

· 综述 ·

葛根素防治骨质疏松的研究进展

杨勇晖 陈平洋*

中南大学湘雅二医院,长沙 410011

中图分类号: R96 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 03-0376-03

摘要: 骨质疏松症 (Osteoporosis, OP) 是以骨量减少、骨微观结构退化、脆性增加和易发生骨折为特征的一种全身性疾病。葛根素 (Puerarin) 是中药葛根中提取的单体化合物,具有异黄酮结构,其化学结构与雌激素相似,能发挥雌激素样效应,但较雌激素毒副作用小,其主要功能有保护心脑血管系统、保护神经细胞、改善胰岛素抵抗、降低眼压、解酒等作用。近年来,关于葛根素影响骨代谢的研究越来越受重视,实验研究表明葛根素在体内外实验中有增加骨量、改善骨代谢、抑制破骨细胞分化、促进成骨细胞生成的作用,临床研究也有相关发现。本文对近十年来葛根素防治骨质疏松症的研究进展作一综述,并对未来做出展望。

关键词: 葛根素;骨质疏松症;骨代谢;异黄酮

The research progress of puerarin in the prevention and treatment of osteoporosis

YANG Yonghui, CHEN Pingyang

The Second Xiangya Hospital of Middle-South University, Changsha 410011, China

Corresponding author: CHEN Pingyang, Email: wycpyfu@163.com

Abstract: Osteoporosis is a systemic disease characterized with loss of bone mass, degeneration of bone microstructure, and being more fragile and easier to fracture. Puerarin is a kind of isoflavone extracted from puerariae radix. Its structure is similar to estrogen so that it has estrogen-like effect, but its side effect is lower than that of estrogen. Its main function includes the protection of cardiovascular system and neural cells, reduction of insulin resistance, reduction of eye pressure, release of alcoholic effect and so on. Recently, more and more research attention has been paid in the effect of puerarin on bone metabolism. Previous studies have shown that puerarin can suppress the differentiation of osteoclasts, improve the differentiation of osteoblasts, increase bone mass and improve bone metabolism. This paper summarizes the effect of puerarin on osteoporosis in basic and clinical research in recent years, and provides prospective to further research.

Key words: Puerarin; Osteoporosis; Bone metabolism; Isoflavone

骨质疏松症是一种全身代谢性骨骼疾病。原发性骨质疏松症分为绝经后骨质疏松症与老年性骨质疏松症。社会人口老龄化使因骨与关节退化引起骨质疏松成为全世界所面临的重要问题。衰老和性腺功能减退是绝经后骨质疏松症的重要因素^[1]。这种代谢障碍的主要临床表现为由破骨细胞调节的骨重吸收和成骨细胞调节的骨形成失衡导致的脆性骨折^[2]。绝经后骨质疏松症的一线治疗策略是雌激素替代疗法 (estrogen replacement therapy, ERT), 该法可以通过促进成骨细胞分化、抑制破骨细胞成熟来预防骨流失并促进骨形成。由于 ERT 增加了乳腺癌、子宫内膜癌和阴道流血的风险,人们对于植物雌激素的使用越来越感兴趣。

植物雌激素可以和雌激素受体结合,发挥雌激素样作用。葛根素是葛根提取物的主要成分之一,植物雌激素中的一种,其化学名为 4,7-二羟基 8-β-D 吡喃葡萄糖醛基异黄酮,相对分子量为 416。具有改善心脑血管循环、降低心肌耗氧量,降低血糖,防止高血压及动脉硬化,抗肝脏毒性,抗炎,祛痰,解热,提高机体免疫力,抗菌,抗病毒等多种药理作用^[3]。本文就葛根素防治骨质疏松症的研究现状进行综述。

1 葛根素防治骨质疏松的体内实验研究

在骨质疏松症的体内实验研究中,手术摘除动物卵巢形成雌激素缺乏骨质疏松症模型,给药后通过骨矿含量测定[骨密度、骨钙含量、微量元素(镁、锌、铜、铁等)含量]、骨生物力学分析及骨组织形态

*通讯作者: 陈平洋, Email: wycpyfu@163.com

学分析、相关基因表达检测,观察药物作用。鉴于去卵巢大鼠模型的日渐成熟,人们也对手术摘除动物睾丸形成骨质疏松症模型进行了研究。

韩国大学的朱熙俊等^[4]用含葛根素饲料喂养去卵巢大鼠 4w,检测血浆中 17β -雌二醇含量、脂肪水平、SULT1E1 基因表达水平及股骨骨矿密度等,并与对照组进行比较。结果显示,与对照组相比血浆中 17β -雌二醇含量明显增高,而血浆中甘油三酯水平明显下降;腹部脂肪组织重量显著降低,而肝内酶含量没有明显变化;股骨骨矿密度的降低受到抑制。实时定量 PCR 检测分析显示芳香酶基因表达受到抑制,而 SULT1E1 基因表达增强,表明使用葛根素不会增加老鼠患乳腺癌的风险。另一项葛根素对去卵巢大鼠机体骨代谢影响的研究显示与模型组(OVX)相比,葛根素各组的胫骨矿物质含量均增加,Ca 含量高于模型组,碱性磷酸酶相对降低,表明葛根素可以增加大鼠骨量,改善去卵巢大鼠的高转换状态^[5]。葛根素所属的异黄酮类植物雌激素被证实能够增加去势大鼠的骨密度,可有效防治卵巢切除大鼠的骨量丢失,具有类雌激素样作用,但对子宫的增生作用不明显,因此用于绝经后的骨质疏松治疗有较好的安全性^[6]。

2 葛根素防治骨质疏松症的体外实验研究

在体外研究中,主要通过观察成骨细胞增殖和分化及矿化结节的形成,来评价葛根素对骨形成的作用。采用各种分子生物学技术检测骨形成过程中相关的蛋白含量、酶含量、基因表达情况。如碱性磷酸酶(ALP)是参与骨代谢的重要蛋白质,它通过分解磷酸酯的无机磷,增加无机磷局部浓度,以促进骨基质钙化。ALP 由成骨细胞产生,其含量反映成骨细胞活性,是评价骨形成和骨转换的重要指标^[7]。

钱康琦等^[8,9]分别采用实时荧光定量 PCR 法和蛋白免疫印迹杂交法研究葛根素对成骨细胞 TGF- β 1 及 Smad 2/3 mRNA 及蛋白表达的影响,提示不同浓度的葛根素均能增加成骨细胞内碱性磷酸酶的活性,提高成骨细胞内 TGF- β 1 及 Smad 2/3 mRNA 及相应蛋白的表达,并呈浓度依赖性。证实葛根素可刺激成骨细胞信号转导蛋白 Smad2/3 mRNA 的表达和刺激 TGF- β 1 的分泌和合成,通过 TGF- β 1 及 Smad 2/3 信号转导途径促进骨形成,抑制骨吸收。可能是其有效防治骨质疏松症的机理。王楠^[10]等用葛根素作用于试管中的 3T3-L1 前脂肪细胞和 MC3T3-E1 成骨细胞。结果显示葛根素可以提高碱

性磷酸酶活性、促进成骨细胞增殖和矿化结节的形成;促进骨钙蛋白分泌、骨桥蛋白和骨保护素的表达;抑制脂肪细胞生成、降低细胞内甘油三酯水平。证实葛根素可以抑制试管内的脂肪形成并促进骨形成,从而具备了抗骨质疏松的可能。Wacharaporn Tiyasatkulkovit 等^[11]的葛根素对 UMR106 细胞中成骨细胞分化标记基因 mRNA 表达的正调节研究表明,葛根素可以使碱性磷酸酶 mRNA 表达的上调,促进成骨细胞分化,从而增加骨形成。王昌^[12]等的葛根素在体外对成骨细胞增殖和分化的影响研究表明葛根素对成骨细胞的影响存在剂量依赖性,并且具有双向性,即在低浓度($10^{-5} \sim 10^{-8}$ mol/L)下刺激骨形成,在高浓度($10^{-3} \sim 10^{-4}$ mol/L)下抑制骨形成。SHEU Shiow-yunn 等^[13]研究了葛根素促进骨形成机制中 NO 和骨形态发生蛋白 2(BMP-2)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)两条信号通路是否同时激活。结果表明,葛根素是一种骨形成促进剂,它通过诱导 BMP-2 和 NO 合成,进而调节成骨特异性转录因子、骨保护素、核因子 κ B 受体活化因子配体基因的表达来发挥作用。该作用可诱导成骨细胞增殖和分化,从而促进骨形成。王盼盼等^[14]的一项研究表明葛根素可以提高碱性磷酸酶活性、增加 I 型胶原分泌和初级成骨细胞中矿化结节的形成;可以提高 p38 MAPK 和 β -链蛋白的水平,并具有剂量依赖性,但雌激素受体拮抗剂 ICI 182780 可消除葛根素的上述作用,由此证实雌激素受体、p38 MAPK、Wnt/b-catenin 通路参与了葛根素促进成骨细胞分化和骨形成的过程中。王宜胜等^[15]的研究表明葛根素可以抑制试管中或体内骨髓基质细胞向脂肪细胞分化并预防酒精诱导的骨细胞坏死。

在骨吸收方面,破骨细胞是骨吸收的主要功能细胞。已证实破骨细胞存在雌激素受体,提示具有弱雌激素效应的葛根素对破骨细胞的形成也有影响。李斌斌等^[16]对新生日本大耳兔的破骨细胞进行分离培养,添加葛根素后进行形态学观察,并测定上清液钙含量。发现葛根素可引起体外破骨细胞形态学变化及骨吸收功能下降,表明其对体外骨吸收有一定抑制作用。李灵芝等^[17]采用体外培养的兔破骨细胞考察葛根素对破骨细胞骨吸收的影响,结果显示葛根素可使破骨细胞在牛骨磨片上形成的吸收陷窝数和吸收陷窝面积明显减少,并呈剂量依赖关系,表明葛根素对破骨细胞骨吸收功能具有直接抑制作用,这种作用可能与它的类雌激素作用有关。

骨保护素(osteoprotegerin, OPG)是一种分泌型

糖蛋白和缺乏跨膜结构域的 TNF 受体 (TNFR) 家族成员,主要作用是抑制破骨细胞的形成和活性。细胞核因子 κ B 受体活化因子配体 RANKL 是 OPG 的配体,在骨骼中的主要作用为刺激破骨细胞的分化和活性,抑制破骨细胞的凋亡。调控 OPG/RANKL 之间的比例,可以影响破骨细胞的分化与骨吸收功能。Wacharaporn Tiyasatkulkovit 等^[11]研究表明葛根素可通过上调 OPG 表达、降低 RANKL/OPG 比值抑制破骨细胞活性。葛根素可以降低 RANKL mRNA 表达水平从而更好地抵抗骨质疏松。

3 葛根素防治骨质疏松症的临床研究

李俊华等^[18]的研究选取绝经后女性骨质疏松症患者 40 位,给予葛根素针剂静滴(葛根素针 0.4 g + 生理盐水 500 ml 静脉滴注,1 次/天),处理 30d 后采用放免法测定血清标本中 IL-4、IL-6、IL-10、雌激素的含量。观察到 30 d 后患者血清中 IL-4、IL-6 减少;IL-10 增加,而体内雌激素含量变化无统计学差异。推测葛根素代替雌激素与雌激素受体结合,抑制了 IL-4、IL-6 的分泌,增加 IL-10,说明葛根素对绝经后骨质疏松症患者有一定程度的治疗作用。

4 结语

目前关于葛根素防治骨质疏松的报道多为基础研究,对葛根素防治骨质疏松的机制研究已达到分子水平,但多限于动物的体内和体外研究。临床应用是葛根素防治骨质疏松研究的最终目的,但相关研究还十分少,即使是已经十分深入的基础研究也很少采用人类细胞作为研究对象。动物实验证明葛根素对卵巢切除和睾丸切除的动物骨骼有保护作用,能改善骨密度,促进骨形成。体外细胞学研究也证实葛根素可促进成骨细胞的生长和功能,抑制骨吸收。葛根素能够显著提高骨密度、促进骨形成的特性使其成为研究骨质疏松症所关注的热点。葛根素作为临床应用药物主要用于治疗高血压、冠心病心绞痛、心肌梗死、视网膜动静脉阻塞、突发性耳聋和糖尿病、眩晕等疾病,具有良好疗效。但其在骨质疏松症上的应用并不广泛,还需要做大量的临床研究,从而使葛根素在防治骨质疏松症方面有更大的进展。

【参 考 文 献】

[1] Lau RY, Guo X. A review on current osteoporosis research: with special focus on disuse bone loss. [J]. Osteoporos, 2011, 2011; 293808.

[2] Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflict, and

prospects. [J] Clin Invest, 2005, 115:3318-3325.

[3] Jin G, Yang P, et al. Effects of puerarin on expression of apelin and its receptor of 2KIC renal hypertension rats [J]. Zhongguo Zhongyao Zazhi, 2009, 34(24): 3263-3267.

[4] Cho HJ, Jun HJ, et al. Acute effect of high-dose isoflavones from Pueraria lobata (Willd.) Ohwi on lipid and bone metabolism in ovariectomized mice [J]. Phytotherapy Research Phytother Res, 26, 2012;1864-1871.

[5] Huang T, Jin BQ, et al. Effects of puerarin on the bone metabolism in ovariectomized rats [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2009, 29(19): 2482-2484.

[6] Zhou YL, Zhao M, et al. Effect of soybean isoflavones on growth and development and bone metabolism of ovariectomized rats [J]. China Tropical Medicine, 2007, 7(4): 524-526, 603.

[7] Liu QS. Treatment of osteoporosis with integration of traditional and western medicine [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2001. 24.

[8] Qian KQ, Sun YM, Zhan XQ. Effect study of puerarin on expressions of TGF- β 1 and Smad 2/3mRNA in osteoblasts by real-time FQ PCR method [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2013, 15(9):46-49.

[9] Qian KQ, Sun YM, Zhan XQ. Effect study of puerarin on expressions of TGF- β 1 and Smad 2/3mRNA in osteoblasts by western blot [J]. Journal of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2013, 29(1):18-20.

[10] Wang N, Wang XL, et al. Puerarin promotes osteogenesis and inhibits adipogenesis in vitro [J]. Chinese Medicine, 2013, 8(17):1-12.

[11] Wacharaporn Tiyasatkulkovit, Narattaphol Charoenphandhu, et al. Upregulation of osteoblastic differentiation marker mRNA expression in osteoblast-like UMR106 cells by puerarin and phytoestrogens from Pueraria mirifica [J]. Phytomedicine, 2012, 19: 1147-1155.

[12] Wang C, Tang XL, et al. Effect of puerarin on proliferation and differentiation of osteoblasts in vitro [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2012, 16(33): 6102-6106.

[13] Sheu SY, Tsai CC, et al. Stimulatory effect of puerarin on bone formation through co-activation of nitric oxide and bone morphogenetic protein-2/mitogen-activated protein kinases pathways in mice [J] Chin Med J, 2012, 125(20):3646-3653.

[14] Wang PP, Zhu XF, et al. Puerarin stimulates osteoblasts differentiation and bone formation through estrogen receptor, p38 MAPK, and Wnt/b-catenin pathways [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2012, 14(9):897-905.

[15] Wang YS, Li Y, Li YB. Preventive effects of Puerarin on alcohol-induced osteonecrosis [J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466:1059-1067.

[16] Li BB, Yu SF. Effect of puerarin on the bone metabolism in vitro [J]. Journal of Peking University: Health Sciences, 2003, 35(1): 74-77.

[17] Li LZ, Liu QB, et al. Inhibitory effect of puerarin on osteoclastic bone resorption in vitro [J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2004, 26(20): 1830-1833.

[18] Li JH, Pan ZY. Effects of Puararin on IL-4, IL-6, IL-10 and estrogen of blood serum in post menopause osteoporosis [J]. Chinese J Trad Med Traum & Orthop, 2007, 15(5):28-29.

(收稿日期:2014-05-18,修回日期:2014-06-16)