

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.02.003

左归丸、右归丸与骨髓间充质干细胞自噬

吴琼, 孙千惠, 任艳玲*, 葛心慈

(辽宁中医药大学基础医学院, 辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路 79 号, 110847)

[摘要] 对自噬产生的生理病理机制及中医学阴阳理论进行相关理论分析, 探讨细胞自噬的阴阳关系, 认为细胞自噬的平衡与阴阳平衡相似。浅析左归丸与右归丸治疗骨质疏松症的中医相关理论, 并将其可能的机制与骨髓间充质干细胞自噬相联系, 为中医药防治骨质疏松症提供细胞层面的新研究方向。

[关键词] 自噬; 骨髓间充质干细胞; 骨质疏松症; 阴阳理论; 左归丸; 右归丸

细胞程序性死亡 (programmed cell death, PCD) 是受基因控制的主动性细胞死亡, 它不仅在生理状态下发生, 而且也能被肿瘤坏死因子等细胞因子和化学药物诱导产生。最新研究成果将 PCD 主要划分为 7 种, 分别为经典凋亡、自体吞噬、凋亡样程序性死亡、坏死样程序性死亡、类凋亡、丝裂灾变和衰老^[1]。自噬 (autophagy) 作为一种新发现的细胞死亡途径被越来越多的人关注。近期有学者将自噬与中医学相联系, 认为细胞自噬是探索中医药微观作用机制的新领域^[2]。本文试就左归丸与右归丸防治骨质疏松症的机制与自噬相联系, 并进行初步的中医理论探讨。

1 自噬与骨质疏松症

自噬是指错误折叠的蛋白质和受损的细胞器等被溶酶体降解产生氨基酸和小分子物质从而循环利用或者产生能量的过程。研究表明, 自噬的主要功能是使细胞在恶劣的生长环境下, 受到应激性的死亡威胁时保持细胞活性^[3]。自噬分 3 种不同途径进入溶酶体, 即微自噬、巨自噬和分子伴侣介导的自噬。自噬的经历时间较短, 可提供物质能量循环, 对新陈代谢有着举足轻重的作用。自噬的调控机制有依赖 mTOR (mammalian target of rapamycin) 途径的自噬和非依赖 mTOR 途径的自噬两种^[4]。自噬对于细胞死亡和细胞存活具有双向调节的作用, 它不但可以通过提高细胞活性来提高细胞的存活率, 也可以引发自噬性死亡, 使细胞存活率降低。

作为控制细胞存活率的平衡支点, 在生理状态下, 细胞死亡和细胞增殖保持在平衡状态, 而这个平衡一旦打破, 细胞自噬开关就会自动开启并发挥调节作用。

在全球社会老龄化的危机中, 衰老一直是学者们想解决的难题。衰老表现为随着年龄的增加而出现细胞修复机制障碍, 而致损伤的分子、细胞等大量堆积。研究表明, 自噬的活性随着年龄的增长而逐步降低, 自噬不足导致衰老细胞器、蛋白质或者蛋白质片段、亚细胞器的过多沉积, 新物质无法产生, 无法提供能量^[5-6]。然而虽然衰老导致细胞适应外界环境和自身防御能力的降低, 但是机体仍保持在相对平衡的状态下, 没有明显的阴阳失衡。只是这种平衡因自噬的水平降低而属于阴阳偏衰的低阈值平衡, 具有脏腑衰弱、精血耗损的生理特性^[7]。所以, 通过外界刺激来调节自噬水平的改变来纠正阴阳偏衰的低阈值平衡, 成为了一个新的抗衰老研究的切入点。研究表明, 不同因素诱导的自噬作用增强是多种真核生物寿命延长所必需的, 是衰老相关疾病变化的重要调节机制, 故激活细胞自噬有抗衰老和延长寿命的功能^[5-6]。

骨质疏松症作为老年疾病之一, 从自噬角度防治该病也被重视起来。在关于自噬治疗老年糖尿病骨质疏松症的相关研究中, 在不同剂量 (低剂量、高剂量) 的晚期糖基化终末产物的影响下, 自噬体现了促进细胞增殖和引起细胞自噬性死亡的两面性, 并且对于预防和治疗糖尿病骨质疏松症起到了正面作用^[8]。另有研究表明, 在氧化应激早期, 细胞会通过自噬来调节内质网应激途径, 从而缓解

基金项目: 国家自然科学基金 (81373527)

* 通讯作者: camphorwood00@163.com

氧化应激对于成骨细胞造成的损伤,且认为通过调节成骨细胞自噬治疗骨质疏松症具有重要意义^[9]。

2 骨质疏松症与肾气

骨质疏松症主要分为原发性和继发性两种,其中原发性骨质疏松症包括妇女绝经后骨质疏松症和老年性骨质疏松症,占骨质疏松症总发病率的 85%~90%^[10]。骨质疏松症细胞方面的表现主要包括成骨细胞的功能下降和破骨细胞的吸收增强两方面^[10]。衰老作为骨质疏松症的一个重要病因,其中医理论的机制主要在于肾气不足。《素问·上古天真论》曰“女子七岁,肾气盛,齿更发长,……七七任脉虚,太冲脉衰少,天癸竭,地道不通,故形坏而无子也。丈夫八岁,肾气实,发长齿更,……八八,天癸竭,精少,肾脏衰,形体皆极,则齿发去”,指出随着肾气的充盛产生了天癸,而天癸竭、肾气衰,人也在逐渐的衰老,肾气的生化、鼓动、滋养均产生了障碍,随之加重肾虚,同时也表明天癸竭、肾气衰是绝经后骨质疏松症的根本原因^[11]。曹亚飞等^[12]指出,现代医学认为骨质疏松症是全身老年性改变的观点与中医学所认为的肾精不足、肾气虚衰是骨质疏松症发生的重要原因是一致的,并认为治疗应以补肾为主。研究表明,平补阴阳的补肾药不但可以促进成骨细胞的增殖还可抑制破骨细胞的吸收,补肾方左归丸或右归丸经加减联合西药用于治疗老年性骨质疏松症的临床疗效良好,并且在改善临床症状、提升骨密度、提升血钙和血磷水平等方面均优于单纯西药^[13-14],可见补肾药在防治原发性骨质疏松症的领域里有很好的前景。

3 张景岳阴阳观与左归丸、右归丸

张景岳的阴阳观主要是“阴阳一体思想”。宋金时期理学逐渐兴起并快速发展,周敦颐《太极图说》曰“无极而太极。太极动而生阳,动极而静;静而生阴,静极复动。一动一静,互为其根;分阴分阳,两仪立焉。阳变阴合而生水火木金土,五气顺布,四时运焉。五行一阴阳也,阴阳一太极也,太极本无极也。”张景岳对阴阳之学尤为重视,在《黄帝内经》阴阳理论的影响下进一步提出“阴阳者一分为二”的观点,《景岳全书·阴阳篇》曰“凡诊病施治,必须先审阴阳,此为医道之纲领,阴阳无谬,治焉有差,医道虽繁,而以一言蔽之者曰阴阳而已”。同时在《黄帝内经》阴阳理论及王冰“阳气根于阴,阴气根于阳”等理论

指导下深入阐发了阴阳互根互生理论,并且指出:“阴阳之理,原自互根,彼此相须,缺一不可。无阳则阴无以生,无阴则阳无以化”。张景岳将阴阳归为二纲六辨之总纲,认为阴阳之学实为医道开卷第一要义,学者首当究心焉。这种阴阳理论反映到治病处方上就是“精气互生”“阴阳互济”思想,正如《景岳全书·新方八略引》曰“善补阳者,必于阴中求阳,则阳得阴助而生化无穷;善补阴者,必于阳中求阴,则阴得阳升而泉源不竭。善治精者,能使精中生气;善治气者,能使气中生精”。左归丸与右归丸是张景岳“阴阳互济”思想的代表方,两方阴中有阳、阳中有阴,阴中求阳、阳中求阴,阴阳互济,相得益彰,阴阳互生,达到阴平阳秘的状态。

左归丸与右归丸皆来源于《景岳全书·新方八阵》,两方均是纯补无泻之方,左归丸填精益髓,大补肾阴;右归丸温肾填精,大补元阳。两方君药同是熟地黄,左归丸中熟地黄是补益虚损之肾阴,右归丸中熟地黄意在填精益髓,精气互生,同时防止补阳太过损伤真阴。左归丸以“壮水之主,以培左肾之元阴”为立方之本,在熟地黄、山药、山萸肉、龟甲等大剂量滋阴药中加入鹿角胶、菟丝子两味补阳药,甘温助阳,阴阳相合,有“阳中求阴”之义,使“阴得阳升而泉源不竭”。右归丸以“益火之源,以培右肾之元阳”为立方之本,在附子、肉桂、杜仲、菟丝子等辛温助阳药中加入填精益髓、滋培肾水的熟地黄、山药、枸杞子,使方中大辛大热之品补阳而不伤阴,且阴阳互济,有“阴中求阳”之功,使“阳得阴助而生化无穷”^[15]。

4 自噬与中医学阴阳理论

自噬是一种细胞的自我保护功能,以代谢及能量的平衡使机体处于动态平衡和动态发展的循环状态,这个平衡状态相当于中医理论中的阴阳平衡状态^[5]。在细胞自噬的物质代谢过程中,可视为阴阳互根互用的过程,是以消长平衡的方式进行的。细胞在适应内外环境的刺激时需要通过降解部分细胞器来补充核苷酸、氨基酸等各种物质,产生能量以适应环境,这些物质可以视为精微物质,其性属阴,精微物质消耗所产生的能量则属阳,而降解细胞器产生精微物质的过程亦需要消耗能量,即为阴阳的相互转化^[16]。

中医学认为,向上的、升发的属阳,下降的、收敛的属阴。细胞增殖和细胞死亡若按照中医学阴

阳来划分,细胞增殖应属阳,细胞死亡则属阴。中医学认为,阴阳平衡遭到破坏是产生疾病的最根本原因。若阳盛阴衰或阴不足时,可引起细胞异常增殖,使机体趋于病态。徐尚文等^[17]认为,肿瘤无限增殖的特性可视为阳属性盛或者阴属性虚,且病灶阳盛或阴虚的性质已经接近极势。在肿瘤等疾病中,可通过激活肿瘤细胞的自噬性死亡来控制异常增殖的细胞,使细胞生存环境保持稳态^[18]。阴盛阳衰或阴不足时,细胞可能会产生过度死亡。研究表明,自噬可有效预防肿瘤坏死因子所导致的细胞凋亡,且提高细胞的自噬水平,改善细胞在炎症微环境下的存活状态^[19]。研究发现,自噬会通过提高糖尿病骨质疏松症成骨细胞的活性而使成骨细胞增殖来抵抗由于病理因素引起的成骨细胞凋亡,从而达到保护成骨细胞存活率的目的^[8]。可见自噬会产生保护性,通过促进细胞的增殖来抵抗细胞死亡,进而使细胞的生存环境达到平衡。

5 骨髓间充质干细胞自噬与左归丸、右归丸

骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 是一种可以多向分化的多潜能细胞,在一定的诱导条件下,可分化为成骨细胞,促进骨吸收,是骨组织的重要成分之一^[20]。对于 BMSCs 及其分化方向上的干预及调控,在防治骨质疏松症的过程中起着不可替代的作用。马洋^[21]认为, BMSCs 的自噬水平是随着细胞的衰老而逐渐降低的,并认为衰老性骨质疏松症可能的机制是自噬水平在衰老的 BMSCs 中下降,导致清除损伤线粒体和氧化损伤性物质等能力下降从而释放较多的活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS),而适当激活自噬可能通过清除产生 ROS 的物质来起到延缓 BMSCs 衰老的作用。李军等^[22]提出,生理状态下 BMSCs 的自噬水平较低,可利用自噬经典诱导剂雷帕霉素提高其自噬水平,并指出自噬可能参与 BMSCs 成骨分化的过程。

目前众多学者致力于研究以“阳中求阴”及“阴中求阳”立义的左归丸及右归丸防治骨质疏松症及其机制。研究表明,左归丸与右归丸均可提高 BMSCs 中碱性磷酸酶的活性,促进细胞钙化结节的形成,并且减少脂滴形成,确定了左归丸、右归丸对 BMSCs 分化的调节具有促进 BMSCs 成骨分化的同时抑制 BMSCs 成脂分化的双向性^[23]。另有研究表明,左归丸通过多种途径广泛控制 BMSCs 基因的表达,减少骨量的流失,其防治骨质疏松症的

可能机制中包括调节 BMSCs 自噬^[24]。

迄今为止,左归丸和右归丸通过干预 BMSCs 治疗骨质疏松症的机制越来越清晰, BMSCs 自噬对于防治骨质疏松症的研究也逐渐增多,但对于二者之间是否有必然联系仍有待研究。

6 展望

自噬可以双向调节细胞的存活率,并且扮演着“开关”的角色。在细胞受到外界因素干扰或者某些特定的调节下,平衡受到破坏,自噬被激活来维持平衡。在中医学阴阳理论指导下,阴阳作为机体或者事物本身的一种属性,由外界或内部因素所致的阴阳失衡可以药物的阴阳偏性来纠正,达到机体本身的阴阳平衡。

在骨质疏松症方面,机体伴随着年龄的增加、自噬水平的降低而出现阴阳偏衰,或者肾阴不足,或者肾阳不足,而作为中医补肾阴和补肾阳的代表方剂,左归丸与右归丸组方依据阴阳互根互用理论,通过阴中求阳、阳中求阴、阴阳互济,达到调节阴阳的作用来防治骨质疏松症。左归丸与右归丸是否可以干预细胞自噬?其干预细胞自噬的机制如何?是否还可以同时抑制细胞凋亡?值得进一步研究探索。

参考文献

- [1]陶慧敏,王文文,关燕清. 细胞程序式死亡途径的新进展[J]. 细胞生物学杂志, 2008, 30(5): 563-568.
- [2]刘杰民,纪云西,蒋历,等. 细胞自噬是探索中医药微观机制的新思路[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(2): 425-426.
- [3]马泰,孙国平,李家斌. 细胞自噬的研究方法[J]. 生物化学与生物物理进展, 2012, 39(3): 204-209.
- [4]钱帅伟,罗艳蕊,漆正堂,等. 细胞自噬的分子学机制及运动训练的调控作用[J]. 体育科学, 2012, 32(1): 62-70.
- [5]蔡世忠,王亚平. 细胞衰老与细胞自噬的生物学关联及其意义[J]. 生命科学, 2011, 23(4): 335-341.
- [6]修成奎,雷燕,王强,等. 细胞自噬及其对衰老的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 214-218.
- [7]韦云,刘剑刚,李浩,等. 从中医阴阳理论探讨神经细胞自噬现象对阿尔茨海默病的影响[J]. 中医杂志, 2013, 54(13): 1085-1087.
- [8]MENG HZ, ZHANG WL, LIU F, et al. advanced glycation end products affect osteoblast proliferation and function by modulating autophagy via the receptor of advanced glycation end products/raf protein/mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase/

- extracellular signal-regulated kinase (rage/raf/mek/erk) pathway [J]. J Biol Chem 2015 290(47) : 28189-28199.
- [9] YANG YH ,LI B ,ZHENG XF ,et al. Oxidative damage to osteoblasts can be alleviated by early autophagy through the endoplasmic reticulum stress pathway-implications for the treatment of osteoporosis [J]. Free Radic Biol Med 2014 , 77(1) : 10-20.
- [10] 王维 ,何成奇. 骨质疏松症与衰老的关系 [J]. 中国临床康复 2005 9(7) : 93-95.
- [11] 梁文娜 ,李灿东 ,高碧珍 ,等. 天癸盛衰调控绝经后骨质疏松物质本源的探讨 [J]. 中华中医药学刊 2011 29(8) : 1743-1745.
- [12] 曹亚飞 ,刘红敏 ,刘庆思. 骨质疏松症的中医证型与治疗原则探讨 [J]. 中国骨质疏松杂志 2002 8(4) : 367-369.
- [13] 石印玉 ,詹红生 ,赵咏芳 ,等. 补肾中药防治原发性骨质疏松症的细胞学研究 [J]. 中医杂志 2001 42(10) : 621-623.
- [14] 张京松 ,李婉儿. 中医“补肾法”治疗老年骨质疏松症临床研究 [J]. 中华中医药学刊 2014 32(2) : 430-432.
- [15] 何丽娟 ,初杰 ,宋囡 ,等. 从左归丸与右归丸探究张景岳之阴阳观 [J]. 中医杂志 2014 55(1) : 83-85.
- [16] 黄丽琼 ,黄贵华 ,纪云西 ,等. 细胞自噬与中医“阴阳”及“气”理论相关性探讨 [J]. 辽宁中医杂志 2014 41(6) : 1147-1149.
- [17] 徐尚文 ,黄源鹏. 肿瘤病机阴阳辨 [J]. 中医杂志 , 2015 56(23) : 1193-1195.
- [18] 刘虹 ,邵荣光. 自噬在肿瘤发生与发展过程中的调节作用 [J]. 药学报 2016 51(1) : 23-28.
- [19] YANG R ,OUYANG Y ,LI W ,et al. Autophagy plays a protective role in tumor necrosis factor- α -induced apoptosis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. Stem Cells Dev 2016 25(10) : 788-797.
- [20] 王瑒 ,李正 ,王小娜 ,等. 雷奈酸锶通过上调骨形态发生蛋白 2 的表达促进骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞 [J]. 中国病理生理杂志 2012 28(3) : 404-408.
- [21] 马洋. 衰老性骨质疏松中自噬与骨髓间充质干细胞增殖性变化的关系的研究 [D]. 西安: 第四军医大学 , 2014.
- [22] 李军 ,王倩 ,林小星 ,等. 自噬活性改变对骨髓间充质干细胞成骨分化能力的影响 [J]. 华中科技大学学报 (医学版) 2012 41(6) : 675-679.
- [23] 徐岩 ,宋囡 ,任艳玲. 左、右归丸对大鼠骨髓间充质干细胞成骨及成脂诱导的研究 [J]. 中国中医基础医学杂志 2015 21(8) : 946-948.
- [24] 赵旭 ,郝传铮 ,杨仁旭 ,等. 左归丸对去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞基因表达谱时间序列的影响 [J]. 中医杂志 2015 56(16) : 1416-1419.

Discussion on Zuogui Wan (左归丸) , Yougui Wan (右归丸) and Mesenchymal Stem Cells Autophagy

WU Qiong , SUN Qianhui , REN Yanling , GE Xinci

(Basic Medical School , Liaoning University of Traditional Chinese Medicine , Shenyang , 110847)

ABSTRACT This article analyzes the physical and pathological mechanisms of autophagy and Yin and Yang theory in Chinese medicine , explores the Yin and Yang relationship of cell autophagy. The authors hold that the balance of cell autophagy is similar to balance of Yin and Yang. This article briefly analyzes the related Chinese medicine theory about Zuogui Wan and Yougui Wan in treating osteoporosis , and correlates its potential mechanism with mesenchymal stem cells autophagy , in order to provide new insight for Chinese medicine treating osteoporosis from the level of cells.

Keywords autophagy; mesenchymal stem cells; osteoporosis; Yin and Yang theory; Zuogui Wan; Yougui Wan

(收稿日期: 2016 - 07 - 28; 修回日期: 2016 - 10 - 22)

[编辑: 王利芬]

欢迎邮购 《中医杂志》 过刊

2000 年合订本 85 元 , 2001 年合订本 95 元 , 2002 年合订本 105 元 , 2003 年合订本 105 元 , 2004 年合订本 115 元 , 2005 年合订本 125 元 , 2007 - 2010 年合订本每年 140 元。2011(缺 5、6 期) - 2013 年每册 9. 80 元 , 2014(缺 21 期) - 2015 年每册 15 元。2011 - 2013 年合订本 (每年 4 本) , 每年 280 元 , 2014、2015 年合订本(每年 4 本) , 每年 400 元; 2016 年上半年合订本 (2 本) , 每本 100 元。《中医杂志》2006 - 2008 年增刊每册 40 元。以上免费邮寄 , 如需挂号每件另加 3 元。

欲购者请汇款至北京市东直门内南小街 16 号中医杂志社读者服务部 , 或关注《中医杂志》官方微信购买。邮编: 100700 , 电话: (010) 64089195 , 微信号: zyzgzh。