

雌激素和大豆异黄酮在细胞水平上对钙代谢的调节

吕 伶 金邦荃
(南京师范大学,江苏 南京 210097)

摘 要:为了解雌激素和大豆异黄酮对钙代谢的影响,对雌激素和大豆异黄酮对小肠细胞钙吸收的影响和对成骨细胞、破骨细胞钙利用的影响等方面进行了综述。
关键词:钙; 雌激素类; 黄豆; 异黄酮类

Regulating Effect of Soybean Isoflavones on Calcium Metabolism
——Review of Recent Literature
L ÜLing, J IN Bang-quan
(Nanjing Normal Univercity, Jiangsu Nanjing 210097, China)

Abstract: Calcium deficiency causes mobilization of calcium from bone and leads sooner or later to osteoporosis, that is to say a reduction in the amount of calcium in bone or decrease of apparent bone density. Recent studies showed that isoflavones prevent bone loss associated with ovarian hormone deficiency in women and animal models. This protective effect of isoflavones may be partly due to its estrogen-like ability regulating calcium absorption and bone metabolism. This paper reviewed the recent reports of such studies.
Key word: Calcium; Estrogens; Soybeans; Isoflavones

中老年人尤其是女性,随着年龄增长和更年期的到来,卵巢功能逐渐衰退和雌激素水平下降,会导致肠钙吸收减少和骨钙的释放大于骨钙的沉积,骨量丢失,并发骨质疏松的可能性也随之增加^[1]。雌激素替代治疗(Estrogen replacement therapy, ERT)是本症的重要治疗措施之一。但是,用 ERT 有增加子

宫内膜癌、乳腺癌和阴道出血危险的可能^[2,3]。近年来许多研究表明,大豆及大豆制品中的异黄酮对骨质疏松症的发生有一定的预防作用^[4-6]。
大豆异黄酮由 12 种单体组成,主要有大豆甾元(Daidzein)、染料木黄酮(Genistein)和黄豆素(Gycetein)。它们的化学结构与雌激素十分相似,在

and validation of an analytical method for the determination of paromomycin sulfate in medicated animal feeds [J]. Analyst, 2000, (125):1955-1958.

[37] Yǒngsheng Ding, Hong Yu, Shifen Mou. Optimizing the quadruple-potential waveform for the pulsed amperometric detection of neomycin[J]. J Chromatogr A, 2004, (1039): 39-43.

[38] Nikolaos C Megoulas, Michael A Koupparis. Enhancement of evaporative light scattering detection in high-performance liquid chromatographic determination of neomycin based on highly volatile mobile phase, high-molecular-mass ion-pairing reagents and controlled peak shape[J]. J Chromatogr A, 2004, (1057): 125-131.

[39] Kwok D, Mori B, Yǒng M, In: Proceeding of The 45th ASMS conference on mass spectrometry and applied topics: American Society for Mass Spectrometry[Z]. Palm Springs CA, 186-188.

[40] Mclaulhlin L G, Henion J D, Kijak P J. Multi-residue confirmation of aminoglycoside antibiotics and bovine kidney by ion spray high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Biol Mass Spectrom, 1994, (23): 417-429.

[收稿日期:2005-11-02]

中图分类号:R15;S859.84;TS201.24 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2006)02-0148-05

基金项目:江苏省自然科学基金项目(项目编号BK2002025)
作者简介:吕伶 女 硕士生
通讯作者:金邦荃 女 教授 博士

苯环的 C7 和 C4 位各有一对与雌二醇 C3 和 C17 位相对应的羟基,且二者距离几乎相等(图 1、2)。由于 2 对羟基的存在,大豆异黄酮的结构与雌激素相似,所以能够和雌激素受体结合从而表现为雌激素活性和抗雌激素活性,究竟表现为何种活性取决于其局部浓度、内源性雌激素含量以及组织器官的雌激素受体水平。大豆异黄酮的雌激素活性较弱,一般仅为雌激素水平的 $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-5}$,抗雌激素活性主要在机体雌激素水平超过正常范围的疾病状态下表现出来^[7-9]。人的雌激素受体有 ER- α 和 ER- β 2 种亚型。ER- β 主要存在于骨、脑、心血管系统、膀胱。ER- α 主要存在于生殖器官如子宫、乳腺等。植物雌激素与 1 β -雌二醇相比,其与 ER- α 受体的亲和力要低。但他们普遍与 ER- β 的亲和力较高。Ishimi^[10] 等发现使用具有抑制骨量减少的 Genistein 后,对雌激素缺乏鼠模型的子宫以及子宫内膜细胞几乎没有影响。Morabito^[11] 研究也发现在治疗的 12 个月后,Genistein 并没有引起子宫内膜增厚和乳腺的改变,在应用 ERT 的过程中有乳腺的压痛和阴道出血的发生,但这些不良反应在 Genistein 组的发生率极低。

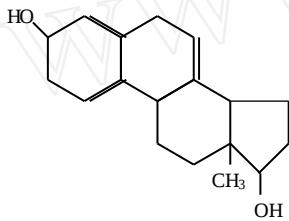


图 1 雌二醇结构式 (Estradiol)

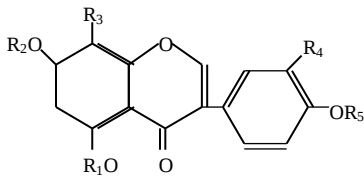


图 2 植物异黄酮类基本结构式 (Phytoestrogen)

1 雌激素、大豆异黄酮对小肠细胞钙吸收的影响

肠钙的吸收受许多因素的调节,包括膳食中的钙和磷、维生素 D、促甲状旁腺素 (parathyrotrophin, PTH)、生长激素、雌激素等。正常生理情况下,雌激素对肠钙的吸收影响并不明显。然而,更年期妇女随着雌激素水平逐渐下降,小肠钙吸收功能也随着年龄增长逐年下降。动物实验已发现雌激素替代疗法可以改善去卵巢雌性大鼠对钙的利用能力^[12],初步表明更年期雌激素不足可能是引起中老年妇女肠钙吸收障碍的主要原因之一。雌激素通过增强肝、肾羟化酶活性,提高 1,25-(OH)₂D₃ 水平来促进小

肠细胞对钙的吸收。近年来,关于雌激素和雌激素受体的研究进一步揭示了雌激素有可能直接通过作用于小肠上皮细胞 ER 而影响钙的吸收^[13]。

许多研究表明,大豆蛋白质和它的异黄酮对雌激素不足的骨钙代谢发挥积极作用,推测可能是由于大豆蛋白质和它的异黄酮改变了肠道钙吸收。Omi^[14] 等人用含豆奶的食物喂养鼠 28 d,其肠钙吸收高于对照组。Arjmandi^[15] 等报道用含有异黄酮的大豆蛋白质饲料喂养去卵巢鼠实验组,其十二指肠、结肠和回肠细胞体外钙运输率明显高于去卵巢对照组,缺乏异黄酮的大豆蛋白质饲料喂养虽可增加结肠钙运输,但未见十二指肠和回肠细胞钙转运增加。推测大豆异黄酮可能作为雌激素受体选择性调节剂 (Selective Estrogen Receptor Modulator, SERM) 结合不同细胞的 ER,以雌激素复合物形式,通过维生素 D 调节对钙的吸收发挥积极作用。Arjmandi^[16] 在去卵巢鼠模型 - 使用人工合成植物雌激素依普拉封 (Ipriflavone),也能提高小肠钙的吸收,尽管 Gotter^[17,18] 等在 Caco-2 细胞模型的研究中发现,1,25(OH)₂D₃ 提高 Caco-2 细胞对钙吸收但钙吸收不受植物雌激素的影响。本实验室利用激光共聚焦显微技术也观察到一定浓度的大豆异黄酮可以干涉小肠上皮细胞内钙离子浓度的变化。由此推测,更年期小肠上皮细胞对钙具有特殊敏感性。

更年期女性雌激素水平缓慢下降,同时降钙素 (Calcitonin, CT) 水平也缓慢下降^[19],CT 是调节钙代谢的激素,主要是通过抑制骨吸收和抑制肾小管钙重吸收来降低血钙。有研究表明雌激素和大豆异黄酮可以减少尿钙和粪钙的排泄^[20],但也有用大豆异黄酮饲喂去势大鼠尿钙没有显著性变化^[21] 的报道。目前此方面研究较少。

2 雌激素、大豆异黄酮对成骨细胞和破骨细胞钙代谢的影响

骨吸收、骨形成过程就是骨转换过程,由此构成一个骨重建周期。雌激素可以促进降钙素分泌、抑制骨吸收;降低促甲状旁腺素对血钙调节的启动水平,并且通过骨吸收因子抑制骨转换。在成骨细胞和破骨细胞上已证实有雌激素受体的表达^[22],雌激素与受体结合,对成骨细胞的增殖、分化、对机械应变^[23] 及其基质蛋白质的合成起直接促进作用。一般认为雌激素对成骨细胞(骨形成)的调节可能不是它的主导作用,而是通过破骨细胞上 ER 直接诱导凋亡,直接抑制破骨细胞的骨钙释放。

大豆异黄酮与成骨细胞上的 ER 结合时,可能会刺激成骨细胞分泌胶原酶,释放生长因子和改变

酶活性,促进骨质生长,加速骨形成。李大为^[24]等初步研究表明 Genistein 具有促进成骨细胞增殖、分化和影响基质钙含量和基质矿化的作用。田玉慧^[25]等的研究也发现,大豆异黄酮在促进成骨细胞增殖作用中,促进成骨细胞胰岛素样生长因子(IGF -)和 IGF - mRNA 的表达,在细胞水平证实大豆异黄酮对成骨细胞作用有类雌激素的作用,可能是通过促进成骨细胞 IGF - 分泌,促进成骨细胞对钙的利用,提高更年期妇女的骨密度。Kanno^[26]最近对 MC3T3 - E1 细胞模型的研究发现,Daidzein 和 Genistein 分别在 10^{-6} mol/L 时通过增加 MC3T3 - E1 细胞的碱性磷酸酶活力和钙、磷含量,促进骨矿化。

大豆异黄酮与破骨细胞雌激素受体结合时,通过抑制破骨细胞活性和骨钙重吸收过程来维持成骨细胞和破骨细胞间的动态平衡^[27]。Gao 等^[28,29]研究发现,Genistein 可明显抑制大鼠股骨破骨细胞增殖,促进钙离子进入破骨细胞内,激活钙调素或蛋白质激酶,活化核酸内切酶,诱导破骨细胞凋亡。当加入钙调素抑制剂狄卡因或蛋白质激酶抑制剂时,可以完全消除 Genistein 对破骨细胞的作用,由此推测 Genistein 通过 Ca^{2+} 信号通路促进破骨细胞凋亡。Genistein 通过转化生长因子 β (TGF - β),切断了酪氨酸的磷酸化过程,阻止破骨细胞蛋白质的合成,导致破骨细胞凋亡。

参考文献

- [1] 常浩,金泰. 异黄酮与骨质疏松. 国外医学卫生学分册, 2002, 1(29): 42-45.
- [2] Anderson J J, Garner S C. Phytoestrogens and bone[J]. J Baillieres Clin Endocrinol Metab, 1998, 12(4): 543.
- [3] Scheibe M D, Rebax R W. Isoflavones and postmenopausal bone health: a viable alternative to estrogen therapy? [J]. J Menopause, 1999, 6(3): 233.
- [4] Somekawa Y, Chquchi M, Ishibashi T, et al. Soy intake related to menopausal symptoms serum lipids and bone mineral density in postmenopausal japarese women [J]. Obstet Gynecol, 2001, 97: 109-115.
- [5] Valtuena S, Cashman K, Robins S P, et al. Investigating the role of natural phytoestrogens on bone health in post menopausal women[J]. J British Nutr, 2003, 89: 87-99.
- [6] 田玉慧, 李万里, 任金平, 等. 大豆异黄酮对去卵巢大鼠骨形成蛋白质的影响[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(9): 1079-1080.
- [7] Mayr U, Butsch A, Schneider S. Validation of two in vitro test systems for estrogenic activities with zearalenone, phytoestrogens and cereal extracts[J]. J Toxicology, 1992, 74: 135-149.
- [8] Markiewicz L, Gurey J, dlevcreutz H, et al. In vitro bioassays of none-steroidal phytoestrogens [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 1993, 45: 399-405.
- [9] Mkela S I, Pylkkanen L H, Santti Rss, et al. Dietary soybean maybe antiestrogenic in male mice [J]. J Nutri, 1995, 123: 437-445.
- [10] Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, et al. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone on β -lymphopoiesis and bone Loss Ca used by estrogen deficiency[J]. J Endocrinology, 1999, 140(4): 1893-1900.
- [11] Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, et al. Effect of genistein and hormone replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study[J]. J Bone Miner Res, 2002, 17: 1904-1912.
- [12] Kalu D N, Chen C. Ovariectomized murine model of postmenopausal calcium malabsorption[J]. J Bone Miner Res, 1999, 14: 593.
- [13] Arjmandi B H, Hollis B W, Kalu D N. In vivo effect of 17 β -estradiol on intestinal calcium absorption in rats [J]. J Bone Miner, 1994, 26: 181.
- [14] Omi N, Aoi S, Murata K, et al. Evaluation of the effect of soybean milk and soybean milk peptide on bone metabolism in the rat model with ovariectomized osteoporosis[J]. J Nutr Sci Vitaminol, 1994, 40: 201-211.
- [15] Arjmandi B H, Khalil D A, Hollis B W. Soy protein: its effect on intestinal Ca transport, serum vitamin D, and insulin-like growth factor-1 in various ovariectomized rats [J]. J Calcif Tissue Int, 2002, 70: 483-487.
- [16] Arjmandi B H, Khalil D A, Hollis B W. Ipriflavone, a synthetic phytoestrogen, enhances intestinal Ca transport in vitro[J]. J Calcif Tissue Int, 2000, 67: 225-229.
- [17] Cotter A A, Jewell C, Cashman K D. The effect of oestrogen and dietary phyto-oestrogens on transepithelial calcium transport in human intestinal-like Ca co-2 cells[J]. J British Nutrition, 2003, 89(6): 755-766.
- [18] Cotter A A, Cashman K D. Lack of dose-responsive effect of dietary phyto-oestrogens on transepithelial Calcium transport in human intestinal-like Caco-2 cells[J]. J British Nutrition, 2004, 91: 5-9.
- [19] 关志宝. 更年期妇女性激素对钙代谢的影响[J]. 中国误学杂志, 2004, 4(11): 1832-1833.
- [20] Paik M K, Lee H O, Chung H S, et al. Genistein May Prevent Calcium Induced Bone Loss in ovariectomized Rats [J]. J Med Food, 2003, 6(4): 337-343.
- [21] Deyhim F, Stoecker J B, Brusewitz G H, et al. The effects of estrogen depletion and isoflavones on bone metabolism in rats[J]. Nutrition Research, 2003, 23: 123-130.
- [22] Lim S K, Won Y J. A PCR analysis of ER and ER mRNA abundance in rats and the effect of avariectomy[J]. J Bone Miner Res, 1999, 14: 1189.

蒽醌类化合物的定性定量方法研究进展

朱 蕾 王竹天 杨大进
(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘 要:就蒽醌类化合物的定性、定量方法研究进展进行了综述。其中定性方法包括薄层色谱法,质谱法(MS)、氢谱法(HNMR)、碳谱法(CNMR)、核磁法(DEPT)的联用,红外光谱法、可见光谱法、紫外光谱法等。定量方法包括比色法、高效液相色谱法(HPLC)、薄层扫描法、毛细管电泳法(CE)等。
关键词:蒽醌类;定性;定量;化学,分析

Quantitative and Qualitative Methods for Determination of Anthraquinones

ZHU Lei, WANG Zhu-tian, YANG Da-jin

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: This paper is a summary of the recent developments of analytical techniques for the determination of anthraquinones. The qualitative techniques include TLC, combined use of MS, HNMR, CNMR and DEPT, infrared chromatography, visible light chromatography and ultraviolet chromatography. The quantitative methods include colorimetry, HPLC, TLC and CE.

Key word: Anthracenediones;Qualitative Method;Quantitative Method; Chemistry ,Analytical

决明子、大黄、何首乌等常用中药主要活性成分为蒽醌类化合物。各种蒽醌及其苷都具有多方面的生物活性,主要表现为降血脂、降胆固醇、利尿、抗氧化、抗过氧化等重要作用。但是蒽醌类化合物也有多种毒性作用,主要引起胃肠的各种不适,严重的可能会导致胃肠出血、呼吸困难、心悸和流体损耗。因此各种类型中成药、保健品中蒽醌类物质的质量控制十分重要。目前此类化合物的定性定量分析方法研究很多,本文就其进展进行概述。

1 蒽醌类化合物的定性分析

红外光谱法 张文惠等^[1]对烟气中大黄酚进行

了红外分光光度法鉴别,将样品的红外光谱和标准品进行对照,考察 2 个红外光谱图的峰位和峰形是否基本一致,以此鉴别蒽醌类化合物。此方法最突出的特点是特征性强,用量少。利用傅立叶变换红外光谱,可以根据指纹图谱峰位置的差异、峰强度-吸光度比值、指纹图谱峰形的不同,鉴别不同的蒽醌类物质^[2]。

2 蒽醌类化合物的定量分析

2.1 分光光度法 陈军等^[3]、马长清等^[4]对分光光度法进行了改进,改进后的方法操作简便,结果可靠,稳定性好,不易受日光照射影响,弥补了碱液法

[23] Damien E, Price J S. The estrogen receptor 's involvement in osteoblasts adaptive response to mechanical strain[J]. J Bone Miner Res, 1998, 13:1275.
[24] 李大为,秦林林. 异黄酮类药 Genistein 对原代培养大鼠成骨细胞增殖、分化、钙含量及矿化功能的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2002, 4: 307-310.
[25] 田玉慧,李万里. 大豆异黄酮对成骨细胞生长因子表达的影响[J]. 中国公共卫生, 2003, 12: 1438-1439.
[26] Kanno S, Hirano S, Kayama F. Effects of phytoestrogens and environmental estrogens on osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells[J]. J Toxicology, 2004, 196:137-145.

[27] 涂平生,徐杰. 雌激素类治疗骨质疏松研究进展[J]. 四川解剖学杂志, 2003, 4: 24-25.
[28] Cao Y H, Yamaguchi M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclast: apoptosis is induced through Ca²⁺ signaling[J]. J Biol Pharm Bull, 1999, 22: 805-809.
[29] Cao Y H, Yamaguchi M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclast: involvement of protein kinase inhibition and protein tyrosine phosphatase activation[J]. J Mol Med, 2000, 5: 261-267.

[收稿日期:2005 - 11 - 09]

中图分类号:R15;Q579. 13;O614. 231 文献标识码:E 文章编号:1004 - 8456(2006)02 - 0152 - 04

作者简介:朱蕾 女 硕士生
通讯作者:王竹天 男 研究员