

基于网络药理学探讨活血健骨方治疗骨质疏松的潜在作用机制

曾豪杰¹, 黄煜智¹, 向世俊¹, 陈倩文¹, 周玉其¹, 张维焯¹, 杨 春^{1*}, 杜以宽^{2*} (1. 广东医科大学干细胞与再生组织工程重点实验室, 广东东莞 523808; 2. 东莞市人民医院中心实验室, 广东东莞 523059)

摘要: **目的** 基于网络药理学探讨活血健骨方治疗骨质疏松(OP)活性成分、作用靶点及分子机制。**方法** 通过文献查找活血健骨方有效成分,并借助有关数据库筛选活血健骨方与OP共同靶点,构建“药材-成分-靶点”网络,进行GO分析和KEGG通路富集分析,并用LEDOCK对关键成分与核心靶点进行分子对接。**结果** 获得活血健骨方有效成分61个,包括红厚壳内酯、槲皮素、汉黄芩素、黄芩素、黄藤素、山柰酚和木犀草素等。活血健骨方与OP共同靶点118个,包括ALB、IL6、EGFR、SRC、AKT1、MAPK3、ESR1、PTGS2等;靶点主要富集在细胞膜、内质网膜、细胞器膜等处,分子功能主要集中于酶结合、血红素结合、类固醇结合等。KEGG分析显示,共同靶点主要富集在类固醇合成、雌激素信号、癌症和TNF信号通路。槲皮素、山柰酚、木犀草素与疾病靶点AKT1、IL-6、MAPK3有强结合能力。**结论** 活血健骨方具有多成分、多靶点、多途径治疗骨质疏松的潜在作用机制。

关键词: 活血健骨方; 网络药理学; 骨质疏松

中图分类号: R 285

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2022)01-0022-09

Potential mechanism of Huoxue Jiangu prescription in osteoporosis based on network pharmacology

ZENG Hao-jie¹, HUANG Yu-zhi¹, XIANG Shi-jun¹, CHEN Qian-wen¹, ZHOU Yu-qi¹, ZHANG Wei-chui¹, YANG Chun^{1*}, DU Yi-kuan^{2*} (1. Key Laboratory of Stem Cell and Regenerative Tissue Engineering, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; 2. Central Laboratory, Dongguan People's Hospital, Dongguan 523059, China)

Abstract: **Objective** To explore the active ingredients, targets and molecular mechanisms of Huoxue Jiangu prescription (HXJGP) in osteoporosis (OP) based on network pharmacology. **Methods** The active ingredients of HXJGP were searched by document retrieval. The common targets between HXJGP and OP were screened using related databases followed by construction of "medicine-component-target" network, GO analysis and KEGG pathway enrichment analysis. The molecular docking between key components and core targets was analyzed by LEDOCK. **Results** The active ingredients of HXJGP were 61, e.g., inophyllum E, quercetin, wogonin, baicalein, kaempferol, luteolin, and the like. The common targets were 118, including ALB, IL-6, EGFR, SRC, AKT1, MAPK3, ESR1, PTGS2, and so on. They were mainly concentrated in the cell, endoplasmic reticulum, and organelle membrane, and their molecular functions generally focused on enzyme, heme, and steroid binding. KEGG analysis showed that common targets were predominantly enriched in steroid synthesis, estrogen signaling, cancer, and TNF signaling pathways. There was the strong binding ability of quercetin, kaempferol and luteolin to AKT1, IL-6 and MAPK3 of OP, respectively. **Conclusion** The potential mechanism of HXJGP could be multicomponent, multitarget and multi-approach in the treatment of osteoporosis.

Key words: Huoxue Jiangu prescription; network pharmacology; osteoporosis

收稿日期: 2021-06-24

基金项目: 广东省自然科学基金面上项目(2020A1515010011, 2021A1515011580), 广东省医学科学基金(A2020096, B2021330), 广东医科大学大学生创新创业训练项目(GDMU2019003, GDMU2019041, GDMU2020010, GDMU2020078), 大学生创新创业训练计划项目(201910571063、202010571003、S202010571041、202110571010、S202110571078)

作者简介: 曾豪杰(2000-), 男, 在读本科生

通信作者: 杨 春(1982-), 女, 博士, 副教授, E-mail: yangchunangel@163.com;

杜以宽(1983-), 男, 博士, 副研究员, E-mail: yikuan.du@foxmail.com

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种骨量减少、骨微结构损坏和骨脆性增加的全身性骨代谢紊乱疾病,属于中医“骨痿”、“骨痹”以及“骨痛”等的范畴^[1]。《黄帝内经》认为,骨质疏松的发病机制以肾虚为本,与肝虚、脾虚以及血瘀也密切相关^[2]。目前的临床治疗手段主要从促进骨形成和抑制骨吸收两方面入手来调节骨代谢,但较大的不良反应往往限制了相关药物的广泛应用,如常见的雌激素替代疗法可能会增加子宫内膜癌的发生风险^[3]。

近年来,中医药治疗OP的疗效,特别是在改善患者疼痛及增加骨密度等方面的作用逐渐得到了临床认可^[4]。活血健骨方是本课题的临床验方,该方可显著改善OP临床症状,但其分子生物学机制尚未明了。本活血健骨方由丹参、川芎、当归、土鳖、桑寄生、牛膝、地黄、鹿衔草、续断和五加皮构成,以补肾活血为治则,用于治疗骨质疏松,其中五味药物在《神农本草经》中均有记载:地黄,主折跌绝筋,填骨髓,长肌肉;续断,主伤寒,补不足,金疮痈,伤折跌,续筋骨;丹参,主心腹邪气,破癥除瘕;牛膝,主寒湿痿痹,四肢拘挛,膝痛不可屈伸,破瘀血。鹿衔草,主风湿痹历节痛,惊痫吐舌,悸气贼风,鼠痿痈肿。本研究运用网络药理学的方法,整合中药、中药活性成分、中药靶标及疾病靶标等信息,从而探讨中药复方的作用机制,旨在为探索活血健骨方可能的预防及治疗骨质疏松症的机制提供新思路。

1 材料和方法

1.1 活血健骨方有效成分和靶点的收集

活血健骨方中的药材:丹参、川芎、当归、土鳖、桑寄生、牛膝、地黄、鹿衔草、续断以及五加皮。通过查阅文献,收集活血健骨方的活血健骨和治疗骨质疏松的成分信息。将收集到的有效成分通过Pubchem数据库获得对应的SMILES号,然后将SMILES号输入Swiss数据库(Swiss Target Prediction)进行靶点预测,收集各个成分预测出的Possibility大于0的靶点,最后去重得到有效成分的靶点。

1.2 疾病靶点预测

在GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)、TTD数据库(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、DRUGBANK数据库(<https://www.drugbank.ca/>)中检索“Osteoporosis”获得与Osteoporosis相关的靶点。然后汇总收集的靶点,最后去重后得到与Osteoporosis相关的靶点。

1.3 药材-成分-靶点图的构建

根据收集到的活血健骨方成分和成分对应的靶点,使用Cytoscape3.7.2软件建立“药材-成分-靶点”网络。再对网络进行分析,网络中的药材、成分和靶点由节点表示,节点之间由边来连接,表示节点的相关性。

1.4 蛋白相互作用网络的构建

将收集到的成分靶点与骨质疏松靶点取交集,得到活血健骨方成分抗骨质疏松的靶点,使用在线韦恩图绘制工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)绘制活血健骨方成分靶点和骨质疏松靶点的韦恩图,验证共同靶点。将靶点导入String数据库(<https://string-db.org/>),进行PPI网络构建,以分析靶点之间的相互作用关系,限定物种为“Homo sapiens”,其余参数为默认设置。将下载获得的TSV文件导入Cytoscape3.7.2软件,应用“Network Analyzer”功能进行网络拓扑分析,筛选自由度(degree)值高于平均值的靶点作为关键靶点。

1.5 生物过程与代谢通路富集分析

将活血健骨方成分抗骨质疏松的靶点对应的Gene symbol列表输入DAVID,设置物种为“Homo sapiens”进行基因生物功能学(GO)富集分析和KEGG通路富集分析,然后使用微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)将富集分析结果用气泡图和条形图的形式表示。

2 结果

2.1 活血健骨方成分筛选结果

基于“1.1”的条件对活血健骨方成分进行筛选,最终筛选得到61个有效成分,并进行后续的网络药理学分析,如表1所示。通过Swiss数据库总共得到683个有效成分作用的靶点。

2.2 Osteoporosis靶点的获得

取GeneCards数据库前500个与Osteoporosis有关的靶点,并在TTD、DRUGBAN中找到全部与Osteoporosis有关的靶点,汇总去重后,最终获得706个靶点。

2.3 药材-成分-靶点网络的构建和分析结果

使用Cytoscape3.7.2软件建立“药材-成分-靶点”的网络图,如图1所示,图中包含754个节点,其中10个蓝色圆形节点为药材,61个红色菱形节点为活血健骨方成分,455个绿色正方形节点为自由度值<4的靶点,228个黄色三角形节点为自由度值>4的靶点。红厚壳内酯、槲皮素、汉黄芩素、黄芩素、黄藤素、山萘酚和木犀草素的自由度值较大。

表1 活血健骨方61个成分及其基本信息

编号	化合物	自由度值	来源	编号	化合物	自由度值	来源
1	丹参素	10	丹参	32	脱皮甾酮	93	牛膝
2	丹酚酸 B	28	丹参	33	牛膝甾酮	71	牛膝
3	丹参酮 IIA	47	丹参	34	汉黄芩素	104	牛膝
4	隐丹参酮	60	丹参	35	黄芩苷	19	牛膝
5	原儿茶醛	18	丹参	36	黄连素	84	牛膝
6	丹参酮I	42	丹参	37	黄连碱	17	牛膝
7	二氢丹参酮I	68	丹参	38	黄芩素	104	牛膝
8	熊果酸	81	丹参	39	表小檗碱	85	牛膝
9	齐墩果酸	83	丹参	40	红厚壳内酯	105	牛膝
10	丹参酮 VI	42	丹参	41	黄藤素	104	牛膝
11	丹酚酸 A	57	丹参	42	梓醇	19	地黄
12	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2- [(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acry- loyl]oxy-propionic acid	54	丹参	43	桃叶珊瑚苷	24	地黄
13	紫草酸	37	丹参	44	毛蕊花糖苷	8	地黄
14	丹酚酸 C	27	丹参	45	京尼平苷	40	地黄
15	阿魏酸	72	川芎	46	松果菊苷	7	地黄
16	绿原酸	40	川芎	47	金丝桃苷	23	鹿衔草
17	咖啡酸	56	川芎	48	山萘酚	104	鹿衔草
18	洋川芎内酯 A	66	川芎	49	木犀草素	104	鹿衔草
19	愈创木酚	15	当归	50	大黄素	44	鹿衔草
20	藁苯内酯	62	当归	51	水晶兰苷	4	鹿衔草
21	棕榈油酸	98	土鳖	52	山楂酸	81	鹿衔草
22	油酸	85	土鳖	53	香草酸	36	鹿衔草
23	二十八烷醇	8	土鳖	54	木通皂苷 D	10	续断
24	异黄酮	38	土鳖	55	马钱子苷	43	续断
25	槲皮苷	23	桑寄生	56	常春藤皂苷元	75	续断
26	槲皮素	104	桑寄生	57	β -谷甾醇	47	续断
27	扁蓄苷	23	桑寄生	58	龙胆素	91	续断
28	竹节参苷 IVa	24	牛膝	59	芝麻素	12	五加皮
29	竹节参苷 IVa 丁酯	17	牛膝	60	原儿茶酸	27	五加皮
30	竹节参苷 V	15	牛膝	61	刺五加苷 E	10	五加皮
31	木鳖子皂苷 Ib	32	牛膝				

2.4 PPI网络互作结果

将成分作用的靶点与骨质疏松症相关靶点用韦恩图取交集,得到活血健骨方有效成分抗骨质疏松的118个靶点,如图2所示。将118个靶点导入String数据库获得PPI网络数据,将数据导入Cytoscape3.7.2软件中构建PPI网络,见图3。该网络共涉及117个靶点(有1个预测靶点无任何关联)和1160条边。筛选出了自由度值高于平均值的45个核心靶点,如表2所示。在PPI网络中自由度值和combined-score由小到大,则节点和边都逐渐增大,颜色均由红变蓝,PPI网络显示,以ALB、IL6、EGFR、SRC、AKT1、MAPK3、ESR1、PTGS2等节点为中心,且自由度值较高。

2.5 生物过程与代谢通路富集

使用DAVID对活血健骨方成分抗骨质疏松症的118个靶点进行GO功能富集分析($P<0.05$)和KEGG通路富集分析,分析结果见图4、5。

GO功能富集分析结果显示,在生物过程方面,这些靶点主要富集在氧化还原过程,对药物的反应,凋亡过程的正调控和转运等过程上;在细胞组分方面,这些靶点主要富集在细胞质膜、细胞外泌体、内质网膜、蛋白质复合物和细胞器膜等处;在分子功能方面,这些靶点主要与酶、血红素、铁离子、类固醇结合,同时还具有类固醇激素受体活性。

KEGG富集分析结果显示,靶点主要富集在类固

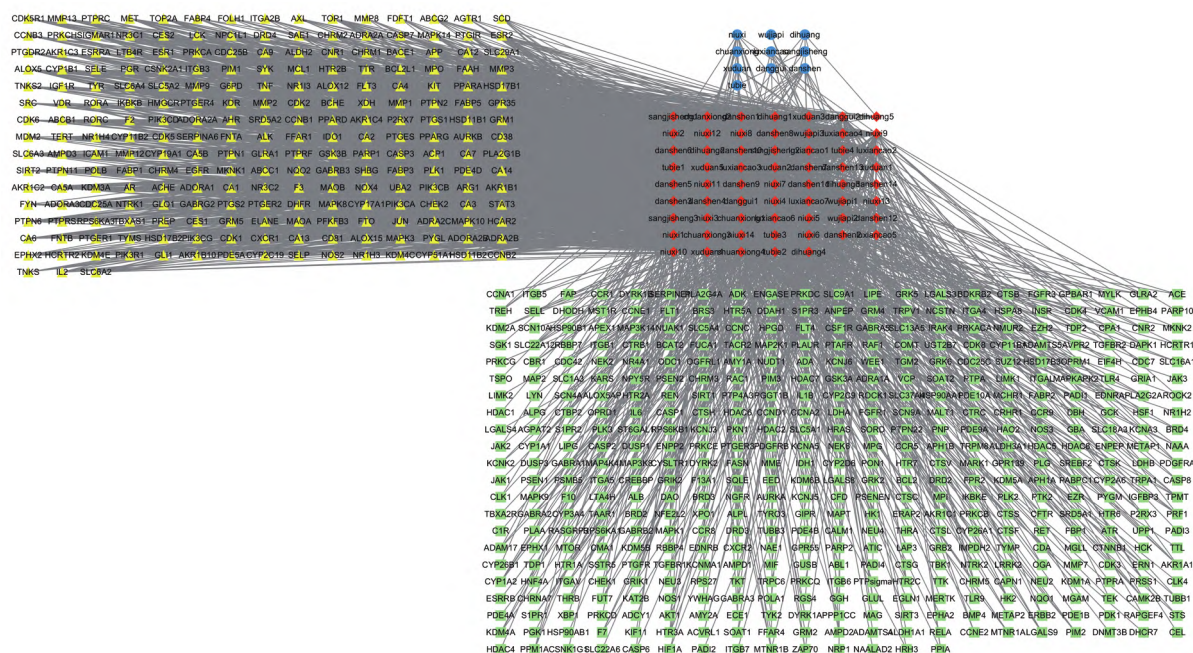


图1 活血健骨方药材-成分-靶点网络图

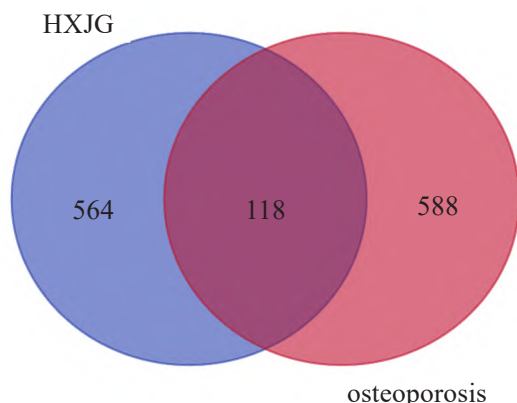


图2 活血健骨方成分作用靶点与骨质疏松症相关靶点韦恩图

醇激素的合成通路、雌激素信号通路、癌症通路和 TNF 信号通路上。

2.6 分子对接

根据 PPI 蛋白互作网络分析得到的关键靶点 AKT1、IL-6 和 MAPK3, 与活性成分槲皮素、山柰酚和木犀草素进行分子对接, 得到结果如表 3。

Ledock score 代表分子对接吻合度, 分数越小代表配体与受体蛋白结合性越好, 发生作用的可能性越大。可见, 关键靶蛋白与成分的结合能均远远低于 5.0 KJ/mol。并对其进一步分析, 得到各靶点与成分的 3D 结合模型(图 6)。化合物-靶蛋白对接图也显示化合物和靶蛋白能形成氢键等分子间作用力, 进一步说明了筛选结果的可靠性。

3 讨论

OP 是一种全身性骨骼疾病, 表现为骨组织微结构退行性变和低骨量变, 肾精亏虚、骨失滋养是本病发生的基本病机^[5]。中医药治疗 OP 具有价格低廉、剂型丰富、不良反应小、依从性好等优势, 在治疗早中期 OP 方面发挥着不可替代的作用^[6]。“活血健骨方”是本课题组的临床验方, 本研究以该方为研究对象, 通过网络药理学和分子对接初步探究分析了其所含药物活性成分治疗骨质疏松症的潜在分子机制。

3.1 网络药理学结果简述

本研究基于网络药理学从 PubChem 和 Swiss Target Prediction 数据库获得药物成分信息, 收集到有效成分 61 个, 以红厚壳内酯、槲皮素、汉黄芩素、黄芩素、黄藤素、山柰酚和木犀草素活性较高, 药物有效成分和疾病靶点交集 118 个共同靶点, 本研究将重点讨论 PPI 中获得的 IL6、AKT、MAPK 等核心靶点。分子对接结果显示, 活血健骨方的 3 个核心成分槲皮素、黄芩素、山柰酚与 IL-6、MAPK3 和 Akt1 显示良好的亲和力, 氢键稳定, 进一步验证该研究的结果。

3.2 活血健骨方治疗 OP 的主要活性成分与作用靶点

Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 活化的 Akt 通过磷酸化作用激活或抑制其下游一系列底物, 从而调节成骨细胞的增殖、分化、凋亡以及迁移等^[7]。Zhong 等^[8]研究发现, 槲皮素能促进 Akt 磷酸化进而促

表2 PPI网络中的核心靶点

编号	基因	uniprot ID	靶点	自由度值
1	ALB	P02768	Albumin	68
2	IL6	P05231	Interleukin-6	66
3	EGFR	P00533	Epidermal growth factor receptor	58
4	SRC	P12931	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	58
5	AKT1	P31749	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	56
6	MAPK3	P27361	Mitogen-activated protein kinase 3	54
7	ESR1	P03372	Estrogen receptor	52
8	PTGS2	P35354	Prostaglandin G/H synthase 2	51
9	TNF	P01375	Tumor necrosis factor	50
10	MAPK1	P28482	Mitogen-activated protein kinase 1	50
11	JUN	P05412	Transcription factor AP-1	47
12	IL1B	P01584	Interleukin-1 beta	44
13	STAT3	P40763	Signal transducer and activator of transcription 3	43
14	MMP9	P14780	Matrix metalloproteinase-9	43
15	CTNNB1	P35222	Catenin beta-1	41
16	MMP2	P08253	72 kDa type IV collagenase	39
17	SERPINE1	P05121	Plasminogen activator inhibitor 1	38
18	TLR4	O00206	Toll-like receptor 4	37
19	NOS3	P29474	Nitric oxide synthase,endothelial	37
20	AR	P10275	Androgen receptor	36
21	PPARG	P37231	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	34
22	CYP19A1	P11511	Aromatase	34
23	NR3C1	P04150	Glucocorticoid receptor	33
24	ICAM1	P05362	Intercellular adhesion molecule 1	32
25	ABCB1	P08183	ATP-dependent translocase ABCB1	30
26	IL2	P60568	Interleukin-2	30
27	CYP3A4	P08684	Cytochrome P450 3A4	30
28	ACE	P12821	Angiotensin-converting enzyme	30
29	SIRT1	Q96EB6	NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-1	30
30	PGR	P06401	Progesterone receptor	29
31	IGF1R	P08069	Insulin-like growth factor 1 receptor	29
32	ABCG2	Q9UNQ0	Broad substrate specificity ATP-binding cassette transporter ABCG2	26
33	KIT	P10721	Mast/stem cell growth factor receptor Kit	26
34	ESR2	Q92731	Estrogen receptor beta	26
35	MMP1	P03956	Interstitial collagenase	26
36	MMP3	P08254	Stromelysin-1	26
37	SELE	P16581	E-selectin	25
38	BMP4	P12644	Bone morphogenetic protein 4	25
39	CYP1A1	P04798	Cytochrome P450 1A1	24
40	COMT	P21964	Catechol O-methyltransferase	23
41	IGFBP3	P17936	Insulin-like growth factor-binding protein 3	22
42	NOX4	Q9NPH5	NADPH oxidase 4	21
43	TRPV1	Q8NER1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1	21
44	ITGB3	P05106	Integrin beta-3	21
45	CYP17A1	P05093	Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase	20

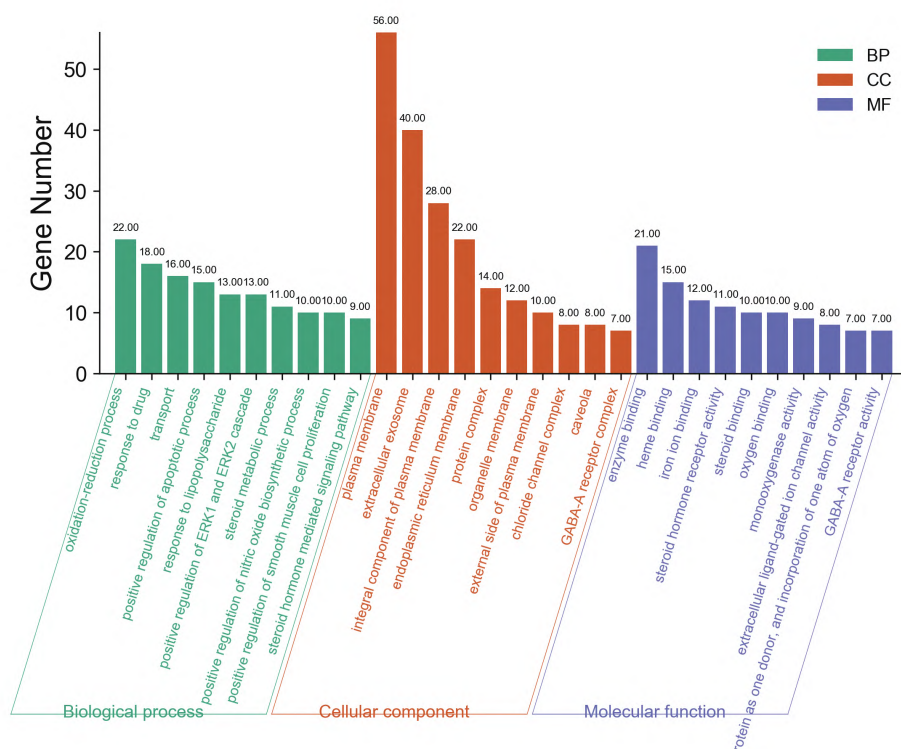


图4 GO功能富集分析结果

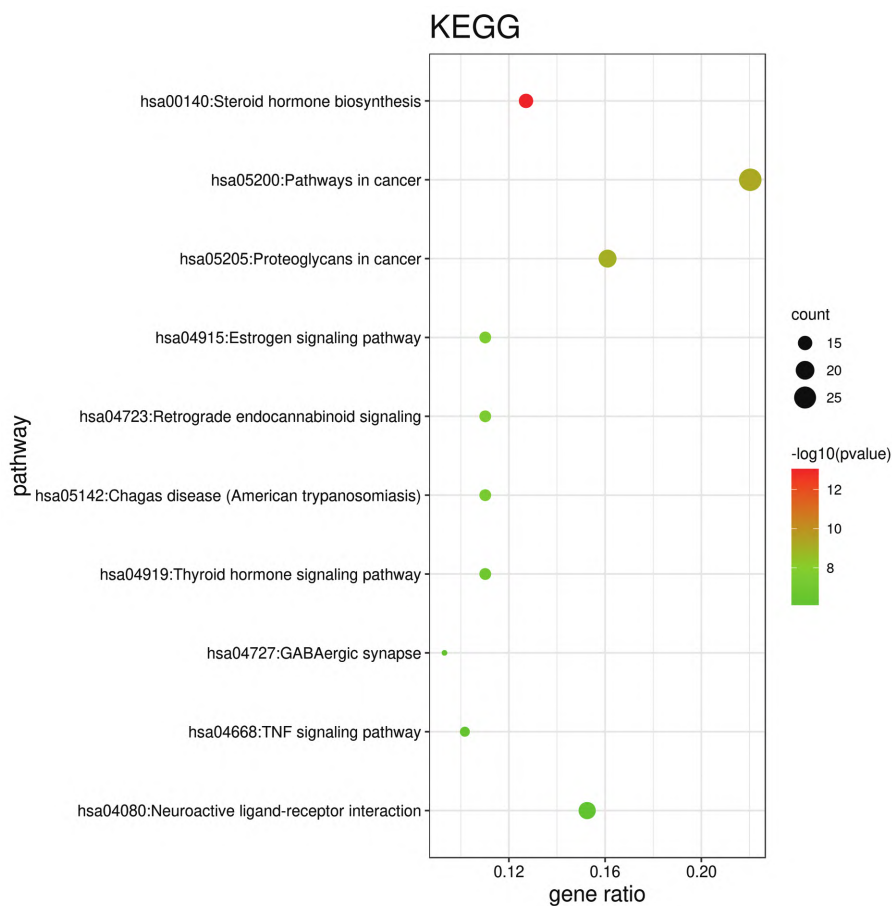
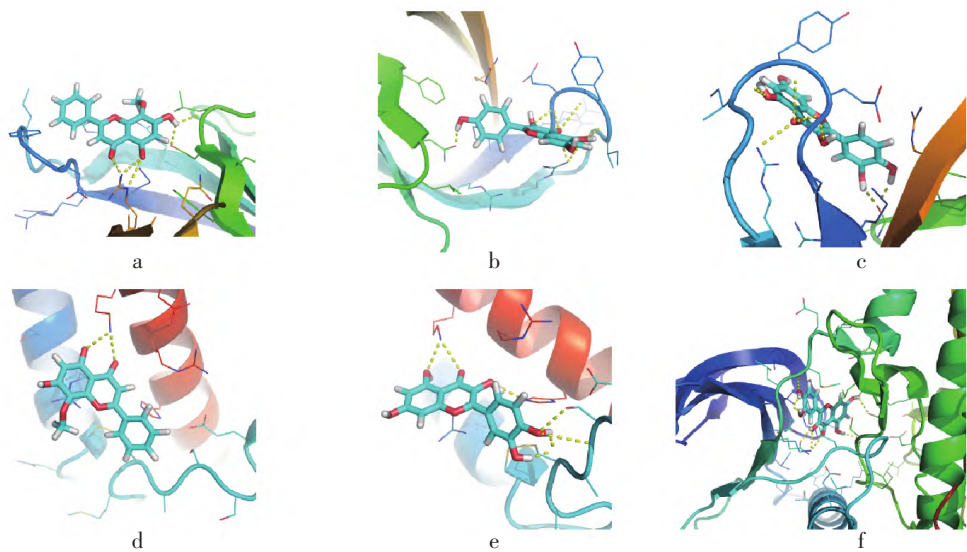


图5 KEGG分析的10条通路气泡图



a. 黄芩素(Baicalein)与 AKT1 对接结果; b. 山柰酚(kaempferol)与 AKT1 对接结果; c. 槲皮素(Quercetin)与 AKT1 对接结果; d. 黄芩素(Baicalein)与 IL-6 对接结果; e. 槲皮素(Quercetin)与 IL-6 对接结果; f. 槲皮素(Quercetin)与 MAPK3 对接结果

图6 各靶点与药物成分相互作用的分子对接示意图

表3 关键靶点及其对应化合物分子对接结果

成分	关键靶点	Ledock score
黄芩素(Baicalein)	AKT1	-19.69 KJ/mol
山柰酚(Kaempferol)	AKT1	-21.57 KJ/mol
槲皮素(Quercetin)	AKT1	-23.62 KJ/mol
黄芩素(Baicalein)	IL-6	-15.05 KJ/mol
槲皮素(Quercetin)	IL-6	-20.27 KJ/mol
槲皮素(Quercetin)	MAPK3	-30.22 KJ/mol

时激活成骨细胞自噬来实现抗骨质疏松的作用^[30]。Wnt/catenin 通路是癌症信号通路的下游通路^[31]。Wnt/ β -catenin 信号通路在骨骼形成、骨代谢中起到重要调节作用^[32]。有动物实验表明,槲皮素可以通过增强 Wnt3 和 β -catenin 水平,降低 LPS 诱导的 MC3T3-E1 细胞的成骨性损伤^[33]。山柰酚通过体内外实验验证,可通过 Wnt/ β -catenin 信号通路增强成骨活性,并提高 Runx2、ALP 等的表达^[34]。这些为活血健骨方以 PI3K/Akt 和 Wnt/ β -catenin 信号通路治疗骨质疏松奠定理论基础。

3.4 小结

红厚壳内酯,汉黄芩素等药物成分虽有治疗骨质疏松的药物价值,但相关文献验证尚少,需要进一步实验验证。通过网络药理学技术研究活血健骨方治疗骨质疏松的潜在分子机制,发现研究主要集中于 Akt、IL6 和雌激素信号通路来影响骨质疏松的进展。综上所述,应用网络药理学发现骨质疏松病因复杂,分子机制上治疗的方向不同,数据库检索得出的结果

不一定全面,参数值的确定也应通过实验验证来提高可信度,但研究结果揭示了活血健骨方对多成分、多途径、多靶点的作用特点,在临床疗效确定的前提下,初步提供了活血健骨方治疗骨质疏松的潜在分子机制,为后续实验验证潜在分子机制奠定基础。

参考文献:

[1] 李小云,杨丽,张荣华. 雌激素受体信号通路介导的槲皮素调控骨髓间充质干细胞成骨及成脂分化研究[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(12):6011-6014.

[2] 关键雷,王秋园,刘沛,等. 基于网络药理学及分子对接探究复方“仙灵骨葆”治疗骨质疏松分子机制[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(2):57-65.

[3] 刘翼波,李博. 胶原肽预防骨质疏松症及其作用机制研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(9):373-381.

[4] 张志宏,邢娜,彭东辉,等. 中药抗骨质疏松作用及机制的研究进展[J]. 中国药房, 2021, 32(3):374-379.

[5] 崔龙慷,刘全,李振,等. 强骨饮对骨质疏松症老年女性患者血清炎症细胞因子、骨保护素、核因子 κ B受体活化因子配体及骨密度的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(3):30-35.

[6] 樊梅,唐芳,马武开,等. 基于网络药理学探讨桃红四物汤治疗骨质疏松症的主要活性成分及药理作用机制[J]. 风湿病与关节炎, 2020, 9(12):4-8.

[7] 赵玺,李向宇,丁锐,等. 雌激素联合机械张力调控人牙周膜成纤维细胞成骨分化及机制研究[J]. 口腔医学, 2021, 41(1):6-11.

[8] ZHONG Z, LI Y, CHEN Y, et al. Predicting and exploring the mechanisms of Erzhi pill in prevention and treatment of osteoporosis based on network pharmacology and Zebrafish experiments[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15:817-827.

- [9] 余诗强, 蒋林树, 熊本海. 黄芩素结构与生物学功能关系研究进展[J]. 动物营养学报, 2021, 33(6):3106-3114.
- [10] LAI C, WU Y, YEH S, et al. Effects of 6-Hydroxyflavone on osteoblast differentiation in MC3T3-E1 cells[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014:924560.
- [11] CHOI E M. Kaempferol protects MC3T3-E1 cells through antioxidant effect and regulation of mitochondrial function [J]. Food Chem Toxicol, 2011, 49(8):1800-1805.
- [12] 李世强. 活血化瘀汤治疗膝骨性关节炎对患者运动功能及 IL-6、TNF- α 的影响[J]. 光明中医, 2020, 35(22):3502-3504.
- [13] SAUL D, WEBER M, ZIMMERMANN M H, et al. Effect of the lipoxygenase inhibitor baicalein on bone tissue and bone healing in ovariectomized rats[J]. Nutr Metab(Lond), 2019, 16:4.
- [14] 赵继荣, 杨涛, 赵宁, 等. 杜仲诱导骨髓间充质干细胞成骨分化防治骨质疏松症相关信号通路研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(12):1868-1872.
- [15] 王桂云, 吴结枝, 雷晓明, 等. 壮骨止痛胶囊对去卵巢大鼠 MAPK 信号通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(2):205-210.
- [16] WONG S K, CHIN K, IMA-NIRWANA S. Quercetin as an agent for protecting the bone: A review of the current evidence[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17):6448.
- [17] GUO C, HOU G, LI X, et al. Quercetin triggers apoptosis of lipopolysaccharide(LPS)-induced osteoclasts and inhibits bone resorption in RAW264.7 cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2012, 30(1):123-136.
- [18] GUO C, YANG R, JANG K, et al. Protective effects of pretreatment with quercetin against lipopolysaccharide-induced apoptosis and the inhibition of osteoblast differentiation via the MAPK and Wnt/ β -Catenin pathways in MC3T3-E1 cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(4):1547-1561.
- [19] LI Y, WANG J, CHEN G, et al. Quercetin promotes the osteogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells via mitogen-activated protein kinase signaling[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(6):2072-2080.
- [20] MATSUGUCHI T, CHIBA N, BANDOW K, et al. JNK activity is essential for Atf4 expression and late-stage osteoblast differentiation[J]. J Bone Miner Res, 2009, 24(3):398-410.
- [21] WANG X, ZHAO N, GUO C, et al. Quercetin reversed lipopolysaccharide-induced inhibition of osteoblast differentiation through the mitogen-activated protein kinase pathway in MC3T3-E1 cells[J]. Mol Med Rep, 2014, 10(6):3320-3326.
- [22] ZHOU Y, WU Y, JIANG X, et al. The effect of quercetin on the osteogenic differentiation and angiogenic factor expression of bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. PloS One, 2015, 10(6):e129605.
- [23] ZHOU Y, WU Y, MA W, et al. The effect of quercetin delivery system on osteogenesis and angiogenesis under osteoporotic conditions[J]. J Mater Chem B, 2017, 5(3):612-625.
- [24] WEITZMANN M N, PACIFICI R. Estrogen deficiency and bone loss: An inflammatory tale[J]. J Clin Invest, 2006, 116(5):1186-1194.
- [25] GUPTA A A, POWNALL H J, HAMILTON D J. Estrogen: An emerging regulator of insulin action and mitochondrial function[J]. J Diabetes Res, 2015, 2015:916585.
- [26] XIAO Y, LI B, LIU J. MicroRNA-148a inhibition protects against ovariectomy-induced osteoporosis through PI3K/AKT signaling by estrogen receptor α [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(6):7789-7796.
- [27] 陈亚辉, 龚忠勤, 崔燎. PI3K/Akt 信号通路在骨质疏松病理过程中的作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(3):356-360.
- [28] XING L, NI H, WANG Y. Quercitrin attenuates osteoporosis in ovariectomized rats by regulating mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89:1136-1141.
- [29] 林春淑, 舒晓春, 肖菲娜, 等. 柚皮苷对高糖作用下 MC3T3-E1 细胞活力和 Akt 通路相关因子表达的影响[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2020, 10(6):321-327.
- [30] WONG S K, CHIN K, IMA-NIRWANA S. The osteoprotective effects of kaempferol: The evidence from in vivo and in vitro studies[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13:3497-3514.
- [31] BUGTER J M, FENDERICO N, MAURICE M M. Mutations and mechanisms of WNT pathway tumour suppressors in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(1):5-21.
- [32] 崔燎. 骨质疏松症的药物治疗: 难点与展望[J]. 广东医科大学学报, 2020, 38(2):127-133.
- [33] GUO C, YANG R, JANG K, et al. Protective effects of pretreatment with quercetin against lipopolysaccharide-induced apoptosis and the inhibition of osteoblast differentiation via the MAPK and Wnt/ β -Catenin pathways in MC3T3-E1 cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(4):1547-1561.
- [34] SHARMA A R, NAM J. Kaempferol stimulates WNT/ β -catenin signaling pathway to induce differentiation of osteoblasts[J]. J Nutr Biochem, 2019, 74:108228.