

# 骨碎补对 OPG/RANKL 表达影响的研究进展

段斌斌<sup>1</sup>, 万全增<sup>1</sup>, 李春雯<sup>2</sup>, 史晓林<sup>3</sup>

(1. 浙江中医药大学 2009 级硕士研究生, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 3. 浙江中医药大学附属第二医院, 浙江 杭州 310005)

**关键词** 骨碎补 骨质疏松 骨保护素 核因子  $\kappa$ B 受体活化因子

在中医药防治骨质疏松领域中, 目前临床上多以复方制剂为主, 其治疗效果已得到广泛认同和肯定。在中药量化、标准化的要求日益迫切的现状下, 研究中药有效成分成了中医药走向国际化的必然选择。中药骨碎补是临床常用的治疗骨质疏松症的有效药物, 对其有效成分的研究也已经广泛开展起来。骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 和核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor -  $\kappa$ B ligand, RANKL) 是由成骨细胞表达分泌, 调节破骨细胞成熟分化的主要因子。骨碎补可以在抑制破骨细胞活性的同时, 促进成骨细胞增殖。现就骨碎补对 OPG/RANKL 表达影响的研究进展综述如下。

## 1 骨质疏松症的概述

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是指骨组织显微结构受损, 骨矿成分和骨基质比例不断减少, 骨质变薄, 骨小梁数量减少, 骨脆性增加和骨折危险度升高的一种全身骨代谢障碍性疾病。

**1.1 中医对骨质疏松症的认识** 中医典籍中记载着类似于骨质疏松症的名称, 如骨痿、骨枯、骨蚀、骨痹、肾痹、骨极、消肾等。早在《内经》中就有骨痹、骨痿、骨枯的记载。骨、髓受肾精滋养, 如果肾精不足则会出现骨骼病变。《素问·金匱真言论》中说: “藏精于肾……是以知痛之在骨也。”《素问·逆调论》曰: “肾者, 水也, 则生于骨。肾不生, 则髓不能满, 故寒甚至骨也。”《灵枢·本神》曰: “精伤则骨酸痿阙, 精时自下。”《素问·痿论》也认为: “肾气热, 则腰脊不举, 骨枯而髓减, 发为骨痿……, 肾者, 水藏也, 今水不胜火, 则骨枯而髓虚, 故足不任身, 发为骨痿。”《灵枢邪气脏腑病形篇》曰: “肾脉微滑为骨痿, 坐不能起,

起则目无所见。”这些描述几乎囊括了骨质疏松症的所有症状, 如骨痛、驼背、筋骨拘挛、视物昏花等。可见, 从中医角度讲, 肾在骨质疏松症的发病中占主导地位, 肾与骨有着密不可分的关系。现代医学认为激素调控、营养状态、物理因素、免疫功能、遗传基因与骨质疏松症的发生有关。在各种类型的骨质疏松症中, 骨吸收与骨形成不平衡是发病的关键。而对于原发性骨质疏松症的发病机制尚存争论, 但多认为本病是由先天禀赋不足、后天失养、久病失治、老年体衰、用药失当所致, 肾虚是其主要发病原因。肾主藏精, 主骨生髓, 为先天之本。肾虚则肾精不足, 骨髓失养, 可出现腰酸背痛、胫膝酸软等骨质疏松症状。

**1.2 骨碎补治疗骨质疏松症的临床研究** 骨碎补始载于《本草拾遗》, 为水龙骨科植物槲蕨的干燥根茎, 该药具有补肾强骨、续伤止痛之功效, 主治肾虚腰痛、跌打闪挫、筋骨折伤和风湿痹痛。张荒生等<sup>[1]</sup>研究证明骨碎补提取液是促进骨形成的重要因素。王婷等<sup>[2]</sup>研究认为骨碎补是治疗骨质疏松症使用频率较高的中药, 且骨碎补可以通过黄酮类化合物抑制前体破骨细胞分化形成破骨细胞而发挥抗骨质疏松作用。陈顺等<sup>[3]</sup>在探讨丹参和骨碎补对激素性股骨头坏死的防治机制及其交互作用中发现, 骨碎补能提高血钙、血磷水平, 激活成骨细胞, 提高股骨头的骨密度, 预防激素性骨质疏松。咎强等<sup>[4]</sup>研究认为, 强骨汤 (由骨碎补、淫羊藿、补骨脂、黄芪、丹参组成) 能补肾填精、强骨生髓、滋补肝肾, 并能调节机体内在动力, 增强脏腑功能, 改善机体状况, 促进钙吸收、利用和储存, 改善因缺钙而引起的骨质疏松所带来的症状, 对肾虚型骨质疏松作用明显。黄永明等<sup>[5]</sup>研究表明, 骨松安胶囊 (由补骨脂、骨碎补、淫羊藿、北黄芪、续断、丹参等组成) 能提高骨密度, 抑制骨吸收, 防止骨丢失, 改善原发性骨质疏松症的临床症状, 对绝经后骨质

疏松有明显的治疗作用。周军杰等<sup>[6]</sup>研究表明,丹黄补骨方(由丹参 5 g、黄芪 4 g、补骨脂 3 g、骨碎补 4 g、川断 3 g 等组成)可以使骨质疏松患者的全身状况得到明显改善,能够改变其骨密度及骨代谢生化指标。柳景红<sup>[7]</sup>研究表明,抗骨衰丸(由杜仲、鹿角霜、枸杞、当归、补骨脂、续断、狗脊、自然铜等组成)能促进肝肾不足型原发性骨质疏松患者的性激素分泌,提高骨矿物质含量。王和鸣等<sup>[8]</sup>研究表明,以骨碎补总黄酮为主要成分的强骨胶囊治疗原发性骨质疏松症,其疗效确切,安全性高,未见不良反应发生,可进一步在临床推广使用。张勇军<sup>[9]</sup>研究发现,骨碎补总黄酮对 OPG 表达有促进作用,对酸性磷酸酶表达有抑制作用。骨碎补对骨质疏松症的治疗除了能增加骨量、改善肌力、增强抗骨折的能力外,还能改善其他全身症状,包括对超氧化物歧化酶、血脂水平等的改善。

## 2 OPG/RANKL 系统的作用

1997 年 OPG 分别被美国和日本两家实验室同时发现。OPG 主要由成骨细胞前体和间质细胞产生。OPG 是目前已知惟一个与定位于成骨细胞膜上的 RANKL 结合的膜受体,它阻断 RANKL 与核因子  $\kappa$ B 受体活化因子(receptor activator of nuclear factor -  $\kappa$ B, RANK)结合,从而封闭成骨细胞诱导的破骨细胞前体分化、存活与融合,抑制成熟破骨细胞活化,诱导破骨细胞的凋亡。RANKL 主要由骨及骨髓的多种细胞产生,在骨和骨髓呈现高水平的表达,同时也表达于淋巴组织。RANKL 与破骨细胞膜上特异性受体 RANK 结合,刺激破骨细胞的分化、活化并抑制其凋亡。

骨组织局部微环境中 RANKL 和 OPG 表达的相对水平是决定破骨细胞形成及其活性的关键,若 OPG 基因表达水平高于 RANKL,则破骨细胞形成受抑,相反则破骨细胞形成活跃<sup>[10-13]</sup>。OPG 的作用是结合或中和可溶性 RANKL,从而阻断 RANKL 与破骨细胞系细胞表面的 RANK 结合。膜结合的 RANKL 更能促进破骨细胞成熟,OPG 可与膜受体 RANK 竞争性结合 RANKL,且 OPG 比 RANK 的结合能力强。破骨细胞的分化成熟主要取决于骨组织微环境中的 OPG 和 RANKL 的比率<sup>[14]</sup>,OPG/RANKL 信号通路的上游因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  和白细胞介素-1 通过直接增加 RANKL 表达调控这个系统<sup>[15-16]</sup>。有学者在通过研究及总结激素及细胞因子对破骨细胞及 OPG/OPGL/

RANK 系统的影响后提出的“收敛假说”,认为许多上游因子在破骨细胞表面缺乏相应的受体,它们最终通过影响下游细胞因子 RANKL 或 OPG 的表达来调节 RANKL/OPG 的比例,从而调控破骨细胞分化和骨吸收<sup>[12,17-18]</sup>。

## 3 骨碎补对 OPG/RANKL 系统的作用机制

骨碎补总黄酮作用于 OPG/RANKL 系统的机制还未完全阐明,目前研究已知,骨碎补总黄酮与雌激素受体蛋白结合后,表现出两种重要的生物学活性:雌激素活性和抗雌激素活性。对于雌激素水平低者,表现为弱雌激素样作用,与成骨细胞内的雌激素受体蛋白结合,加强成骨细胞的活性,促进骨基质的产生、分泌和骨矿化过程,并抑制破骨细胞的生长,预防骨质疏松症的发生。可能是当骨碎补总黄酮与雌激素受体结合后占据受体的结合点,使具有活性的雌激素不能再与之结合产生激素效应,避免了过多的雌激素对细胞的破坏。成骨细胞和破骨细胞表面均有雌激素受体。骨碎补总黄酮可以在抑制破骨细胞活性的同时,促进成骨细胞增殖。有研究发现,骨碎补粗提物对去势大鼠的骨质疏松症有一定的疗效,可能是通过破骨细胞分化因子和 OPG 的表达和分泌而发挥作用的<sup>[19-20]</sup>。骨碎补提取物中所含有的黄酮类物质属于植物性激素的一种,可与性激素受体结合而发挥作用<sup>[21-22]</sup>。Niili 等<sup>[23]</sup>研究表明,黄酮类物质是细胞膜雄激素受体的刺激物,可以与细胞膜雄激素受体结合发挥生物学效应。由此可见,骨碎补中所含黄酮类物质也应该可以与雄性激素受体结合,产生拟雄激素效应,治疗雄激素水平下降导致的疾病,自然也包括骨质疏松症。

## 4 结 语

现代药理研究证实了骨碎补治疗 OP 的某些作用机制,但尚存在以下不足:①骨碎补促进骨形成的活体证据不足;②骨碎补的有效成分促进骨分化的分子机制及其所作用的确切信号通路尚不清楚;③骨碎补在成骨细胞分化的不同阶段的基因表达尚不清楚;④目前研究骨碎补治疗骨质疏松症的动物模型比较单一,主要以肾虚型居多,无法与临床证型衔接,因此无助于中医对原发性骨质疏松症的深入研究及新药的开发研制。将研究骨碎补中的有效成分治疗原发性骨质疏松症作为突破口,来研究单味中药治疗骨质疏松症的作用机理,对临床上开发治疗骨质疏松症药物

将起到一定的促进作用。

## 5 参考文献

- [1] 张荒生,陈丽川,王进军,等.痹痛定分散片对大鼠 AA 模型血清 TGF- $\beta$ 1 及滑膜组织病理形态学的影响[J].光明中医,2009,24(4):648-651.
- [2] 王婷,张金超.抗骨质疏松症的单味中药及药用植物研究进展[J].中国中药杂志,2006,31(5):719-722.
- [3] 陈顺,关延彬.骨碎补药理作用的研究进展[J].医药导报,2006,25(7):685.
- [4] 咎强,朱超,屈强,等.强骨汤治疗肾虚型骨质疏松症 56 例[J].陕西中医,2006,27(8):957-959.
- [5] 黄永明,许少健,石宇雄,等.骨松安胶囊治疗绝经后骨质疏松症 34 例[J].陕西中医,2006,27(8):954-956.
- [6] 周军杰,曹成福,纪斌,等.丹黄补骨方调控骨形成功能的疗效特征[J].中国临床康复,2006,10(31):37-40.
- [7] 柳景红.抗骨衰丸对原发性骨质疏松症患者临床证候及相关实验室指标的干预[J].中国临床康复,2006,10(23):13-17.
- [8] 王和鸣,葛继荣,田金洲,等.强骨胶囊治疗原发性骨质疏松症临床试验[J].中药新药与临床药理,2004,15(4):284-287.
- [9] 张勇军.骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠 OPG 和血清 TRACP 表达的影响[J].中南大学,2009,10(1):13-18.
- [10] Mandelin J, Li TF, Liljeström M, et al. Imbalance of RANKL/RANK/OPG system in interface tissue in loosening of total hip replacement[J]. J Bone Joint Surg Br, 2003, 85(8): 1196-1201.
- [11] Adachi JD, Saag KG, Delmas PD, et al. Two-year effects of alendronate on bone mineral density and vertebral fracture in patients receiving glucocorticoids: a randomized, double-blind, placebo-controlled extension trial[J]. Arthritis Rheum 2001, 44(1):202-211.
- [12] Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin in the pathogenesis and treatment of metabolic bone diseases[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(7):2355-2363.
- [13] Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts[J]. J Cell Biol, 1999, 145(3):527-538.
- [14] Wei S, Wang MW, Teitelbaum SL, et al. Interleukin-4 reversibly inhibits osteoclastogenesis via inhibition of NF- $\kappa$ B and mitogen-activated protein kinase signaling[J]. J Biol Chem, 2002, 277(8):6622-6630.
- [15] Karsdal MA, Hjørth P, Henriksen K, et al. Transforming growth factor- $\beta$  controls human osteoclastogenesis through the p38 MAPK and regulation of RANK expression[J]. J Biol Chem, 2003, 278(45):44975-44987.
- [16] Kostenuik PJ, Bolon B, Morony S, et al. Gene therapy with human recombinant osteoprotegerin reverses established osteopenia in ovariectomized mice[J]. Bone, 2004, 34(4):656-664.
- [17] Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(1):2-12.
- [18] Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women[J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(2):348-360.
- [19] 廖悦华,梁琼,王卓,等.中药骨碎补对去睾丸骨质疏松症动物模型的影响[J].中国骨质疏松杂志,2007,13(4):277-280.
- [20] 谢雁鸣,赵晋宁,丁会,等.强骨胶囊抗去势大鼠骨质疏松症的实验研究[J].中国中医药科技,2000,7(3):151-152.
- [21] 黄秀兰,周亚伟,王伟.淫羊藿黄酮类化合物药理研究进展[J].中成药,2005,27(6):719-721.
- [22] 宋丽华,肖洲生,周宏灏.植物性雌激素的研究进展[J].国外医学:药学分册,2003,30(1):25-29.
- [23] Nifli AP, Bosson-Kouamé A, Papadopoulou N, et al. Monomeric and oligomeric flavanols are agonists of membrane androgen receptors[J]. Exp Cell Res, 2005, 309(2):329-339.

(2010-11-29 收稿 2010-12-28 修回)

## · 简 讯 ·

### 2008、2009 及 2010 年度《中医正骨》合订本征订启事

《中医正骨》编辑部现有少量 2008、2009 及 2010 年度《中医正骨》过刊,均为铜版纸、精(线)装合订本,具有一定的科研及收藏价值,欢迎邮购。邮购价格(含邮挂包装费)为:2008 年度合订本每册 120.00 元,2009 年度合订本每册 150.00 元(包括上下册),2010 年同 2009 年的。邮局汇款请寄至:洛阳市启明南路 82 号(原 1 号),《中医正骨》编辑部,邮政编码 471002。联系电话:0379-63551943 或 63546705。杂志款请勿邮寄给个人,任何邮寄给个人的汇款均视为无效汇款,由此造成的损失由汇款人本人负责。

(《中医正骨》编辑部)