

张新科, 朱雪丹, 陈云, 等. 羧化不全骨钙素与雄性动物生殖关系研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (2): 136-141.

ZHANG X K, ZHU X D, CHEN Y, et al. Progressin research on the relationship between osteocalcin and male animal reproduction [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (2): 136-141.

羧化不全骨钙素与雄性动物生殖关系研究进展

张新科¹, 朱雪丹¹, 陈云², 刘松柏¹, 王明明¹, 李思琪¹, 张守全^{1*}

(1. 华南农业大学动物科学学院/国家生猪种业工程技术研究中心/广东省农业动物基因组学与

分子育种重点实验室, 广东 广州 510642;

2. 韶关学院英东生物与农业学院, 广东 韶关 512005)

摘要: 骨钙素 (OCN) 是一种由成骨细胞分泌的多肽类激素, 有羧化和未完全羧化两种结构。现已证明 OCN 是通过其体内代谢活性形式羧化不全骨钙素 (uOCN) 在体内多个系统发挥内分泌功能, 例如它对葡萄糖和能量代谢、雄性动物生殖能力和大脑生长发育等均具有调控作用。研究表明 uOCN 可以通过胰岛素、维生素 D 介导途径和下丘脑-垂体-性腺轴促进动物睾丸间质细胞生成并分泌睾酮, 从而提升雄性动物的生殖能力。因此, 对 uOCN 与雄性动物生殖关系进行综述可为更进一步研究提供参考, 不仅有助于研究如何提升雄性动物生殖能力, 还可以避免滥用药物对动物自身造成的伤害。本文主要围绕 OCN 的产生、OCN 的结构和 OCN 有利于睾丸间质细胞产生睾酮的功能及其相关机制进行综述, 旨在为人类与动物的生殖健康提供参考。

关键词: 骨钙素; 成骨细胞; 生殖; 睾酮

中图分类号: S814.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)02-0136-06

Progressin research on the relationship between osteocalcin and male animal reproduction

ZHANG Xinke¹, ZHU Xuedan¹, CHEN Yun², LIU Songbo¹, WANG Mingming¹, LI Siqu¹, ZHANG Shouquan^{1*}

(1. College of Animal Science, South China Agricultural University/National Engineering Research Center for Breeding Swine Industry/Guangdong Province Key Laboratory of Agro-Animal Genomics and Molecular Breeding, Guangzhou 510642, China;

2. Henry Fok College of Biology and Agriculture, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

Abstract: Osteocalcin (OCN) is a kind of polypeptide hormone secreted by osteoblasts, with carboxylated and incomplete carboxylated structures. OCN has been proved to exert a variety of endocrine functions through its metabolically-active form—hypocarboxylated OCN (uOCN), such as in glucose and energy metabolism, reproductive ability of male animals and their brain growth and development. Studies have shown that OCN can promote the production and secretion of testosterone in testicular interstitial cells of male animals through insulin, the vitamin D-mediated pathway and hypothalamic-pituitary-gonadal axis, thus improving the reproductive ability of the animals. Therefore, it is particularly important to further study the relationship between OCN and male animal reproduction, which may not only help improve the reproductive ability of male animals, but also avoid the harm to the animals caused by drug abuse. This article reviews related studies, focusing on the production of OCN, the structure of OCN, the function of OCN conducive to the production of testosterone in testicular interstitial cells and related mechanisms, aiming to offer reference for research on and practice in human and animal reproductive health.

Keywords: osteocalcin; osteoblast; procreation; testosterone

骨骼是人类以及哺乳动物最大的器官之一, 约占

总重的 15%。长期以来, 骨骼的作用一直被认为仅仅是维持身体运动和保护内脏的器官, 是一种静态的、孤立的器官^[1]。近年来, 对骨骼更深一步的研究表明了骨骼不再是一种相对静态的组织, 而是一种动态的组织, 具有多种内分泌功能, 参与调控动物机体多个器官的新陈代谢。其中由成骨细胞分泌的骨钙素 (osteocalcin, OCN), 又被称为骨 γ -羧基谷氨酸蛋白, 最早从鸡骨和牛骨中被分离出来, 是一种在骨

收稿日期: 2023-04-09; 修回日期: 2023-12-14

基金项目: 广东省现代农业产业技术体系生猪创新团队项目 (2022KJ126); 广州市科技局项目 (202103000068); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2023A1515010232); 2021 年度韶关市科技计划项目 (210728094530484)

第一作者: 张新科, 男, 硕士

* 通信作者: 张守全, 博士, 教授, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: sqzhang@scau.edu.cn.

形成过程中产生的可分泌非胶原蛋白，部分储存在骨基质中。骨骼时刻进行着骨重塑过程，正常的骨骼之所以能够维持一定的骨量就是依赖于破骨细胞与成骨细胞之间的这种动态平衡。骨重塑的调控是复杂的，体内多种激素在骨重塑过程中发挥着不可替代的作用，这些激素都是维持骨骼完整性所必需的。然而，OCN 不仅参与骨重塑，而且其活性形式羧化不全骨钙素 (uOCN) 在雄性动物生殖能力方面的调控也起着关键作用。

OCN 是骨骼中含量最高的非胶原蛋白之一。研究表明，OCN 含 46~50 个氨基酸不等，其中人类含有 49 个氨基酸，小鼠含有 46 个氨基酸^[2]。OCN 结构中包含 3 个谷氨酸残基，在 γ -谷氨酰羧化酶的催化下，依靠二氧化碳和维生素 K 作为主要辅助因子进行羧化^[3-4]。由于被羧化了的 OCN 对羟基磷灰石晶体中的 Ca^{2+} 更具有亲和力，因此成骨细胞分泌的大多数 OCN 都会被羧化后嵌入骨基质中，所以 OCN 被认为是骨形成和骨重塑的特异性标志物之一。在骨吸收的过程中，OCN 会在骨吸收形成的特定酸性环境下进行脱羧反应，成为一种 uOCN，这会降低其对骨的亲和力，从而使得 uOCN 会被释放进入到血液循环中，最后作用于全身多个器官^[5-6]。研究发现，OCN 主要是通过其代谢活性形式 uOCN 发挥多种内分泌功能，uOCN 释放到血液循环后，主要通过与 G 蛋白偶联受体 6a (Gprc6a) 和 G 蛋白偶联受体 158 (Gpr158) 结合发挥内分泌功能^[7-8]。一方面，uOCN 与 Gprc6a 结合后，胰岛 B 细胞敏感性升高，胰岛素分泌增加，在肌肉和脂肪等组织中促进葡萄糖稳态平衡，并促进睾丸间质细胞合成睾酮，调节雄性动物生殖能力；另一方面，uOCN 可以穿过血脑屏障并积聚在脑干、丘脑和下丘脑中，与特定神经元中的 Gpr158 结合以影响各种神经递质合成和信号传导，从而在改善认知功能和提升运动协调能力等脑部生长发育过程中发挥着关键调控作用。

1 骨重塑与 OCN

骨骼是体内一种代谢相当活跃的组织，在体内不断地被重塑，因此才能够维持机体正常生命活动所需的骨量。健康的哺乳动物之所以能够维持恒定的骨量和正常的运动主要就是通过骨重塑的机制不断进行自我更新来实现的^[9-10]。骨重塑是一个终生的过程，参与骨重塑的两种主要细胞是破骨细胞和成骨细胞。其中，破骨细胞具有吸收旧骨组织的功能，成骨细胞具有形成新骨组织的作用。正常情况下，成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收以一种动态平衡的方式进行工作，这样才能保证在机体的整个生命过程中维持骨

骼的健康和完整性^[10-12]。如果这种动态平衡被打破就会导致骨骼疾病，最常见的是骨质疏松症，这是因为与骨形成的速度相比骨吸收的速度降低了^[13]。另外，骨重塑还受到甲状旁腺激素、生长激素、性激素、糖皮质激素、前列腺素、骨化三醇、降钙素、骨形态发生蛋白等全身调节因子以及包括多种细胞因子和生长因子在内的局部调节因子共同调控^[14]。在哺乳动物的青春期，性腺类固醇激素在动物的骨骼快速增长和维持骨量方面扮演着不可或缺的角色^[15]。

在骨重塑的过程中，骨骼的旁分泌和内分泌功能也在时刻进行着。越来越多的研究发现，骨骼不仅仅是一个运动器官，也是一个具有多种内分泌功能的器官，它至少会分泌两种激素，成纤维细胞生长因子 23 (FGF23) 和 OCN^[16-17]。其中，FGF23 主要通过控制与骨骼健康密切相关的磷酸盐稳态来调节矿物质代谢，而 OCN 除了调节骨矿化外，还可调节体内多个靶器官，包括胰腺、肝脏、肌肉、脂肪、睾丸以及中枢和周围神经系统^[18]。另外，研究发现，OCN 是在特定的环境下成为未完全羧化的形式 uOCN 时，才会被释放到血液，继而在葡萄糖和能量代谢、雄性动物生殖能力和大脑生长发育中发挥重要调控作用^[19]。

2 OCN 与 uOCN 结构

为了更进一步理解 OCN 与其未完全羧化形式 uOCN 两者的功能，研究人员对两者的结构进行了分析。首先，OCN 的本质是蛋白质，而蛋白质的功能是由其结构决定的，所以 OCN 与 uOCN 两种不同的结构导致了两者不同的功能。OCN 的结构由 3 个多肽链组成，包括 1 条 N-末端多肽链、1 条 C-末端多肽链和一条中心多肽链，其中 C-末端多肽链包含有与羟基磷灰石晶体中的 Ca^{2+} 结合的位点。以人为例，人体内的 OCN 先被合成为具有 98 个残基的 OCN 前体，其中包括 1 条含有 23 个残基的信号多肽链（在翻译过程中易位进入内质网后被切割）、含 26 个残基的前体多肽链（包括 γ -谷氨酰羧化酶的识别位点）和 49 个残基的成熟多肽链。经过翻译修饰后，大多数 OCN 被完全羧基化，含有 3 个谷氨酰胺残基，然后与羟基磷灰石晶体中的 Ca^{2+} 结合沉积到骨细胞外基质中。进一步研究发现，OCN 是由 3 个 α -螺旋、2 个 β -折叠和 α - β 片组成，形成一个疏水核心和紧密的球状结构。螺旋 $\alpha 1$ (H1) 和螺旋 $\alpha 2$ (H2) 通过从 Asn26 到 Cys29 的 α - β 弯连接，形成“V”形排列，并由 Cys23 和 Cys29 之间的二硫键连接。螺旋 $\alpha 3$ (H3) 排列对齐以平分 H1 和 H2 的“V”形，这 3 个 α -螺旋形成了一个紧密的疏水核心和一个以 H1 为中心的带负电的表面，与羟基磷灰石晶体中 Ca^{2+} 结

合有关的 3 个谷氨酰胺残基都位于 H1 的同一表面^[20]。但由于在特定环境中 γ -谷氨酰基羧化酶脱羧或维生素 K 缺乏活性不足从而导致部分或全部的羧化位点未被修饰成谷氨酰胺残基, 就成为了只含有 0~2 个谷氨酰基残基的 uOCN^[21]。正是由于 uOCN 在羧化过程中的比 OCN 少了谷氨酰胺残基结构, 因此导致其不易于与羟基磷灰石晶体中的 Ca^{2+} 结合, 因而当其被释放到血液循环中时便能发挥其一系列的内分泌功能^[22]。总的来说, OCN 与 uOCN 在结构上的差异主要是羧化状态的不同, uOCN 在结构上缺少一些谷氨酰胺残基从而降低与羟基磷灰石晶体中 Ca^{2+} 结合的可能性, 因此其可以在体内发挥一系列的内分泌功能。

3 uOCN 在提升雄性动物生殖能力方面的功能

uOCN 是一种内分泌激素, 在调节能量代谢、雄性动物生殖能力和大脑发育等方面都发挥着十分重要的作用。其中, uOCN 对雄性动物生殖能力的提升这一新功能的发现更进一步证明了骨骼是一个具有多种内分泌功能的器官。睾酮是一种类固醇激素, 是雄性动物体内一种重要的雄性激素, 也被称为睾丸激素, 它主要由睾丸间质细胞合成并分泌, 它有许多功能, 例如生殖细胞的存活和精子的发生等。研究表明, 睾酮具有支持生殖细胞成熟并防止其过早凋亡的功能, 体内睾酮水平的下降提示雄性动物生殖器官异常或衰老^[23]。雄性动物体内睾酮水平的平衡能够促进睾丸和附睾的正常分泌, 维持精子健康的生成和发育, 因此维持雄性动物体内一定的睾酮水平对雄性动物生殖能力的提升有一定帮助。

随着研究人员不断研究, uOCN 作为一种新型雄性动物生殖能力的调节剂出现在研究者的视线中。2011 年, 为了探究 uOCN 对雄性动物生殖能力作用的具体表现, Oury 等^[19]研究表明, 敲除了 uOCN 基因的雄性小鼠会出现生殖能力明显下降的表现, 如精子数目减少, 睾丸、附睾和精囊重量下降。此外, 进一步对试验小鼠体内血清 uOCN 含量进行分析发现敲除了 OCN 基因的雄性小鼠血清中 uOCN 水平也显著降低, 说明由成骨细胞分泌的 uOCN 可能通过某种机制影响了精子的生成, 进而调节雄性动物生殖能力。近年来, uOCN 作为雄性动物体内睾酮产生的调节剂的功能在人身上也得到了证明。其中一项研究表明, 对比健康人群和骨骼疾病患者的体内 uOCN 水平和骨转换速率发现, 其与体内睾酮循环水平呈显著相关性^[24]。此外, Kirmani 等^[25]的研究也表明, 男性青春期中期的血清 uOCN 水平和睾酮水平之间存在显著

关联。在人类临床研究中发现, 中年肥胖男性的体内血清总 OCN 水平与体内睾酮水平呈显著正相关^[26]。经过进一步探究发现, uOCN 通过作用于睾丸间质细胞显著提升了睾酮的分泌量, 而成骨细胞的这种内分泌功能仅限于雄激素睾酮的产生, 而不影响睾丸或卵巢分泌雌二醇和孕酮。此外, 成骨细胞的条件培养基以及外源 uOCN 均可增加睾丸间质细胞中睾酮的合成分泌, 但卵巢外植体分泌的雌二醇和孕酮水平似乎没有受到影响^[19]。目前这些证据都表明了成骨细胞对生殖的内分泌功能仅对睾酮的合成分泌起作用。2014 年, Oury 等^[27]研究又发现, 睾丸间质细胞中的 Gprc6a 受体可以与 uOCN 进行结合, 并向下游的转录效应因子提供相应的信号传递, 以此来提升睾酮的合成速率。因此, 雄性动物体内的 uOCN 水平与体内的睾酮水平是息息相关的, uOCN 可以促进雄性动物体内睾酮的生成。众所周知, 性腺对骨重塑具有调控作用, 例如雌激素和睾酮对动物骨骼的不断更新生长以及骨量的维持都有相当重要的影响, 但反过来关于从骨骼到性腺的“反向调节信号”却很少报道。骨骼也可反过来通过 uOCN 发挥其内分泌功能来影响雄性动物的生殖功能, 这一发现为研究人员对 uOCN 功能的研究打开了一个崭新的思路。

4 uOCN 提升雄性动物生殖能力的作用机制

4.1 uOCN 与胰岛素之间相互调节促进睾酮产生

uOCN 对雄性动物生殖能力的影响让研究者们对这一相关机制产生了兴趣, 在对 uOCN 是如何通过促进睾丸间质细胞产生睾酮的一系列研究中, 意外发现在成骨细胞中设法增强胰岛素信号也能提高雄性小鼠的生殖能力, 这表明了成骨细胞中胰岛素信号靶向调节雄性动物生殖能力的可能性。后续一系列的研究也验证了这一观点, 即破骨细胞的活性可以通过胰岛素刺激骨转换来增强, 这样胰岛素充当 OCN 激活的媒介, 继而提升了雄性动物的生殖能力, 形成“胰岛素-骨-性激素-骨”的反馈环路, 其中, OCN 在该环路的运转过程中扮演着多系统靶向调控的角色^[28]。这也表明破骨细胞骨吸收是通过增加 OCN 生物活性来提升正常雄性动物生殖能力。进一步研究其机制发现, OCN 具有一种不同寻常的激活方式, 即依靠成骨细胞和破骨细胞之间的相互作用进行激活。成骨细胞产生并分泌 OCN 存储在细胞外骨基质 (ECM) 中, 然后破骨细胞的活性在 ECM 中产生吸收腔, 诱导低 pH (4.5) 的环境, 通过促进其脱羧反应来生物激活 OCN^[29]。胰岛素信号不仅能够调节成骨细胞对 OCN 进行脱羧激活成 uOCN, 胰岛素信号还能抑制成骨细胞中编码骨保护素 (OPG) 的基因的表达,

从而阻碍破骨细胞的分化^[30]。G 蛋白偶联受体 Gprc6a 作为介导睾酮合成的受体,它在睾丸间质细胞中表达后与 uOCN 结合之后,有利于促进环磷酸腺苷 cAMP 的产生,从而激活转录因子 CREB (cAMP 反应元件结合),并使 CREB 与睾酮生物合成必需酶的基因启动子区域结合,增加睾酮生物合成必需酶的转录。因此,被激活的 CREB 可以对几种编码睾酮生物合成必需酶的转录表达进行调控进而调控睾酮的合成,例如 StAR, Cyp11a, 3 β -HSD 和 cyp17。其中,类固醇急性调节蛋白 (StAR) 负责把胆固醇转运到启动类固醇生物合成的线粒体中,而 Cyp11a 负责编码胆固醇侧链裂解酶 (P450_{scc}),该酶是催化反应第一步和限速步骤的关键酶,可以把胆固醇转化为孕烯醇酮,最后由 3 β -HSD 和 Cyp17 负责编码将孕烯醇酮转化为睾酮过程中所必需的两种酶^[31-33]。因此,胰岛素可以通过刺激成骨细胞与破骨细胞来促进 OCN 的产生,并通过脱羧使其中一部分成为 uOCN 进一步发挥刺激睾丸间质细胞产生分泌睾酮的作用。同时,OCN 也扮演着骨代谢和能量代谢之间桥梁的角色,uOCN 可以促进胰岛素的分泌^[34]。有研究表明 OCN 可以改善由脂毒性诱导的胰岛 β 细胞型胰岛素分泌障碍^[35]。OCN 与胰岛素之间的这种相互调节作用也为以后的相关研究指明了方向。

4.2 uOCN 通过维生素 D 调节途径介导睾酮产生

uOCN 与维生素 D 的关联也对雄性生殖能力有一定的影响。研究发现,维生素 D 主要是通过其活性形式 1, 25 (OH)₂D₃ 促进睾丸间质细胞合成释放睾酮,而 1, 25 (OH)₂D₃ 缺乏与年轻雄性动物的睾酮/雌二醇比例较低有关^[36]。另外,动物试验研究通过饲喂缺乏维生素 D 的饲料,发现雄性小鼠的睾丸重量和精子质量都显著降低,睾丸生殖细胞受到抑制,血清睾酮水平降低^[37]。维生素 D 属于类固醇激素,是骨矿化和体内钙磷代谢稳态的主要调节因子。其中,维生素 D₃ 是维生素 D 的一种主要形式。维生素 D₃ 进入体内后与维生素 D 结合蛋白结合先在肝脏经由 25-羟化酶 Cyp2r1 转化为体内主要存在形式 25 (OH) D₃,然后再经过肾脏由 1 α -羟化酶 Cyp27b1 转化为活性形式 1 α , 25 (OH)₂D₃ 到靶器官发挥作用。de Toni^[38] 及其同事发现,利用睾丸间质细胞系,在与 Gprc6a 结合后,uOCN 可以调节 Cyp2r1 的表达,有利于促进维生素 D 的羟基化。Cyp2r1 作为编码维生素 D 转化为其活性形式 1, 25 (OH)₂D₃ 所必需的一个关键酶,这表明 uOCN 对睾丸生成睾酮功能的促进作用可能是通过调节维生素 D 调节途径介导的,这也为 uOCN 在睾丸中的调节作用增加了另一个新的维度^[39]。

4.3 uOCN 通过下丘脑-垂体-性腺轴促进睾酮产生

下丘脑是中枢神经系统 (CNS) 的重要组成部分,主要通过其在垂体前叶和自主神经系统上的活动来调节神经内分泌功能。目前,有研究发现 uOCN 通过其受体在 CNS 中的直接调节功能,包括其在大脑正常发育过程中以及在认知功能障碍和帕金森综合征等病理状况下的有益作用^[40-42]。关于 uOCN 通过下丘脑-垂体-性腺轴对雄性动物生殖能力影响的研究,研究人员也有不同程度的发现。Pi 等^[43] 在雄性小鼠体内观察到 Gprc6a 不仅在睾丸间质细胞中表达,而且还在下丘脑和垂体前叶中表达。Piaggi 等^[44] 发现中枢 OCN 受体 Gpr158 也在下丘脑和垂体中大量表达。这说明 uOCN 也可能通过与下丘脑和垂体中的 Gprc6a 或其受体 Gpr158 结合从而促进睾酮的产生。此外,据相关研究报道,人类体内 uOCN 受体的功能丧失突变与由高促性腺激素引起的性腺功能减退症有关,这表明 uOCN 可能是正常垂体-性腺轴发挥其功能所必需的物质^[45]。uOCN 可以穿过血脑屏障与下丘脑和垂体中的相关受体结合,然后通过对促性腺激素释放激素 (GnRH) 神经元和 γ -氨基丁酸 (GABA) 能神经元的调节发挥作用^[46]。众所周知,睾丸功能的调节通常归因于下丘脑-垂体-性腺轴。根据这种内分泌途径,下丘脑释放 GnRH 刺激腺垂体产生两种促性腺激素,即卵泡刺激素 (FSH) 和促黄体激素 (LH)。随后,FSH 和 LH 通过作用于睾丸分别刺激精子发生和睾酮的产生,而睾酮反过来又抑制 GnRH 和促性腺激素的释放,具有负反馈作用^[47]。uOCN 通过下丘脑-垂体-性腺轴对雄性动物生殖能力的调控是复杂的过程。LH 是一种垂体激素,它是睾丸间质细胞合成睾酮的主要调节因子。有研究表明,uOCN 可以调节 GnRH 和 LH 的分泌频率,从而调节睾酮的合成分泌^[48]。uOCN 与睾丸间质细胞中的 Gprc6a 结合后,可以促进环磷酸腺苷 cAMP 的产生,从而激活转录因子 CREB (cAMP 反应元件结合),并使 CREB 与睾酮生物合成必需酶的基因启动子区域结合,增加睾酮生物合成必需酶的转录。因此,被激活的 CREB 可以对几种编码睾酮生物合成必需酶的转录表达进行调控进而调控睾酮的合成,例如 StAR, Cyp11a, 3 β -HSD 和 cyp17。

5 结语

OCN 不仅参与骨重塑,而且在多种生理过程中起着关键作用。OCN 具有提升雄性动物生殖能力的作用,主要是通过其代谢活性形式 uOCN 来发挥作用。uOCN 不易与羟基磷灰石晶体结合,可以被释放到血液循环到达靶器官。uOCN 可以通过胰岛素信号

增强、维生素 D 介导途径和下丘脑-垂体-性腺轴与其特定的受体结合促进睾酮产生。总之，uOCN 对雄性动物生殖能力具有一定促进作用，但具体作用机制有待更深一步进行研究。

参考文献:

- [1] ELEFTERIOU F, CAMPBELL P, MA Y. Control of bone remodeling by the peripheral sympathetic nervous system [J]. *Calcif Tissue Int*, 2014, 94 (1): 140-151.
- [2] OBRI A, KHRIMIAN L, KARSENTY G, et al. Osteocalcin in the brain: from embryonic development to age-related decline in cognition [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14 (3): 174-182.
- [3] HAUSCHKA P V, LIAN J B, COLE D E, et al. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone [J]. *Physiol Rev*, 1989, 69 (3): 990-1047.
- [4] MORRIS D P, STEVENS R D, WRIGHT D J, et al. Processive post-translational modification. Vitamin K-dependent carboxylation of a peptide substrate [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270 (51): 30491-30498.
- [5] FERRON M, WEI J, YOSHIKAWA T, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism [J]. *Cell*, 2010, 142 (2): 296-308.
- [6] LACOMBE J, KARSENTY G, FERRON M. *In vivo* analysis of the contribution of bone resorption to the control of glucose metabolism in mice [J]. *Mol Metab*, 2013, 2 (4): 498-504.
- [7] WEI J, HANNA T, SUDA N, et al. Osteocalcin promotes β -cell proliferation during development and adulthood through Gprc6a [J]. *Diabetes*, 2014, 63 (3): 1021-1031.
- [8] KOSMIDIS S, POLYZOS A, HARVEY L, et al. RbAp48 protein is a critical component of GPR158/OCN signaling and ameliorates age-related memory loss [J]. *Cell Rep*, 2018, 25 (4): 959-973.
- [9] KARSENTY G. Convergence between bone and energy homeostases: leptin regulation of bone mass [J]. *Cell Metabolism*, 2006, 4 (5): 341-348.
- [10] RODAN G A, MARTIN T J. The therapeutic approaches to bone diseases [J]. *Science*, 2000, 289 (5484): 1508-1514.
- [11] HARADA S, RODAN G A. Control of osteoblast function and regulation of bone mass [J]. *Nature*, 2003, 423 (6937): 349-355.
- [12] TEITELBAUM S L. Bone resorption by osteoclasts [J]. *Science*, 2000, 289 (5484): 1504-1508.
- [13] OURY F. A crosstalk between bone and gonads [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1260: 1-7.
- [14] BALOGH E, PARAGH G, JENEY V. Influence of iron on bone homeostasis [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2018, 11 (4): 107.
- [15] VENKEN K, DE GENDT K, BOONEN S, et al. Relative impact of androgen and estrogen receptor activation in the effects of androgens on trabecular and cortical bone in growing male mice: a study in the androgen receptor knockout mouse model [J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21 (4): 576-585.
- [16] SHIMADA T, HASEGAWA H, YAMAZAKI Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis [J]. *J Bone Miner Res*, 2004, 19 (3): 429-435.
- [17] LEE N K, SOWA H, HINOI E, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton [J]. *Cell*, 2007, 130 (3): 456-469.
- [18] WANG J S, MAZUR C M, WEIN M N. Sclerostin and osteocalcin: candidate bone-produced hormones [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 584147.
- [19] OURY F, SUMARA G, SUMARA O, et al. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton [J]. *Cell*, 2011, 144 (5): 796-809.
- [20] HOANG Q Q, SICHERI F, HOWARD A J, et al. Bone recognition mechanism of porcine osteocalcin from crystal structure [J]. *Nature*, 2003, 425 (6961): 977-980.
- [21] LEE A J, HODGES S, EASTELL R. Measurement of osteocalcin [J]. *Ann Clin Biochem*, 2000, 37 (4): 432-446.
- [22] PRICE P A, NISHIMOTO S K. Radioimmunoassay for the vitamin K-dependent protein of bone and its discovery in plasma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1980, 77 (4): 2234-2238.
- [23] WALKER W H. Molecular mechanisms of testosterone action in spermatogenesis [J]. *Steroids*, 2009, 74 (7): 602-607.
- [24] HANNEMANN A, BREER S, WALLASCHOFSKI H, et al. Osteocalcin is associated with testosterone in the general population and selected patients with bone disorders [J]. *Andrology*, 2013, 1 (3): 469-474.
- [25] KIRMANI S, ATKINSON E J, MELTON L R, et al. Relationship of testosterone and osteocalcin levels during growth [J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26 (9): 2212-2216.
- [26] LIAO M, GUO X, YU X, et al. Role of metabolic factors in the association between osteocalcin and testosterone in Chinese men [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98 (8): 3463-3469.
- [27] OURY F, FERRON M, HUIZHEN W, et al. Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas-bone-testis axis [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2015, 125 (5): 2180.
- [28] 杜张珍, 李旭, 王妍. 骨钙素内分泌调控功能研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2022, 36 (9): 691-699.
- [29] ZHANG X L, WANG Y N, MA L Y, et al. Uncarboxylated osteocalcin ameliorates hepatic glucose and lipid metabolism in KKAY mice via activating insulin signaling pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41 (3): 383-393.
- [30] LIU Z, YANG J. Uncarboxylated osteocalcin promotes osteogenic differentiation of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells by activating the Erk-smad/ β -catenin signalling pathways [J]. *Cell Biochem Funct*, 2020, 38 (1): 87-96.
- [31] LIANG D, FAN Z, ZOU Y, et al. Characteristics of cyp11a during gonad differentiation of the olive flounder *paralichthys olivaceus* [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (9): 2641.
- [32] SUN M, JIANG S, SONG W, et al. Molecular characterization and functional analysis of cyp11a and cyp11b in black rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. *J Fish Biol*, 2021, 99 (1): 9-17.
- [33] TUGAEVA K V, SLUCHANKO N N. Steroidogenic acute regulatory protein: structure, functioning, and regulation [J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2019, 84 (Suppl 1): S233-S253.
- [34] BILOTTA F L, ARCIDIACONO B, MESSINEO S, et al. Insulin and osteocalcin: further evidence for a mutual cross-talk [J]. *Endocrine*, 2018, 59 (3): 622-632.
- [35] ZHANG Y, LI L, ZHANG Y, et al. Improvement of lipotoxicity-in-

- duced islet β cellular insulin secretion disorder by osteocalcin [J]. *J Diabetes Res*, 2022, 2022: 3025538.
- [36] HOLT R, JUEL M L, HARPELUNDE P K, et al. Vitamin D and sex steroid production in men with normal or impaired Leydig cell function [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2020, 199: 105589.
- [37] COSKUN G, SENCAR L, TULI A, et al. The effect of vitamin D on testosterone and uncarboxylated osteocalcin levels in aged male rats [J]. *Ultrastruct Pathol*, 2022, 46 (4): 368–376.
- [38] DE TONI L, GUIDOLIN D, DE FILIPPIS V, et al. SHBG141–161 domain–peptide stimulates GPRC6A–mediated response in leydig and β –langerhans cell lines [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 19432.
- [39] KARSENTY G. Broadening the role of osteocalcin in Leydig cells [J]. *Endocrinology*, 2014, 155 (11): 4115–4116.
- [40] OURY F, KHRIMIAN L, DENNY C A, et al. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions [J]. *Cell*, 2013, 155 (1): 228–241.
- [41] KHRIMIAN L, OBRI A, RAMOS–BROSSIER M, et al. Gpr158 mediates osteocalcin’s regulation of cognition [J]. *J Exp Med*, 2017, 214 (10): 2859–2873.
- [42] GUO X Z, SHAN C, HOU Y F, et al. Osteocalcin ameliorates motor dysfunction in a 6–hydroxydopamine–induced parkinson’s disease rat model through AKT/GSK3 β signaling [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 343.
- [43] PI M, QUARLES L D. Multiligand specificity and wide tissue expression of GPRC6A reveals new endocrine networks [J]. *Endocrinology*, 2012, 153 (5): 2062–2069.
- [44] PIAGGI P, MASINDOVA I, MULLER Y L, et al. A genome–wide association study using a custom genotyping array identifies variants in gpr158 associated with reduced energy expenditure in american indians [J]. *Diabetes*, 2017, 66 (8): 2284–2295.
- [45] OURY F, FERRON M, HUIZHEN W, et al. Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas–bone–testis axis [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123 (6): 2421–2433.
- [46] WINBERG J, RENTZ J, SUGAMORI K, et al. Sex differences in metabolic and behavioral responses to exercise but not exogenous osteocalcin treatment in mice fed a high fat diet [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 831056.
- [47] KAPRARA A, HUHTANIEMI I T. The hypothalamus–pituitary–gonad axis: tales of mice and men [J]. *Metabolism*, 2018, 86: 3–17.
- [48] HERBISON A E, MOENTER S M. Depolarising and hyperpolarising actions of GABA (A) receptor activation on gonadotrophin–releasing hormone neurones: towards an emerging consensus [J]. *J Neuroendocrinol*, 2011, 23 (7): 557–569.