

· 综述 ·

蛇床子提取物蛇床子素防治原发性骨质疏松症的研究概况

张建平¹ 谢兴文^{2,3} 李建国^{2,3*} 王兴盛^{1,4} 武将¹ 景少博¹ 杨勇¹ 王博¹ 高学斌¹

1. 甘肃省中医院急救中心, 甘肃 兰州 730050

2. 西北民族大学附属医院, 甘肃 兰州 730030

3. 甘肃省第二人民医院, 甘肃 兰州 730030

4. 甘肃省中医院研究院骨伤病研究所, 甘肃 兰州 730050

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 10-1546-04

摘要: 骨质疏松症是常见的全身代谢性骨骼疾病, 随着社会老龄化问题日渐突出, 其发病率日渐上升, 已成为我国第 3 大慢性疾病。近年来关于中医药防治骨质疏松症研究不断深入, 发现蛇床子提取物蛇床子素具有明显的抗骨质疏松作用, 能够有效地改善成骨细胞及破骨细胞的代谢水平, 改善骨结构。本文总结蛇床子素在细胞、动物实验中对骨代谢的影响及相关作用信号通路研究进展, 同时对含有蛇床子的中药复方进行总结, 概述目前研究现状及不足, 旨在为该药材深入研究及开发为新的靶向治疗药物提供借鉴。

关键词: 蛇床子; 蛇床子素; 细胞; 动物; 通路; 骨质疏松

Research overview of osthole extract from *Cnidium monnieri* in preventing and treating primary osteoporosis

ZHANG Jianping¹, XIE Xingwen^{2,3}, LI Jianguo^{2,3*}, WANG Xingsheng^{1,4}, WU Jiang¹, JING Shaobo¹, YANG Yong¹, WANG Bo¹, GAO Xuebin¹

1. Emergency Center of Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China

2. Affiliated Hospital of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China

3. The Second People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730030, China

4. Gansu Provincial Academy of Chinese Medicine Bone Oncology, Lanzhou 730050, China

* Corresponding author: LI Jianguo, Email: 1021705179@qq.com

Abstract: Osteoporosis is a common systemic metabolic bone disease. With the aging of society becoming more and more serious, the incidence of osteoporosis is also increasing, and it has become the third chronic disease in China. In recent years, researches on the prevention and treatment of osteoporosis in traditional Chinese medicine have been continuously deepening, and it has been found that the extract of *Cnidium* SPP has significant anti-osteoporosis effect, can effectively improve the metabolism level of osteoblasts and osteoclasts, and improve bone structure. This paper summarized the research progress on the effect of cnistatin on bone metabolism and related signaling pathways in cell and animal experiments, and also summarized the TCM compounds containing cnistatin, summarized the current research status and deficiencies, in order to provide references for further research and development of new targeted therapy drugs.

Key words: osthole; *Cnidium*; cells; animal; pathways; osteoporosis

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是以骨小梁减少、骨微结构破坏及脆性增加为特征的代谢性骨

病。我国 60 岁以上男性患病率为 23%, 女性为 49%^[1], 文献报道至 2050 年我国治疗 OP 性骨折费用将高达 245.3 亿美元^[2]。临床将其成为“沉默的杀手”, 其引起的髋部骨折称为“人生最后一次骨折”, 其高发病率、严重并发症及昂贵的医疗费用使之成为我国亟待解决的公共健康问题。随着近年来中医

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81860864); 国家中医药管理局中医临床研究基地业务建设科研专项 (JDZX2015080); 甘肃省省属科研院所条件建设专项 (18JR2TA016)

* 通信作者: 李建国, Email: 1021705179@qq.com

药防治 OP 研究不断深入,发现蛇床子素(osthole, OST)防治 OP 效果确切,能够有效地改善骨代谢水平,增加骨密度^[3]及调整骨密度代谢指标^[4],临床亦表明含蛇床子复方能够有效缓解 OP 患者临床症状,提高患者生活质量。本文就 OST 在细胞及动物实验中对骨代谢的影响、作用通路及含蛇床子复方对 OP 治疗作用进行综述,旨在为本药深入研究及开发靶向药物提供参考。

1 蛇床子及蛇床子素

蛇床子,别名野胡萝卜子,伞形科植物蛇床的干燥成熟果实,性温、味辛、苦,归肾经,有杀虫止痒、燥湿祛风、温肾壮阳之功效。《本草纲目》记载“蛇床乃右肾命门、少阳,三焦气分之药”。《药性论》记载:“湿痹,毒风,顽痛,去男子腰疼”。现代药理研究表明,其有抗心律失常、抗 OP、抗血栓及类激素样等多方面作用^[5-6],OST 为蛇床子香豆素类化合物,是蛇床子的主要药理活性物质^[7],具有促进骨形成、抑制骨吸收作用^[8]。研究^[9]表明,OST 能够显著的促进骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)及成骨细胞增殖、分化,促进骨形成,同时显著增加骨钙素(osteocalcin, OCN)及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)等表达水平,其机制可能通过上调 BMP-2 mRNA 表达来诱导其成骨分化^[10]。文献^[11-12]指出,口服 OST 能够增加大鼠峰值骨量,进而有效的发挥防治 OP 及 OP 性骨折的作用。大量文献报道 OST 不仅能够通过促进 BMSCs 及成骨细胞的增殖、分化来促进骨形成,同时能够抑制破骨细胞骨吸收来调节骨代谢,进而促进骨形成,抑制骨吸收,增加骨矿含量及骨强度。

2 蛇床子素在细胞水平对骨代谢作用及相关通路研究

骨吸收大于骨形成时骨量流失加快,易于发生 OP。研究表明 OST 在体内外均能够增强 ALP 活性及矿化,促进成骨细胞成骨^[13]。郑苏阳等^[14]体外研究发现,OST 能够提高 CHOP、PDI 蛋白及降低 GRP78 蛋白水平表达,增加成骨细胞矿化能力,同时发现 OST/壳聚糖衍生物胶囊能够有效增加成骨细胞 ALP 活性,促进 BMP2、I 型胶原蛋白表达,进而促进成骨细胞成骨^[15]。王礼宁等^[16-17]研究 OST 抑制破骨细胞分化发现,其能够通过抑制 NFATc1、Integrin-BETA3、c-Src 等破骨相关因子及 NFAT、NF- κ B 等转录因子来调节 NF- κ B 信号通路,抑制破骨

细胞对骨的溶解及吸收。综上所述,OST 促进成骨细胞成骨的同时抑制破骨细胞骨吸收来调节动态骨代谢平衡。

文献报道 OST 防治 OP 与骨保护素/受体激活剂核因子 κ B 配体(OPG/RANKL)、Wnt/ β -连环蛋白、骨形态发生蛋白(BMP)及 Notch 信号通路相关^[18]。OST 能够上调 BMSCs 钙(Ca)含量、ALP 活性及 BMP-2、Runx2 等表达量^[19]。BMP-2 抑制剂 Noggin 能够显著的抑制 Smad1/5/8 表达量及磷酸化 Smad1/5/8 的分泌^[20],由此证实 OST 可能通过 BMP-Smads 信号通路发挥促 BMSCs 成骨分化作用。亦有研究表明,其能够通过激活 Wnt/ β -catenin 通路来调节 BMP-2 的表达,协同发挥作用^[21]。同时 OST 能够抑制抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRACP)活性,减少骨吸收面积及数量,上调成骨细胞中骨保护素(OPG)基因及 B 受体激活因子配体(RANKL)的表达,抑制骨吸收作用与激活 OPG/RANKL/RANK 相关信号通路^[22-23]。最新文献^[24]表明,OST 能够增加 Beclin1 和 LC3 蛋白及 mRNA 表达水平,提高自噬活性来促进雌激素缺乏引起的 OP 模型中 BMSCs 成骨。以上文献指出,OST 能够通过多条通路及激活自噬系统来调节骨代谢平衡,发挥抗 OP 的作用。

3 蛇床子素在动物水平对骨代谢作用及相关通路研究

研究^[25]表明 OST 能够显著增加 OP 模型大鼠骨密度、骨量及抑制骨吸收来改善骨组织微观结构。赵永见等^[26]应用双能 X 线法证实 OST 能够增加 OPG 基因敲除小鼠及去卵巢 OP 大鼠骨小梁数量、厚度及体积分数,降低骨小梁分离度。王青等^[27]对磷酸三钙(tricalcium phosphate, TCP)颗粒诱导小鼠颅骨溶解模型应用颅顶局部注射 OST 发现,模型小鼠骨组织及血清中 OCN 及 ALP 水平增加,TRACP 活性降低,能有效抑制骨溶解。鲍君杰等^[28]运用 OST 对去卵巢 OP 大鼠连续灌胃 12 周后发现,模型大鼠股骨干骺端骨密度及血清 Ca^{2+} 水平提高,效果与尼尔雌醇相似,并由此推断 OST 可能为雌激素受体调节剂^[29]。总之,OST 能够增加 OP 模型大鼠骨密度、骨小梁数目、体积及厚度等骨微观结构来防治 OP。

明磊国等^[30]应用 OST 对大鼠成骨细胞培养的作用,发现其能够显著促进 Osterix、bFGF、Runx-2 及 IGF- I 基因的表达,增加 ALP 含量,促进 OCN 分泌

及钙盐沉积,表明其通过促进成骨细胞成熟及矿化来促进骨形成。同时其能够诱导 p38 及 ERK1/2 活化,激活 β 连环蛋白 BMP-2 通路来促进成骨^[31-32]。郑苏阳^[33]研究发现 OST 能够促进大鼠成骨细胞的增殖、分化及成熟,其机制通过增加 Wnt1 蛋白表达及激活 Wnt/ β -catenin 信号通路来发挥作用,Tang 等^[32]亦证实,OST 能够通过上调 β -Catenin/BMP 通路来促进成骨细胞的成骨,有效地抑制因雌激素缺乏所致的骨量丢失,改善模型大鼠骨结构。由此进一步证实,OST 能够通过调节骨代谢水平的同时改善模型动物的骨微观结构来改善 OP 状态。

4 含蛇床子复方防治 OP 的研究概况

覃瑶等^[34]应用蛇床子、淫羊藿及川续断提取物以不同比例组方能够显著地升高大鼠血清 ALP 及 TRACP,骨组织切片示骨小梁增粗、排列整齐、骨质显著改善来发挥显著的抗 OP 作用。廖进民等^[35]应用含蛇床子的仙珍骨宝胶囊对去卵巢模型大鼠连续灌胃 6 次/周,90 d 处死后行骨组织形态剂量测量,模型大鼠骨小梁面积及厚度显著增加,破骨细胞数量显著降低,能够有效地防止模型大鼠股骨颈骨密度丢失。杨军^[36]从蛋白组学角度研究含蛇床子复方壮骨止痛方对 OP 模型大鼠防治机制可能通过调节血清转铁蛋白、肌酸激酶 A 蛋白、果糖二磷酸醛缩酶 A 分泌颗粒素 II 等蛋白水平来发挥其治疗作用。张日松等^[37]临床运用补肾壮骨汤对绝经后骨质疏松症患者连续用药 180 d 后患者雌激素及骨密度水平显著增加,效果优于密盖息。马勇等^[38]临床应用自拟温肾通络止痛方治疗 OP 总有效率高达 94.1%,同时临床采用多中心、随机、对照研究表明其能够有效的改善患者的临床症状,同时患者能够增加血清降钙素水平,降低甲状旁腺素水平^[39]。综上所述文献显示,含蛇床子复方具有良好的抗 OP 作用,为蛇床子及蛇床子素的深入研究提供基础,但其作用机制研究较少。为进一步明确蛇床子及蛇床子素在复方中的作用,简化复方结构、提高复方疗效打下坚实基础。

5 总结与展望

综上所述,OST 在细胞及动物实验中均有抗 OP 作用,其能通过多种通路来改善骨代谢,发挥 OP 防治作用。归纳 OST 主要作用为:①促进 BMSCs 的成骨分化;②上调相关成骨因子及增加成骨细胞活性,促进成骨;③抑制破骨细胞的分化及成熟来降低骨

质破坏;④抑制骨组织吸收,延缓骨量流失。但目前对其作用机制尚不能完全阐明,作用通路及相关作用靶点较多,今后研究当重视对其机制研究,借助现代药理学理论、生物学技术及高通量筛选技术,以代谢组学、蛋白组学及基因组学技术为平台,深入挖掘其作用机制、明确作用靶点,今后在 OST 对骨质疏松症患者骨微观结构重塑及骨微观血管方面的作用效果,为其治疗提供充实的理论基础。同时争取国家各项基金支持及加强药企合作,重视成果转化,加速中药靶向治疗 OP 新药研发。

【参 考 文 献】

- [1] 贺丽英,孙蕴,要文娟,等.2010-2016 年中国老年人骨质疏松患病率 Meta 分析[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(12):1590-1596.
- [2] 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.
- [3] 高玉海,慧慧荣,杨芳芳,等.蛇床子素对青年大鼠骨代谢的影响研究[J].解放军医药杂志,2016,28(10):4-7.
- [4] 冯秀,何进鹏,华君瑞,等.蛇床子素对模拟微重力引起的骨质流失的防治作用[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(8):1074-1079.
- [5] Zhu JJ, Jiang JG. Pharmacological and Nutritional Effects of Natural Coumarins and Their Structure-Activity Relationships [J].Mol Nutr Food Res, 2018:e1701073.
- [6] Xiao YP, Zeng J, Jiao LN, et al.Review for treatment effect and signaling pathway regulation of kidney-tonifying traditional Chinese medicine on osteoporosis [J].Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2018,43(1):21-30.
- [7] 李昱.关于蛇床子的化学成分与药理作用研究进展[J].全科口腔医学电子杂志,2019,6(26):22-23.
- [8] 司誉豪,马勇,郭杨.蛇床子素抗骨质疏松作用研究进展[J].西北药学杂志,2017,32(2):241-244.
- [9] 高丽娜.蛇床子素对人牙周膜干细胞和颌骨骨髓间充质干细胞膜片形成和生物学性能的影响[D].第四军医大学,2013.
- [10] 郑晓黎.蛇床子素对大鼠骨髓间充质干细胞增殖和骨向分化的影响[D].暨南大学,2008.
- [11] 成魁,王鸣刚,陈克明,等.口服蛇床子素提高大鼠峰值骨量的研究[J].中国现代应用药学,2013,30(11):1170-1174.
- [12] 成魁,葛宝丰,甄平,等.蛇床子素与金雀异黄酮对大鼠峰值骨量影响的比较研究[J].中国骨伤,2014,27(7):587-591.
- [13] Zhang ZR, Leung WN, Li G, et al. Osthole enhances osteogenesis in osteoblasts by elevating transcription factor osterix via cAMP/CREB signaling in vitro and in vivo [J].Nutrients, 2017,9(6):E588.
- [14] 郑苏阳,马勇,郭杨,等.基于内质网应激研究蛇床子素对成骨细胞增殖与分化的影响[J].中国组织工程研究,2018,22(12):1817-1822.
- [15] 郑苏阳,郭杨,马勇,等.基于 BMP 信号研究蛇床子素/壳聚糖

- 衍生物胶束对成骨细胞的作用[J].中华中医药杂志,2018,33(11):4929-4932.
- [16] 王礼宁,马勇,郑苏阳,等.蛇床子素对 RAW264.7 细胞向破骨细胞分化的影响及其机制[J].北京中医药大学学报,2018,41(11):950-958.
- [17] 王礼宁,马勇,郑苏阳,等.蛇床子素对 NFATc1 基因表达及破骨细胞分化的影响[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2018,11(5):475-483.
- [18] Lin J, Zhu J, Wang Y, et al. Chinese single herbs and active ingredients for postmenopausal osteoporosis: from preclinical evidence to action mechanism[J].Biosci Trends,2017,11(5):496-506.
- [19] 鲍君杰.蛇床子素防治去卵巢大鼠骨质疏松的实验研究[D].苏州:苏州大学,2005.
- [20] Kuo PL, Hsu YL, Chang CH, et al. Osthole-mediated cell differentiation through bone morphogenetic protein-2/p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway in human osteoblast cells[J].J Pharmacol Exp Ther,2005,314(3):1290.
- [21] Hu H, Chen M, Dai G, et al. An inhibitory role of osthole in rat MSCs osteogenic differentiation and proliferation via Wnt/ β -catenin and Erk1/2-MAPK pathways[J].Cell Physiol Biochem,2016,38(6):2375.
- [22] Ma Y, Wang L, Zheng S, et al. Osthole inhibits osteoclasts formation and bone resorption by regulating NF- κ B signaling and NFATc1 activations stimulated by RANKL[J].J Cell Biochem,2019,120(9):16052-16061.
- [23] Zhao D, Wang Q, Zhao Y, et al. The naturally derived small compound Osthole inhibits osteoclastogenesis to prevent ovariectomy-induced bone loss in mice[J].Menopause,2018,25(12):1459-1469.
- [24] Zheng X, Yu Y, Shao B, Gan N, et al. Osthole improves therapy for osteoporosis through increasing autophagy of mesenchymal stem cells[J].Exp Anim,2019,68(4):453-463.
- [25] 周建,任雪梅,马小妮,等.蛇床子素对体外培养大鼠股骨组织吸收的抑制作用[J].中国骨伤,2015,28(9):832-837.
- [26] 赵永见,唐德志,程少丹,等.不同剂量蛇床子素对 OPG 基因敲除小鼠和去卵巢骨质疏松大鼠作用疗效的比较研究[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(2):147-151.
- [27] 王青,张云,毛红娇,等.蛇床子素对 TCP 颗粒诱导小鼠颅骨溶解的影响[J].中国病理生理杂志,2015,31(12):2265-2270.
- [28] 鲍君杰,谢梅林,朱路佳.蛇床子素治疗去卵巢大鼠骨质疏松的实验研究[J].中国药理学通报,2011,27(4):591-592.
- [29] Fusi F, Sgaragli G, Ha Le M, et al. Mechanism of osthole inhibition of vascular Ca(v)_{1.2} current[J].Eur J Pharmacol,2012,680(1-3):22-27.
- [30] 明磊国,王鸣刚,陈克明,等.蛇床子素对体外培养成骨细胞成骨相关因子表达的影响[J].中药药理与临床,2011,27(2):53-56.
- [31] Kuo PL, Hsu YL, Chang CH. Osthole-mediated cell differentiation through bone morphogenetic protein-2/p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway in human osteoblast cells[J].J Pharmacol Exp Ther,2005,314(3):1290-1299.
- [32] Tang DZ, Hou W, Zhou Q, et al. Osthole stimulates osteoblast differentiation and bone formation by activation of β -catenin-BMP signaling[J].J Bone Min Res,2010,25(6):1234-1245.
- [33] 郑苏阳.基于内质网应激与 Wnt/ β -catenin 信号通路研究蛇床子素对成骨细胞增殖与分化的影响及机制[D].南京中医药大学,2017.
- [34] 覃瑶,黄崇刚,莫宗成,等.不同比例淫羊藿、蛇床子及川续断提取物配方的抗骨质疏松模型活性研究[J].现代中医药,2017,37(6):122-125,128.
- [35] 廖进民,陈艳,黄连芳,等.仙珍骨宝胶囊对去卵巢大鼠股骨颈骨代谢的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(11):2022-2025.
- [36] 杨军.从蛋白质组学角度探讨壮骨止痛方治疗骨质疏松症的作用机制[D].湖南中医药大学,2012.
- [37] 张日松,马明龙,孙清华,等.补肾壮骨汤治疗绝经后骨质疏松随机平行对照研究[J].实用中医内科杂志,2013,27(20):20-22.
- [38] 马勇,汪志芳,王培民.自拟温肾通络止痛方治疗骨质疏松症45例临床研究[J].中医药学报,2010,38(1):103-104.
- [39] 郑苏扬,马勇,郭杨,等.“温肾通络止痛方”治疗原发性骨质疏松症的疗效观察及处方优化[J].辽宁中医杂志,2016,43(10):2098-2100.

(收稿日期:2019-12-02;修回日期:2020-05-21)