

植物雌激素非基因组效应研究的现状与将来

杨鑫月^{1,2#}, 刘海鑫^{1,2,3#}, 贺爽^{1,2}, 邵瑞^{1,2}, 冯宇新^{1,2}, 朱彦^{1,2*}

(1. 天津中医药大学, 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193; 2. 天津国际生物医药联合研究院中药新药研发中心, 天津 300457; 3. 山西中医药大学, 山西 太原 030619)

摘要: 植物雌激素具有类雌激素效应, 其药理作用体现在防治骨质疏松、心血管疾病和肿瘤等方面, 但具体机制尚不明确。近年来, 雌激素受体 α 介导的快速非基因组效应已被确定在雌激素相关疾病发病机制中起着重要作用。植物雌激素通过非基因组效应发挥药理作用的机制研究也越来越受到关注。本文总结了雌激素受体 α 介导的非基因组效应的研究进展, 分析了快速非基因组效应介导某些植物雌激素药理作用的可能, 并展望了植物雌激素在雌激素受体 α 介导的非基因组效应研究领域中的发展前景。

关键词: 植物雌激素; 雌二醇; 非基因组效应; 雌激素受体 α

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)05-0854-07

Current status and future of non-genomic effects of phytoestrogens

YANG Xin-yue^{1,2#}, LIU Hai-xin^{1,2,3#}, HE Shuang^{1,2}, SHAO Rui^{1,2}, FENG Yu-xin^{1,2}, ZHU Yan^{1,2*}

(1. *Tianjin Modern Chinese Medicine Key Laboratory, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;* 2. *Tianjin International Biomedical Research Institute, Chinese Medicine New Drug Research and Development Center, Tianjin 300457, China;* 3. *Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China*)

Abstract: Phytoestrogens exhibit various pharmacological estrogen-like effects, such as in the prevention and treatment of osteoporosis, cardiovascular diseases, tumors, etc., but the specific mechanism is still unclear. In recent years, estrogen receptor alpha-mediated rapid non-genomic effects have been identified to play an important role in the pathogenesis of estrogen-related diseases. The research of phytoestrogens exerting pharmacological effects through non-genomic effects has also received increasing attention. This article summarizes the research progress in estrogen receptor alpha-mediated non-genomic effects and analyzes the possible involvement of rapid non-genomic effects in certain pharmacological effects of phytoestrogens. The future prospects of estrogen receptor-mediated non-genomic effects by phytoestrogens are also discussed.

Key words: phytoestrogen; estradiol; nongenomic effect; estrogen receptor alpha

植物雌激素 (phytoestrogen, PE) 泛指存在于植物中的具有类雌激素效应的天然产物, 既包括结构类似, 也包括结构不同于 17β -雌二醇 (17β -estradiol, E2) 的化

合物。雌激素 (estrogen, E) 作为一种类固醇激素, 虽然经典地被视为生殖激素, 但在雌性哺乳动物中, 几乎在身体的所有组织中诱导细胞变化^[1]。机体产生最有效的雌激素是E2, 通过激活相应的雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 调节体内稳态平衡。女性绝经期卵巢衰竭引起的体内雌激素缺乏导致各种疾病的发生发展, 而之前提出的激素替代疗法 (hormone replacement therapy, HRT), 在2017年被世界卫生组织癌症研究机构将雌激素-孕激素合用治疗列在一类致癌物清单

收稿日期: 2019-11-26; 修回日期: 2019-12-31.

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1704502); 国家科技重大专项 (2018ZX01031301); 国家自然科学基金资助项目 (81873037).

*共同第一作者.

*通讯作者 Tel: 15822700439, Fax: 86-22-27429103,

E-mail: yanzhu.harvard@icloud.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0959

中^[2], 因此人们将目光转到更加安全有效的 PE 上, PE 可在体内起到模仿或调节内源性雌激素的作用^[3]。PE 广泛存在于中药、膳食补充剂及保健品中^[4]。目前 PE 按化学结构主要分为黄酮类(大豆苷元、葛根素、染料异黄酮等)^[5]; 木脂素类; 香豆素类(补骨脂素、当归内酯等); 二苯乙烯类; 其他类(人参皂苷、丹参酮IIA 等)^[6]。近年来人们对 PE 的研究表明, 其在防治肿瘤、心脑血管疾病和骨质疏松等方面具有广阔的应用前景, 但由于 PE 种类繁多, 生物活性存在差异性和特殊性, 且作用机制研究多集中于基因组通路, 不够深入和系统, 如何合理化、规范化应用的问题仍未得到回答, 因此更广泛地探究 PE 在体内的作用机制是解决此类问题的首要任务。

多年来研究者们致力于 ER 相关机制通路研究与探索, 目前已知 ER 通过至少两种信号传导途径调节细胞功能, 除了经典的核 ER 介导的基因组途径^[7], 现在公认的是雌激素通过膜 ER 发挥非基因组效应, 该反应可以在数秒至数分钟内完成, 也称为快速的、膜启动的非基因组信号传导通路, 该途径涉及细胞内激酶信号传导级联反应^[8]。具体表现为雌激素与膜相关的雌激素受体(ER 亚群、GPR30 或尚未定义的受体)结合, 通过与 G 蛋白和激酶相互作用, 触发快速的细胞应答或导致转录活性的变化。雌激素受体 α (ER α) 的快速信号参与多种疾病(心脑血管、骨质疏松、衰老、代谢等)发生发展, 是正常器官发育和发挥相应功能所必需的^[9]。由于学者对 ER α 非基因组效应的命名不一, 在 PubMed 数据库、中国知网数据库、万方与维普数据库中以关键词“膜启动的类固醇信号、ER α 非基因组效应、膜雌激素受体 α (mER α)、非核 ER α 与植物雌激素、能量代谢、心脑血管疾病、骨骼、衰老”交叉检索分析, 结合植物雌激素尚未系统阐述的作用机制, 本文的目的是整合近年来 ER α 非基因组效应的信息, 重点关注 mER α 介导的非基因组效应及相关疾病与植物雌激素的研究进展, 以期能为植物雌激素新药研发及其机制的深入研究提供药理学依据, 为解决 HRT 难题提供新思路。

1 植物雌激素的药理作用

女性绝经前后体内循环雌激素水平降低引发一系列反应: 从最开始的心悸、潮热、情绪干扰到血管、骨骼与神经代谢疾病的发展, 传统的 HRT 治疗以上病症的同时却出现严重的不良反应(阴道出血、乳房胀痛, 增加子宫内腺癌、乳腺癌的风险)。PE 作为可缓解女性更年期症状并防止其长期使用带来不良后果的天然产物, 备受人们关注^[10]。

事实上, PE 已被用于预防与心血管相关疾病^[11],

流行病学研究发现, 长期摄入大豆制品可以延缓动脉粥样硬化发展, 从而有效预防心血管疾病^[12]。活血化瘀类中药丹参被广泛用于治疗包括冠心病在内的心血管疾病已有数百年的历史, 丹酚酸 B 是一种从丹参中纯化的有效 PE, 通过抑制胚胎干细胞来源的心肌细胞中高糖联合缺氧处理的细胞凋亡, 显示出心脏保护作用^[13]。异黄酮可通过血管舒张作用降低高血压。研究证明, 绝经后妇女服用 6 个月的异黄酮可以增加内皮血管舒张, 增加肾脏的血流量与钠的排泄, 抑制血管紧张素转换酶的活性^[14]。本研究团队通过对 PE 的血管生成特性与药理作用进行分类和表征, 发现其在血管新生中的双向调节作用: 在治疗心血管疾病及组织损伤修复过程中, PE 可通过激活某些血管生成相关基因(VEGF、IGF1)的转录, 从而起到促血管新生的作用; 在肿瘤疾病防治中, PE 可通过抑制某些血管生成相关基因而抑制血管新生。且 ER α 与 ER β 在与 PE 结合用于血管生成的双向调节时, 两者显示出相反的信号, ER α 更偏向于促血管新生, 而 ER β 则抑制血管生成。因此, PE 对 ER 的选择性可能对不同疾病的治疗至关重要^[15], 并证明槲皮素和姜黄素可通过 ER α 发挥促血管新生与抗炎活性^[16]。

PE 广受欢迎的一项益处是可以缓解包括潮热、盗汗在内的女性更年期症状。源自球穗花千斤拔的 PE 被证明可通过 ER 发挥雌激素活性, 有望成为针对 ER 靶向治疗绝经症状的候选药物^[17]。木脂素及其衍生物肠内酯, 可以显著抑制人类结肠癌细胞的生长与雌激素诱导的乳腺癌细胞增殖^[18]。补骨脂酚对儿茶酚胺分泌具有双向调节作用^[19], 并对骨骼系统疾病具有强大效果, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗微生物和抗炎活性^[20]。临床试验发现, 长期补充白藜芦醇对认知功能, 以及对高碳酸血症和认知刺激的大脑反应具有益处^[21]。PE 可抑制特异性免疫反应并抑制淋巴细胞增殖, 金雀异黄酮可增加 T 细胞产生的细胞因子, 并增强自然杀伤和细胞毒性 T 细胞介导的毒性反应^[22]。越来越多的证据表明, PE 在防治更年期症状、代谢功能障碍、衰老、骨质疏松及心脑血管疾病的巨大潜力^[23]。由于 PE 在人类饮食中的广泛存在, 无论是在常规食品还是在膳食补充剂中, PE 仍然是一个重要的研究领域, 尤其是对于女性健康而言。

2 ER α 介导的非基因组效应

2.1 实验模型

近年来关于 ER α 不同实验模型的发展, 可进一步了解 ER α 介导非基因组通路的生理作用。MOER (membrane only estrogen receptor alpha) 小鼠模型表现出与 ER $\alpha^{-/-}$ 小鼠相似的表型^[24]。ER α 位点 (C447/451) 敲入小鼠 NOER (nuclear only estrogen

receptor alpha), 其排除所有器官中的类固醇受体棕榈酰化及膜功能^[25]。ER α -Cys451 棕榈酰化位点突变为 Ala 命名 C451A-ER α , 使膜 ER α 功能丧失。ER α -AF2⁰ 沉默 ER α 核功能, E2 对子宫的作用 (湿重与上皮细胞增殖) 保留在 C451A-ER α 小鼠中, 且发现 ER α 对子宫大部分基因调控与 AF2 区域依赖的核转录过程有关, 因此, ER α 在体内的膜和核作用是高度组织特异性的^[26]。雌激素树状大分子结合物 (estrogen dendrimer conjugate, EDC) 作为不入核的大分子在乳腺癌细胞中刺激非核信号传导非常有效, 但在刺激 ER α 核靶基因表达效率低下^[27]。DPM (disrupting peptide mouse) 模型中过表达 ER α 氨基酸 176~253 的肽破坏 ER α 与 striatin 结合, 从而阻止 ER α 非核信号通路活化^[28]。KRR (triple point mutant version of ER α) 为 ER α 的赖氨酸 231、精氨酸 233 和精氨酸 234 到丙氨酸三重点突变, 基本消除 striatin 和 ER α 结合^[29], 导致 ER α 膜信号传导丧失, 但存在完整的 ER α 介导的基因组信号传导途径^[30]。

2.2 ER α 介导的非基因组效应的生理意义 心血管疾病是 65 岁以上女性死亡的主要原因, 在病理情况下, 似乎女性比男性对环境侵害的反应能力更强^[31]。E2 的心血管作用主要取决于 ER α 和 ER β ^[32], 且 ER α 是 E2 依赖性保护免受血管损伤^[33]和动脉粥样硬化^[34]所必需的。Lu 等^[29]证实通过 ER α 的快速信号传导对于内皮细胞增殖和迁移能力、抑制单核-内皮细胞黏附至关重要。EDC 与 E2 均可明显降低去势雌鼠心肌缺血再灌注梗死面积, 促进心脏缺血后的功能恢复^[35]。Selvaraj 等^[36,37]证明非核 ER α 效应促进去势中风小鼠功能恢复, 减弱大脑内炎症反应, 且不会产生对子宫的不良营养作用。Justyna 等^[38]证明 ER α 非基因组效应可通过 p38 MAPK 通路介导心肌肌丝功能变化。绝经后妇女肥胖和相关代谢紊乱的患病率增加表明女

性雌激素介导体内代谢稳态^[39]。Ueda 等^[40]发现缺乏膜启动的 ER α 信号传导会导致小鼠的体重增加和葡萄糖的不耐受, 而且伴随着适应性产热功能受损和体力活动的减少。有证据表明经典的雌激素反应元件 (ERE) 依赖性 ER α 基因组途径对 E2 调节能量平衡不是必需的^[41]。Vinel 等^[42]发现, 与野生型小鼠相比, C451A-ER α 小鼠中 E2 对股骨骨密度, 以及皮质骨和松质骨的有益作用均降低。雌激素是大脑中的关键信号分子^[43], ER α KO (ER α knock out) 去势小鼠在无 E2 处理时出现记忆力受损。在海马区, E2 可激活膜受体, 引发信号级联反应, 增加细胞兴奋性、突触传递、N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDA) 受体功能, 并促进长时程突触增强的感应^[44], 似乎与年龄相关的 E2 水平下降会导致 ER α 表达下降^[45] (表 1)。

目前, 运用现有 ER α 非基因组效应模型进行的研究证明了 E2 通过 ER α 介导的非基因组效应发挥的有益作用, 无论是在内皮/血管, 或是对能量、葡萄糖稳态等方面, 并且一定程度上可以规避 E2 在子宫方面由于 ER α 核转录带来的不良反应。在与雌激素相关的疾病防治中, 如何降低长期服用激素药物带来的子宫/乳腺增生癌变的危险是目前要解决的首要难题, PE 作为更加安全有效的天然产物, 在非基因组效应方面的研究日益受到广大学者的关注。

3 植物雌激素的非基因组效应

由于中药中有效成分发挥作用的多途径与多靶点性, PE 的疗效与作用靶器官及用药途径密切相关。对于 PE 的作用机制, 更被人们接受的似乎是直接与 ER 结合, 激活核内雌激素靶基因的表达, 从而发挥其药理作用。近年来研究越来越广泛的 ER α 介导的非基因组效应也与 PE 的作用机制关联甚大。ER α 介导的非基因组效应指 ER α 可与雌激素或类雌激素样分

Table 1 Diseases and potential mechanisms of non-genomic effect of estrogen receptor alpha (ER α). DPM: Disrupting peptide mouse; mER α : Membrane estrogen receptor alpha; Akt: Protein kinase B; ERK: Extracellular regulated protein kinases; eNOS: Endothelial nitric oxide synthase; EC: Endothelial cell; SMC: Smooth muscle cell; EDC: Estrogen dendrimer conjugate; PaPE: Pathway preferential estrogen; CREB: cAMP-response element binding protein; PPT: Estrogen receptor alpha agonist; p38 MAPK: p38 Mitogen activated protein kinase; MgATPase: Mg²⁺ ATPase; KRR: Triple point mutant version of ER α ; PP2A: Protein phosphatase 2; AMPK: Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase; C451A-ER α : Palmitoylation site of ER α ; BV/TV: Bone volume/total volume; ER α KO: ER α knock out

Disease	ER pharmacological model	Mechanism	Reference
Vascular injury	DPM	mER α \rightarrow Akt, ERK1/2 \rightarrow eNOS \rightarrow EC proliferation, inhibit SMC proliferation	[29]
Cerebral ischemia and reperfusion injury	EDC, PaPE	mER \rightarrow Akt, ERK1/2, CREB \rightarrow neuroprotective effects	[35]
Myocardial disorder	PPT	mER α \rightarrow p38 MAPK \rightarrow MgATPase activity \rightarrow decrease myocardial calcium sensitivity	[38]
Metabolic disorders	KRR	mER α \rightarrow PP2A \rightarrow Akt, AMPK \rightarrow regulate energy expenditure	[40]
Osteoporosis	ER α -C451A	mER α \rightarrow increase trabecular bone mass BV/TV	[42]
Aging	ER α KO	mER α \rightarrow cAMP, Akt, MAPK/ERK1/2 \rightarrow protect memory and cognitive functions	[44]

子结合定位于质膜引发细胞快速反应^[46]。ER α 通过与质膜 caveolin-1^[47]、striatin^[48]蛋白结合定位于质膜,与 *Gai* 和 $G\beta\gamma$ ^[49]蛋白形成复合物,刺激快速信号 (cAMP/cGMP) 激活,引发激酶 (Src-PI3K-Akt/ERK1/2/eNOS) 磷酸化级联反应从而引发细胞应答反应^[50] (图1)。

3.1 作用于心血管保护 对于心血管疾病易感性的围绝经期妇女, PE可以降低总胆固醇并改善心脏功能^[51]。Fan等^[52]在体外证明丹参酮IIA通过血管内皮细胞以ER依赖的方式,通过快速活化ERK1/2与eNOS信号转导途径,促进eNOS基因的表达、NO生成及Ca²⁺动员,从而起到内皮依赖性血管舒张作用,并且这种作用可以被ER拮抗剂ICI 182 780抑制。葛根素作为一种在葛根中提取到的PE,在治疗神经系统、心血管功能障碍的药理活性被广泛研究。其心脏保护作用被认为是通过内皮细胞eNOS介导NO生成的结果。Hwang等^[53]证实,葛根素在EA.hy926内皮细胞中激活ER依赖的PI3K/Akt信号通路诱导eNOS磷酸化和NO的产生。三七皂苷R1作为一种从三七中提取的新型植物雌激素,具有抗炎、抗氧化和抗凋亡的特性^[54]。Sun等^[55]关注三七皂苷R1的心脏保护特性与潜在机制,发现其通过激活ER α 依赖性的PI3K/Akt信号通路,减轻脂多糖诱导的心肌炎型细胞因子的产生、eNOS和iNOS之间的失衡,并改善内毒素血症期间的心肌功能障碍。

3.2 作用于骨骼保护 骨质疏松症的当前治疗基于抗骨质再吸收与骨形成的药物,但持续使用这些药物

产生严重不良反应,因此,迫切需要可降低不良反应的有效治疗方法来增强成骨细胞和成肌细胞分化。芒柄花黄素 (formononetin, FN) 是天然存在的异黄酮,作为一种典型的PE,主要存在于黄芪、红三叶草中。FN显示出多种生物学功能,如神经保护、心脏保护等。Soundharraian等^[56]证明FN通过增加p38MAPK磷酸化水平与降低JAK1-STAT1磷酸化水平,从而以时间和浓度依赖性提高了BMP-2、BMP-4、BMP-7和BMP-9水平,进而调节成骨增强和肌源性分化。补骨脂酚是补骨脂中含量较高的活性成分,作为天然产物PE,具有治疗软骨细胞死亡引起的软骨变性的潜力。Xu等^[20]在大鼠膝关节软骨缺损中局部植入基质胶与补骨脂酚混合物,补骨脂酚的植入导致大鼠软骨细胞呈剂量依赖性增殖,并表明这种作用是通过ER α 介导的PI3K/Akt和ERK1/2途径活化来增强周期蛋白依赖性激酶1 (CDK1) 与转录因子 (E2F1) 的表达,从而增强软骨细胞活化。

3.3 作用于神经保护 PE作为神经保护剂和抗氧化剂^[57],可以降低阿尔茨海默症的风险^[58],并通过质膜ER影响儿茶酚胺的合成和摄取^[59,60]。染料异黄酮是具有雌激素样活性PE,其生物学效应已在癌症、炎症和细胞凋亡等方面探索^[61]。越来越多的证据表明,染料异黄酮可以减轻全脑缺血、局灶性脑缺血、神经元缺氧-葡萄糖剥夺所致的损伤,这种保护作用可通过线粒体依赖性细胞凋亡、炎症反应和氧化应激等多种过程调控^[62]。Wang等^[63]在去势雌鼠中证明,染料异黄酮通过

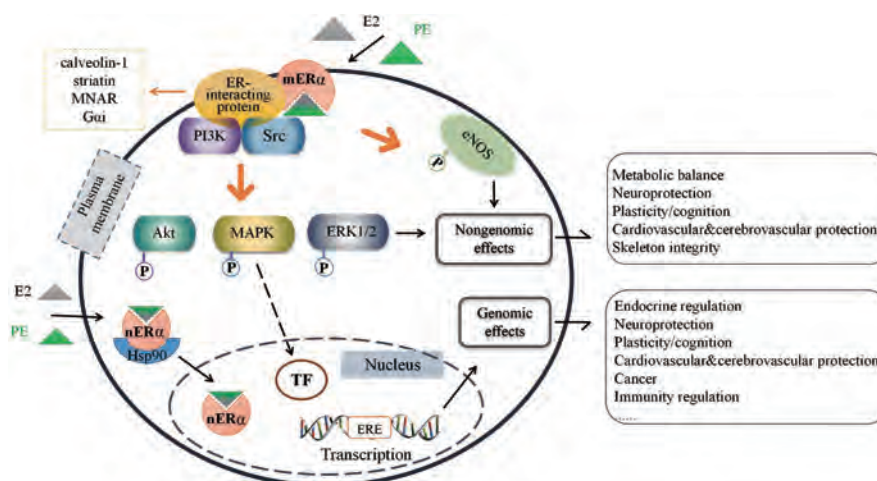


Figure 1 Genomic vs nongenomic signaling pathways of estrogen receptors by estradiol (E2) or phytoestrogen (PE). The genomic effects of estrogen receptors include ligand (E2/PE) activation of cytosolic/nuclear ER (nER) bound to heat shock protein 90 (HSP90), nER dimerization, and direct DNA binding to estrogen response elements (ERE) before modulation of gene transcription and induce the related pharmacological actions. The nongenomic effects of estrogen receptors involve ER located close to the membrane (mER), direct bind ER-interacting proteins (caveolin-1, striatin MNAR *Gai*). This allows the subsequent interaction of mER upon E2 activation with protein kinases (Src, PI3K), leading to signaling cascades (Akt, ERK1/2, MAPK), and eNOS activation, and induce the related pharmacological actions. P: Phosphorylation; TF: Transcription factors; MNAR: Modulator of nongenomic activity of estrogen receptor

Table 2 Phytoestrogens with demonstrated ER α nongenomic effects

Phytoestrogen	ER Subtype	Mechanism	Reference
Bakuchiol	ER α	PI3K/Akt, ERK1/2 \rightarrow enhance the remodelling of injured cartilage	[20]
Tanshinone IIA	ER α	ERK1/2 \rightarrow eNOS \rightarrow Ca ²⁺ \rightarrow vasodilative effects	[52]
Puerarin	ER	PI3K/Akt, CaMKII/AMPK \rightarrow eNOS \rightarrow endothelial dysfunction	[53]
Notoginsenoside R1	ER α	PI3K/Akt \rightarrow eNOS, NF- κ B \rightarrow ameliorate septic cardiac dysfunction and inflammation	[54]
Genistein	ER α	ERK1/2 \rightarrow neuroprotection against focal cerebral ischemia reperfusion injury	[63]

增加ERK1/2磷酸化水平,增加了细胞凋亡蛋白Bcl-2/Bax的比例,显著改善神经功能、减轻梗塞面积并减少细胞凋亡,并且这种作用被ERK1/2阻断剂U0126阻断。Schreihofner等^[64]证明染料木黄酮、大豆苷元等通过ER α 依赖的方式激活细胞内激酶级联反应,包括PI3K、AKT和MAPK等发挥其神经保护作用。在中药虎杖中提取的PE大黄素可防止培养的皮质神经元受到 β -淀粉样蛋白诱导的毒性作用,而用PI3K途径抑制剂LY294002或ER特异性拮抗剂ICI 182 780预处理可阻断大黄素的预防作用,大黄素通过ER和PI3K/Akt途径介导AKT的活化与Bcl-2的上调,从而具有神经保护作用^[65](表2)。

4 结语与展望

对于ER,经典的核转录作用并不能解释其全部生物学功能,人们发现了另一种快速的、膜启动的、非基因组类固醇信号通路,并在多种细胞系中表征,尤其在内皮细胞中。本文只讨论了ER α 介导的非基因组效应,没有涉及到其他可能的G蛋白偶联雌激素受体(GPER)或ER β 的快速效应。目前对于PE的非基因组效应机制研究尚处于起步阶段,但ER α 介导的非基因组效应在机体生理病理方面的优势已被人们广泛认可。近年来,研究者们创造了一系列针对ER α 非基因组效应的药理模型,包括文中提到的C451A-ER α 、DPM、MOER、NOER和KRR等,意在揭示其组织特异性行为及其有益的生理作用,包括在心脑血管、骨骼、神经和代谢等方面。理想的HRT是维持雌激素的有益作用,同时避免子宫、乳腺等组织的癌变。因此,科学问题仍然是如何将雌激素的有益信号与其有害作用分开。也许具有组织特异性的ER α 非基因组效应的药理学工具结合计算机模拟(molecular docking)等现代技术联合研究,从天然产物数据库中寻找具有选择性的ER选择性激动剂/拮抗剂,将发现更有效的具有特定功能的PE,可能会为解决目前HRT难题提供很大的帮助。目前对于PE的研究相对集中于临床应用,对基础机制研究也多在ER介导的基因组效应方面,缺少系统性与深入性。本文通过整合ER α 介导的非基因组效应与PE的信息发现,至少在部分机制上,PE是通过ER α 依赖性激活PI3K/Akt和ERK1/2信号通路的非

基因组效应起作用,这一结论对PE的基础研究提供了新的思路,但同样也揭示了一些问题:① PE存在多通路、多靶点,目前对各种信号的认识还不全面,各种调节系统之间是否存在相互关联尚待阐述;② 在PE的使用提出明确建议之前,必须对其安全性进行仔细的审查。事实上,有研究表明,PE补充剂会适度增加胃肠不良反应(腹痛、嗜睡)的发生率,但是这些反应没有累积剂量效应^[66]。因此,应从体外细胞、体内动物实验到临床试验等多个方面,运用ER相关药理学模型与工具对PE进行全面研究,如更具体的作用机制、PE的安全剂量和相对统一的评价标准等,从而为更年期女性疾病的防治提供更可靠的证据。

References

- [1] Gourdy P, Guillaume M, Fontaine C, et al. Estrogen receptor subcellular localization and cardiometabolism [J]. *Mol Metabol*, 2018, 15: 56-69.
- [2] Thaug Zaw JJ, Howe P, Wong R. Postmenopausal health interventions: time to move on from the Women's Health Initiative [J]. *Ageing Res Rev*, 2018, 48: 79-86.
- [3] Dixon RA. Phytoestrogens [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 225-261.
- [4] Zheng XH, Zhang BB, Zeng MN, et al. Estrogen-like effect of allantoin [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 68-73.
- [5] Zhao YY, Chen Y, Han DW, et al. Evaluation of the estrogenic effects of rehmapirogenin [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 138-142.
- [6] Zhu DN, Wang L, Wang ST, et al. Advances in studies on phytoestrogens [J]. *Chin Tradit Herb Drug (中草药)*, 2012, 43: 1422-1429.
- [7] Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis [J]. *Endocr Rev*, 2013, 34: 309-338.
- [8] Arnal JF, Lenfant F, Metivier R, et al. Membrane and nuclear estrogen receptor alpha actions: from tissue specificity to medical implications [J]. *Physiol Rev*, 2017, 97: 1045-1087.
- [9] Levin ER, Hammes SR. Nuclear receptors outside the nucleus: extranuclear signalling by steroid receptors [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17: 783-797.
- [10] Viggiani MT, Polimeno L, Di Leo A, et al. Phytoestrogens: dietary intake, bioavailability, and protective mechanisms

- against colorectal neoproliferative lesions [J]. *Nutrients*, 2019, 11: E1709.
- [11] Messina M. Soy foods, isoflavones, and the health of postmenopausal women [J]. *Am J Clin Nutr*, 2014, 100: 423-430.
- [12] Gencil VB, Benjamin MM, Bahou SN, et al. Vascular effects of phytoestrogens and alternative menopausal hormone therapy in cardiovascular disease [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12: 149-174.
- [13] Huang CY, Chen SY, Fu RH, et al. Differentiation of embryonic stem cells into cardiomyocytes used to investigate the cardioprotective effect of salvianolic acid B through BNIP3 involved pathway [J]. *Cell Transplant*, 2015, 24: 561-571.
- [14] Ramdath DD, Padhi EM, Sarfaraz S, et al. Beyond the cholesterol-lowering effect of soy protein: a review of the effects of dietary soy and its constituents on risk factors for cardiovascular disease [J]. *Nutrients*, 2017, 9: 324.
- [15] Liu HX, Wang Y, Lu Q, et al. Bidirectional regulation of angiogenesis by phytoestrogens through estrogen receptor-mediated signaling networks [J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14: 241-254.
- [16] Liu H, He S, Wang T, et al. Selected phytoestrogens distinguish roles of ERalpha transactivation and ligand binding for anti-inflammatory activity [J]. *Endocrinology*, 2018, 159: 3351-3364.
- [17] Jeong SY, Chang M, Choi SH, et al. Estrogenic effects of phytoestrogens derived from *Flemingia strobilifera* in MCF-7 cells and immature rats [J]. *Arch Pharm Res*, 2018, 41: 519-529.
- [18] Wang LQ. Mammalian phytoestrogens: enterodiol and enterolactone [J]. *J Chromatogr B*, 2002, 777: 289-309.
- [19] Mao H, Wang H, Ma S, et al. Bidirectional regulation of bakuchiol, an estrogenic-like compound, on catecholamine secretion [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 274: 180-189.
- [20] Xu K, Sha Y, Wang S, et al. Effects of bakuchiol on chondrocyte proliferation *via* the PI3K-Akt and ERK1/2 pathways mediated by the estrogen receptor for promotion of the regeneration of knee articular cartilage defects [J]. *Cell Prolif*, 2019, 52: e12666.
- [21] Evans HM, Howe PR, Wong RH. Effects of resveratrol on cognitive performance, mood and cerebrovascular function in postmenopausal women; a 14-week randomised placebo-controlled intervention trial [J]. *Nutrients*, 2017, 9: E27.
- [22] Desmawati D, Sulastri D. Phytoestrogens and their health effect [J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2019, 7: 495-499.
- [23] Sirotkin AV, Harrath AH. Phytoestrogens and their effects [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 741: 230-236.
- [24] Pedram A, Razandi M, Kim JK, et al. Developmental phenotype of a membrane only estrogen receptor alpha (MOER) mouse [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 3488-3495.
- [25] Pedram A, Razandi M, Lewis M, et al. Membrane-localized estrogen receptor α is required for normal organ development and function [J]. *Dev Cell*, 2014, 29: 482-490.
- [26] Adlanmerini M, Solinhac R, Abot A, et al. Mutation of the palmitoylation site of estrogen receptor α *in vivo* reveals tissue-specific roles for membrane *versus* nuclear actions [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2014, 111: E283-E290.
- [27] Harrington WR, Sung Hoon K, Funk CC, et al. Estrogen dendrimer conjugates that preferentially activate extranuclear, nongenomic versus genomic pathways of estrogen action [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20: 491-502.
- [28] Bernelot Moens SJ, Schnitzler GR, Nickerson M, et al. Rapid estrogen receptor signaling is essential for the protective effects of estrogen against vascular injury [J]. *Circulation*, 2012, 126: 1993-2004.
- [29] Lu Q, Schnitzler GR, Ueda K, et al. ER alpha rapid signaling is required for estrogen induced proliferation and migration of vascular endothelial cells [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0152807.
- [30] Ueda K, Lu Q, Baur W, et al. Rapid estrogen receptor signaling mediates estrogen-induced inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33: 1837-1843.
- [31] Puglisi R, Mattia G, Care A, et al. Non-genomic effects of estrogen on cell homeostasis and remodeling with special focus on cardiac ischemia/reperfusion injury [J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 733.
- [32] Xing D, Nozell S, Chen YF, et al. Estrogen and mechanisms of vascular protection [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29: 289-295.
- [33] Pare G, Krust A, Karas RH, et al. Estrogen receptor mediates the protective effects of estrogen against vascular injury [J]. *Circ Res*, 2002, 90: 1087-1092.
- [34] Hodgin JB, Kregge JH, Reddick RL, et al. Estrogen receptor alpha is a major mediator of 17beta-estradiol's atheroprotective effects on lesion size in Apoe^{-/-} mice [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107: 333-340.
- [35] Madak-Erdogan Z, Kim SH, Gong P, et al. Design of pathway preferential estrogens that provide beneficial metabolic and vascular effects without stimulating reproductive tissues [J]. *Sci Signal*, 2016, 9: ra53.
- [36] Selvaraj UM, Zuurbier KR, Woolery CW, et al. Selective nonnuclear estrogen receptor activation decreases stroke severity and promotes functional recovery in female mice [J]. *Endocrinology*, 2018, 159: 3848-3859.
- [37] Yang LC, Zhang QG, Zhou CF, et al. Extranuclear estrogen receptors mediate the neuroprotective effects of estrogen in the rat hippocampus [J]. *PLoS One*, 2010, 5: e9851.
- [38] Justyna K, Nirmala C, Glen PW, et al. Rapid changes in cardiac myofilament function following the acute activation of estrogen receptor-alpha [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e41076.
- [39] Steinbaum SR. The metabolic syndrome: an emerging health epidemic in women [J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2004, 46: 321-336.
- [40] Ueda K, Takimoto E, Lu Q, et al. Membrane-initiated estrogen receptor signaling mediates metabolic homeostasis *via* central activation of protein phosphatase 2A [J]. *Diabetes*, 2018, 67: 1524-1537.

- [41] Park CJ, Zhao Z, Glidewell-Kenney C, et al. Genetic rescue of nonclassical ER α signaling normalizes energy balance in obese ER α -null mutant mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121: 604-612.
- [42] Vinel A, Hay E, Valera MC, et al. Role of ER α MISS in the effect of estradiol on cancellous and cortical femoral bone in growing female mice [J]. *Endocrinology*, 2016, 157: 2533-2544.
- [43] Brinton RD. The healthy cell bias of estrogen action: mitochondrial bioenergetics and neurological implications [J]. *Trends Neurosci*, 2008, 31: 529-537.
- [44] Foster TC. Role of estrogen receptor alpha and beta expression and signaling on cognitive function during aging [J]. *Hippocampus*, 2012, 22: 656-669.
- [45] Foster TC, Rani A, Kumar A, et al. Delivery of estrogen receptor- α to the hippocampus improves spatial learning in estrogen receptor- α knockout mice [J]. *Mol Ther*, 2008, 16: 1587-1593.
- [46] Menazza S, Murphy E. The expanding complexity of estrogen receptor signaling in the cardiovascular system [J]. *Circul Res*, 2016, 118: 994-1007.
- [47] Pedram A, Razandi M, Sainson RCA, et al. A conserved mechanism for steroid receptor translocation to the plasma membrane [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 22278-22288.
- [48] Acconcia F, Ascenzi P, Bocedi A, et al. Palmitoylation-dependent estrogen receptor membrane localization: regulation by 17-estradiol [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16: 231-237.
- [49] Kumar P, Wu Q, Chambliss KL, et al. Direct interactions with G α i and G β γ mediate nongenomic signaling by estrogen receptor α [J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21: 1370-1380.
- [50] Lu Q, Pallas DC, Surks HK, et al. Striatin assembles a membrane signaling complex necessary for rapid, nongenomic activation of endothelial NO synthase by estrogen receptor alpha [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101: 17126-17131.
- [51] Legette LL, Lee WH, Martin BR, et al. Genistein, a phytoestrogen, improves total cholesterol, and synergy, a prebiotic, improves calcium utilization, but there were no synergistic effects [J]. *Menopause*, 2011, 18: 923-931.
- [52] Fan G, Zhu Y, Guo H, et al. Direct vasorelaxation by a novel phytoestrogen tanshinone IIA is mediated by nongenomic action of estrogen receptor through endothelial nitric oxide synthase activation and calcium mobilization [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2011, 57: 340-347.
- [53] Hwang YP, Kim HG, Hien TT, et al. Puerarin activates endothelial nitric oxide synthase through estrogen receptor-dependent PI3-kinase and calcium-dependent AMP-activated protein kinase [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 257: 48-58.
- [54] Liu WJ, Tang HT, Jia YT, et al. Notoginsenoside R1 attenuates renal ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Shock*, 2010, 34: 314-320.
- [55] Sun B, Xiao J, Sun XB, et al. Notoginsenoside R1 attenuates cardiac dysfunction in endotoxemic mice: an insight into oestrogen receptor activation and PI3K/Akt signalling [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168: 1758-1770.
- [56] Soundharajan I, Kim DH, Kuppusamy P, et al. Modulation of osteogenic and myogenic differentiation by a phytoestrogen formononetin *via* p38MAPK-dependent JAK-STAT and Smad-1/5/8 signaling pathways in mouse myogenic progenitor cells [J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 9307.
- [57] Pan YT, Guo CY, Ma XJ, et al. The estrogen-like protective effect of ginsenoside Rb3 on oxidative stress and dysfunction of endothelial cells induced by oxidized low-density lipoprotein [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 1406-1412.
- [58] Liu RT, Lv QJ. Progress in the research on multi-target-directed drugs against Alzheimer's disease [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 258-263.
- [59] Jefferson WN, Williams CJ. Circulating levels of genistein in the neonate, apart from dose and route, predict future adverse female reproductive outcomes [J]. *Reprod Toxicol*, 2011, 31: 272-279.
- [60] Mao H, Wang H, Ma S, et al. Bidirectional regulation of bakuchiol, an estrogenic-like compound, on catecholamine secretion [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 274: 180-189.
- [61] Li W, Liu YH. Effects of phytoestrogen genistein on genioglossus function and oestrogen receptors expression in ovariectomized rats [J]. *Arch Oral Biol*, 2009, 54: 1029-1034.
- [62] Qian Y, Guan T, Huang M, et al. Neuroprotection by the soy isoflavone, genistein, *via* inhibition of mitochondria-dependent apoptosis pathways and reactive oxygen induced-NF-kappa B activation in a cerebral ischemia mouse model [J]. *Neurochem Int*, 2012, 60: 759-767.
- [63] Wang S, Wei H, Cai M, et al. Genistein attenuates brain damage induced by transient cerebral ischemia through up-regulation of ERK activity in ovariectomized mice [J]. *Int J Biol Sci*, 2014, 10: 457-465.
- [64] Schreihof DA, Redmond L. Soy phytoestrogens are neuroprotective against stroke-like injury *in vitro* [J]. *Neuroscience*, 2009, 158: 602-609.
- [65] You F, Li Q, Jin G, et al. Genistein protects against Abeta 25-35 induced apoptosis of PC12 cells through JNK signaling and modulation of Bcl-2 family messengers [J]. *BMC Neurosci*, 2017, 18: 12.
- [66] Tempfer CB, Froese G, Heinze G, et al. Side effects of phytoestrogens: a meta-analysis of randomized trials [J]. *Am J Med*, 2009, 122: 939-946.