

# 大豆异黄酮防治绝经后骨质疏松症的研究进展

## Progress of research on the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis by using isoflavone of soy bean

许勇 杜宁

XU Yong, Du Ning

【关键词】 异黄酮类; 骨质疏松, 绝经后 【Key words】 Isoflavone; Osteoporosis, postmenopausal

绝经后妇女约有 25% 患骨质疏松症, 雌激素替代疗法 (ERT) 虽能够有效防治绝经后骨质疏松症, 但惧于其毒副作用, 例如阴道出血及与增加患乳腺癌的危险性等, 为许多妇女所不能接受。植物雌激素, 如大豆异黄酮带有两个或三个羟基和芳香环, 与雌激素结构相似, 在组织中能够与雌激素受体结合, 具有弱类雌激素样作用, 被认为是雌激素的天然替代品, 引起了人们极大的关注。

### 1 大豆异黄酮的分类与代谢

1931 年, 人们开始发现大豆中含有高浓度的异黄酮。而大豆异黄酮作为植物雌激素的一种, 几乎只存在于大豆中, 尤其在胚轴中所含异黄酮种类较多且浓度较高, 子叶中浓度较低, 种皮中含量极少。不同加工方法对大豆食品中异黄酮的含量和成分影响较大。迄今发现的大豆异黄酮共有 12 种, 分为游离型的苷原和结合型的糖苷两类。苷原约占总量的 2% ~ 3%, 包括黄豆苷原 (genistein, 5, 7, 4'-三羟基异黄酮), 染料木黄酮 (daidzein, 7, 4'-二羟基异黄酮), 大豆黄素 (glycitein, 7, 4'-二羟基-6 甲氧基异黄酮), 其中人们研究最多的是 genistein 和 daidzein。糖苷约占总量的 97% ~ 98%, 主要以丙二酰染料木苷 (6''-O malonylgenistein)、丙二酰大豆苷 (6''-O malonyl daidzein)、染料木苷 (genistin) 和大豆苷 (daidzin) 形式存在。20 世纪 40 年代中期, 在澳洲人们观察到绵羊吃了三叶草后生殖失调, 三叶草中含有异黄酮前体刺芒柄花素 (formononetin) 和生物链 A (biochanin A)。在发动物瘤胃中发酵, 被菌群糖苷酶分解, 分别转变为染料木黄酮和黄豆苷原, 染料木黄酮的一部分进一步代谢为对乙基酚, 黄豆苷原的一部分代谢为雌马酚 (equol) 和氧去甲基安哥拉紫檀素 (O-DMA)。这是人们首次观察到异黄酮具有雌激素样作用。1984 年, Axelson 和 Setchell 等<sup>[1,2]</sup> 发现人尿中含有雌马酚 (equol), 当进食豆类食品时, 血液及尿中的异黄酮水平远远超过内源性雌激素, 由此, 他们相信异黄酮在人体内具有生物效应。所有的大豆蛋白中均含有较高浓度的大豆异黄酮, 主要是各种形式的结合型的糖苷。一般认为结合型的异黄酮在肠道内不能直接吸收, 所以不具生物活性, 它们在空肠内由糖苷酶催化发生水解作用, 产生具有生物活性的糖苷配基 genistein 和 daidzein。然

后, 不同的代谢产物在小肠远端进一步发生特异性代谢。糖苷配基以及所有的菌落代谢产物都在肠道内吸收, 主要被结合为糖醛酸, 然后进入肝肠循环。异黄酮进入人体后 4~8 小时达到药物峰值, 而在 24 小时内排出, 但存在个体差异性, 不同的膳食也能影响异黄酮的吸收和排泄。药代动力学研究还表明, 最好多次持续有规律地进食异黄酮, 在体内才能维持较高的血浆浓度水平<sup>[3]</sup>。

### 2 大豆异黄酮对骨质疏松症动物模型的作用研究

1995 年, Anderson 等<sup>[4]</sup> 报道 genistein 对骨的作用具有二相性, 他们以去卵巢的生长期和哺乳期大鼠作为研究对象, genistein 的干预量分别为 1.0mg/d、3.2mg/d、10mg/d。结果发现, 生长期及哺乳期大鼠分别喂药 2 周和 5 周后, 最低剂量 genistein 能够有效阻止去卵巢引起的骨量流失, 与雌激素功能相近, 而中高剂量却不能。1996 年, Arimandi 等<sup>[5]</sup> 研究了大豆蛋白对大鼠骨质疏松模型骨密度的影响。他们将 SD 大鼠随机分为四组: ①假手术组; ②去卵巢加酪蛋白组; ③去卵巢加大豆蛋白组; ④去卵巢加雌激素组。结果表明: 右股骨密度雌激素组最高, 而酪蛋白组最低, 大豆蛋白组的骨密度低于假手术组及雌激素组, 却显著高于酪蛋白组。第四腰椎的骨密度大豆蛋白组与雌激素组相似, 显著高于酪蛋白及假手术组。该实验显示大豆蛋白对松质骨有较好的保护作用。1998 年, Arimandi 等<sup>[6]</sup> 再次用相同的模型, 进一步阐明了大豆蛋白中所含异黄酮与其骨保护作用的关系: 异黄酮含量高的大豆蛋白能够提高大鼠股骨密度, 而异黄酮含量低的大豆蛋白则无效, 说明大豆蛋白对骨的保护作用与其中异黄酮含量相关。同年, Ishida 等<sup>[7]</sup> 报道大鼠灌喂 daidzein 和 genistein (50mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) 4 周后, 能有效防止去卵巢引起的股骨密度、强度、灰重及钙磷含量的下降。而 Fanti 等<sup>[8]</sup> 给去卵巢大鼠皮下注射 genistein 后, 则发现 5μg/g.wt 和 25μg.wt 能够显著改善骨量减少, 1μg/g.wt 却没有此效果。最近, Picherit 等<sup>[9]</sup> 报道在大鼠去卵巢 80 天后给予不同剂量的大豆异黄酮治疗 84 天后, 结果发现, 与去卵巢组比较, 40mg/d 和 80mg/d 两组虽能够降低骨钙素及脱氧吡啶酚的水平, 降低骨转换率, 但其不能明显提高股骨密度及骨量。

除大鼠外, 利用其它动物模型来研究大豆异黄酮防治骨质疏松症作用的研究报道较少。Jayo 等<sup>[10]</sup> 以去卵巢灵长类

动物猕猴作为绝经后骨质疏松症模型,大豆异黄酮喂养 23 个月,并没阻止猕猴的腰椎骨矿含量的下降,与之不同,雌激素却能增加腰椎骨矿含量。

### 3 大豆异黄酮治疗骨质疏松症的临床研究

1998 年 Potter 等<sup>[11]</sup>报道了大豆异黄酮对绝经后妇女骨密度及骨矿含量的影响,其实验采用随机双盲对照设计,66 名绝经后妇女分为三组,两组服用含有不同异黄酮剂量的大豆蛋白(40g/d):低剂量组,每克大豆蛋白含 1.39mg 异黄酮;高剂量组,每克大豆蛋白含 2.25mg 异黄酮,另外一组服用酪蛋白及脱脂奶粉,实验共进行 6 个月。结果发现,高剂量组腰椎骨密度及骨矿含量上升,低剂量组保持不变,酪蛋白组下降。2000 年, Wangen 等<sup>[12]</sup>报道绝经前妇女进食低剂量异黄酮后胰岛素样因子 I (IGF I)、胰岛素样因子结合蛋白 3 (IGFBP3) 水平上升,而高剂量异黄酮在月经周期的某些时候能升高脱氧吡啶酚水平。绝经后妇女进食异黄酮后,骨源性碱性磷酸酶下降,骨钙素,胰岛素样因子 I (IGF I)、胰岛素样因子结合蛋白 3 (IGFBP3) 水平随异黄酮的浓度增加有下降趋势。虽然大豆异黄酮能够影响骨转换指标,但由于幅度变化较小,所以他们不支持膳食异黄酮对妇女骨转换产生有益影响的观点。与此同时, Alekel 等<sup>[13]</sup>则报道经过 6 个月的随机双盲临床实验,他们发现大豆异黄酮能够防止围绝经期妇女腰椎骨矿含量及骨密度的下降,而大豆蛋白则不能。最近, Hsu 等<sup>[14]</sup>报道健康绝经后妇女每天 2 次共服用 150mg 大豆异黄酮 6 月后,跟骨骨密度与基础值比较无明显改善。而 Somekawa 等<sup>[15]</sup>经过对 478 名绝经后妇女调查研究后,结果表明大量进食豆制品(54.3mg/d),能够提高腰椎骨密度。以上可以看出,对于大豆异黄酮治疗骨质疏松症临床效果的观点还不一致。

### 4 大豆异黄酮治疗骨质疏松症的分子机制

雌激素受体(ER)属核受体超家族中的一员,有 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  两个亚型。现代认为成骨细胞及破骨细胞都有 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  存在。大豆异黄酮随血液分布全身,被组织摄入细胞后,与细胞核中的雌激素受体结合,对基因的表达进行调节,从而影响细胞的增殖分化。据报道,异黄酮具有雌激素样及抗雌激素样双相作用,这是否和异黄酮与不同受体结合所产生的生理效应不同有关尚不清楚。2000 年, Yamaguchi 等<sup>[16]</sup>报道大豆异黄酮(genistein and daidzein)能够激活氨基酰 tRNA 复合物合成酶,从而使成骨样细胞合成蛋白增加,促进骨形成。1996 年, Blair 等<sup>[17]</sup>报道 genistein 在体内外能通过抑制酪蛋白激酶活性来减少破骨细胞的活性。1999 年, gao 等<sup>[18,19]</sup>报道 genistein 作用于培养的大鼠骨髓基质细胞后,不仅能抑制破骨样细胞的形成,而且可通过 Ca<sup>2+</sup> 信号传导途径诱导其凋亡。最近, Yamagishi 等<sup>[20]</sup>研究发现 Genistein 能够降低骨髓基质 ST 2 细胞 RANKL mRNA 的水平,而升高其护骨因子(OPG) mRNA,而且 genistein 是拓扑异构酶 II (topoisomerase II) 的特异性抑制剂,它可通过抑制其活性来减少破骨样细胞的形成。从上可以看出大豆异黄酮在分子水平发挥作用的途径可包括基因组(细胞核受体途径)和非基因组(膜受体途径)两种方式。非基因组途径主要作用抑制 ATP 依赖酶:酪氨酸蛋白激酶和拓扑异构酶 II 等。

综上所述,大豆异黄酮防治绝经后骨质疏松症的动物实验及临床试验不同地区研究者的研究结果还不太一致,其可能原因如下:首先,大豆异黄酮的最佳摄入量还未有统一标准,上述研究中大豆异黄酮的用量往往是主观性的。1994 年, Cassidy 等报道绝经前妇女每日进食 45mg 异黄酮能够改变月经周期,所以临床试验通常采用的剂量是每天摄入异黄酮 50mg。而且不同研究者实验用大豆异黄酮来源及成分存在较大差异,有的是食物来源,有的是异黄酮,还有的是异黄酮中的某一单体,所观察到的结果有可能受食物中的成分及异黄酮中单体成分之间比例的影响。第二,大豆异黄酮代谢吸收受肠道菌群、膳食以及内源性雌激素水平的影响,因此,即使异黄酮摄入量相同,不同个体血浆异黄酮浓度也有很大的差异。第三,不同研究者的实验设计方案不同,尤其是临床试验结果受研究对象和观察例数等的诸多因素影响。虽然对大豆异黄酮防治绝经后骨质疏松症作了不少研究,但仍需大量长期的人体研究以彻底证明其临床有效性及安全性。大豆异黄酮对骨代谢调节作用的机制不明之处还很多,也需进一步深入探讨。现已证实,除防治骨质疏松症外,大豆异黄酮对绝经后妇女还发挥着多重有益的作用。因此,异黄酮及其衍生物是一类具有良好开发和应用前景的保健品及药物。

### 参考文献

- 1 Axelson M, Sjoval J, Gustafsson B, et al. Soy as a dietary source of the nonsteroidal oestrogen equol in humans and animals. *J Endocrinol*, 1984, 102: 49-56.
- 2 Setchell KDR, Borriello SP, Hulme P, et al. Nonsteroidal oestrogens of dietary origin: possible roles in hormone dependent disease. *Am J Clin Nutr*, 1984, 40: 569-578.
- 3 Kennel DR. Absorption and metabolism of soy isoflavones from food to dietary supplements and adults to infants. *J Nutr*, 2000, 130: 654-655.
- 4 Anderson JJ, Ambrose WW. Orally dosed genistein from soy and prevention of cancellous bone loss in two ovariectomized rat models. *J Nutr*, 1995, 125(suppl): 799-783.
- 5 Arimandi BH, Alekel L, Hollis BW, et al. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr*, 1996, 126: 16F-167.
- 6 Arimandi BH, Birnbaum R, Goyal NV, et al. Bone sparing effect of soyprotein in ovarian hormone deficient rats is related to its isoflavone content. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(suppl): 1364-1368.
- 7 Ishida H, Uesugi T, Hirai K, et al. Preventive effects of the plant isoflavone, daidzin and genistein on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium deficient diet. *Biol Pharm Bull*, 1998, (1): 62-66.
- 8 Fanti O, Faugere MC, Gang Z, et al. Systemic administration of genistein partially prevents bone ovariectomized rats in a nonestrogen like mechanism. *Am J Nutr*, 1998, 68(suppl): 1517-1522.
- 9 Picherit C, Bennetau PC, Chanteranne B, et al. Soybean isoflavones dose dependently reduce bone turnover but do not reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. *J Nutr*, 2001, 131(3): 723-728.
- 10 Jayo MJ, Anthony MS, Register TC, et al. Dietary soy isoflavones and bone loss in ovariectomized monkeys. *Faseb J*, 1997, 11: 228-293.
- 11 Potter SM, Baum JA, Teng H, et al. Soy protein and isoflavones: Their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(suppl): 1375-1379.

12 Wangen KE, Duncan AM, Merz Demlow BE, et al. Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(9): 3043-3048.

13 Alekel DL, Gemain AS, Peterson CT, et al. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72(3): 679-680.

14 Hsu CS, Shen WW, Hsueh YM, et al. Soy isoflavone supplementation in postmenopausal women. Effects on plasma lipids, antioxidant enzyme activities and bone density. *J Reprod Med*, 2001, 46(3): 221-226.

15 Somekawa Y, Chiguchi M, Ishibashi T, et al. Soy intake related to menopausal symptoms, serum lipids and bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Obstet Gynecol*, 2001, 97(1): 109-115.

16 Yamaguchi M, Sugimoto E. Stimulatory effect of genistein and daidzein on protein synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells: activation

of aminoacyl-tRNA synthetase. *Mol Cell Biochem*, 2000, 214(1-2): 97-102.

17 Blair HC, Jordan SE, Peterson TG, et al. Variable effects of tyrosine kinase inhibitors on avian osteoclastic activity and reduction of bone loss in ovariectomized rats. *J Cell Biochem*, 1996, 61(4): 629-637.

18 Gao YH, Yamaguchi M. Inhibitory effect of genistein on osteoclast-like cell formation in mouse marrow cultures. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58(5): 767-772.

19 Gao YH, Yamaguchi M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: apoptosis is induced through Ca<sup>2+</sup> signaling. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(8): 805-809.

20 Yamagishi T, Otsuka E, Hagiwara H. Reciprocal Control of Expression of mRNAs for osteoclast differentiation factor and OPG in osteogenic stromal cells by genistein: Evidence for the involvement of topoisomerase II in osteoclastogenesis. *Endocrinology*, 2001, 142(8): 3632-3637.

(收稿: 2001-10-10 编辑: 李为农)

## • 短篇报道 •

# 从髌臼受力机制指导病人功能锻炼

潘文军

(上虞市中医院, 浙江 上虞 312300)

髌臼骨折是比较常见的一种严重创伤, 损伤原因以车祸、高处坠落引起为多见, 骨折后局部循环障碍、炎症和疼痛将引起关节肌肉功能废用从而造成所谓骨折病的发生, 所以术后合理有效指导病人进行功能锻炼相当重要。对于关节周围骨折尤其重要, 笔者对髌臼骨折按 Letournel 分型<sup>[1]</sup>, 分析其受力机制, 合理指导取得较好效果。

### 1 临床资料

本组 12 例, 男 10 例, 女 2 例; 年龄 20~61 岁, 平均 36.5 岁。车祸伤 9 例, 坠落伤 3 例, 根据 Letournel 分型: 后壁骨折 4 例, 前柱骨折 2 例, T 型骨折 4 例, 双柱骨折 2 例。合并四肢骨折 4 例, 肋骨骨折、血气胸 2 例, 休克 2 例, 脑外伤 1 例, 上述病例符合手术条件 11 例, 并进行手术治疗, 保守治疗 1 例。住院最短 30 天, 最长 90 天, 平均 41.5 天。

### 2 功能锻炼

2.1 后壁骨折 损伤机制: 屈膝屈髌 90° 位置, 暴力作用于膝前部或髌骨后部, 故术后指导功能锻炼应避免该体位活动, 尽量在外展位行髌膝关节功能锻炼, 且早期髌关节不宜超过 90°, 这样可避免股骨头直接顶撞骨折块。

2.2 前柱骨折 损伤机制: 髌关节外展位 30° 外力作用于大转子部, 对于该类骨折, 笔者认为术后功能锻炼很少用该体位, 故只要在不外旋、不过伸情况下, 屈曲髌关节功能锻炼可不受角度限制, 股骨头不会直接顶撞骨折块。

2.3 T 型骨折 损伤机制: ①股骨头内旋 15°~20° 合并不同程度的外展, 暴力作用于股骨头大转子外侧部; ②髌关节屈曲,

下肢外展, 暴力作用于髌髌部, 其暴力大于横行骨折, 常伴股骨头中心性脱位。对于该型髌臼骨折复位必须前后入路, 但骨折线常未累及负重顶端, 故术后 3~4 天后被动活动关节和静力性的肌收缩功能锻炼, 半月后主动在中立位下屈伸髌关节, 一般双骨折块作用不大, 以防手术关节周围软组织疤痕挛缩粘连。

2.4 双柱骨折 为髌臼骨折复杂的一种, 是一种作用于大转子侧方强大暴力所致, 髌臼关节不再与中轴髌骨相连, 有浮动髌臼之称, 仅髌翼后部与髌骨相连接, 该型骨折关节功能恢复最差, 故术后指导更重要, 向主刀医师了解术中情况先辨别哪一柱较稳定, 一般以后柱稳定, 因后柱从解剖结构来看较重要, 手术方面又需前后双入路, 早期功能锻炼相当重要, 但在皮牵引外展位下屈伸髌关节使其有良好功能恢复。

### 3 结果

经过上述分型指导功能锻炼, 随访 0.5~3 年, 关节功能后壁、前柱骨折功能优良率 100%, 而 T 型、双柱骨折功能优良率达 84%, 尚可 10%, 保守治疗 1 例, 功能优良, 笔者认为从髌臼受力机制指导病人功能锻炼, 对关节功能恢复, 促进骨折愈合, 减少关节粘连有很重要作用。

(本文承蒙陈建良老师指导, 特此致谢)

### 参考文献

1 Letournel E. Fractures of the acetabulum. 2nd Edit. Berlin: Springer-verlag, 1993.

(收稿: 2001-10-19 编辑: 李为农)