

· 综述 ·

中药调节 TGF- β 表达促成骨作用治疗骨质疏松症研究进展

王雨榕¹ 邓强^{2*} 李中锋² 彭冉东² 徐浩军¹

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730030

2. 甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 09-1391-04

摘要: 为进一步从分子水平研究中药治疗骨质疏松症的机制, 将传统中医药与现代医学相结合, 通过查阅相关文献, 将对中药调节 TGF- β 表达治疗骨质疏松症的研究进行综述, 为骨质疏松症的发病机制及靶向治疗提供参考, 为中药治疗骨质疏松症提供科学依据及治疗思路, 推动中医药事业的发展。

关键词: 中药; 转化生长因子 β ; 促成骨; 骨质疏松症

The research progress of Chinese medicine regulating TGF- β expression and promoting bone formation in the treatment of osteoporosis

WANG Yurong¹, DENG Qiang^{2*}, LI Zhongfeng², PENG Randong², XU Haojun¹

1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China

2. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China

* Corresponding author: DENG Qiang, Email: dengqiang11576@sohu.com

Abstract: In order to further study the mechanism of traditional Chinese medicine in the treatment of osteoporosis at molecular level, to combine traditional Chinese medicine and modern medicine, this paper reviews the regulation of TGF- β expression by traditional Chinese medicine (TCM) based on literature screening. This may provide the reference for the pathogenesis of osteoporosis and targeted therapy, provide scientific basis for Chinese medicine in the treatment of osteoporosis, and promote the development of Chinese medicine.

Key words: traditional Chinese medicine; transforming growth factor β ; promoting bone formation; osteoporosis

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是由于各种因素引起骨代谢失衡, 骨量减少、骨组织结构退变、骨脆性及骨折风险增加的一种复杂疾病^[1]。临床研究^[2]发现, 随着年龄增长其发病率也随之增长。有流行病学调查发现, 预计在 2050 年, 我国由骨质疏松导致的骨折患者将达 599 万例, 相应的医疗支出将高达 1 745 亿元^[3]。骨质疏松症已成为我国重要的公共卫生问题, 近年来将中药治疗与现代分子生物学相结合, 发挥中药靶向治疗骨质疏松症的优势成为日前研究热点。越来越多的研究表明, TGF- β 水平的表达在骨质疏松发病过程中发挥重要作用,

通过使用中药调节 TGF- β 表达治疗骨质疏松症也成为一种重要的治疗思路。本文将近年来使用中药调节 TGF- β 表达, 通过促进成骨细胞分化, 增加骨形成治疗骨质疏松症的研究进行综述, 为临床中药治疗提供新的依据与思路。

近年来, 随着中医药事业的发展, 学者们通过中药调控 TGF- β 水平, 促进成骨细胞增殖分化来治疗骨质疏松症取得了良好的效果。基于中医基础理论, 以单味中药和复方为基础的试验研究和临床研究逐渐深入, 发挥中药治疗骨质疏松症的靶向作用, 为中医治疗骨质疏松症提供多元化的思路。

1 单味药

1.1 蛤蚧

其功效补肺益肾, 纳气定喘, 助阳益精^[4], 为补

基金项目: 兰州市人才创新创业项目 (2017-RC-44)

* 通信作者: 邓强, Email: dengqiang11576@sohu.com

肾良药。张胜昌等^[5]将 60 只 SD 雌性大鼠随机分为去势组(切除双侧卵巢)、实验组(切除卵巢周围部分脂肪组织)和对照组,每组 20 只,实验组给予蛤蚧乙醇提取液灌胃,每日 1 次,剂量为 5 mL/100 g。该实验结果发现,蛤蚧乙醇提取液能够促进去势大鼠的 TGF- β_1 表达,并有效抑制 TGF- β_1 分泌的下降,促使成骨细胞分化,增加骨密度,验证其治疗骨质疏松症的作用。但是,目前对于蛤蚧的研究刚刚起步,仍需大量实验研究为临床提供足够的科学依据。

1.2 补骨脂

具有温肾助阳的功效^[4],《本草从新》中就有“疗骨痿”的记载,为治疗骨质疏松症的常用药。从补骨脂中提取的一种重要活性成分补骨脂素,属于香豆素类化合物,现代研究发现补骨脂素可以用于治疗骨质疏松症,如杨琳等^[6]利用酶联免疫吸附法(ELISA)检测大鼠血清中 TGF- β 水平,并提取股骨组织 mRNA 样本进行 PCR 反应,检测 TGF- β 基因的表达,发现补骨脂素可能通过提高血清 TGF- β 水平、骨组织 TGF- β 基因表达来发挥抗绝经后骨质疏松症作用。异补骨脂素也是从补骨脂中提取的一类香豆素类化合物,同样也被证实治疗骨质疏松症有效。塔娜等^[7]研究发现,异补骨脂素可明显促进体外培养小鼠胚胎前成骨细胞(MC3T3-E1)增殖、I 型胶原的分泌以及刺激 TGF- β_1 活性,对原发性骨质疏松症具有治疗作用,其作用机制可能与 TGF- β 信号通路有关。上述两种提取物为补骨脂治疗骨质疏松症的主要活性成分,为目前主要研究方向,但对于其作用机制的研究仍需进一步证实。

1.3 淫羊藿

又名仙灵脾,功效为补肾阳,强筋骨^[4],是治疗骨质疏松症之要药。现代研究^[8]发现,淫羊藿及其提取物能够促进成骨细胞的成骨作用。叶纯等^[9]观察了去势大鼠在淫羊藿预防性治疗后不同时期(4、12 周),椎骨微环境中多核巨噬细胞数目及 TGF- β_1 的表达,发现淫羊藿在雌激素缺失的环境下,能够促进 TGF- β_1 表达。Zhou 等^[10]发现淫羊藿可通过 TGF- β /Smad 信号通路促进 Smad1、Smad5 的表达,进而促进成骨细胞的分化。淫羊藿治疗骨质疏松症的作用在临床与试验研究中已被证实,成为治疗骨质疏松症的主要用药。

1.4 鹿茸

鹿茸具有壮肾阳、益精血、强筋骨的功效^[4],常用于肾虚型骨质疏松症的治疗。曲雷鸣等^[11]用

鹿茸干预去卵巢骨质疏松症模型大鼠,采用 ELISA 法检测大鼠股骨、肾、下丘脑组织 TGF- β_1 、TGF- β_1 诱导早期应答基因 1(TIEG1)活性,证实骨质疏松症病理机制之一是 TGF- β_1 与 TIEG1 活性异常,并且鹿茸对下丘脑-肾-骨反馈机制具有明显的调控作用。

2 中药复方

2.1 淫羊藿-女贞子配伍

杨燕等^[12]通过研究淫羊藿-女贞子煎剂及其有效成分提取物配伍对糖皮质激素性骨质疏松(GIOP)大鼠 TGF- β_1 /Smads 通路相关蛋白的影响,发现淫羊藿-女贞子可以通过上调 TGF- β_1 /Smads 通路中 TGF- β_1 , p-Smad2/3 及 Smad4 蛋白表达,下调 Smad 7 蛋白表达,增强成骨细胞功能,促进骨形成,减少 GIOP 大鼠骨量丢失。为研究 GIOP“肾虚精亏,阴阳两虚”的中医病机提供依据,证实了淫羊藿-女贞子药对治疗 GIOP 的良好疗效。

2.2 左归丸

该方出自《景岳全书》卷五十一,为补肾阴经典方剂。该方由熟地、山药、鹿角胶、山茱萸等药组成,是“阴中求阳”代表方剂。曲宁宁等^[13-14]研究显示,左归丸可明显改善骨 OP 模型动物的骨代谢指标,提高骨组织中 TGF- β_1 的水平。孟玥等^[15]也发现,左归丸可使去卵巢大鼠肾脏中 TGF- β_1 、T β R I、T β R II、Smad1 的 mRNA 与蛋白表达升高,该实验为补肾填精法对肾脏中 TGF β_1 /Smad1 通路是否有影响提供了实验依据。此外,Yin 等^[16]用左归丸治疗地塞米松诱导的斑马鱼幼体骨质疏松症,发现左归丸对调节 TGF- β_1 /smads 信号通路蛋白水平有积极作用。证明左归丸可以通过逆转骨形成/骨吸收的失衡,激活 TGF- β smad 信号通路来预防骨质疏松。

2.3 龟鹿二仙胶

该方由鹿角胶、龟板、人参、枸杞子四味药组成,具有生精、补气、养血的功效。研究^[17]显示,该方治疗骨质疏松症具有良好的疗效。钱哲等^[18]制备出龟鹿二仙胶含药血清后,用 MTT 法及活细胞形态观察含药血清对成骨细胞增殖及凋亡的影响。实验采用各组含药血清条件培养基培养成骨细胞,应用 Western Blot 法检测各组成骨细胞 I 型胶原及 TGF- β 蛋白表达水平,采用 RT-PCR 法检测各组成骨细胞 I 型胶原及 TGF- β mRNA 的表达,实验结果显示,龟鹿二仙胶可明显促进 TGF- β 的基因表达,说明龟鹿二仙胶治疗骨质疏松症机制可能是通过调节

细胞因子 TGF- β , 促进 I 型胶原的表达来完成的, 进一步推动了中药治疗骨质疏松症向分子水平深入。

2.4 虎潜丸

虎潜丸具有补肝肾、强筋骨的作用, 也是治疗骨质疏松常用方剂, 在长期临床运用中取得较好疗效, 其治疗骨质疏松症得到临床医师的广泛认可^[19]。张紫铭等^[20]用虎潜丸治疗去卵巢大鼠, 并观察大鼠离体第 5 腰椎骨密度和大鼠腰椎松质骨、肾组织中 TGF- β_2 的表达强度, 结果发现, 虎潜丸能明显提高去卵巢大鼠模型第 5 腰椎骨密度, 并能上调腰椎松质骨、肾组织中 TGF- β_2 的表达, 为临床运用虎潜丸治疗骨质疏松症提供分子生物学依据, 推动了中药的发展。

2.5 自拟方

除上述治疗骨质疏松症常用的经典方剂外, 中医临床工作者根据经验, 自拟出许多验方, 均取得良好的疗效, 并且通过 TGF- β 信号通路的研究, 从分子水平证实其有效性, 为治疗骨质疏松提供新的方药与思路, 推动中医药事业的进一步发展。如潘贵超等^[21]运用补肾健脾活血之法, 运用补肾健脾活血方药来治疗大鼠骨质疏松骨折模型, 发现补肾健脾活血法能促进骨折断端 TGF- β mRNA 表达, 显著提高 TGF- β mRNA 表达水平, 为补肾健脾活血方的疗效提供依据。同时, 临床研究^[22-23]也发现, 密骨方、骨伤复原汤等自拟方剂均能促进 TGF- β_1 、FGF-2 的表达, 抑制炎症反应, 促进恢复骨密度, 促进骨愈合。史传道等^[24]运用自拟方抗疏健骨颗粒治疗去势骨质疏松大鼠, 发现抗疏健骨颗粒可能通过升高血清中 TGF β_1 、BMP-2 水平增加成骨细胞活性, 抑制破骨细胞的活性, 为治疗绝经后骨质疏松症提供新的治疗方法。研究^[25-26]发现, 在治疗去卵巢骨质疏松症大鼠模型时, 运用补肾中药能上调 TGF- β_1 、BMP-2 表达来调节成骨细胞和破骨细胞的平衡, 改善骨密度。曹寅生等^[27]利用湖南中医药大学第一附属医院制剂金刚健骨片来治疗去势大鼠骨质疏松模型, 发现金刚健骨片能使 TGF- β_1 在骨组织中的表达增强, 来修复或者改善骨组织微细结构。刘平安等^[28]也证实了自拟方壮骨止痛方可通过 TGF- β Smad 信号转导通路治疗绝经后骨质疏松症并可大量提高该通路的表达水平。郑红等^[29-30]通过用恒古骨伤愈合剂对摘除子宫去势骨质疏松症树鼯和摘除双侧卵巢去势骨质疏松症大鼠的治疗, 证实了恒古骨伤愈合剂能够有效抑制骨吸收和促进骨形成, 并通过激活 TGF- β /BMP-7 信号通路和 TGF- β /Smad 信号通路促进成骨

细胞增殖, 改善骨质疏松症。

3 讨论

随着对骨形成信号通路的深入研究, 发现骨髓微环境中的局部调节因子 TGF- β , 作为骨基质中存在最多的多肽生长因子, 在骨组织中的表达远高于其他组织, 可以通过影响骨细胞的生成, 来促进骨骼的生长^[31]。TGF 是广泛存在于各组织器官的一类能刺激细胞表型发生转化的生长因子, 是细胞生长与分化的重要调节因子。骨形成过程主要分为骨细胞增殖、细胞外基质成熟和矿化三个阶段, TGF 作为重要的细胞外基质蛋白, 其增殖与分泌活性对骨矿化有重要影响。目前研究的 TGF 主要有 TGF- α 和 TGF- β , 其中 TGF- β 能调节由间叶细胞衍生的前体细胞, 促进其向软骨细胞、成骨细胞及破骨细胞分化等多种骨细胞分化。TGF- β 信号通路是成骨细胞活化与增殖过程中的关键通路, 对骨代谢起着重要作用, 是防治骨质疏松症的重要组成部分。成骨细胞是骨组织中合成 TGF- β 的主要细胞, 是骨组织中 TGF- β 的主要来源, 同时, 在成骨细胞膜上有特异性 TGF- β 受体, 可作用于成骨细胞, 调节其分化增殖^[32]。TGF- β 不但可以通过对细胞分裂增殖的影响来调节成骨细胞的增殖和分化^[33], 还可以激活细胞外信号相关激酶诱导间充质干细胞向成骨细胞分化^[34]。同时, 还能在成骨细胞的诱导下合成细胞外基质, 并促进基质矿化^[35]。张冉等^[36]研究发现, TGF- β 还可以促进 MC3T3-E1 细胞中标志性蛋白 OPN、BMP-2、Runx2、BGP mRNA 的表达, 从而促进成骨细胞的增殖分化。成骨细胞的增殖是改善骨质疏松微环境的重要环节, TGF- β 作为调节骨生成的重要通路, 通过调节其对骨细胞的影响, 成为治疗骨质疏松症的一种重要手段。

中药治疗骨质疏松症有独特的优势, 由上述研究发现, 通过调节 TGF- β 来治疗骨质疏松症的单味药和中药复方都具有补肾阳, 强筋骨的功效, 为中医“肾主骨生髓”的理论提供了佐证。随着对 TGF- β 信号通路研究的成熟, 许多通过调节其通路上作用靶点的中药已广泛应用于临床, 并取得了满意的疗效。对于单味药的研究, 主要为其提取物的研究, 但中药的活性分子较多, 治疗骨质疏松症的机制复杂多样, 补骨脂、淫羊藿等有效成分的研究过于单一, 临床应用缺乏依据。经方与自拟方对 TGF- β 的调控都具有一定作用, 但复方组成复杂多变, 从分子水平阐明中医基础理论, 对中药复方的临床运用意义

深远,是未来中医研究的主要方向。无论是单味药还是中药复方,其治疗骨质疏松症的作用机制十分复杂,虽然在实验中证实了其作用效果,但对其安全性和更复杂的作用机制的研究仍缺乏足够的科学数据,并且 TGF- β 信号通路与其他信号通路之间的协同作用仍需进一步探讨。从分子水平研究中药治疗骨质疏松症的机制,为临床中药的使用提供了更加科学的依据,同时也将中医理论与现代医学相结合,推动多学科交叉,为中医发展奠定基础,值得学者们继续深入研究。

【参 考 文 献】

- [1] Bijlsma AY, Meskers CG, Westendorp RG, et al. Chronology of age-related disease definitions: osteoporosis and sarcopenia[J]. Ageing Res Rev, 2012, 11(2): 320-324.
- [2] Serio B, Paolino S, Casabella A, et al. Osteoporosis in the elderly[J]. Aging Clin Exp Res, 2013, 25(Suppl 1): S27-S29.
- [3] Si L, Winzenberg TM, Jiang Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010-2050[J]. Osteoporos Int, 2015, 26(7): 1929-1937.
- [4] 国家药典委员会.中国药典,一部[S].北京:中国医药科技出版社, 2015:323.
- [5] 张胜昌,白鹭,蓝玲,等.蛤蚧乙醇提取液影响去势大鼠胫骨 TGF- β_1 表达的研究[J].广西医科大学学报, 2010, 27(2): 191-194.
- [6] 杨琳,曾英,李劲平,等.补肾脂素对去势骨质疏松雌鼠 TGF- β 的影响[J].湖南中医杂志, 2016, 32(2): 155-157.
- [7] 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[J].中华中医药学刊, 2011, 29(4): 820-822.
- [8] 李建国,谢兴文,李鼎鹏,等.中药淫羊藿治疗骨质疏松症的研究进展[J].中国骨质疏松杂志, 2018, 24(3): 389-393.
- [9] 叶纯,苏进,王凡.淫羊藿影响去势大鼠椎骨微环境中 TNF- α 、TGF- β_1 表达的研究[J].中国临床解剖学杂志, 2006, 24(6): 687-690.
- [10] Zhou H, Wang S, Xue Y, et al. Regulation of the levels of Smad1 and Smad5 in MC3T3-E1 cells by Icaritin in vitro[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(2): 590-594.
- [11] 曲雷鸣,龚伟.鹿茸干预去势骨质疏松症模型大鼠的实验评价[J].实验动物与比较医学, 2019, 39(1): 52-55.
- [12] 杨燕,年宏蕾,刘仁慧,等.淫羊藿-女贞子配伍对糖皮质激素性骨质疏松大鼠 TGF- β_1 /Smads 通路的影响[J].中国实验方剂学杂志, 2017, 23(9): 99-104.
- [13] 曲宁宁,任艳玲,孙月娇,等.左归丸防治去势骨质疏松模型大鼠骨流失的试验研究[J].时珍国医国药, 2016, 27(2): 257-260.
- [14] 曲宁宁.左归丸抗去势大鼠骨质疏松症物质基础及作用机制研究[D].沈阳:辽宁中医药大学, 2016.
- [15] 孟玥,任艳玲,艾思羽,等.左、右归丸及其拆方对去势大鼠肾脏 TGF β_1 /Smad1 表达的影响[J].辽宁中医杂志, 2016, 43(9): 1981-1983.
- [16] Yin H, Wang SF, Zhang YF, et al. Zuogui Pill improves the dexamethasone-induced osteoporosis progression in zebrafish larvae[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97: 995-999.
- [17] 尹恒,王建伟,马勇,等.龟鹿二仙胶治疗原发性骨质疏松症 60 例疗效观察[J].国医论坛, 2015, 30(6): 31-32.
- [18] 钱哲,王建伟,尹恒,等.龟鹿二仙胶治疗骨质疏松症的机制研究[J].中华中医药学刊, 2017, 35(4): 1008-1013.
- [19] 陈德强,刘鹏飞,王鑫.虎潜丸对骨髓基质干细胞增殖及分化的影响[J].山东中医杂志, 2012, 31(1): 50-54.
- [20] 张紫铭,肖四旺,吴官保,等.虎潜丸对去卵巢大鼠骨密度和 TGF- β_2 表达的影响[J].湖南中医杂志, 2014, 30(1): 112-114.
- [21] 潘贵超,王辉奇,张治国.补肾健脾活血方对大鼠骨质疏松骨折愈合的作用及其机理探讨[J].中国中医基础医学杂志, 2011, 17(2): 156-157.
- [22] 孙贵耀,张雪华,乔晓光,等.密骨方对股骨粗隆间骨折患者 TGF- β_1 与骨折愈合的影响[J].川北医学院学报, 2019, 34(1): 81-84.
- [23] 钟海波,郭祥,罗涛.骨伤复原汤对骨折愈合过程中 FGF-2、TGF- β_1 表达及炎症、微循环影响的研究[J].临床和实验医学杂志, 2019, 18(18): 1978-1982.
- [24] 史传道,王晓迪,元志强.抗疏健骨颗粒对去势骨质疏松大鼠血清中 TGF- β_1 和 BMP-2 的影响[J].甘肃中医, 2011, 24(3): 42-44.
- [25] 尚立芝,王付,李沛.补肾方药对骨质疏松大鼠白细胞介素-1、肿瘤坏死因子- α 及转化生长因子- β_1 的影响[J].中华中医药杂志, 2012, 27(12): 3237-3239.
- [26] 胡娅,蔡顺华,向楠.补肾化痰方对去卵巢大鼠骨组织中 BMP-2 和 TGF- β_1 表达的影响[J].山西中医学院学报, 2012, 13(1): 21-23.
- [27] 曹寅生,朱付平,冯先.金刚健骨片对去卵巢模型鼠 TGF- β_1 及 IGF-1 表达的影响[J].中国中医骨伤科杂志, 2013, 21(7): 7-9.
- [28] 刘平安,戴瑜娉,孟小莎,等.基于 TGF- β -Smad 通路探讨壮骨止痛方对绝经后骨质疏松症的治疗[J].湖南中医药大学学报, 2016, 36(7): 31-34.
- [29] 郑红,李进涛,赵宏斌,等.恒古骨伤愈合剂促进骨细胞增殖缓解骨质疏松症树鼯的分子机制[J].中药药理与临床, 2017, 33(4): 133-136.
- [30] 郑红,李进涛,袁鑫,等.恒古骨伤愈合剂通过 TGF β /Smad 信号通路促进去势骨质疏松症大鼠 BMSC 增殖[J].昆明医科大学学报, 2018, 39(3): 5-10.
- [31] 杨健,刘坚,邓伟民,等.骨代谢相关基因调控通路的研究进展[J].解放军预防医学杂志, 2014, 32(3): 280-282.
- [32] Chen G, Deng C, Li YP. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(2): 272-288.
- [33] 郭宏亮,郑纪伟,韩建国,等.转化生长因子 β_1 对种植体表面成骨细胞 I 型胶原蛋白基因表达研究[J].交通医学, 2013, 27(5): 449-453.
- [34] 仵韩,木合塔尔·霍加.转化生长因子- β 诱导骨髓干细胞成骨向分化的研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(11): 1128-1130.
- [35] Lukasz A, Poniatowski PW, Robert GD, et al. Transforming growth factor beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications[J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 137823.
- [36] 张冉,任光辉,李蕾,等.转化生长因子- β_1 对氧化锆表面小鼠胚胎成骨细胞前体细胞黏附、增殖及分化的影响研究[J].中国实用口腔科杂志, 2015, 8(5): 309-312.

(收稿日期: 2019-11-02;修回日期: 2020-02-09)