



· 综述 ·

中药及其活性成分对绝经后骨质疏松症的治疗及其作用机制

赵丕文^{1,2}, 牛建昭^{1*}, David Yue-Wei Lee², 王继峰¹, 孙艳玲¹, 李亚东¹

(1. 北京中医药大学 基础医学院, 北京 100029;

2. Mclean Hospital, Belmont, MA 02478)

【摘要】 绝经后骨质疏松症是更年期妇女的常见全身性骨代谢疾病,体内雌激素水平下降是其重要病因。激素替代疗法(HRT)虽然在多年的临床实践中有着良好和肯定的疗效,但其在提高妇科肿瘤发生率等方面具有明显的副作用。临床实践已经证明,多种妇科中药方剂、单味中药及中药植物雌激素样活性成分对骨质疏松症有确切疗效且副作用小。其主要通过作用于靶组织、靶细胞的雌激素受体并进而影响其下游信号传导通路中骨代谢相关调节蛋白和因子的表达情况,达到对骨质疏松症的防治效果。同时,近年来雌激素相关受体的研究也为全面揭示中药及其活性成分抗骨质疏松症的作用机制提供了新的可能角度和途径。

【关键词】 妇科中药;活性成分;绝经后骨质疏松症;植物雌激素;雌激素受体;雌激素相关受体

目前,绝经后骨质疏松症已成为更年期妇女的常见全身性骨代谢疾病,成为危害妇女健康的主要疾病之一,而且其发病率仍在呈现出不断上涨的趋势^[1]。该病主要以骨吸收增强、骨量丢失、骨质疏松性骨折的发生率上升为主要特征^[2]。研究表明,卵巢激素分泌不足,雌激素水平下降是该群体骨质疏松表现的重要原因^[3],也就是说,骨质疏松症状的发生与体内雌激素含量有着密切的关系,骨组织可以接受和应答雌激素的刺激和调节,雌激素对骨代谢有重要的调控作用。

1 雌激素、植物雌激素与绝经后骨质疏松症之间的关系

1.1 雌激素水平下降是绝经后骨质疏松症发生的主要病因

研究发现,成骨细胞、破骨细胞、间叶干细胞、骨细胞中均有雌激素受体(estrogen receptor, ER)^[4,5]。其中成骨细胞是骨组织中最重要的一类细胞,它对骨形成和维持正常骨量非常重要^[6];其增殖、分化、矿化等功能均与骨形成密切相关。雌激素通过作用于以上细胞的雌激素受体,进一步影响与骨吸收、骨形成有关的若干种细胞因子,发挥骨保护作用。其机制和途径涉及多个方面,如:促进降钙素的分泌、抑制骨吸收、促进肠钙吸收、促进骨增殖、促进骨胶原生成和 TGF- β 等

细胞因子变化、抑制骨凋亡、引起内源性 NO 增加、活性氧分子改变等。因此,绝经后体内雌激素水平的下降必将导致骨质疏松症状的出现及发展^[3,7]。有报道表明,因绝经后骨质疏松而导致的髌关节骨折的几率随年龄增长而升高,雌激素水平下降是其最主要病因^[8]。

1.2 HRT 对绝经后骨质疏松症的效应及其副作用

基于上述发病机制,从内分泌学的角度来看,绝经期妇女处于一种雌激素缺乏的状态,HRT 在多年的临床实践中已被证实对治疗绝经后骨质疏松症有着良好和肯定的疗效^[9-11]。一些老龄妇女已习惯于长期,甚至是终生服用雌激素,用以抵抗骨质疏松。在 2001 年,50~74 岁美国妇女中接受激素替代治疗的比例达到 40% 以上。但长期使用的副作用,如易产生高凝状态、高血压、水肿等,尤其是在增加妇科肿瘤如乳腺癌、子宫内膜癌等疾病发病风险方面的副作用一直困扰着临床和基础研究人员^[12-13]。研究表明,HRT 与侵入性乳腺癌的发生有极为密切的关系;5 年以上的 HRT 更是可明显增加乳腺癌的死亡率^[14]。许多女性因对癌症和禁忌症的恐惧而不愿进行 HRT^[3]。HRT 防治骨质疏松症的益处远不及其导致乳腺癌发病风险提高的不足。因此,HRT 的使用应局限于可能的最短持续时间,在治疗绝经期综合征时应致力于考虑 HRT 的替代方法^[15]。而且,对于已经是妇科肿瘤患者的病人来说,如部分接受芳香化酶抑制剂治疗的乳腺癌患者,更易出现骨质疏松症状,其治疗过程中如果能够不使用激素,对其病情发展和预后尤为重要^[16]。因此,也更迫切地渴望 HRT 的替代方法,即一些能够缓解更年期症状、减少骨质疏松风险同时副作用小的天然药物。

【稿件编号】 20110719001

【基金项目】 国家自然科学基金项目(30772849);高等学校创新引智计划(B07007);北京中医药大学自主科研课题(JYBZZ-JS014)

【通信作者】 *牛建昭,教授,博士生导师,Tel:(010)64287538, E-mail:niuujzz@263.net



1.3 植物雌激素对绝经后骨质疏松症的效应 近年来,从植物中来源的一类具有与雌激素类似化学结构和效应的化学成分——植物雌激素(phytoestrogen, PE)引起了世界范围的广泛关注。植物雌激素是指某些能结合并激活哺乳类动物及人类的雌激素受体,从而具有雌激素样和/或抗雌激素活性的植物成分。作为一类非固醇类植物来源的、具有雌激素活性的化合物,其结构大多与哺乳动物雌激素相似,它们都有 2 个芳香环,并且环上均有羟基取代^[17]。大豆中的异黄酮类化合物是较早被作为雌激素受体调节剂使用的植物雌激素样化学成分,大量研究已经表明,异黄酮成分具有抗骨质疏松的效应。正因为植物雌激素的化学结构与雌激素类似,故也可结合并作用于 ER,具有与天然雌激素相似的抗绝经后骨质疏松的作用,且副作用(如导致肿瘤和血栓形成等)小,因此具有广泛的应用前景。妇科常用中药中往往含有不止一种植物雌激素成分。无论妇科中药方剂、单味中药,还是其所含有的活性成分,就其对于骨组织、骨细胞的作用机制及应用情况,目前国内外学者从整体动物、细胞、分子水平进行了一系列的探索和研究,已经取得了许多引人注目的研究结果。

2 中药方剂和单味中药对绝经后骨质疏松症的治疗及其作用机制

多年的临床实践和动物实验研究都表明,多种中药方剂或单味中药在绝经后骨质疏松症的治疗中具有长期的应用历史和明显的临床疗效。例如,淫羊藿、三七、补骨脂、骨碎补、牛膝等均是在“壮骨”方面具有悠久应用历史的传统中药。

2.1 中药方剂对绝经后骨质疏松症的治疗及其作用机制

叶喜阳等临床研究表明,由淫羊藿、续断、补骨脂等组成的仙灵骨葆胶囊(主要成分为淫羊藿)对药物性卵巢去势所致雌激素水平低下而引起的更年期症状及骨密度下降有较好的预防和治疗作用,而且同时子宫内膜厚度和血清雌二醇浓度均无明显改变^[18]。刘维嘉等报道,由淫羊藿、熟地黄、淮山药、赤芍、白术、茯苓、丹参、元胡、骨碎补、生地黄、泽泻、山萸肉、丹皮、川芎、当归、党参、甘草等组成的补肾健脾活血汤对绝经后雌激素水平下降引起的骨质疏松症有明显疗效,治疗 6 个月后,治疗组骨密度较对照组有明显提高^[19]。李颖等实验研究发现,由淫羊藿、补骨脂、丹参、黄芪、熟地黄、白芍等 10 味中药组成的骨康方剂可使去势大鼠全身骨密度、腰椎骨密度增加,I 型胶原交联羧基末端肽(ICTP)显著降低,血清中 I 型胶原羧基末端前肽(PICP)显著升高,与雌激素作用趋势一致,可抑制骨吸收、促进骨形成;对卵巢切除所致骨质疏松症有明显的治疗作用^[20]。韦大文等用淫羊藿、补骨脂、骨碎补、菟丝子、墨旱莲、女贞子、牛膝等药物组成的补肾方(低剂量)连续给药 12 周后,去势雌性大鼠血清雌二醇和胰岛素样生长因子-1(IGF-1)含量显著增加、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量显著下降,该补肾方具有

明显抗去势大鼠骨质疏松的作用^[21]。卢建华等在研究分别具有滋阴补肾和温补肾阳之功效的经典补肾方剂左归丸和右归丸对去卵巢大鼠 I 型胶原代谢的影响时,发现去卵巢造模大鼠给药 12 周后,2 种方剂均可明显降低血 I 型前胶原氨基端前肽(PINP)、尿 I 型胶原氨基末端肽排泄率(NTX/Cr)和脱氧吡啶诺琳排泄率(DPYD/Cr),从而减缓骨转换、抑制骨吸收、减少骨量丢失,对骨质疏松症起到了一定的治疗作用;且 2 种方剂的效应没有明显的区别^[22]。杨帆等发现中、高剂量骨安颗粒(由盐制巴戟天、杜仲、黄芪、牛膝等组成)可显著提高去卵巢骨质疏松模型大鼠全身、腰椎及右股骨的骨密度,显著降低大鼠血清 TNF- α 、白介素 I(IL-1)、IL-6 的含量;高剂量时还可增加大鼠血清雌二醇含量^[23]。葛全胜等应用食饵性高脂血症大鼠进行实验时发现,主要由熟地黄、鹿茸、水蛭、川芎、天龙、补骨脂等组成的降脂壮骨中药灌胃 8 周,可显著增强骨组织中 ER mRNA 和蛋白质表达,促进骨形态发生蛋白 2(BMP-2)表达,BMP-2 是成骨细胞转化促进因子,在调控骨形成、调控成骨细胞产生骨钙蛋白和碱性磷酸酶、促进成骨细胞分化中有关键作用^[24]。

2.2 单味中药对绝经后骨质疏松症的治疗及其作用机制

在单味中药对骨质疏松症作用机制的研究过程中,近年来也有很多新的发现和进展。伍杨等的实验结果证明:传统中药王不留行对去势大鼠骨质疏松症有明显的防治作用,可显著降低动物血清 IL-1、IL-6、TNF- α 含量,与雌激素的作用趋势、强度一致,因此推测王不留行的抗大鼠骨质疏松症的效应与其雌激素活性有关,可降低骨转移率,增加骨形成^[25]。程志安等利用大鼠成骨细胞株 UMR 106/01 探讨了续断对成骨细胞的作用及其机制。实验发现,续断中、高剂量能显著促进成骨细胞的增殖、增加碱性磷酸酶的表达及矿化结节形成的数量,促进成骨细胞骨钙素和 I 型前胶原 mRNA 的表达。续断高剂量组可见细胞增殖率、S 期细胞比率和细胞增殖指数等均显著增高,细胞凋亡率和 G₀/G₁ 期细胞比率显著降低。结果提示续断能有效促进成骨细胞的增殖,防止成骨细胞凋亡,这可能是该药促进骨折愈合、防治骨质疏松的机制之一^[26]。陈小砖等在动物实验中也观察到:续断提取液治疗组可见去势大鼠骨量明显增加,骨结构明显改善;能够抑制骨吸收与骨形成,降低骨高转换率;动物实验结果表明续断对骨质疏松症具有部分治疗作用^[27]。王新祥等发现中药葛根不仅能改善骨微细构造,预防去卵巢雌激素不足骨质疏松模型小鼠骨密度和骨量的下降,用于女性闭经后骨质疏松症的预防和治疗;而且对摘除睾丸引起的男性骨质疏松症也有明显效果^[28]。研究表明,葛根不仅可以抑制股骨骨密度下降,抑制雄激素缺乏导致的股骨骨小梁数目下降以及骨小梁间距增大;而且对精巢无刺激作用;可达到抑制雄激素缺乏所致骨密度和骨量下降、改善骨构造的作用。

3 中药活性成分对绝经后骨质疏松症的治疗及其作用机制

如前所述,长期以来,许多中草药植物被广泛应用于绝



经后骨质疏松症的治疗,而中药活性成分是中药用于防治疾病、发挥临床疗效的重要物质基础。因此,针对这类中药在骨质疏松症状治疗中所含关键活性成分——植物雌激素的疗效及其作用机制的研究目前也日益引起了人们的广泛关注。

大豆异黄酮是一类研究较早、应用也比较广泛的植物雌激素,对于更年期妇女,特别是患有乳腺癌病史的骨质疏松症患者来说,植物雌激素可以有效减少骨流失,而同时降低对癌细胞形成的刺激作用。大豆异黄酮由 12 种单体组成,主要有大豆苷原、染料木黄酮(金雀黄素)和黄豆素。大豆异黄酮可降低吡啶啉、脱氧吡啶啉的尿排出,使血清碱性磷酸酶水平显著下降,胫骨骨密度显著增加,可有效改善妇女更年期综合征症状,预防和治疗更年期综合征引起的骨质疏松^[16,29]。据报道,大豆异黄酮还可调节肠吸收,调节细胞骨代谢相关因子。Yamagudui 等研究显示金雀黄素和大豆苷原可通过活化 tRNA 合成酶,促进 MC3E3-E1 成骨细胞的蛋白质合成,从而加强骨形成^[30]。Marini 等临床研究发现金雀黄素苷元可显著促进绝经后妇女骨代谢。与安慰剂相比,金雀黄素可增加其股骨颈和腰椎的骨矿物质密度;在增加骨碱性磷酸酶、IGF-1 和骨保护素含量的同时,降低吡啶啉、血清交联羧基末端肽和 NF- κ B 可溶性受体活化因子水平。但其对于乳腺密度和子宫内膜厚度没有影响^[31]。Marris 等发现金雀黄素可刺激人骨质疏松症成骨细胞 MG63 分化,可使其细胞骨架排列更有序,胶原合成增加,碱性磷酸酶活性增加,即使在非骨性生长介质中,也能形成矿化骨小结^[32]。Ge 等应用 Daidzein 研究其对小鼠成骨样细胞 MC3T3 分化等行为的影响时发现,Daidzein 可促进细胞增殖,提高碱性磷酸酶活性,增加细胞内钙、磷含量;对该细胞的分化和矿物质合成均表现出增强作用,具有促进骨形成的效应^[33]。Yoshida 等研究大豆黄素对成骨细胞 MC3T3-E1 的作用时,证明大豆黄素可显著抑制细胞增殖,并刺激其分化;其机制与大豆黄素能够刺激该细胞骨相关蛋白碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和骨钙素表达有关^[34]。Heim 等发现金雀黄素可以促进人骨髓基质干细胞的骨生成和分化,而抑制其成脂性分化;在抑制其脂肪形成过程中,金雀黄素以雌激素依赖性方式上调 TGF- β 1 的表达^[35]。

淫羊藿是重要的“壮骨”中药,其活性成分的研究也引起了人们的高度关注。雪原等发现淫羊藿对去势大鼠骨质疏松有良好的治疗作用;而其主要成分淫羊藿苷不但可刺激成骨细胞 MC3T3-E1 细胞增殖,而且可以使 ALP 和 I 型胶原产生量增加,刺激 Smad4 mRNA 转录水平升高^[36]。Yin 等证明 20 mg \cdot L⁻¹ 淫羊藿苷可以刺激直接从人骨髓间质干细胞诱导而来的成骨细胞的增殖,增加 ALP 和成骨细胞钙化结节的数量。BMP-2 mRNA 的合成也将显著增加^[37]。何伟等发现 1 \times 10⁻⁸ ~ 1 \times 10⁻⁴ mol \cdot L⁻¹ 的淫羊藿苷对新生大鼠颅骨分离、培养的成骨细胞无增殖促进作用,但可促进成骨细胞

ALP 活性;1 \times 10⁻⁶ mol \cdot L⁻¹ 淫羊藿苷能够上调核结合因子 α 1(Cbfa1),BMP2 和 BMP4 mRNA 的表达,并可能通过以上途径促进成骨细胞的分化^[38]。叶喜阳等发现,课题组制备的淫羊藿黄酮对卵巢切除所致小鼠骨质疏松能起到有效的预防和治疗作用,而且同时不改变血清 E₂ 浓度,不作用于子宫内膜,不影响生殖组织。因此为妇科临床有效改善雌激素低下症状、预防和治疗骨质疏松,而同时避免 HRT 引起的生殖系统的不良反应提供了实验依据^[39]。

三七是应用于外科创伤、骨折治疗的珍贵中药材,其对成骨细胞的作用机制也引起了众多研究者的关注。吴丽萍等报道三七所含三七总苷对体外培养大鼠成骨细胞增殖、分化及骨保护素(OPG)表达等均有影响;具体趋势为:其可促进成骨细胞增殖和分化,促进 ALP、骨钙素(OCN)的分泌^[40]。进一步研究发现,三七三醇皂苷(PTS)具有促进成骨细胞 MC3T3-E1 分化、矿化和抑制凋亡的活性;而且高浓度 PTS 致 ALP 活性增高的作用可被 ER 阻断剂 ICI182,780 所阻断,较高浓度 PTS 可显著增强骨钙素的基因表达,并具有抑制细胞凋亡的活性。其促分化、抗骨质疏松的作用可能与其所具有的雌激素样作用相关^[6]。

Seidlová-Wuttke 等观察了黑升麻(*Cimicifuga racemosa*, CR)提取物对去卵巢大鼠子宫、骨骼及血浆 LH 水平的影响。结果发现,给药 6 h 后,CR 提取物与 E₂ 均可抑制 LH 分泌,轻度刺激股骨骨干骺端成骨细胞 IGF-I、胶原-1 α 1、护骨素和骨钙素以及破骨细胞抗酒石酸酸性磷酸酶等基因表达。但同时, E₂ 还将刺激子宫质量增加,促进孕激素受体(PR)、补体蛋白(C3)和 IGF-I 基因表达,抑制子宫 ER β 基因表达;而 CR 提取物对子宫不具有以上效应。在用药 3 个月后,去卵巢大鼠胫骨骨干骺端股流失达到 50%, E₂ 可以阻止这种流失,而 CR 提取物也具有部分拮抗的效应。但 E₂ 对子宫重量,子宫 ER β , PR, C3 和 IGF-I 基因表达仍同时表现出复杂的效应,而 CR 提取物仍未观察到以上效应。上述实验结果提示:CR 提取物含有 SERM 活性成分,而且主要作用于下丘脑-垂体系统和骨骼,而不作用于子宫^[41]。

此外,吴虹等研究发现,毛蕊异黄酮对去卵巢大鼠具有显著的骨保护效应,表现在可显著提高骨密度,骨弯曲强度和弹性模量也明显增加;但其作用弱于雌激素^[42]。王建华等发现补骨脂素对促进大鼠成骨细胞增殖和提高 ALP 活性有较好的作用^[43]。异补骨脂素也可以促进大鼠成骨细胞 I 型胶原表达,并可明显上调细胞 TGF- β 1 的细胞信号转导因子 Smad4 mRNA 的表达;促进 Runx2/Cbfa1 mRNA 的表达,增强 Osterix mRNA 的表达。在此基础上,如果异补骨脂素与铗联合应用,其上述作用可以得到进一步的增强。多项研究已证明,红车轴草异黄酮具有一定的雌激素样作用。Wende K 等利用成骨肉瘤 HOS58 细胞研究发现,红车轴草异黄酮在刺激成骨细胞活性上具有一定作用^[44]。蛇床子的主要活性成分蛇床子素是呋喃香豆素类植物雌激素,对雌激素相关



疾病如骨质疏松症也具有一定作用^[45]。

4 关于雌激素与中药所含植物雌激素样活性成分治疗骨质疏松症的重要靶点与核心途径——雌激素受体与雌激素相关受体

上述中药方剂、单味中药或中药活性成分发挥植物雌激素样作用,进而达到抗骨质疏松疗效的重要靶点——雌激素受体,一直是人们关注的焦点,受体自身的亚型、分布、含量等均会影响配体的作用方式及其强度,而植物雌激素对受体状况的调节作用也使其最终效应变得更为复杂。

4.1 雌激素受体在介导绝经后骨质疏松症发生和治疗中的作用 如前所述,作为雌激素或植物雌激素发挥作用、调控骨代谢的重要靶点,人成骨细胞的雌激素受体在细胞核和细胞质中均有分布。1988 年, Komm 和 Eriksen 等证实成骨细胞上有 ER 的存在后^[4], Pensler 和 Oursler 等证实破骨细胞上也有 ER^[5]。其中,成骨细胞在骨重建和骨质疏松症发生中起着关键的作用,所以对成骨细胞 ER 亚型的分布及其含量的研究显得尤为重要。ER 水平的下降是更年期骨质疏松程度增加的重要原因^[46]。而成骨细胞中 ER 亚型分布的广泛性也提示其在配体刺激后传导途径和生物学效应的多向性和复杂性。

García Palacios 在应用仅表达 ER α 的鼠 RAW264.7 单核细胞检测雌二醇或雌激素样物质影响破骨细胞分化倾向的过程中,发现 10 nm 雌二醇、3 μ m 金雀黄素、3 μ m 大豆苷元均可增加 ER α 表达,刺激细胞增殖,降低其多核化;雌二醇和植物雌激素均可抑制核因子 κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 诱导的 I κ B 降解和 NF- κ B 的核区域化。雌二醇可刺激破骨细胞前体分化的直接效应表明:其不仅可影响成骨细胞,也可通过减少破骨细胞的形成以实现骨保护作用。而选择性作用于 ER 的金雀黄素与非选择性作用于 ER 的大豆苷元相比,其对成骨细胞形成的抑制作用较弱,大豆苷元可有效地重现雌二醇的效应^[47]。

本课题组在以往对中药所含植物雌激素成分的研究中也曾发现,植物雌激素对 ER 阳性细胞的 ER 分布和含量均有明显影响。例如,一定浓度补骨脂素可使 ER (+) T47D 细胞孕激素受体 mRNA 表达显著增加,表现出雌激素样作用;而且以上效应可被 ICI182,780 所拮抗;补骨脂素还可诱导 T47D 细胞 ER- α 、ER- β 表达明显增加^[48]。一定浓度异补骨脂素能够显著促进 T47D 细胞增殖,提高细胞分裂增殖指数;并可使该细胞雌激素效应蛋白 pS₂ mRNA 和蛋白表达显著增加;其促进细胞增殖的作用可被 ICI182,780 所拮抗,其诱导 pS₂ 表达的效应也可被 ICI182,780 部分抑制。同时,异补骨脂素对 ER α 和 ER β 表达均有升高效应^[49-50]。丹参酮 II_A 能够显著抑制 T47D 细胞增殖,该作用可被 ICI182,780 部分拮抗;在发挥作用过程中丹参酮 II_A 还可致 T47D 细胞 ER α 和 ER β mRNA 和蛋白表达显著增加,并使 ER α / ER β 比值有所上升^[51];因为雌激素受体阳性细胞内不同雌

激素受体亚型的分布、含量及其比例将对雌激素或雌激素样物质的最终效应有明显影响,所以上几种中药活性成分对 ER 阳性乳腺癌细胞的作用与其雌激素受体调节功能也是密切相关的。因此,基于成骨细胞也是 ER 阳性细胞,而且不同 ER 亚型在其介导的信号转导途径和效应上均有所差异,以上植物雌激素通过其 ER 调节功能从而对成骨细胞产生的具体效应及其对更年期骨质疏松症的应用意义值得进一步探讨和研究。

ER 的基因多态性也使植物雌激素对成骨细胞作用机制的研究显得更为复杂。例如:ER α 上较常见的 PvuII, XbaI, T29C 和 A252966G 位点的基因多态性或遗传变异可导致 ER 表达水平及功能的变化,进而也会影响到雌激素或植物雌激素的生物学意义^[52],故也应引起重视。Schuit 等发现 ER α 的基因多态性与绝经期妇女体内雌激素水平密切相关;而在个体间存在较大差异的雌激素水平对骨质疏松症的发生有重要的决定作用^[53]。

4.2 雌激素相关受体及其与绝经后骨质疏松症的相关性 近年来,同样参与雌激素信号转导体系,并与 ER 传导途径相互交叉、相互影响的孤儿受体——雌激素相关受体 (estrogen related receptor, ERR) 也日益引起了人们广泛的关注,其在雌激素相关生理或病理过程的发生和调节中也发挥着重要的作用^[54]。尤其是在骨组织中,虽然对雌激素有高水平的应答反应,但其 ER 表达量并不高。基于这种矛盾的现象,ERR 参与骨组织中雌激素信号传导的潜能日益受到了人们的关注。

Heard 等利用成年小鼠进行实验研究发现,ERR α 在成骨细胞中有阳性表达^[55]。Bonnelye 等实验证明 ERR α 在骨干细胞的增殖和分化中有重要作用,ERR α 水平与骨组织内雌激素水平密切相关。实验结果发现:下调大鼠颅盖骨细胞 ERR α 表达可抑制其骨形成;ERR α 在骨组织内受雌激素调节,可以在不同水平(成骨细胞、破骨细胞、脂肪细胞等),在雌激素不足所致骨质疏松等疾病发生中起作用^[56]。大量证据已表明 ERR α 参与并影响雌激素信号转导通路,故已成为了雌激素相关病理过程研究中的重要靶点。Vanacker 等发现,在骨组织中,不同于 ER β 只通过 ERE 途径激活转录过程,ERR α 、ERR β 与 ER α 均通过结合并活化经典的 ERE 和 SF-1 应答元件(SFRE)激活其转录过程^[57]。骨桥蛋白基因启动子只能被 SFRE 序列激活,也就是说,通过 ER β 途径对其没有活化效应。因此,对骨组织中 ER 和 ERR 核受体亚型之间互相交叠的传导通路的分析探讨不仅有助于对其共同靶点和效应的认识,同时也有助于理解 ER α 和 ER β 功能上的区别。Delhon 等^[58]研究了在成骨细胞形成过程中对间充质干细胞 ERR α 进行基因沉默处理的结果,发现其将导致骨粘连蛋白 mRNA 表达的下降,即加速了成骨细胞的分化,细胞贮钙能力上升,脂肪生成下降。此外,成年 ERR α 敲除雌鼠和雄鼠均有骨量和骨密度的下降;成骨细胞表面积增加,



分化程度升高。总之,由于 ERRs 可以影响雌激素应答过程^[59],因此 ERR 状况及活性在妇科相关疾病(如更年期骨质疏松症)的预防和治疗方面有重要的意义。最新研究表明:ERR 敲除鼠成骨细胞分化将减弱,骨密度将增加;而同时乳腺癌形成与增生将下降。提示抑制 ERR 活性为骨质疏松症治疗提供了另一种无致乳腺癌风险的可能方法^[60]。

5 小结

作为 HRT 的重要替代方法,中药及其活性成分在绝经后妇女骨质疏松症的治疗中,一直有着广泛的应用和确凿的疗效。从细胞、分子水平对其作用靶点、途径、机制及其影响因素的阐明,将有助于提高其用药的科学性和准确性,极大地推动临床妇科中药用药的现代化进程。

[参考文献]

[1] Setchell K, Lydeking-Olsen E. Dietary phytoestrogens and their effect on bone: evidence from *in vitro* and *in vivo*, human observational, and dietary intervention studies [J]. *Am J Clin Nutr* 2003,78(suppl):593S.

[2] Huayue CHEN, Shoichi EMURA, Hideo ISONO, et al. Effects of traditional Chinese medicine on bone loss in SAMP6: a murine model for senile osteoporosis [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(5):865.

[3] Bahram H, Arjmandi. The role of phytoestrogens in the prevention and treatment of osteoporosis in ovarian hormone deficiency [J]. *J Am Coll Nutr*, 2001,20(suppl):398S.

[4] Eriksen E F, Colvard D S, Berg N J, et al. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells [J]. *Science*, 1988,241(4861):84.

[5] Mano H, Yuasa T, Kameda T, et al. Mammalian mature osteoclast as estrogen target cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996,223(3):637.

[6] 沈阳,季晖,李绍平,等. 三七三醇皂苷对 MC3T3-E1 细胞分化和凋亡的影响 [J]. *中国药科大学学报*, 2010, 41(3):273.

[7] Tomkinson A, Gevers E F, Wit J M, et al. The role of estrogen in the control of rat osteocyte apoptosis [J]. *J Bone Miner Res*, 1998,13(8):1243.

[8] László A. Postmenopausal osteoporosis [J]. *Orv Hetil*, 2004,145(1):3.

[9] Gallagher J C. Moderation of the daily dose of HRT: prevention of osteoporosis [J]. *Maturitas*, 1999, 33(Suppl 1):S57.

[10] Pardini D. Menopausal hormone therapy [J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2007, 51(6):938.

[11] Prelevic G M, Kocjan T, Markou A. Hormone replacement therapy in postmenopausal women [J]. *Minerva Endocrinol*, 2005,30(1):27.

[12] 傅荣,韩克. 激素替代治疗与卵巢癌关系的研究进展 [J]. *中国使用妇科与产科杂志*, 2010, 26(2):146.

[13] Dören M, Samsioe G. Prevention of postmenopausal osteoporosis with oestrogen replacement therapy and associated compounds;

update on clinical trials since 1995 [J]. *Hum Reprod Update*, 2000,6(5):419.

[14] Pentti K, Honkanen R, Tuppurainen M T, et al. Hormone replacement therapy and mortality in 52- to 70-year-old women: the kuopio osteoporosis risk factor and prevention study [J]. *Eur J Endocrinol*, 2006,154(1):101.

[15] Deady J. Clinical monograph: hormone replacement therapy [J]. *J Manag Care Pharm*, 2004,10(1):33.

[16] Nikander E, Metsä-Heikkilä M, Ylikorkala O. Effects of phytoestrogens on bone turnover in postmenopausal women with a history of breast cancer [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(3):1207.

[17] 何明,胡昌奇. 植物雌激素的研究进展 [J]. *中成药*, 1999, 21(1):42.

[18] 叶喜阳,邓宇傲,马利国,等. 仙灵骨葆胶囊植物雌激素活性的临床观察 [J]. *福建医科大学学报*, 2010, 44(2):137.

[19] 刘维嘉,麦敏军,刘永坤,等. 补肾健脾活血汤治疗绝经后骨质疏松症疗效观察 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2009, 19(9):558.

[20] 李颖,黄宏兴,庄洪,等. 中药骨康对去势大鼠骨质疏松作用机制的实验研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2009, 24(2):160.

[21] 韦大文,尚立芝,李沛,等. 补肾方治疗去势雌鼠骨质疏松及其机制的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(10):126.

[22] 卢建华,王维佳,储小兵,等. 补肾方对去卵巢大鼠 I 型胶原代谢的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(7):1109.

[23] 杨帆,姚忠军,李亢,等. 从细胞因子的角度探讨骨安颗粒防治骨质疏松症的作用机理 [J]. *中药材*, 2010, 33(2):261.

[24] 葛全胜,朱英会,王寿宇,等. 降脂壮骨中药对食饵性高脂血症大鼠骨组织骨形态发生蛋白 2、雌激素受体表达的影响 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(7):1268.

[25] 伍杨,邓明会,陈显兵,等. 王不留行防治去势大鼠骨质疏松症的实验研究 [J]. *四川中医*, 2010, 28(5):58.

[26] 程志安,吴燕峰,黄智清,等. 续断对成骨细胞增殖、分化、凋亡和细胞周期的影响 [J]. *中医正骨*, 2004, 20(12):1.

[27] 陈小砖,李福安,曹亚飞,等. 续断对大鼠去卵巢骨质疏松的骨形态计量学研究 [J]. *中医正骨*, 2004, 20(5):7.

[28] 王新祥,张允岭,吴坚,等. 葛根对睾丸切除骨质疏松模型小鼠骨密度和骨构造的作用 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(7):1262.

[29] 迟晓星,崔洪斌. 大豆异黄酮对妇女更年期综合征及骨密度的作用研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2005, 11(3):311.

[30] Yamaguchi M, Sugimoto E. Stimulatory effect of genistein and daidzein on protein synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells: activation of aminoacyl-tRNA synthetase [J]. *Mol Cell Biochem*, 2000,214(1/2):97.

[31] Marini H, Bitto A, Altavilla D. Breast safety and efficacy of genistein aglycone for postmeno-pausal bone loss: a follow-up study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008,93(12):4787.

[32] Morris C, Thorpe J, Ambrosio L. The soybean isoflavone genistein



- induces differentiation of MG63 human osteosarcoma osteoblasts [J]. *J Nutr*, 2006,136(5):1166.
- [33] Ge Y, Chen D, Xie L. Enhancing effect of daidzein on the differentiation and mineralization in mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2006, 126(8):651.
- [34] Yoshida H, Teramoto T, Ikeda K, et al. Glycitein effect on suppressing the proliferation and stimulating the differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001,65(5):1211.
- [35] Heim M, Frank O, Kampmann G, et al. The phytoestrogen genistein enhances osteogenesis and represses adipogenic differentiation of human primary bone marrow stromal cells endocrinology [J]. *Endocrinology*, 2004,145(2):848.
- [36] 雪原,王沛,齐清会,等.淫羊藿甙对成骨细胞 Smad4 mRNA 作用的实验研究[J]. *中华骨科杂志*, 2005,25(2):58.
- [37] Yin X X, Chen Z Q, Liu Z J. Icarine stimulates proliferation and differentiation of human osteoblasts by increasing production of bone morphogenetic protein 2 [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2007, 120(3):204.
- [38] 何伟,李自力,崔元璐,等.淫羊藿苷对大鼠成骨细胞核结合因子 $\alpha 1$ 、骨形成蛋白-2、骨形成蛋白-4 mRNA 表达的影响 [J]. *北京大学学报:医学版*, 2009,41(6):669.
- [39] 叶喜阳,潘晓华,庞春萍,等.淫羊藿黄酮治疗骨质疏松的动物实验研究[J]. *河北师范大学学报:自然科学版*, 2010, 34(4):468.
- [40] 吴丽萍,陶天遵,石义刚,等.三七总甙对成骨细胞增殖、分化及 OPG 表达影响的研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2004, 10(2):122.
- [41] Seidlova-Wuttke D, Hesse O, Jarry H, et al. Evidence for selective estrogen receptor modulator activity in a black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) extract; comparison with estradiol-17beta [J]. *Eur J Endocrinol*, 2003,149(4):351.
- [42] 吴虹.毛蕊异黄酮防治去卵巢大鼠骨质疏松的实验研究 [J]. *生物骨科材料与临床研究*, 2010, 7(4):11.
- [43] 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 [J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22(3):403.
- [44] Wende K, Krenn L, Unterrieder I, et al. Red clover extracts stimulate differentiation of human osteoblastic osteosarcoma HOS58 cells [J]. *Planta Med*, 2004,70(10):1003.
- [45] 刘建新,张文平,连其深.蛇床子的植物雌激素样作用 [J]. *中国临床康复*, 2006,9(23):186.
- [46] 欧阳桂林,杨庆铭,邓康夫,等.成人成骨细胞雌激素受体研究 [J]. *中西医结合学报*, 2003,1(2):132.
- [47] García Palacios V, Robinson L J, Borysenko C W, et al. Negative regulation of RANKL-induced osteoclastic differentiation in RAW264.7 Cells by estrogen and phytoestrogens [J]. *J Biol Chem*, 2005,280(14):13720.
- [48] 赵丕文,牛建昭,王继峰,等.补骨脂素的植物雌激素作用及其机制探讨 [J]. *中国中药杂志*, 2008,33(1):59.
- [49] 赵丕文,牛建昭,王继峰,等.异补骨脂素的植物雌激素作用及其机制的探讨 [J]. *中国药理学通报*, 2009,25(9):1193.
- [50] 赵丕文,牛建昭,王继峰,等.异补骨脂素和蜕皮甾酮对人乳腺癌 T-47D 细胞增殖及 ER 亚型表达的影响 [J]. *北京中医药大学学报*, 2007,30(4):244.
- [51] 赵丕文,牛建昭,王继峰,等.丹参酮 II_A 抗乳腺癌细胞增殖与雌激素受体调节功能相关性的研究 [J]. *中国药理学通报*, 2010,26(7):903.
- [52] 夏淑林,张振华,李旭.雌激素 α 受体基因多态性与疾病相关性的研究进展 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2010, 13(1):75.
- [53] Schuit S C, de Jong F H, Stolk L, et al. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with estradiol levels in postmenopausal women [J]. *Eur J Endocrinol*, 2005, 153(2):327.
- [54] 赵丕文,牛建昭,王继峰,等.雌激素相关受体及其在雌激素信号转导体系中的作用 [J]. *生命的化学*, 2008,28(5):579.
- [55] Heard D J, Norby P L, Holloway J, et al. Human ERR γ , a third member of the estrogen receptor-related receptor (ERR) subfamily of orphan nuclear receptors; tissue-specific isoforms are expressed during development and in the adult [J]. *Mol Endocrinol*, 2000, 14(3):382.
- [56] Bonnelye E, Kung V, Laplace C, et al. Estrogen receptor-related receptor impinges on the estrogen axis in bone: potential function in osteoporosis [J]. *Endocrinology*, 2002, 143(9):3658.
- [57] Vanacker J M, Pettersson K, Gustafsson J A, et al. Transcriptional targets shared by estrogen receptor-related receptors (ERRs) and estrogen receptor (ER) alpha, but not by ERbeta [J]. *EMBO J*, 1999,18(15):4270.
- [58] Delhon I, Gutzwiller S, Morvan F, et al. Absence of estrogen receptor-related-alpha increases osteoblastic differentiation and cancellous bone mineral density [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(10):4463.
- [59] Giguère V. To ERR in the estrogen pathway [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2002,13(5):220.
- [60] Gallet M, Vanacker J M. ERR receptors as potential targets in osteoporosis [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2010,21(10):637.



Effect and mechanism of traditional Chinese medicine and their active constituents in postmenopausal osteoporosis

ZHAO Piwen^{1,2}, NIU Jianzhao^{1*}, David Yue-Wei Lee², WANG Jifeng¹, SUN Yanling¹, LI Yadong¹
(1. School of Basic Medical Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
2. Mclean Hospital, Belmont, MA 02478, USA)

[Abstract] Postmenopausal osteoporosis is one of the commonest systemic bone metabolism diseases among menopausal women, mainly caused by lowering internal estrogen. Although Hormone Replacement Therapy (HRT) is an effective method in clinical practice for years, it shows side-effect in increasing gynecological carcinoma. It has already been proved by clinical tests that multiple traditional Chinese medicine formulas and their monomer ingredients and phytoestrogen-like active constituents contained in traditional Chinese medicines are effective on treating osteoporosis with relatively less side-effects comparing with HRT. They show protective and therapeutic effects by acting on estrogen receptors of targeted tissues and targeted cells and then affecting expressions of bone metabolism-related regulatory proteins and factors in downstream signal conduct paths. Recent studies on estrogen related receptor (ERR) provide new possibilities and pathways for mechanism of traditional Chinese medicine and their active constituents in osteoporosis.

[Key words] Chinese medicine treating gynecological diseases; active constituent; postmenopausal osteoporosis; phytoestrogen; estrogen receptor; estrogen related receptor

doi:10.4268/cjcm20121201

[责任编辑 张宁宁]

南京中医药大学成功主办“第五届全国医药行业膜分离技术应用研讨会”

由南京中医药大学与中国膜工业协会共同主办的“第五届全国医药行业膜分离技术应用研讨会”，于2012年4月12—14日在南京顺利举行。江苏省省长助理、科技厅长、中国工程院徐南平院士向大会发来了贺词，中国工程院高从堦、侯立安院士应邀分别作了“加强膜技术在我国医药医疗领域中的应用”、“纳滤膜技术净化制药用水的应用研究进展”主题报告。来自南京中医药大学与浙江大学、华东理工大学、四川大学、第三军医大学、中国科学院等及江苏康缘药业、扬子江药业、韩国富康技术股份有限公司、山东鲁抗、北方药业等大中型企业的专家教授、工程技术人员就膜分离技术在医药(中药)和医疗行业中的技术创新、产品升级、降低能耗、改造传统工艺、保障产品安全等方面的最新研究成果,及如何解决制约医药领域膜分离技术及其产业化进程的关键问题进行了深入的交流。

膜科学技术因全面体现了节约、清洁、安全的原则,在21世纪的工业中,扮演着战略角色,已成为推动国家支柱产业发展,改善人类生存环境的共性技术。尤其对医药行业实现资源节约、绿色环保、及循环经济具有独特的优势与广阔的前景。而当前高分子科学和分析技术的进展以及环境友好战略的实施使膜技术步入了快速发展的新阶段,从而为医药行业,特别是中药生产的提取、分离、浓缩、纯化一体化工程技术的解决提供了保证。

近年来,南京中医药大学中药复方分离工程重点实验室先后承担中药膜领域国家自然科学基金、十五攻关、十一五支撑、重大新药创制国家科技计划等部省级以上课题20余项,创建了一批以膜科技为核心的中药制备共性关键技术。我国医药行业的一批企业亦因率先采用了膜分离技术而获得了巨大的经济效益与社会效益。

面对当前中药膜分离技术存在的问题,会议提出:应从中药现代化与节能减排国家战略需求的高度出发,借鉴国际膜科技领域先进理念,开展中医药学与现代分离科学等多学科交叉研究,以中药生产共性关键技术突破为目标,实现中药膜工艺技术层面上的性能优化与升级,推动中药制药工程理论研究和技术创新。