

巴戟天丸组方对A β 损伤成骨细胞的作用及基于网络药理学的机制研究

姜涛, 徐卫凡, 蒋益萍, 夏天爽, 辛海量

The roles of Bajitianwan formula on A β -injured osteoblasts and the mechanism based on network pharmacology

JIANG Tao, XU Weifan, JIANG Yiping, XIA Tianshuang, XIN Hailiang

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202305011>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于网络药理学的肝力保胶囊保肝作用机制研究

Study on hepato-protective mechanism of Ganlibao capsule based on network pharmacology

药学实践与服务. 2018, 36(5): 403-408,416 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.005

网络药理学在中药作用机制中的研究进展

Advances in the mechanism of Traditional Chinese Medicine by network pharmacology method

药学实践与服务. 2018, 36(2): 97-102 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.02.001

基于网络药理学的青风藤治疗类风湿关节炎的作用机制研究

Mechanism of *Sinomenii caulis* in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology

药学实践与服务. 2021, 39(1): 17-22 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202004117

四烯甲萘醌保护成骨细胞氧化损伤的作用研究

Study on the protective effect of menatetrenone against the oxidative stress of osteoblasts

药学实践与服务. 2020, 38(6): 523-527 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202005047

基于网络药理学对降脂护肝胶囊干预脂肪肝的机制研究

Mechanism of Jiangzhihugan capsule in treatment of fatty liver based on network pharmacology

药学实践与服务. 2021, 39(3): 232-239, 248 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202006054

基于网络药理学对茵连痛风颗粒抗炎镇痛作用的机制研究

Anti-inflammatory and analgesic activity analysis of Yinlian Tongfeng granules based on network Pharmacology

药学实践与服务. 2021, 39(3): 226-231, 254 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202007014



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

巴戟天丸组方对 A β 损伤成骨细胞的作用及基于网络药理学的机制研究

姜涛^{1,2}, 徐卫凡^{1,2}, 蒋益萍², 夏天爽², 辛海量^{1,2} (1. 海军军医大学药学系生药学教研室, 上海 200433; 2. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122)

[摘要] **目的** 探讨巴戟天丸组方对 A β 损伤成骨细胞的骨形成作用及其机制。**方法** 以新生 24 h Wistar 大鼠所分离的成骨细胞为研究对象, 用 A β 1-42 寡聚体对成骨细胞进行损伤, 并用巴戟天丸组方水提物进行药物干预。分别采用 MTT 法、碱性磷酸酶(ALP)活性检测、过氧化氢酶(CAT)活性检测、超氧化物歧化酶(SOD)活性检测、谷胱甘肽(GSH)活性检测以及丙二醛(MDA)活性检测。采用蛋白质印迹法检测骨形成相关蛋白骨形态发生蛋白 2(BMP2)、成骨特异性转录因子(RUNX-2)、骨保护蛋白(OPG)的表达水平; 明确巴戟天丸组方对 A β 损伤成骨细胞的作用后, 采用网络药理学方法对潜在的作用机制进行预测。**结果** 巴戟天丸组方可显著促进 A β 损伤成骨细胞的增殖, 提高 ALP、SOD、GSH 活性, 抑制 MDA 活性, 并促进骨形成相关蛋白 BMP2、RUNX-2、OPG 的表达。网络药理学分析显示, 巴戟天丸组方发挥改善 A β 损伤成骨细胞的作用主要与 AGE-RAGE 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路以及神经活性配体与受体的相互作用通路等有关。**结论** 明确巴戟天丸组方具有改善 A β 损伤成骨细胞的作用, 并通过网络药理学方法探究其相关作用通路, 为传统方剂巴戟天丸抗骨质疏松的临床应用提供借鉴。

[关键词] 成骨细胞; 巴戟天丸; A β 沉积; 网络药理学

[文章编号] 2097-2024(2024)07-0285-06 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202305011

The roles of Bajitianwan formula on A β -injured osteoblasts and the mechanism based on network pharmacology

JIANG Tao^{1,2}, XU Weifan^{1,2}, JIANG Yiping², XIA Tianshuang², XIN Hailiang^{1,2} (1. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of Bajitianwan(BJTW) formula on bone formation of A β -injured osteoblasts and its mechanism. **Methods** Osteoblasts isolated from neonatal 24-hour Wistar rats were used for the study, and osteoblasts were subjected to damage with A β 1-42 oligomers, and pharmacological intervention was performed with the aqueous extract of BJTW formula. The MTT assay, alkaline phosphatase (ALP) activity assay, catalase (CAT) activity assay, superoxide dismutase (SOD) activity assay, glutathione (GSH) activity assay and malondialdehyde (MDA) activity assay were carried out respectively. The expression levels of bone morphogenetic protein 2 (BMP2), osteogenic specific transcription factor (RUNX-2) and osteoprotective protein (OPG) were detected by Western blotting. After confirming the effect of BJTW formula on A β -injured osteoblasts, the network pharmacology method was used to predict the potential pathways. **Results** The BJTW formula significantly promoted the proliferation of A β -injured osteoblasts, increased ALP, SOD and GSH activity, inhibited MDA activity, and promoted the expression of bone formation-related proteins BMP2, RUNX-2 and OPG. Network pharmacological analysis showed that the effect of ameliorating of A β -injured osteoblasts by BJTW formula was mainly mediated by AGE-RAGE, PI3K-Akt, MAPK and neuroactive ligand-receptor interaction signaling pathways. **Conclusion** In this study, the effect of BJTW formula on improving the osteoblasts damaged by A β was confirmed for the first time, and its related mechanism was explored based on network pharmacology method. The results lay a strong foundation for the clinical application of traditional formula BJTW against osteoporosis.

[Key words] osteoblasts; Bajitianwan; A β deposition; network pharmacology

[基金项目] 国家自然科学基金(82004015, 82174079); 上海市卫健委中医药科研项目(2024QN020)

[作者简介] 姜涛, 硕士研究生, Tel: 18756029350, Email: 1879362578@qq.com

[通信作者] 夏天爽, 讲师, Tel: (021)81871308, Email: 18305183911@163.com; 辛海量, 博士, 教授, 研究方向: 中药资源与品质评价, Tel: (021)81871309, Email: hailiangxin@163.com

骨质疏松症和阿尔茨海默病均为退行性疾病,越来越多的研究表明它们的发病机制具有关联^[1]。骨质疏松症往往伴随着认知缺陷, A β 沉积是阿尔茨海默病的典型症状,而阿尔兹海默病小鼠(APP^{swE}/PS1^{dE9})的骨组织中也会出现 A β 沉积,并出现骨密度降低,骨强度减弱等骨质疏松症状^[2]。另有研究表明,氧化应激会导致 A β 沉积,这种氧化损伤状态可被抗氧化剂改善^[3]。因此, A β 沉积偶联氧化损伤可视为阿尔茨海默病及骨质疏松症的共同发病机制。巴戟天丸收载于明代《古今医统大全》,由君药巴戟天,臣药远志、石菖蒲、茯苓、人参以及地骨皮、茯神组成^[4]。前期课题组研究已证实,巴戟天丸组方可以从体内外水平上改善 D-半乳糖(D-gal)引发的骨丢失,但巴戟天丸组方治疗 A β 沉积所致的骨丢失及具体作用机制有待进一步阐明^[4,5]。因此,本研究拟以 A β 1-42 寡聚体损伤成骨细胞模型,对巴戟天丸组方的抗氧化能力及对骨形成干预作用进行探究,并通过网络药理学方法对潜在的作用机制进行预测。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 巴戟天丸水提物的制备

取质量比为 5 : 10 : 10 : 10 : 10 : 3 的巴戟天、茯苓、茯神、地骨皮、远志、石菖蒲、人参粉末,混合均匀。按照料液比 1 : 10 加入去离子水,浸泡 1 h 后,加热煎煮,回流提取 2 次,每次 1 h,所得药液过滤,合并两次的滤液。将收集到的滤液减压浓缩成浓度为 2.6 g(生药量)/ml 的巴戟天丸水提物母液。-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.1.2 成骨细胞

新生 24 h Wistar 大鼠(上海西普尔-必凯实验动物有限公司);胎牛血清(以色列 BI);MTT(上海碧云天);BCIP/NBT 碱性磷酸酯酶显色试剂盒(上海碧云天);ALP、CAT、SOD、GSH、MDA 试剂盒(南京建成);PBS(天津灏洋);DMSO(上海博光); α -MEM 培养基(上海富衡);BMP2、RUNX-2、OPG、GAPDH 抗体(美国 Abcam)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

采用二次消化法从新生 24 h Wistar 大鼠的颅盖骨中分离得到原代成骨细胞,将成骨细胞培养于 α -MEM 培养基中(10% 胎牛血清),置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养,取第 3~5 代成骨细胞进行后续实验。

1.2.2 细胞增殖情况测定

将成骨细胞以 2×10^4 个/孔接种于无菌 96 孔板中,孵育过夜。空白组和模型组更换新的完全培养基,阳性药组加入含 N-乙酰半胱氨酸(NAC)的完全培养液(1 mmol/L),给药组分别加入含不同浓度的巴戟天丸组方完全培养液(0.008、0.04、0.2、1、5 μ g/ml),4 h 后模型组和给药组给予 A β 1-42 寡聚体进行损伤,使完全培养基中 A β 1-42 寡聚体浓度达到 20 mmol/L。培养 48 h 后,采用 MTT 法测定细胞增殖水平。

1.2.3 成骨细胞 ALP 活性检测及染色

ALP 活性检测:按照“1.4.2”项的方法进行给药,培养 48 h 后,取上清液,根据说明书进行 ALP 活性测定。将成骨细胞以 1×10^5 个/孔接种于无菌 6 孔板中,孵育过夜,细胞完全贴壁后,空白组和模型组更换新的完全培养基,阳性药组加入含 NAC 的完全培养液(1 mmol/L),给药组分别加入含不同浓度的巴戟天丸组方完全培养基(0.2、1、5 μ g/ml),4 h 后模型组和给药组给予 A β 1-42 寡聚体进行损伤,使培养基中 A β 1-42 寡聚体浓度达到 20 mmol/L。培养 48 h 后进行染色,室温下避光孵育 48 h,洗去工作液后置于显微镜下拍照。

1.2.4 成骨细胞 CAT、SOD、GSH、MDA 活性检测

将成骨细胞以 2×10^4 个/孔和 5×10^4 个/孔分别接种于接种于无菌 96 孔和 24 孔板中,孵育过夜,细胞完全贴壁后,空白组和模型组更换新的完全培养基,阳性药组加入含 NAC 的完全培养液(1 mmol/L),给药组分别加入含不同浓度的巴戟天丸组方完全培养液(0.2、1、5 μ g/ml),4 h 后模型组、阳性药组和给药组给予 A β 1-42 寡聚体进行损伤,使培养基中 A β 1-42 寡聚体浓度达到 20 mmol/L。培养 48 h 后根据说明书进行检测。

1.2.5 Western Blot 实验

将细胞以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板中,孵育过夜,细胞完全贴壁后,阳性药组加入含 NAC 的完全培养液(1 mmol/L),给药组分别加入含不同浓度的巴戟天丸组方完全培养基(0.2、1、5 μ g/ml),4 h 后模型组和给药组加入 A β 1-42 寡聚体,使完全培养基中 A β 1-42 寡聚体浓度达到 20 mmol/L。48 h 后,吸去培养基,PBS 洗涤 3 次。于冰上对细胞进行裂解提取总蛋白,采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性后,经 SDS-PAGE 凝胶电泳后转移至 PVDF 膜进行转膜,室温封闭 1 h 后,加入相应的一抗,4 $^{\circ}$ C 过夜,1 \times TBST 洗涤 3 次,加二抗于室温孵育 50 min,1 \times TBST 洗涤 3 次,采用 ECL 化学

发光试剂盒检测。

1.3 统计学分析

使用 SPSS Statistics 24 统计分析软件进行统计学分析。计量数据均采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 选用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行组间变量的比较分析。使用 Graphpad prism 9.0 软件进行统计及绘图。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

1.4 网络药理学研究

1.4.1 巴戟天丸组方活性成分筛选

通过 TCMSP (<http://tcmsow.com/tcmsp.php>) 和 ETCM 数据库 (<http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php>), 查找巴戟天、地骨皮、茯苓、人参、石菖蒲和远志 6 味中药的成分。在 TCMSP 数据库中, 选择药物口服利用度(OB) $\geq 30\%$, 类药性(DL) ≥ 0.18 的成分, 在 ETCM 数据库中根据 DrugLikeness Grading 评分, 选择评分为 Moderate 和 Good 的成分^[6]。

1.4.2 构建巴戟天丸组方成分靶点图

通过 Uniprot (<http://www.uniprot.org/>) 数据库, 将靶点映射成基因, 利用 Cytoscape 3.6.0 软件绘制成分靶点图。

1.4.3 阿尔兹海默病和骨质疏松症靶点构建

通过 Disgenet 数据库 (<http://www.disgenet.org/>) 和 Genecards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 查找阿尔兹海默病和骨质疏松症相关的疾病靶点, 绘制 PPI 蛋白相互作用网络图, 整合两大数据库中的靶点基因, 去除重复的靶点。利用 Venny2.1, 将阿尔兹海默病和骨质疏松症相关的疾病靶点图进行交集分析。

1.4.4 阿尔兹海默病、骨质疏松症与巴戟天丸组方共同靶点构建

利用 Venny2.1, 将阿尔兹海默病、骨质疏松症与巴戟天丸组方相关靶点进行交集分析。将药物疾病交集靶点上传到 String 数据库进行分析, 绘制 PPI 蛋白相互作用网络图。

1.4.5 GO 基因富集分析和 KEGG 代谢通路分析

采用 Metascape 数据库, 对关键靶点进行 GO 基因富集分析 (<http://geneontology.org/>) 和 KEGG 代谢通路分析 (<http://www.genome.jp/kegg/>), 分析巴戟天丸中的主要分子生物过程和信号通路。

2 结果

2.1 巴戟天丸组方促进 A β 损伤成骨细胞骨形成

A β 1-42 寡聚体可显著抑制成骨细胞的增殖; 巴戟天丸组方在 0.04、0.2、1、5 $\mu\text{g/ml}$ 浓度下均能够显著提高成骨细胞的增殖水平(图 1A)。A β 1-42

寡聚体会显著抑制成骨细胞中骨形成相关蛋白 BMP2、RUNX-2、OPG 的表达; 给予巴戟天丸组方干预后, BMP2、RUNX-2、OPG 的表达显著提高, 提示巴戟天丸组方可显著促进 A β 1-42 寡聚体损伤成骨细胞的骨形成(图 1B)。与空白组相比, A β 1-42 寡聚体可以显著降低成骨细胞的 ALP 活性, 而巴戟天丸组方显著逆转了 A β 损伤成骨细胞的 ALP 活性, 促进成骨细胞的分化(图 1C、D)。

2.2 巴戟天丸组方改善 A β 损伤成骨细胞氧化应激

如图 2 所示, A β 1-42 寡聚体显著降低了成骨细胞 CAT(图 2A)、SOD(图 2B)、GSH(图 2D) 的活性, 提高 MDA 的活性(图 2C), 导致成骨细胞的氧化损伤, 而巴戟天丸组方低、中、高剂量均可以显著改善 A β 1-42 寡聚体导致的氧化损伤。

2.3 网络药理学研究

2.3.1 巴戟天丸组方活性成分筛选

根据条件筛选后, 其中, 巴戟天成分为 20 种, 地骨皮成分为 12 种, 茯苓成分为 10 种, 人参成分为 18 种, 石菖蒲成分为 10 种, 远志成分为 5 种, 茯神成分 0 种, 共计成分 75 种。

2.3.2 构建巴戟天丸组方成分靶点图

通过 TCMSP 和 ETCM 数据库查找满足筛选条件的化学成分对应的靶点, 得到 151 个预测靶点。删除重复靶点后, 通过 Uniprot 数据库映射成基因 ID, 剔除重复靶点后, 得到 143 个基因 symbol (图 3)。

2.3.3 阿尔兹海默病和骨质疏松症靶点构建

通过 Disgenet 数据库和 Genecards 数据库查找得到阿尔兹海默病相关疾病靶点 10 362 个, 骨质疏松症相关疾病靶点 4 582 个, 并将所得靶点进行蛋白相互作用网络分析(图 4A、B)。将阿尔兹海默病和骨质疏松症相关的疾病靶点图进行交集分析, 得到共有靶点 2 674 个(图 4C)。

2.3.4 阿尔兹海默病、骨质疏松症与巴戟天丸组方共同靶点构建

将 2 674 个疾病交集靶点基因和 143 个药物成分靶点基因再次进行交集分析, 得到共有靶点 95 个(图 5A), 将 95 个药物疾病交集靶点上传到 String 数据库进行分析, 绘制 PPI 蛋白相互作用网络图。将单独节点去除后, 图中共有 94 个节点, 871 条边, 意味着它们间有特殊的关联, 即蛋白质共同贡献一个共同的功能, 每个靶点的平均节点度为 18.3, 说明交集靶点间关系密切而且存在很强的相互作用关系(图 5B)。

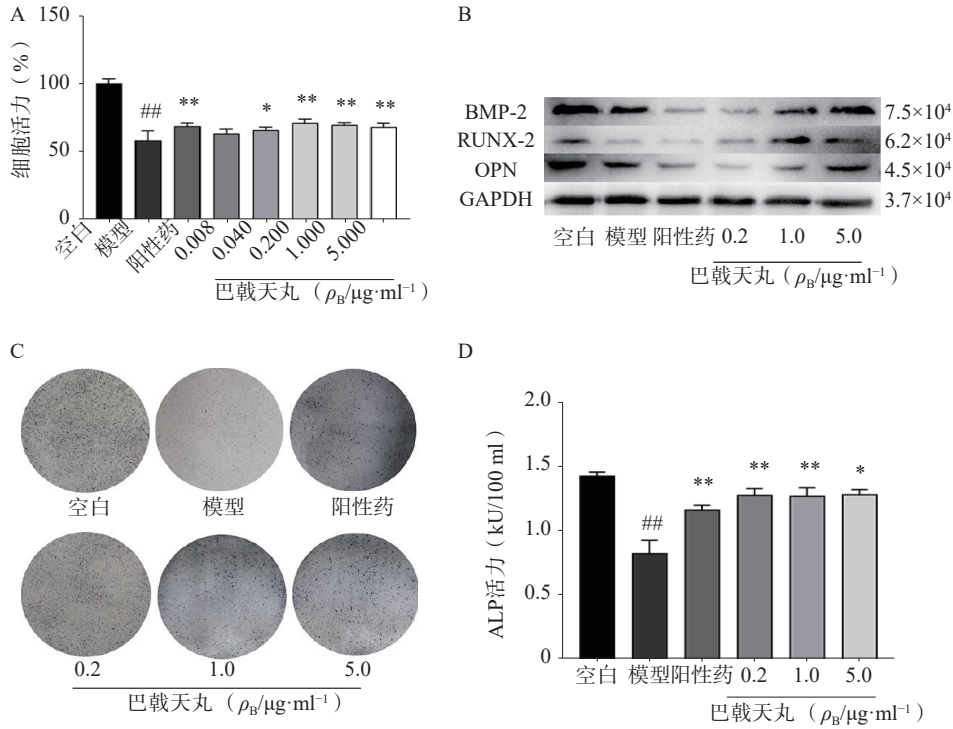


图 1 巴戟天丸组方对 $\text{A}\beta_{1-42}$ 寡聚体损伤成骨细胞增殖、骨形成相关蛋白以及 ALP 活性的影响 ($n=6$)

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 与模型组比较, # $P<0.01$ 与空白组比较。

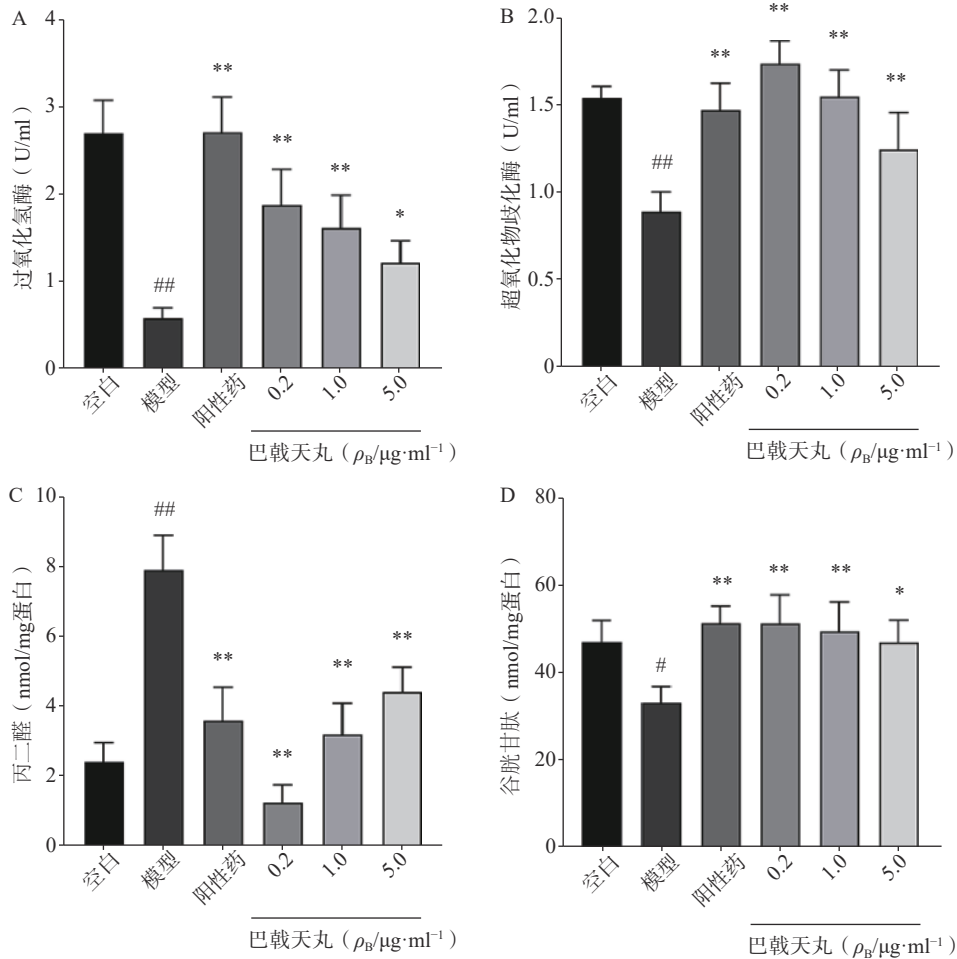


图 2 巴戟天丸组方对 $\text{A}\beta_{1-42}$ 寡聚体损伤成骨细胞抗氧化能力的影响 ($n=4$)

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 与空白组比较。

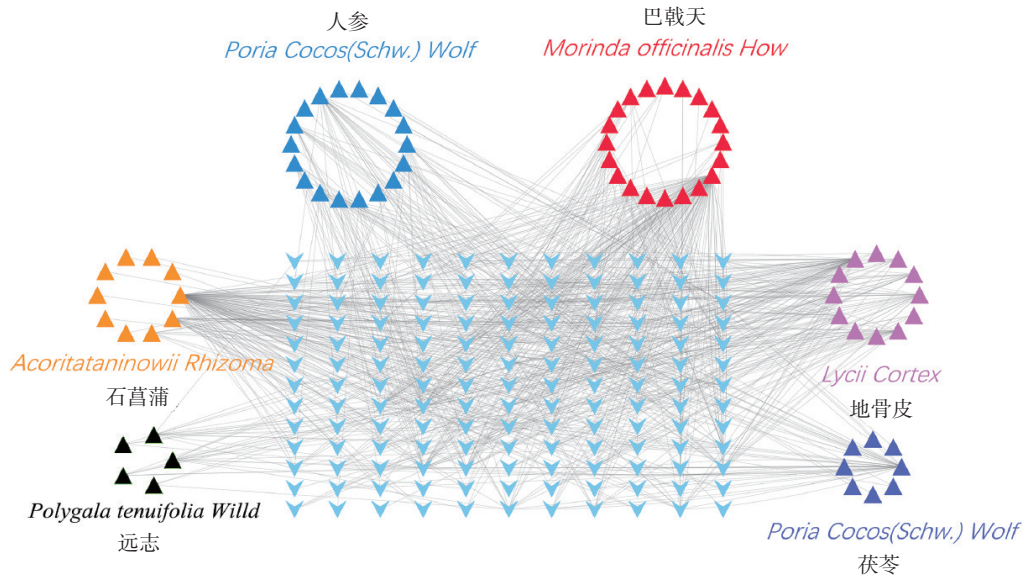


图3 巴戟天丸组方成分靶点图

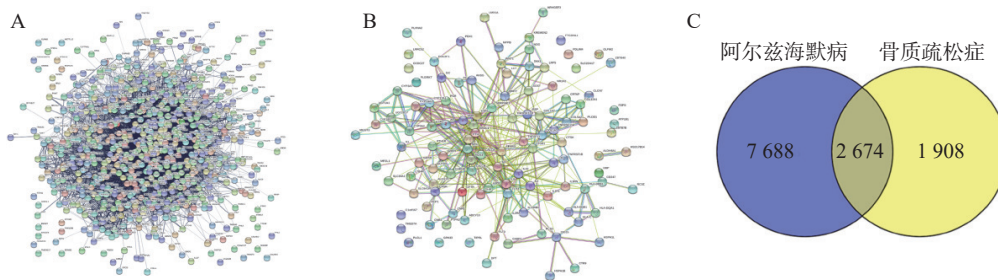


图4 阿尔兹海默病、骨质疏松症靶点图

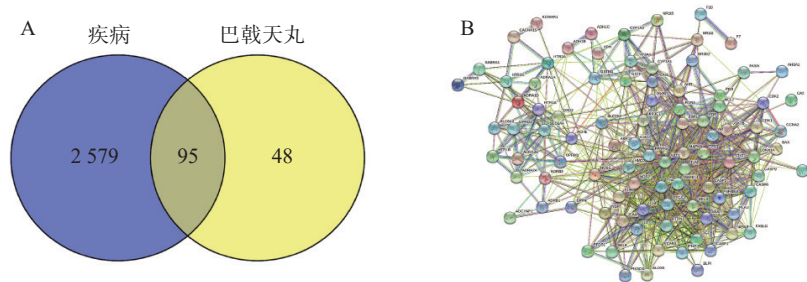


图5 阿尔兹海默病、骨质疏松症与巴戟天丸组方共同靶点图

2.3.5 GO 基因富集分析和 KEGG 代谢通路分析

GO 富集分析包括生物过程(BP)、分子功能(MF)及细胞组分(CC),将每个结果前 10 的条目可视化条形图(图 6A)。巴戟天丸活性物质参与的 BP 主要包括对脂多糖的反应、对氧含量的反应、细胞凋亡信号途径、活性氧代谢过程。MF 主要包括 G 蛋白偶合胺受体的活性、神经递质受体的活性、氧化还原酶活性、参与凋亡信号通路的半胱氨酸型内肽酶活性、泛素类蛋白连接酶结合。CC 主要包括膜筏、突触膜的整体组成部分、浆膜筏等。KEGG 通路富集分析中主要涉及与阿尔兹海默症、骨质疏松症相关的通路有 AGE-RAGE 信号通路、

PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路以及神经活性配体与受体的相互作用通路等(图 6B)。

3 讨论

骨骼重塑是一个重要的生理过程,其主要包括两个阶段,成骨细胞主导的骨形成和破骨细胞主导的骨吸收^[7]。其中,成骨细胞的增殖能力反映骨形成的强弱,其分泌的 ALP 是分化阶段的关键酶,可促进骨组织矿化^[8]。本研究中,各剂量巴戟天丸均可显著改善 A β 损伤成骨细胞的增殖抑制,且 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 效果最好,5 $\mu\text{g/ml}$ 的效果优于 0.04 $\mu\text{g/ml}$,故选择

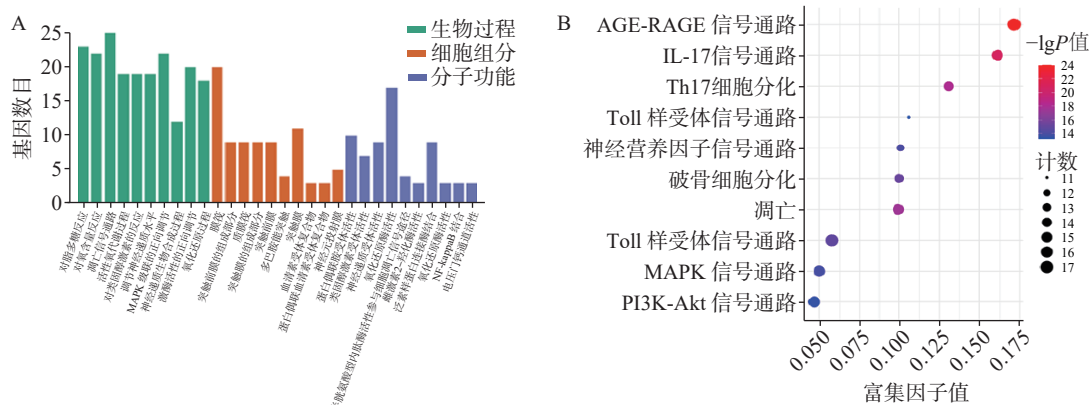


图 6 巴戟天丸 GO 基因富集分析和 KEGG 代谢通路分析

0.2 μg/ml、1 μg/ml、5 μg/ml 作为巴戟天丸给药剂量进行后续实验, 并发现其可显著提高 Aβ 损伤成骨细胞的 ALP 活性和骨形成相关蛋白 BMP2、RUNX-2、OPG 的表达, 促进骨形成。GSH 是细胞抗氧化系统的一个重要成员, 高水平的 GSH 对于清除过多的活性氧(ROS)和解毒异物是不可缺少的^[9]。MDA 是细胞中多不饱和脂肪酸过氧化的最终产物之一, 自由基的增加会导致 MDA 的过度生产, 加剧氧化损伤^[10]。SOD 和 CAT 是重要的酶类抗氧化剂, 二者活性的降低会导致氧化损伤^[11,12]。本实验中巴戟天丸组方可逆转 Aβ 损伤成骨细胞 GSH、SOD、CAT 活性的降低, MDA 活性的升高, 结果所表现的剂量依赖与增殖实验相吻合, 表明巴戟天丸组方可作为抗氧化剂改善成骨细胞的氧化损伤。后采用网络药理学方法进一步探究巴戟天丸干预 Aβ 损伤成骨细胞的作用机制, 结果显示, 巴戟天丸促进 Aβ 损伤状态下成骨细胞骨形成的作用可能与 AGE-RAGE、PI3K-Akt 及 MAPK 等信号通路有关。其中, AGE-RAGE 信号通路的激活会扰乱细胞的氧化还原平衡并调节各种细胞死亡途径^[13]。作为 AGE-RAGE 信号通路的下游, PI3K-Akt 信号通路的激活会增强细胞的抗氧化能力, 保护细胞免受氧化应激^[14]。此外, MAPK 通路的激活同样可以减轻氧化应激状态^[15], 故网络药理学研究结果同样提示巴戟天丸组方可通过缓解氧化损伤发挥干预 Aβ 沉积损伤成骨细胞的作用。

【参考文献】

[1] FEHSEL K, CHRISTL J. Comorbidity of osteoporosis and Alzheimer's disease: is 'AKT'-ing on cellular glucose uptake the missing link?[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 76: 101592.
 [2] TATULIAN S A. Challenges and hopes for Alzheimer's disease[J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27(4): 1027-1043.
 [3] GUAN L S, MAO Z, YANG S, et al. Dioscin alleviates

Alzheimer's disease through regulating RAGE/NOX4 mediated oxidative stress and inflammation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 152: 113248.
 [4] XU W M, LIU X Y, HE X H, et al. Bajitianwan attenuates D-galactose-induced memory impairment and bone loss through suppression of oxidative stress in aging rat model[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 261: 112992.
 [5] 徐卫凡, 徐武牧, 丁卢颖, 等. 巴戟天丸防治 D-半乳糖损伤成骨细胞骨丢失的作用及机制研究 [J]. *药学实践与服务*, 2023, 41(3): 155-159.
 [6] 寇柏鑫, 于前, 闫妍, 等. 基于网络药理学和 16S rDNA 测序的当归六黄汤合煎与单煎治疗阴虚甲亢作用的差异研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(8): 2488-2501.
 [7] SIDDIQUI J A, PARTRIDGE N C. Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement[J]. *Physiol Bethesda Md*, 2016, 31(3): 233-245.
 [8] AN J, YANG H, ZHANG Q, et al. Natural products for treatment of osteoporosis: the effects and mechanisms on promoting osteoblast-mediated bone formation[J]. *Life Sci*, 2016, 147: 46-58.
 [9] NIU B Y, LIAO K X, ZHOU Y X, et al. Application of glutathione depletion in cancer therapy: enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 277: 121110.
 [10] TSIKAS D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde(MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges[J]. *Anal Biochem*, 2017, 524: 13-30.
 [11] SAED-MOUCHESHI A, SOHRABI F, FASIHFAR E, et al. Superoxide dismutase(SOD)as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability[J]. *BMC Plant Biol*, 2021, 21(1): 148.
 [12] GLORIEUX C, CALDERON P B. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach[J]. *Biol Chem*, 2017, 398(10): 1095-1108.
 [13] WAGHELA B N, VAIDYA F U, RANJAN K, et al. AGE-RAGE synergy influences programmed cell death signaling to promote cancer[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(2): 585-598.

(下转第 296 页)

- 2011, 60(9): 1260-1268.
- [12] SENOO H, MEZAKI Y, FUJIWARA M. The stellate cell system(vitamin A-storing cell system) [J]. *Anat Sci Int*, 2017, 92(4): 387-455.
- [13] LI X Y, LUO X Q, CHEN S R, et al. All-trans-retinoic acid inhibits hepatocellular carcinoma progression by targeting myeloid-derived suppressor cells and inhibiting angiogenesis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 121: 110413.
- [14] XIA S L, LIU Z M, CAI J R, et al. Liver fibrosis therapy based on biomimetic nanoparticles which deplete activated hepatic stellate cells[J]. *J Control Release*, 2023, 355: 54-67.
- [15] SCHUG T T, BERRY D C, SHAW N S, et al. Opposing effects of retinoic acid on cell growth result from alternate activation of two different nuclear receptors[J]. *Cell*, 2007, 129(4): 723-733.
- [16] PANEBIANCO C, OBEN J A, VINCIGUERRA M, et al. Senescence in hepatic stellate cells as a mechanism of liver fibrosis reversal: a putative synergy between retinoic acid and PPAR-gamma signalings[J]. *Clin Exp Med*, 2017, 17(3): 269-280.
- [17] RUART M, CHAVARRIA L, CAMPRECIÓS G, et al. Impaired endothelial autophagy promotes liver fibrosis by aggravating the oxidative stress response during acute liver injury[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(3): 458-469.
- [18] LUANGMONKONG T, SURIGUGA S, MUTSAERS H A M, et al. Targeting oxidative stress for the treatment of liver fibrosis[J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2018, 175: 71-102.
- [19] YANG L, BI L P, JIN L L, et al. Geniposide ameliorates liver fibrosis through reducing oxidative stress and inflammatory response, inhibiting apoptosis and modulating overall metabolism [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 772635.
- [20] NARAYANANKUTTY A, JOB J T, NARAYANANKUTTY V. Glutathione, an antioxidant tripeptide: dual roles in carcinogenesis and chemoprevention[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20(9): 907-917.
- [21] GU J Y, CHEN C, WANG J, et al. Withaferin A exerts preventive effect on liver fibrosis through oxidative stress inhibition in a sirtuin 3-dependent manner[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 2452848.
- [22] HAZARI Y, BRAVO-SAN PEDRO J M, HETZ C, et al. Autophagy in hepatic adaptation to stress[J]. *J Hepatol*, 2020, 72(1): 183-196.
- [23] UENO T, KOMATSU M. Autophagy in the liver: functions in health and disease[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(3): 170-184.
- [24] HERNÁNDEZ-GEA V, FRIEDMAN S L. Autophagy fuels tissue fibrogenesis[J]. *Autophagy*, 2012, 8(5): 849-850.
- [25] HERNÁNDEZ-GEA V, GHIASSI-NEJAD Z, ROZENFELD R, et al. Autophagy releases lipid that promotes fibrogenesis by activated hepatic stellate cells in mice and in human tissues[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(4): 938-946.
- [26] SEKI E, BRENNER D A. Recent advancement of molecular mechanisms of liver fibrosis[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2015, 22(7): 512-518.
- [27] ZAHMATKESH E, OTHMAN A, BRAUN B, et al. *In vitro* modeling of liver fibrosis in 3D microtissues using scalable micropatterning system[J]. *Arch Toxicol*, 2022, 96(6): 1799-1813.
- [28] ASRANI S K, DEVARBHAVI H, EATON J, et al. Burden of liver diseases in the world[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(1): 151-171.
- [29] LUCANTONI F, MARTÍNEZ-CEREZUELA A, GRUEVSKA A, et al. Understanding the implication of autophagy in the activation of hepatic stellate cells in liver fibrosis: are we there yet?[J]. *J Pathol*, 2021, 254(3): 216-228.
- [30] XU L, HUI A Y, ALBANIS E, et al. Human hepatic stellate cell lines, LX-1 and LX-2: new tools for analysis of hepatic fibrosis[J]. *Gut*, 2005, 54(1): 142-151.
- [收稿日期] 2023-12-21 [修回日期] 2024-05-09
[本文编辑] 李春德

(上接第 290 页)

- [14] ZHUANG Y, WU H R, WANG X X, et al. Resveratrol attenuates oxidative stress-induced intestinal barrier injury through PI3K/akt-mediated Nrf2 signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7591840.
- [15] LIU M, WANG R B, XING J H, et al. Atractylenolide inhibits apoptosis and oxidative stress of HTR-8/SVneo cells by activating MAPK/ERK signalling in preeclampsia[J]. *Phytomedicine*, 2021, 93: 153773.
- [收稿日期] 2023-05-08 [修回日期] 2024-01-26
[本文编辑] 费永和