

基于网络药理学和细胞实验探讨柚皮素对骨关节炎细胞铁死亡的影响

麦根宁¹, 黎 淼^{1,2}, 潘兆丰^{1,2}, 肖嘉聪^{1,2}, 李卫鸿³, 黎晓轩⁴, 曾嘉旭^{1,2}, 周 驰^{5,6*}, 王海彬^{2,5*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院中医证候国家重点实验室, 广东 广州 510405; 3. 广东药科大学中医学院, 广东 云浮 510006; 4. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东 广州 510405; 5. 广州中医药大学第一附属医院骨科, 广东 广州 510405; 6. 茂名市中医医院骨伤科, 广东 茂名 525000)

摘要: **目的** 探究柚皮素治疗骨关节炎的潜在作用机制。**方法** 采用 Targenet、GeneCards、FerrDb 等数据库筛选柚皮素、骨关节炎、铁死亡相关靶点; Cytoscape 软件构建“通路-靶点”网络; R 软件进行 GO、KEGG 分析; Autodock Vina、PyMol 软件进行柚皮素与核心靶点的分子对接及可视化。采用 CCK-8 法检测软骨细胞活性; 甲苯胺蓝染色法鉴定软骨细胞并观察其生长状态; 荧光法检测细胞 ROS、lipid ROS 水平; 试剂盒检测软骨细胞内 GSH、MDA 水平; Western blot 法检测细胞 Col2、MMP3、MMP13、Bax、Bcl-2、Gpx4、SLC7A11、Sirt1、Nox4 蛋白表达。**结果** 筛选出药物靶点 555 个、铁死亡靶点 671 个、疾病靶点 5 946 个、交集靶点共 41 个, 核心靶点主要包括 PPARG、EGFR、GSK3B、PTGS2、Sirt1、RELA、PARP1、MDM2 等。GO 富集分析显示, 生物学过程主要与细胞对化学应激的反应、细胞对氧化应激的反应等有关, 细胞组分主要与膜筏、膜微域有关, 分析功能主要与 RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合、DNA 结合型转录因子结合、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性有关, 而 KEGG 分析主要富集在松弛素信号通路、活性氧信号通路、FoxO 信号通路等。细胞实验表明, 与 IL-1 β 组比较, IL-1 β +柚皮素-H 组软骨细胞凋亡减少 ($P<0.01$), 软骨细胞活性增加 ($P<0.01$); 软骨细胞 ROS、lipid ROS 水平降低 ($P<0.01$); 细胞 MDA 水平降低 ($P<0.01$), GSH 水平升高 ($P<0.01$); Col2、Bcl-2、Gpx4、SLC7A11、Sirt1 蛋白表达升高 ($P<0.01$), MMP3、MMP13、Bax、Nox4 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。分子对接显示, 活性成分与核心靶点 Nox4、Sirt1 有较好的结合。**结论** 柚皮素可能通过调控 Sirt1/Nox4 信号通路抑制软骨细胞铁死亡, 发挥治疗骨关节炎的作用。

关键词: 柚皮素; 骨关节炎; 铁死亡; 网络药理学; 细胞实验; Sirt1/Nox4 信号通路; 活性氧; 氧化应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)01-0302-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.044

骨关节炎是中老年人常见的慢性关节疾病, 其典型特征为关节软骨发生退行性改变, 并伴随继发性骨增生, 其症状为关节疼痛、肿胀、僵硬等, 可累及关节软骨乃至整个关节结构^[1-2]。目前主要通过抗炎镇痛药和人工关节置换术来缓解骨关节炎患者关节疼痛, 延缓疾病进展, 但由于药物的不良反应及高昂的手术费用, 上述疗法尚未得到广泛应用^[3-4]。因此, 探索骨关节炎的发病机制、寻找新的治疗靶点成为当前相关研究的重点。

铁死亡是一种非凋亡的程序性细胞死亡方式, 以脂质过氧化物和线粒体活性氧 (reactive oxygen

species, ROS) 的过量积累为特征^[5-6]。研究表明, 软骨细胞的铁死亡会加速软骨退化, 进而加重骨关节炎疾病的进展^[7], 提示抑制软骨细胞铁死亡可能是治疗骨关节炎的一种策略。

柚皮素具有抗炎、抗氧化、抗衰老等药理活性^[8], 沉默信息调节因子 1 (sirtuin 1, Sirt1) 具有调节炎症、氧化应激、增殖和代谢过程^[9], 而 NADPH 氧化酶 4 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 4, Nox4) 负责产生 ROS^[10]。研究表明, Sirt1/Nox4 信号通路在多种疾病中发挥重要作用^[11-12], 但其在骨关节炎中的机制仍需进一

收稿日期: 2025-03-27

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2024A1515012062); 广州市科技项目 (2023B03J0056); 广东省中医药管理局项目 (20254028); 茂名市科技项目 (2023SZX022)

作者简介: 麦根宁 (2002—), 男, 研究方向为中医药防治骨与关节疾病。E-mail: mgn15119905998@163.com

* **通信作者:** 周 驰 (1981—), 男, 博士, 副主任医师, 研究方向为中医药防治股骨头坏死与骨关节炎。E-mail: zcmzy1@163.com
王海彬 (1970—), 男, 博士, 主任医师, 研究方向为中医药防治骨与关节疾病。E-mail: hipman@163.com

步研究。因此,本研究通过网络药理学和细胞实验探讨柚皮素调控软骨细胞铁死亡治疗骨关节炎的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 试剂 柚皮素(纯度 $\geq 98\%$,货号480-41-1)购自成都德思特生物技术有限公司。DMEM/F12培养基(货号11320082)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;胎牛血清(FBS,货号10099141C)购自美国Gibco公司;II型胶原酶(货号C2-28-100MG)购自美国Sigma公司;CCK8细胞计数试剂盒(货号GK10001)购自美国GlpBio公司;Col2、MMP3、MMP13、Bax、Bcl-2、Gpx4、SLC7A11、Sirt1、Nox4、 β -actin抗体、山羊抗兔IgG二抗(货号AF0135、AF0217、AF5355、AF0120、AF6139、AF6701、DF12019、DF6033、DF6924、AF7018、S0001)均购自美国Affinity Biosciences公司;RIPA裂解液、BCA检测试剂盒(货号PP111-01、P0398S)均购自上海碧云天生物技术股份有限公司。甲苯胺蓝染色试剂盒、谷胱甘肽(GSH)含量检测试剂盒、丙二醛(MDA)含量检测试剂盒(货号G3660、BC1175、BC0025)均购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 网络药理学

1.2.1 靶点获取 从PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)获取柚皮素SMILES信息,SwissTargetPrediction数据库进行靶点预测;从UniProt(<https://www.uniprot.org/>)、TTD(<https://db.idrblab.net/ttd/>)、Drugbank(<https://go.drugbank.com/>)、TargetNet(<http://targetnet.scbdd.com/>)数据库录入关键词“naringenin”进行检索,获取与柚皮素有关的靶点。再合并上述5个数据库获取的靶点,剔除重复基因,采用UniProt数据库进行校正,获得相关信息。

1.2.2 骨关节炎、铁死亡靶点收集 以“osteoarthritis”为关键词,输入GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM2(<https://www.omim.org/>)数据库中,选取相关靶点进行合并,去除重复基因,建立疾病靶点集。再采用FerrDB数据库(<http://www.zhounan.org/ferrdb/current/>)下载铁死亡相关靶点。

1.2.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建及核心靶点筛选 通过Venn图在线网站(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)绘制柚皮素、骨关节炎、铁死亡Venn图,将交集靶点导入

STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>),构建PPI网络。再将下载的TSV文件导入Cytoscape 3.7.2软件中,采用cytoHubba插件进行网络拓扑分析,以Degree值对各靶点进行排序,排名前20位者为核心靶点。

1.2.4 GO功能、KEGG通路富集分析 采用R语言并下载ClusterProfile数据包,对交集靶点进行分析,以 $P < 0.01$ 为筛选标准,进行基因本体论(gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)分析。其中,GO分析可从细胞成分(CC)、生物过程(BP)、分子功能(MF)三方面解释柚皮素作用靶蛋白在基因功能方面的效能,而KEGG分析能解释柚皮素作用靶蛋白的信号途径。

1.2.5 “通路-靶点”关系网络构建 选取KEGG通路富集分析前20位的信号通路,建立其与对应靶点之间的相互作用关系,导入Cytoscape 3.7.2软件中构建柚皮素、骨关节炎网络图。

1.2.6 分子对接 从PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载核心靶点Sirt1、Nox4蛋白晶体3D结构的pdb格式文件, PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)下载柚皮素三维结构的mol2格式文件,采用AutoDockTools 1.5.6软件修饰后以pdbqt格式导出, Autodock Vina 1.1.2进行分子对接。当结合能(BE) ≤ -5.0 kcal/mol时,表示活性分子与靶点之间呈现较好的直接结合;当BE ≤ -7.0 kcal/mol时,表示两者之间的结合非常强烈。

1.3 细胞实验

1.3.1 细胞提取和培养 软骨细胞提取参照Li等^[13]报道进行。1周龄雄性C57BL/6小鼠购自广州中医药大学动物实验中心[实验动物生产许可证号SCXK(粤)2018-0034],脱颈处死后置于75%乙醇中浸泡15 min,立即转移至超净工作台上的无菌PBS中,采用无菌显微镊钝性分离提取膝关节周围的皮肤及软组织,透明软组织即为关节软骨,转移至1.5 mL离心管中,显微剪将其剪成约1 mm³的小块,加入0.25%胰酶,37℃消化30 min,离心,弃去上清液,沉淀中加入1 mL 0.25% II型胶原酶,37℃消化6 h,离心,沉淀重悬于含10% FBS、1% P/S的DMEM/F12完全培养基中,再转移至T25培养瓶中,在37℃、5% CO₂条件下培养,取第2~5代细胞进行实验。

1.3.2 CCK-8法检测细胞活性 将软骨细胞以

5 000/孔密度接种于 96 孔板中,培养至贴壁后分为 2 组,第 1 组加入柚皮素 (0、1、2.5、5、10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$) 进行处理,第 2 组加入柚皮素 (0、1、2.5、5、10、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$) 和 IL-1 β (10 ng/mL) 共同处理,干预 24 h 后吸出原液,每孔加入 100 μL CCK-8 试剂工作液 (CCK-8 原液:无血清培养基=1:10),避光孵育 1.5 h,采用酶标仪检测 450 nm 波长处光密度 (OD),计算细胞活性,公式为细胞活性 = $[(\text{OD}_{\text{实验组}} - \text{OD}_{\text{对照组}}) / (\text{OD}_{\text{空白组}} - \text{OD}_{\text{对照组}})] \times 100\%$ 。

1.3.3 建模及分组 将细胞分为对照组、IL-1 β 组和柚皮素低、高浓度组 (10、20 $\mu\text{mol/L}$),IL-1 β 组加入 10 ng/mL IL-1 β 诱导软骨细胞损伤模拟体外骨关节炎环境,柚皮素组加入不同浓度柚皮素和 10 ng/mL IL-1 β 共同培养。

1.3.4 甲苯胺蓝染色 将软骨细胞以 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 密度接种于 12 孔板中,按“1.3.3”项下方法分组处理 24 h 后吸去培养基,PBS 清洗 2 次,4% 多聚甲醛固定细胞 20 min,PBS 清洗 3 次,甲苯胺蓝染色液染色 30 min,PBS 清洗 3 次,在显微镜下观察。

1.3.5 GSH、MDA 水平检测 将软骨细胞以 $5 \times 10^5/\text{孔}$ 密度接种于 6 孔板中,按“1.3.3”项下方法分组处理 24 h 后吸去培养基,PBS 清洗 2 次,胰蛋白酶消化,4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 000 r/min 离心 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 破碎,取裂解液,4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 000 r/min 离心 10 min,取上清,按照相关试剂盒说明书检测 MDA、GSH 水平。

1.3.6 荧光法检测细胞 ROS、lipid ROS 水平 将软骨细胞以 $3 \times 10^4/\text{孔}$ 密度接种于 24 孔板中,按“1.3.3”项下方法分组处理 24 h 后吸去培养基,PBS 清洗 2 次,加 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 探针或 1 $\mu\text{mol/L}$ C11-BODIPY 探针,置于细胞培养箱中孵育 30 min,PBS 清洗细胞,在荧光显微镜下观察荧光信号,捕捉图像。采用 ImageJ 软件比较不同处理组 ROS、lipid ROS 水平。

1.3.7 Western blot 检测细胞 Col2、MMP3、MMP13、Bax、Bcl-2、Gpx4、SLC7A11、Sirt1、Nox4 蛋白表达 将软骨细胞以 $3 \times 10^5/\text{孔}$ 密度接种于 6 孔板中,按“1.3.3”项下方法分组处理 24 h 后吸去培养基,PBS 清洗 2 次,加 100 μL 裂解液吹打数次,进一步裂解后 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,测定蛋白浓度,定量后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,分离目的蛋白,湿转法转移至 PVDF 膜,

快速封闭液封闭 15 min,加入稀释后的一抗 Sirt1 (1:1 000)、Nox4 (1:1 000)、Col2 (1:1 000)、MMP3 (1:1 000)、MMP13 (1:1 000)、Bax (1:1 000)、Bcl-2 (1:1 000)、SLC7A11 (1:1 000)、Gpx4 (1:1 000)、 β -actin (1:2 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,TBST 缓冲液漂洗 3 次后加入二抗 (1:5 000),常温孵育 1.5 h,TBST 漂洗 3 次后 ECL 显色液显色,曝光扫描。采用 ImageJ 软件对条带灰度值进行分析。

1.4 统计学分析 通过 GraphPad Prism7 软件进行处理,数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,满足正态分布者多组间比较采用单因素方差分析,2 组间比较若方差齐则采用独立样本 t 检验,若方差不齐则采用 t' 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 铁死亡途径相关靶点

2.1.1 柚皮素靶点 SwissTargetPrediction 数据库中获得 100 个,UniProt 数据库中获得 42 个,TTD 数据库中获得 5 个,DrugBank 数据库中获得 6 个,TargetNet 数据库中获得 483 个,经统一校正、去除重复靶点后最终获得 555 个,见图 1A。

2.1.2 骨关节炎、铁死亡靶点 GeneCards 数据库中获得骨关节炎靶点 5 562 个,OMIM 数据库中获得 429 个,合并去重后最终获得 5 946 个,而 FerrDb 数据库中获得铁死亡靶点 671 个,采用 Venn 图对三者取交集,得到共同靶点 41 个,见图 1A。

2.1.3 PPI 网络 采用 STRING 平台对交集靶点进行 PPI 分析,绘制其相互作用网络,见图 1B,由 41 个节点和 252 条边组成。再将其以 TSV 格式存储,导入 Cytoscape 3.7.2 软件中进行拓扑分析,以靶点大小、颜色表示结合度值 (Degree),见图 1C。由此可知,Degree 排名较前的靶点为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、表皮生长因子受体 (EGFR)、去乙酰化酶 (Sirt1) 等。

2.2 GO 功能富集分析 通过 R 语言对 41 个关键靶点进行分析,共得到 1 240 条 GO 条目 ($P < 0.01$),包括 BP 1 132 条,见图 2A;MF 81 条,见图 2B;CC 27 条,见图 2C,根据 P 值筛选出排名前 10 位者,见图 2D。由此可知,BP 主要富集氧化应激反应、细胞对化学反应等,CC 主要包含膜筏、膜微域等,MF 主要涉及 DNA 转录因子结合、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 转录因子结合等。

2.3 KEGG 通路富集分析

2.3.1 结果 通过 R 语言对 41 个关键靶点进行分

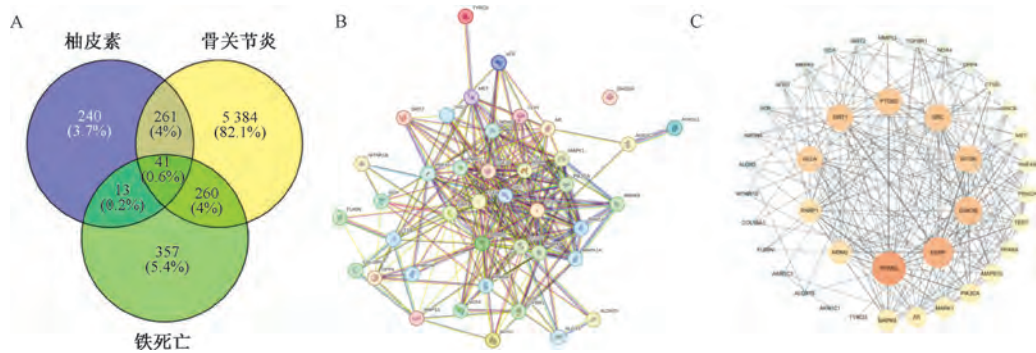


图 1 柚皮素治疗骨关节炎铁死亡途径相关靶点及 PPI 网络

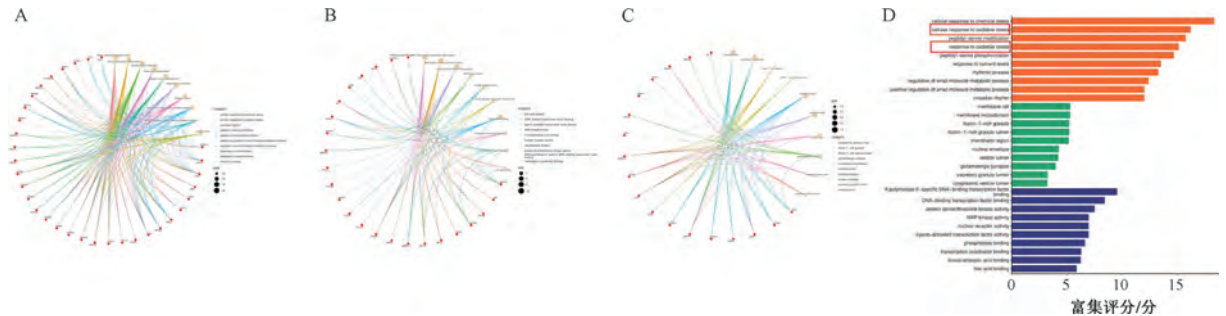


图 2 GO 功能富集分析图

析，发现主要富集在 127 条信号通路（ $P<0.01$ ），按 P 值筛选出前 20 条，采用 ggplot2 软件绘制气泡图，见图 3A。由此可知，主要涉及松弛素信号通路、ROS 通路、FoxO 信号通路等，其中 ROS 通路与铁死亡有着密切的关联。

2.3.2 “通路-靶点”关系网络图 基于前 20 条 KEGG 通路构建柚皮素与骨关节炎的相互作用网络，见图 3B。其中，Sirt1 作为去乙酰化酶，参与调控细胞应激、抗炎及抗氧化；Nox4 作为 ROS 生成酶，与细胞氧化应激和铁死亡密切相关，提示柚皮素可能通过调节 Sirt1/Nox4 信号通路干预骨关节炎铁死亡进程。

2.4 柚皮素对 IL-1 β 诱导软骨细胞活性、细胞外基质及凋亡的影响

2.4.1 细胞活性 如图 4A 所示，40 $\mu\text{mol/L}$ 以下柚皮素可促进软骨细胞增殖，而 50 $\mu\text{mol/L}$ 时反而有所抑制。如图 4B 所示，与对照组比较，IL-1 β 诱导小鼠软骨细胞活性受到抑制（ $P<0.01$ ），而 10、20、30 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素能减轻该情况（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），故选择 10、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素进行后续实验。

2.4.2 甲苯胺蓝染色 软骨细胞内细胞核呈紫蓝色；IL-1 β 组软骨细胞数量相较于对照组减少，细胞伪足有所改变，IL-1 β 和柚皮素低、高浓度处理组（IL-1 β +柚皮素-L、H 组）软骨细胞数量相较于

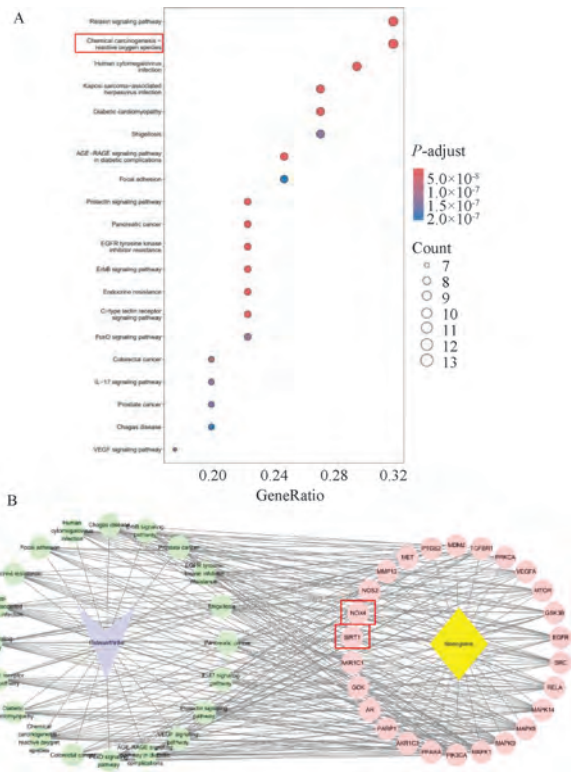


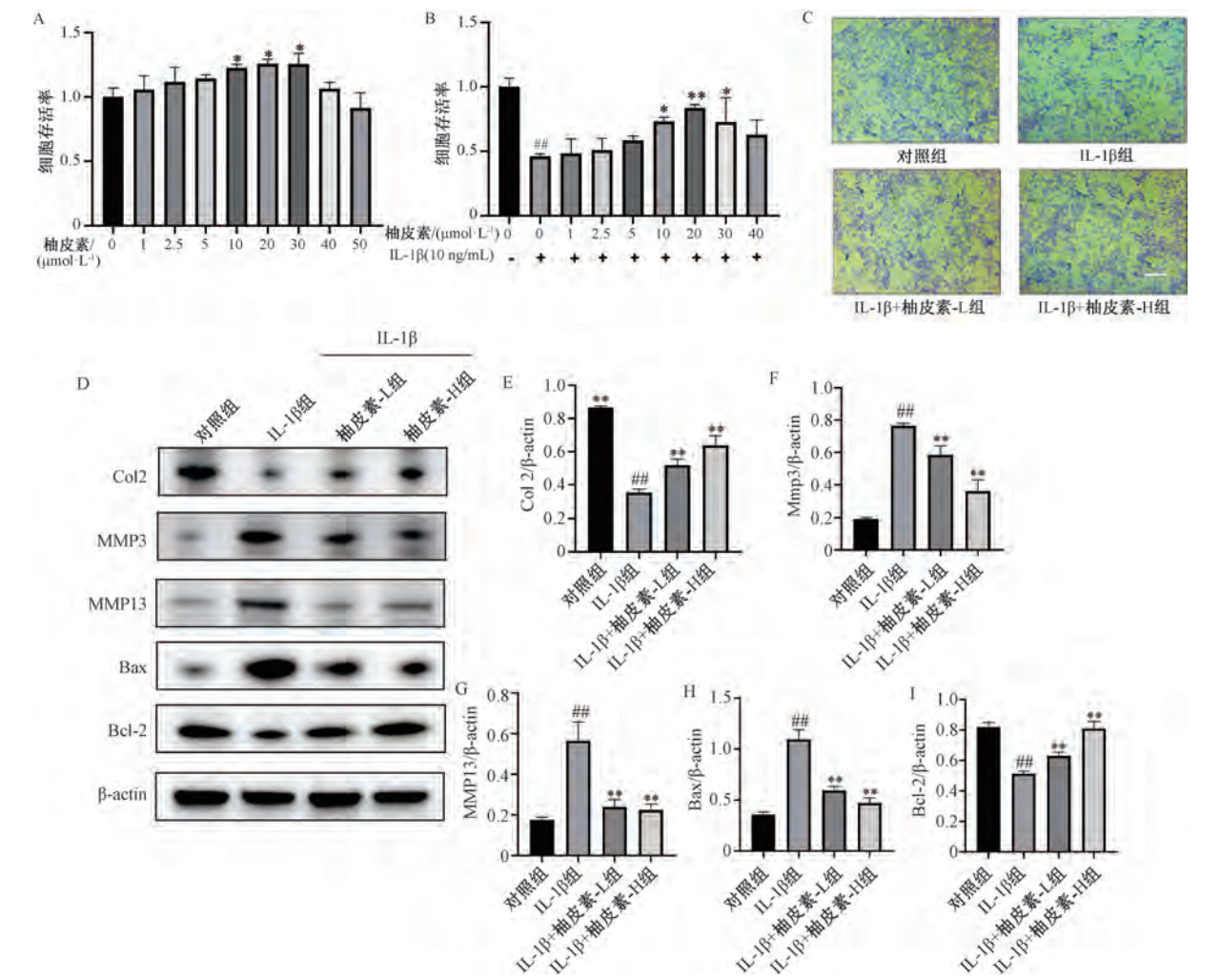
图 3 KEGG 富集分析图

IL-1 β 组有所增加，见图 4C。由此表明，柚皮素能在一定程度上减少 IL-1 β 引起的软骨细胞死亡。

2.4.3 Col2、MMP3、MMP13、Bax、Bcl-2 蛋白表达 如图 4D 所示，与对照组比较，IL-1 β 组 Col2 蛋白表达降低（ $P<0.01$ ），表明 IL-1 β 对胶原合成

具有抑制作用；基质金属蛋白酶 MMP3、MMP13 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，表明 IL-1 β 破坏了软骨基质的完整性；Bax 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，Bcl-2 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，表明 IL-1 β 促进

了软骨细胞凋亡，而与 IL-1 β 组比较，IL-1 β +柚皮素各浓度组 Col2、Bcl-2 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，MMP3、MMP13、Bax 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，表明柚皮素减轻了 IL-1 β 诱导的负面影响。



注：A 中，与柚皮素（0 $\mu\text{mol/L}$ ）比较，* $P<0.05$ 。B、E~I 中，与对照组（B 中为左边第 1 条）比较， $^{###}P<0.01$ ；与 IL-1 β 组（B 中为左边第 2 条）比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

图 4 柚皮素对 IL-1 β 诱导软骨细胞活性、细胞外基质及凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

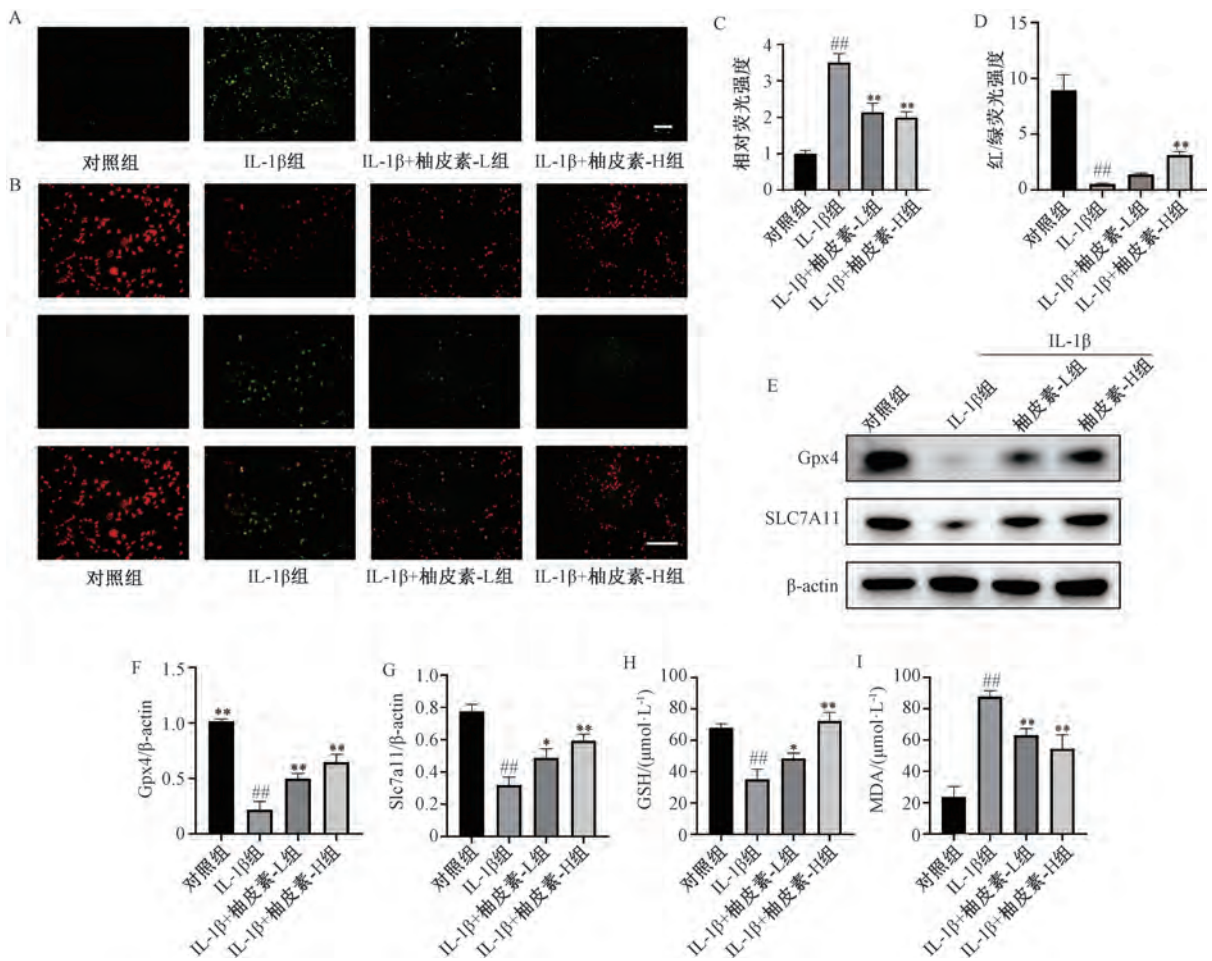
2.5 柚皮素对 IL-1 β 诱导的软骨细胞铁死亡的影响

2.5.1 ROS、lipid ROS 水平 与对照组比较，IL-1 β 组软骨细胞 ROS 荧光强度（绿色荧光）和 lipid ROS 荧光强度（绿/红荧光）增加 ($P<0.01$)；与 IL-1 β 组比较，IL-1 β +柚皮素各浓度组软骨细胞 ROS 荧光强度减弱 ($P<0.01$)，IL-1 β +柚皮素-H 组软骨细胞 lipid ROS 荧光强度减弱 ($P<0.01$)，见图 5A~5D。由此表明，柚皮素能降低软骨细胞 ROS 水平，减少 lipid ROS 的积累，减轻软骨细胞氧化应激反应，提高软骨细胞抗铁死亡能力。

2.5.2 Gpx4、SLC7A11 蛋白表达 与对照组比较，IL-1 β 组软骨细胞 Gpx4、SLC7A11 蛋白表达降

低 ($P<0.01$)；与 IL-1 β 组比较，IL-1 β +柚皮素各浓度组软骨细胞 Gpx4、SLC7A11 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 5E~5G。由此表明，柚皮素可能通过上调 Gpx4 和 SLC7A11 蛋白表达，抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞的铁死亡，从而保护软骨细胞免受损伤。

2.5.3 MDA、GSH 水平 与对照组比较，IL-1 β 组软骨细胞 MDA 水平升高 ($P<0.01$)，GSH 水平降低 ($P<0.01$)；与 IL-1 β 组比较，IL-1 β +柚皮素各浓度组软骨细胞 MDA 水平降低 ($P<0.01$)，GSH 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 5H~5I。由此表明，柚皮素能通过减轻氧化损伤和增强细胞



注：与对照组比较，^{##}*P*<0.01；与 IL-1β 组比较，^{*}*P*<0.05，^{**}*P*<0.01。
图 5 柚皮素对 IL-1β 诱导软骨细胞铁死亡的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n* = 3)

抗氧化能力来保护软骨细胞。

2.6 柚皮素对 IL-1β 诱导软骨细胞 Sirt1/Nox4 信号通路的影响

2.6.1 Sirt1/Nox4 分子对接 采用 Autodock Vina 软件对柚皮素与核心靶点 Sirt1、Nox4 进行分子对接，结果显示柚皮素与核心靶点 Sirt1、Nox4 的结合能分别为 -7.7、-6.4 kcal/mol，再以 PyMol 软件进行可视化，见图 6A。

2.6.2 Sirt1、Nox4 蛋白表达 与对照组比较，IL-1β 组软骨细胞 Sirt1 蛋白表达降低 (*P*<0.01)，Nox4 蛋白表达升高 (*P*<0.01)；与 IL-1β 组比较，IL-1β+柚皮素各浓度组软骨细胞 Sirt1 蛋白表达升高 (*P*<0.01)，Nox4 蛋白表达降低 (*P*<0.01)，见图 6B~6D。由此表明，柚皮素可能通过上调 Sirt1 蛋白表达，下调 Nox4 蛋白表达，从而拮抗 IL-1β 诱导的软骨细胞损伤。

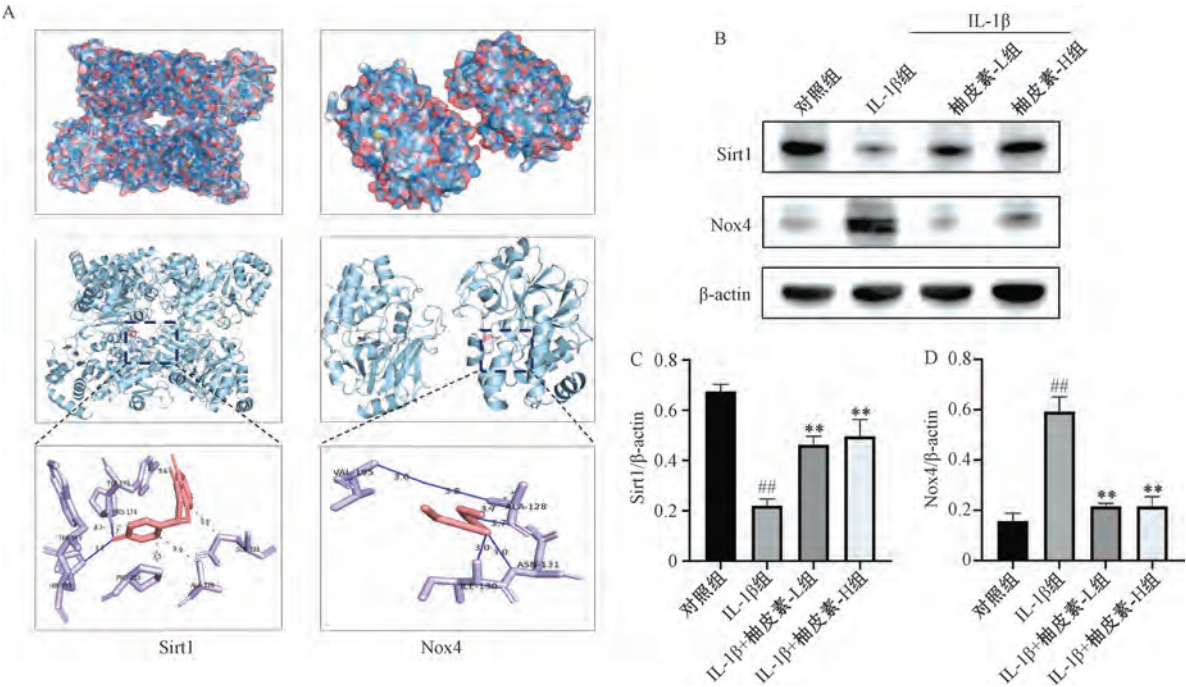
3 讨论

骨关节炎是导致老年人关节疼痛、活动功能减

退、畸形甚至致残的主要原因，严重影响患者生活质量，给家庭及社会带来了巨大的负担^[14]。本研究采用网络药理学筛选出柚皮素治疗骨关节炎的关键成分与核心靶点，经分子对接预测其结合可能性，再选取 Sirt1、Nox4 作为核心靶点开展细胞实验，证实柚皮素可通过调控 Sirt1/Nox4 信号通路来抑制 IL-1β 诱导软骨细胞铁死亡，为骨关节炎治疗提供了新的靶点与思路。

研究表明，Sirt1/Nox4 调节氧化应激在炎症和骨形成过程中都起着重要作用^[15]。Wu 等^[12]研究发现，生长分化因子 11 (growth differentiation factor 11, GDF11) 过表达通过激活 Sirt1/Nox4 信号传导抑制铁死亡，从而减轻脓毒症诱导的肺微血管内皮细胞 (pulmonary microvascular endothelial cells, PMECs) 损伤。本研究结果显示，柚皮素可能通过上调 Sirt1 和下调 Nox4 蛋白表达参与软骨细胞铁死亡调控。

铁死亡对骨关节炎发生有重要影响，可能通过



注：与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与 IL-1 β 组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图 6 柚皮素对 IL-1 β 诱导软骨细胞 Sirt1/Nox4 信号通路的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

氧化应激、氧化还原和炎症诱导作用于后者^[16]。骨关节炎中 ROS 过量产生改变了细胞内信号传导、软骨细胞生命周期，并导致滑膜发生炎症^[17]。Huang 等^[18]发现，ROS 通过参与脂质过氧化物的形成，在启动铁死亡中起着核心作用^[19]。GSH 是 Gpx4 分解过氧化物的关键辅助因子^[20]，后者将脂质过氧化物转化为无毒醇，防止脂质过氧化，并在调节铁死亡中起关键作用^[21]。GO 功能富集分析结果表明，氧化应激与铁死亡在骨关节炎中具有关键作用。细胞实验显示，柚皮素可抑制 IL-1 β 诱导软骨细胞铁死亡，而且细胞应激反应和代谢调控可能为重要机制。

柚皮素是一种天然黄烷酮，存在于柑橘类水果中^[22]，具有抗氧化、抗炎、抗凋亡、抗肿瘤等生物活性，在多种疾病中广泛应用^[23-25]，可通过抑制铁死亡来表现出减轻心肌缺血、银纳米颗粒诱导肺损伤和香烟诱导肺损伤的能力^[26]。Jiang 等^[27]发现，柚皮素可降低辐射诱导细胞损伤中铁死亡相关基因 mRNA 表达，升高铁死亡抑制基因（Gpx4、SLC7A11）mRNA 表达。另外，柚皮素还通过诱导自噬相关铁死亡来减轻胆管结扎术诱导的肝纤维化^[28]。本研究发现，柚皮素可通过调控 Sirt1/Nox4 信号通路来抑制软骨细胞铁死亡，其治疗骨关节炎的机制与网络药理学一致。

综上所述，柚皮素可能通过调节 Sirt1/Nox4 信

号通路来抑制软骨细胞铁死亡，减少软骨细胞凋亡。但本研究仅验证单一通路，缺乏体内实验，未来需探索更多通路并开展体内实验，以期明确柚皮素作用机制及其应用潜力。

参考文献：

[1] Bao C, Zhu S, Song K, *et al.* HK2: a potential regulator of osteoarthritis *via* glycolytic and non-glycolytic pathways[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 132.

[2] Wang L, Ye S, Qin J, *et al.* Ferroptosis-related genes LPCAT3 and PGD are potential diagnostic biomarkers for osteoarthritis[J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1): 699.

[3] Honvo G, Reginster J Y, Rabenda V, *et al.* Safety of symptomatic slow-acting drugs for osteoarthritis: outcomes of a systematic review and meta-analysis[J]. *Drugs Aging*, 2019, 36(Suppl 1): 65-99.

[4] Mathiessen A, Conaghan P G. Synovitis in osteoarthritis: current understanding with therapeutic implications[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 18.

[5] Zhou R P, Chen Y, Wei X, *et al.* Novel insights into ferroptosis: implications for age-related diseases[J]. *Theranostics*, 2020, 10(26): 11976-11997.

[6] Conrad M, Kagan V E, Bayir H, *et al.* Regulation of lipid peroxidation and ferroptosis in diverse species[J]. *Genes Dev*, 2018, 32(9-10): 602-619.

[7] Yang J, Hu S, Bian Y, *et al.* Targeting cell death: pyroptosis, ferroptosis, apoptosis and necroptosis in osteoarthritis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 789948.

[8] 孙 弦, 吴 庭, 刘文竹, 等. 柚皮素调节 cGAS-STING 信号通路对痤疮模型大鼠炎症反应的影响[J]. *中国皮肤性病*

学杂志, 2025, 39(10): 1102-1108.

[9] Shen P, Deng X, Chen Z, *et al.* SIRT1: a potential therapeutic target in autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 779177.

[10] Chen F, Haigh S, Barman S, *et al.* From form to function: the role of Nox4 in the cardiovascular system[J]. *Front Physiol*, 2012, 3: 412.

[11] Hacıoglu C. Capsaicin inhibits cell proliferation by enhancing oxidative stress and apoptosis through SIRT1/NOX4 signaling pathways in HepG2 and HL-7702 cells[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2022, 36(3): e22974.

[12] Wu Z, Xi Q, Zhao Q, *et al.* GDF11 overexpression alleviates sepsis-induced lung microvascular endothelial barrier damage by activating Sirt1/Nox4 signaling to inhibit ferroptosis[J]. *Shock*, 2024, 62(2): 245-254.

[13] Li M, Xiao J, Chen B, *et al.* Loganin inhibits the ROS-NLRP3-IL-1 β axis by activating the NRF2/HO-1 pathway against osteoarthritis[J]. *Chin J Nat Med*, 2024, 22(11): 977-990.

[14] 左荣台, 赵金忠. 铁死亡与骨关节炎关系的研究进展[J]. 中国研究型医院, 2025, 12(1): 54-61.

[15] Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future[J]. *Periodontol 2000*, 2017, 75(1): 7-23.

[16] Deng W, Zhang W, He Q. Study on the mechanism of puerarin against osteoarthritis from ferroptosis based on network pharmacology and bioinformatics[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2024, 397(2): 959-968.

[17] Lepetsos P, Papavassiliou K A, Papavassiliou A G. Redox and NF- κ B signaling in osteoarthritis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 132: 90-100.

[18] Huang Y F, Wang G, Ding L, *et al.* Lactate-upregulated NADPH-dependent NOX4 expression via HCAR1/PI3K pathway contributes to ROS-induced osteoarthritis chondrocyte damage[J]. *Redox Biol*, 2023, 67: 102867.

[19] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, *et al.* Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.

[20] Seiler A, Schneider M, Förster H, *et al.* Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death[J]. *Cell Metab*, 2008, 8(3): 237-248.

[21] Chen X, Yu C, Kang R, *et al.* Cellular degradation systems in ferroptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(4): 1135-1148.

[22] Li Y, He B, Zhang C, *et al.* Naringenin attenuates isoprenaline-induced cardiac hypertrophy by suppressing oxidative stress through the AMPK/NOX2/MAPK signaling pathway[J]. *Nutrients*, 2023, 15(6): 1340.

[23] Slika H, Mansour H, Wehbe N, *et al.* Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 146: 112442.

[24] Cao Y L, Lin J H, Hammes H P, *et al.* Flavonoids in treatment of chronic kidney disease[J]. *Molecules*, 2022, 27(7): 2365.

[25] Hamsalakshmi, Alex A M, Arehally M M, *et al.* Therapeutic benefits of flavonoids against neuroinflammation: a systematic review[J]. *Inflammopharmacology*, 2022, 30(1): 111-136.

[26] Zhang X, Li M, Wu H, *et al.* Naringenin attenuates inflammation, apoptosis, and ferroptosis in silver nanoparticle-induced lung injury through a mechanism associated with Nr2/HO-1 axis: *in vitro* and *in vivo* studies[J]. *Life Sci*, 2022, 311(Pt A): 121127.

[27] Jiang J, Deng X, Xu C, *et al.* Naringenin inhibits ferroptosis to reduce radiation-induced lung injury: insights from network pharmacology and molecular docking[J]. *Pharm Biol*, 2025, 63(1): 1-10.

[28] Yu T, Lu X, Liang Y, *et al.* Naringenin alleviates liver fibrosis by triggering autophagy-dependent ferroptosis in hepatic stellate cells[J]. *Heliyon*, 2024, 10(7): e28865.

药事管理暨中药科学监管栏目征稿公告

国家药监局发布的《关于促进中药传承创新发展的实施意见》提出，鼓励运用现代科学技术和传统中医药研究方法，深入开展中药监管科学研究。根据国家中药科学监管大会精神的新要求，进一步加强药品监管和政策法规的研究。《中成药》期刊即日起，增设药事管理栏目，以满足相关领域读者阅读学习和作者撰稿交流的需要，特发布征稿公告。

- (一) 征稿稿件的内容：
- (1) 与药事管理暨中药监管科学相关的政策与法规，如药监政策法规、卫生政策法规、医疗保险政策、医药产业政策等的研究与解读。

(2) 药事管理法规在药品研制、生产、流通、使用等领域应用的理论探讨和实践经验总结。

(3) 药事管理技术方法的介绍与效果评价。

(4) 中药科学监管工作发展的展望及其他相关内容等。
- (二) 征稿要求：
- (1) 文稿主题明确、内容精练、文字通顺。

(2) 文稿内容应具备思想性、科学性、新颖性、逻辑性、实用性、伦理性。

(3) 文稿书写格式请参阅国家有关科技论文的标准，一般不要超过 6000 字。
- 投稿：请登陆 <http://www.zcyjjournal.com> 或 <http://zcy.cbpt.cnki.net> 进行线上投稿。
- 联系地址：上海市黄浦区福州路 107 号 206 室《中成药》编辑部
- 邮编：200002
- 电话：(021) 63213275
- E-mail: zcy.med@foxmail.com
- QQ: 1242130380