

异黄酮防治绝经后骨质疏松症分子学机制的研究进展

邹世恩 综述 张绍芬 审校

摘要：绝经后骨质疏松症(PMOP)是一种与雌激素减少相关的骨代谢性疾病,近年来,植物雌激素以其在女性骨骼健康中的潜在作用而成为研究的焦点,从而提供了防治绝经后骨质疏松的新思路。笔者综述了近年来有关异黄酮防治 PMOP 分子学机制的研究进展。

关键词：骨质疏松症; 植物雌激素; 分子学机制

Updates of research on molecular mechanism of the phytoestrogens treatment on postmenopausal osteoporosis ZOU Shi'en, ZHANG Shaofen. The Obstetrics and Gynecology Hospital, Medical Center of Fudan University, Shanghai 200011, China

Abstract: Postmenopausal osteoporosis is a disease of bone metabolism associaled with estrogen's descent in postmenopausal women. Recently, because of their potential benefits in women's bone health, phytoestrogens had been the focus of scientists. It provides hope to prevent and therapy PMOP. This review provides a new understanding of the molecular mechanism of action of phytoestrogens.

Key words: Osteoporosis; Phytoestrogen; Molecular mechanism

绝经后骨质疏松症(PMOP)发生在妇女绝经后,由于雌激素缺乏导致骨量减少及骨组织微结构变化,使骨脆性增高易于骨折。大量的临床和实验研究已经证实了雌激素替代治疗(estrogen replacement therapy, ERT)能减少绝经后妇女的骨丢失及骨折发生率,但同时也增加了患乳腺癌和子宫内膜癌的风险^[1]。近年来,植物雌激素以其在女性骨骼健康中的潜在作用而成为研究的焦点,从而提供了防治绝经后骨质疏松的新思路。笔者综述了近年来有关异黄酮防治 PMOP 分子学机制的研究进展。

1 异黄酮

植物雌激素是在多种植物中发现的非甾体化合物,主要分为 3 类:异黄酮(isoflavones)、香豆素(coumenstans)和木脂素(lignans)。其中,研究最多的是异黄酮,包括染料木黄酮(genistein)、大豆苷原(daidzein)和大豆黄素(glycitein),以及其相应的葡萄糖配糖体等 6 类。它们的结构与 17 β 雌二醇相似,可做为 ERT 的候选制剂。自然界中染料木黄酮和

大豆苷原主要以糖苷的形式存在,分别称做染料木苷(genistin)和大豆黄苷(daidzin),它们在肠道中脱糖基生成。如果在大肠里有足够的细菌,大豆苷原可进一步被消化为雌马酚(equol),而只有 20% ~ 35% 的成人肠道内可以生成雌马酚,它与雌激素受体(ER)的亲合力比大豆苷原强得多,其雌激素样活性是大豆苷原的 100 倍^[2]。也可能由于这个原因,大豆苷原比染料木黄酮能更有效地预防去卵巢大鼠骨丢失^[3]。

2 雌激素受体介导的机制

2.1 雌激素受体的选择性

人类和啮齿类动物的雌激素受体(ER)有 2 种亚型:ER α 和 ER β ,属于核受体超家族,存在于软骨细胞、成骨细胞、骨髓基质细胞以及破骨细胞及其前体细胞上。植物雌激素与雌激素结构相近,通过结合并激活 ER α 和 ER β 发挥骨保护作用,异黄酮与 ER 的亲合力是 17 β 雌二醇的 0.1% ~ 1%,但是它们对 ER β 的亲合力明显高于 ER α ^[4]。Zhou 等^[5]的研究提示,异黄酮对骨的保护作用可能是 ER β 介导而非 ER α 。

对 ER 基因敲除的去卵巢大鼠模型的研究表

作者单位: 200011 上海,复旦大学附属妇产科医院
通讯作者: 邹世恩, Email: zou4n@sohu.com

明,雌激素类化合物对骨的雌激素样作用是有 ER 亚型特异性的,比如,对松质骨的雌激素作用引起骨矿密度(BMD)增高是通过 ER α ,而非 ER β ;相反,雌激素也增加皮质骨 BMD,但是不通过 ER 介导的机制^[6]。

2.2 雌激素受体的非基因组作用机制

雌激素与细胞核内的 ER 结合,引起 ER 构象变化,与 DNA 上不同启动子区域的染色质结合,激活相应基因的转录,使得雌激素对靶器官可能实际上发挥纯激动剂、部分激动剂或者纯拮抗剂的作用。这就是所谓经典的 ER 基因组作用机制^[7]。但是有研究提示^[8],雌激素主要通过一种快速的非基因组作用抑制成骨细胞凋亡,促进骨生成,促进破骨细胞凋亡,抑制骨吸收。目前发现异黄酮对成骨细胞也有类似的快速作用,这些信号途径包括:异黄酮激活细胞膜 ER 引起细胞内信号途径的激活,比如磷脂酶 C 和有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)的激活^[7]。

3 过氧化物酶增殖子激活受体介导的机制

最近研究证实,过氧化物酶增殖子激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)是植物雌激素关键性的转录靶受体^[9,10]。PPAR 也属于核受体超家族,有 3 种亚型^[11]: α 、 γ 和 δ (或称 β),主要参与脂代谢和糖代谢。它们也存在于骨组织,也存在于骨髓间叶细胞、骨前体细胞 KS 483 细胞系和成骨细胞系 MC 3 T 3-E 1 细胞系中^[12]。与配体结合或被磷酸化后,PPARs 就会被激活,不同的亚型对骨组织产生不同的活性^[10]:PPAR α 的激活对骨生成和脂肪生成没有影响;相反,PPAR δ 刺激骨生成,但不影响脂肪生成;而 PPAR γ 则抑制骨生成刺激脂肪生成。植物雌激素低浓度时,ER 介导的作用为主,表现为骨生成增加,脂肪生成减少;高浓度时,PPAR γ 介导的作用为主,脂肪生成增加,骨生成减少^[12]。但在微摩尔浓度水平时,植物雌激素激活 PPAR γ ,直接作用于骨前体细胞^[9,13]和成骨细胞系^[12],引起骨生成的下调和脂肪生成的上调。

4 OPG/RANKL/RANK 介导的机制

护骨素(osteoprotegerin, OPG)、核受体 B 激活受体(the receptor activator of NF-B, RANK)及其配体 RANKL 在破骨细胞的生成、激活和存活中起着重要的作用^[14]。成骨细胞在骨的微环境中对破骨细胞的整体功能发挥直接的基本的作用,包括了对 OPG/

RANKL/RANK 系统的调节。RANKL 是一种跨膜糖蛋白,由成骨细胞产生,可以通过与 RANK 受体结合增加破骨细胞形成、成熟和存活。而 OPG 做为一种成骨细胞分泌的诱骗受体,可以结合于 RANKL,防止 RANKL 和 RANK 的相互作用,从而引起破骨细胞形成、成熟和存活减少。

研究表明,异黄酮可能通过 OPG/RANKL/RANK 系统产生骨保护作用。当浓度为 $10^{-10} \sim 10^{-6}$ M 时,染料木黄酮可增加 MC 3 T 3-E 1 细胞、hFOB 细胞和人类原始骨髓干细胞 OPG 的 mRNA 表达,减少 RANKL 的 mRNA 表达^[15,16]。染料木黄酮诱导 OPG 表达可能是通过 ER 基因组作用机制^[17]。大豆苷原浓度为 1 nM 时,也可增强雌性小猪来源的成骨细胞的活性,并通过刺激 OPG 的分泌,发挥抗吸收作用^[18]。有研究^[19]对比了异黄酮和雌二醇对破骨细胞分化的作用,发现 RANKL 可减少 ER α 表达,诱导破骨细胞分化;与之相反的是,10 nM 的雌二醇、3 μ M 的染料木黄酮和 3 μ M 的大豆苷原都增加 ER α 表达,减少 RANKL 诱导的破骨细胞分化,其作用的强弱为:雌二醇 > 大豆苷原 > 染料木黄酮。这些研究提示异黄酮可以直接抑制 RANKL 介导的破骨细胞分化。

5 酶抑制作用

染料木黄酮是一些酶的抑制剂,可能导致抗细胞增殖作用,使得细胞周期停止在 G₂/M,而大豆苷原没有酶抑制活性,即使达到中毒剂量也不能改变细胞周期。已证实染料木黄酮是一种酪氨酸激酶抑制剂^[20,21],介导细胞内钙离子信号途径,抑制蛋白激酶和酪氨酸激酶,从而引起破骨细胞凋亡,抑制骨吸收;还可通过上调酪氨酸蛋白激酶抑制剂 α ,下调蛋白酪氨酸激酶 7、酪氨酸蛋白磷酸化酶等活性,协同产生骨保护作用^[22]。染料木黄酮也可以通过抑制 DNA 拓扑异构酶 II 的活性来减少小鼠破骨细胞形成^[23]。

6 展望

迄今为止,大部分的啮齿类动物资料和部分的人体资料,都显示了异黄酮对骨健康潜在的益处,它们对哺乳动物通过雌激素受体和其他非基因信号传导途径发挥雌激素样效应,但是其具体机制仍未完全明了,需要进一步的研究,尤其需要了解异黄酮在体内的最佳有益剂量。对植物雌激素的研究,必将丰富人类对性激素的认识,为解决 PMOP 带来严重

的社会问题提供一条可能的途径。

【 参 考 文 献 】

- [1] Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigations. Risks and benefits of estrogens plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 2002, 288: 321-333.
- [2] Sathyamoorthy N, Wang TT. Differential effects of dietary phytoestrogens daidzein and equol on human breast cancer MCF-7 cells. *Eur J Cancer*, 1997, 33: 2384-2389.
- [3] Picherit C, Coxam V, Bennetau-Pelissero C, et al. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr*, 2000, 130: 1675-1681.
- [4] Barkhem T, Carlsson B, Nilsson Y, et al. Differential response of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta in the presence of a partial estrogen agonist/antagonist. *Mol Pharmacol*, 1998, 54: 105-102.
- [5] Zhou S, Turgeman G, Harris SE, et al. Estrogens activate bone morphogenetic protein-2 gene transcription in mouse mesenchymal stem cells. *Mol Endocrinol*, 2003, 17: 56-66.
- [6] Lindberg MK, Weihua Z, Andersson N, et al. Estrogen receptor specificity for the effects of estrogen in ovariectomized mice. *J Endocrinol*, 2002, 174: 167-178.
- [7] Migliaccio S, Anderson JJB. Isoflavones and skeletal health: are these molecules ready for clinical application? *Osteoporos Int*, 2003, 14: 361-368.
- [8] Kousteni S, Han L, Chen JR, et al. Kinase-mediated regulation of common transcription factors accounts for the bone-protective effects of sex steroids. *J Clin Invest*, 2003, 111: 1651-1664.
- [9] Dang ZC, Audinot V, Papapoulos SE, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) as a molecular target for the soy phytoestrogen genistein. *J Biol Chem*, 2003, 278, 962-967.
- [10] Dang ZC, Lowik CW. The balance between concurrent activation of ERs and PPARs determines daidzein-induced osteogenesis and adipogenesis. *J Bone Miner Res*, 2004, 19: 853-861.
- [11] Michalik L, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome-proliferator-activated receptors and cancers: complex stories. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 61-70.
- [12] Dang ZC, Clemens L. Dose-dependent effects of phytoestrogens on bone. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism*, 2005, 16: 207-213.
- [13] Akune T, Ohba S, Kamekura S, et al. PPARgamma insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest*, 2004, 113: 846-855.
- [14] Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*, 2001, 142: 5050-5055.
- [15] Chen X, Garner SC, Quarles LD, et al. Effects of genistein on expression of bone markers during MC3T3-E1 osteoblastic cell differentiation. *J Nutr Biochem*, 2003, 14: 342-349.
- [16] Heim M, Frank O, Kampmann G, et al. The phytoestrogen genistein enhances osteogenesis and represses adipogenic differentiation of human primary bone marrow stromal cells. *Endocrinology*, 2004, 145: 848-859.
- [17] Chen XW, Garner SC, Anderson JJ. Isoflavones regulate interleukin-6 and osteoprotegerin synthesis during osteoblast cell differentiation via an estrogen-receptor-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 295: 417-422.
- [18] De Wilde A, Lieberherr M, Colin C, et al. A low dose of daidzein acts as an erbeta-selective agonist in trabecular osteoblasts of young female piglets. *J Cell Physiol*, 2004, 200: 253-262.
- [19] Garcia Palacios V, Robinson LJ, Borysenko CW, et al. Negative regulation of RANKL-induced osteoclastic differentiation in RAW264.7 cells by estrogen and phytoestrogens. *J Biol Chem*, 2005, 280: 13720-13727.
- [20] Yoon HK, Chen K, Baylink DJ, et al. Differential effects of two protein tyrosine kinase inhibitors, tyrphostin and genistein, on human bone cell proliferation as compared with differentiation. *Calcif Tissue Int*, 1998, 63: 243-249.
- [21] Gao YH, Yamaguchi M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: apoptosis is induced through Ca^{2+} signaling. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22: 805-809.
- [22] Pie JE, Park JH, Park YH, et al. Effect of genistein on the expression of bone metabolism genes in ovariectomized mice using a cDNA microarray. *J Nutr Biochem*, 2006, 17: 157-164.
- [23] Yamagishi T, Otsuka E, Hagiwara H. Reciprocal control of expression of mRNAs for osteoclast differentiation factor and OPG in osteogenic stromal cells by genistein: evidence for the involvement of topoisomerase II in osteoclastogenesis. *Endocrinology*, 2001, 142: 3632-3637.

(收稿日期: 2006-11-03)