

墨旱莲及蟛蜞菊内酯抗骨质疏松研究进展

马毓,赵翔凤,杨素文,魏君,刘艳秋

(山东中医药大学中医学院,山东 济南 250355)

摘要:骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种常见的骨代谢疾病,以骨量减少、骨微观结构改变、易发生骨折为特征的骨质病变。目前,西药治疗 OP 往往会引起不同程度的不良反应,中药治疗 OP 具有一定优势和特色。以中医理论“肾主骨生髓”为指导,补肾中药常用于临床治疗 OP,效果显著。墨旱莲(Ecliptae Herba)为滋补肝肾的传统中药。新近研究表明,墨旱莲及其主要成分蟛蜞菊内酯具有良好的抗骨质疏松作用。对墨旱莲及蟛蜞菊内酯防治 OP 的骨形成、骨吸收作用及潜在分子机制进行综述,旨在为墨旱莲及蟛蜞菊内酯的临床应用与开发提供借鉴。

关键词:墨旱莲;蟛蜞菊内酯;骨质疏松;分子机制;信号通路

中图分类号:R285.1

文献标志码:A

文章编号:1673-7717(2024)09-0115-06

Research Progress of Mohanlian(Ecliptae Herba) and Wedelolactone in Anti-Osteoporosis

MA Yu,ZHAO Xiangfeng,YANG Suwen,WEI Jun,LIU Yanqiu

(College of Traditional Chinese Medicine,Shandong University of Traditional Chinese Medicine,Jinan 250355,Shandong,China)

Abstract:Osteoporosis(OP) is a common bone metabolic disease characterized by reduced bone mass,changes in bone microstructure and susceptibility to fractures. At present,western medicine treatment often causes different degrees of adverse reactions. Traditional Chinese medicine has certain advantages and characteristics in the treatment of OP. Guided by the theory of traditional Chinese medicine “kidney governing bone marrow”,kidney-tonifying Chinese drugs are often used in clinical treatment of OP,and the effect is significant. Mohanlian(Ecliptae Herba) is a traditional Chinese drug for nourishing liver and kidney. Recent studies shows that Mohanlian(Ecliptae Herba) and its main component wedelolactone has good anti-osteoporosis effects. In this paper,the bone formation,bone resorption effects and potential molecular mechanisms of Mohanlian(Ecliptae Herba) and wedelolactone in the prevention and treatment of OP were reviewed,aiming to provide a reference for the clinical application and development of Mohanlian(Ecliptae Herba) and wedelolactone.

Keywords:Mohanlian(Ecliptae Herba);wedelolactone;osteoporosis;molecular mechanism;signal pathway

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以骨量减少,骨组织微结构损坏导致骨脆性增加、容易发生骨折的全身性代谢性疾病,好发于老年人群和绝经后妇女^[1]。我国 60 岁以上老年人群 OP 发病率高达 36%,且发病率逐年升高^[2]。随着我国人口老龄化日益加重,OP 已成为我国面临的重要公共健康问题^[3]。目前治疗 OP 主要为促进骨形成和抑制骨吸收的药物,如双磷酸盐、降钙素、选择性雌激素受体调节剂等^[4],但在长期用药过程中,这些药物均会引起不同程度的不良反应,包括颌骨坏死、癌症、血管栓塞和脑卒中等^[5],临床应用受限。因此,开发新型药物防治 OP 成为近年来研究热点。

中医对 OP 的认识历史悠久,根据 OP 的临床症状将其归为“骨痿”“骨枯”“骨极”等范畴。《黄帝内经》中提出了与 OP

临床特征相似的疾病,如《素问·痿论篇》曰:“肾气热则腰脊不举,骨枯而髓减,发为骨痿”^[6],认为肾藏精主骨“肾虚髓空,髓减骨枯”是 OP 发病的关键病机,临床上以补肾中药治疗 OP,能够改善骨密度、调节骨代谢、增加骨量^[7]。

墨旱莲为菊科植物鳢肠 *Eclipta prostrata* L. 的干燥地上部分,原称“金陵草”始载于唐代孙思邈《千金·月令》^[8]。墨旱莲生长于湿地,在我国各地均有分布,南方较多。《本草求真·上编》曰:“旱莲草(鳢草),功专入肝入肾”,其具有滋补肝肾,凉血止血之功效。墨旱莲化学成分多样,主要有香豆素衍生物、酚酸衍生物、黄酮类、三萜及甾体皂苷、取代噻吩等^[9]。其中,蟛蜞菊内酯又称 7-甲氧基-5,11,12-三羟基香豆素,是呋喃香豆素类化合物^[10],在墨旱莲中含量较高,易于识别,性质稳定^[11]。2020 年版《中华人民共和国药典》中以蟛蜞菊内酯作为特征性成分对墨旱莲进行质控^[12]。现代药理研究表明,墨旱莲及蟛蜞菊内酯均具有抗 OP 作用^[13]。本文通过对墨旱莲及蟛蜞菊内酯防治 OP 作用途径与分子机制进行综述,以期能够为墨旱莲抗 OP 治疗提供重要的理论指导,为其临床应用及新药研发奠定基础。

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82074134)

作者简介:马毓(1997-),女,内蒙古鄂尔多斯人,硕士在读,研究方向:肾藏象理论的方药基础研究。

通讯作者:刘艳秋(1978-),女,辽宁大连人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:肾藏象理论的方药基础研究。E-mail:qiusi1979@163.com。

1 墨旱莲及其成分蟾蜍菊内酯对OP骨代谢的影响

1.1 墨旱莲及蟾蜍菊内酯促进骨形成 骨形成是通过成骨细胞的增殖、分化促进骨基质的合成和矿化过程。成骨细胞分化后形成骨衬里细胞或骨细胞,骨衬里细胞能够保护骨免受破骨细胞的吸收,并且与骨细胞共同调控骨形成,维持骨稳态^[14]。有研究表明墨旱莲及蟾蜍菊内酯能够促进成骨细胞增殖、分化,从而促进骨形成,调节骨代谢,增加骨密度,达到防治OP的目的^[15]。墨旱莲乙醇提取物能够提高成骨细胞碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性,促进成骨细胞增殖^[16]。LIN等^[17]研究发现,墨旱莲挥发性成分和乙醇提取物呈剂量依赖性促进大鼠原代成骨细胞的增殖,并显著提高ALP活性。程敏^[18]等研究发现墨旱莲能够通过增强钙吸收、提高ALP和骨钙素(osteocalcin, OCN)活性、降低骨转换率,改善OP模型大鼠的骨稳态。QIN等^[19]通过体外实验发现,墨旱莲能够提高去卵巢小鼠Runt相关转录因子2(runt-related transcription factor 2, Runx2)的mRNA表达水平,并降低过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptors, PPAR γ)的mRNA水平,提高OP小鼠的骨密度。实验研究表明,墨旱莲含药血清能促进成骨细胞的增殖、分化及矿化,进而发挥抗OP的功效^[20]。研究人员发现,氧化应激反应能够通过骨代谢途径影响骨密度,增加破骨细胞的生成,减少骨前体细胞向成骨细胞分化,降低成骨细胞的活性,增加成骨细胞和骨细胞的凋亡^[21]。因此,减轻细胞氧化损伤可以延缓OP发病进程。墨旱莲及蟾蜍菊内酯具有显著降低氧化应激的作用^[22]。墨旱莲提取物能抑制地塞米松诱导的氧化损伤和成骨细胞凋亡,发挥抗OP的活性^[23]。

1.2 墨旱莲及蟾蜍菊内酯抑制骨吸收 骨吸收主要由破骨细胞调控,对矿化的骨基质进行分解吸收^[24],巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)和核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)是驱动破骨细胞成熟的两个主要分化因子,成熟的破骨细胞通过分泌相关酶降解骨骼基质,进行骨吸收,使骨量下降^[25]。有报道指出,墨旱莲及蟾蜍菊内酯能够抑制破骨细胞分化,从而抑制骨吸收,减少骨量丢失,防止OP的发生、发展。研究表明,墨旱莲有效成分能够促进成骨细胞分泌骨保护素(osteoprotegerin, OPG),降低RANKL活性,抑制破骨细胞分化的影响来调节骨代谢^[19]。ZHANG等^[26]通过体外实验发现,墨旱莲含药血清能显著减少破骨前体细胞RAW264.7细胞的增殖,抑制RANKL和M-CSF诱导的破骨细胞的分化。组织蛋白酶K(Cathepsin K, CTSK)属于溶酶体半胱氨酸蛋白酶,在破骨细胞中选择性高表达。人体CTSK基因异常表达会导致OP的发生^[27]。蒋益萍等^[28]对墨旱莲的有效部位进行筛选,发现墨旱莲提取物中含有潜在的CTSK非活性位点抑制剂。自噬是一种自降解过程,胞质蛋白和细胞器通过自噬进入溶酶体并在溶酶体中降解,为细胞更新和内稳态产生新的能量奠定基础^[29]。现有研究表明,以骨量流失为特征的OP与自噬作用密切相关^[30]。田涛等^[31]研究表明,墨旱莲通过降低自噬相关基因哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、自噬相关蛋白5(autophagy associated protein 5, ATG5)和破骨分化标志基因CTSK、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-re-

sistant acid phosphatase, TRAP)表达,抑制破骨细胞分化,显著改善斑马鱼OP症状。人工关节置换术后,会出现由于关节磨损颗粒沉积导致假体周围骨溶解这一并发症^[32]。LU等^[33]通过体内实验表明,在颗粒性颅骨骨溶解小鼠模型中,蟾蜍菊内酯能够呈时间依赖性,降低破骨细胞的数量,减少骨吸收。综上所述,墨旱莲能够通过抑制骨吸收,发挥抗OP的作用。

1.3 墨旱莲及蟾蜍菊内酯调控骨髓间充质干细胞定向分化 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一种具有多项分化潜能的干细胞,可以分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、成肌细胞等。BMSCs成骨-成脂分化失衡可导致OP发生^[34]。中医理论认为“肾藏精,精生髓,髓生骨”,BMSCs分化功能与先天之精化生后天之精类似, BMSCs归属“精”“髓”范畴^[35],临床常用补肾中药治疗OP^[36]。因此,补肾中药可能促进BMSCs向成骨分化,发挥防治OP的作用。研究发现,墨旱莲提取物能够提高ALP活性,上调CXC趋化因子受体4(CXC chemokine receptor, CXCR4)表达,增强BMSCs迁移和成骨向分化能力^[37]。DONG等^[38]发现,蟾蜍菊内酯联合羟基磷灰石(hydroxyapatite, HAP)能够增强BMSCs中的成骨细胞特异性转录因子(Osterix, Osx)、OCN、Runx2 mRNA的表达,并呈时间依赖性提高ALP活性,促进BMSCs成骨分化。LIU等^[39]研究表明,蟾蜍菊内酯能够上调成骨过程中Osx、OCN、Runx2 mRNA的表达,在激活Wnt/GSK3 β / β -catenin通路刺激BMSCs向成骨细胞分化的同时,抑制RANKL/RANK/NF- κ B通路减少破骨细胞生成,下调破骨细胞分化相关基因非受体酪氨酸激酶(Cell-sarcoma receptor coactivator, c-Src)、细胞癌基因fos(Cellular oncogene fos, c-fos)和CTSK的表达。以上研究表明,墨旱莲及蟾蜍菊内酯通过促进BMSCs向成骨分化,达到防治OP的作用。

2 墨旱莲及蟾蜍菊内酯对骨代谢相关信号通路的影响

2.1 Wnt/ β -catenin信号通路 Wnt/ β -catenin是经典成骨信号通路,配体蛋白Wnt与细胞膜表面受体蛋白(Frizzled, FZD)和低密度脂蛋白受体相关蛋白(low-density lipoprotein receptor-related proteins 5 and 6, LRP5/6)结合发生信号传导,使糖原合酶激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)磷酸化而失活,稳定细胞质中游离状态的连环蛋白(catenin),胞浆中稳定累积的catenin蛋白转移到细胞核内与T细胞因子(transcription factor, TCF)/淋巴增强因子(lymphoid enhancer-binding factor, LEF)结合并启动激活下游基因Runx2、Osx等表达,从而调控BMSCs分化^[40]。SUN等^[41]研究发现墨旱莲可通过抑制分泌性蛋白(dickkopf1, DKK1)的表达来激活Wnt/ β -catenin信号通路,促进BMSCs向成骨细胞分化,改善骨小梁微结构,减少去卵巢大鼠骨丢失。DENG等^[42]研究发现,蟾蜍菊内酯联合油女贞苷通过促进GSK3 β 磷酸化及蛋白激酶II α (Protein kinase II α , CK2 α)表达,并刺激 β -catenin蛋白核易位,增强成骨细胞分化和骨矿化,促进骨形成。孙为等^[43]研究发现,墨旱莲能够显著升高Wnt3a、LRP5、 β -catenin的mRNA表达,并下调DKK1水平,通过激活Wnt/LRP5/ β -catenin信号通路,对绝经后大鼠OP有防治作用。由此可见,墨旱莲及蟾蜍菊内酯通过激活Wnt/ β -catenin信号通路促进骨性细胞的增殖、分化,起到拮抗OP的作用。

2.2 RANK/RANKL/OPG 信号通路 RANKL/RANK/NF- κ B 是介导破骨细胞分化、增殖的重要信号通路,在炎症因子刺激下,成骨细胞,成纤维细胞和 T 细胞产生 RANKL,促进破骨细胞增殖。RANKL 可与破骨细胞表面的核因子 κ B 受体活化因子(receptor activator of NF- κ B,RANK)相结合,激活 RANKL/RANK/NF- κ B 信号通路,诱导破骨细胞分化成熟。BMSCs 和成骨细胞产生的 OPG 竞争性的拮抗 RANKL 与 RANK 结合,从而抑制破骨细胞生成,诱导破骨细胞凋亡^[44]。本课题组^[45]首次发现墨旱莲乙酸乙酯提取物及蟾蜍菊内酯能够抑制 RANKL 诱导的破骨前体细胞 RAW 264.7 的增殖和分化,降低 TRAP 活性,减少 TRAP 阳性多核 RAW 264.7 细胞的数量。墨旱莲提取物能显著减少 RANKL 诱导的破骨细胞中 CTSK、c-Src 基因的表达,抑制 RANKL 刺激的破骨前体细胞 RAW 264.7 中核因子 κ B 蛋白(nuclear factor kappa-B,NF- κ B)活化,表明墨旱莲提取物能够通过调控 RANKL/RANK/NF- κ B 信号通路抑制破骨细胞骨吸收活性^[46]。ZHAO 等^[47]应用墨旱莲提取物干预雄性加速老化小鼠模型后发现,骨髓中 RUNX2 的表达增加,骨髓细胞中 OPG/RANKL 比值升高,骨吸收指标 TRAP5b 水平降低,PPAR γ 的表达减少,ALP 活性显著增强,骨小梁数、骨小梁厚度显著增加,墨旱莲提取物能够抑制破骨细胞形成,增加成骨细胞数量,使骨吸收速度减慢,达到抗 OP 的作用。ZHANG 等^[48]研究发现,墨旱莲水提物通过下调 RANKL 表达和血清白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)水平,上调血清降钙素(calcitonin,CT)水平,抑制骨丢失,从而增加去卵巢大鼠骨量。闵愈等^[49]研究发现,墨旱莲水提液可改善绝经后 OP 大鼠骨密度和骨小梁数量,显著上调 OPG 表达水平,下调 RANKL 表达水平,抑制骨吸收,改善骨代谢。

2.3 Semaphorin Semaphorin 是一种细胞表面或可溶性蛋白家族,能够调节细胞之间的相互作用以及细胞的分化、形态和功能^[50]。在 Semaphorin 家族中,信号蛋白 3A(semaphorin3A,Sema3A)由成骨细胞产生,抑制破骨细胞活性,同时促进成骨细胞分化;Sema4D 和 6D 由破骨细胞表达,Sema7A 在成骨细胞和破骨细胞中均有表达^[51]。蟾蜍菊内酯刺激 Sema3A 的产生,诱导丛状蛋白 A1(plexin A1)/神经纤毛蛋白 1(neuropilin-1,Nrp1)的结合并激活 β -catenin,使 BMSCs 向成骨细胞分化,且蟾蜍菊内酯调节 Sema3A/plexin A1/Nrp1 信号通路抑制破骨细胞生成^[52]。DENG 等^[53]研究发现,蟾蜍菊内酯抑制 RAW264.7 细胞中 Sema4D 的产生和 Sema4D-PlexinB1 复合物的形成,减少破骨细胞的形成。同时,蟾蜍菊内酯能够促进 BMSCs 中 Sema7A 的产生和 Sema7A-PlexinC1-Beta1 复合物的形成来促进成骨细胞的形成。

2.4 雌激素受体信号通路 女性绝经后 OP 发病率上升,卵巢雌激素分泌的急剧下降是导致快速骨丢失的主要原因^[54]。研究表明,绝经后与雌激素水平的自然下降有关,骨密度也呈逐渐下降趋势,导致罹患 OP 的风险不断增加^[55]。雌激素作用于成骨细胞雌激素受体(Estrogen Receptor,ER),促进成骨细胞的增殖、分化,进而促进骨形成;植物来源雌激素能够抑制破骨细胞活性增强骨形成,维持骨稳态^[56]。香豆素被定义为植物雌激素的主要类别之一,蟾蜍菊内酯属于香豆素类化合物,为 ER- α 和 ER- β 的强效激动剂^[57-58]。植物雌激素可以发

挥拟雌激素样作用,且不良反应远远小于雌激素^[59]。SARWAR 等^[60]研究表明,蟾蜍菊内酯对雌激素受体具有较强的结合亲和力,可以作为拮抗剂或激动剂,对 OP 有潜在保护作用。刘振涛等^[61]研究发现,墨旱莲可上调成骨细胞的 ER- α mRNA 表达水平,促进成骨细胞增殖分化,抑制成骨细胞凋亡。ANNIE 等^[62]研究发现,蟾蜍菊内酯能够增强成骨细胞活性,降低破骨细胞活性,毒性较小,能够治疗雌激素缺乏引起的 OP。CHENG 等^[63]发现墨旱莲可明显改善去卵巢大鼠的子宫萎缩,能够防止雌激素缺乏引起的骨丢失,预防骨小梁微结构恶化和维持骨的生物学能力,治疗绝经后 OP。

2.5 PI3K/AKT/mTOR 信号通路 PI3K/AKT/mTOR 信号通路在破骨细胞的生成和功能中发挥重要作用^[64]。蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)和 mTOR 参与调控破骨细胞存活和分化,AKT 缺失会导致骨吸收受损。磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)与生长因子受体结合后,可改变 AKT 的蛋白结构并使其活化,并以磷酸化作用激活或抑制包括 mTOR 在内的下游一系列底物的活性^[65]。晚期乳腺癌患者可能会发生骨转移,导致骨溶解,乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增强 AKT/mTOR 信号通路的活化,增强破骨细胞生成。通过体外实验发现,蟾蜍菊内酯的治疗以剂量依赖性的方式显著减少了破骨细胞的增殖和骨吸收,通过下调 AKT/mTOR 信号通路减少乳腺癌 MDA-MB-231 细胞介导的破骨细胞生成,降低乳腺癌对成骨细胞中 M-CSF 表达的刺激作用,蟾蜍菊内酯可阻断 M-CSF/RANKL 诱导的 AKT/mTOR 的激活,且增强成骨细胞和破骨细胞之间的相互作用,从而减少破骨细胞分化和骨吸收^[66]。

2.6 BMP/Smads 信号通路 骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic proteins 2,BMP2)具有诱导未分化间充质干细胞向成软骨细胞和成骨细胞定向分化和增殖能力,促进成骨细胞分化成熟,细胞外的 BMP2 与细胞膜上的 BMP 受体结合后,使 Smad1/5/8 蛋白磷酸化,与共介体 Smad、Smad4 结合形成复合物,激活 Runx2、Osx 等成骨基因的转录^[67]。研究发现,墨旱莲成分能够促进 BMP2、OCN 以及 ALP 基因和蛋白表达量,提高成骨细胞的增殖分化能力和成骨功能^[61]。ZHU 等^[68]研究发现,蟾蜍菊内酯能够通过诱导 c-Jun 氨基末端激酶(c-JunNH2-terminal Kinase,JNK)和细胞外调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)介导的 BMP2 表达和磷酸化 Smad1/5/8,进而促进成骨细胞生成。蟾蜍菊内酯抗骨质疏松作用机制,见插图 XIV 图 1。

3 结语和展望

OP 随着人口老龄化不断加重,已成为我国面临的重要公共健康问题。目前防治 OP 的西药在治疗期间均有不同程度的不良反应,因此寻找新型抗 OP 药物具有重要意义。中药具有多成分、多靶点、整体调节的优势及特色,补肾中药墨旱莲及蟾蜍菊内酯在治疗 OP 方面效果显著,具有多途径、多靶点作用特色。蟾蜍菊内酯能够与多个靶点如 ER、GSK3 β 等结合,与西药靶点强结合力不同,中药成分可能通过与靶点弱结合发挥多靶点整体调节机制。本课题组近期发现蟾蜍菊内酯还能调控 BMSCs 的 mRNA m6A 甲基化表观修饰相关蛋白促进成骨分化^[69],进一步证实了其多靶点作用效果。然而,蟾蜍菊内

酯与以上靶点结合的动力学及其与靶点结合后引起的生物学效应机制仍待明确。墨旱莲及蟾蜍菊内酯抗OP的分子机制尚未完全阐释清楚,仍需借助新的技术方法,阐明其多靶点的作用机制。因此,进一步探索墨旱莲及蟾蜍菊内酯抗OP的新靶点,将其临床抗OP的研究与开发起到推动作用。

参考文献

- [1] 冯彩云,徐玲,赵琛健.鼻喷蛙降钙素治疗老年骨质疏松的临床价值[J].西藏医药,2022,43(6):74-75.
- [2] 邱丽,邱珍珍,陈翠红.互动达标理论结合聚焦解决模式对老年骨质疏松性骨折患者运动功能和康复进程的影响[J].吉林医学,2022,43(12):3371-3373.
- [3] 梁伟乔,钟诚,李宇明.骨质疏松症的中医病因病机认识与治疗进展[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(1):135-139.
- [4] JIANG Y,ZHANG P,ZHANG X,et al. Advances in mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of osteoporosis[J]. Cell Prolif,2021,54(1):e12956.
- [5] LI H,XIAO Z,QUARLES L D,et al. Osteoporosis: mechanism, molecular target and current status on drug development[J]. Curr Med Chem,2021,28(8):1489-1507.
- [6] 黄凤林,张宝瑜,周洪波.《黄帝内经》中治疗骨质疏松经验[J].世界中医药,2022,17(3):424-426.
- [7] 翁绳健,吴立忠,李炜明,等.肾虚与骨质疏松症关联性研究进展[J].中国中医骨伤科杂志,2018,26(12):85-88.
- [8] 刘翔,严令耕,陈黎.墨旱莲本草考证[J].黑龙江中医药,2007,232(2):42-44.
- [9] TIMALSINA D,DEVKOTA H P. Eclipta prostrata (L.) L. (Asteraceae): ethnomedicinal uses, chemical constituents, and biological activities[J]. Biomolecules,2021,11(11):1738.
- [10] 焦广洋,李澍坤,邓易,等.墨旱莲及其化学成分的药理作用、体内代谢及质量控制研究进展[J].药学研究,2021,40(10):673-677,683.
- [11] 刘颖新,冯传平,刘利利,等.一测多评法同时测定不同产地墨旱莲中9种成分及其质量评价研究[J].中国现代应用药学,2022,39(18):2339-2346.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国中医药科技出版社,2020.
- [13] HA N M,HOP N Q,SON N T. Wedelolactone: A molecule of interests[J]. Fitoterapia,2023,164:105355.
- [14] PONZETTI M,RUCCI N. Osteoblast differentiation and signaling: established concepts and emerging topics[J]. Int J Mol Sci,2021,22(13):6651.
- [15] 张代亮,王杰琼,马艳妮,等.墨旱莲化学成分及药理作用研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2023,25(8):140-144.
- [16] 黄运喜,易骏,吴建国,等.鳢肠不同部位抗骨质疏松活性及化学成分比较研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(8):1229-1232,1298.
- [17] LIN X H,WU Y B,LIN S,et al. Effects of volatile components and ethanolic extract from Eclipta prostrata on proliferation and differentiation of primary osteoblasts [J]. Molecules, 2010, 15 (1): 241-250.
- [18] 程敏,刘雪英,邓雅婷,等.墨旱莲对维甲酸所致大鼠骨质疏松症的药效学研究[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(10):1318-1323.
- [19] QIN X Y,NIU Z C,HAN X L,et al. Anti-perimenopausal osteoporosis effects of Erzhi formula via regulation of bone resorption through osteoclast differentiation: A network pharmacology-integrated experimental study [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 270:113815.
- [20] 程敏,王庆伟,刘雪英.二至丸含药血清对成骨细胞增殖、分化及矿化的影响[J].时珍国医国药,2013,24(7):1555-1557.
- [21] KIMBALL J S,JOHNSON J P,CARLSON D A. Oxidative stress and osteoporosis [J]. J Bone Joint Surg Am, 2021, 103 (15): 1451-1461.
- [22] KARTHIKUMAR S,VIGNESWARI K,JEGATHEESAN K. Screening of antibacterial and antioxidant activities of leaves of Eclipta prostrata (L)[J]. Sci Res Essays,2007,2(4):101-104.
- [23] 周衡朴,陈如一,邱俊杰,等.二至丸的指纹图谱及抗氧化作用研究[J].华西药学杂志,2021,36(6):683-687.
- [24] ALMEIDA M,LAURENT M R,DUBOIS V,et al. Estrogens and androgens in skeletal physiology and pathophysiology [J]. Physiol Rev,2017,97(1):135-187.
- [25] BORDUKALO-NIKŠIĆ T,KUFNER V,VUKIČEVIĆ S. The role of BMPs in the regulation of osteoclasts resorption and bone remodeling: from experimental models to clinical applications [J]. Front Immunol,2022,13:869422.
- [26] ZHANG H,XING W W,LI Y S,et al. Effects of a traditional Chinese herbal preparation on osteoblasts and osteoclasts[J]. Maturitas,2008,61(4):334-339.
- [27] FRATZL-ZELMAN N,VALENTA A,ROSCHGER P,et al. Decreased bone turnover and deterioration of bone structure in two cases of pycnodysostosis[J]. J Clin Endocrinol Metab,2004,89(4):1538-1547.
- [28] 蒋益萍,吴岩斌,秦路平,等.墨旱莲组分中组织蛋白酶K非活性位点抑制剂研究[J].药学报,2017,52(6):936-942.
- [29] MIZUSHIMA N,KOMATSU M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. Cell,2011,147(4):728-741.
- [30] OWEN H C,VANHEES I,GUNST J,et al. Critical illness-induced bone loss is related to deficient autophagy and histone hypomethylation[J]. Intensive Care Med Exp,2015,3(1):52.
- [31] 田涛,傅强,朱健奎,等.二至丸治疗斑马鱼骨质疏松模型效应观察及破骨细胞自噬机制[J].南京中医药大学学报,2020,36(3):352-357.
- [32] COLSTON J,ATKINS B. Bone and joint infection[J]. Clin Med (Lond),2018,18(2):150-154.
- [33] LU Y C,CHANG T K,LIN T C,et al. The potential role of herbal extract Wedelolactone for treating particle-induced osteolysis: an in vivo study[J]. J Orthop Surg Res,2022,17(1):335.
- [34] LIN Z,HE H,WANG M,et al. MicroRNA-130a controls bone marrow mesenchymal stem cell differentiation towards the osteoblastic and adipogenic fate[J]. Cell Prolif,2019,52(6):e12688.
- [35] 卞琴,沈自尹,王拥军.骨髓间充质干细胞在中医理论中的归属[J].中国中医基础医学杂志,2011,17(7):794-797.
- [36] 周军挺,丁晓媚,张丽蓉,等.补肾活血中药治疗绝经后骨质疏松症临床研究[J].浙江中西医结合杂志,2017,27(5):398-400.
- [37] 安然,蔡铭祺,覃小燕,等.墨旱莲提取物促进小鼠骨髓来源的间充质干细胞迁移和成骨方向分化作用研究[J].天津中医药,

- 2022,39(2):259–265.
- [38] DONG P,ZHU D,DENG X,et al. Effect of hydroxyapatite nanoparticles and wedelolactone on osteoblastogenesis from bone marrow mesenchymal stem cells[J]. J Biomed Mater Res A,2019,107(1):145–153.
- [39] LIU Y Q,HONG Z L,ZHAN L B,et al. Wedelolactone enhances osteoblastogenesis by regulating Wnt/ β -catenin signaling pathway but suppresses osteoclastogenesis by NF- κ B/c-fos/NFATc1 pathway[J]. Sci Rep,2016,6:32260.
- [40] SILVA-GARCÍA O,VALDEZ-ALARCÓN J J,BAIZABAL-AGUIRRE V M. Wnt/ β -Catenin signaling as a molecular target by pathogenic bacteria[J]. Front Immunol,2019,10:2135.
- [41] SUN W,WANG Y Q,YAN Q,et al. Effects of Er-Zhi-Wan on microarchitecture and regulation of Wnt/ β -catenin signaling pathway in alveolar bone of ovariectomized rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci,2014,34(1):114–119.
- [42] DENG X,TAN S,ZHU D,et al. The combined effect of oleonuzhenide and wedelolactone on proliferation and osteoblastogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Phytomedicine,2019,65:153103.
- [43] 孙为,晏奇,施斌. 二至丸对绝经后骨质疏松症大鼠下颌骨微结构及Wnt经典信号通路的影响[J]. 中国口腔种植学杂志,2013,18(2):104–105.
- [44] YASUDA H. Discovery of the RANKL/RANK/OPG system[J]. J Bone Miner Metab,2021,39(1):2–11.
- [45] LIU Y Q,ZHAN L B,LIU T,et al. Inhibitory effect of Ecliptae herba extract and its component wedelolactone on pre-osteoclastic proliferation and differentiation[J]. J Ethnopharmacol,2014,157:206–211.
- [46] 刘艳秋,马慧朋. 墨旱莲提取物调控RANKL/RANK/NF- κ B途径抑制破骨细胞骨吸收活性[J]. 中华中医药杂志,2017,32(2):774–777.
- [47] ZHAO X,AI J,MAO H,et al. Effects of Eclipta prostrata on gut microbiota of SAMP6 mice with osteoporosis[J]. J Med Microbiol,2019,68(3):402–416.
- [48] ZHANG Z G,BAI D,LIU M J,et al. Therapeutic effect of aqueous extract from Ecliptae herba on bone metabolism of ovariectomized rats[J]. Menopause,2013,20(2):232–240.
- [49] 闵愈,袁德培,胡玉萍,等. 二至丸干预去卵巢骨质疏松大鼠骨重建的效应及机制[J]. 南京中医药大学学报,2020,36(2):215–220.
- [50] WORZFELD T,OFFERMANN S. Semaphorins and plexins as therapeutic targets[J]. Nat Rev Drug Discov,2014,13(8):603–621.
- [51] KANG S,KUMANOGOH A. Semaphorins in bone development,homeostasis, and disease[J]. Semin Cell Dev Biol,2013,24(3):163–171.
- [52] LIU Y Q,HAN X F,BO J X,et al. Wedelolactone enhances osteoblastogenesis but inhibits osteoclastogenesis through Sema3A/NRP1/PlexinA1 pathway[J]. Front Pharmacol,2016,7:375.
- [53] DENG X,LIANG L N,ZHU D,et al. Wedelolactone inhibits osteoclastogenesis but enhances osteoblastogenesis through altering different semaphorins production[J]. Int Immunopharmacol,2018,60:41–49.
- [54] 刘畅畅,尹宏,段光宇,等. 老年女性髌部骨折与DXA骨强度参数的相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2018,24(1):83–86,90.
- [55] AGOSTINI D,ZEPPA DONATI S,LUCERTINI F,et al. Muscle and bone health in postmenopausal women: role of protein and vitamin D supplementation combined with exercise training[J]. Nutrients,2018,10(8):1103.
- [56] 赵军,刘晋. 植物雌激素类中药抗绝经后骨质疏松临床研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2019,40(12):77–78.
- [57] TU Y,YANG Y,LI Y,et al. Naturally occurring coumestans from plants,their biological activities and therapeutic effects on human diseases[J]. Pharmacol Res,2021,169:105615.
- [58] NEHYBOVA T,SMARTA J,DANIEL L,et al. Wedelolactone induces growth of breast cancer cells by stimulation of estrogen receptor signalling[J]. J Steroid Biochem Mol Biol,2015,152:76–83.
- [59] LI H,JIA E,JIAO J. Phytoestrogens in NAFLD: potential mechanisms of action[J]. Horm Metab Res,2020,52(2):77–84.
- [60] SARWAR S,AMED T,QAZI NG,et al. Prospects of wedelolactone as a chemotherapeutic agent in gynecological cancers: clue from its in vitro and in silico investigation[J]. Curr Comput Aided Drug Des,2020,16(4):365–375.
- [61] 刘振涛,张怡元,林煜,等. 二至丸促进围绝经期妇女成骨细胞增殖的分子机制[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,23(4):524–529.
- [62] ANNIE S,PRABHU RG,MALINI S. Activity of Wedelia calendulacea Less. in post-menopausal osteoporosis[J]. Phytomedicine,2006,13(1–2):43–48.
- [63] CHENG M,WANG Q,FAN Y,et al. A traditional Chinese herbal preparation,Er-Zhi-Wan,prevent ovariectomy-induced osteoporosis in rats[J]. J Ethnopharmacol,2011,138(2):279–285.
- [64] MUKHERJEE A,ROTWEIN P. Akt promotes BMP2-mediated osteoblast differentiation and bone development[J]. J Cell Sci,2009,122(Pt 5):716–726.
- [65] ERSAHIN T,TUNCBAĞ N,CETIN-ATALAY R. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway[J]. Mol Biosyst,2015,11(7):1946–1954.
- [66] HSIEH C J,KUO P L,HOU M F,et al. Wedelolactone inhibits breast cancer-induced osteoclastogenesis by decreasing Akt/mTOR signaling[J]. Int J Oncol,2015,46(2):555–562.
- [67] ZHAO B,XING G,WANG A. The BMP signaling pathway enhances the osteoblastic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in rats with osteoporosis[J]. J Orthop Surg Res,2019,14(1):462.
- [68] ZHU D,DENG X,HAN X F,et al. Wedelolactone enhances osteoblastogenesis through ERK- and JNK-mediated BMP2 expression and Smad1/5/8 phosphorylation[J]. Molecules,2018,23(3):561.
- [69] TIAN S,LI Y L,WANG J,et al. Chinese Ecliptae herba (Eclipta prostrata (L.) L.) extract and its component wedelolactone enhances osteoblastogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells via targeting METTL3-mediated m6A RNA methylation[J]. J Ethnopharmacol,2023,312:116433.