

· 论著 ·

基于 Label-free 技术探讨肌少-骨质疏松症与骨质疏松症患者骨组织差异蛋白的研究与分析

陈锦成^{1,2} 朱国涛^{1,2} 刘洪文^{1,2} 余博飞² 陈彦丞² 罗骏² 秦晓飞^{1,2} 徐杰^{1,2*}

1. 福建中医药大学中医骨伤及运动康复教育部重点实验室, 福建 福州 350122

2. 福建医科大学省立临床医学院(福建省立医院)骨科, 福建 福州 350001

中图分类号: R589 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 03-0372-07

摘要: 目的 对“骨质疏松症(OP)”与“肌少-骨质疏松症(SO)”研究对象的骨组织样品进行蛋白定量检测、蛋白差异分析及差异蛋白功能富集分析,旨在筛选与鉴定出调控 SO 发生发展的差异蛋白。方法 共收集 6 例 SO 与 OP 患者骨组织样品,采用 Label-free 定量蛋白质组技术进行鉴定与筛选;在基因本体论(GO)生物学资源库、蛋白互作网络(PPI)系统及京都基因与基因组百科全书(KEGG)对具有显著差异的蛋白开展生物信息研究。结果 在 SO 组与 OP 组中共筛选出 1 395 个差异蛋白,经差异显著性筛选其中上调表达有 21 个,表达下调有 9 个,上下调蛋白有统计学意义;两组间差异显著的蛋白分别是过氧化物酶-1、转化生长因子- β 1、线粒体转录因子 A 和细胞色素 C 氧化酶等;差异蛋白主要涉及细胞氧化还原稳态、氧化磷酸化和代谢过程。结论 过氧化物酶-1、转化生长因子- β 1、线粒体转录因子 A 和细胞色素 C 氧化酶等差异蛋白可能参与了 SO 发生发展过程。

关键词: Sarcopenia-osteoporosis; 骨组织; Label-free 定量蛋白质组学; 生物信息学分析**Research and analysis of differentially expressed proteins in the bone tissue in patients with sarcopenia-osteoporosis and osteoporosis based on label-free technology**CHEN Jincheng^{1,2}, ZHU Guotao^{1,2}, LIU Hongwen^{1,2}, YU Bofei², CHEN Yancheng², LUO Jun², QIN Xiaofei^{1,2}, XU Jie^{*1,2}

1. Key Laboratory of Orthopedics & Traumatology of Traditional Chinese Medicine and Rehabilitation (Fujian University of TCM), Ministry of Education, Fuzhou 350122, China

2. Department of Orthopedics, Fujian Medical University, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China

* Corresponding author: XU Jie, Email: jiexud@126.com

Abstract: Objective To perform protein quantitative detection, protein difference analysis, and differential protein function enrichment analysis in bone tissue samples in the subjects with osteoporosis (OP) or sarcopenia-osteoporosis (SO), aiming to screen and identify differentially expressed proteins that regulate the occurrence and development of SO. **Methods** A total of 6 bone tissue samples from SO and OP patients were collected. Label-free quantitative proteomics technology was used for the identification and screening. Bioinformatics research on proteins with significant differences was conducted in the gene ontology (GO) biological resource library, the protein interaction network (PPI) system, and the Kyoto gene and genome Encyclopedia (KEGG). **Results** In the SO group and OP group, a total of 1395 differentially expressed proteins were screened. After significant difference screening, 21 were up-regulated and 9 were down-regulated. The up-regulated and down-regulated protein were statistically significant. The proteins with significant difference between the two groups were peroxidase-1, transforming growth factor- β 1, mitochondrial transcription factor A, and cytochrome C oxidase. The differentially expressed proteins were mainly involved in cell oxidation-reduction homeostasis, oxidative phosphorylation, and metabolic processes. **Conclusion** Differentially expressed proteins, such as peroxidase-1, transforming growth factor- β 1, mitochondrial transcription factor A, and cytochrome C oxidase, may be involved in the development of SO.

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目(2019J01173); 2019 福建省卫生教育联合攻关项目(2019-WJ-01); 卫生健康委医学创新课题(2019-CX-1)

* 通信作者: 徐杰, Email: jiexud@126.com

Key words: sarcopenia-osteoporosis; bone tissue; label-free quantitative proteomics; bioinformatics analysis

“肌少-骨质疏松症”(sarco-osteoporosis, SO)是当今世界各国老龄化社会正在面临的突出问题,肌少症(sarcopenia)的临床特征是肌肉强度减退和(或)全身肌肉量占比减少或肌肉机能衰退^[1-2],其病程与自然增龄密切相关。骨质疏松症(osteoporosis, OP)的临床特征是骨量逐步缩减、骨结构逐步退化和脆性事件增多,其属于系统性骨病的范畴,OP 全身性退化常伴随的情况是骨折发生率的增高^[3]。生物体是由蛋白质构成的,为了在蛋白水平更进一步研究肌少-骨质疏松症的病理机制,本研究团队从基因组学逐步深入到蛋白组学相关领域研究,重点开展差异蛋白之间的相互作用机制研究与功能信息分析;本研究团队采用 Label-free 定量蛋白组学手段对 SO 与 OP 患者骨组织样品蛋白定量和筛选差异蛋白以及差异蛋白功能分析^[4],

为 SO 致病机制研究奠定基础,以推动 SO 生物检测指标的确定、有效治疗药物和设备开发工作^[5]。

1 材料和方法

1.1 纳入研究对象的基本资料

随机抽取在 2017 年 8 月至 2018 年 8 月期间于福建省医院骨二科行手术治疗的股骨颈骨折病人 6 例,自愿参与本临床研究,所有纳入的 6 例研究对象经告知研究方案后均能主动签署知情同意书;根据生物学重复原则选取 SO 组与 OP 组各 3 例,两个组的研究对象在族裔、性别和年龄等方面差异没有统计学意义。

1.2 临床病例纳入及排除标准

临床病例纳入及排除标准见表 1。

表 1 临床病例纳入及排除标准详情

Table 1 Details of inclusion and exclusion criteria of the clinical cases

疾病名称	纳入标准	排除标准
肌肉减少症患者	基于双能 X 线吸收测定法(DXA)测定计算骨骼肌质量指数(SMI),女性肌少症诊断标准为 $SMI \leq 5.4 \text{ kg/m}^2$	排除患有糖尿病、甲状腺功能亢进、继发性骨质疏松、骨软化症、成骨不全、类风湿关节炎、多发性骨髓瘤、骨肿瘤等;参与者均无服用减肥药或糖皮质激素史
骨质疏松症患者	采取世界卫生组织(WHO)推荐的诊断标准,基于 DXA 测定骨密度低于同性别、同种族健康青年骨峰值 2.5 个以上标准差为骨质疏松	排除患有糖尿病、甲状腺功能亢进、继发性骨质疏松、骨软化症、成骨不全、类风湿关节炎、多发性骨髓瘤、骨肿瘤等;参与者均无服用减肥药或糖皮质激素史
肌少-骨质疏松症纳入标准:	满足肌肉减少症和骨质疏松症患者上述两项纳入标准	排除患有糖尿病、甲状腺功能亢进、继发性骨质疏松、骨软化症、成骨不全、类风湿关节炎、多发性骨髓瘤、骨肿瘤等;参与者均无服用减肥药或糖皮质激素史

1.3 样品取样

在手术台上切取两组研究对象骨组织样品(2~5 g),然后修剪成边长 0.5 cm 的小块(重量 100 mg)装入小管中,液氮速冻 5 min 以上,保存于超低温 -80 °C (Eppendorf)冰箱中,样品用于后续上机定量蛋白检测与分析。术中采样统一由经验丰富的主任医师完成;本项目已申请并通过福建省立医院(本部)伦理委员会研讨与批准(审批编号:K2019-03-034)。

1.4 Label-free 定量蛋白质组学分析

1.4.1 试剂材料与设备:试剂材料与设备见表 2。

1.4.2 提取总蛋白:骨组织样品从超低温(-80 °C)冰箱的冻存盒中取出,先在液氮中研磨,然后用 1.5 mL 的 EP 管将研磨好骨组织收集并标记好,加入蛋白裂解混合液(50 mmol/L Tris-HCl, 8 mol/L 尿素、0.2 % SDS、pH=8)以裂解骨组织样本;然后开启

并预冷机器至 4 °C, 12 000 g 离心至少 15 min,收集上清,移液器吸取 4 倍上清体积的冷丙酮(含终浓度为 10 mmol/L DTT)加入混合,沉淀 2 h;再次 4 °C, 12 000g 离心时间为 15 min,收集沉淀;加入 800 μL 的冷丙酮(含终浓度为 10 mmol/L DTT)重悬沉淀,清洗各种杂质;离心,收集沉淀,超净台内风干沉淀。加入 600 μL 8 mol/L Urea (50 mmol/L Tris buffer, 8 mol/L Urea, pH=8)溶解蛋白。骨组织蛋白样品进行 BCA 定量,科研笔记本记录实验定量结果。

1.5 蛋白质量检测

预制备好 BSA 标准品与待测样品液体,将 G250 工作液按试剂说明中微孔板法依次向标准品与待测样品孔中加入一定量,室温(37 °C)孵育 5 min,在酶标仪机器上的 A595 nm 波长位置检测吸光度值。准备好待测样品,取出 20 μL 稀释好的蛋

白溶液,放置在 96 孔酶标板的其他位置,复孔 3 个。各组样品 10 % SDS-PAGE 电泳,用考马斯亮蓝对电泳后的凝胶进行处理、洗脱液反复洗脱、蛋白条带清晰后分析。

表 2 实验试剂材料与主要仪器设备

Table 2 Experimental reagent materials and main equipments

试剂或仪器名称	公司
Tris-HCl	中国青岛捷世康生物公司
尿素	中国上海生工公司
0.2 % 十二烷基硫酸钠(SDS)	中国上海沪峥生物有限公司
苏糖醇(DTTred)	德国 Merck 公司
吡啶-3-醋酸(IAA)	中国上海泽叶生物公司
溴化四乙铵(TEAB)	中国上海沪震实业公司
标准蛋白质溶液(BSA)	中国北京百奥莱博公司
十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳	中国上海文澜阁生物公司
胰酶	美国 BBI 公司
1 % 甲酸	美国 Sigma 公司
乙腈	美国 Fisher 公司
Q Exactive™ HF-X 质谱仪	美国 Thermo Scientific 公司

1.6 蛋白质酶解

从各实验样品中提取蛋白质约 100 μg,加入 2 μL 胰酶(浓度:1 g/L)和 500 μL TEAB(100 mmol/L)溶液;快速震荡和涡旋混匀,微量高速离心;放置在 37 °C 水浴中,过夜酶解 16 h 左右;次日取出,或冻存-20 °C,或直接使用。

1.7 质谱上机进行液质检测

A 液(100 %水+0.1 %甲酸)和 B 液(80 %乙腈+0.1 %甲酸)液体预制备;使用 Q Exactive™ HF-X(Thermo 公司,型号:Easy nanoLC 1200)质谱仪进行原始数据质控并上机检测。

1.8 Uniprot 蛋白质数据库检索

采用 Proteome Discoverer 线上软件(Thermo,版本 2.2)开始蛋白质数据的检索与分析;将 SO 组和 OP 组

之间蛋白定量差异显著的($FC \geq 2.0$,且 $P \leq 0.05$ 时,标记为上调表达蛋白;当 $FC \leq 0.60$,且 $P \leq 0.05$ 时,标记为下调表达蛋白)定义为差异表达蛋白。

1.9 差异蛋白信息分析

使用 GO 数据库(<http://www.geneontology.org/>)分别对 SO 组与 OP 组的细胞组分(CC)、分子功能(MF)和生物过程(BP)进行分析;在 KEGG 软件(<http://www.genome.jp/kegg/>)中进行差异蛋白的富集通路重点分析,旨在确定差异蛋白最主要参与哪些代谢途径和调控哪些相关的信号通路,还可以明确差异蛋白之间相互协调以启动其生物学行为发挥调控作用。

2 结果

2.1 Label-free 质谱数据检测结果与差异蛋白分析

在 SO 组和 OP 组样品中共筛选出 1 395 个差异蛋白,定义为差异具有统计学意义的蛋白共 30 个,上调蛋白筛选出 21 个,下调蛋白筛选出 9 个(表 3);对这 30 个蛋白进行差异分析可知有 12 个蛋白与代谢途径密切相关,还有一些重要的差异表达蛋白则参与了细胞氧化还原过程,部分差异表达蛋白可以通过氧化磷酸化途径激活氧化还原酶活性,这提示了提高机体成骨细胞和成肌细胞抗氧化活性对于延缓 SO 进程意义重大。此外,细胞骨架结构的重要成分如肌球蛋白轻链激酶 2、骨调节蛋白前体微管蛋白 β -1 链,这些差异蛋白的激活在调节骨矿化、细胞外基质形成和调节细胞骨架组织以及在肌少症罹患骨质疏松症病程进展中扮演重要角色;根据 SO 组与 OP 组的蛋白差异分析结果绘制了火山图(图 1);并运用聚类热图分析在组间比较的上调与下调差异蛋白表达水平(图 2)。

表 3 差异显著的蛋白质详细信息

Table 3 Details of significantly different proteins

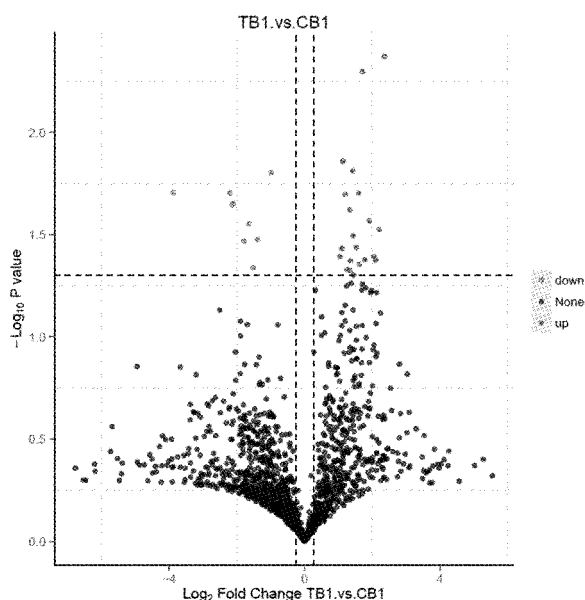
蛋白 ID 号	蛋白描述	差异倍数	P 值	表达
XP_005262886.1	长链脂肪酸-CoA 连接酶 1 亚型 X1	2.147	0.037	上调
NP_006750.3	UTP-葡萄糖-1-磷酸尿苷转移酶亚型 a	2.523	0.024	上调
NP_002565.1	过氧化物酶-1	2.706	0.032	上调
XP_011522035.1	脂肪醛脱氢酶亚型 X1	2.691	0.015	上调
NP_061326.1	NADH 脱氢酶[泛醌]1 α 亚单位 12 亚型	0.382	0.033	下调
XP_024308566.1	甘油-3-磷酸脱氢酶,线粒体亚型 X1	0.320	0.028	下调
NP_149109.1	肌球蛋白轻链激酶 2,骨骼肌/心肌	0.218	0.020	下调
NP_110400.1	微管蛋白 β -1 链	2.873	0.037	上调
NP_001018146.1	NME1-NME2 蛋白	4.288	0.042	上调
NP_001619.1	醛糖还原酶亚型 1	3.029	0.020	上调
NP_683725.1	细胞色素 b5 亚型 1	3.262	0.005	上调

续表 3 差异显著的蛋白质详细信息

Continued table 3 Details of significantly different proteins

蛋白 ID 号	蛋白描述	差异倍数	P 值	表达
NP_115690.3	2-甲基-6-聚异戊二烯-1,4-苯并噻啉甲基化酶,线粒体前体	0.068	0.017	下调
XP_016877512.1	细胞质 FMR1 相互作用蛋白 1 亚型 X1	0.232	0.022	下调
XP_005245184.1	γ 干扰素诱导蛋白 16 亚型 X1	0.349	0.046	下调
NP_005005.1	骨调节蛋白前体	2.072	0.041	上调
NP_057370.1	L-木糖还原酶亚型 1	2.199	0.014	上调
XP_011531155.1	潜在转化生长因子 β 结合蛋白 1 亚型 X1	2.559	0.042	上调
NP_006801.1	蛋白质二硫化物异构酶 A5 前体	3.432	0.042	上调
NP_000427.1	琥珀酰辅酶 A:3-酮酸辅酶 A 转移酶 1,线粒体前体	3.070	0.044	上调
NP_003192.1	转录因子 A,线粒体亚型 1 前体	4.138	0.040	上调
NP_001008895.1	cullin-4 A 亚型 1	2.528	0.047	上调
NP_005397.1	rho 相关蛋白激酶 1	0.501	0.016	下调
NP_001265568.1	ran 特异性 GTPase 激活蛋白亚型 1	2.722	0.050	上调
NP_054768.2	酰基辅酶 A 脱氢酶家族成员 9,线粒体	0.289	0.034	下调
NP_003960.1	NEDD8 结合酶 Ubc12	4.613	0.030	上调
XP_005248927.1	同种异体炎症因子 1 亚型 X1	0.227	0.023	下调
XP_024309639.1	主要的促进子超家族结构域蛋白 10 亚型 X1	2.297	0.020	上调
NP_001957.2	过氧化物酶体双功能酶亚型 1	2.380	0.047	上调
NP_004065.1	细胞色素 c 氧化酶亚单位 8 A,线粒体	5.139	0.004	上调
NP_005612.1	蛋白质 S100-A12	3.778	0.027	上调

注:CoA:辅酶 A;UTP:尿苷三磷酸;NADH:烟酰胺腺嘌呤二核苷酸;NME1-NME2:非转移细胞 1-非转移细胞 2;FMR1:脆性 X 智力低下 1;cullin-4 A:支架蛋白 4 A;rho:视紫红质蛋白;ran:ran 基因;GTPase:GTP 酶;NEDD8:神经前体细胞表达发育下调蛋白 8;Ubc12:泛素结合酶 12;S100-A12:S100 钙结合蛋白 A12。



注:横坐标 $\log_2$ 值定为差异倍数,纵轴的 $-\log_{10}$ 值则定为 P -value,差异表达的阈值用黑色的虚线来表示(临界值=倍数变化 > 1.30 或 < 0.83 , P 值 < 0.05);上调的蛋白则是红色散点来标记,下调的蛋白则是绿色散点来标记,还有差异无统计学意义的蛋白则用黑色散点来标记。

图 1 差异蛋白质火山图

Fig.1 Volcano diagram of the differentially expressed proteins

2.2 GO 功能富集分析

将筛选出的蛋白质运用 GO 数据库^[6]进行重点

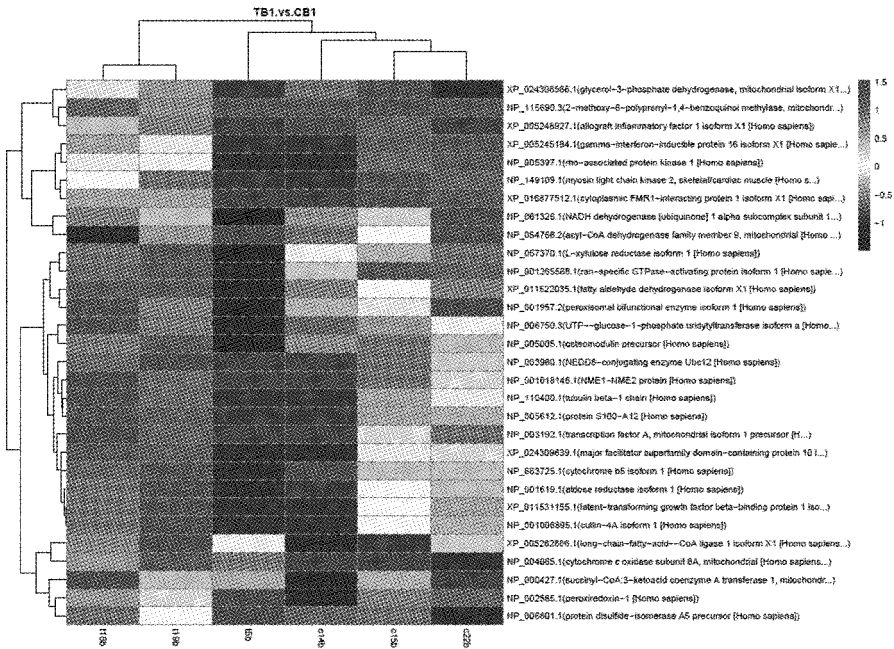
分析其蛋白主要参与的生物过程、分子功能和细胞组分的作用;GO 数据库注释结果显示,共 3 322 个蛋白质有 GO 注释结果,其中运用生物信息学方法专业软件对鉴定到的差异表达蛋白进行 GO 富集分析,有 856 个属于 BP,782 属于 CC,1 684 个属于 MF;通过注释结果可知这些差异蛋白可能参与细胞氧化还原稳态、氧化还原过程、氧化磷酸化过程及代谢过程等。

2.3 差异蛋白 KEGG 富集与功能分析

根据 KEGG 数据库^[7]的注释结果,充分运用差异蛋白 KEGG 富集气泡图来梳理注释结果(图 3);通过 KEGG 富集气泡图分析可知,SO 组代谢途径与蛋白加工受到影响,从而影响蛋白质合成,最终可能会抑制成肌、成骨分化与增殖;此外,从 SO 组与 OP 组比较中得到的 GO 去除冗余结果的柱状图,经过分析也同样富集到差异蛋白的氧化还原途径与代谢途径相关的生物过程功能。

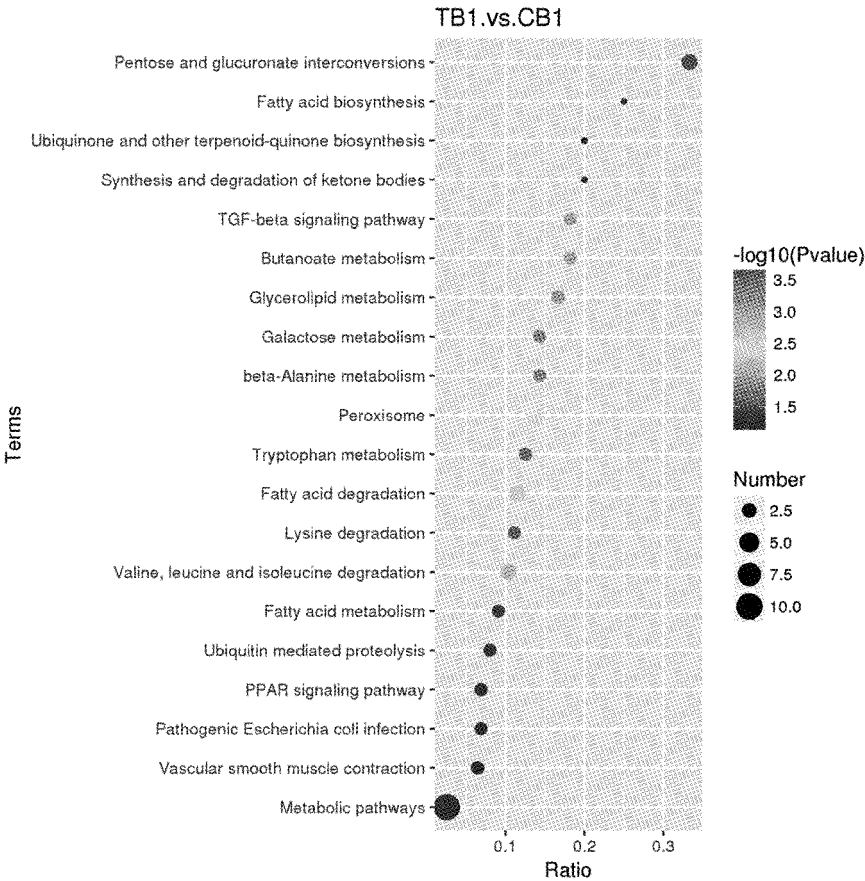
2.4 差异蛋白互作网络图分析

在基因测序的同时,越来越多的研究需要借助蛋白质组学来解释各种生物学现象。本研究团队使用 String DB 数据库系统分析了 SO 实验组(TB1)与 OP 对照组(CB1)之间的特征性蛋白互相关系与作用机制,并且以随机式互作网络图更直观和形象的呈现出来(图 4)。



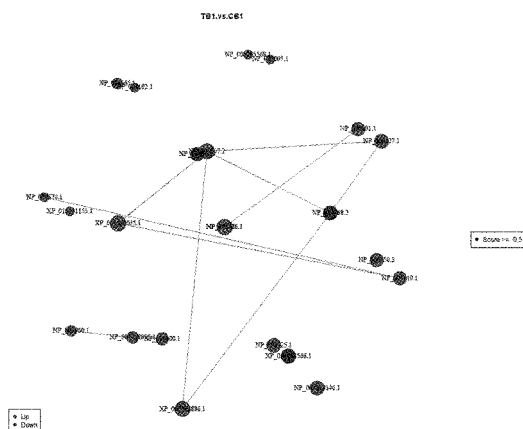
注:样品的聚类是纵向排列,蛋白的聚类则是横向排列,相似性越高则聚类枝越短;上调的蛋白对应红色标记,蓝色则表示下调的蛋白;蛋白质的表达水平则通过颜色强度来指示。

图 2 差异显著蛋白表达聚类热图
Fig.2 Clustering heat map of significantly different protein expression



注:TB1 表示:SO 实验组;CB1 表示:OP 对照组;图中横坐标 Ratio 比值为所筛选的差异蛋白个数/共鉴定到总蛋白个数,差异蛋白在通路的富集程度的高低通过 Ratio 数值的大小反应;-log10(P-value) 的值用不同颜色的小圆点表示,当检验越具统计学意义和可靠性越大时其值越小;相应通路中差异蛋白的数口通过点的大小来表示,当通路内差异蛋白越多则其相应的点越大。

图 3 KEGG 富集气泡图
Fig.3 KEGG enriched bubble chart



注:图中每一个蛋白用一个节点来表示,互作的蛋白越多则相应的节点越大;蛋白上调表达为红色节点,蛋白下调表达为蓝色节点。

图 4 蛋白相互作用网络图

Fig.4 Diagram of the protein interaction network

3 讨论

本研究团队在 SO 与 OP 骨组织样品差异蛋白质组研究中采用 Label-free 技术(数据扫描模式:DDA)筛选与鉴定出过氧化物酶-1、潜在转化生长因子 β 结合蛋白 1 亚型 X1、线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM)、细胞色素 C 氧化酶等 4 个差异蛋白,并通过结合文献资料梳理上述 4 个差异蛋白的具体作用机制和调控功能,旨在为进一步阐明肌少-骨质疏松症病理演变过程和临床诊治提供更多的基础研究数据。

颜晓芳等^[8]研究发现当成骨细胞 Wnt 通路相关蛋白表达被抑制时,过氧化物酶增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ)的活化水平会受到一定影响。老年性肥胖、高糖疾病状态下机体可引起 PPAR γ 表达的上调,而 PPAR γ 的激活伴随着 Wnt 相关蛋白的表达抑制,进而影响了成骨细胞骨形态发生蛋白等功能蛋白表达水平的降低,导致骨形成减少,最终加速 OP 的进程。自然增龄往往伴随着脂质氧化过程相关的 PPAR 基因调控功能的下调,机体成肌细胞的脂肪氧水平也随之下降,进而导致 ATP 合成缩减,最终影响肌肉的收缩功能^[9]。邢丽等^[10]也研究发现机体脂肪细胞的分化、胰岛素抵抗及骨代谢水平的变化和 PPAR γ 表达水平密切相关。

转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)可以介导骨形态发生蛋白表达进而诱导成骨分化与骨形成,其可能是通过增强成骨细胞

增殖能力与促进细胞分化成熟,以及增强机体基质钙化能力以加速修复骨损伤;TGF- β 1 的促细胞分裂与增殖作用的强弱会影响机体的间充质细胞、软骨细胞和成骨细胞数量的增减,这为骨组织再生修复提供了更多的物质基础^[11]。Joyce 等^[12]研究发现 TGF- β 1 可促进成骨细胞 I 型胶原蛋白形成,以加快骨缺损机体自我修复。

线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM)与骨骼肌萎缩存在密切关系,TFAM 的过表达对缓解肌萎缩有着积极的作用,宋银娟等^[13]发现 TFAM 过表达会使线粒体内活性氧的产生减少,以保证线粒体的调控功能正常发挥^[14]。Tasaki 等^[15]研究发现 TFAM 作为与骨骼肌萎缩重要的蛋白质分子之一,运动会促进 TFAM 表达,以提高线粒体的调控能力,从而防治肌少症。运动具体通过哪些分子机制以调控 TFAM 的表达,从而达到预防和治疗肌少症的问题仍有待深入研究。此外,欧阳剑锋^[16]研究发现 OP 疾病状态下往往伴随氧化应激水平的高表达,此时 OP 患者体内 TFAM 表达水平会有所降低,一旦缺少 TFAM 保护,被氧化损伤的线粒体转录 DNA 在机体内的数量将会增加,此时,缺少了修复酶对损伤线粒体转录 DNA 的逐步修复,则线粒体调控作用失常,由此证明 OP 的演变过程可能和 TFAM 表达下调引起的线粒体转录 DNA 拷贝数的多少有重要关联。

细胞色素氧化酶 (cytochrome oxidase, COX) 主要参与细胞的氧化磷酸化过程,并且在机体内会影响细胞氧化磷酸化对其相对应下游靶基因的调控作用^[17]。众所周知,氧化代谢过程是维持骨骼肌功能所必需的,而这种代谢的重要成分是 COX,即线粒体电子传输链的 13 个亚基末端复合物^[18]。李颖等^[19]研究骨骼肌与 OP 的关系,创新性提出肌肉线粒体内通透转换孔 (MPTP) 的表达水平可能与 OP 病理过程有密切关系,研究中发现 OP 患者肌肉中 MPTP 的通透性明显偏高,其中 MPTP 通透性水平高低受 COX 的活性介导;因此,保持 COX 的活性对于有效控制 MPTP 的变化意义重大,可以有效实现延缓细胞的衰老进程。此外,刘庆浩^[20]发现 COX 的活性与肌细胞的凋亡有一定联系,而肌细胞的衰退有可能加速肌少症的到来并诱发骨质疏松,综上所述,研究者认为 COX 的活性与 SO 的发生发展有密切关系,但其复杂的分子机制需深入研究。

SO 属于肌肉-骨骼系统疾病,差异蛋白 PPAR γ 在维持成骨细胞与破骨细胞的平衡体系中发挥重要

作用。TGF- β 1 参与调控骨形态发生蛋白表达过程,可为机体骨骼修复过程提供必要的物质基础。TFAM 的主要作用是参与了氧化应激过程,深入研究其是否参与氧化和抗氧化的疾病过程将为揭示 OP 的氧化应激具体分子机制提供更多可能;此外,COX 参与了骨骼肌细胞的氧化代谢过程,并且在肌少-骨质疏松症骨组织样品中存在显著差异表达,提示其可能也同时参与了 OP 的成骨细胞氧化代谢过程。

综上,本研究团队运用 Label-free 质谱筛选技术在 SO 上进行蛋白质谱数据采集与研究分析,并且初步筛选出过氧化物酶-1、潜在转化生长因子 β 结合蛋白 1 亚型 X1、线粒体转录因子 A、细胞色素 C 氧化酶等 4 个差异显著的蛋白,这些差异蛋白可能参与调控着 SO 发病的全过程;此蛋白质谱研究结果将为后续开展有关肌少-骨质疏松症细胞或动物的实验研究提供了更多思路与方向。

【参 考 文 献】

- [1] 杨依然,史晓林,刘钟,等.LC-MS 法筛选强骨饮对绝经后骨质疏松症患者全血差异蛋白的研究[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(12):1676-1679.
- [2] Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, et al. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia[J].J Am Med Dir Assoc,2011, 12: 249-256.
- [3] 杨丽君,吴永华,张俐.肌少症、骨质疏松症的关系及研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(8):1112-1116.
- [4] 刘培,肖隋熙,简维雄,等.自发性高血压大鼠左心室肥厚的蛋白质谱研究[J].湖南中医药大学学报,2018,38(6):605-613.
- [5] 陈锦成,朱国涛,刘洪文,等."肌少-骨质疏松症"的共同发病机制[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2020,13(1):95-102.
- [6] Ludger JE Goeminne, Kris Gevaert, Lieven Clement. Experimental design and data-analysis in label-free quantitative LC/MS proteomics: A tutorial with MSqRob [J].J Proteomics, 2018,171:23-36.
- [7] Wu J, Xie X, Liu Y, et al. Identification and confirmation of differentially expressed fucosylated glycoproteins in the serum of ovarian cancer patients using a lectin array and LC-MS/MS[J].J Proteome Res,2012,11(9):4541-4552.
- [8] 颜晓芳,袁欣,严孙杰,等.间歇性高糖环境通过激活过氧化物酶增殖物激活受体 γ 下调成骨细胞 Wnt 信号通路[J].中国临床药理学杂志,2018,34(15):1890-1893.
- [9] 章黎,王新颖,黎介寿 m 等.失血性休克-复苏损伤降低小鼠骨骼脂肪氧化能力及过氧化物酶激活受体的表达[J].肠外与肠内营养 m2015,22(1):34-38.
- [10] 邢丽,解汝娟.过氧化物酶增殖物激活受体与骨代谢[J].中国老年学杂志,2007,27(17):1742-1744.
- [11] 谭祖键,李起鸿,杨柳.转化生长因子- β -1 对骨形态发生蛋白诱导成骨的促进作用[J].第四军医大学学报,2001,22(11):998-1002.
- [12] Joyce ME, Jingushi S, Bolander ME. Transforming growth factor B in the regulation of fracture repair[J].Orthoped Clin North Am,1990,21(1):199-209.
- [13] 宋银娟,廖轶,赵德明,等.线粒体转录因子 A 的调节和功能[J].动物医学进展,2017,38(11):112-116.
- [14] 何诗依,张纓.运动、线粒体转录因子 A 与骨骼肌萎缩[J].中国生物化学与分子生物学报,2019,35(8):837-842.
- [15] Tasaki H, Matsubara T, Miki A. Effect of exercise and heat stress before hindlimb suspension on prevention of the skeletal muscle atrophy[J].Bull Health Sci Kobe,2007,23:1-8.
- [16] 欧阳剑锋.线粒体转录因子 A、B 与原发骨质疏松症关系的初步研究[D].广州:广州医科大学;广州医学院,2013.
- [17] 白洋.龟鹿益神颗粒对慢性疲劳大鼠骨骼肌细胞色素氧化酶及色素含量的影响[D].郑州:河南中医学院,2014.
- [18] Ieksoo Lee, Maik Hüttemann, Jenney Liu, et al. Deletion of heart-type cytochrome c oxidase subunit 7a1 impairs skeletal muscle angiogenesis and oxidative phosphorylation[J].J Physiol, 2012,590(20):1-13.
- [19] 李颖,白波,吴伙燕,等.骨骼肌线粒体通透转换孔在骨质疏松症中的变化[J].中华实验外科杂志,2011,28(7):1071-1073.
- [20] 刘庆浩.细胞色素 C 氧化酶和 MPTP 对骨质疏松影响的研究[D].广州:广州中医药大学,2009.

(收稿日期:2020-06-04;修回日期:2020-08-14)