

· 论 著 ·

基于网络药理学与分子对接技术探讨六味地黄丸抗骨质疏松症的机制研究

温明韬¹ 梁学振¹ 李嘉程¹ 李刚^{1,2} 许波^{1*}

1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

2. 山东中医药大学附属医院显微骨科, 山东 济南 250014

中图分类号: R274.9 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 08-1129-07

摘要: **目的** 基于网络药理学及分子对接方法探讨六味地黄丸在治疗骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 过程中的有效成分及作用机制。**方法** 通过 TCMSP 数据库获得六味地黄丸组方的药物有效成分及其预测靶点; 利用疾病数据库筛选骨质疏松症相关疾病作用靶点; 将获得的关键靶点上传至 STRING 数据库完成 PPI 网络分析; 利用 DAVID 数据库完成关键靶点的富集分析; 通过 Auto Dock Vina 等软件完成化学有效药物成分与关键靶点的分析对接验证。**结果** 共获得六味地黄丸组方化学有效成分 69 个、药物靶点蛋白 128 个及药物与骨质疏松症共同相关靶点 81 个; 获得了 IL6、TP53、VEGFA、TNF、JUN、MAPK1、EGF、EGFR、ESR1、CAT 等 PPI 网络中的关键靶点。富集分析结果显示, 其通过参与细胞增殖与凋亡过程、药物代谢、雌激素反应调节与细胞抗缺氧、抗衰老等生物学进程, 调控 TNF、药物代谢过程、HIF-1、VEGF、雌激素调节等信号通路, 参与骨质疏松症的治疗过程; 分子对接结果显示, 调控网络中的关键靶点与相关有效成分之间具有较高的结合活性。**结论** 借助生物信息学手段和分子对接技术, 初步揭示了六味地黄丸抗骨质疏松症的作用机制, 为后续进一步的机制研究及实验验证提供了目标与思路。

关键词: 六味地黄丸; 骨质疏松症; 分子机制; 网络药理学; 分子对接

Study on anti-osteoporotic mechanism of Liuwei Dihuang Pills based on network pharmacology and molecular docking technology

WEN Mingtao¹, LIANG Xuezhen¹, LI Jiacheng¹, LI Gang^{1,2}, XU Bo^{1*}

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355

2. Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

* Corresponding author; XU Bo, Email: szyxubo@163.com

Abstract: **Objective** Based on network pharmacology and molecular docking method, the effective ingredients and mechanism of Liuwei Dihuang Pills in the treatment of osteoporosis were discussed. **Methods** Obtain the active ingredients of Liuwei Dihuang Pills and their predicted targets through the TCMSP database; Use the disease database to screen the targets of osteoporosis-related diseases; Upload the obtained key targets to the STRING database to complete the PPI network analysis; Use DAVID database to complete the enrichment analysis of key targets; Use Auto Dock Vina and other software to complete the analysis and docking verification of chemically effective pharmaceutical ingredients and key targets. **Results** A total of 69 chemical active ingredients in Liuwei Dihuang Pill formula, 128 drug target proteins, and 81 drug and osteoporosis common related targets were obtained. Key targets in the PPI network such as IL6, TP53, VEGFA, TNF, JUN, MAPK1, EGF, EGFR, ESR1, CAT, etc. have been obtained. Enrichment analysis result show that it regulates TNF signaling pathway, drug metabolism process signaling pathway, and HIF-1 signaling by participating in biological processes such as cell proliferation and apoptosis, drug metabolism, estrogen response regulation, and cell anti-anoxia and anti-aging. Pathways, VEGF signaling pathways, estrogen regulatory signaling pathways and other signaling pathways, which are involved in the treatment of osteoporosis. The result of molecular docking show that the key targets in the regulatory network have high binding activity with relevant active ingredients. **Conclusion** With the help of

基金项目: 国家自然科学基金 (81774333)

* 通信作者: 许波, Email: szyxubo@163.com

bioinformatics method and molecular docking technology, the anti-osteoporotic mechanism of Liuwei Dihuang Pills is initially revealed, which provides goals and ideas for subsequent further mechanism research and experimental verification.

Key words: Liuwei Dihuang Pills; osteoporosis; molecular mechanism; network pharmacology; molecular docking

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是指骨量减少、骨组织微结构破坏导致骨痛及并发脆性骨折的一种全身性代谢性骨病。据统计,全球 40 % 的绝经后妇女和 30 % 的男性都会发生 OP^[1]。在人口老龄化程度不断加剧的背景下,OP 的发病率逐年上升,我国 50 岁以下人群的 OP 发病率为 15 %~50 %,60 岁以上老年人 56%^[2],总患病率为 6.6 %~19.3 %,平均为 13 %^[3]。OP 导致的疼痛及继发的脆性骨折严重降低了患者的生活质量,已经成为了严重影响中老年人健康的慢性病之一。近年来众多学者从分子生物学角度研究中医药治疗 OP 的疗效并取得了显著进展,进一步证明了中医药在 OP 治疗过程中的积极作用。

《黄帝内经》记载:“骨者,肾之合也;髓者,精之所生也”。骨的正常生长发育与肾精的充盈密切相关,因此在临床中对于虚症骨病多采用补肾益精的治疗准则。六味地黄丸出自宋代钱乙《小儿药证直诀》,具有补肾滋阴的作用,被认为是肝肾阴虚证骨质疏松症的代表药物^[4]。

本研究旨在基于网络药理学和分子对接的方法下,通过数据分析及生物信息学理论的指导,筛选六味地黄丸治疗 OP 的化学有效成分及疾病相关靶点,并对治疗过程中的高相关性靶点富集分析,采用分子对接技术拟合药物有效成分与靶点蛋白分子间的结合活性,探讨六味地黄丸抗骨质疏松症的潜在有效成分及分子作用机制。

1 资料与方法

1.1 药物成分的获取和筛选

通过中药系统药理分析平台^[5] (TCMSP, <http://tcmsp.com/>),分别获得六味地黄丸组方中熟地黄、山药、山茱萸、茯苓、泽泻、牡丹皮的化学有效成分。根据毒物动力学参数 (ADME)^[6] 对上述成分进行筛选,定义筛选条件为药物口服利用度 $\geq 30\%$ 、药物相似度 ≥ 0.18 ^[7-8],并结合相关文献完善数据。

1.2 药物成分靶点预测及疾病靶点的获取

利用 TCMSP 数据库中药物有效成分靶点预测,获得上述 1.1 中获得的药物化学有效成分的作用靶点。完成 Uniprot 标准化转换后,获得化学有效成分

的预测靶点,使用网络可视化软件 Cytoscape 对活性成分及其作用靶点进行网络构建和网络特征分析,以明确六味地黄丸中活性成分与靶点的作用关系。

以“Osteoporosis”作为搜索词在 DisGeNET (<http://www.disgenet.org/>)、CTD (<http://ctdbase.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<http://www.omim.org/>)、PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org/>)、GAD (<https://geneticassociationdb.nih.gov/>)、KEGG (<https://www.kegg.jp/>)等与疾病靶点相关的数据库中进行检索及筛选,综合数据库数据并保留唯一值,获得已知的 OP 疾病相关靶点。

1.3 PPI 网络构建和分析

将关键靶点导入 STRING^[9] (<http://string-db.org/>) 蛋白相互作用数据库中,物种定义为“Homo sapiens”,置信值设定为 ≥ 0.7 ,进行关键靶点的 PPI 网络分析,并将所得的数据导入 Cytoscape 软件,分析网络拓扑参数值,筛选度值 (DC 值) 前十位的靶点作为网络中的重要靶点。

1.4 Pathway 富集分析

将 1.3 中获取的关键靶点上传至 DAVID 数据库^[10] (database for annotation, visualization and integrated discovery, DAVID) 进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析,条件值设置为 $P < 0.05$ 。选取富集分析排名前 10 的通路绘制气泡图。

1.5 关键靶点与药物成分的分子对接验证

选择 PPI 网络中度值前十位的靶点蛋白,并反向寻找这些靶点蛋白在蛋白相互作用网络中对应的化学活性成分,验证这些关键靶点蛋白与化学有效成分的结合活性。

利用 TCMSP 数据库获得化学活性成分的化学结构,并使用 Chem 3D 软件完成力学优化。检索 RESB PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 获取靶点蛋白结构文件,物种定义为“Homo sapiens”,优先选择具有原始配体小分子且小分子结构与对接化学活性成分有较高相似度的蛋白。通过 Pymol 软件对检索获得的靶点蛋白进行去水、加氢等修饰操作后导入 Autodock 软件中计算总电荷数,输出为 pdbqt 格式。利用 AutoDock Vina 软件对接模式图,根据格点参数文件,使用 autogrid4 查看模式图内容,选择

“Genetic algorithm”计算方法,通过 Autodock Vina 运行分子对接,依据对接结合能的数值确定全局最优结合构象,利用 PyMOL 将对接结果可视化。

2 结果

2.1 六味地黄丸药物潜在活性成分

通过 1.1 中的数据库平台,经检索及条件筛选,共获得六味地黄丸组方中的化学有效成分 69 个。其中,熟地黄 2 个,山茱萸 20 个,山药 16 个,牡丹皮 11 个,茯苓 15 个,泽泻 10 个。

2.2 六味地黄丸药物活性成分靶点预测

利用 TCMSP 数据库中的靶点预测功能,经过数据筛选及去除重复值处理后,获得六味地黄丸组方中的化学有效成分的预测靶点共 128 个。利用 Cytoscape 软件完成六味地黄丸组方的化学有效成分及预测靶点的关系网络图,见图 1。其中,活性成分及作用靶点共存在 682 个相互作用关系、203 个作用靶标。

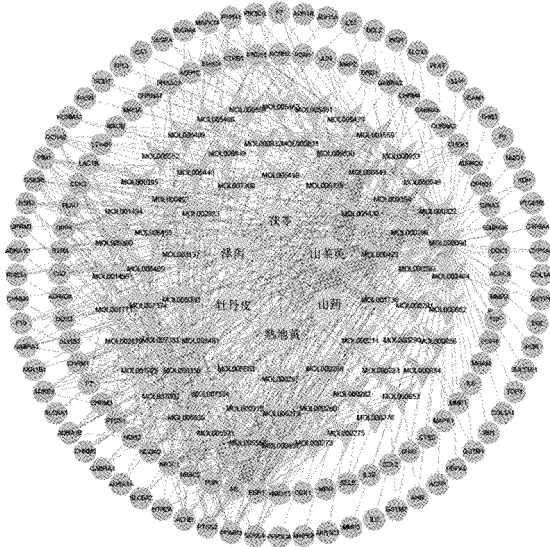


图 1 六味地黄丸组方活性成分-靶点网络图

Fig.1 Liuwei Dihuang Pills active component-target network

2.3 骨质疏松症疾病作用靶点

通过 1.3 中的疾病靶点数据库,将各个数据库所获靶点取并集后筛重处理,共获得 OP 疾病靶点 1 476 个。通过“药物-疾病”靶点韦恩图(图 2),可获得两者交集靶点共 81 个。

2.4 PPI 网络分析结果

六味地黄丸组方治疗 OP 的 PPI 蛋白互作网络图(图 3)中共有节点 81 个,互作关系 916 条,度值(DC 值)排名前十位的靶点蛋白分别为 IL6、TP53、

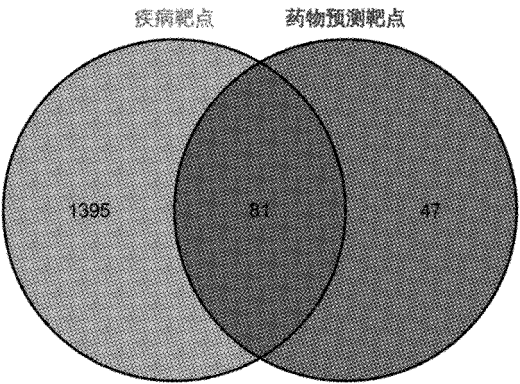


图 2 药物预测靶点与疾病靶点的韦恩图

Fig.2 Wayne diagram of drug and disease targets

VEGFA、TNF、JUN、MAPK1、EGF、EGFR、ESR1、CAT,将其定义为该 PPI 蛋白互作网络图中的核心靶点(表 1)。

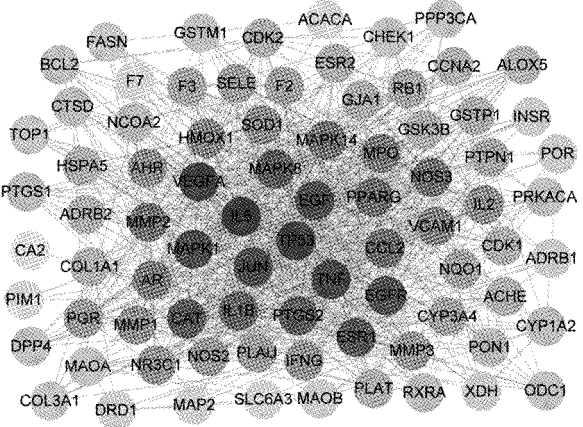


图 3 六味地黄丸治疗 OP 的 PPI 蛋白互作网络

Fig.3 PPI network of Liuwei Dihuang Pills in the treatment of OP

表 1 六味地黄丸治疗 OP 的关键靶点(节点度值排序前 10 位)

Table 1 Bar plot of key nodes of Liuwei Dihuang Pills in the treatment of OP (top 10 nodes degree value)

编号	靶蛋白名称	节点度值(DC)
1	IL6	56
2	TP53	54
3	VEGFA	53
4	TNF	51
5	JUN	50
6	MAPK1	49
7	EGF	49
8	EGFR	47
9	ESR1	45
10	CAT	45

2.5 Pathway 富集分析结果

本研究通过 DAVID 数据库完成上述 PPI 蛋白互作网络靶点的富集分析,提示整体的治疗过程存在众多信号通路的复合作用,并参与调控多方面的生物学进程。GO 功能富集分析结果显示,六味地黄丸对于 OP 的治疗过程的关键靶点主要富集于雌

激素的调节反应、炎症反应、药物代谢、细胞的抗氧化及抗衰老、细胞的增殖凋亡等生物学反应。KEGG 信号通路富集分析显示,相关靶点在 TNF、药物代谢过程、HIF-1、VEGF、FOXO、雌激素调节、Toll 样受体等信号通路上显著富集(图 4)。

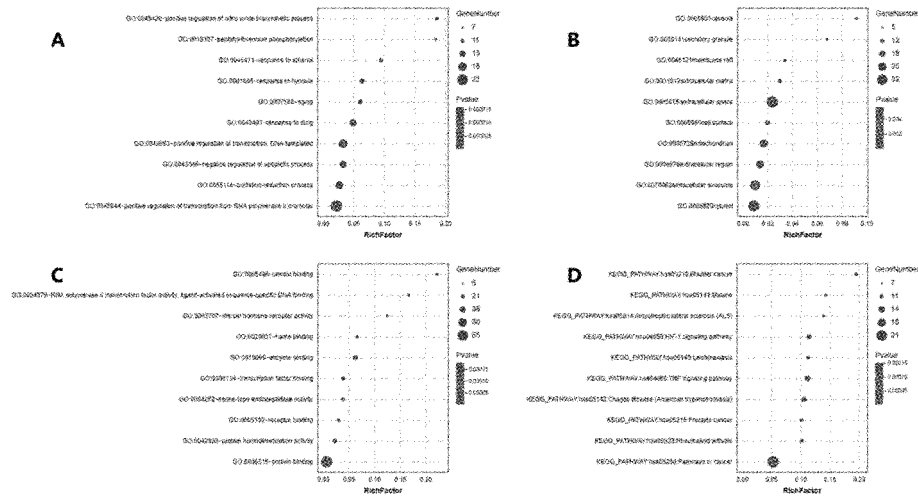


图 4 GO 功能富集及 KEGG 通路富集分析

Fig.4 Go analysis and KEGG pathway

注:A:生物学过程;B:细胞成分;C:分子功能;D:KEGG 通路。纵坐标代表通路名称,横坐标为基因的比例。气泡越大代表该通路上富集的单位越多,反之则越少。

2.6 分子对接结果

选取 PPI 网络中的关键靶点,并根据蛋白互作网络反向寻找相关成分进行分子对接。当配体与受体结合能量越低时,其结合构象越稳定,相互作用的可能性越大。分子对接结果验证表明,有效化学活

性成分与关键靶点蛋白的结合能均小于 -5 kcal/mol (表 2),提示化合物与受体的结合活性稳定。利用 Pymol 软件可视化前五位靶点蛋白与活血有效成分的蛋白对接模式图(图 5)。

表 2 活性成分与潜在靶点对接结果

Table 2 Docking results of active compounds and potential targets

活性成分	对接能量/(kcal/mol)									
	IL6	TP53	VEGFA	TNF	JUN	MAPK1	EGF	EGFR	ESR1	CAT
MOL000098	-6.6	-6.7	-7.5	-8.3	-8.8	-7.7	-6.8	-7.8	-6.6	-7.4
MOL000296	-7.1	-6.8	-7.3	-7.7	-7.8	-7.2	-7.4	-7.2	-5.7	-8.1
MOL000322	-6.4	-6.7	-6.8	-8.2	-6.5	-7.2	-6.2	-6.9	-5.8	-7.1
MOL000358	-7.8	-8.2	-8.7	-7.0	-8.7	-6.7	-8.3	-8.5	-7.0	-9.4
MOL000422	-6.5	-6.7	-7.6	-8.5	-8.6	-7.7	-7.0	-7.5	-6.4	-7.0
MOL000449	-8.3	-7.5	-8.7	-8.5	-7.5	-7.7	-8.3	-7.9	-7.1	-8.3
MOL000492	-6.4	-6.6	-7.7	-8.1	-8.9	-7.4	-6.6	-7.4	-6.3	-6.8
MOL001559	-6.4	-6.6	-7.3	-7.3	-7.6	-7.1	-6.6	-7.1	-5.9	-6.9
MOL005430	-5.9	-6.1	-6.4	-6.9	-6.8	-6.4	-6.0	-7.2	-5.4	-6.7
MOL005530	-7.2	-6.9	-7.4	-8.2	-8.7	-7.5	-6.9	-7.8	-6.6	-7.6
MOL008457	-7.1	-7.3	-7.7	-8.4	-8.4	-8.5	-7.4	-8.8	-6.8	-8.2

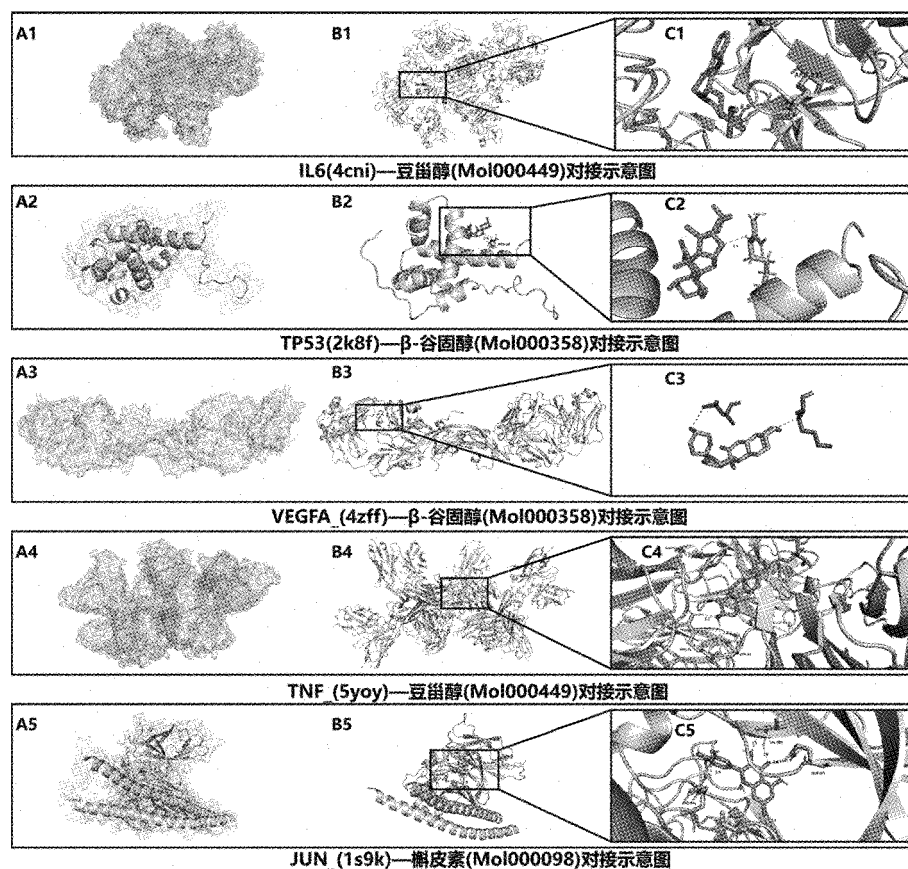


图5 网络关键靶点分别与其结合能最低成分生成的对接模式图

Fig.5 The binding pattern of the key targets of the network and the lowest component of their binding energy

注:A:靶点蛋白三维形态示意;B:对接位置条带示意;C:对接键位能量键示意。

3 讨论

随着我国人口老龄化程度的日益严重,骨质疏松症的发病率呈逐年上升态势。且随着病情的进展,骨组织的密度及强度不断下降,患者出现腰背部甚至全身性骨痛,骨折风险增加。中医学一般将骨质疏松症归于“骨痿”“骨枯”等范畴,主要是由于肾精亏损,髓消骨枯而导致的全身骨量丢失的慢性退行性疾病。中医药治疗OP的临床用药充分考虑了患者的个性情况,重视患者中医证候的演变过程。六味地黄丸在治疗肝肾阴虚证OP的过程中发挥了良好的治疗作用。但由于中药中化学活性成分众多且缺乏分子水平研究,其治疗过程的作用机制并不明确。本研究基于网络药理学、生物信息学与分子对接技术,通过进一步分析六味地黄丸治疗OP的活性成分、潜在作用靶点与作用通路研究其分子作用机制。

研究过程表明,六味地黄丸治疗OP可能通过槲皮素、谷甾醇、β-谷甾醇、豆甾醇、山奈酚、丁子香酚等多种化学活性成分,作用于IL6、TP53、VEGFA、

TNF、JUN、MAPK1、EGF、EGFR、ESR1、CAT等关键靶点,进而调控雌激素的调节反应、炎症反应、血管新生反应、细胞的抗氧化及抗衰老、细胞的增殖凋亡等生物过程,通过调控TNF、药物代谢过程、HIF-1、VEGF、FOXO、雌激素调节、Toll样受体等信号通路发挥多成分、多靶点、多网络的抗骨质疏松症的药理作用。

“药物-成分-靶点”网络中高度值的有效成分包括槲皮素、β-谷甾醇、豆甾醇等多种化学活性成分。槲皮素属于天然黄酮醇类成分,其通过RANKL的活化抑制作用影响OPG/RANK/RANKL机制,从而抑制破骨细胞生成,减少骨吸收,稳定骨量的动态平衡^[11-12]。β-谷甾醇广泛存在于多种中药成分中,具有抗炎、抗氧化、抗雄激素等生理功能,有较好的清除自由基作用,是一种良好的抗氧化剂^[13]。林明珠等^[14]发现β-谷甾醇可通过抑制IL-6、TNF-α和VEGF表达抑制小鼠移植瘤的增殖。肿瘤坏死因子α(TNF-α)与白介素-6(IL-6)可以诱导RANKL表达,促进破骨细胞分化,而山奈酚可以抑制TNF-α与白介素-6的分泌,抑制破骨促进成骨。关键成分

的主要药理作用与 OP 的骨重建失衡机制相对一致。

GO 生物过程富集结果反映了治疗过程与细胞周期过程、炎症反应与雌激素的反应调节过程有较高的相关性。其中,雌激素水平与成骨细胞、破骨细胞活动密切相关。在雌二醇反应中,当雌激素不足时,NF- κ B 受体活化剂 κ B 配体(RANKL)激活,抑制破骨细胞凋亡并加速破骨过程。而成骨细胞通过与雌激素的结合可以增加其活性,增强成骨过程。相关研究^[15]表明,雌激素水平下降后成骨作用出现明显下降,而破骨作用未发生明显变化,发生了骨代谢的平衡破坏,导致骨量丢失。雌激素也可以抑制 IL6 及 TNF- α 等相关炎症因子的分泌,从而促进成骨、抑制破骨^[16]。

KEGG 信号通路富集分析结果中,六味地黄丸组方通过调控 TNF 信号通路、HIF-1 信号通路、VEGF 信号通路等发挥抗炎、抗氧化、血管内皮功能调节等生物学作用,以改善骨质疏松症疾病进程中体内的氧化应激反应。TNF 信号通路中的 TNF 因子作为炎症急性期反应的细胞因子之一,参与了全身的炎症反应过程,并可以诱导白介素的产生。通过抑制 TNF 结合受体降低基质金属蛋白酶,可以抑制软骨细胞凋亡及软骨骨破坏等病理反应^[17-18]。低氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路是经典的多功能信号通路,在骨的形成与吸收方面发挥了重要作用,可以通过成骨成血管偶联调控骨与血管的再生过程^[19]。在细胞缺氧环境下,可以广泛的参与到能量代谢、血管形成和细胞周期等生物过程中,并且可以有效加强骨髓间充质干细胞的成骨成血管分化能力^[20]。钟航等^[21]研究发现,通过抑制 HIF-1 信号通路可以遏制绝经后骨质疏松症的进一步发展。VEGF 信号通路中的血管内皮生长因子(VEFGA)在参与调控血管通透性、血管内皮细胞的代谢等方面具有重要地位。VEGF 作为促血管形成细胞因子,在骨与软骨系统中参与调控骨组织的分化、基质生成和细胞因子的表达,能够很好反映成骨活动的状态^[22]。

分子对接结果显示,PPI 网络中的关键靶点与其对应的化学有效成分的对接能量均小于-5 kcal/mol,说明六味地黄丸组方中的化学活性成分与 OP 的疾病相关靶点产生较好的蛋白结合活性。

综上所述,本研究基于网络药理学与分子对接的方法学,通过对六味地黄丸组方成分的药代动力学参数评价和生物学功能通路富集分析,进一步阐

明了六味地黄丸通过调控细胞增殖与凋亡过程、药物代谢、雌激素反应调节与细胞抗缺氧、抗衰老等生物学过程,参与治疗 OP 过程的分子机制。并通过分子对接初步验证了化学活性成分与 OP 疾病靶点的相互作用模式,为后续的研究奠定了思路基础。

【参 考 文 献】

- [1] Wright NC, Looker AC, Saag KG, et al. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the united states based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2014, 29 (11): 2520-2526.
- [2] Martín-Merino E, Petersen I, Hawley S, et al. Risk of venous thromboembolism among users of different anti-osteoporosis drugs: a population-based cohort analysis including over 200,000 participants from Spain and the UK [J]. *Osteoporosis International*, 2018, 29(2): 467-478.
- [3] 李冲,吕伟华,王亭亭,等.1088 例医务人员骨质疏松的流行病学研究[J].*中国骨质疏松杂志*,2015,21(10):1217-1220.
- [4] 葛继荣,王和鸣,郑洪新,等.中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2020)[J].*中国骨质疏松杂志*,2020,26(12):1717-1725.
- [5] Hu AN, Liu JF, Zan JF, et al. Network pharmacology deciphering multiple mechanisms of volatiles of Wendan granule for treatment of senile dementia [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2018, 32 (4): 285-286.
- [6] Liu H, Wang J, Zhou W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: An example using licorice [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 146(3): 773-793.
- [7] Xu X, Zhang W, Huang C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. *IJMS*, 2012, 13(6): 6964-6982.
- [8] Xu J, Stevenson J. Drug-like index: a new approach to measure drug-like compounds and their diversity [J]. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 2000, 40(5): 1177-1187.
- [9] Cook HV, Doncheva NT, Szklarczyk D, et al. Viruses.STRING: A virus-host protein-protein interaction database [J]. *Viruses*, 2018, 10(10): 519.
- [10] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nature Protocols: Recipes for Researchers*, 2009, 4(1): 44-57.
- [11] 张晓,张国庆,顾伯林,等.丹参及其有效成分对骨代谢影响的实验研究进展[J].*中国骨质疏松杂志*,2015,21(1):112-116.
- [12] Jian H, Yuan L, Wang X, et al. Icaritin and its glycosides enhance osteoblastic, but suppress osteoclastic, differentiation and activity in vitro [J]. *Life Sciences*, 2007, 81(10): 832-840.

(下转第 1153 页)

- [9] 李燕云,丁绍红,高远,等.各地区 FRAX 干预阈值在无锡地区骨质疏松防治中的临床应用[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(4):458-462,482.
- [10] 黄伦浪,王玲,王溯源,等.骨折风险评估工具 FRAX 对藏族患者临床应用价值的探讨[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(1):85-88.
- [11] 洪维,郑松柏,李慧林,等.骨折风险评估工具 FRAX® 评分判定上海社区老年人群实际骨质疏松性椎体骨折(OVF)效用的研究[J].复旦学报(医学版),2020,47(1):83-88,100.
- [12] 吴立兵,刘刚,刘晶晶,等.骨折风险预测简易工具在评估骨质疏松性骨折风险的价值研究[J].北京医学,2016,38(4):302-304.
- [13] Su FM, Liu DH, Chen JF, et al. Development and validation of an osteoporosis self-assessment tool for Taiwan (OSTAi) postmenopausal women-A sub-study of the Taiwan osteoporosis survey (TOPS) [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0130716.
- [14] 冬梅,金淑霞,韩杏梅.呼和浩特地区人群中应用 FRAX 骨折风险预测工具进行骨折风险评估的临床研究[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(8):1067-1070.
- [15] 张新菊,孙燕,李雁,等.FRAX 联合 DXA 对骨质疏松症患者骨折的预测效果研究[J].重庆医科大学学报,2019,44(9):1171-1175.
- [16] 蔡舒婷,孙雯,刘红.骨折风险评估工具(FRAX®)在评价绝经后女性骨密度的临床意义[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(2):177-182.
- [17] Cooper C, Campion G, Melton IJ 3rd. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection [J]. Osteoporosis International, 1992, 2(6):285-289.
- [18] Colón-Emeric CS, Lyles KW. Should there be a fracas over FRAX and other fracture prediction tools?: Comment on "A comparison of prediction models for fractures in older women" [J]. Arch Intern Med, 2009, 169(22):2094-2095.
- [19] 刘明珠.从全球的角度看亚洲骨质疏松症的流行病学[J].国外医学内分泌学分册,2004,24(4):222-224.
- [20] Cheung EY, Bow CH, Cheung CL, et al. Discriminative value of FRAX for fracture prediction in a cohort of Chinese postmenopausal women [J]. Osteoporosis International, 2012, 23(3):871-878.
- [21] Aslan A, Karakoyun O, Güler E, et al. Evaluation of bone mineral density, osteoporosis prevalence and regional risk factors in Turkish women living in Kastamonu: KASTRKOS study. Eklem Hastalik Cerrahisi, 2012, 23(2):62-67.
- [22] 于华,柏学民,姚立岩,等.385 例回汉族妇女骨质疏松症的相关因素分析[J].宁夏医学杂志,2008,3:231-232.
- [23] Khan A, Fortier M. Osteoporosis in menopause [J]. J Obstet Gynaecol Can, 2014, 36(9):S1-S15.
- [24] Burger H, de Laet CE, van Daele PL, et al. Risk factors for increased bone loss in an elderly population: the Rotterdam Study [J]. Am J Epidemiol, 1998, 147(9):871-879.
- [25] 马丽,吕刚,吕发明,等.乌鲁木齐地区中老年脆性骨折患者骨折风险评估(FRAX)分析[J].中国骨质疏松杂志,2009,15(8):602-605,601.

(收稿日期:2021-02-08;修回日期:2021-02-08)

(上接第 1134 页)

- [13] Rajavel T, Packiyaraj P, Suryanarayanan V, et al. β -Sitosterol targets Trx/Trx1 reductase to induce apoptosis in A549 cells via ROS mediated mitochondrial dysregulation and p53 activation [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1):584-594.
- [14] 林明珠,赵岩,蔡恩博,等. β -谷甾醇对 H₂(22) 荷瘤小鼠体内抗肿瘤作用[J].中国公共卫生,2017,33(12):1797-1800.
- [15] Nanes MS, Kallen CB. Clinical assessment of fracture risk and novel therapeutic strategies to combat osteoporosis [J]. Fertility and Sterility, 2009, 92(2):403-412.
- [16] Alireza FN, Riggs BL, Atkinson EJ, et al. Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2000, 106(12):1553-1560.
- [17] 高世超,殷海波,刘宏潇,等.MAPK 信号通路在骨关节炎发病机制中的研究进展[J].中国骨伤,2014,27(5):441-444.
- [18] Wang DY, Qiao J, Zhao X, et al. Thymoquinone Inhibits IL-1 β -Induced Inflammation in Human Osteoarthritis Chondrocytes by Suppressing NF- κ B and MAPKs Signaling Pathway [J]. Inflammation, 2015, 38(6):2235-2241.
- [19] Wang Y, Wan C, Deng L, et al. The hypoxia-inducible factor α pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2007, 117(6):1616-1626.
- [20] J Fernández-Torres, Martínez-Nava GA, Gutiérrez-Ruiz MC, et al. Role of HIF-1 α signaling pathway in osteoarthritis: a systematic review [J]. Revista Brasileira de Reumatologia, 2017, 57(2):162-173.
- [21] 钟航,曹参,杨静,等.HIF-1 信号通路对绝经后骨质疏松的关系研究[J].四川大学学报(医学版),2017,48(6):862-868.
- [22] 蔡吓明,魏建铭.染料木黄酮通过促进 VEGF 表达改善去势大鼠骨质疏松的作用机制[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(1):10-13.

(收稿日期:2020-11-30;修回日期:2020-12-24)