

DOI: 10.3969/j.issn.2096-6113.2024.03.011

引用格式:赵俊,罗斯佳,曾宇,等.基于网络药理学探讨益肾强骨合剂治疗肾阳虚型骨质疏松症的作用机制[J].巴楚医学,2024,7(3):58-65.

基于网络药理学探讨益肾强骨合剂治疗 肾阳虚型骨质疏松症的作用机制

赵俊¹ 罗斯佳¹ 曾宇¹ 黄觅^{1,2}

(1. 湖北中医药大学 针灸骨伤学院, 湖北 武汉 430065; 2. 武汉市中西医结合医院 脊柱外科, 湖北 武汉 430030)

摘要: **目的:** 基于网络药理学探讨益肾强骨合剂治疗肾阳虚型骨质疏松症(OP)的作用机制。**方法:** 利用 DrugBank 等数据库,检索 OP 相关靶点,通过中药系统药理学与分析平台(TCMSP)等数据库,挖掘益肾强骨合剂药物活性成分及作用靶点。获取药物-疾病交集靶点后,构建蛋白质互作(PPI)网络,对交集靶点进行京都基因和基因组百科全书(KEGG)、基因本体(GO)富集分析,并将富集结果进行可视化处理。根据 PPI 网络的 Degree 值,筛选出关键成分和靶点,进行分子对接和分子动力学模拟。**结果:** 益肾强骨合剂的活性化合物包括槲皮素、豆固醇、叶黄素、山奈酚等,药物与 OP 交集靶点 149 个。通过 PPI 分析,得到益肾强骨合剂治疗 OP 的核心靶点,包括苏氨酸激酶 1(AKT1)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子(TNF)、肿瘤蛋白 53(TP53)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、基质金属蛋白酶 9(MMP9)及雌激素受体 1(ESR1)等。KEGG 信号通路富集主要包括缺氧诱导因子 1(HIF-1)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路等。GO 富集分析中的生物过程主要包括 RNA 聚合酶 II 的正向调节、细胞增殖的正向调节等。通过分子对接及分子动力学模拟发现,MMP9-槲皮素复合物最稳定,其次是 ESR1-豆固醇、AKT1-叶黄素及 AKT1-山奈酚。**结论:** 益肾强骨合剂中有效成分槲皮素、豆固醇、叶黄素、山奈酚等作用于 AKT1、IL-1 β 、TNF、TP53 等关键靶点,发挥治疗肾阳虚型 OP 的作用。

关键词: 益肾强骨合剂; 骨质疏松症; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R274

文献标志码: A

文章编号: 2096-6113(2024)03-0058-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Exploring the Mechanism of Yishen Qianggu Mixture in the Treatment of Osteoporosis of Kidney-Yang Deficiency Based on Network Pharmacology

Zhao Jun¹ Luo Sijia¹ Zeng Yu¹ Huang Mi^{1,2}

(1. School of Acupuncture and Bone Injury, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Department of Spine Surgery, Traditional Chinese and Western Medicine Hospital of Wuhan, Wuhan 430030, China)

Abstract Objective: To investigate the therapeutic mechanism of Yishen Qianggu Mixture for kidney-yang deficiency type osteoporosis (OP) based on network pharmacology. **Methods:** The OP-related targets were retrieved from DrugBank and other databases. The active ingredients and targets of Yishen Qianggu Mixture

基金项目:湖北省自然科学基金项目(No: 2023AFD141)

作者简介:赵俊,男,硕士,主要从事中医药防治骨质疏松症的研究。E-mail: 1550986271@qq.com

通信作者:黄觅,男,土家族,博士,副主任医师,主要从事中医药防治骨质疏松症的研究。E-mail: 303001@hbtcm.edu.cn

were excavated through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and other databases. After obtaining the intersection targets between drugs and diseases, the protein-protein interaction (PPI) network was constructed, and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) and Gene Ontology (GO) enrichment analyses were performed on the intersection targets. The enrichment results were visualized. Based on the Degree value of the PPI network, key ingredients and targets were screened for molecular docking and molecular dynamics simulations. **Results:** The active compounds of Yishen Qianggu Mixture include quercetin, stigmasterol, lutein, kaempferol, etc., and there are 149 intersection targets between drugs and OP. Through PPI analysis, the core targets of Yishen Qianggu Mixture for OP treatment were obtained, including threonine kinase 1 (AKT1), interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor (TNF), tumor protein P53 (TP53), glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), matrix metalloproteinase 9 (MMP9), and estrogen receptor 1 (ESR1). The enrichment of KEGG signaling pathways mainly includes hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways. The biological processes in GO enrichment analysis mainly include positive regulation of RNA polymerase II and positive regulation of cell proliferation. Through molecular docking and molecular dynamics simulations, the MMP9-quercetin complex is the most stable, followed by ESR1-stigmasterol, AKT1-lutein, and AKT1-kaempferol complexes. **Conclusion:** The active ingredients of Yishen Qianggu Mixture, such as quercetin, stigmasterol, lutein, and kaempferol, act on key targets such as AKT1, IL-1 β , TNF, and TP53 to play a therapeutic role in kidney-yang deficiency type OP.

Keywords Yishen Qianggu Mixture; osteoporosis (OP); network pharmacology; molecular docking

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种全身性的骨代谢疾病,其主要特点是骨重建失衡^[1]。骨密度评分 $T \leq -2.5$ 可诊断为 OP^[2],全球范围内大约有两亿人受到此病的困扰,严重威胁人类健康^[3]。OP 每年导致全球超过 900 万例新发骨折,其中脊柱、腕部、髌部及骨盆骨折尤为常见^[4]。在我国,40 岁以上男性的 OP 患病率为 5.0%,而女性则高达 20.6%^[5]。肾阳虚型 OP 的主症为腰膝冷痛、食少便溏、畏寒肢冷、行走无力;次症为腹胀、腰膝酸软等;舌淡胖大、苔白腻;脉沉迟。具有主症和 2 条次症及舌脉支持者,即可辨证为肾阳虚型 OP。与其他类型的 OP 不同,肾阳虚型 OP 患者更多表现为虚寒症状,例如畏寒和四肢冷。中医治疗此病的基本方法是温补肾阳、活血化瘀和行气止痛。

益肾强骨合剂主要由益肾强骨方加减而来,以仙茅、丹参为君药,淫羊藿、巴戟天为臣药,熟地黄、党参为佐药,杜仲为使药,具有补肾壮阳、滋阴养血、强筋健骨、健脾益气以及活血通络等多重功效,能有效促进骨代谢、提高骨密度,从而显著缓解 OP 患者的临床症状^[6]。然而,目前关于益肾强骨合剂治疗 OP 的关键活性成分及其作用靶点的研究尚不足。鉴于此,本研究基于网络药理学和生物信息学方法,分析益肾强骨合剂治疗肾阳虚型 OP 的作用机制。

1 资料与方法

1.1 药物活性成分及靶点获取

利用中药分子机制综合数据库(<http://www.megabionet.org/tcmid/>, TCMID)、中药系统药理学数据库与分析平台(<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>, TCMSP)、本草组鉴(<http://herb.ac.cn/>, HERB)、中药分子机制生物信息学分析工具(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/home>, BATMAN-TCM)的检索,获取了益肾强骨合剂组成药物党参、丹参、淫羊藿、仙茅、补骨脂、熟地黄、巴戟天、杜仲等药物的活性化学成分及其靶点。设置口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$,类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 ,以筛选益肾强骨合剂中的活性成分。

1.2 疾病靶点筛选

利用在线人类孟德尔遗传数据库(<https://www.omim.org/>, OMIM)、GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、TTD 数据库(<https://db.idrblab.net/ttd/>)、DrugBank 数据库(<https://go.drugbank.com/>)和 DisGeNET 数据库(<https://www.disgenet.org/>)查询 OP 相关靶点,去除重复项后,将其上传至 Uniprot 数据库。最后,对所获靶点进行标准化处理。

1.3 构建药物-疾病交集靶点与蛋白质-蛋白质相互作用网络

将“益肾强骨合剂”的有效成分相关靶点及“OP”疾病靶点导入 Venny 2. 1. 0 作图工具, 获得药物-疾病交集靶点韦恩图。为了分析益肾强骨合剂在治疗肾阳虚型 OP 中的作用, 需将药物与疾病共有的靶点输入 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)。设置置信度得分阈值为 0. 700 以上进行筛选, 同时忽略非连接节点。随后, 可导出显示药物作用的蛋白质间相互作用图。进一步的数据可视化分析需下载 TSV 格式数据文件, 将靶点及对应药物成分导入 Cytoscape 3. 10. 1 软件, 构建药物成分-靶点蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络。利用差分码偏差 (differential code bias, DCB) 算法插件识别 PPI 网络中的关键靶点。

1.4 GO 分析及 KEGG 通路富集分析

为了深入探究药物与疾病共有靶点的生物学意义, 我们将这些关键靶点输入 DAVID 数据库 (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 进行分析。通过京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路和基因本体论 (gene ontology, GO) 富集分析, 筛选出 $P < 0. 05$ 的显著性结果。对于 GO 的生物过程和 KEGG 信号通路, 我们将筛选出富集显著性排名前 10 的通路, 并以可视化的方式展示。

1.5 分子对接和分子动力学模拟

绘制成分-靶点图, 得到 Degree 值位列前 10 的有效成分, 参照网络药理学的最终预测和查阅文献综述的结果, 从 31 个核心靶点中选择出在成骨细胞中表达的靶点。从 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 获取靶点蛋白的晶体结构, 并与相应的有效成分进行分子对接。基于对接结果, 进行 100 ns 分子动力学模拟分析, 绘制靶蛋白与相应有效成分结合过程中的自由能形貌图和靶蛋白在某一时间点的最低能量构象图, 评价分子的运动轨迹、结构特点、结合电位和构象改变。

2 结果

2.1 益肾强骨合剂活性成分筛选

利用益肾强骨合剂组成药物巴戟天、补骨脂、丹参、党参、杜仲、熟地黄、仙茅及淫羊藿, 分别在 TCM-SP、BATMANTCM、TCMID 和 HERB 数据库中检索, 共获得活性化合物 127 个, 其中, Degree 值排名前 10 位的见表 1。

表 1 益肾强骨合剂药物活性成分

成分编码	化合物名称	口服生物利用度	类药性	Degree
MOL000098	槲皮素	46. 43	0. 28	32
MOL000449	豆固醇	43. 83	0. 76	31
MOL000006	叶黄素	36. 16	0. 25	28
MOL007154	丹参酮 II A	49. 89	0. 4	22
MOL000422	山奈酚	41. 88	0. 24	19
MOL000358	β -谷甾醇	36. 91	0. 75	16
MOL007041	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮	40. 86	0. 23	15
MOL007049	4-亚甲基米替酮	34. 35	0. 23	15
MOL007100	二氢丹参内酯	38. 68	0. 32	15
MOL007093	丹参酮	38. 88	0. 55	14

2.2 益肾强骨合剂有效化合物靶点与骨质疏松靶点的 Venn 图分析

检索 OMIM、Gene-Cards、TTD、DrugBank 和 DisGeNET 数据库, 益肾强骨合剂活性成分作用靶点 358 个, OP 靶点 3 313 个, 将益肾强骨合剂药物活性成分、OP 疾病交集靶点导入 Venny 2. 1. 0 在线作图工具, 共获得 149 个交集靶点, 韦恩图见图 1。

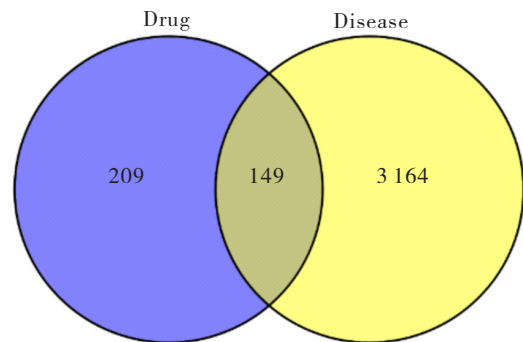


图 1 “益肾强骨合剂-骨质疏松症”交集靶点 Venn 图

2.3 蛋白质相互作用网络分析

将药物和疾病共同作用的 149 个交集靶点导入 String 12. 0 软件后 (置信度 Score = 0. 70) 得到蛋白互作结果, 下载 TSV 数据文件, 将其和药物活性导入 Cytoscape 3. 10. 1 软件构建药物成分-靶点相互作用网络图。为了得到益肾强骨合剂治疗肾阳虚型 OP 的核心靶点, 使用 Cytoscape 3. 10. 1 插件中的 DCB 算法设定筛选条件: Closeness > 0. 003、Betweenness > 210. 776、Degree > 13. 403。据此, 我们确定了 31 个关键靶点, 并利用这些靶点构建该 PPI 网络, 包括 134 个节点、898 条边, 见图 2。Degree 值排名前 10 位的靶点蛋白分别为: 苏氨酸激酶 1 (threonine kinase 1, AKT1)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β ,

IL-1 β)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、肿瘤蛋白 53 (tumor protein P53, TP53)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9) 及雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、原癌基因转录因子 JUN (proto-oncogen proteins c-jun, JUN)、连环蛋白 1、白蛋白等,可能成为益肾强骨合剂治疗肾阳虚型 OP 的核心靶点。

2.4 KEGG 和 GO 通路富集分析

利用 DAVID 数据库对 31 个核心靶点进行 KEGG 富集分析,根据 P 值的大小,对前 10 条信号通路进行排序,并绘制桑基-气泡图进行可视化展示,见图 3。

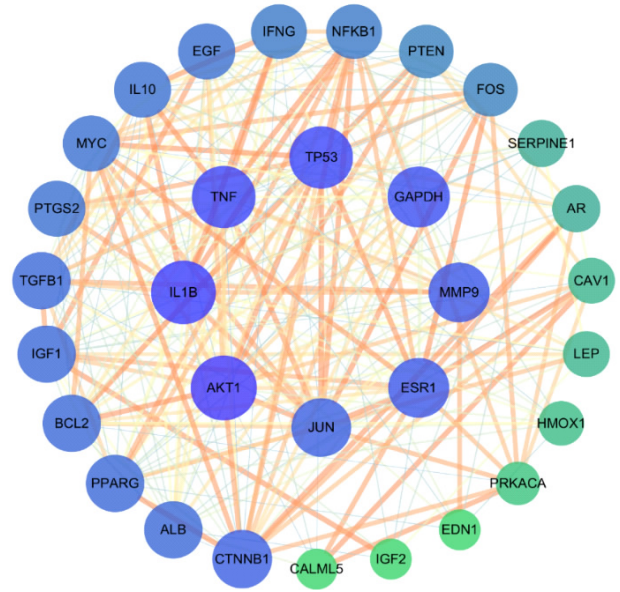


图 2 益肾强骨合剂治疗骨质疏松的核心靶点 PPI 网络

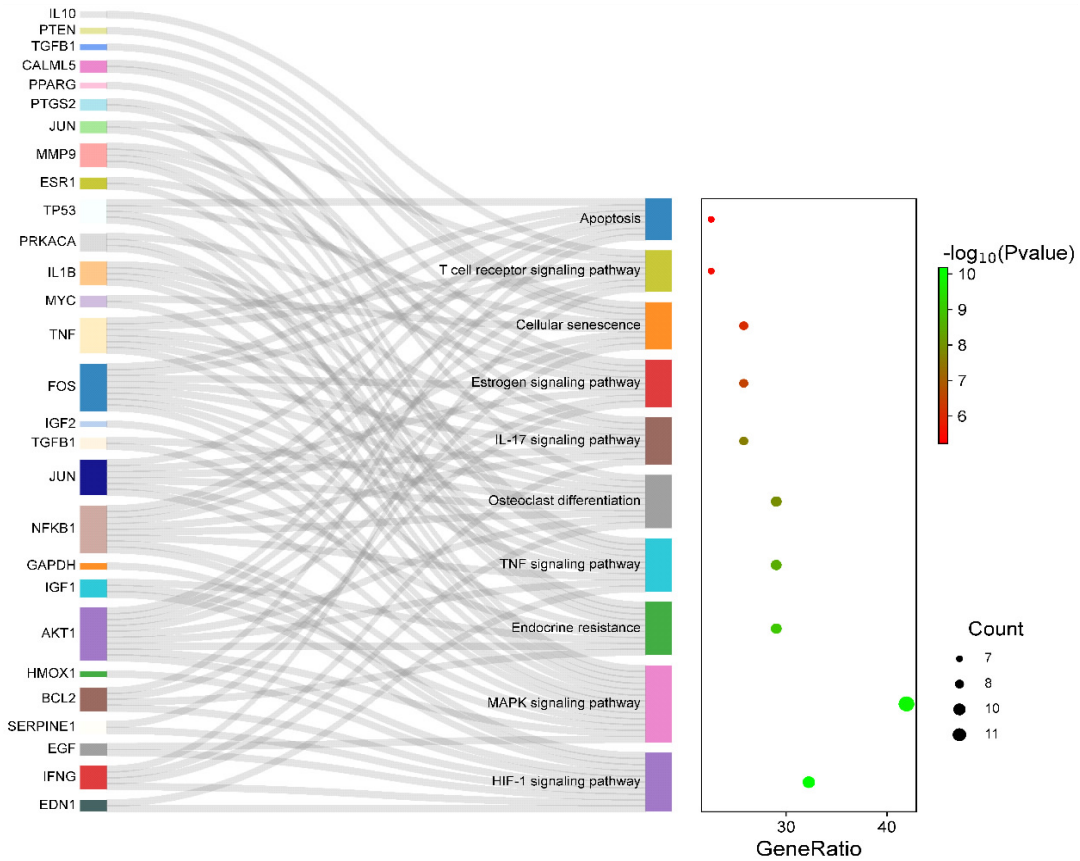
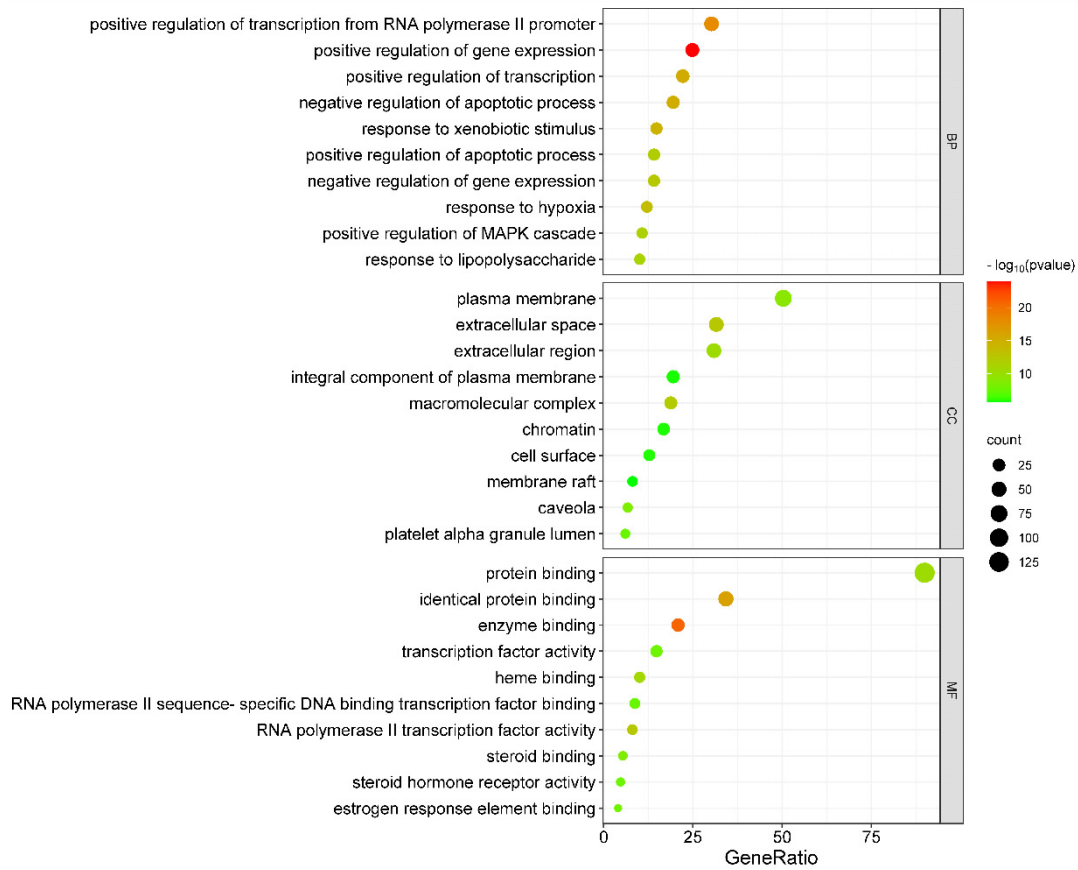


图 3 益肾强骨合剂治疗骨质疏松靶点 KEGG 通路富集分析气泡图

KEGG 富集分析结果显示,缺氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、内分泌抑制、TNF、破骨细胞分化、白介素 17 (interleukin 17, IL-17)、雌激素、细胞衰老等信号通路在益肾强骨合剂治疗 OP 中起到关键作用。GO 富集分析包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cel-

lular component, CC) 及分子功能 (molecular function, MF)。BP 主要集中于 RNA 聚合酶 II 的正向调节、基因表达/转录的正向调节、细胞凋亡过程的负调控等;CC 主要富集在细胞膜、胞外区、细胞质等;MF 主要富集在蛋白质结合、酶结合、转录因子活性、血红素结合等方面,见图 4。



注:BP:生物过程; CC:细胞组分; MF:分子功能

图 4 益肾强骨合剂治疗骨质疏松靶点的 BP、CC、MF 富集分析气泡图

2.5 益肾强骨合剂治疗骨质疏松的分子对接和分子动力学模拟

根据网络药理学的最终预测和查阅文献综述的结果,从 31 个核心靶点中选择出 3 个在成骨细胞中表达的靶点,分别是 AKT1、ESR1、MMP9^[7-9]。小分子配体和蛋白之间的结合强度由分子对接分数的绝对值决定,较高的分数表示更强的结合强度和更稳定的结构。MMP9 和槲皮素表现出最强的结合强度和

最稳定的分子结构,结合能为 $-6.70 \text{ kcal/mol}^{-1}$;其次是 AKT1 和山奈酚,结合能为 $-6.56 \text{ kcal/mol}^{-1}$; AKT1 和叶黄素位列第三,结合能为 $-6.23 \text{ kcal/mol}^{-1}$; ESR1 和豆固醇的结合强度最弱,其结合能为 $-5.83 \text{ kcal/mol}^{-1}$ 。均方根差 (root-mean-square deviation, RMSD) 是评估蛋白质和配体结构稳定性的关键指标,差值越小,表示结构稳定性越好,见表 2 和图 5。

表 2 MMP9-槲皮素、AKT1-山奈酚、AKT1-叶黄素、ESR1-豆固醇复合物的相互作用能力

能量	成分-蛋白	平均值	误差估计	均方根差	总漂移(kJ/mol)
短程势能	槲皮素-MMP9	20 917	11	478	66
	山奈酚-AKT1	46 249	12	711	-10
	叶黄素-AKT1	46 224	6	710	35
	豆固醇-ESR1	51 015	14	717	-52
短程库伦势能	槲皮素-MMP9	-318 486	28	782	-176
	山奈酚-AKT1	-697 514	41	1164	-90
	叶黄素-AKT1	-697 416	32	1167	-122
	豆固醇-ESR1	-679 952	27	1176	-36
总势能	槲皮素-MMP9	-250 386	12	568	-45
	山奈酚-AKT1	-558 215	44	850	-265
	叶黄素-AKT1	-558 344	62	853	-395
	豆固醇-ESR1	-559 367	11	839	-74

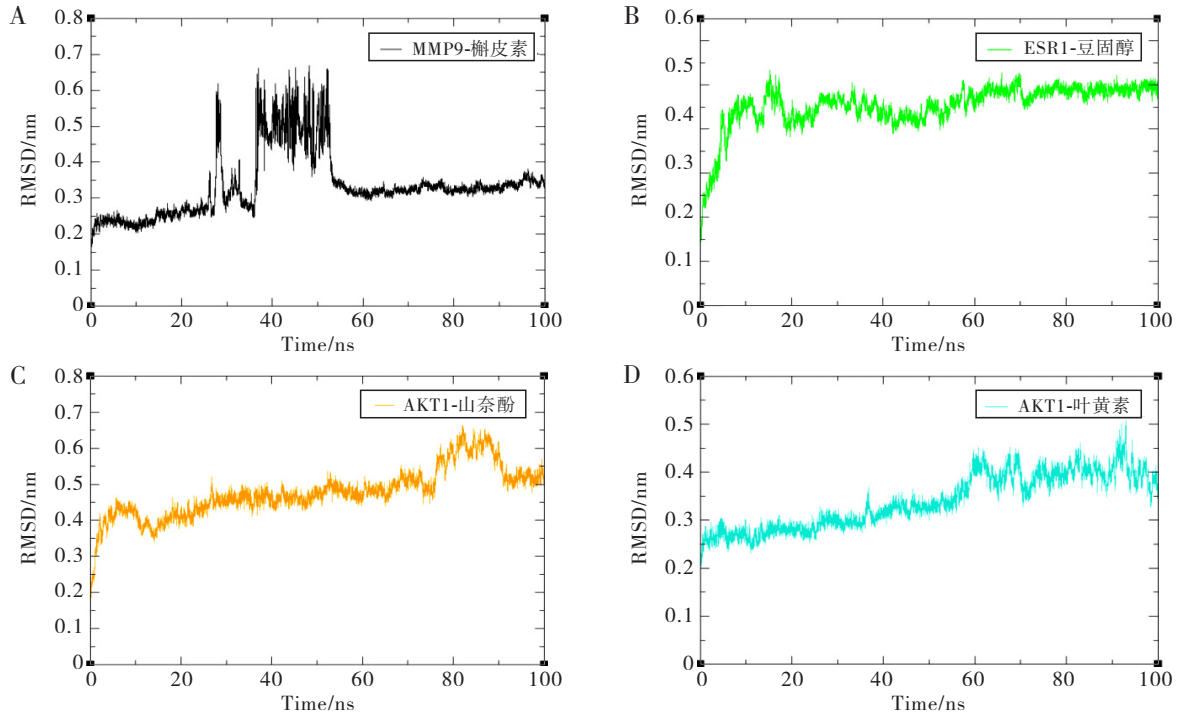


图 5 分子动力学模拟过程中 MMP9-槲皮素(A)、ESR1-豆固醇(B)、AKT1-山奈酚(C)、AKT1-叶黄素(D)的均方根差

上述结果表明, MMP9、ESR1、AKT1 分别与小分子配体槲皮素、豆固醇、山奈酚、叶黄素结合形成复合物后, 蛋白质的构象保持相对稳定。由表 2 可知, 小分子配体与蛋白之间的相互作用能力, ESR1-豆固醇最强, 其次是 AKT1-叶黄素和 AKT1-山奈酚, MMP9-槲皮素最弱。

3 讨论

益肾强骨合剂可以通过槲皮素、叶黄素、山奈酚、豆固醇等天然活性成分稳定地作用于 MMP9、AKT1、ESR1 等关键靶点。实现对多条信号通路的调控, 如 HIF-1、MAPK、内分泌抑制、TNF、破骨细胞分化、IL-17、雌激素和细胞衰老等, 从而发挥抗氧化、抑制炎症反应的作用, 并调节成骨细胞的增殖和分化。据此, 益肾强骨合剂能有效治疗肾阳虚型 OP。槲皮素主要通过抗氧化、抗炎、促进成骨、抑制破骨和雌激素样作用治疗 OP^[10-11]。研究表明^[12-13], 槲皮素能够促进小鼠间充质干细胞(mouse bone marrow mesenchymal stem cells, mBMSCs)向成骨分化, 还能抑制 mBMSCs 向脂肪分化、上调 mBMSCs 抗氧化酶的表达, 以及抑制核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)介导的破骨细胞分化及凋亡, 从而减轻骨吸收发挥治疗 OP 的作用。丹参中的丹参酮 II A 抗

OP 的机制如下: ①抑制成骨细胞中环氧化酶-2 的表达, 降低炎症因子的释放^[14]; ②抑制 RANKL 的表达, 促进破骨细胞分化成熟, 有效抑制已经发育成熟的破骨细胞对骨骼的吸收能力^[15]; ③促进成骨细胞活性, 通过激活 AKT1 信号通路促进成骨细胞分化, 上调成骨相关基因的表达, 同时抑制核因子 κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated b cells, NF- κ B) 及下游白介素 6 的表达, 从而减轻氧化应激对成骨细胞的损伤^[16-17]。

通过对药物和疾病共同作用靶点富集分析并结合相关文献发现, 益肾强骨合剂治疗 OP 的关键靶点基因为 AKT1、MMP9 等。AKT1 主要是通过 PI3K/AKT 信号通路调控成骨细胞和破骨细胞的分化和凋亡来维持骨质量和骨转换, 其对 OP 的调节具有双向性^[18]。山奈酚对 AKT1 的调节机制: ①激活 AKT1 信号通路, 抑制骨髓基质细胞的凋亡, 促进其向成骨细胞分化, 以增加骨量^[19]; ②抑制 AKT1 的下游靶标雷帕霉素靶蛋白的活性, 降低骨吸收相关基因的表达, 如 RANKL、活化 T 细胞核因子 1 和抗酒石酸酸性磷酸酶, 从而抑制破骨细胞的形成和功能^[20]; ③调节 AKT1/FOXO3a (AKT1/Forkhead box O3) 信号通路, 增加抗氧化酶表达, 如超氧化物歧化酶和过氧化氢酶, 减轻氧化应激对骨骼的损伤^[21]。叶黄素和 AKT1 结合后的调节机制, 可能与激活 PI3K-Akt 信号通路^[22-23] 及作用于发病靶点 TP53, 热休克蛋白

90 α 家族 A 类成员 1 及 JUN 等^[24] 相关。IL-1 β 是 OP 中关键的炎症因子,在 OP 过程中发挥重要作用。研究表明,IL-1 β 可能与 Wnt/ β -catenin 信号通路有关,能抑制成骨细胞功能;同时,IL-1 β 刺激成骨细胞释放炎症因子前列腺素 E2 和肿瘤坏死因子 α ,进一步抑制其活性^[25]。IL-1 β 可以通过上调 RANKL 受体表达增加破骨细胞的形成,直接延长破骨细胞的寿命,上调 MMP9 等基因表达从而增加骨吸收^[26]。

通过对益肾强骨合剂治疗 OP 的作用靶点进行 KEGG 富集分析发现,益肾强骨合剂通过 HIF-1、MAPK、IL-17、TNF 等信号通路发挥作用。IL-17 能增加骨吸收和抑制骨形成及分化^[27-28]。TNF 信号通路对 OP 的治疗具有双重作用,既可以通过 TNF 受体 1 激活 NF- κ B 和 JNK 等信号分子,促进成骨细胞凋亡和成骨抑制因子的表达,抑制骨形成;也可以通过激活 TNF 受体 2,主要激活 PI3K/AKT 和细胞外信号调节蛋白激酶等信号分子,促进成骨细胞增殖和分化,增加骨形成^[29-30]。

研究表明^[31-33],OP 患者和动物模型中 MMP9 都明显升高,这与骨转换标志物、炎症因子和血脂异常等相关,槲皮素通过与 MMP9 的活性位点稳定结合,抑制其水解活性,从而保护骨基质免受破坏,减少骨吸收,增加骨密度,改善骨微结构^[34]。ESR1 和豆固醇结合后,促进骨保护因子的表达,抑制骨吸收因子 RANKL 的作用,从而抑制破骨细胞的形成和活性,影响雌激素信号通路如 HIF-1、MAPK、PI3K-Akt 等,进一步调节骨代谢相关的基因,如 AKT1, MAPK,非受体酪氨酸激酶等^[35-36]。

综上所述,益肾强骨合剂通过槲皮素、叶黄素、山奈酚、豆固醇等天然活性成分,稳定地作用于 MMP9、AKT1、ESR1 等关键靶点。这些靶点不仅可以影响多条信号通路,如 HIF-1、MAPK、内分泌抑制、TNF、破骨细胞分化、IL-17、雌激素和细胞衰老等,发挥抗氧化、抑制炎症反应的作用,还能调节成骨细胞的增殖和分化。通过这些机制,益肾强骨合剂能够有效治疗肾阳虚型 OP。

参考文献:

[1] Li C J, Xiao Y, Sun Y C, et al. Senescent immune cells release grancalcin to promote skeletal aging[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(1): 184-185.

[2] Barnsley J, Buckland G, Chan P E, et al. Pathophysiology and treatment of osteoporosis: challenges for clinical practice in older people[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2021,

33(4): 759-773.

- [3] Salari N, Darvishi N, Bartina Y, et al. Global prevalence of osteoporosis among the world older adults: a comprehensive systematic review and meta-analysis[J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16(1): 669.
- [4] Johnell O, Kanis J A. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures[J]. *Osteoporos Int*, 2006, 17(12): 1726-1733.
- [5] Wang L H, Yu W, Yin X J, et al. Prevalence of osteoporosis and fracture in China: the China osteoporosis prevalence study[J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(8): e2121106.
- [6] 曹俊青,梁健,冯晶,等. 益肾强骨合剂治疗中老年肾阳虚型骨质疏松症临床研究[J]. *湖北中医药大学学报*, 2021, 23(4): 88-90.
- [7] Yang R L, Li J, Zhang J, et al. 17 β -estradiol plays the anti-osteoporosis role via a novel ESR1-Keap1-Nrf2 axis-mediated stress response activation and Tmem119 up-regulation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 195: 231-244.
- [8] Fan J B, Yuan K, Zhu X H, et al. Neuroigin-3 activates Akt-dependent Nrf2 cascade to protect osteoblasts from oxidative stress[J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 208: 807-819.
- [9] Giovannone D, Paul S, Schindler S, et al. Programmed conversion of hypertrophic chondrocytes into osteoblasts and marrow adipocytes within zebrafish bones[J]. *Elife*, 2019, 8: e42736.
- [10] Huang Y Y, Wang Z H, Deng L H, et al. Oral administration of quercetin or its derivatives inhibit bone loss in animal model of osteoporosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 6080597.
- [11] Martiniakova M, Babikova M, Mondockova V, et al. The role of macronutrients, micronutrients and flavonoid polyphenols in the prevention and treatment of osteoporosis[J]. *Nutrients*, 2022, 14(3): 523.
- [12] Zhu M P, Liu H, Sun K, et al. Vinpocetine inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis and attenuates ovariectomy-induced bone loss[J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2020, 123: 109769.
- [13] Xi Y J, Shen J Y, Li X H, et al. Regulatory effects of quercetin on bone homeostasis: research updates and future perspectives[J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(8): 2077-2094.
- [14] Kwak H B, Sun H M, Ha H, et al. Tanshinone IIA suppresses inflammatory bone loss by inhibiting the synthesis of prostaglandin E2 in osteoblasts[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 601(1-3): 30-37.

- [15] Kwak H B, Yang D, Ha H, et al. Tanshinone IIA inhibits osteoclast differentiation through down-regulation of c-Fos and NFATc1[J]. *Exp Mol Med*, 2006, 38(3): 256-264.
- [16] Wang Y J, Liu L, Qu Z C, et al. Tanshinone ameliorates glucocorticoid-induced bone loss via activation of AKT1 signaling pathway [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 878433.
- [17] Zhu S W, Wei W F, Liu Z W, et al. Retracted Tanshinone-IIA attenuates the deleterious effects of oxidative stress in osteoporosis through the NF- κ B signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2024, 29(2): 17.
- [18] Kawamura N, Kugimiya F, Oshima Y, et al. Akt1 in osteoblasts and osteoclasts controls bone remodeling[J]. *PLoS One*, 2007, 2(10): e1058.
- [19] Wang J Q, Fang X Y, Ge L, et al. Antitumor, antioxidant and anti-inflammatory activities of kaempferol and its corresponding glycosides and the enzymatic preparation of kaempferol [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (5): e0197563.
- [20] Silva Dos Santos J, Goncalves Cirino J P, de Oliveira Carvalho P, et al. The pharmacological action of kaempferol in central nervous system diseases: a review [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 565700.
- [21] Yang C L, Yang W K, He Z H, et al. Kaempferol alleviates oxidative stress and apoptosis through mitochondria-dependent pathway during lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 624402.
- [22] Xie Y Z, Peng C W, Su Z Q, et al. A practical strategy for exploring the pharmacological mechanism of luteolin against COVID-19/asthma comorbidity: findings of system pharmacology and bioinformatics analysis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 769011.
- [23] Liang G H, Zhao J L, Dou Y X, et al. Mechanism and experimental verification of Luteolin for the treatment of osteoporosis based on network pharmacology[J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 866641.
- [24] Huang R X, Xu M X, Guo W T, et al. Network pharmacology and experimental verification-based strategy for exploring the mechanisms of luteolin in the treatment of osteosarcoma[J]. *Cancer Cell Int*, 2023, 23 (1): 213.
- [25] Luttrell L M, Dar M S, Gesty-Palmer D, et al. Transcriptomic characterization of signaling pathways associated with osteoblastic differentiation of MC-3T3E1 cells [J]. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0204197.
- [26] Shiratori T, Kyumoto-Nakamura Y, Kukita A, et al. IL-1 β induces pathologically activated osteoclasts bearing extremely high levels of resorbing activity: a possible pathological subpopulation of osteoclasts, accompanied by suppressed expression of kindlin-3 and talin-1[J]. *J Immunol*, 2018, 200(1): 218-228.
- [27] Bechara R, McGeachy M J, Gaffen S L. The metabolism-modulating activity of IL-17 signaling in health and disease[J]. *J Exp Med*, 2021, 218(5): e20202191.
- [28] Wang R S, Maksymowych W P. Targeting the interleukin-23/interleukin-17 inflammatory pathway: successes and failures in the treatment of axial spondyloarthritis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 715510.
- [29] Zhao B H. TNF and bone remodeling[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15(3): 126-134.
- [30] Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and paradoxical effects of TNF- α on bone homeostasis[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 48.
- [31] Sabry M, Mostafa S, Rashed L, et al. Matrix metalloproteinase 9 a potential major player connecting atherosclerosis and osteoporosis in high fat diet fed rats[J]. *PLoS One*, 2021, 16(2): e0244650.
- [32] Sabry M, Mostafa S, Kamar S, et al. The cross-talk between matrix metalloproteinase-9, RANKL/OPG system and cardiovascular risk factors in ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis [J]. *PLoS One*, 2021, 16(10): e0258254.
- [33] Kim Y, Kim J, Lee H, et al. Tetracycline analogs inhibit osteoclast differentiation by suppressing MMP-9-mediated histone H3 cleavage[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 4038.
- [34] Zhu R, Du B Z, Yuan J Y, et al. Potential mechanisms of Biejiajian pill in the treatment of diabetic atherosclerosis based on network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 3296279.
- [35] Cheng C H, Chen L R, Chen K H. Osteoporosis due to hormone imbalance: an overview of the effects of estrogen deficiency and glucocorticoid overuse on bone turnover[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1376.
- [36] Liang B, Burley G, Lin S, et al. Osteoporosis pathogenesis and treatment: existing and emerging avenues [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1): 72.

[收稿日期 2023-12-26]