

# 茶多酚抗骨质疏松的研究进展

范於菟, 孔祥鹤, 梅其炳\* (西北工业大学生命学院, 西安 710072)

**摘要:** 茶多酚是茶叶中所含有的多酚类化合物的总称, 基于多酚类化合物显著的抗骨质疏松、抗骨丢失活性, 已成为近年来研究热点。本文就近年来国内外对茶多酚抗骨质疏松的作用及相关机制的研究进展作一综述。

**关键词:** 茶多酚; 骨质疏松

中图分类号: R977.9

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)08-0717-04

## Advancement in Anti-osteoporosis Activity of Tea Polyphenols

FAN Wutu, KONG Xianghe, MEI Qibing\* (*Faculty of Life Sciences, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China*)

**ABSTRACT:** Tea polyphenol is a total call of polyphenols contains in the tea. Recently interest has focused on its anti-osteoporosis and anti-bone loss effect. This review describes the effect of tea polyphenols on osteoporosis as well as its possible mechanisms.

**KEY WORDS:** tea polyphenol; osteoporosis

目前, 全世界骨质疏松症(osteoporosis)患者已超过 2 亿, 其发病率跃居常见病、多发病的第 7 位; 随着社会人口的老龄化, 预计未来的 50 年骨质疏松症患者还将增加 3~4 倍。骨质疏松症并发症致残率高, 严重影响人们的生活质量, 给社会和家庭带来沉重的负担, 引起了全社会的关注。茶多酚是茶叶中所含有的多酚类化合物的总称, 基于

多酚类化合物显著的抗骨质疏松和抗骨丢失活性, 已成为近来研究热点。近年来国内外已有研究证实, 氧化应激在骨质疏松的发病中起重要作用<sup>[1]</sup>, 炎症在骨质疏松的发病中也起到一定作用<sup>[2]</sup>。茶多酚作为多酚类化合物由于具有多个酚羟基而具有很强的抗氧化性, 同时具有一定的抗炎作用, 由此国内外学者预测应用茶多酚可预防骨质疏松的

基金项目: 西北工业大学研究生创业种子基金(Z2010091)

作者简介: 范於菟, 男, 博士生 Tel: 15291593661 E-mail: sume-02@163.com

\*通信作者: 梅其炳, 男, 教授, 博导 Tel: (029)84779212

E-mail: qbmei@nwpu.edu.cn

发生, 并对此进行了很多基础研究。本文在综述氧化应激和炎症与骨质疏松的发生关系的基础上, 就茶多酚在细胞水平、动物水平上抗骨质疏松作用及可能的机制等方面作一综述, 为深入研究茶多酚对骨质疏松的防护提供参考。

## 1 概述

茶多酚(tea polyphenol)是茶叶中的主要成分, 占茶叶干重的 30%左右。茶多酚中大部分为黄烷醇, 通常称之为儿茶素。茶多酚主要由 4 种单体组成, 它们分别是表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin gallate, EGCG]、表没食子儿茶素[(-)-epigallocatechin, EGC]、表儿茶素没食子酸酯[(-)-epicatechin gallate, ECG]、表儿茶素[(-)-epicatechin, EC]<sup>[3]</sup>, 它们的化学结构如图 1 所示, 其中 EGCG 的药理作用最为显著。茶多酚主要是以  $\alpha$ -苯基苯并吡喃为结构基础的类黄酮化合物, 其中酚羟基作为质子供体可提供活泼氢, 使其具有清除自由基和抗氧化活性。近年来国内外的研究显示, 茶多酚具有抗衰老、抗肿瘤、抗辐射、抗骨质疏松、抗菌等药理作用。茶多酚的这些作用, 与其清除自由基的抗氧化效果密切相关。长期应用的历史已经证明了茶多酚的安全性, 实验研究也显示, 给大鼠口服含 85%EGCG 的绿茶提取物, 其半数致死量约在 3~5 g·kg<sup>-1</sup>, 说明茶多酚具有很高的安全性。

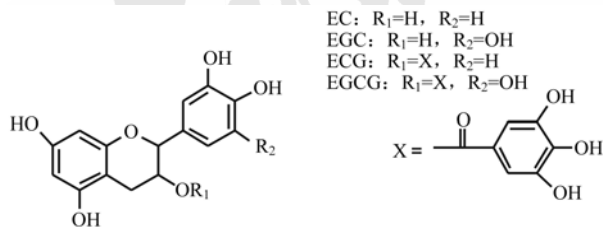


图 1 茶多酚的化学结构

Fig 1 Chemical structure of tea polyphenol

## 2 茶多酚对骨作用的机制

### 2.1 氧化应激、炎症与骨质疏松

近年来, 氧化应激作为骨质疏松的一个危险致病因素已受到广泛关注。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(O<sup>2-</sup>)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、羟自由基(OH<sup>-</sup>)和其他自由基。人体内的主要抗氧化防御系统包括超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、还原型谷胱甘肽等。另外, 饮食中的抗氧化剂(维生素 C、维生素 E、多酚类、 $\beta$ -胡萝卜素、

硒和番茄红素等)为机体的抗氧化系统提供有效的辅助作用。当活性氧族的产生与机体内抗氧化系统的这种平衡被衰老、雌激素缺乏等因素破坏时, 就造成了氧化应激状态。有研究显示氧化应激是小鼠<sup>[4]</sup>、大鼠<sup>[5]</sup>增龄性骨丢失发生的一个关键性致病因素, 研究发现氧化应激可促成骨细胞和骨细胞的凋亡, 并且可通过 Wnt/ $\beta$  连环蛋白途径使成骨细胞数量减少和骨形成率降低<sup>[4]</sup>。较多研究证明人类骨质疏松的发病机理与氧化应激有紧密联系。Polidori 等<sup>[6]</sup>报道, 对于有严重骨质疏松症状的中年男子(33 岁左右), 氧化应激的增强会导致他们骨质疏松的发生。氧化应激的增强会导致老年男性<sup>[7]</sup>和女性<sup>[8]</sup>的骨密度(BMD)降低, 绝经后妇女的骨丢失<sup>[9]</sup>。以上研究证实氧化应激与骨质疏松或骨丢失的发生有密切联系, 因此茶多酚作为一种抗氧化剂研究它对骨质疏松的防护作用显得尤为重要。

另外有研究表明, 动脉粥样硬化所致的慢性炎症会导致骨丢失, 在动脉粥样硬化形成过程中, 一些促炎症反应因子如: TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$ ,  $\gamma$ -干扰素, PGE<sub>2</sub> 等会导致骨丢失<sup>[10-11]</sup>。这些调节因子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<sup>[12]</sup>。

### 2.2 茶多酚对骨作用的可能机制

**2.2.1 通过抗氧化应激缓解骨质疏松** 抗氧化剂能保护细胞免受活性氧自由基的损伤。茶多酚结构中含有活泼羟基氢, 能终止自由基的链锁反应, 捕获过量的自由基使自由基灭活, 因而具有抗氧化活性。此化合物中的酚羟基是其抗氧化活性作用的功能性基团, 茶多酚具有多个酚羟基结构, 因此具有很强的抗氧化作用, 可对抗氧自由基对组织细胞的损伤。Park 等<sup>[13]</sup>报道, 在培养大鼠 calvarial 成骨细胞中发现, 茶多酚能缓解活性氧族所致的大鼠成骨细胞氧化应激状态。最近有研究<sup>[5,14]</sup>显示, 对 15 个月龄的♀大鼠的假手术组和卵巢去势组分别给与茶多酚 400 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量后, 可使谷胱甘肽过氧化物酶的活性增强, 从而防止氧化应激在骨重建过程中造成的伤害。

**2.2.2 通过抗炎作用缓解骨质疏松** 茶多酚可通过抑制脂质过氧化反应, 抗氧化应激, 对转录因子 NF- $\kappa$ B 的调控作用, 作用于 HMC-1 细胞雌激素受体 ERK, 限制可诱导型 NO 合成酶的表达等途径使得 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、IL-8 和 NO 等炎症因

子的产生与释放减少从而达到抗炎作用,起到缓解骨丢失作用。Shen等<sup>[15]</sup>报道,脂多糖(LPS)不仅导致大鼠BMD下降,而且会导致大鼠的血管纤维化,当给与茶多酚400 mg·kg<sup>-1</sup>剂量时,会缓解骨丢失,同时减少幼鼠的血管纤维化,茶多酚的这种保护作用部分通过其抗炎作用而发挥。在他们的研究中,用炎症所致大鼠骨丢失作为动物模型,发现茶多酚能使实验组大鼠的BMC和BMD提高,酸性磷酸酶(TRAP)活性降低,炎症因子TNF- $\alpha$ 的mRNA表达水平降低,从而有效缓解大鼠的骨丢失,说明茶多酚可通过抗炎作用缓解骨丢失。

**2.2.3 对MAPK信号通路的干预作用** 丝裂原活化蛋白激酶MAPK家族是细胞内的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,存在于大多数细胞中,参与细胞生长、发育及细胞间功能同步等多种生理过程。它包括p38丝裂原活化蛋白激酶p38MAPK、细胞外信号调节激酶ERK、c-jun氨基末端激酶JNK和应激激活蛋白激酶SAPK<sup>[16]</sup>。

TGF- $\beta$ 是一种在骨形成中起到重要作用的细胞活素类物质, Hayashi等<sup>[17]</sup>报道,在MC3T3-E1细胞中, EGCG通过抑制SAPK/JNK途径,抑制TGF- $\beta$ 诱导的HSP27产生。PGD2在骨形成中也起到重要作用, Yamauchi等<sup>[18]</sup>报道, EGCG通过抑制p44/p42MAPK途径,抑制PGD2诱导的HSP27的产生。尽管HSP27对成骨细胞的作用至今尚未确切,但此类报道显示EGCG可通过调控SAPK/JNK途径、p44/p42MAPK途径等MAPK信号通路抑制HSP27mRNA的表达,起到促进骨形成作用。茶多酚正是通过上述这些对MAPK途径信号通路的干预作用,达到对骨形成中成骨细胞的保护作用。

**2.2.4 激活Wnt/ $\beta$ 途径提高成骨细胞活性** Wnt/ $\beta$ 连环蛋白途径控制着骨的生长,且能驱使前成骨细胞向成骨细胞的分化。绿茶中的有效活性成分茶多酚可通过激活Wnt/ $\beta$ 连环蛋白途径提高成骨细胞的活性。Mount等<sup>[19]</sup>报道,在培养鹿角祖细胞过程中,用碱性磷酸酶作标记物,发现茶多酚由于激活了Wnt/ $\beta$ 途径,增强了碱性磷酸酶的活性,而碱性磷酸酶是骨形成的生化标志物,它的增多显示成骨细胞活性增加。

### 3 茶多酚的抗骨质疏松作用

#### 3.1 茶多酚促骨形成

骨形成过程中,成骨细胞因能合成、分泌骨基质(包括胶原与糖蛋白)而发挥着重要作用。通过

对MC3T3-E1细胞、SaOS-2细胞、D1细胞、NRG细胞、骨肉瘤细胞等细胞模型的研究,已经证实茶多酚能增强碱性磷酸酶(ALP)的活性、增加骨矿物质的形成和骨矿化面积、提高BMD,从而促进骨形成。Choi等<sup>[20]</sup>在MC3T3-E1细胞中发现,0.1~0.01  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的儿茶素作用48 h后,能提高ALP的活性、提高成骨细胞的存活率、抑制成骨细胞的凋亡。在SaOS-2细胞中,Vali等<sup>[21]</sup>连续8~17 d在实验组中加入1~5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EGCG,发现与对照组相比ALP活性增加了35%。Von kossa染色后检测发现骨关节处矿物形成的面积和数量较对照组分别增加18倍和10倍,茜素红染色后检测发现骨关节处矿物形成的面积和数量较对照组分别增加20倍和7倍。在D1细胞中, Takai等<sup>[22]</sup>发现,给儿茶酚1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  48 h后实时PCR检测,与对照组相比,ALP的mRNA表达分别增加44%和109%,且ALP的活性增加。另外,给儿茶酚3周后,骨矿化面积的变化如下,儿茶酚1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组提高5%,儿茶酚10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组提高29%。4周后,儿茶酚1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组提高25%,儿茶酚10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组提高44%。

#### 3.2 茶多酚抑制骨吸收

骨的吸收是由破骨细胞完成的,破骨细胞是由起源于造血干细胞的前破骨细胞在集落刺激因子(M-CSF)、细胞核因子- $\kappa\text{B}$ 受体活化因子配体(RANKL)等细胞因子的诱导下转化而来。这些细胞因子可诱导破骨细胞中细胞的极化结构的形成,参与骨吸收过程。SAPK/JNK途径、p44/p42MAPK途径等信号途径也会诱导破骨细胞的形成<sup>[22]</sup>。通过对RAW264.7细胞、Ficoll-Hypaque细胞、MC3T3-E1细胞等的培养研究发现,茶多酚正是通过抑制这些信号途径的传导和细胞因子的活性,达到抑制破骨细胞的分化、形成及活性从而抑制骨吸收作用。Morinobu等<sup>[23]</sup>报道,在人类破骨细胞Ficoll-Hypaque细胞中,依次给EGCG 20, 50  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  15 d后,发现EGCG组剂量依赖性的抑制了体外培养的人破骨细胞的分化。实时PCR检测显示破骨细胞mRNA表达的相关分子如降血钙素受体(CTR)、抗酒石酸性磷酸酶(TRAP)、碳酸酐酶II、组织蛋白酶K等都减少,表明EGCG抑制了破骨细胞的形成从而抑制骨吸收。在RAW264.7细胞中, Yun等<sup>[24]</sup>给予50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EGCG 24 h后,发现能减少RAW264.7破骨细胞的存活,诱导破骨

细胞的凋亡; 当给予EGCG 10~100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  2 h后, 发现能通过抑制RANKL诱导的NF- $\kappa$ B途径抑制破骨细胞的分化。Tokuda等<sup>[25]</sup>在MC3T3-E1细胞中发现, EGCG可以通过抑制p44/p42MAPK途径来抑制骨吸收。

### 3.3 茶多酚能有效改善骨质疏松症状

在Shen等<sup>[5,14]</sup>的实验中, 14周中龄♀大鼠假手术组与去势组均给予儿茶酚治疗, 与假手术对照比较, 去势组出现骨小梁面积、厚度、数目增加, 近胫骨端骨形成增加, 股骨骨密度提高, 股骨的骨膜形成率提高。总之, 给大鼠的饮水中加入儿茶酚, 去势组大鼠的骨微结构有所改善。

## 4 结语

当前有关茶多酚对骨质疏松作用的研究中存在的问题主要是采用体外实验的居多, 体内实验相对较少, 特别是临床试验更少。随着研究工作的深入, 茶多酚对整体动物的实验研究及临床试验将会逐步加强。另外茶多酚对骨质疏松的防护作用机制, 例如对OPG-RANK-RANKL系统的作用、对金属蛋白酶信号途径的作用均有待于进一步的研究。总之, 深入研究茶多酚抗骨质疏松作用机制和药理效应, 对开发新的抗骨质疏松药物有重要意义。

## REFERENCES

- [1] ABDOLLAHI M, LARIJANI B, RAHIMI R, et al. Role of oxidative stress in osteoporosis [J]. *Therapy*, 2005, 2(5): 787-796.
- [2] YUN A J, LEE P Y. Maldaptation of the link between inflammation and bone turnover may be a key determinant of osteoporosis [J]. *Med Hypotheses*, 2004, 63(3): 532-537.
- [3] NAGLE D G, FERREIRA D, ZHOU Y D. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical and biomedical perspectives [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(17): 1849-1855.
- [4] MANOLAGAS S C. De-fense! De-fense! De-fense: scavenging  $\text{H}_2\text{O}_2$  while making cholesterol [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(7): 3267-3273.
- [5] SHEN C L, WANG P, GUERRIERI J, et al. Protective effect of green tea polyphenols on bone loss in middle-aged female rats [J]. *Osteoporosis Int*, 2008, 19(7): 979-990.
- [6] POLIDRI M C, STAHL W, EICHLER O, et al. Profiles of antioxidants in human plasma [J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(5): 456-462.
- [7] OSTMAN B, MICHAËLSSON K, HELMERSSON J, et al. Oxidative stress and bone mineral density in elderly men: antioxidant activity of alpha-tocopherol [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 47(5): 668-673.
- [8] BASU S, MICHAËLSSON K, OLOFSSON H, et al. Association between oxidative stress and bone mineral density [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 288(1): 275-279.
- [9] D'AMELIO P, CRISTOFARO M A, TAMONE C, et al. Role of iron metabolism and oxidative damage in postmenopausal

bone loss [J]. *Bone*, 2008, 43(6): 1010-1015.

- [10] ROMAS E, GILLESPIE M T, MARTIN T J. Involvement of receptor activator of NF $\kappa$ B ligand and tumor necrosis factor-alpha in bone destruction in rheumatoid arthritis [J]. *Bone*, 2002, 30(2): 340-346.
- [11] MIYAURA C, INADA M, MATSUMOTO C, et al. An essential role of cytosolic phospholipase A2alpha in prostaglandin E2-mediated bone resorption associated with inflammation [J]. *Exp Med*, 2003, 197(10): 1303-1310.
- [12] WALLACH S, AVIOLI L V, FEINBLATT J D, et al. Cytokines and bone metabolism [J]. *Calcif Tissue Int*, 1993, 53(5): 293-296.
- [13] PARK Y H, HAN D W, SUH H, et al. Protective effects of green tea polyphenol against reactive oxygen species-induced oxidative stress in cultured rat calvarial osteoblast [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2003, 19(5): 325-337.
- [14] SHEN C L, YE H J K, STORCKER B J, et al. Green tea polyphenols mitigate deterioration of bone microarchitecture in middle-aged female rats [J]. *Bone*, 2009, 44(4): 684-690.
- [15] SHEN C L, YE H 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.
- [16] CUI X H, YAO L, YU S Q, et al. Review on anti-inflammatory mechanism of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) [J]. *Strait Pharm J(海峡药学)*, 2007, 19(10): 26-28.
- [17] HAYASHI K, TAKAI S, MATSUSHIMA-NISHIWAKI R, et al. (-)-Epigallocatechin gallate reduce transforming growth factor beta-stimulated HSP27 induction through the suppression of stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase in osteoblastic [J]. *Life Sci*, 2008, 82(19/20): 102-107.
- [18] YAMAUCHI K, TAKAI S, MATSUSHIMA-NISHIWAKI R, et al. (-)-Epigallocatechin gallate inhibits prostaglandin D2-stimulated HSP27 induction via suppression of the p44/p42 MAP kinase pathway in osteoblasts [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2007, 77(3/4): 173-179.
- [19] MOUNT J G, MUZYLA M, ALLEN S, et al. Evidence that the canonical Wnt signaling pathway regulates deer antler regeneration [J]. *Dev Dyn*, 2006, 235(5): 1390-1399.
- [20] CHOI E M, HWANG J K. Effects of (+)-catechin on the function of osteoblastic cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(4): 523-526.
- [21] VALI B, RAO L G, EL-SOHEMY A. Epigallocatechin-3-gallate increases the formation of mineralized bone nodules by human osteoblast-like cells [J]. *J Nutr Biochem*, 2007, 18(5): 341-347.
- [22] TAKAI S, MATSUSHIMA-NISHIWAKI R, ADACHI S, et al. (-)-Epigallocatechin gallate reduces platelet-derived growth factor-BB-stimulated interleukin-6 synthesis in osteoblasts: suppression of SAPK/JNK [J]. *Mediators Inflamm*, 2008(10): 1155-1163.
- [23] MORINOBU A, BIAO W, TANAKA S, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate suppresses osteoclast differentiation and ameliorates experimental arthritis in mice [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(7): 2012-2018.
- [24] YUN J H, KIM C S, CHO K S, et al. (-)-Epigallocatechin gallate induces apoptosis, via caspase activation, in osteoclasts differentiation from RAW264.7 cells [J]. *J Periodontol Res*, 2007, 42(3): 212-218.
- [25] TOKUDA H, TAKAI S, HANAI Y, et al. (-)-Epigallocatechin gallate suppresses endothelin-1-induced interleukin-6 synthesis in osteoblasts: inhibition of p44/p42 MAP kinase activation [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(7): 1311-1316.

收稿日期: 2010-11-03