

从细胞因子水平上探讨大豆异黄酮对更年期妇女骨密度的影响

马若波 迟晓星 张涛 崔洪斌

摘要:目的 拟通过人群膳食干预试验,从细胞因子水平上研究植物雌激素大豆异黄酮对更年期妇女骨密度的作用。方法 随机双盲法将90名更年期妇女分为大豆异黄酮剂量组和安慰剂对照组,每人每天服用大豆异黄酮90 mg或者安慰剂,试验期限6个月。超声法测定受试对象桡骨远端和胫骨中段的骨密度,酶联免疫学方法测定受试对象血清中细胞因子IL-6和TNF- α 的水平。结果 服用大豆异黄酮组受试对象的胫骨骨密度增加明显,有显著性差异,安慰剂组受试对象骨密度没有显著性改变,大豆异黄酮组受试对象血清中IL-6和TNF- α 的水平在试验结束后均显著性降低,有统计学意义($P < 0.05$)。结论 植物雌激素大豆异黄酮可有效增加更年期妇女骨骼密度,其机制可能是通过降低血清中细胞因子IL-6和TNF- α 的水平实现的。

关键词:大豆异黄酮;IL-6;TNF- α ;更年期妇女;骨密度

Effect of soy isoflavone on bone marrow density in climacteric women MA Ruobo, CHI Xiaoxing, ZHANG Tao, et al. Herbin Medical University, Haerbin 150001, China

Abstract: **Objective** To study the effect of soy isoflavone on bone mineral density in climacteric women at cells level by meals intervention. **Methods** Ninety climacteric women were divided into two groups randomly with double-blind method and isoflavone 90 mg/d or placebo were given respectively for 6 months. The BMD of radius and tibia were measured by ultrasound and level of IL-6 and TNF- α were measured by ELISA. **Results** The tibial BMD in isoflavone group increased significantly, but no change was found in the placebo. The level of IL-6 and TNF- α in isoflavone group decreased significantly at the end of the trial. **Conclusions** The estrogen component in soy isoflavone can increase the BMD in climacteric women probably by decreasing the level of IL-6 and TNF- α .

Key words: Soy isoflavone; IL-6; TNF- α ; climacteric women; Bone mineral density

大量流行病学资料显示东西方妇女骨折和骨质疏松发生率不同,日本妇女发病率明显低于欧美等国家。这至少部分依赖于膳食摄入的植物雌激素——大豆异黄酮的作用。日本居民每日大豆异黄酮的摄入量约为40 mg/d,而欧美居民摄入含大豆异黄酮的豆制品的数量极低。这种饮食习惯的区别导致日本妇女尿中异黄酮的排泄量比美国、芬兰妇女高百倍之多的差异,也造成西方雌激素依赖性疾病的发病率的极大差异,同时也为骨质疏松的防治提供了新的途径。

大豆异黄酮(soy isoflavone)是一类植物雌激素,

主要有金雀异黄酮(染料木黄酮,genistein)和大豆苷原(daidzein)两种,其结构与雌激素相似,故能够与雌激素受体(ERs)结合,从而表现出两种重要的生物学活性:雌激素活性和抗雌激素活性^[1]。现很多研究^[2,3]把大豆异黄酮作为雌激素替代物防治妇女绝经后骨质疏松症。有关大豆异黄酮减少骨量丢失的人体研究报告结果不一^[4,6],有关机制也未明^[7]。女性绝经后骨质疏松,多发生在绝经后5~10年内。众所周知,雌激素的缺乏是绝经后骨质疏松症发病中的重要因素。临床上应用雌激素替代疗法能减少骨质疏松的发生。目前,已经证实在骨微环境中产生大量的免疫及造血因子,这些复杂的、作用相互重叠的因子影响骨的形成和吸收^[8],其中主要包括白细胞介素1(IL-1),白细胞介素6(IL-6),肿瘤坏死因子(TNF),巨噬细胞集落刺激因子(CM-CSF),颗粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。其中IL-6及

基金项目 达能营养膳食与宣教基金“大豆异黄酮对更年期妇女综合症的干预研究”资助项目

作者单位:150001 哈尔滨 哈尔滨医科大学公共卫生学院

通讯作者:崔洪斌,Email: cuihb_h@public.hr.hl.cn

TNF 近年来被认为是病理条件下调节骨吸收的重要因子,有研究表明,血清 IL-6 和 TNF- α 的水平与雌激素、骨密度之间存在负相关。因此本项研究拟从细胞因子水平出发,探讨大豆异黄酮是否是通过降低这两种细胞因子的水平来增加更年期妇女骨骼密度的。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选择 45~55 岁之间,绝经 5 年以内且有更年期综合征症状的围绝经期妇女 90 人为研究对象,排除以下情况者:停经 5 年以上者或 55 岁以上;妊娠或哺乳期妇女、过敏体质者、晚期畸形、残废、丧失劳动力;合并有心血管、脑血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病、精神病患者;长期服用其他相关药物、保健食品不能立即停用者;不符合纳入标准,未按规定食用,无法判定疗效和资料不全影响效果和安全性判定者。

1.2 方法

1.2.1 治疗及分组

90 人随机双盲分为两组,大豆异黄酮 90 mg/d 组和安慰剂对照组,每组 45 人。试验期限 6 个月,两组在年龄、绝经年限、体重、孕产次等指标分布上无显著性差异。

1.2.2 检测指标

采用调查表方式了解受试对象平时的豆制品、奶制品、海产品以及运动情况;采用 Sunlight 超声式骨密度测定仪(以色列生产)测量受试对象桡骨远端和胫骨中段骨密度(BMD);酶联免疫学方法(ELISA 法)测定受试对象血清中细胞因子 IL-6 和 TNF- α 的水平。酶联免疫试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司。

1.2.3 受试物及服用方案

大豆异黄酮为本课题组自制,是从大豆豆胚中提取,经低温喷雾干燥获得。经 HPLC 法测定大豆异黄酮含量为 8.5%,按比例配以淀粉混和制成每粒含大豆异黄酮 22.5 mg 的胶囊。全部试食对象每日口服大豆异黄酮胶囊 2 次,每次 2 粒(即每人每天共摄入大豆异黄酮 90 mg)。安慰剂胶囊主要由淀粉制成。

1.3 统计学方法

所有结果均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据采用 SAS 6.12 统计软件进行统计分析。

2 结果

2.1 受试对象一般膳食以及运动情况

通过调查表的方式调查了试验对象一般膳食摄入及运动情况,重点调查了和骨密度有密切联系的、含钙丰富的常见食品如豆制品、奶制品和海产品的摄入情况。并且受试对象在试验期间保持现有的饮食及运动习惯。从表 1 和表 2 可以看出,两组受试对象这 3 类食品的摄入水平(分别为不吃、每周摄入小于 3 次和每周摄入大于 3 次)和运动情况(分别为不经常锻炼、有意锻炼和无意锻炼)相当,没有显著性差异,基本上可以排除膳食摄入及体育运动对本试验结果的影响。

表 1 豆制品、奶制品和海产品摄入情况比较(%)

食物种类	组别	不吃	<3次/周	>3次/周
对照组	对照组	9	78.8	12.2
	剂量组	3	75	22
奶制品	对照组	15.1	45.5	39.4
	剂量组	25	30.6	44.4
海产品	对照组	24.2	72.7	3.1
	剂量组	16.7	80.5	2.8

表 2 体育锻炼情况(%)

组别	不经常锻炼	有意锻炼	无意锻炼
对照组	45.4	36.3	18.3
剂量组	47.2	30.6	22.2

2.2 各部位 BMD 的变化

从表 3 可以看出,服用大豆异黄酮胶囊 6 个月后,剂量组受试对象骨密度相比于基础值都有增加的趋势,胫骨骨密度有显著性差异,但桡骨骨密度无显著性差异。而对照组受试对象的桡骨骨密度和胫骨骨密度与基础值比较没有增加,均没有显著性差异。试验前后对照组和剂量组的骨密度的横向比较均没有显著性差异。

表 3 服用大豆异黄酮 6 个月后两组受试对象自身骨密度比较($\bar{x} \pm s, n = 45$)

组别	时间	桡骨	胫骨
对照组	服药前	1.0788 \pm 1.5173	-1.6515 \pm 1.3452
	服药后	1.0848 \pm 1.9752	-1.6818 \pm 1.3459
剂量组	服药前	0.7454 \pm 1.3255	-1.4576 \pm 1.2889
	服药后	0.7818 \pm 1.4643	-1.1333 \pm 1.4437*

注:与基础值相比,* $P < 0.05$

2.3 受试对象血清中 IL-6 和 TNF- α 水平的变化

从表4可见,服用大豆异黄酮6个月后,对照组受试对象血清中两种细胞因子的水平变化不大,没有显著性差异,而服用大豆异黄酮的剂量组受试对象血清中IL-6和TNF- α 的水平均下降明显,有显著性差异($P < 0.05$)。

从表中还可以看出,对照组和剂量组IL-6和TNF- α 的基础水平没有显著性差异,6个月后剂量组的TNF- α 水平要比对照组下降的明显,存在显著性差异。

表4 服用大豆异黄酮6个月后两组受试对象自身IL-6和TNF- α 比较($\bar{x} \pm s, n = 45$)

组别	时间	IL-6	TNF- α
对照组	服药前	0.1528 \pm 0.0176	0.1418 \pm 0.0130
	服药后	0.1358 \pm 0.0173	0.1366 \pm 0.0086
剂量组	服药前	0.1559 \pm 0.0231	0.1299 \pm 0.0248
	服药后	0.1365 \pm 0.0132*	0.1035 \pm 0.0082*

注:与基础值相比,* $P < 0.05$

3 讨论

IL-6和TNF- α 都是机体免疫系统调节骨代谢的主要蛋白质因子之一,IL-6对成骨和破骨细胞的分化、成熟起着重要作用,而IL-6能更多地活化破骨细胞。绝经期后雌激素水平下降引起的骨质疏松可能与成骨细胞及其分泌的IL-6作用有关,IL-6受雌激素的抑制,如果雌激素水平下降则IL-6作用加强,骨吸收超过骨形成。有研究表明,血清IL-6水平与雌激素、骨密度之间存在负相关。TNF- α 在体内外都是强有力的骨吸收刺激因子,其刺激骨吸收作用通过成骨细胞介导,并能抑制成骨细胞合成I型胶原。雌激素可抑制成骨细胞TNF- α 的释放。综上所述,在绝经后骨质疏松的发病机制中,雌激素和骨细胞相互作用,调节着控制骨质再形成的细胞因子网络。当雌激素充足时,作用支配因子降低了细胞因子的产生,维持正常的骨形成,而当雌激素下降时,其调控作用消失,不仅使骨髓中TNF- α 、IL-6等细胞因子的分泌增加,而且破坏了各细胞因子间的

协同作用,促使成骨细胞和破骨细胞产生的比例失调,骨形成和骨吸收失衡,最终导致骨吸收增加,引起绝经后骨质疏松的发生。

许多动物实验和人体实验均证实大豆异黄酮可增加更年期妇女的骨密度,防治绝经后骨质疏松,但其机理还未明。本研究通过人体试食试验,排除了影响骨密度的膳食摄入及运动情况,首次从细胞因子水平上探讨了大豆异黄酮增加更年期妇女骨密度的机制。本项研究结果显示,服用大豆异黄酮6个月后,受试对象的骨密度显著增加,血清中细胞因子IL-6和TNF- α 的水平显著降低,提示大豆异黄酮可能通过降低血清IL-6和TNF- α 的水平达到防治更年期妇女骨质疏松的作用。

【参考文献】

- [1] Setchell L, Zimmer-Nechemias L, Cai J, et al. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(suppl):1333-1335.
- [2] Harrison E, Adjei A, Ameho C, et al. The effect of soybean protein on bone loss in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Nutr Sci Vitaminol Tokyo*, 1998, 44:257-268.
- [3] Fanti P, Monier-Faugere MC, Geng Z, et al. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats. *Osteoporos Int*, 1998, 8:274-281.
- [4] Lee AD, Germain AL, St Charles PT, et al. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72:844-852.
- [5] Potter SM, Baum JoA, Teng H, et al. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(suppl):s1375-s1379.
- [6] Hsu CS, Shen WW, Hsueh Ym, et al. Soy isoflavone supplementation in postmenopausal women. Effects on plasma lipids, antioxidant enzyme activities and bone density. *J Reprod Med*, 2001, 46:221-226.
- [7] Fanti O, Faugere MC, Gang Z, et al. Systematic administration of genistein partially prevents bone loss in ovariectomized rats in a nonestrogen like mechanism. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(suppl):s1517-s1518.
- [8] 孙铁铮. 雌激素、细胞因子与绝经后骨质疏松症. *中国骨质疏松杂志*, 1998, 4:87-89.

(收稿日期:2005-06-30)