

•综述•

淫羊藿苷治疗激素性股骨头坏死分子机制研究进展

高彦淳 朱奕 张长青 傅德皓 姜晨轶

摘要 淫羊藿苷在治疗激素性股骨头坏死方面的研究取得了显著进展。淫羊藿苷可通过提高促血管生成因子表达及抑制炎症因子,减少血管损伤,保护骨内血管的完整性。同时,淫羊藿苷能减少骨细胞凋亡,抑制骨髓脂肪细胞增生,促进局部骨修复,延缓病情进展。淫羊藿苷还可以通过促进成骨相关基因的表达,抑制脂肪分化,并通过表观遗传机制,发挥其治疗股骨头坏死的作用。此外,淫羊藿苷能通过激活相关信号通路,逆转缺氧引起的不良影响,保护成骨细胞功能。未来研究应深入解析淫羊藿苷在不同细胞类型间的相互作用及其在免疫调节中的作用机制,以全面了解其在治疗激素性股骨头坏死中的分子机制。该文就淫羊藿苷治疗激素性股骨头坏死分子机制研究进展进行综述。

关键词 股骨头坏死;淫羊藿苷;糖皮质激素;内皮细胞;间充质干细胞;成骨细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2024.04.009

股骨头坏死是一种在临床上常见且难以治愈的疾病,其高发残疾率和长期病程使患者往往经历漫长的病痛,失去髋关节功能,甚至影响正常生活和工作^[1]。随着病情的发展,一些患者不得不接受人工全髋关节置换术。然而,对于年轻患者,由于置换手术的限制,可能需要进行多次全髋关节翻修术,给患者及其家庭带来沉重的经济负担^[2]。

激素性股骨头坏死是我国最常见的非创伤性股骨头坏死类型,患者通常具有明确的皮质类固醇使用史^[3]。统计数据显示,我国激素性股骨头坏死患者占非创伤性股骨头坏死患者的36%,总数约为280万^[4]。这主要归因于我国内科疾病如血液病、呼吸系统疾病、皮肤病等的大基数,这些疾病通常需要长期使用糖皮质激素。尽管近年来医疗水平有所提高,对糖皮质激素的使用得到规范,但仍然存在患者罹患激素性股骨头坏死的情况,其中大部分是年轻患者^[4]。

许多研究已深入研究股骨头坏死,将其视为多组织共同参与的复杂过程^[5-8]。研究表明,激素性股骨头坏死发生涉及多种细胞不同信号通路,包括血管损伤、成骨分化异常、骨细胞凋亡、破骨-成骨平衡破坏等一系列病理生理变化^[6]。

淫羊藿又称淫羊草或淫羊草,是一种传统中药材,其主要功效包括补肾壮阳、祛风除湿、强筋

健骨,主治腰酸腿痛、四肢拘挛、筋骨痿软等^[9]。长期临床经验表明,淫羊藿在治疗骨代谢性疾病方面是有效的。淫羊藿苷是淫羊藿的主要药效成分,其在治疗激素性股骨头坏死方面的作用逐渐受到许多研究证实,成为新一代防治激素性股骨头坏死的热点药物^[10-13]。

1 对血管内皮细胞的保护作用

激素诱导骨内微血管内皮细胞,导致骨内微循环障碍,这可能是股骨头坏死发生的重要原因^[14-17]。赵丁岩等^[18]通过体外分离股骨头骨内微血管内皮细胞成功建立体外激素损伤模型和淫羊藿苷预处理模型,结果表明淫羊藿苷能有效降低糖皮质激素诱导的骨内微血管内皮细胞凋亡。他们进一步进行蛋白质芯片筛选实验,结果显示淫羊藿苷可减少由糖皮质激素诱导引起的粒细胞集落刺激因子(G-CSF)下降,同时减少糖皮质激素引起的白细胞介素(IL)-4上调。这一系列实验证明,淫羊藿苷通过提高促血管生成因子表达,抑制炎症因子,减少血管损伤,从而保护骨内血管完整性。

此外,淫羊藿苷的作用机制还包括通过激活蛋白激酶(Akt)信号通路,上调血管新生相关细胞因子表达,促进骨微血管内皮细胞迁移、成管和血管新生。动物实验表明,淫羊藿苷还能改善糖皮质激素导致的股骨头血管容积减少,进一步印证了其在预防糖皮质激素诱导的股骨头坏死中的疗效^[19-20]。值得注意的是,Yue等^[21]的研究认为,骨内微血管细胞的成管能力和迁移能力下降与糖皮质激素诱导miRNA-335过表达有关。淫羊藿苷

基金项目:国家自然科学基金(82070911)

作者单位:200233, 上海交通大学医学院附属第六人民医院骨科

通信作者:傅德皓 E-mail: fudehao@sjtu.edu.cn

姜晨轶 E-mail: jiangchenyi716@163.com

通过下调 miRNA-335 表达,减少糖皮质激素导致的血管形成能力下降。

Zhang 等^[22]的研究进一步指出,淫羊藿苷对 endothelial 细胞的调控作用不仅是直接调控,而且包括对其分泌的细胞外囊泡的自分泌调控。淫羊藿苷可通过刺激骨内微血管内皮细胞,在不改变细胞外囊泡体积和总蛋白量的前提下,促进血管内皮生长因子(VEGF)和转化生长因子- β 1(TGF- β 1)表达,从而提高细胞活力,减少细胞凋亡,促进细胞迁移和血管生成。他们认为,淫羊藿苷通过细胞外囊泡的自分泌活性部分实现了对骨内血管损伤和骨病的保护作用。

张庆宇等^[23]对骨内微血管内皮细胞进行了深入的体外研究,在糖皮质激素的刺激下,内皮细胞 LC3B-II 蛋白表达逐渐增加,而 p62 蛋白则减少;通过内皮细胞划痕实验发现,糖皮质激素导致迁移能力下降,而成管试验则显示,糖皮质激素使管腔数、出芽数和小管分支长度减少,内皮细胞成管能力降低;淫羊藿苷可以减少糖皮质激素诱导的这种蛋白改变。该研究结果表明,淫羊藿苷对于减少激素诱导的骨内微血管内皮细胞自噬起到了保护作用。这一发现为淫羊藿苷在维护骨内血管损伤方面的有效性提供了有力支持。

2 对骨细胞的保护作用

赵丁岩等^[18]在激素诱导的新西兰兔股骨头坏死模型中观察到淫羊藿苷的显著疗效,它能有效减少激素引起的股骨头塌陷、骨小梁扭曲及排列紊乱稀疏现象;经显微 CT 扫描进一步分析显示,淫羊藿苷能使激素导致的骨小梁数量、厚度及相对体积减少。该研究认为,淫羊藿苷通过有效减少骨细胞凋亡和抑制骨髓脂肪细胞增生,促进局部骨修复,延缓病情进展。该结果为淫羊藿苷治疗激素性股骨头坏死的分子机制研究提供了重要线索。淫羊藿苷通过调节骨细胞生理过程,降低细胞凋亡,减缓骨髓脂肪细胞过度增生,进而在骨组织水平上实现了局部修复的效果。这一发现为深入理解淫羊藿苷在治疗股骨头坏死中的分子层面机制提供了有力支持。

3 对骨髓间充质干细胞的保护作用

目前在淫羊藿苷治疗股骨头坏死的分子机制研究中,对骨髓间充质干细胞的影响是研究的重要方向^[24-26]。

淫羊藿苷通过促进骨髓间充质干细胞 Runx2、

碱性磷酸酶(ALP)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)和骨钙素表达,以及抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)表达,起到促成骨的作用。淫羊藿苷能通过促进骨髓间充质干细胞增殖,促进其成骨分化,同时抑制其向脂肪细胞分化。这一作用在大鼠实验中再次得到验证,证明淫羊藿苷对预防股骨头坏死发生具有显著效果^[27-28]。淫羊藿苷还通过促进骨髓间充质干细胞 p-Smad5、Wnt1 和 β -catenin mRNA 和蛋白表达,上调 ALP、I 型胶原交联羧基端肽(CTXI)、I 型胶原交联氨基端肽(NTXI)等骨生化指标水平,改善股骨头坏死。有研究证实,Runx2 是 miR-23a-3p 的直接靶标,认为淫羊藿苷通过下调 miR-23a-3p 水平和调节 BMP-2/Smad5/Runx2 及 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进骨髓间充质干细胞活力和成骨分化,并改善股骨头坏死^[28]。

此外,淫羊藿苷还具有降低氧化应激、促成骨的作用,通过诱导新的 P-gp 表达,调控 ABCB1 基因的异常 CpG 岛超甲基化。这表明淫羊藿苷可能通过改变骨髓间充质干细胞的表观遗传机制,发挥治疗激素性股骨头坏死的作用^[29]。

4 对成骨细胞的保护作用

在股骨头坏死中,成骨细胞功能损伤是与血管损伤、微环境改变密切相关的继发性改变^[30-32],这种损伤经常发生于缺血缺氧的环境中^[33-35]。

学者们为了模拟缺氧的体内环境,进行了一系列体外实验,结果表明缺氧处理会抑制细胞活力,降低 CyclinD1 含量,但会提高 p53 和 p16 含量;缺氧刺激可促进 Bax 和裂解聚 ADP 核糖聚合酶表达,减少 Bcl-2 表达,促使成骨细胞发生凋亡^[33,36]。此外,缺氧刺激还可抑制 ALP 活性,减少骨桥蛋白、骨钙素和 RUNX2 表达^[37-38]。

Wang 等^[39]研究发现,淫羊藿苷可以逆转由缺氧刺激引起的这些不良影响。淫羊藿苷通过阻断 STE20 相关脯氨酸/丙氨酸丰富激酶(SPAK)/c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路,以及激活成骨细胞中的磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路,抑制 TALNEC2 表达,从而缓解缺氧刺激对成骨细胞的损伤。这一机制的发现为淫羊藿苷在治疗股骨头坏死中的作用提供了新的认识。这些研究结果不仅为淫羊藿苷的治疗机制提供了有力的支持,同时也为未来更深入的研究和临床应用奠定了基础。

5 展望

目前淫羊藿苷在防治股骨头坏死方面的研究取得了一定的进展,但仍存在一些尚未解决的问题,尤其是在淫羊藿苷促进成骨分化的具体机制方面,虽然有大量的研究明确了其在体内的作用,但具体调节方式尚不明确。目前尚无法证实淫羊藿苷是直接通过其本身的成骨作用,还是通过代谢产物来促进成骨。因此,对淫羊藿苷在成骨分化方面的作用机制需要更深入的研究。

另一研究热点是淫羊藿苷对血管内皮的保护作用。尽管多个研究证实了淫羊藿苷对血管新生的促进作用,但其具体的机制尚不明确,尤其是在对抗血管内皮细胞凋亡的作用方面,虽然有所提及,但其具体的分子机制仍然模糊,主要由于对糖皮质激素诱导内皮细胞凋亡的研究仍存在一定的局限性。为了更全面地理解这一作用机制,需要进一步深入研究该通路的病理生理机制。

此外,淫羊藿苷对骨内多种细胞都具有调控作用,而这种调控不仅限于同种细胞内部,而且涉及细胞间的旁分泌或相互调节关系。这一发现提示淫羊藿苷的免疫机制和组织内协同调控作用尚待更深入的研究。未来的研究可以侧重于深入解析淫羊藿苷在不同细胞类型之间的相互影响,以及其在免疫调节和协同调控方面的作用机制。

除了已提及的相关信号通路外,可能还存在其他与淫羊藿苷相关的信号通路。这些信号通路之间可能存在相互作用和交叉重叠,因此单独研究其中一条通路可能会有一定的局限性。在未来的研究中,建议将更多关联的信号通路纳入考虑,以全面了解淫羊藿苷在治疗激素性股骨头坏死中的作用机制。

综上所述,淫羊藿苷在防治激素性股骨头坏死方面展现出了广阔的应用前景。随着对其作用机制的深入研究和对相关问题的逐步解决,相信淫羊藿苷将成为临床上有效的新型药物,为患者提供更加可靠和有效的治疗手段。

参考文献

- [1] Sodhi N, Acuna A, Etcheson J, et al. Management of osteonecrosis of the femoral head[J]. Bone Joint J, 2020, 102B(7_Supple_B): 122-128.
- [2] Liu YF, Chen WM, Lin YF, et al. Type II collagen gene variants and inherited osteonecrosis of the femoral head[J]. N Engl J Med, 2005, 352(22): 2294-2301.
- [3] Mont MA, Cherian JJ, Sierra RJ, et al. Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: where do we stand today? A ten-year update[J]. J Bone Joint Surg Am, 2015, 97(19): 1604-1627.
- [4] Zhao DW, Yu M, Hu K, et al. Prevalence of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head and its associated risk factors in the chinese population: results from a nationally representative survey[J]. Chin Med J (Engl), 2015, 128(21): 2843-2850.
- [5] Chen K, Liu Y, He J, et al. Steroid-induced osteonecrosis of the femoral head reveals enhanced reactive oxygen species and hyperactive osteoclasts[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(11): 1888-1900.
- [6] Quan H, Ren C, He Y, et al. Application of biomaterials in treating early osteonecrosis of the femoral head: research progress and future perspectives[J]. Acta Biomater, 2023, 164: 15-73.
- [7] Cheng Y, Chen H, Duan P, et al. Early depletion of M1 macrophages retards the progression of glucocorticoid-associated osteonecrosis of the femoral head[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 122: 110639.
- [8] Chen CY, Rao SS, Yue T, et al. Glucocorticoid-induced loss of beneficial gut bacterial extracellular vesicles is associated with the pathogenesis of osteonecrosis[J]. Sci Adv, 2022, 8(15): eabg8335.
- [9] Bi Z, Zhang W, Yan X. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of icariin and icaritin[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 151: 113180.
- [10] Tong X, Wang Y, Dong B, et al. Effects of genus Epimedium in the treatment of osteoarthritis and relevant signaling pathways[J]. Chin Med, 2023, 18(1): 92.
- [11] Ke L, Duan X, Cui J, et al. Research progress on the extraction technology and activity study of Epimedium polysaccharides[J]. Carbohydr Polym, 2023, 306: 120602.
- [12] Li JC, Liang XZ, Luo D, et al. Study on the molecular mechanism of BuShenHuoXue capsule in treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(24): 1680.
- [13] 丁强, 孙楠, 王孝辉. 淫羊藿苷对诱导膜内 TGF- β 1 及 bFGF 表达水平的影响研究 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2020, 34(11): 1405-1409.
- [14] Liao Z, Jin Y, Chu Y, et al. Single-cell transcriptome analysis reveals aberrant stromal cells and heterogeneous endothelial cells in alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. Commun Biol, 2022, 5(1): 324.
- [15] Zheng C, Wu Y, Xu J, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells ameliorate glucocorticoid-induced osteonecrosis of femoral head by transferring microRNA-210 into bone microvascular endothelial cells[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 939.
- [16] Peng P, He W, Zhang YX, et al. CircHIPK3 promotes bone microvascular endothelial cell proliferation, migration and angiogenesis by targeting miR-7 and KLF4/VEGF signaling in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. Adv Clin Exp Med, 2023, 32(1): 43-55.
- [17] Fang L, Zhang G, Wu Y, et al. SIRT6 prevents glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 6360133.
- [18] 赵丁岩, 俞庆声, 郭万首, 等. 淫羊藿苷对激素诱导损伤人股骨头微血管内皮细胞蛋白质表达谱的影响 [J]. 中华医学杂志, 2016,

- 96(13): 1026-1030.
- [19] Yu H, Yue J, Wang W, et al. Icaritin promotes angiogenesis in glucocorticoid-induced osteonecrosis of femoral heads: In vitro and in vivo studies[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11): 7320-7330.
- [20] Li T, Liu Y, Zhang Q, et al. A steroid-induced osteonecrosis model established using an organ-on-a-chip platform[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(4): 1070.
- [21] Yue J, Yu H, Liu P, et al. Preliminary study of icaritin indicating prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head by regulating abnormal expression of miRNA-335 and protecting the functions of bone microvascular endothelial cells in rats[J]. *Gene*, 2021, 766: 145128.
- [22] Zhang Q, Li T, Li Z, et al. Autocrine activity of extracellular vesicles induced by icaritin and its effectiveness in glucocorticoid-induced injury of bone microvascular endothelial cells[J]. *Cells*, 2022, 11(12): 1921.
- [23] 张庆宇, 高福强, 程立明, 等. 淫羊藿苷对骨髓血管内皮细胞自噬及分泌体产生的影响 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2019, 33(5): 568-577.
- [24] Wang G, Li Y, Sun T, et al. BMSC affinity peptide-functionalized beta-tricalcium phosphate scaffolds promoting repair of osteonecrosis of the femoral head[J]. *J Orthop Surg Res*, 2019, 14(1): 204.
- [25] Ma J, Shen M, Yue D, et al. Extracellular vesicles from BMSCs prevent glucocorticoid-induced BMECs injury by regulating autophagy via the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. *Cells*, 2022, 11(13): 2104.
- [26] Jia B, Jiang Y, Yao Y, et al. Baicalin attenuates dexamethasone-induced apoptosis of bone marrow mesenchymal stem cells by activating the hedgehog signaling pathway[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2023, 136(15): 1839-1847.
- [27] Huang Z, Cheng C, Cao B, et al. Icaritin protects against glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(2): 694-706.
- [28] Zhang XY, Li HN, Chen F, et al. Icaritin regulates miR-23a-3p-mediated osteogenic differentiation of BMSCs via BMP-2/Smad5/Runx2 and WNT/beta-catenin pathways in osteonecrosis of the femoral head[J]. *Saudi Pharm J*, 2021, 29(12): 1405-1415.
- [29] Sun ZB, Wang JW, Xiao H, et al. Icaritin may benefit the mesenchymal stem cells of patients with steroid-associated osteonecrosis by ABCB1-promoter demethylation: a preliminary study[J]. *Osteoporos Int*, 2015, 26(1): 187-197.
- [30] Maestro-Paramio L, Garcia-Rey E, Bensiamar F, et al. Osteoblast function in patients with idiopathic osteonecrosis of the femoral head: implications for a possible novel therapy[J]. *Bone Joint Res*, 2021, 10(9): 619-628.
- [31] Xu HJ, Liu XZ, Yang L, et al. Runx2 overexpression promotes bone repair of osteonecrosis of the femoral head (ONFH)[J]. *Mol Biol Rep*, 2023, 50(6): 4769-4779.
- [32] Zhao J, Mu L, Wang Z, et al. The potential roles of circular RNAs in osteonecrosis of the femoral head (review)[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(2): 533-539.
- [33] Meng K, Liu Y, Ruan L, et al. Suppression of apoptosis in osteocytes, the potential way of natural medicine in the treatment of osteonecrosis of the femoral head[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 162: 114403.
- [34] Ueda S, Shimasaki M, Ichiseki T, et al. Mitochondrial transcription factor a added to osteocytes in a stressed environment has a cytoprotective effect[J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(9): 1293-1299.
- [35] Xu J, Qiu X, Yu G, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibitor can protect the femoral head against tobacco smoke exposure-induced osteonecrosis in spontaneously hypertensive rats[J]. *Toxicology*, 2022, 465: 153045.
- [36] Liu Y, Gan Z, Hu F. Effect of hydroxyapatite bioceramics on the growth of osteoblasts and HIF- α /VEGF signal axis in partial hypoxia environment in vitro[J]. *Technol Health Care*, 2022, 30(S1): 363-369.
- [37] Oka S, Li X, Zhang F, et al. MicroRNA-21 facilitates osteoblast activity[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2021, 25: 100894.
- [38] Lee SY, Park KH, Lee G, et al. Hypoxia-inducible factor-2 α mediates senescence-associated intrinsic mechanisms of age-related bone loss[J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(4): 591-604.
- [39] Wang W, Xin J, Chen W, et al. Icaritin alleviates hypoxia-induced damage in MC3T3-E1 cells by downregulating TALNEC2[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2020, 67(6): 1000-1010.

(收稿日期 : 2024-01-28)

(本文编辑 : 卢千语)