

参考文献:

- [1] Behera R, Kaur A, Webster M R, et al. Inhibition of age-related therapy resistance in melanoma by rosiglitazone-mediated induction of Klotho[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(12): 3181-3190.
- [2] 杨莎莎, 周利. Klotho通过激活PI3K/AKT通路抑制肾小球系膜细胞内质网应激介导的细胞凋亡研究[J]. *四川医学*, 2019, 40(10): 1010-1016.
- [3] Xuan N T, Hai N V. Changes in expression of Klotho affect physiological processes disease, and cancer[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(1): 3-8.
- [4] Xu Y C, Sun Z J. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging[J]. *Endocr Rev*, 2015, 36(2): 174-193.
- [5] 郭煜晖, 胡大军, 陈静, 等. 衰老相关基因Klotho的研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(3): 759-761.
- [6] 欧芹, 朱贵明. 山茱萸多糖延缓衰老作用的研究[J]. *老年医学与保健*, 2011, 17(6): 332-334.
- [7] 金红, 欧芹, 王迪迪, 等. 山茱萸多糖对衰老模型大鼠学习记忆能力影响的研究[J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(12): 1467-1469.
- [8] 陈罗西, 郭玲玲, 李亮. Morris圆形水迷宫的应用及其相关检测指标分析[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2008, 10(8): 55-57.
- [9] 林玲, 刘国良, 孙曼利. 海马CA1区5-HT_{1A}受体调控PTSD大鼠空间记忆的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(1): 98-103.
- [10] Shi M J, Flores B, Gilings N, et al. α Klotho mitigates progression of Akt to CKD through activation of autophagy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(8): 2331-2345.
- [11] 韩香, 黄曙, 季国忠. Klotho生物学功能与Insulin/IGF-1通路关系的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(2): 111-115.
- [12] Kenyon C. The first long-lived mutants: discovery of the insulin/IGF-1 pathway for ageing[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2011, 366(1561): 9-16.

基于网络药理学研究黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎的分子机制

周巧^{1,2}, 刘健^{1,3*}, 郭锦晨¹, 黄旦¹

(1. 安徽省中医药科学院中医风湿病防治研究所, 安徽合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第二附属医院, 安徽合肥 230061; 3. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽合肥 230031)

摘要: **目的** 运用网络药理学研究黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎的分子机制。**方法** 通过TCMSP数据库检索出黄芩清热除痹胶囊所含主要的化学成分; 通过TCMSP、SEA、GeneCards、OMIM、Drugbank、PharmGkb、TTD数据库查出中药各成分作用靶点基因及骨关节炎相关基因靶点; 筛选出两者交集基因, 将交集基因集输入到Cytoscape 3.2.1软件BisoGenet插件, 获得PPI网络, 筛选核心靶点基因, 再构建黄芩清热除痹胶囊活性成分-潜在靶点-疾病网络展示图; 对核心靶点基因进行基因本体(GO)分子功能及基因组百科全书(KEGG)分析; 采用Autodock-vina软件对活性成分与靶点进行分子对接。**结果** 筛选得到黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎的活性成分202个和有效靶点基因115个。GO富集分析显示靶点基因主要参与了细胞对氧化应激的反应、活性氧、凋亡信号通路的调节、老化等生物过程。KEGG信号通路主要包括p53信号通路、HIF-1信号通路、Toll样受体信号通路、Th17细胞分化、PI3K-Akt信号通路、TNF信号通路等161条信号通路。分子对接显示, 黄芩清热除痹胶囊中黄芩、栀子、薏苡仁、威灵仙中药活性成分与核心靶点均具有较好的结合能力。**结论** 黄芩清热除痹胶囊可以通过参与活性氧、氧化应激、转录因子、细胞凋亡等生物过程来发挥治疗骨关节炎的作用。

关键词: 黄芩清热除痹胶囊; 骨关节炎; 分子机制; 网络药理学

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)05-1644-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.05.051

收稿日期: 2021-02-21

基金项目: 科技部国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项(2018YFC1705204); 国家自然科学基金面上项目(81973655); 全国中医药创新骨干人才培训项目(国中医药人教函[2019]128); 安徽省重点研究与开发计划项目(201904a07020004); 安徽省自然科学基金项目(2008085QH386); 安徽省第12批“115”创新团队项目(皖人才办[2019]1); 安徽现代中医内科应用基础与开发研究省级实验室项目(2016080503B041); 安徽省名中医刘健工作室建设项目(中医药发展秘[2018]11); 新安医学教育部重点实验室项目(2020xayx10); 安徽中医药大学2019年度校级科研项目(2019fyyb21)

作者简介: 周巧(1992—), 女, 硕士, 住院医师, 研究方向为中医药防治风湿病。Tel: 13739240816, E-mail: 780149795@qq.com

***通信作者:** 刘健(1964—), 男, 博士, 主任医师, 研究方向为中医药防治风湿病。Tel: 13955109537, E-mail: liujianahzy@126.com

网络出版日期: 2021-04-09

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210409.1350.004.html>

骨关节炎的发病因素包括衰老、机械压力、遗传和肥胖^[1]。骨关节炎中主要稳态细胞的损害,导致氧化应激反应,细胞功能障碍和衰老^[2]。骨关节炎属中医“骨痹”范畴,中医发病机呈现脾虚湿盛、湿热蕴结、痰瘀痹阻,可采用“健脾化湿、清热通络”进行治疗,黄芩清热除痹胶囊为安徽中医药大学第一附属医院院内制剂,具有健脾化湿、清热通络之功。本课题组前期临床研究和细胞实验发现,黄芩清热除痹胶囊可改善骨关节炎患者临床症状,调节促-抑炎体系,发挥抗氧化作用,从而起到治疗骨关节炎的作用^[3]。

网络药理学作为一种新的科学方法,分析网络数据和系统生物学是网络药理学的基础,与中医的结合弥补了现代医学与传统医学之间的鸿沟^[4]。本研究基于网络药理学,筛选出黄芩清热除痹胶囊活性成分及作用靶点,挖掘黄芩清热除痹胶囊调控骨关节炎的潜在靶点,并通过生物信息学分析,构建药物、靶点、基因、疾病网络图,进行相应富集分析和分子对接,探讨黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎可能的分子机制,为黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎后续实验研究开拓思路,为临床应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 黄芩清热除痹胶囊化学成分筛选及活性成分靶点库构建 通过检索中药系统药理学分析平台即 TCMSP 数据库,检索黄芩清热除痹胶囊主要中药成分黄芩、栀子、威灵仙、薏苡仁和桃仁,根据 ADME(吸收、分布、代谢、排泄)的参数,口服生物利用度(OB)的筛选阈值设置为 $\geq 30\%$,药物相似度(DL)设置为 ≥ 0.18 ,以筛选有效活性成分。

1.2 Venn 分析及药物活性成分-潜在靶点-疾病网络图的构建 将黄芩清热除痹胶囊中药成分输入 TCMSP 数据库,限定物种是“*Homo sapiens*”,获得中药化合物相关的潜在靶点基因,应用 UniProt 校正,建立药物活性成分靶点基因数据库。以“Osteoarthritis”为关键词,检索 GeneCards、OMIM、Drugbank、PharmGkb、TTD 数据库,筛选条件为 relevance score ≥ 10 ,收集与骨关节炎相关的已知靶点基因。使用 Funrich 筛选中药复方靶点和骨关节炎靶点的交集靶点,进行 Venn 分析。Cytoscape 3.7.2 软件构建黄芩清热除痹胶囊活性成分-潜在靶点-疾病网络图。

1.3 蛋白质-蛋白质互作关系(PPI)网络拓扑分析及核心靶点的筛选 将 2 组交集基因集输入 String 在线数据库,选择“multiple proteins”分析模式,限定种属为“*Homo sapiens*”,获取蛋白与蛋白间互作信息,构建 PPI 作用网络。运用 Cytoscape 3.2.1 软件,使用 CytoNCA 插件^[5]对核心网络进行筛选。

1.4 核心靶点基因的富集分析 使用 R. Data 软件,对黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎的核心靶点进行基因本体论(GO)生物过程和 KEGG 信号通路富集分析,物种选为“*Homo sapiens*”,以 $P < 0.05$ 作为筛选条件,获取相应数据,绘制相应图形。

1.5 活性成分与靶点的分子对接验证 选择主要中药成分

化合物与核心靶点进行分子对接。化合物的二维结构图通过 PubChem 数据库下载,导入到 Chem3D 软件中以绘制三维结构图,优化后保存为 mol2 格式,AutoDock Tools 1.5.6 软件用于制备受体,包括添加氢和设置对接参数,所有配体和受体文件均保存为 pdbqt 格式,Autodock Vina 来评估和验证化合物-靶标关系的结合亲和力,以及网络药理学的预测结果,绑定模型通过 PyMol 2.3.0 软件和 Discovery Studio 3.5 软件可视化。

2 结果

2.1 黄芩清热除痹胶囊有效成分的收集和筛选 最终获得黄芩清热除痹胶囊活性成分 90 种,其中黄芩 36 种,栀子 15 种,桃仁 23 种,威灵仙 7 种,薏苡仁 9 种,有 2 种成分为 2 种以上中药所共有。由于黄芩清热除痹胶囊的活性成分较多,仅列出 25 项,见表 1。

2.2 黄芩清热除痹胶囊和疾病骨关节炎潜在作用靶点 Venn 分析及“中药-活性成分-潜在靶点-疾病”网络展示图的构建 在 TCMSP 数据库中检索黄芩清热除痹胶囊活性成分对应的靶点,共得到 1 767 个靶标基因,经过 Uniprot 将所有靶标进行汇总、去除重复靶标和标准化名称,进行校正后,共得到 202 个靶标基因。通过检索 GeneCards、OMIM、Drugbank、PharmGkb、TTD 数据库,分别收集到骨关节炎相关靶点基因 1 836、33、353、8、28 个,去除重复基因后共获得 1 944 个。对黄芩清热除痹胶囊活性成分对应的 202 个共同作用靶点与 1 944 个骨关节炎相关靶点进行 Venn 分析,获得 115 个交集基因,即为黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎的潜在作用靶点。Cytoscape 3.7.2 软件构建“中药-活性成分-潜在靶点-疾病”网络展示图,其中,左边圆圈代表复方黄芩清热除痹胶囊中药的活性成分,不同颜色代表不同中药成分,右边网格代表活性成分的靶基因,用蓝色长方形表示,节点越大,代表靶基因相连的成分越多,见图 1。

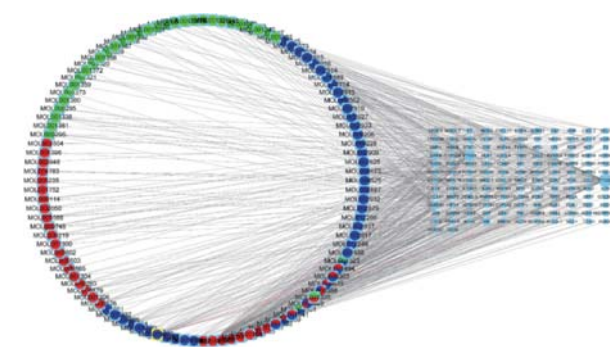


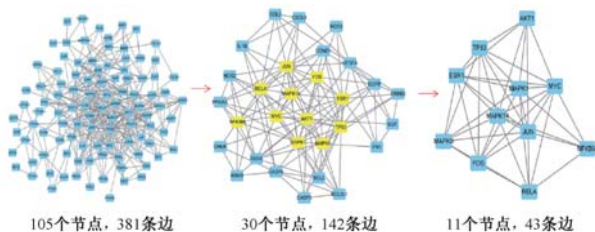
图 1 黄芩清热除痹胶囊活性成分-作用靶点相互作用关系网络图

2.3 PPI 网络拓扑分析及核心靶点的筛选 将 115 个交集基因集输入到 Cytoscape 3.7.2 软件 BisoGenet 插件,构建 PPI 网络,见图 2。使用 CytoNCA 插件计算每个网络节点的 DC 值,筛选出 $DC > 2$ 倍 DC 中位数(28)的节点。筛选出 EC、IC、LAC、BC、CC、NE 大于各自中位数的节点,最

表 1 黄芩清热除痹胶囊部分活性成分信息

中药	TCMSP 编号	名称	OB/%	DL
黄芩	MOL001490	bis[(2S)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate	43.59	0.35
	MOL002879	diop	43.59	0.39
	MOL002897	epiberberine	43.09	0.78
	MOL002928	oroxylin a	41.37	0.23
	MOL002914	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24
栀子	MOL004561	Sudan III	84.07	0.59
	MOL007245	3-methylkempferol	60.16	0.26
	MOL003095	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone	51.96	0.41
	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
	MOL009038	GBGB	45.58	0.83
薏苡仁	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
	MOL001323	sitosterol alpha1	43.28	0.78
	MOL001494	mandenol	42.00	0.19
	MOL000953	CLR	37.87	0.68
	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
桃仁	MOL001371	populoside_qt	108.89	0.20
	MOL001351	gibberellin A44	101.61	0.54
	MOL001348	gibberellin 17	94.64	0.49
	MOL001353	GA60	93.17	0.53
	MOL001349	4a-formyl-7 α -hydroxy-1-methyl-8-methylidene-4 α ,4b β -gibbane-1 α ,10 β -dicarboxylic acid	88.60	0.46
威灵仙	MOL001663	(4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10R,12aR,14bS)-10-hydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydronicene-4a-carboxylic acid	32.03	0.76
	MOL002372	(6Z,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	33.55	0.42
	MOL005598	embinin	33.91	0.73
	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
	MOL005594	clematosideA'_qt	37.51	0.76

终筛选出核心靶点 11 个。分别为丝裂原活化蛋白激酶 1, 8, 14 (mitogen-activated protein kinase 1, 8, 14)、Fos 原癌基因 (Fos proto-oncogene)、AP-1 转录因子亚基 (AP-1 transcription factor subunit)、雌激素受体 (estrogen receptor 1, ESR1)、NFKB 抑制剂 α (NFKB inhibitor alpha, NFKBIA)、RELA 原癌基因 (RELA proto-oncogene)、NF-KB 亚基 (NF-KB subunit)、JUN (junctional adhesion molecule 3)、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1)、肿瘤蛋白 P53 结合蛋白 1 (tumor protein P53 binding protein 1, TP53)、MYC 原癌基因 (MYC proto-oncogene)、BHLH 转录因子 (BHLH transcription factor)。



注：左图为初始 PPI 网络，中图为筛选出 DC>2 倍 DC 中位数 (28) 的节点，右图为最终筛选出的核心靶点。

图 2 PPI 网络构建及核心靶点的筛选过程图

2.4 核心靶点基因的富集分析 为了解交集基因在骨关节炎治疗中所起的作用，对黄芩清热除痹胶囊的 11 个核心靶

点基因进行 GO、KEGG 富集分析，设定阈值 $P<0.05$ 。GO 注释条目 116 个，按照 P 值升序排列的前 20 条 GO 富集结果见图 3，生物过程 (biological processes, BP) 主要参与对脂多糖的反应、对细菌起源分子的反应、细胞对生物刺激的反应、外在凋亡信号通路、对抗生素的反应、对活性氧的反应、细胞对氧化应激的反应；细胞组分 (cellular component, CC) 主要参与膜区、囊泡腔、转录因子复合体细胞质囊泡腔、分泌颗粒腔、RNA 聚合酶 II 转录因子复合物等；分子功能 (molecular function, MF) 主要参与细胞因子受体结合、血红素结合、氧化还原酶活性、氧化还原酶活性等。按照 P 值升序排列的前 20 条 KEGG 富集通路见图 4，黄芩清热除痹胶囊可以作用于 IL-17 信号通路、p53 信号通路、HIF-1 信号通路、Toll 样受体信号通路、Th17 细胞分化、PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路等 161 条信号通路。此外，结果还显示黄芩清热除痹胶囊活性成分的靶基因还涉及其他疾病，如感染疾病、肿瘤、耐药、内分泌与代谢病和神经退行性变等，这提示了黄芩清热除痹胶囊活性成分治疗这些疾病的潜在优势。

2.5 分子对接结果分析 通过筛选的 11 个核心靶点，以及富集分析得到的骨关节炎相关基因和信号通路，选取有文献报道与骨关节炎相关经典靶点蛋白 7 个^[6-11]，在 PDB 和 Uniprot 数据库中检索核心靶点对应的与中药成分相关的小分子配体，以及配体对应的蛋白信息，物种选为 “*Homo sapiens*”，见表 2。利用 Autodock tools 软件计算这 7 个靶点

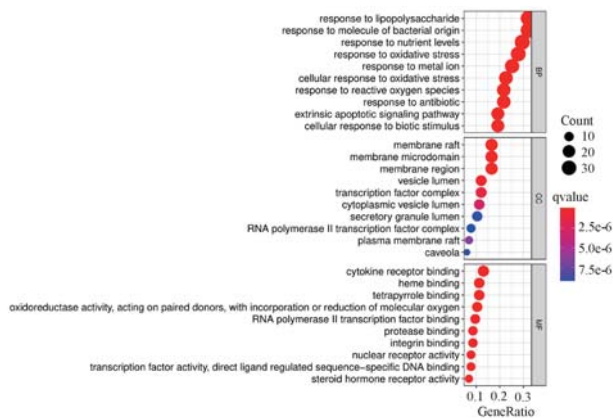


图 3 GO 富集分析 (前 20 条通路)

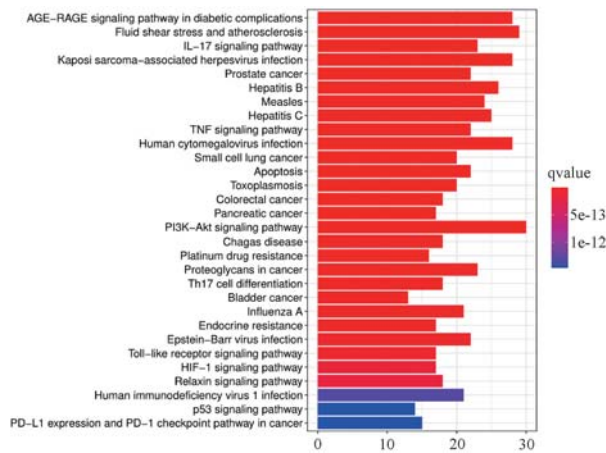
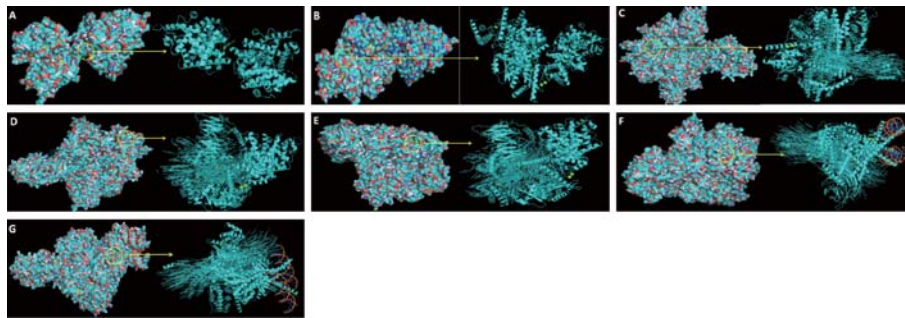


图 4 KEGG 富集分析 (前 20 条通路)



注: A~D 分别为栀子与 ESR1、TP53、AKT1、MAPK14 对接, E~F 分别为黄芩与 JUN、FOS 对接, G 为薏苡仁与 MAPK1 对接。

图 5 活性成分与靶点受体蛋白的分子对接模式

3 讨论

骨关节炎的特征是关节软骨细胞的逐渐破坏^[12], 本病中医属于“骨痹”范畴, 其中医学病机呈现脾虚湿盛、湿热蕴结、痰瘀痹阻^[13], 因此采用健脾化湿、清热通络法治^[14]。黄芩清热除痹胶囊具有健脾化湿、清热通络之功, 由黄芩、栀子、威灵仙、薏苡仁、桃仁组成。本研究通过 TCMSP 数据库检索出黄芩清热除痹胶囊的主要化学成分有 90 种, 构建黄芩清热除痹胶囊-活性成分-潜在靶点以及骨关节炎疾病相关靶点, 通过 Venn 分析取两者交集基因 115 个; PPI 网络筛选出核心靶点 11 个, 包括 MAPK1、8、14、AKT1、ESR1、TP53、JUN、FOS 等; 构建“中药-活性成分-潜在

基因与黄芩清热除痹胶囊中药活性成分间的最低结合能, 见表 3, 受体蛋白与活性成分的最低结合能结果小于 -5 kcal/mol, 表明结合较好, 所需的能量越少, 结合越稳定。部分分子对接结合模式见图 5, 黄色圆圈表示小分子化合物与大分子蛋白质之间的对接状态, 绿色线条代表氢键。结果显示, 活性成分与靶点受体蛋白周围分子通过氢键等分子间作用力形成较为稳定的构象。

表 2 靶点受体蛋白信息

基因	小分子配体	蛋白	PDB-ID
ESR1	Sudan III 62331	estrogen receptor	4X13
TP53	quercetin 5280343	EKC/KEOPS complex subunit TP53RK	6WQX
AKT1	kaempferol	proline-rich AKT1 substrate 1	5WBL
MAPK14	3-methylkaempferol	mitogen-activated protein kinase 14	3HVC
JUN	wogonin	transcription factor AP-1	1JUN
FOS	baicalein	proto-oncogene c-Fos	1FOS
MAPK1	vanillin	mitogen-activated protein kinase 1	406E

表 3 活性成分与靶点受体蛋白间的最低结合能

化学成分	中药成分	ESR1	TP53	AKT1	MAPK14	JUN	FOS	MAPK1
MOL004561	栀子	-8.1	—	—	—	—	—	—
MOL000098	栀子	—	-8.4	-5.2	—	-6.5	—	-7.5
MOL000422	栀子	—	—	-8.6	—	-7.6	—	—
MOL007245	栀子	—	—	—	-9.3	—	—	—
MOL000173	黄芩	-6.9	-8.2	-5.9	—	-9.4	—	—
MOL002714	黄芩	—	—	-8.6	—	—	-9.7	—
MOL000635	薏苡仁、 威灵仙	—	—	—	—	-5.6	—	-6.7

注: —表示未检测。

靶点-疾病”网络发现黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎具有多成分、多靶点的特点; 富集结果显示, 黄芩清热除痹胶囊参与氧化应激的反应、活性氧的反应、凋亡信号通路、转录因子活性等生物过程; 可以作用于 IL-17 信号通路、p53 信号通路、HIF-1 信号通路、Toll 样受体信号通路、Th17 细胞分化、PI3K-Akt 信号通路等 161 条信号通路, 由此可见, 黄芩清热除痹胶囊可以调控骨关节炎的外在凋亡信号通路、转录因子活性、氧化应激反应。本课题组前期临床研究也发现, 黄芩清热除痹胶囊可通过调节促-抑炎体系, 调节 CD36 启动子或者 PPAR γ 表达, 进而激活 AMPK 磷酸化, 提高细胞内 Mn-SOD 表达, 使细胞免受氧化损伤,

发挥抗氧化、抗炎、抗免疫作用,改善关节炎患者临床症状^[15-17]。这与本研究的富集结果相吻合。富集结果还显示,黄芩清热除痹胶囊活性成分的靶基因还涉及其他疾病,如感染疾病、肿瘤、耐药、内分泌与代谢病和神经退行性变等,这提示了黄芩清热除痹胶囊活性成分治疗这些疾病的潜在优势。

对 PPI 网络拓扑分析中筛选的核心基因进行选择,选取有文献报道与骨关节炎相关经典靶点蛋白 7 个进行分子对接,分别为 ESR1、TP53、AKT1、JUN、MAPK1、MAPK14、FOS,与这些靶点相关的黄芩清热除痹胶囊成分是黄芩、栀子、薏苡仁和威灵仙,且 AutoDock Tools 计算出的最低结合能结果均小于-5 kcal/mol,表示结合稳定。故黄芩清热除痹胶囊可以通过 ESR1、TP53、AKT1、JUN、MAPK1、MAPK14、FOS 等靶点治疗骨关节炎。雌激素受体 1 (estrogen receptor, ESR) 是一种小分子类固醇激素,该基因多态性与膝骨关节炎发病有一定联系,ESR1 基因突变可能会增加膝骨关节炎患病风险。TP53 基因编码的 p53 蛋白的作用是调控细胞分裂和增殖。JUN 和 FOS 是编码激活蛋白-1 (AP-1) 的不同亚单位,含有 FOS 的 AP-1 杂二聚体被证明是软骨细胞分化所必需的。另外, JUN 表达的 c-Jun 蛋白对调节软骨细胞的凋亡有重要作用^[10]。MAPK 蛋白等通过调控自噬相关信号通路,一方面抑制间充质干细胞向软骨细胞转化,减少软骨细胞产生;一方面改变细胞生长环境促进软骨细胞的凋亡,增加软骨细胞的损失,而软骨细胞数量的减少又伴随着软骨细胞外基质生成不足,从而促进软骨退变^[11]。

综上所述,本研究通过网络药理学和分子对接技术,展示了黄芩清热除痹胶囊治疗骨关节炎的复杂分子网络关系,体现了中药复方多成分、多靶点、多通路的治疗特点。研究还发现黄芩清热除痹胶囊参与骨关节炎活性氧的反应、凋亡信号通路、转录因子活性等生物过程,也可以作用于 IL-17 信号通路、p53 信号通路、HIF-1 信号通路、Toll 样受体信号通路、Th17 细胞分化、PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路等,发挥调节免疫炎症反应、调控细胞凋亡及调节氧化应激反应等作用来治疗骨关节炎。

参考文献:

[1] Minguzzi M, Cetrullo S, D'Adamo S, et al. Emerging players at the intersection of chondrocyte loss of maturational arrest, oxidative stress, senescence and low-grade inflammation in osteoarthritis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 3075293.

[2] Franceschi C, Garagnani P, Vitale G, et al. Inflammaging and 'Garb-aging' [J]. *Trends Endocrin Met*, 2017, 28(3): 199-212.

[3] 周巧. 健脾化湿清热通络法改善湿热型膝骨关节炎超氧化物歧化酶的数据挖掘及机制研究[D]. 合肥: 安徽中医药

大学, 2018.

[4] Yuan H D, Ma Q Q, Cui H V, et al. How can synergism of traditional medicines benefit from network pharmacology? [J]. *Molecules*, 2017, 22(7): 1135.

[5] Tang Y, Li M, Wang J X, et al. CytoNCA: A cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks[J]. *Bio Systems*, 2015, 127: 67-72.

[6] 鲍亮, 张兵, 赵晨, 等. ESR1 基因多态性与膝骨关节炎患病风险的相关性研究[J]. *实用骨科杂志*, 2020, 26(10): 888-891.

[7] Igarashi H, Hashimoto J, Tomita T, et al. TP53 mutations coincide with the ectopic expression of activation-induced cytidine deaminase in the fibroblast-like synoviocytes derived from a fraction of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Immunol*, 2010, 161(1): 71-80.

[8] 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.

[9] Shi T, Shen X J, Gao G, et al. Gene expression profiles of peripheral blood monocytes in osteoarthritis and analysis of differentially expressed genes [J]. *Bio Med Res Int*, 2019, 2019: 4291689.

[10] René H, Sandra A, Holger K, et al. Identification of new, functionally relevant mutations in the coding regions of the human Fos and Jun proto-oncogenes in rheumatoid arthritis synovial tissue[J]. *Life (Basel)*, 2020, 11(1): 5.

[11] 童洁, 廖瑛, 陈政宇, 等. 骨关节炎软骨细胞自噬及丝裂原活化蛋白激酶信号通路的调控[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(20): 3246-3251.

[12] 史桂荣, 任博文, 杜旭召, 等. 鸡屎藤苷对 IL-1 β 诱导关节软骨细胞炎症反应的影响[J]. *中成药*, 2020, 42(6): 1624-1627.

[13] Collins J A, Wood S T, Nelson K J, et al. Oxidative stress promotes peroxiredoxin hyperoxidation and attenuates pro-survival signaling in aging chondrocytes [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291: 6641-6654.

[14] 孙艳秋, 刘健. 刘健运用清热利湿健脾通络法治疗急性期膝骨关节炎的经验[J]. *中国临床保健杂志*, 2018, 21(4): 560-562.

[15] 黄旦, 刘健, 万磊, 等. 黄芩清热除痹胶囊对强直性脊柱炎患者疗效及氧化应激的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(12): 1448-1452.

[16] 黄旦, 刘健, 纵瑞凯, 等. 黄芩清热除痹胶囊激活 PPAR γ 介导 AMPK/FOXO3a 信号通路改善强直性脊柱炎患者氧化应激[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(2): 451-456.

[17] 郭锦晨, 刘健, 王键, 等. 基于 AMPK-FoxO3a-MnSOD 信号通路探讨类风湿关节炎患者氧化应激的机制及黄芩清热除痹胶囊对其影响[J]. *免疫学杂志*, 2019, 35(8): 681-690.