

## 活性氧与骨稳态的维持

许 琰 综述 王殿华 审校  
(昆明医科大学药学院, 云南 昆明 650500)

**[摘要]** 成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞介导的骨吸收过程是骨稳态维持的重要生理活动. 活性氧 (ROS) 是骨细胞功能重要的调节者, 在骨稳态维持过程中起着重要作用. 因而, 维持氧化与抗氧化体系的平衡或以 ROS 为靶点的抗氧化剂可作为骨质疏松等骨骼疾病的治疗或预防手段. 就近年来 ROS 与骨稳态维持相关研究进行综述, 旨在增进对在骨稳态维持、骨质疏松中 ROS 的作用以及以 ROS 为作用靶点的药物等方面的了解, 有助于发展骨代谢疾病治疗的新策略和新方法.

**[关键字]** 活性氧; 成骨细胞; 破骨细胞

**[中图分类号]** R336 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2015) 11 - 0153 - 05

## ROS and Bone Homeostasis

XU Yan, WANG Dian-hua

(*Pharmaceutical School of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China*)

**[Abstract]** Bone is a dynamic structure maintaining the constant activities of osteoblastic bone formation and osteoclastic bone resorption, which is a process called remodeling. Reactive oxygen species (ROS) are well recognized for playing a dual role as both deleterious and beneficial species on the bone remodeling. Recent studies have demonstrated that ROS generation is a key modulator of bone cell function and that oxidative status influences the pathophysiology of mineralized tissues. The paper aims to review the current literature on the crucial role of oxidative stress in the bone remodeling, the contribution of ROS to the aging associated disease of osteoporosis. How targeting ROS may lead to the development of novel therapeutic treatment options.

**[Key words]** Ros; Osteoblasts; Osteoclasts

骨是一个不断重建、相对稳定且呈动态平衡的器官, 其稳态的维持取决于骨形成 (Bone formation) 和骨重吸收 (Bone resorption) 间的平衡, 即成骨细胞 (Osteoblasts) 与破骨细胞 (Osteoclasts) 活性之间的平衡, 此平衡一旦被打破便会产生骨代谢疾病<sup>[1]</sup>. 越来越多的研究证实, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 引发的氧化应激 (Oxidative stress) 会导致骨稳态 (Bone homeostasis) 改变, 发生以重吸收为主的骨代谢疾病<sup>[2]</sup>. 本文主要围绕 ROS 的产生、ROS 对骨细胞分化的影响、ROS 与骨质疏松的关系及以 ROS 为靶点的药物等方面的研究进展进行文献复习, 旨在正确认识 ROS 在骨质重建 (Bone remodeling) 中的生物学、生理学及病理学机制, 对于发展骨代谢疾病治疗的新策略和新方法有着重要意义<sup>[3]</sup>.

### 1 骨稳态的维持

骨是结缔组织的一种, 从生物化学的角度被定义为无机元素和有机基质的混合体. 为维系骨结构的完整性并履行矿物质在其内的稳定作用, 骨骼持续进行形成、塑形和修复, 这个过程称为骨重建 (Bone remodeling). 骨重建是一个在复杂、严密调控下进行的生理过程<sup>[2]</sup>, 主要由成骨细胞和破骨细胞完成. 破骨细胞是最主要的骨吸收细胞, 在骨骼形成和骨质调节中发挥重要作用. 成骨细胞作为特异的骨形成细胞, 可合成骨基质、调整矿化并最终分化为骨细胞或骨内膜细胞. 骨稳态维持是在局部和全身因素的共同调节下, 由

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (81060074)

**[作者简介]** 许琰 (1971 ~), 女, 云南昆明市人, 在读博士研究生, 副教授, 主要从事破骨细胞分化、骨代谢及相关疾病的研究工作.

**[通信作者]** 王殿华. E-mail: wangdianhuakm@126.com

破骨细胞和成骨细胞间的相互作用而完成的过程。骨重建过程中的任何紊乱,包括破骨细胞或成骨细胞活性的改变,均会导致骨质减少、骨质疏松及骨质硬化等疾病<sup>[1]</sup>。骨稳态维持和骨重建的确切调控机制目前尚不清楚。因此,了解骨稳态维持和骨重建的细胞及分子机制,对防治相关骨疾病具有重要意义。

## 2 细胞内 ROS 的产生

组织细胞氧化还原平衡失调使 ROS 水平升高可导致机体产生氧化应激。ROS 在细胞中主要包括超氧自由基 ( $O_2^-$ )、过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 和羟基自由基 ( $OH\cdot$ )。ROS 产生于不同的细胞结构内,包括质膜、线粒体、内质网及细胞质等,但主要来源于线粒体中的细胞呼吸链。概言之,呼吸链中未配对电子转移到  $O_2$  而形成  $O_2^-$ ,后者在由线粒体基质中锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 和细胞质中铜锌超氧化物歧化酶 (Copper-zinc SOD) 催化形成  $H_2O_2$ <sup>[4]</sup>。NADPH 氧化酶、细胞色素 P450、黄嘌呤氧化酶、单胺氧化酶、环加氧酶和脂氧合酶等一些酶复合物也参与 ROS 的产生。在细胞表面,NADPH 氧化酶把电子转运过质膜形成  $O_2^-$ ,不稳定的  $O_2^-$  可迅速形成能通过细胞膜扩散的  $H_2O_2$ ,而  $H_2O_2$  对细胞的毒性可被过氧化氢酶或谷胱甘肽过氧化物酶消除<sup>[4]</sup>。

生物体针对 ROS 可形成一系列的防御机制,包括预防机制、修复机制、物理防御及抗氧化防御系统等。抗氧化防御系统包括抗氧化酶和抗氧化剂。抗氧化酶包括有超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx)<sup>[5]</sup>,这些酶的活性可随运动、营养及衰老等状态的不同而发生变化<sup>[6]</sup>。抗氧化剂包括有抗坏血酸、维生素 E、类胡萝卜素、类黄酮、硫醇 (包括 GSH)、泛醌 Q10、尿酸、胆红素、铁蛋白和一些有辅酶因子作用的微量营养素<sup>[7]</sup>。细胞应激反应通路:胰岛素/IGF-1 信号通路、乙酰化酶/雷帕霉素靶点通路和 AMP 活化蛋白激酶依赖的途径。所有这些通路都有一个共同的分子即 FoxO<sup>[8]</sup>。FoxO 属于叉头蛋白 (forkhead box proteins, FOX) 家族的一个亚类,是一组对氧化还原敏感的包含前体分子的转录因子,其活性是重要的细胞抗氧化损伤的机制。在哺乳动物中,有 4 种由不同基因编码的 FoxO 分子,它们对多种细胞的分化、增殖和存活发挥着重要作用<sup>[9]</sup>。FoxO 分子的活性由各种来自胞外的刺激进行调节,如胰岛素、生长因子、激素、细胞因子和氧化应激,其调节主要通过翻译后修饰,如磷酸化、泛素化、乙酰化、甲基化等进行<sup>[10]</sup>。由 FoxO 途径发挥的抗氧化防御,最终可因不断升高的氧化应激水平和/

或因氧化应激活化的某些途径干扰了 FoxO 的活性而使其不能发挥作用。

ROS 引发的氧化应激反应几乎涉及所有器官的病理生理过程,其对组织产生的影响是否有利主要取决于 ROS 的浓度。研究证实,ROS 及其它自由基与细胞增殖、活化、生长、转录因子的调节等功能<sup>[11]</sup>和细胞凋亡有关<sup>[12]</sup>。高浓度的 ROS 亦可引起氧化应激、炎症反应、细胞凋亡和局部缺血<sup>[13]</sup>。也有研究认为氧化应激在机体老化以及恶性肿瘤、糖尿病、神经退行性疾病、动脉粥样硬化、缺血、自身免疫性疾病和 HIV 感染等疾病中均发挥着重要作用<sup>[14]</sup>。

## 3 ROS 与破骨细胞

近年来 ROS 在导致氧化应激及疾病的发生中的作用已引起很多关注,大量证据亦表明,ROS、特别是  $H_2O_2$  及其他形式的超氧化物作为信号传导分子,在很多胞内信号传导过程中发挥着重要作用,包括对丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 的活性、细胞内  $Ca^{2+}$  水平和转录因子活性等的调控<sup>[15]</sup>。现有文献报道与破骨细胞相关的 ROS 主要是  $O_2^-$  和  $H_2O_2$ 。此外,ROS 的产生对于造血细胞在免疫系统内的呼吸爆发过程也有促进作用,这对机体防御外来异物的入侵有着积极作用<sup>[16]</sup>。对于同样是造血细胞系来源的破骨细胞,ROS,特别是  $O_2^-$  和  $H_2O_2$ ,对破骨细胞分化及功能的重要性也就不足为奇了。

20 世纪 90 年代的一些早期研究揭示了 ROS 与破骨细胞功能间的联系。研究方法主要是在体外培养细胞中加入氧化剂或抗氧化酶,或利用小鼠颅骨模型分析破骨细胞的活性。Greg 等最早证实 ROS 参与破骨细胞的分化,在体外或体内实验中加入促进  $O_2^-$  生成的黄嘌呤氧化酶均可使破骨细胞的数量和活性增加,这种促进作用可被  $O_2^-$  清除酶 SOD 所削弱,而加入具有清除  $H_2O_2$  作用的过氧化氢酶却不会影响这种促进作用。因此,他们认为  $O_2^-$  是促进骨吸收的重要媒介,而不是  $H_2O_2$  或羟基<sup>[17]</sup>。之后的其他研究也在破骨细胞中发现了  $O_2^-$ ,并认为可能是位于破骨细胞—骨质交界面波状缘内的 NADPH 氧化酶所致<sup>[18,19]</sup>。

另一些研究认为, $H_2O_2$  是 ROS 促进破骨细胞形成及其活性的首要反应。Fraser 等证实,在体外培养中加入黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶并不能增加破骨细胞的形成或骨吸收活性,除非在其中加入 SOD 将  $O_2^-$  转化为  $H_2O_2$ <sup>[20]</sup>。然而,与前述研究支持 ROS 直接参与骨吸收不同,Hall 及其同事认为 ROS 是通过活化信号传导通路,如 NF- $\kappa$ B 等间接地促进破骨细胞的形成和活性<sup>[21]</sup>,这一发现被越来越多的研究所证实。尽管对于 ROS 对破骨细

胞的间接作用是否通过  $O_2^-$  或  $H_2O_2$  发挥还不是很确定, 但在过去 10 a 来关于 ROS 参与破骨细胞的作用机制研究已取得了很大进展. 特别值得一提的是, 研究发现 ROS 对几条不同的信号传导通路都有影响, 且可在 NF- $\kappa$ B 活化受体配体 (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand, RANKL) 刺激未分化细胞后产生<sup>[3]</sup>.

RANKL 也被称为肿瘤坏死因子 (TNF) 相关的诱导活化细胞因子 (tumor necrosis factor -related activation-induced cytokine, TRANCE)、破骨细胞分化因子 (osteoclast differentiation factor, ODF) 和骨保护素配体 (osteoprotegerin ligand, OPGL), 在成骨细胞、骨细胞、基质细胞及 T 细胞表面均有表达<sup>[22]</sup>. RANKL 与 NF- $\kappa$ B 活化受体 (RANK) 在破骨细胞和前体细胞表面的相互作用启动信号传导通路, 引起破骨细胞形成和活化相关基因的表达. 细胞质膜上的 RANK 是 TNF 受体家族的成员, 具有很多这个家族成员的共性, 如当与相应配体结合时产生 ROS. RANKL 介导 ROS 产生的最早证据之一是由 Ha 等发现的, 在 RANKL 刺激 5 min 后便可检测到 ROS, 其产生可被抗氧化剂减弱, 破骨细胞数量也相应减弱<sup>[23]</sup>. 最近的研究证实, 在缺乏 FoxO 的小鼠模型中, 抗氧化剂对破骨细胞的形成具有抑制作用.

笔者的研究也证实, 一种新型的抗氧化蛋白 - PAMM 可通过抑制 NF- $\kappa$ B 而阻止 RANKL 刺激的破骨细胞分化<sup>[24]</sup>.

#### 4 ROS 与成骨细胞

迄今为止, 氧化应激对成骨细胞的影响远不及其对破骨细胞影响的研究普遍<sup>[25]</sup>.

成骨细胞由骨髓中的骨母细胞分化而来. 转录因子 RunX2 是破骨细胞分化的重要调节因子, 可与成骨细胞特异顺式作用元件 2 (osteoblast-specific cis-acting element 2, OSE2) 结合, OSE2 被发现存在于所有重要的成骨细胞特异性基因启动子中, 并能控制这些基因的表达<sup>[26]</sup>. 成骨细胞可产生谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化剂, 以对抗 ROS 并保护细胞. 此外, 转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 也被证实能减少骨吸收<sup>[27]</sup>. Bai 等发现  $H_2O_2$  可增加细胞内 ROS 并抑制成骨细胞的分化, 表现为 I 型胶原、ALP、骨祖细胞集落形成单位 (colony-forming unit-osteoprogenitor, CFU-O) 和 Runx2 活性等成骨细胞分化标志的降低<sup>[25]</sup>.  $H_2O_2$  或黄嘌呤 / 黄嘌呤氧化酶诱导的氧化应激亦能抑制成骨细胞前体细胞系 MC3T3-E1 和骨髓基质细胞系 M210B4 分化为成骨细胞<sup>[28]</sup>.

在应对氧化应激时, FoxO 能上调抗氧化酶和 DNA 损伤修复基因表达, 包括线粒体酶 MnSOD、过氧化氢酶和 DNA 损伤诱导蛋白 GADD45

(Growth Arrest and DNA Damage 45) 的表达, 以抵消 ROS 的不良影响, 这是维持骨骼稳态的不可或缺的机制<sup>[29]</sup>. MnSOD 可将羟基自由基转换成  $H_2O_2$ , 过氧化物酶可将  $H_2O_2$  转换成水<sup>[30]</sup>. 此外, FoxO 可通过调节细胞抗氧化特性来调节细胞的增殖和 / 或分化, 从而控制来自间充质干细胞的新的成骨细胞<sup>[30]</sup>. Lin 等的研究表明阻断 ROS 介导的 Nrf2 通路可抑制糖皮质激素诱导的成骨细胞的凋亡<sup>[31]</sup>, 从而证实 ROS 参与成骨细胞的分化及凋亡.

#### 5 ROS 与骨质疏松

如前所述, ROS 通过促进骨吸收而参与骨重建和骨矿物的内稳态维持. 近年来的研究表明 ROS 生成过量导致氧化及抗氧化酶活性之间的失平衡引起的氧化应激, 也参与如骨质疏松、骨肿瘤、糖尿病骨综合症及关节炎炎症性病变等骨疾病的病理过程.

骨质疏松以骨流失和骨脆性增加而导致骨折风险增加为特征, 临床表现为骨密度降低、皮质骨厚度减少及骨小梁数量降低, 这些变化可导致骨结构及力学特性的改变. 大量研究证实了氧化与骨质疏松之间有着密切联系, 比如在骨质疏松病人中检测到较高的氧化应激指数及总血浆氧化状态的增强<sup>[11]</sup>. Sendur 等比较了绝经后骨质疏松与健康女性后, 证实了血浆脂质氧化与骨密度值间呈负相关性<sup>[32]</sup>.

临床资料显示, 骨质疏松主要发生于老年人, 与雌激素水平降低有着密切的关系. 动物实验也表明 ROS 在与年龄相关的骨质疏松中有着重要作用. Almeida 等的研究发现, 在老龄 C57BL/6 小鼠中, 骨形成减少的雄性和雌性小鼠都表现了 ROS 水平的升高, 并证实除了老龄化, 卵巢切除术也可导致实验动物股骨的氧化应激, 同时伴有抗氧化系统活性的降低, 他们指出此现象可能是因为抗氧化防御的失败所致, 而且同样的改变可以用性腺切除手术复制<sup>[12]</sup>. 这些发现也为雌激素缺失在绝经后骨质疏松发生中的作用提出了新的见解.

研究表明: 过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶是主要的清除  $H_2O_2$  的抗氧化酶, 绝经后骨质疏松的女性均伴有这 2 种酶活性的降低<sup>[14]</sup>; 而给卵巢切除小鼠补充聚乙二醇化过氧化氢酶可抑制骨流失; 提示  $H_2O_2$  在绝经后骨质疏松中的重要作用. 与此同时, Jagger 等及 Almeida 等的研究也证实了雌激素缺乏可导致啮齿类动物骨骼中硫醇抗氧化防御的降低<sup>[12, 33]</sup>. 抗氧化防御的失败导致氧化应激增强, 从而通过 TNF- $\alpha$  依赖的信号通路导致骨流失<sup>[33]</sup>. 此外, 在人体中, 血浆 SOD 水平和活性也被证实与腰椎骨密度呈负相关. 近来, Fu 等已证实了抗氧化蛋白硫辛酸 ( $\alpha$ -lipoic acid, ALA) 可促进  $H_2O_2$  作用后的成骨细胞前体细胞系 MC3T3-E1 分

化为成骨细胞,并能阻止卵巢切除大鼠的骨流失<sup>[24]</sup>。这些研究结果都证实 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可损害骨骼健康,提示氧化应激在骨质疏松发展中起着重要作用,抗氧化治疗或可作为老年相关骨流失的有效治疗手段。

## 6 以 ROS 为靶点的药物

许多证据表明一些有抗氧化活性的化合物可能对骨骼健康有益。有文献报道,与对照相比,干果中具抗氧化及抗炎特性的多酚可改善雌性及

雌性大鼠模型的骨质疏松<sup>[35,36]</sup>。在性激素缺乏所致的骨质疏松动物模型中,抗氧化物可通过上调 RANKL 的表达而促进成骨细胞分化,进而部分缓解骨流失症状<sup>[27]</sup>。通常用于治疗高胆固醇症的辛伐他汀,一种 3-羟基 3-甲基辅酶 A (HMGCo-A) 还原酶抑制剂,也显示出作为抗氧化剂影响骨代谢的作用。尤其是在破骨细胞中,辛伐他汀能降低 ROS 水平并下调破骨细胞信号通路分子,从而减少破骨细胞的形成<sup>[27]</sup>。现已有文献报道通过抗氧化可改变机体过强骨吸收的主要化合物,见表 1。

表 1 目前研究报道的以 ROS 为靶点的一些有抗氧化活性化合物及药物

Tab. 1 The reported compounds and drugs with antioxidative activities targeting ROS

名称	主要识别信息	对骨代谢的影响
α 硫辛酸	抗氧化剂,可治疗糖尿病性神经病变	对老年骨质疏松症模型具有保护作用
砷	工业污染物	可增强破骨细胞形成
抗坏血酸	维生素 C 的主要形式	对破骨细胞形成即可促进也可抑制
黄芩素	黄芩的根中分离的酮类物质	高浓度时可促进破骨细胞凋亡
非瑟酮	血红素氧合酶 -1 激活黄酮	促进 Nrf2 介导的抗氧化酶上调
异丙肾上腺素	B 受体激活剂,可用于治疗心动过缓	导致骨密度下降
奥美昔芬	选择性雌激素受体调节剂	抑制卵巢切除大鼠的骨质疏松
多酚(茶、干果)	抗氧化剂	对老年骨质疏松症模型具有保护作用
芸香苷	存在于许多植物中的黄酮醇苷	抑制卵巢切除大鼠的骨量减少
三白草酮	源于民间医学的三白草的木脂素	抑制内毒素引起的骨吸收
亚硒酸盐	重要的微量营养素	经线粒体途径诱导成熟破骨细胞凋亡
辛伐他汀	他汀类降脂药,HMG-CoA 还原酶抑制剂	通过抗氧化促进骨形成
锌	日常必须的微量元素	抑制卵巢切除大鼠的骨量减少

虽然并非所有抑制破骨细胞形成的化合物都通过抗氧化活性这一途径发挥作用,但鉴于 ROS 在破骨细胞形成中的重要性,有学者认为,所有探讨化合物影响这一过程的机制研究均应包括 ROS 的检测以评价这一途径的可能机制<sup>[3]</sup>。值得一提的是,尽管前面提到的研究均表明了以 ROS 为靶点的抗氧化剂能改善骨质量,但由于 ROS 存在于机体的所有细胞中,任何以 ROS 为靶点的药物的作用都不仅限于骨组织。同时,由于 ROS 靶点的非特异性,对其是否是改善骨脆性的最佳手段难免会产生质疑。但是,正如表 1 所示,某些具有抗氧化活性的化合物能提高动物模型和人的骨骼质量,这也提示以 ROS 为靶点的骨质疏松治疗的潜在优势还是不容忽视的<sup>[3]</sup>。

## 7 小结

骨骼是终身在进行重建的组织器官,成骨细胞(骨形成)和破骨细胞(骨吸收)的协同作用调节着骨骼的动态平衡,此平衡的失调可导致骨质疏松及骨硬化等病理过程的发生。ROS 通过在细胞及分子水平诱导成骨及破骨过程中的转录因

子及蛋白激酶等活性而促进破骨细胞的分化及功能,诱导成骨细胞凋亡和抑制其分化,从而在骨重建中起着重要作用。以 ROS 为靶点的抗氧化剂可在一定程度上抑制骨质减少及骨质疏松的发生,影响骨代谢。尽管由于 ROS 靶点作用的非特异性,但是应用抗氧化剂、改变机体氧化应激状态和维持氧化抗氧化体系的平衡仍然为骨质疏松等骨骼疾病防治的重要研究方向。

### [参考文献]

- [1] KULAR J, TICKNER J, CHIM S M, et al. An overview of the regulation of bone remodelling at the cellular level[J]. Clin. Biochem, 2012, 45(12): 863 - 873.
- [2] WAUQUIER F, LEOTOING L, COXAM V. Oxidative stress in bone remodelling and disease [J]. Trends Mol, 2009, 15(10): 468 - 477.
- [3] CALLAWAY D A, JIANG J X. Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone diseases[J]. J. Bone Miner. Metab, 2015, 33(4): 359 - 370.
- [4] KADENBACH B, RAMZAN R, VOGT S. Degenerative diseases, oxidative stress and cytochrome c oxidase func-

- tion[J]. *Trends Mol Med*, 2009, 15(4): 139 – 147 .
- [5] BAUR A, HENKEL J, BLOCH W, et al. Effect of exercise on bone and articular cartilage in heterozygous manganese superoxide dismutase (SOD2) deficient mice. *Free Radic [J]. Res*, 2011, 45(5): 550 – 558 .
- [6] FILAIRE E, TOUMI H. Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: Friend or enemy? [J]. *Bone Spine*, 2012, 79(4): 341 – 346 .
- [7] REGULSKA M, LEŚKIEWICZ M, BUDZISZEWSKA B, et al. Inhibitory effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D 3 and its low-calcemic analogues on staurosporine-induced apoptosis[J]. *Pharmacol Rep*, 2007, 59(4): 393 – 401 .
- [8] KOUSTENI S. FoxOs: Unifying links between oxidative stress and skeletal homeostasis [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2011, 9(2): 60 – 66 .
- [9] ATASHI F, MODARRESSI A, PEPPER M S. The Role of reactive oxygen species in mesenchymal stem cell adipogenic and osteogenic differentiation: A review [J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(10): 1 150 – 1 163 .
- [10] ALMEIDA M. Unraveling the role of FoxOs in bone-insights from mouse models[J]. *Bone*, 2011, 49(3): 319 – 327 .
- [11] ALTINDAG O, EREL O, SORAN N, et al. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis [J]. *Rheumatol Int*, 2008, 28 (4): 317 – 321 .
- [12] ALMEIDA M, HAN L, MARTIN-MILLAN M. et al. Skeletal involution by age-associated oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids [J]. *J Biol. Chem*, 2007, 282(37): 27 285 – 27 297 .
- [13] MUTHUSAMI S1, RAMACHANDRAN I, MUTHUSAMY B, et al. Ovariectomy induces oxidative stress and impairs bone antioxidant system in adult rats [J]. *Clin Chim Acta*, 2005, 360(1-2): 81 – 86 .
- [14] OZGOCMEN S, KAYA H, FADILIOGLU E, et al. Role of antioxidant systems, lipid peroxidation, and nitric oxide in postmenopausal osteoporosis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 295(1-2): 45 – 52 .
- [15] DRÖGE W. Free radicals in the physiological control of cell function[J]. *Physiol Rev*, 2002, 82(1): 47 – 95 .
- [16] SAREILA O, KELKKA T, PIZZOLL A, et al. NOX2 complex-derived ROS as immune regulators [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(8): 2 197 – 2 208 .
- [17] GARRETT I R, et al. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo[J]. *J Clin Invest*, 1990, 85(3): 632 – 639 .
- [18] KEY L L, WOLF W C, GUNDBERG C M, et al. Superoxide and bone resorption[J]. *Bone*, 1994, 15(2): 431 – 436 .
- [19] STEINBECK M J, APPEL W H, VERHOEVEN A J, et al. NADPH-oxidase expression and in situ production of superoxide by osteoclasts actively resorbing bone [J]. *J Cell Biol*, 1994, 126(3): 765 – 772 .
- [20] FRASER J H E, HELFRICH M H, WALLACE H M, et al. Hydrogen peroxide, but not superoxide, stimulates bone resorption in mouse calvariae [J]. *Bone*, 1996, 19 (3): 223 – 226 .
- [21] HALL T J, SCHAEUBLIN M, JEKER H, et al. The role of reactive oxygen intermediates in osteoclastic bone resorption [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 1995, 207(1): 280 – 287 .
- [22] WONG B R, JOSIEN R, CHOI Y. TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function[J]. *J. Leukoc. Biol*, 1999, 65(6): 715 – 724 .
- [23] HA H, KWAK H B, LEE S W, et al. Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 301(2): 119 – 127 .
- [24] XU Y, MORSE L R, DA SILVA R A, et al. PAMM: a redox regulatory protein that modulates osteoclast differentiation [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 13(1): 27 – 37 .
- [25] BAI X C, LU D, BAI J, et al. Oxidative stress inhibits osteoblastic differentiation of bone cells by ERK and NF- $\kappa$  B [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 314 (1): 197 – 207 .
- [26] BAI X C, LU D, LIU A L, et al. Reactive oxygen species stimulates receptor activator of NF- $\kappa$  B ligand expression in osteoblast[J]. *J Bio Chem*, 2005, 280(17): 1 7497 – 1 7506 .
- [27] FULLER K, LEAN J M, BAYLEY K E, et al. A role for TGFbeta(1) in osteoclast differentiation and survival[J]. *J Cell Sci*, 2000, 113 ( Pt 13): 2 445 – 2 453 .
- [28] Mody N, Parhami F, Sarafian T A, et al. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 31(4): 509 – 519 .
- [29] KOUSTENI S. FoxO1: A molecule for all seasons [J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(3): 912 – 917 .
- [30] MANOLAGAS S C. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: A revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis[J]. *Endocr Rev*, 2010, 31(3): 266 – 300 .
- [31] LIN H, GAO X, CHEN G, et al. Indole-3-carbinol as inhibitors of glucocorticoid-induced apoptosis in osteoblastic cells through blocking ROS-mediated Nrf2 pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 46 (2): 422 – 427 .
- [32] SENDUR O F, TURAN Y, TASTABAN E, et al. Antioxidant status in patients with osteoporosis: A controlled study [J]. *Jt Bone Spine*, 2009, 76(5): 514 – 518 .
- [33] JAGGER C J, LEAN J M, DAVIES J T, et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  mediates osteopenia caused by depletion of antioxidants[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(1): 113 – 118 .
- [34] FU C, XU D, WANG C Y, et al. Alpha-Lipoic acid promotes osteoblastic formation in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated MC3T3-E1 cells and prevents bone loss in ovariectomized rats [J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(9): 2 184–2 201 .
- [35] DEYHIM F, STOECKER B J, BRUSEWITZ G H, et al. Dried plum reverses bone loss in an osteopenic rat model of osteoporosis [J]. *Menopause*, 2005, 12 (6): 755 – 762 .
- [36] FRANKLIN M, BU S Y, LERNER MR, et al. Dried plum prevents bone loss in a male osteoporosis model via IGF-I and the RANK pathway[J]. *Bone*, 2006, 39(6): 1 331 – 1 342 .
- [37] MOON H J, KIM S E, YUN Y P, et al. Simvastatin inhibits osteoclast differentiation by scavenging reactive oxygen species[J]. *Exp Mol Med*, 2011, 43(11): 605 – 612 .