·文献综述·

基于 OPG/RANKL/RANK 通路探讨单味中药治疗骨质疏松的研究进展

向益[1△] 郑烽[1,2] 王昱[1]

[关键词] 骨质疏松;通路;单味中药;
[中图分类号] R274.39 [文献标志码] A [文章编号]1005-0205(2019)02-0086-03

近年来中医药防治骨质疏松症(Osteoporosis,OP)的临床效果及其能够延缓病情进展的作用已经得到肯定,但其药效物质基础及作用机制尚不完全明确[1]。研究显示[2]OPG/RANK/RANKL 通路与骨质疏松发生、发展的相关机制有着重要联系,因而通过该通路探讨中药治疗骨质疏松的作用机制有着巨大潜能和广阔前景。相对复方而言,单味药及其提取物有效成分确定,在靶点研究中针对性更好,所以单味药防治骨质疏松症作用机制的研究将为后期中药复方进行同类研究奠定良好的基础和经验总结。故本文就基于 OPG/RANKL/RANK 通路—单味中药治疗骨质疏松的作用机制进行归纳。

1 OPG/RANK/RANKL 系统概述

1.1 OPG/RANK/RANKL 概述

骨保护素(Osteoprotegerin,OPG)、核因子-κB 受体活化因子(Receptor Activator of Nuclear Factor-κB,RANK)、核因子-κB 受体活化因子配体(Receptor Activator of Nuclear Factor-κB Ligand,RANKL)三者组成 OPG/RANK/RANKL 系统。OPG/RANK/RANKL 系统是指 OPG 与破骨细胞前体分泌的 RANK 竞争性结合 RANKL,阻断 RANKL-RANK 信号通路,降低信号向破骨细胞传递,从而抑制破骨细胞分化、成熟[3]。一般情况下,骨刺激因子并不会直接与破骨细胞发生信号传递,而是先与成骨细胞发生信息传递后才间接作用于破骨细胞,成骨细胞与骨刺激因子发生传递后会分泌一些因子,如 RANKL 和 M-CSF(巨噬细胞集落刺激因子)。RANKL 和 M-CSF 再与破骨细胞表面受体 RANK 结合,达到促进破骨细胞分化成熟,加速骨吸收的进程的反应[4]。由此可见,该系统能预防骨的大量丢失和维持正常骨生长,在调节骨代谢、维持成骨细胞及破骨细胞动态平衡方面起到重要作用。

1.2 OPG/RANK/RANKL 的传导途径

OPG/RANK/RANKL 系统的传导途径主要有 NF-κB 途径(又称核因子 κB 途径)、JNK 途径(又称蛋白酶 c-Jun 氨基末端激酶途径)及 Akt 途径(又称丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt 途径)途径[5],以及 CN/NFATc1(钙调磷酸酶/活化 T 细胞因子)通路[6]。NF-κB 途径:核转录因子被激活,促进 c-Fox(即刻早期因子)表达增多,促使破骨细胞分化成熟[7]。JNK 途径:c-Jun 和 c-Fos 等细胞外活性酶被活化,加速 c-Jun 活化,从而增加 c-Fox 的表达[8]。Akt 途径:该途径主要是因为磷脂酰肌醇、Akt 被激活,两种酶再参与 NF-κB 通路[9]。CN/NFATc1 通路:活化 T 细胞因子被钙调磷酸酶激活后参与破骨细胞相关基因表达[10]。

2 OPG/RANK/RANKL 系统与骨质疏松的关系

破骨细胞和成骨细胞之间的平衡对于维持骨代谢正常水平,骨生长、吸收至关重要,而近年来大量研究显示,OPG/RANK/RANK 系统对维持成骨细胞及破骨细胞动态平衡方面具有极其重要的作用,能影响骨质疏松的发生与发展[11]。原发性骨质疏松症中雌激素缺乏和老年群体 OPG 水平过低都能影响 OPG/RANK/RANKL 轴的平衡,从而导致绝经后骨质疏松、老年性骨质疏松的发病。

2.1 绝经后骨质疏松

雌激素减少是绝经后骨质疏松的主要原因,雌激素的减少会导致破骨细胞的分化成熟加快,破骨细胞活动加剧,骨吸收增加,骨量丢失,从而导致骨质疏松的发生[12,13]。研究表明绝经后骨质疏松的发生可能与骨髓间充质细胞(Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells,BMMSCs)异常分化有关[14],而张韬等[15]的研究可以发现 OPG/RANKL/RANK 系统相关基因的表达与 BMMSCs 的分化相关,认为 Sema4D 基因可能通过增加该系统相关基因的表达来抑制 BMMSCs 成骨分化,增强成脂肪化,进而导致骨质疏松的发生。

2.2 老年性骨质疏松

临床研究显示 OPG 水平与年龄相关,人体内 OPG 水平随年龄症增长而降低,OPG 与 RANKL 存在竞争关系,因而当 OPG/RANKL 的比值高时,表明

[1] 山西中医药大学(太原,030024)
[2] 山西省中西医结合医院
△通信作者 E-mail:312407195@qq.com

RANK 更多的与 OPG 结合，故破骨细胞所诱导的骨吸收活动被抑制，提示老年性骨质疏松的发生可能与老年患者体内的 OPG 水平过低有关。随着年龄增长，人体内的 RANKL mRNA 会进入一个高表达状态，而 OPG mRNA 的表达则会下降，这可能是老年性骨质疏松症的原因之一[16]。

3 基于 OPG/RANK/RANKL 通路的单味中药治疗骨质疏松

中药复方的组成成分、作用机制复杂，在分子水平，中药复方强调多组分多靶点协同作用[17]，需要大样本、长时间、可重复的研究来阐述其作用机制。但单味药及其提取物有效成分明确，靶点针对性性更强，因此，分析单味药及其提取物的有效活性成分、作用靶点及其可能的作用机制，有利于阐述中药防治骨质疏松症的科学内涵。对近期基于 OPG/RANKL/RANK 通路—单味中药治疗骨质疏松的作用机制进行归纳、总结，发现，单味中药防治骨质疏松症可能的机制有：直接或间接促进 BMMSCs 向成骨细胞分化，抑制破骨细胞的分化、成熟，上调 OPG mRNA 表达，下调 RANKL mRNA 基因表达，促进 OPG 分泌表达，抑制 RNAKL 分泌表达，上调 OPG/RANKL 比值，阻断 OPG/RANK/RANKL 信号通路传导途径等。通过上诉方式单味中药能够达到抑制破骨细胞的增殖、分化，从而减少骨吸收，达到降低或延缓骨质疏松症发生、发展的治疗作用。

3.1 淫羊藿

何丹丹等[18]的采用分子对接术模拟淫羊藿素(IT)与 RANKL 蛋白靶点结合，发现 IT 具有一定的与 RANKL 结合的能力，具有抑制破骨细胞分化、减少骨吸收活动的能力；同时动物实验也证实了 IT 能降低骨质疏松大鼠模型的血清 ALP(碱性磷酸酶)水平，提高大鼠 BMD 的能力。宋敏等[19]的研究发现淫羊藿的另一种有效蹭粉淫羊藿总黄酮代谢产物可以通过调控 OPG mRNA 和 OPGL mRNA 的表达间接提高 OPG/OPGL 的比值，从而延缓骨质疏松症的发展。

3.2 杜仲

研究[20]发现杜仲的两种提取物松脂素二葡萄糖苷及其苷元松脂素均能通过影响 OPG/RANK/RANKL 通路来发挥作用，但是松脂素具有两种作用，既促进 OPG 分泌的促进成骨形成和抑制 RANKL 表达的抑制骨吸收作用，而松脂素二葡萄糖苷仅具有促进 OPG 分泌的能力。另一研究[21]发现杜仲黄酮类化合物紫云英苷具有直接促进 MC3T3-E1 Subclone 14 成骨细胞成熟、分化的作用，并对成骨细胞的钙离子分泌有一定促进作用，而紫云英苷能改善骨质疏松的作用机制可能与其能够上调 OPG/RANKL 比值有关。

3.3 骨碎补

朱振标等[22]采用随机分组实验法，通过分别测定骨碎补总黄酮灌胃后的大鼠血清 OPG 和 RANKL 水平，骨组织 RANKL 和 OPG m RNA 表达，c-Fos 和 P-JNK 蛋白表达等指标，发现，骨碎补总黄酮能够通过减少 P-JNK 和 c-Fos 蛋白的表达，抑制 JNK 途径继而影响 OPG/RANK/RANKL，达到防治骨质疏松症的作用。另外发现骨碎补总黄酮还能直接影响 OPG/RANK/RANKL 系统，作用的大小与用药剂量呈正相关，这种作用可能是通过增加 OPG 表达，下调 RANK 和 RANKL 表达来实现的[23]。

3.4 巴戟天

郑德开等[24]的动物实验表明，从 OPG/RANK/RANKL 轴来分析，巴戟天对 SD 大鼠的 OPG/RANKL 通路影响主要包括了加速 OPG 的表达和抑制 RANKL 两方面，且随着巴戟天浓度的提升，大鼠血清中 E2 和 OPG 水平越高，RANKL 水平越低。研究[25]证实巴戟天联合雌激素使用，能有效降低大鼠破骨细胞内 RANK 和 CA Ⅱ 的表达，抑制破骨细胞活性，起到防治骨质疏松的目的。黄慧等[26]的动物实验表明，巴戟天能通过调控 SD 大鼠中 OPG m RNA 和 RANKL m RNA 的表达水平来降低破骨细胞的成熟，从而防治骨质疏松症的发生。

3.5 其他

黄媛等[27]通过川续断皂苷 VI 体外诱导大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)实验发现，川续断皂苷 VI 能增加骨钙素表达、增加 ALP 活性，从而使 BMSCs 向成骨细胞方向增殖分化，当加入 JNK 抑制剂后，骨钙素表达、ALP 活性却下降，说明川续断皂苷 VI 促进 BMSC 分化的作用可能与 OPG/RANK/RANKL 系统中的 JNK 信号通路被抑制有关。研究[28]发现蛇床子素能改善 OPG 基因敲除小鼠的腰椎骨小梁数目、体积、密度等指标，低剂量给药时作用明显。袁斯远等[29]采用葛根素与雌二醇培养 MC3T3-E1 细胞，观察成骨细胞的分化及 OPG 和 RANKL m RNA 的表达，发现葛根素组破骨细胞明显减少，但葛根素的效力低于雌二醇；说明葛根素能直接促进破骨细胞，抑制其分化成熟，减少骨吸收，间接下调 OPG/RANK/RANKL 通路可能是其抗骨质疏松的细胞分子机制。祁琳等[30]发现发大黄酸哌嗪雌酚酮能够通过 ER 途径(主要是 ERα 介导)调节成骨细胞表达 OPG 和 RANKL，从而防止骨质疏松。

4 问题与展望

上述研究表明了 OPG/RANK/RANKL 通路在药物靶点研究中的重要性，也说明单味中药治疗骨质疏松具有巨大的潜力和社会效益。虽然单味中药及其提取物的可控性更好，研究方式也更多样，但依然存在诸多问题，如目前单味药治疗骨质疏松的相关研究集中在细胞分子、动物实验领域、缺乏临床研究；与药物靶点相关的研究一般仅涉及一条信号通路，越来越多的研究显示各信号通路往往不是独立的，这便使将来的骨质疏松治疗更为复杂；现阶段单味中药治疗骨质

疏松的研究通常以骨代谢、信号通路的相关受体、配体为观察指标，忽略了不良反应、其他疾病并发症的影响。因此，为了获得更加安全、有效的防治骨质疏松症的中医药，需要更多的临床试验研究、不良反应、并发症等相关方面的研究，探讨各单味中药之间的相互作用，为骨质疏松症的临床应用奠定基础。

参考文献

[1] 李刚，许波，梁学振，等. 基于网络药理学研究淫羊藿抗骨质疏松的分子机制[J]. 中国药理学通报，2018，34(2)：267-273.

[2] HUBERT W，KRZYSZTOF D，ANNA B，et al. The RANKL/RANK/OPG signal trail：significance of genetic polymorphisms in the etiology of postmenopausal osteoporosis.[J]. Ginekologia polska，2016，87(5)：347-352.

[3] 杨莹，赵谦，李健. OPG/RANKL/RANK 系统及其在口腔颌面部骨破坏疾病中的研究进展[J]. 临床口腔医学杂志，2018，34(6)：378-380.

[4] SIAR C H，TSUJIGIWA H，ISHAK I，et al. RANK，RANKL，and OPG in recurrent solid/multicystic ameloblastoma：their distribution patterns and biologic significance[J]. Oral Surgery，Oral Medicine，Oral Pathology and Oral Radiology，2015，119(1)：83-91.

[5] JING S，BAO S，WEI W，et al. Histochemical examination of the effects of high-dose 1，25(OH)2D3 on bone remodeling in young growing rats[J]. Journal of Molecular Histology，2016，47(4)：389-399.

[6] SIGL V，PENNINGER J M. RANK and RANKL of bones，T cells，and the mammary glands[M]. in：Osteoimmunology，2016：121-142.

[7] HYUN J K，SOHN E H，KIM Y J，et al. Effect of the combinatory mixture of rubus coreanus miquel and astragalus membranaceus bunge extracts on ovariectomy-induced osteoporosis in mice and anti-RANK signaling effect[J]. Journal of Ethnopharmacology，2014(2)：951-959.

[8] SUN J，SUN B，WANG W，et al. Histochemical examination of the effects of high-dose 1，25(OH)2D3 on bone remodeling in young growing rats[J]. Journal of Molecular Histology，2016，47(4)：389-399.

[9] XIONG M Y，LIU L Q，LIU S Q，et al. Effects of osteoprotegerin，RANK and RANKL on bone destruction and collapse in avascular necrosis femoral head[J]. American Journal of Translational Research，2016，8(7)：3133-3140.

[10] BENASCIUTTI E，MARIANI E，OLIVA L，et al. MHC class Ⅱ transactivator is an in vivo regulator of osteoclast differentiation and bone homeostasis co-opted from adaptive immunity[J]. Journal of Bone and Mineral Research，2014，29(2)：290-303.

[11] 查小云，胡予. 骨质疏松相关信号通路研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志，2014，20(2)：205-209.

[12] GAO L，ZHANG L，QI H，et al. Middle-aged female depression in perimenopausal period and square dance intervention[J]. Psychiatria Danubina，2016，28(4)：372-378.

[13] 王俊玲，黄思敏，梁启瑶，等. 雌激素的来源及其在骨代谢中的作用[J]. 中国骨质疏松杂志，2015，21(6)：729-732.

[14] KUANG W，ZHENG L，XU X，et al. Dysregulation of the miR-146a-Smad4 axis impairs osteogenesis of bone mesenchymal stem cells under inflammation[J]. Bone Research，2017，5(4)：375-383.

[15] 张韬，陈冬冬，翁艳，等. Sema4D 基因沉默对骨髓间充质干细胞成骨及成脂肪分化相关基因表达的影响[J]. 厦门大学学报：自然科学版，2017，56(2)：173-177.

[16] 李喆，曹寅生. OPG/RANKL/RANK 系统与骨质疏松症关系的研究进展[J]. 湖南中医杂志，2018，34(8)：229-232.

[17] 王忠，陈寅萤，张盈颖，等. 多组分多靶点中药药理作用机制研究中的问题和解决策略[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，24(5)：1-6.

[18] 何丹丹，夏海建，蒋俊，等. 淫羊藿素与 RANKL 蛋白靶点结合抑制破骨细胞分化抗骨质疏松作用研究[J]. 中草药，2017，48(22)：4707-4712.

[19] 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.

[20] 胡倩影，尹瑞林，王一飞，等. 杜仲中松脂素二葡萄糖苷和松脂素对成骨细胞中 OPG 和 RANKL 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，24(10)：181-186.

[21] 兰波，刘亭，谢玉敏，等. 两种杜仲黄酮类化合物对成骨细胞 OPG/RANKL 及成骨相关转录因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2014，20(22)：180-184.

[22] 朱振标，林之斌，丁晓莉，等. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠 RANKL/OPG 平衡及 MAPK 信号通路的影响[J]. 海南医学，2015，26(9)：1249-1253.

[23] 刘康，吴风晴，吴连国，等. 骨碎补总黄酮对骨质疏松模型大鼠 OPG/RANKL/RANK 轴系统的影响[J]. 中国现代应用药学，2015，32(6)：652-656.

[24] 郑德开，阮诗钒，叶春华，等. 巴戟天对卵巢切除大鼠 OPG、RANKL 蛋白表达的影响[J]. 江西中医药大学学报，2018，30(3)：74-76.

[25] 王青华. 巴戟天与雌激素对骨质疏松大鼠破骨细胞 RANK 和 CAII 的表达影响分析[J]. 中华中医药学刊，2015，33(5)：1224-1226.

[26] 黄慧，陈健，何剑全，等. 巴戟天含药血清对成骨-破骨细胞共育体系 OPGmRNA、RANKLmRNA 表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志，2015，21(1)：67-71.

[27] 黄媛，徐艳，易学良，等. 川续断皂苷Ⅵ通过 JNK 信号通路促进骨髓间充质干细胞成骨分化[J]. 广州中医药大学学报，2018，35(5)：887-893.

[28] 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.

[29] 袁斯远，何芳，孔蓓蓓，等. 葛根素对破骨细胞形成以及成骨细胞 OPG/RANKL mRNA 表达的影响[J]. 中华中医药杂志，2015，30(11)：3889-3892.

[30] 祁琳，张鹏，屈野，等. LC 调节人成骨样 MG-63 细胞表达 OPG、RANKL 分子机制的研究[J]. 中国骨质疏松杂志，2013，19(2)：125-130.

（收稿日期：2018-08-14）