

· 综 述 ·

绝经后骨质疏松症中医药研究进展

潘心瑶^{1,2,3} 谢欣薇⁴ 周 琦⁵ 陈兰婷^{1,2,3} 王 凌^{1,2,3}

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMO) 是指由绝经后雌激素及相关内分泌改变引起的骨量减少、骨微结构受损、骨强度降低, 导致脆性增加为特征的骨代谢性疾病, 女性在 50 岁后患病率明显增加。主要临床表现为周身疼痛, 相应运动如翻身、起坐等受限, 影响生活质量。除此以外, 严重时还可导致骨骼变形、身高降低及脆性骨折等。据统计, 约 10% ~ 20% 绝经后女性患有不同程度的骨质疏松^[1-3]。

1 病因病机

1.1 现代医学病因

现代医学认为 PMO 主要与性激素紊乱及神经—内分泌—免疫功能失调有关^[4,5]。妇女进入更年期后, 神经—内分泌—免疫网络的稳定和平衡被打乱, 随着卵巢功能的逐渐减退, 雌激素水平明显降低, 骨有机成分合成减少, 粪钙排出增多。由于雌激素可直接作用于破骨细胞 (osteoclast, OC), 抑制其分化生成及其骨吸收功能, 所以雌激素缺乏是 PMO 发病的主要原因^[6,7]。

雌激素可通过多方面影响破骨细胞、成骨细胞 (osteoblast, OB)、淋巴细胞及骨重建过程等。雌激素可通过直接或间接方式发挥对 OC 的作用, 直接作用主要通过雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 完成。一方面, 雌激素通过 ER α 作用于 OC 前体细胞 (pre-OC) 及 OC, 降低 c-Jun 活性从而抑制 RANKL

诱导的 OC 分化, 进而导致 OC 凋亡^[8]。另一方面, 雌激素作用于 ER α 后可引起 pre-OC 及 OC 的 FasL 表达上调, 其以自分泌方式与 OC 表面的 Fas 结合后启动 Fas/FasL 介导的凋亡途径, 进而诱导 OC 凋亡。因而当雌激素缺乏时, OC 表面 FasL 表达下调, OC 寿命延长^[9]。雌激素还可通过 OB、低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor, HIF-1 α) 等发挥对 OC 的间接作用。雌激素可促进 OB 合成分泌骨保护素 (osteoprotegerin, OPG), OPG 与 RANKL 均为 TNF 家族成员, 两者竞争结合 pre-OC 及 OC 表面的 RANK, 进而抑制 OC 的分化增殖^[9]。当雌激素水平下降时, RANKL 合成增加, RANKL/OPG 比值相应增加, OC 亦相应激活和分化。HIF-1 α 参与 OC 分化的调节, 其可直接结合 OPG 基因上游并促进其表达, 从而抑制 OC 的进一步分化^[10]。在低氧条件下, 雌激素使 OC 中的 HIF-1 α 易于降解而处于不稳定的状态; 相反, 缺少雌激素时 HIF-1 α 趋于稳定状态, 从而使 OC 活性提高, 骨吸收增加, 骨量相应减少^[11]。

雌激素还可通过不同的分子机制与信号通路影响 OB 的代谢。雌激素通过 ER β 参与 Wnt/ β -catenin 通路相关的 OB 增殖与分化, 其主要通过诱导 GSK3 β 磷酸化从而增加 β -catenin 的表达, 并使 OB 增殖分化相关基因 BGP、ALP、OPN、cyclin D1 的表达也相应增加^[12]。雌激素亦可上调骨形态发生蛋白 4 (bone morphogenetic protein-4, BMP-4) 介导的 Smad1/5/8 磷酸化, BMP 反应性荧光素酶活性和分化抑制因子-1 mRNA 表达, 并可促进 BMP-4 介导的 Runx、Osx、ALP 和骨钙素表达, 从而促进 OB 的分化^[13]。研究还发现, 在雌激素缺乏条件下, OB 细胞系可通过 p38 α /MAPK 通路上调 RANKL 和 IL-6 介导骨丢失, 而 p38 α 敲除小鼠并不出现骨溶解, RANKL 和 IL-6 表达无增加, 且在溶骨相关因子 TNF- α 或 IL-1 存在时同样如此^[14]。

现代医学治疗 PMO 的方法主要是预防骨吸收, 以补钙、补充雌激素水平、调节内分泌免疫网络为主要方法。临床普遍应用抑制骨吸收类药物 (如雌激素、双膦酸盐类、降钙素等)、促骨形成类药物 (如甲状旁腺素、氟化物等) 和骨矿化类药物 (如钙剂、维生素 D

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 31571196, No. 30801502, No. 81401171); 上海市医学引导类项目 (No. 15401932200, No. 18401902200); 上海市浦江人才计划 (No. 11PJ1401900); 日本学术振兴会海外博士后研究员项目 (No. P08471); 上海市高峰学科 (中西医结合) 建设项目 (No. 20150407, No. 20180101); 中国中西医结合学会妇产科专委会专项研究基金 - 华润三九专项

作者单位: 1. 复旦大学附属妇产科医院研究所 (上海 200011); 2. 复旦大学中西医结合研究院 (上海 200040); 3. 上海市女性生殖内分泌相关疾病重点实验室 (上海 200011); 4. 上海中医药大学国际教育学院 (上海 201203); 5. 上海市杨浦区中医医院妇科 (上海 200090)

通讯作者: 王 凌, Tel: 021-63455050-8271, E-mail: dr.wanling@fudan.edu.cn

DOI: 10.7661/j.cjim.20190127.065

及其衍生物)。这些药物在临床上取得了显著的治疗效果,但长期应用会带来较多不良反应(长期雌孕激素联合治疗使乳腺癌发病风险增加,双磷酸盐治疗增加骨质疏松等),因而使用更安全有效的治疗策略仍是今后的研究方向。

1.2 中医的病因病机与治则

PMO 是现代医学名词,中医学无“骨质疏松”的病名,但根据其临床表现应相当于“骨痿”、“骨痹”、“骨枯”、“骨缩”、“腰痛”等范畴,其病因病机为肾精亏虚、脾胃虚弱、肝血不足、瘀血阻滞等。治疗以补肾健骨为主,佐以健脾、疏肝、活血,以补精填髓,濡养骨骼。现代研究表明,补肾中药可通过调节内分泌、骨髓基质细胞增殖和成骨分化,促进骨生成及骨代谢与免疫等多个环节,从而提高骨密度、骨矿含量,改善骨质疏松症状^[15-19]。临床上,单味中药治疗一般选用具有益气、强筋骨、补益肾阳作用的中药,如淫羊藿、杜仲、补骨脂、黄芪、续断、骨碎补、枸杞子、巴戟天等;复方中药治疗则有补肾宁心方、六味地黄汤、二仙汤、四物汤、龟鹿二仙胶汤、左归丸、补肾生骨颗粒、补肾益髓中药复方等。

2 治疗 PMO 的单味中药

2.1 淫羊藿(*Epimedium brevicornu Maxim*)

别名仙灵脾,味辛、甘、温,归肾、肝经而常用于治疗肝肾不足型疾病,主要功效为补肾阳,强筋骨,祛风湿。其有效成分淫羊藿总黄酮可通过抑制 IL-8、TNF- α mRNA 的产生,促进 OB 的增殖与分化,抑制 OC 形成,还可直接刺激雌二醇(estradiol, E₂)、皮质酮的分泌及促进黄体生成素产生^[20]。

研究显示补骨脂-淫羊藿显著降低 PMO 鼠血清 TNF- α 水平,且能小幅度提高 IL-10 水平,从而推断补骨脂-淫羊藿可能通过抑制骨吸收,调节 OB 与 OC 的功能活动,使 OB 活动加剧而 OC 活动减弱,从而使骨吸收/骨形成代谢维持动态平衡^[21]。武密山等^[17]发现淫羊藿苷具有较强的植物雌激素样活性,既可促进 OB 成熟分化,又可抑制 OC 的骨吸收活性。刘珊等^[16]在骨代谢层面上发现淫羊藿苷可能通过调节去势大鼠血清 E₂ 水平,增强 ER β 的合成,同时提高 ER 的生物效应,使 OC 的骨吸收功能减弱,OB 的骨形成作用增强,改变了骨吸收大于骨形成的骨代谢负平衡状态,增加了骨量,达到抗 PMO 的作用。郭晓宇等^[15]发现淫羊藿苷可提高大鼠骨髓基质细胞(rat bone marrow mesenchymal stem cells, rBMSCs)碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide syn-

thase, eNOS)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达水平,而 PI3K 特异性阻断剂可抑制这一作用并明显降低 p-AKT 水平,而对 iNOS 无影响,表明淫羊藿苷可通过 PI3K/AKT-eNOS 途径促进 rBMSCs 的成骨性分化。但淫羊藿因具有雄激素样作用,可干扰肝细胞的正常代谢,引起肝内毛细胆管的胆汁淤积而出现黄疸及肝功能异常^[22],在临床应用中需引起注意。

2.2 杜仲(*Eucommia ulmoides Oliv*)

性味微辛、温,归肝、肾经,补肝肾、强筋骨,多用于治疗肝肾不足型疾病。其药用化学成分可分为黄酮类、木质素类、环烯醚萜类等,其中的黄酮类化合物是治疗和改善骨质疏松的主要有效成分。杜仲中的槲皮素、京尼平苷和桃叶珊瑚苷可促进 OB 的增殖和分化,可能为杜仲抗骨质疏松的药效物质基础^[23]。

兰波等^[18]从杜仲中提取黄酮类化合物紫云英苷和黄芩素作用于小鼠 OB,发现 OB 特异性转录因子 Osterix 的表达上调,OPG 表达上调,RANKL 蛋白表达降低,OPG/RANKL 比值升高。紫云英苷和黄芩素不仅能作用于 OPG/RANKL 系统,还可通过影响 BMP-2/Smads/Msx2 通路来促进 OB 分化成熟,从而改善骨量流失情况。另外,与紫云英苷相比,黄芩素促进 OB 增殖效果更显著,在低浓度时药效最好,随着浓度的增加药效随之降低。

2.3 补骨脂(*Psoralea corylifolia L.*)

性温味辛、甘,归脾、肾、大肠经,补肾壮阳、辛能润髓。补骨脂素是补骨脂的主要活性成分,可促进 OB 增殖、分化,增加 OB 的 OPG 表达,抑制 RANKL 的表达而抑制 OC 的分化和成熟,从而抑制骨吸收,减少骨质损失^[24]。除此之外,有研究也证实了补骨脂查尔酮可抑制 OC 分化,补骨脂素和异补骨脂素亦均有抗骨质疏松作用^[25]。

杨琳等^[19]发现补骨脂素通过与 ER 结合来调节体内雌激素和 ER 水平,并对 TNF- α 、IL-17 基因表达实现量效关系的调控。补骨脂素在高剂量与低剂量时均可下调 TNF- α 、IL-17 的基因表达及血清水平,而 E₂ 及 ER β 的水平升高仅见于高剂量补骨脂素的给药。补骨脂素还可通过提高血清及骨组织 TGF- β 水平和表达,使骨形成大于骨吸收,从而发挥抗骨质疏松的作用^[26]。李劲平等^[27]研究发现补骨脂能显著增加骨密度,提高骨生物力学性能,而且这些效应呈量效关系。补骨脂能提高去卵巢大鼠血清 E₂、降钙素水平,降钙素抑制 OC 的增殖,促进 OC 凋亡,从而抑制 OC 的骨吸收功能,提高骨密度,改善骨质量,从而达到抗绝经

后骨质疏松。另外,补骨脂不仅能够提高 OB 和 BM-SC 的 OPG 蛋白表达,而且能抑制其 RANKL 表达;此外,还可降低外周血中 IL-1、IL-6 的水平,从而达到对骨质疏松症的预防作用^[28]。但文献分析显示,补骨脂可导致肝损害及光毒性接触性皮炎等不良反应,药物使用过程中应注意安全性监测^[29]。

2.4 黄芪(*Radix Astragali*) 性味甘、微温,归脾、肺经,有健脾补中、升阳举陷、益卫固表、利尿、托毒生肌之效。黄芪的主要活性成分包括黄芪多糖、黄芪皂苷、毛蕊异黄酮等。其中,毛蕊异黄酮作为一种植物雌激素,能够与机体的 ER 结合,产生雌激素样作用,发挥抗氧化、抗骨质疏松等作用^[30]。

Huo J 等^[31]发现黄芪多糖可显著降低 PMO 小鼠血清 RANKL 水平,提高血清 OPG 水平,从而降低 RANKL/OPG 比值,它剂量依赖性地增加骨密度且对骨钙素和 TNF- α 有明显的抑制作用,表明黄芪多糖对去势小鼠的骨丢失有保护作用,并通过减少骨的重吸收和抑制 OC 生成的分子机制实现。而简静^[32]研究了黄芪有效成分之一的毛蕊异黄酮葡萄糖苷对小鼠骨髓基质细胞系 ST2 向 OB 分化的影响和机制,并证实其能明显上调 BMP 信号通路重要因子 BMP-2 mRNA 的表达和 Smad1/5/8 蛋白的磷酸化,明显地上调 Wnt 信号通路关键因子 β -catenin mRNA 和蛋白的表达,表明其通过对 BMP/Wnt 信号通路关键因子的调控,促进了 ST2 细胞向 OB 的分化。许闯^[33]亦发现,给予过氧化氢诱导的小鼠 OB 系一定浓度黄芪多糖后,其 OB 内活性氧簇水平明显降低,抗氧化蛋白 Nrf-2 及下游抗氧化因子 HO-1 的表达水平明显增加,与抗氧化剂组相比具有更强的抗氧化作用,且该组 OB 的凋亡率明显降低,凋亡相关蛋白(Bax、Caspase-3)的表达水平降低,说明黄芪多糖可以显著降低 OB 的氧化应激作用,激活 OB 抗氧化途径,从而抑制过氧化氢诱导的 OB 凋亡。

2.5 续断(*Radix Dipsaci*) 性味苦、辛、微温,归肝、肾经,补益肝肾,强筋健骨,止血安胎,疗伤续折。续断的主要化学成分包括皂苷、环烯醚萜、生物碱、挥发油及其他活性成分,而续断皂苷为抗骨质疏松的主要活性成分。

程志安等^[34]探讨了续断对 OB 增殖、分化、凋亡、细胞周期和 I 型前胶原 α mRNA 表达的影响,结果提示续断能促进 OB 的增殖、增加 ALP 的表达及矿化结节形成的数量,促进 OB 骨钙素和 I 型前胶原 mRNA 的表达,细胞增殖率、S 期细胞比率和细胞增殖指数等均显著高于对照组,细胞凋亡率和 G0-G1 期细胞比率

显著低于对照组,说明续断可促进 OB 的分化、增殖,防止 OB 凋亡。Ke K 等^[35]探讨了川续断皂苷 VI 对去卵巢大鼠骨髓基质细胞(OVX rBMSCs)增殖和成骨分化的作用机制,发现其能促进 OVX rBMSCs 细胞增殖和增强 ALP 活性及钙化结节的形成,且其升高 ALP、骨钙素、I 型胶原和 Runx2 的作用可被 PI3K 抑制剂削弱,p-AKT 水平亦会降低,说明川续断皂苷 VI 通过作用于 PI3K/Akt 信号通路发挥其促进 OVX rBMSCs 成骨分化的作用。另有 Niu Y 等^[36]通过对细胞增殖、ALP 活性和矿化基质的检测,发现川续断皂苷 VI 在原代 OB 中表现出显著的诱导增殖、分化和矿化作用,且 BMP-2、p38 和 ERK1/2 的活性均明显增加,说明川续断皂苷 VI 可诱导 OB 的成熟和分化,并通过增加 BMP-2 合成和激活 p38、ERK1/2 来增加骨形成。研究者还发现,对 OB 的诱导分化除了与 BMP-2 水平升高相关,与磷酸化(P)-Smad1/5/8、P-ERK1/2、P-p38 及 Runx2 的水平升高均有关。用 noggin 阻断 BMP-2 表达会显著降低 OB 的分化水平,并降低 P-Smad1/5/8、P-ERK1/2、P-p38 和 Runx2 的表达水平,这表明续断是通过 BMP-2 / MAPK/Smad1/5/8-依赖性 Runx2 的信号通路来诱导 OB 的分化^[37]。李家等^[38]亦观察到,续断皂苷 VI 能提高小鼠骨髓基质干细胞的细胞活力,促进细胞基质矿化,升高 BMP-2、Runx2、 β -catenin、OCN 的基因表达,而 Wnt 信号阻断剂能降低这些成骨基因表达,表明续断皂苷 VI 除了通过 BMP-2/Smad 通路发挥作用,还可通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进骨髓基质干细胞的成骨分化。

2.6 其他单味中药

骨碎补性味苦、温,入肝、肾经,补肾、活血、止血,主治肾虚型的疾病,其主要成分包括黄酮、三萜、酚酸及其苷类等。骨碎补可调节大鼠去卵巢所致的骨代谢高转换状态,能降低外周血清中 IL-1、IL-6 含量并提高降钙素水平^[39]。

枸杞子性味甘平,归肝、肾、肺经,滋补肝肾、明目、润肺。枸杞叶的主要成分为枸杞多糖,还含有黄酮类、生物碱、萜类、甾类等。其有效成分枸杞多糖可降低大鼠血清 IL-6 水平,升高 NOS 和 TGF- β 1 水平,发挥其调节骨代谢的作用^[40]。

巴戟天性微温,味辛、甘,归肾经,具有补肾助阳、强壮筋骨、祛风除湿的作用。巴戟天的化学成分有萜醌类、多糖类、氨基酸、烯醚萜及其苷类等。研究表明巴戟天能增加血清 E₂ 含量,具有雌激素样作用^[41]。其中巴戟天多糖可以增加骨钙、磷含量,提高 BMD,通

过降低 RANKL mRNA 的表达,提高 OPG mRNA 的表达,使 RANKL/OPG 值降低,达到抑制 OC 的激活和分化作用^[42]。

3 治疗 PMO 的中药复方

3.1 补肾宁心方(Bushen Ningxin Decoction, BSNXD) 由生地黄、知母、补骨脂、仙灵脾、巴戟天、枸杞子、酸枣仁、黄柏等组成,多年来被用于防治女性老年相关性疾病如 PMO。

BSNXD 在不影响血清 E_2 水平的情况下,能显著改善骨表型,增强骨形成,改善去势小鼠由于雌激素缺乏导致的骨量丢失,从而预防 PMO^[43]。去势可使小鼠免疫功能紊乱和骨重建失衡,表现为脾脏 $CD4^+$ $CD25^+$ $Foxp3^+$ Treg 数目下降及其特异性细胞因子 CTLA-4、TGF- β 及 IL-10 表达下调。笔者课题组的研究发现体内应用 BSNXD 逆转了去势手术后外周 $CD4^+$ $CD25^+$ $Foxp3^+$ Treg 数目下降趋势,显著增加了特异性细胞因子 CTLA-4、TGF- β 及 IL-10 的表达,腰椎、股骨骨小梁面积明显增加,OB 核内增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)平均荧光强度和阳性细胞百分率均显著增加^[44]。这提示 BSNXD 可有效促进体内 OB 增殖,从而显著改善 PMO 的免疫状态及骨形态。DHEA 是肾上腺分泌的甾体激素前体物质,它可通过抑制 $CD4^+$ T 细胞 TNF- α 的分泌来抑制 OC 生成,防止骨量流失^[45]。笔者课题组研究证实了 BSNXD 通过增加外周血 DHEA 水平,经 $ER\alpha$ 途径阻断 RANKL 诱导的 NFATc1 及 NF- κ B 信号通路抑制 OC 生成^[46,47]。此外,BSNXD 还可显著改善骨形态和骨免疫内环境,下调去势小鼠脾脏 $CD19^+$ B 细胞、 $CD14^+$ 单核细胞、 $CD8^+$ T 细胞比率,可直接促进间充质干细胞向 OB 分化,下调骨髓单核细胞对 OB 生成的抑制作用,增强 Treg 对间充质干细胞向 OB 分化的促进作用,使 OB 前体细胞 Runx2、I 型胶原、骨钙素、OSX 表达增强,下调 RANKL 表达,并使生成 OB 的 ALP 活性增加,骨矿结节的形成显著增多;BSNXD 增加 CTLA-4⁺ Treg 百分比,但不影响 $Foxp3^+$ Treg 百分比^[48]。IGF-1 可加强 BSNXD 的效应,其主要通过 PI3K 及 mTOR 信号途径来实现调控^[49]。另外,分析脾脏和骨髓中的淋巴细胞发现,BSNXD 可在不影响 $\gamma\delta$ T 细胞百分比的情况下增加 NK 细胞的比例,下调去势小鼠脾脏 B220⁺ B 细胞^[50]。

3.2 六味地黄汤 由熟地黄、山茱萸、山药、茯苓、泽泻、牡丹皮组成,其补泄合用,以补为主,滋阴补肾、填精益髓,可以较好地增加骨中钙磷沉积,提高骨

骼负载能力,并调节性腺轴,改善神经内分泌功能,延缓和治疗 PMO^[51]。

谢丽华等^[52]发现六味地黄丸可上调 PMO 肾阴虚证差异基因 ASB1、CLCF1 的表达,其治疗 PMO 肾阴虚证的机理可能与其上调 CLCF1 介导 JAK/STAT 信号通路调控下游 CBP 表达有关。肾阴虚证组用药前与正常对照组相比,差异表达基因 PRLR、JUN、JUNB、INSR 均下调;而用药后与用药前相比,差异表达基因有 25 条,其中 JUN、JUNB 治疗后明显上调。而这些基因的功能与免疫调节、细胞生长增殖及成骨生长关联,推断六味地黄丸通过调节 JAK/STAT 信号通路中免疫相关基因表达水平,提高机体免疫代谢功能,进而改善 PMO 的临床症状^[53]。另有研究表明,六味地黄汤改善 PMO 的机制之一可能与其方中山茱萸-牡丹皮药对 OB 中的 OPG 表达上调及 RANKL 表达下调有关^[54]。

3.3 二仙汤 补肾著名验方由仙茅、淫羊藿、巴戟天、知母、黄柏、当归组成,能温肾益精、滋阴降火、调理冲任,使阴阳调和。二仙汤通过调节“下丘脑-垂体-性腺轴”功能,促进体内 E_2 合成,升高血清 E_2 含量,降低下丘脑 GnRH 含量,推迟下丘脑-垂体-卵巢轴衰老的时间^[55]。其主要活性成分能明显提高降钙素浓度,降低骨吸收、增加骨形成、提高血钙浓度等,通过调节骨代谢各环节来预防骨质丢失,维持骨代谢平衡^[56]。

刘波等^[57]研究结果显示高、中、低剂量的二仙汤均显著提高 ALP 水平,降低血清酸性磷酸酶(acid phosphatase,ACP)水平,提高去卵巢大鼠的股骨三点弯曲应力和 L5 腰椎压缩载荷。二仙汤从促进骨形成、抑制骨吸收两个方面改善骨量减少的情况,并且呈浓度依赖性。其研究还发现二仙汤可提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)水平,清除自由基,降低脂质过氧化物含量,推测抗氧化应激可能是二仙汤防治骨质疏松症的机制之一。另有李旭斌^[58]研究表明,二仙汤使去势后大鼠血钙、I 型前胶原羧基端前肽、骨密度增加;骨钙素、尿脱氧吡啶酚,尿肌酐减少;尿脱氧吡啶酚/尿肌酐下降;I 型胶原交联 N 末端肽降低;组织病理形态学改善等。因此,二仙汤可以促进骨形成、抑制骨吸收,在骨重建过程中维持骨代谢平衡,提高骨密度,从而起到抗骨质疏松作用。

3.4 四物汤 妇科常用方,由熟地黄、当归、白芍、川芎组成,是补血调血、补肾生髓的良方。现代药理研究证实,四物汤中的多种中药成分均具有促进血液代谢作用,主要为果糖、芍药苷、阿魏酸、川芎嗪,且其补血作用与所含化学成分及相应比例均存在一定

的相关性^[59]。

临床试验证实四物汤在改善 PMO 患者骨代谢方面的效果显著,而且不良反应发生率无统计学意义^[60,61]。PMO 患者给予四物汤合并钙剂和维生素 D 治疗后,发现骨密度、I 型前胶原氨基端延长肽、骨钙素、I 型胶原羧基端降解产物、血清 25-羟基维生素和血清 E₂ 较治疗前改善,效果也明显优于单用钙剂、维生素 D 和植物雌激素的治疗。同时提示,四物汤加联合钙剂和维生素 D 治疗 PMO 可更有效抑制骨吸收,促进骨形成,提高骨密度,减轻疼痛,提高生活质量^[61]。吴三梅等^[62]临床研究显示水煎服用四物汤 6 个月的患者,骨折发生率明显降低,骨质疏松疼痛症状得到缓解。卢迪等^[63]利用 SD 大鼠颅骨原代培养 OB 研究四物汤的雌激素样效应及其分子机理,结果提示四物汤可通过 GPER/PI3K/AKT 通路发挥雌激素样效应,促进 OB 增殖,提高 GPER 介导下游信号分子 PI3K、p-Akt 的表达水平。

3.5 龟鹿二仙胶 补益剂,由鹿角、龟甲、人参、枸杞子组成,具有滋阴填精,益气壮阳之功效。现代药理研究表明,鹿角、龟甲是龟鹿二仙胶发挥药效的主要成分^[64]。有实验显示,人参和枸杞子虽无促进 II 型胶原合成或提高蛋白黏多糖表达作用,但与龟甲胶、鹿角胶合用,可使龟甲、鹿角药效显著加强^[65]。

尹恒^[66]研究了龟鹿二仙胶对 OB I 型胶原合成的促进作用及相关机制,结果显示龟鹿二仙胶组 OB 的 COL1A1 及 COL1A2 mRNA 水平增加, TGF- β_1 、TGF- β_2 、Smad3 蛋白表达增加,提示其通过上调 TGF- β /Smad 信号通路的上游蛋白 TGF- β_1 、TGF- β_2 及下游蛋白 Smad3 来实现通路的激活。钱哲^[67]亦发现,龟鹿二仙胶经 TGF- β /Smad3 信号通路促进胶原合成治疗 PMO,同时还观察到龟鹿二仙胶组斑马鱼 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、NF- κ Bp65、AP-1 含量降低,提示其可通过调控核转录因子 NF- κ B 和 AP-1 抑制炎症反应从而治疗骨质疏松。另有牛素生等^[68]发现龟鹿二仙胶含药血清组能促进大鼠骨髓基质干细胞增殖并诱导其向 OB 分化,其 ALP 活性显著高于对照组,其机制可能与增强 Fzd-2 表达、抑制 Axin-2 表达和激活 Wnt/ β -catenin 通路密切相关。

3.6 左归丸 补肾经典名方,其组成有枸杞子、龟甲胶、鹿角胶、牛膝、山药、山茱萸、熟地黄、菟丝子,有滋阴补肾之功效。研究表明,左归丸可对成骨与成脂的分化产生影响,其可促进衰老大鼠 rBMSCs 向成骨细胞分化,同时可抑制其向脂肪细胞分化^[69]。

周强等^[70-72]通过一系列实验探讨左归丸对

PMO 大鼠的作用机制,结果发现 PMO 大鼠股骨中的 GPR48、CREB、Notch1、BMP-9、BMP-2 和 Smad1 蛋白表达均有所下降,而给予左归丸治疗后,上述蛋白的表达均显著升高,从而推断左归丸可能通过对 CREB、Notch 及 BMP 等相关信号通路的调控来发挥其疗效作用。曲宁宁^[73]的实验证实左归丸可通过调控 TGF- β /Smad 信号通路诱导 PMO 大鼠骨髓基质干细胞成骨分化,并抑制其成脂分化。而基于代谢组学的研究还发现,左归丸抗 PMO 的作用机制还与色氨酸代谢及视黄醇代谢通路有关。Liu MJ 等^[74]发现左归丸治疗组可使骨质疏松模型大鼠的 Wnt1、LRP-5 和 β -catenin 蛋白水平较治疗前显著上升,从而提示左归丸可能通过上调 Wnt 通路中关键分子的表达来实现其治疗效果。

3.7 其他中药复方

补肾生骨颗粒的成分以强化腰府之品为主,具有补益肝肾、强筋健骨的作用,阴阳并补,标本兼顾,补中寓通,补而不滞,特别适合肾虚血瘀型的 PMO。研究发现补肾生骨颗粒能降低血清骨 ALP 水平及骨钙素,降低骨吸收及骨转换率,促进骨合成,改善骨代谢水平,延缓 PMO^[75]。

补肾益髓中药复方以鹿茸为君,配伍淫羊藿和牡蛎,补肾填髓、滋阴潜阳、强筋健骨。补肾益髓中药复方明显上调骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达,促进 OB 分化、成熟和骨形成,使骨密度升高,改善骨小梁显微形态结构,防治 PMO 效果显著^[76]。

4 结语

补肾疗法是治疗 PMO 的基本治法,补肾中药通过多环节、多途径调节骨形成与骨吸收,提高骨密度、骨矿含量,改善 PMO 症状。中药在防治 PMO 上具有自身的优势,其治疗着重于整体,可同时调节内分泌、免疫等多个系统。目前关于 PMO 的实验研究方向大同小异,基本以内分泌角度解释补肾中药治疗 PMO 的机制,今后还可在骨免疫学机制上做进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 黄宏兴,付丰平,邓伟民,等. 广东省女性绝经后原发性骨质疏松症调查分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(4): 344-346.
- [2] 林晓生,王海燕,肖庆华,等. 717 名围绝经期妇女骨量丢失情况的流行病学调查[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(3): 363-367.
- [3] 刘霞,孙青,周小兰. 扬州大学 40~60 岁中老年女性骨健康现状及其影响因素的研究[J]. 体育科技文献通报, 2016, 24(11): 83-86.

- [4] 梁文娜, 李西海, 李亚婵, 等. 基于证素辨证探讨绝经后骨质疏松症中医病理状态辨识 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(1): 72-74.
- [5] 沈自尹. 有关证与神经内分泌免疫网络的研究 [J]. 中医药学刊, 2003, 21(1): 10-11.
- [6] Hughes DE, Dai A, Tiffée JC, et al. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF- β [J]. Nat Med, 1996, 2(10): 1132-1136.
- [7] Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts [J]. Science, 2000, 289(5484): 1504-1508.
- [8] 李微, 张博, 张雨薇, 等. 雌激素调节骨代谢作用的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(2): 262-266.
- [9] 孙伟明, 刘爽. 雌激素影响绝经后骨质疏松分子机制研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(2): 499-502.
- [10] Shao J, Zhang Y, Yang T, et al. HIF-1 α disturbs osteoblasts and osteoclasts coupling in bone remodeling by up-regulating OPG expression [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2015, 51(8): 808-814.
- [11] Miyauchi Y, Sato Y, Kobayashi T, et al. HIF1 α is required for osteoclast activation by estrogen deficiency in postmenopausal osteoporosis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(41): 16568-16573.
- [12] Yin X, Wang X, Hu X, et al. ER β induces the differentiation of cultured osteoblasts by both Wnt/ β -catenin signaling pathway and estrogen signaling pathways [J]. Exp Cell Res, 2015, 335(1): 107-114.
- [13] Matsumoto Y, Otsuka F, Takano-Narazaki M, et al. Estrogen facilitates osteoblast differentiation by upregulating bone morphogenetic protein-4 signaling [J]. Steroids, 2013, 78(5): 513-520.
- [14] Thouverey C, Caverzasio J. Ablation of p38 α MAPK signaling in osteoblast lineage cells protects mice from bone loss induced by estrogen deficiency [J]. Endocrinology, 2015, 156(12): 4377-4387.
- [15] 郭晓宇, 李唯, 陈克明, 等. 淫羊藿苷通过 PI3K/AKT-eNOS 信号途径促进大鼠骨髓基质细胞的成骨性分化 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(7): 966-970.
- [16] 刘珊, 李劲平, 杨琳, 等. 淫羊藿苷对去势大鼠 ER β 基因表达及血清 E $_2$ 水平的影响 [J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(1): 150-152.
- [17] 武密山, 赵素芝, 任立中, 等. 淫羊藿苷元磷脂复合物防治去卵巢骨质疏松大鼠骨丢失和提高骨质量的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(13): 2163-2168.
- [18] 兰波, 刘亭, 谢玉敏, 等. 两种杜仲黄酮类化合物对成骨细胞 OPG/RANKL 及成骨相关转录因子的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 180-184.
- [19] 杨琳, 曾英, 李劲平, 等. 补骨脂素对去势雌鼠 E $_2$ 、ER β 、TNF- α 、IL-17 的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(4): 387-392, 395.
- [20] 王可可, 龚其海. 淫羊藿化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(19): 16-18.
- [21] 杨岩冰, 曾英, 李劲平, 等. 补骨脂-淫羊藿药对去卵巢骨质疏松型大鼠血清 IL-10、TNF- α 水平的影响 [J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(3): 159-161.
- [22] 徐厚明, 倪俊杰. 142 例中药引起肝功能异常病例分析 [J]. 药学与临床研究, 2011, 19(3): 275-276.
- [23] 牟丽秋, 杜俊, 胡旖耘, 等. 杜仲中槲皮素、京尼平苷及桃叶珊瑚苷对小鼠成骨样细胞系 MC3T3-E1 增殖和分化的影响 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(2): 165-169.
- [24] 王建华, 郭敏, 郑丽, 等. 补骨脂素干预大鼠成骨细胞骨保护素/核因子 κ B 受体激活因子配体 mRNA 的表达 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(37): 6927-6930.
- [25] 柴丽娟, 樊娜, 王虹, 等. 补骨脂单体成分对体外培养成骨细胞和破骨细胞分化的影响 [J]. 天津中医药, 2015, 32(5): 299-303.
- [26] 杨琳, 曾英, 李劲平, 等. 补骨脂素对去势骨质疏松雌鼠 TGF- β 的影响 [J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(2): 155-157.
- [27] 李劲平, 王小静, 曾英, 等. 补骨脂定抗实验性绝经后骨质疏松的效应及作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(11): 1816-1819.
- [28] 王莹, 巴戟天, 葫芦巴和补骨脂对去卵巢大鼠骨质疏松症的作用及机理探讨 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [29] 田文杨, 兰珊, 张力, 等. 补骨脂的安全性评价与风险控制措施探讨 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4059-4066.
- [30] 张冬青, 王海宝, 王淑芳, 等. 毛蕊异黄酮生物活性的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(22): 4339-4345.
- [31] Huo J, Sun X. Effect of astragalus polysaccharides on ovariectomy-induced osteoporosis in mice [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(4): doi: 10.4238/gmr15049169.
- [32] 简静. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷通过 BMP/Wnt 信号通路促进 ST2 细胞向成骨细胞分化 [D]. 武汉: 湖北大学, 2014.
- [33] 许闯. 黄芪多糖通过 Nrf-2 途径抑制过氧化氢诱导的 MC3T3-E1 细胞凋亡的研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2015.
- [34] 程志安, 吴燕峰, 黄智清, 等. 续断对成骨细胞增殖、分化、凋亡和细胞周期的影响 [J]. 中医正骨, 2004, 16(12): 1-3, 65.
- [35] Ke K, Li Q, Yang X, et al. Asperosaponin VI promotes bone marrow stromal cell osteogenic differentiation through the PI3K/AKT signaling path-

- way in an osteoporosis model [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35233.
- [36] Niu Y, Li Y, Huang H, et al. Asperosaponin VI, a saponin component from *Dipsacus asper* wall, induces osteoblast differentiation through bone morphogenetic protein-2/p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway [J]. *Phytother Res*, 2011, 25(11): 1700–1706.
- [37] Niu YB, Kong XH, Li YH, et al. Radix *Dipsaci* total saponins stimulate MC3T3-E1 cell differentiation via the bone morphogenetic protein-2/MAPK/Smad-dependent Runx2 pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(6): 4468–4472.
- [38] 李家, 林晓晨, 王雅冰, 等. 续断皂苷 VI 对小鼠骨髓基质干细胞成骨分化的影响 [J]. *口腔颌面修复学杂志*, 2017, 18(1): 28–32.
- [39] 田刚, 张治国, 付小伟, 等. 骨碎补对卵巢切除所致大鼠骨质疏松症的治疗作用及其机理探讨 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2013, 19(1): 47–49.
- [40] 任小军. 枸杞多糖对去势雌性骨质疏松症大鼠血清中细胞因子的影响 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2011.
- [41] 王寅, 张巧艳. 巴戟天雌激素样作用的实验研究 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(3): 527–528.
- [42] 刘亦恒, 张寿, 朱振标, 等. 巴戟天多糖对去卵巢大鼠核因子- κ B 受体激活因子配体和骨保护素表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(16): 4456–4457.
- [43] Wang L, Qiu XM, Gui YY, et al. Bu-Shen-Ning-Xin decoction ameliorated the osteoporotic phenotype of ovariectomized mice without affecting the serum estrogen concentration or uterus [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 5019–5031.
- [44] 王凌, 孙婵, 邱学敏, 等. 补肾宁心方诱导去势鼠 Treg 扩增并促进成骨细胞 PCNA 表达 [J]. *现代免疫学*, 2011, 31(3): 187–191.
- [45] Zhang N, Gui Y, Qiu X, et al. DHEA prevents bone loss by suppressing the expansion of CD4⁺ T cells and TNF α production in the OVX-mouse model for postmenopausal osteoporosis [J]. *Biosci Trends*, 2016, 10(4): 277–287.
- [46] Gui Y, Qiu X, Xu Y, et al. Bu-Shen-Ning-Xin decoction suppresses osteoclastogenesis via increasing dehydroepiandrosterone to prevent postmenopausal osteoporosis [J]. *Biosci Trends*, 2015, 9(3): 169.
- [47] Wang L, Qiu XM, Gui YY, et al. Bu-Shen-Ning-Xin decoction: inhibition of osteoclastogenesis by abrogation of the RANKL-induced NFATc1 and NF- κ B signaling pathways via selective estrogen receptor alpha [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 3755–3766.
- [48] Qiu XM, Wang L, Gui YY, et al. BSNXD modulates mesenchymal stem cell differentiation into osteoblasts in a postmenopausal osteoporotic mouse model [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 4408.
- [49] 邱学敏. 成骨细胞形成及其异常调控导致绝经后骨质疏松症的分子机制 [D]. 上海: 复旦大学, 2013.
- [50] Qiu X, Gui Y, Zhang N, et al. Effects of Bu-Shen-Ning-Xin Decoction on immune cells of the spleen and bone marrow in ovariectomized mice [J]. *Biosci Trends*, 2016, 10(5): 400.
- [51] 韩旭华, 王世民, 张乃钺. 六味地黄汤对骨质疏松大鼠骨生物力学特性及钙磷含量的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2002, 18(3): 1–2.
- [52] 谢丽华, 范超领, 李生强, 等. 六味地黄丸对绝经后骨质疏松症肾阴虚证差异表达基因的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(8): 971–976, 985.
- [53] 谢丽华, 陈娟, 李生强, 等. 六味地黄丸对绝经后骨质疏松症肾阴虚证 JAK/STAT 信号通路基因的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(7): 741–746.
- [54] 戴冰, 李玉星, 张嘉妮, 等. 六味地黄汤及其“补泻”药对绝经后骨质疏松大鼠股骨和肾脏中 OPG 及 RANKL 蛋白表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(2): 116–122.
- [55] 叶丙霖, 李盛华, 李淑玲, 等. 二仙汤联合依降钙素治疗绝经期妇女骨质疏松症临床研究 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2016, 23(6): 23–26.
- [56] 苏恩洁. 二仙汤治疗绝经妇女骨质疏松症机制 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17(4): 172–174.
- [57] 刘波, 陈明, 李姗姗, 等. 二仙汤对去卵巢大鼠骨质疏松的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(2): 129–132.
- [58] 李旭斌. 二仙汤对去势后大鼠骨质疏松的影响的实验研究 [D]. 辽宁: 辽宁医学院, 2014.
- [59] 高月, 马增春, 梁乾德, 等. 四物汤的方证结合研究 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2010, 12(2): 211–216.
- [60] 张玮琛, 桂玉然, 庞艳, 等. 四物汤加减治疗绝经后骨质疏松症的临床观察 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25(26): 2882–2884.
- [61] 黄青会. 四物汤加减治疗绝经后骨质疏松症效果观察 [J]. *社区医学杂志*, 2017, 15(6): 19–21.
- [62] 吴三梅, 姜全红, 杨柳青, 等. 四物汤治疗绝经后骨质疏松症患者的护理干预效果 [J]. *中国医药导报*, 2015, 12(23): 142–145.
- [63] 卢迪, 崔丽霞, 石丹宁, 等. 基于 GPER/PI3K/AKT 通路探究四物汤对成骨细胞的雌激素样效应及其分子机

- 制[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(3): 375-382.
- [64] 张郝青, 吴晶晶, 丁舸. 试论龟鹿二仙胶核心药组配伍合理性[J]. 中医研究, 2015, 28(2): 1-3.
- [65] 李楠, 尹玉彪, 雒焕生, 等. 龟鹿二仙胶及其拆方对豚鼠软骨细胞 II 型胶原蛋白多糖合成的影响[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(11): 2524-2528.
- [66] 尹恒. 基于调控 TGF- β /smad 信号转导龟鹿二仙胶促进成骨细胞合成 I 型胶原蛋白改善骨质疏松的实验研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [67] 钱哲. 基于 TGF- β 与 NF- κ B 信号探讨龟鹿二仙胶对 GIOP 斑马鱼治疗作用机制[D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [68] 牛素生, 李楠, 张燕, 等. 龟鹿二仙胶含药血清诱导大鼠骨髓基质干细胞成骨分化的作用及机制[J]. 中国医药导报, 2015, 12(31): 8-12, 169.
- [69] 黄进, 徐志伟, 詹菲, 等. 左归丸对衰老大鼠骨髓间充质干细胞成骨和成脂分化的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(1): 5-8.
- [70] 周强, 孙鑫, 邓洋洋, 等. 左归丸对绝经后骨质疏松症大鼠骨组织中 GPR48、CREB 表达影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(9): 1782-1784.
- [71] 周强, 孙鑫, 邓洋洋, 等. 左归丸对去卵巢致绝经后骨质疏松症大鼠骨组织中 Notch1、BMP9 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7): 2782-2784.
- [72] 周强, 朱嘉琦, 孙鑫, 等. 左归丸对去卵巢致绝经后骨质疏松症大鼠骨组织中 BMP2、Smad1 表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(12): 2659-2661.
- [73] 曲宁宁. 左归丸抗去卵巢大鼠骨质疏松症物质基础及作用机制研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2016.
- [74] Liu MJ, Li Y, Pan JH, et al. Effects of Zuogui Pill on Wnt signal transduction in rats with glucocorticoid-induced osteoporosis [J]. J Tradit Chin Med, 2011, 31(2): 98-102.
- [75] 王丽丽, 房经武, 王金国. 补肾生骨颗粒对肾虚血瘀型绝经后骨质疏松症 BMD、 E_2 、BALP、N-MID 的影响[J]. 世界中医药, 2017, 12(2): 293-298.
- [76] 王剑, 郑洪新, 刘研, 等. 补肾益髓中药复方对去卵巢骨质疏松症大鼠骨组织 Runx2 mRNA 及蛋白表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(8): 890-895.

(收稿: 2018-07-19 在线: 2019-08-19)

责任编辑: 汤 静

Chinese Journal of Integrative Medicine (《中国结合医学杂志》)

2018 年 SCI 影响因子为 1.445

2019 年 6 月 20 日科睿唯安公布 2018 年 Journal Citation Reports, Chinese Journal of Integrative Medicine (CJIM,《中国结合医学杂志》)影响因子为 1.445,较 2017 年稳步提升。

Chinese Journal of Integrative Medicine 创办于 1995 年,2007 年被 SCI 收录。本刊由中国中医科学院和中国中西医结合学会主办,国家中医药管理局主管,主编为陈可冀院士。编委会由国内外 124 名专家组成,大陆以外编委 75 名,占比为 60%,充分显示了国际化办刊理念。在此,我们向广大期刊编委、审稿专家、作者和读者以及长期关注和支持我刊发展的各界人士表示诚挚感谢!

本刊 2012—2015 年接受中国科协英文期刊国际影响力提升计划 C 类资助。2012—2018 年被中国知网评选为最具国际影响力学术期刊。本刊也是国际出版伦理委员会(Committee on Publication Ethics,COPE)成员;采用 Scholar One 系统实现所有来稿网上投稿。

本刊以创办国际化期刊为目标,面向结合医学基础与临床各领域,不断促进结合医学发展。欢迎大家积极投稿、赐稿并引用本刊论文。在今后的工作中,我们将力争为广大读者、作者提供更好的服务!