

• 论 著 •

基于网络药理学及分子对接探讨恒古骨伤愈合剂抑制 2 型糖尿病成骨细胞铁死亡的潜在机制^{*}

何 文¹, 李 宁¹, 许智杰², 杨茂伟^{2△}, 姚啸生³

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847; 2. 中国医科大学附属第一医院, 辽宁 沈阳 110002;

3. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110032)

[摘 要] **目的** 从网络药理学及分子对接角度探讨恒古骨伤愈合剂抑制成骨细胞铁死亡治疗 2 型糖尿病骨质疏松症的潜在作用机制。**方法** 通过 TCMS 数据库和 BATMAN-TCM 数据库检索获得中药成分及作用靶点, 通过 GeneCards 与 OMIM 数据库查询获得 2 型糖尿病骨质疏松症的疾病靶点。借助 STRING11.0 数据库构建蛋白质相互作用网络(PPI)图, 进行拓扑分析, 筛选网络中重要靶点。将潜在治疗靶点导入 DAVID 在线数据库, 进行基因本体(GO)富集分析、京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析, 最后进行分子对接模拟以验证网络药理学结果。**结果** 通过网络药理学筛选共获得 223 个潜在治疗靶点。恒古骨伤愈合剂治疗 2 型糖尿病骨质疏松的关键活性物质为木犀草素、20(R)-人参皂苷 Rh2、山柰酚、黄芩素、β-谷甾醇等, 关键靶点为白细胞介素-6(IL-6)、蛋白激酶 B1(Akt1)、肿瘤坏死因子(TNF)、丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)、缺氧诱导因子-1A(HIF-1A)等。GO 和 KEGG 富集分析结果表明, 恒古骨伤愈合剂治疗 2 型糖尿病骨质疏松主要包括脂多糖的反应、对缺氧的反应、炎症反应等生物学过程, 调控 HIF-1A、TNF、IL-17、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)等信号通路。分子对接结果表明 7-O-甲基异微凸剑叶莎醇、黄芩素、山柰酚、槲皮素与 HIF-1A 均有较好的结合活性。**结论** 通过网络药理学和分子对接技术发现恒古骨伤愈合剂可能通过多靶点治疗 2 型糖尿病骨质疏松, 可能通过 HIF-1A 信号通路减少氧化应激, 抑制成骨细胞铁死亡, 达到治疗 2 型糖尿病骨质疏松症的目的。

[关键词] 恒古骨伤愈合剂; 2 型糖尿病骨质疏松; 网络药理学; 铁死亡; 氧化应激

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.07.001

中图法分类号:R285.5

文章编号:1009-5519(2024)07-1081-07

文献标识码:A

Based on network pharmacology and molecular docking, to explore the potential mechanism of osteoking in inhibiting ferroptosis of type 2 diabetes osteoporosis^{*}

HE Wen¹, LI Ning¹, XU Zhijie², YANG Maowei^{2△}, YAO Xiaosheng³

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110847, China; 2. The First Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110002, China; 3. The Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the potential mechanism of osteoking in the treatment of type 2 diabetic osteoporosis by inhibiting osteoblast ferroptosis from the perspective of network pharmacology and molecular docking. **Methods** TCMS 数据库和 BATMAN-TCM 数据库 were used to retrieve the components and targets of traditional Chinese medicine, and GeneCards and OMIM database were used to obtain the disease targets of osteoporosis in type 2 diabetes. The PPI protein interaction network was constructed with STRING11.0 database, and topological analysis was performed to screen important targets in the network. The potential therapeutic targets were imported into the DAVID online database for gene ontology(GO) enrichment analysis and gene and genome encyclopedia(KEGG) pathway enrichment analysis. Finally, molecular docking simulation was performed to verify the results of network pharmacology. **Results** A total of 223 potential therapeutic targets were obtained through network pharmacology screening. The key active substances of osteoking in the treatment of type 2 diabetic osteoporosis are luteolin, 20(R)-ginsenoside Rh2, kaempferol, baicalein, beta-sitosterol, etc. The key targets are IL-6, Akt, TNF, MAPK3, HIF-1A, etc. The results of GO and KEGG analysis showed that the treatment of osteoporosis in type 2 diabetes by osteoking mainly included biological processes such as lipopolysaccharide response, hypoxia response, and inflammatory response, and

* 基金项目: 辽宁省科技应用基础研究基金项目(2023JH2/101300039); 沈阳市科学公共卫生研发项目(22-321-32-12)。

作者简介: 何文(1996—), 硕士研究生在读, 主要从事中医骨伤科学的研究。△ 通信作者, E-mail: mwyan@cmu.edu.cn。

regulated HIF-1A, TNF, IL-17, PI3K/Akt and other signaling pathways. The results of molecular docking showed that 7-O-methylisoprostol, baicalein, kaempferol, and quercetin had good binding activity with HIF-1A. **Conclusion** Through network pharmacology and molecular docking technology, it is found that osteoking may treat type 2 diabetic osteoporosis through multiple targets, and may reduce oxidative stress and inhibit osteoblast ferroptosis through HIF-1A signaling pathway to treat type 2 diabetic osteoporosis.

[Key words] Osteoking; Type 2 diabetes osteoporosis; Network pharmacology; Ferroptosis; Oxidative stress

2 型糖尿病骨质疏松(T2DOP)是由糖尿病高血糖状态引起的一种代谢性骨病。随着人口老龄化的增加, T2DOP 的发病率逐年上升^[1], 对老年人的健康产生了极大危害。T2DOP 以骨强度降低、易发生骨折为主要临床表现。目前, T2DOP 病理机制尚未明确, 其治疗方案多将降糖药和抗骨质疏松药联合使用, 服药时间长, 且治疗效果并不显著^[2]。有研究发现 T2DOP 与铁死亡密切相关^[3], 但其相关机制尚不清楚。

恒古骨伤愈合剂(OK)是彝族医药的一种经典方剂, 具有活血益气、补肝肾、续筋骨等作用。临床上常用于各种骨科疾病的治疗^[4-6]。有研究发现, OK 可以通过降血糖、抗炎等作用减缓 T2DOP 的发展^[7]。近年来, OK 还被发现可以用来减少 2 型糖尿病肌细胞氧化应激, 抑制肌细胞铁死亡^[8]。铁死亡是一种细胞的非程序性死亡, 其机制与细胞内铁离子水平、氧化应激水平增加及谷胱甘肽还原酶水平减少有关。氧化应激水平增加、铁离子的堆积或谷胱甘肽过氧化物酶水平的缺少均将导致细胞铁死亡的发生^[9]。

目前, T2DOP 中成骨细胞铁死亡的相关机制急需继续挖掘。本研究通过网络药理学方法探究 T2DOP 氧化应激与铁死亡的相关机制, 探寻 OK 治疗 T2DOP 的潜在靶点。

1 方 法

1.1 OK 的药物活性成分及对应靶点筛选 通过搜索 TCMSP 在线数据库, 设置筛选条件为生物利用度(OR) $\geq 30\%$, 类药性(DL) ≥ 0.18 , 筛选出陈皮、杜仲、红花、黄芪、人参、三七、洋金花的活性成分, 通过搜索 BATMAN-TCM 数据库, 设置筛选条件为 score cut off ≥ 20 , $P < 0.05$, 筛选出鳖甲的活性成分, 通过查询文献, 收集鳖甲和钻地风的活性成分。将 9 种药物的活性成分通过 TCMSP 数据库靶点预测功能进行靶点预测。

1.2 疾病靶点查找及治疗靶点筛选 通过 GeneCards 与 OMIM 数据库, 以“Type 2 diabetic osteoporosis”为检索词, 分别筛选出 T2DOP 的疾病靶点, 将 2 个数据库得到的疾病相关靶点汇总, 去除重复靶点, 最终确定 T2DOP 疾病相关靶点。将 OK 所含药物的活性成分靶点与 T2DOP 疾病相关靶点进行交集处理, 将交集基因作为 OK 治疗 T2DOP 的潜在靶点。

1.3 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将 OK 潜在治疗靶点导入 David 数据库, 进行 GO 和 KEGG 富集分析, 将得到

的 GO 条目和 KEGG 信号通路数据通过微生信平台制作富集气泡图。

1.4 构建蛋白质相互作用网络(PPI)图 进入 STRING 数据库, 选择“multiple proteins”, 将交集基因输入列表框, 选择物种为“Homo sapiens”, 置信度选择为 0.700, 并隐藏断开连接的节点, 得到 OK 潜在治疗靶点的 PPI 图, 将获得的 PPI 图导入 Cytoscape3.7.2 进行可视化。通过插件 cytohubba 计算网络中关键节点的拓扑参数。

1.5 活性成分-关键靶点-显著通路网络图构建 将 1.4 项中 STRING 数据库得到的数据表导入 Cytoscape3.7.2 软件, 构建活性成分-关键靶点-显著通路网络图。

1.6 分子对接 应用 Auto Dock Vina 软件, 准备分子对接所需的配体和蛋白质, 对于目标蛋白质, 通过 PDB 数据库获得晶体结构进行去除加氢、修饰氨基酸、优化能量和调整力场参数等处理。最后将这靶点结构与活性成分结构进行分子对接, 其 Affinity 值即代表两者的结合能力, 结合能力越低, 配体与受体结合越稳定。使用 Pymol 对其进行可视化分析。

2 结 果

2.1 OK 活性成分靶点查找结果 经 TCMSP 和 BATMAN-TCM 数据库及文献查询, 查找到 42 个有效的活性成分, 939 个基因靶点。利用 Uniprot 数据库对靶点进行统一注释并去重, 共获得 OK 223 个潜在治疗靶点。见表 1。

表 1 OK 治疗 T2DOP 的主要靶点		
基因靶点	DGREE 值	药物来源
IL-6	112	杜仲、三七、红花、黄芪
Akt1	116	陈皮、杜仲、红花、人参、洋金花、黄芪
TNF	113	杜仲、红花、人参、洋金花、黄芪、三七
MAPK3	95	陈皮
HIF-1A	89	杜仲、三七、红花、黄芪、人参、洋金花

注: IL-6 为白细胞介素-6; Akt1 为蛋白激酶 B1; TNF 为肿瘤坏死因子; MAPK3 为丝裂原活化蛋白激酶 3; HIF-1A 为缺氧诱导因子-1A。

2.2 T2DOP 相关靶点查找结果 经 GeneCards 数据库获得 T2DOP 相关靶点 4 186 个, 经 Relevance score ≥ 1.08 为条件筛选后, 获得 T2DOP 相关基因靶点 4 182 个, 经 OMIM 数据库获得 T2DOP 疾病靶点 522 个。经过汇总取交集获得 T2DOP 疾病靶点 4 641 个。

2.3 OK 治疗 T2DOP 靶点韦恩图制作 将药物活

性成分的靶点与疾病靶点进行取交集处理,获得 159 个 OK 治疗 T2DOP 的治疗靶点。见图 1。

2.4 GO 和 KEGG 富集分析结果 GO 富集分析中,共预测到了 1 004 条条目,其中生物学过程(BP)条目 773 个,细胞组分(CC)条目 85 个,分子功能(MF)条目 146 个。BP 中富集分数较高的条目包括对脂多糖的反应、对缺氧的反应、炎症反应等。CC 中富集分数较高的条目包括丝氨酸型肽酶复合物、凋亡体、内吞囊泡膜等。MF 中富集分数较高的条目包括酶结合、蛋白质结合、转录因子结合等,将上述条目根据富集分数排列,分别挑选前 10 条条目制作 GO 富集分数图(图 2)。共预测到 176 条信号通路,将 176

条信号通路按富集分数排列,去除癌症相关通路,挑选前 20 条信号通路制作 KEGG 信号通路气泡图(图 3),其中核心通路包括 HIF-1 信号通路(图 4)、TNF 信号通路、脂质与动脉粥样硬化信号通路等。

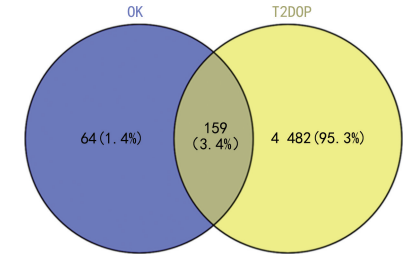


图 1 OK 预测靶点与疾病靶点交集图

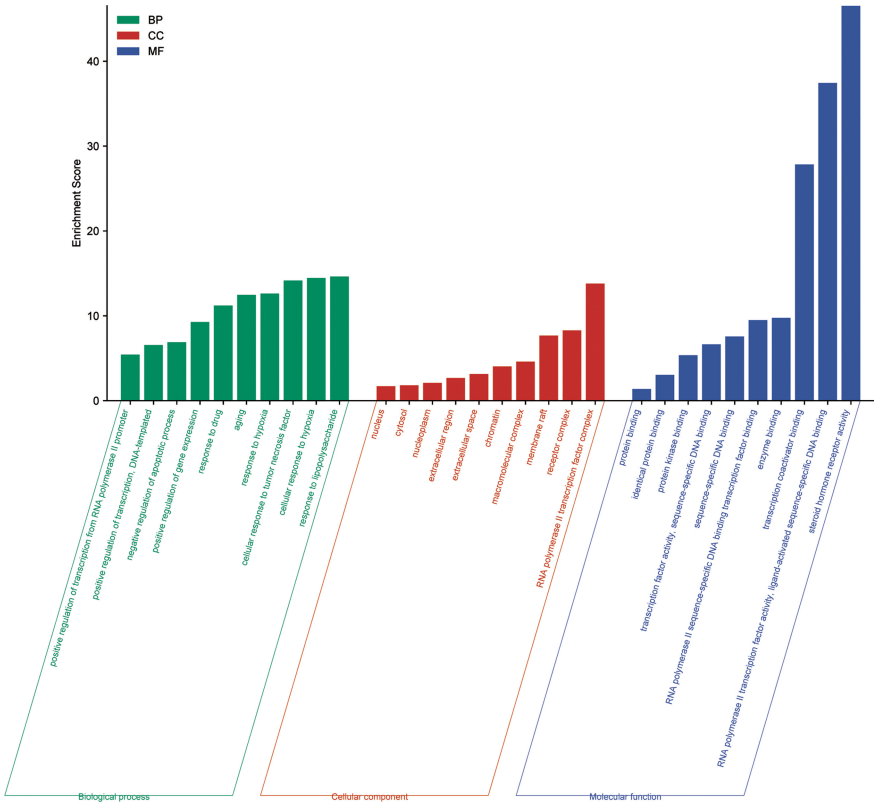


图 2 前 10 位 GO 富集分数图

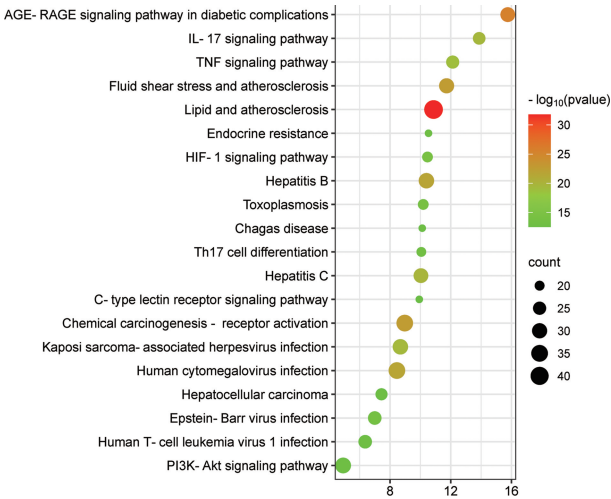


图 3 前 20 位 KEGG 信号通路气泡图

2.5 PPI 图构建 将 159 个潜在治疗靶点导入 STRING 数据库,获得 PPI 及对应数据,将从 STRING 数据库得到的数据导入 Cytoscape3. 7. 2 软件,进行拓扑分析,筛选出主要基因靶点(表 1),得到 159 个节点与 1 147 条边,绘制出 OK-T2DOP 靶点 PPI 图(图 5),并构建活性成分-关键靶点-显著通路网络图(图 6)。

表 2 结合能表

配体	结合亲和力
7-O-甲基异微凸剑叶莎醇	-6.0
黄芩素	-6.5
山柰酚	-6.3
槲皮素	-6.4

2.6 分子对接 7-O-甲基异微凸剑叶莎醇、黄芩素、山奈酚、槲皮素与 HIF-1A 的结合能均小于-5.0 kcal/mol，

有较好的结合活性。见表 2、图 7~10。

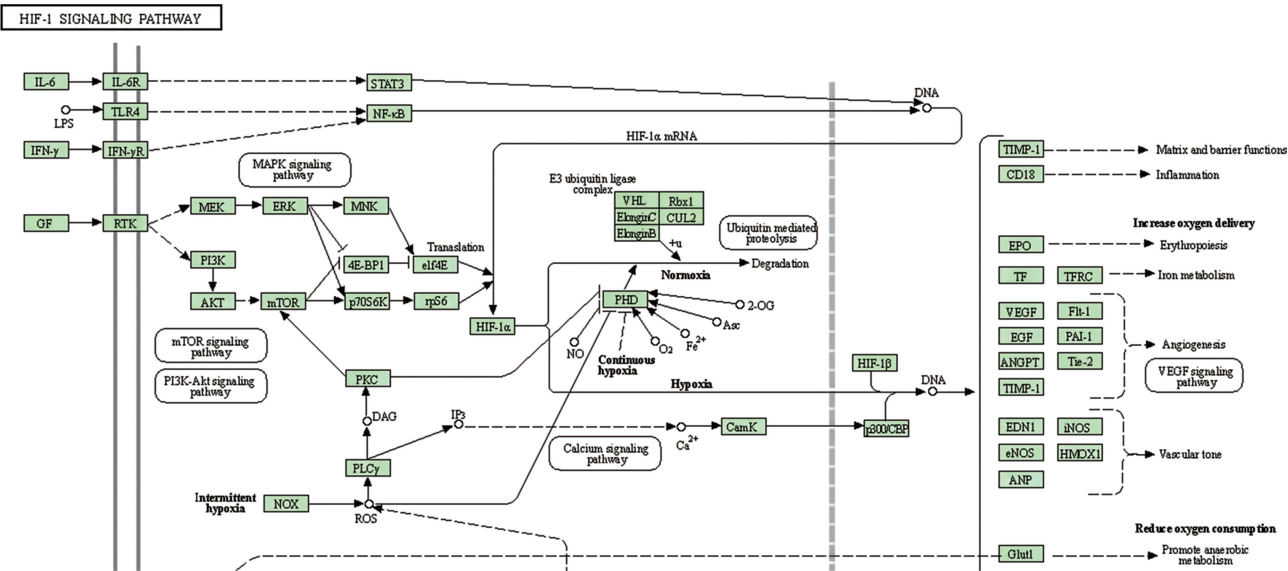


图 4 HIF-1 信号通路图

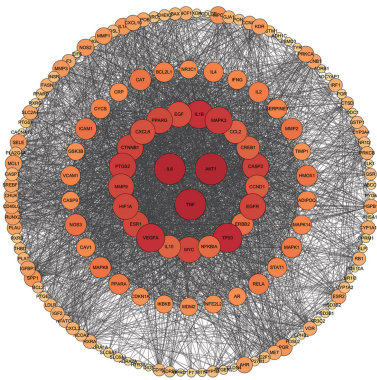


图 5 PPI 图

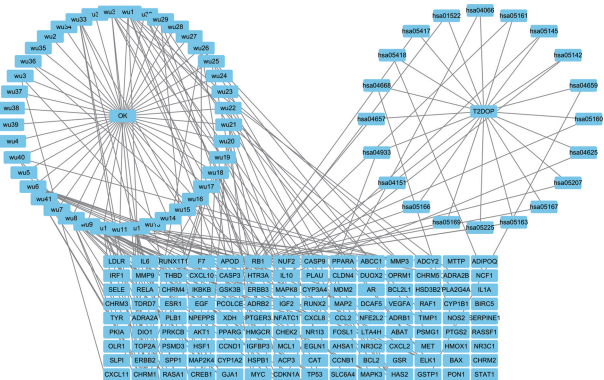


图 6 药物-靶点-疾病图

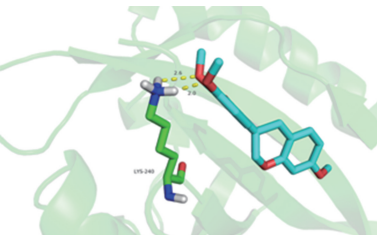


图 7 7-O-甲基异微凸剑叶莎醇与 HIF-1A

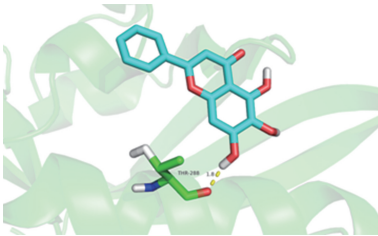


图 8 黄芩素与 HIF-1A

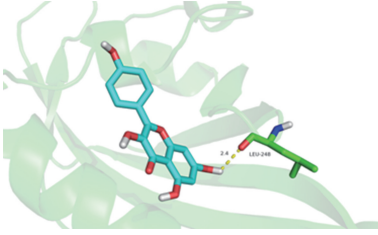


图 9 山奈酚与 HIF-1A

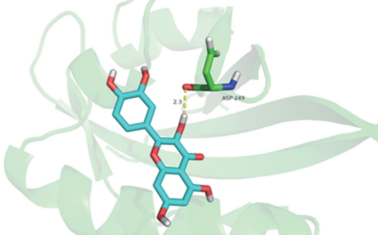


图 10 槲皮素与 HIF-1A

3 讨论

T2DOP 是 2 型糖尿病的并发症之一，临床上主要表现为骨密度的降低，易发生脆性骨折、全身疼痛。2 型糖尿病患者发生骨折的风险高于健康人^[10]，严重危害人们的健康，一旦发生脆性骨折，患者的生活质量急速下降，甚至会导致死亡。T2DOP 的发生机制尚未被完全揭示，在临床上尚未有完善的治疗方法。临床上常用降糖药与阿仑膦酸钠、特立帕肽、碳酸钙

等抗骨质疏松药联合应用治疗 T2DOP, 费用高、治疗周期长, 一旦患病终生服药。因此, 探讨 T2DOP 发病机制和有效治疗方法成为 T2DOP 研究的首要任务。

T2DOP 在中医学中尚无与之完全对应的病名, 现阶段大多数中医学者将其归属于消渴合并骨痿^[11-12]。T2DOP 的病位主要在肝脾胃。

《脾胃论·脾胃胜衰论》云:“脾病则下流乘肾, 土克水, 则骨乏无力, 足为骨蚀, 令人骨髓空虚。”消渴日久累及肾脏, 致使肾精亏虚, 肾虚则髓海不足是其主要病机。《素问·痿论》云:“肾气热……骨枯而髓减, 发为骨痿”。《医方集宜·卷之五·消渴门·病源》云:“夫渴之为病有三……下消者, ……腿膝枯细, 骨节酸疼, 精泄髓冷……属下焦, 谓之消肾, 自消肾之下, 又有肢体瘦弱。”可见糖尿病日久可以导致骨质疏松的发生。脾病久则伤及肝肾, 肝衰肾虚, 骨失所养, 发为骨质疏松。中医脾为后天之本, 为机体提供能量。这与现代医学中线粒体的功能相似。线粒体在细胞内可以合成腺苷三磷酸(ATP), 是提供能量的主要细胞器。早在 20 世纪 80 年代, 就有研究发现脾虚患者的胃黏膜细胞线粒体数量减少, 同时出现能量代谢障碍^[13]。在大鼠脾虚模型中, 通过健脾益气类中药可以改善线粒体能量代谢, 同样证明了脾与线粒体的关系^[14]。T2DOP 患者体内存在的高血糖状态, 在该环境下通过多种途径增加细胞内氧化应激的产生^[15]。在高糖环境下, 成骨细胞中的氧化应激水平也受到了影响, 经研究, 在高糖环境下成骨细胞氧化应激水平增高的同时, 增殖与分化能力也出现降低^[16]。

细胞铁死亡与细胞凋亡不同, 是一种非程序性的细胞死亡形式^[17], 其机制与谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 失活、铁离子增多、氧化应激水平增加均相关。近年来, 线粒体也被认为与铁死亡相关, 线粒体是细胞活性氧(ROS)的主要来源, 线粒体产生的过氧化氢(H_2O_2)与亚铁离子(Fe^{2+})发生芬顿反应, 生成羟基自由基, 致使细胞膜氧化破损, 发生铁死亡。细胞内氧化应激的主要来源是线粒体, 当线粒体损伤时, 产生过多的氧化自由基, 细胞氧化应激水平增高, 发生脂质过氧化, 致使细胞膜破裂, 导致细胞铁死亡的发生^[18]。细胞内铁离子水平主要由铁调节蛋白 IRP1 和 IRP2 调控^[19-20]。细胞内铁超载时, 可以导致细胞线粒体功能障碍, 线粒体 ROS 水平升高^[21]。本课题组前期研究发现, 二价金属离子转运体(DMT1)可以调节成骨细胞内铁离子的水平, 且通过 ELAVL1/DMT1 轴可以减少细胞内氧化应激生成和铁死亡的发生^[22-23]。作者推测 2 型糖尿病脾虚日久累及肝肾时, 成骨细胞内线粒体受损, 铁离子水平增加, 氧化应激累积, 致使成骨细胞发生铁死亡, 从而出现骨重建的失衡, 导致骨质疏松的发生。

OK 是彝族医药的经典方剂, 具有活血益气、补肝肾、续筋骨等作用, 在临床治疗骨病时具有较好的疗效。OK 由黄芪、三七、杜仲、人参、红花、陈皮、鳖甲等

组成。黄芪、陈皮、人参共起健脾补气之功, 三七、红花、钻地风活血散瘀止痛, 杜仲补肝肾, 鳖甲滋阴, 洋金花止痛。现代医学研究, OK 可以通过降血糖、改善 T2DOP 小鼠的股骨骨小梁形态, 提高胫骨骨强度, 从而治疗 T2DOP^[7]。

通过网络药理学筛出 OK 中木犀草素、山柰酚、黄芩素为 OK 中减少氧化应激的关键成分。木犀草素是一种类黄酮, 存在于多种中药植物中, 具有抗炎、抗氧化等多种作用^[24]。实验证明木犀草素可以减少链脲佐菌素链(STZ)诱导的 2 型糖尿病小鼠氧化应激水平, 减少体内 ROS 的产生, 增加超氧化物歧化酶(SOD)的含量, 从而减少 c57 小鼠体内氧化应激的水平^[25]。山柰酚是一种黄酮类单体, 具有抗氧化应激、抗炎等作用, 在肿瘤、肝病、心血管等疾病研究较深入。近年来, 山柰酚被研究发现可以通过多种途径抗骨质疏松^[26], 其中有研究发现, 在 MC3T3-E1 细胞中, 山柰酚可以靶向线粒体, 减少线粒体 ROS 的产生^[27]。槲皮素可以抑制 MC3T3-E1 细胞过氧化氢诱导的氧化应激, 提高碱性磷酸酶活性, 促进成骨^[28-29]。

通过网络药理学分析发现, OK 可能通过作用到 IL-6、Akt1、TNF、MAPK3、VEGFA 及 HIF-1A 等靶点, 影响 HIF-1A 信号通路、IL-17 信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路、TNF 信号通路及脂质与动脉粥样硬化信号通路等治疗 T2DOP, 其中 BP 可能包括炎症反应、氧化应激等。所得预测靶点中 Akt1、HIF-1A、MAPK3 靶点曾被报道均与氧化应激相关^[30-33]。

HIF-1A 属于 HIF 3 个 α 亚基中之一, 缺氧或氧化应激都可以激活 HIF-1A^[34]。HIF-1A 在代谢性疾病中发挥着重要作用^[35], 在糖尿病不同分期及各种并发症的患者血清中, HIF-1A 的表达出现了变化, 如肾病^[36]、视网膜病变^[37]和神经病变^[38]等, 证明 HIF-1A 影响着 2 型糖尿病及并发症的发生与发展。HIF-1A 在骨代谢疾病中也发挥着作用^[39]。经研究发现 HIF 可以通过多种方式调控着骨重建的平衡。Akt1 属于 Akt 的 3 种亚型之一, Akt 是 PI3K/Akt 信号通路的核心因子, 研究表明 PI3K/Akt 可以通过减少氧化应激, 减少细胞凋亡^[40]。在成骨细胞中, 仙茅苷可以通过 Akt 减少 MC3T3-E1 细胞的依赖性氧损伤^[41]。MAPK 是 MAPK 信号通路的经典蛋白, 可以调节细胞增殖、分化、凋亡和迁移等多种细胞生物活动^[42]。经研究发现, 调控 MAPK 可以改善地塞米松对 MC3T3-E1 细胞成骨抑制作用^[43], pThr 通过促使 MAPK 去磷酸化, 抑制由氧化应激增多引起成骨细胞凋亡。经过分子对接验证发现, 7-O-甲基异菹凸剑叶莎醇、黄芩素、山柰酚、槲皮素与 HIF-1A 有较好的结合活性。

综上所述, OK 可以通过多靶点治疗 T2DOP, 其中 HIF-1A 与线粒体关系密切^[44], 线粒体是产生 ROS 的主要来源, 所以推测 OK 可能通过调控 HIF-

1A 信号通路保护线粒体,减少成骨细胞内 ROS 的产生与累积,从而抑制成骨细胞铁死亡,起到治疗骨质疏松的作用。本研究为 OK 对于 T2DOP 治疗机制研究提供了方向。

参考文献

[1] 庄新华,潘丹英,顾春妹. MHR、LPR-5 和 SOST 对 2 型糖尿病骨质疏松患者发生骨折的预测价值[J]. 检验医学与临床,2023,20(9):1244-1248.

[2] 《中国老年型糖尿病防治临床指南》编写组. 中国老年 2 型糖尿病防治临床指南(2022 年版)[J]. 中国糖尿病杂志,2022,30(1):2-51.

[3] MA H, WANG X, ZHANG W, et al. Melatonin suppresses ferroptosis induced by high glucose via activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway in type 2 diabetic osteoporosis[J]. Oxid Med Cell Longev,2020,2020:9067610.

[4] 黄振星,杨少锋,郭彦涛,等. 恒古骨伤愈合剂治疗瘀血阻络型腰椎间盘突出症的临床疗效[J]. 中国中医骨伤科杂志,2022,30(3):35-38.

[5] 徐涛涛,郑凌歆,孙岩,等. 恒古骨伤愈合剂治疗膝骨性关节炎的临床疗效及安全性评价[J]. 中国中医骨伤科杂志,2022,30(2):8-12.

[6] 陈剑明,徐丁,汪帅伊,等. 恒古骨伤愈合剂治疗绝经后骨质疏松症的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2020,28(8):46-49.

[7] 杨艺. 恒古骨伤愈合剂对 2 型糖尿病性骨质疏松症的作用及机制研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2022.

[8] 许智杰. 恒古骨伤愈合剂对糖尿病肌肉减少症的治疗作用与机制研究[D]. 沈阳:中国医科大学,2022.

[9] STOCKWELL B R, JIANG X, GU W. Emerging mechanisms and disease relevance of ferroptosis[J]. Trends Cell Biol,2020,30(6):478-490.

[10] MA L, OEI L, JIANG L, et al. Association between bone mineral density and type 2 diabetes mellitus:a meta-analysis of observational studies[J]. Eur J Epidemiol,2012,27(5):319-332.

[11] 朱琦琦,戴芳芳. 糖尿病性骨质疏松症的中医研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(9):1331-1335.

[12] 马凌云,刘爱茹,张娜娜,等. 滋阴补阳消渴健骨汤对 2 型糖尿病合并骨质疏松症(阴阳两虚证)的治疗作用[J/OL]. 辽宁中医药大学学报,(2023-02-06)[2023-05-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20230203.1637.042.html>.

[13] 周俊亮. 脾主运化与细胞线粒体细胞色素氧化

酶相关性理论的临床与实验研究[D]. 广州:广州中医药大学,2005.

[14] 胡齐,孙莹,宋雅芳,等. 四君子汤对脾虚大鼠线粒体氧化损伤及能量代谢的影响[J]. 中华中医药学刊,2017,35(8):1972-1976.

[15] 张娜,曾凯. 高糖环境下血管内皮氧化应激损伤的发生机制[J]. 糖尿病新世界,2018,21(3):197-198.

[16] 王筱婧,赵点点,郁静嘉,等. 高糖环境下成骨细胞增殖和分化与 FoxO1 及氧化应激的关系[J]. 诊断学理论与实践,2015,14(2):113-119.

[17] CHEN X, LI J, KANG R, et al. Ferroptosis: machinery and regulation [J]. Autophagy, 2021,17(9):2054-2081.

[18] GAN B. Mitochondrial regulation of ferroptosis [J]. J Cell Biol,2021,220(9):e202105043.

[19] ZHANG D L, GHOSH M C, ROUAULT T A. The physiological functions of iron regulatory proteins in iron homeostasis: an update [J]. Front Pharmacol,2014,5:124,

[20] ANDREWS N C, SCHMIDT P J. Iron homeostasis[J]. Annu Rev Physiol,2007,69:69-85,

[21] SUMNEANG N, SIRI-ANGKUL N, KUMFU S, et al. The effects of iron overload on mitochondrial function, mitochondrial dynamics, and ferroptosis in cardiomyocytes [J]. Arch Biochem Biophys,2020,680:108241.

[22] ZHANG H, OSTROWSKI R, JIANG D, et al. Hepcidin promoted ferroptosis through iron metabolism which is associated with DMT1 signaling activation in early brain injury following subarachnoid hemorrhage [J]. Oxid Med Cell Longev,2021,2021:9800794.

[23] REN Y, YANG M, WANG X, et al. ELAV-like RNA binding protein 1 regulates osteogenesis in diabetic osteoporosis: involvement of divalent metal transporter 1 [J]. Mol Cell Endocrinol, 2022,546:111559.

[24] 林烨,柳丽,孙静,等. 木犀草素防治糖尿病的作用机制研究进展[J/OL]. 中药药理与临床,(2023-05-08)[2023-07-07]. <https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=Vof4b7nxdAsoVL4q6fhXw1hJKKAbBGtbSQawrgIwkT0Ot4FhVUGaatK3tRU Y3HQkeiNYtlc4lh17J4tyuUvBzgxrtP OoQsNsJHRD i4PepdY-oLGg4Y1Hqa5UIPQVw5xkGART52EGz0=&uniplatform=NZKPT&language=CHS>.

[25] LI L, LUO W, QIAN Y, et al. Luteolin protects against diabetic cardiomyopathy by inhibiting NF-κB-mediated inflammation and activating

- the Nrf2-mediated antioxidant responses[J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152774.
- [26] 杨启培, 陈锋, 崔伟, 等. 山柰酚活性单体治疗骨质疏松症的相关信号通路[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(26): 4242-4249.
- [27] 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.
- [28] FATOKUN A A, TOME M, SMITH R A, et al. Protection by the flavonoids quercetin and luteolin against peroxide-or menadione-induced oxidative stress in MC3T3-E1 osteoblast cells[J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(12): 1127-1132.
- [39] WONG R W K, RABIE A B M. Effect of quercetin on preosteoblasts and bone defects[J]. *Open Orthop J*, 2008, 2: 27-32.
- [30] REN B C, ZHANG Y F, LIU S S, et al. Curcumin alleviates oxidative stress and inhibits apoptosis in diabetic cardiomyopathy via Sirt1-Foxo1 and PI3K-Akt signalling pathways[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(21): 12355-12367.
- [31] ZHAO M, WANG S, ZUO A, et al. HIF-1 α /JMJD1A signaling regulates inflammation and oxidative stress following hyperglycemia and hypoxia-induced vascular cell injury[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2021, 26(1): 40.
- [32] KWINTKIEWICZ J, SPACZYNSKI R Z, FOY-OUZI N, et al. Insulin and oxidative stress modulate proliferation of rat ovarian theca-interstitial cells through diverse signal transduction pathways[J]. *Biol Reprod*, 2006, 74(6): 1034-1040.
- [33] 赵茜, 颜薛晏, 马琼, 等. 中医药调控氧化应激相关信号通路抗肝纤维化研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(5): 189-194.
- [34] REUTER S, GUPTA S C, CHATURVEDI M M, et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer; How are they linked? [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(11): 1603-1616.
- [35] GONZALEZ F J, XIE C, JIANG C. The role of hypoxia-inducible factors in metabolic diseases[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(1): 21-32.
- [36] 薛海燕, 李振江, 孔令强. 不同分期糖尿病肾病患者 25 羟维生素 D、低氧诱导因子-1 α 检测及临床意义[J]. *陕西医学杂志*, 2021, 50(5): 614-617.
- [37] 陈焱, 李志洪. 血清 VEGF、HIF-1 α 及 Hcy 与 2 型糖尿病视网膜病变的相关性[J]. *川北医学院学报*, 2022, 37(2): 220-223.
- [38] 唐枫燕, 钟绍, 李全民, 等. 2 型糖尿病周围神经病变患者缺氧诱导因子-1 α 及血管内皮生长因子的研究[J]. *北京医学*, 2020, 42(4): 287-290.
- [39] CHEN W, WU P, YU F, et al. HIF-1 α regulates bone homeostasis and angiogenesis, participating in the occurrence of bone metabolic diseases[J]. *Cells*, 2022, 11(22): 3552.
- [40] REN B C, ZHANG Y F, LIU S S, et al. Curcumin alleviates oxidative stress and inhibits apoptosis in diabetic cardiomyopathy via Sirt1-Foxo1 and PI3K-Akt signalling pathways[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(21): 12355-12367.
- [41] ZHANG Q, ZHAO L, SHEN Y, et al. Curculigolide protects against excess-iron-induced bone loss by attenuating Akt-FoxO1-dependent oxidative damage to mice and osteoblastic MC3T3-E1 cells[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 9281481.
- [42] TEEGALA L R, ELSHOWEIKH Y, GUDNE-PPANAVAR R, et al. Protein kinase C α and β compensate for each other to promote stem cell factor-mediated KIT phosphorylation, mast cell viability and proliferation[J]. *FASEB J*, 2022, 36(5): e22273.
- [43] XIE B, ZENG Z, LIAO S, et al. Kaempferol ameliorates the inhibitory activity of dexamethasone in the osteogenesis of MC3T3-E1 cells by JNK and p38-MAPK pathways[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 739326.
- [44] LI H S, ZHOU Y N, LI L, et al. HIF-1 α protects against oxidative stress by directly targeting mitochondria[J]. *Redox Biol*, 2019, 25: 101109.

(收稿日期: 2024-01-12 修回日期: 2024-02-15)