

中药有效成分治疗骨质疏松症的基础研究进展

徐洁^{1,2} 王敏智² 车玉梅^{1,2} 吕爱平² 何小鹏² 马超英¹

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以骨量低下,骨微结构破坏,导致骨脆性增加,易发生骨折为特征的全身性代谢性骨病,多见于老年人群和绝经后妇女^[1]。OP的产生源自体内骨代谢失衡。任何原因由破骨细胞激活骨吸收活动增强,导致骨量丢失增加,可产生 OP;或由成骨细胞功能受到抑制,骨生成活动降低,形成骨量不足,亦可导致 OP^[2]。

目前,防治 OP 的药物大致可分为 3 类,包括雌激素、降钙素、双膦酸盐类等抑制骨吸收;氟化物、甲状旁腺素等刺激骨形成;钙剂、维生素 D 等促进骨矿化。上述药物长期服用均有不少不良反应,易引起并发症。

中医学对 OP 早有论述,《内经》:“骨者,髓之府,腰者,肾之府,肾主骨、肾主骨髓”。中医药防治 OP 具有整体疗效好、副反应小的优势,已日渐成为国内外关注的热点。长期实验研究显示中药中具有抗骨质疏松效应的有效成分众多,包括黄酮类(淫羊藿总黄酮、骨碎补总黄酮等)、皂苷类(人参皂苷、牛膝皂苷等)、苯并吡喃类(蛇床子素、补骨脂素等)等。中药有效成分活性强、疗效显著,本文就常见中药有效成分对 OP 的调节作用作一综述。

1 黄酮类 黄酮广泛存在于植物界,是许多中草药的有效成分。目前文献报道具有抗骨质疏松效应的黄酮类成分众多,主要有淫羊藿总黄酮、骨碎补总黄酮、葛根素、淫羊藿苷、柚皮苷等。

1.1 淫羊藿总黄酮 淫羊藿总黄酮既可提高去卵巢大鼠的股骨及腰椎骨密度,又可增加维甲酸所致骨质疏松大鼠的骨皮质厚度及骨小梁数量,可见其对骨质疏松动物的骨形态有良好的改善作用。

研究报道,淫羊藿总黄酮通过上调成骨细胞骨保护素(osteoprotegerin, OPG) mRNA 表达、下调核因子- κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL) mRNA 表达,刺激成骨细胞增殖,抑制破骨细胞分化成熟,从而

抑制骨吸收^[3]。淫羊藿总黄酮亦可调节骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)的功能,具体表现在提高成骨早期分化因子 Runx2 mRNA 表达,下调脂肪形成关键基因 PPAR- γ 2 mRNA 表达,通过抑制 dickkopf-related protein 1 (DKK-1) 蛋白表达调控 BMSCs 成骨和成脂分化平衡^[4]。

淫羊藿总黄酮可促进去卵巢大鼠骨组织核心结合因子(core binding factor al, Cbfa1)表达及 I 型胶原蛋白分泌,同时提高骨局部转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)和纤维母细胞生长因子 2(fibroblast growth factor 2, FGF-2)的蛋白表达,并通过降低凋亡调控基因 Fas 的蛋白表达,抑制骨细胞凋亡^[5]。

1.2 骨碎补总黄酮 谢雁鸣等^[6]以去卵巢大鼠为模型,连续灌服骨碎补总黄酮 6 个月后,大鼠骨密度提高,骨小梁面积增加,骨小梁吸收百分比和骨小梁矿化率均有所降低。

伍海昭等^[7]研究揭示骨碎补总黄酮能提高去卵巢大鼠 I 型胶原在骨内的表达,降低骨转换。孙影等^[8]研究发现骨碎补总黄酮可降低去卵巢大鼠血清中瘦素表达,抑制骨吸收。除此之外,骨碎补总黄酮还可上调骨髓微环境中 Smad1、Smad5 mRNA 的表达水平以及成骨细胞 Cbfa1 表达水平,促进雄激素受体(Androgen Receptor, AR) mRNA 表达,从而有效促进骨生成^[9]。曹大宁^[10]观察去势大鼠连续 15 周给药后血清骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)和骨钙素(bone gla protein, BGP)的表达升高,结果表明骨碎补总黄酮对 BMP-2 和 BGP 表达有促进作用,而 BMP-2 又可诱导 BMSCs 向成骨细胞分化,进而促进成骨细胞分化成熟。另外,骨碎补总黄酮还可抑制去卵巢大鼠血清肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)和 IL-6 表达,促进 OPG、IL-4 分泌,有效调控各细胞因子水平发挥抗骨质疏松效应^[11]。

1.3 葛根素 葛根素具有雌激素样作用,能有效改善去势大鼠的骨密度和骨强度,促进骨损伤修复及新骨生成。

基金项目:科技部国家“重大新药创制”科技重大专项项目(No. 2009ZX09502-019);国家自然科学基金资助项目(No.30902000)

作者单位:1. 西南交通大学生命科学与工程学院(成都 610031);
2. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所(北京 100700)

通讯作者:何小鹏, Tel: 13466692889, E-mail: hxj19@126.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2014. 04. 0503

董必晟等^[12]研究葛根素对成骨细胞增殖分化的影响,结果表明葛根素可促进 OPG/RANKL 系统的表达,进而促进成骨细胞的增殖和分化。王久亮等^[13]的研究显示葛根素既可通过影响碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性促进成骨细胞分化,又可通过雌激素受体介导成骨细胞骨生成效应。另有研究显示葛根素对成骨细胞的影响存在双向性,即低浓度($10^{-5} \sim 10^{-8}$ mol/L)刺激骨生成,高浓度($10^{-3} \sim 10^{-4}$ mol/L)抑制骨生成^[14]。

葛根素作为抗炎因子,能够显著降低去卵巢大鼠血清中 TNF- α 和 C 反应蛋白含量,降低 IL-6 mRNA 表达。张伟等^[15]研究发现葛根素可提高去势大鼠股骨及主动脉两组织中一氧化氮合酶的表达,增加内源性 NO 的合成与释放,因此可通过 NO 通路维持大鼠的成骨功能。另外,葛根素还可调节胰岛素生长因子 1(insulin-like growth factor 1, IGF1) 的表达,加快去卵巢大鼠骨质疏松性骨折的愈合^[16]。

1.4 淫羊藿苷 张金娟等^[17]以去卵巢小鼠为模型,连续灌胃淫羊藿苷 2 个月后发现淫羊藿苷可提高小鼠的骨小梁宽度、骨皮质厚度及骨小梁面积,抑制骨量丢失。

淫羊藿苷一方面可直接促进成骨细胞增殖、分化,刺激成骨细胞 I 型胶原分泌和 BGP 合成,上调与成骨相关的转录因子 Runx-2 和 Osterix mRNA 表达^[18];另一方面又可诱导 BMSCs 的成骨性分化,提高 ALP 活性,上调 TGF- β 、BMP-2 的表达量^[19]。研究报道淫羊藿苷可减少由 RANKL 和 M-CSF 诱导生成的破骨细胞数量,上调成骨细胞 OPG 基因表达,改变 RANKL 与 OPG 的相对比例,降低破骨细胞活性,发挥骨吸收抑制作用^[20]。

淫羊藿苷可降低骨质疏松大鼠 IL-6、TRAP 表达,上调骨组织 Cbfa1 和 Smad4 表达,通过 BMP-2/Smad4 信号通路调节骨生成过程^[21]。

1.5 柚皮苷 李劲平^[22]、武密山等^[23]研究柚皮苷对小鼠成骨细胞的影响,证实高浓度的柚皮苷可提高成骨细胞的 ALP 活性,上调 c-fos mRNA 表达,促进成骨细胞生成,增强骨更新。

2 皂苷类 具有抗骨质疏松效应的皂苷类成分主要包括人参皂苷、牛膝皂苷、续断皂苷、知母皂苷等。

2.1 人参皂苷 人参皂苷 Rh2 和人参皂苷 Rb1 均可抑制 RANKL 所致的破骨细胞 NF κ B 通路活化,下调与破骨细胞分化密切相关的两种核因子 c-fos 和活化 T 细胞核因子(NFATc1)表达,抑制破骨细胞形成。此外,人参皂苷 Rh2 还可活化 PKD/p38 MAPK

通路,促进成骨细胞分化^[24]。人参皂苷 Rb1 上调大鼠成骨细胞中 OPG/RANKL 的比值,抑制破骨细胞分化^[25]。吕祥等^[26]采用皮下注射甲泼尼龙建立大鼠 OP 模型,给药人参皂苷 9 周后检测各指标,结果显示人参皂苷高剂量组大鼠 BGP、降钙素(calcitonin, CT)及血清 Ca 水平均升高,腰椎及股骨骨密度显著增高,说明人参皂苷可有效拮抗糖皮质激素性骨质疏松大鼠的骨丢失。人参皂苷可通过增加成骨细胞数量,提高细胞内 ALP 活性和 cAMP 含量有效拮抗去卵巢大鼠骨质疏松^[27]。人参皂苷还能促进小鼠 BMSCs 体外增殖,上调 BMP-2 mRNA 表达,加速细胞周期运转和 DNA 合成,其信号转导可能与雌激素受体介导途径及 MAPK-ERK1/2 通路相关^[28]。

2.2 牛膝总皂苷 维甲酸所致骨质疏松大鼠给药牛膝总皂苷后,大鼠骨密度增加,骨钙、骨磷含量升高,ALP 活性和 BGP 水平均有所提高,尿中羟脯氨酸水平降低,表明其对维甲酸所致 OP 有防治作用^[29]。

2.3 续断总皂苷 去势大鼠在给药续断皂苷后进行骨密度和骨生物力学的测定,结果显示大鼠股骨和腰椎骨密度均增加。郑志永^[30]通过观察续断皂苷对成骨细胞增殖和分化的影响,发现一定浓度范围的续断皂苷可促进成骨细胞增殖,且浓度为 100 μ g/mL 时可促进 ALP 分泌。

3 苯并吡喃类

3.1 蛇床子素 蛇床子素可提高去卵巢大鼠的骨密度,增加骨量,改善骨显微结构,有效防治骨高转换型 OP,维持骨代谢平衡^[31]。大量研究表明,蛇床子素既能诱导成骨细胞矿化成熟,又能促进破骨细胞凋亡。明磊国等^[32]培养新生大鼠颅骨成骨细胞并检测相关因子表达,结果显示蛇床子素能显著提高成骨细胞的 Runx-2、bFGF、IGF-I、Osterix 基因表达量,提高 ALP 活性,促进 BGP 分泌,增强细胞成骨性活动。张巧艳等^[33]也对新生大鼠颅骨成骨细胞进行了研究,发现蛇床子素能够抑制成骨细胞自发地或在炎性细胞因子及 LPS 刺激下产生 NO、IL-1 及 IL-6 而调节成骨细胞功能。蛇床子素还可通过诱导 p38 及 ERK1/2 活化,激活 β 连环蛋白-BMP-2 通路调节成骨细胞分化,提高其生物性能^[34]。蛇床子素能够影响 OPG/RANKL 系统,抑制破骨细胞成熟分化过程中的关键蛋白 JNK1/2 磷酸化水平,从而影响其信号传导,抑制骨吸收。

此外,蛇床子素能显著提高去卵巢大鼠血清中 CT、TGF- β 水平,降低甲状旁腺激素水平,从而恢复机体激素和细胞因子间的平衡^[35]。

3.2 补骨脂素 补骨脂素具有植物雌激素样作用,可促使成骨细胞由 G₁ 期向 S 期、G₂ 期转化,同时改变 OPG/RANKL 比例,抑制破骨细胞分化成熟,增强骨更新^[36]。林强^[37]研究证实补骨脂素可直接诱导 BMSCs 向成骨细胞分化,促进 ALP 分泌使分化过程中的成骨细胞不断成熟,同时上调 TGF- β mRNA 表达,增强 BMSCs 的骨向分化能力。林资淳^[38]通过研究成骨细胞-破骨细胞共育系统,发现补骨脂素可提高共育系统中成骨细胞 IL-1 mRNA 的表达水平,且浓度为 5 μ mol/L 时,显著促进成骨细胞增殖。

4 讨论 据统计,全世界约 2 亿人患有 OP,其发病率已跃居常见病、多发病的第七位。我国有 OP 患者约 9000 万人,预计到 2050 年人数将激增至 2 亿多^[39]。同时,每年因 OP 而并发骨折的人数也日趋增多,这将成为未来医疗和社会的重大问题。所以,OP 的防治已刻不容缓。

上述所列中药有效成分对 OP 的调节机制大致如下:(1)直接促进成骨细胞增殖分化;(2)直接抑制破骨细胞增殖分化;(3)类雌激素样作用;(4)调节与 OP 相关的细胞因子释放;(5)影响与 OP 相关的基因表达。各机制间相互协同发挥抗骨质疏松效应。然而,目前的研究热点多集中在原发性 OP,对继发性 OP 的研究报道较少。在进行骨细胞培养药效学研究时,相关检测指标较少,实验证据链部分环节缺失、不足,没有形成有效的完整证据链,同一中药治疗 OP 的细胞学实验结果与动物实验结果少有相互印证的研究,细胞学实验偏破骨细胞的较多,对成骨细胞的促分化、生成功能的研究尚少;而动物实验偏向骨形态计量指标和血生化指标测定,对骨力学结果的研究尚未引起足够重视。此外,目前中药防治 OP 多为针对单方验方的研究,而未形成规模性的研究,广泛应用于临床的中成药较少,且实验设计较多重复。另一方面,中药有效成分治疗 OP 的基础研究成果应用转化也存在诸多问题。对确有疗效的中药成分,难以进入下一步的中试研究阶段,多停留于药效探索阶段;对初步发现有效成分,基础研究系统性不足。

因此,为解决上述问题,需要从多方面着手。首先要转变和完善研究思路,明确中药治疗 OP 的起效环节,进一步强化中药药理学和生物药剂学对防治骨质疏松的常用草药及中成药进行比较性研究,筛选出药精效佳的中药组方、单味药物或其有效组分,进行细胞学实验和动物实验,证明该中药对 OP 的药效。其次要广泛开展多层次的机制研究,借助现代生物学技术,

依托基因组学、蛋白质组学和代谢组学等各种组学技术平台,深入挖掘药效机制,阐明中药在基因、蛋白和代谢物等不同层次上对骨代谢失衡的修复作用。再次要注重应用和转化研究,申请相关科研基金,加强与中药企业的科研合作,努力追求将基础研究成果转化为治疗 OP 的中药新药。

参 考 文 献

- [1] Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects [J]. J Clin Invest, 2005, 115(12): 3318-3325.
- [2] 崔燎,吴铁. 骨质疏松药理学动物实验与图谱[M]. 北京: 科学出版社, 2011:15-17.
- [3] Chen BL, Xie DH, Wang ZW. Effect of total flavones of *Epimedium* on expression of bone OPG, OPGL mRNA in ovariectomized rats [J]. China J Orthopaedics Traumatol, 2009, 22(4): 271-273.
- [4] 许应星,许兵,吴岩,等. 淫羊藿总黄酮对去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞成骨和成脂分化中 DKK1 蛋白动态表达的影响 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2010, 3(4): 276-284.
- [5] 肖润梅,陈勇. 淫羊藿总黄酮联合杜仲总黄酮对维甲酸鼠骨代谢的影响 [J]. 实用老年医学, 2008, 22(3): 199-201.
- [6] 谢雁鸣,鞠大宏,赵晋宁. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠骨密度和骨组织形态计量学影响 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 59-62.
- [7] 伍海昭,陈海啸,林鹏,等. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠 I 型胶原的表达及代谢产物的影响 [A], 2011 年浙江省骨质疏松与骨矿盐疾病学术年会暨《骨质疏松症诊治进展》专题研讨会 [C]. 浙江嘉兴, 2011.
- [8] 孙影,杨丽,吕辰鹏,等. 骨碎补总黄酮对去卵巢骨质疏松模型大鼠血清中瘦素、白细胞介素 6、前列腺素 E₂ 及骨组织中 β_2 -肾上腺素受体的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(4): 755-758.
- [9] 刘天舒,李章华,陈友浩,等. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠骨组织 Cbfa1 mRNA 表达的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(5): 411-415.
- [10] 曹大宇. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠骨组织骨形态蛋白-2 和血清骨钙素表达的影响 [D]. 长沙:中南大学, 2008.
- [11] 谢雁鸣,许勇钢,赵晋宁,等. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠骨密度和细胞因子 IL-6、IL-4、TNF α 水平的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(1): 34-37.
- [12] 董必晟,孙玉明,詹秀琴. 葛根素对于体外培养成骨细胞 OPG/RANKL 基因系统表达的影响 [J]. 吉林中医药, 2012, 32(4): 388-390.
- [13] 王久亮,郑忠志,李灵芝,等. 葛根素对大鼠成骨细胞增

- 殖和分化的影响 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(36): 7138-7141.
- [14] 王昌, 汤旭磊, 陈克明, 等. 葛根素在体外对成骨细胞增殖和分化的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(33): 6102-6106.
- [15] 张伟, 汤旭磊, 田泉. 葛根素对去卵巢大鼠股骨及主动脉一氧化氮合酶亚型表达的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11(4): 88-92.
- [16] 周强, 付庭斌. 去卵巢骨质疏松性骨折大鼠胰岛素样生长因子 1 表达与葛根素的干预效应 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(32): 6406-6409.
- [17] 张金娟, 文娟, 张贵林, 等. 淫羊藿苷对骨质疏松模型小鼠骨组织形态计量学指标的影响 [J]. 贵州医药, 2010, 34(5): 404-405.
- [18] 翟远坤, 李志忠, 陈克明, 等. 淫羊藿苷对体外培养大鼠颅骨成骨细胞增殖、分化及成熟的影响 [J]. 中药材, 2011, 34(6): 917-922.
- [19] 吴昊, 查振刚, 姚平, 等. 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞骨向诱导的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(4): 410-415.
- [20] 张秀珍, 杨黎娟. 淫羊藿甙对大鼠成骨细胞护骨素、RANKL 表达的影响 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(3): 222-225.
- [21] Liang W, Lin M, Li X. Icariin promotes bone formation via the BMP-2/Smad4 signal transduction pathway in the hFOB 1.19 human osteoblastic cell line [J]. Int J Mol Med, 2012, 30(4): 889-895.
- [22] 李劲平, 清林, 莫新民, 等. 柚皮苷对绝经后骨质疏松症大鼠骨生物力学和骨密度的影响 [J]. 现代医药卫生, 2012, 28(5): 683-684.
- [23] 武密山, 赵素芝, 任立中, 等. 柚皮苷对大鼠成骨细胞增殖及 c-fos、c-jun 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(5): 677-681.
- [24] Kim DY, Jung MS, Park YG. Ginsenoside Rh2 (S) induces the differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells through activation of PKD and p38 MAPK pathways [J]. BMB Reports, 2011, 44(10): 659-664.
- [25] 王俊俊, 江洋珍, 梁继超, 等. 人参皂苷 Rb1 对大鼠成骨细胞增殖、分化及 OPG/RANKL mRNA 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(6): 939-942.
- [26] 吕祥, 杜娟, 程彬彬, 等. 人参皂苷抗糖皮质激素诱发骨质疏松的效应及机制研究 [J]. 世界中医药, 2012, 7(2): 166-168.
- [27] Gong YS, Chen J, Zhang QZ. Effect of 17beta-oestradiol and ginsenoside on osteoporosis in ovariectomized rats [J]. J Asian Nat Prod Res, 2006, 8(7): 649-656.
- [28] 彭彬. 人参皂苷 Re 对小鼠骨髓间充质干细胞体外增殖的雌激素样作用 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2011.
- [29] 任心慈, 徐先祥, 许杜鹃. 牛膝总皂苷防治实验性骨质疏松作用研究 [J]. 安徽医药, 2010, 14(10): 1133-1135.
- [30] 郑志永. 续断苷对人成骨细胞增殖和分化作用研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2006, 30(5): 388-389.
- [31] 鲍君杰, 谢梅林, 朱路佳. 蛇床子素治疗去卵巢大鼠骨质疏松的实验研究 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(4): 591-592.
- [32] 明磊国, 王鸣刚, 陈克明, 等. 蛇床子素对体外培养成骨细胞成骨相关因子表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27(2): 53-56.
- [33] 张巧艳, 秦路平, 田野苹, 等. 蛇床子素对新生大鼠颅盖骨成骨细胞功能的调节作用 [J]. 中国药理学通报, 2003, 19(4): 384-387.
- [34] Kuo PL, Hsu YL, Chang CH. Osteole-mediated cell differentiation through bone morphogenetic protein-2/p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway in human osteoblast cells [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2005, 314(3): 1290-1299.
- [35] 汤群芳, 孔令军, 顾振纶, 等. 蛇床子素抑制大鼠骨质疏松的实验研究 [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1700-1702.
- [36] 安亚兰, 王建舫, 许水明, 等. 补骨脂水提液及补骨脂素对体外培养成骨细胞的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(2): 266-271.
- [37] 林强. 补骨脂素对大鼠骨髓间充质干细胞增殖与骨向分化的影响 [D]. 广州: 暨南大学, 2009.
- [38] 林资淳. 补骨脂素在 OB-OC 共育体系中对 OB 活性及 IL-11 mRNA 表达的影响 [D]. 广州: 暨南大学, 2008.
- [39] 马俊岭, 郭海英, 阳晓东. 骨质疏松症的流行病学概况 [J]. 中国全科医学, 2009, 12(18): 1744-1746.

(收稿: 2013-02-18 修回: 2013-12-06)