

补骨脂活性成分对骨质疏松相关信号通路影响的研究概况

刘小钰¹ 宋敏^{1*} 蒋林博¹ 周灵通¹ 董万涛² 巩彦龙¹

1. 甘肃中医药大学,甘肃 兰州 730000

2. 甘肃中医药大学附属医院,甘肃 兰州 730000

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 06-0831-06

摘要: 骨质疏松症(osteoporosis, OP)随社会老龄化进程加速在全球的发病率呈逐渐增长的态势,且致残、致死率较高,临床治疗效果尚不满意。补骨脂作为目前中医药防治 OP 的研究热点,疗效显著,其活性成分能够干预骨代谢相关信号通路,促进成骨细胞的分化、增殖,抑制破骨细胞的形成,维持骨稳态。本文将从三个方面围绕骨质疏松相关信号通路,对补骨脂活性成分治疗 OP 的作用机制展开综述,为 OP 靶向治疗提供依据,为进一步研究和开发抗骨质疏松新药提供前景。

关键词: 补骨脂活性成分;骨质疏松;信号通路

The study of the effect of the active ingredients of fructus psoraleae on the osteoporosis-related signal pathways

LIU Xiaoyu¹, SONG Min^{1*}, JIANG Linbo¹, ZHOU Lingtong¹, DONG Wantao², GONG Yanlong¹

1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730000, China

2. The Affiliated Hospital of Gansu TCM University, Lanzhou, Gansu 730000, China

Corresponding author: SONG Min, Email: sm@gszy.edu.cn

Abstract: Osteoporosis (OP) presents a trend of gradual growth with the accelerated aging process in the society. It represents a high rate of disability and mortality, with dissatisfactory clinical treatment effect. Scurfpea fruit, as a hot spot for prevention and treatment of OP with traditional Chinese medicine, presents a significant remedy. Its active ingredient can interfere with the signal pathways of bone metabolism, promote the differentiation and proliferation of osteoblasts, inhibit the formation of osteoclasts, and maintain the bone homeostasis. This paper summarizes the functional mechanism of active ingredients of scurfpea fruit in the treatment of OP from three aspects on osteoporosis-related signal pathways, provides a basis for targeted treatment of OP, and offers the prospect for further research and development of anti-osteoporosis drugs.

Key words: Active ingredients of fructus psoraleae; Osteoporosis; Signal pathway

骨质疏松症(OP)是一种隐匿性疾病^[1],骨代谢异常疾病^[2]。根据病因分为原发性(I型-高代谢转化型、II型-低代谢转化型)、继发性和特发性,病理变化为骨量降低、骨微结构破坏、骨脆性增加、骨强度下降。临床表现有腰背或周身疼痛、脊柱变形、骨折。流行病学调查研究,约50%的女性和20%的男性因OP有患骨折的风险^[3],20%~30%患者的死

亡率与骨折后长期固定及术后并发症相关^[4]。我国目前已经进入社会老龄化阶段,因此,积极治疗和预防OP显得尤为重要。祖国医学将OP归属为“骨痿”、“骨枯”、“骨痹”范畴,因先天禀赋不足、后天饮食不节、久病失治、脏器损伤,致脾肾两虚,髓空骨枯而发病。中药补骨脂(*Psoralea Corylifolia* Linn)味辛、苦,性温,归脾、肾经,有补肾助阳、温脾等功效^[5],主治肾虚腰痛、骨痿、骨痹,其活性成分具有促成骨细胞分化、增殖的作用,成为防治OP的研究热点^[6,7]。本文将进一步探讨补骨脂活性成分对OP相关信号通路的影响,以期开展更深层次的基础研究,指导临床实践。

基金项目: 甘肃省自然科学基金计划(1506RJZA048);甘肃省中医药管理局项目(GZK-2016-17);甘肃省重点中医药现代制药工程研究院自立项目(YWW-2015049)

* 通讯作者: 宋敏, Email: sm@gszy.edu.cn

1 补骨脂抗骨质疏松的活性成分

补骨脂活性成分主要有香豆素类、黄酮类、萜酚类等,其中抗骨质疏松作用的主要有^[7,8];补骨脂素(psoralen)、异补骨脂素(isopsoralen)、甲氧补骨脂素(methoxy psoralen)、补骨脂定(psoralidin)、补骨脂黄酮(bavachalcone)、补骨脂二氢黄酮(bavachlin)、异补骨脂二氢黄酮(isobavachenin)、异补骨脂查耳酮(isoba-vacalcone)、补骨脂酚(bakuchiol)等。药理学研究表明香豆素类成分、黄酮类成分为抗骨质疏松的主要活性物质,能促进成骨细胞的分化、增殖,促进骨形成^[9,10]。黄酮类成分还具有类似于植物雌激素样的作用,毒副作用低微,避免了雌激素的致癌作用,可替代雌激素长期服用^[11]。另外,在补骨脂雌激素样作用有效成分的研究中发现,补骨脂酚能够通过调节雌激素水平促进成骨细胞分化、增殖^[12]。也有研究证明补骨脂酚能减缓去卵巢小鼠的骨质损耗^[13],在提高成骨细胞分化与增殖的作用方面表现出更强的作用。因此,大量基础研究成果表明,补骨脂活性成分在开发抗骨质疏松新药方面具有很大潜力,对指导临床用药具有重要的意义。

2 对骨质疏松相关信号通路的影响

2.1 对 BMPs/TGF- β 通路的影响

BMPs/TGF- β 信号通路在骨代谢中负责调控成骨细胞的分化与增殖^[14]。骨成型蛋白(BMPs)是一种广泛存在于骨基质中的酸性糖蛋白,是转化生长因子(TGF- β)超家族中最大的一组,目前已有20余种,其中BMP-2在诱导成骨细胞分化与促进骨形成的作用中占有重要地位。Smads为BMP信号转导蛋白,分9个亚型,Smad1-9。BMP-2与骨密度的降低及骨折风险度紧密关联,BMP-4基因的多态性也曾被证明与老年性骨质疏松症密切相关。BMP-2和BMP-4与相应细胞表面受体结合,并诱导靶基因(Smad1/5/8)磷酸化,磷酸化的Smad1/5/8与Smad4结合形成复合体转移至细胞核内与不同的DNA结合蛋白结合,激活骨特异性基因的转录,作用于骨细胞,刺激骨形成。另外,BMP还能上调I型胶原(type I collagen, Col I)、碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(OC)等的表达,促进成骨细胞的分化。

Tang DZ等^[15]发现,补骨脂素能够激活骨成型蛋白,上调BMP-2与BMP-4基因的表达,增强Smad1/5/8的磷酸化水平,增强BMP信号的直接靶

基因成骨细胞特异性转录因子(Osx)的表达,促进成骨细胞的分化与增殖。在补骨脂素对BMP-2、BMP-4表达的影响及BMP信号的研究中,相关qPCR数据显示,补骨脂素能够显著增加成骨细胞中BMP-2与BMP-4的mRNA表达,为确定补骨脂素是否能够激活下游BMP相关基因的转录,测量发现补骨脂素水平为10与100 $\mu\text{mol/L}$ 时能够显著增加初级成骨细胞中Smad1/5/8的磷酸化水平^[16]。这进一步证实了补骨脂素能够激活成骨细胞分化的BMP信号。

异补骨脂素对小鼠胚胎前成骨细胞TGF- β 受体蛋白的表达也具有一定的影响,研究结果显示异补骨脂素能明显促进成骨细胞增殖和Col I的分泌,刺激TGF- β I、II型受体蛋白的表达^[17,18],表明异补骨脂素可通过BMP/TGF- β 信号通路促进成骨细胞分化、增殖及骨胶原基质的合成,加快成骨细胞中钙盐的沉积,从而发挥抗骨质疏松的作用。另有研究也证实了这一结论,在异补骨脂素加锌对大鼠成骨细胞相关因子表达影响的实验中发现,雌激素组、异补骨脂素组、异补骨脂素加锌组均能增强大鼠成骨细胞中Col I mRNA、OxsmRNA、Smad4mRNA的表达,其中加锌组表达量明显高于雌激素组和异补骨脂素组($P < 0.05$),异补骨脂素组与加锌组均可促进成骨细胞分泌TGF- β I,同时上调Smad4mRNA的表达^[19]。大量基础研究成果也均表明异补骨脂素对成骨相关因子的表达具有明显的促进作用^[20-24],对BMP/TGF- β 信号通路存在直接或间接的影响。

孔西建等^[10]发现,补骨脂黄酮能刺激体外培养的乳鼠颅骨成骨细胞骨相关蛋白(OC、BMP-2、OPN和Col I)的分泌,增强成骨相关基因Runx-2、Osx的表达,显著提高ALP的活性。推测补骨脂黄酮可能是通过对BMP/TGF- β 信号通路的干预来刺激成骨细胞的分化,增加结节数量,促进成骨细胞矿化成熟,防治骨质疏松。

2.2 对 EphB/EphrinB 通路的影响

研究发现EphB4/EphrinB2正向信号通路能够使ERK1/2磷酸化,抑制RhoA激酶的活性,促进成骨细胞分化,调节骨稳态^[25]。雌激素受体ER作为一种转录因子^[26],对EphB4/EphrinB2蛋白的翻译或稳定性有一定的调节作用。在青春期早期,体内孕激素缺乏活性^[27],主要由雌激素通过调节EphB4/EphrinB2信号通路影响乳腺上皮细胞的增殖与分化。有研究结果显示,在卵巢摘除模型小鼠

雌激素缺失状态下,添加相应的 EphB4-Fc、EphrinB2-Fc 蛋白片段,通过 EphB4/EphrinB2 信号通路能够上调 BMSCs 成骨分化过程中 OPG 的表达,再由 OPG/RANK/RANKL 信号通路间接抑制破骨细胞的分化^[28]。

运用小鼠子宫增重法,发现补骨脂酚对雌激素受体 ER_α的亲合力是受体 ER_β的 3~5 倍^[12]。在乳腺癌中通常检测到 ER_α高于 ER_β,且明显高于正常水平。上述结果表明,补骨脂酚对 ER_α的高亲和力作用较其他药物能明显降低乳腺癌的发病风险,具有较高的雌激素样作用。相关研究也显示,补骨脂酚的植物雌激素样作用能够增加 ALP、Ca²⁺、E₂ 的浓度水平,提高骨矿物质的水平,降低无机磷水平,对绝经后妇女骨量的丢失起一定的防治作用^[29,30]。

补骨脂定为拟雌激素内脂类,具有明显的雌激素样作用。在补骨脂定抗实验绝经后骨质疏松的效应及机制研究中发现,实验组大鼠血雌二醇(E₂)、降钙素(CT)含量明显升高,股骨的骨密度显著增加,切片观察胫骨骨小梁充实、分布均匀,骨髓比正常,提示补骨脂定通过提高体内雌激素的水平对绝经后骨质疏松症有一定的作用^[31]。

综上所述,雌激素能够通过调节 Eph/Ephrin 信号通路影响成骨、破骨细胞的分化,推测补骨脂酚与补骨脂定抗 OP 的作用机制可能是通过提高体内雌激素水平,调节 Eph/Ephrin 信号通路来影响骨代谢,促进成骨分化,但其机制复杂,有待进一步研究与验证。

2.3 对 OPG/RANK/RANKL 通路的影响

OPG/RANK/RANKL 信号通路在骨代谢方面主要诱导破骨细胞的成熟,调控骨吸收。RANKL(核因子-κB 受体活化因子配体)可激活表达于破骨细胞受体的 RANK(核因子-κB 受体活化因子),由 RANKL 介导的 RANK 激活之后,多个关键的调节性转录因子及相关酶的表达增强并促进了破骨细胞的分化、增殖、多核化、激活与生存。研究表明,影响该通路最重要的调节因子是核因子 NF-κB^[32,33],绝经后雌激素的缺乏刺激 NF-κB 的活化,使 RANKL 水平提高,骨的重吸收被上调,骨量丢失加速。OPG(骨保护素)主要由成骨细胞分泌,受体内性激素的影响,是 RANK/RANKL 信号通路的内源性调节因子,能够通过高亲和力与过量的 RANKL 结合,防止 RANK 活化,抑制破骨细胞的分化、成熟。

研究发现,补骨脂素可干预大鼠成骨细胞 OPG/核因子 κB 受体活化因子配体 mRNA 的表达,

增加大鼠成骨细胞分泌 OPG,下调 RANKLmRNA 的表达,抑制破骨细胞的分化和成熟,抑制骨吸收^[34]。尽管实验结果显示,OPGmRNA 的表达与 E₂ 相比较弱,但证实了补骨脂素可以通过影响 OPG/RANK/RANKL 信号通路,逆转录与成骨分化的相关因子,抑制骨破坏,促进骨形成。前面提到补骨脂素还可激活 BMP/TGF-β 信号通路,促进成骨细胞的分化,因此,在防治 OP 时,补骨脂素可同时作用于成骨细胞和破骨细胞,具有双重效应。

2.4 对 ERK1/2、PI3K-Akt 通路的影响

MAPK 信号通路与骨质疏松的发生密切相关,主要包括 ERK1/2 通路、JNK 通路、P38 通路和 ERK5 通路。胶原蛋白水解物可以刺激 ERK1/2 磷酸化,最终导致成骨细胞分化和增殖^[35]。ERK1/2 被激活后转位入细胞核,可以激活下游的相关转录因子,调控细胞的生存、增殖和分化^[36]。PI3K/Akt 信号通路在调节骨稳态方面也扮演着重要角色,PI3K/Akt 激活后可以促进 ALP、BMP-2 等成骨相关信号分子的表达^[37],促进成骨细胞的增殖和分化^[38]。也有研究表明,PI3K/Akt 信号通路能够网络成骨细胞与破骨细胞的分化、增殖过程,调节成骨分化和破骨形成,从而维持骨稳态^[39],成为研究的新靶点。

抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)为破骨细胞高分化的标志性酶,在研究补骨脂单体成分对体外培养的成骨细胞和破骨细胞分化影响的实验中发现,异补骨脂查耳酮对 TRACP 的活性无影响,对成骨细胞的增殖、分化及 ALP 的表达也无直接作用,而在低剂量 0.05 μmol/L 浓度下主要是通过干预 ERK1/2、PI3K-Akt 信号通路来抑制破骨细胞的形成,促进成骨分化,且作用显著,与 Park CK^[40]等的研究相吻合。

2.5 对骨组织 GABA 通路的影响

γ-氨基丁酸(GABA)为哺乳动物重要的抑制性神经递质。具有降压、改善脑循环、营养神经、镇静、催眠、改善肝肾功等生理作用。研究发现,骨组织 GABA 信号通路能够调节成骨细胞和破骨细胞的增殖、分化,在骨重建过程中发挥重要作用,与 OP 的发生有着密切联系^[41],间接影响骨代谢,改善骨髓微环境。GABA 能促进生长激素(growth hormone, GH)的分泌,使骨组织中 IGF 含量增加,刺激成骨细胞增殖、分化,但其研究相对较少。有关实验结果显示,用补骨脂二氢黄酮给去卵巢大鼠灌胃 12w 后,与模型组相比,给药组大鼠股骨骨密度升高,尿钙值

降低,骨组织中 GABA 和 GABA_B RI 的含量明显减少,说明补骨脂二氢黄酮能够增加模型组大鼠骨密度,使神经系统的调节作用减缓,GABA 及相关物质的释放减少,成骨的迫切性降低^[11],而在正常生理情况下,由于模型组大鼠骨量丢失严重及骨痛,将会使 GABA 的分泌增加,间接刺激成骨反应。所以,当体内 GABA 大量聚集但又不能及时被转运时,GABA 可能通过 GABA_B RI 对成骨细胞的活性造成一定的抑制作用。推测补骨脂二氢黄酮可能是通过减缓富集的 GABA 对成骨细胞的抑制性影响,对 OP 起到一定的防治作用,但其具体机制有待进一步研究。

2.6 对 Wnt/ β -catenin 通路的影响

Wnt/ β -catenin 为成骨分化经典信号通路。胞外因子(Wnt)与膜受体结合后通过一系列胞质蛋白的相互作用使胞内 β -catenin 浓度升高,进入胞核内与转录因子(TCF/LEF)结合,诱导 Runx2、Osx 等的表达,促进成骨分化。研究发现,Wnt/ β -catenin 在促进成骨细胞分化的同时,还可以上调 OPG 的表达,抑制 RANK 与 RANKL 的结合,间接抑制破骨细胞的分化^[42]。通过上述研究,我们发现补骨脂活性成分在影响相应信号通路的同时,均可直接或间接刺激成骨相关因子的表达,促进成骨分化;或上调 OPG 的表达,间接抑制破骨细胞的形成,最终影响骨代谢,维持骨稳态,对 OP 起一定的防治作用。而 Wnt/ β -catenin 信号通路的双向作用,既能促进 Osx1 向成骨细胞表达,又能刺激和分泌 OPG,减少破骨细胞的形成,因此,补骨脂活性成分抗 OP 过程中对 Wnt/ β -catenin 信号通路可能产生一定的影响,但具体是哪种成分的作用,机制较为模糊,相关文献报道也甚少,需要进一步研究与探讨。

3 展望

骨质疏松症(OP)的发生主要由成骨细胞骨形成与破骨细胞骨吸收平衡失调引起。对 OP 的研究有骨组织、细胞、分子水平。在细胞水平,主要是成骨细胞与破骨细胞的偶联失衡引起。在分子水平,骨代谢相关信号通路发挥了重要作用,为 OP 病理生理学的研究开辟了新领域。参与调控 OP 的各信号通路之间可能存在一定的联系,共同影响成骨细胞与破骨细胞的分化,但是大多数信号通路的机制尚不明确,各通路之间的相互联系研究较少。尚有少量文献报道,骨组织中的许多信号分子在生理刺激下或病理状态下,能够选择性的激活 PI3K/Akt 信

号通路的相关基因,同时作用于成骨细胞与破骨细胞的各信号通路,调节成骨细胞与破骨细胞的分化,维持骨稳态,可能成为 OP 研究的新途径,但需大量基础研究来证实。

由于西药治疗 OP 的局限性,大量基础研究转向了对中医药的开发和利用,基于“骨肉不相亲理论”,中医认为本病的发生与脾肾相关,脾主肌肉,肾主骨,因此,从脾肾论治 OP,体现了中医“治病必求于本”的思想,成为中医药研究、开发的焦点和热点。补骨脂作为补肾壮骨的传统中药,其部分活性成分能够干预骨质疏松相关信号通路刺激成骨相关因子 Runx2、Osx 等的表达,促进成骨细胞分化,抑制骨吸收,但各成分对各信号通路的部分靶点作用机制还不明了,而且 PI3K/Akt 信号通路可能作为调控成骨细胞与破骨细胞分化的相关信号通路的网络中心,成为研究 OP 的新靶点。因此,深入分子生物学水平,充分发掘补骨脂有效活性成分,使其精准作用于骨代谢相关信号通路的靶点,并进一步研究与论证其干预机制,发挥补骨脂的最优药用价值,成为后续工作者研究的主要方向,为后期开发抗骨质疏松新药提供理论依据,开辟新的道路,充分发挥中医药治疗 OP 的特色优势,为广大患者带来福音。

【参 考 文 献】

- [1] Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, et al. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int*, 2014, 25(10):2359-2381.
- [2] Svedbom A, Ivergård M, Hernlund E, et al. Osteoporosis in the European Union: medicine management, epidemiology and economic burden. *Archives of Osteoporosis*, 2013, 11(8):36.
- [3] Pickhardt PJ, Lee LJ del Rio AM, et al. Simultaneous screening for osteoporosis at CT colonography: bone mineral density assessment using MDCT attenuation techniques compared with the DXA reference standard. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(9):2194-2203.
- [4] Kanis JA, Oden A, Johnell O, et al. The components of excess mortality after hip fracture. *Bone*, 2003, 32(5):468-473.
- [5] 梁建军,徐亚莉,田树喜,等.补骨脂研究现状及前景. *河北中医药*, 2013, 35(12):1904-1906.
Liang JJ, Xu YL, Tian SX, et al. The research status and prospect of Scurfpea fruit. *Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2013, 35(12):1904-1906. (in Chinese)
- [6] 李璘,邱蓉丽,乐巍,等.补骨脂雌激素样作用实验研究. *辽宁中医药大学学报*, 2012, 14(4):57-58.
Li L, Qiu RL, Yue W, et al. Experimental research on estrogen-like effects of fructus psoraleae. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2012, 14(4):57-58. (in Chinese)

- [7] 邱蓉丽,李璘,乐巍. 补骨脂的化学成分与药理作用研究进展. 中药材,2010,33(10):1656-1659.
Qiu RL, Li L, Yue Wi. Research progress on chemical constituents and pharmacological actions of fructus psoraleae. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2010, 33(10): 1656-1659. (in Chinese)
- [8] 林清,李劲平,栗会敏,等. 补骨脂的研究进展. 咸宁学院学报(医学版),2012,26(2):175-177.
Lin Q, Li JP, Li HM, et al. Research progress on fructus psoraleae. Journal of Xianning University (Medical Science Edition), 2012, 26(2): 175-177. (in Chinese)
- [9] 郭洁,宋殿荣. 补骨脂香豆素成分研究进展. 天津中医药, 2013, 30(4):250-253.
Guo J, Song DR. Research progress on coumarin constituents of fructus psoraleae. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 30(4): 250-253. (in Chinese)
- [10] 孔西建,翟远坤,刘玉珂,等. 补骨脂黄酮对乳鼠颅骨成骨细胞增殖和矿化成熟的影响. 中医正骨,2013,25(9):10-15.
Kong XJ, Zhai YK, Liu YK, et al. Effect of Flavonoid on proliferation and mineralization of the suckling mouse skull osteoblast. The Journal of Traditional Chinese Orthopedics and Traumatology, 2013, 25(9): 10-15. (in Chinese)
- [11] 朱振标,沈慧,林之斌,等. 补骨脂二氢黄酮对去卵巢大鼠骨质疏松症影响的实验研究. 陕西中医,2015,36(8):1083-1084.
Zhu ZB, Shen H, Lin ZB, et al. Experiment and study of effect of corylifolin on osteoporosis of oophorectomized bandicoot. Shanxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, 36(8): 1083-1084. (in Chinese)
- [12] 寿清耀,杨荣平,王宾豪,等. 补骨脂雌激素样作用的有效成分研究. 中药新药与临床药理,2007,18(6):425-427.
Shou QY, Yang RP, Wang BH, et al. Effective constituents study on estrogen-like effects of fructus psoraleae. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2007, 18(6): 425-427. (in Chinese)
- [13] Xin D, Wang H, Yang J, et al. Phytoestrogens from Psoralea corylifolia reveal estrogen receptor-subtype selectivity. Phytomedicine, 2010, 17(2): 126-131.
- [14] Zhang JF, Fu WM, He ML, et al. MiRNA-20a promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by co-regulating BMP signaling. RNA Biol, 2011, 8(5): 829-838.
- [15] Tang DZ, Hou W, Zhou Q, et al. Osthole stimulates osteoblast differentiation and bone formation by activation of beta-catenin-BMP signaling. Bone Miner Res, 2010, 25(6): 1234-1245.
- [16] Tang DZ, Yang F, Yang Z, et al. Psoralen stimulates osteoblast differentiation through activation of BMP signaling. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 405(2): 256-261.
- [17] 塔娜,谭明生,移平,等. 异补骨脂素对小鼠胚胎前成骨细胞 TGF- β 受体影响的实验研究. 中华中医药学刊,2011,29(4): 820-822.
Tana, Tan MS, Yi P, et al. Experiment and study of effect of Isopsoralen on the TGF- β receptor of the osteoblast before the mouse embryo. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2011, 29(4): 820-822. (in Chinese)
- [18] 塔娜,谭明生,移平,等. 异补骨脂素对小鼠胚胎前成骨细胞胶原的影响. 中国中医药信息杂志,2011,18(4):23-25.
Tana, Tan MS, Yi P, et al. Effects of isopsoralen on preosteoblast collagen of mouse embryos. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2011, 18(4): 23-25. (in Chinese)
- [19] 王建华,张军芳,吕萍,等. 异补骨脂素加锌对大鼠成骨细胞相关细胞因子表达影响的实验研究. 天然产物研究与开发, 2010, 22(3):403-407.
Wang JH, Zhang JF, Lv P, et al. Experiment and study of effect of Isopsoralen with zinc on the expression of relative Cytokines of bandicoot osteoblast. Natural Product Research and Development, 2010, 22(3): 403-407. (in Chinese)
- [20] 明磊国,陈克明,葛宝丰,等. 异补骨脂素对体外培养大鼠成骨细胞增殖分化成熟的影响. 中药材,2011,34(3):404-408.
Ming LG, Chen KM, Ge BF, et al. Effect of Isopsoralen on proliferation, cytodifferentiation and maturation of the bandicoot osteoblast in vitro culture. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2011, 34(3): 404-408. (in Chinese)
- [21] 明磊国,葛宝丰,陈克明,等. 异补骨脂素对体外培养骨髓间充质干细胞增殖与成骨性分化的研究. 中国中药杂志,2011, 36(15):2124-2128.
Ming G, Ge BF, Chen KM, et al. Study of Isopsoralen on proliferation and osteogenic cytodifferentiation of the BMSCs in vitro culture. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(15): 2124-2128. (in Chinese)
- [22] 史春民,王拥军,苗登顺. 异补骨脂素促进大鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化并抑制其向脂肪细胞分化. 南京医科大学学报(自然科学版),2011,31(5):606-611.
Shi CM, Wang YJ, Miao DS. Isopsoralen facilitate the osteogenic cytodifferentiation of the bandicoot's BMSCs and suppress the cytodifferentiation to lipocyte of it. Acta Universitatis Medicinalis Nanjing (Natural Science Edition), 2011, 31(5): 606-611. (in Chinese)
- [23] 柴丽娟,樊娜,王虹,等. 补骨脂单体成分对体外培养成骨细胞和破骨细胞分化的影响. 天津中医药,2015,32(5):299-303.
Chai LJ, Fan N, Wang H, et al. Effect of Psoralea Monomer component on cytodifferentiation of osteoblast and osteoclast in vitro culture. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, 32(5): 299-303. (in Chinese)
- [24] 翟远坤,潘亚磊,牛银波,等. 补骨脂素与异补骨脂素对乳鼠颅骨成骨细胞分化成熟影响的比较研究. 中国药理学通报, 2012, 28(3):355-360.
Zhai YK, Pan YL, Niu YB, et al. Comparative studies of effect of Psoralen and Isopsoralen on cytodifferentiation and maturation of the suckling mouse skull osteoblast. Chinese Pharmacological Bulletin, 2012, 28(3): 355-360. (in Chinese)
- [25] Chen Zhao, et al. Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis. Cell Metabolism, 2006, 4(2): 111-

- 121.
- [26] Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 1988, 240(4854):889-895.
- [27] Haslam SZ. The ontogeny of mouse mammary gland responsiveness to steroid hormones. *Endocrinology*, 1989, 125(5):2766-2772.
- [28] 史淇月. 雌激素通过 EphB/EphrinB 信号通路对破骨细胞分化的调节[D]. 第四军医大学, 2014.
Shi QY. Regulation of estrogen by EphB/EphrinB signaling pathway on osteoclastic cell differentiation [D]. The Fourth Military Medical University, 2014. (in Chinese)
- [29] Tsai MH, Huang GS, Hung YC, et al. Psoralea corylifolia extract ameliorates experimental osteoporosis in ovariectomized rats. *Am J Chin Med*, 2007, 35(4):669-680.
- [30] Lim SH, Ha TY, Kim S R, et al. Ethanol extract of Psoralea corylifolia L. and its main constituent, bakuchiol, reduce bone loss in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Br J Nutr*, 2009, 101(7):1031-1039.
- [31] 李劲平, 王小静, 曾英, 等. 补骨脂定抗实验性绝经后骨质疏松的效应及作用机制研究. *中国中药杂志*, 2013, 38(11):1816-1819.
Li JP, Wang XJ, Zeng Y, et al. Study of the effect and the mechanism of Psoralea on protect against osteoporosis after the experimental menostasia. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2013, 38(11):1816-1819. (in Chinese)
- [32] Tu P, Duan P, Zhang RS, et al. Polymorphisms in genes in the RANKL/RANK/OPG pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in post-menopausal women. *Osteoporos Int*, 2015, 26(1):179-185.
- [33] De la Rica L, García-Gómez A, Comet NR, et al. NF- κ B-direct activation of microRNAs with repressive effects on monocyte-specific genes is critical for osteoclast differentiation. *Genome Biol*, 2015, 5(16):2-17.
- [34] 王建华, 郭敏, 郑丽, 等. 补骨脂素干预大鼠成骨细胞骨保护素/核因子 κ B 受体激活因子配体 mRNA 的表达. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(37):6927-6930.
Wang JH, Guo M, Zheng L, et al. Psoralea interfere the expression of the bandicoot osteoblast osteoprotegerin receptor activator of nuclear factor κ B ligand mRNA. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2010, 14(37):6927-6930. (in Chinese)
- [35] Kim HK, Kim MG, Leem KH. Osteogenic activity of collagen peptide via ERK/MAPK pathway mediated boosting of collagen synthesis and its therapeutic efficacy in osteoporotic bone by backscattered electron imaging and microarchitecture analysis. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2013, 18(12):15474-15489.
- [36] Plotnikov A, Zehorai E, Procaccia S, et al. The MAPK cascades: signaling components, nuclear roles and mechanisms of nuclear translocation. *Biochimica Biophysica Acta*, 2011, 1813(9):1619-1633.
- [37] Wu CM, Chen PC, Li TM, et al. Si-Wu-tang extract stimulates bone formation through PI3K/Akt/NF-kappaB signaling pathways in osteoblasts. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13:277.
- [38] Wu SS, Liang QH, Liu Y, et al. Omentin-1 stimulates human osteoblast proliferation through PI3K/Akt signal pathway. *Int J Endocrinol*, 2013, 2013:368970.
- [39] 陈亚辉, 龚忠勤, 崔燎. PI3K/Akt 信号通路在骨质疏松病理过程中的作用. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(3):356-360.
Chen YH, Gong ZQ, Cui L. Actions of PI3K/Akt signaling pathway in the pathological process of osteoporosis. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2015, 21(3):356-360. (in Chinese)
- [40] Park CK, Lee Y, Chang EJ, et al. Bavachalcone inhibits osteoclast differentiation through suppression of NFATc1 induction by RANKL. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(11):2175-2182.
- [41] Spencer GJ, Hitchcock IS, Genever PG. Emerging neuroskeletal signalling pathways: a review. *FEBS Letters*, 2004, 559(1-3):6-12.
- [42] Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20:781-810.

(收稿日期: 2016-09-27; 修回日期: 2016-11-08)