

靶向线粒体质量控制防治骨质疏松症及其中药的治疗进展

谢芋涛¹, 王想福^{2*}, 叶丙霖², 陈伟国², 赵恒², 张万乾², 杨焕莹¹, 杨建霞¹, 陶瑜晶¹, 任毅¹

1. 甘肃中医药大学, 兰州 甘肃 730000

2. 甘肃省中医院, 兰州 甘肃 730050

摘要: 骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种非常普遍的疾病, 特征是单位体积骨量的下降, 增加患者的骨折风险, 极大地降低患者的生活质量, 对社会产生巨大的经济负担。线粒体是真核细胞的能量核心, 涉及众多关键的生物过程, 其功能出现异常会导致细胞功能不正常, 进而诱发各种疾病。近期的研究揭示, 线粒体质量控制 (mitochondrial quality control, MQC) 的失衡, 包括线粒体氧化应激、动力学、自噬和生物生成异常等, 在骨质疏松症中具有重要的作用。综述 MQC 在 OP 治疗中的研究进展, 同时总结靶向 MQC 进行 OP 治疗的中药 (包括单体化合物和复方), 以期为 OP 治疗新策略提供参考和借鉴。

关键词: 线粒体质量控制; 骨质疏松症; 氧化应激; 动力学; 自噬; 生物生成异常

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)05-1770-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.05.034

Advances in targeting mitochondrial quality control against osteoporosis and its herbal medicine therapy

XIE Yutao¹, WANG Xiangfu², YE Binglin², CHEN Weiguo², ZHAO Heng², ZHANG Wanqian², YANG Huanying¹, YANG Jianxia¹, TAO Yujing¹, REN Yi¹

1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China

Abstract: Osteoporosis (OP) is a very prevalent disease characterized by a decrease in bone mass per unit volume, which increases the risk of fracture in patients, dramatically reduces their quality of life, and imposes a huge economic burden on society. Mitochondria are the energetic core of eukaryotic cells and are involved in numerous critical biological processes, and abnormalities in their function can lead to abnormal cellular function, which in turn induces various diseases. Recent studies have revealed that imbalances in mitochondrial quality control (MQC), including abnormalities in mitochondrial oxidative stress, kinetics, autophagy and biogenesis, have an important role in osteoporosis. This study reviews the research progress of MQC in OP, and summarizes the traditional Chinese medicines (including single compound and combinations) targeting MQC for OP treatment, with view to providing reference and reference for researching new strategies for OP treatment.

Key words: mitochondrial quality control; osteoporosis; oxidative stress; kinetics; autophagy; biogenesis abnormality

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种隐秘慢性的身体健康问题, 往往直到骨折发生后, 患者或医生才会对此加以关注。其主要表现为单位体积内骨骼的密度下降, 降低了骨骼的强度, 使得受涉及到的骨骼更容易发生骨折。目前, 骨质疏松症已成为全球老年人群所面临的最主要的发病和死亡来源

之一。OP 的病因是多方面的, 包括遗传因素、性激素水平下降、年龄增长、饮食不合理、缺乏运动等。OP 的主要特征是疼痛、骨折和畸形^[1]。流行病学显示 OP 患病率随着年龄的增长而增加, 在中国大陆, OP 总患病率从 6.6% 到 19.3% (平均 13.0%) 不等。不同研究、不同地区、不同性别和不同骨骼部位的

收稿日期: 2023-11-05

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目 (23JRRA1245); 兰州市人才创新创业项目 (2020-RC-54)

作者简介: 谢芋涛, 男, 硕士研究生, 研究方向中医骨伤科学。E-mail: 2544365946@qq.com Tel: 18394266380

*通信作者: 王想福, 男, 硕士生导师, 教授, 从事中医骨伤学疾病研究。E-mail: wangxf_1969@163.com Tel: 13893454648

患病率差异很大,但城市与农村之间的差异很小^[2]。相比西医治疗方案而言,中医药防治骨质疏松症具有多方面的优势,治疗方法相对安全、临床疗效显著优异、副作用较少等,依据中医“上工治未病”观念,近年来,单味药、中药复方、针灸等治疗方法逐渐成为医学研究的焦点,体现出中医药在骨质疏松症治疗中有潜力,但中药大规模的临床试验仍然相对不足,需要更多的临床研究来验证中医药治疗的疗效和安全性,此外中医药治疗骨质疏松的具体作用机制还不清楚,这使得中医药的疗效和有效成分难以明确,中医药治疗骨质疏松症缺乏统一的治疗标准,主观辩证可能采用不同的中药药方和治疗方法,难以进行比较和综合分析^[3]。近年来,研究发现,线粒体功能障碍在骨质疏松的发展过程中的扮演着至关重要的角色,其功能发生异常和数量减少会导致骨细胞代谢紊乱,进而影响骨组织的结构和功能,表明线粒体质量控制 (mitochondrial quality control, MQC) 对缓解线粒体损伤和减缓 OP 的发展具有重要价值。因此,该研究旨在综述 MQC 在 OP 领域的研究进展,并梳理各种针对 MQC 治疗 OP 的中药 (包括单体化合物和复方), 以期为开发骨质疏松的新疗法提供一些参考经验和思路。

1 MQC

线粒体是一个高度动态的双膜细胞器,它是最主要且富饶的三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 来源,对于满足真核细胞的能量需求非常关键,在保持所有细胞功能正常运行方面,线粒体扮

演着关键的角色^[4]。参与真核细胞内的广泛功能,包括氧化还原平衡、钙稳态、能量产生、代谢和细胞死亡等。由于线粒体参与的细胞功能范围广泛,因此该细胞器在调解细胞平衡方面发挥着关键作用,因此,维持健康的线粒体对细胞存活至关重要^[5]。MOC 是指细胞内一系列机制和过程,用于维持线粒体的健康和功能状态,它涉及线粒体内部的多个方面,包括线粒体膜电位维持、氧化还原平衡、自噬、线粒体 DNA 的维护、融合和分裂、抗氧化防御以及基因调控等,通过这些机制,细胞可以确保线粒体正常工作、防止受损线粒体的积累,并维持细胞的健康状态。线粒体质量控制对于细胞和整体生物的正常功能和健康至关重要^[6]。

2 MQC 与 OP

OP 是一种常见的全身性骨骼疾病,其特性包括骨矿物质密度的下降、骨骼微观结构的变化,以及脆性增加,且好发于老年人。除了与年龄相关的 OP 外,其他因素如糖皮质激素使用不当、雌激素缺乏、糖尿病和营养不良也是继发性 OP 的常见原因。近些年,医药治疗的主要目标就是抑制破骨细胞的形成或刺激成骨细胞的生长。然而,目前 OP 的临床治疗效果并不理想。破骨细胞介导的骨质破坏可能会发生,导致治疗效果受损。因此,迫切需要更有效的 OP 治疗策略。研究发现线粒体氧化应激异常、动力学、自噬以及生物发生等特征的 MQC 失衡在 OP 中起到了重大的作用,这表明 MQC 有可能会成为治疗 OP 的关键手段。线粒体质量控制对 OP 的调控靶标图见图 1。

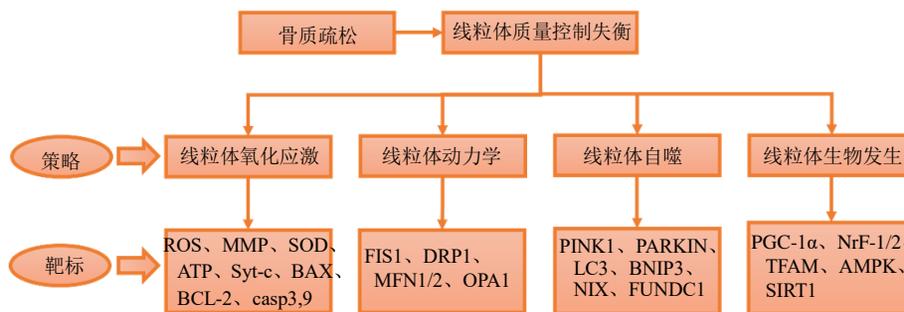


图 1 线粒体质量控制对骨质疏松症的调控靶标

Fig. 1 Regulatory targets of mitochondrial quality control system to osteoporosis

2.1 线粒体氧化应激

在真核生物中,线粒体通过营养物质的氧化代谢产生 ATP,但也在同一过程中产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS),在正常情况下,线粒体会限制 ROS 的过度产生,会通过抗氧化酶 (超

氧化物歧化酶、过氧化氢酶等)和抗氧化化合物 (维生素 E 和 C、谷胱甘肽等) 防御系统保护细胞器免受氧化损伤^[7]。研究表明线粒体是成骨细胞能量代谢的重要物质,氧化应激导致的线粒体功能障碍直接参与了成骨细胞内在凋亡途径的激活^[8], ROS 过

载会导致磷脂双分子层受到自由基攻击,进而导致线粒体膜去极化,从而使线粒体膜孔打开,导致线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)损失。在这一过程中,线粒体膜的通透性增加,使线粒体膜间隙中的致凋亡因子细胞色素 c (cytochrome c, CytC) 释放到细胞质中,释放到细胞质中的 CytC 会与含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-9 (cysteiny l aspartate specific proteinase-9, caspase-9) 相互作用并激活 caspase-9, 而 caspase-9 是内在凋亡途径的主要初始步骤,激活的 caspase-9 会依次激活下游效应含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny l aspartate specific proteinase, caspase), 如含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3 (cysteiny l aspartate specific proteinase-3, caspase-3)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-7 (cysteiny l aspartate specific proteinase-7, caspase-7) 最终完成成骨细胞死亡。此外, caspase 级联反应的激活受到各种调节因子表达的严格调控^[9]。其中,由促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白组成的 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族成员在决定细胞内在凋亡途径的进展中起着关键作用,作为促凋亡蛋白的代表, Bcl-2 相关 X 蛋白 (BCL2-associated X, Bax) 位于线粒体外膜上,通过促进线粒体通透性转换或削弱线粒体外膜的屏障功能来诱导 Cyt C 的释放。相反,抗凋亡蛋白 Bcl-2 对于维持线粒体通透性和膜屏障稳定以抑制致凋亡因子的释放至关重要。因此,促凋亡和抗凋亡 Bcl-2 家族蛋白之间的平衡是诱导激活 caspase 级联反应的决定性因素,而 caspase 级联反应是内在成骨细胞凋亡通路启动后的决定性因素^[10-11]。Cai 等^[12]学者进行的研究指出,在肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的共同培养下,从新生大鼠小腿分离出的成骨细胞内, ROS 和丙二醛的产生, NADPH 氧化酶 (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase) 的活性增加,线粒体内 ROS 数量呈增加趋势, MMP 和 ATP 合成则出现下滑。此外,抗氧化酶(包括超氧化物歧化酶和过氧化氢酶)的活性被抑制,从而对线粒体功能产生了负面影响。He 等^[13]发现人骨肉瘤 MG63 细胞暴露于过氧化氢显著增加了细胞氧化应激,降低了碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性和细胞活力,诱导成骨细胞凋亡。一并地,过氧化氢降低了线粒体膜的电位,提升了 Cyt C 及 caspase-3 的水平,限制了 Bcl-2 mRNA 和蛋白质

的生成,减少了 Runt-相关转录因子-2 (runt-related transcription factor-2, Runx-2) mRNA 和蛋白质的制造。这些结果显示线粒体 ROS 在介导线粒体功能障碍和促进成骨细胞凋亡方面的关键作用。

2.2 线粒体动力学

线粒体动力学是线粒体裂变和融合事件之间的一种微妙的生理平衡,是相对的过程,它们共同作用以维持线粒体的形状、大小、数量及其生理功能,受损线粒体基因组 DNA、蛋白质和脂质与健康线粒体的交换需要内外膜的融合和裂变循环,以维持线粒体的健全结构和功能。线粒体融合的调控中涉及 3 个因子,分别是线粒体融合蛋白 1 和 2 (Mitofusin1/2, MFN1/2) 以及视神经萎缩蛋白 1 (Optic atrophy 1, OPA1)。MFN1/2 主要定位于线粒体外膜,则 OPA1 则处在线粒体内膜。MFN1/2 对于线粒体外膜的融合至关重要,而 OPA1 对于内膜的融合是必需的,通过外膜上的 MFN1 和 MFN2 的寡聚化,将临近的线粒体连接在一起,介导外膜融合,后续则由 OPA1 完成内膜的融合。线粒体融合的调控中涉及 2 个因子,线粒体裂变蛋白 1 (mitochondrial fission protein 1, FIS1) 和动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, DRP1) 分别在线粒体外膜和细胞质。FIS1、线粒体裂变因子 (mitochondrial fission factor, MFF) 以及线粒体伸长因子 1/2 (mitochondrial elongation factor 1/2, MIEF1/2), 共同作用 DRP1 可以从细胞质募集到线粒体表面,在那里它被组装成高寡聚环复合物以包裹线粒体,通过其三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 酶活性介导线粒体分裂^[14-16]。线粒体动力学紊乱包括营养过剩和细胞功能障碍时发生的异常和/或受损的裂变/融合,直接影响线粒体功能,导致 ROS 生成过多、线粒体酶活性改变、钙平衡受损、ATP 生成减少以及细胞能量代谢的整体降低。Cai 等^[17]H₂O₂ 促进成骨细胞中 L-OPA1 快速裂解为 S-OPA1, 导致融合活性 L-OPA1 缺失,加剧线粒体碎裂和随后的成骨细胞凋亡,用 OPA1 siRNA 转染小鼠成骨细胞会加重线粒体形态异常和功能障碍,主要表现为线粒体 ROS 的产生显著增加以及线粒体膜电位的减少。此外,用 OPA1 siRNA 转染小鼠成骨细胞会明显降低线粒体的长度和密度。Gan 等^[18]发现在氧化应激条件下, Drp1 的磷酸化水平和表达量都显著增加。通过药物抑制剂或基因敲除阻断 Drp1, 可明显保护细胞免受 H₂O₂ 诱导的成骨细

胞功能障碍的影响,具体表现为成骨细胞活力增加、ALP 活性和矿化度提高以及线粒体功能恢复。阻断 Drp1 对 H₂O₂ 诱导的成骨细胞功能障碍的保护作用表现为线粒体功能的增强和 ROS 生成的抑制。这些结果显示线粒体动力学在介导线粒体功能障碍和促进成骨细胞凋亡方面的关键作用。

2.3 线粒体自噬

线粒体自噬的作用在于通过选择性自噬,清除受损或失效的线粒体,这对于维持线粒体的整体结构和功能至关重要。关于线粒体的识别与向自噬体的运输,可以通过 2 种主要方法实现:一种是需要泛素(ubiquitin, Ub)的参与,另一种则无须 Ub 即可完成。基于 Ub 的线粒体自噬路径,由 PTEN 诱导激酶 1 (PTEN-induced kinase 1, PINK1) 和 E3 泛素-蛋白连接酶 (E3 ubiquitin-protein ligase, PARKIN) 所控制的。在这一机制中, MMP 受损时, PINK1 进入线粒体内膜的途径受阻,导致 PINK1 在线粒体外膜的胞质面上稳定聚集,募集并激活 PARKIN, PARKIN 蛋白酶的空间构象发生改变,转化为活化的 E3 泛素连接酶,然后泛素化线粒体上的蛋白, PINK1 与 PARKIN 相互作用,共同调控线粒体自噬过程以维持线粒体质量。此外,除了 PINK1-PARKIN 通路之外,还有非 PARKIN 依赖性的泛素依赖性通路, PINK1 还可以通过泛素磷酸化直接招募自噬受体蛋白如 BCL2 相互作用蛋白 3 (BCL2 interacting protein 3, BNIP3)、其同源物 NIP3 样蛋白 (NIP3-like protein X, NIX)、FUN14 结构域蛋白 1 (FUN14 domain-containing protein 1, FUNDC1) 到线粒体,受体蛋白募集自噬体中的微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein light chain-3, LC3),这使得自噬体能够吞噬线粒体。非泛素依赖途径,线粒体外膜上有许多包含 LC3 相互作用的长链反向重复序列 (long inverted repeat, LIR) 区域的蛋白,它们是自噬的受体。它们可以不经泛素化直接与 LC3 结合,从而启动线粒体自噬。在哺乳动物中,这些受体主要包括 NIX 受体、BNIP3 受体、FUNDC1 受体^[19-20]。线粒体自噬是一种正常的生理活动,在健康条件下发生可以维持细胞稳态。然而,在病理或特定的生理条件下,越来越多的证据表明,异常线粒体自噬在干细胞分化和骨代谢紊乱中起关键作用。Li 等^[21]研究发现 PINK1/PARKIN 介导的线粒体自噬可以降低血浆高级氧化蛋白产物 (advanced

oxidative protein product, AOPP) 度并抑制 AOPP 诱导的成骨细胞凋亡,从而改善 AOPP 积累相关的骨质流失,骨微观结构破坏和骨矿物质密度损失。Lee 等^[22]研究发现成骨细胞的分化在 Pink1 下调时受到抑制,伴有线粒体稳态受损(用 Pink1 siRNA 处理后,在分化过程中观察到成骨细胞中 DRP1 和 FIS1 上调,而 MFN1 下调)、成骨细胞线粒体在分化过程中 ROS 过度产生和钙摄取异常,证明了分化过程中成骨细胞中 PINK1 的表达增加。Xu 等^[23]研究发现线粒体自噬相关蛋白 HIF-1 α 和 BNIP3 在缺氧环境中均上调,而当暴露于糖皮质激素时它们的表达下调。另外,当缺氧的环境下, HIF-1 α 的过度表达可以抑制糖皮质激素诱发的细胞死亡,这就证实了 HIF-1 α 的过度表达能够通过其下游的标记物 BNIP3 来减轻糖皮质激素对缺氧诱发的线粒体自噬关联蛋白抑制的效果,并保护骨细胞免受凋亡。这些结果显示线粒体自噬在介导线粒体功能障碍和促进成骨细胞凋亡方面的关键作用。

2.4 线粒体生物发生

线粒体生物生成可维持线粒体的数量和大小,主要是指过氧化物酶体增植物激活受体 γ 共激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 与多种转录因子/蛋白质相互作用来调控线粒体的生物生成过程,例如核呼吸因子-1、核呼吸因子-2 (nuclear respiratory factor 1/2, NRF-1/2)、线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM)、解偶联蛋白 (Uncoupling protein, UCP)、过氧化物酶体增植物激活受体- α (peroxisome proliferator activated receptor- α , PPAR- α)、甲状腺激素、雌激素相关受体 (estrogen-related receptors, ERRs) 等。NRF-1、NRF-2 通过促进 TFAM 表达,可调节主要线粒体酶的转录和线粒体 DNA 的合成。除了这些转录因子外,还有 2 种重要的酶被视为调节线粒体生物生成的代谢传感器,它们是腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 和沉默信息调节因子 1 (sirtuin1, SIRT1),在能量缺乏状态下, AMPK 和 SIRT1 分别通过磷酸化和去乙酰化调节 PGC-1 α ^[23]。Peng 等^[24]研究发现高压氧、运动和联合治疗改善了大鼠的骨微结构恶化和卵巢切除术诱导的骨质流失,促进了成骨细胞相关基因和氧化代谢相关基因 (PGC-1 α) 的表达,对破骨细胞相关 mRNA 表达和骨吸收标志物具有显著的抑

制作用,此外,运动和运动-HBO 联合治疗增加了血清超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和硬化素的表达,可能与超氧化物歧化酶增加和 PGC-1 α 上调有关。研究发现 PGC-1 α 在骨代谢中起关键作用,体内研究表明,PGC1 α 缺失会对皮质厚度、小梁组织和屈曲阻力产生负面影响,导致骨折风险增加^[25]。Sánchez 等^[26]研究发现线粒体含量的增加导致了从成骨细胞向骨细胞转变过程中 ROS 水平的增加,作为氧化应激的主要传感器,转录因子 NF-E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid2-related factor 2, NRF2) 在成骨细胞形成过程中被激活,并直接转录激活一些成骨细胞特异性基因,如牙本质基质蛋白 1 (dental matrix protein 1, DMP1)、基质细胞外磷酸糖蛋白 (matrix extracellular phosphoglycoprotein, Mepe) 等。此外,骨细胞和成熟成骨细胞中缺乏 NRF2 的小鼠是骨质减少的,用 NRF2 激活剂二甲基甲酰胺 (dimethylformamide, DMF) 治疗切除卵巢的小鼠,可恢复其骨质流失表型。研究显示绝经后妇女由于脂质代谢和血脂水平异常导致雌二醇流失,骨骼肌和脂肪组织中容易出现脂肪堆积过多,在骨骼肌和脂肪组织中,与能量代谢和脂肪酸氧化相关的基因 PGC-1 α 和 ERR α 的基因被下调,导致脂肪合成和脂质代谢物积累增加,骨髓中脂质过度积累会导致绝经后妇女骨质快速流失、骨质疏松症和骨折风险增加^[27]。这些结果显示线粒体生物发生在介导线粒体功能障碍和促进成骨细胞凋亡方面的关键作用。

3 以 MQC 为靶点的 OP 中药防治

基于 MQC 的防治措施可能是治 OP 的重要策略。众多研究已经揭示,相关中药单体、小分子化合物及生物制剂等可通过调控成骨和破骨细胞分化代谢,能够恢复骨骼的形态和功能,从而减缓 OP 的发展。中医药靶向调控 MQC 防治 OP 研究情况见表 1。

3.1 基于线粒体氧化应激防治 OP

研究发现仙茅苷保护成骨细胞免受地塞米松诱导的氧化应激损伤,明显减少 ROS 产生,提高 MMP 水平,促进成骨细胞增值和分化,同时仙茅苷提高破骨细胞抑制因子 (osteoclastogenesis inhibitory factor, OPG) 与破骨细胞分化因子 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 的相对比值,有效抑制破骨细胞的生成,减少了炎症细胞因子表达抑制破骨细胞生成^[28]。研究发现表没食子儿茶素

没食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG) 在破骨细胞分化过程中下调了促炎标志物的表达,明显降低细胞内和线粒体 ROS 形成,降低了 MMP 以及 AKT 和 p38MAPK 的磷酸化,此外,在破骨细胞分化过程中,EGCG 导致 ATP 的产生增加,改善了整体线粒体功能,抑制了破骨细胞的分化^[29]。研究显示三七皂苷 R₁ 恢复了在氧化应激造成损伤成骨细胞中 ALP 等表达水平下降,显著恢复了 MMP,改善了线粒体 ROS 的产生,并增加 ATP 的产生以及线粒体 DNA 复制,此外,三七皂苷 R₁ 显著阻止了 JNK 磷酸化,有效地阻断了 H₂O₂ 诱导的 JNK 信号激活,表明三七皂苷 R₁ 通过阻断 JNK 信号通路显著减弱氧化应激诱导的线粒体损伤,恢复成骨细胞的成骨分化^[30]。研究发现厚朴酚、山柰酚、夹竹桃麻素、木犀草素、黄肉楠碱、甘草素都可以恢复抗霉素 A 诱导的细胞内 MMP 耗散、ATP 丢失、复合物 IV 失活、细胞内钙升高和细胞色素 C 释放,显著减少抗霉素 A 诱导的细胞损伤。此外,还能诱导被抗霉素 A 抑制的 PI3K、Akt 和 CREB 的活化,表明 PI3K/AKT/CREB 信号通路可能参与这些中药诱导的细胞保护反应。所有研究表明它们都可减少衰老过程中线粒体功能障碍,显著预防骨质疏松症患者的成骨细胞损伤^[31-36]。通过进一步总结发现,1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖 (1,2,3,4,6-pentyl-O-galloyl- β -D-glucose, PGG)、水飞蓟素、柚皮苷、原青花素、大蒜素、FO、淫羊藿苷、姜黄素、菟丝子、丹参酮 II_A、藏红花素、左归丸等能够减少细胞内和线粒体的 ROS 产生,恢复 MMP 水平,增加 ATP 产生,改善体线粒体功能,恢复 Bcl-2 蛋白的表达上调,降低 Bax 蛋白的表达,抑制 CytC 释放到细胞质中,同时降低 caspase-9、caspase-3,从而发挥具有抗成骨细胞凋亡的作用^[37-48]。

3.2 基于线粒体动力学防治 OP

研究发现在破骨细胞分化过程中,添加 EGCG 可以减少 DRP1 和 FIS1 的 mRNA 表达量,抑制了破骨细胞的分化^[29]。研究发现淫羊藿苷治疗可以挽救铁超负荷抑制的骨髓间充质干细胞的成骨分化和增殖,研究观察到 DRP1 和 CytC 蛋白从细胞质向线粒体的转移以及 FIS1 和 MFN2 的表达被 10 和 50 μ mol/L 枸橼酸铁铵 (ferric ammonium citrate, FAC) 处理后促进,而被 100 μ mol/L FAC 处理后显著抑制,当加入 1 μ mol/L 的淫羊藿苷发现其能够促进 FIS1 和 MFN2 表达,并增加 DRP1 和 CytC 蛋白从

表 1 中医药靶向调控线粒体动力学质量控制防治 OP

Table 1 Research on Chinese medicine targeting regulation of mitochondrial kinetics quality control against OP

机制	中药单体及复方	药物	作用靶点	信号通路	细胞模型	文献
氧化应激	仙茅苷	仙茅	ROS↓、MMP↑	RANKL/RANK/OPG 信号通路	大鼠颅骨成骨细胞	28
	表没食子儿茶素没茶叶 食子酸酯		ROS↓、MMP↓、ATP↑	AKT-P38MAPK 信号通路	破骨细胞	29
	三七皂苷 R ₁	三七	ROS↓、MMP↑、ATP↑、mtDNA 复制数↑	JNK 信号通路	MC3T3-E1	30
	厚朴酚	厚朴	ROS↓、MMP↑、SOD↑、复合物IV↑	PI3K/CERE 信号通路	MC3T3-E1	31
	山柰酚	山柰	ROS↓、MMP↑、SOD↑、复合物IV↑	PI3K/AKT/CREB 信号通路	MC3T3-E1	32
	夹竹桃麻素	金线莲	ROS↓、MMP↑、SOD↑、ATP↑、复合物IV↑	PI3K/AKT/CREB 信号通路	MC3T3-E1	33
	木犀草素	紫苏叶	ROS↓、MMP↑、SOD↑、ATP↑、复合物I、IV↑	PI3K/AKT/CREB 信号通路	MC3T3-E1	34
	黄肉楠碱	升麻	ROS↓、MMP↑、SOD↑、复合物IV↑	—	MC3T3-E1	35
	甘草素	甘草	ROS↓、MMP↑、SOD↑、ATP↑、复合物IV↑	PI3K/CERE 信号通路	MC3T3-E1	36
	1,2,3,4,6-五没食子白芍 酰葡萄糖		ROS↓、MMP↑、ATP↑ BAX/BCL-2↓	Nrf2/HO-1 信号通路	BMSCs	37
	水飞蓟素	水飞蓟	ROS↑、MMP↓、ATP↑ BAX/BCL-2↓	AGEs-RAGE 信号通路	MC3T3-E1	38
	柚皮苷	槲蕨	ROS↓、MMP↑ Casp3、9↓、cyt-c↓	—	大鼠血管内皮细胞	39
	原青花素	葡萄籽	ROS↓、MMP↑、SOD↑、复合物IV↑ BAX/BCL-2↓、Casp3↓、cyt-c↓	P53 信号通路	MC3T3-E1	40
	大蒜素	大蒜	ROS↓、MMP↑、SOD↑、复合物IV↑ BAX/BCL-2↓、Casp3↓、cyt-c↓	PI3K/AKT、CREB/ERK 通路	MC3T3-E1	41
	FO	牡蛎	ROS↓、MMP↑ BAX/BCL-2↓、Casp3、9↓、cyt-c↓	Nrf2/HO-1 信号通路	MC3T3-E1	42
	淫羊藿苷	淫羊藿	ROS↓、MMP↑ BAX/BCL-2↓、Casp3↓、cyt-c↓	PI3K/AKT/mTOR、MAPK 信号通路	BMSC	43
	姜黄素	姜黄	ROS↓、MMP↑、SOD↑、复合物III↑ BAX/BCL-2↓、Casp3↓、cyt-c↓	AKT-GSK3β 信号通路	Saos-2	44
	菟丝子	菟丝子	ROS↓、MMP↑ BAX/BCL-2↓、Casp3、9↓、cyt-c↓	—	MC3T3-E1	45
	丹参酮 II _A	丹参	ROS↓、MMP↑ BAX/BCL-2↓、Casp3、9↓、cyt-c↓	—	MC3T3-E1	46
	藏红花素	藏红花	ROS↓、MMP↑ BAX/BCL-2↓、Casp3、9↓、cyt-c↓	—	MC3T3-E1	47
	左归丸	含药血清	ROS↓、MMP↑ BAX/BCL-2↓、Casp3↓	—	MC3T3-E1	48
动力学	表没食子儿茶素、没茶叶 食子酸酯		FIS1↓、DPR1↓	AKT-P38MAPK 信号通路	破骨细胞	29
	淫羊藿苷	淫羊藿	FIS1↑、DPR1↑、MFN2↑	PI3K/AKT/mTOR、MAPK 信号通路	BMSC	43
	水飞蓟素	水飞蓟	FIS1↓、L-OPA1↑、S-OPA1↓	AGEs-RAGE 信号通路	MC3T3-E1	38
生物发生	甘草素	甘草	PGC-1α↑	—	MC3T3-E1	49
	1,2,3,4,6-五没食子白芍 酰葡萄糖		NRF2↑	Nrf2/HO-1 信号通路	BMSCs	37
	FO	牡蛎	NRF 2↑	Nrf2/HO-1 信号通路	MC3T3-E1	42
	天麻素	天麻	NRF 2↑	Nrf2/Keap1 信号通路	MC3T3-E1	50
自噬	肉苁蓉苷 A	肉苁蓉	LC3 II↑	Wnt/β-catenin 信号通路	MC3T3-E1	51
	表没食子儿茶素没茶叶 食子酸酯		PINK1↓、PARKIN↓、LC3B↓	—	破骨细胞	29
	左、右归丸	水煎液	PINK1↓、PARKIN↓、LC3I↓、LC3II↓、LC3II/LC3I↑	PINK1/Parkin 信号通路	PMOP 大鼠骨髓组织	52

“↑”表示上调作用；“↓”表示下调作用。

“↑” means increase “↓” means decrease.

细胞质到线粒体的转移，防止铁超载引起的骨髓间充质干细胞功能障碍，这些作用与线粒体融合和分裂的调节、PI3K/AKT/mTOR 通路的激活以及

ERK1/2 和 JNK 通路的抑制有关^[43]。研究发现水飞蓟素通过 AGEs-RAGE 信号通路来减弱晚期糖基化终末产物 (advanced glycosylation end products,

AGEs) 诱导的成骨细胞凋亡, 水飞蓟素有效地消除了 AGEs 诱导的线粒体形态学改变, 线粒体长度和密度的增加, 细胞内 L-Opa1 的表达明显增加, S-Opa1 和 Fis1 的水平降低, 改善线粒体的异常裂变/融合^[38]。

3.3 基于线粒体生物发生防治 OP

研究发现甘草素显著增加一氧化氮和 PGC-1 α 水平, 表明甘草素可能诱导线粒体生物发生^[49]。研究发现 PGG 在氧化应激环境下对成骨细胞的保护作用可能与促进 Nrf2 入核、增强 HO-1 表达有关, 体内外实验证明, PGG 可促进骨形成, 具有骨保护作用, 该作用可能与激活 Nrf2/HO-1 通路, 改善线粒体功能从而抗成骨细胞凋亡有关。FO 逆转了 H₂O₂ 导致的细胞内 ROS 生成增加和线粒体损伤, 最终抑制了细胞凋亡^[37]。在这一过程中, FO 激活了 Nrf2, 并促进了其下游靶蛋白 HO-1 的表达, 从而缓解了氧化应激, 同时增强了抗氧化能力。天麻素干预能够缓解地塞米松处理引起的细胞增殖受阻及凋亡, 表明天麻素具有缓解骨质疏松的效果, 进一步研究发现天麻素可能是通过促进 Nrf2、HO-1 等表达, 抑制 Keap1 表达, 来缓解氧化应激引起的线粒体膜电位改变, 从而促进成骨细胞分化以及成骨结节形成来缓解地塞米松引起的骨质疏松^[42]。

3.4 基于线粒体自噬防治 OP

研究发现在破骨细胞分化过程中, 添加 EGCG 后 PINK1、PARKIN、LC3B 的 mRNA 表达量降低, 抑制了破骨细胞的分化^[29]。研究发现肉苁蓉苷 A 可以增加成骨细胞分化和矿化, 肉苁蓉苷 A 通过增加细胞中 LC3-I、II 的表达以及提高 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性, 减少了细胞凋亡并促进了自噬, 自噬抑制剂 3-MA 的加入抑制成骨分化, 并抑制了 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性, 增加了细胞凋亡, 同时降低了自噬水平, 肉苁蓉苷 A 和 DKK-1 的组合导致更高水平的细胞凋

亡, 但自噬水平较低。因此, 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路, 肉苁蓉苷 A 是原发性成骨细胞自噬的有效诱导剂和凋亡的抑制剂, 从而增强了成骨分化^[51]。研究发现模型组及各给药组 LC3II/LC3I 均显著低于假手术组, 但各给药组 LC3II/LC3I 均高于模型组, 说明左、右归丸能促进 LC3I 向 LC3II 转换, 改善线粒体自噬水平, 左、右归丸在促进骨形成的同时, 能影响 PINK1、PARKIN 等蛋白的表达, 说明左、右归丸可能通过调控 PINK1/PARKIN 信号通路改善线粒体自噬水平, 进而调节骨代谢, 这可能是左、右归丸防治 PMOP 的新靶点^[52]。中医药调控线粒体质量控制防治骨质疏松的作用机制示意图见图 2。

4 结语及展望

近年来, 研究揭示了 MQC 与 OP 线粒体新陈代谢和适应性调整的紧密关联。在病理状态下, 如线粒体的氧化应激、融合和分裂的不均衡、自噬功能障碍以及 mtDNA 的突变, 都可能引发线粒体的功能性损害和 OP 的产生。然而, MQC 可以通过抗氧化系统减缓 ROS 对细胞产生的氧化伤害, 并通过生物生成来补充线粒体储备; 同时也可以通过线粒体动力学改变形状和大小, 并通过自噬来清理受损的内部结构以维持其功能。因此, MQC 所参与的机理可能成为干涉治疗 OP 的潜在目标。本文回顾了 MQC 在 OP 中的研究进展, 阐释了化学药物、生物制剂和中药 (包括单体化合物和复方) 通过调节氧化应激反应、线粒体动态、线粒体自噬以及线粒体生物生成等相关因素的表达, 从而调控 MQC, 以修复线粒体的形状和功能, 治疗 OP 的可能性。

综上所述, 线粒体质量控制在维持细胞健康和功能方面发挥着关键作用, 但与骨质疏松症的关联仍然需要更多深入的研究, 尽管与线粒体质量控制相关的研究已经在其他领域取得了很大进展, 但目

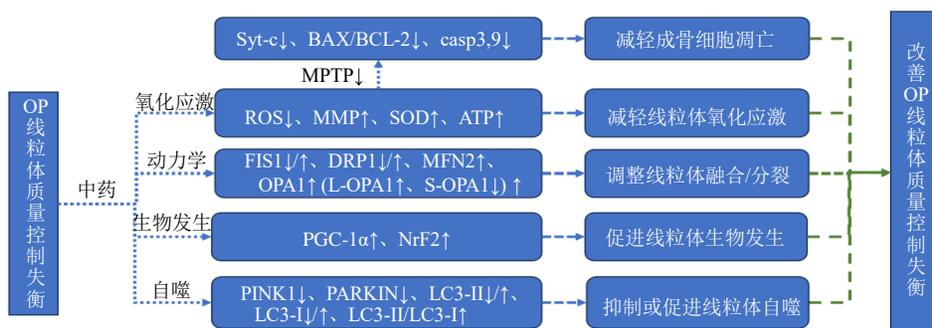


图 2 中医药调控线粒体质量控制防治骨质疏松的作用机制

Fig. 2 Mechanism of action of Chinese medicine in regulating mitochondrial quality control against osteoporosis

前对线粒体与骨质疏松症之间的具体关系仍然存在研究不足的情况。一些初步的研究提示,线粒体功能和健康可能与骨骼健康有关,但具体的机制和影响尚未完全理解,需要更多的研究来深入探讨线粒体在骨质疏松症中的作用以及与该疾病的具体关联,这可能包括研究线粒体功能和结构在骨骼细胞中的作用,以及线粒体相关的遗传变异是否与骨质疏松症的风险有关。相信随着科学的不断进步,我们可以期待更多关于线粒体与骨质疏松症之间关系的深入了解,这可能有助于开发更好的治疗方法和预防措施。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Camacho P M. 2021 updates on osteoporosis diagnosis and therapy [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2021, 50(2): 56.
- [2] Wang Y, Tao Y, Hyman M E, et al. Osteoporosis in China [J]. *Osteoporos Int*, 2009, 20(10): 1651-1662.
- [3] 管孟琪, 周振薇, 玄宝金, 等. 传统中医理论指导下的中药防治骨质疏松研究进展 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(4): 649-653.
- [4] Annesley S J, Fisher P R. Mitochondria in health and disease [J]. *Cell*, 2019, 8(7): 680.
- [5] Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: In sickness and in health [J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-1159.
- [6] Roca-Portoles A, Tait S W G. Mitochondrial quality control: From molecule to organelle [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(8): 3853-3866.
- [7] Zorov D B, Juhaszova M, Sollott S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909-950.
- [8] Indo H P, Hawkins C L, Nakanishi I, et al. Role of mitochondrial reactive oxygen species in the activation of cellular signals, molecules, and function [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 240: 439-456.
- [9] Bock F J, Tait S W G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2): 85-100.
- [10] Edlich F, Banerjee S, Suzuki M, et al. Bcl-x(L) retrotranslocates bax from the mitochondria into the cytosol [J]. *Cell*, 2011, 145(1): 104-116.
- [11] Bock F J, Tait S W G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2): 85-100.
- [12] Cai W W, Zhang M H, Yu Y S, et al. Treatment with hydrogen molecule alleviates TNF α -induced cell injury in osteoblast [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 373(1/2): 1-9.
- [13] Ho W P, Chan W P, Hsieh M S, et al. Runx2-mediated bcl-2 gene expression contributes to nitric oxide protection against hydrogen peroxide-induced osteoblast apoptosis [J]. *J Cell Biochem*, 2009, 108(5): 1084-1093.
- [14] Yu R, Jin S B, Lendahl U, et al. Human Fis1 regulates mitochondrial dynamics through inhibition of the fusion machinery [J]. *EMBO J*, 2019, 38(8): e99748.
- [15] Yu R, Liu T, Jin S B, et al. MIEF1/2 orchestrate mitochondrial dynamics through direct engagement with both the fission and fusion machineries [J]. *BMC Biol*, 2021, 19(1): 229.
- [16] Adebayo M, Singh S, Singh A P, et al. Mitochondrial fusion and fission: The fine-tune balance for cellular homeostasis [J]. *FASEB J*, 2021, 35(6): e21620.
- [17] Cai W J, Chen Y, Shi L X, et al. AKT-GSK3 β signaling pathway regulates mitochondrial dysfunction-associated OPA1 cleavage contributing to osteoblast apoptosis: Preventative effects of hydroxytyrosol [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4101738.
- [18] Gan X, Huang S, Yu Q, Yu H, Yan S S. Blockade of Drp1 rescues oxidative stress-induced osteoblast dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015, 468(4): 719-725.
- [19] Lu Y Y, Li Z J, Zhang S Q, et al. Cellular mitophagy: Mechanism, roles in diseases and small molecule pharmacological regulation [J]. *Theranostics*, 2023, 13(2): 736-766.
- [20] Liu L, Li Y J, Chen G, et al. Crosstalk between mitochondrial biogenesis and mitophagy to maintain mitochondrial homeostasis [J]. *J Biomed Sci*, 2023, 30(1): 86.
- [21] Li W, Jiang W S, Su Y R, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy inhibits osteoblast apoptosis induced by advanced oxidation protein products [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(2): 88.
- [22] Lee S Y, An H J, Kim J M, et al. PINK1 deficiency impairs osteoblast differentiation through aberrant mitochondrial homeostasis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 589.
- [23] Xu K, Lu C, Ren X Y, et al. Overexpression of HIF-1 α enhances the protective effect of mitophagy on steroid-induced osteocytes apoptosis [J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(11): 2123-2137.
- [24] Peng X L, Gao B L, Wang X X, et al. Hyperbaric oxygen and treadmill exercise partially prevented bone loss and bone microarchitecture deterioration in ovariectomized rats [J]. *Diving Hyperb Med*, 2023, 53(2): 111-119.
- [25] Bhatti J S, Bhatti G K, Reddy P H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based therapeutic strategies [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(5): 1066-1077.
- [26] Sánchez-de-Diego C, Pedrazza L, Pimenta-Lopes C, et al. NRF $_2$ function in osteocytes is required for bone homeostasis and drives osteocytic gene expression [J]. *Redox Biol*, 2021, 40: 101845.
- [27] Kim D Y, Ko S H. Common regulators of lipid metabolism

- and bone marrow adiposity in postmenopausal women [J]. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(2): 322.
- [28] 朱芳兵, 章英良, 侯桥, 等. 仙茅苷对成骨细胞增殖分化和炎症因子表达的影响及机制分析 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(5): 642-648.
- [29] Sarkar J, Das M, Howlader M S I, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate inhibits osteoclastic differentiation by modulating mitophagy and mitochondrial functions [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(10): 908.
- [30] Li X M, Lin H Y, Zhang X R, *et al.* Notoginsenoside R1 attenuates oxidative stress-induced osteoblast dysfunction through JNK signalling pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(24): 11278-11289.
- [31] Choi E M. Honokiol protects osteoblastic MC3T3-E1 cells against antimycin A-induced cytotoxicity [J]. *Inflamm Res*, 2011, 60(11): 1005-1012.
- [32] Choi E M. Kaempferol protects MC3T3-E1 cells through antioxidant effect and regulation of mitochondrial function [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(8): 1800-1805.
- [33] Choi E M, Lee Y S. Protective effect of apocynin on antimycin A-induced cell damage in osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *J Appl Toxicol*, 2012, 32(9): 714-721.
- [34] Choi E M. Luteolin protects osteoblastic MC3T3-E1 cells from antimycin A-induced cytotoxicity through the improved mitochondrial function and activation of PI3K/Akt/CREB [J]. *Toxicol Vitro*, 2011, 25(8): 1671-1679.
- [35] Lee Y S, Choi E M. Actein isolated from black cohosh promotes the function of osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *J Med Food*, 2014, 17(4):414-23.
- [36] Choi E M. Glabridin protects osteoblastic MC3T3-E1 cells against antimycin A induced cytotoxicity [J]. *Chem Biol Interact*, 2011, 193(1): 71-78.
- [37] 陈婷婷, 黄天一, 李梦雨, 等. 1, 2, 3, 4, 6-五没食子酰葡萄糖的骨保护作用与 Nrf2/HO-1 信号通路的相关性研究 [J]. *药学学报*, 2020, 55(5): 907-914.
- [38] Mao Y X, Cai W J, Sun X Y, *et al.* RAGE-dependent mitochondria pathway: a novel target of silibinin against apoptosis of osteoblastic cells induced by advanced glycation end products [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6): 674.
- [39] Shangguan W J, Zhang Y H, Li Z C, *et al.* Naringin inhibits vascular endothelial cell apoptosis via endoplasmic reticulum stress-and mitochondrial-mediated pathways and promotes intraosseous angiogenesis in ovariectomized rats [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(6): 1741-1749.
- [40] Zhang Z F, Zheng L G, Zhao Z Q, *et al.* Grape seed proanthocyanidins inhibit H₂O₂-induced osteoblastic MC3T3-E1 cell apoptosis via ameliorating H₂O₂-induced mitochondrial dysfunction [J]. *J Toxicol Sci*, 2014, 39(5): 803-813.
- [41] Ding G L, Zhao J Q, Jiang D M. Allicin inhibits oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis by promoting PI3K/AKT and CREB/ERK signaling in osteoblast cells [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(6): 2553-2560.
- [42] Park C, Lee H, Han M H, *et al.* Cytoprotective effects of fermented oyster extracts against oxidative stress-induced DNA damage and apoptosis through activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway in MC3T3-E1 osteoblasts [J]. *EXCLI J*, 2020, 19: 1102-1119.
- [43] Yao X D, Jing X Z, Guo J C, *et al.* Icaritin protects bone marrow mesenchymal stem cells against iron overload induced dysfunction through mitochondrial fusion and fission, PI3K/AKT/mTOR and MAPK pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 163.
- [44] Dai P P, Mao Y X, Sun X Y, *et al.* Attenuation of oxidative stress-induced osteoblast apoptosis by curcumin is associated with preservation of mitochondrial functions and increased akt-GSK3 β signaling [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(2): 661-677.
- [45] 高健美, 李海波. 菟丝子通过线粒体通路抗叔丁基过氧化氢诱导的MC3T3-E1细胞凋亡 [J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(5): 89-92.
- [46] Li J, He C R, Tong W W, *et al.* Tanshinone IIA blocks dexamethasone-induced apoptosis in osteoblasts through inhibiting Nox4-derived ROS production [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10): 13695-13706.
- [47] Nie Z G, Deng S, Zhang L, *et al.* Crocin protects against dexamethasone-induced osteoblast apoptosis by inhibiting the ROS/Ca²⁺-mediated mitochondrial pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(1): 401-408.
- [48] 刘立萍, 李雪峰, 姜波, 等. 左归丸通过线粒体途径抗叔丁基过氧化氢诱导的MC3T3-E1细胞凋亡 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(9): 117-122.
- [49] Suh K S, Rhee S Y, Kim Y S, *et al.* Protective effect of liquiritigenin against methylglyoxal cytotoxicity in osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *Food Funct*, 2014, 5(7): 1432-1440.
- [50] 尹秀萍, 许闫严, 刘贤莉. 天麻素通过 Nrf2/Keap1 信号通路促进成骨细胞分化和抑制骨质疏松作用 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(16): 2468-2471.
- [51] Chen T Y, Gao F H, Luo D, *et al.* Cistanoside A promotes osteogenesis of primary osteoblasts by alleviating apoptosis and activating autophagy through involvement of the Wnt/ β -catenin signal pathway [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(2): 64.
- [52] 郭晔, 任艳玲. 左、右归丸干预 PINK1/Parkin 信号通路调控绝经后骨质疏松症自噬的机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(3): 1208-1212.