

## 中药多糖防治骨质疏松症作用及机制的研究进展

刘广臣<sup>1</sup>, 张红梅<sup>2</sup>, 杨帆<sup>1</sup>, 鲁明<sup>1</sup>, 刘振刚<sup>1</sup>, 盛瑜<sup>3\*</sup>, 张伯寅<sup>1\*</sup>

1. 吉林大学中日联谊医院 骨科, 吉林 长春 130033
2. 吉林大学第一医院 药学部, 吉林 长春 130031
3. 北华大学药学院, 吉林 吉林 132013

**摘要:** 骨质疏松症是一种进行性的全身骨骼疾病, 其发病机制极为复杂。多糖是广泛存在于中药材中的生物大分子, 具有多种药理活性。从基因、蛋白、体内外实验等多维度研究综述了中药多糖防治骨质疏松症的作用和机制, 总结发现, 中药多糖能够通过激活或/和抑制 Wnt-磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、活化 T 细胞核因子 (nuclear factor-activated T cell 1, NFATc1)、内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS)、骨保护素 (osteoprotegerin, OPG)/核因子- $\kappa$ B 受体活化因子 (receptor activator of NF- $\kappa$ B, RANK)/RANK 配体 (RANK ligand, RANKL)、Hippo (Hpo)、细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK)/糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ )/ $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin)、骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2)/Smads、细胞周期素 D1 蛋白 (Cyclin D1)、核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor NF-E2-related factor 2, Nrf2) 等多种信号通路, 进而调节成骨细胞与破骨细胞之间的动态平衡, 最终达到维持骨稳态、发挥防治骨质疏松症的目的。中药多糖因具有多靶点、不良反应小、来源广泛等优势, 为骨质疏松症的预防和治疗带来了更多的可能。

**关键词:** 多糖; 骨质疏松症; 多靶点; 促进成骨; 抑制破骨

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)12-3831-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.030

## Research progress on effects and mechanisms of traditional Chinese medicine polysaccharides in prevention and treatment of osteoporosis

LIU Guang-chen<sup>1</sup>, ZHANG Hong-mei<sup>2</sup>, YANG Fan<sup>1</sup>, LU Ming<sup>1</sup>, LIU Zhen-gang<sup>1</sup>, SHENG Yu<sup>3</sup>, ZHANG Bo-yin<sup>1</sup>

1. Department of Orthopedics, China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun 130033, China
2. Department of Pharmacy, The first Hospital of Jilin University, Changchun 130031, China
3. College of Pharmaceutical Science, Beihua University, Jilin 132013, China

**Abstract:** Osteoporosis is a progressive systemic bone disease with extremely complex pathogenesis. Polysaccharides are biomacromolecules widely found in Chinese herbal medicines and possess a variety of pharmacological activities. In this paper, the effects and mechanisms of traditional Chinese medicine polysaccharides in prevention and treatment of osteoporosis from a multidimensional study of genes, proteins, and *in vivo* and *in vitro* experiments were reviewed. Traditional Chinese medicine polysaccharides were able to prevent and treat osteoporosis by activating or/and inhibiting Wnt, phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt), mitogen-activated protein kinase (MAPK), nuclear factor-activated T cell 1 (NFATc1), endoplasmic reticulum stress (ERS), osteoprotegerin (OPG)/receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK)/RANK ligand (RANKL), Hippo (Hpo), extracellular regulated protein kinases (ERK)/glycogen synthase kinase 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ )/ $\beta$ -catenin, bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)/Smads, Cyclin D1, nuclear factor NF-E2-related factor 2 (Nrf2) and other signaling pathways, thus regulating the dynamic balance

收稿日期: 2022-02-05

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81701225); 国家自然科学基金青年基金项目 (82004067); 吉林省科技厅自然科学基金资助项目 (20200201436JC); 吉林省科技厅优秀青年人才基金资助项目 (20190103077JH); 吉林省卫生与健康青年科技骨干培养计划项目 (2020Q020); 吉林省教育厅“十三五”科研规划项目 (JKH20201056KJ); 吉林省中医药科技项目 (2022080)

作者简介: 刘广臣 (1983—), 男, 主治医师, 博士, 研究方向为骨质疏松症骨折及脊柱损伤。E-mail: liuguangchen@jlu.edu.cn

\*通信作者: 盛瑜 (1984—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为生物大分子制备及药理作用研究。E-mail: shengyushirley@163.com

张伯寅 (1986—), 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向为脊柱外科的基础与临床。E-mail: drboyin@jlu.edu.cn

between osteoblasts and osteoclasts, ultimately achieving the purpose of maintaining bone homeostasis, preventing and treating osteoporosis. In conclusion, traditional Chinese medicine polysaccharides have brought more possibilities for the prevention and treatment of osteoporosis due to their advantages of multi-targeting, low side effects and wide sources.

**Key words:** polysaccharides; osteoporosis; multi-target; osteogenesis accelerating; osteoclasts inhibiting

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种常见的进行性的全身骨骼疾病, 它以伴有微结构破坏的骨密度降低为特点, 表现为骨脆性的增加, 进而导致骨折的危险性升高<sup>[1]</sup>。OP 是一种与年龄、全身代谢、激素影响、遗传因素有关的复杂疾病, 50 岁以上的女性人群患病率约为 33.3%, 男性约为 25.0%, 虽然女性骨质疏松症的患病率较高, 但男性骨折后死亡率较高<sup>[2-3]</sup>。OP 可分为原发性、继发性和特发性 3 大类, 其中, 原发性骨质疏松症包括更年期/绝经后骨质疏松症 (I 型)、老年骨质疏松症 (II 型); 继发性骨质疏松症指由任何影响骨代谢的疾病和/或药物及其他明确病因导致的骨质疏松, 诱发原因包括性腺功能减退 (包括前列腺癌雄激素剥夺治疗的男性)、酗酒、糖皮质激素过量 (内源性或外源性)、吸收不良 (包括炎症性肠病、原发性胆汁性肝硬化和胃转流术后)、慢性肾脏疾病 (相关继发性甲状旁腺功能亢进)、原发性甲状旁腺功能亢进、甲状腺功能亢进、系统性疾病 (恶性肿瘤、多发性骨髓瘤、肥大细胞增多)、慢性阻塞性肺疾病、1 型和 2 型糖尿病、人类免疫缺陷病毒感染、炎性风湿性疾病以及使用抗惊厥药和化疗药物等; 特发性骨质疏松症特指 70 岁以下的男性和青少年患有骨质疏松症<sup>[4-5]</sup>。随着人类预期寿命的增加和人口老龄化的加剧, OP 为世界范围内的代谢性骨病, 在预防和治疗方面已受到了人们极为广泛的关注。

目前, 双膦酸盐、降钙素、雌激素和雷洛昔芬是治疗骨质疏松症的常用药物<sup>[6]</sup>。然而, 这些药物的不良反应严重制约了其临床应用, 如雌激素等激素相关疗法可以维持骨密度, 但会增加患癌症、血栓和心脏病的风险; 双膦酸盐可以抑制骨吸收并促进骨形成, 但它会引起食道炎症和胃溃疡等胃肠道问题<sup>[7-8]</sup>。因此, 需要研发更多不良反应少的药物来防治 OP。中药因其具有整体治疗效果较好、不良反应少、适合长期使用的特点而逐渐成为 OP 临床研究的热点。

多糖是由 10 个或 10 个以上的单糖通过脱水作用而形成的具有  $\alpha$  或  $\beta$  糖苷键的一类链状高分子聚合物, 几乎存在于所有的生物中<sup>[9]</sup>, 并在中药材中含

量尤为丰富。大量研究表明, 中药多糖及其衍生物具有免疫调节、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、抗凝血、护肝、降血糖等药理活性<sup>[10]</sup>。近年来, 研究发现, 中药多糖对 OP 具有较好的防治作用, 但缺乏对其系统性的报道, 因此, 本文对中药多糖防治 OP 的作用及机制等研究现状进行综述, 以期推动其在相关的医药领域的深入开发及应用。

## 1 防治 OP 的中药多糖来源

中医药防治 OP 历史悠久, 称其为“骨痹”“骨萎”“骨枯”, 病位在骨, 实与肝脾肾三脏相关, 几千年来, 治疗 OP 多采用补肾填精、健脾、活血化瘀的中药<sup>[11]</sup>。目前, 已研究具有防治 OP 功效的中药多糖, 多来源于药用植物, 以滋补肝肾、强筋骨的中药材居多, 包括巴戟天、牛膝、枸杞、(川) 续断、淫羊藿、狗脊、锁阳等; 同时, 具有健脾、润肺、益肾功效的黄精研究也较为广泛; 此外, 其他功效的中药材研究相对较为零散, 包括黄芪、荷叶、当归、没药、肉苁蓉、天麻、石菖蒲、铁皮石斛、防风等。除药用植物外, 鹿茸作为动物药材, 其多糖也具有一定防治 OP 的功效。

## 2 中药多糖防治 OP 的作用及机制

### 2.1 具有促进成骨和抑制破骨双重作用的中药多糖

**2.1.1 牛膝多糖** (*Achyranthes bidentata* polysaccharide, ABP) 从牛膝中提取分离出粗多糖 AB50、AB70、ABPB 及一系列精制多糖 ABW50-1、ABW70-1、ABPB-3、ABPB-4 等, 其中 400 mg/(kg·d) 粗多糖 AB50、AB70 和 ABPB 均能显著提高卵巢切除大鼠的骨密度、骨矿含量、骨小梁厚度 (trabecular bone thickness, Tb.Th)、骨小梁数目 (trabecular number, Tb.N) 和生物力学特性, 降低骨小梁分离度 (trabecular separation, Tb.Sp), 同时, AB50、AB70 能够显著降低血清中骨成熟标志物 I 型前胶原氨基端原肽 (procollagen I N-terminal propeptide, PINP)、骨钙素 (osteocalcin, OCN)、I 型胶原蛋白 C 末端交联肽 (C-terminal cross linked peptide, CTX) 含量, 说明 AB50、AB70 和 ABPB 对卵巢切除大鼠骨质疏松有显著的治疗作用<sup>[12-14]</sup>。在斑马鱼糖皮质激素致骨质疏松 (glucocorticoid-induced osteoporosis, GIO)

模型中,牛膝多糖 ABPB-3 (0.032 4~0.518 0  $\mu\text{mol/L}$ ) 和 ABW50-1 (2.62~23.82  $\mu\text{mol/L}$ ) 以浓度相关性的方式显著增加颅骨的相对荧光强度,提示 ABPB-3 和 ABW50-1 具有促进成骨活性的作用<sup>[12,14]</sup>。此外, ABW70-1 (50  $\mu\text{g/mL}$ ) 和 ABPB-4 (0.01  $\mu\text{mol/L}$ ) 可通过促进小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 MC3T3-E1 细胞增殖、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性、矿物结节形成及细胞中成骨相关基因锌指结构转录因子 (osterix, *OSX*)、*OCN*、骨唾液酸蛋白基因 (bone sialoprotein, *BSP*) 和骨桥素基因 (osteopontin, *OPN*) 表达,促进 MC3T3-E1 细胞的成骨分化<sup>[13,15]</sup>。

破骨细胞的发生是由核因子- $\kappa\text{B}$  受体活化因子配体 (receptor activator of NF- $\kappa\text{B}$  ligand, RANKL) 和巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF) 启动的, RANKL 和 M-CSF 分别与破骨细胞前体表面的受体 RANK 和巨噬细胞集落刺激因子受体 c-FMS 结合,并激活许多关键的转录因子<sup>[16]</sup>。活化 T 细胞核因子 (nuclear factor-activated T cell 1, NFATc1) 是 RANKL 诱导的破骨细胞形成所必需的蛋白质,以高度磷酸化的形式存在于细胞质中,在 RANKL 和 RANK 相互作用引起细胞内钙水平波动后, NFATc1 去磷酸化并进入细胞核以刺激破骨细胞特异性的基因表达,包括整合素  $\beta 3$  (Integrin  $\beta 3$ )、人抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate-resistant acid phosphatase, ACP5/TRACP) 和组织蛋白酶 K (cathepsin K, CTSK),此外, NFATc1 的表达受原癌基因蛋白 c-FOS 调控。丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 是由脯氨酸介导的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,传统的 MAPK 包括 p38、细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 1/2、ERK5 和 c-JUN 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 1/2/3 3 个亚家族成员。已经证明 MAPK 通路是破骨细胞形成的关键途径,如磷酸化 JNK 可以诱导激活蛋白-1 (activator protein-1, AP-1) 活化,从而刺激破骨细胞前分化、存活、融合和成熟破骨细胞的激活; p38 磷酸化的抑制影响破骨细胞的生成和骨吸收; ERK 途径可激活 c-FOS 的转录以促进骨吸收破骨细胞的分化。Song 等<sup>[17]</sup>研究发现,在骨髓单核细胞/骨髓巨噬细胞中,牛膝多糖 10  $\mu\text{mol/L}$  可以抑制由 RANKL 诱导的蛋白 JNK、ERK、p38 的磷酸化以及 NFATc1、c-FOS、CTSK、Integrin  $\beta 3$  的活化,从而

抑制破骨细胞生成,即 ABP 可能通过抑制 MAPK 和 NFATc1 信号通路防治 OP。

上述研究中, Yan 等<sup>[14]</sup>将斑马鱼作为体内实验的动物模型,避免了多糖研发过程中相对分子质量均一成分制备量少与体内实验耗样量大之间的矛盾,是多糖研究中扬长避短的典型。

**2.1.2 黄精多糖 (Polygonatum sibiricum polysaccharide, PSP)** 经典 Wnt 信号通路,即 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 信号通路与刺激成骨分化、骨形成和预防骨质疏松密切相关,且具有双向调节作用。细胞外 Wnt 信号蛋白与质膜受体结合后,  $\beta$ -catenin 在细胞质积聚并进入细胞核,随后通过基因转导以及 T 细胞因子/淋巴增强因子转录因子诱导 Wnt 最终作用的目标基因转录,从而引起后续的细胞反应的发生。糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ ) 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在无 Wnt 信号时, GSK3 $\beta$  能将磷酸基团结合至  $\beta$ -catenin N 端的丝氨酸/苏氨酸残基上,磷酸化的  $\beta$ -catenin 经  $\beta$ -转录重复包含蛋白 ( $\beta$ -transducin repeat containing protein,  $\beta$ -TRCP) 泛素化共价修饰后,被蛋白酶体降解。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在功能上与蛋白激酶 Hippo (Hpo)、I 型膜蛋白 NOTCH 和转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 等类似,并与发育调控相关的信号通路有着不同程度的交联。Hpo 通路参与成骨分化,其下游核心转录共激活因子 YAP/TAZ (Yes-associated protein/tafazzin) 能与成骨分化的转录因子 Runt 相关转录因子 2 (Runt related transcription factor 2, RUNX2) 结合入核,促进成骨相关基因表达,从而促进成骨分化,同时,磷酸化的 TAZ 能够直接结合  $\beta$ -catenin 蛋白从而促使其滞留细胞质内不能入核,从而抑制了成骨分化。张磊<sup>[18]</sup>研究发现,在体外实验中,黄精多糖 25 mg/L 能够促进骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 中 TAZ、RUNX2、ALP、OCN 基因表达,并能通过阻止 Hpo 信号通路中 TAZ 蛋白降解从而促进 BMSCs 的成骨分化,并不影响其细胞增殖,在体内实验中,黄精多糖 800 mg/(kg·d)能阻止去卵巢大鼠的骨密度下降,骨量丢失和骨微结构破坏,发挥骨质疏松症的防治作用。同时,该团队研究发现,黄精多糖能通过 ERK/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenin 信号通路在体外促进成骨细胞的分化和矿化<sup>[19]</sup>。

LIMD1 (LIM domain-containing protein 1) 参与

细胞信号传导、分化和转录调控等,是 Hpo 信号通路重要的下游信号分子,也是 miR-1224 调控的重要靶基因。Li 等<sup>[20]</sup>研究发现,在小鼠巨噬细胞样细胞系 RAW264.7 细胞中,黄精多糖在抑制破骨细胞生成时,细胞中有 27 个差异表达的 miRNA,其中最显著的是 miR-1224,进一步研究表明,黄精多糖可有效减弱 miR-1224 进而促进破骨细胞内 LIMD1 蛋白表达,由此可知,黄精多糖以通过抑制 miR-1224 来减弱 Hpo 信号通路对破骨细胞分化的促进作用。

上述研究主要体现了黄精多糖可通过 Hpo 信号通路促进成骨细胞分化,抑制破骨细胞分化,不仅证实了黄精多糖防治 OP 的作用和机制,也间接说明 Hpo 信号通路在 OP 防治中具有重要作用,通路蛋白可作为防治 OP 的相关靶点。

**2.1.3 黄芪多糖**(*Astragalus polysaccharides*, APS) 骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 与多种细胞因子形成 BMP-2 信号通路,可促进成骨细胞分化和骨细胞外基质合成与分泌。BMP-2 与靶细胞表面丝氨酸/苏氨酸受体 (BMPR-I、BMPR-II) 结合而发挥作用。BMP-2 与 BMPR-II 结合后构成二聚体, BMPR-I 与其特异性结合并发生自身磷酸化,激活受体调控因子 Smad1、5、8, 再与 Smad4 结合并转移到细胞核中,以介导成骨细胞相关基因的表达。张小钰等<sup>[21]</sup>研究发现,黄芪多糖 400 mg/(kg·d) 可以通过上调卵巢切除大鼠体内的 BMP-2、p-Smad1 和 p-Smad5 的表达,显著激活 BMP-2/Smads 信号通路,促进成骨分化,降低大鼠血清中 ALP 和破骨细胞水平,增加血钙含量,增加股骨骨密度、骨体积分数 (BV/TV)、表面积体积分数 (BS/TV)、Tb.Th、Tb.N, 减少 Tb.Sp, 改善骨微结构,从而发挥防治 OP 的作用。

炎症除了在许多慢性疾病中扮演重要角色外,也是 OP 的高危因素。促炎性细胞因子,如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), 可促进破骨细胞生成并阻止成骨细胞分化,参与 OP 的发生。白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 在骨质疏松妇女中显著升高,并被认为是绝经后 OP 中起重要作用。ACP5 是破骨细胞分化的重要生物标志物。多糖作为生物大分子不能被宿主来源的酶降解为胃和小肠中可吸收的单糖,因此它们大部分流入大肠,成为肠道微生物的发酵底物,并影响机体肠道菌群结构。Liu 等<sup>[22]</sup>研究发现,在 GIO 大鼠模型中,黄

芪多糖可以恢复骨密度和修复骨微结构的损伤,并可使大鼠体内 ACP5 和促炎细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-2 显著降低,同时,显著改变了大鼠肠道微生物群(如 *c\_Bacteroidia*、*p\_Bacteroidetes*、*g\_Allprevotella*) 的结构和功能,这些细菌相对丰度的变化与 ACP5 和 TNF- $\alpha$  水平的降低相关联,上述结果提示黄芪多糖 150 mg/(kg·d) 可能通过调节肠道菌群、抑制炎症,进而抑制破骨细胞的生成改善 OP。DNA 甲基化是一种表观遗传学事件, Liu 等<sup>[23]</sup>通过基于差异甲基化位点的基因集富集分析发现,在 GIO 大鼠模型中,黄芪多糖 150 mg/(kg·d) 能够使 OP 相关的基因启动子 DNA 甲基化发生变化,包括钙稳态、破骨细胞/成骨细胞平衡、Wnt 信号通路和激素相关过程,初步阐明了黄芪多糖改善 OP 的表观遗传学机制。

上述研究中,将微生物肠道菌群、炎症、基因组学等疾病研究的热点应用于中药多糖防治 OP 的探索中,体现了中药多糖在疾病治疗时多靶点、多维度的作用优势。

**2.1.4 防风多糖** (*Saposhnikovia divaricata polysaccharide*, SPS) OP 患者血清中  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$  浓度大幅增,  $P^{2-}$  通常与两者浓度呈负相关,因此,  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $P^{2-}$  常作为骨代谢常用检测指标。ALP 与成骨细胞及前成骨细胞活性呈线性相关,成骨细胞活性越高,ALP 水平越高。IL-6、TNF- $\alpha$  等免疫调节因子能够通过作用于 NF- $\kappa$ B 受体,增强破骨细胞活性,参与 OP 的发生和发展。TGF- $\beta$ 1、一氧化氮 (nitric oxide, NO)、一氧化氮合酶 (NO synthase, NOS) 等因子能够抑制破骨细胞形成、成熟或促进成骨细胞分化、增殖,抑制骨吸收。徐俊<sup>[24]</sup>研究发现,防风多糖 500 mg/(kg·d) 作用于卵巢切除大鼠,能够有效降低其血清中  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、ALP 和 IL-6、TNF- $\alpha$  的浓度,提高  $P^{2-}$ 、TGF- $\beta$ 1、NO、NOS 的浓度,增加股骨干质量,缓解卵巢切除大鼠的骨吸收状态,达到治疗效果。

**2.1.5 续断多糖** (*Dipsacus asper polysaccharide*, DAP) 在血管生成方面,血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 在向骨组织供血中起着至关重要的作用,其缺乏最终会加重 OP。磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B, (protein kinase B, Akt) /内皮型 NO 合酶 (endothelial nitric oxide synthases, eNOS) 信号通路是 VEGF 下游分子,VEGF 能够诱导 Akt 的磷酸化,进而磷酸化下游 eNOS 底物,诱导随后

的 NO 生成, 最终促进血管生成的发生, 因此 PI3K/Akt/eNOS 信号通路促进血管生成可以改善骨组织的局部血供, 从而促进成骨的进程。RANKL 与 RANK 的结合能促进骨重吸收, 抑制破骨细胞凋亡。骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 是成骨细胞成熟的标志物, 能抑制前成骨细胞向成熟破骨细胞分化。OPG 作为竞争性诱饵受体, 能够阻止 RANKL 与 RANK 的结合, 有效抑制破骨细胞分化, 预防过度骨吸收。因此, OPG、RANKL 和 RANK 是调节成骨细胞和破骨细胞分化的关键分子, 打破 RANKL 和 OPG 的平衡会导致 OP。Sun 等<sup>[25]</sup>研究发现, 续断多糖 100 mg/(kg·d) 可显著防止卵巢切除引起的大鼠骨丢失、生物力学降低和体质量下降, 以及提高 U-Ca/Cr、U-P/Cr、ALP、甲状腺受体辅助蛋白 (triiodothyronine receptor auxiliary protein, TRAP) 水平, 进一步探索发现, DAP 诱导的抗 OP 作用是通过在蛋白和 mRNA 水平上调 VEGF 和 OPG 的表达, 下调 RANK 和 RANKL 的表达, 以及激活 PI3K/Akt/eNOS 信号通路实现的, 由此可知, DAP 能促进成骨细胞的增殖和分化, 抑制破骨细胞的分化和功能, 具有预防和治疗绝经后 OP 的作用。

## 2.2 具有促进成骨作用的中药多糖

### 2.2.1 巴戟天多糖 (*Morinda officinalis* polysaccharide, MOP)

Zhang 等<sup>[26]</sup>从巴戟天中提取分离出粗多糖以及一系列精制多糖 MO50、MOW50-1、MOP50-2、MO70、MOP70-1、MOP70-2、MO90、MOW90-1 等。研究发现, 巴戟天粗多糖 400 mg/(kg·d) 对卵巢切除引起的大鼠骨丢失和生物力学功能障碍有明显的保护作用, 巴戟天粗多糖组大鼠的骨小梁微结构退化程度减轻, 骨转换标志物 [包括 CTX、骨特异性碱性磷酸酶 (bone specific alkaline phosphatase, BAP)、PINP、HYP] 水平降低, 体外实验表明, MOW50-1 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  可通过增加 ALP 活性, 从而促进小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 MC3T3-E1 的成骨分化。RUNX 2 是 RUNT 结构域基因家族的成员, 是经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的重要下游基因, 可促进成骨细胞的增殖和分化, RUNX 2 与 OSX 是调控早期成骨细胞分化的关键转录因子; BSP、OCN 和 OPN 基因参与终末成骨细胞分化和骨矿化。研究发现, MOP70-1 40.1  $\mu\text{mol}/\text{L}$  和 MOP70-2 32.2、80.4  $\mu\text{mol}/\text{L}$  能显著促进 MC3T3-E1 细胞的增殖、分化和矿化, 其中, 化学结构明确的 MOP70-2 16.1  $\mu\text{mol}/\text{L}$  能够通过上调成骨分化相关标记基因 RUNX 2、OCN、OPN、

BSP、OSX 等表达, 进而促进成骨细胞分化<sup>[27]</sup>。此外, MOW90-1 50 mg/mL 通过在成骨分化的早期上调 RUNX 2 和 OSX 基因的表达, 晚期上调 OCN 和 OPG 基因的表达, 从而促进成骨细胞的分化<sup>[28]</sup>。

上述研究中, 以粗多糖进行体内实验, 将纯化制备的均一多糖进行体外实验, 体现了多糖药效学研究的基本思路, 与生物大分子多肽不同, 相对分子质量均一的多糖人工合成能力有限, 这在一定程度上成为了多糖研发的瓶颈。

### 2.2.2 枸杞多糖 (*Lycium barbarum* polysaccharide, LBP)

细胞凋亡是为了保持机体内平衡由基因调控的细胞程序性死亡。内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 参与细胞凋亡。葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein 78, GRP78) 在 ERS 中能通过抑制蛋白质合成和增加蛋白质降解保护细胞, 在发生 ERS 时, GRP78 的表达量显著增高, 是 ERS 的标志蛋白分子。持续的、过量或异常的 ERS 能够通过 CCAAT 增强子结合蛋白同源蛋白 (CCAAT/enhancer binding protein homologous protein, CHOP) 信号通路、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 -12 (cysteiny l aspartate specific proteinase-12, Caspase-12) 信号通路和 JNK 信号通路导致细胞凋亡。Jing 等<sup>[29]</sup>研究发现, 棕榈酸盐能够通过引起 ERS, 提高细胞内 GRP78、CHOP、Caspase-12 以及 p-JNK 的表达, 最终导致 MC3T3-E1 细胞凋亡。枸杞多糖 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  预处理上述细胞时, 细胞中 GRP78、CHOP、Caspase-12 以及 p-JNK 的表达相对降低, 并以剂量相关的方式有效抑制成骨细胞凋亡。由此可知, 枸杞多糖可能通过抑制 ERS 相关信号通路的激活, 逆转棕榈酸盐诱导的 MC3T3-E1 细胞凋亡, 具有防治 OP 的作用。成骨细胞的发育和成熟受大量旁分泌、自分泌和内分泌因子影响, 其中包括 BMP。miRNAs 是长度为 20~24 个核苷酸单链非编码 RNA 分子, 通过内源性基因编码。miRNA 可调节细胞生长、分化和凋亡, 在生物体的生长发育以及疾病的发生和发展中发挥重要作用。TargetScan 数据库中显示, BMP 拮抗剂腱蛋白样蛋白 1 (chordin like protein 1, *CHRD1*) 是 miR-200b-3p 靶基因, 参与破骨细胞分化。过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferators-activated receptors  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 是前脂肪细胞分化过程中的一个重要调控因子, 其激活可加速脂肪细胞分化, 从而加重患者的肥胖。Jing 等<sup>[30]</sup>经生物信息

学统计发现 *CHRDL1* 与 *PPAR $\gamma$*  共表达, 推测 *miR-200b-3p/CHRDL1/PPAR $\gamma$*  轴与肥胖性 OP 相关, 并认为具有改善肥胖和抑制成骨细胞凋亡的 LBP 可通过该轴发挥作用。实验证明, 枸杞多糖 400  $\mu\text{g/mL}$  显著增加了由棕榈酸盐介导引起的 *CHRDL1* mRNA 降低, 并抑制了由棕榈酸盐介导引起的 *miR-200b-3p* 和 *PPAR $\gamma$*  mRNA 增加, 提示在棕榈酸盐处理细胞中, 枸杞多糖可通过调节 *miR-200b-3p/CHRDL1/PPAR $\gamma$*  轴发挥一系列功能。进一步实验发现, *miR-200b-3p* 转染 MC3T3-E1 细胞可加重棕榈酸盐介导的细胞凋亡, 并增加 *PPAR $\gamma$*  蛋白表达、降低 *CHRDL1* 蛋白表达, 枸杞多糖 400  $\mu\text{g/mL}$  孵育细胞后可以减轻上述现象的发生, 但当 si *CHRDL1* 和抑制剂共转染细胞时, LBP 400  $\mu\text{g/mL}$  对棕榈酸盐诱导的细胞凋亡的抑制作用也被部分抑制。由此可知, LBP 主要通过抑制 *miR-200b-3p* 上调 *CHRDL1* 而抑制棕榈酸盐诱导的 MC3T3-E1 细胞凋亡, *miR-200b-3p/CHRDL1/PPAR $\gamma$*  轴不是 LBP 保护成骨细胞免受棕榈酸盐损伤的唯一机制。TGF- $\beta$ 1 可经多种途径促进人类成骨细胞的骨形成。骨细胞、成骨细胞和/或破骨细胞内的 NOS 酶能够促进合成 NO, NO-环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 通路成骨细胞的凋亡活性相关, 刺激 NO-cGMP 通路可发挥骨重建的作用。任小军等<sup>[31]</sup>研究发现, 枸杞多糖 40 mg/(kg·d) 可提高卵巢切除大鼠血清中 NOS 和 TGF- $\beta$ 1 的水平, 进而通过 NO 和 TGF- $\beta$ 1 介导的分子机制通路发挥其调节骨重建代谢的作用。

**2.2.3 淫羊藿多糖 (Epimedium brevicornum polysaccharide, EBP)** GIO 中细胞凋亡的确切机制尚不清楚, 但 Caspase-3 可能在本病的发生发展中起着关键作用, Bcl-2 家族蛋白 (促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2) 也通常参与 GIO 细胞凋亡。此外, PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路是细胞凋亡过程中重要的信号转导机制。Zheng 等<sup>[32]</sup>研究发现, 在地塞米松诱导的原代成骨细胞凋亡模型中, 淫羊藿多糖 100  $\mu\text{g/mL}$  预处理可完全逆转模型中 Caspase-3 和 Bax 的表达增加, Bcl-2 的表达减少以及 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白的磷酸化, 并可显著上调低密度脂蛋白相关蛋白-5 (low density lipoprotein receptor related protein-5, LRP-5)、 $\beta$ -catenin、RUNX 2 和 OSX 的蛋白表达, 由此可知,

淫羊藿多糖预处理对成骨细胞的抗凋亡作用部分是通过调节 Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达来实现的, 并主要依赖于抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路, 同时, 可通过激活成骨细胞中的 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路诱导成骨细胞的形成。

**2.2.4 当归多糖 (Angelica sinensis polysaccharide, AP)** 细胞周期中 DNA 合成前期 ( $G_1$  期) 是细胞周期启动点, 调控  $G_1$  期的细胞周期蛋白为细胞周期素 D1 蛋白 (Cyclin D1), 它可以与相应的细胞周期蛋白依赖激酶形成复合物, 启动下游驱动基因, 使细胞进入 S 期, 进而使细胞增殖。因此, Cyclin D1 是细胞增殖的关键蛋白。Bcl-2/Bax 值的变化与成骨细胞凋亡相关。陈超群<sup>[11]</sup>研究发现, 当归多糖 0.5 mg/mL 能够促进人成骨细胞处于 S 期, 诱导其增殖, 并减少其凋亡, 能够在 RNA 和蛋白水平, 上调 Cyclin D1 的表达, 并不影响 Bcl-2/Bax 值变化, 由此可知, 在一定浓度范围的当归多糖能够促进体外人成骨细胞增殖, 可能与促进 Cyclin D1 表达来进一步使得细胞向 S 期分布这一机制相关。H19 作为一种重要的长链非编码 RNA, 参与多种细胞生物学过程的调控, 它可促进成骨细胞分化, 并通过作为竞争性内源性 RNA 激活 Wnt 信号通路, 另外, 它可通过 NOTCH 信号通路调节 BMP-9 诱导的 BMSCs 成骨分化, 在协调成骨中具有重要作用。Xie 等<sup>[33]</sup>研究发现, 体内实验中当归多糖 400 mg/(kg·d) 能够提高卵巢切除大鼠的骨密度、骨矿含量、股骨灰分和干质量, 体外实验中, 当归多糖 300  $\mu\text{g/mL}$  能够提高 BMSCs 的细胞活力, 上调 Cyclin D1、RUNX 2、OCN、ALP 和 BMP-2 的蛋白水平, 并显著激活 BMSCs 中 PI3K/Akt 和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, H19 基因敲除后, 逆转了当归多糖对细胞增殖和成骨细胞分化的促进作用, 由此可知, 当归多糖可以通过调节 H19 促进 BMSCs 增殖和成骨细胞分化。

**2.2.5 铁皮石斛多糖 (Dendrobium officinale polysaccharide, DOP)** 过度的氧化应激和抗氧化防御能力的减弱可能会导致与年龄相关的组织损伤和各种疾病, 包括 OP。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor NF-E2-related factor 2, Nrf2) 是调控细胞氧化应激反应的重要转录因子, 其转录活性的损伤会引起氧化应激。Nrf2 过度表达可提高 BMSCs 分化为成骨细胞系的潜能, 降低其分化为成脂肪细胞系的潜能。小鼠体内 Nrf2 的缺失会导致骨量和骨微结构的降低。Peng 等<sup>[34]</sup>研究发现, 给

予衰老小鼠服用 DOP mg/(kg·d)可显著增加 Tb.V、Tb.N, 降低 Tb.Sp, 减缓骨髓间充质干细胞的氧化应激, 增加骨髓中的成骨细胞数量, 同时减少骨髓中的脂肪细胞数量。体外实验中, 当 BMSCs 暴露于氧化应激中, DOP 200 μg/mL 可提高细胞中 Nrf2 及其下游蛋白血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 和醌氧化还原酶 1 (quinone oxidoreductase 1, NQO1) 的表达, 提高成骨细胞标志物 *OSX* 和 *RUNX 2* mRNA 水平的表达, 促进成骨分化, 同时降低脂肪细胞标志物 PPAR $\gamma$  和脂肪酸结合蛋白 4 的表达, 抑制脂肪细胞分化。此外, 氧化应激模型细胞给予 Nrf2 siRNA 后, DOP 对 BMSCs 的效应被消除。由此可知, DOP 可以通过 Nrf2 抗氧化信号通路减轻骨丢失和提高骨密度。

**2.2.6 狗脊多糖 (Cibotium barometz polysaccharide, CBB)** 张梦柳<sup>[35]</sup>从狗脊中提取获得去蛋白多糖 CBB, 精制后制备出一系列多糖 CBB-1、CBB-2、CBB-3。体外实验研究发现, CBB-1 25 μg/mL 可促进 MC3T3-E1 细胞的增殖, 此外, CBB-1 50 μg/mL 不仅可提高 MC3T3-E1 细胞中 ALP 活性, 同时可提高该细胞的矿化率。进一步研究发现, CBB-1 100 μg/mL 能够显著上调 MC3T3-E1 细胞中 *OST*、*RUNX2* 基因及细胞分化中后期关键基因 *BSP* 和 *OCN* 的表达水平。黄冬<sup>[36]</sup>在体内实验中研究发现, CBB 能够显著增加卵巢切除大鼠股骨 Tb.N、Tb.Th, 降低 Tb.Sp, 改善结构模型指数使其结构由棒状向板状转变, 说明 CBB 具有显著的抗骨质疏松活性。

**2.2.7 鹿茸多糖 (Pilose antler polysaccharide, PAP)** Ren 等<sup>[37]</sup>研究发现, 在卵巢切除大鼠体内, 鹿茸多糖可通过激活 BMP-2/Smad 1 和 Smad 5/RUNX 2 信号通路, 调节骨代谢, 增加骨密度。

### 2.3 具有抑制破骨细胞作用的中药多糖

目前, 关于仅具有抑制破骨细胞生成和功能的中药多糖的报道相对较少, 体内实验多针对 OP 的骨丢失症状, 体外实验多针对破骨细胞的生成及其特异性基因的表达。体内实验研究发现, 锁阳多糖 (*Cynomorium songaricum* polysaccharide, CSP)<sup>[38]</sup>、天麻多糖 WSS25<sup>[39]</sup>、荷叶多糖 (polysaccharides from lotus leaves, LLEP)<sup>[40]</sup>、石菖蒲多糖 (*Acorus calamus* polysaccharides, ACP)<sup>[41]</sup>可改善卵巢切除或脂多糖诱导的大/小鼠骨丢失症状, 其中 CSP 能够提高大鼠体内 OPG 蛋白表达, 降低 RANKL 蛋白表达, 升

高 OPG/RANKL 值, 其改善 OP 症状的机制与激活 OPG/RANK/RANKL 信号通路有关。体外实验研究发现, 天麻多糖 WSS25 10 μg/mL、没药多糖 (*Commiphora myrrha* polysaccharide, WCM-PE) 200 μg/mL<sup>[42]</sup>、LLEP 100 μg/mL、肉苁蓉多糖 (*Cistanche deserticola* polysaccharide, CDP) 10 μmol/L<sup>[43]</sup>、石菖蒲多糖 125 μg/mL 均能够明显抑制由 RANKL 诱导的破骨细胞生成和破骨细胞特异性基因的表达, 但它们发挥作用的机制略有不同, 其中 WCM-PE、LLEP 主要通过下调 c-FOS 和 NFATc1 蛋白的表达而发挥作用; 天麻多糖通过阻断 BMP-2/SMAD/分化蛋白抑制物 1 (inhibitor of differentiation 1, ID1) 信号通路, 肉苁蓉多糖通过抑制 MARK 信号通路, 石菖蒲多糖通过抑制磷脂酶 C $\gamma$ 2 (phospholipase C $\gamma$ 2, PLC $\gamma$ 2)/钙离子 (Ca $^{2+}$ )/蛋白磷酸酶 2B-A $\alpha$ , (protein phosphatase, 2B-A $\alpha$ ) 信号通路而抑制破骨细胞的生成。

### 3 结语

OP 的发病机制较为复杂, 与内分泌、免疫、遗传、衰老、营养状况、运动、外部环境等因素相关, 其发病是涉及多个系统的复杂病理过程, 多条信号通路在该过程中起重要的调控作用<sup>[44]</sup>。骨稳态是通过维持骨形成和骨吸收之间的动态平衡得以实现, 当骨吸收大于骨形成时, 该平衡被打破, 导致骨密度下降, 继而引起 OP 的发生。在该平衡过程中, 具有骨形成功能的成骨细胞和具有骨吸收功能破骨细胞起着至关重要的作用, 因此, 目前中药多糖防治 OP 主要通过多条信号通路调控成骨细胞与破骨细胞之间的动态平衡, 以实现维持骨稳态最佳状态的目的<sup>[45-46]</sup>。

本文从基因、信号通路、成/破骨细胞、动物实验 (骨代谢、生物力学、肠道菌群) 等多维度的研究展示了中药多糖防治 OP 的作用及机制 (表 1)。中药多糖能够通过 Wnt、PI3K/Akt、MAPKs、NFATc1、ERS、OPG/RANK/RANKL、Hpo、ERK/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenin、BMP-2/Smads、Cyclin D1、Nrf2 等多种信号通路进行调控 (图 1), 抑制或活化通路中相关因子的磷酸化, 进而调节成骨细胞或破骨细胞的增殖、分化、成熟、活化或凋亡, 以达到维持骨稳态, 发挥抗 OP 的目的。由此可见, 中药多糖因具有多靶点、多层面、多效应, 不良反应小、来源广泛等优势, 为 OP 的预防和治疗带来了更多的可能性。

表1 中药多糖防治OP的作用及机制

Table 1 Effects and mechanisms of traditional Chinese medicine polysaccharides in prevention and treatment of osteoporosis

机制分类	中药多糖	体内/体外研究	作用及机制	文献	
促进成骨和抑制破骨作用	ABP	体内/体外	能够改善卵巢切除大鼠的骨微结构和生物力学特性;降低血清中 PINP、OCN、CTX 含量;促进成骨细胞增殖、ALP 活性、矿物结节形成及细胞中 <i>OSX</i> 、 <i>OCN</i> 、 <i>BSP</i> 、 <i>OPN</i> 基因表达;能够抑制细胞中由 RANKL 诱导的 JNK、ERK、p38 的磷酸化以及 NFATc1、c-FOS、CTSK、Integrin $\beta$ 3 的活化	12-15,17	
	PSP	体内/体外	能够促进细胞中 <i>TAZ</i> 、 <i>RUNX2</i> 、 <i>ALP</i> 、 <i>OCN</i> 的基因表达,并通过阻止 TAZ 蛋白降解;通过抑制 miR-1224 来减弱 Hpo 信号通路对破骨细胞分化的促进作用	18-20	
	APS	体内/体外	能够上调卵巢切除大鼠体内的 BMP-2、p-Smad 1 和 p-Smad 5 蛋白的表达;通过调节肠道菌群、抑制炎症,抑制破骨细胞的生成;在地塞米松诱导的大鼠骨质疏松模型中,能改变钙稳态、破骨细胞/成骨细胞平衡、Wnt 信号通路和激素相关过程中的基因启动子 DNA 甲基化	21-23	
	SPS	体内	能够有效降低卵巢切除大鼠血清中 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、ALP 和 IL-6、TNF- $\alpha$ 的浓度,提高 $P^{2-}$ 、TGF- $\beta$ 1、NO、NOS 的浓度,增加股骨干质量	24	
促进成骨作用	DAP	体内	能够显著防止卵巢切除引起的大鼠骨丢失、生物力学降低和体质量下降,提高 U-Ca/Cr、U-P/Cr、ALP、TRAP、OC 水平,并在蛋白和 mRNA 水平上调 VEGF 和 OPG 的表达,下调 RANK 和 RANKL 的表达	25	
	MOP	体外	能够增加细胞中 ALP 活性,上调 <i>RUNX2</i> 、 <i>OCN</i> 、 <i>OPN</i> 、 <i>BSP</i> 、 <i>OSX</i> 等基因表达	26-28	
	LBP	体内/体外	通过抑制 ERS 相关信号通路的激活以及抑制 miR-200b-3p 上调 <i>CHRD1</i> , 逆转细胞凋亡,并可提高卵巢切除大鼠血清中 NOS 和 TGF- $\beta$ 1 的水平	29-31	
	EBP	体外	通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,调节 Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达,同时,可激活成骨细胞中的 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路	32	
	AP	体内/体外	通过促进 Cyclin D1 表达促使细胞向 S 期分布,从而促成骨细胞增殖;通过调节 H19 促进细胞增殖和成骨分化	11,33	
	DOP	体内/体外	可显著改善衰老小鼠骨微结构,增加骨髓中的成骨细胞数量。可提高细胞中 Nrf2 及其下游蛋白 HO1 和 NQO1 的表达,提高 <i>Osterix</i> 和 <i>RUNX2</i> 的基因表达	34	
	CBB	体内/体外	能够显著上调细胞中 <i>OST</i> 、 <i>RUNX2</i> 、 <i>BSP</i> 和 <i>OCN</i> 的基因表达水平,提高细胞中 ALP 活性,促进细胞的增殖;能够显著改善卵巢切除大鼠骨微结构	35-36	
	PAP	体内	能够通过激活卵巢切除大鼠体内 BMP-2/Smad 1 和 Smad 5/ <i>RUNX2</i> 信号通路,调节骨代谢,增加骨密度	37	
	抑制破骨作用	CSP	体内	能够逆转卵巢切除大鼠骨密度的降低,改善骨生物学特性,升高 OPG/RANKL 值	38
		WSS25	体内/体外	通过阻断 BMP-2/Smad/ID1 信号通路抑制破骨细胞的形成,同时,可减少卵巢切除小鼠的骨丢失	39
WCM-PE		体外	通过下调 c-FOS 和 NFATc1 的表达明显抑制破骨细胞生成和破骨细胞特异性基因的表达	40	
LLEP		体内/体外	能够抑制卵巢切除小鼠的骨丢失,并降低 CTX、PINP 的含量;通过降低细胞中 c-FOS 和 NFATc1 的表达,进而下调 <i>Atp6v0d2</i> 、 <i>DC-STAMP</i> 和 <i>CTSK</i> 的基因转录表达	41	
CDP		体外	能够抑制细胞中的 ROS 的产生以及 NFAT 和 MAPK 的活化,并抑制 <i>CTSK</i> 、 <i>MMP9</i> 和 <i>ACP5</i> 的基因表达	42	
ACP		体外	通过 PLC $\gamma$ 2/ $Ca^{2+}$ /PP2B-A $\alpha$ 信号通路抑制 <i>NFATc1</i> 、 <i>c-FOS</i> 、 <i>CTSK</i> 、 <i>OSCAR</i> 、 <i>TRAP</i> 、 <i>av</i> 、 $\beta$ 3、 <i>MMP-9</i> 、 <i>Atp6v0d2</i> 的基因表达,阻碍 F-actin 环形成	43	

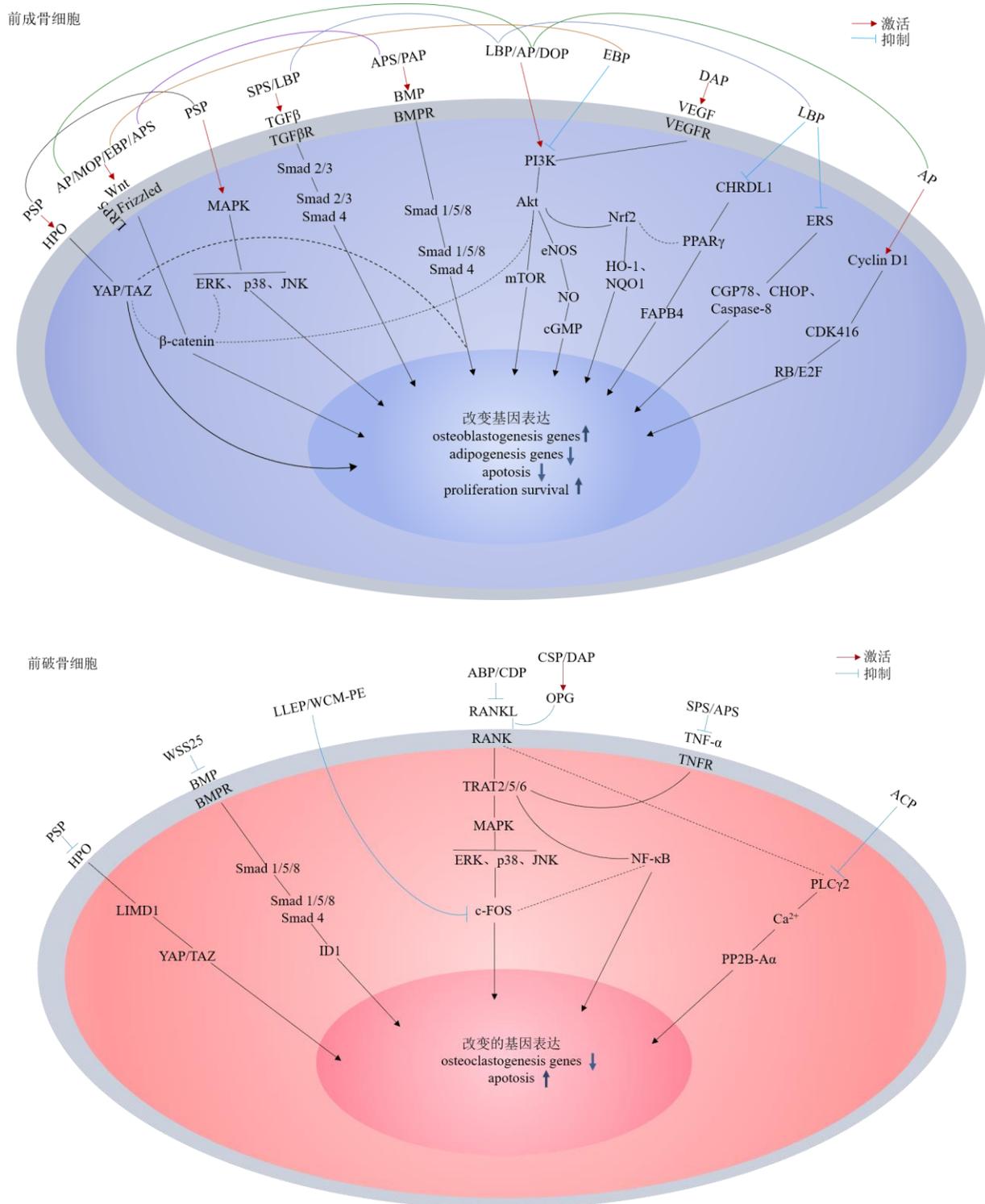


图1 中药多糖对前成骨细胞和前破骨细胞的作用机制

Fig. 1 Mechanism of Chinese medicine polysaccharides on pre-osteoblasts and pre-osteoclasts

此外，目前关于中药多糖防治 OP 的研究仍存在一定的局限性：多糖的提取纯化工艺较为复杂，粗多糖的得率相对较高，但精制多糖的得率低，在进行动物实验研究时，往往制备的结构明确的精制

多糖的量不足以支撑体内实验，所以，现有关于中药多糖防治 OP 的研究，多选用粗多糖进行动物实验研究功效，精制多糖进行细胞实验探索机制。随着动物模型研究的发展，斑马鱼因样品用量少等优

势被逐渐应用于 OP 模型的建立, 斑马鱼模型应用的普及有望打破多糖研究的制约, 促进中药多糖防治 OP 取得更大的突破<sup>[47]</sup>。与此同时, Zhu 等<sup>[48]</sup>基于金催化“俞氏”糖苷化反应成功人工合成了迄今线性最长的 128 聚糖, 也为多糖在药物研究方面带来了希望。

综上所述, 中药多糖能够有效预防和治疗 OP, 进一步探寻高活性的中药多糖, 明确其结构、性质及作用特点和机制, 可为中药防治 OP 开辟新的领域, 中药多糖在医药和保健品的研发方面蕴含巨大的潜力。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Iolascon G, de Sire A, Curci C, et al. Osteoporosis guidelines from a rehabilitation perspective: Systematic analysis and quality appraisal using AGREE II [J]. *Eur J Phys Rehabil Med*, 2021, 57(2): 273-279.
- [2] Trevisan C, Alessi A, Girotti G, et al. The impact of smoking on bone metabolism, bone mineral density and vertebral fractures in postmenopausal women [J]. *J Clin Densitom*, 2020, 23(3): 381-389.
- [3] Keen M U, Reddivari A K R. *Osteoporosis in Females* [M]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2022: 1.
- [4] 基层医疗机构骨质疏松症诊断和治疗专家共识(2021) [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 27(7): 937-944.
- [5] Gennari L, Bilezikian J P. New and developing pharmacotherapy for osteoporosis in men [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2018, 19(3): 253-264.
- [6] 赵东晓, 张力公, 牛晶. 维生素 D 联合阿法骨化醇治疗骨质疏松症的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2021, 36(2): 359-363.
- [7] Xu H H, Yin D, Liu T T, et al. Tea polysaccharide inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis in RAW264.7 cells and ameliorates ovariectomy-induced osteoporosis in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102: 539-548.
- [8] Stapleton M, Sawamoto K, Alméciga-Díaz C J, et al. Development of bone targeting drugs [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): 1345.
- [9] 张磊, 王锦旭, 杨贤庆, 等. 海洋动物多糖的研究进展 [J]. *食品工业*, 2018, 39(1): 211-215.
- [10] 孟庆龙, 金莎, 刘雅婧, 等. 植物多糖药理功效研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(11): 335-341.
- [11] 陈超群. 当归多糖对人成骨细胞增殖及凋亡的机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [12] Zhang S J, Zhang Q, Zhang D W, et al. Anti-osteoporosis activity of a novel *Achyranthes bidentata* polysaccharide via stimulating bone formation [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 184: 288-298.
- [13] Zhang D W, Wang C S, Hou X, et al. Structural characterization and osteoprotective effects of a polysaccharide purified from *Achyranthes bidentata* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 139: 1063-1073.
- [14] Yan C Y, Zhang S J, Wang C S, et al. A fructooligosaccharide from *Achyranthes bidentata* inhibits osteoporosis by stimulating bone formation [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 210: 110-118.
- [15] Lin Z Z, Li T Y, Yu Q, et al. Structural characterization and *in vitro* osteogenic activity of ABPB-4, a heteropolysaccharide from the rhizome of *Achyranthes bidentata* [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 259: 117553.
- [16] Wu M, Chen W, Lu Y, et al. Author Correction:  $\alpha 13$  negatively controls osteoclastogenesis through inhibition of the Akt-GSK3 $\beta$ -NFATc1 signalling pathway [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 13700.
- [17] Song D Z, Cao Z, Huang S, et al. *Achyranthes bidentata* polysaccharide suppresses osteoclastogenesis and bone resorption via inhibiting RANKL signaling [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(6): 4826-4835.
- [18] 张磊. 黄精多糖体内抗骨质疏松作用及体外促进骨髓间充质干细胞成骨分化的实验研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2018.
- [19] Peng X M, He J C, Zhao J M, et al. *Polygonatum sibiricum* polysaccharide promotes osteoblastic differentiation through the ERK/GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -catenin signaling pathway *in vitro* [J]. *Rejuvenation Res*, 2018, 21(1): 44-52.
- [20] Li B, Wu P P, Fu W W, et al. The role and mechanism of miRNA-1224 in the *Polygonatum sibiricum* polysaccharide regulation of bone marrow-derived macrophages to osteoclast differentiation [J]. *Rejuvenation Res*, 2019, 22(5): 420-430.
- [21] 张小钰, 陈慧, 马敬祖, 等. 黄芪多糖治疗对去卵巢诱导骨质疏松大鼠骨密度、骨量和骨代谢的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 27(1): 21-25.
- [22] Liu J S, Liu J, Liu L, et al. The gut microbiota alteration and the key bacteria in *Astragalus* polysaccharides (APS)-improved osteoporosis [J]. *Food Res Int*, 2020, 138: 109811.
- [23] Liu J S, Liu J, Duan S, et al. Reprogrammed epigenetic landscape-prophesied functions of bioactive polysaccharides in alleviating diseases: A pilot study of DNA methylome remodeling in *Astragalus* polysaccharide (APS)-improved osteoporosis in a rat model [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(52): 15449-15459.
- [24] 徐俊. 防风多糖治疗骨质疏松大鼠的效果及对血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、TGF $\beta$ 1、NO、NOS 水平的影响 [J]. *中华中*

- 医药学刊, 2018, 36(3): 678-680.
- [25] Sun X, Wei B, Peng Z H, *et al.* Protective effects of *Dipsacus asper* polysaccharide on osteoporosis *in vivo* by regulating RANKL/RANK/OPG/VEGF and PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 129: 579-587.
- [26] Zhang D W, Zhang S J, Jiang K M, *et al.* Bioassay-guided isolation and evaluation of anti-osteoporotic polysaccharides from *Morinda officinalis* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 261: 113113.
- [27] Jiang K M, Huang D, Zhang D W, *et al.* Investigation of inulins from the roots of *Morinda officinalis* for potential therapeutic application as anti-osteoporosis agent [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt A): 170-179.
- [28] Yan C Y, Huang D, Shen X, *et al.* Identification and characterization of a polysaccharide from the roots of *Morinda officinalis*, as an inducer of bone formation by up-regulation of target gene expression [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 133: 446-456.
- [29] Jing L, Jia X W. *Lycium barbarum* polysaccharide arbitrates palmitate-induced apoptosis in MC3T3-E1 cells through decreasing the activation of ERS-mediated apoptosis pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2415-2421.
- [30] Jing L, Hu B W, Song Q H. *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) inhibits palmitic acid (PA)-induced MC3T3-E1 cell apoptosis by regulating miR-200b-3p/Chrd11/PPAR $\gamma$  [J]. *Food Nutr Res*, 2020, 64: 4208.
- [31] 任小军, 苏春红, 陈永刚, 等. 枸杞多糖对骨质疏松症大鼠血清中 TGF- $\beta$ 1 和 NOS 含量的影响 [J]. *甘肃医药*, 2020, 39(3): 196-197.
- [32] Zheng H, He B, Wu T X, *et al.* Extraction, purification and anti-osteoporotic activity of a polysaccharide from *Epimedium brevicornum* Maxim. *in vitro* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 156: 1135-1145.
- [33] Xie X Y, Liu M, Meng Q. *Angelica* polysaccharide promotes proliferation and osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells by regulation of long non-coding RNA H19: An animal study [J]. *Bone Joint Res*, 2019, 8(7): 323-332.
- [34] Peng H, Yang M, Guo Q, *et al.* *Dendrobium officinale* polysaccharides regulate age-related lineage commitment between osteogenic and adipogenic differentiation [J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(4): e12624.
- [35] 张梦柳. 补肾壮骨类中药多糖的抗骨质疏松作用及促进骨形成机制的初步探讨 [D]. 广州: 广东药科大学, 2017.
- [36] 黄冬. 狗脊糖聚物的分离纯化、结构鉴定及抗骨质疏松活性研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2018.
- [37] Ren C, Gong W, Li F, *et al.* Protective and therapeutic effects of *Pilose antler* against kidney deficiency-induced osteoporosis [J]. *Cell Mol Biol*, 2019, 65(5): 24-31.
- [38] 史平, 朱薇, 李晓鸣. 锁阳多糖对去卵巢大鼠骨质疏松的改善作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(23): 2360-2363.
- [39] Chen C, Qin Y, Fang J P, *et al.* WSS25, a sulfated polysaccharide, inhibits RANKL-induced mouse osteoclast formation by blocking SMAD/ID1 signaling [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(9): 1053-1064.
- [40] Hwang Y H, Jang S A, Lee A M, *et al.* Polysaccharides isolated from *Lotus* leaves (LLEP) exert anti-osteoporotic effects by inhibiting osteoclastogenesis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 161: 449-456.
- [41] 王晶. 石菖蒲多糖抑制破骨细胞生成的分子机制研究 [D]. 吉林: 北华大学, 2019.
- [42] Hwang Y H, Lee A M, Kim T, *et al.* Anti-osteoporotic effects of *Commiphora myrrha* and its poly-saccharide via osteoclastogenesis inhibition [J]. *Plants*, 2021, 10(5): 945.
- [43] Song D Z, Cao Z, Liu Z B, *et al.* *Cistanche deserticola* polysaccharide attenuates osteoclastogenesis and bone resorption via inhibiting RANKL signaling and reactive oxygen species production [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(12): 9674-9684.
- [44] 罗湘杭, 周若珂. 骨质疏松的病因及发病机制研究进展 [J]. *山东大学学报: 医学版*, 2021, 59(6): 10-15.
- [45] 王冬生, 韩婧, 康文博, 等. 植物雌激素防治骨质疏松作用的机制进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(5): 632-640.
- [46] 赵金龙, 曾令烽, 梁桂洪, 等. 基于信号通路的中药有效成分治疗骨质疏松机制研究进展 [J]. *中草药*, 2020, 51(23): 6084-6094.
- [47] 王曦悦, 张秀艳, 董馨, 等. 斑马鱼骨质疏松模型的研究应用 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 27(6): 901-905.
- [48] Zhu Q, Shen Z N, Chiodo F, *et al.* Chemical synthesis of glycans up to a 128-mer relevant to the O-antigen of *Bacteroides vulgatus* [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4142.

[责任编辑 崔艳丽]