

· 综述 ·

鹿茸对骨代谢的影响及相关研究进展

钟礼伦¹ 彭颖君¹ 林志东¹ 卢耀鸣¹ 郭达² 牛维^{2*}

1 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510405

2 广东省中医院骨关节科, 广东 广州 510120

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 12-1861-04

摘要: 鹿茸为雄性梅花鹿或马鹿尚未骨化、带茸毛的幼角经制成的中药, 相关药理学研究表明其中的成分可通过促进成骨细胞增殖的同时诱导破骨细胞凋亡, 调节骨代谢。本文对近年来鹿茸提取物及复方制剂调节骨代谢方面的研究进行综述, 包括基础研究、动物模型研究及临床研究, 以期对运用鹿茸防治骨质疏松提供参考。

关键词: 中药; 鹿茸; 骨代谢; 研究进展

The effect of corn cervi pantotrichum on bone metabolism and related research progress

ZHONG Lilun¹, PENG Yingjun¹, LIN Zhidong¹, LU Yaoming¹, GUO Da², NIU Wei^{2*}

1. The Second Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405

2. Department of Orthopedics and Joint, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

* Corresponding author; NIU Wei, Email: niuwei@139.com

Abstract: Corn Cervi Pantotrichum is a traditional Chinese medicinal material processed from the young horns of the stag Cervus nippon Temminck or Cervus elaphus Linnaeus of the stag Cervus cervus. Relevant pharmacological studies have shown that the ingredients can induce osteoclast apoptosis and regulate bone metabolism by promoting the proliferation of osteoblasts. The author reviews recent studies on antler extract and compound preparations in regulating bone metabolism, including basic research, animal model research, and clinical research. And clinicians use Corn Cervi Pantotrichum to prevent osteoporosis.

Key words: Chinese medicine; corn cervi pantotrichum; bone metabolism; research progress

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以骨密度和骨质量下降, 骨微结构破坏, 骨脆性增加因而易导致骨折为特征的全身性骨病, 2016 年老年人 OP 患病率已高达 36%, 随着老龄化进程的加速, 防治 OP 刻不容缓^[1]。目前治疗多从维持骨量和减少骨丢失入手, 减缓骨质疏松骨折的发生。中药鹿茸(corn cervi pantotrichum)最早被《神农本草经》记述为中品, 温性、甘咸味, 为补肾益精、强筋壮骨、调补冲任作用的补阳药, 归于肝肾两经, 以雄性梅花鹿或马鹿尚未骨化、带茸毛的幼角经制而成^[2]。现代药理学研究^[3]表明鹿茸中的氨基酸占总成分的一半以上, 其中的鹿茸多肽和多糖能通过促进成骨细胞增殖,

诱导破骨细胞凋亡, 调节骨代谢^[4], 故在预防和治疗 OP 方面具有活性。临床常用的骨密度检测一般只可反映骨强度, 且具有滞后性。骨代谢的检测则可以发挥早期选择性干预、鉴别诊断及动态检测等作用。因此本文综述了近年来鹿茸提取物及复方制剂调节骨代谢方面的研究, 包括基础研究、动物模型研究及临床研究, 为临床运用鹿茸防治 OP 提供参考。

1 鹿茸调节骨代谢的细胞水平研究

石晓征等^[5]将不同浓度的鹿茸 I 型胶原(SDC-I)应用于去势大鼠模型, 并用 RT-PCR 检测 Wnt/ β -Catenin 通路中 β -链蛋白(β -Catenin) mRNA 水平, 结果显示高 SDC-I 组 mRNA 的表达明显高于低浓度组。Wnt 通路不仅参与了成骨细胞的增殖、分化过程, 还影响其活性和功能^[6]。因此 SDC-I 的作用

基金项目: 国家自然科学基金项目(81473700)

* 通信作者: 牛维, Email: niuwei@139.com

机制可能是通过促进 β -Catenin 的集聚和转入,激活通路,从而促进成骨分化。李娜等^[7]对鹿茸胶原酶降解物(VCH)干预糖皮质激素性骨质疏松症(GCIP)大鼠模型行骨细胞凋亡检测,发现 VCH 可下调骨组织中分泌型糖蛋白-1(DKK-1)和糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β)的表达,并引起 β -Catenin 上调,促进向核转移,有效激活通路。而 DKK-1 和 GSK-3 β 的表达水平和骨量呈负相关^[8],因此,VCH 不仅利于骨的形成,同时又可抑制骨吸收。

鹿茸多肽在改善骨代谢方面亦有重要作用。日前人成骨肉瘤细胞(OS-732)为研究成骨细胞特性的主要模型,而碱性磷酸酶(ALP)反映了成骨细胞的分化及成熟,蔡明军^[9]利用上述两者的特点,将鹿茸多肽分离纯化为分子量小于 800 μ 的小肽并进行培养,发现小肽不仅能增加 OS-732 分化,还可提高 ALP 的表达,表明鹿茸多肽具有成骨作用。李荣俊^[10]以浓度各异的鹿茸多肽干预体外培养的大鼠细胞,并分析各组成骨细胞中骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的表达量,结果显示 50、100、200、400、800 μ g/mL 组的 BMP-2 表达量均有提高,其中浓度 400 μ g/mL 组的表达量最高,提示鹿茸多肽的成骨机制可能是通过上调 BMP 基因表达量来实现的。Choi 等^[11]发现发酵后的鹿茸提取物可有效促进成骨细胞增殖并增强骨矿化能力,其机制可能与磷脂酶 C γ 2(PLC γ 2)的抑制有关,PLC γ 2 是目前已知会影响活化 T-细胞核因子 1(NFATC1)转录的信号分子,鹿茸提取物进而对 NFATC1 介导的破骨细胞活性抑制,达到抗骨吸收的效果。

2 鹿茸及复方对骨代谢动物模型研究

2.1 去势大鼠模型相关研究

动物研究多用去势雌性大鼠造成骨质疏松模型,且实验组包含鹿茸提取物及复方制剂。孙成涛等^[12]用鹿茸多肽溶液连续灌服去势大鼠 6 周,发现高剂量组(2 倍等效量)和中剂量组(等效量)均能提高骨密度,同时大鼠血 β -胶原降解产物(β -CTX)和 I 型胶原羧基末端肽(P1NP)水平均显著降低($P < 0.05$),因 β -CTX 和 P1NP 的降低意味着骨代谢水平进入“低转换”阶段^[13],可以减缓骨流失速度,研究者观察到中高剂量组大鼠模型的骨小梁断裂程度和间距优于对照组,亦使论据得到加强。龚伟等^[14]发现鹿茸多肽和多糖均能改善骨代谢指标,提高骨密度,而鹿茸多肽疗效更佳。其研究观察的骨代谢指标较为全面,各试验组均能显著促进大鼠 ALP、

BMP-2 和雌激素活性,同时抑制由破骨细胞产生的非胶原蛋白抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)以及脂肪分化因子过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 2(PPAR- γ 2)的活性,表明从促骨形成和减少骨吸收两方面增加骨密度。后续研究发现治疗机制可能与上调细胞信号转导分子 Smad-1、Smad-5 抗体,及 Runt 相关转录因子 2(Runx2)信号通路有关^[15]。Runx2 是成骨细胞的特异性转录因子,可调控多种成骨细胞表型的基因表达,对促骨形成作用重大^[16]。

李斌^[17]连续 13 周对大鼠灌服鹿茸多肽提取物并检测其骨密度及血清 ALP、雌二醇和钙磷含量,同样发现对骨代谢具有正向调节作用,能降低骨转换,并改善雌激素水平。蒙海燕等^[18]发现鹿茸及鹿角胶均能调节去势大鼠骨代谢水平,鹿茸高剂量组(0.54 g/kg)和鹿角胶组(0.11 g/kg)能提高大鼠的骨密度和血钙含量,同时显著降低 ALP 含量($P < 0.05$),使骨代谢处于低转换水平,骨切片组织亦可观察到成骨细胞数增加以及破骨细胞数减少。王雪华等^[19]对大鼠模型连续 12 周灌服鹿茸复方溶液,并与雌激素对比,结果发现大鼠血清甲状旁腺素(PTH)含量降低,降钙素(CT)、骨质量、钙磷含量均有所提高($P < 0.05$),疗效与雌激素相当($P > 0.05$),且不良反应更少,适合长期使用。王剑等^[20]用鹿茸中药复方干预去势大鼠,发现骨密度明显提高,并发现作用机制可能是通过增加肾组织 Mx2 mRNA 及蛋白的表达,并调控下游基因表达使 PTH 分泌减少,从而使破骨细胞骨活性降低。李凤才等^[21]运用复方鹿茸健骨胶囊连续 3 个月治疗去势骨质疏松大鼠,发现骨钙和血钙水平均有增加,病理组织学表现为软骨细胞增生活跃,骨皮质厚度增加,与模型组大鼠病理的成骨细胞数量减少和破骨细胞增生活跃等表现形成鲜明对比。

2.2 其他大鼠模型相关研究

赵文海等^[22]使用口服维甲酸 70 g/(kg $\cdot$ d),连续两个星期,形成 OP 大鼠模型,并使用注射用鹿茸生长素按照剂量分组连续干预 2 个月,发现高浓度组骨密度增加,尿钙比模型组明显降低($P < 0.01$),提示骨流失减少,促骨形成作用显现。孙奇等^[23]将鹿茸复方灌服于糖皮质激素性骨质疏松大鼠模型,发现与模型组相比,鹿茸组大鼠的骨密度、血清 HDL-C 含量显著增加($P < 0.01$),大鼠股骨脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白(A-FABP) mRNA 和蛋白表达水平降低($P < 0.01$),表明可能是通过抑制成脂分化

以及促进成骨分化发挥作用。董莹莹^[24]通过肌注地塞米松配合低钙饲料喂养成功造模,并使用复方鹿茸胶囊有效改善骨密度和骨代谢指标,通过 PCR 检测发现其抗 OP 机制来自于提高骨保护素(OPG)与核因子- κ B 受体活化因子配体(RANKL)的结合力,竞争阻断 RANKL 活化破骨细胞表面的核因子- κ B 受体活化因子(RANK),从而抑制破骨细胞分化,抑制骨吸收。

3 鹿茸及复方制剂调节骨代谢的临床研究

目前临床研究多使用鹿茸复方制剂,单纯使用鹿茸提取物的研究较少。仅有赵长伟等^[25]运用鹿茸多肽肌注改善患者骨质疏松症状,总有效率为 88.89%,但未行骨代谢检测。有研究^[26]表明复方鹿茸健骨胶囊联合骨化三醇比单纯应用后者更能降低 ALP 和 CTX,差异有统计学意义($P<0.05$)。可见复方鹿茸健骨胶囊在促骨形成和抑制骨吸收方面均起显著作用,明显改善症状、VAS 评分以及生活质量。罗宗键^[27]单纯使用复方鹿茸健骨胶囊治疗 30 例骨质疏松患者,疗程为 6 个月,结果显示治疗后腰椎骨密度增加。而反映破骨细胞活性的尿吡啶啉/尿肌酐比显著降低,和治疗前比较差异有统计学意义($P<0.01$),提示了鹿茸复方在改善 OP 症状方面的显著效果。刘文众等^[28]使用加味鹿茸四神汤(鹿茸为君药)治疗肝肾亏虚型原发性骨质疏松患者,与口服仙灵骨葆胶囊作对比,3 个月后,前者在改善症状方面与研究开始前相比均有改善,且优于对照组。ALP、血钙、磷等骨代谢生化指标亦有改善,但由于疗程较短,与治疗前相比骨代谢改善不明显,需要进一步的临床观察。

4 总结及展望

综上,无论是鹿茸胶原、鹿茸多肽、中药复方还是中成药制剂,均能达到调节骨代谢、促骨形成、抑制骨流失的作用。反应在骨代谢指标上的变化也大同小异,如 ALP、P1NP、雌激素等指标的升高或 β -CTX、PTH 含量下降等。表明鹿茸在骨质疏松前期就能通过改善骨代谢水平来减缓骨流失速度,推迟骨质疏松症的发生。

此次综述的研究多是动物模型及临床研究,关于鹿茸通过机制和靶点改善 OP 的研究较少,目前发现鹿茸通过 Wnt/ β -Catenin 及 PPAR- γ 信号通路发挥调节骨代谢的作用,但相关因子还需进一步探讨。同时临床研究的证据等级不高,需要进

一步明确临床疗效,考虑到鹿茸价格昂贵,鹿茸复方制剂更具实用性,因此未来可针对性地开展高质量的复方临床论证。在相关研究中,研究者不仅需要论证鹿茸的疗效,还需要检验药物的用量及毒副作用,为患者提供更经济、安全和高效的治疗方案。

总之,鹿茸能调节患者骨代谢,促进成骨细胞增殖,减低破骨细胞数量,缓解骨量流失,在骨量减少期即可发挥作用,达到防治 OP 的效果,提高患者生活质量。相信通过进一步的基础和临床研究,鹿茸及复方制剂会得到更加广泛的应用。

【参考文献】

- [1] 马远征,王以朋,刘强,等.中国老年骨质疏松诊疗指南(2018)[J].中国老年学杂志,2019,39(11):2557-2575.
- [2] 中华人民共和国药典 2015 年版[S].一部.2015:323-324.
- [3] 桂丽萍,郭萍,郭远强.鹿茸化学成分和药理活性研究进展[J].药物评价研究,2010,33(3):237-240.
- [4] 刘冬.近五年鹿类中药材药理作用研究进展[C].“十二五”鹿科学研究进展:中国畜牧业协会,2016:440-444.
- [5] 石晓征,李娜,李晓华,等.梅花鹿茸 I 型胶原对骨质疏松大鼠 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J].长春中医药大学学报,2018,34(5):832-835.
- [6] Bodine PV, Komm BS. Wnt signaling and osteoblastogenesis[J]. Rev Endocr Metab Disord,2006,7(1-2):33-39.
- [7] 李娜.基于 Wnt/ β -catenin 信号通路鹿茸胶原酶解物治疗 GCIP 的分子机制研究[D].长春中医药大学,2014.
- [8] Hofbauer, Jama LCJ. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK System for bone and vascular diseases[J]. JAMA,2004,292(4):490-495.
- [9] 蔡明军.鹿茸多肽的提取分离及其促进成骨细胞增殖作用的研究[D].吉林大学,2008.
- [10] 李荣俊.鹿茸多肽对大鼠成骨细胞增殖及骨形态发生蛋白的影响[D].长春中医药大学,2006.
- [11] Choi SW, Moon SH, Yang HJ, et al. Antiresorptive activity of bacillus-fermented antler extracts: inhibition of osteoclast differentiation[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2013,2013:748687.
- [12] 孙成涛,杨鹤祥,于冬冬,等.基于 BMP-2/Runx2 信号通路探讨鹿茸多肽防治 PMOP 机制研究[J].中华中医药学刊,2019,37(8):1943-1946,2060,2062.
- [13] 陈德才,廖二元,徐苓,等.骨代谢生化标志物临床应用指南[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2015,8(4):283-293.
- [14] 龚伟,郑洪新,李峰,等.鹿茸不同组分对去卵巢骨质疏松大鼠的影响[J].时珍国医国药,2019,30(8):1819-1821.
- [15] 龚伟,郑洪新,杨鹤祥,等.鹿茸不同组分对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织的作用及其机制[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(20):36-42.

(下转第 1872 页)

- 中医药大学学报, 2013, 36(1): 37-38, 69.
- [22] Song Y, Wu H, Gao Y, et al. Zinc silicate/nano-hydroxyapatite/collagen scaffolds promote angiogenesis and bone regeneration via the p38 MAPK pathway in activated monocytes [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2020, 12(14): 16058-16075.
- [23] Yang X, Yang Y, Zhou S, et al. Puerarin stimulates osteogenic differentiation and bone formation through the ERK1/2 and p38-MAPK signaling pathways [J]. Curr Mol Med, 2018, 17(7): 488-496.
- [24] 许灿宏, 陈跃平, 章晓云. 成骨信号通路在非创伤性股骨头坏死中的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(14): 2235-2242.
- [25] Arthur JS, Ley SC. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(9): 679-692.
- [26] Song L, Zhao J, Zhang X, et al. Icaritin induces osteoblast proliferation, differentiation and mineralization through estrogen receptor-mediated ERK and JNK signal activation [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 714(1-3): 15-22.
- [27] 张立超, 邓鸣涛, 戴鹏, 等. 杜仲叶通过激活 ERK 及 AKT 磷酸化促进大鼠成骨细胞增殖的研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2013, 19(3): 217-220.
- [28] 陈林攀, 邓鸣涛, 杜川, 等. 杜仲叶提取物槲皮素通过激活 ERK 磷酸化促进 BMSCs 增殖的研究 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(12): 2845-2847.
- [29] Zhang L, Jiang G, Zhao X. Dimethylallylglycine promotes bone marrow mesenchymal stem cell osteogenesis via Rho/ROCK signaling [J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2016, 39(4): 1391-1403.
- [30] Yang BJ, Xu HG, Xiao L, et al. Regulation of cell deformation induced by RhoA/ROCK signaling pathway in osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2019, 99(3): 212-217.
- [31] Saidova AA, Vorobjev IA. Lineage commitment, signaling pathways, and the cytoskeleton systems in mesenchymal stem cells [J]. Tissue Eng Part B Rev, 2020, 26(1): 13-25.
- [32] 林奇生, 邹学农, 曾瑞芬, 等. 杜仲醇提取物通过 RhoA/ROCK 信号通路调控大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化作用研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(2): 26-30.
- (收稿日期: 2020-04-25; 修回日期: 2020-05-24)

(上接第 1863 页)

- [16] Farshdousti Hag M, Noruzinia M, Mortazavi Y, et al. Different methylation patterns of RUNX2, OSX, Dlx5 and BSP in osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. Cell J, 2015, 17(1): 71-82.
- [17] 李斌, 曹金霞, 王保森, 等. 鹿茸多肽提取物抗去卵巢大鼠骨质疏松作用的研究 [J]. 吉林中医药, 2017, 37(3): 276-280.
- [18] 蒙海燕, 曲晓波, 李娜, 等. 鹿茸及鹿角胶对去卵巢大鼠骨质疏松症的影响 [J]. 中药材, 2009, 32(2): 179-182.
- [19] 王雪华, 赵海平, 孙伟丽, 等. 鹿茸复方对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢和骨钙磷含量的影响 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(5): 583-589.
- [20] 王剑, 郑洪新, 张锦萍, 等. 鹿茸中药复方对去卵巢骨质疏松症大鼠肾组织 Msx2 mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(7): 800-802, 836.
- [21] 李凤才, 谢海泉, 邸琳, 等. 复方鹿茸健骨胶囊抗骨质疏松作用 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 789-791.
- [22] 赵文海, 黄丹奇, 刘雪涛. 鹿茸生长素对维甲酸所致大鼠骨质疏松影响的实验研究 [J]. 中国骨伤, 2003, 8: 25-27.
- [23] 孙奇, 张国哲, 李可强, 等. 鹿茸提取物复方对骨质疏松症调节作用 [J]. 中国公共卫生, 2015, 31(2): 184-186.
- [24] 董莹莹. 复方鹿茸胶囊对地塞米松联合低钙饲料致大鼠骨质疏松的疗效研究 [D]. 吉林农业大学, 2019.
- [25] 赵长伟, 赵文海. 鹿茸多肽治疗骨质疏松症的临床观察 [J]. 吉林中医药, 2006, 26(2): 22.
- [26] 马海丽, 胡艳红, 李万森. 复方鹿茸健骨胶囊联合骨化三醇治疗老年骨质疏松症的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(5): 1473-1477.
- [27] 罗宗键, 刘建国, 刘长剑, 等. 复方鹿茸健骨胶囊对原发性骨质疏松症患者骨密度及骨代谢生化指标的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 6: 591-592.
- [28] 刘文众. 加味鹿茸四神汤治疗原发性骨质疏松症 (肝肾亏虚型) 的临床研究 [D]. 长春中医药大学, 2019.
- (收稿日期: 2020-02-16; 修回日期: 2020-05-19)