

· 药物研究 ·

二仙汤防治骨质疏松症的网络药理学研究

王明亮^{1,2} 闫小龙³ 田思胜^{1*}

1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

2. 日照市中医医院, 山东 日照 276800

3. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014

中图分类号: R274.9 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 04-0570-08

摘要: 目的 通过网络药理学分析二仙汤防治骨质疏松症(osteoporosis, OP)的关键靶点,探讨二仙汤防治 OP 的可能机制及信号通路。方法 检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP),筛选二仙汤的入血活性成分并预测其作用靶点;利用基因表达数据库(GEO)获取 GSE56116 基因芯片原始数据,分析二仙汤的治疗靶点;从疾病相关数据库检索已知 OP 致病基因;通过 STRING 和 Cytoscape 软件映射获得二仙汤治疗 OP 的关键靶点,建立关键靶点的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,并进行 KEGG 和 GO 富集分析揭示其可能的作用机制。结果 通过检索 TCMSP 获得符合筛选标准的二仙汤活性成分 84 个,21 个活性成分预测出 145 个作用靶点;通过 R 语言对基因芯片进行分析筛选出 84 个可能致病靶点,通过疾病相关数据平台获得 691 个 OP 相关致病靶点,利用 STRING 和 Cytoscape 构建 PPI 网络筛选出 40 个关键作用靶点和 9 个核心作用靶点。KEGG 和 GO 分析结果显示,二仙汤治疗 OP 的关键靶点主要富集在 RNA 聚合酶 II 启动子对转录的正向调节、一氧化氮合酶等生物学进程,主要富集的信号通路为 TNF 信号通路、低氧诱导因子 1 信号通路和雌激素信号通路等。结论 通过网络药理学方法阐释二仙汤可能通过 TNF 信号通路和 HIF-1 信号通路治疗 OP,本研究为揭开中药复方治疗疾病的作用机制提供了科学的方法。

关键词: 网络药理学;二仙汤;骨质疏松症;TNF 信号通路;HIF-1 信号通路

Study on network pharmacology of Erxian decoction in the prevention and treatment of osteoporosis

WANG Mingliang^{1,2}, YAN Xiaolong³, TIAN Sisheng^{1*}

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Rizhao 276800, China

3. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

* Corresponding author: TIAN Sisheng, Email: 13854121893@163.com

Abstract: Objective To study the potential mechanism and signal pathway of Erxian Decoction in preventing and treating osteoporosis using the method of network pharmacology. **Methods** TCMSP, Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, was used to screen the active components in blood of Erxian decoction and to predict the target of active components. The gene chip of GSE56116 was obtained from the expression database (GEO) to predict the target genes related to Erxian decoction, meanwhile, the known genes related to OP were retrieved from six public databases of disease-related gene. The key targets of Erxian decoction in the treatment of OP were obtained by STRING and Cytoscape software mapping, and the protein-protein interaction (PPI) network of key targets was established. KEGG and GO enrichment analysis of the key targets were used to reveal the mechanism of Erxian decoction treating OP. **Results** 84 active components of Erxian decoction were obtained by searching TCMSP, and 145 targets were predicted by 21 active components. 84 possible pathogenic targets were analyzed and screened by R language. 691 OP related targets were obtained through the public database platform of disease-related genes. STRING and Cytoscape were used to construct PPI networks and 40 key targets and 9 core targets were selected. The result of KEGG and GO analysis showed that the key targets of Erxian decoction in the treatment of OP were mainly enriched in the positive regulation of transcription by RNA polymerase II promoter and the biological processes such as nitric oxide synthase. The main enriched signal

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(2019-0802)

* 通信作者: 田思胜, Email: 13854121893@163.com

pathways were TNF signal pathway, hypoxia inducible factor 1 signal pathway and estrogen signaling pathway. **Conclusion** Through the method of network pharmacology, it is explained that Erxian decoction may treat OP, through TNF signal pathway and HIF-1 signal pathway. This study provides a scientific method for uncovering the mechanism of traditional Chinese medicine compound in the treatment of diseases.

Key words: network pharmacology; erxian decoction; osteoporosis; TNF signal pathway; HIF-1 signal pathway

随着世界人口老龄化程度的增高,骨质疏松症(osteoporosis, OP)的发病率也在逐年上升^[1]。中医理论认为,肾藏精、主骨生髓,骨的生长发育有赖于肾中精气的滋养与推动^[2-3],肾精不足则骨缺乏滋养。二仙汤是临床上治疗 OP 的经典名方^[4],其中仙茅、淫羊藿、巴戟天温补肾阳,滋补肾精;佐以知母、黄柏滋补肾阴、泻肾火;当归养血活血,调理冲任为使药^[5],全方补肾壮阳药与滋阴泻火药并用,适合用于阴阳俱虚的复杂症候^[6]。临床和动物实验均证实,二仙汤能有效防治 OP,改善 OP 患者以及 OP 模型动物骨密度、骨小梁厚度^[7-8],提高体外培养的成骨细胞增殖能力和骨髓间充质干细胞的成骨转化^[9]。但是,中药复方化学成分多、结构复杂以及有效成分不确定等因素的存在,使中药复方作用机理的研究受到了限制,二仙汤治疗 OP 的具体分子机制尚未清楚。网络药理学是在系统生物学与计算机技术基础上通过网络分析,系统综合观察药物对疾病的干预与影响,与中医学整体观念理论相契合,能够对中药复方及方中化学成分进行系统分析^[10-12]。本研究应用网络药理学方法,对中药经典名方二仙汤治疗 OP 的分子机制进行预测,为中药复方治疗机制的研究提供科学可靠的方法。

1 材料和方法

1.1 二仙汤中活性成分筛选和靶点预测

中药系统药理学数据库及分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, 版本 2.3, <http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)能分析所含化合物的药物动力学(ADME: absorption, distribution, metabolism, excretion)的相关参数,包括口服吸收利用度(oral bioavailability, OB)、药物相似性(drug-likeness, DL)、Caco-2 细胞渗透性、半衰期、血脑屏障、脂水分布系数等^[13]。本研究分析二仙汤有效活性成分时,设定筛选条件为 OB ≥ 30%, DL ≥ 0.18;同时应用 TCMSP 预测活性成分的作用靶点^[14]。

1.2 二仙汤“活性成分-靶点网络”的构建

将获得的二仙汤活性成分、活性成分作用靶点

导入 Cytoscape(版本 3.7.1, <https://cytoscape.org/>)软件中,构建“活性成分-靶点网络”,应用 network analyzer 计算网络中节点参数以分析二仙汤中重要的成分和靶点。

1.3 OP 发病相关基因筛选

本研究以“Osteoporosis”为关键词检索网络已知公共疾病靶点数据库,包括 TTD (Therapeutic Target Database, 更新至 2017.09.15, <http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>); DrugBank 数据库(版本 5.1.4, <https://www.drugbank.ca/>); OMIM 数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, <https://www.omim.org/>); GAD databases (Genetic Association Database, 更新至 2014.08.18, <https://geneticassociationdb.nih.gov/>); PharmGKB 数据库(<https://www.pharmgkb.org/>); DisGeNET 数据库(版本 6.0, <http://www.disgenet.org/home/>),删除各数据库中重复靶点,获得已知的 OP 发病靶点。

GEO 数据库(Gene Expression Omnibus, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)是一个由基因表达数据、芯片和微阵列组成的公共功能基因组数据库。以“Osteoporosis”为关键词检索 GEO 数据库,筛选获得 GSE56116 数据集,包含肾阴虚组样品 4 个(GSM1356155, GSM1356157, GSM1356158, GSM1356161),肾阳虚组样本 3 个(GSM1356160, GSM1356163, GSM1356164),非肾虚组样本 3 个(GSM1356156, GSM1356162, GSM1356165),对照组样品 3 个(GSM1356159, GSM1356166, GSM1356167)。利用 R 语言 limma 包分析芯片数据的差异基因,筛选条件设定为 P 值 < 0.05, 差异倍数(fold change, FC) > 2。

1.4 PPI 网络构建

构建蛋白质与蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,有助于挖掘核心调控基因、深入了解疾病的发生和发展机制。本研究利用 STRING 数据库(版本 11.0, <https://string-db.org/>)^[15]对 PPI 网络进行预测,综合得分大于 0.4 的交互作用被认为具有统计学意义。为进一步分析网络中核心靶点,采用 Cytoscape 进行网络拓扑分析,运用自由度(degree, DC)、介度中心性

(betweenness centrality, BC)、接近中心性 (closeness centrality, CC) 等指标进行筛选,其中 DC 值、BC 值、CC 值大于所有节点对应平均值的节点为网络中的重要节点。

1.5 关键作用靶点 KEGG 和 GO 富集分析

注释、可视化和集成发现数据库 (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, DAVID, 版本 6.8, <https://david.ncifcrf.gov/>)^[16] 是一个在线生物信息数据库,用于从高通量实验技术生成的大规模分子数据集中了解高级功能^[17] 和注释基因的生物学过程^[18]。为了分析关键靶点的功能,采用 DAVID 数据库进行功能富集分析。

2 结果

2.1 二仙汤活性成分筛选与 ADME 分析

通过 TCMSP 数据库筛选二仙汤中 6 味中药入血的活性成分,其中仙茅 7 个,淫羊藿 23 个,当归 2 个,巴戟天 20 个,黄柏 27 个,知母 15 个,删除重复成分,得到 84 个活性成分。二仙汤各味中药中符合筛选标准的成分比例图,见图 1。

2.2 二仙汤“活性成分-靶点网络”构建

应用 Cytoscape 构建二仙汤活性成分和作用靶点网络以寻找网络中的关键节点,确定二仙汤有

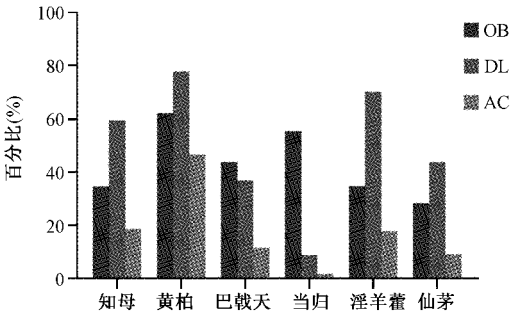


图 1 二仙汤活性成分 ADME 参数分布
Fig. 1 ADME parameter distribution of active components in Erxian decoction

效成分中发挥重要作用的成分和靶点。结果如图 2 和表 1 所示,构建的网络中,共有 84 个活性成分,21 个活性成分采用 TCMSP 预测出 145 个作用靶点。

红色菱形代表中药,绿色倒三角代表预测出靶点的活性成分,绿色正方形代表未预测出靶点的活性成分,蓝色圆形代表作用靶点,圆形大小代表 degree 值的大小,圆形越大表示 degree 值越大

2.3 OP 相关致病靶点

疾病相关数据库中 GAD、TTD、OMIM、DrugBank、PharmGKB 和 DisGeNET 分别检索到 275、27、94、48、5 和 426 个靶点,去除重复项,共纳入 691 个与 OP 发生发展相关的已知靶点。

表 1 预测出靶点活性成分的基本信息

Table 1 Basic information for predicting target active components

序号	MOL ID	英文名	中文名	靶点数目
1	MOL001677	asperglaucide	金色酰胺醇酯	8
2	MOL001792	DFV	甘草素	24
3	MOL000631	coumaroyltyramine	对香豆酰酪胺	18
4	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	穿贝海绵甾醇	5
5	MOL001645	Linoleyl acetate	乙酸亚油醇酯	8
6	MOL000546	diosgenin	薯蓣皂苷配基	13
7	MOL001510	24-epicampesterol	22,23 二氢菜子甾醇	4
8	MOL000483	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide	N-顺式-对羟基苯乙基阿魏酰胺	18
9	MOL000098	quercetin	槲皮素	87
10	MOL000449	Stigmasterol	豆甾醇	44
11	MOL000006	luteolin	木樨草素	41
12	MOL000422	kaempferol	山柰酚	55
13	MOL001458	coptisine	黄连碱	20
14	MOL001454	berberine	黄连素	29
15	MOL000790	Isocorypalmine	四氢非洲防己碱	53
16	MOL001607	ZINC03982454	四氢非洲防己碱	4
17	MOL000787	Fumarine	原阿片碱	44
18	MOL000785	palmatine	盐酸巴马汀	29
19	MOL000622	Magnograndiolide	广玉兰内酯	5
20	MOL000358	beta-sitosterol	β-谷甾醇	51
21	MOL000359	sitosterol	谷甾醇	6

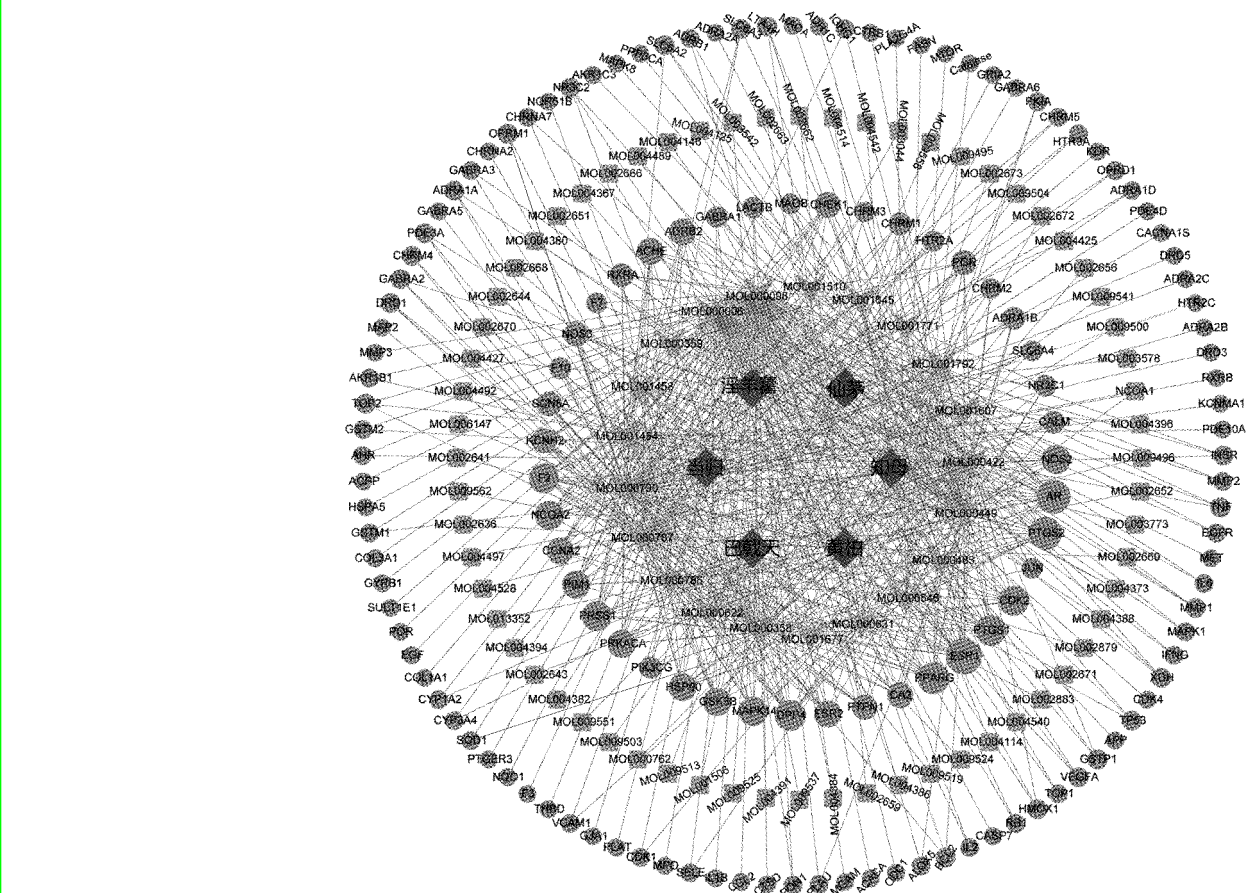


图 2 中药-活性成分-靶点网络图

Fig.2 Traditional Chinese Medicine-active component-target network diagram

利用 limma 包分析 GEO 芯片数据库中 GSE56116 数据集,共找出 84 个变化最为明显的基因,其中上调表达的有 70 个,下调表达的有 14 个,

这些基因可能与 OP 致病密切相关。差异表达基因见聚类图(图 3 A)和火山图(图 3B)所示。

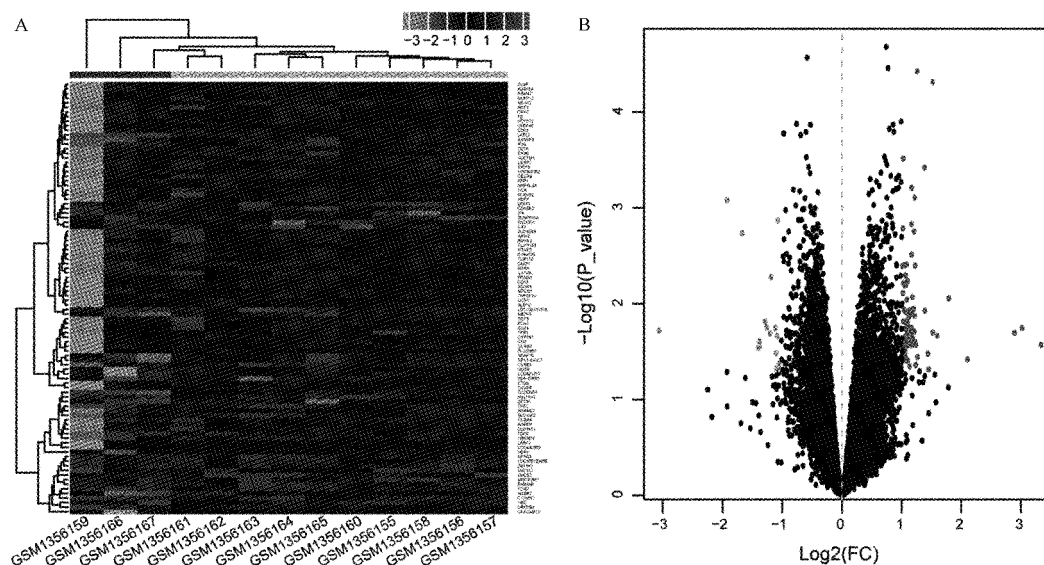


图 3 基于 GSE56116 芯片 OP 致病靶点的聚类图和火山图

Fig.3 Clustering map and volcano map of OP pathogenic targets based on GSE56116 chip

2.4 PPI 网络的构建

通过二仙汤活性成分作用靶点与 OP 致病靶点直接映射,获得关键作用靶点 40 个,如图 4 所示。采用 String 构建关键靶点的 PPI 网络,结果如图 5 所示,共有 40 个节点,278 个相互作用关系。通过 DC 值、BC 值和 CC 值进行网络拓扑筛选,获得核心节点 9 个,见表 2。

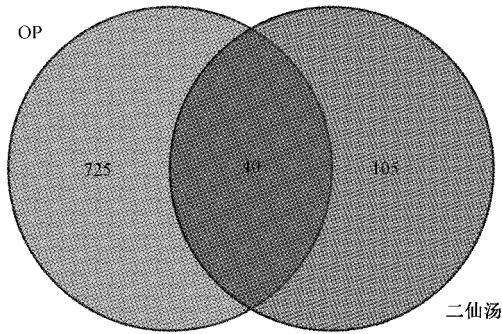


图 4 OP 关键靶点的筛选图

Fig.4 Screening of OP key targets

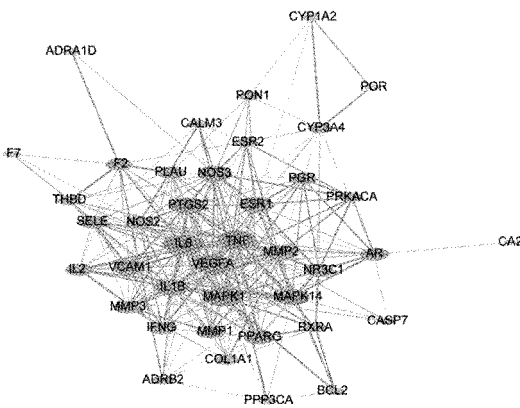


图 5 关键靶点蛋白质相互作用网络

Fig.5 Key target protein interaction network

图 5 中,节点的大小代表节点的自由度

(degree),节点越大表示 degree 值越大;线条表示各个靶点间的相互作用关系,线条粗细表示相互作用关系的紧密程度,线条越粗表示相互作用越紧密。

2.5 关键靶点的 KEGG 和 GO 富集分析

应用 DAVID 对上述关键基因进行功能富集分析。GO 分析结果表明,关键基因富集的生物学过程变化在 RNA 聚合酶 II 启动子对转录的正调节作用 (positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter)、一氧化氮生物合成过程的正调控 (positive regulation of nitric oxide biosynthetic process)、序列特异性结合转录因子活性的正调控 (positive regulation of sequence-specific DNA binding transcription factor activity) 等,见图 6 A。关键基因富集细胞组分主要为细胞外间隙,胞外区,核浆和质膜等,见图 6B。分子功能主要富集在酶结合 (enzyme binding)、类固醇激素受体活性 (steroid hormone receptor activity)、甾体结合 (steroid binding),见图 6C。KEGG 通路分析结果所示,关键靶点涉及的非疾病命名信号通路主要富集在 TNF 信号通路 (TNF signaling pathway),低氧诱导因子 1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway),雌激素信号通路 (Estrogen signaling pathway),血管内皮生长因子信号通路 (VEGF signaling pathway) 等通路过程,见图 6D 和表 3。

KEGG 分析结果如表 3 所示,TNF 信号通路富集基因数目及 *P* 值均较为显著,分析其可能为二仙汤治疗 OP 的重要途径。其具体作用机制可能是通过调控细胞凋亡、炎症活动、细胞外基质重塑、细胞粘附和细胞存活等过程,发挥治疗 OP 的作用,见图 7。

表 2 二仙汤治疗 OP 核心靶点的基本信息

Table 2 Basic information of Erxian decoction in treating OP core targets

序号	Uniprot ID	靶点简称	靶点全称	靶点中文名
1	P00734	F2	Thrombin	凝血酶
2	P29474	NOS3	Nitric-oxide synthase	一氧化氮合酶
3	P03372	ESR1	Estrogen receptor	雌激素受体
4	P05231	IL6	Interleukin-6	白介素 6
5	P01375	TNF	Tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子
6	P15692	VEGFA	Vascular endothelial growth factor A	血管内皮生长因子 A
7	P28482	MAPK1	Mitogen-activated protein kinase 1	丝裂原活化蛋白激酶 1
8	Q16539	MAPK14	Mitogen-activated protein kinase 14	丝裂原活化蛋白激酶 14
9	P10275	AR	Androgen receptor	雄激素受体

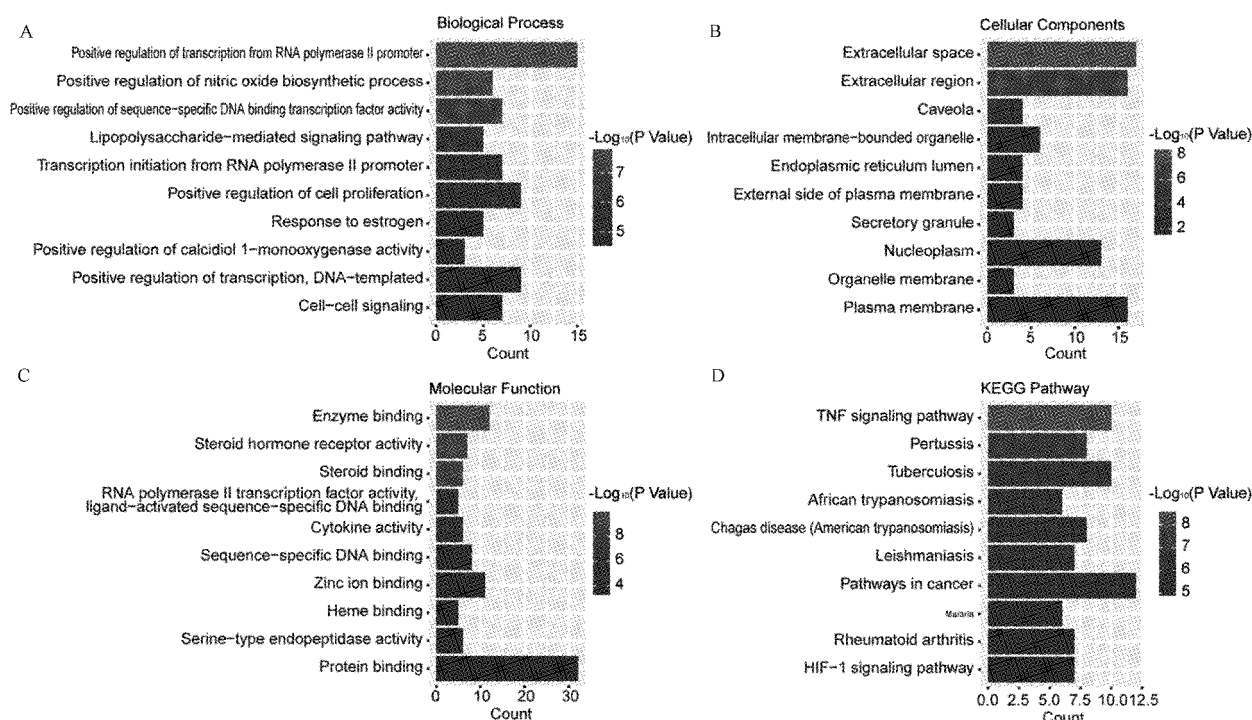


图6 关键靶点的富集分析图

注: A 生物学进程, B 细胞组分, C 分子功能, D KEGG 信号通路。

Fig.6 Enrichment analysis plot of key targets

表3 OP 相关基因的 KEGG 分析

Table 3 KEGG analysis of OP-related genes

通路	P 值	富集基因
TNF 信号转导通路	3.29E ⁻⁰⁹	VCAM1, MAPK1, IL6, TNF, PTGS2, MAPK14, CASP7, IL1B, MMP3, SELE
低氧诱导因子 1 信号通路	1.03E ⁻⁰⁵	MAPK1, IL6, BCL2, VEGFA, IFNG, NOS3, NOS2
雌激素信号通路	1.24E ⁻⁰⁵	MAPK1, ESR1, PRKACA, NOS3, ESR2, MMP2, CALM1
血管内皮生长因子信号通路	1.63E ⁻⁰⁵	MAPK1, PTGS2, MAPK14, VEGFA, NOS3, PPP3CA
NF-kappa B 信号通路	9.13E ⁻⁰⁵	VCAM1, TNF, PTGS2, BCL2, IL1B, PLA2
NOD 样受体信号通路	2.13E ⁻⁰⁴	MAPK1, IL6, TNF, MAPK14, IL1B
钙信号通路	3.39E ⁻⁰⁴	ADRB2, PRKACA, NOS3, PPP3CA, NOS2, ADRA1D, CALM1

3 讨论

由于全球人口老龄化,估计 OP 的发病率将在未来 20 年翻一番,给公共卫生服务造成沉重的负担^[19]。目前西药治疗 OP 疗效显著^[20],但是药物治疗的不良反应和长期依从性差的问题未得到有效解决^[21]。中草药治疗骨病已有几千年的历史,具有不

良反应少,疗效显著的特点,受到越来越多的应用^[22],但是具体的分子机制尚未清楚。

本研究基于网络药理学的方法,从 TCMSP 数据库中筛选出二仙汤的活性成分及作用靶点,检索 OP 的致病靶点,构建 PPI 网络并映射核心靶点,进行核心靶点的 KEGG 分析和 GO 富集分析,结果显示, TNF 信号通路、低氧因子诱导因子 1 信号通路和雌激素受体信号通路可能为二仙汤治疗 OP 的关键途径。

骨髓间充质干细胞是一种成体干细胞,具有与其他组织相同的遗传基础^[23],BMSCs 的增殖和分化是成骨的关键^[24]。炎症细胞因子如肿瘤坏死因子(TNF-α)、白细胞介素 1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)和干扰素-γ(IFN-γ)也可影响骨髓间充质干细胞的增殖和成骨分化^[25]。TNF-α 是一种重要的炎症细胞因子,通过激活多种信号通路和分子,调节细胞的增殖、分化和凋亡^[26]。Lu 等^[27]证明,由于转录因子核因子 κ-α(NF-κB)的激活, TNF-α 抑制了成骨细胞与前体细胞的分化,降低了 RUNX 2 和成骨细胞相关转录因子(Osterix)的表达,抑制了维生素 D 刺激的转录。Hess 等^[28]研究表明, TNF-α 通过 NF-κB 信号通路促进 BMSCs 中 BMP-2 的表达,从而促进细胞外基质的矿物质的化。

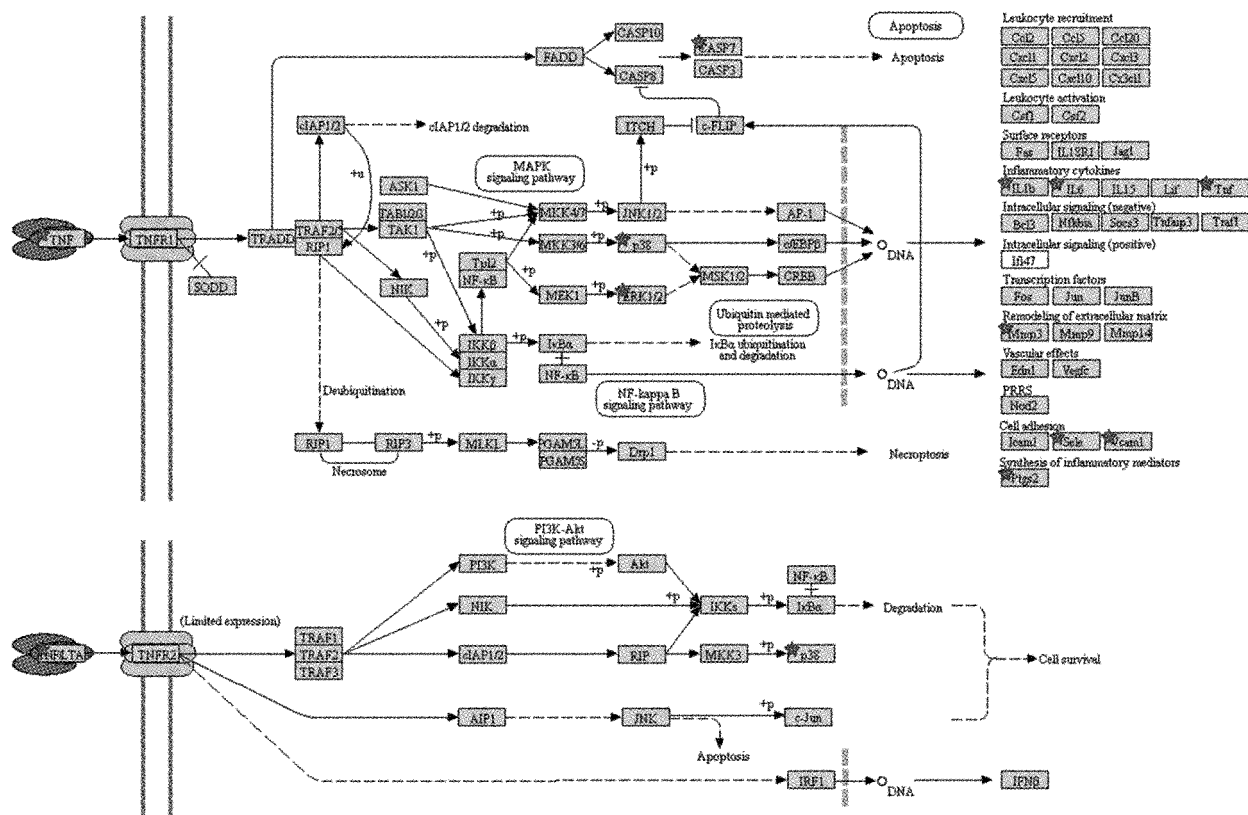


图7 TNF信号通路中富集基因具体作用机制图

Fig.7 Specific mechanism of enriched genes in TNF signaling pathway

缺氧对多种组织和细胞类型的影响主要由 HIF-1 介导^[29],其中 HIF-1 α 在骨发育和再生过程中起着重要作用。HIF-1 α 通路是适应低氧反应的中枢调节因子,这一途径调控血管生成基因如 VEGF、血管生成素等^[30]。骨髓腔和骨髓生长板的骨内膜区都是缺氧区,HIF-1 α 信号通路控制着这些区域的软骨细胞和成骨细胞的功能^[31]。研究结果表明,在发育中的成骨细胞中激活 HIF-1 α 通路,增强了 VEGF 介导的骨血管形成,增加了骨的生成^[32]。

4 结论

基于网络药理学的对临床常用中药复方二仙汤治疗 OP 的分子机制进行了预测,揭示了二仙汤可能是通过 TNF 信号通路和 HIF-1 信号通路治疗 OP,为中药复方的推广应用以及中医药现代化研究提供了理论依据。

【参考文献】

[1] 吴海洋, 索欢, 王平. 绝经后骨质疏松症的临床中药治疗进展[J]. 中国骨质疏松杂志 2015, 21(2): 241-244.
[2] 刘爽, 张玉莲, 毕聪聪, 等. 补肾法中药对去卵巢大鼠骨质疏松骨代谢指标的影响[J]. 中国老年学杂志 2017, 37(3):

529-530.

[3] 杜昕楠, 刘维. 补肾活血中药治疗原发性骨质疏松症临床研究进展[J]. 河北中医 2016, 38(5): 796-800.
[4] 李娟, 袁婷婷, 何勇静, 等. 中药方剂防治骨质疏松症的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志 2014, 20(6): 233-238.
[5] 李刚, 王建伟. 补肾中药治疗骨质疏松症的研究[J]. 长春中医药大学学报 2011, 27(2): 213-215.
[6] 陈世海, 谢兴文, 李建国, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路在补肾中药靶向治疗骨质疏松症中应用的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(4): 559-563.
[7] 周兴茂, 吴俊哲, 王伟群, 等. 二仙汤治疗脊髓损伤后骨质疏松的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志 2015, 21(2): 223-227.
[8] 刘波, 王莹, 谢珍, 等. 二仙汤及其拆方含药血清对成骨细胞分化的影响[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 22-27.
[9] Cao H, Zhang Y, Qian W, et al. Effect of icariin on fracture healing in an ovariectomized rat model of osteoporosis[J]. Exp Therapeut Med, 2017, 13(5): 2399.
[10] Han YQ, Jun XU, Zhang XM, et al. Network pharmacology-based study on mechanism of Yuanhu Zhitong Dropping Pills in the treatment of primary dysmenorrhea[J]. Acta Pharmaceutica Sinica 2016, 51(3): 380-387.
[11] Hua Y, Chen J, Xue X, et al. A Systematic prediction of multiple drug-target interactions from chemical, genomic, and pharmacological data[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37608.
[12] Zhang YY, Chen YY, Wang Z, et al. Modular deconstruction of

- complex drug-disease networks[J]. Chin Pharmacol Bull, 2013, 29(11): 1499-1502.
- [13] Ru J, Peng L, Wang J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6(1): 13.
- [14] Shi C, Qin GU, Shao J, et al. Chinese character operating system of traditional Chinese medicine and pharmacology (TCMP) [J]. Medinfo Medinfo, 1995, 8 (Pt 2): 1123.
- [15] Andrea F, Damian S, Sune F, et al. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue): D808-D815.
- [16] Da WH, Sherman BT, Tan Q, et al. The DAVID gene functional classification tool: a novel biological module-centric algorithm to functionally analyze large gene lists[J]. Genome Biol, 2007, 8(9): R183.
- [17] Kanehisa M. The KEGG database[J]. Novartis Found Symp, 2002, 247(247): 91-101.
- [18] Zeng E, Ding C, Mathee K, et al. Gene function prediction and functional network: the role of gene ontology[J]. Intellig Syst Refer Library 2012, 25(2): 123-162.
- [19] Tara C, Frances D. Osteoporosis and fracture risk in older people[J]. Clin Med, 2014, 14(2): 187-191.
- [20] Hamdy RC, Baim S, Broy SB, et al. Algorithm for the management of osteoporosis [J]. South Med J, 2010, 103(10): 1009.
- [21] Green J, Reeves CG, Watson J, et al. Oral bisphosphonates and risk of cancer of oesophagus, stomach, and colorectum: case-control analysis within UK primary care cohort[J]. BMJ Br Med J, 2010, 341(7772): 545.
- [22] Wang WL, Sheu SY, Chen YS, et al. Enhanced bone tissue regeneration by porous gelatin composites loaded with the Chinese herbal decoction danggui buxue tang[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e131999.
- [23] Wang X, Xi WC, Wang F. The beneficial effects of intracoronary autologous bone marrow stem cell transfer as an adjunct to percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction [J]. Biotechnol Lett, 2014, 36(11): 2163-2168.
- [24] Kagami H, Agata H, Tojo A. Bone marrow stromal cells (bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells) for bone tissue engineering: Basic science to clinical translation[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2011, 43(3): 286-289.
- [25] Tan J, Xu X, Tong Z, et al. Decreased osteogenesis of adult mesenchymal stem cells by reactive oxygen species under cyclic stretch: a possible mechanism of age related osteoporosis [J]. Bone Res, 2015, 3(1): 15003.
- [26] Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease [J]. J Pathol, 2010, 214(2): 149-160.
- [27] Lu X, Farmer P, Rubin J, et al. Integration of the Nf-kappaB p65 subunit into the vitamin D receptor transcriptional complex: identification of p65 domains that inhibit 1,25-dihydroxyvitamin D3-stimulated transcription[J]. J Cell Biochem, 2004, 92(4): 833-848.
- [28] Hess K, Ushmorov A, Fiedler J, et al. TNFalpha promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by triggering the NF-kappaB signaling pathway[J]. Bone, 2009, 45(2): 367-376.
- [29] Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine[J]. Cell, 2012, 148(3): 399-408.
- [30] Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1[J]. Nat Med, 2004, 10(8): 858-864.
- [31] Schipani E, Ryan HE, Didrickson S, et al. Hypoxia in cartilage: HIF-1alpha is essential for chondrocyte growth arrest and survival [J]. Genes Dev, 2001, 15(21): 2865-2876.
- [32] Ying W, Chao W, Lianfu D, et al. The hypoxia-inducible factor alpha pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development[J]. J Clin Invest, 2007, 117(6): 1616-1626.

(收稿日期: 2019-07-15;修回日期: 2019-10-26)

(上接第 563 页)

- [10] Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk [J]. Lancet, 2002, 359: 1929-1936.
- [11] Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, et al. Diabetic patients have an increased risk of vertebral fractures independent of bone mineral density or diabetic complications [J]. J Bone Miner Res, 2009, 24: 702-709.
- [12] Kanazawa I, Sugimoto T. Diabetes mellitus-induced bone fragility [J]. Intern Med, 2018, 57(19): 2773-2785.
- [13] Masud T, Binkley N, Boonen S, et al. FRAX (®) Position Development Conference Members Official positions for FRAX (®) clinical regarding falls and frailty: can falls and frailty be used in FRAX (®)? From Joint Official Positions Development Conference of the International Society for Clinical Densitometry and International Osteoporosis Foundation on FRAX (®) [J]. J Clin Densitom, 2011, 14: 194-204.
- [14] de Liefde II, van der Klift M, de Laet CE, et al. Bone mineral density and fracture risk in type-2 diabetes mellitus: the Rotterdam Study [J]. Osteoporos Int, 2005, 16(12): 1713-1720.
- [15] Russo GT, Giandalia A, Romeo EL, et al. Fracture risk in type 2 diabetes: current perspectives and gender differences [J]. Int J Endocrinol, 2016, 2016: 1615735.
- [16] 覃浩然, 覃海飏, 李智斐, 等. 绝经后妇女定量 CT 法骨密度测量值与骨质疏松性脊柱脆性骨折相关性研究 [J]. 右江医学, 2019, 47(6): 423-426.
- [17] Leslie WD, Morin SN, Lix LM, et al. Does diabetes modify the effect of FRAX risk factors for predicting major osteoporotic and hip fracture? [J]. Osteoporos Int, 2014, 25(12): 2817-2824.
- [18] Leslie WD, Johansson H, McCloskey EV, et al. Comparison of methods for improving fracture risk assessment in diabetes: the manitoba BMD registry [J]. J Bone Miner Res, 2018, 33(11): 1923-1930.

(收稿日期: 2019-07-24;修回日期: 2019-09-30)