

补肾中药基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路对原发性骨质疏松症作用机制的研究进展

卜寒梅, 王世坤, 李远栋*, 王 平*

天津中医药大学第一附属医院 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381

摘要: 原发性骨质疏松症 (primary osteoporosis, POP) 是老年男性及绝经后女性常见的退行性骨代谢疾病, 其并发症所导致的致残率或致死率已成为全球公共难题。骨保护素 (osteoprotegerin, OPG)/核因子- κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)/核因子- κ B 受体活化因子 (receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK) 信号通路与骨代谢有着密切的联系。中药通过该信号通路治疗 POP 具有明显的优势, 尤以补肾类中药最为突出。但是, 关于补肾中药基于该信号通路治疗 POP 的调节机制仍然缺乏相对全面且系统的归纳总结。因此, 基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路在骨代谢的调节机制, 从单味中药及中药复方的角度综述补肾中药防治 POP 的作用机制, 为今后 POP 相关基础及临床研究提供理论依据。

关键词: 补肾中药; 原发性骨质疏松症; OPG/RANKL/RANK 信号通路; 骨保护素; 核因子- κ B 受体活化因子配体; 核因子- κ B 受体活化因子

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)10-3209-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.031

Research progress on mechanism of traditional Chinese medicine tonifying kidney in treatment of primary osteoporosis based on OPG/RANKL/RANK signaling pathway

BU Han-mei, WANG Shi-kun, LI Yuan-dong, WANG Ping

National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

Abstract: Primary osteoporosis (POP) is a common degenerative bone metabolic disease in elderly men and postmenopausal women, and its complications have become a global public problem in terms of disability and mortality. The osteoprotegerin (OPG)/receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)/receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) signaling pathway is closely related to bone metabolism. Traditional Chinese medicine have advantages in treatment of POP based on OPG/RANKL/RANK signaling pathway, especially traditional Chinese medicine tonifying kidney are the most prominent. However, there is still a lack of a comprehensive and systematic summary of the regulatory mechanism of this signaling pathway based on traditional Chinese medicine tonifying kidney in treatment of POP. Therefore, based on regulatory mechanism of OPG/RANKL/RANK signaling pathway in bone metabolism, mechanism of traditional Chinese medicine tonifying kidney in treatment of POP from the perspective of single traditional Chinese medicine and traditional Chinese medicine compound, so as to provide a theoretical basis for future basic and clinical research on POP.

Key words: traditional Chinese medicine tonifying kidney; primary osteoporosis; OPG/RANKL/RANK signaling pathway; OPG; RANKL; RANK

收稿日期: 2022-02-18

基金项目: 天津市卫生健康委员会中医中西医结合科研课题 (2021105); 天津市应用基础与前沿技术研究计划项目 (15JCQNJC12700)

作者简介: 卜寒梅 (1993—), 女, 博士研究生, 研究方向为骨与关节疾病临床研究。E-mail: zd135bhm@163.com

*通信作者: 王 平 (1964—), 男, 主任医师, 教授, 博士生导师, 研究方向为中西医结合方法治疗脊柱病、关节病及老年骨病。

E-mail: 1535174256@qq.com

李远栋 (1980—), 男, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向为脊柱关节疾病的防治。E-mail: 33724755@qq.com

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是以全身性骨量减少, 表现为单位体积骨量降低、矿盐和基质比例减少及骨的微观结构退化为特征的, 致使骨的脆性增加及易于发生骨折的全身性骨骼疾病^[1]。一项荟萃分析研究发现, 2007—2017 年, 我国中老年人群 OP 总体患病率为 23% (19%~26%), 其中女性 27% (23%~31%), 男性 16% (12%~20%), 男女差异显著且与年龄呈正相关^[2]。我国各地 OP 患病率存在地域差异, 西南地区发病率较高, 东北地区发病率较低^[3]。OP 造成的骨折对患者健康相关生活质量和预期寿命影响较大, 且给医疗体系带来巨大负担^[4]。OP 可分为原发性 OP (primary osteoporosis, POP) 和继发性 OP, POP 是随着年龄增长而发生的一种生理性退行性病变, 多见于绝经后女性及老年男性。POP 属于中医学中“骨痿”“骨痹”及“骨枯”的范畴。中医认为, 肾藏精生髓且主骨, “骨痿”病变在骨, 其本在肾, 应以补肾为治疗主要原则。

由肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 构成的三联体受体超家族成员骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) /核因子- κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) /核因子- κ B 受体活化因子 (receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK) 信号通路不仅在调控破骨细胞 (osteoclast, OC) 的形成、骨重建及骨代谢过程中发挥重要作用, 还为 POP 的靶向治疗开辟了新思路^[5]。目前, 有众多研究聚焦补肾单味中药及中药复方通过 OPG/RANKL/RANK 信号通路治疗 POP 的机制并取得一定成果。故本文基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路对补肾单味中药及中

药复方治疗 POP 的作用机制进行综述。

1 OPG/RANKL/RANK 信号通路在骨代谢中的作用

正常的骨代谢是保持骨骼结构稳定的基础。OC 和成骨细胞 (osteoblast, OB) 的动态变化过程是骨代谢的本质表现。OC 介导的骨吸收与 OB 介导的骨形成之间的动态平衡关系对于维持正常的骨代谢具有重要作用。巨噬细胞/单核细胞系前体细胞经过一系列的增殖、分化、融合、激活等发展过程而成为 OC, 此过程受到骨微环境中激素和局部细胞因子的控制^[6]。经典的骨重塑机制是由骨基质中释放的转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 直接作用于 OC, 促进 Wnt1 分泌, 激活 OB 促进骨形成^[7]。同时, OC 会产生并释放多种细胞因子达到刺激骨形成的作用。OC 及其不成熟的前体细胞 (基质细胞) 上均表达 RANK。RANK 不仅具有促进 OC 形成、抑制 OC 凋亡及延长 OC 存活的作用, 还具有结合 RANKL 的作用^[8]。RANKL 主要是由 OB 及其不成熟前体细胞 (基质细胞) 分化表达而来。RANKL 能与 OC 及 OC 前体细胞表面上的 RANK 结合, 促使 OC 的分化以及成熟, 并且抑制 OC 的凋亡。另外, OB 可以产生分泌型糖蛋白 OPG, OPG 是一种重要的拮抗性受体。OPG 可以与 RANK 竞争性地结合 RANKL, 并且 OPG 对 RANKL 的竞争结合能力优于 RANK, OPG 通过阻断 RANK 与 RANKL 的结合, 从而达到延缓 OC 分化成熟, 抑制过度骨吸收的作用^[9]。OPG/RANKL 的变化实际是对 OC 的分化及成熟的调控过程, OPG 和 RANKL 的产生及表达的增加或减少均会受到微环境中各种细胞因子、激素等调控作用 (图 1)。

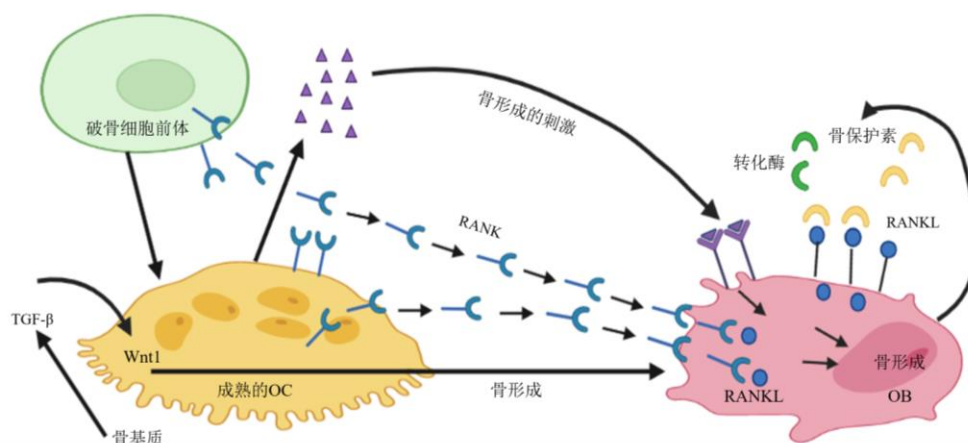


图 1 OPG/RANKL/RANK 信号通路在骨代谢中的作用

Fig. 1 Role of OPG/RANKL/RANK signaling pathway in bone metabolism

总体来说, OPG 可以通过正向或负向调节细胞因子、激素等竞争性地抑制 RANK 与 RANKL 之间结合, 使 OPG 与 RANKL 结合, 进而达到抑制 OC 分化, 降低骨吸收以防止骨代谢异常。OPG/RANKL 的变化说明抑制 OC 的分化及诱导成熟 OC 细胞凋亡的能力。当 OPG/RANKL 的值升高时, 骨代谢的平衡向正移动, 诱导骨形成; 当 OPG/RANKL 的值降低时, 骨代谢向负平衡方向, 有助于骨吸收。由此可见, OPG/RANKL/RANK 信号通路可以影响骨

重建及维持正常骨量稳定, 对于骨代谢的动态平衡过程具有重要意义。

2 补肾单味中药基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路治疗 POP

中医认为“肾主骨”, 对于 POP 治疗原则应以补肾固精、助阳益气、强筋健骨为主。许多研究发现, 补肾单味中药的有效成分通过调节 OPG/RANKL/RANK 信号通路在治疗 POP 过程中发挥着重要作用(表 1)。基于 OPG/RANKL/RANK

表 1 补肾单味中药基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路对 POP 的作用机制

Table 1 Mechanism of kidney tonifying single traditional Chinese medicine on POP based on OPG/RANKL/RANK signaling pathway

单味中药	性、味、归经	功效	有效成分	作用细胞/模型	具体作用机制	文献
女贞子	性平, 味甘、苦, 归肝、肾经	滋补肝肾、乌须明目	女贞子多糖	BMSCs	抑制 OC 分化, TRAP ↓	10
枸杞	性平, 味甘, 归肝、肾经	滋补肝肾、益精明目	枸杞水提液	OVX 大鼠模型	抑制 OC 分化, RANK ↓, TRAP ↓	11
补骨脂	性温, 味苦、辛, 归肾、脾经	补肾壮阳、固精缩尿	补骨脂黄酮水提液	OC	抑制 OC 分化, RANKL ↓	12
淫羊藿	性温, 味辛、甘, 归肾、肝经	补肾壮阳、祛风除湿	淫羊藿苷	OC	抑制 OC 分化, RANK ↓, ERα ↑	13
巴戟天	性微温, 味甘、辛, 归肾、肝经	补肾阳、强筋骨、祛风湿	巴戟天乙醇提取物	OVX 大鼠模型	抑制 OC 分化, E ₂ ↑, RANK ↓	14
菟丝子	性温, 味甘, 归肾、肝、脾经	补肾益精、养肝明目、止泻安胎	菟丝子乙醇提取物	OVX 大鼠模型	抑制 OC 分化, E ₂ ↑	15
熟地黄	性温, 味甘、苦归肝、肾经	补血养阴、填精益髓	熟地黄水提液	OVX 大鼠模型	抑制 OC 分化, E ₂ ↑, ERβ ↑	16
肉苁蓉	性温, 味甘、咸, 归肾、大肠经	补肾助阳、润肠通便	肉苁蓉总苷	OVX 大鼠模型	抑制 OC 分化, E ₂ ↑, ERα ↑	17
淫羊藿	性温, 味辛、甘, 归肾、肝经	补肾壮阳、祛风除湿	淫羊藿苷	OB	促进 OB 分化, OPG ↑, OPG/RANKL ↑	18
蛇床子	性温, 味辛苦, 归肾经	温肾壮阳、燥湿祛风、杀虫止痒	蛇床子素	BMSCs	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, I 型胶原蛋白 ↑, IGF ↑, TRACP ↓, 骨吸收陷窝 ↓	19
骨碎补	性温, 味苦, 归肝、肾经	活血续伤、补肾强骨	骨碎补总黄酮	BMSCs	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	20
杜仲	性温, 味甘, 归肝、肾经	补肝肾、强筋骨、安胎	杜仲总木脂素	OB	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	21
山茱萸	性微温, 味酸、涩, 归肝、肾经	补益肝肾、收敛固涩	山茱萸新苷	OB	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	22
补骨脂	性温, 味苦、辛, 归肾、脾经	补肾壮阳、固精缩尿	补骨脂黄酮水提液	OB	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	23
五味子	性温, 味酸、甘, 归肺、心、肾经	收敛固涩、益气生津、补肾宁心	五味子水提液	OVX 大鼠模型	OPG ↑, RANKL ↓, IL-1 ↓, IL-6 ↓	24
沙苑子	性温, 味甘, 归肝、肾经	补肾固精、养肝明目	沙苑子水提液	OVX 大鼠模型	OPG ↑, RANKL ↓, IL-1 ↓, IL-6 ↓	25
桑寄生	性平, 味苦、甘, 归肝、肾经	祛风湿、补肝肾、强筋骨、安胎	桑寄生水提物	OVX 大鼠模型	OPG ↑, IL-1 ↓	24
狗脊	性温, 味苦、甘, 归肝、肾经	补肝肾、强筋骨、祛风湿	狗脊水提液	OVX 大鼠模型	OPG ↑, IL-1 ↓	25
续断	性微温, 味苦、辛, 归肝、肾经	补益肝肾、强筋健骨、止血安胎、疗伤续折	三萜及其苷类	OVX 大鼠模型	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	26

↑: 增加; ↓: 下降; TRAP-抗酒石酸酸性磷酸酶 ER-雌激素受体 E₂-雌二醇 IGF-胰岛素样生长因子 IL-白细胞介素 OVX-去卵巢; 下表同
↑: increase; ↓: decrease; TRAP-tartrate resistant acid phosphatase ER-estrogen receptor E₂-estradiol IGF-insulin like growth factor IL-interleukin
OVX-ovariectomized; same as below table

信号通路, 可以将补肾单味中药治疗 POP 的机制分为 2 大类, 分别是对 OC 的直接调节作用和对 OC 的间接调节作用。

2.1 对 OC 的直接调节作用

补肾单味中药对 OC 的直接调节作用具体表现在补肾中药有效成分的雌激素样作用及对 OC 增殖分化的抑制性。当雌激素分泌减少会造成骨吸收亢奋和骨形成抑制。ER 存在于 OC 和 OB 内, 当雌激素与 ER α 结合后可以作用于 OC 或 OC 前体细胞, 降低 c-Jun 氨基末端激酶活性, 抑制 RANKL 诱导 OC 分化, 使 OC 凋亡, 抑制骨吸收, 促进骨形成。常见补肾单味中药包括女贞子、枸杞、补骨脂、淫羊藿、巴戟天、菟丝子、肉苁蓉及熟地黄等。

女贞子为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的成熟果实, 研究发现, 女贞子多糖通过抑制 RANKL 诱导的骨髓来源单核细胞向 OC 增殖分化, 降低抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate resistant acid phosphatase, TRAP) 的活性等, 达到抑制骨吸收及促进骨形成的作用^[10]。枸杞 *Lycium chinense* Miller. 水提取物能够减少 OVX 大鼠模型 OC 生成标志物 (RANK、TRAP) 的合成分泌, 抑制 RANKL 诱导 OC 分化^[11]。补骨脂为豆科属蔷薇目植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* Linn. 的果实。补骨脂异黄酮通过抑制 RANKL 介导的 NF- κ B 通路激活, 进而调控 OC 的分化, 并且抑制 OC 分化的作用呈剂量相关性^[12]。淫羊藿为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim. 的干燥叶。淫羊藿苷可能是通过上调 OC 的 ER α mRNA 表达及下调 RANK mRNA 表达而抑制 RANK 诱导 RAW264.7 细胞向 OC 分化^[13]。巴戟天为茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* How 的干燥根。巴戟天的类雌激素作用能够直接升高 OVX 大鼠模型 E₂ 的水平, 抑制 OC 分化, 降低 RANK 水平^[14]。菟丝子为旋花科植物南方菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子。有研究通过“代谢产物-效应检测”模式对菟丝子进行相关性分析, 发现菟丝子可以在体内发挥拟雌激素作用的直接作用物质^[15]。还有研究发现肉苁蓉及熟地黄的有效成分可以通过调节结合 ER α 或 ER β , 提高 E₂ 水平, 发挥植物雌激素样作用, 维持 OC 和 OB 之间平衡^[16-17]。

2.2 对 OC 的间接调节作用

补肾单味中药对 OC 的间接作用具体表现在补肾单味中药可以促进 OB 合成分泌 OPG, 通过 OPG

竞争性地结合 RANKL, 降低 RANK 水平, 上调 OPG 及 OPG/RANKL 值, 进而达到抑制 OC 分化增殖的目的。常见的补肾单味中药包括淫羊藿、蛇床子、骨碎补、杜仲、山茱萸、补骨脂、五味子、沙苑子、狗脊、桑寄生及续断等。

淫羊藿具有补肾壮阳的功效, 其主要有效成分为淫羊藿苷。Wang 等^[18]发现淫羊藿苷具有直接促进 OB 增殖分化、上调 OPG 及 OPG/RANKL 水平的作用。蛇床子为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 的干燥成熟果实。Lin 等^[19]发现蛇床子素有促进 OB 增殖及抑制 OC 吸收作用, 并能提高细胞活力、I 型胶原蛋白分泌, 提高 IGF 和 OPG/RANKL 的值以及降低 TRAP 活性等作用。骨碎补为水龙骨科植物槲蕨植物骨碎补 *Davallia mariesii* Moore ex Bak. 的根状茎。骨碎补总黄酮类化合物可以调节骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 的 OPG 及 RANKL 表达, 激活 OPG/RANKL/RANK 信号通路^[20]。杜仲为杜仲科杜仲属杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮。山茱萸为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉。研究发现, 杜仲总木脂素和山茱萸新苷均可以通过增加 OPG 表达, 降低 RANKL 表达, 诱导 OB 的增殖和分化, 抑制 OC 的形成^[21-22]。补骨脂水提液也可以通过调节 OB 分泌 OPG 和 RANKL 来促进骨形成, 抑制骨吸收^[23]。另外, 五味子、沙苑子、狗脊及桑寄生均能增强 OVX 大鼠模型的 OPG 表达, 使之与 RANKL 结合增多, 抑制 OC 的分化、成熟和活性, 降低外周血中炎症因子的水平^[24-25]。而不同的炮制方法也可能会影响补肾单味中药对 OPG/RANKL/RANK 通路的调控能力, 陶益等^[26]发现生续断和酒续断均可以降低 OPG 和 RANK, 升高 RANKL 含量, 但是酒续断的调控能力强于生续断。

3 补肾中药复方基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路治疗 POP

除了补肾单味中药之外, 临床中常用补益肝肾、填精益髓为主的中药方剂加减治疗 POP。虽然补肾中药复方具有一定的临床疗效, 但是补肾中药复方的组成中药较多, 具体作用机制较为复杂, 大致可以分为以下 4 个方面 (表 2): (1) 调节 OB 和 OC 的活性; (2) 提高骨组织形态结构及生物力学性能; (3) 改善血清骨代谢标志物; (4) 调节血清炎症因子水平。

表 2 补肾中药复方基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路对 POP 的作用机制

Table 2 Mechanism of kidney tonifying traditional Chinese medicine compound on POP based on OPG/RANKL/RANK signaling pathway

中药复方	主要组成	作用细胞/ 模型	作用机制	文献
金刚健骨片	鹿角胶、熟地黄、补骨脂、菟丝子、杜仲、肉苁蓉、粉草藤、山药、川牛膝	OVX 大鼠模型	OPG ↑, RANKL ↓	27
壮骨止痛方	补骨脂、淫羊藿、枸杞子、党参、白术、芍药、骨碎补、丹参、制甘草	OVX 大鼠模型	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	28
补肾化痰方	淫羊藿、补骨脂、菟丝子、全瓜蒌、红曲、山楂	OVX 大鼠模型	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	29
筋骨胶囊	熟地黄、当归、牛膝、山茱萸、茯苓、续断、杜仲、白芍、青皮、五加皮、鹿角胶、煅自然铜	OVX 大鼠模型	OPG ↑, RANKL ↓	30
护骨胶囊	淫羊藿、巴戟天、制何首乌、杜仲、骨碎补、熟地黄、龟甲	OVX 大鼠模型	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, BALP ↑, ALP ↑, TRAP-5a ↑, TRAP-5b ↑, PINP ↑, NTX-I ↑, RANKL ↓, UcOC ↓, CTX-I ↓	31
自拟补肾活血颗粒	熟地、肉桂、杜仲、山药、附子、枸杞、甘草、红花、山茱萸、菟丝子、续断、肉苁蓉	OVX 大鼠模型	OPG ↑, Ca ↑, P ↑, BMD ↑, 骨小梁立体空间结构 ↑, RANK ↓, RANKL ↓	32
强骨康疏胶囊	鹿角胶、骨碎补、内红消、巴戟天、见血飞、鸡血藤、炒山药	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BMD ↑, OPG/RANKL ↑, 骨小梁立体空间结构 ↑, RANKL ↓	33
六味地黄汤	熟地黄、山药、山茱萸、泽泻、茯苓、牡丹皮	OVX 大鼠模型	OPG ↑, E ₂ ↑, OPG/RANKL ↑, 骨小梁立体空间结构 ↑, RANKL ↓	34
仙灵骨葆胶囊	淫羊藿、续断、丹参、知母、补骨脂、地黄	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BMD ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	35
益肾健骨颗粒	制何首乌、紫河车、黄芪、丹参、龟甲、补骨脂、活血藤、自然铜、炒白术、茯苓、海蛤壳、陈皮	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BMD ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	36
补肾活血颗粒	熟地、山药、杜仲、附子、肉桂、山茱萸、枸杞、桃仁、红花、甘草	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BMD ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓	37
左归丸	熟地、山药、枸杞子、山茱萸、川牛膝、菟丝子、龟板胶、鹿角胶	OVX 大鼠模型	OPG ↑, Ca ↑, P ↑, BMD ↑, 生物力学性能 ↑, RANK ↓, RANKL ↓	38
藤黄健骨胶囊	熟地黄、鹿衔草、骨碎补、肉苁蓉、淫羊藿、鸡血藤、莱菔子	OVX 大鼠模型	OPG ↑, Ca ↑, P ↑, BMD ↑, 生物力学性能 ↑, RANK ↓, RANKL ↓	39
地黄饮子	熟地黄、巴戟天、山茱萸、石斛、肉苁蓉、附子、五味子、肉桂、茯苓、麦门冬、菖蒲、远志	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BMD ↑, 生物力学性能 ↑, RANK ↓, RANKL ↓	40
二至丸	女贞子、墨旱莲	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BALP ↑, TRACP-5b ↑, Cath-K ↑, 生物力学性能 ↑, RANK ↓, RANKL ↓	41
温肾强身散	钟乳石、蛇床子、远志、鹿茸、肉苁蓉、薯蓣、续断	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BGP ↑, BMD ↑, 生物力学性能 ↑, RANK ↓, RANKL ↓	42
续苓健骨方	川续断、白术、陈皮、赤芍、红花、甘草	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BMD ↑, BALP ↑, RANKL ↓	43

续表 2

中药复方	主要组成	作用细胞/ 模型	作用机制	文献
独活寄生汤	独活、桑寄生、杜仲、牛膝、细辛、秦艽、茯苓、肉桂心、防风、川芎、人参、甘草、当归、芍药、地黄	OB	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, ALP ↑, RANKL ↓	44
补肾活血汤	淫羊藿、熟地黄、补骨脂、丹参、当归、酒制大黄、黄芪	老年大鼠 OP 模型	OPG ↑, BGP ↑, PINP ↑, BMD ↑, RANKL ↓, CTX-I ↓	45
强骨饮	鹿角霜、黄芪、骨碎补、杜仲、续断、露蜂房、肉桂、川芎、鸡血藤、秦艽、防风、忍冬藤	分泌素下调和过表达小鼠模型	OPG ↑, OPG/RANKL ↑, RANK ↓, RANKL ↓	46
温肾通络止痛汤	附子、桂枝、狗脊、白术、炙甘草、黄芪、淫羊藿、蛇床子、香橡皮、鹿角霜	OVX 大鼠模型	OPG ↑, BMD ↑, OPG/RANKL ↑, RANKL ↓, IL-6 ↓	47
补肾通络方	淫羊藿、骨碎补、续断、蜈蚣、全蝎、茯苓、白芍、甘草等	OVX 大鼠模型	OPG, BMD ↑, RANKL ↓, IL-1 ↓, IL-6 ↓, TNF-α ↓	48
肉苁蓉复方颗粒	肉苁蓉、菊粉、硫酸软骨素	OVX 大鼠模型	BMD ↑, IL-6 ↓, TNF-α ↓	49

BALP-骨源性碱性磷酸酶 ALP-碱性磷酸酶 PINP-I 型前胶原 N-端前肽 BGP-骨钙素 NTX-I-I 型胶原交联 N-末端肽 UOC-羧化不全骨钙素 CTX-I-I 型胶原交联羧基末端肽 BMD-骨密度

BALP-bone alkaline phosphatase ALP-alkaline phosphatase PINP-procollagen type I N-peptide BGP-bone gla protein NTX-I-N-telopeptide of type I collagen UOC-undecarboxylated osteocalcin CTX-I-type I collagen cross-linked-telopeptide BMD-bone mineral density

3.1 调节 OB 和 OC 的活性

众多补肾中药复方可以通过调节 OPG/RANKL 比值,抑制 OC 的分化,促进 OB 活性,达到治疗 POP 的作用。研究发现,以补肾类中药为君药的金刚健骨片、壮骨止痛方、补肾化痰方以及筋骨胶囊均可以增加 OVX 大鼠模型 OPG 的表达,抑制 RANKL 的含量,提高 OPG/RANKL 值,促进 OB 活性,抑制 OC 活性,促进骨形成^[27-30]。钟佳贤等^[31]通过 OVX 大鼠模型发现,护骨胶囊能促进骨形成,降低骨吸收,加速骨转化,这可能有利于促进骨骼的更新。酒制、盐制、清蒸制、生品山茱萸入药的六味地黄汤均可以通过调控 OVX 大鼠股骨 OPG、RANK、RANKL mRNA 的表达,抑制 OC 活性,改善骨组织结构,达到治疗 POP 目的,但酒制品和清蒸制品山茱萸入药的六味地黄汤效果更佳^[34]。这提示临床可以根据实际情况酌情选择合适的中药炮制品入药。

3.2 提高骨组织形态结构及生物力学性能

骨小梁是骨皮质在松质骨内的延伸部分,在骨髓腔中呈现不规则的立体网状结构,具有承载负荷的支持作用。骨小梁数目、质量、方向和厚度等微观空间形态结构特性对骨强度及密度的维持至关重要。

要。自拟补肾活血颗粒、强骨康疏胶囊及六味地黄汤可以改善 OVX 大鼠骨小梁立体空间结构(数量、厚度、间距、面积),增加 BMD,其作用机制可能与上调 OPG 表达,抑制 RANKL 表达有关^[32-34]。仙灵骨葆胶囊、益肾健骨颗粒和补肾活血颗粒通过提高 OVX 大鼠 OPG/RANKL 的值,进而改善 OVX 大鼠 BMD^[35-37]。

骨组织的生物力学性能对骨强度及稳定性有重要作用,常见的评价指标包括最大载荷、弹性模量、断裂载荷等。左归丸、藤黄健骨胶囊、地黄饮子、二至丸和温肾强身散均能够提高 OVX 大鼠股骨生物力学性能(最大载荷、弹性模量、断裂载荷、定伸长-位移),通过上调 OPG 表达,降低 RANKL 和 RANK 含量,提高骨矿含量,达到骨代谢平衡^[38-42]。

3.3 改善血清骨代谢标志物

血清骨代谢标志物反映了骨代谢的情况,常见的指标包括血清钙、血清磷、PINP、CTX-I、ALP 及 BALP 等^[50]。自拟补肾活血颗粒、左归丸和藤黄健骨胶囊均能提高 OVX 大鼠血清钙和磷水平,上调 OPG 表达^[32,38-39]。二至丸、续苓健骨方和独活寄生汤均能提高 OVX 大鼠的 ALP 或 BALP,上调 OPG 表达及下调 RANKL 表达^[41,43-44]。补肾活血方能有

效抑制大鼠老年性 OP 模型的骨吸收及血管钙化、调节 PINP 和 CTX-I 浓度、提高 BMD 及 OPG 的表达、降低 RANKL 表达^[45]。护骨胶囊能提高血清代谢标志物 BALP、ALP、TRAP-5a、TRAP-5b、PINP 等水平,降低 CTX-I、羧化不全骨钙素等水平^[31]。另外, Li 等^[46]建立分泌素下调和过表达小鼠模型,发现强骨饮可以通过增加分泌素水平,上调 OPG 表达,下调 RANKL 和 RANK 表达。

3.4 降低血清炎症因子水平

血清水平炎症因子的变化与 POP 关系密切。由于雌激素对辅助性 T 细胞等免疫细胞发挥着重要调控作用,当雌激素缺乏后则会引起免疫细胞分泌大量的炎症因子,如 TNF- α 、IL-1、IL-6 及 IL-8 等^[51]。炎症因子积累会导致 NF- κ B 信号激活,降低 OPG 表达,促进 RANKL 的表达, RANKL 作为 OC 生成和激活的诱导剂会进一步导致 OPG/RANKL/RANK 信号通路被激活,直接激活 OC 的分化,骨吸收作用增强,骨形成减弱,导致骨重建失衡。温肾通络止痛汤和补肾通络方在治疗 POP 的作用机制均包括降低 OVX 大鼠模型外周血清炎症因子 IL-1、IL-6 及 TNF- α , 升高 OPG/RANKL 表达,抑制 OC 活性,抑制骨吸收^[47-48]。还有研究发现,肉苁蓉复方颗粒不仅可以提高 OVX 大鼠模型 BMD,还可以抑制血清炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的表达,达到降低 OC 增殖,抑制骨吸收的作用^[49]。

4 结语与展望

目前,关于探讨补肾中药通过 OPG/RANKL/RANK 信号通路治疗 POP 的研究有很多。补肾单味中药或补肾中药复方通过直接或间接抑制 OC 活性、促进 OB 增殖分化、提高骨生物力学性能、改善骨组织形态结构、调节血清骨代谢标志物或血清炎症因子水平等多种途径均可达到治疗 POP 效果,而这均与 OPG/RANKL/RANK 信号通路有着密切的关系。运用补肾中药多途径的调节 OPG/RANKL 值,改变 OC 或 OB 增殖分化的活力,重建骨代谢的平衡是基于该通路治疗 POP 的关键。另外,多种作用途径之间的关系并不是相互独立的,而是相辅相成、紧密联系的。OPG/RANKL/RANK 信号通路不仅为临床实践中补肾中药治疗 POP 提供了作用机制的理论依据,更有助于在未来研发更多的治疗 POP 的新药物。

虽然关于补肾中药治疗 POP 的作用机制研究已经取得了一些成果,但仍然存在一定的不足:首

先,补肾中药的成分非常复杂,其具体药效学的分子生物学机制并不明确。因此,无论是单味还是复方补肾中药,其具体参与治疗的有效成分及相互作用关系仍等待着今后更多的研究来阐明。随着补肾中药有效成分研究的不断推进,基于 OPG/RANK/RANKL 信号通路的补肾中药有效成分的分子之间作用规律将会不断被挖掘,这必将会为中药治疗 POP 提供更加坚固的理论依据;其次,补肾中药复方存在药物之间的多成分、多靶点、多通路、多途径的复杂作用关系。那么,除了 OPG/RANK/RANKL 信号通路之外,可能还有其他信号通路、靶点或途径参与整个调节过程。因此,准确的寻找靶点或通路途径,并且分析它们之间的交互调控作用,才能为进一步的实验研究或临床应用提供可靠的依据;另外,目前关于 POP 动物模型多以 OVX 大鼠模型为主,而老年性 OP 模型较少见。随着社会人口老龄化加快,建立合适的老年性 OP 动物模型,对指导 POP 的发病机制及探究药物调节过程具有重要意义;最后,如何把细胞或动物实验的研究结果转化为临床实践所用,量化补肾中药通过 OPG/RANKL/RANK 信号通路在人体骨代谢中的具体作用机制仍需要进一步探索。总而言之,基于 OPG/RANKL/RANK 信号通路探讨补肾中药对 POP 作用机制的研究会随着科学技术的不断发展而得到深入挖掘。无论是细胞或动物实验,还是临床研究都有广阔的前景去深入探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Watts N B, Camacho P M, Lewiecki E M, *et al.* American association of clinical endocrinologists/American college of endocrinology clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis-2020 update [J]. *Endocr Pract*, 2021, 27(4): 379-380.
- [2] 罗令, 孙晓峰, 皮丕喆, 等. 近 10 年来我国中老年人骨质疏松症患病率的荟萃分析 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(11): 1415-1420.
- [3] Cheng X G, Zhao K P, Zha X J, *et al.* Opportunistic screening using low-dose CT and the prevalence of osteoporosis in China: A nationwide, multicenter study [J]. *J Bone Miner Res*, 2021, 36(3): 427-435.
- [4] Hadji P, Hardtstock F, Wilke T, *et al.* Estimated epidemiology of osteoporosis diagnoses and osteoporosis-related high fracture risk in Germany: A German claims data analysis [J]. *Arch Osteoporos*, 2020, 15(1): 127.

- [5] Yasuda H. Discovery of the RANKL/RANK/OPG system [J]. *J Bone Miner Metab*, 2021, 39(1): 2-11.
- [6] Udagawa N, Koide M, Nakamura M, et al. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways [J]. *J Bone Miner Metab*, 2021, 39(1): 19-26.
- [7] Tobeiha M, Moghadasian M H, Amin N, et al. RANKL/RANK/OPG pathway: A mechanism involved in exercise-induced bone remodeling [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 6910312.
- [8] Ono T, Hayashi M, Sasaki F, et al. RANKL biology: Bone metabolism, the immune system, and beyond [J]. *Inflamm Regen*, 2020, 40: 2.
- [9] Azizieh F Y, Shehab D, Jarallah K A, et al. Circulatory levels of RANKL, OPG, and oxidative stress markers in postmenopausal women with normal or low bone mineral density [J]. *Biomark Insights*, 2019, 14: 1177271919843825.
- [10] 韦秋, 侯佳华, 覃小燕, 等. 女贞子多糖抗去势小鼠骨质疏松作用研究 [J]. 天津中医药, 2022, 39(1): 104-109.
- [11] 董佳梓, 鞠大宏, 贾朝娟, 等. 桑寄生、枸杞子、桑椹对去卵巢大鼠骨质疏松症的治疗作用及其机理探讨 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(6): 483-486.
- [12] 李啸群, 徐凯航, 纪方. 补骨脂异黄酮抑制破骨细胞分化缓解小鼠去卵巢骨质疏松 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(2): 186-190.
- [13] 李伟娟, 谢保平, 石丽颖, 等. 从 ER α /RANK 通路探讨淫羊藿苷抑制破骨细胞分化作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 121-126.
- [14] 郑德开, 阮诗钊, 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.
- [15] 孙向明, 宋辉, 赵丽珠, 等. 菟丝子拟雌激素作用体内直接作用物质的发现 [J]. 药学报, 2021, 56(7): 1826-1831.
- [16] 严斐霞, 朱徐东, 王松, 等. 基于蛋白质组学探讨九蒸九晒地黄延缓去卵巢小鼠脑衰老的药效与机制 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 141-150.
- [17] 胡扬, 高佳雪, 綦峥, 等. 肉苁蓉总苷中 4 种雌激素样活性成分的药动学研究 [J]. 中成药, 2021, 43(8): 1988-1994.
- [18] Wang Z, Wang D, Yang D, et al. The effect of icariin on bone metabolism and its potential clinical application [J]. *Osteoporos Int*, 2018, 29(3): 535-544.
- [19] 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.
- [20] 张峻玮, 李琰, 薛海鹏, 等. 骨碎补经骨髓间充质干细胞调节 OPG/RANKL/RANK 通路抑制破骨细胞的实验研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(5): 617-624.
- [21] He J B, Li X J, Wang Z Y, et al. Therapeutic anabolic and anticatabolic benefits of natural Chinese medicines for the treatment of osteoporosis [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1344.
- [22] 刘昊, 李丽娅, 叶蕾, 等. 基于网络药理学探讨山茱萸治疗骨质疏松症的作用机制 [J]. 中医临床研究, 2021, 13(16): 27-31.
- [23] Lin Z, Zheng J J, Chen J R, et al. Antiosteoporosis effect and possible mechanisms of the ingredients of fructus psoraleae in animal models of osteoporosis: A preclinical systematic review and meta-analysis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 2098820.
- [24] 贾朝娟. 桑寄生、墨旱莲、五味子和山药对去卵巢大鼠骨质疏松症治疗作用的机理探讨 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [25] 董佳梓. 沙苑子、狗脊、肉苁蓉和韭菜子对去卵巢大鼠骨质疏松症治疗作用的机理探讨 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2011.
- [26] 陶益, 陈西, 任玉超, 等. 酒续断对骨质疏松型大鼠 OPG/RANK/RANKL 轴系统的调控研究 [J]. 现代医药卫生, 2016, 32(8): 1127-1129.
- [27] 曹寅生, 李喆, 李木清. 金刚健骨片对骨质疏松症模型大鼠骨组织 OPG/RANKL/RANK 系统影响的实验研究 [J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(3): 161-163.
- [28] 杨军, 莫新民. 壮骨止痛方对骨质疏松大鼠 Wnt/ β -catenin、RANKL/RANK/OPG 信号通路的影响 [J]. 北京中医药, 2017, 36(7): 611-613.
- [29] 黄淑燕. 补肾化痰方对去势骨质疏松大鼠 OPG/RANKL/RANK 通路影响的研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [30] 吕朝晖, 李伟举, 董云鹏, 等. 筋骨胶囊对骨质疏松大鼠骨髓细胞 OPG 和 RANKL mRNA 表达量的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(5): 5-8.
- [31] 钟佳贤, 林泽苗, 贾欢欢, 等. 护骨胶囊对去卵巢大鼠血清骨代谢指标的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(5): 602-608.
- [32] 惠红岩, 董玉珍. 自拟补肾活血颗粒对去卵巢骨质疏松症大鼠的治疗作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(9): 1683-1687.
- [33] 冯佳, 袁林, 苏林冲, 等. 强骨康疏胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠骨细微结构及骨代谢的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(9): 797-801.
- [34] 雷欣东, 杨磊, 朱付平, 等. 不同炮制山茱萸入方的六味地黄汤对去卵巢大鼠股骨 OPG/RANK/RANKL 基因表达的干预作用及机理 [J]. 中医药信息, 2021, 38(9): 16-21.
- [35] 冯建书, 付强, 闫世杰, 等. 仙灵骨葆对骨质疏松大鼠 OPG/RANK/RANKL 表达的影响 [J]. 现代生物医学进

- 展, 2012, 12(23): 4438-4441.
- [36] 万明明. 益肾健骨颗粒经 BMSCs 调节 OPG/RANKL/RANK 通路对破骨细胞的实验研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2021.
- [37] 陈奇红, 何帮剑, 姚新苗. 补肾活血颗粒对去势骨质疏松大鼠 OPG/RANK/RANKL 系统的影响 [J]. 中国中医药科技, 2016, 23(4): 403-406.
- [38] 安方玉, 颜春鲁, 刘永琦, 等. 左归丸对去势骨质疏松大鼠钙磷代谢和细胞核因子 κ B 受体活化因子配体/骨保护素的影响 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2018, 11(3): 261-266.
- [39] 颜春鲁, 李盛华, 安方玉, 等. 藤黄健骨胶囊对骨质疏松大鼠 OPG/RANK/RANKL 调节轴的影响 [J]. 解放军药学报, 2018, 34(3): 217-220.
- [40] 颜春鲁, 王琳, 安方玉, 等. 地黄饮子水煎剂对去势骨质疏松大鼠生物力学及 OPG/RANKL/RANK 含量的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(10): 4642-4645.
- [41] 姜宜妮, 梁健, 刘江源, 等. 基于 OPG/RANKL 信号轴探讨二至丸治疗绝经后骨质疏松的作用机制 [J]. 世界中医药, 2022, 17(1): 92-97.
- [42] 杨博文, 颜春鲁, 王鹏, 等. 补肾中药温肾强身散对去卵巢大鼠骨代谢和 OPG/RANKL 平衡的影响 [J]. 中医研究, 2017, 30(9): 61-64.
- [43] 葛继荣, 李生强, 陈娟, 等. 续苓健骨方对骨质疏松模型大鼠骨密度及 OPG 和 RANKL 蛋白表达的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(5): 592-595.
- [44] 万春飞, 詹秀琴, 孙玉明. 独活寄生汤含药血清对成骨细胞 OPG/RANKL mRNA 表达的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(4): 806-809.
- [45] 杨娜. 补肾活血方联合 Denosumab 介导 OPG/RANKL 信号通路对老年性骨质疏松大鼠血管钙化的影响 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2019.
- [46] Li X F, Cui L K, Chen W H, *et al.* QiangGuYin modulates the OPG/RANKL/RANK pathway by increasing secretin levels during treatment of primary type I osteoporosis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 7114139.
- [47] 郭杨, 郑苏阳, 马勇, 等. 温肾通络止痛汤对去卵巢模型大鼠骨密度与血清生化指标的影响 [J]. 山东中医杂志, 2017, 36(12): 1055-1058.
- [48] 闵文, 韩龙, 韩诗雨, 等. 补肾通络方对骨质疏松大鼠骨吸收的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(19): 4743-4746.
- [49] 徐双华, 吴清. 肉苁蓉复方颗粒对大鼠骨质疏松症的治疗作用 [J]. 中南药学, 2021, 19(9): 1854-1858.
- [50] Eastell R, Szulc P. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5(11): 908-923.
- [51] Chen C H, Chen H A, Liao H T, *et al.* Soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in ankylosing spondylitis: OPG is associated with poor physical mobility and reflects systemic inflammation [J]. *Clin Rheumatol*, 2010, 29(10): 1155-1161.

[责任编辑 崔艳丽]