

基于网络药理学探讨独活-羌活-细辛治疗膝骨关节炎的作用机制*

卢 钰^{1,2}, 保超宇^{1,2}, 李具宝^{1,2}, 尹本敬^{1,2}, 刘 畅³, 邱荣能²,
潘斯学², 何光雄², 向俊宜^{1,2△}

(1. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500; 2. 云南省中医医院, 云南 昆明 650021;
3. 云南省第一人民医院, 云南 昆明 650032)

摘要: 目的 基于网络药理学的方法分析和预测独活-羌活-细辛治疗膝骨关节炎可能的作用机制。方法 利用 TCMS 数据库获取独活、羌活、细辛的活性成分及靶点, 与 CTD、NCBI 等数据库获取的膝骨关节炎疾病基因靶点映射, 构建药物-活性成分-疾病靶点网络。进行 MCODE 聚类分析, 通过 Omicshare 云平台 and DAVID 数据库 GO、KEGG 通路富集分析。结果 从 3 味药中共筛选出了 36 个活性成分及 205 个靶点, 主要有山柰酚、 β -谷甾醇、芝麻脂素、异紫花前胡苷等关键成分, AKT1、ESR1、JUN、CASP3 等为关键靶点, 核心基因有 NOS3、ESR1、COX1、NR1H2, 关键的生物进程和通路有类固醇激素反应性、活性氧代谢过程、AGE-RAGE 通路和 TNF 通路。结论 独活-羌活-细辛可能通过多成分、多靶点网络来治疗膝骨关节炎。

关键词: 网络药理学; 膝骨关节炎; 独活; 羌活; 细辛

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2022)03-0074-11

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2022.03.013

Mechanism of Angelicae Pubescentis Radix, Notopterygii Rhizoma et Radix, and Asari Radix et Rhizoma in Treatment of Knee Osteoarthritis Based on Network Pharmacology

LU Yu^{1,2}, BAO Chaoyu^{1,2}, LI Jubao^{1,2}, YIN Benjing^{1,2}, LIU Chang³, QIU Rongneng²,
PAN Sixue², HE Guangxiong², XIANG Junyi^{1,2}

(1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China;

3. The First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

ABSTRACT: **Objective** Based on the method of network pharmacology, the mechanism of Angelicae Pubescentis Radix-Notopterygii Rhizoma et Radix-Asari Radix et Rhizoma in the treatment of knee osteoarthritis was analyzed and predicted. **Methods** The TCMS 数据库 was used to obtain the active ingredients and targets of Angelicae Pubescentis Radix-Notopterygii Rhizoma et Radix-Asari Radix et Rhizoma, and the gene targets of knee osteoarthritis obtained from CTD, NCBI and other databases were mapped to build a drug-active ingredient-disease target network. MCODE cluster analysis was carried out, and GO and KEGG pathway enrichment analysis was carried out through Omicshare cloud platform and DAVID database. **Results** A total of 36 active ingredients and 205 targets were screened from the three medicines. The key active compounds included kaempferol, β -sitosterol, sesamin, marmesinin and so on, the key targets included AKT1, ESR1, JUN, CASP3, etc. NOS3, ESR1, ACOX1 and NR1H2 are core genes. Steroid hormone responsiveness, reactive oxygen species metabolism, AGE-RAGE pathway and TNF pathway are the key biological processes and pathways. **Conclusion** Angelicae Pubescentis Radix, Notopterygii Rhizoma et Radix, Asari Radix et Rhizoma may treat knee osteoarthritis through multi-component and multi-target network.

KEY WORDS: network pharmacology; knee osteoarthritis; Angelicae Pubescentis Radix; Notopterygii Rhizoma et Radix; Asari Radix et Rhizoma

收稿日期: 2022-02-23

* 基金项目: 云南省科技计划项目(202412)

第一作者简介: 卢钰(1989-), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 骨外科。

△通信作者: 向俊宜, E-mail: kmxjylj@163.com

膝关节骨关节炎(knee osteoarthritis,KOA)是一种常见的膝关节退变性疾病,病理基础为关节软骨的退变和磨损、滑膜等关节结构的病变,导致关节的疼痛、变形及功能障碍^[1-2]。随着我国老龄化社会的到来,其发病率逐年上升,需要手术的患者也越来越多,给社会带来巨大的负担^[3-5]。中医药在治疗 KOA 方面具有独特的优势,且治疗方法多样^[6-7]。通过中药外敷内服、针灸、药物注射、功能锻炼、减轻体重等措施对 KOA 患者进行保守治疗,对减轻患者临床症状、降低手术率具有重要意义^[8]。我国传统中医药在 KOA 治疗方面具有悠久的历史和良好的疗效,其中本院的骨痹合剂在多年的 KOA 临床使用中获得了满意的疗效^[9-10],但是其作用机制尚不明确。骨痹合剂含有多种中药成分,其中的活性物质更是种类繁多。骨痹合剂具有补肝肾、强筋骨、祛风胜湿、散寒止痛、通筋活络等多种功效,其中独活-羌活-细辛药物组合在骨痹合剂中起着祛风胜湿、散寒止痛的作用。据文献报道,独活、羌活、细辛均显示抗炎镇痛的作用,其中,细辛可通过抑制炎症介质释放、降低毛细血管通透性等环节发挥抗炎作用^[11],独活、羌活也显示抗炎镇痛的作用^[12]。独活、羌活、细辛常被用于治疗 KOA,在多个方剂中均有使用,但这 3 味中药及其合用后对于 KOA 的治疗机制目前尚不明确。

网络药理学是基于系统生物学、多向药理学、计算生物学、数据库等多学科技术,通过高通量成分筛选、分子交换验证、结合网络分析等技术,分析药物与疾病之间互作关系的新兴学科,可以阐明药物的作用机制,预测其作用靶点、通路,还可用于方剂的验证、新药的研发设计^[13-14]。该技术将“药物-靶点-疾病”之间的线性关系更替为“药物-多个活性成分-多个靶点-疾病”的网络关系,其具有的系统性和整体性与中医药的多种药物、多种有效成分完美匹配,为中医药的研究提供了更科学、更全面的新方法。本研究以网络药理学为基础,通过多个数据库的数据收集、特定软件进行数据分析,系统、全面地分析骨痹合剂中重要成分独活-羌活-细辛在治疗 KOA 中的作用机制,筛选和预测其中的关键靶点和通路,以明确骨痹合剂治疗 KOA 的部分作用。

1 资料与方法

1.1 成分靶点信息查询 在中药系统药理学数据库

与分析平台 TCMSP(<https://tcmsp.com/tcmssp.php>)中检索并获得羌活、独活、细辛的活性成分和靶点,所有成分的筛选条件设置为口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18。

1.2 疾病靶点查找 以“knee osteoarthritis”为关键词,在 GeneCards(<https://www.genecards.org/>),NCBI 基因数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)以及 CTD 数据库(<http://ctdbase.org/>)进行人类基因检索,找出 KOA 已知的相关靶基因。

1.3 筛选共同靶点并构建 PPI 网络 将筛选出的药物靶点与疾病靶点输入韦恩图制作软件 Venny 2.1,得到 92 个共有靶点,作为药物作用于疾病的预测靶点进行进一步的通路富集分析。将药物疾病共有靶点输入 String 数据库(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)进行 PPI 网络的构建,将生物种类设定为“Homo sapiens”,得到 PPI 网络。

1.4 网络合并 为了更好地理解中药、成分、疾病以及相应靶点之间的复杂相互作用关系,以对应的中药、成分、治疗疾病以及作用靶点为基础,构建了成分-疾病-靶点网络图,导入 Cytoscape 3.8.0 中进行网络图的绘制,并同时绘制中药-成分-疾病-通路-靶点网络图,以便更直观地展示中药活性成分在治疗 KOA 过程中的多成分、多靶点的作用特点。

1.5 拓扑分析 将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.8.0 中,通过 NetworkAnalyzer 工具进行拓扑分析,以 degree、betweenness centrality、average shortest path length 和 closeness centrality 这四个参数为参考标准,通过 degree 排序,选取分值大于平均分的基因作为关键靶点。

1.6 MCODE 聚类分析 本研究通过 MCODE 分析进行关键基因的筛选。将已经构建好的 PPI 网络导入 Cytoscape 3.8.0 中,打开 MCODE 模块进行基因簇的分析以及核心靶点的筛选。具体结果见聚类分析文件夹。

1.7 关键成分筛选 将成分-疾病-靶点网络图,导入 Cytoscape 3.8.0 中进行拓扑分析。将成分进行 degree 排序,选取大于平均度值的成分作为关键活性成分。

1.8 GO 富集分析和 KEGG 通路富集 将药物疾病共有靶点进行 GO 的生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)、细胞组分

(cell component,CC)富集,引用 String 数据库,将校正 P 值 ≤ 0.05 的项目进行筛选,将富集的结果导入 R 3.6.3 软件,安装并引用 clusterProfiler,enrichplot,ggplot2 包,进行柱状图和气泡图绘制。

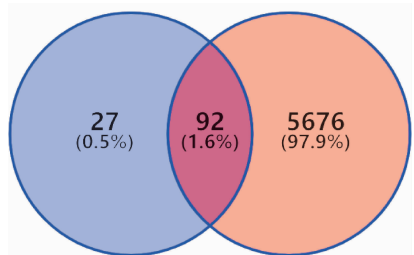
将药物疾病共有靶点进行 KEGG 通路富集分析,引用 String 数据库,将校正 P 值 ≤ 0.05 的项目进行筛选,将富集的结果导入 R 3.6.3 软件,安装并引用 clusterProfiler 包后,进行柱状图和气泡图绘制。

2 结果

2.1 活性成分 羌活获得 17 个有效成分,52 个靶点;独活获得 11 个有效成分,49 个靶点;细辛获得 8 个有效成分,104 个靶点。

2.2 疾病靶点筛选 经检索,在 GeneCards 数据库检索到 2 040 条相关基因,NCBI 数据库获得 148 个基因,CTD 数据库获得 4 594 个靶点。将这 3 个数据库的基因合并删重之后,得到 5 768 个 KOA 相关基因。

2.3 韦恩图及 PPI 网络 绘制出的韦恩图显示,药物、疾病共同靶点 92 个,见图 1。得到的 PPI 网络图中有 92 个节点,738 条边,平均度值为 16。图 2 为 string 网站导出的 PPI 网络图,图 3 为 Cytoscape 软件绘制 PPI 网络图。图 3 中的节点颜色和大小根据度值调整,节点越大、颜色越深,则度值越大,线从粗到细表示 edge betweenness 从大到小。



注:疾病与药物存在 92 个共同靶点

图 1 韦恩图

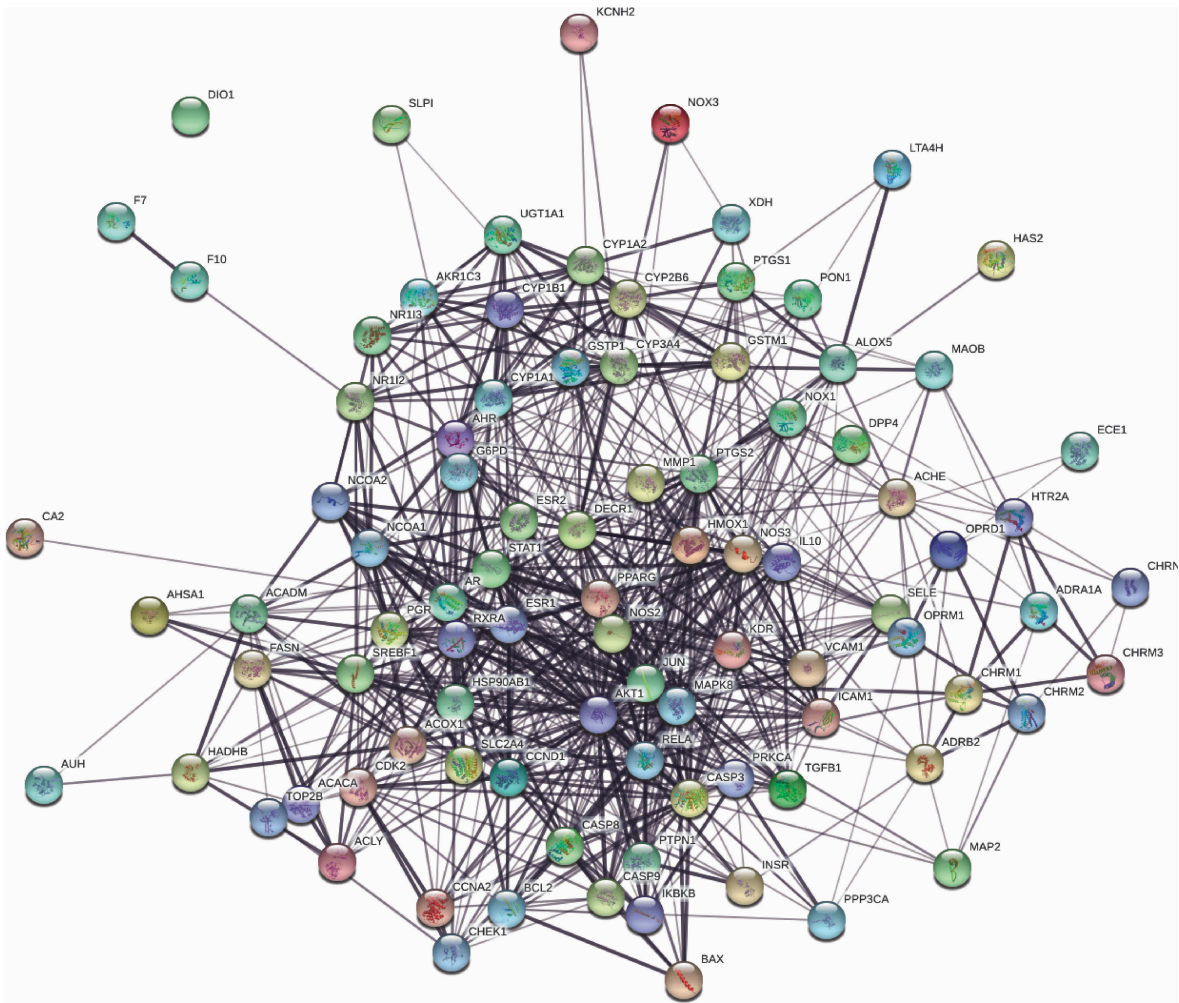


图 2 String 网站导出的蛋白相互作用关系网络图

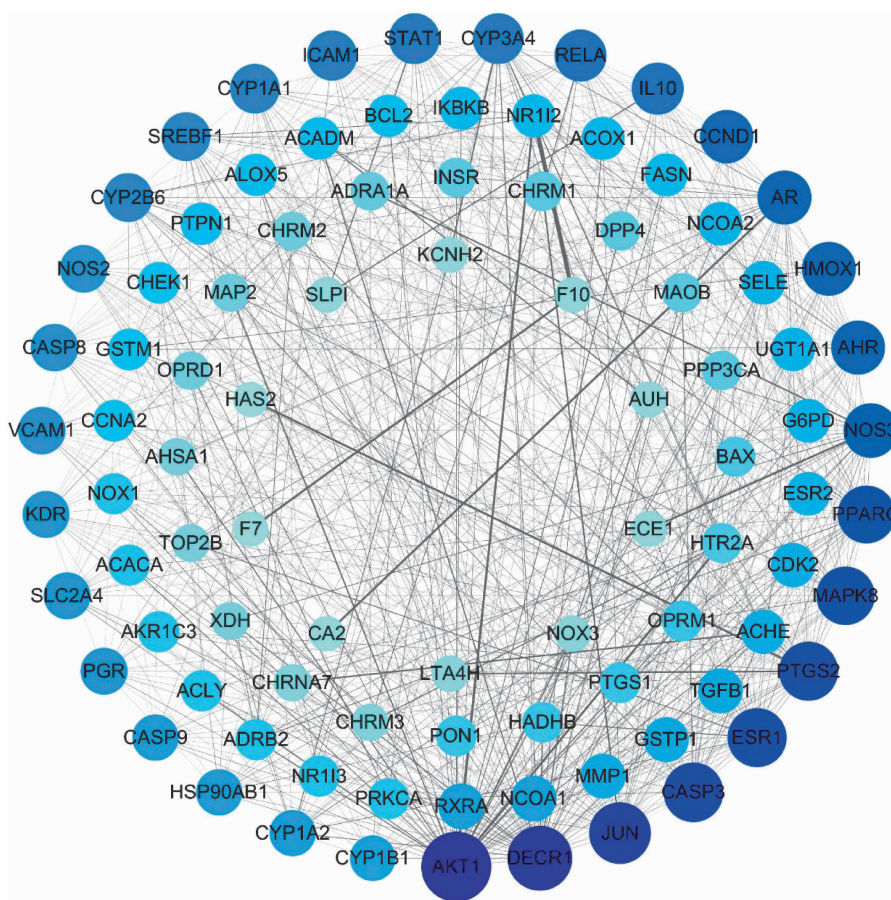
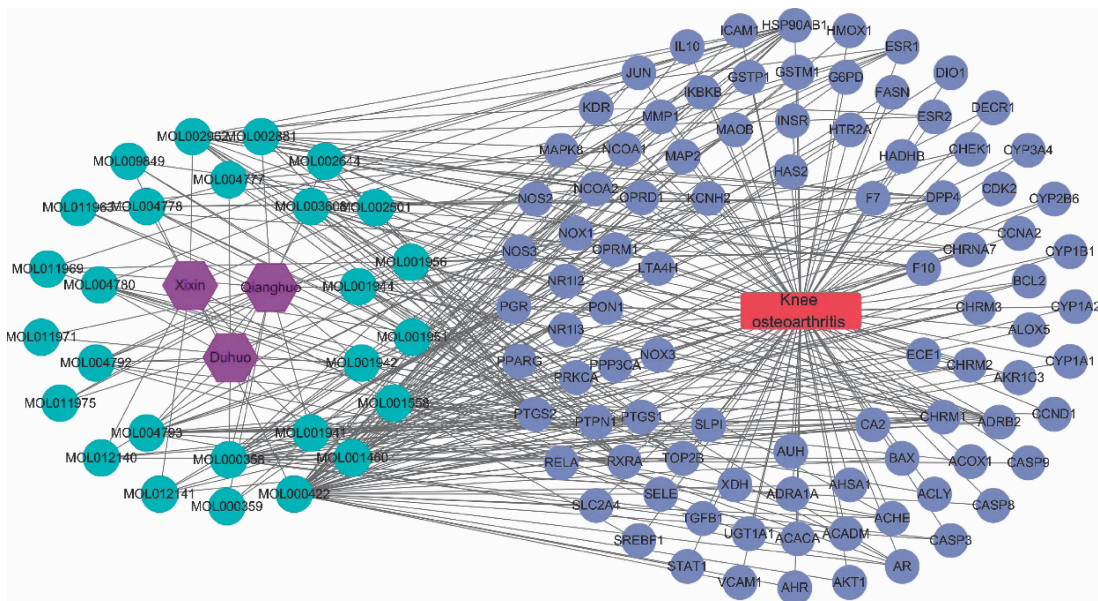


图3 Cytoscape软件绘制的蛋白相互作用关系网络图

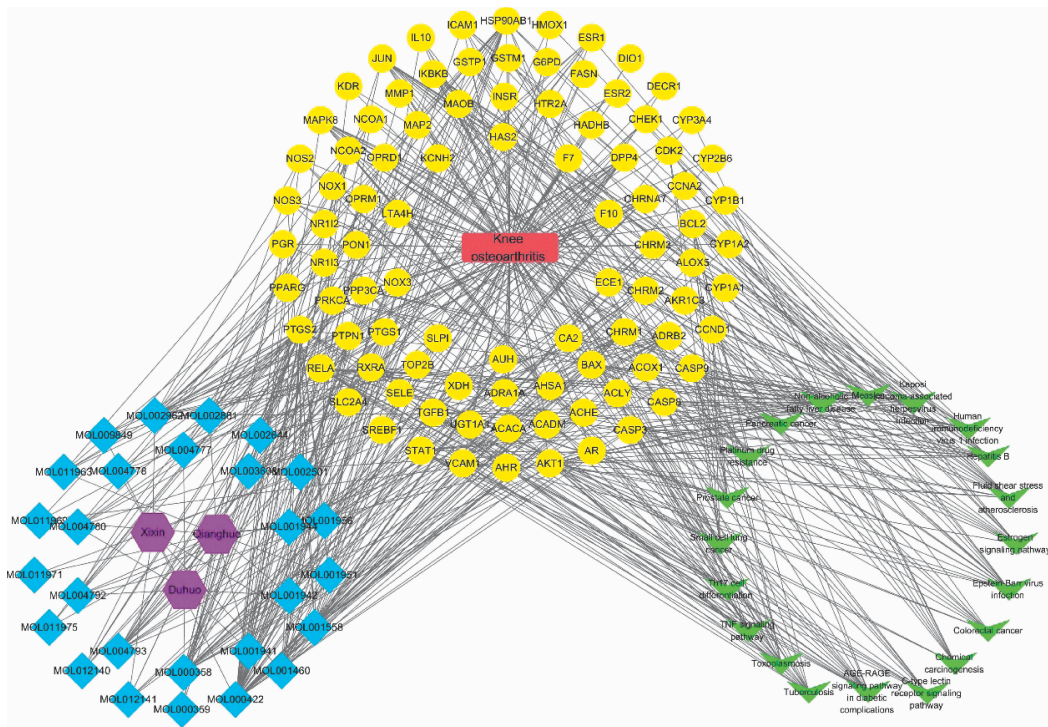
2.4 网络合并 以纳入的对应的中药、成分、治疗疾病以及作用靶点为基础,通过 Cytoscape 3.8.0 进行网络绘制,以便进一步地理解中药-成分-疾病-

通路-靶点之间的关系, 分别得到中药-成分-疾病靶点网络(图4)和中药-成分-疾病-通路-靶点网络(图5)。



注:网络淡紫色圆形为药物作用于疾病的靶点,绿色圆形为化合物,紫色六边形为中药,红色矩形为疾病。

图4 中药-成分-疾病靶点网络图



注:如图所示,紫色为中药,蓝色为中药的活性成分,黄色为中药作用于疾病的靶点,绿色为最显著的前 20 条通路,红色为疾病即 KOA。

图 5 中药-成分-疾病-通路-靶点网络图

2.5 拓扑分析和 MCODE 聚类分析 根据得到的 PPI 网络图,进行进一步分析。通过拓扑分析,总共筛选出 36 个关键靶点,将前 20 个靶点使用 R 3.6.3 进行图片绘制,横坐标为每个靶点的度值(图 6)。通过聚类分析总共得到 5 个基因簇和 4 个核心基因,核心基因为 NOS3,ESR1,ACOX1 和 NR1I2(表 1)。

表 1 MCODE 聚类分析得到的核心基因簇

序号	网络图	节点数	连接数	节点名称	序号	网络图	节点数	连接数	节点名称
1		23	200	MAPK8, NOS3, AKT1, DECR1, AHR, NOX1, CASP3, CASP8, SELE, STAT1, ICAM1, IL10, RELA, NOS2, IKBKB, PPARG, VCAM1, PTGS2, CCND1, TGFB1, CASP9, HMOX1, JUN	3		11	26	ACOX1, FASN, HADHB, ACACA, ACADM, HSP90AB1, ACLY, AR, AKR1C3, PGR, G6PD
2		12	30	CYP1A2, GSTM1, ESR1, KDR, CYP3A4, CHEK1, MMP1, UGT1A1, CDK2, CYP2B6, CCNA2, CYP1B1	4		6	11	NCOA1, SLC2A4, NR1I3, NR1I2, CYP1A1, NCOA2
					5		3	3	ADRA1A, CHRM3, CHRM1

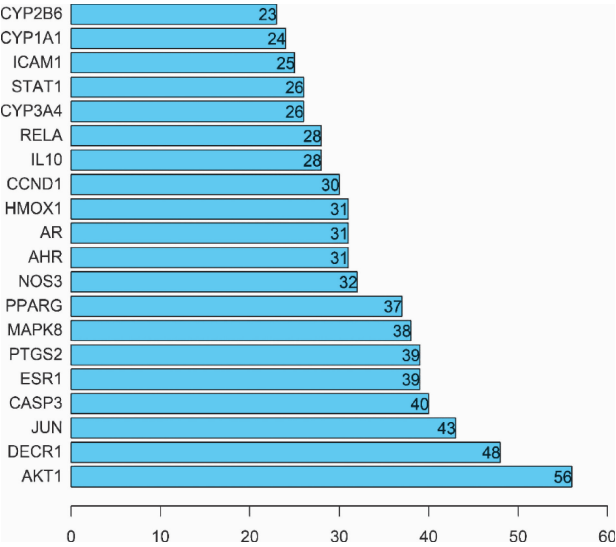


图 6 拓扑分析得出的关键靶点

2.6 关键成分筛选 通过将成分进行 degree 排序, 得到 8 个关键成分(表 2)。

2.7 GO 富集分析和 KEGG 通路富集 GO 富集总共富集到 1 254 条生物过程,129 项分子功能相关,59

表 2 关键成分信息表

名称	平均最短 路径长度	介数 中心性	接近 中心性	度
Kaempferol	2.024 590	0.122 516	0.493 927	49
β -Sitosterol	2.352 459	0.048 312	0.425 087	26
Sesamin	2.500 000	0.027 434	0.400 000	21
Formononetin	2.516 393	0.015 317	0.397 394	17
Cryptopin	2.532 787	0.015 753	0.394 822	16
Marmesin	2.532 787	0.011 993	0.394 822	15
Marmesine	2.532 787	0.012 395	0.394 822	15
O-Acetyl- columbianetin	2.614 754	0.006 358	0.382 445	12

项细胞组成相关,将其绘制成柱状图(图 7)和气泡图(图 8)。

KEGG 富集总共富集到 126 条信号通路,绘制柱状图(图 9)和气泡图(图 10)。

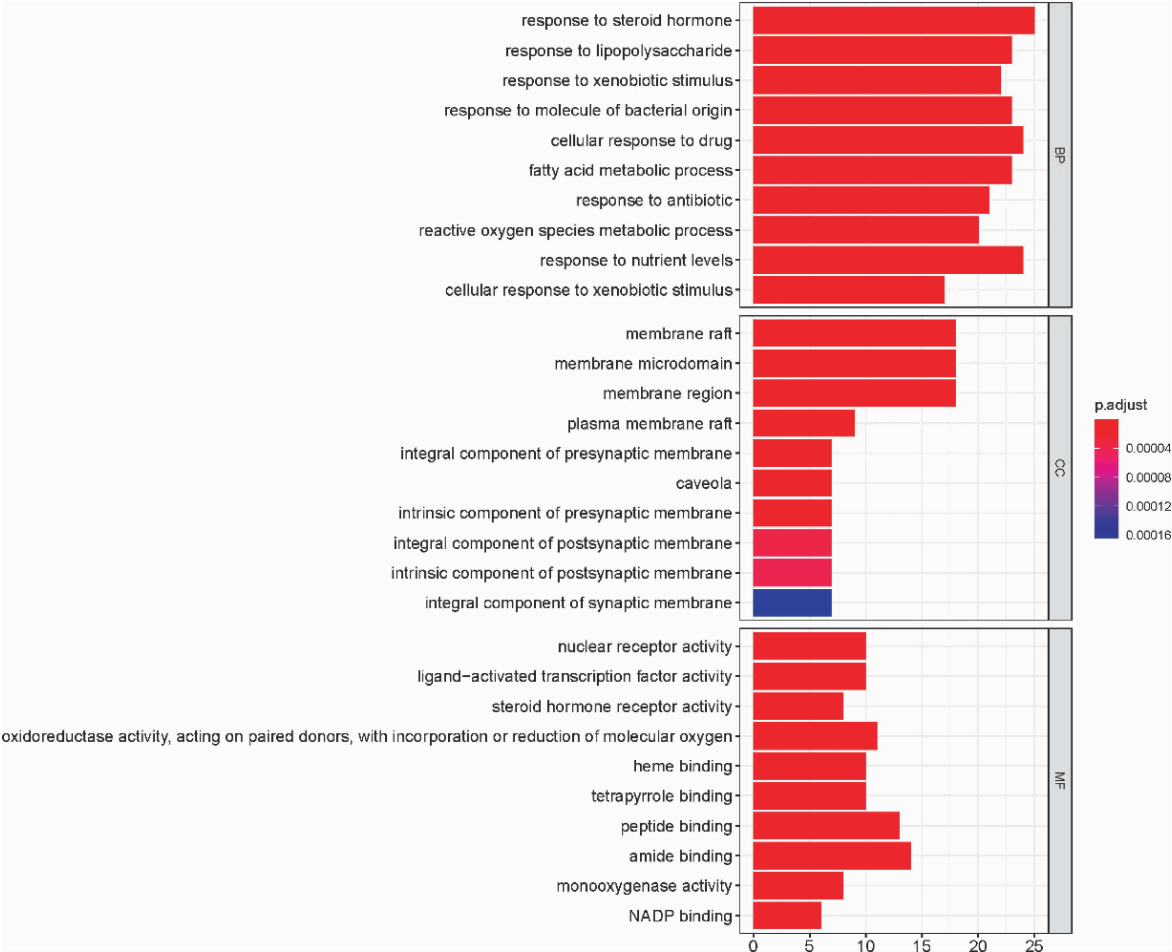


图 7 GO 富集柱状图

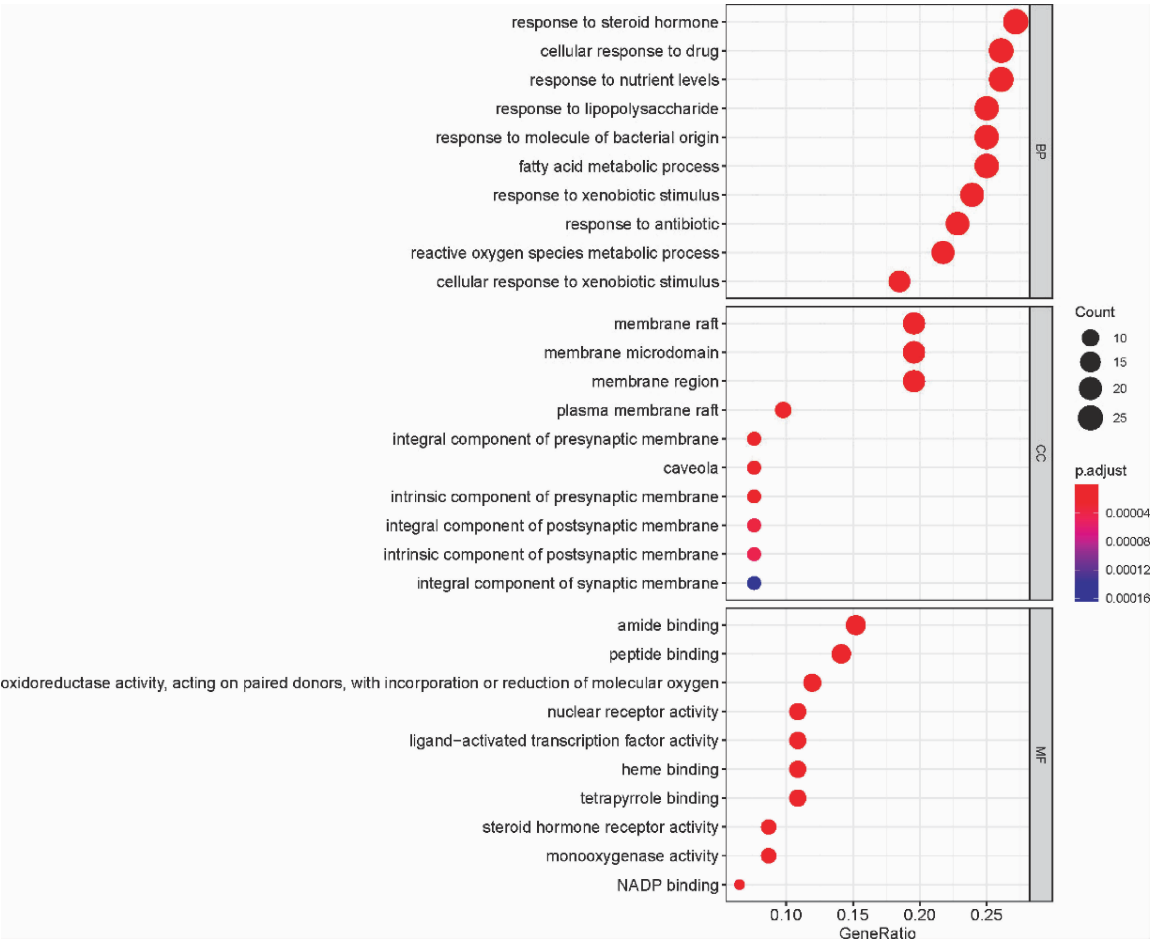


图 8 GO 富集气泡图

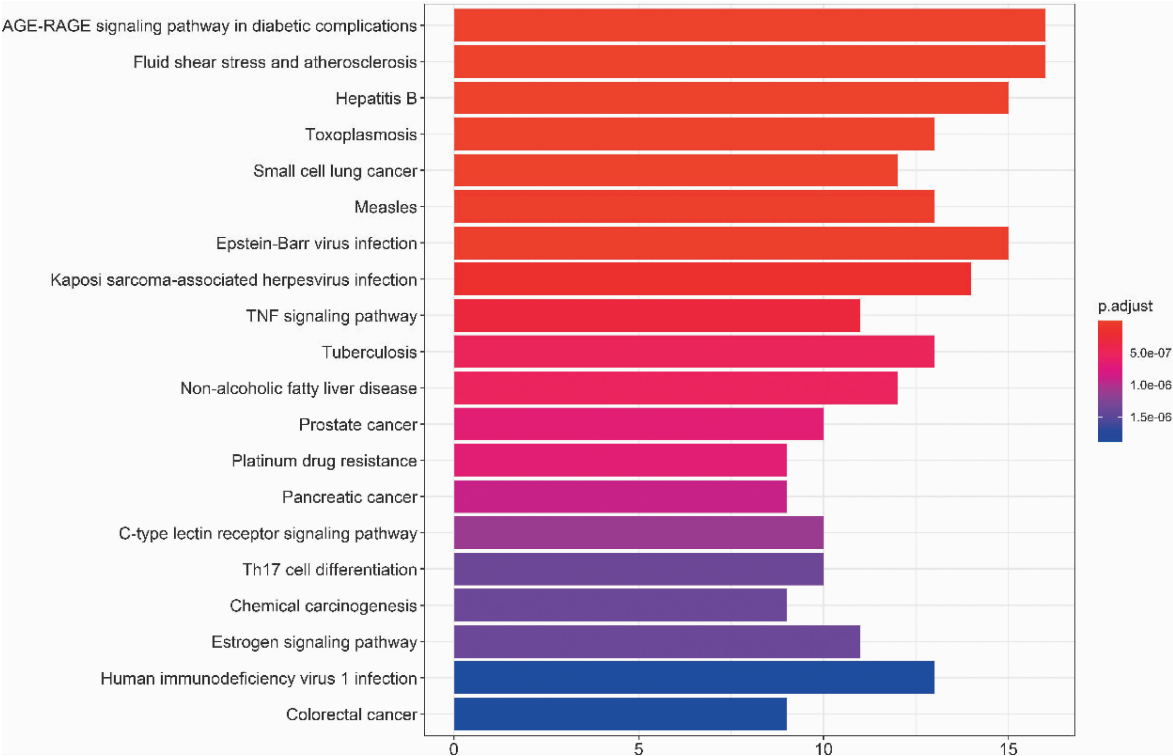


图 9 KEGG 富集柱状图

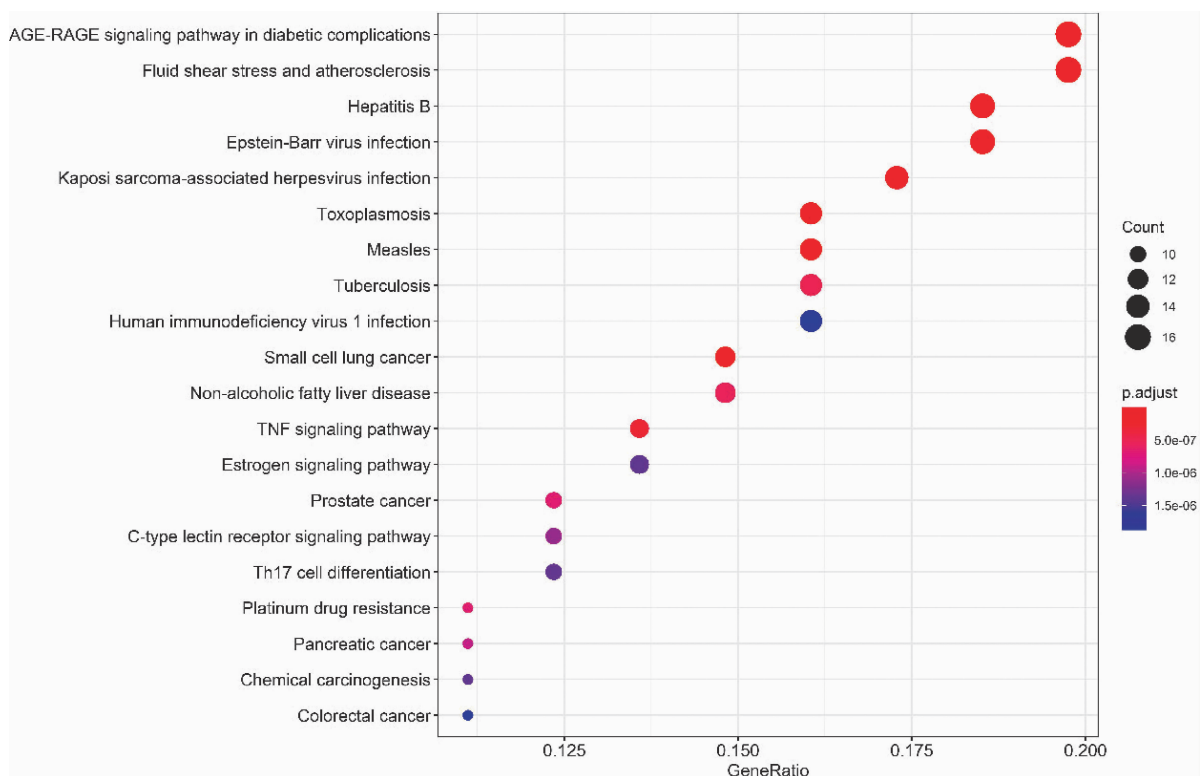


图 10 KEGG 富集气泡图

3 讨论

膝骨关节炎属于中医“痹证”的范畴,由于年老体虚、正气不足、反复劳损,致肝肾精血亏损,加之复感风寒湿外邪,痹阻经络日久,气血运行不畅所致^[15]。独活-羌活-细辛药物组合的应用已有千年历史,常用于治疗膝骨关节炎,具有祛风除湿、散寒止痛之功效^[16]。目前独活中的部分化合物已有相关 KOA 的研究报道,其中,二氢欧芹素具有较强的镇痛和抗炎活性^[17],二氢欧芹醇能通过抑制 NF- κ B 等途径来抑制 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、COX-2、组胺等物质的释放来达到抗炎、镇痛作用^[18],香柑内酯能提高碱性磷酸酶的活性,促进 I 型胶原合成^[19];细辛、羌活也同样具有类似的抗炎、镇痛作用^[20-21]。其中,细辛中的有效成分——槲皮素能有效抑制关节软骨破坏及关节滑液中 IL-1 β 、TNF- α 的水平^[22],进一步研究还发现,槲皮素可通过抑制 p38 MAPK 通路相关因子表达而降低骨关节炎中的炎症因子表达,保护关节软骨^[23]。而羌活中的 4-methyl-3-trans-hexenylferulate、(-)-bornylferulate、4-methoxyphenethylferulate、phenethyl-ferulate 能显著抑制 NO 分泌^[24],此外羌活中部分多炔类成分也表现

出显著抑制 NO 分泌的作用^[25]。因此,羌活具有抗炎能力,被广泛应用于骨关节炎的治疗中。但是由于中药成分复杂,作用于多个靶点、影响多个生物信号通路,并且不同药物之间还存在相互作用,所以目前的研究依然存在一定的局限性,并不能完全阐明中药治疗疾病的作用机制。

网络药理学利用日益健全的多个网络数据库,建立“中药-成分-靶点”与“疾病-基因-靶点”两个网络,通过相同靶点将两个网络进行映射、关联,从而找出疾病与药物成分之间的共同靶点,达到预测中药治疗疾病机制的目的。相较于既往采用实验验证药物作用机制的方法,网络药理学具有低成本、可重复的特点,并且网络药理学具有更为大量的样本量、更加全面,与中药成分的多样性更加适配,可作为后期实验研究的重要铺垫,减少实验验证的盲目性。

本研究通过数据挖掘,揭示独活-羌活-细辛有山柰酚、 β -谷甾醇、芝麻脂素、异紫花前胡苷、紫花前胡苷、O-乙酰二氢欧山芹酯等关键成分,这些成分具有抗氧化、抗炎、镇痛等作用。独活-羌活-细辛与膝骨关节之间存在 92 个共有靶点,通过建立中药-成

分-疾病靶点网络以及中药-成分-疾病-通路-靶点网络图,更直观地反映独活-羌活-细辛药物组合在治疗 KOA 的复杂作用机制。

通过 Cytoscape 进行拓扑分析,发现 AKT1、ESR1、JUN、CASP3 等为关键靶点,其中多项研究表明 AKT1 可以增加骨关节炎软骨细胞增殖并且抑制其凋亡,是骨关节炎的治疗的重要靶点^[26],由此延伸出许多针对 AKT1 靶点基因的研究^[27];JUN 蛋白在骨关节炎患者体内的表达显著升高,抑制 B 细胞活化转录因子/JUN 的转录活性,减少 MMP 的表达,减轻 OA 小鼠的软骨细胞损伤^[28];ESR1 同样能抑制软骨细胞凋亡,促进软骨细胞增殖^[29];CASP3 在膝骨关节炎患者中表达显著增加,与软骨细胞凋亡有关^[30]。

MCODE 聚类分析找出了其中的核心基因 NOS3、ESR1、ACOX1、NR1H2。XbaI 和 PvuII 限制酶识别位点在 ESR1 基因中的多态性与多种疾病有关,其中包括骨关节炎^[31],进一步的研究认为 ESR1 中 rs2234693 的多态性与 KOA 的发生存在相关性^[32];NR1H2 可以激活 p16-CDK 4/6-pRb-E2F 信号通路,减轻软骨细胞的氧化应激和细胞衰老,从而达到治疗膝骨关节的目的^[33];目前部分研究认为 ACOX1 与肝细胞内脂肪沉积和某些癌症具有相关性,但是缺乏 ACOX1 与膝骨关节炎的相关研究^[34];有研究认为 NOS3 与阿尔茨海默病、高血压、脑卒中等多种疾病相关,缺乏研究证明 NOS3 与膝骨关节炎存在相关性,甚至有研究认为 NOS3 与骨关节炎之间并没有相关性^[35]。对此情况,笔者认为,网络药理学也存在其不足之处,可能导致了本次研究结果的偏颇,但是 ACOX1、NOS3 也可能是膝骨关节炎的相关基因,只是目前尚未明确,这也为未来的研究提供了新的方向。

通过 GO 富集分析进一步确定了独活-羌活-细辛可能起作用的生物过程、信号通路、分子功能、细胞组分,其中主要有类固醇激素反应性、脂多糖反应性、脂肪酸代谢过程、活性氧代谢过程、对细菌分子、药物、抗生素反应性以及对外来物质的反应及细胞反应,提示独活-羌活-细辛可能通过调节这些生物过程来治疗膝骨关节炎。有研究认为类固醇激素水平可能与男性全膝、全髋关节置换术存在相关性^[36],但是

目前的研究还不能准确阐明其机制和相关性^[37];脂多糖可以诱导软骨细胞的凋亡,促进骨关节炎的发生,而抑制脂多糖可以减少软骨细胞的凋亡^[38];脂肪酸代谢过程也与骨关节炎存在相关性,不饱和脂肪酸可能对预防骨关节炎有益,而饱和脂肪酸则相反^[39];关节内的氧化应激和活性氧过高会导致软骨细胞衰老和凋亡,细胞外基质合成和降解以及滑膜炎症和软骨下骨功能障碍^[40]。其余生物过程也有部分已经被证明与膝骨关节炎密切相关,也有部分缺乏相关研究。

KEGG 通路富集的结果中,主要有 AGE-RAGE 通路和 TNF 通路。AGE-RAGE 通过引起软骨基质降解与软骨细胞凋亡以及促进软骨及滑膜组织的炎症反应等方式在 OA 发病中发挥重要作用,并且通过抑制 AGE-RAGE 通路可以明显减缓骨关节炎病程发展^[41]。TNF 作为重要的炎症因子,介导多种炎症反应,在骨关节炎的发展中至关重要^[42]。

本研究基于网络药理学的方法,从分子生物学的角度证明了骨痹合剂治疗膝骨关节炎的有效性,初步预测了独活-羌活-细辛治疗膝骨关节炎的有效化学成分,可能的信号通路、生物过程、核心基因,为后续独活-羌活-细辛治疗膝骨关节炎有效成分的分析 and 作用机制探索提供了参考方向和依据。

参考文献:

- [1] BILLESBERGER L M, FISHER K M, QADRI Y J, et al. Procedural treatments for knee osteoarthritis: a review of current injectable therapies[J]. Pain Res Manag, 2020, 2020:3873098.
- [2] DANTAS L O, SALVINI T F, MCALINDON T E. Knee osteoarthritis: key treatments and implications for physical therapy[J]. Braz J Phys Ther, 2021, 25(2):135-146.
- [3] BENNER R W, SHELBOURNE K D, BAUMAN S N, et al. Knee osteoarthritis: alternative range of motion treatment [J]. Orthop Clin North Am, 2019, 50(4):425-432.
- [4] ACKERMAN I N, ZOMER E, GILMARTIN-THOMAS J F, et al. Forecasting the future burden of opioids for osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2018, 26(3):350-355.
- [5] INCZE M A. I have arthritis of the knees: what should I do?[J]. JAMA Intern Med, 2019, 179(5):736.

- [6] 廖建青,吕静,赖福崇,等. 中药内服治疗膝骨性关节炎的用药规律分析[J]. 云南中医学院学报,2020,43(1):83-88.
- [7] 石淇允,李无阴,田涛涛,等. 独活寄生汤联合针灸治疗膝骨关节炎的系统评价与 Meta 分析[J]. 云南中医学院学报,2019,42(3):37-43.
- [8] 戴大城,龚利,邵盛,等. 手法治疗膝骨关节炎研究进展[J]. 中医学报,2020,35(4):792-796.
- [9] 赵文韬,包可,王琦. 骨痹合剂治疗膝骨关节炎疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(13):1492-1492.
- [10] 邓鹏鹏,王福科,李帆冰. 关节镜清理术结合中药治疗膝骨性关节炎[J]. 长春中医药大学学报,2014,30(5):913-915.
- [11] 黄顺旺. 细辛的药理毒理和临床应用[J]. 安徽医药,2003(6):477-479.
- [12] 段凯旋,李跃文,刘和波,等. 基于网络药理学的羌活-独活药对抗炎作用机制研究[J]. 中国药房,2019,30(9):1241-1246.
- [13] LUO T T, LU Y, YAN S K, et al. Network pharmacology in research of chinese medicine formula: methodology, application and prospective[J]. Chin J Integr Med, 2020, 26(1):72-80.
- [14] SIDDERS B, KARLSSON A, KITCHING L, et al. Network-based drug discovery: coupling network pharmacology with phenotypic screening for neuronal excitability[J]. J Mol Biol, 2018, 430(18 Pt A):3005-3015.
- [15] 袁芳,何晓瑾,石俊,等. 骨痹方治疗膝骨关节炎肾虚络痹证临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(7):207-211.
- [16] 赵林灿,李薇薇,吴毅明,等. 独活寄生汤对膝骨关节炎模型大鼠 PERK/Bip 信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(9):18-24.
- [17] 周璐丽,曾建国. 独活化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国现代中药,2019,21(12):1739-1748.
- [18] LU J Y, FANG K Y, WANG S J, et al. Anti-inflammatory effect of columbianetin on lipopolysaccharide-stimulated human peripheral blood mononuclear cells[J]. Mediators Inflamm, 2018, 2018:9191743.
- [19] TANG C H, YANG R S, CHIEN M Y, et al. Enhancement of bone morphogenetic protein-2 expression and bone formation by coumarin derivatives via p38 and ERK-dependent pathway in osteoblasts[J]. Eur J Pharmacol, 2008, 579(1-3):40-49.
- [20] 郭培,郎拥军,张国桃. 羌活化学成分及药理活性研究进展[J]. 中成药,2019,41(10):2445-2459.
- [21] 郭欣,林珊,吴丽明,等. 灯盏细辛化学成分及药理作用研究进展[J]. 中成药,2019,41(2):393-402.
- [22] 刘俊. 槲皮素对兔骨关节炎模型关节液中 IL-1 β 、TNF α 水平的影响[D]. 桂林:桂林医学院,2017.
- [23] 王象鹏,谢文鹏,毕亦飞,王宝安,毕荣修. 基于 p38 MAPK 信号通路分析槲皮素保护骨性关节炎关节软骨的机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(7):169-177.
- [24] Wu XW, Wei W, Yang XW, et al. Anti-Inflammatory Phenolic Acid Esters from the Roots and Rhizomes of *Notopterygium incisum* and Their Permeability in the Human Caco-2 Monolayer Cell Model [J]. Molecules, 2017, 22(6):935.
- [25] BLUNDER M, LIU X, KUNERT O, et al. Polyacetylenes from *Radix et Rhizoma Notopterygii incisum* with an inhibitory effect on nitric oxide production in vitro [J]. Planta Med, 2014, 80(5):415-418.
- [26] WANG K J, CHU M J, WANG F, et al. Putative functional variants of PI3K/AKT/mTOR pathway are associated with knee osteoarthritis susceptibility[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(6):e23240.
- [27] ZHAO X Y, WANG T J, CAI B, et al. MicroRNA-495 enhances chondrocyte apoptosis, senescence and promotes the progression of osteoarthritis by targeting AKT1 [J]. Am J Transl Res, 2019, 11(4):2232-2244.
- [28] RHEE J, PARK S H, KIM S K, et al. Inhibition of BATF/JUN transcriptional activity protects against osteoarthritic cartilage destruction[J]. Ann Rheum Dis, 2017, 76(2):427-434.
- [29] 刘敏,谢巍巍,郑维,等. 雌二醇与 ESR1 靶向结合通过 ERK 信号通路调控软骨细胞的增殖[J]. 南方医科大学学报,2019,39(2):134-143.
- [30] XU C, JIANG T, NI S, et al. FSTL1 promotes nitric oxide-induced chondrocyte apoptosis via activating the SAPK/JNK/caspase 3 signaling pathway[J]. Gene, 2020, 732:144339.
- [31] LIU W, SHAO F M, YAN L, et al. Polymorphisms in the gene encoding estrogen receptor alpha are associated with

- osteoarthritis in Han Chinese women[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(12):5772–5777.
- [32] AHRAR H, AGHILI K, SOBHAN M R, et al. Association of rs2234693 and rs9340799 polymorphisms of estrogen Receptor-1 gene with radiographic defined knee osteoarthritis: A meta-analysis[J]. *J Orthop*, 2019, 16(3): 234–240.
- [33] SHAO J H, FU Q W, LI L X, et al. Prx II reduces oxidative stress and cell senescence in chondrocytes by activating the p16-CDK4/6-pRb-E2F signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(7):3448–3458.
- [34] WANG J J, ZHANG Y T, TSENG Y J, et al. MiR-222 targets ACOX1, promotes triglyceride accumulation in hepatocytes[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2019, 18(4):360–365.
- [35] ZHANG L C, HU Y, SUI C. Lack of associations between polymorphisms in SOD2(rs2758331), NOS3(rs1808593), PPAR δ (rs9794 and rs10865710) and the risk of osteoarthritis in a Chinese Han population: a case-control study[J]. *Chin Med J*, 2019, 132(9):1113–1114.
- [36] HUSSAIN S M, CICUTTINI F M, GILES G G, et al. Relationship between circulating sex steroid hormone concentrations and incidence of total knee and hip arthroplasty due to osteoarthritis in men[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(8):1408–1412.
- [37] HUSSAIN S M, CICUTTINI F M, ALYOUSEF B, et al. Female hormonal factors and osteoarthritis of the knee, hip and hand: a narrative review[J]. *Climacteric*, 2018, 21(2):132–139.
- [38] LUO X F, WANG J L, WEI X, et al. Knockdown of lncRNA MFI2-AS1 inhibits lipopolysaccharide-induced osteoarthritis progression by miR-130a-3p/TCF4[J]. *Life Sci*, 2020, 240:117019.
- [39] LOEF M, SCHOONES J W, KLOPPENBURG M, et al. Fatty acids and osteoarthritis: different types, different effects[J]. *Joint Bone Spin*, 2019, 86(4):451–458.
- [40] LEPETSOS P, PAPAVALASSIOU A G. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(4):576–591.
- [41] XU C, SHENG S R, DOU H C, et al. α -Bisabolol suppresses the inflammatory response and ECM catabolism in advanced glycation end products-treated chondrocytes and attenuates murine osteoarthritis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 84:106530.
- [42] HOSSEINZADEH A, KAMRAVA S K, JOGHATAEI M T, et al. Apoptosis signaling pathways in osteoarthritis and possible protective role of melatonin[J]. *J Pineal Res*, 2016, 61(4):411–425.