

# 淫羊藿活性单体成分调控骨质疏松症相关信号通路影响骨吸收与骨形成的稳态

https://doi.org/10.12307/2022.364 李时斌<sup>1</sup>, 夏天<sup>2</sup>, 章晓云<sup>1</sup>, 王伟伟<sup>1</sup>, 周毅<sup>1</sup>, 赖渝<sup>1</sup>

投稿日期: 2021-06-08

送审日期: 2021-06-10

采用日期: 2021-07-16

在线日期: 2021-09-04

中图分类号:

R459.9; R318; R242

文章编号:

2095-4344(2022)11-01772-08

文献标识码: A



## 文题释义:

**骨质疏松症:** 一种以骨量减少、骨组织微观结构退化、骨骼脆性增加、易引发骨折为特征的全身骨代谢障碍疾病, 以绝经后女性患者多见, 约占骨质疏松患者总数的77.23%。随着全球老龄化的日益加重, 目前已被WHO列为3大老年性疾病之一。

**骨髓间充质干细胞:** 源自骨髓基质, 可在不同条件下诱导成为基质细胞、成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞以及造血细胞等。目前骨髓间充质干细胞中成骨分化和成脂分化之间的不平衡被认为是造成骨质疏松的主要原因之一。

## 摘要

**背景:** 骨质疏松症是一种严重影响中老年人健康的代谢性骨病, 目前临床上治疗以西药为主。随着祖国传统医学的快速发展, 近年来有大量研究发现淫羊藿中某些单体成分如淫羊藿素、淫羊藿苷、淫羊藿次苷、淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖等能够有效抑制骨吸收、骨破坏, 促进成骨细胞增殖、分化, 并最终起到防治骨质疏松的作用。

**目的:** 探讨淫羊藿主要活性单体成分介导相关信号通路防治骨质疏松症的作用机制, 以期为今后骨质疏松症的防治提供新思路。

**方法:** 以“淫羊藿、骨质疏松症、骨细胞、单体成分、成骨分化、细胞增殖、信号通路”为中文检索词, 以“Epimedium、Osteoporosis、Bone cell、Monomer component、Osteoblast differentiation、Cell proliferation、signaling pathway”为英文检索词, 检索中国知网、PubMed、MEDLINE、万方、维普等数据库, 筛选各数据库建库至2021年淫羊藿活性单体成分介导相关信号通路防治骨质疏松症的研究。

**结果与结论:** ①淫羊藿不良反应小, 能加快成骨细胞增殖分化, 还能直接抑制破骨细胞的骨吸收, 在防治骨质疏松方面有着广阔的研究及应用前景; ②淫羊藿总黄酮及其各活性单体成分发挥抗骨质疏松作用可能是通过内分泌激素、蛋白质、分子生物学以及基因学等多途径多层次来调控骨代谢实现的; ③淫羊藿次苷 II 相较于其他淫羊藿黄酮类化合物, 其溶解性、渗透性较好, 可能是淫羊藿黄酮中另一类具备抗骨质疏松作用的药效物质基础; ④目前关于淫羊藿调控Wnt/β-catenin、MAPK、OPG/RANKL/RANK以及BMP/RunX2/OSX、Notch等信号通路主要靶点基因的研究很多, 但是对于通路上的次要靶点基因以及各信号通路之间的协同作用仍有待进一步研究。

**关键词:** 淫羊藿; 骨质疏松症; 骨细胞; 单体成分; 成骨分化; 细胞增殖; 信号通路; 综述

## Active monomer composition of Epimedium influences the homeostasis of bone resorption and bone formation by regulating osteoporosis related signaling pathways

Li Shibin<sup>1</sup>, Xia Tian<sup>2</sup>, Zhang Xiaoyun<sup>1</sup>, Wang Weiwei<sup>1</sup>, Zhou Yi<sup>1</sup>, Lai Yu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; <sup>2</sup>Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Li Shibin, Master candidate, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

**Corresponding author:** Xia Tian, MD candidate, Associate professor, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Osteoporosis is a metabolic bone disease that seriously affects the health of middle-aged and elderly people. At present, western medicine is the main clinical treatment for osteoporosis. With the rapid development of traditional medicine in China, a large number of studies in recent years have found that some monomer components in Epimedium, such as icaritin, icariin, icaraside, total flavonoids of Epimedium, and Epimedium polysaccharides, can effectively inhibit bone resorption and bone destruction, promote the proliferation and differentiation of osteoblasts, and ultimately prevent and treat osteoporosis.

<sup>1</sup>广西中医药大学附属瑞康医院, 广西壮族自治区南宁市 530011; <sup>2</sup>广西中医药大学, 广西壮族自治区南宁市 530000

第一作者: 李时斌, 男, 1995年生, 湖南省邵阳市人, 汉族, 在读硕士研究生, 主要从事骨与关节疾病及运动损伤研究。

通讯作者: 夏天, 在读博士, 副教授, 广西中医药大学, 广西壮族自治区南宁市 530011

https://orcid.org/0000-0003-1255-5479 (李时斌)

**基金资助:** 国家自然科学基金资助项目 (81760796, 81960803), 项目参与者: 章晓云; 广西自然科学基金青年基金 (2020GXNSFB159053), 项目负责人: 章晓云; 广西高校青年教师基础能力提升项目 (2019KY0352), 项目负责人: 章晓云; 广西研究生教育创新计划资助项目 (YCBXJ2021019), 项目负责人: 夏天; 广西研究生教育创新计划资助项目 (YCSW2021219), 项目参与者: 夏天

引用本文: 李时斌, 夏天, 章晓云, 王伟伟, 周毅, 赖渝. 淫羊藿活性单体成分调控骨质疏松症相关信号通路影响骨吸收与骨形成的稳态 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(11):1772-1779.



**OBJECTIVE:** To explore the mechanism by which the main active monomer components of Epimedium mediate related signaling pathways to prevent and treat osteoporosis, thereby providing new ideas for the prevention and treatment of osteoporosis in the future.

**METHODS:** WanFang, CNKI, VIP, PubMed, and MEDLINE databases were retrieved with the keywords of "Epimedium, Osteoporosis, Bone cell, Monomer component, Osteoblast differentiation, Cell proliferation, signaling pathway" in Chinese and English, respectively. Relevant literatures published from their inceptions to 2021, which detailed the prevention and treatment of osteoporosis by active monomer components of Epimedium mediate related signaling pathways, were retrieved.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Epimedium has small adverse reactions, accelerates the proliferation and differentiation of osteoblasts, and directly inhibits the bone resorption of osteoclasts. Therefore, it has broad prospects in the prevention and treatment of osteoporosis. The total flavonoids of Epimedium and its active monomer components may play anti-osteoporosis effects through the regulation of bone metabolism via multi-channels and multiple levels such as endocrine hormones, protein, molecular biology, and genetics. Compared with other epimedium flavonoids, icaraside II has better solubility and permeability. It may be another kind of Epimedium flavonoids with anti-osteoporosis effect. Currently, there are numerous studies about Epimedium regulating the main target genes of Wnt/ $\beta$ -catenin, mitogen-activated protein kinases, osteoprotegerin/receptor activator for nuclear factor- $\kappa$ B ligand/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, bone morphogenetic protein/Runt-related transcription factor 2/osterix, and Notch signaling pathways. However, further explorations are required on the secondary target genes and synergistic effects between signaling pathways.

**Key words:** Epimedium; osteoporosis; bone cell; monomer component; osteoblast differentiation; cell proliferation; signaling pathway; review

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81760796 and 81960803 (both to XZY [project participant]); Guangxi Natural Science Foundation for the Youth, No. 2020GXNSFBA159053 (to XZY); Young Teachers' Basic Ability Improvement Project of Guangxi Universities, No. 2019KY0352 (to XZY); Guangxi Innovation Projects for Graduate Education, No. YCBXJ2021019 (to XT) and YCSW2021219 (to XT [project participant])

**How to cite this article:** LI SB, XIA T, ZHANG XY, WANG WW, ZHOU Y, LAI Y. Active monomer composition of Epimedium influences the homeostasis of bone resorption and bone formation by regulating osteoporosis related signaling pathways. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2022;26(11):1772-1779.

## 0 引言 Introduction

骨质疏松症 (osteoporosis) 是一种以骨量丢失、骨密度下降、骨微结构破坏导致的骨骼脆性增加从而易引发骨折的复杂疾病<sup>[1]</sup>，随着中国老龄化的日益加剧，其发病率在显著增加。据流行病学研究报道，2016 年中国 60 岁以上老年人骨质疏松患病率高达 36%，预计到 2050 年约有 599 万例患者因骨质疏松而发生骨折，医疗费用超出 1 745 亿元，将给个人、家庭及社会带来巨大的负担<sup>[2]</sup>。目前临床上治疗骨质疏松症的西药主要有甲状旁腺激素、维生素 D 等促骨形成药以及降钙素、双膦酸盐等抑制骨吸收药物，但是此类药物均具有一定的不良反应，因此研究出高效且安全的药物是目前抗骨质疏松治疗的重中之重<sup>[3-5]</sup>。

中医认为骨质疏松症属于“骨痿”范畴，《素问》中“肾主骨，肾精充足则骨坚，若肾气不足则骨痿”。肾精亏虚，则脏腑四肢失于濡养，同时气不足不能行血，故瘀血阻滞，中医认为肾虚血瘀是骨质疏松发病的主要病因，因此具有补肾活血功效的淫羊藿、骨碎补等药物逐渐引起国内学者的关注。淫羊藿又名仙灵脾、铁打杵，《本草纲目》称：“其可益精气，强筋骨，利小便”。现代药理学研究表明，淫羊藿具有促进骨形成、改善骨代谢平衡、增加骨密度等作用<sup>[6]</sup>。而骨质疏松发生的实质为骨吸收与骨生成之间的相对平衡遭到破坏而导致的骨组织生理代谢异常<sup>[7]</sup>，因此维持破骨细胞和成骨细胞的相对稳定可确保骨的完整性和功能。随着对骨质疏松发病机制的深入探讨，目前发现淫羊藿通过介导 Wnt/ $\beta$ -catenin、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK)、骨保护素/核因子  $\kappa$ B 受体激活剂配体/核因子  $\kappa$ B 受体激活剂 (osteoprotegerin/receptor activator for nuclear factor- $\kappa$ B Ligand/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B, OPG/RANKL/RANK) 以及骨形态发生蛋白/Runt 相关转录因 2/OSX (bone morphogenetic protein/Runt-related transcription factor 2/osterix, BMP/RunX2/OSX)、Notch 等信号通路在抗骨质疏松方面发挥着重要作用，若能阐明淫羊藿各单体成分在维持骨吸收与骨形成稳态中的作用机制，将对今后骨质疏松的防治具有重要意义。目前已有的研究大多以基础实验或某一单体成分介导相关信号通路的综述为主，因此该文拟通过综述淫羊藿调控相关分子信号通路发挥抗骨质疏松的作用机制，揭示淫羊藿主要单体成分的药理活性作用。

## 1 资料和方法 Data and methods

### 1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2021 年 3 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 各数据库建库至 2021 年。

1.1.3 检索数据库 中国知网、PubMed、MEDLINE、万方、维普等数据库。

1.1.4 检索词 中文检索词：“淫羊藿、骨质疏松症、骨细胞、单体成分、成骨分化、细胞增殖、信号通路”；英文检索词：“Epimedium、Osteoporosis、Bone cell、Monomer component、Osteoblast differentiation、Cell proliferation、signaling pathway”，各中文检索词之间用逻辑词“并且、或者”进行组合，各英文检索词之间用逻辑词“AND、OR”进行组合。

1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述、病例报告、基础或临床研究等。

1.1.6 手工检索情况 手工检索《中国实验方剂学》《中国药理学通报》《中华中医药学刊》《中华中医药杂志》《中国骨质疏松杂志》《时珍国医国药》等影响因子较高的中文杂志，所有杂志均从创刊号检索至 2021 年，同时查阅相关文章所附的参考文献。

1.1.7 检索策略 PubMed 数据库及中文数据库检索策略，见图 1。

PubMed 数据库检索策略	中国知网检索策略
#1 Epimedium [Title/Abstract]	#1 淫羊藿 OR 淫羊藿素
#2 Icarin [Title/Abstract]	OR 淫羊藿次苷 OR 淫羊藿定 OR 宝藿苷 OR 淫羊藿总黄酮 OR 淫羊藿苷元
#3 Epimedium Folium [Title/Abstract]	#2 信号通路 OR Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路、MAPK 信号通路、OPG/RANKL/RANK 信号通路 OR Notch 信号通路 OR BMP/RunX2/OSX 信号通路
#4 Icariside [Title/Abstract]	#3 骨质疏松症 OR 老年骨质疏松性骨折
#5 Total flavonoids of Epimedium Folium [Title/Abstract]	#4 #1 AND #2 AND #3
#6 #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5	
#7 Signaling pathway [Title/Abstract]	
#8 Signal transduction [Title/Abstract]	
#9 #7 OR #8	
#10 Osteoporosis [Title/Abstract]	
#11 Elderly osteoporotic fractures [Title/Abstract]	
#12 #10 OR #11	
#13 #6 OR #9 OR #12	

图 1 | PubMed 数据库和中国知网检索策略

1.1.8 检索文献量 数据库初步检索出 1 643 篇中英文文献。

### 1.2 入选标准

**纳入标准:** ①有关淫羊藿防治骨质疏松症分子机制的研究；②有关淫羊藿调节相关信号通路表达促成骨细胞分化及骨形成治疗骨质疏松症的研究；③涉及淫羊藿活性单体成分抗骨质疏松药理作用的研究；

**排除标准:** ①年代久远无法获取有效结论的研究；②重复性研究；③研究内容与此次综述主题不一致的文献。

1.3 文献筛选流程 计算机初步检索到 1 643 篇相关文献，通过阅读标题筛选出 306 篇与此次研究内容相符文献，阅读剩余文

献摘要或全文剔除重复性研究、观点陈旧以及无法提供有效结论的文献，最终纳入 52 篇文献进行综述，文献检索流程，见图 2。

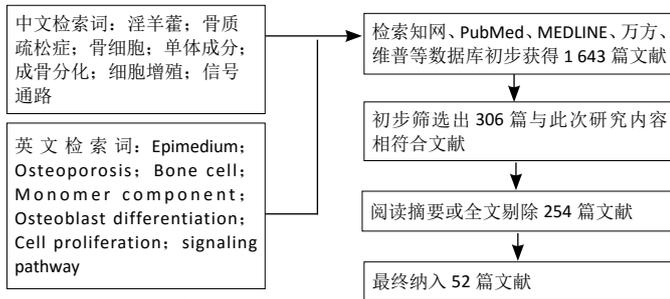


图 2 | 文献检索流程图

## 2 结果 Results

### 2.1 淫羊藿防治骨质疏松症相关动物实验开展情况的时间汇总 见表 1。

表 1 | 淫羊藿防治骨质疏松症相关动物实验汇总表

作者	发表时间	动物类型	研究方法
张金娟等 <sup>[8]</sup>	2010 年	KM 种雌性小鼠	切除双侧卵巢建立骨质疏松小鼠模型; 药物灌胃治疗
Li 等 <sup>[9]</sup>	2013 年	雌性小鼠	OPG 基因敲除
李晶等 <sup>[10]</sup>	2015 年	SPF 级雌性 SD 大鼠	切除双侧卵巢建立骨质疏松大鼠模型; 药物灌胃治疗
吴祖锋等 <sup>[11]</sup>	2016 年	SPF 级雌性 SD 大鼠	切除双侧卵巢建立骨质疏松大鼠模型; 药物灌胃治疗
孙闯等 <sup>[12]</sup>	2018 年	雌性 SD 大鼠	切除双侧卵巢建立骨质疏松大鼠模型; 药物灌胃治疗
HE 等 <sup>[13]</sup>	2018 年	雌性大鼠	构建后肢悬吊大鼠模型, 肌注淫羊藿苷
孙杰等 <sup>[14]</sup>	2019 年	雌性 SD 大鼠	切除双侧卵巢建立骨质疏松大鼠模型; 药物灌胃治疗
汪小飞等 <sup>[15]</sup>	2019 年	健康 SD 雄性大鼠	腹腔注射 D- 半乳糖建立骨质疏松大鼠模型, 药物灌胃治疗
徐众华等 <sup>[16]</sup>	2020 年	SPF 级雌性 SD 大鼠	切除双侧卵巢建立骨质疏松大鼠模型; 药物灌胃治疗

作者	结论
张金娟等 <sup>[8]</sup>	淫羊藿苷能提高股骨小梁的平均宽度以及骨皮质的厚度, 显著增加成骨细胞数量, 减少破骨细胞生成
Li 等 <sup>[9]</sup>	淫羊藿苷通过刺激 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路避免骨量及骨强度进一步下降
李晶等 <sup>[10]</sup>	淫羊藿总黄酮能增强 BMP-2 表达以加快成骨细胞增殖分化, 也可通过上调 OPG mRNA 的表达水平阻止破骨细胞成熟分化
吴祖锋等 <sup>[11]</sup>	淫羊藿苷可显著提升 OPG mRNA 的表达水平, 抑制 RANKL/RANK 的活性, 并上调血清中碱性磷酸酶、骨钙素的表达以阻止成骨细胞凋亡
孙闯等 <sup>[12]</sup>	淫羊藿定通过调 OPG/RANKL/RANK 系统促进成骨细胞增殖分化, 显著改善骨质疏松小鼠骨密度
HE 等 <sup>[13]</sup>	淫羊藿苷通过增加 OPG/RANKL、碱性磷酸酶的活性下调 TRACP-5b 的表达来维持骨形成与骨吸收的稳态
孙杰等 <sup>[14]</sup>	淫羊藿提取物能增强 OPG、Notch1 的表达, 抑制 RANKL, 最终发挥加快骨形成、提高骨密度的作用
汪小飞等 <sup>[15]</sup>	淫羊藿总黄酮通过提高 Notch1 及 Smad4 蛋白的表达, 抑制 Smad7 的活性, 从而改善骨质疏松大鼠的骨代谢, 提高骨密度
徐众华等 <sup>[16]</sup>	淫羊藿总黄酮通过上调 BMP/RunX2/OSX 信号通路的表达来提升骨质疏松大鼠骨骼的骨密度, 降低 $Ca^{2+}$ 的丢失, 加快骨形成

表注: BMP 为骨形态发生蛋白; OPG: 骨保护素; RANKL: 核因子  $\kappa$ B 受体激活剂配体; RANK: 核因子  $\kappa$ B 受体激活剂; RunX2: Runt 相关转录因 2

### 2.2 淫羊藿防治骨质疏松症相关细胞实验开展情况的时间汇总 见表 2。

#### 2.3 淫羊藿抗骨质疏松症的活性单体成分

○ 淫羊藿苷	○ 淫羊藿次苷
○ 淫羊藿素	○ 淫羊藿定

淫羊藿中含有淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖、生物碱、绿原酸等营养成分及其他生物活性成分。而根据研究表明, 无论是淫羊藿总黄酮, 还是各黄酮单体成分均具有抗骨质疏松的作用。其中, 关于淫羊藿抗骨质疏松的研究主要集中在淫羊藿苷、淫羊藿素、淫羊藿次苷这 3 种活性单体上, 已被证实具有促进成骨细胞增殖分化的作用。但是关于淫羊藿苷的研究较其他单体明显要多, 这可能与淫羊藿苷是淫羊藿中的主要活性成分有关。而对于淫羊藿定、淫羊藿多糖和其他微量元素, 因受到分离、纯化的制约, 难以获取足量化合物以供生物活性评价, 大多数学者只开展了相关实验验证, 其作用机制还需更深层次的探究, 见表 3。

**2.3.1 淫羊藿苷** 淫羊藿苷是淫羊藿茎叶中一种具有广泛药理学活性的黄酮类化合物, 已被众多研究证实其在人体骨骼系统中发挥着重要的作用, 其能够增强成骨活性, 有效抑制成骨细胞的凋亡。而成熟的成骨细胞能生成一种抑制破骨细胞吸收或破坏人体健康骨质作用的细胞因子, 并促使破骨细胞凋亡, 从而发挥抗骨质疏松的作用<sup>[34]</sup>。此外淫羊藿苷还能通过减少脂质形成、减少细胞中三酰甘油水平来抑制成脂转录因子以及提高子结合蛋白基因的表达来阻止成脂分化, 最终增强成骨活性<sup>[35]</sup>。

有学者指出淫羊藿苷及其人肠内菌的代产物如淫羊藿苷元、宝藿苷 I 等能够促进机体分泌一种有利于成骨细胞生长的因子来减少肿瘤坏死因子  $\alpha$  及白细胞介素 8 等的生成, 从而加快成骨细胞成熟分化<sup>[17]</sup>。同样, 在去卵巢大鼠造模实验中发现淫羊藿苷能够提高股骨小梁的平均宽度以及骨皮质的厚度, 同时显著增加成骨细胞数量, 减少破骨细胞生成<sup>[8]</sup>。竺巍伟等<sup>[24]</sup>在研究中发现使用淫羊藿苷可有效增强成骨细胞中骨形态发生蛋白 2、Runt 相关转录因 2 mRNA 的表达, 明显提高成骨活性。此外, 也有学者发现淫羊藿苷可通过抑制活性氧及丙二醛来提高超氧化物歧化酶的表达, 并阻滞细胞周期及凋亡, 同时刺激成骨细胞特异性转录因子 OSX、骨形态发生蛋白 2 基因的表达来保护成骨细胞增殖分化<sup>[21]</sup>。目前淫羊藿苷被认为是淫羊藿中最主要的活性成分, 随着人们对其抗骨质疏松作用机制研究的深入, 淫羊藿苷在细胞因子及信号通路方面促进成骨细胞的内在机制逐渐被揭示, 这将对今后骨质疏松的防治有重要意义。

**2.3.2 淫羊藿次苷** 淫羊藿次苷包括淫羊藿次苷 I 和淫羊藿次苷 II, 是淫羊藿中另一主要活性成分, 近年来众多研究证实了其抗氧化及加快细胞增殖分化的作用。目前发现淫羊藿次苷 II 可增强诱导型一氧化氮合酶的表达, 并加快一氧化氮的释放, 从而有效提高骨髓间充质干细胞成骨分化的作用<sup>[36]</sup>。同时机体活性氧自由基长期积累时会对成骨细胞产生抑制作用, 甚至诱导其凋亡, 而淫羊藿次苷 II 有较强的抗氧化作用, 其在清除 DPPH 自由基、抑制脂质过氧化等方面效果显著<sup>[37]</sup>。

贺龙刚等<sup>[29]</sup>在实验中发现淫羊藿次苷 I 及淫羊藿次苷 II 在体外皆可可通过介导 AP-1/NFATc1 信号通路从而发挥减少破骨细胞增殖的作用, 且淫羊藿次苷 II 效果更为明显。同样, 訾慧等<sup>[32]</sup>在大鼠实验中证实了淫羊藿次苷 I 及淫羊藿次苷 II 在体外可增强 BMP/RunX2/OSX 信号通路相关基因的活性, 并通过提高骨形态发生蛋白 2 的表达水平进一步调控下游成骨细胞特异性转录因子的转录表达, 从而显著提高骨髓间充质干细胞的成骨活性。值得注意的是, 淫羊藿次苷虽是由淫羊藿苷代谢所产生, 但是有学者在研究中发现淫羊藿次苷 II 可有效增强碱性磷酸酶的表达, 使骨钙素分泌量、钙化结节等增多, 从而显著增强成骨性分化因子及 Runt 相关转录因 2 的表达, 其促进成骨的作用较淫羊藿苷要更显著<sup>[18]</sup>。经研究, 目前认为淫羊藿次苷活性增强的原因可能与其脱去了 7 位碳上的葡萄糖残基有关, 然而还需要进行更深层次的研究。

表 2 | 淫羊藿防治骨质疏松症相关细胞实验汇总

作者	发表时间	细胞类型	研究方法	结论
刘铁汉等 <sup>[17]</sup>	2000 年	THP-1 细胞	放射免疫测定方法 (RIA)	淫羊藿苷及其肠菌代谢产物能减少肿瘤坏死因子 α 及白细胞介素 8 等的生成, 从而加快成骨细胞成熟分化
翟远坤等 <sup>[18]</sup>	2010 年	大鼠骨髓间充质干细胞	贴壁筛选法体外培养, 给予淫羊藿苷、淫羊藿次苷进行干预	淫羊藿次苷 II 促进成骨的作用较淫羊藿苷要更显著
毛颖颖等 <sup>[19]</sup>	2012 年	小鼠间充质细胞株 C3H10T1/2	体外培养, 给予不同浓度淫羊藿苷联合成骨诱导液干预	淫羊藿苷通过介导 p38 发挥抑制 ERK 的作用, 从而加快间充质干细胞株 C3H10T1/2 向成骨细胞分化
SHENG 等 <sup>[20]</sup>	2013 年	成年小鼠骨髓间充质干细胞	体外培养, 给予淫羊藿干预	淫羊藿素对过氧化物酶体增殖物激活受体 γ、低密度脂蛋白以及 ap2 等起到抑制作用, 有效降低脂肪样细胞的生成
MA 等 <sup>[21]</sup>	2014 年	大鼠颅骨成骨细胞	构建缺氧环境, 培养大鼠颅骨成骨细胞	淫羊藿苷可提高超氧化物歧化酶的表达, 阻滞细胞周期及凋亡, 刺激 OSX、BMP-2 的表达来保护成骨细胞增殖分化
曾建春等 <sup>[22]</sup>	2014 年	人骨髓间充质干细胞	采用密度梯度离心法获得人骨髓间充质干细胞, 采用含淫羊藿甙诱导液诱导其向成骨细胞分化	淫羊藿苷可通过 Wnt3a/β-catenin 信号通路来增强骨髓间充质干细胞的成骨活性, 且显著提升骨密度及骨质量
LIU 等 <sup>[23]</sup>	2014 年	小鼠前破骨细胞株 RAW264.7 细胞	培养于含体积分数 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的 DMEM 液中	淫羊藿次苷 II 对前破骨细胞的抑制作用能够被淫羊藿素所协同
笪巍伟等 <sup>[24]</sup>	2015 年	前成骨细胞株 OCT-1 细胞	采用不同浓度淫羊藿苷进行干预	细胞外基质的异常重塑与肿瘤的发生、发展密切相关; Periostin 可能是抗骨髓瘤药物开发的靶点
王朝鹏等 <sup>[25]</sup>	2016 年	前体成骨细胞株	使用不同浓度的淫羊藿素进行干预	淫羊藿素能通过 ERK1/2 以及 p38 MAPK 信号通路加快前体成骨细胞株 MC3T3-E1Subclone14 的成骨活性
王想福等 <sup>[26]</sup>	2017 年	人破骨细胞	应用类黄酮对细胞进行处理	淫羊藿黄酮类化合物可通过下调 c-Fos 蛋白表达水平从而抑制破骨细胞增殖分化
许静等 <sup>[27]</sup>	2017 年	SD 大鼠骨髓间充质干细胞	全骨髓细胞贴壁法分离纯化 SD 大鼠骨髓间充质干细胞做原代培养	淫羊藿定 A、淫羊藿定 B、淫羊藿定 C 均能促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化, 且淫羊藿定 C 作用更为明显
LIM 等 <sup>[28]</sup>	2017 年	人成骨细胞	淫羊藿治疗	淫羊藿素可加快 Stat3 磷酸化, 从而提高趋化因子受体 4 的表达水平, 最终增强成骨活性
贺龙刚等 <sup>[29]</sup>	2017 年	RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞株	体外培养, 给予淫羊藿次苷	淫羊藿次苷在体外可通过介导 AP-1/NFATc1 信号通路从而发挥减少破骨细胞增殖的作用
WANG 等 <sup>[30]</sup>	2018 年	大鼠下颌骨成骨细胞株	体外培养, 给予淫羊藿苷干预	淫羊藿苷在激活 Wnt 信号通路后有效增强碱性磷酸酶、Runx2 以及 cyclinD 1 的活性, 促使成骨细胞增殖分化。
KIM 等 <sup>[31]</sup>	2018 年	小鼠破骨细胞	TRAP 染色和活性测定法	淫羊藿苷可通过调节 OPG/RANKL/RANK 信号通路以及 RANKL 介导的 TRAF6/NF-κB/ERK 信号通路来抑制破骨细胞的表达活性
晷慧等 <sup>[32]</sup>	2019 年	大鼠骨髓间充质干细胞	贴壁筛选法体外培养, 给予淫羊藿次苷	淫羊藿次苷可增 BMP/RunX2/OSX 信号通路相关基因的活性, 通过调控 BMP-2、OSX 的表达, 增强骨髓间充质干细胞的成骨活性。
晷慧等 <sup>[33]</sup>	2020 年	大鼠骨髓间充质干细胞	贴壁筛选法体外培养	淫羊藿素上调 BMP-2、BMP-9 的表达以启动 BMP/Smads/RunX2/OSX 信号传导, 最终增强骨髓间充质干细胞的成骨活性

表注: BMP 为骨形态发生蛋白; OPG: 骨保护素; RANKL: 核因子 κB 受体激活剂配体; RANK: 核因子 κB 受体激活剂; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; RunX2: Runt 相关转录因 2

表 3 | 淫羊藿活性单体成分对骨质疏松症相关信号通路的调控作用

有效成分	分类	成分组成	作用机制	相关信号通路
淫羊藿总黄酮	黄酮类	淫羊藿苷、淫羊藿次苷、淫羊藿定 A、淫羊藿定 B、淫羊藿定 C 等	(1) 下调 c-Fos 蛋白水平表达从而抑制破骨细胞增殖分化, 以达到遏制骨吸收的作用; (2) 增强 BMP-2 的表达以加快成骨细胞增殖分化, 同时上调 OPG mRNA 的活性来加快 OPG mRNA 与 OPG 配体相结合, 抑制破骨细胞成熟分化; (3) 上调 I 型胶原以及骨桥蛋白的表达, 促使骨髓间充质干细胞成骨分化	OPG/RANKL/RANK、Notch、BMP/RunX2/OSX、MAPK 等信号通路
淫羊藿苷	黄酮类	淫羊藿苷元	(1) 减少肿瘤坏死因子 α、白细胞介素 8 等的生成, 加快成骨细胞成熟分化; (2) 增强成骨细胞中 BMP-2、RunX2 mRNA 的表达, 提高成骨活性; (3) 增强碱性磷酸酶、RunX2 以及 cyclinD 1 的活性, 显著促使成骨细胞增殖分化	Wnt/β-catenin、MAPK、Notch 信号通路等
淫羊藿素	黄酮类	黄酮苷元	(1) 加快 Stat3 磷酸化, 提高趋化因子受体 4 的表达水平, 最终增强成骨活性; (2) 对过氧化物酶体增殖物激活受体 γ、低密度脂蛋白以及 ap2 等起到抑制作用, 有效降低脂肪样细胞的生成; (3) 上调 BMP-2、BMP-9 的表达, 调控 RunX2、OSX 等靶基因的活性, 最终增强骨髓间充质干细胞的成骨活性	BMP/RunX2/OSX、MAPK 等信号通路
淫羊藿次苷	黄酮类	淫羊藿次苷 I、淫羊藿次苷 II	(1) 提高 BMP-2 的表达水平, 调控下游 OSX 的表达, 从而显著提高使骨髓间充质干细胞的成骨活性; (2) 增强碱性磷酸酶的表达、使骨钙素分泌量、钙化结节等增多, 从而显著增强成骨性分化因子及 RunX2 基因的表达; (3) 通过调控 p38 MAPK 信号通路上调成骨细胞 OPG 的表达, 进而促进成骨细胞的分化	BMP/RunX2/OSX、MAPK 信号通路等
淫羊藿定	黄酮类	淫羊藿定 A、淫羊藿定 B、淫羊藿定 C	加快骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化, 抑制其成脂分化, 有效提高成骨细胞 OPG/RANKL 表达水平以发挥骨保护功能	OPG/RANKL/RANK 信号通路等
淫羊藿多糖	糖类	由多个单糖分子聚合而成	(1) 提高骨髓细胞增殖率与 DNA 合成率; (2) 能促进骨髓间充质干细胞骨细胞的生长并呈剂量依赖性	

表注: BMP 为骨形态发生蛋白; OPG: 骨保护素; RANKL: 核因子 κB 受体激活剂配体; RANK: 核因子 κB 受体激活剂; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; RunX2: Runt 相关转录因 2

**2.3.3 淫羊藿素** 淫羊藿素属于黄酮类化合物，其生物活性同样广泛。近年来越来越多药理机制的研究围绕其骨保护及抗肿瘤作用展开。目前发现其通过降低肿瘤坏死因子受体相关因子6 (TNF receptor associated factor, TRAF6) 的水平来下调核因子 $\kappa$ B及活性氧信号通路的表达，发挥抑制NFATc1的活性以达到抗骨质疏松的目的<sup>[38]</sup>。此外，人们还发现淫羊藿素通过直接增强骨形态发生蛋白的活性来刺激骨髓间充质干细胞及人脂肪组织干细胞在体外向成骨分化。这些发现都为淫羊藿素能够防治骨质疏松及脆性骨折提供了强有力的证据<sup>[39]</sup>。

在大鼠造模实验中发现，预先服用淫羊藿素能够明显加快骨形成，促进骨质疏松大鼠骨松质、骨小梁结构的恢复<sup>[40]</sup>。LIM等<sup>[28]</sup>在实验中表明淫羊藿素可加快Stat3磷酸化，从而提高趋化因子受体4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4)的表达水平，最终达到增强成骨活性的作用。同样，有实验证实了淫羊藿素不仅能够加快成骨分化，且有效阻止了成脂分化。在体外实验中，学者发现淫羊藿素在加快成骨细胞增殖分化的同时也在对过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 、低密度脂蛋白以及ap2等起到抑制作用，有效降低脂肪样细胞的生成，从而发挥抗骨质疏松的作用<sup>[20]</sup>。而据最近的研究表明，淫羊藿次苷II和淫羊藿素都有阻止破骨细胞生成的作用<sup>[23]</sup>，有意思的是前者对前破骨细胞的抑制作用能够被淫羊藿素所协同，这从侧面证明淫羊藿中不同单体成分能协同作用以达到抗骨质疏松的目的。

**2.3.4 淫羊藿定** 淫羊藿定A、淫羊藿定B、淫羊藿定C同样作为淫羊藿中主要黄酮类化合物，已被证实不仅具有增加细胞基质钙的作用，也能加快体外培养的成骨细胞增殖分化<sup>[41]</sup>。在脊椎动物骨骼发育成形的过程中，OPG/RANKL/RANK系统始终发挥着维持动态平衡的作用。当骨保护素的表达水平高于核因子 $\kappa$ B受体激活剂配体时，体内破骨细胞活性受到抑制，成骨细胞形成活跃，则骨量增加；反之骨量减少，最终造成骨质疏松，因此该系统对于调节骨代谢稳态，防治骨质疏松具有重要意义<sup>[42]</sup>。

孙闯等<sup>[12]</sup>在研究中发现淫羊藿定可提高骨组织中骨保护素mRNA的表达，从而显著改善骨质疏松大鼠股骨干骺端骨密度，说明淫羊藿定通过调控OPG/RANKL/RANK系统促进成骨细胞增殖分化，以达到抗骨质疏松的作用。此外越来越多研究发现淫羊藿定能促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化。刘颖等<sup>[43]</sup>取正常小鼠骨髓间充质干细胞体外培养，分别加入不同剂量淫羊藿定A，应用ELISA技术观察淫羊藿定A对小鼠骨髓间充质干细胞的影响，结果发现淫羊藿定A可加快骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化，抑制其成脂分化，有效提高成骨细胞OPG/RANKL表达水平以发挥骨保护功能。同样许静等<sup>[27]</sup>分离纯化SD大鼠骨髓间充质干细胞，加入淫羊藿黄酮类主要成分进行干预，他们发现淫羊藿定A、淫羊藿定B、淫羊藿定C均能促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化，且淫羊藿定C作用更为明显。

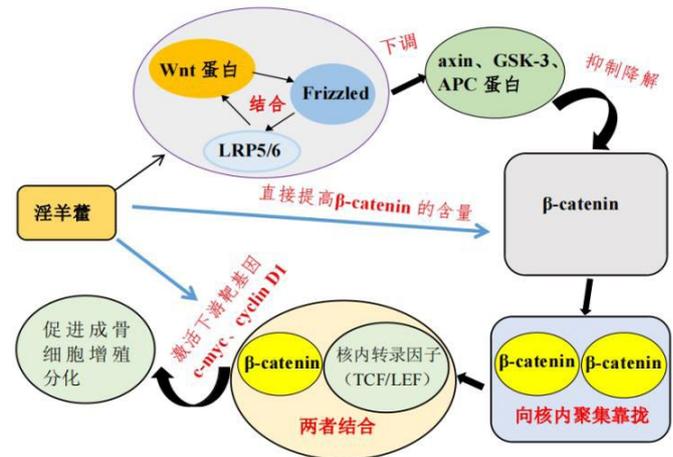
**2.4 淫羊藿调控分子信号通路抗骨质疏松症的作用机制** 在骨形成与骨吸收的过程中有多条信号通路参与其中。

- Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路
- MAPK 信号通路
- OPG/RANKL/RANK 信号通路
- BMP/RunX2/OSX 信号通路
- Notch 信号通路

根据实验表明，目前发现淫羊藿主要通过干预Wnt/ $\beta$ -catenin、MAPK、OPG/RANKL/RANK以及BMP/RunX2/OSX、Notch等通路来促进骨形成、增加骨密度，维持骨代谢平衡以发挥抗骨质疏松的作用，见表3。

**2.4.1 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路** Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路目前被认为是Wnt信号通路传导途径中最经典的通路，其通过加快成骨细胞增殖分化、抑制成骨细胞凋亡等有效促进骨量增加，已被证实抗骨质疏松方面发挥着重要的作用。

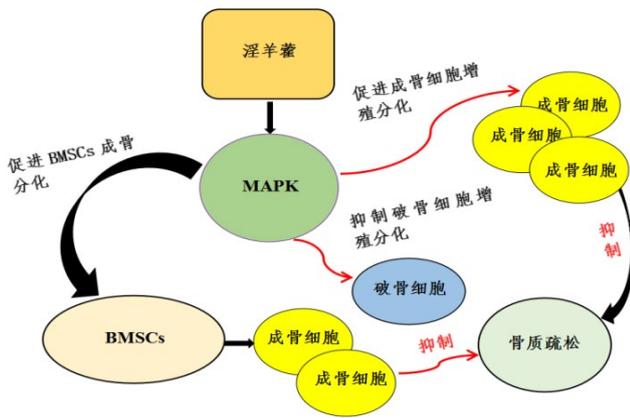
Wnt蛋白首先与细胞膜卷曲受体(Frizzled)以及低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6相结合以激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路，接下来下调axin、GSK-3及APC蛋白的表达以保护 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)免受降解，使其在细胞质内保持稳定水平，并最终与核内转录因子如T细胞因子/淋巴增强因子等相结合以达到加快下游c-myc、cyclin D1等靶基因表达的作用，从而促进细胞增殖分化并防治其凋亡。而随着人们对淫羊藿研究的不断深入，发现其众多药效成分均能干预Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路，促进成骨细胞增殖分化从而有效维持骨代谢平衡，最终发挥抗骨质疏松的作用，见图3。



图注：Frizzled为细胞膜卷曲受体；LRP5/6：低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6； $\beta$ -catenin： $\beta$ 连环蛋白；TCF/LEF：T细胞因子/淋巴增强因子  
图3 | 淫羊藿介导经典Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路防治骨质疏松作用机制图

WANG等<sup>[30]</sup>发现淫羊藿苷在激活Wnt信号通路后有效增强了碱性磷酸酶、Runt相关转录因子2以及cyclinD1的活性，显著促使成骨细胞增殖分化。同样，LI等<sup>[9]</sup>在实验中发现，淫羊藿苷通过刺激Wnt/ $\beta$ -catenin通路显著改善了小鼠颅骨的骨吸收情况，避免了骨量及骨强度进一步下降，从而维持小鼠体内的骨代谢以达到抗骨质疏松的目的。曾建春等<sup>[22]</sup>也证实了淫羊藿苷可通过Wnt3a/ $\beta$ -catenin信号通路来增强间充质干细胞的成骨活性，且显著提升骨密度及骨质量，最终起到抗骨质疏松的作用。由此可见淫羊藿通过Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在促进骨形成及维持骨代谢方面至关重要。

**2.4.2 MAPK信号通路** MAPK是一种具有磷酸化功能的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，主要由细胞外信号调节激酶(extracellular Regulated Protein Kinases, ERK)、p38以及c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase JNK)3种激酶组成。细胞外信号调节激酶1/2信号可通过激活细胞生长因子的表达，在骨细胞形成的过程中发挥着关键作用。p38也被证实是成骨分化过程中的重要媒介，调控p38将有助于骨髓间充质干细胞成骨分化<sup>[44]</sup>；而c-Jun氨基末端激酶对人骨膜细胞成骨活性的大小至关重要<sup>[45]</sup>，总之MAPK信号通路在骨细胞的形成、发育以及凋亡过程中起着重要的作用。目前发现MAPK信号通路在淫羊藿苷的刺激下将促使成骨细胞增殖分化，抑制破骨细胞生成，同时促进骨髓间充质干细胞成骨分化，维持骨形成及骨吸收过程的稳态，并最终达到抗骨质疏松的作用<sup>[46]</sup>，见图4。



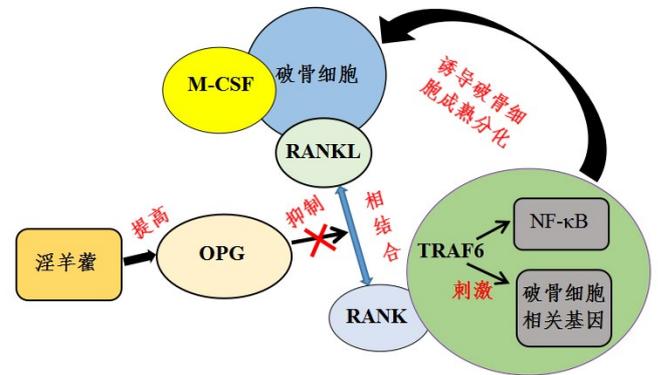
图注：MAPK 为丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶；BMSCs：骨髓间充质干细胞

图 4 | 淫羊藿介导 MAPK 信号通路防治骨质疏松作用机制图

龚一昕等<sup>[47]</sup>在探究淫羊藿次苷 II 抗骨质疏松作用机制的实验中，淫羊藿次苷 II 通过介导 p38 MAPK 信号通路的表达从而促进成骨细胞骨保护素的活性，最终促使成骨细胞分化。王想福等<sup>[26]</sup>在实验中发现淫羊藿黄酮类化合物可通过下调 p38 MAPK 通路中 c-Fos 蛋白水平表达从而抑制破骨细胞增殖分化，以达到遏制骨吸收的作用。同样，王朝鹏<sup>[25]</sup>在其研究中发现当细胞外信号调节激酶 1/2 以及 p38 MAPK 信号通路被阻断后，淫羊藿素增强碱性磷酸酶以及骨桥蛋白活性的作用将明显减弱，这表明淫羊藿素能够通过细胞外信号调节激酶 1/2 以及 p38 MAPK 信号通路加快前体成骨细胞株 MC3T3-E1Subclone14 的成骨活性。毛项颖等<sup>[19]</sup>在研究中也证实了淫羊藿苷可通过介导 MAPK 信号通路上的 p38，发挥抑制细胞外信号调节激酶的作用，并最终加快间充质干细胞株 C3H10T1/2 向成骨细胞分化。因此，以淫羊藿介导 MAPK 信号通路可能是治疗骨质疏松的靶点之一，但仍需要更多研究进一步证实。

**2.4.3 OPG/RANKL/RANK 信号通路** 破骨细胞的存活主要与巨噬细胞刺激集落因子及核因子 κB 受体激活剂配体有关。目前发现当巨噬细胞刺激集落因子增加破骨前体细胞池后，核因子 κB 受体激活剂配体将与核因子 κB 受体激活剂发生结合，启动细胞内信号传导，并且与肿瘤坏死因子受体相关因子 6 发生协同作用，而肿瘤坏死因子受体相关因子 6 会进一步刺激核因子 κB 等信号传导途径诱导破骨细胞成熟分化。因此抑制核因子 κB 受体激活剂与核因子 κB 受体激活剂配体特异性结合是有效降低破骨细胞活性的方法之一。

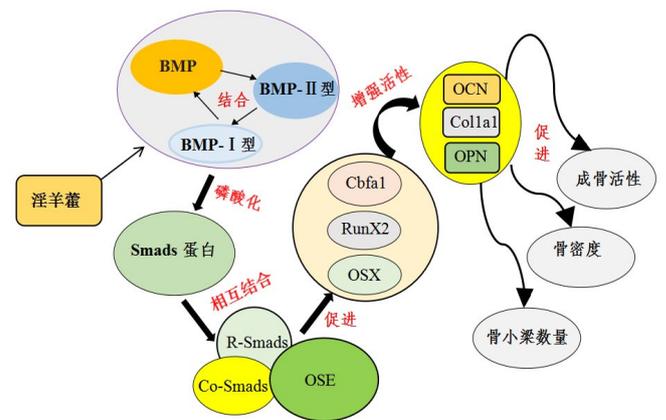
在最近的实验中表明，淫羊藿苷可通过调节 OPG/RANKL/RANK 信号通路来减少破骨细胞的生成，亦可通过调节核因子 κB 受体激活剂配体介导的 TRAF6/NF-κB/ERK 信号通路来抑制破骨细胞的表达活性<sup>[31]</sup>。同时 HE 等<sup>[13]</sup>在研究中证实了淫羊藿苷能通过增强 OPG/RANKL、碱性磷酸酶的活性下调 TRACP-5b 等骨吸收标志物的表达来减少骨吸收，促使成骨分化，以达到维持骨形成与骨吸收的稳定。吴祖锋等<sup>[11]</sup>发现淫羊藿苷可显著提升骨保护素蛋白的表达水平，从而有效抑制 RANKL/RANK 的活性，并上调血清中碱性磷酸酶、骨钙素的表达以阻止成骨细胞凋亡的进程。李晶等<sup>[10]</sup>也在实验中发现淫羊藿总黄酮不仅能增强骨形态发生蛋白 2 的表达以加快成骨细胞增殖分化，也可通过上调骨保护素蛋白的活性来加快骨保护素蛋白与骨保护素配体相结合，从而发挥抑制核因子 κB 受体激活剂配体、阻止破骨细胞成熟分化的作用，见图 5。



图注：M-CSF 为巨噬细胞刺激集落因子；OPG：骨保护素；NF-κB：核因子 κB；RANK：核因子 κB 受体激活剂；RANKL：核因子 κB 受体激活剂配体；TRAF6：肿瘤坏死因子受体相关因子 6

图 5 | 淫羊藿介导 OPG/RANKL/RANK 信号通路防治骨质疏松作用机制图

**2.4.4 BMP/RunX2/OSX 信号通路** 目前发现由骨形态发生蛋白、Runt 相关转录因 2 以及成骨细胞特异性转录因子组成的 BMP/RunX2/OSX 信号通路参与调控成骨细胞增殖分化，在骨形成过程中发挥着重要的作用<sup>[48]</sup>。骨形态发生蛋白作为转化生长因子超家族成员之一，其与异二聚体受体如 BMP- I 型、II 型等发生特异性结合，促使 Smads 蛋白磷酸化，进一步加快 R-Smads 与 Co-Smads 蛋白在核内与 OSE 序列结合，从而调控 Cbfa1/RunX2 以及下游成骨细胞特异性转录因子基因的表达，上调骨钙素、骨桥蛋白、Col1a1 等成骨细胞标志物的活性，促使膜内、软骨内骨化成骨，进而提高骨密度、骨小梁数量等以达到抗骨质疏松的作用，见图 6。



图注：BMP 为骨形态发生蛋白；OSX：成骨细胞特异性转录因子；OCN：骨钙素；OPN：骨桥蛋白；RunX2：Runt 相关转录因 2

图 6 | 淫羊藿介导 BMP/RunX2/OSX 信号通路防治骨质疏松作用机制图

徐众华等<sup>[16]</sup>在其研究中发现淫羊藿总黄酮能通过上调 BMP/RunX2/OSX 信号通路的表达来提升绝经后骨质疏松模型大鼠骨骼的骨密度，且降低了 Ca<sup>2+</sup> 的丢失，加快骨形成，有效延缓骨质疏松的进一步发展。此外许慧等<sup>[33]</sup>在实验中证实了淫羊藿素通过上调骨形态发生蛋白 2、骨形态发生蛋白 9 的表达水平以启动 BMP/Smads/RunX2/OSX 信号传导，进而调控 Runt 相关转录因 2、成骨细胞特异性转录因子等靶基因的活性，最终增强骨髓间充质干细胞的成骨活性。梁广胜等<sup>[49]</sup>在研究中使用淫羊藿总黄酮对大鼠进行干预，他发现大鼠体内 I 型胶原以及骨桥蛋白的表达明显上调，且钙结节密度也较前明显增大，这说

明淫羊藿总黄酮能通过 BMP-2/RunX2/OSX 信号通路促使骨髓间充质干细胞成骨分化。

**2.4.5 Notch 信号通路** Notch 信号通路主要由 Notch 受体及其配体 (CSL 与 DSL 蛋白)、Notch 调节因子及下游 Hes、Hey 等构成, 在细胞增殖、分化以及凋亡等一系列发育过程中起着重要的调控作用。该通路的激活不需要胞内第二信使的参与, 当 Notch 受体与其配体相结合后会在跨膜区胞外端经受 3 次切割裂解, 生成 NICD 并使之与核内 CSL 蛋白特异性结合, 并最终与 DNA 形成多蛋白-DNA 复合物, 激活成骨细胞与破骨细胞相关基因的表达<sup>[50]</sup>。

目前发现该信号通路在成骨细胞分化中扮演着双向调节作用<sup>[51]</sup>, 即 Notch 信号通路的转导活化在早期成骨分化中起促进成骨的作用, 在后期则会抑制成骨细胞的增殖、分化, 但淫羊藿通过 Notch 信号通路促进成骨分化这一观点已被普遍认可。邓宇等<sup>[52]</sup>发现淫羊藿苷不仅能上调 Hes1、Runt 相关转录因子 2 的表达活性, 且显著提高 CBF1、Notch1 以及 Jagged-1 蛋白的表达来促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化。孙杰等<sup>[14]</sup>在实验中发现淫羊藿提取物能下调碱性磷酸酶的水平, 并增强 Notch1 以及骨保护素的表达活性, 对核因子  $\kappa$ B 受体激活剂配体起到抑制作用, 最终发挥加快骨形成、提高骨密度的作用。同样汪小飞等<sup>[15]</sup>也证实了淫羊藿总黄酮通过提高 Notch1 及 Smad4 蛋白的表达水平, 抑制 Smad7 蛋白的活性, 从而改善老年骨质疏松大鼠的骨代谢, 提高骨密度。总之 Notch 信号通路与骨代谢疾病密切相关, 其在骨骼发育中发挥着重要作用。但目前国内外相关研究不多, 期待未来的研究将致力于剖析这一复杂的调控机制, 以揭示淫羊藿介导 Notch 信号通路发挥抗骨质疏松作用的确切机制。

### 3 总结与展望 Conclusions and prospects

骨质疏松症严重影响中老年人群的生活质量及生存时间, 而随着全球老龄化的日益加剧, 骨质疏松患者在显著增多, 已成为一个亟需解决的公共健康问题。现阶段, 临床上主要应用双膦酸盐类、骨化三醇以及降钙素等西药来改善骨质疏松患者的骨质情况。各种药物之间的作用机制不同, 但都是以抑制破骨细胞介导的骨吸收为主要目的, 以此达到治疗骨质疏松的作用, 然而效果难以令人满意, 因此深入骨质疏松发病机制的研究以及开展抗骨质疏松新型药物的研发变得尤为重要。近年来祖国传统中医在抗骨质疏松方面取得令人满意的效果, 尤其是淫羊藿、骨碎补、杜仲等具有补肾活血功效的中药, 已广泛引起国内学者的关注。

随着对淫羊藿抗骨质疏松作用机制的深入研究, 目前已有大量实验证实了淫羊藿在维持骨形成与骨吸收稳态中的重要性, 但关于淫羊藿活性单体成分介导相关信号通路、生物标记物等防治骨质疏松的研究较为零散, 虽有相应的系统综述, 但多集中在某个活性单体上, 研究面较窄。该文涉及内容较为广泛, 系统阐述了淫羊藿主要活性单体成分以及调控分子信号通路抗骨质疏松的作用机制, 同时还从相关文献中总结出仍需深入探讨的问题, 以期提供新的研究角度。但此次综述也存在相应的局限性, 目前关于淫羊藿定、淫羊藿多糖的研究较少, 这可能与分离、纯化难度较高, 难以获取足量化合物以供生物活性评价有关, 文章对淫羊藿定部分阐述较为简单, 且未系统综述淫羊藿多糖的作用机制。总之, 通过对淫羊藿抗骨质疏松分子机制的综述后, 可以发现淫羊藿多种单体成分均可对骨质疏松起到防治作用, 并且各活

性单体可协同作用以达到抗骨质疏松的目的, 然而这还需要更多实验予以证实。同样, 淫羊藿各单体成分可通过调控 Wnt/ $\beta$ -catenin、MAPK、OPG/RANKL/RANK 以及 BMP/RunX2/OSX、Notch 等信号通路来促进骨吸收与骨形成的稳态, 从而加快成骨细胞增殖分化以防止骨质疏松的发生。但值得注意的是, 中药对机体或细胞往往具有多途径、多靶点作用的特点, 故除去上述信号通路, 淫羊藿各单体成分还可能对其他信号传导途径进行干预从而影响骨代谢的平衡, 因此想要明确淫羊藿在抗骨质疏松中的作用机制, 还需要更深层次的研究。

**致谢:** 感谢广西中医药大学图书馆及广西中医药大学附属瑞康医院提供的电子数据资源平台, 感谢所有对文章提出宝贵意见和修改建议的老师及同事。

**作者贡献:** 文章资料收集、成文由李时斌完成; 文章责任人为夏天; 章晓云作者参与审核和终审定稿。

**经费支持:** 该文章接受了“国家自然科学基金资助项目 (81760796, 81960803)、广西自然科学基金青年基金 (2020GXNSFBA159053)、广西高校青年教师基础能力提升项目 (2019KY0352) 及广西研究生教育创新计划资助项目 (YCBXJ2021019, YCSW2021219)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**写作指南:** 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

### 4 参考文献 References

- [1] KANIS JA, MCCLOSKEY EV, HARVEY NC, et al. Intervention thresholds and the diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2015;30(10):1747-1753.
- [2] SI L, WINZENBERG TM, JIANG Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010-2050. *Osteoporos Int.* 2015;26(7):1929-1937.
- [3] BURNS RB, ROSEN H, BERRY S, et al. How would You manage this patient with osteoporosis? Grand rounds discussion from Beth Israel Deaconess Medical Center. *Ann Intern Med.* 2018;168(11):801-808.
- [4] VIDAL M, THIBODAUX RJ, NEIRA L, et al. Osteoporosis: A clinical and pharmacological update. *Clin Rheumatol.* 2019;38(2):385-395.
- [5] EASTELL R, SZULC P. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5(11):908-923.
- [6] 李建国, 谢兴文, 李鼎鹏, 等. 中药淫羊藿治疗骨质疏松症的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(3):389-393.
- [7] AN J, YANG H, ZHANG Q, et al. Natural products for treatment of osteoporosis: The effects and mechanisms on promoting osteoblast-mediated bone formation. *Life Sciences.* 2016;147:46-58.
- [8] 张金娟, 文娱, 张贵林, 等. 淫羊藿苷对骨质疏松模型小鼠骨组织形态计量学指标的影响 [J]. *贵州医药*, 2010, 34(5):22-23.
- [9] LI XF, XU H, ZHAO YJ, et al. Icariin augments bone formation and reverses the phenotypes of osteoprotegerin-deficient mice through the activation of Wnt/ $\beta$ -Catenin-BMP signaling. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:652317.
- [10] 李晶, 宋敏, 罗晓, 等. 淫羊藿总黄酮对去势大鼠骨组织 BMP-2 和 OPG mRNA 表达的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(7):2529-2531.

- [11] 吴祖锋, 袁垒, 吴风晴, 等. 淫羊藿苷对骨质疏松症模型大 OPG/RANKL/RANK 轴系统影响的实验研究 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2016,33(3):4-7.
- [12] 孙闯, 杨大威, 姜明久, 等. 淫羊藿定对骨质疏松大鼠的治疗作用及机制研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2018,52(3):234-237.
- [13] HE JP, FENG X, WANG JF, et al. Icaritin prevents bone loss by inhibiting bone resorption and stabilizing bone biological apatite in a hindlimb suspension rodent model. *Acta Pharmacol Sin.* 2018;39(11):1760-1767.
- [14] 孙杰, 宋鑫, 王健. 淫羊藿提取物对骨质疏松骨折大鼠愈合过程 Notch 信号通路的影响 [J]. 中国中医急症, 2019,28(4):611-614.
- [15] 汪小飞, 李晶晶. 淫羊藿总黄酮对老年骨质疏松大鼠 Notch 和 Smads 通路蛋白表达的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2019,27(2):1-5.
- [16] 徐众华, 莫雨晴, 周驰. 基于 BMP/Runx2/Osx 信号通路研究淫羊藿总黄酮改善绝经后骨质疏松模型大鼠的作用机制 [J]. 中国药房, 2020,31(19):2333-2338.
- [17] 刘铁汉, 王本祥, 王毅, 等. 淫羊藿苷及其肠菌代谢产物对 THP-1 细胞分泌细胞因子的影响 [J]. 药学报, 2000(4):245-248.
- [18] 翟远坤, 葛宝丰, 陈克明, 等. 淫羊藿苷与其代谢产物淫羊藿次苷 II 对骨髓间充质干细胞成骨性分化影响的比较研究 [J]. 中药材, 2010, 33(12):1896-1900.
- [19] 毛项颖, 卞琴, 沈自尹. 淫羊藿苷介导 MAPK 信号通路促进间充质干细胞株 C3H10T1/2 成骨分化的体外研究 [J]. 中西医结合学报, 2012, 10(11):1272-1278.
- [20] SHENG H, RUI XF, SHENG CJ, et al. A novel semisynthetic molecule icaritin stimulates osteogenic differentiation and inhibits adipogenesis of mesenchymal stem cells. *Int J Med Sci.* 2013;10(6):782-789.
- [21] MA HP, MA XN, GE BF, et al. Icaritin attenuates hypoxia-induced oxidative stress and apoptosis in osteoblasts and preserves their osteogenic differentiation potential in vitro. *Cell Proliferation.* 2014;47(6):527-539.
- [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] LIU YQ, YANG QX, CHENG MC, et al. Synergistic inhibitory effect of icaraside II with icaritin from herba Epimedii on pre-osteoclastic raw264.7 cell Growth. *Phytomedicine.* 2014;21(12):1633-1637.
- [24] 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.
- [25] 王朝鹏. 淫羊藿素对 MC3T3-E1 Subclone14ER/MAPK 信号通路的影响 [D]. 广州: 暨南大学, 2016.
- [26] 王想福, 孙凤歧, 叶丙霖, 等. 类黄酮对人体外周血破骨细胞分化 p38MAPK/c-Fos 信号通路调控的研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(11):1488-1491,1529.
- [27] 许静, 张晶晶, 郭非非, 等. 淫羊藿黄酮类主要成分促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞增殖分化作用及机制的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017,23(14):113-120.
- [28] LIM R, LI L, CHEW N, et al. The prenylflavonoid Icaritin enhances osteoblast proliferation and function by signal transducer and activator of transcription factor 3 (STAT-3) regulation of C-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR4) expression. *Bone.* 2017;105:122-133.
- [29] 贺龙刚, 高奥, 邱煌沛, 等. 淫羊藿次苷 I 及其代谢产物淫羊藿次苷 II 通过 AP-1/NFATc1 信号通路调控破骨细胞生成 [J]. 中华中医药杂志, 2017,32(3):1299-1302.
- [30] WANG Y, WANG R, ZHANG F. Icaritin promotes the proliferation and differentiation of osteoblasts from the rat mandible by the Wnt/ $\beta$ -catenin signalling pathway. *Mol Med Rep.* 2018;18(3):3445-3450.
- [31] 王宇, 董婉茹, 杨晓旭, 等. 淫羊藿活性单体抗骨质疏松药理研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2016,32(3):197-201.
- [32] 瞿慧, 范颖, 蒋宁, 等. 淫羊藿次苷 I 及淫羊藿次苷 II 通过 BMP/Runx2/Osx 信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的实验研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019,25(5):690-695.
- [33] 瞿慧, 郑洪新, 蒋宁, 等. 淫羊藿素通过 BMP/Runx2/Osx 信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020,38(7):212-215+270.
- [34] WANG Z, WANG D, YANG D, et al. The effect of icaritin on bone metabolism and its potential clinical application. *Osteoporos Int.* 2018;29(3):535-544.
- [35] HUANG Z, CHENG C, WANG J, et al. Icaritin regulates the osteoblast differentiation and cell proliferation of MC3T3-E1 cells through microRNA-153 by targeting Runt-related transcription factor 2. *Exp Ther Med.* 2018;15(6):5159-5166.
- [36] LIU M, XU H, MA Y, et al. Osteoblasts Proliferation and Differentiation Stimulating Activities of the Main Components of Epimedii folium. *Pharmacogn Mag.* 2017;13(49):90-94.
- [37] LIU W, MAO L, JI F, et al. Icariside II activates EGFR-Akt-Nrf2 signaling and protects osteoblasts from dexamethasone. *Oncotarget.* 2017;8(2):2594-2603.
- [38] TAN EM, LI L, INDRAN IR, et al. TRAF6 Mediates Suppression of Osteoclastogenesis and Prevention of Ovariectomy-Induced Bone Loss by a Novel Prenylflavonoid. *J Bone Miner Res.* 2017;32(4):846-860.
- [39] LIM RZL, LI L, YONG EL, et al. STAT-3 regulation of CXCR4 is necessary for the prenylflavonoid icaritin to enhance mesenchymal stem cell proliferation, migration and osteogenic differentiation. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018;1862(7):1680-1692.
- [40] KIM B, LEE KY, PARK B. Icaritin abrogates osteoclast formation through the regulation of the RANKL-mediated TRAF6/NF- $\kappa$ B/ERK signaling pathway in Raw264.7 cells. *Phytomedicine.* 2018;51:181-190.
- [41] HUANG M, WANG Y, PENG R. Icaritin alleviates glucocorticoid-induced osteoporosis through EphB4/Ephrin-B2 axis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020;2020:2982480.
- [42] XU S, ZHANG Y, LIU B, et al. Activation of mTORC1 in B Lymphocytes Promotes Osteoclast Formation via Regulation of  $\beta$ -Catenin and RANKL/OPG. *J Bone Miner Res.* 2016;31(7):1320-1333.
- [43] 刘颖, 柴丽娟, 黄菊阳, 等. 朝藿定 A 对原代骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的作用 [J]. 中国兽医学报, 2021,41(5):980-984+991.
- [44] TORRE E. Molecular signaling mechanisms behind polyphenol-induced bone anabolism. *Phytochem Rev.* 2017;16(6):1183-1226.
- [45] SONG N, WANG ZM, HE LJ, et al. Estradiol enhanced osteogenesis of rat bone marrow stromal cells is associated with the JNK pathway. *Mol Med Rep.* 2017;16(6):8589-8594.
- [46] WANG W, BAI J, ZHANG W, et al. Protective Effects of Punicalagin on Osteoporosis by Inhibiting Osteoclastogenesis and Inflammation via the NF- $\kappa$ B and MAPK Pathways. *Front Pharmacol.* 2020;11:696.
- [47] 龚一听, 刘尚全, 袁媛, 等. 淫羊藿次苷 II 通过 p38 MAPK 调控成骨细胞护骨素表达的体外研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2016,51(12):1790-1793,1794.
- [48] WEI Q, HOLLE A, LI J, et al. BMP-2 Signaling and Mechanotransduction Synergize to Drive Osteogenic Differentiation via YAP/TAZ. *Adv Sci (Weinh).* 2020;7(15):1902931.
- [49] 梁广胜, 陈伟才, 殷嫦嫦, 等. 淫羊藿总黄酮对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化过程 BMP-2/Runx2/OSX 通路的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016,36(5):614-618.
- [50] YANG M, LIU H, WANG Y, et al. Hypoxia reduces the osteogenic differentiation of peripheral blood mesenchymal stem cells by upregulating Notch-1 expression. *Connect Tissue Res.* 2019;60(6):583-596.
- [51] ZANOTTI S, CANALIS E. Notch Signaling and the Skeleton. *Endocr Rev.* 2016; 37(3):223-253.
- [52] 邓宇, 陈廖斌. 淫羊藿苷通过激活 Notch 信号通路促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的实验研究 [J]. 中医学报, 2017,32(12):2393-2398.

(责任编辑: ZN, SX)