiology and mechanisms. Cells, 2020, **9**(4): 849
- [71] He C, Bassik M C, Moresi V, *et al.* Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. Nature, 2012, **481**(7382): 511-515
- [72] Wang S, Deng Z, Ma Y, *et al.* The role of autophagy and mitophagy in bone metabolic disorders. Int J Biol Sci, 2020, **16**(14): 2675
- [73] Escobar K A, Cole N H, Mermier C M, *et al.* Autophagy and aging: maintaining the proteome through exercise and caloric restriction. Aging Cell, 2019, **18**(1): e12876
- [74] Pantovic A, Krstic A, Janjetovic K, *et al.* Coordinated time-dependent modulation of AMPK/Akt/mTOR signaling and autophagy controls osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. Bone, 2013, **52**(1): 524-531
- [75] Yoon K J, Zhang D, Kim S J, *et al.* Exercise-induced AMPK activation is involved in delay of skeletal muscle senescence. Biochem Biophys Res Commun, 2019, **512**(3): 604-610
- [76] Zhou W, Shi Y, Wang H, *et al.* Exercise-induced FNDC5/irisin protects nucleus pulposus cells against senescence and apoptosis by activating autophagy. Exp Mol Med, 2022, **54**(7): 1038-1048
- [77] Pinto A P, Da Rocha A L, Marafon B B, *et al.* Impact of different physical exercises on the expression of autophagy markers in mice. Int J Mol Sci, 2021, **22**(5): 2635
- [78] Bartolome A, Lopez-Herradon A, Portal-Nunez S, *et al.* Autophagy impairment aggravates the inhibitory effects of high glucose on osteoblast viability and function. Biochem J, 2013, **455**(3): 329-337
- [79] Chen X, Yang K, Jin X, *et al.* Bone autophagy: a potential way of exercise-mediated Meg3/P62/Runx2 pathway to regulate bone formation in T2DM mice. Diabetes Metab Syndr Obes, 2021, **14**: 2753-2764
- [80] Nindl B C, Alemany J A, Tuckow A P, *et al.* Effects of exercise mode and duration on 24-h IGF-I system recovery responses. Med Sci Sports Exerc, 2009, **41**(6): 1261-1270
- [81] 黄丹. 胰岛素样生长因子1通过mTOR通路促进牙髓干细胞增殖及成骨分化[D]. 南通: 南通大学, 2015
- Huang D. Insulin-like Growth Factor 1 can Promote Proliferation and Osteogenic Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells via mTOR Pathway[D]. Nantong: Nantong University, 2015
- [82] 郝军荣, 张丹参, 巩跃文. 自噬与骨形成蛋白在疾病中的关系(英文). 神经药理学报, 2017, **7**(6): 41-49
- Hao J R, Zhang D S, Gong Y W. Acta Neuropharmacologica, 2017, **7**(6): 41-49
- [83] Stavropoulos A, Divolis G, Manioudaki M, *et al.* Coordinated activation of TGF- β and BMP pathways promotes autophagy and limits liver injury after acetaminophen intoxication. Sci Signal, 2022, **15**(740): eabn4395
- [84] Sartori R, Schirwis E, Blaauw B, *et al.* BMP signaling controls muscle mass. Nat Genet, 2013, **45**(11): 1309-1318
- [85] Zhao X, Huang B, Wang H, *et al.* A functional autophagy pathway is essential for BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs). Am J Transl Res, 2021, **13**(5): 4233-4250
- [86] 赵常红, 李世昌, 孙朋, 等. 不同方式运动对生长期大鼠TGF β /BMP信号通路及骨生长的影响. 中国体育科技, 2021, **57**(2): 20-27
- Zhao C H, Li S C, Sun P, *et al.* China Sport Science and Technology, 2021, **57**(2): 20-27
- [87] Shang J L, Cheng Q, Duan S J, *et al.* Cognitive improvement following ischemia/reperfusion injury induced by voluntary running-wheel exercise is associated with lncMALAT1-mediated apoptosis inhibition. Int J Mol Med, 2018, **41**(5): 2715-2723
- [88] 廖阳, 屈萌根, 孙光华, 等. 运动对老年大鼠骨质疏松及骨髓间充质干细胞自噬的影响. 中国康复医学杂志, 2023, **38**(1): 16-21+34
- Liao Y, Qu M J, Sun G H, *et al.* Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2023, **38**(1): 16-21+34
- [89] Kim J S, Lee Y H, Yi H K. Gradual downhill running improves age-related skeletal muscle and bone weakness: implication of autophagy and bone morphogenetic proteins. Exp Physiol, 2016, **101**(12): 1528-1540
- [90] Mejias-Pena Y, Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, *et al.* Effects of aerobic training on markers of autophagy in the elderly. Age (Dordr), 2016, **38**(2): 33
- [91] 朱琛煜. SIRT1在运动促进BMSC自噬及成骨分化中的作用研究[D]. 上海: 上海体育学院, 2023
- Zhu C Y. Study on the Role of SIRT1 in the Promotion of Autophagy and Osteogenic Differentiation of BMSCs by Exercise [D]. Shanghai: Shanghai University of Sport, 2023
- [92] 郭健民. 运动对骨质疏松小鼠骨长链非编码RNA表达的影响[D]. 上海: 上海体育学院, 2017
- Guo J M. The Effect of Exercise on the Expression of long Non-coding RNA (lncRNA) in Bone of Osteoporosis Mouse [D]. Shanghai: Shanghai University of Sport, 2017
- [93] Pawar K, Hanisch C, Vera S E P, *et al.* Down regulated lncRNA MEG3 eliminates mycobacteria in macrophages via autophagy. Sci Rep, 2016, **6**: 19416
- [94] Zhuo C, Jiang R H, Lin X, *et al.* lncRNA H19 inhibits autophagy by epigenetically silencing of DIRAS3 in diabetic cardiomyopathy. Oncotarget, 2017, **8**(1): 1429
- [95] Li S, Pan X, Yang S, *et al.* lncRNA MALAT1 promotes oxidized low-density lipoprotein-induced autophagy in HUVECs by

inhibiting the PI3K/AKT pathway. J Cell Biochem, 2019, **120**(3): 4092-4101

[96] Yuan P, Cao W, Zang Q, *et al.* The HIF-2alpha-MALAT1-miR-216b axis regulates multi-drug resistance of hepatocellular carcinoma cells *via* modulating autophagy. Biochem Biophys Res Commun, 2016, **478**(3): 1067-1073

[97] An T, He Z C, Zhang X Q, *et al.* Baduanjin exerts anti-diabetic and anti-depression effects by regulating the expression of mRNA, lncRNA, and circRNA. Chin Med, 2019, **14**: 3

[98] 阮坚. 不同强度耐力运动对老龄大鼠骨骼肌自噬的影响[D]. 长沙:湖南师范大学, 2018

Ruan J. Effects of Endurance Exercise of Differentintensities on Skeletal Muscle Autophagy Inaged Rats[D]. Changsha: Hunan Normal University, 2018

The Role and Possible Mechanisms of Exercise in Combating Osteoporosis by Modulating The Bone Autophagy Pathway*

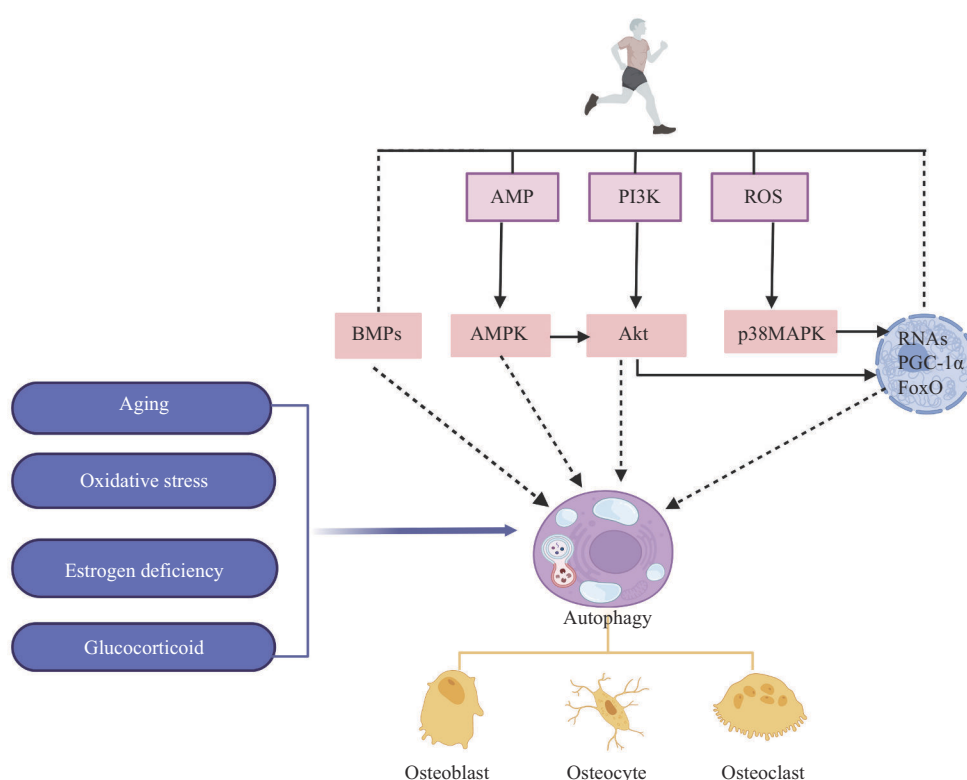
DAI Xin-Yu¹⁾, LI Bin²⁾, JIN Dan¹⁾, YI Xue-Jie^{1,3)}, HUANG Rui-Qi¹⁾, GAO Hai-Ning^{1)**}

¹⁾College of Sport and Health, Shenyang Sports University, Shenyang 110115, China;

²⁾College of Athletic Training, Shenyang Sports University, Shenyang 110115, China;

³⁾Centre for Exercise and Health Research, Shenyang Sports University, Shenyang 110115, China)

Graphical abstract



Abstract Osteoporosis leads to an imbalance in bone remodelling, where bone resorption is greater than bone formation and osteoclast degradation increases, resulting in severe bone loss. Autophagy is a lysosomal degradation pathway that regulates the proliferation, differentiation, and apoptosis of various bone cells (including osteoblasts, osteoclasts, and osteocytes), and is deeply involved in the bone remodelling process. In recent years,

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (12072202) and the Liaoning Provincial Department of Education 2023 Basic Research Program (JYTMS20231332).

** Corresponding author.

Tel: 86-24-86930551, E-mail: 45208373@qq.com

Received: November 1, 2023 Accepted: January 2, 2024

the role of autophagy in the progression of osteoporosis and related bone metabolic diseases has received more and more attention, and it has become a research hotspot in this field. Summarising the existing studies, it is found that senile osteoporosis is the result of a combination of factors. On the one hand, it is the imbalance of bone remodelling and the increase of bone resorption/bone formation ratio with ageing, which causes progressive bone loss. On the other hand, aging leads to a general decrease in the level of autophagy, a decrease in the activity of osteoblasts and osteoclasts, and an inhibition of osteogenic differentiation. The lack of oestrogen leads to the immune system being in a low activation state, and the antioxidant capacity is weakened and inflammatory response is increased, inducing autophagy-related proteins to participate in the transmission of inflammatory signals, excessive accumulation of reactive oxygen species (ROS) in the skeleton, and negatively regulating bone formation. In addition, with aging and the occurrence of related diseases, glucocorticoid treatments also mediate autophagy in bone tissue cells, contributing to the decline in bone strength. Exercise, as an effective means of combating osteoporosis, improves bone biomechanical properties and increases bone density. It has been found that exercise induces oxidative stress, energy imbalance, protein defolding and increased intracellular calcium ions in the organism, which in turn activates autophagy. In bone, exercise of different intensities activates messengers such as ROS, PI3K, and AMP. These messengers signal downstream cascades, which in turn induce autophagy to restore dynamic homeostasis *in vivo*. During exercise, increased production of AMP, PI3K, and ROS activate their downstream effectors, AMPK, Akt, and p38MAPK, respectively, and these molecules in turn lead to activation of the autophagy pathway. Activation of AMPK inhibits mTOR activity and phosphorylates ULK1 at different sites, inducing autophagy. AMPK and p38 up-regulate per-PGC-1 α activity and activate transcription factors in the nucleus, resulting in increased autophagy and lysosomal genes. Together, they activate FoxOs, whose transcriptional activity controls cellular processes including autophagy and can act on autophagy key proteins, while FoxOs proteins are expressed in osteoblasts. Exercise also regulates the expression of mTORC1, FoxO1, and PGC-1 through the PI3K/Akt signalling pathway, which ultimately plays a role in the differentiation and proliferation of osteoblasts and regulates bone metabolism. In addition, BMPs signaling pathway and long chain non-coding RNAs also play a role in the proliferation and differentiation of osteoblasts and autophagy process under exercise stimulation. Therefore, exercise may become a new molecular regulatory mechanism to improve osteoporosis through the bone autophagy pathway, but the specific mechanism needs to be further investigated. How exercise affects bone autophagy and thus prevents and treats bone-related diseases will become a future research hotspot in the fields of biology, sports medicine and sports science, and it is believed that future studies will further reveal its mechanism and provide new theoretical basis and ideas.

Key words osteoporosis, autophagy, exercise, mTOR, AMPK

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0419