

雄激素和雄激素受体对骨代谢的调控及机制研究进展

付绍婷 王晓慧*

(上海体育学院, 运动科学学院, 上海 200438)

摘要 骨代谢由成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞介导的骨吸收构成。雄激素能调控骨代谢, 即促进骨形成、抑制骨吸收, 在骨骼生长、骨峰值的获得和骨量维持中起重要作用; 且该作用主要通过雄激素受体(androgen receptor, AR)介导。AR调控骨代谢的作用, 一方面是通过直接调控骨代谢相关的AR靶基因(如与成骨相关的I型胶原蛋白 $\alpha 1$ 、骨钙素、组织非特异性碱性磷酸酶、小整合素结合配体N-端连接糖蛋白和与破骨相关的核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)、组织蛋白酶K的表达; 另一方面是通过间接调控骨代谢的多个信号通路[如Wnt/ β -catenin、骨形态发生蛋白(BMP)/Smads-Runx2相关转录因子2(Runx2)、RANKL/骨保护蛋白(OPG)、PI3K/Akt和MAPK信号通路]实现的。该文主要就雄激素/AR在骨代谢调控中的作用及机制作一综述, 对丰富AR调控骨代谢的理论认识和骨代谢性疾病的药物研发具有重要意义。

关键词 雄激素受体; 骨代谢; Wnt/ β -catenin; 骨形态发生蛋白/Smads; Runx2相关转录因子2; RANKL/骨保护蛋白; PI3K/Akt; MAPK

Progress in the Effects of Androgen and Androgen Receptor on Bone Metabolism and Its Mechanisms

Fu Shaoting, Wang Xiaohui*

(School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Abstract Bone metabolism comprises bone formation mediated by osteoblasts and bone resorption by osteoclasts. Androgen plays a vital role in regulating bone metabolism by increasing bone formation and decreasing bone resorption, and this effect is mainly mediated by androgen receptor (AR), thus achieving the role of androgen in bone growth, peak bone mass gain, and bone mass maintenance; AR exerts its effects via several pathways, on one hand, AR directly mediates the expression of bone metabolism-related AR target genes (such as osteogenic-associated type 1 $\alpha 1$ collagen, osteocalcin, tissue non-specific alkaline phosphatase, small integrin-binding ligand, N-linked glycoprotein and osteoclastic-associated receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand and cathepsin K). On the other hand, AR's role in bone metabolism is achieved by indirectly modulating several signal pathways involved in bone metabolism, including Wnt/ β -catenin, BMP/Smads-Runx2, RANKL/OPG, PI3K/Akt and MAPKs pathways. This work reviewed the role of androgen/AR in regulating bone metabolism and its underlying mechanisms, which is of great significance for enriching the theoretical knowledge about the regulation of bone metabolism mediated by androgen/AR and for developing potential drugs for curing bone metabolic diseases.

Keywords AR; bone metabolism; Wnt/ β -catenin; BMP/Smads; Runx2; RANKL/OPG; PI3K/Akt; MAPK

收稿日期: 2018-01-19

接受日期: 2018-03-12

国家自然科学基金(批准号: 31271274)和上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(上海体育学院)(批准号: 11DZ2261100)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-51253520, E-mail: wangpan96@126.com

Received: January 19, 2018

Accepted: March 12, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31271274) and Shanghai Key Lab of Human Performance (Shanghai University of Sport) (Grant No.11DZ2261100)

*Corresponding author. Tel: +86-21-51253520, E-mail: wangpan96@126.com

网络出版时间: 2018-05-31 16:31:14

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180531.1630.006.html>

骨组织是由细胞、纤维和矿化的细胞外基质组成的坚硬结缔组织。破骨细胞、成骨细胞和骨细胞是骨组织的主要骨细胞。破骨细胞介导的骨吸收和成骨细胞介导的骨形成是构成骨代谢的主要环节。骨代谢不断地进行着,以维持骨的改建和重建。骨形成和骨吸收过程的不平衡,不仅与增龄过程中出现的骨量丢失(相对于骨吸收骨形成下降)有关,还可导致多种骨代谢相关疾病(如骨质疏松症、骨硬化等^[1])。

雄激素对男性的骨骼生长、青春期后峰值骨量的获得及骨量维持具有重要作用^[2]。雄激素水平的低下不仅与增龄过程中的骨量丢失密切相关,还是睾酮缺乏的患者(如性腺机能低下的男性^[3]、雄激素剥夺治疗的前列腺癌患者^[4])骨密度下降、骨量丢失和容易发生骨质疏松症的原因,而睾酮替代治疗可增加这些男性的骨密度,防治骨质疏松症^[2,5]。

目前认为,雄激素对骨代谢的调控有两条途径:一是通过与骨细胞、成骨细胞上的雄激素受体(androgen receptor, AR)结合来调控成骨、破骨细胞的功能;二是雄激素芳香化为雌激素,通过雌激素受体 α 实现其调控骨代谢的作用,其中AR的作用非常重要^[6]。研究已证实,睾酮替代治疗降低男性骨质疏松症和骨折风险的作用是通过AR介导的^[7]。雄激素替代治疗逆转睾丸切除术后小鼠的松质骨和密质骨流失,但对AR敲除(AR knockout, ARKO)小鼠的骨量丢失没有影响或仅轻微减轻^[8]。上调AR的调节剂不仅可显著升高去势大鼠骨密度、防止骨量流失^[9],而且对老年男性、甚至女性的骨质疏松症也有治疗作用^[10]。以上结果表明,AR对雄性的骨生长和骨稳态具有重要的促进作用,上调AR的选择性AR调节剂已成为治疗骨质疏松症的新靶点。本文在简要介绍骨代谢后,就雄激素/AR对骨代谢的调控及其机制作一综述,不仅加深了对雄激素/AR调控骨代谢机制的认识,而且为骨代谢性疾病的药物开发提供新靶点。

1 骨代谢

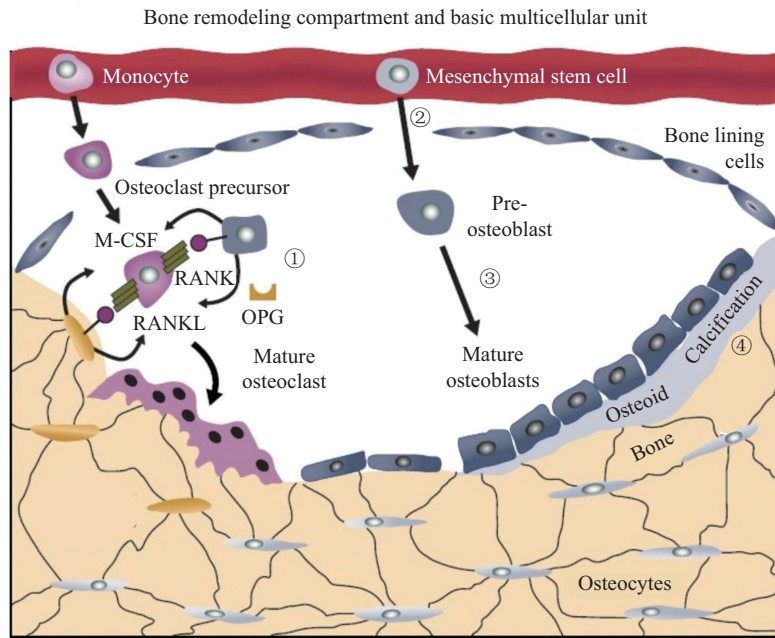
骨代谢对骨生长、骨折的愈合、机械负荷诱导的骨骼适应以及骨量的维持是必需的,受激素、细胞因子、趋化因子和生物力学刺激的调控。骨代谢分四个阶段,依次是:(1)特定位点骨代谢的激活;(2)骨吸收和间充质干细胞(mesenchymal stem cells,

MSCs)的募集;(3)成骨细胞分化和功能(类骨质合成);(4)类骨质的矿化。骨代谢发生于一个血管丰富、覆盖单层骨衬细胞的密闭系统,称为“骨代谢舱(bone-remodeling compartment, BRC)”,并在破骨细胞、成骨细胞、骨细胞和骨衬细胞形成的骨多细胞单位(basic multicellular unit, BMU)的协同作用下不断地有序进行(图1)。当骨细胞感知机械负荷引起的骨变形或旧骨的微损伤时,破骨细胞前体从骨髓穿过骨衬细胞或从毛细血管渗透至BRC,接触骨基质,并在高浓度巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)和核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)的刺激下分化为破骨细胞。随着破骨细胞形成,骨吸收占主导地位;同时骨髓MSCs和/或骨祖细胞被募集至BRC,骨代谢过程进入阶段2。骨髓MSCs和/或骨祖细胞进一步分化为成骨细胞前体和成骨细胞,成骨细胞合成类骨质,逐渐超越骨吸收占主导地位,进入骨代谢阶段3。这一阶段持续一段时间使BRC深入骨表面挖掘更多的骨,并以成骨细胞产生的类骨质取代。即使骨吸收过程终止,成骨细胞的形成和功能仍持续进行,以保证骨清除和骨形成的平衡。之后,完成阶段4的类骨质矿化^[11]。

2 雄激素/AR对骨代谢的调控——促进骨形成、抑制骨吸收

雄激素对男性或雄性动物骨生长、骨折愈合和骨量维持等的促进作用在人体实验、动物实验和细胞实验均得到证实^[2]。雄激素对骨代谢的调控是通过促进MSCs向成骨细胞分化、成骨细胞的骨化和矿化以及抑制破骨细胞的分化和骨吸收,进而促进骨形成、抑制骨吸收来实现的。雄激素缺乏时,如雄性大鼠睾丸切除,可增加破骨细胞的细胞数量和骨吸收,减少成骨细胞的数量和骨形成,也减弱矿化作用。

雄激素促进成骨、抑制破骨的作用主要通过AR介导。AR在骨髓MSCs(成骨细胞的来源)、成骨细胞、骨细胞和破骨细胞中均有表达。外源性补充睾酮减少睾丸切除雄性大鼠破骨细胞的作用被AR抑制剂氟他胺(flutamide)减弱或逆转^[12]。双氢睾酮显著增加体外培养的雄性野生型新生小鼠颅骨的骨细胞和骨衬细胞数量、缝宽和钙化面积,但对



①为第1阶段: 当骨细胞感知机械负荷引起的骨变形或旧骨的微损伤时, 破骨细胞前体从骨髓穿过骨衬细胞或者从毛细血管渗透至BRC, 并在高浓度M-CSF和RANKL的刺激下分化为破骨细胞; ②为第2阶段: 骨髓MSCs和/或骨祖细胞被募集至BRC; ③为第3阶段: 骨髓MSCs和/或骨祖细胞进一步分化为成骨细胞前体和成骨细胞, 成骨细胞合成类骨质, 逐渐超越骨吸收占主导地位; ④为第4阶段: 类骨质矿化。

① is phase 1: when bone cells perceived bone deformation caused by mechanical load or minor damage to the old bone, osteoclast precursors penetrated to BRC from bone marrow across the lining cells or from the capillaries, and differentiated into osteoclasts under the stimulation of high concentrations of M-CSF and RANKL; ② is phase 2: bone marrow MSCs and/or osteoprogenitor cells were recruited to BRC; ③ is phase 3: bone marrow MSCs and/or osteoprogenitor cells further differentiated into osteoblasts precursors and osteoblasts, osteoblasts synthesized osteoids, and gradually surpassed bone absorption to dominate; ④ is phase 4: osteoids was mineralized.

图1 骨代谢的骨代谢舱和基本多细胞单位(BMU)(根据参考文献[11]修改)

Fig.1 Bone remodeling compartment and basic multicellular unit during bone metabolism (modified from reference [11])

ARKO新生雄性小鼠该作用显著减弱^[8], 表明雄激素抑制破骨细胞、促进成骨细胞分化和矿化的作用是通过AR介导的。

ARKO小鼠模型无疑是研究AR在骨代谢作用中很好的模型。全敲的ARKO雄性小鼠在年轻时(12周龄)就出现了皮质骨的丢失, 且骨丢失持续存在并不断加重^[13]。Kang等^[14]利用微型计算机对颅骨进行断层扫描发现, 与野生型小鼠组比, 雄性ARKO小鼠表现出迟发性颅底骨矿化、颅骨厚度降低、颅骨体积和表面积减少。对该ARKO小鼠进行骨组织形态学分析发现, 其骨体积、类骨质表面积、矿化面积、单位骨面积的成骨细胞和骨细胞数量显著性减少, 破骨细胞数量增多。另一种ARKO雄性小鼠骨组织形态学分析发现, 其股骨干骺端破骨细胞的细胞数量增多, 股骨和胫骨干骺端松质骨体积减少^[8]。以上结果表明, AR能调控雄性的多种骨骼(如股骨、胫骨和颅骨)的骨代谢, 具有促进骨形成和矿化、抑制破骨的作用。进一步研究发现, ARKO对多种类型的骨细胞均有作用, 例如(1)骨髓MSCs:

它具有多向分化功能, 可分化为成骨细胞和脂肪细胞, 骨髓MSCs特异性ARKO小鼠, 其向成骨细胞分化减弱、向脂肪细胞分化增强^[15]; (2)成骨细胞和骨细胞: 它们是行使骨形成的主要功能细胞, 负责基质的合成、分泌和矿化, 同时成骨细胞分泌的RANKL可与破骨细胞上核因子 κ B受体活化因子(Receptor activator of nuclear factor κ -B, RANK)结合, 诱导破骨细胞分化和骨吸收; 而成骨细胞和骨细胞均特异性ARKO小鼠, 骨的形成和矿化受抑, 对破骨细胞的诱导作用增强且破骨细胞的骨吸收作用增强^[8]; (3)破骨细胞: 破骨细胞特异性ARKO小鼠, 其破骨作用没有改变, 提示AR对破骨细胞可能没有直接作用^[16]。以上结果表明, AR主要通过MSCs、成骨细胞和骨细胞来实现促进成骨和抑制破骨的作用。

3 雄激素/AR调控骨代谢的机制

作为核转录因子, AR发挥其多种生物学作用的机制包括经典的对靶基因的直接调控作用和其他转录因子交互对话的间接作用。对骨代谢也不例外,

也是通过这两条途径来调控成骨和破骨细胞的增殖、分化和活性以及骨矿化。

3.1 AR对靶基因的直接调控

AR未活化时位于细胞质,与雄激素结合后,AR在核定位信号的介导下进入细胞核,并在共激活或共抑制因子的协同作用下,与靶基因上的AR反应元件(AR response element, ARE)结合,直接调控靶基因的表达。

多个成骨细胞相关基因[如I型胶原蛋白 $\alpha 1$ 、骨钙素(osteocalcin)]和破骨细胞相关基因[如组织蛋白酶K(cathepsin K, *CTSK*)、*RANKL*等]的转录起始位点上游存在ARE或ARE同源序列,提示它们很可能是AR的靶基因^[17]。I型胶原蛋白是骨基质的主要成分,为骨矿化提供基本结构场所、保证骨骼的韧性(因为它能引导钙盐沉积、矿化,并作为沉积模板形成羟基磷灰石晶体)。I型胶原蛋白形成的胶原纤维的有序排列和结构完整对正常的骨矿化非常重要,它的异常会损害羟基磷灰石晶体的形成、排列和组装,增加骨质疏松,易形成病理性骨折^[18]。骨钙素也叫 γ -羧基谷氨酸蛋白(bone gamma-carboxyglutamic acid protein, BGLAP或BGP),是骨基质中主要的非胶原蛋白。骨钙素由成骨细胞合成,维持正常骨矿化,是骨形成的标志物。若血清骨钙素水平高,则骨质疏松和骨折的风险小。阿仑膦酸治疗骨质疏松的作用就是通过增强骨钙素实现的^[19]。表达于破骨细胞的CTSK是一种蛋白水解酶,其主要底物是I型胶原。在骨改建过程中,CTSK通过降解I型胶原等骨基质而介导破骨细胞的骨吸收作用,而CTSK的抑制剂可治疗骨质疏松症^[19]。*RANKL*在成骨细胞、骨髓MSCs等细胞中表达。如前所述,*RANKL*和M-CSF共同作用使破骨前体细胞分化为破骨细胞。不仅如此,*RANKL*还与RANK结合,在破骨细胞存活、分化和活化中起着至关重要的作用,可增强骨吸收。研究发现,在终末分化的矿化成骨细胞和骨细胞特异性ARKO的雄性小鼠中,I型胶原蛋白 $\alpha 1$ 、骨钙素、*CTSK*和*RANKL*的mRNA水平均发生改变,与该ARKO小鼠骨基质合成和矿化减弱、骨吸收增强相一致^[17]。

除了I型胶原蛋白 $\alpha 1$ 、骨钙素、CTSK与骨矿化密切相关外,碱性磷酸酶2(alkaline phosphatase, *AKP2*)基因编码的组织非特异性碱性磷酸酶(tissue nonspecific alkaline phosphatase, TNSALP)和小整合

素结合配体N-端连接糖蛋白(small integrin-binding ligand, N-linked glycoprotein, SIBLING)也与骨矿化密切相关。TNSALP是在碱性条件下能水解多种磷酸酯的酶,它除了是一个重要的矿化因子外,还能调控骨分化,是成骨细胞早期分化的标志。TNSALP蛋白水平的改变影响成骨细胞和骨细胞的功能及基质矿化^[20]。SIBLING是骨基质非胶原蛋白的一类,包括分泌性焦磷酸蛋白、骨涎蛋白、骨桥蛋白、牙本质基质蛋白、牙本质涎磷蛋白等,在骨组织的矿化中起关键作用^[21]。研究已证实,ARKO小鼠颅盖骨的成骨细胞*AKP2*和*SIBLING*基因的表达水平显著降低。这些基因的转录起始位点上游大约3 Kb位点存在ARE,而荧光素酶报告基因和染色体免疫共沉淀法的研究发现,AR可与*AKP2*和*SIBLING*基因启动子ARE直接结合,证实了AR对靶基因*AKP2*和*SIBLING*的直接调控及其促进骨形成和骨矿化的作用^[14]。

3.2 AR通过与其他转录因子交互对话间接调控骨代谢

骨代谢涉及到多个信号通路,其中Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)/Smads-Runx相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)及*RANKL*/骨保护蛋白(osteoprotegerin, OPG)这3条信号通路已经得到较为深入的研究,并且公认为在骨代谢中起关键调控作用。其中Wnt/ β -catenin和BMP/Smads-Runx2主要影响骨形成(即骨髓MSCs向成骨细胞分化、成骨细胞的增殖和矿化),而*RANKL*/OPG主要影响骨吸收。

AR能与上述这3条通路中的多个蛋白交互对话并调控骨代谢。此外,AR还能与磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/Akt(也叫蛋白激酶B, protein kinase B, PKB)和有丝分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)相互作用,这可能也是雄激素/AR调控骨代谢的机制。

3.2.1 雄激素/AR减少骨硬化素以增强Wnt/ β -catenin信号通路,从而促进骨形成 Wnt/ β -catenin信号通路(经典的wnt信号通路)在许多哺乳动物的MSCs和成骨细胞均有表达,对骨量的调控非常关键。Wnt/ β -catenin不仅能调控MSCs向成骨细胞分化^[22],还能促进成骨细胞增殖、分化、矿化和抑制成骨细胞凋亡,以及降低破骨细胞生成、抑制骨吸收^[23-24]。Wnt/

β -catenin信号通路的调节基础是对胞质内 β -catenin蛋白的磷酸化和降解。已证实,成骨细胞 β -catenin持续激活可使骨量增加,破骨细胞减少;反之,成骨细胞中 β -catenin的缺失或敲除使破骨细胞增加、骨量降低,可发生骨质疏松症^[23-24]。

AR与Wnt/ β -catenin相互作用,且该作用在前列腺癌的发展、复发^[25]以及表皮干细胞的分化中^[26]具有重要作用。然而,Wnt/ β -catenin在骨代谢调控中的作用是否与雄激素/AR有关,尚未见文献报道。有意思的是,雄激素/AR能抑制骨细胞Wnt/ β -catenin通路的负性调控因子——骨硬化素(sclerostin, SOST)。SOST是骨细胞分泌的糖基化蛋白,在SOST存在的情况下,Wnt与其受体中一个主要蛋白——低密度脂蛋白受体相关蛋白-5/6(LDL receptor related protein-5/6, LRP-5/6)的结合被抑制,导致 β -catenin被其蛋白降解复合体的主要组成蛋白——糖原合成酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)磷酸化,并通过蛋白酶体途径降解,从而降低胞内 β -catenin水平。而SOST的缺乏,会启动Wnt信号通路,从而使人和鼠体内的骨量上升^[22-23]。研究发现,性腺机能低下的男性容易发生骨质疏松,其血清SOST水平升高,且血清睾酮水平可作为SOST水平的独立预测因子;在体外,双氢睾酮能以时间和剂量依赖的方式降低体外培养骨细胞的SOST水平,且该作用被AR抑制剂flutamine或者AR基因沉默阻断,证实了雄激素/AR对SOST产生的抑制作用^[27]。所以,AR促进成骨和抑制破骨的作用很可能是通过降低SOST水平进而激活Wnt/ β -catenin通路实现的。

3.2.2 雄激素/AR调控BMP/Smads-Runx2信号通路,以促进骨形成 骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)在骨髓MSCs分化、增殖为成骨细胞的过程中起关键作用,是成骨细胞生成的最初诱导者。目前已发现30多种BMP,除BMP1外,均属于转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)基因家族成员。其中,BMP2或BMP4含量最多(约占全部BMP的92%),且BMP2或BMP4基因敲除小鼠呈现肢体骨骼发育不全的表型。特别是BMP2,是目前研究最广泛、多在骨组织和多种间充质组织中表达的BMP。

BMP与其受体BMPR(BMP receptor)结合后被活化,使Smads蛋白(BMP信号转导路径中的重要调控分子)转位入核,与其靶基因——转录因子核心结

合蛋白(core binding factor α 1, Cbfa1/也叫runx related transcriptional factor 2, Runx2)和Osterix相互作用,实现促进成骨细胞分化和抑制成骨细胞凋亡的作用。此外,Runx2还能诱导成骨细胞的矿化。该作用通过增加成骨细胞特异性因子[如碱性磷酸酶、骨钙素、胶原蛋白I α 、骨唾液蛋白和骨桥蛋白(如前所述,均是AR的靶基因)]的表达,最终促进骨形成和骨矿化,抑制骨吸收。Runx2的遗传突变会严重损害人的骨形成过程,引起颅骨锁骨发育不良综合征。小鼠体内缺乏Runx2基因会导致骨形成不足^[23,28]。

已有研究证实了雄激素/AR对BMP2和Runx2表达的影响及其在骨代谢中的作用。Cheng等^[29]的研究发现,睾酮与BMP2均能促进小鼠股骨骨折端的结痂,且促进程度相同,但睾酮的该作用在ARKO小鼠中消失,表明睾酮促进骨折愈合的作用是通过AR介导的,且该作用可能与增加BMP2有关。Kimura等^[30]发现,双氢睾酮和生长素的联合使用能显著上调成骨细胞BMP2、Smads和Runx2的表达,并增加Runx2的靶基因碱性磷酸酶和骨钙素的表达。以上结果提示,雄激素/AR促进成骨的作用至少部分是通过上调BMP2/Smads-Runx2信号通路实现的。

然而,雄激素/AR对骨骼的作用并不总是有利的,当过高水平的雄激素或AR过表达会对骨骼有不利影响,如骨骼特异性AR过表达的小鼠,其成骨细胞的增殖、分化和矿化均受抑^[30]。与此同时,该骨骼特异性AR过表达小鼠的骨骼BMP2水平不是增加,而是降低。双氢睾酮能抑制该小鼠的骨原代培养细胞的增殖、分化和矿化,且该作用能被外源补充BMP2所减轻,表明过高水平的雄激素/AR通过抑制BMP2来实现其抑制成骨分化和矿化的作用^[31]。与之相类似,过高的雄激素(如多囊卵巢综合征的女性)通过AR的介导也能抑制BMP4的表达^[32]。异常的雄激素/AR不仅抑制BMP,还能抑制Runx2,如前列腺癌细胞的AR能与Runx2直接结合,并抑制Runx2的转录活性,这可用来解释临床上前列腺癌患者的前列腺特异性抗原(AR的靶基因)与骨钙素(Runx2的靶基因)的负相关关系及前列腺癌骨转移的可能原因之一^[33]。

3.2.3 雄激素/AR抑制RANKL/OPG信号通路,以抑制骨吸收 骨保护素(osteoprotegerin, OPG)是一种分泌型糖蛋白,主要由成骨细胞产生,属于肿瘤坏死因子受体超家族成员,可以作为诱饵受体与RANKL

结合,阻碍RANKL与RANK之间的结合,从而抑制破骨细胞的分化、增殖与活性,阻碍骨吸收。所以,RANKL/OPG信号通路是由成骨细胞诱导的,具有促进破骨细胞分化和活性、降低骨密度的功能。在风湿性关节炎中,骨损部位的局部RANKL/OPG比值升高,重组OPG可以完全抑制骨损部位破骨细胞的吸收活性^[34-35]。

RANKL是AR的靶基因,在RANKL基因上有ARE,而且成骨和骨细胞特异性AR敲除后,该ARKO雄性小鼠的RANKL的mRNA水平发生改变^[17]。在迟发性性腺功能低下的男性,睾酮水平的减少也增加血清RANKL水平,所以针对抗RANKL信号可成为治疗性腺功能低下患者骨质疏松的靶分子^[36]。事实上,RANKL/OPG通路已成为主要的靶向抗骨吸收剂,如一种特异性靶向RANKL的完全人源化单抗地诺单抗(denosumab)已用于临床降低前列腺癌患者去势治疗后骨折的风险^[37];而OPG也可通过抑制RANKL信号来预防去势治疗不敏感前列腺癌的骨转移^[38]。

3.2.4 雄激素/AR可能增强PI3K/Akt及MAPK的信号通路,以促进骨形成、抑制骨吸收 RANKL与破骨细胞上的RANK结合后激活的下游信号通路包括PI3K/Akt和MAPK信号通路[包括细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)和p38通路等^[39-40]],而PI3K-Akt和MAPK信号通路活化后能调控破骨细胞和成骨细胞的增殖、分化及凋亡,且PI3K-Akt和MAPK两条通路之间存在着相互联系^[39]。

PI3K/Akt促进破骨前体细胞的分化和成熟。PI3K被其抑制剂LY294002抑制后,骨髓来源的巨噬细胞诱导生成的破骨细胞数量显著减少,提示PI3K/Akt对于破骨前体细胞的分化和增殖是必需的^[39]。此外,PI3K/Akt对成骨细胞的分化和钙化也很重要。Chen等^[41]发现,PI3K/Akt在破骨细胞促进成骨前体细胞MC3T3-E1的分化和钙化中发挥重要作用。

三种MAPKs均能调控破骨细胞的生成。ERK可将巨噬细胞转变成破骨前体细胞,JNK刺激破骨前体细胞分化为成熟破骨细胞,而p38MAPK促进破骨细胞分化(抑制p38MAPK可抑制局部骨吸收)^[40]。此外,p38MAPK对成骨作用也非常重要。p38MAPK能促进骨髓MSCs向成骨细胞分化来增加成骨和增加骨髓MSCs产生OPG来抑制破骨,从而维

持骨量^[44]。在体的小鼠实验也证实了p38MAPK对骨形成和骨自稳是必需的^[42-43],且该作用与其磷酸化Runx2有关^[43]。

雄激素/AR与PI3K/Akt和MAPK的相互作用及其在前列腺癌^[45]、乳腺癌^[46]的发生、发展及转移中的作用已被较多文献证实,但雄激素/AR与PI3K/Akt和MAPKs相互作用对成骨细胞、破骨细胞及骨代谢影响的研究还比较少。研究发现,雄激素通过PI3K/Akt信号通路促进成骨前体细胞MC3T3-E1的生长;用siRNA干扰MC3T3-E1的AR表达,可抑制Akt的磷酸化及阻断雄激素的生长促进作用,表明该雄激素作用依赖AR^[47]。双氢睾酮诱导MC3T3增殖的作用与AR与PI3K/Akt的交互对话被增强有关^[48]。对于MAPK,脱氢表雄酮通过增加ERK(而非JNK和p38MAPK)来增加成骨细胞产生OPG,从而抑制骨吸收^[49]。

事实上,骨代谢非常复杂,不仅涉及多个信号通路,而且各个信号通路之间又形成复杂的调控网络,彼此影响。如Wnt/ β -catenin通路与BMP/Smads通路在多个环节上相互作用,表现之一就是核内的Runx2基因不仅是BMP/Smads的靶基因,也是 β -catenin的靶基因^[50]。再如Wnt/ β -catenin还与RANKL/OPG有相互作用,表现为增强的Wnt/ β -catenin信号可能通过促进OPG的表达来降低破骨细胞生成,抑制骨吸收^[23]; β -catenin基因敲除小鼠的RANKL/OPG比值也升高,反之, β -catenin过表达的转基因小鼠RANKL/OPG比值则降低^[51]。而Wnt蛋白还能激活PI3K/Akt和MAPK中的ERK信号。

4 小结与展望

综上所述,雄激素通过AR的介导实现其促进骨形成、抑制骨吸收的作用。该作用是AR通过直接调控骨代谢相关的AR靶基因(如与成骨相关的I型胶原蛋白 α 1、骨钙素、TNSALP、SIBLING和与破骨相关的CTSK、RANKL)以及间接调控骨代谢的多个信号通路(如Wnt/ β -catenin、BMP/Smads-Runx2、RANKL/OPG、PI3K/Akt和MAPK信号通路)实现的。

骨代谢相关信号通路之间具有复杂的相互作用,而AR对这些信号通路的多个蛋白均存在交互对话,所以,阐明AR对每个骨代谢相关信号通路的调控细节以及AR如何协调多个信号通路间的相互作用及其最终调控结果,将是今后的研究方向。

参考文献 (References)

- 1 Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simoes MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *Bio Med Res Int* 2015; 2015(1): 421746.
- 2 Mohamad NV, Soelaiman IN, Chin KY. A concise review of testosterone and bone health. *Clin Interv Aging* 2016; 11(11): 1317-24.
- 3 Bobjer J, Bogefors K, Isaksson S, Leijonhufvud I, Akesson K, Giwercman YL, *et al.* High prevalence of hypogonadism and associated impaired metabolic and bone mineral status in subfertile men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016; 85(2): 189-95.
- 4 Bienz M, Saad F. Androgen-deprivation therapy and bone loss in prostate cancer patients: a clinical review. *Bonekey Rep* 2015; 4(10): 716.
- 5 Tirabassi G, Biagioli A, Balercia G. Bone benefits of testosterone replacement therapy in male hypogonadism. *Panminerva Med* 2014; 56(2): 151-63.
- 6 Khosla S. New insights into androgen and estrogen receptor regulation of the male skeleton. *J Bone Miner Res* 2015; 30(7): 1134-7.
- 7 Takayama KI. The biological and clinical advances of androgen receptor function in age-related diseases and cancer. *Endocr J* 2017; 64(10): 933-46.
- 8 Chiang C, Chiu M, Moore AJ, Anderson PH, Ghasem-Zadeh A, McManus JF, *et al.* Mineralization and bone resorption are regulated by the androgen receptor in male mice. *J Bone Miner Res* 2009; 24(4): 621-31.
- 9 杨朝勃, 刘文革. 选择性雄激素受体调节剂(Sarm)对雄性骨质疏松大鼠骨的影响. *中国现代医学*(Yang Chaobo, Liu Wenge. The effect of selective androgen receptor modulator (sarm) on bone in osteopenic male rats. *China Modern Doctor*) 2011; 49(7): 3-5.
- 10 Nagata N, Furuya K, Oguro N, Nishiyama D, Kawai K, Yamamoto N, *et al.* Lead evaluation of tetrahydroquinolines as nonsteroidal selective androgen receptor modulators for the treatment of osteoporosis. *Chem Med Chem* 2014; 9(1): 197-206.
- 11 Bassett JH, Williams GR. Role of thyroid hormones in skeletal development and bone maintenance. *Endocr Rev* 2016; 37(2): 135-87.
- 12 Steffens JP, Coimbra LS, Rossa C Jr, Kantarci A, Van Dyke TE, Spolidorio LC. Androgen receptors and experimental bone loss - an *in vivo* and *in vitro* study. *Bone* 2015; 81(4): 683-90.
- 13 Tsai MY, Shyr CR, Kang HY, Chang YC, Weng PL, Wang SY, *et al.* The reduced trabecular bone mass of adult ARKO male mice results from the decreased osteogenic differentiation of bone marrow stroma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 411(3): 477-82.
- 14 Kang HY, Shyr CR, Huang CK, Tsai MY, Orimo H, Lin PC, *et al.* Altered TNSALP expression and phosphate regulation contribute to reduced mineralization in mice lacking androgen receptor. *Mol Cell Biol* 2008; 28(24): 7354-67.
- 15 Huang CK, Lai KP, Luo J, Tsai MY, Kang HY, Chen Y, *et al.* Loss of androgen receptor promotes adipogenesis but suppresses osteogenesis in bone marrow stromal cells. *Stem Cell Res* 2013; 11(2): 938-50.
- 16 Sinnesael M, Jardi F, Deboel L, Laurent MR, Dubois V, Zajac JD, *et al.* The androgen receptor has no direct antiresorptive actions in mouse osteoclasts. *Mol Cell Endocrinol* 2015; 411: 198-206.
- 17 Russell PK, Clarke MV, Skinner JP, Pang TP, Zajac JD, Davey RA. Identification of gene pathways altered by deletion of the androgen receptor specifically in mineralizing osteoblasts and osteocytes in mice. *J Mol Endocrinol* 2012; 49(1): 1-10.
- 18 郑波, 顾新华. 硬组织矿化中I型胶原蛋白作用的研究进展. *口腔医学*(Zheng Bo, Gu Xinhua. Research progress on role of type I collagen in hard tissue biomineralization. *Stomatology*) 2017; 37: 751-4.
- 19 Duong le T, Leung AT, Langdahl B. Cathepsin K inhibition: a new mechanism for the treatment of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2016; 98(4): 381-97.
- 20 Haarhaus M, Brandenburg V, Kalantar-Zadeh K, Stenvinkel P, Magnusson P. Alkaline phosphatase: a novel treatment target for cardiovascular disease in CKD. *Nat Rev Nephrol* 2017; 13(7): 429-42.
- 21 Boulefour W, Juignet L, Bouet G, Granito RN, Vanden-Bossche A, Laroche N, *et al.* The role of the SIBLING, bone sialoprotein in skeletal biology-contribution of mouse experimental genetics. *Matrix Biol* 2016; 52/53/54: 60-77.
- 22 李云矗, 徐刚, 徐成福. Wnt/ β -catenin信号通路及其对骨髓间充质干细胞多向分化调节研究进展. *牡丹江医学院学报* (Li Yunchu, Xu Gang, Xu Chengfu. Wnt/ β -catenin signaling pathway and its regulation on multi-directional differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. *Journal of Mu Dan Jiang Medical University*) 2016; 37: 99-102.
- 23 徐伟丽, 牛玲玲, 王文侠, 崔鹏举. 经典Wnt信号通路对骨代谢的调节作用. *中国骨质疏松杂志*(Xu Weili, Niu Lili, Wang Wenxia, Cui Pengju. The regulatory role of classic Wnt signaling pathway in bone metabolism. *Chinese Journal of Osteoporosis*) 2016; 22: 376-80.
- 24 李俊峰, 郭庆山, 傅捷辉, 宗兆文. Wnt/ β -catenin信号通路在调控骨量的作用. *重庆医学*(Li Junfeng, Guo Qingshan, Fu Jiehui, Zong Zhaowen. The role of wnt/Wnt/ β -catenin in the regulation of bone mass. *Chongqing Medicine*) 2017; 46: 401-3.
- 25 Schneider JA, Logan SK. Revisiting the role of Wnt/ β -catenin signaling in prostate cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2017; doi: 10.1016/j.mce.2017.02.008.
- 26 Kretschmar K, Cottle DL, Schweiger PJ, Watt FM. The androgen receptor antagonizes Wnt/ β -catenin signaling in epidermal stem cells. *J Invest Dermatol* 2015; 135(11): 2753-63.
- 27 Di Nisio A, De Toni L, Speltra E, Rocca MS, Tagliavero G, Ferlin A, *et al.* Regulation of sclerostin production in human male osteocytes by androgens: Experimental and clinical evidence. *Endocrinology* 2015; 156(12): 4534-44.
- 28 张玲莉, 郭健民, 邹军. 运动和机械载荷通过骨形态发生蛋白对骨代谢的影响. *中国细胞生物学学报*(Zhang Lingli, Guo Jianmin, Zou Jun. Exercise and mechanical load influence the bone metabolism through bone morphogenetic protein. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2016; 38(4): 455-60.
- 29 Cheng BH, Chu TM, Chang C, Kang HY, Huang KE. Testosterone delivered with a scaffold is as effective as bone morphologic protein-2 in promoting the repair of critical-size segmental defect of femoral bone in mice. *PLoS One* 2013; 8(8): e70234.
- 30 Kimura K, Terasaka T, Iwata N, Katsuyama T, Komatsubara M, Nagao R, *et al.* Combined effects of androgen and growth

- hormone on osteoblast marker expression in mouse C2C12 and MC3T3-E1 cells induced by bone morphogenetic protein. *J Clin Med* 2017; 6(1): 6.
- 31 Wiren KM, Semirale AA, Hashimoto JG, Zhang XW. Signaling pathways implicated in androgen regulation of endocortical bone. *Bone* 2010; 46(3): 710-23.
 - 32 Liu Y, Du SY, Ding M, Dou X, Zhang FF, Wu ZY, *et al.* The BMP4-Smad signaling pathway regulates hyperandrogenism development in a female mouse model. *J Biol Chem* 2017; 292(28): 11740-50.
 - 33 Baniwal SK, Khalid O, Sir D, Buchanan G, Coetzee GA, Frenkel B. Repression of Runx2 by androgen receptor (AR) in osteoblasts and prostate cancer cells: AR binds Runx2 and abrogates its recruitment to DNA. *Mol Endocrinol* 2009; 23(8): 1203-14.
 - 34 元 宇, 郭健民, 邹 军. OPG/RANKL/RANK信号通路在运动与骨免疫学中的研究进展. 中国骨质疏松杂志(Yuan Yu, Guo Jianmin, Zou Jun. Research progress of OPG/RANKL/RANK signal pathway in exercise and osteoimmunology. *Chin J Osteoporosis* 2015; 21(8): 1005-10.
 - 35 熊燕琴, 周 筠, 雷 涛. 骨代谢信号通路的研究进展. 中国骨质疏松杂志(Xiong Yanqin, Zhou Jun, Lei Tao. Research progress in the signal pathways in bone metabolism. *Chinese Journal of Osteoporosis* 2014; 20(2): 200-4.
 - 36 Pepene CE, Crisan N, Coman I. Elevated serum receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin levels in late-onset male hypogonadism. *Clin Invest Med* 2011; 34(4): E232.
 - 37 Alibhai SMH, Zukotynski K, Walker-Dilks C, Emmenegger U, Finelli A, Morgan SC, *et al.* Bone health and bone-targeted therapies for prostate cancer: a programme in evidence-based care cancer care ontario clinical practice guideline. *Clin Oncol* 2017; 29(26): 348-55.
 - 38 Takayama K, Inoue T, Narita S, Maita S, Huang M, Numakura K, *et al.* Inhibition of the RANK/RANKL signaling with osteoprotegerin prevents castration-induced acceleration of bone metastasis in castration-insensitive prostate cancer. *Cancer Lett* 2017; 397: 103-10.
 - 39 范文斌, 包倪荣, 赵 建. PI3K/Akt信号通路在骨代谢中的作用. 中国矫形外科杂志(Fan Wenbin, Bao Nirong, Zhao Jian. The role of PI3K/Akt signal pathway in bone metabolism. *Orthopedic Journal of China* 2013; 21(19): 1958-62.
 - 40 王链链, 郭晓英. 破骨细胞分化过程中的信号通路及信号因子的研究进展. 中国骨质疏松杂志(Wang Lianlian, Guo Xiaoying. Research advance in signal pathways and signal factors during the process of osteoclast differentiation. *Chinese Journal of Osteoporosis* 2015; 21(6): 742-8.
 - 41 Chen LL, Huang M, Tan JY, Chen XT, Lei LH, Wu YM, *et al.* PI3K/AKT pathway involvement in the osteogenic effects of osteoclast culture supernatants on preosteoblast cells. *Tissue Eng Part A* 2013; 19(19/20): 2226-32.
 - 42 Rodriguez-Carballo E, Gamez B, Sedo-Cabezon L, Sanchez-Feutrie M, Zorzano A, Manzanares-Cespedes C, *et al.* The p38alpha MAPK function in osteoprecursors is required for bone formation and bone homeostasis in adult mice. *PLoS One* 2014; 9(7): e102032.
 - 43 Thouverey C, Caverzasio J. Focus on the p38 MAPK signaling pathway in bone development and maintenance. *Bonekey Rep* 2015; 4: 711.
 - 44 Cong Q, Jia H, Biswas S, Li P, Qiu S, Deng Q, *et al.* p38alpha MAPK regulates lineage commitment and OPG synthesis of bone marrow stromal cells to prevent bone loss under physiological and pathological conditions. *Stem Cell Rep* 2016; 6(4): 566-78.
 - 45 Gorowska-Wojtowicz E, Hejmej A, Kaminska A, Pardyak L, Kotula-Balak M, Dulinska-Litewka J, *et al.* Anti-androgen 2-hydroxyflutamide modulates cadherin, catenin and androgen receptor phosphorylation in androgen-sensitive LNCaP and androgen-independent PC3 prostate cancer cell lines acting via PI3K/Akt and MAPK/ERK1/2 pathways. *Toxicol In Vitro* 2017; 40: 324-35.
 - 46 Kono M, Fujii T, Lim B, Karuturi MS, Tripathy D, Ueno NT. Androgen receptor function and androgen receptor-targeted therapies in breast cancer: a review. *JAMA Oncol* 2017; 3(9): 1266-73.
 - 47 Kang HY, Cho CL, Huang KL, Wang JC, Hu YC, Lin HK, *et al.* Nongenomic androgen activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway in MC3T3-E1 osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2004; 19(7): 1181-90.
 - 48 Martin C, Lafosse JM, Malavaud B, Cu villier O. Sphingosine kinase-1 mediates androgen-induced osteoblast cell growth. *Biochem Biophysical Res Commun* 2010; 391(1): 669-73.
 - 49 Wang YD, Tao MF, Wang L, Cheng WW, Wan XP. Selective regulation of osteoblastic OPG and RANKL by dehydroepiandrosterone through activation of the estrogen receptor beta-mediated MAPK signaling pathway. *Horm Metab Res* 2012; 44(7): 494-500.
 - 50 陈晓婷, 高艳虹. 间充质干细胞成骨分化中多种调控因子的交互作用及其机制. 上海交通大学学报(医学版)[Chen Xiaoting, Gao Yanhong. Interaction and mechanism of various regulatory factors in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Journal of Shanghai Jiao Tong University (Medical Science)* 2017; 37(5): 694-8.
 - 51 Li J, Bao Q, Chen S, Liu H, Feng J, Qin H, *et al.* Different bone remodeling levels of trabecular and cortical bone in response to changes in Wnt/beta-catenin signaling in mice. *J Orthop Res* 2017; 35(4): 812-9.