

淫羊藿总黄酮的抗骨质疏松作用及其对调控成骨细胞分化及骨形成关键信号通路的影响

王洁¹, 王萧枫²

(1. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230012;

2. 浙江省温州市中西医结合医院, 浙江 温州 325000)

摘要 淫羊藿总黄酮(total flavonoids of epimedium, TFE)的抗骨质疏松作用已被临床研究证实,但其具体作用机制尚不完全清楚,可能通过激活与成骨细胞相关的信号通路发挥作用。调控成骨细胞分化及骨形成的关键信号通路主要包括骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)/Smads 信号通路、Wnt/ β -连环蛋白信号通路、Notch 信号通路、Hedgehog 信号通路及成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)信号通路等。本文就 TFE 的抗骨质疏松作用和 TFE 对调控成骨细胞分化及骨形成的关键信号通路的影响进行了综述。

关键词 淫羊藿;骨质疏松;成骨细胞;细胞分化;骨生成;信号传导;Wnt 信号通路;综述

骨质疏松症是一种以骨量减少、骨组织微观结构退化为特征,骨的脆性增加及易于发生骨折的全身性骨骼疾病。淫羊藿总黄酮(total flavonoids of epimedium, TFE)的抗骨质疏松作用已被临床研究证实,其可能通过激活与成骨细胞相关的信号通路发挥作用。调控成骨细胞分化及骨形成的关键信号通路主要包括骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)/Smads 信号通路、Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路、Notch 信号通路、Hedgehog 信号通路及成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)信号通路等。本文就 TFE 的抗骨质疏松作用和 TFE 对调控成骨细胞分化及骨形成的关键信号通路的影响进行了综述。

1 TFE 的抗骨质疏松作用

根据中医学“肾藏精,主骨生髓”的理论,骨质疏松症的治疗多以补肾中药为主^[1]。淫羊藿是补肾壮阳中药中的一种,在骨科临床应用较为广泛^[2]。TFE 是淫羊藿的主要活性成分,而淫羊藿苷则是 TFE 的重要活性成分,TFE 的其他活性成分如淫羊藿苷元、淫羊藿定 B 及淫羊藿定 C 等也具有抗骨质疏松作用^[3-7]。Huang 等^[4]研究发现,TFE 在体外不仅能促进成骨细胞的分化,还能抑制破骨细胞的分化,从而达到抗骨质疏松的目的。TFE 能通过多条相关信号通路促进成骨细胞的分化及骨形成,从而发挥抗骨质

疏松作用,但是其具体机制尚未明确。Runx 相关转录因子 2(runt-related transcription factor 2, Runx2)和 Osterix 是骨形成过程中的重要转录因子,TFE 可能通过激活信号通路上的关键靶点基因来提高这 2 个因子的表达,从而促进成骨细胞分化及骨形成^[8-9]。

2 TFE 对调控成骨细胞分化及骨形成关键信号通路的影响

2.1 TFE 对 BMP/Smads 信号通路的影响 BMP/Smads 信号通路是最早发现的与成骨细胞分化及骨形成密切相关的信号通路。Smads 蛋白是转化生长因子- β 与其细胞表面具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的 I 型及 II 型受体结合后,将其信号从细胞膜传递到细胞核内过程中重要的细胞内信号传导分子。内源性或外源性 BMP 与骨形态发生蛋白受体 II (bone morphogenetic protein receptor II, BMPRII) 结合后可以使 BMPRII 磷酸化,活化的 BMPRII 可作用于细胞内下游的 Smad-1、Smad-5 及 Smad-8 蛋白分子,磷酸化的受体调节型 Smads (receptor-regulated Smads, R-Smads) 与受体分离并且进入细胞核,然后通过 Runx2 及 Osterix 等结合调控下游基因转录,从而促进成骨细胞分化及骨形成^[10]。

周乐等^[11]采用淫羊藿水提液灌胃治疗糖皮质激素诱导的骨质疏松症大鼠,结果发现淫羊藿能通过上调骨组织 BMP-7 的表达,预防糖皮质激素所致的骨损害。尹宏等^[12]将磷酸钙骨水泥与淫羊藿水提液按比例混合后注射至骨质疏松症大鼠骨折局部,结果发

现局部注射淫羊藿可以有效诱导骨质疏松性骨折局部内源性 BMP-2 mRNA 的表达。笄巍伟等^[13]研究发现,淫羊藿甙可以通过激活成骨细胞中 BMP 信号通路上调 Runx2 的表达,从而诱导成骨细胞的增殖和分化。何伟等^[14]研究发现,淫羊藿甙可能通过上调核心结合因子 $\alpha 1$ 、BMP-2 及 BMP-4 mRNA 的表达来促进成骨细胞分化。Zhao 等^[15]研究发现,淫羊藿甙可能通过产生 BMP-4 来部分激活 BMP 信号通路。雪原等^[16]研究发现,淫羊藿甙刺激成骨细胞 MC3T3-E1 增殖与分化,可能是通过提高 MC3T3-E1 细胞与 Smad-4 mRNA 的表达而实现。雪原等^[17]通过另一项研究发现,淫羊藿苷可以抑制双侧卵巢切除大鼠血清碱性磷酸酶升高,而且可能通过提高 Smad-4 mRNA 的表达抑制大鼠体质量增加。李子龙^[18]研究发现,淫羊藿甙可能通过上调 Smad-1、Smad-4 及 Smad-5 mRNA 的表达来促进成骨细胞分化。

2.2 TFE 对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响 Wnt 信号通路主要包括 Wnt/ β -catenin 通路、平面细胞极性通路及 Wnt/钙离子通路。Wnt/ β -catenin 信号通路是促进骨形成和调节骨吸收的重要信号通路,对骨质疏松症的治疗具有重要作用^[19]。当成骨细胞外 Wnt 蛋白与细胞膜上受体卷曲蛋白或低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6) 结合后,通过与细胞质内的散乱蛋白 Dsh、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、支架蛋白 Axin、DKKs 蛋白等相互作用形成二聚体,导致 β -catenin 蛋白水平增高,进而进入细胞核内,通过 T 细胞转录因子/淋巴样增强因子影响 Runx2 及 Osterix 的表达,从而促进成骨细胞增殖和分化^[20-21]。

曾建春等^[22]研究发现,淫羊藿苷可通过促进 Wnt3a/ β -catenin 信号通路促进骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 向成骨细胞分化。Wang 等^[23]研究发现,淫羊藿苷能通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制钛颗粒引起的假体周围骨质溶解。李玲慧等^[24]研究发现,淫羊藿苷对体外培养的大鼠成骨细胞增殖并无显著影响,但可明显促进成骨细胞的分化、上调 Runx2 蛋白的表达;而高浓度的淫羊藿甙则可能抑制成骨细胞生长。Chen 等^[25]研究发现,淫羊藿苷能通过上调 β -catenin、LRP6 及 Runx2 mRNA 的表达和下调 GSK-3 β mRNA 的表达来促进骨

形成。Li 等^[26]研究发现,向骨保护素基因敲除小鼠颅骨局部皮下注射淫羊藿苷可以减少骨吸收、防止骨强度下降;认为淫羊藿苷可能通过 Wnt/ β -catenin-BMP 信号通路来诱导成骨分化。Zhang 等^[27]研究发现,淫羊藿可以通过激活 BMP-2、BMP-4、 β -catenin 及细胞周期调节蛋白 Cyclin D1 提高 Runx2 的表达,从而诱导人 MSCs 成骨分化,其可能是在 Wnt/ β -catenin 和 BMP-Smads 信号通路的协同作用下完成的。

2.3 TFE 对 Notch 信号通路的影响 Notch 信号通路是进化中高度保守的信号传导通路,其调控细胞增殖、分化和凋亡的功能几乎涉及所有的组织和器官。当 Notch 受体与相邻细胞表面的配体结合后,在肿瘤坏死因子- α 转换酶及 γ -分泌酶的作用下发生两次蛋白水解,释放出具有核定位信号的胞内转录活性片段,并进入细胞核内与纤维素合成酶类蛋白及其共活化因子 MAML 相结合,从而影响下游靶基因 Hes 及 Hey 等的表达^[28]。研究表明,Notch 信号通路对成骨细胞的分化有着抑制和诱导的两面性^[29-30]。徐娅^[31]研究发现,淫羊藿苷能通过下调 Notch 信号核心结合蛋白 CBF1 的表达抑制 Notch 信号通路;采用 γ 分泌酶抑制剂 DAPT 阻断 Notch 信号通路能促进脂向分化转录因子 C/EBP α 及脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid binding protein 4, FABP4) mRNA 的表达,抑制成骨分化;淫羊藿甙与 γ 分泌酶抑制剂 DAPT 相互作用后可激活 Notch1 信号通路,通过上调 CCAAT/增强子结合蛋白 α 、过氧化物酶体增殖剂激活物受体 γ 及 FABP4 mRNA 的表达抑制成骨分化。

2.4 TFE 对 Hedgehog 信号通路的影响 Hedgehog 信号通路主要由配体蛋白 Hh、跨膜蛋白受体 Patched (Ptch)、跨膜蛋白 Smo、核转录因子 Gli 及下游靶基因组成,Ptch 和配体蛋白 Hh 结合后可解除对跨膜蛋白 Smo 的抑制,促使核转录因子 Gli 与蛋白激酶 A 形成复合物,从而调节下游靶基因的表达^[32]。有关 TFE 在 Hedgehog 信号通路上作用靶点的研究,目前极为少见。

2.5 TFE 对 FGF 信号通路的影响 FGF 是一种通过与细胞膜表面特异性受体结合而发挥作用的肽类分子,FGF 信号通路可以通过调节 Runx2 及 BMP-2 的表达影响成骨细胞分化及骨形成^[33]。有关 TFE 对 FGF 信号通路的影响研究,目前极为少见。

3 小结

BMP/Smads 信号通路、Wnt/ β -catenin 信号通

路、Notch 信号通路、Hedgehog 信号通路及 FGF 信号通路是调控成骨细胞分化及骨形成的关键信号通路, TFE 对 BMP/Smads 信号通路和 Wnt 信号通路的影响是目前的研究热点, TFE 对 Notch 信号通路的影响也有诸多报道, 但 TFE 对 Hedgehog 信号通路及 FGF 信号通路影响的研究则极为少见。虽然 TFE 影响 BMP/Smads 信号通路、Wnt 信号通路的主要靶点基因已有较多研究, 但其对通路上的次要靶点基因的影响及两条通路之间的协同作用仍需进一步研究。应用分子生物学技术研究 TFE 对调控成骨细胞分化关键信号通路的影响, 揭示 TFE 抗骨质疏松症的具体作用机制, 是今后研究的重点。

4 参考文献

- [1] 黄宏兴, 陈彦东. 中西医结合防治骨质疏松症的研究思路与方法[J]. 中医正骨, 2008, 20(3): 74-75.
- [2] 李新建, 于兰英, 邓伟, 等. 淫羊藿防治激素性股骨头坏死的作用机制研究[J]. 中医正骨, 2013, 25(11): 3-7.
- [3] 钟瑜, 李晓清, 徐晓玉, 等. 淫羊藿苷对肾虚细胞糖皮质激素受体表达影响的研究[J]. 中国药房, 2007, 18(36): 2801-2803.
- [4] HUANG J, YUAN L, WANG X, et al. Icaritin and its glycosides enhance osteoblastic, but suppress osteoclastic, differentiation and activity in vitro[J]. Life Sci, 2007, 81(10): 832-840.
- [5] 濮祖茂, 李勇, 李晶晶, 等. 淫羊藿总黄酮对去除卵巢大鼠股骨头作用的扫描电镜观察与图像分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11(2): 246-250.
- [6] 张玉萱, 徐玲玲. 淫羊藿总黄酮的药理作用研究进展[J]. 实用临床医药杂志, 2012, 16(9): 125-128.
- [7] 宋敏, 罗晓, 李宁, 等. 淫羊藿总黄酮含药血清对成骨细胞 OPG/OPGL 基因表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 883-886.
- [8] SOLTANOFF CS, YANG S, CHEN W, et al. Signaling networks that control the lineage commitment and differentiation of bone cells[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2009, 19(1): 1-46.
- [9] SAITO T, OGAWA M, HATA Y, et al. Acceleration effect of human recombinant bone morphogenetic protein-2 on differentiation of human pulp cells into odontoblasts[J]. J Endod, 2004, 30(4): 205-208.
- [10] 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.
- [11] 周乐, 吴铁, 崔燎. 淫羊藿调节 BMP-7 预防糖皮质激素致大鼠骨损害的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(3): 234-237.
- [12] 尹宏, 钱卫庆. 淫羊藿对骨质疏松型骨折局部骨形成蛋白 mRNA 表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(8): 717-720.
- [13] 笪巍伟, 赵永见, 王拥军, 等. 淫羊藿苷对前成骨细胞株 OCT1 细胞 BMP-2 mRNA、Runx-2 mRNA 表达的影响[J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(5): 90-94.
- [14] 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 α 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): 669-673.
- [15] ZHAO J, OHBA S, SHINKAI M, et al. Icaritin induces osteogenic differentiation in vitro in a BMP- and Runx2-dependent manner[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 369(2): 444-448.
- [16] 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): 119-123.
- [17] 雪原, 齐清会, 王沛, 等. 淫羊藿甙对 OVX 大鼠成骨细胞 Smad4 mRNA 的作用[J]. 天津医药, 2006, 34(4): 256-258.
- [18] 李子龙. 淫羊藿甙对 MC3T3-E1 细胞 Smad1, 4, 5 作用的实验研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2012.
- [19] 牛银波, 梅其炳, 张蓉. Wnt/ β -catenin 信号通路与骨质疏松关系的研究进展[J]. 中华骨科杂志, 2009, 29(8): 775-778.
- [20] 许兵, 刘慧, 许应星, 等. 成骨细胞中经典 Wnt/ β -catenin 通路研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(5): 477-481.
- [21] BENNETT CN, LONGO KA, WRIGHT WS, et al. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(9): 3324-3329.
- [22] 曾建春, 曾意荣, 樊粤光, 等. 淫羊藿甙诱导 MSCs 向成骨细胞分化过程中对 Wnt 信号通路的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2014, 31(4): 607-611.
- [23] WANG J, TAO Y, PING Z, et al. Icaritin attenuates titanium-particle inhibition of bone formation by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway in vivo and in vitro[J]. Sci Rep, 2016, 6: 23827.
- [24] 李玲慧, 丁道芳, 杜国庆, 等. 淫羊藿苷对大鼠成骨细胞增殖及碱性磷酸酶、Runx2 蛋白表达的影响[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(21): 2195-2199.
- [25] CHEN G, WANG C, WANG J, et al. Antiosteoporotic effect of icaritin in ovariectomized rats is mediated via the Wnt/ β -

- catenin pathway[J]. Exp Ther Med, 2016, 12(1): 279-287.
- [26] LI XF, XU H, ZHAO YJ, et al. Icarin augments bone formation and reverses the phenotypes of osteoprotegerin-deficient mice through the activation of Wnt/ β -Catenin-BMP signaling[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 652317.
- [27] ZHANG JF, LI G, CHAN CY, et al. Flavonoids of herba epimedii regulate osteogenesis of human mesenchymal stem cells through BMP and Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 314(1): 70-74.
- [28] ZANOTTI S, CANALIS E. Notch and the skeleton[J]. Mol Cell Biol, 2010, 30(4): 886-896.
- [29] ZANOTTI S, SMERDEL-RAMOYA A, STADMEYER L, et al. Notch inhibits osteoblast differentiation and causes osteopenia[J]. Endocrinology, 2008, 149(8): 3890-3899.
- [30] UGARTE F, RYSER M, THIEME S, et al. Notch signaling enhances osteogenic differentiation while inhibiting adipogenesis in primary human bone marrow stromal cells[J]. Exp Hematol, 2009, 37(7): 867-875.
- [31] 徐娅. 淫羊藿苷在促大鼠 MSCs 骨向分化过程中对 Notch 信号通路的影响[D]. 广州: 暨南大学, 2013.
- [32] 刘序友, 舒建昌. Hedgehog 信号通路与肝纤维化发病相关机制研究新进展[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(1): 108-111.
- [33] 徐练, 孔清泉. 调控成骨细胞分化及骨形成关键信号通路的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2014, 28(12): 1484-1489.

(2016-09-13 收稿 2016-10-17 修回)

《中医正骨》杂志 2016 年重点专栏目录(一)

2016 年第 3 期——骨科微创技术专栏

- 骨科微创技术的发展概况与展望
(述评专家: 河南省洛阳正骨医院/河南省骨科医院 刘又文教授)
- 外翻截骨矫形“裹帘”法外固定后截骨端稳定性的 X 线研究
- 微创髓芯减压打压支撑植骨术结合补肾活血汤口服治疗 ARCO II、III 期股骨头坏死的近期疗效观察
- 微创全髋关节置换术直接前侧入路与外侧小切口入路的对比研究
- LC-II 型螺钉的经皮置入操作技术
- 手法复位经皮克氏针内固定硫酸钙填充治疗桡骨远端粉碎性骨折
- 直接前入路微创全髋关节置换术的近期疗效及安全性观察
- 直接前入路微创全髋关节置换术治疗晚期股骨头坏死

参考文献著录格式

- 刘又文. 骨科微创技术的发展概况与展望[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 1-4.
- 毕春强, 温建民, 桑志成, 等. 外翻截骨矫形“裹帘”法外固定后截骨端稳定性的 X 线研究[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 5-8.
- 张超, 姚晨, 沈计荣. 微创髓芯减压打压支撑植骨术结合补肾活血汤口服治疗 ARCO II、III 期股骨头坏死的近期疗效观察[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 20-23.
- 李文龙, 范亚楠, 张蕾蕾, 等. 微创全髋关节置换术直接前侧入路与外侧小切口入路的对比研究[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 24-29.

- 蔡鸿敏, 刘又文, 李红军, 等. LC-II 型螺钉的经皮置入操作技术[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 34-37.
- 王国林, 高彦平, 樊培新. 手法复位经皮克氏针内固定硫酸钙填充治疗桡骨远端粉碎性骨折[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 48-49.
- 张蕾蕾, 李文龙, 张颖, 等. 直接前入路微创全髋关节置换术的近期疗效及安全性观察[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 58-60.
- 鲍荣华, 王国平, 夏晓斌, 等. 直接前入路微创全髋关节置换术治疗晚期股骨头坏死[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 61-63.

2016 年第 7 期——胸腰椎骨折专栏

- 胸腰椎骨折临床诊疗中的热点问题
(述评专家: 河南省郑州市骨科医院 梅伟教授)
- 体位复位结合经皮椎体成形术与经皮椎体后凸成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折的对比研究
- 后路撬拨植骨椎弓根螺钉内固定治疗胸腰椎骨折
- 胸腰椎骨折椎体植骨材料的临床应用进展

参考文献著录格式

- 梅伟. 胸腰椎骨折临床诊疗中的热点问题[J]. 中医正骨, 2016, 28(7): 1-5.
- 徐无忌, 刘晓岚. 体位复位结合经皮椎体成形术与经皮椎体后凸成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折的对比研究[J]. 中医正骨, 2016, 28(7): 20-24.
- 李英周, 叶锋, 王晓, 等. 后路撬拨植骨椎弓根螺钉内固定治疗胸腰椎骨折[J]. 中医正骨, 2016, 28(7): 46-48.
- 王军, 陈哲, 王硕凡. 胸腰椎骨折椎体植骨材料的临床应用进展[J]. 中医正骨, 2016, 28(7): 64-67.