

本文引用: 匡一瑾, 周丹丹, 周予婧, 刘松涛, 唐 暹, 余 艳, 尹林玉, 艾 坤. 中等强度耐力运动对老年性骨质疏松症小鼠 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(4): 617-623.

中等强度耐力运动对老年性骨质疏松症小鼠 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路的影响

匡一瑾¹, 周丹丹¹, 周予婧¹, 刘松涛², 唐 暹¹, 余 艳¹, 尹林玉^{2*}, 艾 坤^{1*}

1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南 长沙 410208; 2. 湘南学院附属医院康复医学科, 湖南 郴州 423000

[摘要] **目的** 基于类 NOD 样受体家族含吡啶结构域蛋白 3(NLRP3)/半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)/气孔蛋白 D(GSDMD)信号通路探索中等强度耐力运动抗老年性骨质疏松症(SOP)的作用。**方法** 将 21 只 18 月龄雄性 C57 小鼠随机分为 18 月龄组、20 月龄组、运动组, 每组 7 只, 采用自然衰老的雄性小鼠复制 SOP 动物模型, 另取 7 只 6 月龄雄性 C57 小鼠作为青年组。青年组和 18 月龄组在适应性喂养 1 周后处死并取材, 运动组小鼠进行中等强度耐力运动, 20 月龄组不作任何处理, 干预 8 周后取材。采用 Micro-CT 检测各组小鼠左侧股骨骨密度(BMD), ELISA 检测各组小鼠血清骨代谢标志物 I 型胶原 C 端肽(CTX-1)、抗酒石酸性磷酸酶(TRACP)、I 型前胶原氨基端前肽(PINP)、特异性碱性磷酸酶 B(B-ALP)水平及右侧股骨白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18(IL-18)含量变化, Western blot 检测各组小鼠右侧股骨中 NLRP3、Caspase-1、气孔蛋白 D 的 N 端片段(GSDMD-N)蛋白表达水平。**结果** 与青年组比较, 18 月龄组和 20 月龄组血清 CTX-1、TRACP, 右侧股骨 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N、IL-1 β 、IL-18 表达水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$), 血清 PINP、B-ALP 和左侧股骨 BMD 均降低($P<0.05$, $P<0.01$); 与 18 月龄组比较, 20 月龄组血清 CTX-1、TRACP 和右侧股骨 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N、IL-1 β 、IL-18 表达水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$), 血清 PINP、B-ALP 和左侧股骨 BMD 均降低($P<0.05$, $P<0.01$); 与 20 月龄组相比, 运动组血清 CTX-1、TRACP, 右侧股骨 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N、IL-1 β 、IL-18 表达水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$), 血清 PINP、B-ALP 和左侧股骨 BMD 均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 中等强度耐力运动可提高 SOP 小鼠的骨密度、调节骨代谢, 这一作用可能与其抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路、降低炎症和焦亡水平有关。

[关键词] 老年性骨质疏松症; 耐力运动; 炎症; 焦亡; NLRP3; Caspase-1; GSDMD

[中图分类号] R68; R274

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.04.005

Effects of moderate-intensity endurance exercise on the NLRP3/Caspase-1/ GSDMD pyroptosis pathway in mice with senile osteoporosis

KUANG Yijin¹, ZHOU Dandan¹, ZHOU Yujing¹, LIU Songtao², TANG Xian¹, SHE Yan¹,
YIN Linyu^{2*}, AI Kun^{1*}

1. School of Acupuncture-Moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Department of Rehabilitation Medicine, Affiliated Hospital of Xiangnan University, Chenzhou, Hunan 423000, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of moderate-intensity endurance exercise on senile osteoporosis (SOP) through the NOD-like receptor family pyrin domain containing protein 3 (NLRP3)/cysteine protease-1 (Caspase-1)/gasdermin D (GSDMD) signaling pathway. **Methods** Twenty-one 18-month-old male C57 mice were randomly divided into three groups: the 18-

[收稿日期] 2024-12-09

[基金项目] 湖南省自然科学基金项目(2023JJ50411, 2024JJ7533); 湖南省卫健委卫生科研项目(B202303068776); 湖南中医药大学校级科研项目(2024XJZC003); 湖南中医药大学研究生创新课题(2024CX001)。

[通信作者] * 艾 坤, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: aikun650@qq.com; 尹林玉, 女, 硕士, 主任医师, E-mail: 32666828@qq.com。

month-old group, the 20-month-old group, and the exercise group, with seven mice in each group. The SOP animal model was replicated using naturally aged male mice, and an additional seven six-month-old male C57 mice were selected as the young group. After one week of adaptive feeding, mice in the young group and 18-month-old group were euthanized for sample collection. Mice in the exercise group underwent moderate-intensity endurance training, while those in the 20-month-old group received no intervention. Samples were collected after eight weeks of intervention. Bone mineral density (BMD) of the left femur in each group of mice was measured using micro-computed tomography (Micro-CT). ELISA was used to determine the serum levels of bone metabolism markers, including C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX-1), tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP), N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP), and bone-specific alkaline phosphatase (B-ALP). In addition, levels of interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18 (IL-18) in the right femur were assessed. Western blot analysis was conducted to determine the protein expression levels of NLRP3, Caspase-1, and the N-terminal fragment of GSDMD-N in the right femur of each group.

Results Compared with the young group, the 18-month-old and 20-month-old groups showed increased serum levels of CTX-1 and TRACP, as well as elevated expression levels of NLRP3, Caspase-1, GSDMD-N, IL-1 β , and IL-18 in the right femur ($P<0.05$, $P<0.01$). Meanwhile, serum levels of PINP and B-ALP, along with BMD of the left femur, decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the 18-month-old group, the 20-month-old group exhibited increases in serum CTX-1 and TRACP levels, as well as in NLRP3, Caspase-1, GSDMD-N, IL-1 β , and IL-18 expression levels in the right femur ($P<0.05$, $P<0.01$), along with decreases in serum PINP and B-ALP levels and left femur BMD ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the 20-month-old group, the exercise group showed reductions in serum CTX-1 and TRACP levels, as well as in right femoral expression levels of NLRP3, Caspase-1, GSDMD-N, IL-1 β , and IL-18 ($P<0.05$, $P<0.01$). Additionally, serum levels of PINP and B-ALP, and left femoral BMD increased ($P<0.05$, $P<0.01$).

Conclusion Moderate-intensity endurance exercise can enhance bone mineral density and regulate bone metabolism in SOP mice, which may be related to the inhibiting NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway, reducing inflammation, and pyroptosis levels.

[**Keywords**] senile osteoporosis; endurance exercise; inflammation; pyroptosis; NLRP3; Caspase-1; GSDMD

老年性骨质疏松症 (senile osteoporosis, SOP) 是一种与增龄相关的代谢性骨病^[1],主要表现为骨量低下、骨组织微结构损坏而导致骨脆性增加,易发生骨折^[2]。最新流行病学调查数据显示,我国 65 岁以上人群骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 女性患病率为 51.6%,男性为 10.7%^[3]。SOP 是造成老年患者骨质疏松性骨折的重要原因,极大影响了老年人的生活质量,严重增加了社会的医疗负担。

破骨细胞骨吸收和成骨细胞骨形成偶联失衡导致骨丢失是 OP 的关键。研究表明,内分泌系统、免疫系统、肠道微生物组、细胞衰老和焦亡等在骨稳态中起着至关重要的作用^[4]。当免疫系统失衡时,引起炎症反应,骨稳态失衡,最终导致骨量丢失和 OP 的发生。研究发现,增龄可使免疫系统持续低度活化,处于促炎症反应状态^[5]。炎症介质可以直接或间接作用于骨细胞,在 OP 的发病机制中发挥重要作用。研究表明,在 SOP 患者中,血清中的促炎细胞因子如白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 水平显著升高,这些细胞因子通过促进破骨细胞的活化,影响骨代谢^[6]。此外,有研究发现,绝经后骨质疏松患者类

NOD 样受体家族含吡啶结构域蛋白 3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症水平显著升高,且在绝经后骨质疏松动物模型中,通过 CH6 修饰的脂质纳米颗粒递送 NLRP3 靶向小干扰 RNA 进行干预,可降低 NLRP3、IL-1 β 和白细胞介素-18 (interleukin-18, IL-18) 的表达,从而促进骨形成,改善骨微结构^[7]。因此,抑制炎症反应可作为治疗 OP 的重要靶点。细胞焦亡作为一种由炎症小体引发的细胞程序性死亡,可引起炎症反应,由半胱氨酸蛋白酶-1 (cysteine protease-1, Caspase-1) 介导的焦亡经典通路,依赖 NLRP3 炎症小体激活。活化的 Caspase-1 切割气孔蛋白 D (gasdermin D, GSDMD) 蛋白,形成 N 端、C 端结构域,同时切割 IL-1 β 和 IL-18 前体促进其成熟和释放,以招募更多炎症细胞聚集,扩大炎症反应,调控破骨细胞活化,调节 OP^[8-9]。因此, NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路可作为干预 SOP 的潜在靶点。

已有临床和实验证明,运动能够有效防止骨质流失。一项关于运动对 OP 和骨质减少患者骨密度的系统评价和网络 Meta 分析显示,联合运动、阻力运动、有氧运动和身心运动对提高腰椎骨密度有显著效果^[10],世界卫生组织也推荐运动可以作为防治

OP的非药物治疗手段。另有研究证实,运动可以调节SOP的骨稳态,缓解骨质流失,抑制相关细胞因子的表达,从而减轻炎症反应^[11-12]。此外,慢性中等强度的耐力运动训练可抑制NLRP3炎症小体的激活,以响应各种病理因素^[13]。因此,本研究选用自然老化形成的增龄性骨质疏松小鼠作为SOP模型,采用中等强度耐力运动,从调节NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路、抑制炎症和焦亡反应、调节骨稳态的角度,探讨中等强度耐力运动对SOP的影响,为运动防治SOP提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

21只18月龄雄性C57小鼠,体质量(30 ± 2)g,7只6月龄雄性C57小鼠,体质量(29 ± 2)g,均由杭州子源实验动物科技有限公司提供[动物生产许可证号:SCXK(浙)2019-0004]。饲养于湖南中医药大学实验动物中心,温度20~25℃,相对湿度50%~60%,自然昼夜节律,自由饮水摄食。本实验经湖南中医药大学伦理委员会审批(批准号:HNUCM21-2403-38)。

1.2 主要试剂和仪器

异氟烷(批号:R510-22-10,深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司);I型胶原C端肽(type I collagen carboxy-terminal peptide, CTX-1)、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRACP)、I型前胶原氨基端前肽(type I procollagen amino-terminal peptide, PINP)、特异性碱性磷酸酶B(bone alkaline phosphatase, B-ALP)、IL-1 β 、IL-18 ELISA试剂盒(货号:JL20123、JL11586、JL20174、JL20367、JL18442、JL20253,上海江莱生物科技有限公司);BCA蛋白浓度测定试剂盒、Rabbit二抗(货号:E-BC-K318-M、E-AB-1003,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司); β -actin抗体(货号:20536-1-AP,武汉三鹰生物技术有限公司);NLRP3、Caspase-1抗体(货号:ET1610-93、SU40-07,杭州华安生物技术有限公司);GSDMD-N抗体(货号:ab219800,英国Abcam公司)。

小动物跑步机(型号:ZS-PT型,北京众实科技有限公司);Micro-CT(型号:Quantum FX,美国Perkin Elmer公司);电泳仪、GloMax酶标仪(型号:041BR 126545、GM3030,美国Bio-rad公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物造模 为避免骨质流失因雌激素缺乏而

复杂化,本研究采用自然衰老的雄性小鼠复制SOP动物模型,采用青年雄性小鼠作为对照。复制SOP动物模型一般选择18~24月龄的动物^[14-15],18月龄小鼠相当于人类的65~70岁^[16],完成自然衰老造模,是用于研究SOP的广泛选择。根据已有研究,18月龄C57小鼠在骨代谢上表现出显著的骨质丧失、骨密度降低和骨微结构改变,这些变化与人类SOP特征相似^[17]。小鼠在5~6月龄时达到骨量峰值^[18],故青年组采用6月龄雄性小鼠,相当于人类的25~30岁^[16],作为对照。

1.3.2 动物分组 将21只18月龄雄性C57小鼠按随机数字表法平均分为3组:18月龄组、20月龄组、运动组,每组7只。7只6月龄雄性C57小鼠作为青年组。

1.3.3 实验干预 青年组和18月龄组小鼠在适应性喂养1周后处死并取材。20月龄组和运动组小鼠适应性喂养1周后,置于鼠笼内自由活动。同时,运动组给予运动干预,正式运动前,给予3d适应性跑台训练,跑速固定为8 m/min,30 min/次,1次/d,跑台坡度为0°。适应性训练结束后,运动组给予中等强度耐力运动训练,即运动强度相当于最大摄氧量的55%^[19-20]。具体运动训练方案如下:跑台坡度始终为0°,小鼠在以8 m/min的速度热身10 min后,以12 m/min的速度运动20 min,再以8 m/min的速度冷却5 min。运动时长每3d增加5 min,直至达到45 min,热身和冷却时长始终不变。共运动训练8周,5 d/周,1次/d,根据小鼠和人类之间的寿命比较,小鼠的8周大约相当于人类的6年^[21],因此,8周的运动训练被认为是长期耐力训练。

1.3.4 实验样本采集 各组小鼠给予1%戊巴比妥钠麻醉,眼眶取血用于ELISA检测血清骨代谢水平。采血后,快速分离小鼠双侧股骨,剔除多余的结缔组织和肌肉。将左侧股骨置于4%多聚甲醛溶液中固定,用于Micro-CT检测骨密度;将右侧股骨锡纸包裹后保存于-80℃冰箱,用于Western blot、ELISA检测。

1.4 观察指标

1.4.1 Micro-CT扫描检测骨密度 随机选取各组小鼠部分左侧股骨进行Micro-CT扫描,分辨度为10 μ m,扫描时电压设定为90 kV,电流设定为88 μ A,得到样本的骨密度(bone mineral density, BMD)值^[22]。

1.4.2 ELISA检测血清骨代谢检测指标 各组小鼠眼眶采血1.2 mL,在4℃下以1 500 r/min、半径为7 cm离心20 min,取上清液。ELISA试剂盒测定

CTX-1、TRACP、PINP、B-ALP 水平。

1.4.3 ELISA 检测 IL-1 β 、IL-18 水平 -80 ℃冰箱取冰冻的右侧股骨,称重后加入 PBS(质量:PBS=1 mg:7 μ L),混匀研磨,4 ℃,以 1 500 r/min、半径 7 cm 离心 20 min,取上清液。按照 ELISA 试剂盒说明书测定 IL-1 β 、IL-18 水平。

1.4.4 Western blot 检测 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达 取 50 mg 小鼠右侧股骨,放置于研钵中进行研磨,加入 350 μ L 裂解液促使其充分裂解,并加入蛋白酶抑制剂防止蛋白降解,混合均匀,使用组织研磨仪研磨后离心,取上清液于离心管中,BCA 法测定蛋白浓度后,配制上样液。取上清液点样,经凝胶电泳、转膜、封闭,得到与蛋白结合完全的 PVDF 膜,加入对应一抗 NLRP3(1:500)、Caspase-1(1:1 000)、GSDMD(1:1 000),4 ℃孵育过夜,TBST 充分洗涤,加入 Rabbit 二抗(1:8 000)室温孵育 1.5 h,TBST 充分洗涤 PVDF 膜后置于避光孵育盒中滴加显影液,经化学发光成像系统曝光、显影,使用 Image J 软件对各组蛋白相对含量进行定量分析。

1.5 统计学分析

采用 Graphpad Prism 10 软件对实验数据进行统计分析。计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示;若各组都满足正态性和方差齐性,则采用单因素方差分析及多重比较;若不满足正态性,则采用秩和检验进行比较。均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠左侧股骨骨微结构和骨密度比较

与青年组相比,18 月龄组和 20 月龄组小鼠股骨骨小梁明显断裂,结构紊乱,连续中断,分布稀疏,提示模型制备成功;与 20 月龄组相比,运动组骨小梁数量增多,连续性增加,结构有所改善。Micro-CT 检测结果显示,与青年组相比,18 月龄组和 20 月龄

组小鼠左侧股骨 BMD 降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 18 月龄组相比,20 月龄组小鼠左侧股骨 BMD 降低($P < 0.05$);与 20 月龄组相比,运动组小鼠左侧股骨 BMD 升高($P < 0.05$)。详见图 1—2。

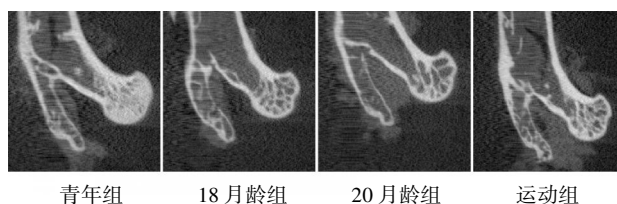


图 1 各组小鼠左侧股骨 Micro-CT 图像($n=3$)

Fig.1 Micro-CT images of the left femur in each group of mice ($n=3$)

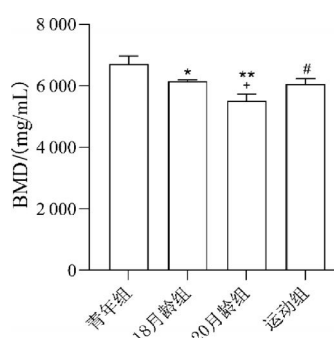


图 2 各组小鼠左侧股骨 BMD 结果($n=3$)

Fig.2 BMD results of the left femur in each group of mice ($n=3$)

注:与青年组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 18 月龄组比较,* $P < 0.05$;与 20 月龄组比较,# $P < 0.05$ 。

2.2 各组小鼠血清骨代谢指标比较

与青年组相比,18 月龄组和 20 月龄组血清骨吸收标志物 CTX-1、TRACP 均明显增高($P < 0.01$),骨形成标志物 PINP、B-ALP 均明显降低($P < 0.01$),提示模型制备成功;与 18 月龄组相比,20 月龄组 CTX-1、TRACP 均明显增高($P < 0.01$),PINP、B-ALP 均明显降低($P < 0.01$);与 20 月龄组相比,运动组 CTX-1、TRACP 均明显降低($P < 0.01$),PINP、B-ALP 均明显增高($P < 0.01$)。详见图 3。

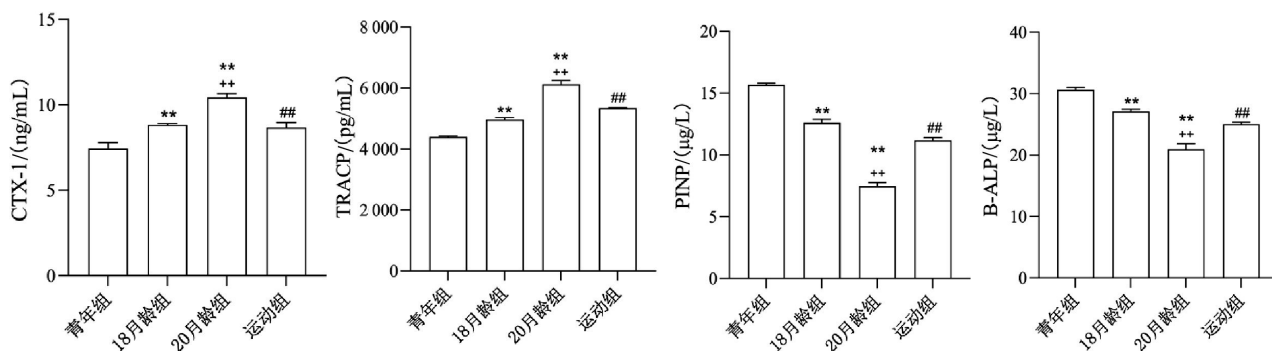


图 3 各组小鼠血清 CTX-1、TRACP、PINP、B-ALP 水平比较($n=4$)

Fig.3 Comparison of serum CTX-1, TRACP, PINP, and B-ALP levels of mice among different groups ($n=4$)

注:与青年组比较,** $P < 0.01$;与 18 月龄组比较,** $P < 0.01$;与 20 月龄组比较,## $P < 0.01$ 。

2.3 各组小鼠右侧股骨 IL-1 β 、IL-18 含量的比较

与青年组相比,18 月龄组和 20 月龄组股骨 IL-1 β 、IL-18 含量均明显增高($P<0.01$);与 18 月龄组相比,20 月龄组股骨 IL-1 β 、IL-18 含量均明显增高($P<0.01$);与 20 月龄组相比,运动组 IL-1 β 、IL-18 含量均明显降低($P<0.01$)。详见图 4。

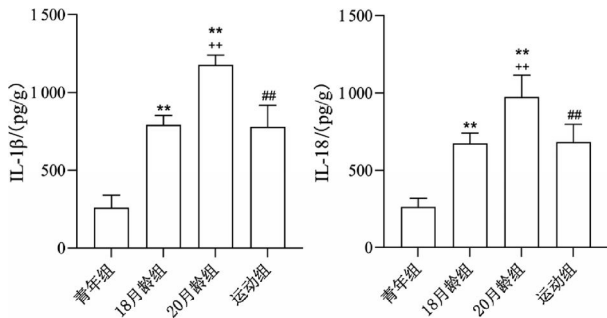


图 4 各组小鼠右侧股骨 IL-1 β 、IL-18 含量比较($n=4$)

Fig.4 Comparison of IL-1 β and IL-18 levels in the right femur of mice among different groups ($n=4$)

注:与青年组比较,** $P<0.01$;与 18 月龄组比较,** $P<0.01$;与 20 月龄组比较,## $P<0.01$ 。

2.4 各组小鼠右侧股骨 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达水平

与青年组相比,18 月龄组和 20 月龄组股骨 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达水平均增高($P<0.05$, $P<0.01$);与 18 月龄组相比,20 月龄组股骨 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达水平均增高($P<0.05$, $P<0.01$);与 20 月龄组相比,运动组 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 5。

3 讨论

OP 是老年人常见的健康问题,其临床最大危

害在于骨质疏松性骨折,是老年患者致残和致死的主要原因之一。目前,虽然 SOP 的发病机制尚不完全清楚,但骨稳态失衡是 OP 的根本原因。骨免疫学表明,炎症因子在维持骨稳态中起着关键作用^[23]。炎症反应引起骨稳态失衡已被确定是 SOP 重要的病理特征,为当前 SOP 研究的热点和治疗靶点之一。

研究表明,运动对骨代谢有着非常重要的调节作用^[24-25],可以很好的防治 SOP,其成本低、无不良反应的独特优势,被越来越多人关注。研究发现,中低强度运动对维持和提升 BMD 有重要价值,以中等强度作用尤为显著,然而,高强度运动对骨质疏松小鼠骨量和体质量有不利影响^[26]。本实验采用 18 月龄雄性 C57 小鼠复制 SOP 动物模型,选择中等强度耐力运动对 SOP 小鼠进行为期 8 周的干预。结果显示,与青年组相比,18 月龄组和 20 月龄组小鼠的骨小梁明显断裂,连续中断,分布稀疏,BMD 明显降低,血清骨吸收标志物 CTX-1、TRACP 均显著增高,而骨形成标志物 PINP 和 B-ALP 显著降低,提示该模型符合 SOP 的表现。与 20 月龄组相比,运动组小鼠在中等强度耐力运动干预 8 周后,骨小梁数量增多,连续性增加,股骨 BMD 明显升高,血清骨代谢物指标也发生明显变化,初步证实中等强度耐力运动能够改善骨小梁结构和提升 BMD,可有效对抗衰老引起的骨质流失,防治 OP。

运动治疗 OP 可能与抑制炎症反应有关^[27-28]。本研究结果显示,与青年组相比,18 月龄组和 20 月龄组小鼠骨组织炎症因子 IL-1 β 、IL-18 水平明显升高;与 20 月龄组相比,运动组小鼠在中等强度耐力运动干预 8 周后,骨组织炎症因子 IL-1 β 、IL-18 水平明显降低,进一步证实中等强度耐力运动可以抑

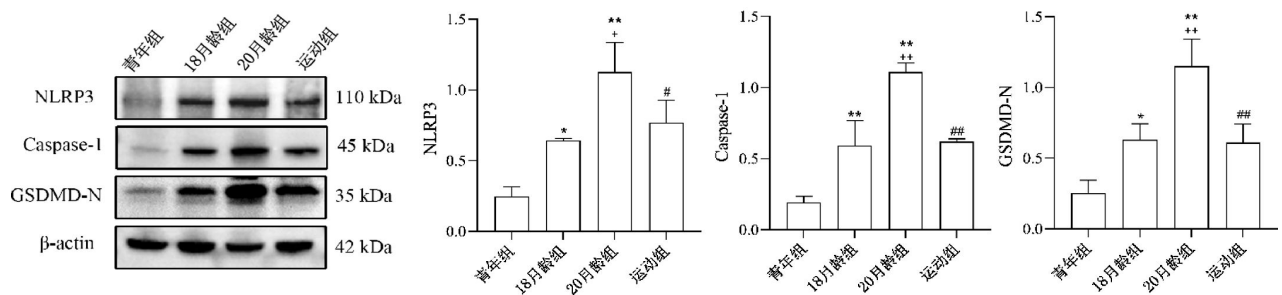


图 5 各组小鼠左侧股骨 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达水平比较($n=3$)

Fig.5 Comparison of NLRP3, Caspase-1, and GSDMD-N protein expression levels in the right femur of mice among different groups ($n=3$)

注:与青年组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 18 月龄组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 20 月龄组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$ 。

制 IL-1 β 、IL-18 这些促炎因子的表达,从而抑制 SOP 的进展。这一结果表明,运动不仅可以改善 BMD,还可能通过调节免疫系统,尤其是抑制炎症反应来发挥其疗效。

细胞焦亡是机体重要的天然免疫反应,是老年免疫系统持续低度活化导致慢性炎症主要分子事件,衰老和雌激素缺乏会引起 NLRP3 炎症小体焦亡通路活化,导致炎症介质分泌过多并刺激炎症反应^[29]。已有研究证实,在骨代谢疾病中,作为焦亡的关键参与者,NLRP3 炎症小体可触发焦亡经典通路,激活 Caspase-1,活化的 Caspase-1 可切割 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18,促进其成熟,同时可切割 GSDMD 蛋白,形成有亲脂性的 N-端结构域,在细胞膜上形成孔道,调节 IL-1 β 、IL-18 等内容物的释放,引起炎症反应,加速破骨细胞活化,引起成骨细胞功能障碍,从而促进骨吸收和骨形成受损,引起骨质流失^[30-31]。本研究结果显示,与青年组相比,20 月龄组小鼠骨组织细胞焦亡经典通路关键分子 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达水平显著升高,提示老龄状态下,NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路处于活化状态,老龄小鼠炎症水平升高、骨质流失可能与 NLRP3 炎症小体活化有关。与 20 月龄组相比,中等强度耐力运动干预 8 周后,运动组小鼠骨组织中 NLRP3、Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达水平显著降低,这表明运动可抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路活化,达到降低骨组织炎症反应、调节骨代谢、减轻骨质流失的作用。

运动抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路活化改善 SOP,其病理机制可能与运动的抗炎作用有关。研究表明,运动有助于降低促炎因子的水平,并促进全身的抗炎状态^[32]。研究还发现,运动可以通过 NF- κ B 信号通路,调节炎症反应,抑制 NLRP3 炎症小体的活化^[33]。WU 等^[34]发现,8 周的大鼠跑台运动训练,可以减少骨质流失,调节骨微结构,并下调骨髓中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 GSDMD-N 的表达。此外,耐力运动可以增强抗氧化能力,减少线粒体 ROS 的产生,并抑制 NLRP3 炎症小体过度激活,减轻炎症反应^[35]。

综上所述,中等强度耐力运动可能通过抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 细胞焦亡信号通路,抑制炎症和焦亡反应,维持骨稳态,减缓骨质流失,为运

动治疗 SOP 提供一定的参考。本研究后续将在此基础上,开展进一步实验,设置 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路上关键蛋白的抑制剂组或激动剂组,深入展开研究。

参考文献

- [1] QADIR A, LIANG S J, WU Z X, et al. Senile osteoporosis: The involvement of differentiation and senescence of bone marrow stromal cells[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(1): 349.
- [2] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2022, 15(6): 573-611.
- [3] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 中国骨质疏松症流行病学调查及“健康骨骼”专项行动结果发布[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2019, 12(4): 317-318.
- [4] ADEJUYIGBE B, KALLINI J, CHIOU D, et al. Osteoporosis: Molecular pathology, diagnostics, and therapeutics[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(19): 14583.
- [5] FRANCESCHI C, GARAGNANI P, PARINI P, et al. Inflammaging: A new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases [J]. *Nature Reviews Endocrinology*, 2018, 14(10): 576-590.
- [6] ZHANG W, ZHAO W, LI W, et al. The imbalance of cytokines and lower levels of tregs in elderly male primary osteoporosis[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2022, 13: 779264.
- [7] XU L J, ZHU J, RONG L J, et al. Osteoblast-specific down-regulation of NLRP3 inflammasome by aptamer-functionalized liposome nanoparticles improves bone quality in postmenopausal osteoporosis rats[J]. *Theranostics*, 2024, 14(10): 3945-3962.
- [8] JIANG N, AN J Y, YANG K, et al. NLRP3 inflammasome: A new target for prevention and control of osteoporosis?[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, 12: 752546.
- [9] LI Z L, WANG B, WANG R Y, et al. Identification of PKM2 as a pyroptosis-related key gene aggravates senile osteoporosis via the NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2024, 169: 106537.
- [10] ZHANG S F, HUANG X X, ZHAO X Y, et al. Effect of exercise on bone mineral density among patients with osteoporosis and osteopenia: A systematic review and network meta-analysis[J]. *Journal of Clinical Nursing*, 2022, 31(15/16): 2100-2111.
- [11] LI L H, CHEN X, LV S, et al. Influence of exercise on bone remodeling-related hormones and cytokines in ovariectomized rats: A model of postmenopausal osteoporosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112845.
- [12] GAO H E, WU D S, SUN L, et al. Effects of lifelong exercise on age-related body composition, oxidative stress, inflammatory

- cytokines, and skeletal muscle proteome in rats[J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2020, 189: 111262.
- [13] ZHANG T, DING S Z, WANG R. Research progress of mitochondrial mechanism in NLRP3 inflammasome activation and exercise regulation of NLRP3 inflammasome[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(19): 10866.
- [14] WU D Z, ZHU G Z, ZHAO K, et al. Age-related decline in melatonin contributes to enhanced osteoclastogenesis via disruption of redox homeostasis[J]. *Molecular Medicine*, 2024, 30(1): 10.
- [15] 李晓敏, 张 岩. 老年性骨质疏松症动物模型及其发病机制的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(2): 245-248.
- [16] WANG S, LAI X X, DENG Y H, et al. Correlation between mouse age and human age in anti-tumor research: Significance and method establishment[J]. *Life Sciences*, 2020, 242: 117242.
- [17] LONG Z, DOU P C, CAI W L, et al. miR-181a-5p promotes osteogenesis by targeting BMP3[J]. *Aging*, 2023, 15 (3): 734-747.
- [18] WATANABE K, HISHIYA A. Mouse models of senile osteoporosis[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005, 26(3): 221-231.
- [19] WASITYASTUTI W, HABIB N A, SARI D C R, et al. Effects of low and moderate treadmill exercise on liver of d-galactose-exposed aging rat model[J]. *Physiological Reports*, 2019, 7(21): e14279.
- [20] WANG Z L, SIM H J, LIU W D, et al. Differential effects of endurance exercise on musculoskeletal and hematopoietic modulation in old mice[J]. *Aging and Disease*, 2024, 15(2): 755-766.
- [21] DUTTA S, SENGUPTA P. Men and mice: Relating their ages[J]. *Life Sciences*, 2016, 152: 244-248.
- [22] 李俊杰. 左归丸对绝经后骨质疏松模型小鼠骨微结构与肠道菌群影响的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2024.
- [23] ZHIVODERNIKOV I V, KIRICHENKO T V, MARKINA Y V, et al. Molecular and cellular mechanisms of osteoporosis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(21): 15772.
- [24] BODNAR M, SKALICKY M, VIIDIK A, et al. Interaction between exercise, dietary restriction and age-related bone loss in a rodent model of male senile osteoporosis[J]. *Gerontology*, 2012, 58(2): 139-149.
- [25] LIU Q, XIAO L L. Effect of long aerobic exercise on bone mineral density in elderly patients with osteoporosis [C]//*Proceedings of the 2016 6th International Conference on Machinery, Materials, Environment, Biotechnology and Computer*. Tianjin, China. Atlantis Press, 2016.
- [26] 王智慧, 杜元良, 谢 强, 等. 不同强度运动干预对骨质疏松小鼠股骨生物力学性能的影响[J]. *内蒙古医科大学学报*, 2022, 44(6): 616-619.
- [27] 吴荣平. 高强度间歇运动和有氧运动对2型糖尿病大鼠骨代谢及炎症因子影响的对比研究[D]. 西安: 西安石油大学, 2023.
- [28] 余慧琳, 陈祥和, 杨 康, 等. 能量代谢介导炎症反应在运动促进T2DM骨质疏松中的作用机制[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(17): 3871-3876.
- [29] VASUDEVAN S O, BEHL B, RATHINAM V A. Pyroptosis-induced inflammation and tissue damage[J]. *Seminars in Immunology*, 2023, 69: 101781.
- [30] DETZEN L, CHEAT B, BESBES A, et al. NLRP3 is involved in long bone edification and the maturation of osteogenic cells[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(6): 4455-4469.
- [31] LI X, JI L, MEN X, et al. Pyroptosis in bone loss[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(3/4): 293-312.
- [32] LAVIN K M, PERKINS R K, JEMIOLO B, et al. Effects of aging and lifelong aerobic exercise on basal and exercise-induced inflammation[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2020, 128(1): 87-99.
- [33] ZHOU Z Y, YING C J, ZHOU X Y, et al. Aerobic exercise training alleviates renal injury in db/db mice through inhibiting Nox4-mediated NLRP3 inflammasome activation[J]. *Experimental Gerontology*, 2022, 168: 111934.
- [34] WU Q, ZHONG P R, NING P Y, et al. Treadmill training mitigates bone deterioration via inhibiting NLRP3/Caspase1/IL-1 β signaling in aged rats[J]. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2022, 23(1): 1089.
- [35] MASON S A, TREWIN A J, PARKER L, et al. Antioxidant supplements and endurance exercise: Current evidence and mechanistic insights[J]. *Redox Biology*, 2020, 35: 101471.

(本文编辑 匡静之)