

## 中药单体通过靶向自噬治疗骨质疏松症的研究进展

李志超<sup>1</sup>, 薛海鹏<sup>2</sup>, 苏辉<sup>1</sup>, 徐展望<sup>2</sup>, 谭国庆<sup>2\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250014;

2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250014)

**[摘要]** 骨质疏松症是一种常见的代谢性骨疾病,其发病机制与骨内稳态的失衡密切相关。骨内稳态依赖于破骨细胞的骨吸收和间充质系成骨细胞的骨形成之间的精确动态平衡,并涉及一系列复杂且高度调节的步骤。当骨吸收速度快于骨形成时,骨内稳态将被破坏,进而导致骨质疏松。自噬是蛋白质和细胞器降解和循环的基本途径之一,是调节细胞和有机体稳态的基础过程。重要的是,自噬的基本水平存在于所有3种类型的骨相关细胞中。由于自噬的循环特性及持续的骨重塑过程,自噬被认为是骨骼维护的新参与者。新机制的出现带来了新的治疗靶点,通过靶向自噬中的特定调节分子来干预自噬可以调节骨代谢过程。同时,随着中医药在骨质疏松症治疗领域中的研究逐渐深入,人们发现从传统中草药中分离出的中药单体表现出良好的调节自噬治疗骨质疏松症的潜力。基于此,该文讨论了自噬与骨质疏松症的相互关系,并根据最新相关研究进展,总结出22种中药单体通过靶向自噬治疗骨质疏松症的6项不同作用机制,包括靶向自噬增加骨髓间充质干细胞的成骨分化、促进成骨细胞矿化,抑制破骨细胞分化、减少骨相关细胞凋亡、拮抗氧化应激损伤和协调炎症与自噬水平,以期今后更多中药单体治疗骨质疏松症的有关研究提供参考和思路。

**[关键词]** 骨质疏松症; 中药单体; 自噬; 综述

**[中图分类号]** R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)03-0194-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20221630

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220620.1655.005.html>

**[网络出版日期]** 2022-06-21 17:20:47

### Chinese Medicine Monomers in Treating Osteoporosis by Targeting Autophagy: A Review

LI Zhichao<sup>1</sup>, XUE Haipeng<sup>2</sup>, SU Hui<sup>1</sup>, XU Zhanwang<sup>2</sup>, TAN Guoqing<sup>2\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jinan 250014, China;

2. Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250014, China)

**[Abstract]** Osteoporosis, a common metabolic bone disease, is caused by the imbalance of bone homeostasis. Bone homeostasis depends on the dynamic balance between bone resorption by osteoclasts and bone matrix formation by mesenchymal lineage osteoblasts and involves a series of complex and highly regulated steps. When bone resorption is faster than bone formation, bone homeostasis will be destroyed, which will lead to osteoporosis. Autophagy is a protein and organelle degradation pathway important for the maintenance of cytoplasmic homeostasis. The basal level of autophagy is present in all the three types of bone cells. Autophagy is a process whereby damaged organelles are recycled and bone remodeling continues, and thus it plays an important role in bone maintenance. Therefore, it is possible to regulate bone metabolism by targeting specific autophagy-related molecules. At the same time, as the research on the treatment of osteoporosis by Chinese medicine advances, it is found that the monomers isolated from traditional Chinese medicinals have the potential

**[收稿日期]** 2022-03-21

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(82174410);山东省自然科学基金重点项目(ZR2020KH011);山东省自然科学基金面上项目(ZR2020MH362);全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教函[2022]75号)

**[第一作者]** 李志超,在读博士,从事骨质疏松和脊柱退行性疾病相关研究,E-mail:1169250799@qq.com

**[通信作者]** \*谭国庆,博士,副主任医师,从事骨质疏松和脊柱退行性疾病相关研究,E-mail:tgq232323@163.com

of regulating autophagy in the treatment of osteoporosis. Thus, this paper discusses the relationship between autophagy and osteoporosis and summarizes six different mechanisms of 22 Chinese medicine monomers in the treatment of osteoporosis through targeting autophagy: increasing osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells, promoting osteoblast mineralization, inhibiting osteoclasts differentiation, reducing apoptosis of bone cells, antagonizing oxidative stress injury, and coordinating inflammation and autophagy levels. The review is expected to provide a reference and ideas for future research on the treatment of osteoporosis by Chinese medicine monomers.

**[Keywords]** osteoporosis; Chinese medicine monomers; autophagy; review

骨质疏松症(OP)是一种慢性代谢性骨骼疾病,其特点是多种因素造成的骨矿物质密度降低和骨组织微结构丧失<sup>[1]</sup>。一项基于我国居民OP流行病学调查结果显示,50岁以上人群患病率为19.2%,65岁以上人群患病率更是高达32.0%,已经成为我国的重要健康问题<sup>[2]</sup>。在另一项世界范围内骨质疏松性椎体骨折的流行病学调查数中发现,全球受影响的OP患者更是超过2亿人<sup>[3]</sup>,给卫生保健和人类社会带来了巨大的负担。OP的发病机制主要在于骨内稳态的异常变化,骨内稳态则主要由骨髓间充质干细胞(BMSCs)分化而来的成骨细胞(OBs)与骨髓造血干细胞分化而来的破骨细胞(OCs)同步激活的复杂机制维持,将骨形成与骨吸收耦合起来<sup>[4]</sup>,而骨相关细胞自噬失调、氧化应激、慢性炎症等因素均会打破骨形成和骨吸收的动态平衡,影响骨内稳态,导致OP的发生发展<sup>[5-6]</sup>。

尽管目前的OP治疗方法在恢复骨强度方面是有效的,如双膦酸盐类、骨硬化蛋白单克隆抗体和选择性雌激素受体调节剂等,但他们无意中减少了骨张力,在预防髌部和非椎体骨折方面通常也不充分<sup>[7]</sup>,部分药物价格昂贵,并且3级或4级不良反应的发生率也较高。现代药理研究表明,中医药治疗OP可发挥多重作用,随机、双盲、安慰剂对照的临床试验和系统评价证实了中医药治疗OP的有效性和较少的不良反应<sup>[8]</sup>。而中药单体因其成分、疗效确切更是被广泛关注。随着对OP发病机制的深入研究和中药单体应用领域的不断拓展,中药单体靶向自噬防治OP被认为具有巨大潜力,并且在相关实验中取得较大成果<sup>[9]</sup>。笔者通过检索近5年内中国知网、万方数据、维普网、PubMed、Web of Science数据库中有关研究,共整理相关中药单体22种,并根据其作用机制分为以下6类:靶向自噬促进BMSCs成骨分化、促进OBs矿化、抑制OCs分化、抑制细胞凋亡、拮抗氧化应激损伤及协调炎症与自噬水平。本文就以上6种机制,对中药单体靶向自噬治疗OP

的研究进展进行综述。

## 1 自噬与骨质疏松

自噬是每个细胞维持活力的基础机制,通过溶酶体途径回收受损细胞器、错误蛋白、入侵病原体和其他有毒的细胞质成分,从而维持细胞内环境的稳态<sup>[10]</sup>。其过程分为自噬启动、自噬体延长和成熟、自噬体降解和回收几个阶段,即自噬启动后,Unc-51样自噬激活激酶1(ULK1)复合物诱导自噬相关蛋白(Atg)14、自噬调节蛋白-1(Beclin-1)等形成磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)Ⅲ复合体,介导自噬体的形成,随后自噬体经Atg12/Atg5与Atg8/微管相关蛋白1轻链3(LC3)两个系统协同完成其延长和成熟过程,该过程促使LC3前体裂解形成的LC3 I转化成LC3 II<sup>[11]</sup>。同时,自噬适配器(p62)可与LC3 II结合,介导底物与自噬体的结合,并与底物一起被溶酶体降解、回收<sup>[12]</sup>,这一动态循环过程被称为自噬通量。LC3 II、Beclin-1水平升高及p62水平降低,表示自噬通量水平升高,相反则表示水平降低。

正常情况下,骨组织在BMSCs、OBs、OCs功能的协同作用下被不断重塑,仔细平衡着合成代谢和分解代谢的活动,这一动态过程有利于骨内的钙稳态、微骨折的修复和对不同机械应力的适应,当其中任何功能的紊乱,使骨吸收超过骨形成,都可能造成骨稳态失衡,进一步导致OP的发生<sup>[10,13]</sup>。由于自噬的循环特性和骨组织的不断重塑,自噬在骨内稳态中扮演着重要的角色。并且越来越多的研究表明,自噬与骨稳态之间的关联是由BMSCs、OBs、OCs介导的,在OP的发病机制中发挥着重要作用<sup>[14]</sup>。

## 2 中药单体靶向自噬防治OP

### 2.1 靶向自噬促进BMSCs成骨分化

间充质干细胞是一类来源于中胚层具有多向分化潜能的干细胞<sup>[15]</sup>,其中骨髓来源的间充质干细胞广受关注,即BMSCs。正常情况下,BMSCs可以分化为OBs、软骨细胞和脂肪细胞等,但步入老年,BMSCs向OBs

分化的能力下降,这种变化导致骨形成减少,进而导致OP<sup>[16]</sup>。所以,BMSCs分化去向在骨平衡中至关重要,促进BMSCs成骨分化,恢复骨内稳态平衡是治疗OP的方向之一。研究表明,BMSCs在分化初期包含许多自噬体,说明了自噬和BMSCs成骨分化之间的基本联系<sup>[17]</sup>,而抑制自噬则导致BMSCs凋亡和成骨分化的减少<sup>[18]</sup>,这一证据为通过BMSCs的自噬调节治疗OP提供了逻辑基础。

淫羊藿苷是从淫羊藿中提取的主要有效成分,LIANG等<sup>[19]</sup>研究发现,淫羊藿苷减少了卵巢切除术(OVX)诱导的OP小鼠OCs的形成,通过增强BMSCs的自噬能力促进其成骨分化。与之相似,蛇床子的主要成分蛇床子素,也通过维持BMSCs自噬并促进其成骨分化,进而改善OP症状<sup>[20]</sup>。欧前胡素在白芷、当归、防风等中药中含量丰富,谭亮等<sup>[21]</sup>发现欧前胡素可有效上调BMSCs的自噬水平,促进体外BMSCs成骨分化能力,提升矿物沉积速率、血清I型前胶原氨基端原肽(PINP)和骨特异性碱性磷酸酶(B-ALP)等成骨活性指标,提高OVX大鼠的骨量及骨强度,继而影响雌激素缺乏性OP的发展。

PI3K/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路被认为是细胞自噬过程中的核心信号通路<sup>[22]</sup>。ZHAO等<sup>[23]</sup>发现益母草有效成分益母草碱可促进大鼠BMSCs的增殖,上调Atg5、Atg7和LC3的基因和蛋白水平,通过激活依赖于PI3K/Akt/mTOR通路的自噬作用促进BMSCs向OBs分化。芦丁存在于杜仲、黄芪、葛根、陈皮等中药中,XIAO等<sup>[24]</sup>发现骨代谢相关因子Ⅲ型纤维连接蛋白域蛋白1(FNDC1)在OP中高表达,而芦丁抑制FNDC1的表达和Akt的磷酸化,通过调节Akt/mTOR信号通路促进BMSCs的自噬和成骨分化,起到抑制绝经后骨质疏松的作用。

**2.2 靶向自噬促进OBs矿化** OBs主要功能是合成骨基质并促进骨基质的矿化。OBs矿化是骨发育和代谢中的重要过程,决定了骨的抗压缩能力。适当的自噬水平是维持OBs内稳态、存活和发挥正常生理功能的先决条件。自噬向OBs提供了保护性反应,可以限制OBs内的活性氧(ROS)水平<sup>[25]</sup>,维持OBs在酸性<sup>[26]</sup>、炎症<sup>[27]</sup>环境中的活性,防止其凋亡。除了维持OBs的存活,自噬还进一步干预了OBs矿化,最直接的证据是NOLLET等<sup>[18]</sup>发现自噬体可作为运输钙磷结晶的载体,为细胞外基质矿化提供材料,而抑制自噬通量阻止了矿物质从OBs的向外运输。在体外,Atg7和Beclin-1的敲除减弱了

OBs的矿化<sup>[14]</sup>,在体内,Atg5的缺失导致小鼠骨小梁质量减少了50%<sup>[28]</sup>。

牛膝甾酮是牛膝中的主要活性成分,姜涛等<sup>[29]</sup>研究发现,牛膝甾酮能够通过上调成骨分化相关基因及刺激自噬体的形成促进SD乳鼠OBs的早期分化,并显著促进OBs的碱性磷酸酶活性及矿化结节的形成。相同的结果出现在葛根素<sup>[30]</sup>和熊果苷<sup>[31]</sup>的研究中,葛根提取物葛根素在促进OBs分化的同时,也明显增强OBs的自噬能力,从而促进OBs的矿化;熊果苷在杜鹃花科熊果中含量丰富,通过激活自噬促进OBs的分化和矿化,减轻骨量和骨小梁结构的丢失,促进骨形成。

腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)主要参与哺乳动物蛋白质代谢、脂质代谢、糖类代谢、自噬及线粒体稳态,目前大量自噬有关研究是围绕AMPK/mTOR信号通路开展的<sup>[32]</sup>。ZHANG等<sup>[33]</sup>发现人参提取物人参皂苷Rg<sub>3</sub>能显著减轻OVX诱导的大鼠体质量增加、骨密度下降和股骨组织的组织学改变,在体外则显著增强AMPK信号转导、自噬、成骨分化和矿化,抑制mTOR信号转导,减轻OVX诱导的骨质疏松。可以看到,部分中药单体通过激活自噬有效促进了BMSCs成骨分化和OBs矿化,从而使骨重塑的天平向骨形成倾斜。

**2.3 靶向自噬抑制OCs分化** OCs来源于骨髓造血干细胞,由OCs前体细胞融合并高度分化形成,此过程主要受巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)和核转录因子- $\kappa$ B配体活化因子配体(RANKL)调控。作为体内唯一具有骨吸收功能的细胞,OCs对骨吸收发挥重要的调控作用。虽然骨形成和骨吸收均参与OP的发生发展,但多数情况下骨组织的减少主要是由OCs主导的骨吸收增多所致<sup>[34]</sup>。目前的研究表明,自噬相关基因Atg5、Atg7、Beclin-1、LC3 II均对OCs的分化、迁移、骨吸收功能起到了重要的调控作用。Beclin-1通过自身的泛素化促进RANKL刺激OCs进行分化<sup>[35]</sup>;LC3 II缺失则导致OCs足体环功能的障碍,影响OCs的迁移功能<sup>[36]</sup>;Atg5和Atg7的缺失则影响OCs褶皱缘分泌组织蛋白酶K降解骨基质,从而影响OCs的骨吸收功能<sup>[28]</sup>。因此,通过抑制自噬从而抑制OCs分化可能是治疗OP的有效方向。

白藜芦醇从中药藜芦的根部分离得到,张倩等<sup>[37]</sup>在RANKL诱导小鼠巨噬细胞(RAW264.7)向OCs分化的实验过程中,将白藜芦醇浓度控制在0.1~10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,OCs分化和自噬水平先升高后

降低,抑制自噬可以有效抑制OCs的分化。山柰酚在沙苑子、百蕊草、金刚藤等中含量丰富,KIM等<sup>[38]</sup>通过观察山柰酚刺激RAW264.7细胞的自噬抑制过程,发现山柰酚抑制自噬相关蛋白的表达,激活细胞凋亡,抑制OCs生成。虽然两项研究证明了白藜芦醇和山柰酚对OCs自噬水平的抑制作用,但均未对如何特异性的靶向抑制OCs自噬水平做出解释。选择利用中药单体促进自噬水平以促进BMSCs成骨分化和OBs矿化,还是抑制自噬以抑制OCs分化似乎是临床应用前无法逃避的问题,需要进一步深入研究。

**2.4 靶向自噬抑制细胞凋亡** 凋亡为程序性细胞死亡,在正常细胞更新和维持组织稳态中起重要作用<sup>[39]</sup>。然而,这种程序性细胞死亡机制若发生异常,则可能诱发包括OP在内的多种疾病。在大多数情况下,自噬被认为抑制了细胞凋亡,或者至少提高了诱导凋亡所需的压力阈值<sup>[40]</sup>。目前,许多研究正在探索自噬和凋亡在骨相关细胞中的交互机制,并尝试应用于OP的治疗。

骨细胞是骨中含量最丰富的细胞类型,研究发现,糖皮质激素治疗的骨细胞自噬功能增强,起到了抗凋亡的自我保护作用<sup>[41]</sup>,因此,激活自噬保护骨细胞免受凋亡是防治糖皮质激素诱导的骨质疏松症(GIOP)和股骨头坏死(GA-ONFH)的一个有希望的策略。乔松素来自姜科、牛至属植物,WANG等<sup>[42]</sup>发现乔松素可减轻糖皮质激素诱导的小鼠长骨细胞Y4的活性损伤和凋亡,提高Beclin-1和LC3 II的水平,降低了p62的表达,并抑制PI3K/Akt/mTOR通路活性,被认为是防治GIOP和GA-ONFH的潜在天然药物。

激活OBs中的自噬以保持细胞活性和防止凋亡也十分重要。ZHU等<sup>[43]</sup>发现防己有效成分防己诺林碱减少了泼尼松龙诱导的骨质疏松大鼠LC3、Beclin-1、Atg5等蛋白的表达,明显减少OBs凋亡,从而防止骨丢失。桃叶珊瑚苷在车前草、玄参、杜仲等中草药中含量丰富,YUE等<sup>[44]</sup>发现GA-ONFH中自噬和凋亡水平增加,而桃叶珊瑚苷可以通过AMPK通路增强自噬,阻止地塞米松诱导的OBs凋亡。YANG等<sup>[45]</sup>发现从白芍、赤芍和牡丹中提取的芍药苷通过抑制Akt/mTOR信号通路来促进成骨分化和自噬,抑制地塞米松诱导的OBs凋亡,促进骨形成,从而有效减轻GIOP症状。

核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路也与OP密切相关,该通路的激活促进了OCs的形成与活化<sup>[46]</sup>,

而失活促进了OBs的体外分化和体内骨形成<sup>[47]</sup>。WANG等<sup>[48]</sup>研究知母有效成分知母皂苷B II治疗GIOP的疗效及作用机制,发现其能抑制mTOR及下游因子NF- $\kappa$ B和NF- $\kappa$ B抑制蛋白(I $\kappa$ B)的磷酸化,从而激活细胞自噬,减少OBs凋亡,口服知母皂苷B II可抑制糖尿病大鼠mTOR和NF- $\kappa$ B的磷酸化,上调Beclin-1表达,提示知母皂苷B II通过抑制mTOR/NF- $\kappa$ B途径激活自噬而减轻高糖诱导的氧化应激和OBs凋亡。自噬和凋亡的相互作用是决定细胞命运的关键,运用中药单体以激活自噬恢复受损细胞的活力,阻止凋亡程序的进行,将有利于骨骼正常功能和强度的维持。

**2.5 靶向自噬拮抗氧化应激损伤** 氧化应激是导致OP中OCs和OBs功能解耦的关键机制<sup>[49]</sup>。ROS的过量产生可能会引发氧化应激,进而诱导OP<sup>[50]</sup>。在年龄诱导的氧化应激中,ROS的过量产生削弱了BMSCs的增殖和成骨分化能力<sup>[51]</sup>,阻断成骨前体细胞成熟并通过抑制OBs矿化诱导细胞凋亡<sup>[52]</sup>。而目前多认为自噬水平与氧化应激呈负相关,抑制自噬将导致OBs的氧化应激增加,而激活自噬则减少氧化应激损伤和凋亡<sup>[53]</sup>。另有研究表明,氧化应激对OBs造成的损害可以通过早期启动自噬来缓解<sup>[54]</sup>。并且,自噬活性的激活还减少了高氧化应激下骨细胞的凋亡<sup>[55]</sup>。

红景天苷提取自红景天,张申尧等<sup>[56]</sup>发现红景天苷可以上调骨细胞中缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )及其下游基因Bcl-2-腺病毒E1B相互作用蛋白(BNIP)3、BINP3L的表达,增加HIF-1 $\alpha$ 通路的转录活性,促进自噬小体的形成,减少骨细胞凋亡,拮抗氧化应激损伤,改善绝经后骨质疏松。芒果苷广泛存在于知母、射干、龙胆等中药中。王莹<sup>[57]</sup>采用过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)建立OBs氧化应激模型,发现芒果苷促进氧化应激下OBs的增殖分化,提高OBs矿化,其机制是通过增加OBs受到氧化应激时的自噬减少OBs凋亡,发挥对骨形成的保护作用。ZHANG等<sup>[58]</sup>发现仙茅主要活性成分仙茅苷可在铁超载OBs中抑制抗氧化酶上游蛋白叉头框转录因子O1(FoxO1)磷酸化,提高FoxO1表达,从而提高抗氧化酶和LC3水平,促进OBs自噬和矿化,抑制铁超载引起的氧化损伤。同样,SHI等<sup>[59]</sup>研究发现中药巴戟天活性成分水晶兰苷亦能够抑制H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的OBs中活性氧的产生,降低了Akt、mTOR、P70核糖体蛋白S6激酶(p70S6K)等的磷酸化,提高Beclin-1和LC3 II水平,通过Akt/mTOR通路增强自噬介导

抗氧化作用,保护氧化应激暴露中的OBs。氧化应激在骨代谢中起着至关重要的作用,因此,必须考虑将氧化应激维持在最佳水平。特别是可以通过施用恢复骨参数、支持骨重塑和矿化的抗氧化剂来拮抗ROS带来的损伤,而中药是众所周知的有效抗氧化剂。加深对自噬和氧化应激相互作用的理解,并发挥中药单体的有效抗氧化作用,可以在OP防治领域取得良好的效果。

**2.6 靶向自噬的抗炎疗法** 全身炎症的上调是衰老过程中的一个重要机制,通常被称为炎症老化<sup>[60]</sup>。在这个过程中,骨组织的炎症途径持续激活,如NF- $\kappa$ B信号,对骨量维持产生各种负面影响,包括抑制OBs的分化和矿化,及OCs活动的异常激活<sup>[61-62]</sup>。目前的研究认为,在OP的发展中自噬与炎症关系密切。例如炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )在关节炎模型中诱导了Atg7和Beclin-1的表达增加<sup>[63]</sup>,白细胞介素(IL)-17A通过c-Jun氨基末端激酶(JNK)途径激活自噬,从而促进了OCs的分化和骨吸收活动<sup>[64]</sup>。并且,Beclin-1的上调可以逆转高浓度IL-17A导致的细胞凋亡<sup>[65]</sup>。因此,抑制炎症有可能调节自噬水平,从而有利于抑制OCs的活性和骨吸收。

熊果酸在熊果、女贞叶、枇杷叶、夏枯草中含量丰富。ZHENG等<sup>[66]</sup>发现熊果酸在体内能显著减轻OVX大鼠的骨质破坏、微结构恶化和骨密度降低,抑制OCs的活性;在体外实验中明显降低影响OCs形成的主要转录因子(c-Fos)和活化T细胞核因子c1(NFATc1)的表达和其上游通路NF- $\kappa$ B抑制剂激活酶(IKK)/NF- $\kappa$ B的活性,并抑制自噬过程,从而抑制OCs的分化,表明熊果酸具有通过抑制自噬介导的OCs分化和炎症反应来保护OP的作用。

脂多糖(LPS)是炎症性骨吸收的关键致病因子,可诱导炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1和IL-6的产生<sup>[67-68]</sup>。在LPS诱导的炎症性骨丢失中,自噬是导致OCs分化和活性增加的原因<sup>[69]</sup>。LIU等<sup>[70]</sup>研究发现,甘草提取物异甘草素在体外能抑制RANKL诱导的NF- $\kappa$ B表达和核转位,并抑制LC3 II和Beclin-1表达,表明异甘草素能够显著抑制NF- $\kappa$ B依赖的OCs前体细胞的自噬,从而抑制OCs的分化,并且在体内能有效抑制LPS介导的炎症骨质破坏。

随着年龄的增长,低度炎症逐渐蔓延构成了骨骼内炎症和抗炎反应的复杂微环境,而中药的多效性似乎更加契合并更有利于这一微环境的改善,

因此通过协调炎症和自噬水平,恢复炎症造成的骨代谢紊乱是极具潜力的研究方向。中药单体通过靶向自噬治疗OP的作用机制和调控关系见表1。

### 3 小结与展望

中草药是中医学乃至世界医药学的伟大宝库,中药单体的发掘为创制新药、防治OP提供了有效途径,同时合理调节自噬干预OP亦是热点研究。近年来,国内外已经有大量研究发现中药单体通过调节自噬增加BMSCs成骨分化、促进OBs矿化,抑制OCs分化、减少骨相关细胞凋亡、拮抗氧化应激损伤,协调炎症与自噬水平从而参与OP的治疗,展现了中药单体通过靶向自噬防治OP的广阔前景。这些相关研究有利于中药单体在临床使用中的转变和延伸。当然,中药单体作为调节自噬防治OP的新突破口,虽然取得了可喜的成果,但是也存在一些不足。可以看到,这些调控机制涉及包括TNF- $\alpha$ 、IL-1、NF- $\kappa$ B、PI3K/Akt/mTOR和AMPK等在内的多种因子和多条信号通路,而这些因子和信号通路不是孤立存在的,而是重叠交错的关系,共同构成影响骨代谢过程的调节网络。中药单体的治疗效果受到这一调控网络的影响,而目前的研究多局限于某几个靶点或单一通路,而未对中药多靶点、多通路和综合调控的作用机制进行探讨。

另一方面,关于自噬治疗的潜力也还没有达成普遍共识,中药单体调节自噬治疗OP的临床疗效也没有得到评估,他们的临床应用仍然存在挑战。此外,在治疗过程中过度激活或抑制自噬可能会对骨代谢产生不利影响。例如,尽管OBs自噬活动缺陷与骨量减少和骨转换减少有关,但过度激活可能导致次级矿物质沉积加速和骨质脆化。这就需要加深对合适自噬水平的理解和对中药单体干预自噬的力度掌握。并且,目前的实验过程多建立在体外的细胞实验,体内实验仍然欠缺,如何促进模型实验向临床的转换也值得思考。更重要的是,骨重塑与细胞自噬均是动态的,OP的类型、病程早期与晚期、不同刺激因素、不同个体中自噬的抑制或激活程度、发挥的功能均不同。而难题便随之产生,中药单体的有效剂量、施药早晚、自噬水平的精准调控和范围维持、不同个体的差异反应、及后续的安全问题都需要不断摸索解决。中草药是药物创新和发现的重要资源,埋藏着大量天然中药单体的宝贵信息,而中药单体的研究也正在为治疗OP提供令人兴奋的新观点。虽然困难重重但极具前景,期待未来更多中药单体靶向自噬的作用机制被揭

表1 中药单体通过靶向自噬治疗OP的作用机制和调控关系

Table 1 Mechanisms and regulatory relationships of Traditional Chinese Medicine monomers in treatment of OP through targeted autophagy

作用机制	中药单体	激活/抑制自噬	调控关系
靶向自噬促进 BMSCs成骨分化	淫羊藿苷 <sup>[19]</sup>	激活	p62、Beclin-1、LC3 I、LC3 II、RUNX2、BMP2
	蛇床子素 <sup>[20]</sup>	激活	P1NP、ALP、TRAP、Beclin-1、LC3
	欧前胡素 <sup>[21]</sup>	激活	P1NP、ALP、RUNX2、LC3
	益母草碱 <sup>[23]</sup>	激活	Atg5、Atg7、p62、LC3 I、LC3 II、OPG、RUNX2、PI3K/Akt/mTOR
靶向自噬促进OBs 矿化	芦丁 <sup>[24]</sup>	激活	FNCD1、p62、LC3 I、LC3 II、Akt/mTOR
	牛膝甾酮 <sup>[29]</sup>	激活	ALP、Collagen I、OPN、OCN、OPG、自噬小体
	葛根素 <sup>[30]</sup>	激活	Beclin-1、LC3 I、LC3 II、OPG、RUNX2、ALP
	熊果苷 <sup>[31]</sup>	激活	ALP、CTX-1、TRAP、RUNX2、BMP2、Atg7、p62、Beclin-1、LC3 I、LC3 II
靶向自噬抑制OCs 分化	人参皂苷 Rg <sub>3</sub> <sup>[33]</sup>	激活	ALP、TRAP、Collagen I、OPN、OCN、RUNX2、p62、Beclin-1、LC3 I、LC3 II、p70S6K、AMPK/mTOR
	白藜芦醇 <sup>[37]</sup>	抑制	TRAP、CTSK、MMP9、p62、Beclin-1、LC3 I、LC3 II
	山柰酚 <sup>[38]</sup>	抑制	TRAF6、NFATc1、c-FOS、Atg5、p62、Beclin-1、LC3 I、LC3 II、Caspase-9、Caspase-3
	乔松素 <sup>[42]</sup>	激活	p62、Beclin-1、LC3 II、Caspase-3、PI3K/Akt/mTOR
靶向自噬抑制细胞 凋亡	防己诺林碱 <sup>[43]</sup>	激活	Bcl-2、Caspase-3、BMP2、TRAP、Atg5、Beclin-1、LC3、RUNX2、RANKL
	桃叶珊瑚苷 <sup>[44]</sup>	激活	Beclin-1、LC3 II、Caspase-3、AMPK
	芍药苷 <sup>[45]</sup>	激活	ALP、RUNX2、Bcl-2、Beclin-1、LC3 I、LC3 II、Caspase-3、Akt/mTOR
	知母皂苷 B II <sup>[49]</sup>	激活	Beclin-1、LC3 I、LC3 II、Bcl-2、Bax、mTOR/NF-κB
靶向自噬拮抗氧化 应激损伤	红景天苷 <sup>[56]</sup>	激活	HIF-1α、BINP3、BINP3L、Beclin-1、LC3 I、LC3 II
	芒果苷 <sup>[57]</sup>	激活	ALP、RUNX2、BMP2、Collagen I、OPG、Bcl-2、Bax、Beclin-1、LC3 I、LC3 II
	仙茅苷 <sup>[58]</sup>	激活	FOXO1、Nrf-2、p62、Beclin-1、LC3 II、Collagen I、Bcl-2、Bax、Caspase-3、RUNX2、
靶向自噬的抗炎疗 法	水晶兰苷 <sup>[59]</sup>	激活	Beclin-1、LC3 I、LC3 II、RUNX2、p70S6K、Akt/mTOR
	熊果酸 <sup>[66]</sup>	激活	ALP、TRAP、OPG、RANKL、NFATc1、c-FOS、p62、LC3 I、LC3 II、NF-κB
	异甘草素 <sup>[70]</sup>	激活	Atg5、Beclin-1、LC3 I、LC3 II、NF-κB

示,使得防治OP拥有更多、更为可靠的理论依据和选择。

[参考文献]

[1] LI Z, XUE H, TAN G, et al. Effects of miRNAs, lncRNAs and circRNAs on osteoporosis as regulatory factors of bone homeostasis (review) [J]. Mol Med Rep, 2021, 24(5):788.

[2] 中国骨质疏松症流行病学调查及“健康骨骼”专项行动结果发布[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2019, 12(4):317-318.

[3] BALLANE G, CAULEY J A, LUCKEY M M, et al. Worldwide prevalence and incidence of osteoporotic vertebral fractures [J]. Osteoporos Int, 2017, 28(5): 1531-1542.

[4] WAN Y. PPARγ in bone homeostasis [J]. Trends Endocrinol Metab, 2010, 21(12):722-728.

[5] BĂDILĂ A E, RĂDULESCU D M, ILIE A, et al.

Bone regeneration and oxidative stress: An updated overview [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(2):318.

[6] SRIVASTAVA R K, SAPRA L. The rising era of "immunoporosis": Role of immune system in the pathophysiology of osteoporosis [J]. J Inflamm Res, 2022, 15:1667-1698.

[7] MENG Y C, LIN T, JIANG H, et al. miR-122 exerts inhibitory effects on osteoblast proliferation/differentiation in osteoporosis by activating the PCP4-mediated JNK pathway [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, doi: 10.1016/j.omtn.2019.11.038.

[8] HE J, LI X, WANG Z, et al. Therapeutic anabolic and anticatabolic benefits of natural chinese medicines for the treatment of osteoporosis [J]. Front Pharmacol, 2019, doi: 10.3389/fphar.2019.01344.

[9] SONG S, GUO Y, YANG Y, et al. Advances in pathogenesis and therapeutic strategies for osteoporosis [J]. Pharmacol Ther, 2022, doi: 10.1016/j.

- pharmthera. 2022. 108168.
- [10] GUO Y F, SU T, YANG M, et al. The role of autophagy in bone homeostasis [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(6):4152-4173.
- [11] PIERREFITE-CARLE V, SANTUCCI-DARMANIN S, BREUIL V, et al. Autophagy in bone: Self-eating to stay in balance [J]. *Ageing Res Rev*, 2015, 24 (Pt B):206-217.
- [12] NARENDRA D, KANE L A, HAUSER D N, et al. p62/SQSTM1 is required for Parkin-induced mitochondrial clustering but not mitophagy, VDAC1 is dispensable for both [J]. *Autophagy*, 2010, 6(8): 1090-1106.
- [13] FLORENCIO-SILVA R, SASSO G R, SIMÕES M J, et al. Osteoporosis and autophagy: What is the relationship? [J]. *Rev Assoc Med Bras (1992)*, 2017, 63(2):173-179.
- [14] SHEN G, REN H, SHANG Q, et al. Autophagy as a target for glucocorticoid-induced osteoporosis therapy [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(15):2683-2693.
- [15] ZUK P A, ZHU M, MIZUNO H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies [J]. *Tissue Eng*, 2001, 7(2):211-228.
- [16] INFANTE A, RODRÍGUEZ C I. Osteogenesis and aging: Lessons from mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1):244.
- [17] NUSCHKE A, RODRIGUES M, STOLZ D B, et al. Human mesenchymal stem cells/multipotent stromal cells consume accumulated autophagosomes early in differentiation [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(6):140.
- [18] NOLLET M, SANTUCCI-DARMANIN S, BREUIL V, et al. Autophagy in osteoblasts is involved in mineralization and bone homeostasis [J]. *Autophagy*, 2014, 10(11):1965-1977.
- [19] LIANG X, HOU Z, XIE Y, et al. Icaritin promotes osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells and prevents bone loss in OVX mice via activating autophagy [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8):13121-13132.
- [20] ZHENG X, YU Y, SHAO B, et al. Osteole improves therapy for osteoporosis through increasing autophagy of mesenchymal stem cells [J]. *Exp Anim*, 2019, 68(4):453-463.
- [21] 谭亮, 王小娇, 肖炜. 欧前胡素通过提高自噬水平缓解大鼠雌激素缺乏性骨质疏松 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(11):1542-1547.
- [22] JUNG C H, RO S H, CAO J, et al. mTOR regulation of autophagy [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(7):1287-1295.
- [23] ZHAO B, PENG Q, POON E H L, et al. Leonurine promotes the osteoblast differentiation of rat BMSCs by activation of autophagy via the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, doi: 10.3389/fbioe.2021.615191.
- [24] XIAO Y, WEI R, YUAN Z, et al. Rutin suppresses FNDC1 expression in bone marrow mesenchymal stem cells to inhibit postmenopausal osteoporosis [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(10):6680-6690.
- [25] YANG Y H, LI B, ZHENG X F, et al. Oxidative damage to osteoblasts can be alleviated by early autophagy through the endoplasmic reticulum stress pathway--implications for the treatment of osteoporosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.08.028.
- [26] ZHANG Z, LAI Q, LI Y, et al. Acidic pH environment induces autophagy in osteoblasts [J]. *Sci Rep*, 2017, doi: 10.1038/srep46161.
- [27] ZHENG L, WANG W, NI J, et al. Role of autophagy in tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis of osteoblast cells [J]. *J Investig Med*, 2017, 65(6):1014-1020.
- [28] DESELM C J, MILLER B C, ZOU W, et al. Autophagy proteins regulate the secretory component of osteoclastic bone resorption [J]. *Dev Cell*, 2011, 21(5):966-974.
- [29] 姜涛, 邵敏, 陈庆真, 等. 牛膝甾酮干预SD乳鼠成骨细胞的增殖与分化 [J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(23):3636-3642.
- [30] 于冬冬, 赵丹阳, 杨鹤祥. 自噬在葛根素促成骨细胞分化调节中的作用 [J]. *中国医科大学学报*, 2021, 50(9):779-784.
- [31] ZHANG Y, LI M, LIU Z, et al. Arbutin ameliorates glucocorticoid-induced osteoporosis through activating autophagy in osteoblasts [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2021, 246(14):1650-1659.
- [32] INOKI K, KIM J, GUAN K L. AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2012, doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134537.
- [33] ZHANG X, HUANG F, CHEN X, et al. Ginsenoside Rg<sub>3</sub> attenuates ovariectomy-induced osteoporosis via AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Drug Dev Res*, 2020, 81(7):875-884.
- [34] DRAKE M T, CLARKE B L, LEWIECKI E M. The pathophysiology and treatment of osteoporosis [J].

- Clin Ther, 2015, 37(8):1837-1850.
- [35] ARAI A, KIM S, GOLDSHTEYN V, et al. Beclin1 modulates bone homeostasis by regulating osteoclast and chondrocyte differentiation[J]. J Bone Miner Res, 2019, 34(9):1753-1766.
- [36] ZHANG Y, CUI Y, WANG L, et al. Autophagy promotes osteoclast podosome disassembly and cell motility through the interaction of kindlin3 with LC3 [J]. Cell Signal, 2020, doi: 10.1016/j.cellsig.2019.109505.
- [37] 张倩, 韩婕, 汤旭磊. 不同浓度白藜芦醇对破骨细胞分化的影响及自噬的作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(4):564-569, 594.
- [38] KIM C J, SHIN S H, KIM B J, et al. The effects of kaempferol-inhibited autophagy on osteoclast formation[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(1):125.
- [39] TOWER J. Programmed cell death in aging [J]. Ageing Res Rev, 2015, 23(Pt A):90-100.
- [40] MARIÑO G, NISO-SANTANO M, BAEHRECKE E H, et al. Self-consumption: The interplay of autophagy and apoptosis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(2):81-94.
- [41] WANG T, LIU X, HE C. Glucocorticoid-induced autophagy and apoptosis in bone[J]. Apoptosis, 2020, 25(3/4):157-168.
- [42] WANG X Y, GONG L J, HUANG J M, et al. Pinocembrin alleviates glucocorticoid-induced apoptosis by activating autophagy via suppressing the PI3K/Akt/mTOR pathway in osteocytes [J]. Eur J Pharmacol, 2020, doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173212.
- [43] ZHU W, DING W, SHANG X, et al. Fangchinoline promotes autophagy and inhibits apoptosis in osteoporotic rats [J]. Med Sci Monit, 2019, doi: 10.12659/MSM.912624.
- [44] YUE C, JIN H, ZHANG X, et al. Aucubin prevents steroid-induced osteoblast apoptosis by enhancing autophagy via AMPK activation[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(21):10175-10184.
- [45] YANG L, LIU S, MU S, et al. Paeoniflorin attenuates dexamethasone-induced apoptosis of osteoblast cells and promotes bone formation via regulating Akt/mTOR/autophagy signaling pathway [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, doi: 10.1155/2021/6623464.
- [46] NANDY A, LIN L, VELENTZAS P D, et al. The NF- $\kappa$ B factor relish regulates Atg1 expression and controls autophagy[J]. Cell Rep, 2018, 25(8):2110-2120.
- [47] JIMI E, FUKUSHIMA H. NF- $\kappa$ B signaling pathways and the future perspectives of bone disease therapy using selective inhibitors of NF- $\kappa$ B[J]. Clin Calcium, 2016, 26(2):298-304.
- [48] WANG N, XU P, WU R, et al. Timosaponin BII improved osteoporosis caused by hyperglycemia through promoting autophagy of osteoblasts via suppressing the mTOR/NF $\kappa$ B signaling pathway [J]. Free Radic Biol Med, 2021, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.014.
- [49] DOMAZETOVIC V, MARCUCCI G, IANTOMASI T, et al. Oxidative stress in bone remodeling: Role of antioxidants[J]. Clin Cases Miner Bone Metab, 2017, 14(2):209-216.
- [50] BAEK K H, OH K W, LEE W Y, et al. Association of oxidative stress with postmenopausal osteoporosis and the effects of hydrogen peroxide on osteoclast formation in human bone marrow cell cultures [J]. Calcif Tissue Int, 2010, 87(3):226-235.
- [51] COIPEAU P, ROSSET P, LANGONNE A, et al. Impaired differentiation potential of human trabecular bone mesenchymal stromal cells from elderly patients [J]. Cytotherapy, 2009, 11(5):584-594.
- [52] CERVELLATI C, BONACCORSI G, CREMONINI E, et al. Oxidative stress and bone resorption interplay as a possible trigger for postmenopausal osteoporosis [J]. Biomed Res Int, 2014, doi: 10.1155/2014/569563.
- [53] LI D Y, YU J C, XIAO L, et al. Autophagy attenuates the oxidative stress-induced apoptosis of Mc3T3-E1 osteoblasts [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(24):5548-5556.
- [54] YIN X, ZHOU C, LI J, et al. Autophagy in bone homeostasis and the onset of osteoporosis [J]. Bone Res, 2019, doi: 10.1038/s41413-019-0058-7.
- [55] MANOLAGAS S C, PARFITT A M. What old means to bone[J]. Trends Endocrinol Metab, 2010, 21(6):369-374.
- [56] 张申尧, 董克芳, 王凡. 红景天苷抵抗骨细胞凋亡的作用和对绝经后骨质疏松患者的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(22):3624-3629.
- [57] 王莹. 芒果苷对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的成骨细胞骨形成的作用及分子机制研究[D]. 南昌:江西中医药大学, 2019.
- [58] ZHANG Q, ZHAO L, SHEN Y, et al. Curculigoside protects against excess-iron-induced bone loss by attenuating Akt-FoxO1-dependent oxidative damage to mice and osteoblastic MC3T3-E1 cells[J]. Oxid Med

- Cell Longev,2019, doi: 10.1155/2019/9281481.
- [59] SHI Y, LIU X Y, JIANG Y P, et al. Monotropein attenuates oxidative stress via Akt/mTOR-mediated autophagy in osteoblast cells [J]. Biomed Pharmacother, 2020, doi: 10.1016/j.biopha.2019.109566.
- [60] FLYNN M G, MARKOFSKI M M, CARRILLO A E. Elevated inflammatory status and increased risk of chronic disease in chronological aging: Inflamm-aging or inflamm-inactivity? [J]. Aging Dis, 2019, 10(1): 147-156.
- [61] CHANG J, WANG Z, TANG E, et al. Inhibition of osteoblastic bone formation by nuclear factor-kappaB [J]. Nat Med, 2009, 15(6):682-689.
- [62] PARK B K, ZHANG H, ZENG Q, et al. NF-kappaB in breast cancer cells promotes osteolytic bone metastasis by inducing osteoclastogenesis via GM-CSF [J]. Nat Med, 2007, 13(1):62-69.
- [63] LIN N Y, BEYER C, GIESSL A, et al. Autophagy regulates TNF- $\alpha$ -mediated joint destruction in experimental arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72(5):761-768.
- [64] KE D, FU X, XUE Y, et al. IL-17A regulates the autophagic activity of osteoclast precursors through RANKL-JNK1 signaling during osteoclastogenesis *in vitro* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 497(3):890-896.
- [65] XUE Y, LIANG Z, FU X, et al. IL-17A modulates osteoclast precursors' apoptosis through autophagy-TRAF3 signaling during osteoclastogenesis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508(4): 1088-1092.
- [66] ZHENG H, FENG H, ZHANG W, et al. Targeting autophagy by natural product Ursolic acid for prevention and treatment of osteoporosis [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, doi: 10.1016/j.taap.2020.115271.
- [67] MIZUTANI H, ISHIHARA Y, IZAWA A, et al. Lipopolysaccharide of aggregatibacter actinomycetemcomitans up-regulates inflammatory cytokines, prostaglandin E2 synthesis and osteoclast formation in interleukin-1 receptor antagonist-deficient mice [J]. J Periodontal Res, 2013, 48(6):748-756.
- [68] REDLICH K, SMOLEN J S. Inflammatory bone loss: Pathogenesis and therapeutic intervention [J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(3):234-250.
- [69] LI X, XU J, DAI B, et al. Targeting autophagy in osteoporosis: From pathophysiology to potential therapy [J]. Ageing Res Rev, 2020, doi: 10.1016/j.arr.2020.101098.
- [70] LIU S, ZHU L, ZHANG J, et al. Anti-osteoclastogenic activity of isoliquiritigenin via inhibition of NF- $\kappa$ B-dependent autophagic pathway [J]. Biochem Pharmacol, 2016, doi: 10.1016/j.bcp.2016.03.002.

[责任编辑 张丰丰]