

# 基于网络药理学探讨骨碎补抗骨质疏松的物质基础及作用机制

甘东浩<sup>1</sup>, 陈德强<sup>2</sup>, 冯蓬<sup>1</sup>, 徐展望<sup>2\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250014)

**[摘要]** **目的:**通过网络药理学思路,预测骨碎补活性成分的作用靶点,结合骨质疏松(OP)相关靶点进行映射,拓扑出相互作用的关键节点进行富集分析,全方位探讨骨碎补抗OP的药理作用机制。**方法:**首先,在中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)中基于药代动力学特征筛选出骨碎补的主要活性成分,并使用有机小分子生物活性数据库(PubChem)和Swiss Target Prediction数据库根据二维或三维结构相似性预测出相关作用靶点,然后通过人类孟德尔遗传数据库(OMIM)和Pubmed文本挖掘已知的OP治疗靶点,结合预测靶点导入String数据库构建骨碎补治疗OP靶点相互作用网络图,借助CytoNCA软件根据相关节点参数拓扑出相互作用的关键节点,再次导入String构建蛋白质相互作用网络图,最后通过DAVID数据库对关键节点进行生物功能及代谢通路分析。**结果:**筛选出16个骨碎补活性成分,根据靶点预测技术预测出相关靶点118个;经过文本挖掘检索出OP相关靶点316个,根据String网络数据库构建蛋白相互作用网络,经CytoNCA拓扑后,筛选出关键节点97个,富集分析显示骨碎补可能通过多条通路,从增殖、分化、免疫、氧化应激等多个方面,对于细胞、成骨细胞、破骨细胞、免疫细胞等产生调控作用。**结论:**基于网络药理学研究表明,骨碎补可能通过直接或间接作用靶点,参与调控多条主要信号通路,影响多类细胞的增殖、分化,从而起到抗OP的作用,为阐释其抗骨质疏松的物质基础与作用机制提供了科学依据。

**[关键词]** 骨碎补; 骨质疏松; 网络药理学; 物质基础; 作用机制; 蛋白质相互作用网络图

**[中图分类号]** R285;R274;R714.257;R592 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)13-0186-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20191239

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190304.1038.004.html>

**[网络出版时间]** 2019-03-05 16:25

## Effective Components and Mechanisms of Drynariae Rhizoma Anti-osteoporosis Based on Network Pharmacology

GAN Dong-hao<sup>1</sup>, CHEN De-qiang<sup>2</sup>, FENG Peng<sup>1</sup>, XU Zhan-wang<sup>2\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jinan 250355, China;

2. Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250014, China)

**[Abstract]** **Objective:** To predict the target of active components of Drynariae Rhizoma by the network pharmacology, map related targets of osteoporosis (OP), and analyze key nodes of interaction topologically, so as to comprehensively explore the pharmacological mechanism of anti-op of osteoclasts. **Method:** Firstly, the main active components of Drynariae Rhizoma were screened out from TCMSP based on the pharmacokinetic characteristics, and the related targets were predicted by Pubchem and Swiss Target Prediction database according to the Two-dimensional/Three-dimensional (2D/3D) structural similarity. Then, through Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) and Pubmed text, known OP therapeutic targets were mined, based on putative targets, String database was imported to build Drynariae Rhizoma treatment target OP interaction network diagram. With the help of CytoNCA software, the interaction key nodes were topologically identified according to relevant

**[收稿日期]** 20181208(003)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81473709)

**[第一作者]** 甘东浩,在读博士,从事骨质疏松的基础研究与临床工作,E-mail: DoctorGanDH@outlook.com

**[通信作者]** \*徐展望,博士,教授,从事骨质疏松的基础研究与临床工作,E-mail: xzw6001@163.com

node parameters, and then imported into String database to build the protein interaction network graph. Finally, biological functions and metabolic pathways of key nodes were analyzed through DAVID database. **Result:** Sixteen active components of *Drynariae Rhizoma* were screened out, and 118 related targets were predicted according to the target prediction technique. Totally 316 known therapeutic targets for OP were retrieved. The protein interaction network was constructed according to the String network database. A total of 97 key nodes were screened via CytoNCA topology. The enrichment analysis showed that *Drynariae Rhizoma* may play an anti-osteoporosis role by regulating stem cells, osteoblasts, osteoclasts and immune cells through multiple signaling pathways in aspects of proliferation, differentiation, immunity and oxidative stress. **Conclusion:** Studies based on network pharmacology have shown that *Drynariae Rhizoma* may play an anti-op role through direct or indirect targets and multiple major signaling pathways and affect the proliferation and differentiation of multiple types of cells, in order to provide a scientific basis for explaining the material basis and mechanism of *Drynariae Rhizoma*'s anti-osteoporosis effect.

**[Key words]** *Drynariae Rhizoma*; osteoporosis; network pharmacology; material basis; mechanism; protein interaction network map

骨质疏松症(OP)是一种全身性骨骼疾病,骨微结构破坏,骨的脆性提高,对中老年人的健康构成严重威胁<sup>[1]</sup>。OP 发病机制复杂,涉及到成骨、造血、免疫等多个系统,且多种相关信号通路之间存在交互和交叉作用。目前,常规的抗 OP 药物作用存在靶点单一,疗效不理想,副作用较大等缺点<sup>[2]</sup>,越来越多的学者关注中药防治 OP 的研究<sup>[3]</sup>。

骨碎补是著名的骨伤科常用药物,现代药理学研究证实骨碎补可通过促进成骨、抑制破骨、改善微循环等多途径改善骨质疏松<sup>[4]</sup>,本课题组前期研究<sup>[5-6]</sup>进一步揭示骨碎补可经分泌型糖蛋白/ $\beta$ -链蛋白(Wnt/ $\beta$ -catenin)信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)增殖及成骨分化。但由于中药成分复杂性,其具体的药效物质基础和作用机制至今尚不明确,传统的单体研究策略难以充分阐明骨碎补抗 OP 相关作用机制。因此有必要在系统水平上研究药物、基因和蛋白质相互作用的生物学过程,以揭示与中医疗效相关的分子机制。本研究基于网络药理学理念,首次通过发现先导化合物并根据化合物结构特征预测潜在靶点,通过筛选建立骨碎补活性成分和 OP 靶点相互作用的蛋白-蛋白相互作用网络图,运用网络药理学理念和相关技术手段,探索骨碎补活性成分抗 OP 的关键作用机制,为深入挖掘骨碎补抗 OP 作用机制、开发新的药物、改善常规抗 OP 药物治疗 OP 的缺陷和瓶颈等提供了策略。

## 1 材料与方法

**1.1 骨碎补活性物质筛选** 通过检索中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)<sup>[7]</sup>获取骨碎补的活性化合物,根据成分药动学吸收、分布、代谢、排泄(ADME)参数<sup>[8-9]</sup>进行筛选,筛选条件为药物口服

生物利用度(OB)  $\geq 30\%$ , 药物相似性(DL)  $\geq 0.18$ <sup>[10-11]</sup>,并查阅相关文献和有机小分子生物活性数据库(PubChem)<sup>[12]</sup>获得骨碎补活性化合物及其相应的典型 SMILES 结构。

**1.2 骨碎补活性物质靶点预测** 将从 PubChem 获得的各化合物 SMILES 结构导入 Swiss Target Prediction 网络数据库<sup>[13]</sup>预测靶标,根据预测可能性进行筛查,再将所得靶点导入到 Therapeutic Target Database, Comparative Toxicogenomics Database 和 PharmGKB 等疾病靶点网络数据库进行相关性验证,最后将所得相关靶点导入 DAVID 数据库进行京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并通过 Cytoscape<sup>[14]</sup>对上述所得数据构建 Compound-Target 网络图。

**1.3 OP 靶点查询** 通过人类孟德尔遗传数据库(OMIM)<sup>[15]</sup>和 Pubmed 等数据库并搜索相关研究报道,查找所有已知的和 OP 相关的靶点,以“osteoporosis”作为关键词对 OP 相关靶点进行检索、筛查,获得 OP 发病过程中已知的靶点。再将所得靶点正式基因号码(official symbol)转换成通用蛋白号码(Uniprot IDs),便于后续分析。

**1.4 筛选中心(Hub)节点并构建蛋白相互作用(PPI)网络** 通过 String 数据库<sup>[16]</sup>对获得的生物活性成分及疾病靶点构建相互作用关系网络,即可初步得到骨碎补治疗 OP 的直接和间接靶点调控网络图,再借助网络拓扑分析插件 CytoNCA<sup>[17]</sup>并结合文献,根据度中心性(DC),介度中心性(BC),接近中心性(CC),特征向量中心性(EC),网络中心性(NC)和局部边连通性(LAC)等参数进行拓扑,其中 DC 值大于所有节点 DC 值中位数 2 倍<sup>[18]</sup>的节点为

网络中的重要节点,即“Big Hubs”,再筛选其余指标大于所有节点中位数的节点即<sup>[19]</sup>关键靶点。以尽可能在网络中获得更多节点的传递信息和更高的节点信息传递效率,深入挖掘骨碎补抗 OP 关键的直接或间接作用靶点或机制。再通过 String 数据库对所得关键靶点构建 PPI 网络图。

**1.5 Hub 节点富集分析** 将所得 Hub 节点导入 DAVID 数据库进行基因富集分析(GO)和 KEGG 通路分析,以分析关键靶点参与的主要分子生物过程或信号通路。

## 2 结果

**2.1 骨碎补活性成分筛选** 通过检索 TCMSP 数据库共检索到骨碎补活性成分 71 个,根据 OB 和 DL 等 ADME 参数初步筛选到生物活性成分 18 个,再根据 PubChem 和 Swiss Target Prediction 数据库查找相关结构和靶点资料,终筛后得到 16 个有对应靶点的活性成分,见表 1。

表 1 骨碎补潜在活性成分及其 OB 和 DL 值表

Table 1 Potential active compound in *Drynariae Rhizoma* and its OB and DL parameters

化合物	OB/%	DL
(+)儿茶素[(+)-catechin]	54.83	0.24
金鱼草素(aureusidin)	53.42	0.24
黄酮酮[eriodictiol(flavanone)]	41.35	0.24
甾甾醇[stigmasterol]	43.83	0.76
$\beta$ -甾甾醇(beta-sitosterol)	36.91	0.75
山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24
环戊烯醇(cyclolaudenol)	39.05	0.79
柚皮素[(2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one]	42.36	0.21
柚皮苷(naringenin)	59.29	0.21
圣草酚(eriodictiol)	71.79	0.24
木犀草素(luteolin)	36.16	0.25
4-甾甾烯-3-酮(22-stigmasten-3-one)	39.25	0.76
环萜酮(cycloartenone)	40.57	0.79
黄姜烯醇(xanthogalenol)	41.08	0.32
鞣酸(digallate)	61.85	0.26
醋酸环己醇酯(cyclolaudenol acetate)	41.66	0.79

**2.2 预测骨碎补活性成分作用靶点** 通过 Swiss Target Prediction 对骨碎补 16 种化学成分进行靶点预测,筛选可能性高并去重后共获得 118 个靶点。KEGG 富集出 32 条信号通路,利用 Cytoscape 构建化合物-靶点(Compound-Target)作用网络见图 1。

**2.3 OP 相关靶点检索** 检索 OMIM 和 Pubmed 等数据库并搜索相关研究报道,获得与 OP 发生、发展

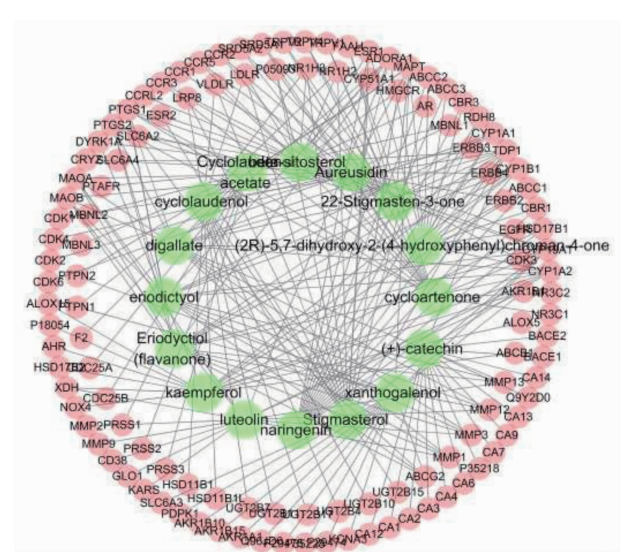


图 1 骨碎补中 16 种活性成分及其 118 个预测的靶点网络  
Fig. 1 Network of 16 active compounds of *Drynariae Rhizoma* and 118 putative targets

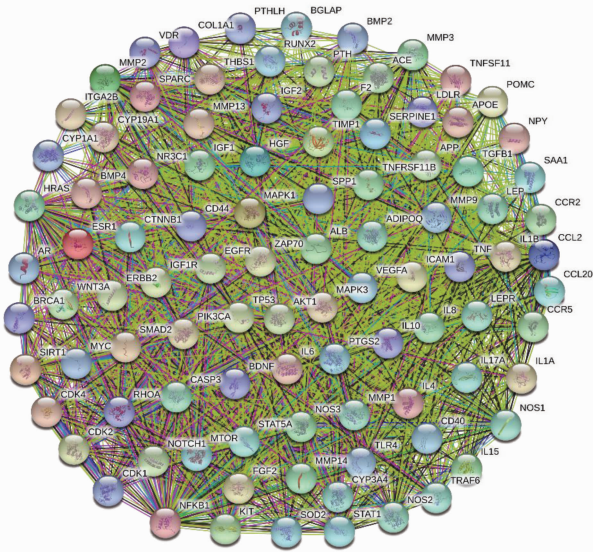
密切相关的靶点分别为 95 和 256 个,经筛选查重、剔除假阳性信息后共获得 316 个靶点。由于各数据库对靶点命名不规则,为了便于进行后续的分析,将 official symbol 转换成 Uniprot IDs。

**2.4 骨碎补作用于 OP 的关键节点筛选构建及 PPI 网络图** 通过 String 构建靶点-靶点(Target-Target, T-T)相互作用网络共有 393 个节点,5 201 条相互关系,利用 CytoNCA 根据 DC, BC, CC, EC, NC, LAC 等拓扑筛选后获得 97 个关键节点和 2 332 个关系,再次导入 String 构建 PPI 网络。见图 2。

**2.5 骨碎补作用于 OP 的关键节点富集分析** 通过 DAVID 数据库对关键节点进行 GO 富集分析( $P < 0.05$ )后,共获得 320 个富集结果。其中包括生物过程(biological process, BP)255 项,分子功能(molecular function, MF)39 项,细胞成分(cellular component, CC)26 项,排名前十的 GO 富集结果见图 3。KEGG 富集出 109 条通路,去除广泛通路后,排名靠前的 OP 主要相关信号通路为磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路(PI3K/Akt signaling pathway),Wnt 信号通路,雌激素(estrogen)信号通路,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,破骨细胞分化(osteoclast differentiation),干细胞多能调控信号通路(regulating pluripotency of stem cells signaling pathways),FoxO 信号通路,肿瘤坏死因子(TNF)信号通路,甲状腺激素信号通路(thyroid hormone signaling pathway),Rap1 信号通路等通路。

## 3 讨论

中医理论是建立在系统医学方法论基础上的,



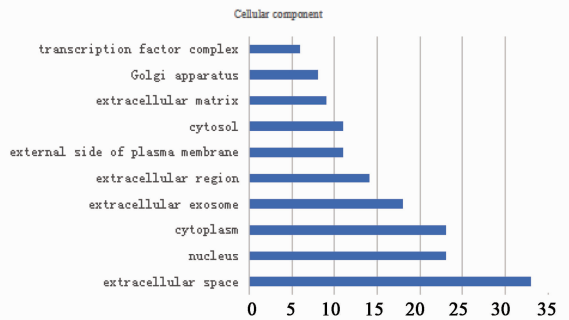
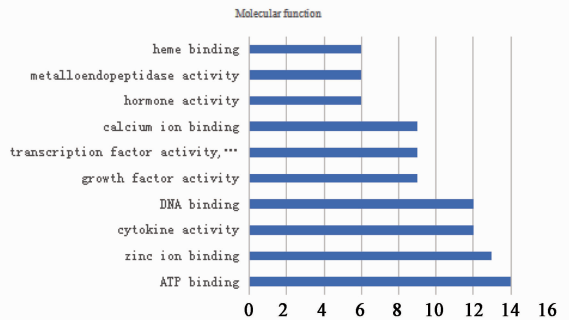
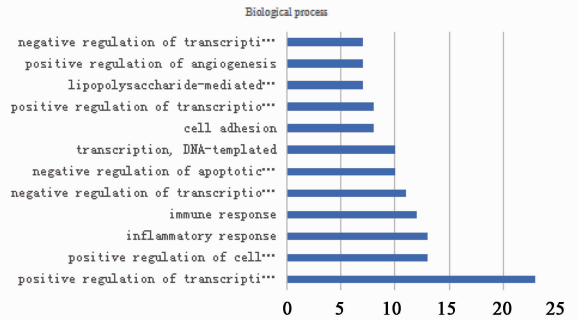
节点表示蛋白质,边代表功能相关性,不同颜色代表相关性的类型,边宽度表示数据支持强度

图 2 97 个 Hub 节点直接交互作用的 PPI 网络

Fig. 2 Network of 97 key nodes based on their direct interactions

单一的成分或作用靶点研究,难以充分揭示中药的作用机制,而基于生物信息学基础,运用网络药理学挖掘中药治疗疾病的物质基础和分子机制,具有整合创新的意义。骨碎补是中草药治疗 OP 的主要药物,目前从中分离得到的化学成分主要有黄酮、三萜、酚酸及其苷类等。其中最能体现骨碎补特征的成分是黄酮类化合物,如柚皮苷可通过促进成骨、抑制破骨具有抗 OP 作用<sup>[20]</sup>,新北美圣草苷也具有更强的促进成骨作用<sup>[21]</sup>。本研究发现在 118 个预测靶标中,50 个是多个活性化合物的共同靶标,这反映了骨碎补多组分之间具有协同效应,且在 OP 整个发病过程中也发挥着重要作用。对预测靶点进行富集分析,去除广泛通路后,排名靠前的有细胞周期、雌激素通路、钙离子通路和炎症信号通路等和 OP 发生、发展密切相关的通路,初步提示骨碎补中的活性成分可能通过多途径发挥抗 OP 作用。

从拓扑出的关键节点来看,芳香化酶(CYP19A1),雌激素受体 1(ESR1),细胞色素 P450 亚酶(CYP1A1),基质金属蛋白酶-2(MMP-2),雄激素受体(AR),趋化因子受体 2(CCR2),基质金属蛋白酶-3(MMP-3)等既是 OP 靶点又是骨碎补活性成分预测靶点,这些节点可能是骨碎补作用于 OP 的直接作用靶点;与骨碎补或 OP 单方面一致的有 87 个靶点,既不是预测靶点又不是 OP 相关靶点的有 3 个,进一步提示 OP 可通过直接或间接靶点作用于 OP。GO 富集分析表明,免疫、炎症、血管生成和



BP, MF 和 CC 3 个层次前 10 位的富集个数/个

图 3 对拓扑出来的关键节点进行 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of key targets

凋亡等多 BP 过程可能和骨碎补作用于 OP 相关;MF 层面表明骨碎补可通过钙离子、激素、细胞因子、生长因子、三磷酸腺苷(ATP),转录因子等分子发挥抗 OP 作用;CC 层面显示该机制几乎涵盖了细胞外、细胞膜、细胞质、细胞核、转录因子复合物、高尔基体、外泌体等信号通路从发生到反应的全阶段细胞成分。

对关键节点 KEGG 富集分析进一步揭示骨碎补可通过多条通路,从增殖、分化、免疫、氧化应激等多个方面,对于干细胞、成骨细胞、破骨细胞、免疫细胞等产生调控作用,经典 Wnt 信号通路具有成骨细胞和破骨细胞分化的双重作用<sup>[22]</sup>。氧化应激在 OP 的发生机制中起到了重要作用<sup>[23-24]</sup>,各种因素导致的氧化应激反应增加,可增强破骨,抑制成骨,同时促进骨细胞的凋亡,而 FoxO 通路在抗氧化应激反应中起到了重要作用,细胞实验证明靶向敲除 FoxO1, FoxO3 和 FoxO4 基因,骨骼中成骨细胞的数量会

下降,氧化应激水平升高<sup>[25]</sup>。同时 FoxO 是与 Wnt/ $\beta$ -catenin 密切联系的转录因子,且拮抗 Wnt 信号随着年龄的增加而增强<sup>[26]</sup>。雌激素信号通路在绝经后 OP 的发生中起到了重要作用,其减少后一方面会导致破骨细胞增多,破骨活性增加;另一方面可促进炎症因子如白介素和 TNF 家族的分泌,进而导致破骨细胞分化,激活破骨活性<sup>[27]</sup>。Rap1 对骨吸收功能至关重要,选择性抑制其在成熟破骨细胞中的表达可延缓病理性骨丢失<sup>[28]</sup>,研究认为其通过二磷酸鸟苷(GDP)和有活性三磷酸鸟苷(GTP)两种结合构象之间转换,起到分子开关的作用,下游可涉及 PI3K/Akt, p38 MAPK 等通路影响骨代谢。活化 PI3K/Akt 信号通路能刺激成骨细胞的增殖和分化,同时也能抑制细胞凋亡<sup>[29]</sup>。研究发现活化的 MAPK 在增加成骨细胞生成、减少破骨细胞分化、改善 OP 方面具有重要作用<sup>[30-32]</sup>。甲状腺激素通路可通过影响成骨细胞和破骨细胞增殖分化两方面影响 OP 的进展<sup>[33-34]</sup>。说明骨碎补可通过直接或间接靶点介导的多个主流信号通路网络多靶点、多层次作用于 OP<sup>[35-38]</sup>。进一步说明了骨碎补治疗 OP 的优势和较大的新药研发潜力,但其具体调节机制还需进一步实验验证。

由于中药成分的复杂性及实验研究方法的局限性,目前还缺乏骨碎补诸多成分作用于这些靶点及其单独治疗 OP 有效性的相关研究报告,而本研究利用网络药理学技术首次破译了骨碎补潜在活性成分可通过多靶点、多途径、多系统作用于 OP 的关键分子机制,显示出骨碎补治疗 OP 的整体性特征。网络药理学在药物一目标识别,发现先导化合物,作用机制研究和临床前研究药物疗效和安全性评估等生命科学领域有广泛的应用价值,通过网络药理学可预测出中药抗骨质疏松的相关化合物和潜在治疗靶标,分析出主要信号通路或途径,后续可经过分子对接模拟,可过滤有效化学成分,而筛选得到的高分药用成分可为建立多指标定量指纹图谱,完善复方成分质量评价提供科学实用的依据,为后续相关研究提供基础。

#### [参考文献]

[1] Rachner T D, Khosla S, Hofbauer L C. Osteoporosis: now and the future [J]. *Lancet*, 2011, 377 (9773): 1276-1287.  
[2] Twinkle G, Nilanjan D, Sabiha I. The prevention and therapy of osteoporosis: a review on mmerging trends from hormonal therapy to synthetic drugs to plant-based bioactives [J]. *J Diet Suppl*, 2018, doi:

10.1080/19390211.2018.1472715.  
[3] JIA M, NIE Y, CAO D P, et al. Potential antiosteoporotic agents from plants: a comprehensive review [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi:10.1155/2012/364604.  
[4] 吴慧平,陈建伟,许婷婷,等.骨碎补与夜交藤组合物对 $\alpha$ -糖苷酶活性的影响[J].*中国实验方剂学杂志*, 2012,18(5):181-184.  
[5] 陈云刚,谭国庆,任维龙,等.骨碎补含药血清经 wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33 (6): 830-836.  
[6] 薛海鹏,刘国岩,吴燕,等.骨碎补促进骨髓间充质干细胞增殖及成骨分化[J].*中国矫形外科杂志*, 2018, 26(11):1035-1040.  
[7] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbalmedicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6(1):13.  
[8] LIU H, WANG J, ZHOU W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: an example using licorice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(3):773-793.  
[9] XU X, ZHANG W X, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13 (12): 6964-6982.  
[10] LI J, ZHAO P, LI Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula BufeI Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2015,doi: 10.1038/srep15290.  
[11] WANG S, WANG H, LU Y. Tianfoshen oral liquid: a CFDA approved clinical traditional Chinese medicine, normalizes major cellular pathways disordered during colorectal carcinogenesis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 14549.  
[12] WANG Y L, Bryant S H, CHENG T, et al. Pubchem bioassay: 2017 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1):955-963.  
[13] Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, et al. Swiss target prediction;a web server for target prediction of bioactive small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42 (Web1):32-38.  
[14] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003,13(11):2498-2504.  
[15] Hamosh A, Scott A F, Amberger J, et al. Online mendelian inheritance in man ( omim ), a knowledgebase of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*,2001,30(1):52-55.

- [16] Szklarczyk D, Morris J H, Cook H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible [ J ]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1):D362-D368.
- [17] TANG Y, LI M, WANG J, et al. CytoNCA: a cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks [ J ]. *Biosystems*, 2015, 127:67-72.
- [18] LI S, ZHANG Z Q, WU L J, et al. Understanding zheng in traditional Chinese medicine in the context of neuro-endocrine-immune network [ J ]. *IET Syst Biol*, 2007, 1(1):51-60.
- [19] WANG Y, LIU Z, LI C, et al. Drug target prediction based on the herbs components: the study on the multitargets pharmacological mechanism of qishenkeli acting on the coronary heart disease [ J ]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012(2):e698531.
- [20] WEI M, YANG Z, LI P, et al. Anti-osteoporosis activity of naringin in the retinoic acid-induced osteoporosis model [ J ]. *Am J Chin Med*, 2007, 35(4):663-667.
- [21] LI L, ZENG Z, CAI G. Comparison of neoreioictrin and naringin on proliferation and osteogenic differentiation in MC3T3-E1 [ J ]. *Phytomedicine*, 2011, 18(11):985-989.
- [22] Albers J, Keller J, Baranowsky A, et al. Canonical Wnt signaling inhibits osteoclastogenesis independent of osteoprotegerin [ J ]. *J Cell Biol*, 2013, 200(4):537-549.
- [23] WU Q, ZHONG Z M, PAN Y, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in postmenopausal osteoporosis [ J ]. *Med Sci Monit*, 2015, 21:2428-2432.
- [24] Manolagas S C. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis [ J ]. *Endocr Rev*, 2010, 31(3):266-300.
- [25] Ambrogini E, Almeida M, Martin-Millan M, et al. Foxo-mediated defense against oxidative stress in osteoblasts is indispensable for skeletal homeostasis in mice [ J ]. *Cell Metab*, 2010, 11(2):136-146.
- [26] Manolagas S C, Maria A. Gone with the Wnts: beta-catenin, T-cell factor, forkhead box O, and oxidative stress in age-dependent diseases of bone, lipid, and glucose metabolism [ J ]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(11):2605-2614.
- [27] CHOU C W, Chiang T I, CHANG I C, et al. Expression levels of estrogen receptor  $\alpha$  mRNA in peripheral blood cells are an independent biomarker for postmenopausal osteoporosis [ J ]. *BBA Clin*, 2016, 5:124-129.
- [28] ZOU W, Izawa T, ZHU T, et al. Talin1 and rap1 are critical for osteoclast function [ J ]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(4):830-844.
- [29] XI J C, ZANG H Y, GUO L X, et al. The PI3K/AKT cell signaling pathway is involved in regulation of osteoporosis [ J ]. *J Recept Res*, 2015, 35(6):640-645.
- [30] Hye K, Myung-Gyou K, Kang-Hyun L. Osteogenic activity of collagen peptide via ERK/MAPK pathway mediated boosting of collagen synthesis and its therapeutic efficacy in osteoporotic bone by back-scattered electron imaging and microarchitecture analysis [ J ]. *Molecules*, 2013, 18(12):15474-15489.
- [31] LI G, WANG M, HAO L, et al. Angiotensin II induces mitochondrial dysfunction and promotes apoptosis via JNK signalling pathway in primary mouse calvaria osteoblast [ J ]. *Arch Oral Biol*, 2014, 59(5):513-523.
- [32] Choi S W, Son Y J, Yun J M, et al. Fisetin inhibits osteoclast differentiation via downregulation of p38 and c-Fos-NFATc1 signaling pathways [ J ]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012(6):e810563.
- [33] Britto J M. Osteoblasts mediate thyroid hormone stimulation of osteoclastic bone resorption [ J ]. *Endocrinology*, 1994, 134(1):169-176.
- [34] Cray J J, Kameron K, Weinberg S M, et al. Effects of thyroxine exposure on osteogenesis in mouse calvarial pre-osteoblasts [ J ]. *PLoS One*, 2013, 8(7):e69067.
- [35] WU J B, Fong Y C, Tsai H Y, et al. Naringin-induced bone morphogenetic protein-2 expression via PI3K, Akt, c-Fos/c-Jun and AP-1 pathway in osteoblasts [ J ]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 588(2/3):333-341.
- [36] SONG N, ZHAO Z, MA X, et al. Naringin promotes fracture healing through stimulation of angiogenesis by regulating the VEGF/VEGFR-2 signaling pathway in osteoporotic rats [ J ]. *Chem Biol Interact*, 2016, doi: 10.1016/j.cbi.2016.10.020.
- [37] LIU M, LI Y, YANG S T. Effects of naringin on the proliferation and osteogenic differentiation of human amniotic fluid-derived stem cells [ J ]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(1):276-284.
- [38] GUO D, WANG J, WANG X, et al. Double directional adjusting estrogenic effect of naringin from *Rhizoma drynariae* (Gusuibu) [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 138(2):451-457.

[责任编辑 孙丛丛]