

运动调控糖尿病骨病相关信号通路的研究进展

杜玉香 张玲莉 吴伟 杨杰*

(上海体育学院, 上海 200438)

摘要 糖尿病是一种以高血糖为主要特点的慢性代谢疾病。长期患有1型和2型糖尿病的患者可能会出现骨骼并发症或“糖尿病性骨病”,包括骨质减少、骨质疏松、骨关节病变和低应力骨折的发生率增加。腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)和叉头转录基因(FoxO)在糖脂代谢及骨代谢中具有重要调节作用。AMPK是mTOR和FoxO的上游调控因子,AMPK和PI3K/Akt都可以调节mTOR和FoxO1,而能量消耗是激活PI3K/Akt的因素之一,即AMP/ATP的值改变可以激活PI3K/Akt。运动能够介导上述三条通路调控糖尿病骨病,但不同形式不同负荷的运动对糖尿病骨病相关信号通路作用不一,其中运动强度是关键因素。该文查阅国内外大量文献,总结了此三者 in 糖尿病骨病中的调节机制,通过探讨运动介导此三者对糖尿病骨病的影响,试图为糖尿病骨病的预防和治疗提供新的理论依据。

关键词 糖尿病骨病; 运动; AMPK; mTOR; FoxO

Research Progress of Exercise Regulating Signaling Pathway of Diabetic Osteopathy

DU Yuxiang, ZHANG Lingli, WU Wei, YANG Jie*

(Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Abstract Diabetes is a chronic metabolic disease characterized by hyperglycemia. Patients with long-term type 1 and type 2 diabetes mellitus can develop skeletal complications or “diabetic osteopathy” including osteopenia, osteoporosis, osteoarthropathy and an increased incidence of low-stress fractures. AMPK (adenosine monophosphate-activated protein kinase), mTOR (mechanistic target of rapamycin) and FoxO (fork-head box O transcription factor) play important regulatory roles in glycolipid metabolism and bone metabolism. AMPK is the upstream regulator of mTOR and FoxO. Both AMPK and PI3K/Akt can regulate mTOR and FoxO1. Energy consumption is one of the stimulating factors to activate PI3K/Akt, that is, the change of AMP/ATP ratio can activate PI3K/Akt. Exercise can mediate the above three pathways to regulate diabetic bone disease, but different forms and loads of exercise have different effects on diabetic bone disease-related signaling pathways, in which exercise intensity is the key factor. This paper summarizes the regulation mechanism of these three factors in diabetic osteopathy and discusses the influence of exercise-mediated three factors on diabetic osteopathy, providing a new theoretical

收稿日期: 2020-11-04 接受日期: 2021-03-08

2021年上海体育学院附属竞技体育学校教育教学课题中内涵建设经费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)项目(批准号: 11DZ2261100)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13774296464, E-mail: yangjia704@126.com

Received: November 4, 2020 Accepted: March 8, 2021

This work was supported by the Secondary Vocational Connotation Construction of Education and Teaching Project of Competitive Sports School Affiliated to Shanghai University of Sport in 2021, and the Key Laboratory for the Development and Protection of Human Athletic Ability in Shanghai (Shanghai University of Sport) (Grant No. 11DZ2261100)

*Corresponding author. Tel: +86-13774296464, E-mail: yangjia704@126.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5542>

basis for the prevention and treatment of diabetic osteopathy.

Keywords diabetic osteopathy; exercise; AMPK; mTOR; FoxO

随着我国人口老龄化和生活方式的变化, 中国成年人的糖尿病患病率从1980年的0.67%飙升至2013年10.4%。而在2015~2017年期间, 中国成年糖尿病总患病率达到12.8%^[1]。糖尿病是一种由遗传或其他因素引起的代谢紊乱性疾病, 以高血糖为主要特点, 可导致胰岛素缺乏、不敏感以及生物功能的损伤^[1-2]。长期患有1型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)和2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的患者可能会出现骨骼并发症或“糖尿病性骨病”, 包括骨质减少、骨质疏松、骨关节病变和低应力骨折的发生率增加^[3-5]。刘建民^[6]早在2003年就对糖尿病动物、T1DM和T2DM患者的骨密度变化及其影响因素给予阐述, 但也提及糖尿病对骨代谢和骨密度的影响非常复杂, 仅从激素水平对糖尿病的调节并不足以阐释清楚。因此, 评估当前的抗糖尿病治疗是否会对骨代谢产生继发性影响是非常重要的。

腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)和叉头盒O转录因子(fork-head box O transcription factors, FoxO)在糖脂代谢及骨代谢中具有重要调节作用。大量研究证实, 运动能够改善机体的糖脂代谢及骨代谢, 但目前国内运动对糖尿病骨病的相关报道较为少见。本文将阐述AMPK、mTOR以及FoxO信号通路在糖尿病骨病中所起到的作用, 并探讨运动刺激介导AMPK、mTOR以及FoxO信号通路对糖尿病骨病的影响。

1 AMPK信号通路对糖尿病骨病的影响

1.1 AMPK信号通路简介

AMPK是一种蛋白激酶, 由 α 、 β 和 γ 三种亚基构成, 多表达于脂肪、肝脏和骨骼肌等中, 是介导许多激素调节食欲、脂肪和葡萄糖代谢中心和外围效应的重要因子^[7]。AMPK信号通路在糖尿病中起着非常关键作用, 主要参与机体细胞能量代谢及信号传导的调节。被激活后可以提高脂肪、肝和骨骼肌对糖的转化及利用; 此外, 还可以提高胰岛素的敏感性, 改善胰岛素抵抗, 对于肥胖症、T2DM和其他代谢性

疾病具有积极的改善作用。通常AMPK在细胞内处于无活性状态, 一磷酸腺苷/三磷酸腺苷(AMP/ATP)的值可以调控AMPK的活性, 与AMPK的活性呈正相关。运动、低氧、氧化应激和缺血等引起AMP/ATP的变化, 从而相应地调节AMPK信号通路^[8-10]。

T2DM患者由于骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)分化改变, 骨密度降低, 骨折风险增加^[11]。CHEN等^[11]发现, 二甲双胍可依赖于AMPK或独立于AMPK的机制(通过抑制mTOR/p70S6K信号通路)抑制脂肪生成; 通过AMPK改善糖尿病骨病症状, 可抑制线粒体呼吸链上的I型复合体(complex I), 引起AMP/ATP值升高, 激活AMPK; AMP/ATP值升高可以直接抑制果糖和双磷酸酶6, 缓解糖异生。在骨代谢方面, AMPK亚基的表达和激活具有组织特异性, 其中 $\alpha 1$ 亚基占骨AMPK的大部分, 并且临床证据表明二甲双胍对骨有合成代谢作用, 部分原因是AMPK激活^[12]。AMP/ATP值升高和肝激酶B1(liver kinase B1, LKB-1)含量上升可以促进AMPK γ 表达, 提高Runx2相关转录因子2(Runx2)活性, 促进骨形成。同时, AMP/ATP值升高和LKB-1含量上升可促进AMPK α 表达, 抑制核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)受体激活并促进骨吸收^[13]。离体实验中激活AMPK信号通路可促进骨形成, 而在体敲除AMPK α 和 β 后, 小鼠骨量降低^[14-15]。由于糖尿病本身存在着高血糖、高血脂和胰岛素紊乱等代谢特征, 这些特殊环境影响骨代谢。高血糖、高血脂会促进BM-MSCs向脂肪细胞分化, 使骨代谢异常, 造成骨密度下降和骨量流失。而胰岛素缺乏也可造成骨代谢紊乱、骨质疏松等^[16-18]。此外, 在考虑治疗T2DM伴有糖尿病骨病时, 二甲双胍是一种胰岛素增敏剂, 不应该被认为是一种抗骨质疏松的药物, 仅辅助改善糖尿病患者的骨代谢^[12]。

1.2 运动介导AMPK信号通路对糖尿病骨病的影响

运动可改善血糖和骨代谢, 对AMPK信号通路激活同样具有重要作用。ATP在正常人体中含量相对稳定, 而AMP的含量水平很低, 此时AMP/ATP的值较低, AMPK处于无活性状态。运动时, 机体在不

断地消耗ATP产生AMP, 由于ATP含量一直处于相对稳定水平, 而AMP含量逐渐在增加, AMP/ATP的值也随之变大, AMPK开始被激活^[19]。

不同的运动形式、强度及时间对AMPK的影响不尽相同, 耐力训练对AMPK的作用相较于力量训练更为显著。运动的形式和时间等对AMPK影响不尽相同, 耐力训练效果相较于力量训练更为显著。男女之间也存在一定差异, 男性AMPK激活要显著高于女性。当单次低强度运动时, AMPK、AMPK α 1、AMPK α 2活性无明显差异。运动强度逐渐增加时, AMPK与AMPK α 2随之增加。此外, 剧烈运动和20 min以上中等强度运动可以增加AMPK α 2 β 2 γ 三聚体活性^[19-21]。张国华等^[22]比较了不同强度对小鼠体内AMPK活性的影响, 结果显示小强度运动后AMPK活性不变; 中等强度后小鼠体内AMPK活性增强了50%, AMP增加了16%, AMP/ATP增加了33%; 高强度后AMPK活性增强了180%, AMP增加了62%, AMP/ATP增加了89%。KO等^[23]对5周龄糖尿病SD大鼠进行为期8周的有氧运动训练, 结果发现大鼠体内AMPK含量上升, 且活性增加。

运动可以提高AMP/ATP的值, 从而激活AMPK信号通路, 剧烈运动或长时间运动会使AMPK α 活性增强, 之后通过抑制RANKL而降低骨吸收。提示运动干预糖尿病骨病时运动强度不宜过大或者持续时间过长。

上述研究表明, AMPK信号通路不仅参与糖尿病代谢过程的调控, 也参与骨代谢的调控。因此, 通过对AMPK信号通路的调节可以有效地改善糖尿病骨病症状。

2 mTOR信号通路对糖尿病骨病的影响

2.1 mTOR信号通路简介

mTOR是磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)相关蛋白激酶中的一个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可以形成两种复合体, mTORC1(由mTOR、mSLT8、deptor、raptor和mSLT8构成)和mTORC2(由mTOR、protor、sin1、deptor、riCTOR和mSLT8构成)^[24]。mTOR在能量代谢中发挥着重要作用, 研究表明mTOR是现今糖脂代谢紊乱研究的核心^[25-26]。SHAN等^[27]研究发现, 敲除mTOR基因的小鼠会出现胰岛素抵抗和脂肪肝。目前, 关于mTORC1的研究要比mTORC2多。

mTORC1中PI3K/Akt/mTORC1信号通路是一条经典通路, 生长因子、胰岛素、能量消耗和低氧等刺激均可激活PI3K。PI3K能活化富脯氨酸Akt, Akt则直接激活mTORC1, 此通路在改善糖尿病糖脂代谢方面具有正向促进作用^[28]。同时, 激活PI3K/Akt/mTORC1通路可以促进成骨细胞的生成, 有利于骨形成^[29]。而在高糖环境下, 激活PI3K/Akt/mTORC1通路可以促进骨桥蛋白(osteopontin, OPN)的表达, 导致破骨细胞大量生成^[30]。mTORC1可以促进胰岛素 β 细胞分泌胰岛素, 降低血糖, 还可抑制细胞自噬(细胞自噬问题与糖尿病具有相关性)^[31]。童楠等^[32]研究发现, 中药益肾颗粒可以通过激活PI3K/Akt/mTORC1信号通路, 调节糖脂代谢, 减轻糖尿病肾病大鼠肾脏病理改变。此外, 胰岛素样生长因子1(insulin growth factor 1, IGF-1)可通过激活MAPK/ERK/mTORC1通路进而激活MAPK/ERK信号通路, 从而抑制磷酸化结节硬化复合物(tuberous sclerosis complex, TSC)的复合体TSC1/TSC2, 最终激活mTORC1^[33]。当消耗大量能量时, AMP/ATP的值迅速升高, 激活AMPK通路, 使TSC2磷酸化, 其复合物GTP酶活化蛋白(GTPase activating protein, GAP)也被激活, 从而抑制mTORC1, 减少蛋白质合成^[34-35]。低氧时, 低氧诱导因子HIF1 α 通过TSC激活GAP, 抑制mTORC1^[36]。mTORC2是胰岛素/PI3K的效应器, 抑制mTORC2相当于破坏了胰岛素的生理反应^[37]。

mTOR在相关的骨骼中多有研究。利拉格鲁肽是一种合成的类似于胰高血糖素样肽1的肽, 用于治疗T2DM和肥胖症。HU等^[38]研究发现, 在成骨细胞分化过程中, 加入利拉格鲁肽, MC3T3-E1细胞中AMPK磷酸化表达水平上调, 而转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和mTOR磷酸化水平下调。利拉格鲁肽通过调节AMPK/mTOR信号通路减弱成骨细胞系MC3T3-E1的成骨分化。有研究报道, BM-MSCs缺氧时激活自噬过程中AMPK/mTOR信号通路^[39], 内质网应激诱导BM-MSCs死亡是通过自噬介导的, 部分是由mTOR靶蛋白失活造成^[40]。CAI等^[41]研究高血糖作用于破骨细胞, 通过不同浓度葡萄糖对RAW264.7的影响, 发现抑制AMPK/mTOR/ULK1信号轴可降低葡萄糖介导的破骨细胞自噬。高水平的葡萄糖降低了破骨细胞的自噬水平, 而自噬又影响破骨细胞的形成和功能。IGF-1是骨形成的调节因子, 具有促进有丝分裂和

促进成骨等作用。IGF-1缺乏可使骨形成可能性降低、BMD下降、骨折危险性增加^[42]。方颖等^[43]发现, IGF-1可促进糖尿病状态下成骨细胞的骨形成和骨矿化。IGF-1可通过活化mTOR通路, 促进MSCs成骨分化, 从而维持正常的骨微结构以及重量^[44]。此外, IGF-1可通过激活PI3K/Akt/mTOR通路活化mTOR, 引起Runx2、OSX、OCN蛋白表达上调, 由此促进骨髓干细胞的增殖及成骨分化^[45]。

2.2 运动介导mTOR信号通路对糖尿病骨病的影响

运动能够调控mTOR通路, 如前文所述, 当能量大量消耗时, AMP/ATP的值增高, AMPK通路激活, 从而抑制mTORC1。潘同斌等^[46]研究发现, 力竭运动后大鼠血清中AMPK和TSC2含量显著增加, 而mTOR含量明显减少, 提示力竭运动可通过AMPK/TSC2/mTOR通路, 最终使mTOR失活。在AMPK通路中, 剧烈运动时会激活AMPK通路产生大量AMPK α , 从而抑制RANKL, 促进骨吸收。因此, 推测力竭运动可通过AMPK α 促进TSC2含量增加, 并通过AMPK α /TSC2/mTORC1通路使mTORC1失活, 造成糖脂代谢紊乱和骨吸收增强。此外, 杨子桢等^[47]研究发现, 适当的牵张力可通过激活mTOR/MMPs(金属基质蛋白酶)促进间充质干细胞向成骨细胞迁移。

mTOR与AMPK在糖尿病骨病中有着密切联系, AMPK可以调控mTOR。糖尿病骨病与运动强度关系密切。当强度过大时, 激活AMPK α , 使骨吸收增强; 同时抑制了mTORC1活性, 不利于糖脂代谢。因此, 运动干预糖尿病骨病的方案中需避免高强度的剧烈运动。有关运动持续时间、运动形式等对糖尿病骨病AMPK和mTOR信号通路尚未见报道。

3 FoxO对糖尿病骨病的影响

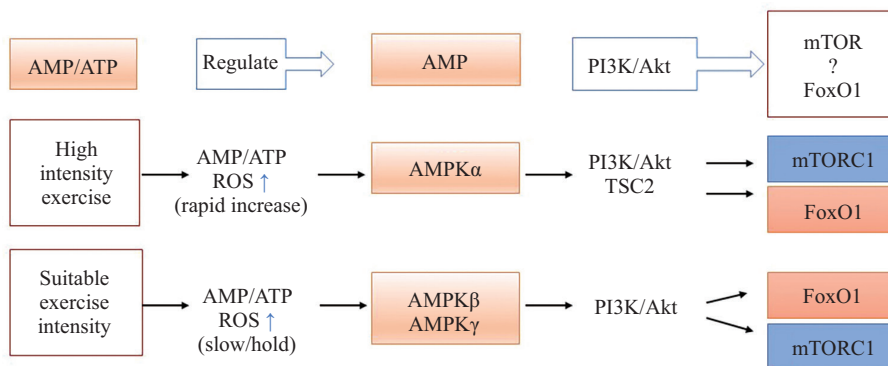
3.1 FoxOs信号通路简介

FoxOs蛋白属于叉头转录因子家族, 目前组成FoxOs家族的成员包括: FoxO1、FoxO3、FoxO4和FoxO6, 它们是秀丽线虫转录因子DAF-16 (dauer form-16)的同源物, 其特征是具有一个叉头盒或翼状螺旋结构域, 由一个高度保守的含110个氨基酸的DNA组成^[48], FoxO1和FoxO3蛋白的大小大于650个氨基酸, 大于FoxO4和FoxO6(近500个氨基酸)。4个FoxO蛋白成员具有明显的序列同源性, 并具有4个明显不同的功能结构域, 包括结合域、核定位序列、

核输出序列和反式激活结构域。FoxOs已经在各个器官中被发现, 其中, FoxO1、FoxO4和FoxO6在脂肪、肌肉骨骼和神经组织中表达较多, 而FoxO3在胃、脾、肾、肠和心脏组织中表达更多, 而在骨细胞中FoxO1、FoxO3和FoxO4都有表达。FoxOs蛋白在机体健康调控中扮演至关重要的角色^[49]。FoxOs的转录活性控制着许多细胞过程, 包括分化、增殖、新陈代谢、凋亡、自噬等^[50]。

3.2 运动介导FoxOs信号通路对糖尿病骨病的影响

FoxO1在胰岛效应靶细胞中表达^[51], 在调节胰岛素抵抗、 β 细胞增殖、糖异生和糖脂代谢等方面具有重要作用; 在胰岛素抵抗或糖尿病机体中高表达^[52-53]。FoxO1是胰岛素和IGF相关信号通路的下游因子, 受PI3K/Akt调控, 譬如胰岛素受体底物和IGF-1可以激活PI3K/Akt, 从而下调FoxO1的表达^[54-55]。胰岛素可以促进成骨细胞形成, 抑制FoxOs转录因子的活性, 而FoxOs可抑制骨祖细胞增殖和骨形成。FoxOs高活性会导致与T1DM相关的松质骨骨量减少, 而FoxOs的失活可能会改善胰岛素缺乏产生的副作用^[56]。活性维生素D3可抑制FoxO1活性, 磷酸化FoxO1, 促进其核排斥作用, 增加OCN的分泌总量和非羧化OCN水平, 通过调控PI3K/Akt/FoxO1/OCN通路改善葡萄糖代谢和骨发育^[57]。而在氧化应激时, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)则可以通过激活MAPK(JNK、P38)及AMPK信号通路上调FoxO1的表达^[58-59]。课题组前期发现运动与氧化应激密切相关, 运动强度越大、持续时间越长、间隔时间越短等都会加重氧化应激状态, 释放出过量的ROS^[60-61]。脂肪细胞分化过程中ROS的短暂增加会伴随着FoxO1的上调, 这表明, FoxO1诱导抗应激反应基因的反式激活, 从而抵氧化应激^[62]。TOMOBE等^[63]发现, FoxO1通过减少氧化应激、炎症和脂毒性参与血管紧张素转换酶介导的糖尿病肾病保护作用。因此, 当进行大强度运动时, FoxO1的表达很可能随之增加。与糖脂代谢相反, 骨代谢中FoxO1是成骨细胞亚型中表达量最高的。敲除小鼠成骨细胞中的FoxO1, 发现小鼠成骨细胞减少、骨体积降低、骨吸收明显, 而胰岛素抵抗、葡萄糖不耐受却得到了明显好转。而胰岛素又可以激活PI3K/蛋白激酶B(PI3K/protein kinase B, PKB)通路, 抑制成骨细胞上的FoxO1, 促进破骨细胞增殖, 影响骨吸收。



问号表示mTOR和FoxO1是否存在一定调节关系, 还有待进一步探究。

The question mark indicates that whether mTOR and FoxO1 have a certain regulatory relationship remains to be further explored.

图1 糖尿病骨病背景下运动调控AMPK、mTORC和FoxO的示意图

Fig.1 Schematic diagram of exercise regulating AMPK, mTORC and FoxO in the background of diabetic osteopathy

FoxOs在成骨细胞祖细胞中可抑制Wnt信号和骨形成。此外, FoxOs还通过对破骨细胞直接抗氧化和上调成骨细胞谱系中OPG的表达来降低骨吸收^[64]。因此, FoxO1在糖代谢和骨代谢的相互作用具有调节作用^[65]。

此外, 软骨细胞中的FoxOs对正常骨骼发育至关重要, 骨折愈合过程中软骨细胞中FoxO1的缺失阻止了软骨内成骨的过早清除^[66]。

4 小结

AMPK、mTOR和FoxO在调节糖尿病骨病中具有重要作用。AMPK是mTOR和FoxO的上游调控因子, AMPK和PI3K/Akt都可以调节mTOR和FoxO1, 而能量消耗是激活PI3K/Akt的因素之一, 即AMP/ATP的值改变可以激活PI3K/Akt(图1)。mTOR和FoxO1是否存在一定调节关系, 还有待进一步探究。

运动能够介导上述三条通路调控糖尿病骨病, 但不同形式不同负荷的运动对糖尿病骨病相关信号通路作用不一, 其中运动强度是关键因素。高强度或者剧烈运动时, AMPK可以抑制mTORC1的活性, 增加FoxO1的表达; 而有氧运动或适当的牵张力则可以提高AMPK和mTOR活性, 改善糖尿病骨病症状。因此, 根据前人研究总结推测, 不同运动强度首先通过影响AMP/ATP的值和ROS含量等调节AMPK, 然后再通过PI3K/Akt和TSC2等最终调节mTORC1和FoxO1的表达(图1)。高强度运动不利于糖尿病骨病的康复, 且有加重病情的趋势。而中小强度的运动可以改善糖尿病骨病的症状。而不同含量的mTORC1和FoxO1对糖尿病骨病会造成不同的

影响。运动对糖尿病骨病中AMPK、mTOR和FoxO信号通路的作用有待进一步研究。此运动持续时间、运动形式、频率等对糖尿病骨病的影响还需进一步探究。

参考文献 (References)

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2017年版)[J]. 中国实用内科杂志(Chinese Diabetes Society. Guidelines for the prevention and control of type 2 diabetes in China (2017 Edition) [J]. Chin J Pract Intern Med), 2018, 38(4): 292-344.
- [2] LI Y, TENG D, SHI X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study [J]. BMJ, 2020, 369: m997.
- [3] DUMITRU N, CARSOTE M, COCOLOS A, et al. The link between bone osteocalcin and energy metabolism in a group of postmenopausal women [J]. Curr Health Sci J, 2019, 45(1): 47-51.
- [4] EBRAHIMPUR M, SHARIFI F, NEZHAD F A, et al. Effect of diabetes on BMD and TBS values as determinants of bone health in the elderly: Bushehr Elderly Health program [J]. J Diabetes Metab Disord, 2019, 18(1): 99-106.
- [5] MCCARTHY A D, CORTIZO A M, SEDLINSKY C. Metformin revisited: does this regulator of AMP-activated protein kinase secondarily affect bone metabolism and prevent diabetic osteopathy [J]. World J Diabetes, 2016, 7(6): 122-33.
- [6] 刘建民. 糖尿病性骨病[J]. 国际内分泌代谢杂志(LIU J M. Diabetic bone disease [J]. Int J Endocrinol Metab), 2003, 23(2): 133-5.
- [7] JEYABALAN J, SHAH M, et al. AMP-activated protein kinase pathway and bone metabolism [J]. J Endocrinol, 2012, 212(3): 277-90.
- [8] LIN S C, HARDIE D G. AMPK: sensing glucose as well as cellular energy status [J]. Cell Metab, 2018, 27(2): 299-313.
- [9] KE R, XU Q, LI C, et al. Mechanisms of AMPK in the maintenance of ATP balance during energy metabolism [J]. Cell Biol Int, 2018, 42(4): 384-92.

- [10] CARLING D. AMPK signalling in health and disease [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 45: 31-7.
- [11] CHEN S C, BROOKS R, HOUSKEEPER J, et al. Metformin suppresses adipogenesis through both AMP-activated protein kinase (AMPK)-dependent and AMPK-independent mechanisms [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2017, 440: 57-68.
- [12] McCARTHY A D, CORTIZO A M, SEDLINSKY C. Metformin revisited: does this regulator of AMP-activated protein kinase secondarily affect bone metabolism and prevent diabetic osteopathy [J]. *World J Diabetes*, 2016, 7(6): 122-33.
- [13] BAHRAMBEIGI S, YOUSEFI B, RAHIMI M, et al. Metformin: an old antidiabetic drug with new potentials in bone disorders [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 1593-601.
- [14] 王钰钢, 范启明, 汤亭亭. AMPK信号通路对骨代谢的调节作用[J]. *中国骨质疏松杂志*(WANG Y G, FAN Q M, TANG T T. The regulatory role of AMPK signaling pathway in bone metabolism [J]. *Chin J Osteopor*), 2014, 20(3): 322-6.
- [15] GENG W, SHI H, ZHANG X, et al. Substance P enhances BMSC osteogenic differentiation via autophagic activation [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(1): 664-70.
- [16] KANAZAWA I. Interaction between bone and glucose metabolism [J]. *Endocr J*, 2017, 64(11): 1043-53.
- [17] KASPERK C, GEORQESCU C, NAWROTH P. Diabetes mellitus and bone metabolism [J]. *Exp Endocrinol Diabetes*, 2017, 125(4): 213-7.
- [18] 葛运华, 吴伟. 糖尿病患者骨代谢的变化及运动对其影响的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*(GE Y H, WU W. Research progress in bone metabolism and the effect of exercise on it in diabetic patients [J]. *Chin J Osteopor*), 2016, 22(11): 1491-5.
- [19] 赵伟, 王耀光, 王成盼. 运动改善AMPK的研究现状[J]. *中国学校体育(高等教育)*(ZHAO W, WANG Y G, WANG C P. Research Status of Exercise Improves AMPK [J]. *China School Physical Education, Higher Education*), 2018, 5(2): 86-91.
- [20] WALL C E, YU R T, ATKINS A R, et al. Nuclear receptors and AMPK: can exercise mimetics cure diabetes [J]? *J Mol Endocrinol*, 2016, 57(1): R49-58.
- [21] JEON S M. Regulation and function of AMPK in physiology and diseases [J]. *Exp Mol Med*, 2016, 48(7): e245.
- [22] 张国华, 朱一力, 曾凡星. 不同强度运动对大鼠骨骼肌AMP/ATP比值和AMPK活性的影响[J]. *中国体育科技*(ZHANG G H, ZHU Y L, ZENG F X. Influence on ratio of AMP/ATP and AMPK activity in rat's skeletal muscle by different exercise intensity [J]. *China SP Sci Tech*), 2008(4): 19-23.
- [23] KO J R, SEO D Y, KIM T N, et al. Aerobic exercise training decreases hepatic asprosin in diabetic rats [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(5): 666.
- [24] ZHANG Y, JING Y, QIAO J, et al. Activation of the mTOR signaling pathway is required for asthma onset [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4532.
- [25] ALBERT V, HALL M N. mTOR signaling in cellular and organismal energetics [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 33: 55-66.
- [26] 栾会玲, 王茉, 翁雨晴, 等. mTOR信号调节糖脂代谢的研究进展[J]. *海峡药学*(LUAN H L, WANG M, WENG Y Q, et al. Advances in mTOR signal regulation of glycolipid metabolism [J]. *Strait Pharm J*), 2018, 30(5): 5-8.
- [27] SHAN T, ZHANG P, JIANG Q, et al. Adipocyte-specific deletion of mTOR inhibits adipose tissue development and causes insulin resistance in mice [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(9): 1995-2004.
- [28] EL ZAOUI I, BUCHER M, RIMOLDI D, et al. Conjunctival melanoma targeted therapy: MAPK and PI3K/mTOR pathways inhibition [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(7): 2764-72.
- [29] CHEN J, TU X, ESEN E, et al. WNT7B promotes bone formation in part through mTORC1 [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(1): e1004145.
- [30] 王凤梅, 蒋克国, 张桂霞, 等. 高糖激活PI3K/AKT/mTORC1通路诱导人肾小管上皮细胞骨桥蛋白的表达[J]. *中国药理学通报*(WANG F M, JIANG K G, ZHANG G X, et al. High glucose induces expression of osteopontin through activation of PI3K/AKT/mTORC1 pathway in human renal tubular epithelial cells [J]. *Chin Pharmacol Bull*), 2014, 30(8): 1156-60.
- [31] 许戈阳, 刘芬婷, 沈哲民, 等. mTOR信号通路在糖代谢中的作用[J]. *生理科学进展*(XU G Y, LIU F T, SHEN Z M, et al. The role of mTOR signal pathway in glucose metabolism [J]. *Prog Physiol Sci*), 2015, 46(2): 94-8.
- [32] 童楠, 张宁. PI3k/Akt/mTOR和LKB1/AMPK/Sirt1信号通路对糖尿病肾病大鼠的干预作用研究[J]. *中华中医药杂志*(TONG N, ZHANG N. Intervention effects of Yishen Granules on rats with diabetic nephropathy via PI3k/Akt/mTOR and LKB1/AMPK/Sirt1 pathways [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*), 2018, 33(5): 1853-7.
- [33] MENDOZA M C, ER E E, BLENIS J. The Ras-ERK and PI3K-mTOR pathways: cross-talk and compensation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36(6): 320-8.
- [34] CARROLL B, DUNLOP E A. The lysosome: a crucial hub for AMPK and mTORC1 signalling [J]. *Biochem J*, 2017, 474(9): 1453-66.
- [35] HOWELL J J, HELLBERG K, TURNER M, et al. Metformin inhibits hepatic mTORC1 signaling via dose-dependent mechanisms involving AMPK and the TSC complex [J]. *Cell Metab*, 2017, 25(2): 463-71.
- [36] WANG S, SONG P, ZOU M H. AMP-activated protein kinase, stress responses and cardiovascular diseases [J]. *Clin Sci*, 2012, 122(12): 555-73.
- [37] LIU P, GAN W, CHIN Y R, et al. PtdIns(3,4,5) P3-dependent activation of the mTORC2 kinase complex [J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(11): 1194-209.
- [38] HU X K, YIN X H, ZHANG H Q, et al. Liraglutide attenuates the osteoblastic differentiation of MC3T3-E1 cells by modulating AMPK/mTOR signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4): 3662-8.
- [39] MENG Y, JI J, TAN W, et al. Involvement of autophagy in the procedure of endoplasmic reticulum stress introduced apoptosis in bone marrow mesenchymal stem cells from nonobese diabetic mice [J]. *Cell Biochem Funct*, 2016, 34(1): 25-33.
- [40] LIU J, HAO H, HUANG H, et al. Hypoxia regulates the therapeutic potential of mesenchymal stem cells through enhanced autophagy [J]. *Int J Low Extrem Wounds*, 2015, 14(1): 63-72.
- [41] CAI Z Y, YANG B, SHI Y X, et al. High glucose downregulates the effects of autophagy on osteoclastogenesis via the AMPK/mTOR/ULK1 pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(2): 428-35.
- [42] 郭玲, 王敏, 郝亮. 胰岛素样生长因子1对小鼠成骨细胞增殖和碱性磷酸酶活性的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*(GUO L, WANG M, HAO L, et al. Influence of insulin-like growth factor-1 on mouse osteoblast proliferation and alkaline

- phosphatase activity [J]. *J Clin Rehab Tissue Eng Res*, 2010, 14(33): 6095-8.
- [43] 方颖, 袁林, 任广立, 等. 胰岛素样生长因子I对高糖条件下成骨细胞骨形成的影响[J]. *实用口腔医学杂志(FANG Y, YUAN L, REN G L, et al. Effects of insulin-like growth factor I on alveolar bone remodeling in diabetic rats [J]. J Pract Stomatol)*, 2010, 26(3): 315-20.
- [44] XIAN L, WU X, PANG L, et al. Matrix IGF-1 maintains bone mass by activation of mTOR in mesenchymal stem cells [J]. *Nat Med*, 2012, 18(7): 1095-101.
- [45] 黄丹. 胰岛素样生长因子1通过mTOR通路促进骨髓干细胞增殖及成骨分化[D]. 南通: 南通大学, 2015.
- [46] 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[J]. *南京体育学院学报(PAN T B, JI M J, YE L L, et al. Effect of exhaustion exercise on the type of muscle fiber and AMPK/TSC2/mTOR in skeletal muscle of rats [J]. J NangJing Sp Inst)*, 2018, 1(9): 39-45.
- [47] 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[J]. *中国组织工程研究(YANG Z G, WU B L, JIA S, et al. Mechanical stretch promotes mesenchymal stem cell-osteoblast lineage migration through activation of mammalian target of rapamycin/matrix metalloproteinases signaling pathway [J]. J Clin Rehabil Tis Eng Res)*, 2015, 19(32): 5097-102.
- [48] LU C, YANG Z, JIANG S, et al. Forkhead box O4 transcription factor in human neoplasms: cannot afford to lose the novel suppressor [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 8647-58.
- [49] MA X, SU P, YIN C, et al. The roles of FoxO transcription factors in regulation of bone cells function [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 692.
- [50] IOANNILLI L, CICCARONE F, CIRIOLO M R. Adipose tissue and FoxO1: bridging physiology and mechanisms [J]. *Cells*, 2020, 9(4): 849.
- [51] KIN G G, LEE H, GUPTA N, et al. Role of forkhead box class O proteins in cancer progression and metastasis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 50: 142-51.
- [52] TSUCHIYA K, OQAWA Y. Forkhead box class O family member proteins: the biology and pathophysiological roles in diabetes [J]. *J Diabetes Investiq*, 2017, 8(6): 726-34.
- [53] CHISTIAKOV D A, OREKHOV A N, BOBRY SHEV Y V. The impact of FOXO-1 to cardiac pathology in diabetes mellitus and diabetes-related metabolic abnormalities [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 245: 236-44.
- [54] 杨娟, 余美华. FoxO1在2型糖尿病中的作用及其研究进展[J]. *中南医学科学杂志(YANG M J, SHE M H. The role and research progress of FoxO1 in type 2 diabetes mellitu [J]. J Univ South China(Med Ed)*, 2017, 45(3): 307-11.
- [55] TIKHANOVICH I, COX J, WEINMAN S A. Forkhead box class O transcription factors in liver function and disease [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(S1): 125-31.
- [56] IVER S, HAN L, AMBROGINI E, et al. Deletion of FoxO1, 3, and 4 in osteoblast progenitors attenuates the loss of cancellous bone mass in a mouse model of type 1 diabetes [J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(1): 60-9.
- [57] XIONG Y, ZHANG Y, XIN N, et al. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 promotes bone formation by promoting nuclear exclusion of the FoxO1 transcription factor in diabetic mice [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(49): 20270-80.
- [58] SHI W Z, TIAN Y, LI J. GCN2 suppression attenuates cerebral ischemia in mice by reducing apoptosis and endoplasmic reticulum (ER) stress through the blockage of FoxO3a-regulated ROS production [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(1): 285-92.
- [59] FAN T, HE J, YIN Y, et al. Dioscin inhibits intimal hyperplasia in rat carotid artery balloon injury model through inhibition of the MAPK-FoxM1 pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 854: 213-23.
- [60] 侯希贺, 张玲莉, 李慧, 等. 运动训练与骨代谢和脂代谢: 运动强度和持续时间是影响的重要因素[J]. *中国组织工程研究(HOU X H, ZHANG L L, LI H, et al. Exercise training for bone and lipid metabolisms: exercise intensity and duration are important factors [J]. J Clin Rehabil Tis Eng Res)*, 2018, 22(12): 1950-5.
- [61] 吴伟, 张玲莉, 邹军. 中药多糖及运动抗氧化作用对糖尿病防治的研究进展[J]. *中国中药杂志(WU W, ZHANG L L, ZOU J. Research progress on antioxidation effect of tradition Chinese medicine polysaccharides and sports for diabetes prevention and treatment [J]. Chin J Chin Mater Med)*, 2016, 41(14): 2591-9.
- [62] IOANNILLI L, CICCARONE F, CIRIOLO M R. Adipose tissue and FoxO1: bridging physiology and mechanisms [J]. *Cells*, 2020, 9(4): 849.
- [63] TOMOBE K, SHINOZUKA T, KAWASHIMA T, et al. Age-related changes of forkhead transcription factor FOXO1 in the liver of senescence-accelerated mouse SAMP8 [J]. *Arch Gerontol Geriat*, 2013, 57: 417-22.
- [64] KIM H N, IVER S, RING R, et al. The role of FoxOs in bone health and disease [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2018, 127: 149-63.
- [65] RACHED M T, KODE A, XU L, et al. FoxO1 is a positive regulator of bone formation by favoring protein synthesis and resistance to oxidative stress in osteoblasts [J]. *Cell Metab*, 2010, 11(2): 147-60.
- [66] LU Y, ALHARBI M, ZHANG C, et al. Deletion of FOXO1 in chondrocytes rescues the effect of diabetes on mechanical strength in fracture healing [J]. *Bone*, 2019, 123: 159-67.