

植物多酚抗骨质疏松作用的研究

杨成涛¹, 赵云令², 孙 云¹, 庄永亮^{1,*}

(1. 昆明理工大学化学工程学院食品工程研究中心, 云南昆明 650500;

2. 青岛市城阳区第一高级中学, 山东青岛 266000)

摘 要:骨质疏松症是一个全球性的问题。目前国内外使用的药物虽有一定疗效, 但存在安全隐患、价格昂贵等问题。近年来, 国内外学者的研究主要集中在从植物中提取天然有效成分。现就 4 种重要的植物多酚和有效成分在抗骨质疏松方面的研究概况及其作用机制作一介绍, 为寻找安全有效的抗骨质疏松药物提供参考。

关键词:植物多酚, 骨质疏松, 氧化应激, 雌激素, 抗炎

Effect of plant polyphenols on anti-osteoporosis

YANG Cheng-tao¹, ZHAO Yun-ling², SUN Yun¹, ZHUANG Yong-liang^{1,*}

(1. Research Centre of Food Engineering, College of Chemistry and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

2. Chengyang No.1 Senior High School of Qingdao, Qingdao 266000, China)

Abstract: Osteoporosis is a global problem. Although the drugs have curative effect, they still have the security risk and high prices problem. In recent years, scholars always focused on natural active ingredients extracted from plant. In this review, four kinds of important plant polyphenols, the present situation of their anti-osteoporosis activity and interaction mechanisms were summarized, in order to find some new anti-osteoporosis drugs, which were also safe and effective.

Key words: plant polyphenons; osteoporosis; reactive oxygen species; estrogen; anti-inflammatory

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)17-0386-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.17.078

目前, 全世界骨质疏松症(osteoporosis)患者已经超过 2 亿人, 其发病率居多发病、常见病的第 7 位; 随着社会人口的老龄化, 预计未来 50 年骨质疏松患者还将增加 3~4 倍。雌激素替代疗法曾是治疗更年期综合症的主要疗法, 但是该疗法存在增加乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌等风险。近年来的研究发现, 骨质疏松与氧化应激(OS)有关, 植物多酚的酚羟基结构具有抗氧化活性, 能够清除体内的氧自由基, 能够预防和治疗骨质疏松。因此, 这为开发治疗骨质疏松的药物开辟了一条新途径。

1 植物多酚概述

植物多酚都是植物代谢过程中的次生副产物, 具有多元酚结构, 主要存在于植物的皮、叶、根和果实中, 含量仅次于纤维素、半纤维素和木质素。其分子结构中含有多个酚羟基, 且以邻位酚羟基最为典型。植物多酚是一类储量丰富的绿色可再生资源, 许多普通的水果和蔬菜, 如葡萄、苹果、洋葱、茄子以及各种香辛料、谷物、豆类及果仁等富含多酚类物质。

2 几种具有抗骨质疏松活性的植物多酚

目前, 研究植物多酚抗骨质疏松活性主要集中在茶多酚、苹果多酚、葡萄多酚和橄榄多酚四种(见表 1)。

2.1 茶多酚

茶多酚(GTP)约占茶叶干重的 20%~35%, 主要由儿茶素类、黄酮及黄酮醇类、花色素类以及酚酸类化合物组成, 其中以儿茶素类化合物含量最高。儿茶素类主要包括表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)。其中 EGCG 约占儿茶素总量的 50%, 且其生物活性最为显著。

近年来国内外的研究显示, 茶多酚具有抗骨质疏松的作用。Shen 等^[1]研究了茶多酚对高脂肪饮食的雌性大鼠骨微结构的影响。每天给予大鼠 0.5g/100mL GTP, 并做空白对照, 结果表明喂食 GTP 的大鼠, 有较高的股骨骨密度, 较小的骨小梁间隙(TbSp)骨矿化沉积率(MAR)。Yoshiomi 等^[2]研究发现, EGCG 通过抑制基质金属蛋白酶(MMPs)从而抑制破骨细胞的形成和分化。Shen 等^[3-4]用慢性炎症所致大鼠骨丢失作为动物模型, 发现茶多酚使大鼠的骨矿物质含量(BMC)及骨密度(BMD)活性显著提高, 炎症因子 TNF- α 的 mRNA 表达下降, 减少 OS 和

收稿日期: 2013-11-27 * 通讯联系人

作者简介: 杨成涛(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与质量控制。

表1 4种植物多酚抗骨质疏松的举例
Table1 Examples of four species anti-osteoporosis polyphenols

多酚	实验对象	实验方法	实验结果	参考文献
茶多酚	高脂肪饮食的雌性大鼠	0.5g/100mL GTP 4 个月	股骨 BMD、骨小梁增加, TbSp、MAR 降低	[1]
	慢性炎症大鼠	0.5% w/v GTP 12 周	BMC、BMD 提高	[3]
苹果多酚	MC3T3-E1 细胞 (体外实验)	10μmol/L 槲皮素, 72h	ALP 活性提高 32%	[5]
	糖尿病大鼠	30~50mg/kg 槲皮素 8 周	骨钙素, ALP 活性提高	[6]
葡萄多酚	卵巢切除小鼠	RES 12 周	BMD 增加	[9]
	大鼠	400mg·(kg·d) ⁻¹ RES 45d	BMD 增加	[11]
橄榄多酚	卵巢切除大鼠	50~100μM HT 15d	抑制破骨细胞的形成	[13]
	卵巢切除大鼠	0.017% HT 84d	增加骨形成	[14]

慢性炎症引起的大鼠的骨质流失。

2.2 苹果多酚

苹果中的多酚因苹果的成熟度不同而存在差异。成熟苹果主要多酚类为儿茶素、原花青素和绿原酸类物质,而未成熟苹果多酚中还含有较多的二羟查耳酮和黄酮醇类化合物。苹果多酚中主要的有效成分为槲皮素、儿茶素、表儿茶素类、绿原酸、根皮素配糖体等。

研究表明,苹果多酚具有抗衰老、降血压和抗动脉粥样硬化等作用之外,还具有抗骨质疏松作用。Wong 等^[5]的研究发现,10μmol/L 的槲皮素使成骨细胞前体细胞系 MC3T3-E1 中碱性磷酸酶(ALP) 的活性提高了 32%。Liang 等^[6]探讨槲皮素对糖尿病骨质疏松大鼠的效果,结果表明摄入 30~50mg/kg 槲皮素会增加血清骨钙素, ALP 活性,从而扭转糖尿病大鼠股骨质量的受损。进一步的研究显示,槲皮素显著降低 DNA 氧化损伤水平,上调血清总抗氧化能力。Hoda 等^[7]比较槲皮素与阿仑磷酸钠抗骨质疏松的作用,结果表明:槲皮素使骨钙素显著升高,且与阿仑磷酸钠相比,槲皮素剂量为 150mg/kg 使股骨骨小梁和皮质厚度分别增加 36% 和 22%。Sajad 等^[8]探讨槲皮素对胆汁性肝硬化大鼠骨强度的影响,结果与对照组相比胆管结扎组股骨断裂强度大幅降低。说明槲皮素能扭转胆汁性肝硬化并发症的恶化。

2.3 葡萄多酚

葡萄多酚是葡萄中多酚类化合物的总称,其主要包括花色苷、黄酮醇、黄烷酮醇类、原花色素或缩合单宁类、儿茶素类和白藜芦醇。其中目前报道较多的抗骨质疏松活性物质是白藜芦醇(RES)。RES 是含有芪类结构的非黄酮类多酚化合物, RES 有顺式和反式两种构型,其中反式是稳定结构,而且生物活性广泛。

Sehmisch 等^[9]给卵巢切除小鼠,予 RES 灌胃 12 周后,发现 RES 可呈剂量依赖性地增加骨桥蛋白的表达,提高骨密度。Lai 等^[10]研究发现: RES 和维生素 D 具有协同效应,能使骨密度增强,脂肪生成减少,体重降低。Habold 等^[11]给大鼠喂食 45dRES (400mg·(kg·d)⁻¹),结果表明 RES 能有效预防大鼠

的股骨和胫骨的 BMD 降低。

2.4 橄榄多酚

橄榄多酚广泛存在于橄榄果实、橄榄叶和橄榄油中,多酚类物质是橄榄中最重要的功效成分。橄榄多酚除了具有抗菌、抗炎、降血糖、抗乙肝病毒等作用之外,还有抗骨质疏松作用^[12]。

Hagiwara 等^[13]研究了主要的橄榄多酚—橄榄苦苷、酪醇、羟基酪醇(HT) 对卵巢切除小鼠成骨细胞和破骨细胞的形成及骨流失的影响。结果表明: 橄榄苦苷和 HT 的浓度在 10~100μmol/L 范围内对成骨细胞前体细胞系 MC3T3-E1 中的 ALP 的活性没有影响,但是以剂量依赖性的方式刺激钙的沉积。橄榄苦苷和 HT 的浓度分别为 10~100、50~100μmol/L 时呈剂量依赖性抑制破骨细胞的形成,且这两种物质还能抑制股骨骨小梁的骨损失。Puel 等^[14]给卵巢切除大鼠喂食酪醇、HT 和橄榄油副产品 84d。结果表明:慢性炎症引起去势大鼠骨质流失,而酪醇、HT 通过增加骨形成,防止骨质流失。表1 为4种植物多酚抗骨质疏松的举例。

3 植物多酚抗骨质疏松的作用机制

3.1 抗氧化作用

近年来,氧化应激作为骨质疏松的一个危险致病因素而受到广泛关注。人体在代谢过程中不断有活性氧族(ROS) 产生,主要包括:超氧负离子、过氧化氢、羟自由基等。正常生理状态下,体内 ROS 不断产生的同时被保护酶(如: SOD、GSH-Px) 及一些抗氧化剂清除^[15]。当 ROS 过剩或抗氧剂缺乏时,氧化损伤加剧就出现氧化应激(OS),继而损伤脂质、蛋白质和 DNA 等生物大分子,致使细胞衰老和凋亡,最终,导致骨质疏松症等衰老相关的退行性疾病^[16]。Wnt 得名于无翅基因(wingless) 与 integrase gene (Int) 整合酶基因,它是一类富含半胱氨酸的分泌型糖蛋白,它能介导间充质干细胞分化为成骨细胞^[17]。NF-κB 受体激活剂配体(RANKL) 和骨保护素(OPG) 是骨重建过程中连接骨形成与骨吸收的重要因子^[18]。Wnt 信号通路可使 OPG 水平升高,且下调 RANKL 的表达,其具有调节成骨细胞和破骨细胞分化的双重作用^[19]。OS 能通过 Wnt 信号通路调控间充质干细胞的分化方向,从而导致机体出现骨质

疏松^[20]。

以上研究证实 OS 与骨质疏松的发生有密切联系,植物多酚是很好的抗氧化剂,含有酚羟基结构,对活性氧等自由基有较强的捕捉能力。Shen 等^[21]分别给 15 个月龄雌性大鼠的假手术组和卵巢去势组一定剂量的茶多酚后,发现肝脏中的 GSH-Px 的活性显著增强,从而防止在骨重建过程中 OS 造成的伤害。Bellion 等^[22]发现,从苹果多酚类化合物能降低细胞中的氧自由基水平,从而降低 DNA 的氧化损伤。HT 对去势股骨小梁骨细胞具有抑制骨流失的作用,并能降低原成骨细胞中 H_2O_2 的水平^[23]。Wang 等^[24]为了探讨 RES 对脊髓损伤大鼠的骨质流失的治疗效果,结果表明:RES 阻止骨量减少(BMC 和 BMD),保护骨骼结构,包括骨小梁数量、厚度。增加股骨总硫基含量,降低大鼠股骨丙二醛和 IL-6 的 mRNA 水平。抑制 PPAR 的 mRNA 水平上调,恢复 Wnt1 的 mRNA 水平,减弱 OS,减轻炎症,从而保护骨丢失。

3.2 雌激素样作用

雌激素在骨重建中起着非常重要的作用,雌激素能刺激成骨细胞分泌骨保护素、胰岛素样生长因子、转化生长因子,这些细胞因子能抑制破骨细胞的成熟,刺激成骨细胞。雌激素不足时,这些细胞因子的水平下调,使骨吸收增强^[25]。从葡萄中提取出的 RES 分子结构与合成的非甾体雌激素类化合物己烯雌酚(DES)的结构类似(图 1),并显示雌激素样作用。目前对雌激素缺乏导致的骨质疏松症的治疗多是雌激素替代疗法,而这会增加患乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌的风险;而 RES 可以减少患乳腺癌的风险。因为 RES 是通过激活 Src 激酶依赖的雌激素受体,进而诱发骨形态发生蛋白-2 的产生,从而促进骨的形成。而 RES 抑制肿瘤作用却是通过诱导蛋白激酶 Akt 失活、介导抑癌因子 FoxO3a 在核累积和激活^[26]。Tseng 等^[27]研究已证实 RES 能活化沉默信息调节因子 SIRT1 的活性和增强 FoxO3a 蛋白的表达。SIRT1 使 FoxO 去乙酰化,SIRT1 能调节 Wnt 信号传导,进而调节破骨细胞活动并维持骨量^[28]。

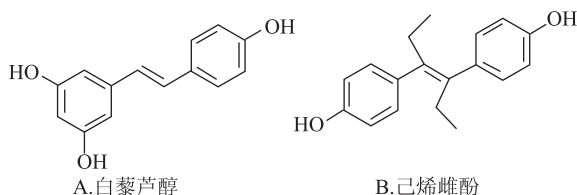


图 1 白藜芦醇和己烯雌酚的化学结构

Fig.1 The chemical structure of resveratrol and diestrol

3.3 抗炎作用

研究发现部分炎症因子,如 $TNF-\alpha$, $IL-1\alpha$ 和 $IL-1\beta$, $IL-6$ 等会导致骨丢失,它们直接或间接使破骨细胞数量增加,阻止破骨细胞凋亡,抑制成骨细胞活性。性激素减少后骨质疏松的研究发现,IL-6 是骨质疏松的一个致病因子。

Chen 等^[29]给予去势大鼠一定剂量的 RES 后,检测了骨密度和血清中的肿瘤坏死因子的浓度。结果

表明:骨密度显著增加,且骨密度与血清中的肿瘤坏死因子的浓度呈负相关。Shakibaei 等^[30]的研究表明,RES 能抑制 RANKL 的活性,且呈时间和剂量依赖性抑制破骨细胞的形成。茶多酚可抑制 NF- κ B 的活性,通过作用于 HMC-1 细胞雌激素受体 ERK,限制可诱导型 NO 合成酶的表达,使得 $TNF-\alpha$, $IL-6$ 和 NO 等炎症因子的释放减少,从而起到抗炎和缓解骨丢失作用。

4 结果与展望

植物多酚具有抗氧化活性、雌激素样作用和抗炎能力,能够有效的预防和治疗骨质疏松。植物多酚在自然界中含量丰富,但目前国内外关于植物多酚抑制骨质疏松的研究原料比较集中,需要进一步扩大研究资源。植物多酚抗骨质疏松的生物活性成分和有效剂量问题也未明确,且研究中采用的多为体外实验,体内实验相对较少,因此,研究要进一步确定植物多酚的生物活性成分、有效剂量和生物利用度。此外,还要关注在高脂肪饮食、糖尿病和慢性炎症等特殊情况下,植物多酚对抗骨质疏松的生理作用。

参考文献

- [1] Shen C L, Chyu M C, Cao J J, *et al.* Green tea polyphenols improve bone microarchitecture in high-fat-diet-induced obese female rats through suppressing bone formation and erosion[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2013, 16(5): 421-427.
- [2] Oka Yoshiomi, Iwai Shinichi, Amano Hitoshi, *et al.* Tea polyphenols inhibit rat osteoclast formation and differentiation[J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2012, 118(1): 55-64.
- [3] Shen C L, Yeh J K, Christina Samathanama, *et al.* Protective actions of green tea polyphenols and alfacalcidol on bone microstructure in female rats with chronic inflammation[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2011, 22: 673-680.
- [4] Shen C L, Yeh J K, Gao J J, *et al.* Green tea polyphenols mitigate bone loss of female rats in a chronic inflammation-induced bone loss model[J]. *J Nutr Biochem*, 2010, 21(10): 968-974.
- [5] Wong RWK, Rabie ABM. Effect of quercetin on preosteoblasts and bone defects[J]. *The Open Orthopaedics Journal*, 2008, 2(1): 27-32.
- [6] Liang Wei, Luo Zhonghua, Ge Shuhua. Oral administration of quercetin inhibits bone loss in rat model of diabetic osteopenia[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 670(1): 317-324.
- [7] Derakhshanian H, Djalali M, Djazayeri A, *et al.* Quercetin prevents experimental glucocorticoid-induced osteoporosis: a comparative study with alendronate[J]. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2013, 91(5): 380-385.
- [8] Derakhshanian H, Ghadbeigi S, Rezaian M, *et al.* Quercetin improves bone strength in experimental biliary cirrhosis[J]. *Hepatology Research*, 2013, 43(4): 394-400.
- [9] Sehmisch S, Hannner F, Christoffel J, *et al.* Comparison of the phytohormones genistein, resveratrol and 8-prenylnaringenin as agents for preventing osteoporosis[J]. *Planta Med*, 2008, 74(8):

794-801.

- [10] Lai C Y, Yang J Y, Rayalam S, *et al.* Preventing bone loss and weight gain with combinations of vitamin D and phytochemicals[J]. *J Med Food*, 2011, 14(11): 1352-1362.
- [11] Habold C, Momken I, Ouadi A, *et al.* Effect of prior treatment with resveratrol on density and structure of rat long bones under tail-suspension[J]. *J Bone Miner Metab*, 2011, 29(1): 15-22.
- [12] Fistonc I, Situm M, Bulat V, *et al.* Olive oil biophenols and women's health[J]. *Medicinski Glasnik*, 2012, 9(1): 1-9.
- [13] Keitaro H, Tadashi G, Masahiro A, *et al.* Olive polyphenol hydroxytyrosol prevents bone loss [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 622: 78-84.
- [14] Caroline P, Julie M, Apostolis A, *et al.* Major phenolic compounds in olive oil modulate bone loss in an ovariectomy/inflammation experimental model[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56, 9417-9422.
- [15] Shen C L, Vera V B, Chyu M C. Fruits and dietary phytochemicals in bone protection[J]. *Nutrition Research*, 2012, 32(12): 897-910.
- [16] Almeida M. Aging and oxidative stress - A new look at old bone[J]. *IBM Bone Key*, 2010, 7(10): 340-352.
- [17] Monroe D G, McGee - Lawrence M E, Oursler M J, *et al.* Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease [J]. *Gene*, 2012, 492(1): 1-18.
- [18] Tanaka H, Mine T, Ogasa H, *et al.* Expression of RANKL/OPG during bone remodeling *in vivo* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 411(4): 690-694.
- [19] Takahashi N, Maeda K, Ishihara A, *et al.* Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals[J]. *Front Biosci*, 2011, 16: 21-30.
- [20] 杨亚军, 崔燎, Yang Ya-Jun, 等. FoxO/Wnt 通路在氧化应激介导的骨质疏松中的调控机制[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(1): 27-30.
- [21] Shen C L, Yeh J K, Stoecker B J, *et al.* Green tea polyphenols mitigate deterioration of bone microarchitecture in middle-aged female rats[J]. *Bone*, 2009, 44(4): 684-690.

- [22] Bellion P, Digles J, Will F, *et al.* Polyphenolic apple extracts: effects of raw material and production method on antioxidant effectiveness and reduction of DNA damage in caco-2 cells[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(11): 6636-6642.
- [23] 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.
- [24] Wang H D, Shi Y M, Li L, *et al.* Treatment with resveratrol attenuates sublesional bone loss in spinal cord-injured rats[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2013, 170(4): 796-806.
- [25] Lee K, Jessop H, Suswillo R, *et al.* Endocrinology: bone adaptation requires oestrogen receptor - alpha [J]. *Nature*, 2003, 424(6947): 389.
- [26] Su J L, Yang C Y, Zhao M, *et al.* Forkhead proteins are critical for bone morphogenetic protein-2 Regulation and anti-tumor activity of resveratrol[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(27): 19385-19398.
- [27] Tseng P C, Hou S M, Chen R J, *et al.* Resveratrol promotes osteogenesis of human mesenchymal stem cells by upregulating RUNX2 gene expression via the SIRT1/FOXO3A axis[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2011, 26(10): 2552-2563.
- [28] Holloway K R, Calhoun T N, Saxena M, *et al.* SIRT1 regulates dishevelled proteins and promotes transient and constitutive Wnt signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(20): 9216-9221.
- [29] Chen Lulu, Wang Suxing, Dai Yu, *et al.* Effect of catch-up growth by various dietary patterns and resveratrol intervention on bone status [J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2012, 237(3): 297-304.
- [30] Shakibaei M, Buhrmann C, Mobasheri A, *et al.* Resveratrol-mediated SIRT - 1 interactions with p300 modulate receptor activator of NF-kappa B ligand (RANKL) activation of NF-kappa B signaling and inhibit osteoclastogenesis in bone-derived cells [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(13): 11492-11505.

(上接第 385 页)

- reversible addition - fragmentation chain transfer radical polymerization and its application in the clenbuterol [J]. *The Analyst*, 2013(10): 3066-3074.
- [25] 张慧婷, 叶贵标, 李文明, 等. 分子印迹传感器技术在农药检测中的应用[J]. *农药学报*, 2006(1): 8-13.
- [26] Andrea P, Miroslav S, Silvia S. A solid binding matrix/ molecularly imprinted polymer - based sensor system for the determination of clenbuterol in bovine liver using differential-pulse voltammetry [J]. *Sensors and Actuators B*, 2001(1): 286-294.
- [27] Zhou H J, Zhang Z J, He D Y. Flow chemiluminescence sensor for determination of clenbuterol based on molecularly

- imprinted polymer [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004(2): 237-242.
- [28] Zhao C, Jin G P, Chen L L. Preparation of molecular imprinted film based on chitosan/naion/nano - silver/poly quercetin for clenbuterol sensing [J]. *Food Chemistry*, 2011(2): 595-600.
- [29] 丁照云, 齐玉冰, 刘艳丽, 等. 多壁碳纳米管-分子印迹传感器测定盐酸克伦特罗[J]. *分析实验室*, 2012(9): 121-124.
- [30] Liang R N, Gao Q, Qin W. Potentiometric Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymers for Rapid Determination of Clenbuterol in Pig Urine [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012(3): 354-358.