

· 综述 ·

# 质子感知受体在骨代谢中的研究进展

李风波, 孙晓雷, 马信龙\*

(天津市天津医院骨科, 天津 300211)

**摘要:** 卵巢癌 G 蛋白偶联受体 1 (ovarian cancer G protein-coupled receptor 1, OGR1) 亚家族广泛分布于人体组织中, 该受体具有质子敏感特性, 可以通过受体组氨酸残基感知细胞外 pH 值变化, 对人体细胞功能进行调节。质子感知受体不仅与肿瘤的发生、免疫系统、神经系统及血管系统等密切相关, 还能调节成骨细胞骨形成和破骨细胞骨吸收来影响骨代谢。当骨形成和骨吸收动态平衡被打破以后, 会导致骨量异常以及相关骨病的发生。本文就质子感知受体在骨代谢中的作用进行综述。

**关键词:** 质子感知受体, 骨代谢, 卵巢癌 G 蛋白偶联受体 1

**中图分类号:** R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2023) 22-2068-04

**Research progress in proton sensing receptors on bone metabolism // LI Feng-bo, SUN Xiao-lei, MA Xin-long. Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China**

**Abstract:** Ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 (OGR1) subfamily was widely distributed in human tissues, which has proton-sensitive properties and can sense changes in extracellular pH through the receptor of histidine residues, thereby regulating the functions of various human cells. Proton-sensing receptors not only closely related to tumorigenesis, immune system, nervous system, and vascular system, but also to regulate osteoblast bone formation and osteoclast bone resorption affecting bone metabolism by the changes of extracellular pH value. As the bone metabolic balance is disrupted, it leads to abnormal bone mass and related bone disease. This article reviews the research progress on the role of proton-sensitive ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 in bone metabolism.

**Key words:** proton sensing receptor, bone metabolism, ovarian cancer G protein-coupled receptor 1

人体虽然动脉血 pH 值接近中性, 但局部组织会因灌注减少或糖酵解增加, 出现局部酸中毒<sup>[1]</sup>。骨组织在生理或病理状态下同样会出现局部缺氧, H<sup>+</sup>增多, 局部 pH 值下降, 从而影响骨代谢<sup>[2]</sup>。人体细胞膜存在可以感知细胞外 H<sup>+</sup>特异性受体, 能够在酸性环境中被激活, 影响胞内相关信号通路, 使细胞功能发生相应改变<sup>[3]</sup>。质子感知受体广泛参与人体多系统调节<sup>[4]</sup>。研究发现骨内酸性环境通过质子感知受体来影响骨代谢动态平衡, 尤其是卵巢癌 G 蛋白偶联受体 1 广泛在骨细胞上表达, 并参与调节破骨细胞骨吸收和成骨细胞骨形成等<sup>[5, 6]</sup>。因此, 了解质子感知受体在骨组织中的功能及相关机制对治疗相关骨病有重要意义。本文就近年来质子感知受体在骨代谢中的相关研究进行综述。

## 1 质子感知受体的分类及相关作用机制

G 蛋白偶联受体是细胞膜表面可以与 G 蛋白耦联的受体, 含有 7 个跨膜区, 是人体发现最大的蛋白质超家族, 可以调节多种生物学反应<sup>[7]</sup>。目前 GPCR 亚家族中发现有 4 种质子感知受体, 包括卵巢癌 G 蛋白偶联受体 1 (ovarian cancer G protein-coupled receptor 1, OGR1)、G 蛋白偶联受体 4 (G protein-coupled receptor 4, GPR4)、诱导细胞停滞于 G2/M 期的 G 蛋白偶联受体 (G2 accumulation, G2A) 和 T 细胞死亡偶联基因 8 (T-cell death associated gene 8, TDAG8)。他们存在于细胞膜的表面, 能够被细胞外酸激活, 进而与 G 蛋白偶联影响细胞内下游相关信号通路, 改变细胞的功能<sup>[8-10]</sup>。

这 4 种质子感知受体都可以感知细胞外质子的浓度变化, 但相关机制不完全相同。在 pH 值比较低的情况下, OGR1 受到细胞外质子刺激后与 Gq/11 蛋白偶联, 激活磷脂酶 C (PLC) /Ca<sup>2+</sup>信号通路, 引起细胞生物学变化<sup>[11]</sup>。而 GPR4 和 TDAG8 感知质子后与

Gs 蛋白偶联, 激活腺苷酸环化酶/cAMP 信号通路发挥作用<sup>[12, 13]</sup>。TDAG8 感知质子后与 G12/13 蛋白偶联, 还可激活 Rho 信号通路, 导致相关生物学变化<sup>[14]</sup>。OGR1 和 G2A 可诱导细胞内肌醇磷酸 (inositol phosphate, IP) 增加, 并且与质子浓度成正相关, G2A 还可以增加细胞内 cAMP 以及激活 zif269 启动子<sup>[15]</sup>。研究报道在不同 pH 值下以 cAMP 和 IP 为指标, 对 4 种质子感知受体对质子敏感程度进行研究, 得出 GPR4 和 TADG8 对质子最为敏感, G2A 最弱, OGR1 中等<sup>[16]</sup>。OGR1 在 pH 值 7.8 环境下是没有活性的, 但在 pH 值 6.8 环境下可完全激活肌醇磷酸<sup>[17]</sup>。质子感知受体通过胞外结构域中的组氨酸残基来识别质子, 并与细胞内的其他因子相互作用, 在细胞的不同阶段发挥着不同的作用<sup>[18]</sup>。质子感知受体在碱性环境中组氨酸残基间氢键比较稳定, 而在酸性环境下组氨酸残基被破坏处于不稳定状态, 转化为活性构象, 从而启动下游一系列信号变化。质子感知受体广泛存在于人体各组织中, 在不同组织不同 pH 值调节下发生不同的反应<sup>[19]</sup>。下面详细介绍质子感知受体在骨组织的作用。

## 2 质子感知受体与骨代谢的联系

骨代谢稳定主要依靠成骨细胞骨形成以及破骨细胞骨吸收两者之间平衡来维持, 一旦两者之间失衡, 会导致各种骨病如骨质疏松、骨硬化症等骨病<sup>[20, 21]</sup>。骨代谢受到局部 pH 值影响很大, 众所周知骨骼中含有大量的碱性矿物如羟基磷灰石, 但酸碱失衡后, 骨组织中的碱性物质可用于中和酸性物质。pH 值对骨细胞影响也极为敏感, 酸中毒可抑制成骨细胞的矿化, 激活破骨细胞吸收骨和其他矿化组织。细胞外酸中毒可能由激素、生长因子或细胞因子等刺激细胞引起细胞代谢产生酸性物质导致局部酸化<sup>[1, 22]</sup>。酸中毒对骨骼的危害早已为人所知, 特别是质子感知受体 GPCR 家族, 如 OGR1, 对细胞外酸反应敏感并能调节成骨细胞和破骨细胞骨形成吸收等细胞功能<sup>[23]</sup>。所以, 研究质子感知受体和骨代谢之间的关系, 有助于进一步阐明细胞外酸化作用于机体骨代谢的机制, 这可能对临床治疗骨质疏松症等代谢骨病提供一种新的思维策略及治疗靶点。

### 2.1 质子感知受体与破骨细胞

酸中毒对骨组织危害早已众所周知但被认为是由骨矿物质物理化学溶解引起的, 是骨组织充当“离子交换”以被动方式缓冲酸中毒。然而细胞培养和动物

实验表明, 质子对培养的大鼠破骨细胞有直接的刺激作用。代谢性酸中毒可直接诱导破骨细胞骨吸收并抑制成骨细胞骨形成<sup>[24, 25]</sup>。

Pereverzev 等<sup>[26]</sup>首次报道了 RANKL 诱导 RAW264.7 细胞获得的破骨细胞中表达 OGR1。细胞外酸化作用于 OGR1 通过破骨细胞内  $Ca^{2+}$  信号传导对破骨细胞迁移、分化和骨吸收活性至关重要。破骨细胞 OGR1 感知细胞外质子后, 可激活蛋白激酶 C (PKC), 影响促凋亡蛋白或抗凋亡蛋白的磷酸化状态, 或经细胞外信号调节激酶 1 和 2 (ERK1/2) 信号传导, 延长破骨细胞存活时间, 并且破骨细胞存活具有 pH 值依赖性。Krieger 等<sup>[27]</sup>采用显微 CT 扫描和组织形态学测量 8 周雄性 OGR1 基因敲除小鼠和野生型小鼠, 发现 OGR1 基因敲除小鼠胫骨和椎体骨小梁的皮质骨体积明显增加; OGR1 基因敲除小鼠中成骨细胞和破骨细胞表达均增加, 骨转换增加, 但骨形成增加大于骨吸收。最终质子受体 OGR1 缺乏的小鼠骨密度增加。为进一步验证酸中毒对破骨细胞 OGR1 影响是否对骨吸收至关重要, 后续采用特异性破骨细胞 OGR1 敲除的小鼠培养 3 个月, 显微 CT 显示 OGR1 基因敲除小鼠胫骨和股骨骨密度增加; 胫骨抗酒石酸酸性磷酸酶染色显示 OGR1 基因敲除小鼠胫骨破骨细胞数目减少。与野生型小鼠相比, 体外培养敲除 OGR1 基因小鼠破骨细胞表现为骨陷窝形成、破骨细胞特异性染色和破骨细胞特异性基因表达减少, 这与破骨细胞影响细胞 NFATc1 核转位有关。

高尿钙症是代谢性酸中毒的常见特征, 并且对骨代谢产生影响, 但具体机制不明确。为研究质子感知受体在其中作用, 采用敲除 OGR1 基因小鼠, 研究证实酸性环境下 OGR1 可改变  $Na^+/H^+$  交换异构体 3 在肾脏中重新分布, 从而导致尿钙增多<sup>[28]</sup>。Yang 等<sup>[29]</sup>采用破骨细胞缺乏 csf-1 基因的大鼠, 通过注射 CSF-1 恢复破骨细胞群, 在 CSF-1 治疗 2 d 后, 开始在长骨中出现 TRAP 阳性破骨细胞, 并在 4 d 达到峰值。通过高密度微阵列进行测量显示在 CSF-1 治疗的 2 d 内, OGR1 mRNA 表达上升了近 7 倍, 然后在接下来的 4 d 内略有下降。在体内和体外诱导破骨细胞分化, OGR1 的特异性抑制可以明显抑制破骨细胞分化。研究表明 OGR1 在体内和体外破骨细胞生成过程中早期表达, 并在破骨细胞分化中发挥作用。有研究采用特异性抑制剂 CUCL2 抑制 OGR1 作用, 利用 TRAP 特异性染色、 $Ca^{2+}$  荧光标记、Hoechst 33342 核染色、免疫荧光及 PCR 等监测发现, 细胞外酸化通过质子感知受体 OGR1 通过蛋白激酶 C 信

号通路可提高破骨细胞的存活率<sup>[26]</sup>。除了质子感知受体 OGR1 外, 质子感知受体 TDAG8 也能通过 Rho 信号通路来增强破骨细胞骨吸收活性, 当敲除 TDAG8 基因小鼠骨密度明显增加<sup>[30]</sup>。还发现 TDAG8 参与类风湿关节炎小鼠模型中的疾病进展, TDAG8 缺失可减轻类风湿关节炎大鼠疾病进展和疼痛症状, 并证实 TDAG8 确实可以抑制巨噬细胞和卫星胶质细胞来减弱类风湿关节炎疼痛<sup>[31]</sup>。

## 2.2 质子感知受体与成骨细胞

质子感知受体除了在破骨细胞中表达, 同样也表达于成骨细胞上。大鼠组织切片免疫组织化证实了成骨细胞和骨细胞中存在 OGR1。Tomura 等<sup>[32]</sup>研究发现人类成骨细胞系 NHOst 表达 OGR1, 并发现细胞外酸性刺激 OGR1 与 Gq/11 蛋白偶联后, 导致细胞内  $Ca^{2+}$  水平和磷酸肌醇短暂增加, 诱导环氧合酶-2 (cyclooxygenase -2, COX-2) 表达增加, 进一步产生前列腺素 E2 (PGE2), 之后激活成骨细胞表达 RANKL, RANKL 是破骨细胞分化重要因子, 可促进破骨细胞分化形成。当使用 OGR1 特异性抑制剂 siRNA 阻断后, 可抑制酸诱导的成骨细胞 COX-2 增加。Kadowaki 等<sup>[33]</sup>推测成骨细胞可能释放某种 OGR1 激动因子并激活破骨细胞表达 OGR1。研究筛选了多种细胞上清液和器官提取物, 发现 ST-2 成骨细胞上清液和猪胰腺组织提取物对 OGR1 有较强激动作用。最终纯化鉴定出活性金属 (Fe、Zn、Co、Mn 和 Ni) 是 OGR1 一种新型激动剂, 可在中性环境下单独激活 OGR1。这些 OGR1 激动金属通过 OGR1 在原代破骨细胞中诱导细胞内 Gq 偶联的肌醇磷酸信号发挥作用。并且这些 OGR1 激动金属通过与质子作用的相同残基激活 OGR1。OGR1 中第 2 个跨膜结构域中的 L74P 可能导致受体构象发生改变的部位, 从而干扰质子或金属离子与组氨酸残基的相互作用, 影响与 G 蛋白偶联, 改变细胞内信号传导机制<sup>[34]</sup>。Krieger 等<sup>[5]</sup>研究这些结果表明, G 蛋白信号 16 在调节成骨细胞 OGR1 对代谢性酸中毒的反应和后续刺激破骨细胞骨吸收中也起到重要作用。除了 OGR1 质子感知受体外, 成骨细胞中检测到质子感知受体 GPR4 和 GPR65 表达, 在酸性培养条件下, GPR4 和 GPR65 可增强破骨细胞活性, 并能通过促进成骨细胞分泌 RANKL 来发挥作用<sup>[35, 36]</sup>。

## 3 总结与展望

全身及局部代谢性酸中毒与骨代谢关系密切相

关, 但常常易被忽视。虽然研究已证实细胞外酸中毒可以通过质子感知受体抑制成骨细胞分化和生长, 同时促进破骨细胞的形成和骨吸收活性。但成骨细胞和破骨细胞感知细胞外酸变化的机制可能很复杂, 在本综述中, 作者讨论了质子感知受体对成骨和破骨细胞的影响及其机制, 尤其是质子感知受体 OGR1。越来越多的证据证实 OGR1 在骨组织生理和病理状态中的重要作用; 但其具体机制仍不完全明确, 进一步研究质子感知受体在骨代谢中的调节机制对于开发治疗骨代谢疾病药物提供了新的治疗靶点和新思路。

## 参考文献

- [1] Yang J, Chen J, Del Carmen Vitery M, et al. PAC, an evolutionarily conserved membrane protein, is a proton-activated chloride channel [J]. *Science*, 2019, 364 (6438): 395-399.
- [2] Boro H, Khatiwada S, Alam S, et al. Renal tubular acidosis manifesting as severe metabolic bone disease [J]. *Europ Endocrinol*, 2021, 17 (1): 59-67.
- [3] Rowe JB, Kapolka NJ, Taghon GJ, et al. The evolution and mechanism of GPCR proton sensing [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100167.
- [4] Liu N, Wang Y, Li T, et al. G-protein coupled receptors (GPCRs): signaling pathways, characterization, and functions in insect physiology and toxicology [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (10): 5260.
- [5] Krieger NS, Bushinsky DA. Metabolic acidosis regulates RGS16 and G protein signaling in osteoblasts [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2021, 321 (4): F424-F430.
- [6] Sisignano M, Fischer MJM, Geisslinger G. Proton-sensing GPCRs in health and disease [J]. *Cells*, 2021, 10 (8): 2050.
- [7] Insel PA, Sriram K, Salmerón C, et al. Proton-sensing G protein-coupled receptors: detectors of tumor acidosis and candidate drug targets [J]. *Future Med Chem*, 2020, 12 (6): 523-532.
- [8] Zhu C, Wang L, Zhu J, et al. OGR1 negatively regulates beta-casein and triglyceride synthesis and cell proliferation via the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in goat mammary epithelial cells [J]. *Anim Biotechnol*, 2021, 32 (5): 627-636.
- [9] Sriram K, Salmerón C, Wiley SZ, et al. GPCRs in pancreatic adenocarcinoma: contributors to tumour biology and novel therapeutic targets [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177 (11): 2434-2455.
- [10] Nayak AP, Pera T, Deshpande DA, et al. Regulation of ovarian cancer G protein-coupled receptor-1 expression and signaling [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2019, 316 (5): L894-L902.
- [11] Nayak AP, Deshpande DA, Shah SD, et al. OGR1-dependent regulation of the allergen-induced asthma phenotype [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321(6): L1044-L1054.
- [12] Tcymbarevich I, Richards SM, Russo G, et al. Lack of the pH-sensing receptor TDAG8 [GPR65] in macrophages plays a detrimental role in murine models of inflammatory Bowel disease [J]. *J*

- Crohns Colitis, 2019, 13 (2) : 245–258.
- [13] Sato K, Tobo A, Mogi C, et al. The protective role of proton-sensing TDAG8 in the brain injury in a mouse ischemia reperfusion model [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1) : 17193.
- [14] Teymbarevich IV, Eloranta JJ, Rossel JB, et al. The impact of the rs8005161 polymorphism on G protein-coupled receptor GPR65 (TDAG8) pH-associated activation in intestinal inflammation [J]. *BMC Gastroenterol*, 2019, 19 (1) : 2.
- [15] Li HM, Jang JH, Jung JS, et al. G2A Protects mice against sepsis by modulating Kupffer cell activation: cooperativity with adenosine receptor 2b [J]. *J Immunol*, 2019, 202 (2) : 527–538.
- [16] Seyedabadi M, Ghahremani MH, Albert PR. Biased signaling of G protein coupled receptors (GPCRs) : molecular determinants of GPCR/transducer selectivity and therapeutic potential [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 200 (1) : 148–178.
- [17] de Vallière C, Bäbler K, Busenhardt P, et al. A novel OGR1 (GPR68) inhibitor attenuates inflammation in murine models of colitis [J]. *Inflamm Intest Dis*, 2021, 6 (3) : 140–153.
- [18] Imenez Silva PH, Wagner CA. Physiological relevance of proton-activated GPCRs [J]. *Pflugers Arch*, 2022, 474 (5) : 487–504.
- [19] Alhosaini K, Azhar A, Alonazi A, et al. GPCRs: The most promising druggable receptor of the mankind [J]. *Saudi Pharm J*, 2021, 29 (6) : 539–551.
- [20] 张洪相, 张栋哲, 马超, 等. 骨肽对老年股骨粗隆间骨折内固定骨代谢的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2020, 28 (16) : 1450–1453.
- [21] 夏宁, 蔡云, 刘达, 等. 血清骨代谢指标与股骨颈骨量丢失的诊断价值 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (8) : 731–734.
- [22] Ji K, Mayernik L, Moin K, et al. Acidosis and proteolysis in the tumor microenvironment [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2019, 38 (1–2) : 103–112.
- [23] Ott SM. Not etched in bone: the role of osteoclast proton-sensing receptors [J]. *Kidney Int*, 2021, 99 (3) : 542–545.
- [24] Dimke H. G protein-coupled pH-sensing receptor OGR1 and metabolic acidosis-induced hypercalciuria [J]. *Kidney Int*, 2020, 97 (5) : 852–854.
- [25] Gong S, Ma J, Tian A, et al. Effects and mechanisms of microenvironmental acidosis on osteoclast biology [J]. *Biosci Trends*, 2022, 16 (1) : 58–72.
- [26] Pereverzev A, Komarova SA, Korcok J, et al. Extracellular acidification enhances osteoclast survival through an NFAT-independent, protein kinase C-dependent pathway [J]. *Bone*, 2008, 42 (1) : 150–161.
- [27] Krieger NS, Chen LJ, Becker J, et al. Deletion of the proton receptor OGR1 in mouse osteoclasts impairs metabolic acidosis-induced bone resorption [J]. *Kidney Int*, 2021, 99 (3) : 609–619.
- [28] Imenez Silva PH, Katamesh-Benabbas C, Chan K, et al. The proton-activated ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 (OGR1) is responsible for renal calcium loss during acidosis [J]. *Kidney Int*, 2020, 97 (5) : 920–933.
- [29] Yang M, Mailhot G, Birnbaum MJ, et al. Expression of and role for ovarian cancer G-protein-coupled receptor 1 (OGR1) during osteoclastogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (33) : 23598–23605.
- [30] Hikiji H, Endo D, Horie K, et al. TDAG8 activation inhibits osteoclastic bone resorption [J]. *FASEB J*, 2014, 28 (2) : 871–879.
- [31] Dai SP, Hsieh WS, Chen CH, et al. TDAG8 deficiency reduces satellite glial number and pro-inflammatory macrophage number to relieve rheumatoid arthritis disease severity and chronic pain [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17 (1) : 170.
- [32] Tomura H, Wang JQ, Liu JP, et al. Cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in response to acidic pH through OGR1 in a human osteoblastic cell line [J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23 (7) : 1129–1139.
- [33] Kadowaki M, Sato K, Kamio H, et al. Metal-stimulated interleukin-6 production through a proton-sensing receptor, ovarian cancer G protein-coupled receptor 1, in human bronchial smooth muscle cells: a response inhibited by dexamethasone [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14 : 7021–7034.
- [34] Sato K, Mogi C, Mighell AJ, et al. A missense mutation of Leu74Pro of OGR1 found in familial amelogenesis imperfecta actually causes the loss of the pH-sensing mechanism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526 (4) : 920–926.
- [35] Qin Y, Ye J, Zhao F, et al. TRIM2 regulates the development and metastasis of tumorous cells of osteosarcoma [J]. *Int J Oncol*, 2018, 53 (4) : 1643–1656.
- [36] Li R, Guan Z, Bi S, et al. The proton-activated G protein-coupled receptor GPR4 regulates the development of osteoarthritis via modulating CXCL12/CXCR7 signaling [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13 (2) : 152.

(收稿:2022-02-02 修回:2022-08-16)  
(同行评议专家: 陈锋, 范猛, 万东东)  
(本文编辑: 宁桦)