

骨源性骨钙素跨器官调控的研究进展

赵璇 杜玉香 张玲莉 杨杰*

(上海体育学院, 上海 200438)

摘要 骨钙素作为骨形成的特异性生化标志物之一, 在血液中存在羧基化、部分羧基化和未羧基化形式。骨钙素对骨组织所处阶段具有监测和调节作用, 可用于评价骨形成与骨转换过程; 其作为骨骼的分泌蛋白对骨外器官也有影响, 参与机体的代谢过程, 影响疾病的发生与转归。在神经系统中骨钙素参与神经递质合成, 影响记忆功能; 在糖脂代谢中影响瘦素、脂联素和胰岛素等, 降低肝脏脂肪沉积和肝炎程度, 参与2型糖尿病的发生发展和治疗, 帮助预防甲状腺骨病。该文查阅国内外文献, 归纳总结了骨源性骨钙素通过血清对骨外器官的代谢调控作用, 具体阐述了骨钙素在跨器官调控过程中的机制, 以及机体在运动(或力学刺激)情况下骨钙素的相关变化。

关键词 骨钙素; 跨器官调控; 阿尔茨海默病; 2型糖尿病; 运动处方

Research Progress of Bone-Derived Osteocalcin on Cross-Organ Regulation

ZHAO Xuan, DU Yuxiang, ZHANG Lingli, YANG Jie*

(Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Abstract Osteocalcin is one of the specific biochemical markers of bone formation. It has three forms in the blood, carboxylated, partially carboxylated and uncarboxylated. Osteocalcin also has a great effect of monitoring and regulating on the stages of bone, which can be used to evaluate the process of bone formation and destruction. As a secreted protein of bone, osteocalcin has an influence on organs outside bone. It participates in the metabolic process of body. It impacts the process of diseases, too. In the nervous system, osteocalcin has an effect on neurotransmitter synthesis, which affects memory function. In glycolipid metabolism, osteocalcin has an influence on the leptin, adiponectin and insulin, which helps reducing fat deposition in liver. This influence also contributes to the treatment of type 2 diabetes and thyroid bone diseases. In this review, literature domestic and overseas are both involved, discussing the metabolic regulation of bone-derived osteocalcin on extraosseous organs. The mechanisms of osteocalcin in different organs and responses of osteocalcin under exercising (mechanical stimulation) are also described.

Keywords osteocalcin; cross-organ regulation; Alzheimer's disease; type 2 diabetes; exercise prescription

骨钙素(osteocalcin, OCN或bone gla protein, BGP)于1975年由HAUSCHKA^[1]命名。研究人员对OCN的研究从最初的OCN能够参与骨骼的形成矿化, 到OCN逐渐作为临床监测和诊断骨质疏松症的

指标; 再到发现羧化不全骨钙素(undercarboxylated osteocalcin, ucOCN)能够作为一种内分泌激素调控机体代谢。随着对OCN研究的不断深入, 现在的内容主要集中于骨源性OCN对其他器官和疾病的干预

收稿日期: 2021-04-18

接受日期: 2021-08-02

中国博士后科学基金第14批特别资助(批准号: 2021T140224)和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资助的课题

*通讯作者。Tel: 13774296464, E-mail: yangjie704@126.com

Received: April 18, 2021

Accepted: August 2, 2021

This work was supported by Funding for China Postdoctoral Science Foundation (Grant No.2021T140224) and Vocational Connotation Construction of the Education and Teaching Project of the Affiliated Competitive Sports School of Shanghai University of Sport in 2021

*Corresponding author. Tel: +86-13774296464, E-mail: yangjie704@126.com

机制。骨源性OCN以ucOCN形式存在于血液循环中,主要表现激素作用,OCN综合调控机体内分泌并与多种疾病的发生转归相关。运动(或力学刺激)作用于骨骼,影响机体骨骼分泌的OCN含量,又因运动方式、时间以及训练者年龄不同存在差异。

本文总结国内外文献,阐述了骨源性OCN对骨外器官的代谢调控机制,总结了运动(或力学刺激)对OCN的影响,为临床预防内分泌紊乱、治疗代谢疾病提供新方向。

1 OCN的基本结构与功能

OCN是由骨骼内成骨细胞合成及分泌的一种非胶原蛋白,是骨基质的主要成分^[2]。羧基化骨钙素(carboxylated osteocalcin, cOCN)能够定位并吸附羟基磷灰石,从而维持骨骼的正常矿化过程。OCN仅参与成骨细胞的基质矿化期,故可反映骨代谢的整体水平。主要存在于血液循环中的ucOCN被普遍认为是一种具有生物学活性的内分泌激素,可从多途径影响糖脂代谢、参与能量代谢、调节生殖过程等^[3-4]。同时ucOCN可穿过血脑屏障作用于脑干、中脑、海马中的神经元,对大脑发育、神经结构和行为功能具有决定性的作用。

1.1 OCN的基本结构

OCN是骨组织内已发现的最丰富的一种非胶原蛋白,属于非胶原酸性糖蛋白,是一种依赖Vitamin K的钙结合蛋白。OCN的相对分子量较小,约为6 kDa,其内含的49个氨基酸序列高度保守,肽链的第17、21、24位具有3个 γ -羧基谷氨酸片段,对钙离子具有高亲和力。血清中OCN的主要形式包括整个分子结构(1~49位氨基酸)和N-MID片段(43~49位氨基酸),第43~49位氨基酸在外周血中,主要表现该片段的稳定性^[5]。翻译生成OCN的谷氨酸羧基化修饰过程至少需要受体样跨膜蛋白酪氨酸磷酸酶(osteoblast protein tyrosine phosphatase, OST-PTP)和Vitamin K依赖性 γ -谷氨酸羧化酶(γ -glutamyl carboxylase, GGCX)催化,人类OCN基因仅在片段17位上被羧基化。

OCN由1,25-二羟基胆钙化固醇调节^[6]。人及大鼠的OCN基因结构都由4个外显子和3个内含子组成,人和小鼠的外显子序列具有70%的相似度,内含46~50个氨基酸残基^[1]。在OCN的完整编码基因中,第1外显子5'端的DNA序列由前导序列直接编码信

号肽,前导序列则由36个核苷酸组成以协助新合成的OCN分泌到胞外^[7]。OCN蛋白中羧基化的谷氨酸残基包括第17、21、24位,第23和第29位半胱氨酸残基间能够形成分子内二硫键^[8]。OCN由非结构化的N末端、C末端疏水性核心区及3个 α 螺旋构成。

OCN通过Vitamin K依赖性GGCX催化,在酸性条件下发生羧化反应,成为不同形式的cOCN和ucOCN。ucOCN的浓度不受蛋白质合成影响,是OCN的活化形式。前肽移除后的成熟蛋白质结构中不包含0~2个 γ -羧基谷氨酸残基,与骨的结合能力低并具有活性,ucOCN进入血液循环后能激活多种组织的生物学功能,而cOCN则无活性,主要储存在骨基质中,构成骨骼的骨架结构。

1.2 OCN的多元功能

OCN仅由成熟的成骨细胞和骨细胞合成与分泌,在Runx2/Cbfa1转录因子的控制下表达,其在血清中的含量可表示骨转换效率及成骨细胞活性。作为特异性反映骨形成的生化指标,OCN能够用于骨骼相关疾病的诊断^[9]。

OCN除在骨骼系统中的功能外,还具有体内激素的特点,可对多系统器官起到调节作用,参与疾病的发生和转归。DUCY等^[10]研究发现,成骨细胞分泌的OCN失活会引起胰岛素抵抗,骨骼可以通过增加胰岛素的产生和调节胰岛素敏感性来控制糖脂代谢,并在运动过程中通过肌肉细胞促进其消耗。OTANI等^[11]认为,OCN在脂肪组织和肝脏脂质代谢中起到重要作用,能够预防饮食诱导的甘油三酯在肝细胞中蓄积而导致的肝损伤,有治疗脂质代谢紊乱的潜力。TACEY等^[12]认为,OCN与血管功能有直接或间接的关联,ucOCN含量增加与血压降低和动脉僵硬有关。SADEK等^[13]进行对照实验得出,ucOCN浓度升高后糖尿病性心肌病大鼠的心肌收缩和舒张功能障碍可得到明显改善,认为ucOCN能够改善糖尿病性心肌病导致的微血管功能不全和心肌功能障碍。ZHOU等^[14]研究认为,OCN较长时间维持在低水平会加快轻度认知功能障碍发展为阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的进程,甚至直接导致AD的发生。OCN作为骨源性分泌因子,现已成为骨骼跨器官调控研究方向的热点。

骨源性OCN逐渐细化为具有生物学活性的ucOCN和主要储存在骨基质中构成骨骼骨架结构的cOCN。通过控制羧化反应的环境条件、催化酶活

性甚至羧基化位点,影响血液循环中ucOCN含量,将其控制在适宜范围内,能够从生物学上影响OCN的结构和比例,有益于目标疾病的可控干预。具有生化活性的ucOCN具有特异性、高效性,在协助传递信息的同时可与其他激素相互作用,其中的反馈调节机制或许能够为内分泌系统的常见疾病提供可能解决方案。

2 OCN调节骨外器官

2.1 OCN调节脑和神经

骨骼与神经系统之间存在相互影响,ROUSSEAUD等^[15]调查发现,AD患者较正常人发生骨质疏松的风险更高,且骨发育不全或缺陷患者更易发生大脑认知功能损害。NAKAMURA等^[16]研究发现,随着年龄增长,在此过程中改善骨骼健康可以对认知功能产生有益作用,且运动干预能够对认知功能起到积极影响,如预防老年痴呆等,但OCN的量变能否纠正因年龄增长而引发的认知缺陷仍需进一步研究^[17]。

OURY等^[18]研究发现,在胎儿进行骨骼发育的前胚胎时期,OCN存在于胎儿血中,即孕鼠母体OCN含量对其胎儿脑部的正常发育过程有影响,且良性影响表现为可帮助海马发育。敲除母鼠OCN则会导致胎儿部分神经细胞凋亡,甚至影响母鼠成年后代的学习和记忆样行为。ucOCN能穿过血脑屏障并作用于脑干、中脑和海马中神经元上的G蛋白偶联受体158(G protein-coupled receptor 158, GPR158)^[19]。GPR158已被明确证实是大脑中的OCN受体^[20],在海马CA3区进行结合表达^[21],促进神经中肌醇三磷酸(inositol triphosphate, IP3)和脑神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)积累。首先,缺乏G蛋白偶联受体GPRC6A(G protein-coupled receptor class C group 6 member A)(OCN受体)的小鼠在能量代谢方面与OCN^{+/+}小鼠无异且不存在行为学差异;OCN^{-/-}和GPRC6A^{-/-}的小鼠则存在行为学差异^[18],即GPRC6A在大脑中不表达OCN信号,但OCN可通过其他受体表达来影响认知行为能力,故OCN使用多种受体实现其功能,对中枢神经系统发挥重要调控作用。其次,虽然OCN在脑干背侧和正中沟的神经元中与受体结合发挥作用,但GPR158不在此区域进行表达,推测OCN还可能存在第三个受体^[17],佐证前文多种受体发挥作用的观点。

在各个年龄段的神经系统中,涵盖从胎儿大脑

发育到老年常见的认知功能障碍,OCN都有着独特的作用。从胎儿时期经母体血液影响胎儿脑发育,至成年时期影响神经递质合成,再到参与认知功能障碍进程乃至引发AD。骨骼作为内分泌器官的研究热点,越来越多的研究集中在OCN对大脑发育的影响、对神经系统的调控通路、对记忆形成的作用以及对神经系统疾病的干预等,OCN尤其是ucOCN作为神经系统疾病诊治的重要干预方式有待进一步完善。

2.2 OCN调节糖脂代谢

2.2.1 OCN对胰腺的作用 OCN与胰岛素之间存在相互调节作用,OCN缺乏可能导致胰岛β细胞数量减少、胰岛素含量下降以及血糖升高等^[21]。血清OCN可作为绝经后妇女腹部肥胖和胰岛素抵抗的观察指标,ucOCN含量与胰岛素标志物的表达呈正相关^[22]。成骨细胞表面存在胰岛素受体,OCN亦可作用于胰腺细胞。ucOCN能够直接作用于胰腺细胞,还可通过脂联素(adiponectin, APN)对胰岛素的敏感性进行调节^[23];cOCN能够诱导APN在脂肪细胞中表达以提高胰岛素敏感性,增强胰岛β细胞的功能^[24]。GPRC6A作为OCN受体可以介导其在内分泌系统中实现对应功能,包括调节维持葡萄糖稳态,如GPRC6A受体功能丧失将引起葡萄糖不耐症^[25]。SOOD等^[26]基于FERRON等^[27]关于成骨细胞与胰岛素的相互作用途径提出了“骨骼-胰腺反馈循环”机制,即胰岛素含量上升可直接刺激成骨细胞并促进其分化,增加OCN含量。胰岛素含量下降则会减少成骨细胞数量,导致OCN活性降低,影响骨形成和骨转换过程。对于胰腺而言,OCN含量升高可以促进胰岛β细胞增殖和胰岛素分泌,增强胰岛素敏感性。OCN含量下降乃至缺乏则会导致胰岛缩小,胰岛β细胞数量下降和胰岛素含量减少,引发血糖升高。胰岛素作用于成骨细胞中相应受体还可抑制骨保护素(osteoprotegerin, OPG)表达,增强破骨细胞活性,为OCN转换为具有活性的ucOCN创造基质中的酸性环境。

在胰腺疾病的干预中,OCN治疗2型糖尿病的研究较多^[28-30]。其干预机制亦较为明确,通过影响胰岛β细胞数量和胰岛素敏感性调节个体糖脂代谢能力。“骨骼-胰腺反馈循环”机制使对OCN和胰岛素关系的研究可推演至成骨细胞和胰岛β细胞层面,推动对骨骼作为内分泌器官分泌激素调节机体内分泌机制的研究。运动能够影响OCN水平,是无侵入

无毒副且从个体自身出发的治疗方式,但目前对于适宜OCN作为治疗胰腺病干预的运动项目的研究较少,有待进一步研究开展。

2.2.2 OCN对肝脏的作用 肝脏是能量代谢的中枢器官,OCN具有减少肝脏脂肪沉积的作用。在慢性肝病如非酒精性脂肪肝炎患者中,常用的肝损伤指标(丙氨酸氨基转移酶和天门冬氨酸氨基转移酶)的浓度与OCN水平呈负相关,故OCN可作为判断非酒精性脂肪肝炎气球样变程度的独立指标^[31],OCN还可通过减少促炎因子及促纤维化基因的表达以减轻非酒精性脂肪肝炎的程度,改善肝细胞脂肪贮积、气球样变引起的退化和纤维化等^[32]。原发性胆汁性肝硬化患者因胆汁分泌异常,肠道对于钙离子和维生素D(vitamin D)的吸收减少,因肝硬化导致Vitamin K亦缺乏,两者共同作用使得成骨细胞合成分泌OCN减少^[33]。此外,由于患者甲状旁腺功能亢进,甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)分泌增加会导致骨量流失加快,更易发生骨质疏松症。OCN影响肝脏脂肪沉积可能与抑制脂解过程,降低甘油三酯血清水平并减少其在肝内蓄积量,促进胰岛素分泌和减轻氧化应激等作用有关^[34]。

肝脏作为人体能量代谢的中枢,本身参与多种能量的转换过程。慢性肝病一直是我国发生率较高的病种,具有病程较长、预后较差的特点。在OCN与肝脏的关系中,减少肝脏脂肪沉积、降低肝炎程度是OCN干预的重点。

2.2.3 OCN对脂肪的作用 脑和胰腺在OCN影响脂肪组织的作用中发挥着重要作用。脂肪组织分泌瘦素(leptin, LEP)干预大脑中枢神经通路,对记忆功能产生影响。LEP是一种能够有效抑制骨重建过程的激素,在中枢神经通路中,LEP通过影响交感神经活动下调骨重建过程^[35]。APN能够通过调节胰岛素发挥作用,影响机体糖代谢。由脂肪组织分泌的LEP和APN能够与OCN相互调节,让OCN进一步影响脑和胰腺,调节糖脂代谢。

脂肪细胞中的GPRC6A可以改变脂解反应活性,特异性影响饮食诱导的肥胖症的发展^[36],ucOCN能够对脂肪细胞中GPRC6A受体的构成和激活起到关键作用。当ucOCN与脂肪组织中的GPRC6A受体结合后,将参与能量代谢,改变肝脏脂肪含量和甘油三酯水平,增加能耗促进代谢,最终达到减轻体重的作用^[35]。OCN通过LEP对糖脂代谢进行调节,使骨

骼被认为是能够通过控制食欲^[37]影响脂肪代谢的结构,OCN与APN的相互作用则与胰岛素敏感性、肥胖症和血清甘油三酯水平息息相关。首先,OCN能够通过LEP与5-羟色胺的相互作用向摄食中枢下丘脑发出摄食饱和和信号以抑制食欲,降低脂肪摄入影响糖脂代谢。其次,OCN通过诱导脂肪细胞中APN的表达,降低体内脂肪含量。*PTPRV*编码基因存在于胚胎干细胞和成骨细胞中,它编码的蛋白质名称为OST-PTP。灭活小鼠的PTPRV后,发现胰岛素分泌以及胰岛素敏感性会增强,而胰岛素敏感性增强是通过APN过表达实现的^[21]。故增加APN表达可以提高胰岛素敏感性,促进脂肪代谢,降低体内游离脂肪酸和甘油三酯水平,最终降低体重^[38]。

骨骼分泌OCN作用于脂肪组织,促进脂肪组织分泌LEP和APN,脂肪因子的量变反过来又会影响OCN含量。一方面,LEP通过血脑屏障结合下丘脑和脑中受体,发出阻止5-羟色胺合成的信号,抑制中核缝释放5-羟色胺^[39],减少交感神经活动,导致骨吸收增加和骨形成受到抑制,进而影响具有活性的OCN含量。另一方面,APN可与脂联素受体1(adiponectin receptor protein 1, AdipoR1)结合,激活细胞内信号通路。APN含量增加使破骨前体细胞表面APN表达增强^[21],影响破骨细胞分化成熟,进而影响OCN含量。

OCN作为内分泌激素发挥功能在机体糖代谢、脂代谢中有着较为全面的体现,各器官间的作用独立存在又相互影响,最终与糖脂代谢整体相关联。在糖代谢中,OCN含量增加能够促进胰岛β细胞增殖,提高胰岛素分泌量,通过直接作用和APN作用两条路径改变胰岛素敏感性,维持机体葡萄糖稳态,参与到治疗葡萄糖不耐症和2型糖尿病等疾病中。在脂代谢中,OCN含量升高能够促进脂肪分解,降低血清甘油三酯水平,减少脂肪在肝脏中沉积,更与脂肪因子LEP、APN有着紧密联系。在脂肪性肝炎、肥胖症等疾病中,OCN作为脂肪含量的负调节因子对机体代谢异常具有改善作用。

2.3 OCN调节甲状腺

甲状腺细胞与成骨细胞间具有一定关联,处于活跃期的毒性弥漫性甲状腺肿患者体内OCN水平升高^[40]。甲状腺激素不仅能够促进蛋白质循环和糖脂代谢,维持维生素平衡,还能促进骨矿化过程。

甲状腺骨病的发生与甲状腺含量异常相关,ASAI等^[41]研究发现,甲状腺激素在原代小鼠成骨细

胞中具有非基因组作用, 这种作用可以通过甲状腺激素抑制酪氨酸激酶活性从而刺激OCN表达。甲亢患者OCN水平增高, 成骨细胞活动增强, 骨转换加快; 甲减患者OCN水平降低, 成骨细胞活性降低, 骨形成减少。甲状腺激素过量或不足都会引起骨矿物质流失, 进而发生骨质疏松。当甲亢患者甲状腺功能恢复正常后, OCN含量较甲亢期明显降低且促甲状腺激素受体的抗体水平呈逐渐降低的趋势, 骨密度逐渐恢复^[42]。

因为成骨细胞与甲状腺细胞在微观水平上具有相似点, 基于临床研究发现甲状腺激素含量异常的患者存在一定几率发生甲状腺骨病, 其中又以骨质疏松症最为常见。在OCN与甲状腺器官的关系研究中, 骨质疏松症的预防及治疗或成为研究重点。

3 运动或力学刺激对OCN的调节

在运动的过程中, OCN循环水平会激增, 认知功能亦会得到改善^[17]。运动对OCN产生影响的差异主要体现在运动强度与形式的不同。HIAM等^[43]研究发现, 高强度间歇运动后人体OCN及ucOCN的含量会短暂上升, 认为其中具有活性的ucOCN含量增加的原因可能是运动中需要调节葡萄糖代谢以调动骨骼肌活动, 且结果显示运动适应中OCN的量变与性别无关。NICOLINI等^[44]研究得出, 单次高强度间歇运动具有增强脊髓皮质兴奋性、升高BDNF和ucOCN含量的作用, 且对于久坐健康男性而言, 单次高强度间歇运动足以调节以上参数。CHAHLA等^[45]分析青少年日常体育锻炼活动与OCN水平的关系得出, 青少年的平均体能活动得分与OCN水平呈正相关, 且肥胖不会改变此得分与OCN之间的关联, 参加体育锻炼的人OCN水平较高。

运动中OCN能够促进急性应激反应(acute stress response, ASR)提升, 改善记忆力并增强肌肉功能, 增强骨脊柱动物在敌对环境(如野外)中的生存能力^[46]。这些机制不仅体现在骨代谢过程中, 在疾病的防治中亦有表现。

结合前文OCN在骨外器官中的作用, 以及运动能够调节OCN水平, 推测运动改善慢性疾病的机制可能与OCN有关: 在运动的过程中, 骨骼受到骨骼肌的机械牵拉, OCN在体内循环水平短暂上升, 在之后的一段时间内则缓慢降低。研究显示, 经常运动人群的OCN水平比不运动人群高。较高的OCN循环

水平能够改善人体认知功能, 起到预防AD的作用。OCN含量在一定范围内升高能够对体内糖脂代谢产生正向影响, 促进胰岛 β 细胞增殖和胰岛素分泌, 增强胰岛素敏感性, 与运动改善2型糖尿病研究的理论一致。在ucOCN与脂肪组织中特定受体结合后, 通过改变肝脏脂肪含量和甘油三酯水平能够增加能耗并促进代谢, 达到减少肝脏脂肪积累和减轻体重的作用。虽然针对运动在OCN尤其是ucOCN中的影响机制的研究较少, 但是若将运动对OCN的影响沿“运动处方 \rightarrow ucOCN含量 \rightarrow 器官变化 \rightarrow 疾病干预”的路径进一步深入, 在重点疾病的防治上将意义重大。

综上所述, 随着对OCN结构、功能以及与各器官系统如脑、胰腺、肝脏、脂肪和甲状腺研究的深入, 使得OCN在激素调控中的作用更加明显。OCN在多个骨外器官中起到不同作用, 这些作用之间又存在着复杂的相互联系, 影响着不同器官中疾病的发展和转归。在神经系统中OCN影响神经递质合成, 对记忆功能产生干预, 和AD的发生密切相关, 在糖脂代谢中又影响胰腺中胰岛 β 细胞数量, 调节个体胰岛素水平, 参与2型糖尿病的发展治疗。减少脂肪沉积并降低肝炎程度, 不仅对脂肪组织本身产生作用, 还可以通过脂肪因子进一步参与糖脂代谢。在甲状腺中能够帮助预防甲状腺骨病。运动或者力学刺激对OCN循环水平具有调节作用, 对个体急性应激反应能力的改变则更被认可。但是由于现有研究较为局限, 暂未将运动造成OCN含量变化与疾病的防治过程系统地联系起来, 即通过运动对OCN产生量变进而影响OCN在骨外器官中的调节作用, 以此干预疾病治疗, 将运动作为治疗手段进行深入探究。现研究多从OCN对骨外器官具有调节作用或者运动改变OCN含量展开, 研究结果对建立此两者间关联具有正面意义。在未来, 或许可以大胆假设通过控制运动形式和强度影响机体OCN含量, 再将其与疾病的发生转归建立关联, 形成“运动处方 \rightarrow ucOCN含量 \rightarrow 器官变化 \rightarrow 疾病干预”的研究思路。

参考文献 (References)

- [1] HAUSCHKA P V, LIAN J B, GALLOP P M. Direct identification of the calcium-binding amino acid, gamma-carboxyglutamate, in mineralized tissue [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1975, 72(10): 3925-9.
- [2] GALLOP P M, LIAN J B, HAUSCHKA P V. Carboxylated calcium-binding proteins and vitamin K [J]. N Engl J Med, 1980, 302(26): 1460-6.

- [3] LIN X, BRENNAN-SPERANZA T C, LEVINGER I, et al. Undercarboxylated osteocalcin: experimental and human evidence for a role in glucose homeostasis and muscle regulation of insulin sensitivity [J]. *Nutrients*, 2018, 10(7): 847.
- [4] RIQUELME-GALLEGO B, GARCIA-MOLINA L, CANO-IBANEZ N, et al. Circulating undercarboxylated osteocalcin as estimator of cardiovascular and type 2 diabetes risk in metabolic syndrome patients [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1840.
- [5] GARNERO P, GRIMAUX M, SEGUIN P, et al. Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Bone Miner Res*, 1994, 9(2): 255-64.
- [6] ZOCH M L, CLEMENS T L, RIDDLE R C. New insights into the biology of osteocalcin [J]. *Bone*, 2016, 82: 42-9.
- [7] KIM G S, JEKAL Y, KIM H S, et al. Reduced serum total osteocalcin is associated with central obesity in Korean children [J]. *Obes Res Clin Pract*, 2014, 8(3): e201-98.
- [8] REINEHR T, ROTH C L. A new link between skeleton, obesity and insulin resistance: relationships between osteocalcin, leptin and insulin resistance in obese children before and after weight loss [J]. *Int J Obes*, 2010, 34(5): 852-8.
- [9] VLOT M C, DEN HEIJER M, DE JONGH R T, et al. Clinical utility of bone markers in various diseases [J]. *Bone*, 2018, 114: 215-25.
- [10] DUCY P. Bone regulation of insulin secretion and glucose homeostasis [J]. *Endocrinology*, 2020, 161(10): 149.
- [11] OTANI T, MIZOKAMI A, KAWAKUBO-YASUKOCHI T, et al. The roles of osteocalcin in lipid metabolism in adipose tissue and liver [J]. *Adv Biol Regul*, 2020, 78: 100752.
- [12] TACEY A, SMITH C, WOESSNER M N, et al. Undercarboxylated osteocalcin is associated with vascular function in female older adults but does not influence vascular function in male rabbit carotid artery *ex vivo* [J]. *PLoS One*, 2020, 15(11): e0242774.
- [13] SADEK N B, GAMAL S M, ABOULHODA B E, et al. The potential role of undercarboxylated osteocalcin upregulation in microvascular insufficiency in a rat model of diabetic cardiomyopathy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2020, 25(1): 86-97.
- [14] ZHOU R, ZHOU H, RUI L, et al. Bone loss and osteoporosis are associated with conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2014, 11(7): 706-13.
- [15] ROUSSEAUDA, MORICEAU S, RAMOS-BROSSIER M, et al. Bone-brain crosstalk and potential associated diseases [J]. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 2016, 28(2): 69-83.
- [16] NAKAMURA M, IMAOKA M, TAKEDA M. Interaction of bone and brain: osteocalcin and cognition [J]. *Int J Neurosci*, 2020: 1-9.
- [17] OBRI A, KHRIMIAN L, KARSENTY G, et al. Osteocalcin in the brain: from embryonic development to age-related decline in cognition [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(3): 174-82.
- [18] OURY F, KHRIMIAN L, DENNY C A, et al. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions [J]. *Cell*, 2013, 155(1): 228-41.
- [19] KHRIMIAN L, OBRI A, RAMOS-BROSSIER M, et al. Gpr158 mediates osteocalcin's regulation of cognition [J]. *J Exp Med*, 2017, 214(10): 2859-73.
- [20] KOSMIDIS S, POLYZOS A, HARVEY L, et al. RbAp48 protein is a critical component of GPR158/OCN signaling and ameliorates age-related memory loss [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(4): 959-73.e6.
- [21] LEE N K, SOWA H, HINOI E, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton [J]. *Cell*, 2007, 130(3): 456-69.
- [22] BONNEAU J, FERLAND G, KARELIS A D, et al. Association between osteocalcin gamma-carboxylation and insulin resistance in overweight and obese postmenopausal women [J]. *J Diabetes Complications*, 2017, 31(6): 1027-34.
- [23] DESENTIS-DESENTIS M F, RIVAS-CARRILLO J D, SANCHEZ-ENRIQUEZ S. Protective role of osteocalcin in diabetes pathogenesis [J]. *J Bone Miner Metab*, 2020, 38(6): 765-71.
- [24] HWANG Y C, JEONG I K, AHN K J, et al. The uncarboxylated form of osteocalcin is associated with improved glucose tolerance and enhanced beta-cell function in middle-aged male subjects [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2009, 25(8): 768-72.
- [25] CHAMOUNI A, SCHREIWEIS C, OURY F. Bone, brain & beyond [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2015, 16(2): 99-113.
- [26] SOOD V, BHANSALI A, MITTAL B R, et al. Autologous bone marrow derived stem cell therapy in patients with type 2 diabetes mellitus-defining adequate administration methods [J]. *World J Diabetes*, 2017, 8(7): 381-9.
- [27] FERRON M, WEI J, YOSHIKAWA T, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism [J]. *Cell*, 2010, 142(2): 296-308.
- [28] AN Y, LIU S, WANG W, et al. Low serum levels of bone turnover markers are associated with the presence and severity of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Diabetes*, 2021, 13(2): 111-23.
- [29] PICCOLI A, CANNATA F, STROLLO R, et al. Sclerostin regulation, microarchitecture, and advanced glycation end-products in the bone of elderly women with type 2 diabetes [J]. *J Bone Miner Res*, 2020, 35(12): 2415-22.
- [30] TAVAKOL M, VAUGHAN T J. The structural role of osteocalcin in bone biomechanics and its alteration in type-2 diabetes [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 17321.
- [31] YILMAZ Y, KURT R, EREN F, et al. Serum osteocalcin levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: association with ballooning degeneration [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2011, 71(8): 631-6.
- [32] GUPTA A A, SABEK O M, FRAGA D, et al. Osteocalcin protects against nonalcoholic steatohepatitis in a mouse model of metabolic syndrome [J]. *Endocrinology*, 2014, 155(12): 4697-705.
- [33] AMROUSY D E, EL-AFIFY D. Osteocalcin and osteoprotegerin levels and their relationship with adipokines and proinflammatory cytokines in children with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Cytokine*, 2020, 135: 155215.
- [34] BIAN H, ZHU X, XIA M, et al. Impact of type 2 diabetes on nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Endocr Pract*, 2020, 26(4): 444-53.
- [35] CONDOMITTI G, WIERDA K D, SCHROEDER A, et al. An input-specific orphan receptor GPR158-HSPG interaction organizes hippocampal mossy fiber-CA3 synapses [J]. *Neuron*, 2018, 100(1): 201-15.e9.
- [36] MUKAI S, MIZOKAMI A, OTANI T, et al. Adipocyte-specific

- GPRC6A ablation promotes diet-induced obesity by inhibiting lipolysis [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100274.
- [37] GARFIELD A S, DAVIES J R, BURKE L K, et al. Increased alternate splicing of Htr2c in a mouse model for Prader-Willi syndrome leads disruption of 5HT2C receptor mediated appetite [J]. *Mol Brain*, 2016, 9(1): 95.
- [38] SCHLECHT I, FISCHER B, BEHRENS G, et al. Relations of visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue, body mass index, and waist circumference to serum concentrations of parameters of chronic inflammation [J]. *Obes Facts*, 2016, 9(3): 144-57.
- [39] AL RIFAI O, CHOW J, LACOMBE J, et al. Proprotein convertase furin regulates osteocalcin and bone endocrine function [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(11): 4104-17.
- [40] CHENG C W, FANG W F, TANG K T, et al. Serum interferon levels associated with the disease activity in women with overt Graves' disease [J]. *Cytokine*, 2021, 138: 155353.
- [41] ASAI S, CAO X, YAMAUCHI M, et al. Thyroid hormone non-genomically suppresses Src thereby stimulating osteocalcin expression in primary mouse calvarial osteoblasts [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387(1): 92-6.
- [42] MA R, MORSHED S, LATIF R, et al. The influence of thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor antibodies on osteoclastogenesis [J]. *Thyroid*, 2011, 21(8): 897-906.
- [43] HIAM D, LANDEN S, JACQUES M, et al. Osteocalcin and its forms respond similarly to exercise in males and females [J]. *Bone*, 2021, 144: 115818.
- [44] NICOLINI C, MICHALSKI B, TOEPP S L, et al. A single bout of high-intensity interval exercise increases corticospinal excitability, brain-derived neurotrophic factor, and uncarboxylated osteocalcin in sedentary, healthy males [J]. *Neuroscience*, 2020, 437: 242-55.
- [45] CHAHLA S E, FROHNERT B I, THOMAS W, et al. Higher daily physical activity is associated with higher osteocalcin levels in adolescents [J]. *Prev Med Rep*, 2015, 2: 568-71.
- [46] BERGER J M, SINGH P, KHRIMIAN L, et al. Mediation of the acute stress response by the skeleton [J]. *Cell Metab*, 2019, 30(5): 890-902.e8.