

植物雌激素防治骨质疏松作用的机制进展

王冬生¹ 韩婧² 康文博¹ 赵建宁^{1*}

1. 第二军医大学南京临床医院南京军区南京总医院骨科, 南京 210002

2. 第四军医大学药理学教研室, 西安 710032

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 05-0632-09

摘要: 植物雌激素是一类从植物中分离得到且能与机体雌激素受体结合, 产生雌激素样作用的非甾体类化合物。植物雌激素存在于许多食用或药食同源的植物中, 主要分布于豆科植物中, 根据其化学结构可分为: 异黄酮类、木脂素类、香豆素类等。植物雌激素具有促进骨形成, 抑制骨吸收的作用, 并对骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 骨代谢有重要作用, 在骨质疏松的防治中引起广泛关注。本文从植物雌激素的植物来源、结构类型及在防治骨质疏松中的作用机制等最新研究进展展开综述, 为其临床应用和深入研究提供新思路。

关键词: 植物雌激素; 结构类型; 骨质疏松; 机制研究

Research progress in the mechanism of phytoestrogens in the prevention and treatment of osteoporosis

WANG Dongsheng¹, HAN Jing², KANG Wenbo¹, ZHAO Jianning¹

1. Department of Orthopedics, Jinling Hospital, Clinical School of Nanjing, Second Military Medical University, Nanjing 210002

2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: ZHAO Jianning, Email: jnzhao2002@163.com

Abstract: Phytoestrogens are the class of non-steroidal compounds isolated from plants. They bind to estrogen receptors and function similar to estrogen. Phytoestrogens are known to be abundant in edible and/or medicinal plants, mostly belonging to the Leguminosae family. According to their chemical structures, phytoestrogens can be divided into isoflavonoids, lignans, coumarins, and miscellaneous classes. Phytoestrogens attract broad attention for their ability of promoting bone formation, inhibiting bone absorption, and playing important role in bone mesenchymal stem cells (BMSCs) and bone metabolism. This paper reviews the plant resources, chemical constituents, and recent progress of phytoestrogens in the treatment of osteoporosis, and provides new idea in the clinical studies.

Key words: Phytoestrogens; Chemical structures; Osteoporosis; Mechanism study

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是以骨量减少, 骨组织微细结构破坏导致脆性增加和骨折危险性增加为特征的一种系统性、全身性骨骼疾病, 同时 OP 又是骨衰老导致的退行性疾病^[1]。据统计, 全球 OP 患者超过 2 亿, 在世界常见病的发病率排行第 7 名, 在中国乃至全球都是一个值得关注的健康问题。OP 可分为原发性和继发性两种, 其中原发性骨质疏松占骨质疏松的 90%, 又可分为 2 种亚型, 即 I 型和 II 型 (I 型又称绝经后骨质疏松, II 型为老年性骨质

疏松)。其中, I 型骨质疏松又占原发性骨质疏松的绝大多数, I 型骨质疏松发病主要由于绝经后妇女合成和分泌雌激素的能力下降, 成骨细胞形成减少、成骨功能减退、破骨细胞形成和募集增加、破骨作用 (骨吸收) 增强。骨形成和骨吸收之间出现负平衡, 使骨量减少, 从而发生骨质疏松症^[2]。

目前临床防治骨质疏松药物的主要理论基础包括: 1. 抑制破骨细胞过量的骨吸收, 抑制绝经后骨质疏松症患者和其他的骨代谢障碍所导致的高骨转换率; 2. 刺激成骨细胞骨形成和矿化成熟, 同时也抑制破骨细胞增殖分化, 使新骨的形成超过吸收最终使得骨量增加。其作用的靶点主要针对成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收。

基金项目: 江苏省骨科临床研究中心 (BL2012002), 南京市科研课题 (201402007), 中国博士后基金 (2014M552632)。

* 通讯作者: 赵建宁, Email: jnzhao2002@163.com

植物雌激素 (phytoestrogens), 一类天然存在于多种植物中的非甾体类化合物, 在结构和功能上与内源性雌激素相似, 能与体内雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 选择性结合, 通过调节雌激素受体具有雌激素样作用^[3]。植物雌激素可以调节骨代谢 (骨重建) 平衡、促进成骨细胞的骨形成、抑制破骨细胞的骨吸收、诱导和调控骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 向成骨细胞分化方面有着重要作用。其主要用于绝经后妇女和老年性骨质疏松, 但对子宫和乳腺等雌激素受体阳性的组织器官不会产生刺激增生等副作用, 从而在骨质疏松的防治中引起广泛关注。本文从植物雌激素的植物来源、结构类型及防治骨质疏松中的作用机制等方面的研究进展进行

综述, 为临床治疗骨质疏松症提供新策略、新方法。

1 植物雌激素的植物来源及结构类型

植物雌激素是能与机体雌激素受体结合, 调节机体代谢的一类次生代谢产物。广泛分布于豆科植物中^[4], 也分布于苋科、鸢尾科、桑科及蔷薇科等。其结构类型主要为黄酮类 (包括黄酮、异黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、查耳酮等, 其中以异黄酮类为主), 木脂素类, 香豆素类及其它类型等。

1.1 植物来源

植物雌激素主要分布在豆科植物中, 其主要的植物来源见表 1。

表 1 植物雌激素在豆科植物中的分布^[5]
Table 1 Distribution of phytoestrogens in the legume

属名	种名	属名	种名
<i>Afromosia</i> 红豆属	<i>A. elata</i> 西非红豆树	<i>Glycyrrhiza</i> 甘草属	<i>G. eurycarpa</i> 黄甘草
<i>Ammopiptanthu</i>	<i>A. mongolicus</i> 青冬		<i>G. glabra</i> 光果甘草
<i>Amphicarpeae</i>	<i>A. edgeworthii</i> 三籽两型豆		<i>G. pallidiglora</i> 刺果甘草
<i>Astragalus</i> 黄芪属	<i>A. membrane</i> 蒙古黄芪	<i>Lupinus</i> 羽扇豆属	<i>L. albus</i> 白羽扁豆
<i>Baptisia</i> 鹰鹳属	<i>B. tinctoria</i> 鹰鹳		<i>L. angustifolius</i> 狭叶羽扁豆
<i>Canavalia</i> 刀豆属	<i>C. ensiformis</i> 阳刀豆		<i>L. luteus</i> 黄羽扁豆
<i>Cicer</i> 鹰嘴豆属	<i>C. aritetinum</i> 鹰嘴豆	<i>Machaerium</i> 马鞍树属	<i>M. amurensis</i> 朝鲜槐
<i>Cladrastis</i> 香槐属	<i>C. platycarpa</i> 翅夹香槐	<i>Millettia</i> 鸡血藤属	<i>M. auriculata</i> 耳型崖豆藤
<i>Clitoria</i> 蝶豆属	<i>C. ternatea</i> 蝶豆		<i>M. dielsiana</i> 鸡血藤
<i>Cordyla</i> 破布木属	<i>C. africana</i> 非洲破布木	<i>Mundulea</i> 栓皮豆属	<i>M. suberosa</i> 栓皮豆
<i>Crotalaria</i> 猪屎豆属	<i>C. madurensis</i> 马都拉猪屎豆	<i>Ononis</i> 芒柄花属	<i>O. spinosa</i> 刺芒柄花
<i>Cytisus</i> 金雀儿属	<i>C. scopartius</i> 金雀儿	<i>Oxytropis</i> 棘豆属	<i>O. glabra</i> 小花棘豆
<i>Dalbergia</i> 黄檀属	<i>D. candeatensis</i> 弯枝黄檀	<i>Pachyrrhizus</i> 豆薯属	<i>P. erosus</i> 豆薯
	<i>D. scaetophyllun</i> 伊卡托叶黄檀	<i>Phaseolus</i> 菜花豆属	<i>P. cocmeus</i> 菜花豆属
	<i>D. lanceolaria</i> 披针黄檀	<i>Psoralea</i> 补骨脂属	<i>P. corylifolia</i> 补骨脂
	<i>D. nigra</i> 黑檀	<i>Ptercarpus</i> 紫檀属	<i>P. santalius</i> 檀香紫檀
	<i>D. odorifera</i> 降香黄檀	<i>Pterodon</i>	<i>P. apparicioi</i>
	<i>D. riparia</i> 河岩黄檀	<i>Pueraria</i> 葛属	<i>P. mirifica</i> 泰国野葛
	<i>D. sissoo</i> 缠绕黄檀		<i>P. phaseoloides</i> 三叶裂葛
	<i>D. scandens</i> 攀登鱼藤		<i>P. thomsonii</i> 甘葛藤
<i>Derris</i> 鱼藤属	<i>E. variegata</i> 刺桐		<i>P. thunbergiana</i> 野葛
<i>Erythrina</i> 刺桐属	<i>E. horfieldi</i> 山豆根		<i>P. tuberosa</i> 块茎葛
<i>Euchresata</i> 山豆根属	<i>F. strobilifera</i> 球穗千斤拔	<i>Sophora</i> 槐属	<i>S. japonica</i> 槐
<i>Flemingia</i> 千斤拔属	<i>G. jussiaeana</i> 乳豆	<i>Tephrosia</i> 灰毛豆属	<i>T. maxima</i> 最大灰叶
<i>Galactia</i> 乳豆属	<i>G. tinctoria</i> 染料木	<i>Tnfolium</i> 车轴草属	<i>T. pratense</i> 红车轴草
<i>Genista</i> 染料木属	<i>G. soja</i> 野大豆		<i>T. subterraneum</i> 地下车轴草
<i>Glycine</i> 大豆属		<i>Ulex</i> 荆豆属	<i>U. europaeus</i> 荆豆
		<i>Wisteria</i> 紫藤属	<i>W. brachybotrys</i> 紫藤

此外, 亚麻科亚麻 (*Linum usitatissimum* L.), 小檗科淫羊藿 (*Epimedium brevicornu* Maxim.), 五加科人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey.), 伞形科柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.) 和蛇床 (*Cnidium monnieri* L. Cuss.), 石蒜科仙茅 (*Curculigo orchioide*

Gaertn.), 石竹科王不留行 (*Vaccaria segetalis* (Neck.) Garcker), 莎草科莎草 (*Cyperus rotundus* L.), 鸢尾科射干 (*Belamcanda chinensis* (L.) Redouté), 茜草科巴戟天 (*Morinda officinalis* How), 大麻科啤酒花 (*Humulus lupulus* Linn.), 薯蓣科山药

(*Dioscorea opposita* Thunb.), 毛茛科黑升麻(*Cimicifuga racemosa* L. Nutt.), 银杏科银杏(*Ginkgo biloba* Linn.)等均含有植物雌激素类成分。

1.2 植物雌激素的结构类型

1.2.1 异黄酮类(isoflavone):异黄酮类植物雌激素^[6]是以3-苯基苯并吡喃酮为母核的多羟基酚类化合物,主要的活性化合物包括:大豆黄酮(daidzein),染料木黄酮(genistein),黄豆黄素

(glycitein)、刺芒柄花素(formononetin)、鹰嘴豆芽素A(biochanin A)、黄腐酚(xanthohumol)、异黄腐酚(isoxanthohumol)、补骨脂二氢黄酮(bavachin)、新补骨脂异黄酮(neobavaisoflavone)、异补骨脂查尔酮(isobavachalcone)、葛根素(puerarin)、淫羊藿苷(icariin)、山柰酚(kaempferol)、光甘草定(glabridin)和光甘草素(glabrene)等。

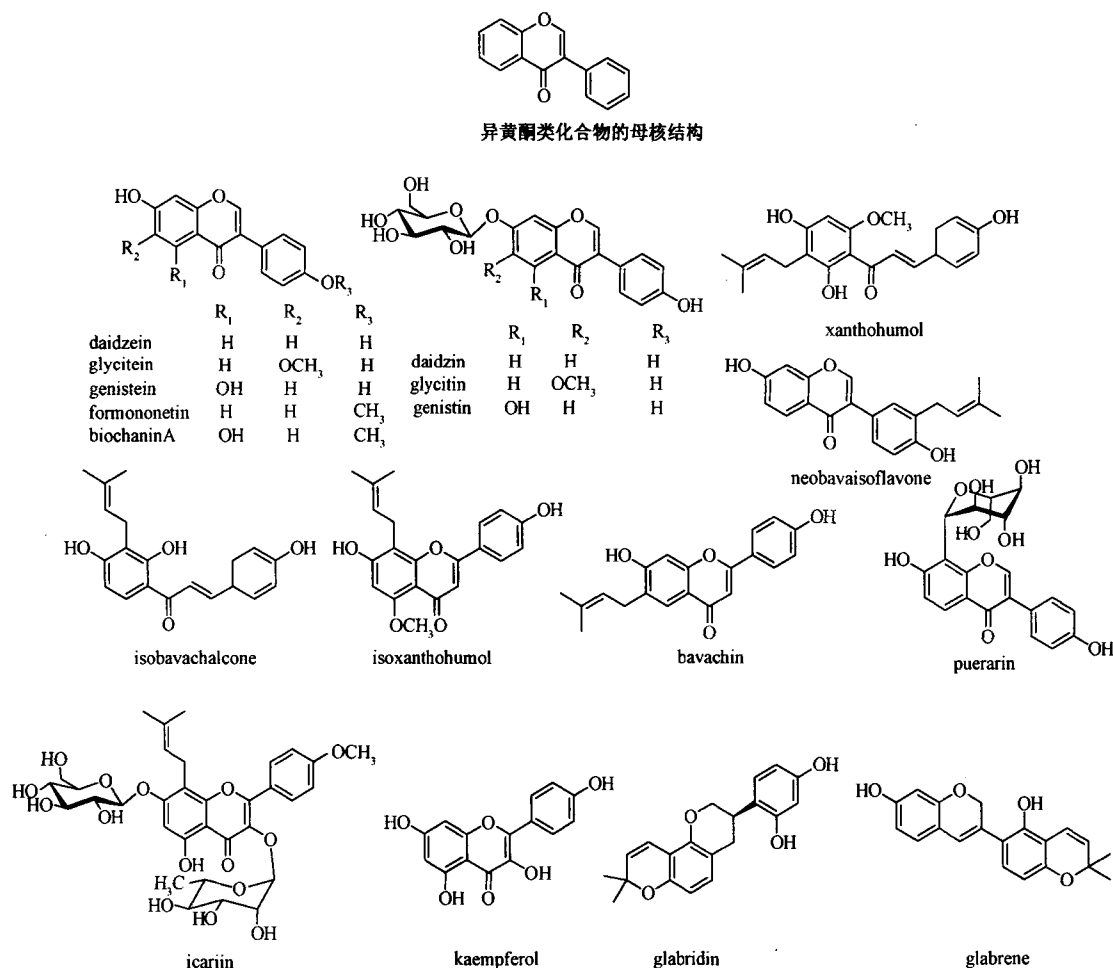


图1 异黄酮类植物雌激素的结构类型及主要活性化合物

Fig.1 Chemical structures and mainly bioactivity compounds of isoflavone phytoestrogens.

1.2.2 木脂素类(lignan):木脂素类植物雌激素为一类主要通过酚基苯乙烯单体氧化耦合而成的化合物,包括:开环异落叶松树脂酚(secoisolariciresinol)、罗汉松脂素(matairesinol)、落叶松树脂醇(lariciresinol)、松脂酚(pinoresinol)、异落叶松脂素(isolariciresinol)、桉皮树脂醇(medioresinol)、丁香脂素(syringaresinol)、去甲二氢愈创木酸(nordihydroguaiaretic acid)和脱水开环异落叶松树脂酚(anhydrosecoisolariciresinol)等^[7]。

1.2.3 香豆素类(coumarins):香豆素类植物雌激

素是结构中具有苯并 α -吡喃酮母核为基本骨架特征的顺式邻羟基桂皮酸内酯类化合物,其中雌激素样化合物有拟雌内酯香豆雌酚(coumestrol)、蛇床子素(osthole)、异欧前胡素(isoimperatorin)、补骨脂素(psoralen)、异补骨脂素(isopsorlen)及其糖苷补骨脂苷(psoralenoside)和异补骨脂苷(isopsoralenoside)等^[8]。

1.2.4 其他结构类型的植物雌激素:除上述3种类型的植物雌激素外,二羟基苯酸内酯类的 α -玉米赤霉毒素(α -zearalanol, α -ZAL),茛菪类化合物白藜芦醇

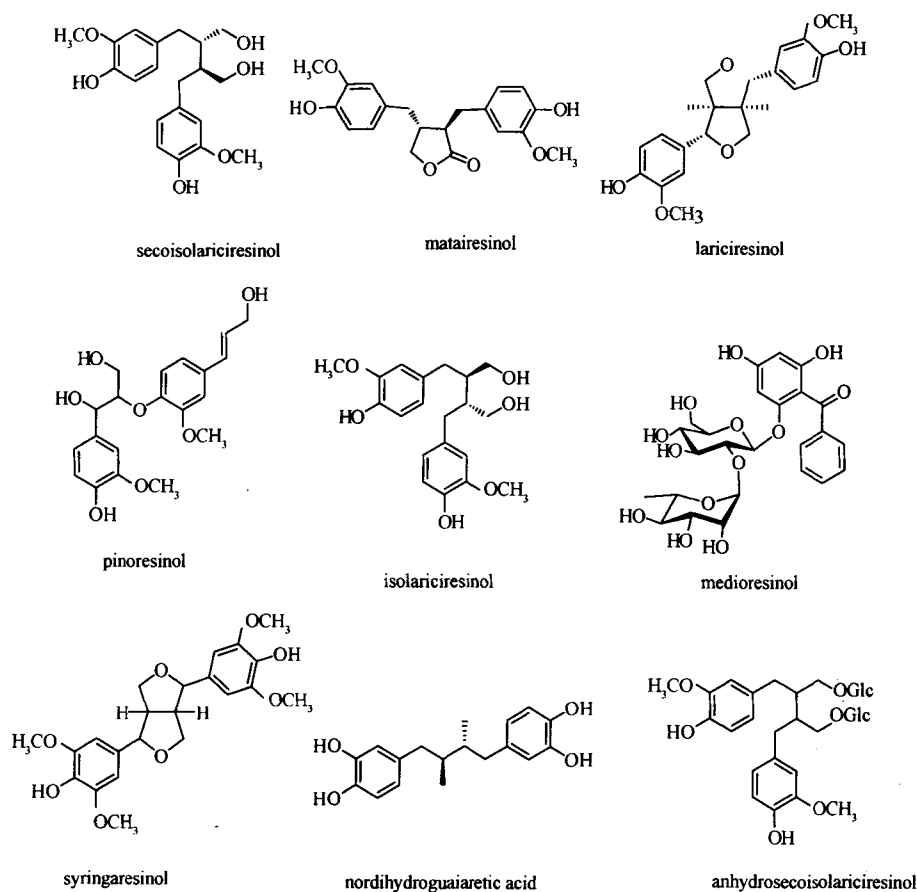


图2 木脂素类植物雌激素的结构及主要活性化合物

Fig. 2 Chemical structures and mainly bioactivity compounds of lignan phytoestrogens.

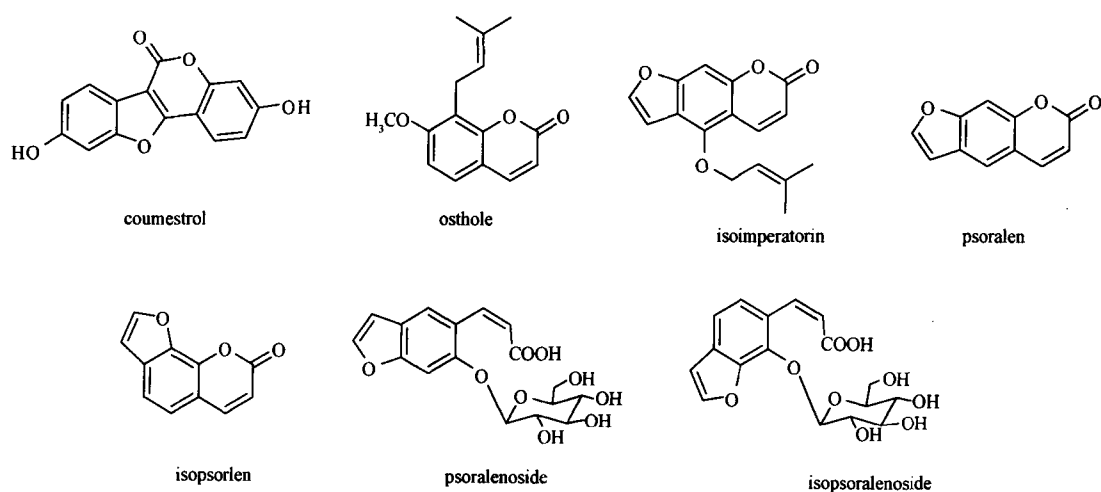


图3 香豆素类植物雌激素的结构及主要活性化合物

Fig. 3 Chemical structures and mainly bioactivity compounds of coumarin phytoestrogens.

(resveratrol), 王不留行中的环肽 segetalin A、B、G、H, 蒽醌类化合物大黄素 (emodin)、大黄酚 (chrysophanol)、大黄酸 (rhein)、大黄素甲醚 (physcion), 广藿香烷型倍半萜香附子烯 (cyperene), 甾醇类的 β -谷甾醇 (β -sitosterol)、蜕皮

甾酮 (ecdysterone), 三萜类的人参皂苷 (ginsenoside)、三七皂苷 (notoginsenoside)、柴胡皂苷 (saikosaponin)、黄芪皂苷 (astragalosaponin) 等其他类型化合物。

2 植物雌激素在防治骨质疏松过程中的作用机制

雌激素对骨代谢的调节有直接作用和间接作用^[9],其间接作用主要体现在:提高 1α 羟化酶活性,增加 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 合成,促进骨形成;促进降钙素(CT)分泌,抑制骨吸收;调节骨对甲状旁腺激素(PTH)敏感性或减少低钙对 PTH 的刺激,从而抑制 PTH 分泌,抑制骨吸收。目前,在成骨细胞(OB)和破骨细胞(OC)中均发现了雌激素受体(ER)的存在。故雌激素可直接作用于 OB、OC 上的 ER 抑制骨吸收,调节骨代谢^[10]。天然异黄酮类物质具有雌激素样作用,能够抑制骨吸收,促进骨形成,维持骨代谢的动态平衡^[11, 12],还可以通过调节骨髓间充质干细胞成骨分化及骨质疏松相关信号通路^[13];ER、丝裂原蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)^[14, 15]、过氧化物酶增殖子受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)^[16, 17]、Wnt^[18, 19]和 Sirt1^[20]等信号通路,促进成骨细胞的分化、增殖,对抗骨质疏松,从而有望成为一种新型的治疗骨质疏松的药物。

2.1 具有雌激素样作用

植物雌激素是一类存在于植物中,能与机体雌激素受体(ER)结合,产生雌激素样作用的非甾体类化合物。研究发现,大豆异黄酮能够抑制绝经后骨质疏松,增加骨骼强度,降低骨折风险^[21]。植物雌激素抗骨质疏松的机制可能是通过雌激素受体 α (ER α)途径调节成骨细胞形成、分化和转录因子,如骨形态发生蛋白,核心结合因子等的表达,增加成骨细胞的增殖和骨形成作用;以及通过雌激素受体途径调控骨代谢的 RANKL-RANK-OPG 系统,抑制破骨细胞的形成、分化和骨吸收作用,维持成骨细胞和破骨细胞之间的动态平衡,减少骨质的丢失。植物雌激素的生物活性约为雌激素的 1/500-1/1000,副作用较小,主要用于绝经后妇女和老年性骨质疏松,但对子宫和乳腺等雌激素受体阳性的其他组织器官不会产生刺激增生等副作用。而且可以与机体中的钙有机结合,促进 $1,25$ -二羟基维生素 D₃ 的合成,增加肠道对钙的吸收,有效弥补了补钙吸收率低的弊端,从而在骨质疏松的防治中引起广泛关注。

2.2 促进 BMSC 成骨分化

近年来干细胞在再生修复和治疗方面显示出较好的应用前景,Wallace 和 Takako 基于基因敲除小鼠的前期研究揭示了老龄性骨质疏松与骨髓间充质

干细胞功能不良的相关性,提示一些关键基因在骨髓间充质干细胞的成骨向分化中起重要作用,其缺失可导致骨质疏松疾病发生^[22-25]。骨髓间充质干细胞(BMSC)是成骨细胞的前体细胞,在骨形成及骨质疏松的过程中起着不可替代的作用^[26]。临床研究证明,通过移植 BMSCs 能够在一定时间内使成骨不全患者的骨骼生长速度加快、骨密度增高、骨折发生率下降^[22]。已有研究表明,植物雌激素在 BMSCs 骨代谢和生物学特性维持方面有特殊的贡献,通过抑制 PPAR γ (过氧化物酶体增殖物激活受体 γ)和 C/EBP α (CCAAT 增强子结合蛋白 α)尤其是 TFs Runx2(成脂转录因子 Runx2)和 Sp7,调节 ER 通路及 Wnt/ β -catenin 和 Sirt1 通路促进 BMSCs 成骨分化^[27]。

2.3 参与调节与骨质疏松相关的信号通路

研究表明,植物雌激素防治骨质疏松作用的分子机制主要涉及 ER、MAPK、PPAR γ 、Wnt 和 Sirt1 等信号通路:植物雌激素通过结合并激活 ER α 和 ER β 发挥骨保护作用;激活细胞膜 ER 引起细胞内 MAPK 的激活;可以抑制以 PPARs 介导的作用,抑制脂肪生成、促进骨生成;Wnt 信号通路可促进成骨细胞的分化、增殖、存活,是成骨细胞的正调节蛋白;Sirt1 与骨代谢、骨量关系密切,组蛋白的去乙酰化修饰可抑制骨形成,降低成骨细胞中骨钙素和碱性磷酸酶的表达,减少成骨细胞的增殖、分化。植物雌激素通过调节骨质疏松相关信号通路,促进骨形成,抑制骨吸收,达到防治骨质疏松的效果。

2.3.1 ER 通路:雌激素(Estrogen)是一类女性荷尔蒙,属于性类固醇激素。雌激素受体分为两大类:细胞核内的 ER α 和 ER β ,核受体的膜性成分及属于 G 蛋白耦联受体家族的 GPR30, Gq-ER, ER-X^[28]。雌激素通过促进成骨细胞增殖和破骨细胞凋亡,发挥抗骨质疏松的作用^[29]。植物雌激素可直接参与机体的内分泌调节,一定剂量的植物雌激素在体内能够与 ER 结合,发挥雌激素样作用。当植物雌激素使用足够的剂量时,可以产生与体内 17β -雌二醇相似的效能^[30, 31]。食物中的植物雌激素在防治更年期综合征、绝经后骨质疏松症等方面有类似雌激素替代疗法(ERT)的积极作用^[32]。不同种类的植物雌激素与雌激素受体结合的亲和力不同而显示出不同的作用效能。研究表明,异黄酮类化合物能使 ER β 的 AF-2 表面更易于结合共调节因子,从而对靶基因具有 ER β 依赖性的转录调节作用^[33]。

雌激素缺乏时,骨代谢转换亢进,骨吸收超过骨

形成,使血清中白细胞介素 1,6(IL-1, IL-6)和肿瘤坏死因子 β (TNF- β)增加。IL-1, IL-6 均可刺激破骨细胞前体细胞的生成和分化,并使破骨细胞活性增加而促进骨吸收, TNF- β 是骨吸收诱导剂。植物雌激素通过 ER 发挥生物效应,抑制这些细胞因子的产生,防止骨量减少^[34]。染料木素^[35]、黄豆黄素、白藜芦醇、人参皂苷、槲皮素和香豆雌酚等植物雌激素,通过调节 ER α 或 ER β 与其他信号通路间的相互联系调节 BMSCs 的成骨、成脂分化^[27],维持 BMSCs 的骨代谢平衡,抑制骨质疏松发展。

2.3.2 MAPK 和 ERK 信号通路:丝裂原活化蛋白激酶(mitogenactivated protein kinases, MAPKs)是真核生物细胞内广泛存在的一类介导细胞反应的重要信号传导系统^[36]。该通路包括三种核心激酶(MAP3K、MAPKK 和 MAPK),以及可能存在的上游(MAP4K)和下游组件(MAPKAPK)。MAPK 信号通路主要包括 ERK1/2 通路、JNK 通路、P38 通路和 ERK5 通路。研究表明,胶原蛋白水解物可以刺激 ERK1/2 磷酸化,促进成骨细胞(osteoblast, OB)分化和增殖,腰椎骨密度(bone mineral density, BMD)增加,由此可见 ERK1/2 与骨质疏松的治疗有关^[37]。JNK-Fra-1 通路在水溶珍珠素(water soluble nacre factor, WSNF)诱导的 OB 矿化过程中发挥重要作用^[38],表明 JNK 通路与骨形成有关。骨形态发生蛋白(BMP)通过激活 p38 MAPK-Smad 信号通路增强 C2C12 细胞成骨分化和矿化。P38 通过增加 OB 生成和减少破骨细胞(osteoclast, OC)分化改善骨质疏松^[39]。由此可见,MAPK 通路在骨质疏松发病机制中发挥重要调节作用。

染料木素呈时间、剂量依赖性调节磷酸化 P38 MAPK 信号通路来刺激鼠初级 MSCs 骨发生,但其产生的成骨分化却不需要 ERK1/2 信号调节。通过抑制 ERK1/2 磷酸化,使成脂标志物表达减少(PPAR γ , C/EBP, FABP4 的蛋白水平和脂质囊泡的积蓄)以及减少脂肪形成,特异性的激活下游的信号通路提高成骨分化^[40]。MG-63 细胞中加入 25 μ g/ml 和 50 μ g/ml Kobophenol A,发现磷酸化 P38 显著增加, cyclin B1 和 CDK1 蛋白表达增加, G2M 期细胞比例显著增加^[41]。以上研究表明,植物雌激素可以通过激活 MAPK 通路促进骨形成,对抗骨质疏松的发展。

2.3.3 PPAR γ 信号通路:转录因子 PPAR γ 作为类固醇激素膜受体 PPAR 的亚家族,能够调整 MSC 分化形成脂肪细胞。PPAR γ 信号通路能够被 PPAR γ

受体激动剂与拮抗剂间接调节,也能通过上游抑制物来减少 PPAR γ 和 C/EBP mRNA 的表达^[42]。在没有成骨性因子时,PPAR γ 抑制不是骨发生刺激物所必须。剑麻皂素能够通过抑制 PPAR γ 和 p38 MAPK 信号通路促进骨髓间质细胞成骨分化^[27, 43]。牛至属提取物黄酮类化合物为 PPAR 调节剂,可以抑制 PPAR γ 蛋白进而影响脂肪形成^[44]。桔梗皂苷通过调控上游的脂肪细胞分化靶点(Krueppel-like factor 2 (KLF2))抑制 PPAR γ 的表达^[45]。此外,白藜芦醇产生的 sirtuin(sirt)信号通路显示刺激内皮细胞 KLF2 的表达,在 MSCs 下调 PPAR γ 表达会产生聚集植物雌激素的作用, sirt 信号通路和调节甲基戊酸通路^[46]。由此可见,植物雌激素通过 PPAR γ 信号通路可以调节 MSCs 脂肪形成,对抗骨质疏松。

2.3.4 Wnt/ β -catenin 通路:Wnt 信号通路在无脊椎动物和脊椎动物发育过程中起关键作用,参与了细胞增殖、分化、凋亡和胚胎发育中细胞定位控制等过程。研究证实, Wnt 信号通路可促进成骨细胞的分化、增殖、存活,是成骨细胞的正调节蛋白^[47]。激活 Wnt 通路可抑制破骨细胞活性,下调 RANKL,增加骨保护素的表达^[48]。Wnt 通路的主要内源性调节因子是硬化蛋白,由骨细胞分泌,通过与 Wnt 配体上 LRP-5 和 LRP-6 受体结合特异性抑制 Wnt 通路的活化,最终抑制骨量形成^[49]。目前,硬化蛋白抗体被用于治疗骨质疏松临床研究。DKK-1 作为 Wnt 信号通路的抑制因子可抑制骨形成^[50]。许多骨量丢失疾病患者的血清 DKK-1 含量升高,因此,通过抑制 DKK-1 的活性来治疗骨量丢失疾病成为近年来的研究热点^[51]。 β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的关键信号分子,可以促进间充质干细胞向成骨细胞分化^[52]。分泌型卷曲相关蛋白 1(secreted Frizzled-related protein-1, sFrp-1)家族是一组与 Wnt 受体 Frizzled 相关的蛋白,在各种组织中广泛表达,可直接与 Wnt 配基结合以抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路^[53]。其中 sFrp-1 与骨质疏松间的关系最为密切^[54]。sFrp-1 基因敲除小鼠的成骨细胞活性增强,多处骨组织表现出松质骨骨密度、骨量和矿化率的上升^[55]。

已有研究表明,印度黄檀中的异黄酮类植物雌激素可以通过激活 BMP2 和 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进 MSCs 成骨分化。生姜中的二芳基庚烷类植物雌激素可以激活 GSK-3 β 的磷酸化,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,防止骨流失。Wnt 信号通路在骨形成中的重要作用,而植物雌激素对其通路中的

众多蛋白的调控也成为治疗骨质疏松的潜在靶点,为治疗骨质疏松带来新希望。

2.3.5 Sirt1 信号通路: Sirt1 是哺乳动物沉默信息调节因子 2 (silent information regulator 2, Sir2) 同源蛋白 (Sirt1-7) 中与酵母菌 Sir2 同源性最高的,也是第 1 个被发现的 Sirtuin 蛋白家族成员^[56]。近年来研究发现, Sirt1 在骨质疏松症的发病、防治中同样发挥重要作用^[57]。Sirt1 在成骨细胞的大量表达与提高老龄鼠骨密度有重要意义。Sirt1 与骨代谢、骨量关系密切,组蛋白的去乙酰化修饰可抑制骨形成,降低成骨细胞中骨钙素和碱性磷酸酶的表达,减少成骨细胞的增殖、分化^[20]。Sirt1 敲除小鼠 (Sirt1 胚系突变的 129/Sv 小鼠) 与野生型 (Sirt1^{+/+}) 小鼠相比, Sirt1 单倍体 (Sirt1^{+/-}) 小鼠骨量、骨小梁数目、股骨体积分数、第 4 腰椎骨矿物质含量显著减少,雌性小鼠表现尤为突出;骨形成明显减少,矿化沉积率和骨形成率降低^[58]。在去卵巢小鼠的骨髓中,还发现 Sirt1 蛋白水平的降低伴随着骨髓脂肪细胞的增加^[59]。

已有研究表明, Sirt1 的激活剂白藜芦醇促进成骨细胞的分化,减少骨髓脂肪细胞的形成和破骨细胞的数量^[60]。白藜芦醇在骨髓间充质干细胞 (MSCs) 向成骨分化中能促进 Sirt1 与 PPAR- γ 结合,抑制 PPAR- γ 的活性,阻碍 MSCs 向脂肪细胞分化,促进骨形成^[61]。PPAR- γ 还可抑制 Runx2 mRNA 的转录活性及成骨信号通路,包括 Wnt 和转化生长因子 β /BMP 等^[62]。Runx2 是启动成骨转录程序的早期主要的转录因子,可诱导成骨细胞特异性基因的表达,如骨桥蛋白、骨钙素和碱性磷酸酶等。为与白藜芦醇具有相似作用的植物雌激素,通过 Sirt1/Runx2 信号通路调节 MSCs 成骨成脂分化平衡,临床治疗骨质疏松提供可能。

植物雌激素作为一种选择性的雌激素受体调节剂,与雌激素相比,其副作用相对较小,已在抗癌,防治心血管疾病,防治更年期综合症,抗骨质疏松、改善认知,防治代谢综合征等多方面,显示出了良好的应用前景。然而,植物雌激素的生物活性受多种因素的影响,如体内代谢途径,剂量,内源性雌激素水平,与其他药物及食物成分的相互作用等。而且,关于植物雌激素防治骨质疏松方面的研究,仍有许多问题需要探讨,如生物活性研究缺乏统一的评价标准,不良反应研究较少,作用机制研究不够系统,根据其结构特征判断化合物的雌激素样作用也不够全面。因而,还需要从细胞、整体动物和临床试验等各

个方面,探讨植物雌激素在防治骨质疏松中的作用,为植物雌激素的临床应用提供科学依据。

【参 考 文 献】

- [1] Pietschmann P, Rauner M, Sipos W, Kersch-Schindl K. Osteoporosis: an age-related and gender-specific disease—a mini-review [J]. *Gerontology*, 2009, 55(1): 3-12.
- [2] Molfetta L, Serio B. Arthritis and osteoporosis: pathogenetic correlations in function of arthroplasty. [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2015, 29(4): 985-90.
- [3] Sirotkin, A. V. and Harrath, A. H. Phytoestrogens and their effects [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 741: 230-6.
- [4] Dixon, R. A. Phytoestrogens [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 225-61.
- [5] 黄芸, 秦民坚, 余国奠. 异黄酮类化合物在植物界的分布及药理作用[J]. *中国野生植物资源*, 2001, 1: 5-7.
HUANG Yun, QIN Minjian, YU Guodian. The distribution and pharmacology effects of isoflavone in plants [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2001, 1: 5-7. (in Chinese)
- [6] Michel T, Halabalaki M, Skaltsounis A L. New concepts, experimental approaches, and dereplication strategies for the discovery of novel phytoestrogens from natural sources [J]. *Planta Med*, 2013, 79(7): 514-32.
- [7] 李欣, 袁建平, 刘昕, 等. 木脂素——一类重要的天然的植物雌激素[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(24): 2021-2025.
LI Xin, YUAN Jianping, LIU Xin, WANG Jianghai. Lignan: an important natural estrogen from plants [J]. *Chinese Journal of Chinese Materia Medica*, 2006, 31(24): 2021-2025. (in Chinese)
- [8] 张韶瑜, 孟林, 高文远, 等. 香豆素类化合物生物学活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(6): 410-414.
ZHANG Shaoyu, MENG Lin, GAO Wenyuan, SONG Naining, JIA Wei, DUAN Hongquan. Advances on biological activities of coumarins [J]. *Chinese Journal of Chinese Materia Medica*, 2005, 30(6): 410-414. (in Chinese)
- [9] Pawlowski JW, Martin BR, McCabe GP, et al. Impact of equol-producing capacity and soy-isoflavone profiles of supplements on bone calcium retention in postmenopausal women; a randomized crossover trial [J]. *Am J Clin Nutr*, 2015, 102(3): 695-703.
- [10] Gambacciani M, Ciapponi M, Cappagli B, Monteleone P, Benussi C, Bevilacqua G, Genazzani AR. Postmenopausal femur bone loss: effects of a low dose hormone replacement therapy [J]. *Maturitas*, 2003, 45(3): 175-83.
- [11] 匡立华, 贾庆运, 谭国庆, 等. 骨碎补防治骨质疏松症的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(8): 1000-1004.
KUANG Lihua, JIA Qingyun, TAN Guonian, et al. Research progress of rhizome *Drynaria* prevention and treatment of osteoporosis [J]. *Chin J Osteoporos*, 2015, 21(8): 1000-1004. (in Chinese)
- [12] Pilsakova L, Rieckensky, I. and Jagla F. The physiological actions of isoflavone phytoestrogens [J]. *Physiol Res*, 2010, 59

- (5): 651-64.
- [13] Liedert A, Wagner L, Seefried L, et al. Estrogen receptor and Wnt signaling interact to regulate early gene expression in response to mechanical strain in osteoblastic cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(3): 755-759.
 - [14] Jaiswal R K. Adult human mesenchymal stem cell differentiation to the osteogenic or adipogenic lineage is regulated by mitogen-activated protein kinase [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(13): 9645-52.
 - [15] Xiao G. Fibroblast growth factor 2 induction of the osteocalcin gene requires MAPK activity and phosphorylation of the osteoblast transcription factor, Cbfa1/Runx2 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(39): 36181-7.
 - [16] Kim J B. ADD1/SREBP1 activates PPARgamma through the production of endogenous ligand [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(8): 4333-4337.
 - [17] Baek JH, Kim SJ, Kang HG, et al. Galectin-3 activates PPARgamma and supports white adipose tissue formation and high-fat diet-induced obesity [J]. *Endocrinology*, 2015, 156(1): 147-56.
 - [18] Miller JR, Hocking AM, Brown JD, et al. Mechanism and function of signal transduction by the Wnt/beta-catenin and Wnt/Ca²⁺ pathways [J]. *Oncogene*, 1999, 18(55): 7860-7872.
 - [19] Gregory CA, Gunn WG, Reyes E, et al. How Wnt signaling affects bone repair by mesenchymal stem cells from the bone marrow [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1049: 97-106.
 - [20] Lee HW, Suh JH, Kim AY, et al. Histone deacetylase 1-mediated histone modification regulates osteoblast differentiation [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(10): 2432-2443.
 - [21] 张建东, 张天东, 陶若奇, 等. 大豆异黄酮对绝经后妇女骨的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2013, 19(6): 616-618.
ZHANG Jiandong, ZHANG Tiandong, TAO Ruoyi, et al. *Chin J of Osteoporos*, 2013, 19(6): 616-618. (in Chinese)
 - [22] Kundu M, Javed A, Jeon JP, et al. Cbfbeta interacts with Runx2 and has a critical role in bone development [J]. *Nat Genet*, 2002, 32(4): 639-644.
 - [23] Tu Q, Valverde P, Chen J. Osterix enhances proliferation and osteogenic potential of bone marrow stromal cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 341(4): 1257-1265.
 - [24] Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ. Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective. [J]. *Biosci Rep*, 2015, 28;35(2): pii: e00191.
 - [25] Zhou S, Greenberger JS, Epperly MW, et al. Age-related intrinsic changes in human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells and their differentiation to osteoblasts [J]. *Aging Cell*, 2008, 7(3): 335-343.
 - [26] Pignolo RJ, Suda RK, McMillan EA, et al. Defects in telomere maintenance molecules impair osteoblast differentiation and promote osteoporosis. *Aging Cell*, 2008, 7(1): 23-31.
 - [27] Du J, Shan Z, Ma P, et al. Allogeneic bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for periodontal regeneration [J]. *J Dent Res*, 2014, 93(2): 183-8.
 - [28] Hammes, S R. and Levin, E R. Extracellular steroid receptors: nature and actions [J]. *Endocr Rev*, 2007, 28(7): 726-741.
 - [29] Vico L and Vanacker J M. Sex hormones and their receptors in bone homeostasis: insights from genetically modified mouse models [J]. *Osteoporos Int*, 2010, 21(3): 365-372.
 - [30] Cassidy A. Potential risks and benefits of phytoestrogen-rich diets [J]. *Int J Vitam Nutr Res*, 2003, 73(2): 120-126.
 - [31] Song WO, Chun OK, Hwang I, et al. Soy isoflavones as safe functional ingredients [J]. *J Med Food*, 2007, 10(4): 571-580.
 - [32] Cos P, De Bruyne T, Apers S, et al. Phytoestrogens: recent developments [J]. *Planta Med*, 2003, 69(7): 589-599.
 - [33] Barkhem T, Carlsson B, Nilsson Y, et al. Differential response of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta to partial estrogen agonists/antagonists [J]. *Mol Pharmacol*, 1998, 54(1): 105-112.
 - [34] Duplomb L, Baud'huin M, Charrier C, et al. Interleukin-6 inhibits receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-induced osteoclastogenesis by diverting cells into the macrophage lineage: key role of Serine727 phosphorylation of signal transducer and activator of transcription 3 [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(7): 3688-3697.
 - [35] Ha H, Lee HY, Lee JH, et al. Formononetin prevents ovariectomy-induced bone loss in rats [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(4): 625-632.
 - [36] Liu C, Li S, Yue J, et al. Microtubule-Associated Protein SBGLR Facilitates Storage Protein Deposition and Its Expression Leads to Lysine Content Increase in Transgenic Maize Endosperm [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, Dec 12;16(12): 29772-86.
 - [37] Kim H K, Kim M G and Leem K H. Osteogenic activity of collagen peptide via ERK/MAPK pathway mediated boosting of collagen synthesis and its therapeutic efficacy in osteoporotic bone by back-scattered electron imaging and microarchitecture analysis [J]. *Molecules*, 2013, 18(12): 15474-15489.
 - [38] Kim H, Lee K, Ko CY, et al. The role of nacreous factors in preventing osteoporotic bone loss through both osteoblast activation and osteoclast inactivation [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(30): 7489-7496.
 - [39] Choi SW, Son YJ, Yun JM, et al. Fisetin Inhibits Osteoclast Differentiation via Downregulation of p38 and c-Fos-NFATc1 Signaling Pathways [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 810563.
 - [40] Liao MH, Tai YT, Cherng YG, et al. Genistein induces oestrogen receptor-alpha gene expression in osteoblasts through the activation of mitogen-activated protein kinases/NF-kappaB/activator protein-1 and promotes cell mineralisation [J]. *Br J Nutr*, 2014, 111(1): 55-63.
 - [41] Kwak JH, Lee SR, Park HJ, et al. Kobophenol A enhances proliferation of human osteoblast-like cells with activation of the p38 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 17(3): 704-713.
 - [42] He YF, Liu FY, Zhang WX. Tangeritin inhibits adipogenesis by down-regulating C/EBPalpha, C/EBPbeta, and PPARgamma expression in

- 3T3-L1 fat cells [J]. Genet Mol Res, 2015, Oct 29;14(4): 13642-8.
- [43] Zhou H, Yang X, Wang N, et al. Tigogenin inhibits adipocytic differentiation and induces osteoblastic differentiation in mouse bone marrow stromal cells [J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 270(1-2): 17-22.
- [44] Mueller M, Lukas B, Novak J, et al. Oregano: a source for peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonists [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(24): 11621-11630.
- [45] Ebert R, Zeck S, Meissner-Weigl J, et al. Kruppel-like factors KLF2 and 6 and Ki-67 are direct targets of zoledronic acid in MCF-7 cells [J]. Bone, 2012, 50(3): 723-732.
- [46] Cappetta D, Esposito G, Piegari E, et al. SIRT1 activation attenuates diastolic dysfunction by reducing cardiac fibrosis in a model of anthracycline cardiomyopathy [J]. Int J Cardiol, 2015, Dec 15;205:99-110.
- [47] Johnson M L and Kamel M A. The Wnt signaling pathway and bone metabolism [J]. Curr Opin Rheumatol, 2007, 19(4): 376-382.
- [48] Baron R and Rawadi G. Wnt signaling and the regulation of bone mass [J]. Curr Osteoporos Rep, 2007, 5(2): 73-80.
- [49] van-Bezooijen RL, Svensson JPEefting D, Visser A, et al. Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation [J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(1): 19-28.
- [50] Glantschnig H, Hampton RA, Lu P, et al. Generation and selection of novel fully human monoclonal antibodies that neutralize Dickkopf-1 (DKK1) inhibitory function in vitro and increase bone mass in vivo [J]. J Biol Chem, 2010, 285(51): 40135-40147.
- [51] Heath DJ, Chantry AD, Buckle CH, et al. Inhibiting Dickkopf-1 (Dkk1) removes suppression of bone formation and prevents the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma [J]. J Bone Miner Res, 2009, 24(3): 425-436.
- [52] Armstrong VJ, Muzylak M, Sinters A, et al. Wnt/beta-catenin signaling is a component of osteoblastic bone cell early responses to load-bearing and requires estrogen receptor alpha [J]. J Biol Chem, 2007, 282(28): 20715-20727.
- [53] Pasold J, Osterberg A, Peters K, et al. Reduced expression of Sfrp1 during chondrogenesis and in articular chondrocytes correlates with osteoarthritis in STR/ort mice [J]. Mol Endocrinol, 2013, 18(5): 1222-1237.
- [54] Wang FS, Lin CL, Chen YJ, et al. Secreted frizzled-related protein 1 modulates glucocorticoid attenuation of osteogenic activities and bone mass [J]. Endocrinology, 2005, 146(5): 2415-2423.
- [55] Gopalsamy A, Shi M, Stauffer B, et al. Identification of diarylsulfone sulfonamides as secreted frizzled related protein-1 (sFRP-1) inhibitors [J]. J Med Chem, 2008, 51(24): 7670-7672.
- [56] Sherman JM, Stone EM, Freeman-Cook LL, et al. The conserved core of a human SIR2 homologue functions in yeast silencing [J]. Mol Biol Cell, 1999, 10(9): 3045-3059.
- [57] Marie P J and Kassem M. Osteoblasts in osteoporosis: past, emerging, and future anabolic targets [J]. Eur J Endocrinol, 2011, 165(1): 1-10.
- [58] Cohen-Kfir E, Artsi H, Levin A, et al. Sirt1 is a regulator of bone mass and a repressor of Sost encoding for sclerostin, a bone formation inhibitor [J]. Endocrinology, 2011, 152(12): 4514-4524.
- [59] Elbaz A, Rivas D and Duque G. Effect of estrogens on bone marrow adipogenesis and Sirt1 in aging C57BL/6J mice [J]. Biogerontology, 2009, 10(6): 747-755.
- [60] He X, Andersson G, Lindgren U, et al. Resveratrol prevents RANKL-induced osteoclast differentiation of murine osteoclast progenitor RAW 264.7 cells through inhibition of ROS production [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 401(3): 356-362.
- [61] Shockley KR, Lazarenko OP, Czernik PJ, et al. PPARgamma2 nuclear receptor controls multiple regulatory pathways of osteoblast differentiation from marrow mesenchymal stem cells [J]. J Cell Biochem, 2009, 106(2): 232-246.
- [62] Shakibaei M, Shayan P, Busch F, et al. Resveratrol mediated modulation of Sirt-1/Runx2 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells: potential role of Runx2 deacetylation [J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35712.

(收稿日期: 2015-8-24)